



haematologica

the hematology journal

XXXV Congresso Nazionale
Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica
Ancona, 26 - 28 ottobre, 2008
Guest Editor: Maurizio Aricò

ABSTRACT BOOK

2008 | s4

ISSN 0390-6078

Journal of the European Hematology Association
Published by the Ferrata-Storti Foundation, Pavia, Italy
Volume 93, supplement no. 4, October 2008
www.haematologica.org

The origin of a name that reflects Europe's cultural roots.

Ancient Greek

αἷμα [haima] = blood
αἷματος [haimatos] = of blood
λόγος [logos] = reasoning

Scientific Latin

haematologicus (adjective) = related to blood

Scientific Latin

haematologica (adjective, plural and neuter,
used as a noun) = hematological subjects

Modern English

the hematology journal
2007 JCR® Impact Factor = 5.516

Haematologica/The Hematology Journal, as the official organ of the European Hematology Association (EHA), aims not only to serve the scientific community, but also to promote European cultural identity.

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records in a business setting. It highlights how proper record-keeping can help in decision-making, legal compliance, and financial management. The text emphasizes that records should be organized, up-to-date, and easily accessible.

Next, the document addresses the challenges of data management in the digital age. It notes that while digital storage offers convenience, it also introduces risks such as data loss, security breaches, and information overload. Solutions like cloud storage, encryption, and regular backups are suggested to mitigate these risks.

The third section focuses on the role of technology in streamlining business processes. It describes how automation and software tools can reduce manual errors, save time, and improve overall efficiency. Examples include using accounting software for invoicing and project management tools for task delegation.

Finally, the document concludes by stressing the importance of employee training and awareness. It suggests that regular training sessions can help employees understand the correct use of technology and the importance of data security. A culture of responsibility and transparency is encouraged to ensure the long-term success of the organization.



haematologica

the hematology journal

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

Editor-in-Chief

Mario Cazzola (Pavia)

Associate Editors

Clara Camaschella (Milan), Elias Campo (Barcelona), Jan Cools (Leuven), Elihu Estey (Seattle), Randy Gascoyne (Vancouver), Michael Laffan (London), Pieter H. Reitsma (Leiden), Jesus F. San Miguel (Salamanca), Brigitte Schlegelberger (Hannover), Freda K. Stevenson (Southampton), Matthias Theobald (Utrecht), Ivo P. Touw (Rotterdam)

Assistant Editors

Luca Malcovati (Deputy Editor), Gaetano Bergamaschi (CME), Anne Freckleton (English Editor), Rosangela Invernizzi (CME), Cristiana Pascutto (Statistical Consultant), Rachel Stenner (English Editor), Vittorio Rosti (CME)

Editorial Board

Walter Ageno (Varese), Maurizio Aricò (Firenze), Paolo Arosio (Brescia), Yesim Aydinok (Izmir), Giuseppe Basso (Padova), Sigbjørn Berentsen (Haugesund), Erik Berntorp (Malmö), Jackie Boulton (Oxford), David Bowen (Leeds), Monika Bruggemann (Kiel), Oystein Bruserud (Bergen), Michele Cavo (Bologna), Francisco Cervantes (Barcelona), Oliver Cornely (Köln), Javier Corral (Murcia), Francesco Dazzi (London), Marcos De Lima (Houston), Valerio De Stefano (Roma), Ruud Delwel (Rotterdam), Meletios A. Dimopoulos (Athens), Inderjeet Dokal (London), Hervet Dombret (Paris), Johannes Drach (Vienna), Peter Dreger (Hamburg), Martin Dreyling (München), Sabine Eichinger (Vienna), Emmanuel Favaloro (Westmead), Augusto Federici (Milano), Jean Feuillard (Limoges), Letizia Foroni (London), Jonathan W. Friedberg (Rochester), Dave Gailani (Nashville), Renzo Galanello (Cagliari), Carlo Gambacorti-Passerini (Monza), Guillermo Garcia Manero (Houston), Christian Geisler (Copenhagen), James N. George (Oklahoma City), Ulrich Germing (Düsseldorf), Paolo Ghia (Milano), Piero Giordano (Leiden), Corrado Girmenia (Roma), Mark T. Gladwin (Bethesda), Thomas M. Habermann (Rochester), Claudia Haferlach (München), Christine Harrison (Southampton), Claire Harrison (London), Andreas Hochhaus (Mannheim), Ulrich Jaeger (Vienna), Leonid Karawajew (Berlin), Gregory Kato (Bethesda), John Koreth (Boston), Robert Kralovics (Vienna), Nicolaus Kröger (Hamburg), Thomas J. Kunicki (La Jolla), Ralf Küppers (Essen), Marco Ladetto (Torino), David Jacobsohn (Chicago), Ola Landgren (Bethesda), Jean Jacques Lataillade (Clamart), Veronique Leblond (Paris), Roberto Lemoli (Bologna), Per Ljungman (Stockholm), Francesco Lo Coco (Roma), Henk M. Lokhorst (Utrecht), Rita Maccario (Pavia), Guido Marcucci (Columbus), Judith Marsh (London), Giampaolo Merlini (Pavia), Anna Rita Migliaccio (Roma), Constantine S. Mitsiades (Boston), Mohamad Mohty (Nantes), Rosario Notaro (Firenze), Johannes Oldenburg (Bonn), Jan Palmblad (Stockholm), Animesh Pardanani (Rochester), Jakob Passweg (Geneva), Louis Pelus (Indianapolis), Melanie J. Percy (Belfast), Rob Pieters (Rotterdam), Stefano Pileri (Bologna), Miguel Piris (Madrid), Paolo Prandoni (Padova), Jerald P. Radich (Seattle), Andreas Reiter (Mannheim), Mats Remberger (Stockholm), Josep-Maria Ribera (Barcelona), Francesco Rodeghiero (Vicenza), Radek C. Skoda (Basel), Roberto Stasi (Albano Laziale), David P. Steensma (Rochester), Martin H. Steinberg (Boston), David Stroncek (Bethesda), Ronald Taylor (Charlottesville), Evangelos Terpos (Athens), Xavier Thomas (Lyon), Armando Tripodi (Milano), Han-Mou Tsai (New York), Alvaro Urbano-Ispizua (Sevilla), Alessandro M. Vannucchi (Firenze), Edo Vellenga (Groningen), Umberto Vitolo (Torino), Guenter Weiss (Innsbruck), Mervin Yoder (Indianapolis), Alberto Zanella (Milano)

Editorial Office

Michele Moscato (Production Manager), Lorella Ripari (Peer Review Manager), Matteo Giovanni Della Porta (Peer Review), Paola Cariati (Production), Igor Ebuli Poletti (Production), Marta Fossati (Peer Review)

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)
EAHP (European Association for Haematopathology, www.socforheme.org/eahp)
SIdEM (Italian Society of Hemapheresis and Cellular Manipulation, www.emaferesi.it)



haematologica

the hematology journal

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 3000 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

www.ehaweb.org



EUROPEAN HEMATOLOGY ASSOCIATION

CORPORATE PARTNERS PROGRAM 2008

GOLD

AMGEN
Oncology




ORTHO BIOTECH
A division of Janssen-Cilag

 Bayer HealthCare
Bayer Schering Pharma

 **NOVARTIS**

 **Bristol-Myers Squibb**




PHARMION

BRONZE

Shire

Cephalon
Oncology 

 **Boehringer
Ingelheim**

CONTRIBUTORS

 **mundipharma** Oncology

genzyme

 **gsk**
GlaxoSmithKline

ALEXION

 **MSD ONCOLOGY**

 Bayer HealthCare
Bayer Schering Pharma

Lilly

 **biogen idec**
oncology



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

Ancona, 26-28 Ottobre 2008

Guest Editor: Maurizio Aricò

ABSTRACT BOOK

Abstracts | Comunicazioni e Poster

Tumori solidi	S1
Trapianto	S16
Leucemie e Linfomi	S22
Ematologia e coagulazione	S37
Altro	S52

Abstracts | Dati per Letti

.....	S59
-------	-----

Indice degli Autori

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

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

Ancona, 26-28 Ottobre 2008

Guest Editor: Maurizio Aricò

PRESIDENTE DEL CONGRESSO

PAOLO PIERANI (Ancona)

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@aiiop.org – <http://www.aiiop.org>

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

Congress Team Project
Via L. Mascheroni 68, 27100 Pavia
Tel. 0382 22650 Fax 0382 33822
Email: aiiop08@congressteam.com – <http://www.congressteam.com>

ABSTRACTS

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

TUMORI SOLIDI

C001

NEUROBLASTOMA METASTATICO MYCN NON AMPLIFICATO NELL'INFANT: ECCELLENTE RISULTATO CON MENO TERAPIA

Di Cataldo A, Castellano A, Garaventa A, Viscardi E, Bianchi M, Luksch R, Arcamone G, Pession A, Tettoni K, Aru B, Giuliano M, D'Angelo P, Balter R, Provenzi M, Tamburini A, Migliorati R, Mastrangelo S, Zanazzo GA, Bertuna G, Nicolosi A, Conte M, De Bernardi B per il gruppo SIOOPEN

Centro di Riferimento Regionale di Ematologia ed Oncologia Pediatrica dell'Università di Catania; Centri AIEOP di Bari, Bergamo, Bologna, Brescia, Cagliari, Firenze, Genova, Milano INT, Napoli, Padova, Palermo, Roma BG, Roma Cattolica, Torino, Trieste, Verona, Italy

Introduzioni ed obiettivi. In questo primo studio europeo sul neuroblastoma in bambini di età inferiore a 1 anno (infant), la vigile osservazione clinica senza trattamento, finora riservata allo stadio 4s senza amplificazione di MYCN, è stata estesa ad alcuni casi con caratteristiche da stadio 4: tumore primitivo che oltrepassa la linea mediana e metastasi ossee rilevate con scintigrafia ma non confermate da radiografia o TC.

Metodi. Dal 1999 al 2004 in 9 nazioni europee 181 infant con neuroblastoma disseminato MYCN non amplificato sono stati registrati nello studio INES. Dei 170 pazienti eleggibili, 125 sono entrati nel Trial 99.2, che prevedeva in assenza di sintomi gravi la vigile osservazione, e 45 nel Trial 99.3, che prevedeva chemioterapia a dosi standard.

Risultati. Dei 125 pazienti del Trial 99.2, 86 non presentavano sintomi gravi all'esordio e di essi 56 furono solo osservati, con 9 progressioni e 2 decessi, mentre 30 per decisione locale furono trattati con 1-2 cicli di chemioterapia, con 3 progressioni e nessun decesso. Tra i 37 casi con sintomi gravi si sono registrate 4 progressioni con 3 decessi. Nessuno dei 40 infant con tumore infiltrante la linea mediana e/o scintigrafia positiva sull'osso non confermata da radiografia è deceduto. Nel Trial 99.2 sopravvivenza libera da eventi (EFS) e sopravvivenza complessiva (OS) a 5 anni sono state rispettivamente 87.8% e 95.7%. Tra i 45 infant del Trial 99.3 si sono verificate 6 progressioni e 2 decessi con EFS 86.7% e OS 95.6%.

Conclusioni. La prognosi degli infant con neuroblastoma disseminato MYCN non amplificato è eccellente. Nei casi con grosso tumore primitivo e con scintigrafia positiva non confermata radiologicamente, senza sintomi gravi, la vigile osservazione appare la scelta più adeguata.

C002

RUOLO DELLA PROTEINA HTRA1 NEI PROCESSI DI PROLIFERAZIONE E DIFFERENZIAZIONE DEL NEUROBLASTOMA.

Pecoraro G,¹ Cavallotti I,² Crisci S,¹ D'Angelo V,¹ De Luca A,² Indolfi P,¹ Giuliano M,¹ Fusco C,¹ Di Pinto D,¹ Affinita MC,¹ Oreste M,¹ Iannotta A,¹ Manente L,² Casale F¹

¹Servizio Oncologia Pediatrica Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli; ²Dipartimento di Medicina e Salute Pubblica, Sezione di Anatomia clinica, Seconda Università di Napoli, Italy

Introduzione. Il neuroblastoma è un tumore solido della età pediatrica che origina dalle cellule della cresta neurale e presenta caratteristiche cliniche e biologiche molto eterogenee. La proteina HtrA1 appartiene alla famiglia delle serin-proteasi HtrA che hanno un ruolo centrale nella proliferazione e nel differenziamento cellulare.

Materiali e Metodi. In questo studio abbiamo effettuato una analisi quantitativa e qualitativa di espressione e localizzazione di HtrA1 in 60 tessuti tumorali di bambini affetti da neuroblastoma (NB) (50 casi) o da ganglioneuroblastoma (GNB) (10 casi), diagnosticati e trattati presso il Servizio di Oncologia Pediatrica della Seconda Università di Napoli. In accordo al sistema classificativo International Neuroblastoma Staging System, i pazienti sono stati così stadiati: 26 pazienti stadio I o II, 14 stadio III, 16 stadio IV e 4 pazienti stadio IVs. La analisi quantitativa è stata effettuata mediante western blotting e quella qualitativa con tecnica di immunostochimica.

Risultati. La analisi quantitativa ha dimostrato che la proteina HtrA1 è espressa in 56/60 campioni (93,3%) con livelli proteici bassi in 36/56 (64,3%) e alti in 20/56 (35,7%). I livelli più elevati sono stati individuati in 16/20 campioni (80%) appartenenti agli stadi I, II e IVs mentre livelli più bassi sono stati rilevati negli stadi III e IV (24/36=66,6%) con una differenza statisticamente significativa ($p=0,005$). Tutti i GNB hanno espresso alti livelli di HtrA1. Inoltre la analisi qualitativa ha evidenziato l'espressione di HtrA1 nelle aree più differenziate, caratteristiche del ganglioneuroblastoma; al contrario la proteina è risultata scarsa o non valutabile nelle aree indifferenziate, caratteristiche del neuroblastoma.

Conclusioni. I nostri dati evidenziano che nella maggior parte dei campioni studiati è presente una iperespressione di HtrA1 che sembra essere associata alla differenziazione delle cellule maligne e ad una ridotta diffusione metastatica della neoplasia. Lo studio di espressività di HtrA1 potrebbe rappresentare, in aggiunta ai parametri prognostici noti, un ulteriore elemento per individuare fenotipi più aggressivi a prognosi peggiore.

C003**ISG/OS-1 STUDIO RANDOMIZZATO DI CHEMIOTERAPIA NEOADIUVANTE IN PAZIENTI CON OSTEOSARCOMA NON METASTATICO DELLE ESTREMITÀ. ANALISI DELLA RISPOSTA ISTOLOGICA E DELLA TOSSICITÀ**

Ferrari S, Cefalo G, Tamburini A, Brach del Prever A, Cozza R, Bisogno G, Hanau G, Favre C, Mascarin M, Abate M, Luksch R, Manfrini M, Capanna R, Mappelli S, Mercuri M, Fossati Bellani F, Bacci G.

Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna; Istituto Nazionale Tumori, Milano; Ospedale Meyer, Firenze; Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; Ospedale Bambin Gesù, Roma; Clinica Pediatrica, Padova; Istituto Gaslini, Genova; Ospedale S. Chiara, Pisa; CRO, Aviano, Italy

Introduzione e obiettivi. Methotrexate (MTX), cisplatino (CDP), adriamicina (ADM) e ifosfamide (IFO), sono i farmaci più attivi nell'osteosarcoma, ma il loro uso ottimale non è ancora stato definito. Nel presente studio è stata confrontata la tossicità e l'efficacia di due protocolli basati sui medesimi 4 farmaci somministrati alla medesima dose cumulativa ma secondo tempi e modalità diverse.

Metodi. Pazienti di età ≤ 40 anni con osteosarcoma ad alto grado delle estremità erano randomizzati per ricevere due trattamenti con medesima dose cumulativa (ADM 420 mg/m², CDP 600 mg/m², MTX 60 g/m², IFO 30 g/m²), ma durata differente (BraccioA 44 settimane, BraccioB 34 settimane).

Trattamento preoperatorio. BraccioA: Due blocchi di MTX (12 g/m²), CDP (120 mg/m²) e ADM (75 mg/m²). BraccioB Due cicli di MTX (12 g/m²) alternati a cicli con CDP (120 mg/m²)/ADM(70 mg/m²)m IFO (6 g/m²)/CDP(120 mg/m²), and IFO (6 g/m²)/CDP(120 mg/m²).

Trattamento postoperatorio. BraccioA: MTX-CDP-ADM nei pazienti con buona ($\geq 90\%$ necrosi) risposta istologica (GR), nei pazienti con scarsa risposta istologica (PR) venivano aggiunti 3 cicli di IFO (10 g/m²). BraccioB: CDP/ADM (sett. 12-25), IFO/CDP (sett. 17), IFO/ADM (sett. 20-30), MTX sett. 15-16-23-24-28-28-33-34).

Risultati. Dall'aprile 2001 al dicembre 2006 sono stati arruolati 246 pazienti (maschi 146 (59%), età mediana 14 (4-39)). 3 pazienti (braccioA2, BraccioB1) progredirono in chemioterapia primaria. 228(93%) pazienti vennero resecati (BraccioA 92%, BraccioB 96% $p=0.5$). 109/243 (45%) pazienti risultarono GR (BraccioA 48%, BraccioB 42% $p=0.4$). Vi furono 3 morti tossiche (BraccioA1, BraccioB 2). La dose/intensità media ricevuta del protocollo fu 0,82 (BraccioA 0,91 BraccioB 0,74 $p=0.02$). Sono stati valutati per la tossicità 2398 cicli. L'incidenza di neutropenia G4 fu 30% (BraccioA 18% BraccioB 43% $p<0,0001$), piastrinopenia G4 21% (BraccioA 11% BraccioB 31% $p<0,0001$).

Conclusioni. L'aggiunta dell'IFO a MTX, CDP, ADM nella fase preoperatoria non aumenta la percentuale di GR. Un'intensificazione di trattamento con IFO aggiunto a MTX, CDP, ADM sin dalla fase preoperatoria ha determinato una più elevata tossicità midollare ed una più bassa dose/intensità ricevuta.

C004**SARCOMI OSSEI PEDIATRICI: POSSIBILE CONTRIBUTO DELLA TOMOGRAFIA AD EMISSIONE DI POSITRONI CON FLUORO-DESOSSIGLUCOSIO (PET/TC)**

Berta M,¹ Cistaro A,² Pagano M,¹ Postini A,¹ Garrone E,¹ Defilippi C,³ Linari A,⁴ Andreacchio A,⁵ Brach del Prever E,⁶ Fagioli F,¹ Brach del Prever A¹ per il Gruppo Piemontese Sarcomi

¹Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ²PET IRMET S.p.A., Torino; ³Radiologia Pediatrica, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ⁴Anatomia Patologica, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ⁵Ortopedia Pediatrica, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ⁶Dip. Traumatologia, Ortopedia e Medicina del Lavoro, Università di Torino, Italy

La PET/TC è una tecnica di imaging medico-nucleare, il cui tracciante metabolico può essere captato da cellule tumorali attive: il suo ruolo nei sarcomi ossei pediatrici deve essere chiarito, letteratura e casistiche sono al momento esigue.

Scopo. valutare il ruolo della PET/TC in pazienti affetti da osteosarcoma (OS) o sarcoma di Ewing (SE) in età pediatrica.

Materiali e Metodi. Da Marzo 2004 a Maggio 2008 sono stati arruolati 22 OS e 22 SE. Sono stati confrontati i risultati della PET/TC con l'esame istologico, laddove disponibile, e con gli esiti della diagnostica per immagini convenzionale (DIC). Sono state effettuate 89 PET/TC, 47 in OS e 42 in SE: 5/89 esami all'esordio, 49/89 per la valutazione della risposta o in corso di follow-up e 35/89 per sospetta recidiva o progressione.

Risultati. Confrontando l'esito della PET/TC con i risultati della DIC, vi è stata concordanza completa in 45/89 esami (51%), understaging corretto in 23/89 (26%), overstaging corretto in 11 (12%) ed understaging non corretto in 10 (11%). In 13/89 esami (15%) l'esito della PET/TC ha condizionato significativamente la decisione clinica dell'iter successivo, in 39/89 esami (43%) ha meglio caratterizzato lo stato di malattia del paziente, in 37/89 esami (42%) non ha modificato l'iter terapeutico. Complessivamente si è ottenuto: sensibilità 93%, specificità 100%, accuratezza 95%, VPP 100%, VPN 89%. In particolare, la PET/TC si è dimostrata molto utile nell'identificazione e valutazione di lesioni ossee e linfonodali metastatiche. In 24/89 (27%) esami (8 OS, 8 SE) la DIC aveva segnalato sospetta recidiva esclusivamente polmonare: in 14/24 esami (58%) la PET/TC ha caratterizzato correttamente come metabolicamente inattivi noduli dubbi o fortemente sospetti di recidiva alla DIC, in 7/24 (29%) la PET/TC è risultata correttamente positiva, in 3/24 (13%) falsa negativa (sensibilità 70%, specificità 100%, accuratezza 88%, VPP 100%, VPN 82%).

Conclusioni. La PET-TC può essere di supporto per l'individuazione di lesioni metastatiche in sarcomi ossei pediatrici all'esordio o in recidiva, superando alcuni limiti della DIC. Aspetti importanti da considerare nella valutazione dell'indicazione alla PET/TC sono il costo relativamente elevato ed il grado di irradiazione cui viene sottoposto il paziente. Gli attuali protocolli di diagnosi e follow-up in pediatria oncologica non contemplano in genere l'esecuzione della PET-TC; ulteriori studi prospettici sono necessari per chiarirne il ruolo.

C005**GENERAZIONE *IN VITRO* DI LINEE T CITOTOSSICHE AUTOLOGHE SPECIFICHE PER LA PROTEINA EBV LMP2 PER IL TRATTAMENTO DI PAZIENTI CON CARCINOMA INDIFFERENZIATO DEL RINOFARINGE**

Basso S, Gurrado A, Cioni M, Secondino S, Schiavo R, Labirio M, Maccario R, Siena S, Pedrazzoli P, Locatelli F, Comoli P

Oncematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, Università di Pavia, Pavia; Oncologia Medica Falck, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano, Italy

Introduzione. Il carcinoma indifferenziato del rinofaringe (NPC) è una neoplasia EBV-correlata che esprime un numero limitato di antigeni virali, inclusa la proteina latente di membrana 2 (LMP2). I pazienti che ricadono dopo la chemio-radio-terapia convenzionale hanno una prognosi generalmente infausta. Si rende, quindi, necessaria la sperimentazione di terapie alternative efficaci e di bassa tossicità. Recentemente, è stato dimostrato che è possibile ottenere risposte cliniche in pazienti con NPC EBV-correlato resistenti a radio/chemioterapia convenzionale, mediante infusione di linfociti T-citotossici (CTL) autologhi EBV-specifici. In particolare, i pazienti che hanno mostrato una risposta clinica dopo terapia cellulare presentavano un'espansione di cellule T LMP2-specifiche.

Obiettivi e metodi. Sulla base di queste premesse, abbiamo eseguito uno studio preclinico, al fine di delineare una procedura per la generazione *in vitro* di linee T citotossiche LMP2-specifiche da linfociti del sangue periferico di pazienti con NPC, mediante stimolazione con cellule presentanti l'antigene (APC) pulsate con una miscela di peptidi, costituiti da 15 aminoacidi, che copre l'intera sequenza della proteina EBV LMP2.

Risultati. Sono stati eseguiti esperimenti nei quali abbiamo valutato il potenziale stimolatorio dei monociti attivati, pulsati con la miscela di peptidi LMP2, nel generare popolazioni di CTL arricchiti in linfociti citotossici LMP2-specifici, comparando i risultati ottenuti con CTL EBV-specifici di controllo ottenuti mediante stimolazione con linee linfoblastoidi B trasformate da EBV. I risultati degli esperimenti effettuati fino ad ora hanno mostrato che con la metodica descritta è possibile generare linee di CTL, a prevalente fenotipo CD3⁺CD8⁺, che hanno una attività citotossica verso cellule target pulsate con peptidi LMP2 significativamente più alta, se comparata alla citotossicità mostrata da linee di CTL EBV generate con il metodo convenzionale. Inoltre, queste cellule sono in grado di mediare una lisi verso cellule tumorali primarie di pazienti con NPC.

Conclusioni. I nostri dati preliminari indicano che è possibile espandere linee di CTL LMP2-specifiche da pazienti con NPC. L'impiego di questi CTL potrebbe implementare i protocolli di terapia cellulare attualmente in uso, con lo scopo finale di migliorare l'outcome dei pazienti con NPC.

C006**IDENTIFICAZIONE DI ALK (ANAPLASTIC LYMPHOMA KINASE) QUALE GENE PER LA PREDISPOSIZIONE AL NEUROBLASTOMA**

Mossé YP,¹ Laudenslager M,¹ Longo L,² Cole KA,¹ Wood A,¹ Attiye EF,¹ Laquaglia MJ,¹ Sennett R,¹ Lynch JE,¹ Perri P,³ Laureys G,⁴ Speleman F,⁴ Hakonarson H,⁵ Torkamani A,⁶ Schork NJ,⁶ Brodeur GM,¹ Tonini GP,² Rappaport E,¹ Devoto M,^{7,8} Maris JM^{1,9}

¹Division of Oncology and Center for Childhood Cancer Research, Children's Hospital of Philadelphia; Department of Pediatrics, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA, USA; ²Translational Pediatric Oncology, National Institute for Cancer Research and Italian Neuroblastoma Foundation, National Institute for Cancer Research, Genoa, Italy; ³Advanced Biotechnology Center, Genoa, Italy; ⁴Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium; ⁵The Center for Applied Genomics, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA, USA; ⁶Scripps Genomic Medicine and the Scripps Research Institute, La Jolla, California, USA; ⁷Division of Genetics, The Children's Hospital of Philadelphia; Department of Pediatrics and CCEB, Department of Biostatistics and Epidemiology, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA, USA; ⁸University of Rome "La Sapienza", Department of Experimental Medicine, Rome, Italy; ⁹Abramson Family Cancer Research Institute, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA USA

Introduzione e obiettivi. Il neuroblastoma (NB) è una delle prime cause di decesso nell'età prescolare e nonostante la chemioterapia ad alte dosi la sopravvivenza dei pazienti non è incrementata in modo significativo. Come altre neoplasie, questo tumore embrionale può essere ereditato ma l'eziologia del NB familiare e sporadico resta sconosciuta. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di identificare i geni che predispongono allo sviluppo del NB. Nel nostro studio dimostriamo che mutazioni germinali del gene ALK sono associate sia al neuroblastoma familiare che a quello sporadico.

Metodi. Al fine di localizzare il locus predisponente il NB è stata eseguita un'analisi del genoma mediante il pannello di linkage IVb SNP dell'Illumina, comprendente circa 6.000 SNP, su 20 famiglie con NB ricorrente. L'analisi ha permesso di identificare la regione cromosomica 2p23-24, con un LOD score di 4.23. In questo intervallo cromosomico sono contenuti 104 geni tra cui MYCN. È stata, quindi, eseguita un'analisi mediante sequenziamento diretto degli esoni di diversi geni candidati, tra cui ALK. Sono stati esaminati 491 tumori e un pannello di 27 linee cellulari di NB umano. Infine, sono stati eseguiti esperimenti di silenziamento di ALK mutato in linee cellulari di NB per mezzo di siRNA e con western blot è stata valutata la proteina e lo stato di fosforilazione di alk.

Risultati e Conclusioni. L'analisi mutazionale ha evidenziato diverse mutazioni nel dominio tirosino chinasi (TK) di ALK, 3 germinali (G1128A, R1192P, R1275Q) le quali segregavano associate alla malattia in 8 famiglie e 7 somatiche (M1166R, F1174I, F1174F, F1245V, F1245C, I1250T, R1275Q). Le mutazioni di ALK sono state, inoltre, trovate nel 8,4% dei NB sporadici e nel 35,7% delle linee di NB. Nove delle 10 mutazioni mappano nella regione critica del dominio TK predicendo un potenziale oncogenico di ALK. La soppressione di ALK mRNA nelle linee cellulari mutate produceva una significativa diminuzione della crescita cellulare. I nostri risultati dimostrano che le mutazioni ereditarie di ALK sono la maggior causa del NB familiare e che il potenziale oncogenico di ALK è associato alle mutazioni presenti nel dominio TK, che viene autofosforilato. Sono in corso studi per dimo-

strare l'effettiva oncogenicità di ALK, mediante transfezione in modelli cellulari contenenti vettori di espressione di ALK mutato, così come l'utilizzo di inibitori di ALK per una futura terapia per il neuroblastoma.

P001

QUANTIFICAZIONE DEL DANNO AL DNA MEDIANTE ELETTROFORESI SU SINGOLE CELLULE IN PAZIENTI ONCOLOGICI IN ETÀ PEDIATRICA. VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DEL TRATTAMENTO ANTIBLASTICO

Carnevali P,¹ Tiano L,² Maggi S,³ Gabrielli O,¹ Littarru GP,² Pierani P¹

¹Centro Oncoematologico Pediatrico di Riferimento Regionale; Istituto Materno Infantile Università Politecnica delle Marche, Ancona; ²Istituto di Biochimica, Università Politecnica delle Marche, Ancona; ³Dipartimento di Fisica Sanitaria, Ospedali Riuniti di Ancona, Italy

Introduzione ed obiettivi. Gli attuali protocolli chemio-radio-terapici utilizzati nel trattamento delle neoplasie infantili, pur aumentando in modo significativo la sopravvivenza dei bambini affetti da tumore, hanno una maggiore incidenza di effetti collaterali a lungo termine tra cui la possibile insorgenza di una seconda neoplasia. Tra i molteplici e ancora poco chiari fattori che possono essere chiamati in causa nella genesi di un secondo tumore, la suscettibilità individuale e l'intensità e durata del trattamento antiblastico possono svolgere un ruolo significativo. La fissazione di un danno al DNA o la ridotta capacità di riparo in seguito ad un trattamento farmacologico o radioterapico può rappresentare un fattore causale nel predisporre il paziente ad eventuali nuovi eventi. In questo studio abbiamo valutato, mediante la tecnica del Comet assay, l'effetto sul DNA dei linfociti di pazienti affetti da neoplasia solida in trattamento chemioterapico isolati da sangue periferico all'esordio della neoplasia, durante il trattamento ed in stop therapy. Lo scopo è quello di valutare il danno associato al trattamento e la risposta del paziente.

Metodi. L'impiego dell'elettroforesi su cellule singole o Comet assay è un metodo rapido e sensibile per analizzare rotture a livello di singola elica, siti alkali-labili e DNA cross linking. La tecnica è basata sulla separazione elettroforetica del DNA danneggiato dal DNA integro a livello di singole cellule associate ad analisi di immagine computerizzata.

Risultati. In questo studio pilota sono stati analizzati 6 pazienti affetti da tumori solidi in terapia. Le cellule sono state raccolte all'esordio della patologia, a tre tempi durante la terapia ed in stop therapy. È evidente un aumento del danno al DNA durante il trattamento in tutti i pazienti con recupero in 4 su 6 pazienti. È stata osservata una persistenza del danno in 2 su 6 pazienti.

Conclusioni. L'analisi del danno al DNA può rappresentare un metodo sensibile per verificare l'effetto della terapia e la risposta del paziente anche in relazione a diverse tipologie di trattamento. Si è evidenziato come in alcuni soggetti lo stato di danneggiamento del DNA non risulti reversibilizzato in stop therapy. Questa risposta verosimilmente può essere messa in relazione alla tipologia del trattamento e/o alle caratteristiche del paziente e potrebbe avere profonde implicazioni nella possibile insorgenza di nuovi eventi.

P002

AMPLIFICAZIONE ED ESPRESSIONE DI MYCN NEL RABDOMIOSARCOMA ED IMPLICAZIONI CLINICHE

Zin A, De Bortoli M, Bisogno G, Alaggio R, Garaventa A,¹ Gambini C,¹ Donfrancesco A,² Aricò M,³ Ferrari A,⁴ Di Cataldo A,⁵ Carli M, Rosolen A

Clinica di Oncoematologia Pediatrica ed Istituto di Anatomia Patologica, Azienda Ospedaliera-Università di Padova; ¹Medicina IV ed Anatomia Patologica, IRCSS Gaslini, Genova; ²Ospedale Bambino Gesù, Roma; ³Ospedale Pediatrico Meyer, Firenze, Palermo; ⁴Istituto Tumori, Milano; ⁵Policlinico G. Rodolico, Catania; per il CSS-Sarcomi Parti Molli AIEOP, Italy

Introduzione ed obiettivi. L'oncogene MYCN codifica per una fosfoproteina che agisce come fattore di trascrizione ed è coinvolta nella regolazione della proliferazione, differenziazione ed apoptosi di cellule normali e tumorali. Amplificazione ed elevata espressione di MYCN sono state riportate in diversi tumori pediatrici come neuroblastoma e retinoblastoma, ma pochi sono i dati relativi a MYCN in rapporto alle caratteristiche clinico-patologiche nel rhabdomyosarcoma (RMS).

Metodi. Abbiamo utilizzato la reazione a catena polimerasica quantitativa (QRT-PCR) per misurare i livelli di espressione di MYCN in 19 linee cellulari e in 69 biopsie tumorali (68 RMS e 1 neuroblastoma). Con tecnica FISH (fluorescence *in situ* hybridization) abbiamo valutato il numero di copie dell'oncogene MYCN in 6 linee cellulari ed in 28 neoplasie in cui era stato misurato il livello di espressione.

Risultati. Le linee cellulari che esprimono maggiormente MYCN sono IMR32 (neuroblastoma) e le linee di RMS alveolare (RMSA) RC2, RH4 ed RH28. Le linee di RMS embrionale (RMSE), CCA ed SMS-CTR, hanno un'espressione inferiore alle linee di RMSA, ma superiore alle linee non-RMS. L'amplificazione di MYCN è presente in 2 linee cellulari, IMR32 e RC2. Le biopsie di pazienti con RMSA hanno espressione variabile di MYCN mRNA rispetto al muscolo scheletrico normale, con valori fino a cinque ordini di grandezza superiori: il valore mediano relativo è 1217 per il RMSA e 303 per il RMSE ($p < 0.001$; Mann-Whitney test). Non è stata riscontrata differenza significativa in termini di PFS (Progression Free Survival) in rapporto ai livelli di espressione di MYCN. Il campione biotipico del paziente con neuroblastoma, 4/17 campioni di RMSA e 1/10 campioni di RMSE hanno mostrato amplificazione di MYCN. Data la modesta numerosità campionaria non è possibile valutare l'impatto dell'amplificazione sulla prognosi.

Conclusioni. Amplificazione ed aumentata espressione di MYCN sono caratteristiche biologiche del RMS: i livelli di espressione di MYCN sono significativamente più alti nel RMSA rispetto al RMSE, mentre l'amplificazione di MYCN può essere rilevata in entrambi i sottotipi istologici. Nella nostra casistica non è stata riscontrata associazione significativa tra espressione di MYCN e prognosi di malattia.

P003

SOVRADOSAGGIO DI OXALIPLATINO: UN CASO CLINICO

Soloni P, Compostella A, Carli M, Bisogno G

Clinica di Oncoematologia, Dipartimento di Pediatria di Padova, Azienda Ospedaliera di Padova, Italy

Introduzione. Errori nella somministrazione della chemioterapia (CT) possono comportare conseguenze gravi per il paziente. È riconosciuto che renderli noti può aiutare a preven-

nirli e a imparare a gestire le conseguenze. Questo è ancora più importante nel caso di farmaci per i quali l'esperienza è limitata, come per l'Oxaliplatino (OXP), poco usato in oncologia pediatrica. Per questo motivo descriviamo gli effetti di un sovradosaggio di OXP.

Caso clinico. Una bambina di 8 anni, affetta da neurofibromatosi 1 e trattata 7 anni prima per un rhabdomyosarcoma, ha presentato un tumore maligno delle guaine periferiche, trattato con chirurgia, CT e radioterapia. Alla recidiva si è iniziata terapia con gemcitabina (1000 mg/mq in 100 ml di fisiologica in 100 minuti) e OXP (100 mg/mq in 100 ml di glucosata al 5% in 120 minuti) ogni 2 settimane. Al terzo ciclo è stato somministrato OXP ad una dose di 1000 mg/mq (uguale a quella della gemcitabina). A circa metà infusione la bambina ha lamentato dolore severo agli arti inferiori e all'addome, e manifestazioni di tipo anafilattico con stridore laringeo e broncospasmo. Il quadro si è risolto dopo somministrazione di steroidi e adrenalina. All'indomani la paziente ha presentato incremento della creatinemia che si è mantenuto fino al giorno +10 (nadir al giorno +6, grado CTCAE 2) associato a piastrinopenia severa (CTCAE 4) a partire dal giorno +2 e persistita fino al decesso per progressione di malattia a 3 mesi dall'evento. Si è assistito a compromissione neurologica (comparsa di formicolio agli arti inferiori, nistagmo, deviazione dello sguardo dell'occhio sinistro, Babinsky dubbio) senza evidenti lesioni alla TAC e RMN cerebrale. La neuropatia si è risolta in 1 settimana. La paziente ha inoltre presentato irregolarità all'alvo (stipsi seguita da diarrea) e un quadro infettivo con febbre, broncopneumite e infezioni delle vie urinarie. Il quadro si è progressivamente risolto con la sola terapia di supporto e al giorno +43 dall'evento è stata ripresa CT con la sola gemcitabina.

Conclusioni. Gli errori nella somministrazione della CT sono un fenomeno poco studiato e la cui frequenza non è certa, in quanto vi è la tendenza a non segnalarli per paura delle conseguenze medico-legali. È invece importante "imparare" da questi avvenimenti in modo da poter individuare le cause dell'errore (e al fine di implementare misure di prevenzione) e sapere come affrontare le conseguenze. La nostra segnalazione va in questa direzione.

P004

REGRESSIONE COMPLETA DI METASTASI POLMONARI DA CARCINOMA RENALE DOPO TERAPIA BIOLOGICA CON SORAFENIB E INTERFERONE ALFA2B PEGILATO

De Pasquale MD, Pessolano R, De Ioris MA, Jenkner A, Inserra A, Cozza R, Donfrancesco A

Unità Operativa di Oncologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS - Roma, Italy

Introduzione. Il carcinoma renale (CR) costituisce l'1.9-6% dei tumori renali pediatrici. La chirurgia è il trattamento standard nelle forme localizzate, mentre la prognosi dei pazienti metastatici, sfavorevole in assenza di un trattamento efficace, impone nuovi approcci terapeutici.

Caso clinico. Per riscontro ecografico di massa addominale, nell'agosto 2007 giungeva alla nostra osservazione una ragazza di 14 anni con ipertensione arteriosa ed ipercreatinemia. La tomografia computerizzata (TC) total body evidenziava una neoformazione renale sinistra di 10.5x8x12.8 cm, con interessamento linfonodale locoregionale di 11 cm, multiple nodularità polmonari bilaterali ed una linfadenomegalia paratracheale. Eseguita agobiopsia della lesione addominale, la diagnosi istologica deponeva per CR. La scintigrafia sche-

letrica non mostrava localizzazioni ossee. Nel mese di settembre la bambina veniva sottoposta ad ureteronefrectomia e surrenectomia sinistra con linfadenectomia locoregionale. L'istologia confermava la diagnosi di CR con aspetti morfologici di "translocation carcinoma", pT3a pN2 Mx, Fuhrman grado 3. La funzione renale e la pressione arteriosa si normalizzavano; veniva quindi iniziata terapia con Sorafenib 200 mg x 2/die per os + interferone $\alpha 2\beta$ pegilato 1.5 mcg/kg settimanale sottocute (sc), ben tollerata salvo per episodi di rash cutaneo generalizzato e pruriginoso che richiedeva temporanee sospensioni del trattamento e assunzione di antistaminici per os. Dopo due mesi di trattamento, una TC torace-addome mostrava scomparsa delle lesioni toraciche e remissione locale di malattia. Dopo ulteriori 4 mesi la TC confermava tale remissione. Successivamente comparivano alcuni noduli sottocutanei subcentimetrici nella parete addominale che, biopsiati, deponevano per metastasi di CR, in assenza di altre localizzazioni. La paziente, attualmente in ottime condizioni generali, è in trattamento con bevacizumab 10 mg/kg ev ogni 2 settimane e Interferone $\alpha 2\beta$ pegilato 1.5 mcg/kg settimanale sc.

Conclusioni. In assenza di un trattamento convenzionale efficace, suggeriamo l'impiego del Sorafenib o altri farmaci biologici (Bevacizumab, Sunitinib, Temeosolimab) per aumentare non solo la sopravvivenza globale ma anche la sopravvivenza libera da eventi in questa patologia a cattiva prognosi, analogamente a quanto si sta verificando nel trattamento del CR nell'adulto.

P005

RECIDIVA METASTATICA TARDIVA DI NEUROBLASTOMA STADIO I

Pessolano R, De Pasquale MD, Castellano A, Jenkner A, De Ioris MA, Donfrancesco A

Unità Operativa di Oncologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS - Roma, Italy

Introduzione. Il neuroblastoma (NB) è la seconda neoplasia extracerebrale più comune dell'età pediatrica, costituendo l'8-10% delle neoplasie in questa fascia di età. Nel 50% dei casi la malattia esordisce in forma localizzata, con una sopravvivenza globale dell'80-100% dopo sola chirurgia ed una sopravvivenza libera da ricaduta per il NB stadio I INSS del 100%. Descriviamo una recidiva tardiva disseminata di neuroblastoma stadio I a 10 anni dalla fine della terapia.

Caso clinico. Nel giugno del 1997 giungeva alla nostra osservazione una bambina di 4 anni con una massa in emiaddome destro, aumentati livelli urinari di acido vanilmandelico (AVM) ed omovanillico (AOV), senza localizzazioni a distanza. Veniva eseguita resezione chirurgica radicale della lesione: la diagnosi istologica era di NB ad istologia sfavorevole secondo la classificazione INPC (*International Neuroblastoma Pathology Classification*). Lo studio dell'amplificazione N-Myc (N-Myc ampl) e della delezione 1p (del1p) non veniva effettuato per inadeguatezza del campione. Successivamente la bambina proseguiva il follow up con periodici controlli clinici, ematochimici e strumentali che confermavano uno stato di remissione completa. A novembre 2007, compariva una tumefazione in regione temporo-mastoidea sinistra. L'esame istologico della lesione deponeva per NB scarsamente differenziato, N-Myc gain e del1p assente. I livelli urinari AVM ed AOV erano nella norma, mentre la MIBG-scintigrafia e le biopsie osteo-midollari mostravano una diffusa infiltrazione tumorale. La paziente ha quindi iniziato trattamento per NB alto rischio tuttora in corso.

Discussione. Segnaliamo un caso singolare di ricaduta tardiva metastatica di NB stadio I. L'istologia sfavorevole secondo Shimada, presente nella nostra paziente all'esordio, dovrebbe influenzare relativamente la prognosi dello stadio I analogamente l'amplificazione di N-Myc. Si tratta di una recidiva disseminata a distanza di NB stadio I o di un nuovo NB stadio 4 con caratteristiche biologiche diverse dal precedente? Una raccolta dati in ambito cooperativo, unitamente a studi biologici più raffinati sul primo tumore e sui frammenti del secondo, sono necessari per approfondire tali aspetti.

P006

VALUTAZIONE A LUNGO TERMINE DELLA FUNZIONE RENALE IN SOGGETTI SOTTOPOSTI A NEFRECTOMIA RADICALE PER TUMORE DI WILMS

Terenziani M,¹ Ardisino G,² Testa S,² Catania S,¹ Collini P,³ Gandola L,⁴ Marchionò A,⁵ Piva L,⁶ Fossati-Bellani F,¹ Spreafico F¹

¹Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori Milano – Oncologia Pediatrica; ²Fondazione IRCCS Policlinico Clinica De Marchi Milano, Nefrologia Pediatrica; ³Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori Milano, Anatomia Patologica; ⁴Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori Milano – Radioterapia; ⁵Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori Milano - Radiologia; ⁶Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori Milano, Urologia/Chirurgia Pediatrica, Italy

Introduzione e obiettivi. Dati a lungo termine riguardanti la funzione renale di pazienti sottoposti a nefrectomia unilaterale per tumore di Wilms (TW) sono scarsi. Segnalazioni precedenti hanno riportato il rischio di sviluppare microlalbuminuria (uMA), ipertensione (HPT) e anche riduzione del filtrato glomerulare (GFR). Lo scopo della presente analisi è di valutare lo stato della funzione renale in una coorte di pazienti sottoposti a nefrectomia radicale per TW e trattati omogeneamente senza farmaci potenzialmente nefrotossici.

Pazienti e Metodi. Sono stati valutati 15 pazienti sottoposti a nefrectomia per TW e trattati con due farmaci (vincristina e actinomicina D) per TW stadio I (8 casi) e stadio II (7 casi) e con un follow up superiore ai 10 anni (mediano 13,3 aa; range 10, 2-19,3 aa). Due pazienti sono stati sottoposti anche a radioterapia sul fianco. Sono state valutate: a) la funzione glomerulare (espressa come clearance della creatinina (Ccr) calcolata secondo la formula di Cockcroft-Galt); b) la microalbuminuria uMA (uMA) (come uMA/uCr ratio); c) l'escrezione di beta2Microglobulina (ubeta2/uCr); d) la registrazione della pressione arteriosa nell'arco di 24 ore (ABPM).

Risultati. L'età mediana al momento della presente analisi è stata di 18,3 aa (range 12, 7-30,4 aa). Nessuno dei soggetti osservati presentava GFR sotto i valori di norma (GFR medio: 109,8±26,8 ml/min/1,73 m²) così come per i livelli di ubeta2/uCr (media: 0,50±0,3). Il valore medio di uMa/uCr era 0,13±0,1 e un solo un caso mostrava livelli superiori alla norma (uMA7uCr:5.3). La pressione arteriosa registrata nelle 24 ore è risultata normale in tutti i soggetti.

Conclusioni. Dall'analisi di questa serie emerge che, dal punto di vista della funzione renale, la nefrectomia radicale costituisce una procedura sicura nei pazienti con TW, non compromette la funzione renale e può rimanere lo standard chirurgico per il TW monolaterale, senza sindromi predisponenti l'insorgenza della neoplasia. Vista la lunga aspettativa di vita di questi soggetti, si consiglia comunque un monitoraggio della funzione renale ogni 5 anni.

P007

AUMENTO DEL CA 19.9: NON SEMPRE CATTIVE NOTIZIE

Tamburini A, Tondo A, Casini T, Frenos S, Farina S, Cardellicchio S, Lippi A, Aricò M

Dipartimento Oncoematologia Pediatrica e Cure Domiciliari, Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer, Firenze, Italy

Ca 19.9 è considerato il marker sierologico più specifico e sensibile di neoplasia epiteliale e pertanto viene usato per il loro screening. Tuttavia il suo rialzo può essere associato a varie condizioni: pancreatiti, cisti pancreatiche, colangiti, calcolosi, vie biliari, cisti bronchiali, bronchiectasie, fibrosi polmonare, cisti ovariche, endometriosi, gravidanza, epatite cronica, glomerulonefriti, emodialisi e dialisi peritoneale. In un unico caso è descritta l'associazione di imene imperforato con alti livelli sierici di Ca 19.9 e Ca 125.

La paziente, di 8 anni, viene per accertamenti in merito ad aumento del Ca19.9 con valori compresi tra 50 e 60 U/mL (v.n.<37), riscontrati nel corso di indagini per pubarca precoce. Alla anamnesi riferisce solo pregresse infezioni delle vie urinarie e perdite vaginali. La bambina è asintomatica, in buone condizioni generali buone; peso al 10° ed altezza al 75° centile; apiretica, nulla di significativo all'esame fisico; lo sviluppo puberale è B1PH1, con pseudoipertrofia del clitoride e vulvite. Normali sono risultati: esami biochimici di routine; Rx torace, eco addome e tiroide, RM addome; funzionalità tiroidea ed ipotalamo/ovarica; CEA, AFP, BetaHCG, Ca125. Il Ca19.9 si conferma elevato (72,3U/mL). La visita ginecologica mostra all'ispezione della vulva una membrana imenale a tasca.

La bimba viene seguita nel tempo: ai controlli successivi rimane asintomatica ma ricompaiono le infezioni urinarie ricorrenti; si mantiene il rialzo del Ca19.9, pur con piccole fluttuazioni. Per verificare la pervietà dell'imene la paziente è stata sottoposta a cistoscopia-vaginoscopia che documenta solo imene imperforato, con mucosa vaginale biancastra e secernente; viene effettuata imenotomia. Il valore di Ca19.9 si riduce dopo un mese ed è normale dopo 3 mesi.

In conclusione, va ricordato che alti livelli di Ca19.9 possono segnalare un imene imperforato, la più frequente malfunzione congenita del distretto genitale femminile.

P008

CARCINOMA DEI PLESSI CORIOIDEI: APPROCCIO COMBINATO NELL'INDUZIONE DELLA REMISSIONE

Quaglietta L, Fecarotta L, Verrico A, Astarita L, Capasso M, Zanotta G, Cinalli G,¹ Migliorati R, Fiorillo A²

S. C. di Pediatria Oncologica, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli; ¹S.C. di Neurochirurgia Pediatrica, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli; ²Dipartimento di Pediatria, Università di Napoli "Federico II", Italy

Il carcinoma dei plessi corioidei (CPC) rappresenta circa l'1-4% dei tumori cerebrali dell'età pediatrica. Nel 70% dei casi interessa pazienti di età inferiore ai 2 anni. Il trattamento chirurgico rappresenta il gold standard della terapia; la radioterapia, pur gravata da importanti effetti collaterali nei pazienti di età <3 anni, compromettendo e interferendo con il normale sviluppo psicomotorio, è impiegata in questo tipo di tumore, soprattutto se la resezione è incompleta. Il ruolo della chemioterapia è invece controverso. È auspicabile che l'approccio farmacologico possa contribuire ad aumentare la sopravvivenza dei pazienti affetti da CPC.

Descriviamo il caso clinico di un bambino di 2 anni il quale, in seguito alla comparsa di deficit motorio e torpore ingravescente, praticava tomografia assiale computerizzata cerebrale che mostrava la comparsa di una voluminosa lesione espansiva del carrefour ventricolare sinistro con segni di idrocefalo tetraventricolare. Il paziente veniva sottoposto ad intervento chirurgico con posizionamento di derivazione ventricolo-peritoneale e resezione parziale del tumore. L'esame istologico risultava compatibile con la diagnosi di CPC. L'indice di proliferazione, valutato all'immunoistochimica su tutte le sezioni (Ki67/MIB1), risultava pari al 30%.

Il trattamento chemioterapico adiuvante a cui veniva sottoposto il bambino prevedeva la somministrazione sequenziale, secondo protocollo già descritto (Pediatr Neurosurg 2003;38:21-6.). La risonanza magnetica nucleare (RMN) post-trattamento mostrava una marcata riduzione del tumore (30%) con persistenza di residuo tumorale profondo marcatamente ed omogeneamente impregnante dopo m.d.c. Il residuo tumorale veniva trattato chirurgicamente con intervento di asportazione mediante sistema di neuronavigazione RMN-guidato. L'esame istologico rivelava riduzione dell'indice di proliferazione (<5%); tuttavia la RMN post-intervento evidenziava ancora persistenza di un nucleo parietale sinistro marcatamente impregnante dopo m.d.c. che veniva dopo alcune settimane asportato con successo. I controlli successivi confermavano la remissione completa.

In conclusione, il caso clinico riportato supporta l'efficacia della chemioterapia sequenziale con carboplatino, ciclofosfamide, etoposide, doxorubicina e methotrexate nel trattamento del CPC. L'approccio combinato farmacologico e chirurgico nel CPC è in grado di indurre la remissione completa ed evitare la radioterapia < 3 anni di età, migliorando così outcome, sopravvivenza e qualità di vita di tali pazienti.

P009

FIBROMATOSI AGGRESSIVA DEL BAMBINO E DELL'ADOLESCENTE. ANALISI RETROSPETTIVA DELLA CASISTICA AIEOP E DELL'ISTITUTO NAZIONALE TUMORI (INT) DI MILANO

Meazza C,¹ Bisogno G,³ Gronchi A,² Fiore M,² Casanova M,¹ Favini F,¹ Cecchetto G,⁴ Carli M,³ Ferrari A¹

¹Oncologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori Milano; ²Chirurgia Melanomi-Sarcomi, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori Milano; ³Oncologia Pediatrica, Università di Padova; ⁴Chirurgia Pediatrica, Università di Padova, Italy

Introduzione. Riportiamo la revisione di una casistica retrospettiva di 94 pazienti affetti da fibromatosi aggressiva (50 F, 44 M; età 1 mese-21 anni, mediana 10; sede della malattia: 31 testa-collo, 38 arti, 18 tronco, 7 addome), di cui 67 trattati c/o l'INT di Milano e 27 registrati nel protocollo AIEOP dei sarcomi delle parti molli, con particolare riferimento all'efficacia della terapia farmacologica.

Pazienti e Metodi. Gruppo I (chirurgia completa, con margini ampi, alla diagnosi): 23 pazienti, nessuno ha ricevuto terapie adiuvanti. Gruppo II (chirurgia marginale con residui microscopici): 42 pazienti, 5 hanno ricevuto radioterapia, 1 toremifene. Gruppo III (chirurgia con residui macroscopici o biopsia): 29 pazienti; 15 sono stati trattati con terapia sistemica, 9 hanno ricevuto una chirurgia differita (4 completa), 1 radioterapia.

Risultati. Con un follow-up mediano di 130 mesi, le sopravvivenze libera da eventi e totale a 5 anni sono 44% e 99%, rispettivamente. Gruppo I: 5 pazienti (22%) sono ricaduti localmente e sono in seconda remissione dopo ulteriore chi-

urgia. Gruppo II: 32 pazienti (76%) hanno avuto una recidiva locale: 22 pazienti hanno ricevuto una seconda chirurgia, 7 pazienti sono stati trattati con terapia sistemica. Due pazienti sono deceduti, uno per malattia (S. di Gardner), uno per cause ignote. Gruppo III: 22 pazienti (76%) sono ricaduti localmente: 17 hanno ricevuto una seconda chirurgia, 5 radioterapia e 10 un trattamento farmacologico. Un paziente con fibromatosi addominale è deceduto per malattia, uno per cause ignote. Terapia farmacologica: Tra i 15 pazienti gruppo III trattati in 1° linea, 6/15 hanno avuto una risposta parziale (RP), 7/15 malattia stazionaria; tra i pazienti trattati alla recidiva (18 in seconda + 16 in terza linea), si sono avute 3/34 remissione complete (RC) e 14/34 RP. In relazione ai farmaci utilizzati, le risposte obiettive (RC+RP) sono state 14/21 con MTX+velbe/vinorelbina, 6/15 con IVA/VAIA/VAC e 3/10 con tam/sulindac/IFN alfa.

Conclusioni. La prognosi, ottima per le altre sedi, resta incerta per le fibromatosi addominali. La recidiva locale non modifica sostanzialmente le probabilità di risposta alle terapie né la sopravvivenza. La chirurgia rappresenta il trattamento di scelta solo quando fattibile con margini chirurgici ampi. Il controllo locale ottenuto con chirurgia marginale non differisce da quello ottenuto con chirurgia intralesionale/biopsia. Si sono osservate significative percentuali di risposta alla terapia sistemica, in particolare al regime MTX+velbe/vinorelbina.

P010

ANALISI DEL LOCUS 6P22 IN PAZIENTI CON NEUROBLASTOMA. DATI PRELIMINARI IN ITALIA

Cetica V, Tamburini A, Tucci F, Aricò M

Dipartimento Oncoematologia Pediatrica e Cure Domiciliari Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer, Firenze, Italy

Background. Il neuroblastoma è un tumore maligno che si sviluppa a carico del sistema nervoso simpatico in fase evolutiva. Colpisce frequentemente bambini nei primi anni di vita con esito infausto. Non sono note ad oggi le sue cause dirette. Di recente è stato descritto da Maris *et al.* (N Engl J Med 2008;358) la associazione tra sostituzioni nucleotidiche nella banda 6q22, contenente i geni predetti FLJ22536 e FLJ44180, e la suscettibilità al neuroblastoma.

Metodi. Abbiamo analizzato 8 pazienti con neuroblastoma IV stadio e 50 soggetti normali di controllo. Il DNA genomico è stato estratto da linfociti del sangue periferico. Allo scopo di identificare le sostituzioni nucleotidiche rs6939340, rs4712653 e rs9295536, abbiamo costruito tre coppie di primers per la analisi mediante sequenziamento diretto, eseguito utilizzando un analizzatore automatico Applera ABI3130XL. La lettura delle sequenze è stata eseguita mediante software SeqScape.

Risultati. Degli 8 pazienti studiati, 3 hanno mostrato il genotipo omozigote mutato per tutti e tre i loci in studio, uno è mutato in omozigosi per due dei tre loci, uno è omozigote WT per i tre loci, due sono eterozigoti per i tre loci, uno è eterozigote per un solo locus. Nei nostri controlli la mutazione in omozigosi per i tre loci è presente nel 14%. La assenza di pazienti con amplificazione di MYC-N non permette di valutare una sua eventuale associazione con le mutazioni. Il linkage tra le mutazioni nei tre loci studiati è rispettato in 6 pazienti su 8, ed in 35 su 50 controlli.

Conclusioni. La frequenza di mutazioni nei tre loci proposti è significativamente ($p < 0.01$) maggiore nei nostri pazienti con neuroblastoma disseminato rispetto alla popolazione di controllo. Il linkage tra le mutazioni nei tre loci studiati suggerisce

scie la presenza di una trasmissione concomitante e quindi un possibile aplotipo collegato con la propensione a sviluppare la malattia.

Tabella 1. Frequenza delle mutazioni studiate in 8 pazienti con neuroblastoma stadio IV.

Caso #	Età	genotipo rs6939340, rs4712653, rs9295536	MYC-N amplificato	Decorso
83	Neonato	A/G, T/T, C/C	-	Progressione di malattia
93	1 a.	A/G, T/C, C/A	-	Progressione di malattia
95	3 a.	G/G, C/C, A/A	-	RC, Recidiva a 1 a.
96	3 a.	G/G, C/C, A/A	-	RC, Recidiva a 5 a.
97	5 a.	G/G, C/C, C/A	-	RC, Recidiva a 1 a.
194	5 a.	A/A, T/T, C/C	-	RC, in terapia
195	2 a.	A/G, T/C, C/A	-	RC, stop terapia
196	Neonato	G/G, C/C, A/A	-	In terapia

Frequenza delle mutazioni studiate nei soggetti di controllo.

Genotipo		Numero	%
Wild type	A/A, T/T, C/C	9	18
Omozigoti mutati	G/G, C/C, A/A	7	14
Eterozigoti per 1 locus	2	4	
Eterozigoti per 2 loci	7	14	
Eterozigoti per 3 loci	25	50	

P011

TERAPIA ORALE CON TOPOTECAN, CICLOFOSFAMIDE E GEFITINIB IN NEUROBLASTOMI RESISTENTI E/O RECIDIVATI

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

Unità Operativa di Oncologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS - Roma, Italy

Background. la chemioterapia orale sub continua può rappresentare una valida alternativa di seconda linea in pazienti resistenti/recidivati. Abbiamo valutato la fattibilità ed efficacia dell'associazione di Gefitinib (G), un inibitore dell'EGFR, con topotecan(TPT) e ciclofosfamide(CPA) in pazienti affetti da neuroblastoma recidivati e/o resistenti.

Pazienti e Metodi. CPA (50 mg/m²/die) seguito da TPT(0.8 mg/m²/die) plus G(dose fissa 250 mg/die) per 14 giorni consecutivi sono stati somministrati per via orale in regime di Day-Hospital. I cicli sono stati ripetuti ogni 28 giorni fino a progressione.

Risultati. i 9 pazienti ,3M/6F, età media 72 mesi (range 50-99), trattati da Ottobre 2004, avevano presentato una recidiva/progressione dopo chemioterapia ad alte dosi seguita da reinfusione di cellule staminali periferiche. All'inclusione, 5 pazienti erano in PR, uno in SD e uno in PD dopo terapia di seconda linea mentre 2 pazienti in PD subito dopo chemioterapia ad alte dosi. Livelli significativi di EGFR mRNA erano presenti in 4/6 tumori primitivi. Sono stati somministrati in media 7 cicli (range 1-24). Una riduzione di dose del 25% è stata necessaria per il TPT e la CPA dopo il primo ciclo in 6 pazienti. Dopo 4 cicli, 3 pazienti erano in PR, 3 in SD e 3 in PD. Dopo un follow-up di 15 mesi (range 6-4), 5 pazienti sono

morti e 4 vivi. Dei 4 pazienti vivi, 1 è in trattamento dopo 28+ mesi dall'inclusione e 3 pazienti hanno interrotto per PD dopo 27, 15 e 10 mesi. PFS mediano è stato 10 mesi (range 1-28). Una neutropenia di grado 4 CTC è stata osservata in 3 pazienti, piastrinopenia grado 3-4 in 6, rash grade 2 in 2 e tossicità epatica grado 3 in 1.

Conclusioni. lo schema terapeutico proposto è fattibile e ben tollerato in pazienti altamente pre-trattati. Il PFS è molto incoraggiante ma dovrà essere confermato in uno studio di fase II.

P012

HYPOXIA REPRESSES THE DIFFERENTIATIVE EFFECTS OF BMPs IN HIGH GRADE GLIOMA

Pistollato F, Abbadì S, Panchisio D, Basso G

Laboratorio di Oncoematologia, Dip.to di Pediatria, Università di Padova, Italy; Center for Neuroscience Research, Children's Research Institute, CNMC, Washington, DC, USA

Hypoxia commonly occurs in solid tumors of the central nervous system (CNS) and often interferes with therapies designed to stop their growth. We found that while oxygen tensions in the low-to-middle physiological range (2% and 5%) promote the expansion of normal CNS precursors compared with high (20%) oxygen, only 2% oxygen maximally promoted expansion of nestin-positive precursors from high grade glioma (HGG). Hypoxia inhibited p53 activation and subsequent astroglial differentiation. Surprisingly, we found that tumor precursors generated endogenous Bone morphogenetic protein (BMP) signaling that promoted mitotic arrest at 20% oxygen, but that was actively repressed by hypoxia. An acute increase from 2% to 20% oxygen led to SMAD activation within 30 min in the absence of exogenous BMP treatment. Treatment with BMPs further promoted astroglial differentiation or death of tumor precursors in 20% oxygen, but this effect was inhibited by hypoxia. Conversely, BMP activation at a high oxygen tension led to a degradation of hypoxia-inducible factor 1 (HIF1); this BMP-induced degradation was inhibited in low oxygen. These results show a novel reciprocal regulation of oxygen-response and neural differentiation signals in brain tumors, and demonstrate differences between normal and tumor-derived precursors that may be exploited for cancer therapy.

P013

RECIDIVE TARDIVE (>5 ANNI) IN BAMBINI AFFETTI DA TUMORE SOLIDO: STUDIO MONOISTITUZIONALE

Schiavetti A, Foco M, Chiriaco D, Ingrosso A, Marucci G, Clerico A, Castello MA

Dipartimento di Pediatria, Università di Roma La Sapienza, Italy

Introduzione e obiettivi. Nei tumori solidi infantili, il periodo di tempo considerato a rischio per eventuali recidive non è ancora perfettamente stabilito. In questo studio abbiamo valutato l'incidenza di recidive tardive di malattia (dopo più di 5 anni di follow-up) in pazienti affetti da tumori solidi trattati presso un unico centro di oncologia pediatrica.

Metodi. Sono state revisionate le cartelle cliniche di pazienti che hanno avuto diagnosi di tumore solido dal Gennaio 1990 al Dicembre 2001 e seguiti fino al gennaio 2008 presso il Servizio di Oncologia Pediatrica dell'Università "Sapienza" di Roma. Lo studio delle recidive a distanza ha incluso pazienti in prima remissione completa che non erano recidivati pri-

ma dei 5 anni a partire dalla data di diagnosi.

Risultati. Sono stati analizzati 427 casi; dei 293 lungosopravvissuti 7 (2,4%) hanno presentato una recidiva dopo una media di 7 anni (range 5-9 anni, mediana 7 anni) dalla diagnosi. La recidiva si è verificata in 1 paziente con rabdomiosarcoma, in 1 con sarcoma di Ewing, in 2 con neuroblastoma ed in 3 con medulloblastoma. Nessun paziente con diagnosi di nefroblastoma, linfoma, carcinoma, epatoblastoma/epatocarcinoma, retinoblastoma, istiocitosi a cellule di Langerhans, tumori a cellule germinali ha presentato recidive dopo 5 anni. Tutti i pazienti con recidiva a distanza sono deceduti per malattia, eccetto il paziente con rabdomiosarcoma che aveva presentato una recidiva linfonodale.

Conclusioni. Nei bambini affetti da tumori solidi, le recidive tardive sono un evento raro, ma con prognosi severa. Nonostante i dati derivino da uno studio monoistituzionale, rabdomiosarcoma, sarcoma di Ewing, neuroblastoma e medulloblastoma hanno presentato una maggiore probabilità di recidiva a distanza rispetto agli altri istotipi. Da questi dati emerge l'esigenza di un follow-up oncologico più lungo per alcuni istotipi, pur rimanendo valido il concetto che tutti i casi necessitano di follow-up a tempo indeterminato per complicanze tardive.

P014

STUDIO CLINICO DI FASE II CON GLIVEC NEL NEUROBLASTOMA IN FASE AVANZATA

Calafiore L,¹ Luksch R,² Dominici C,³ Corrias MV,¹ Collini P,² Podda M,² Garaventa A¹

¹Dipartimento di Oncologia, Istituto G. Gaslini, Genova; ²Divisione di Oncologia Pediatrica, Istituto Nazionale di Tumori, Milano; ³Dipartimento di Pediatria, Università La Sapienza, Roma, Italy

Introduzione e obiettivi. Il Glivec (Imatinib mesilato) inibisce la crescita tumorale e induce apoptosi in diverse linee cellulari tumorali, anche di Neuroblastoma, sia *in vitro* che nel modello animale. Abbiamo perciò disegnato uno studio di Fase II per valutare l'attività terapeutica nei pazienti con Neuroblastoma in fase avanzata.

Metodi. Lo studio prevede l'arruolamento di 24 pazienti affetti da neuroblastoma stadio 4 che non abbiano acquisito almeno remissione completa o "very good partial remission" dopo terapia di prima o seconda linea. Il trattamento con Glivec prevede un primo mese a 340 mg/m² orale e in assenza di tossicità l'incremento della dose a 600 mg/m² die fino ad un massimo di 800 mg die.

Risultati. Tra Marzo 2006 ed Aprile 2008 14 pazienti (7 maschi, 7 femmine) sono stati arruolati nello studio. Sette pazienti sono attualmente in trattamento. Attività antitumorale: di 2 pazienti con malattia residua dopo terapia di prima linea 1 ha acquisito remissione completa (7+) e l'altro ha malattia stabile (5+) ancora attualmente in trattamento. Due pazienti sono stati trattati per recidiva di malattia, 1 è in remissione completa (18+), l'altro è rimasto stabile per 6 mesi ed è stato poi sottoposto a radioterapia. Un paziente con malattia residua dopo terapia di seconda linea ha acquisito remissione completa (2+) e anch'esso è tuttora in terapia. Nove pazienti erano scarsamente o non responsivi al trattamento di seconda linea, 4 sono in trattamento (1RP,3SD) e 5 hanno avuto progressione.

Tossicità. Un paziente ha presentato un peggioramento della preesistente piastrinopenia; un paziente ha presentato febbre; due pazienti hanno presentato cefalea e uno dolori ossei dopo l'incremento del dosaggio.

Conclusioni. lo studio è tuttora aperto al reclutamento avendo superato il primo studio di 10 pazienti. I dati preliminari sembrano dimostrare una buona tollerabilità e una qualche attività nei pazienti con malattia residua.

P015

SEQUELAE TARDIVE DELLA COMPRESSIONE MIDOLLARE NEL NEUROBLASTOMA LOCALIZZATO

Angelini P, De Bernardi B, Giuliano M, Viscardi E, Bianchi M, Luksch R, Bruzzi P, Pastore G

Gruppo Neuroblastoma AIEOP, Italy

Obiettivo. Descrivere le sequelae tardive della compressione epidurale (EC) in gruppo di bambini con neuroblastoma localizzato.

Pazienti e Metodi. sono stati identificati 101 bambini con neuroblastoma localizzato e EC vivi ad oltre 2 anni dalla diagnosi. Si è ottenuta adeguata informazione in 98 di essi, che sono oggetto di questo studio.

Risultati. I sintomi di EC alla diagnosi includono deficit motorio in 94/98 casi e deficit sfinterici in 33. La terapia iniziale è consistita in chemioterapia per 66 casi, decompressione chirurgica in 29 e radioterapia in 3. La chemioterapia è stata scelta più frequentemente nei bambini inferiori all'anno e con neoplasia inoperabile (stadio 3). Il trattamento complessivo è consistito nella sola chemioterapia in 44 casi, neurochirurgia+chemioterapia in 38, radioterapia+chemioterapia+neurochirurgia in 16. Tempo d'osservazione mediano di 7.3 anni, 57/98 bambini hanno sviluppato una o più complicanze tardive. L'evidenza di deficit motorio all'ultimo follow-up è correlata all'età ed alla severità del deficit motorio alla diagnosi, ed all'utilizzo del trattamento neurochirurgico. Alterazioni della colonna vertebrale (per lo più scoliosi) sono state riscontrate più frequentemente nei bambini che presentavano alla diagnosi deficit motorio severo e che sono stati trattati con laminectomia e/o radioterapia. Disfunzione vescicale è stata riscontrata più frequentemente nei bambini con la stessa disfunzione e con deficit motorio severo all'esordio, ed era meno comune nei casi trattati con sola chemioterapia. Non si è trovata correlazione tra sequelae tardive e durata dell'intervallo tra i sintomi di EC e la diagnosi di neoplasia.

Conclusioni. Nel presente studio, più della metà dei bambini con neuroblastoma localizzato che presentano alla diagnosi sintomi di EC hanno sviluppato una o più sequelae tardive. La severità del deficit motorio alla diagnosi è risultato il fattore che più ha favorito l'insorgenza e la gravità di sequelae tardive.

P016

STUDIO DI MARCATORI DI IPERCOAGULABILITÀ NEL NEUROBLASTOMA AD ALTO RISCHIO

Schiavetti A, Iacobini M, Chiriaco D, Foco M, Marucci G, Ingresso A, Conti L¹

Dipartimento di Pediatria Università "La Sapienza", Roma; ¹Unità di emostasi e trombosi - Istituto "Regina Elena", Roma, Italy

Introduzione e obiettivi. Poiché la prevalenza di trombosi venose (TV) è risultata più alta nei pazienti affetti da neuroblastoma (NB) in stadio avanzato (Schiavetti *et al.* J Pediatr Hematol Oncol 2008), abbiamo analizzato i meccanismi dell'aumentata generazione di trombina al fine di identificare una eventuale associazione tra trombosi e disordini protrombotici.

ci acquisiti correlati al tumore.

Metodi. Pazienti con NB in stadio avanzato sono stati studiati con eco-color-doppler dei vasi del collo e dosaggio dei fattori trombofilici. Livelli sierici del fattore tissutale (TF), del fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF), del frammento di attivazione della protrombina 1+2 (F1+2) e del complesso trombina-antitrombina (TAT) sono stati analizzati. Inoltre, analisi per omocisteina, antitrombina, proteina C, proteina S, fattore V di Leiden, resistenza alla proteina C attivata (APCR), mutazione H1299R e G1691A del fattore V, mutazione G20210A della protrombina, mutazione T677 e A1298C del metilene-tetraidrofolato reductasi (MTHFR) e allele 4G dell'inibitore-1 dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1) sono state effettuate al fine di escludere la presenza di trombofilia ereditaria.

Risultati. Sono stati arruolati 6 pazienti consecutivi (1 femmina e 5 maschi) – età media: 48,8 mesi – con NB in stadio avanzato (cinque casi in stadio 4 e uno in stadio 3 recidivato). Tutti erano portatori di catetere venoso centrale (durata media: 8,5 mesi). Tre di questi erano in progressione di malattia, uno all'esordio, uno in remissione parziale e uno in remissione completa. Quattro dei 6 pazienti (67%) presentavano una trombosi venosa asintomatica catetere-correlata, visualizzata tramite eco-color-doppler. Tre di questi erano in progressione di malattia e uno all'esordio. Nessuno dei pazienti arruolati presentava fattori di trombofilia ereditaria. I pazienti con TV avevano livelli di TF e F1+2 oltre la norma.

Conclusioni. Nei pazienti con NB avanzato e TV i livelli di TF elevati sono correlati con aumentati livelli di F1+2, sottolineando l'evidenza del ruolo della via estrinseca nello stato di ipercoagulabilità.

P017

SARCOMA DI EWING DELLA COSTA. CASISTICA DELL'ISTITUTO GASLINI

Calafiore L,¹ Hanau G,¹ De Bernardi B,¹ Nantron M,¹ Michelazzi A,² Magnano GM,³ Galleni B,¹ Garaventa A¹

¹Dipartimento di Emato-Oncologia Pediatrica; ²UO di Chirurgia Pediatrica; ³UO di Radiologia, Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy

Introduzione e obiettivi. Il SE costale rappresenta il 10-15% dei casi di questa neoplasia in età pediatrica. La letteratura relativa è scarsa e non chiarisce se la sua prognosi è peggiore rispetto alle altre sedi e richiede pertanto un trattamento ad hoc.

Metodi. Abbiamo condotto un'analisi retrospettiva dei 26 casi diagnosticati presso il nostro Istituto dal gennaio 1977 all'aprile 2008.

Risultati. Si trattava di 13 maschi e 13 femmine. L'età mediana alla diagnosi era di 10 anni (estremi, 2.3-15.7). La malattia era localizzata in 18 e metastatica in 8 (polmoni in 5, ossa, osso più midollo e pleura più midollo in 1 caso ciascuno). I tumori primitivi presentavano pressochè uniformemente un volume maggiore di 200 mL.

Costectomia parziale è stata eseguita in 6 casi, biopsia diagnostica nei rimanenti 20. Tutti i 26 casi hanno poi ricevuto polichemioterapia secondo i protocolli in uso (includente alte dosi in 4), per un periodo variabile da 6 a 18 mesi. La sola chirurgia ha costituito il "controllo locale" in 13 casi, inclusi 4 dei 6 operati *d'emble*, ed è consistita in disarticolazione in 4 e costectomia parziale in 9. Due casi sono stati trattati con la sola radioterapia e 10 con chirurgia più radioterapia. In 1 caso (di 4 tuttora in trattamento) il controllo locale non è ancora stato attuato.

Quattordici su 26 pazienti sono deceduti, 10/18 con malat-

tia localizzata (1 progressione, 7 recidive, 1 secondo tumore in sede irradiata ed 1 per cardiopatia iatrogena) e 4/8 con malattia metastatica (1 progressione, 3 recidive).

Nove recidive (7 metastatiche, 1 locale più metastatica ed 1 solo locale) si sono verificate nei casi di tumore localizzato, 3 sono occorse nei casi metastatici (metastatica, locale più metastatica e locale in 1 caso ciascuno). Dieci dei 12 pazienti recidivati sono deceduti, 1 è in trattamento ed 1, con malattia localizzata e recidiva metastatica, è attualmente in II RC.

Il follow-up mediano dei 6 pazienti in I RC è 13.6 anni (estremi, 4.2-22.5). La sopravvivenza complessiva a 5 anni è del 47% per i tumori localizzati, del 33% per i tumori metastatici. La sopravvivenza libera da eventi a 5 anni è del 37% per i casi localizzati, del 33% per i casi metastatici.

Conclusioni. I pazienti con SE costale qui descritti hanno presentato un decorso clinico peggiore rispetto ai nostri casi di SE originanti in altre sedi. La maggior parte delle recidive sono state metastatiche anche nelle forme localizzate, senza apparente correlazione con la modalità di controllo locale adottato.

P018

CARATTERIZZAZIONE CITOGENETICA DI UN AMARTOMA FIBROSO DELL'INFANZIA

Morerio C,¹ Tassano E,¹ Rapella A,¹ Nozza P,² Garaventa A,¹ Panarello C¹

¹Dipartimento di Ematologia ed Oncologia Pediatrica, ²U.O. di Anatomia Patologica, IRCCS Istituto G. Gaslini, Genova, Italy

L'amartoma fibroso dell'infanzia è una rara proliferazione fibrosa benigna dei tessuti molli superficiali che compare in genere durante i primi due anni di vita ed è congenita nel 20% dei casi. Prevalente nel sesso maschile, si localizza di preferenza ai cavi ascellari, spalle, braccia, parte superiore del tronco e regione inguinale. Istologicamente è contraddistinta da una proliferazione organoide, poco circoscritta, costituita da tessuto fibroso, tessuto adiposo maturo e mesenchima immaturo. Caso clinico: un bambino di 14 mesi giungeva alla nostra osservazione con una tumefazione perineale destra, del diametro di quasi 7 cm, comparsa al terzo mese di vita ed accresciutasi progressivamente. Ecografia e RMN escludevano la possibilità di lesione vascolare. Un'agobiopsia mostrava una proliferazione miofibroblastica, non altrimenti specificabile. Si procedeva quindi all'escissione chirurgica: l'esame istologico mostrava una proliferazione organoide, ipodermica, non ben circoscritta, caratterizzata dalla commistione di trabecole di tessuto fibroso (fasci di cellule fusiformi, con nuclei vescicolari e citoplasmici eosinofili, immerse in una matrice collagena), nidi di cellule mesenchimali indifferenziate (in uno stroma mixoide) e tessuto adiposo maturo. L'analisi citogenetica della coltura cellulare a breve termine di un frammento di tessuto neoplastico mostrava un cariotipo 46,XY,t(1;4)(p34;q35),t(2;17)(q24-31;q25). Sono stati descritti in letteratura due soli casi caratterizzati citogeneticamente: il primo con una traslocazione reciproca t(2;3)(q31;q21), l'altro con una traslocazione complessa t(6;12;8)(q25;q24.3;q13). Appare evidente l'eterogeneità dei cromosomi coinvolti nelle diverse traslocazioni apparentemente bilanciate. Solo il cromosoma 2 alla banda q31 risulterebbe coinvolto in due dei tre casi descritti. Nella regione 2q31 è localizzato il cluster dei geni homeobox HOXD, elementi regolatori della trascrizione coinvolti nella morfogenesi embrionale e nella organogenesi. La diagnosi istologica, relativamente semplice avendo a disposizione l'intera lesione, può essere estremamente difficile con agobiopsie

o biopsie incisionali, comprendendo tra l'altro, fibroma aponeurotico calcificante, la fibromatosi, lipoblastoma e le lipofibromatosi. Il riscontro di anomalie cromosomiche caratteristiche può orientare verso una diagnosi corretta. Ulteriori studi potranno dimostrare anomalie citogenetiche ricorrenti coinvolte nella patogenesi dei tumori fibrosi dell'infanzia.

P019

IFOSFAMIDE AD ALTE DOSI (HDIFO) NEL TRATTAMENTO DEL SARCOMA DI EWING (SE) IN RECIDIVA O PROGRESSIONE DI MALATTIA

Brach del Prever A,¹ Palmerini E,² Berta M,¹ Staals E,² Picci P,² Vanel D,² Garrone E,¹ Pagano M,¹ Postini A,¹ Fagioli F,¹ Ferrari S²

¹Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ²Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna, Italy

Scopo. Valutare l'efficacia e la tossicità dell'HDIFO nel trattamento di pazienti affetti da SE.

Metodi. Erano elegibili per lo studio tutti i pazienti affetti da SE in recidiva o progressione, con malattia misurabile, sottoposti ad almeno 2 cicli di IFO 15 gr/mq in infusione e.v. continua di 120 ore. Obiettivo primario dello studio era la percentuale di risposta globale, intesa come somma di risposte complete (RC) e parziali (RP) secondo i criteri RECIST. La rivalutazione radiologica è stata eseguita 6 settimane dopo il termine del trattamento.

Risultati. Dal 2001 al 2007 sono stati arruolati 37 pazienti di età mediana 17 anni (range 6-45). Il tempo mediano di progressione/recidiva di malattia era di 15,8 mesi (range 9-152). Tutti i pazienti erano stati sottoposti precedentemente a trattamento con IFO a dosi standard, 12/37 (32%) ad alte dosi di Busulfano-Melphalan e reinfusione di cellule staminali autologhe. Quattro/37 casi (11%) avevano presentato progressione durante la terapia della malattia localizzata. HDIFO è stata somministrata nel corso del trattamento di prima linea in 28 casi, in seconda linea in 6, in terza linea in 2 ed in quarta linea in 1. Diciassette/37 pazienti (46%) presentavano lesioni metastatiche esclusivamente a livello polmonare (monolaterali in 1 caso), i restanti 20 casi (54%) multiple localizzazioni secondarie. Neutropenia e piastrinopenia transitorie di grado 4 sono state rilevate rispettivamente dopo il 97% e il 54% dei cicli HDIFO; 1 paziente ha presentato importante tossicità neurologica. In 1 paziente è stata registrata progressione clinica di malattia dopo il primo ciclo HDIFO, 1 paziente non era valutabile secondo i criteri RECIST, 1 ha sviluppato importante tossicità neurologica dopo il primo ciclo: 34/37 pazienti (92%) sono valutabili per la risposta. La percentuale di risposta globale è stata del 35% (1 RC ed 11 RP); il 32,5% (11/34) dei pazienti ha presentato malattia stabile, il 32,5% progressione di malattia. Undici su 34 pazienti sono stati successivamente sottoposti a trattamento con alte dosi di busulfano e melphalan. Dieci pazienti sono vivi, 5 di questi in RC di malattia, con una sopravvivenza mediana dai cicli HDIFO di 10,5 mesi (range 1-47). La sopravvivenza globale a 3 anni dal trattamento con HDIFO è 23%; nei pazienti con PD dopo HDIFO è 0% ad 1 anno.

Conclusioni. HDIFO nel trattamento dei pazienti affetti da SE in recidiva sembra essere attiva anche in casi precedentemente trattati con IFO a dosi standard.

P020

PROTOCOLLO AIEOP RB 05: ANALISI AD INTERIM AL 31.5.2008

Acquaviva A,¹ Le Pera L,¹ Cozza R,² Hadjistilianou T,³ De Francesco S,³ Bomarzo A,⁴ Petris MG,⁵ Midena E,⁶ Donfrancesco A,² Garré ML,⁷ Priolo G,⁸ Pession A,⁹ Burnelli R,¹⁰ Tamburini A,¹¹ D'Amico S,¹² Reibaldi A,¹³ Santoro N,¹⁴ Scarsello G,¹⁵ Indolfi P,¹⁶ Balistreri A¹⁷

¹Clinica Pediatrica-Università di Siena, ²Div. Pediatria-Ospedale Pediatrico Bambino Gesù (OPBG) Roma, ³Clinica Oculistica-Università di Siena, ⁴Div. di Oculistica OPGB 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 Ferrara, ¹¹Clinica Pediatrica Università di Firenze, ¹²Clinica Pediatrica Università di Catania, ¹³Clinica Oculistica Università di Catania, ¹⁴Clinica Pediatrica Università di Bari, ¹⁵Radioterapia Università di Padova, ¹⁶Clinica Pediatrica I Università di Napoli ¹⁷Dipartimento di Chirurgia e Bioingegneria, Università di Siena, Italy

Introduzione e obiettivi. Come è noto il trattamento del retinoblastoma (RB) deve perseguire non solo l'obiettivo di salvare la vita, ma anche l'occhio (o gli occhi nei casi bilaterali), la vista utile e ottenere un effetto cosmetico accettabile. 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 omogenea per diagnosi (dx), criteri di stadiazione, terapia e criteri di risposta alla terapia; 2) Verificare l'efficacia della chemioterapia antitumorale (CT) nel ritardare l'eventuale enucleazione e nel ridurre a) la percentuale di pazienti enucleati e b) la percentuale di metastasi tardive; 3) Verificare il ruolo della CT nel prevenire metastasi nei pazienti enucleati con fattori istoprognotici ad alto rischio, confrontando i risultati con un gruppo storico di controllo. Gli Autori presentano un'analisi ad interim relativa a 92 pazienti diagnosticati e trattati nel periodo 1.1.2006-31.5.2008.

Pazienti e Risultati. Pazienti reclutati: 99; pazienti ritenuti valutabili: 92. Distribuzione per sesso: maschi n. 51 (55%) e femmine 41 (45%). Distribuzione per lateralità: unilaterali 63 (68%) e bilaterali 29 (32%). Caratteristiche e outcome degli unilaterali: 63 pazienti di cui 37 maschi (59%) e 26 femmine (41%). Range di età alla dx: 1-53 mesi; età media alla dx: 23,9 mesi e mediana 20,5 mesi. Sono stati enucleati alla dx 49/63 pazienti (78%) e 14/63 sono stati trattati con terapia conservativa (solo CT e terapia focale). 16/49 (33%) pazienti enucleati hanno richiesto CT neoadjuvante dopo l'enucleazione per fattori istoprognotici sfavorevoli. L'età media alla dx di tali pazienti è risultata pari a 31,8 mesi e la mediana 30 mesi. I pazienti unilaterali enucleati e successivamente non trattati con CT sono 33/49 (67%): di questi l'età media alla dx è 24,7 mesi e la mediana 24 mesi. Pazienti unilaterali non enucleati e trattati con CT sono 14/63 (22,2%). Di questi pazienti l'età media alla dx è di 15,6 mesi e la mediana di 14 mesi. Caratteristiche e outcome dei bilaterali: 29 pazienti di cui 14 maschi e 15 femmine. Range di età alla dx: 1-47 mesi; Età media alla dx: 9,5 mesi e mediana 7 mesi. Sono stati enucleati alla dx 14/29 pazienti (48,2%), mentre 15/29 (51,8%) sono stati trattati conservativamente con CT e terapia focale. Di tali 15 pazienti solo 3 (hanno dovuto subire successivamente l'enucleazione di un occhio. Nessun paziente ha richiesto l'enucleazione bilaterale. Sopravvivenza: tutti i pazienti sono attualmente vivi.

Conclusioni. Nella coorte dei nostri pazienti è stata confer-

mato un eccesso di maschi e in particolare un eccesso di maschi unilaterali. Ancora molto elevata la percentuale di pazienti unilaterali enucleati alla dx (78%): ciò è dovuto alla più elevata età media alla dx (23,9 mesi vs 9,5 mesi dei bilaterali) e più avanzata progressione di malattia. Viceversa quando la dx è più precoce come nei bilaterali la CT in associazione alla terapia focale può evitare l'enucleazione alla diagnosi in quasi il 52%. Nei pazienti bilaterali trattati conservativamente alla dx solo 1/5 richiede successivamente l'enucleazione. I pediatri possono svolgere un ruolo rilevante nel sorprendere tempestivamente la leucocoria e/o lo strabismo, segni che devono far sospettare il retinoblastoma e far richiedere un'immediata valutazione oftalmoscopica. Ciò consentirà di aumentare le possibilità di guarigione del RB, con maggiore risparmio di occhi.

P021

IRRADIAZIONE CRANIOSPINALE (CSI) CON TOMOTERAPIA: UNA NUOVA MODALITÀ DI IRRADIAZIONE NEI PAZIENTI PEDIATRICI

Mascarin M, Trovò M, Drigo A,¹ Dassiè A,¹ Gigante M, De Zen L,² Mazza C,³ Balter R,³ Skrap M,⁴ Nocerino D,⁴ Zanazzo G,⁵ Migliorati R,⁶ Peratoner D

S.O. di Radioterapia Pediatrica, Dipartimento di Oncologia Radioterapia pediatrica e ¹Fisica Medica, Centro di Riferimento Oncologico, Aviano (PN); ²Pediatria, Az. Osp. Pordenone; ³Oncologia Pediatrica e Neurochirurgia, Az. Osp. Verona; ⁴Cl. Pediatrica e Neurochirurgia, Az. Osp. Udine; ⁵Oncologia Pediatrica Trieste; ⁶Oncologia Pediatrica Santobono, Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. La Tomoterapia è una nuova tecnica radiante in grado di erogare la dose prevista in modo elicoidale dinamico, attraverso una procedura nella quale la testata, il lettino ed il collimatore multilamellare sono contemporaneamente in movimento durante il trattamento, senza necessità di giunzioni e con la possibilità di trattare ogni bersaglio in posizione supina. Riportiamo la nostra esperienza e l'analisi della dose ricevuta agli organi a rischio.

Metodi. Dal giugno 2006 al giugno 2008, abbiamo sottoposto 43 pazienti pediatrici a tomoterapia di cui 8, oggetto della comunicazione, ad irradiazione cranio spinale (CSI). L'età media era di 5 anni (range 3-6), 7 maschi ed 1 femmina. Quattro pazienti erano affetti da medulloblastoma classico, 3 da tumore primitivo neuroectodermico (PNET) e 1 da tumore glioneuronale metastatico. Tre lesioni erano sopratentoriali e 5 infratentoriali. Tre pazienti erano stati sottoposti ad asportazione subtotale e 5 a resezione macroscopicamente radicale. Tre avevano localizzazioni midollari alla diagnosi.

Risultati. I bambini sono stati sottoposti a simulazione con TC, in sedazione. La TC è stata acquisita in posizione supina, con fette di 5 mm. Per l'immobilizzazione sono state utilizzate maschere termoplastiche e supporti personalizzati. Il *Clinical Target Volume* (CTV) comprendeva l'intero encefalo, inclusa la lamina cribrosa, il midollo spinale e le meningi. Il *Planning Target Volume* (PTV) includeva l'espansione 3D del CTV con 5 mm di margine. Nella pianificazione i reni, i polmoni, il cuore, le gonadi, la tiroide, gli occhi, i cristallini, la coclea ed il massiccio facciale sono stati contornati e considerati organi a rischio. La dose erogata al 95% del PTV è stata di 23.4 Gy in 13 frazioni eccetto nei tre pazienti con diffusione midollare (32 Gy). In tutti i casi la lamina cribrosa è stata la sede di pianificazione più problematica e non-omogenea. Il set-up giornaliero è stato eseguito con megavolt-TC e corretto prima di ogni trattamento giornaliero. La dose media complessiva agli organi a rischio è stata: occhio destro 5.7 Gy,

occhio sinistro 5.6 Gy, cristallino 2.9 Gy, tiroide 4 Gy, polmoni 4.2 Gy, cuore 5 Gy, reni 5.3 Gy. Sei degli 8 bambini hanno richiesto la sedazione anche durante la CSI. Il tempo di utilizzo del bunker di trattamento è stato di 40-45 minuti per ogni seduta, con 18-22 minuti di beam-on.

Conclusioni. La CSI in tomoterapia è una tecnica fattibile anche in età pediatrica e determina un eccellente risparmio degli organi a rischio, senza compromissione della dose alle strutture target. Ulteriori analisi sono necessarie per valutare il follow-up a distanza, con particolare riferimento alla irradiazione con basse dosi (V2Gy) di volumi più ampi.

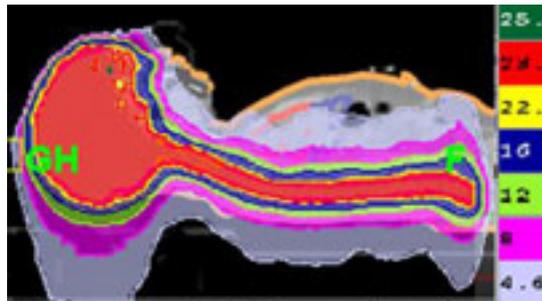


Figura 1.

P022

RISPOSTA AL TRATTAMENTO COMBINATO RADIOTERAPIA/VINORELBINA IN UN PAZIENTE CON GLIOBLASTOMA MULTIFORME RADIO-INDOTTO

Sardi I, Genitori L,¹ Scocianti S,¹ Biassoni V,² Buccoliero AM,³ Lippi A, Aricò M, Massimino M²

DAI Oncoematologia Pediatrica e Cure Domiciliari, AOU Ospedale Pediatrico "A. Meyer", Firenze; ¹DAI Neurosensoriale, AOU Ospedale Pediatrico "A. Meyer", Firenze; ²Unità di Pediatria, Istituto Nazionale dei Tumori, Milano; ³Dipartimento di Patologia Umana e Oncologia, Università di Firenze, Italy

Introduzione. Il glioblastoma multiforme (GBM) radio-indotto, parimenti al primario, è una neoplasia particolarmente aggressiva che non risponde alla radioterapia e/o chemioterapia. La prognosi grave dei GBM secondari è dovuta sia alla resistenza intrinseca a qualsiasi trattamento che alla difficoltà nel trattare di nuovo pazienti già irradiati.

Caso clinico. S.C., 16 anni, giunse alla nostra osservazione per la comparsa di una sintomatologia da emilato sinistro. La RM metteva in evidenza una lesione espansiva al lobo temporale dx. Dall'anamnesi emergeva che all'età di 9 anni al ragazzo era stata diagnosticata una LLA con interessamento meningeo, quindi era stato sottoposto a trattamento chemio-radio-terapico (dose totale 24 Gy) in accordo al protocollo AIEOP LAL 2000 e ormai fuori terapia da più di 5 anni. Dopo intervento di rimozione parziale della lesione l'esame istologico risultò un GBM. Il ragazzo è stato quindi sottoposto ad un piano di cura personalizzato che prevede radioterapia con vinorelbina settimanale a 20 mg/mq IV (in 30 min) e un mantenimento secondo lo schema: vinorelbina 30 mg/mq IV (giorni 1,8,22). Il trattamento radioterapico sul residuo era di 4140 cGy, dose massima prescrivibile in considerazione del pregresso trattamento.

Risultati. La RM di controllo eseguita a 30 giorni dalla radioterapia ha mostrato una RC della malattia. (Figura: A: pre-chirurgia, B: post-RT). Tuttora, dopo 7 mesi di follow-up le con-

dizioni cliniche del ragazzo sono buone con un KPS >90%.

Conclusioni. Il GBM può rappresentare una rara complicanza tardiva della radioterapia nelle LLA. Il trattamento con RT e vinorelbina, usata sia come radiosensibilizzante che nel mantenimento postradioterapico, può migliorare la sopravvivenza mantenendo una ottima qualità di vita nei pazienti affetti da GBM.

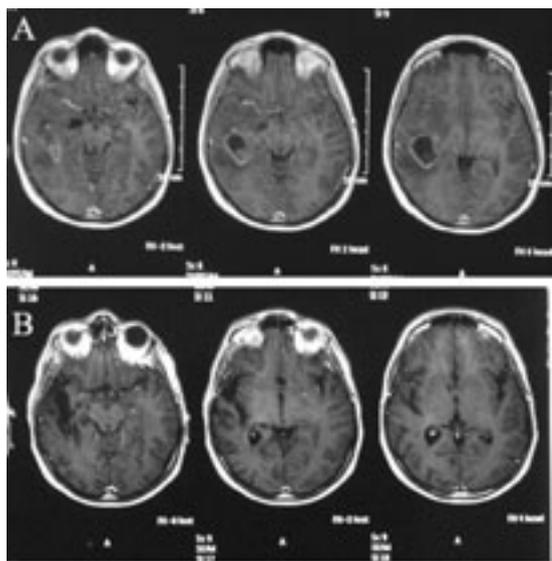


Figura 1.

P023

PROFILO DI ESPRESSIONE DEI GENI IMPLICATI NELLA RESISTENZA AI CEMIOTERAPICI IN TUMORI CEREBRALI PEDIATRICI

Sardi I, Cetica V, Modena P,¹ Bernini G, Genitori L,² Massimino M,¹ Aricò M

DAI Oncoematologia Pediatrica e Cure Domiciliari, AOU Ospedale Pediatrico "A. Meyer", Firenze; ¹Unità di Pediatria, Istituto Nazionale dei Tumori, Milano; ²DAI Neurosensoriale, AOU Ospedale Pediatrico "A. Meyer", Firenze, Italy

Introduzione e obiettivi. La chemioterapia dei tumori pediatrici del sistema nervoso centrale risulta spesso inefficace a causa dei meccanismi di resistenza intrinseca od acquisita. Questo lavoro si propone di studiare il pattern di espressione dei principali geni coinvolti nelle vie metaboliche che contribuiscono all'insorgenza della chemioresistenza.

Metodi. Sono stati analizzati geni coinvolti nella riparazione diretta del danno al DNA, nella replicazione degli acidi nucleici e nel trasporto e detossificazione dei farmaci (hABH2, hABH3, MGMT, TOPO2a, ABCB1/MDR, ABCC1/MRP e GSTP1). L'analisi è stata condotta su 58 campioni biotipici classificati istologicamente come segue: 42 ependimomi, 6 medulloblastomi/PNET, 5 gliomi di basso grado, 1 glioblastoma e 4 tessuti cerebrali non neoplastici. La determinazione mediante Real Time PCR quantitativa è stata eseguita in triplicato sul cDNA sintetizzato da ciascun campione. L'espressione differenziale dei geni in studio, normalizzati per gli housekeeping GAPDH e HPRT, è stata calcolata con il metodo ddCt utilizzando come calibratori sia Universal Standard Reference RNA che i campioni non neoplastici.

Risultati. I livelli di espressione dei geni analizzati erano

generalmente superiori nei campioni tumorali rispetto ai tessuti non neoplastici. Il livello di espressione di hABH2 e hABH3 era comparabile al tessuto normale mentre quasi tutti i campioni tumorali hanno mostrato una maggiore espressione di ABH2. È stata evidenziata una correlazione positiva tra i livelli di hABH2, GSTP1 e ABCB1 (coefficiente di correlazione >0.6). Il gene ABCC1/MRP è risultato espresso a bassi livelli nei controlli ed ha mostrato un marcato incremento nei tumori ($p < 0.05$). Gli astrocitomi anaplastici ed i medulloblastomi hanno evidenziato alti livelli di GSTP1 mentre TOPO2a ha presentato un marcato incremento negli ependimomi con un andamento proporzionale al grado di malignità.

Conclusioni. L'analisi effettuata su campioni biotipici di tumori cerebrali pediatrici ha mostrato una correlazione tra l'assenza di risposta ai farmaci e l'incremento di espressione dei geni analizzati.

P024

ANALISI MOLECOLARE DEL GENE MGMT: RUOLO NELLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON TEMOZOLIMIDE NEI TUMORI CEREBRALI PEDIATRICI

Sardi I, Cetica V, Buccoliero AM,¹ Giunti L, Massimino M,² Genitori L,³ Aricò M

DAI Oncoematologia Pediatrica e Cure Domiciliari, AOU Ospedale Pediatrico A. Meyer, Firenze; ¹Dipartimento di Patologia Umana e Oncologia, Università di Firenze; ²Unità di Pediatria, Istituto Nazionale dei Tumori, Milano; ³DAI Neurosensoriale, AOU Ospedale Pediatrico A. Meyer, Firenze, Italy

Introduzione e obiettivi. La scarsa risposta alla temozolomide (TMZ) che si osserva nei bambini affetti da tumore SNC rispetto all'adulto può dipendere da una differente attività dell'enzima inducibile di riparazione del danno diretto al DNA O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT).

Metodi. Abbiamo analizzato i livelli di espressione attraverso qRT-PCR e immunostochimica e la metilazione del promotore del gene MGMT in pazienti con tumore SNC ricaduto o in progressione che erano stati trattati con un trial off-label di temozolomide orale. Il farmaco era somministrato alla dose di 200 mg/m²/day nei pazienti che non erano stati irradiati e alla dose di 180 mg/m²/day nei pazienti che erano stati irradiati e/o avevano effettuato le alte dosi di chemioterapia. Nello studio sono stati arruolati 9 pazienti: 3 con recidiva di ependimoma, 3 con glioma di basso grado, 1 glioblastoma multiforme e 2 con medulloblastoma in progressione.

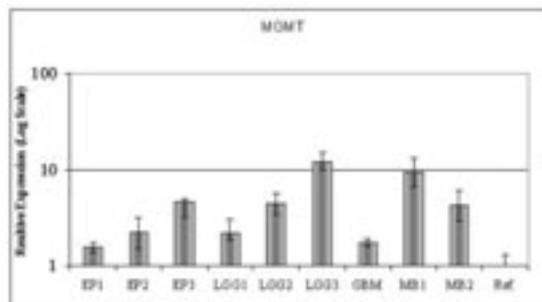


Figura 1.

Risultati. La mediana assoluta dei livelli di espressione del MGMT standardizzati con il gene GAPDH era di 1.06 (range, -0.453 to 3.932). La mediana relativa dei livelli di espressione (RQ=2-ddC) era di 4.29 (range, 1,585 to 12.228). All'analisi immunohistochimica, lo score era di 2+ in 6 dei 10 campioni tumorali e 1+ in 4, mentre nessuno risultava MGMT negativo. Il promoter del gene MGMT è risultato metilato in solo 2 recidive dello stesso paziente.

Conclusioni. L'eterogeneità della PFS nei nostri pazienti trattati in seconda linea con TMZ, indica che la sola valutazione dell'espressione del gene MGMT non è sufficiente a predire la risposta al trattamento con TMZ a livello molecolare, a causa presumibilmente dei numerosi meccanismi di riparazione diretta del DNA.

P025

"WAIT AND SEE STRATEGY" NEL NEUROBLASTOMA NEONATALE

Najajreh M, De Marco E, Coccoli L, Nardi M, Favre C, Casazza G

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

Introduzione. Il neuroblastoma neonatale può regredire spontaneamente. Per questo motivo la strategia "wait and see" è applicata per i tumori riscontrati allo screening prenatale ecografico o tramite esame urine eseguito nei primi giorni di vita.

Caso clinico. T.C., 5 aa. Un'ecografia effettuata nel terzo trimestre di gravidanza aveva riscontrato lesione espansiva a carico del surrene destro, controllata con esami ecografici seriati dopo la nascita e completamente regredita al V mese di vita extrauterina. Le catecolamine urinarie monitorate nei primi mesi di vita, dopo un iniziale incremento erano, nello stesso periodo, rientrate nella norma. Il bambino successivamente non ha più eseguito controlli. A 5 anni comparsa di dolori addominali con voluminosa massa palpabile in sede mesogastrica. Ecografia, TAC e RMN confermavano la presenza di voluminosa massa retro-peritoneale (11,5x7,5 cm) a partenza dal surrene destro, dislocante il fegato, il rene destro e la testa del pancreas. VMA: 6,9 mg/24h. AOV 14,6 mg/24h NSE: 144,1 ng/mL (vn < 12,5). L'esame istologico su prelievo biopatico era diagnostico per neuroblastoma. Amplificazione N-MYC: assente. La scintigrafia con MIBG, gli aspirati midollari e le biopsie osteomidollari confermavano la presenza della sola localizzazione retroperitoneale della neoplasia. Il bambino è stato quindi sottoposto a trattamento chemioterapico secondo NB-AR-01/ESIOP con buona risposta alla terapia, seguito da intervento chirurgico di asportazione del residuo minimo di malattia. Attualmente il bambino è in CCR, a 24 mesi dall'inizio del trattamento.

Conclusioni. L'evoluzione di questo caso evidenzia che, sebbene la regressione spontanea costituisca la regola nel neuroblastoma localizzato neonatale (*J Clin Oncol* 2008;26:1504-10), esiste un possibile rischio di progressione della neoplasia anche a distanza. I benefici tratti dalla strategia *wait and see* applicata ai neuroblastomi riscontrati incidentalmente allo screening neonatale vanno ponderati rispetto ai possibili rischi ed il follow-up di questi soggetti deve protrarsi nel tempo, anche dopo la regressione iniziale.

P026

IPERCALCEMIA SEVERA IN CORSO DI NEOPLASIA E TERAPIA CON BIFOSFONATI

Coccoli L, De Marco E, Najajreh M, Menconi M, Favre C

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

Introduzione. L'ipercalemia severa è una complicanza raramente osservata nel bambino con neoplasia, con una incidenza tra 0.4% e 1.3%. L'eziologia è da riferirsi solitamente a localizzazione ossea o midollare, ma può anche essere manifestazione di una sindrome paraneoplastica.

Caso clinico. P., 14 anni, affetto da rhabdomyosarcoma embrionale a localizzazione parameningea, presentava, alla diagnosi, vomito incoercibile, disidratazione, spiccata astenia. Gli esami ematochimici evidenziavano severa ipercalcemia (19,33 mg/dL), iperuricemia (16,3 mg/dL), PTH nella norma, LDH 1112 U/L. Gli esami strumentali di staging (TAC, RMN, PET) mostravano la presenza di metastasi diffuse allo scheletro (vertebre, bacino, coste, femori), mentre la biopsia osteomidollare mostrava una infiltrazione neoplastica, con positività per il trascritto originato da MyoD1 mediante RT-PCR su aspirato midollare e su sangue periferico. È stata eseguita terapia con acido zoledronico 4 mg ev g. +1, calcitonina 100 Ux2 ev g. +1 e iperidratazione. Si è assistito ad una rapida riduzione dei livelli di calcemia, con normalizzazione a g. +3.

Conclusioni. La grave ipercalcemia osservata nel nostro caso, secondaria a imponente diffusione metastatica a tipo osteolitico allo scheletro ed a infiltrazione neoplastica midollare, risulta eccezionale in età pediatrica. Il rhabdomyosarcoma è tra le neoplasie pediatriche correlate a tale complicanza, sebbene il quadro clinico da noi osservato sia del tutto peculiare. I bifosfonati, analoghi del pirofosfato endogeno, hanno alta affinità per l'idrossiapatite e inibiscono inoltre il riassorbimento osseo da parte degli osteoclasti. Essi costituiscono ormai da anni il trattamento standard nelle ipercalcemie di origine neoplastica nell'adulto. Nel bambino il loro impiego è ancora scarsamente definito. L'acido zoledronico è attualmente il composto che ha dimostrato la massima efficacia in pazienti con un largo spettro di neoplasie, compreso il mieloma multiplo, e la massima rapidità di effetto rispetto agli analoghi. La nostra esperienza conferma questi dati anche in età pediatrica.

P027

ALTERAZIONI DELLA DENSITOMETRIA MINERALE OSSEA NEI PAZIENTI TRATTATI PER TUMORE CEREBRALE IN ETÀ PEDIATRICA

Lazzareschi I, Furfaro IF, Rossodivita AN, Mastrangelo S, Coccia P, Puma N, Cefalo MG, Scalzone M, Ridola V, Riccardi R

Divisione di Oncoematologia Pediatrica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italy

Introduzione. La riduzione della densità minerale ossea rappresenta uno degli effetti collaterali a lungo termine del trattamento dei tumori cerebrali in età pediatrica. I fattori implicati sembrano essere molti, tra questi la radioterapia cranio-spinale, la terapia con glucocorticoidi e i deficit ormonali singoli o multipli, (deficit di GH, ipotiroidismo, ipogonadismo). L'obiettivo del nostro studio è stato di valutare la mineralizzazione ossea nei bambini trattati per tumore cerebrale.

Materiali e metodi. La nostra casistica comprende 37 pazienti (M/F=21/16), con età media alla diagnosi di 8 anni (range: 8

mesi-25 anni). Tutti i pazienti erano stati sottoposti a chemioterapia, associata o meno a chirurgia e/o radioterapia e al momento dello studio erano in remissione di malattia e fuori terapia. Abbiamo sottoposto i pazienti ad esame DEXA (*Dual Energy X-Ray Absorptiometry*) per valutare la densità minerale ossea e, in alcuni di essi, l'esame è stato ripetuto dopo un anno, una seconda e una terza volta. Abbiamo inoltre correlato i valori dello z score con alcuni parametri: l'età alla diagnosi, la dose di radiazioni ricevuta, la presenza di deficit endocrinologici, la terapia sostitutiva ormonale, allo scopo di individuare eventuali fattori implicati nella riduzione della densità minerale ossea.

Risultati. Tutti i nostri pazienti hanno presentato ridotti valori di densità minerale ossea, indicativi di osteopenia o franca osteoporosi, tranne in un caso, in cui i valori erano normali. Nessuno dei nostri pazienti ha presentato fratture patologiche. L'analisi statistica dei dati non ha evidenziato differenze significative tra i valori di densità minerale ossea nella seconda e terza DEXA e nessuna variabile sembrava influenzare più di altre i risultati dell'esame. Tuttavia relativamente alla correlazione tra ipogonadismo e densità minerale ossea, il coefficiente di correlazione calcolato sembrerebbe indicare che la presenza dell'ipogonadismo peggiora il risultato della densità minerale ossea.

Conclusioni. I nostri dati confermano che l'osteopenia rappresenta una sequela della terapia nei bambini trattati per tumore cerebrale. Dal momento che la riduzione dello z score della densitometria minerale ossea di 1 deviazione standard aumenta il rischio di fratture di due volte rispetto ai controlli, è importante valutare l'assetto minerale del paziente regolarmente durante il follow up.

P028

PNEUMATOSI INTESTINALE AD ESITO INFAUSTO IN UNA BAMBINA AFFETTA DA ASTROCITOMA PILOCITICO CEREBRALE

Vasta I, Novelli C, Lucarelli A, Torsello M,¹ Paradies G,² Tormesello A

U.O. *Oncoematologia Pediatrica* P.O. "V.Fazzi"- Lecce; ¹U.O. *Radiologia* P.O. "V.Fazzi", Lecce; ²U.O. *Chirurgia Pediatrica* P.O. F. Ferrari, Casarano (LE), Italy

Introduzione. La pneumatosi intestinale (PI) è una rara condizione caratterizzata dal riscontro radiologico di gas nella parete intestinale; comprende uno spettro di condizioni cliniche che vanno dalle forme benigne a quadri clinici di sepsi ad evoluzione fatale. In età pediatrica è descritta soprattutto in neonati pretermine come complicanza di enterocolite necrotizzante; raramente è riportata in bambini con condizioni cliniche predisponenti: malattie infiammatorie intestinali, cardiopatie congenite, immunodeficit congeniti o acquisiti, trattamento chemioterapico e steroideo.

Caso clinico. Bambina di 10 anni affetta da astrocitoma pilocitico (WHO I) a localizzazione diencefalica giunta alla nostra osservazione a distanza di un anno dal trattamento chirurgico per progressione di malattia, in trattamento sostitutivo con L-tiroxina e idrocortisone. Al momento della osservazione evidenti segni di cortisonizzazione. Inizia trattamento chemioterapico secondo protocollo SIOP-LGG 2004 con carboplatino (550 mg/mq) e vincristina (1,5 mg/mq). Due giorni dopo il termine del 2° ciclo di chemioterapia la bambina presenta febbre (infezione delle vie urinarie da *E. coli*) ed inizia terapia con ciprofloxacina. Le condizioni generali sono buone, non segni clinici di interessamento addominale, alvo aperto a feci di consistenza normale. A distanza di cinque giorni dall'inizio della

terapia antibiotica viene ricoverata in urgenza per improvvisa comparsa a domicilio di febbre settica con notevole distensione addominale senza segni di peritonismo. Esegue TC addome che dimostra la presenza di abnorme distensione della cornice colica con segni di PI del colon ascendente; presenza di componente gassosa in emisistema portale sinistro e nelle vene coliche. Le condizioni cliniche e il diffuso interessamento intestinale controindicano un intervento chirurgico. Nelle ore successive si assiste ad un rapido deterioramento delle condizioni cliniche della paziente fino all'exitus.

Conclusioni. La PI è riportata in pazienti pediatrici affetti da leucemia o sottoposti a trapianto di organo come conseguenza delle terapie immunosoppressive. Il caso riportato suggerisce la necessità di un accurato monitoraggio dei segni di PI in pazienti pediatrici con patologia neoplastica sottoposti cronicamente a terapia steroidea, anche in assenza di chiari segni di peritonismo. In accordo con quanto riportato la presenza di aria nel sistema portale rappresenta un segno prognostico sfavorevole indicativo di esito infausto.

P029

UTILIZZAZIONE DELLA PET/CT-FDG PER IL MONITORAGGIO STRUMENTALE NEL SARCOMA DI EWING RECIDIVATO: CASE REPORT

Vasta I, Novelli C, Lucarelli A, De Gaetano AM,¹ Torsello M,² Tormesello A

U.O. *Oncoematologia Pediatrica*, P.O. Vito Fazzi, Lecce; ¹Dipartimento di *Radiologia Università Cattolica S. Cuore Roma*; ²U.O. *Radiologia*, P.O. Vito Fazzi, Lecce, Italy

Introduzione. La PET/CT-FDG è una tecnica che consente di ottenere informazioni sia morfologiche che metaboliche in numerose neoplasie con il teorico vantaggio di acquisire risposte più precoci e precise rispetto alle tecniche radiologiche convenzionali (TAC, RMN). In oncologia pediatrica non vi sono chiare linee guida sull'utilizzo di tale tecnica tranne che per il linfoma di Hodgkin. Riportiamo la nostra esperienza relativa a due pazienti affetti da sarcoma di Ewing (SE) recidivato.

Materiali e Metodi. Abbiamo studiato due pazienti maschi di 19 e 15 anni affetti da SE recidivato. Il monitoraggio delle localizzazioni in risposta alla terapia è stato effettuato con PET/CT-FDG contemporaneamente a metodiche radiologiche convenzionali: Rx standard, CT/RMN, scintigrafia scheletrica con Tc-99. Le caratteristiche dei pazienti sono riportate nella Tabella 1.

Tabella 1. Caratteristiche pazienti studiati.

	Età diagnosi	Protocollo 1 [^] linea	Intervallo diagnosi 1 [^] recidiva	Localizzazioni	Follow-up
Pz 1	17 aa	Euro-Ewing 99	33 mesi	ossee	progressione
Pz 2	13 aa	ISG/SSG III	26 mesi	Ossee/ polmonari/ linfonodali	exitus

Risultati. Nel paziente 1 le localizzazioni di malattia sono state esclusivamente ossee; l'esame PET/CT ha mostrato concordanza con le tecniche radiologiche convenzionali nell'evidenziare le sedi di malattia; tuttavia l'esame scintigrafico in sede omerale si è positivamente più precocemente. Al contrario lesioni multiple polmonari evidenziate con esame PET/CT

si sono rivelate di natura infiammatoria. Nel paziente 2 le localizzazioni di malattia sono state ossee, polmonari e linfonodali; la concordanza si è evidenziata in tutte le sedi fatta eccezione per le metastasi linfonodali mediastiniche e ascellari, evidenziate più precocemente con esame PET/CT. Anche in questo caso la scintigrafia ossea ha mostrato più precocemente una localizzazione scheletrica in sede ulnare.

Conclusioni. Nella nostra esperienza l'esame PET/CT si è dimostrata particolarmente utile nell'identificare precocemente localizzazioni linfonodali; è risultata complementare alle metodiche di imaging convenzionale nell'identificare le altre localizzazioni di malattia. La scintigrafia scheletrica rimane l'esame più sensibile nell'identificazione precoce di localizzazioni ossee. In accordo con i dati della letteratura riteniamo che i potenziali vantaggi ed i limiti di questa metodica, in confronto alle tecniche di imaging convenzionale, necessitano di ulteriori studi su popolazioni più numerose di pazienti.

P030

TUMORE STROMALE GASTRO-INTESTINALE (GIST) CONGENITO

Kiren V, Tamaro P

S.C.O. Oncoematologia, IRCCS Burlo Garofolo, Italy

Un bambino di 5 mesi si è presentato al Pronto Soccorso per melena. All'ecografia addominale si osservava una formazione ipoecogena addominale in sede paraombelicale superiore destra di 2 per 1,2 centimetri, delimitata da apparente immagine capsulare con sottile falda fluida periferica a caratteristiche semisolidi. Il bambino è stato quindi sottoposto a intervento chirurgico di esplorazione intestinale durante il quale si osservava neof ormazione a 50 cm dalla valvola ileo-cecale, parzialmente ostruente il lume, con mucosa sanguinante. È stata praticata una resezione intestinale con anastomosi termino-terminale.

All'esame istologico la lesione è risultata essere un tumore stromale gastro-intestinale (GIST) con cellule positive per CD34 e vimentina, negative per CD117 (tirosinasi c-kit). È stata successivamente confermata l'assenza di mutazioni dei geni KIT e PDGFRA.

Dopo l'intervento il bambino è stato sempre bene. Le ecografie di controllo a 6 mesi dall'intervento sono nella norma.

I GIST sono, tra i tumori rari, i più frequenti tumori mesenchimali del tratto gastrointestinale e hanno un'alta incidenza di neoplasie secondarie associate. Si osservano con maggior frequenza negli adulti, in cui sono CD117 positivi. Tale positività li rende sensibili al trattamento con imatinib mesilato, inibitore della KIT tirosinasi, che ha migliorato la prognosi nei pazienti in cui non è possibile una resezione completa.

I GIST congeniti, al contrario, raramente esprimono il CD117 ma presentano comunque prognosi favorevole.

In questo caso le dimensioni contenute della neoplasia all'esordio, il basso indice mitotico e l'assenza di infiltrazione delle strutture adiacenti, pur essendo presente un interessamento di tutto lo spessore intestinale con ulcerazione focale delle mucose, correlano con una buona prognosi.

TRAPIANTO

C007

POTENZIALE RUOLO DEI LINFOCITI T HELPER (TH)-17 NELL'INDUZIONE DELLA MALATTIA DI TRAPIANTO VERSO L'OSPITE NEI PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO ALLOGENICO DI CELLULE STAMINALI

Dander E,¹ Balduzzi A,² Zappa G,¹ Perseghin P,³ Longoni D,² Biagi E,¹ Rovelli A,² Biondi A,^{1,2} D'Amico G¹

¹Centro di Ricerca M. Tettamanti, Clinica Pediatrica, Università Milano-Bicocca, Monza; ²Clinica Pediatrica, Ospedale San Gerardo, Monza; ³Servizio Trasfusionale, Unità di Aferesi e Criobiologia, Ospedale San Gerardo, Monza, Italy

La malattia del trapianto verso l'ospite, o Graft versus Host Disease (GvHD), è la più frequente complicanza dopo trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (HSCT). I meccanismi cellulari e molecolari alla base di tale patologia non sono stati ancora del tutto chiariti. Recentemente è stato dimostrato che una sottopopolazione di linfociti T helper, caratterizzata dall'elevata capacità di produrre IL17 e, per tale motivo, denominata Th17, è coinvolta nei processi infiammatori e nell'induzione di lesioni tissutali alla base di diverse malattie autoimmuni.

Lo scopo del nostro studio è quello di indagare la presenza ed il ruolo dei linfociti Th17 nel sangue periferico di pazienti con GvHD in seguito a HSCT. A tale fine, è stata valutata la produzione di IL17A e IFN γ e la fosforilazione di STAT-3/5 in linfociti T CD4⁺ isolati da sangue periferico di 8 pazienti con GvHD. È stata inoltre valutata la concentrazione plasmatica di IL17A, mediante ELISA.

In accordo con i dati presenti in letteratura, è stato osservato un aumento della popolazione di linfociti Th1 nei pazienti con GvHD rispetto ai controlli sani (HD) (incremento medio=2.5, intervallo=1.2-3.6). Inoltre, è stato evidenziato un significativo aumento della popolazione di linfociti Th17 (con fenotipo sia IL17+/IFN γ - sia IL17+/IFN γ +) nei pazienti con GvHD rispetto ai HD (incremento medio=2.7; intervallo=1.2-4.4). In particolare, la percentuale di cellule Th17 IL17+/IFN γ - aumenta dallo 0.4% (intervallo=0.2-0.6%) all'1.2% (intervallo=0.6-1.9%) e quella delle cellule Th17 IL17+/IFN γ + aumenta dallo 0.12% (intervallo=0.12-0.13%) allo 0.3% (intervallo=0.1-0.6%). L'incremento della popolazione Th17 nei pazienti con GvHD è stato inoltre confermato mediante saggi di elispot (incremento di spot= 3.1 vs HD). Inoltre, è importante notare che i linfociti Th17 non sono in grado di produrre IL17A spontaneamente, ma solo in seguito a stimolazione policlonale. In accordo con quanto descritto in letteratura, è stata riscontrata un'elevata fosforilazione delle molecole coinvolte nel pathway di differenziamento dei Th17, quali STAT-3 e 5. Infine, sia nei controlli sani che nei pazienti con GvHD, non sono presenti a livello plasmatico livelli rilevabili di IL17A (minore 4 pg/mL).

La migliore comprensione del ruolo svolto dai linfociti Th17 nella patogenesi della GVHD potrebbe aprire la strada per la generazione di strategie terapeutiche sempre più mirate atte a contrastare il processo infiammatorio e il danno tissutale caratteristico di tale patologia.

C008**REGIME DI CONDIZIONAMENTO BASATO SULL'IMPIEGO DI TREOSULFANO PER IL TRAPIANTO ALLOGENICO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE IN PAZIENTI AFFETTI DA TALASSEMIA MAJOR**

Bernardo ME,¹ Zecca M,¹ Piras E,² Vacca A,² Giorgiani G,¹ Cugno C,¹ Caocci G,² Comoli P,¹ Mastronuzzi A,¹ La Nasa G,² Locatelli F¹

¹Oncoematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Università di Pavia; ²Unità Operativa Centro Trapianti Midollo Osseo, Ospedale R. Binaghi, Cagliari, Italy

Introduzione ed obiettivi. Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE), allogenico rappresenta l'unico trattamento potenzialmente curativo per i pazienti affetti da talassemia major (TM). I regimi di condizionamento abitualmente utilizzati e basati sull'impiego di busulfano si associano allo sviluppo di significative complicanze, in particolare in pazienti adulti e/o appartenenti alla classe 3 della classificazione di Pesaro. Il treosulfano, pro-farmaco appartenente alla categoria degli alchilanti, dispone di elevato potere mieloablativo ed immunosoppressivo, associato a ridotta tossicità extra-midollare.

Metodi. Abbiamo condotto uno studio clinico di fase I-II con lo scopo di valutare sicurezza, tollerabilità ed efficacia di un regime di condizionamento basato sull'impiego di treosulfano/thiotepa/fludarabina in 20 pazienti affetti da TM (età mediana 13 anni, range 1-28) e sottoposti a TCSE midollari, allogenico. Tre pazienti hanno ricevuto il trapianto da donatore familiare HLA-identico, mentre i restanti 17 sono stati trapiantati da donatore volontario HLA-compatibile.

Risultati. Il trattamento somministrato è stato bene tollerato; l'unico effetto collaterale frequentemente osservato (30%) è stata la comparsa di mucosite al cavo orale di grado lieve-moderato. Due pazienti hanno perso il trapianto a 36 e 270 giorni, rispettivamente, dopo un'iniziale attecchimento delle cellule del donatore. Un paziente è deceduto per lo sviluppo di malattia del trapianto contro l'ospite, acuta, di grado IV a localizzazione intestinale ed epatica. L'incidenza cumulativa (e gli intervalli di confidenza, CI) di mortalità trapianto-correlata e di graft failure sono pari a 5% (95% CI, 0-34%) e 11% (95% CI, 3-43%), rispettivamente. Diciannove pazienti sono vivi, con un follow-up mediano di 20 mesi (range 8-28); 17 sono trasfusione-indipendenti e mostrano un chimerismo mediano a favore del donatore pari al 100%. La probabilità di sopravvivenza globale e quella di sopravvivenza libera da TM sono pari a 95% (95% CI, 85-100%), e 85% (95% CI, 66-100%), rispettivamente. I risultati ottenuti in pazienti appartenenti a classi di rischio diverse, sono paragonabili.

Conclusioni. La combinazione treosulfano/thiotepa/fludarabina è ben tollerata ed efficace, e potrebbe trovare la sua applicazione elettiva in pazienti adulti o con disfunzione d'organo, condizioni che espongono ad elevato rischio di sviluppare complicanze peri-trapiantologiche pericolose per la vita.

C009**BANCA DI CORDONE DEDICATO PER MALATTIE GENETICHE: L'ESPERIENZA DEL CENTRO DI BRESCIA 1996-2008**

Monfredini C, Berta S, Bolda F, Baffelli R, Rigosa C, Forino C, De Martini D, D'Ippolito C, Notarangelo LD, Vitali E,¹ Porta F, Lanfranchi A

Oncoematologie Pediatrica e Trapianto di Midollo Osseo; ¹U.O. Ostetricia e Ginecologia, Sala Parto, Spedali Civili, Brescia, Italy

Il sangue di cordone è sorgente di cellule staminali utilizza-

ta ormai correntemente nella pratica clinica. Molte sono le banche cordonali che raccolgono il sangue di cordone di chi, come atto di solidarietà, lo destina per la cura di bambini affetti da oncoemopatie passibili di cura mediante trapianto di cellule staminali. Dal 1998 presso l'unità di Oncoematologia e Trapianto di Midollo Osseo di Brescia è attiva una banca di cordone dedicata alla raccolta di sangue cordonale di fratellini e sorelline di bambini affetti da malattie genetiche dell'immunità, ma anche della raccolta del sangue cordonale di feti affetti diagnosticati in utero. Nel periodo in esame sono stati raccolti più di 40 cordoni. Nella nostra esperienza è stato così possibile raccogliere 5 cordoni di bambini affetti da SCID, di cui uno in un caso di una bimba affetta da SCID con deficit di ADA. In questo caso è stato possibile ingegnerizzare le cellule allo scopo di realizzare terapia genica. Negli altri casi la disponibilità delle cellule all'interno della banca dedicata rende possibile ipotizzare il loro utilizzo in terapia genica. Dal momento che nell'ambito delle malattie genetiche è infrequente che vi sia un fratello o una sorella compatibile non affetta, in un solo caso è stato possibile realizzare il trapianto di cellule cordonali in bambino affetto da immunodeficienza primitiva. Il trapianto è stato effettuato in un bimbo affetto da sindrome di Wiskott-Aldrich che ha ricevuto il sangue cordonale compatibile della sorella. La raccolta di sangue cordonale viene ora proposta anche per fratellini e sorelline di bambini che possono beneficiare del trapianto che prima non avevano indicazione trapiantologica quali bambini affetti da talassemia, osteogenesi imperfecta, anemia falciforme e altre condizioni genetiche passibili di trapianto.

P031**IL TRAPIANTO DI CELLULE EMATOPOIETICHE (HCT) NELLE MALATTIE LISOSOMIALI E PEROSSISOMIALI (LSD): DIECI ANNI DI ESPERIENZA DEL CENTRO DI MONZA**

Lucchini G, Balduzzi A, Biagi E, Biondi A, Bonanomi S, Corti P, Longoni D, Marrocco E, Parini R, Serafini M, Uderzo C, Rovelli A

Clinica Pediatrica dell'Università di Milano-Bicocca, Ospedale San Gerardo, Monza, Italy

Introduzione. L'HCT rappresenta un'opzione terapeutica in casi selezionati di pazienti con LSD. Riportiamo l'esperienza decennale del nostro Centro. Pazienti e metodi. Dal 1998, 17 pazienti (1 ceroidolipofuscinosi, 1 leucodistrofia metacromatica, 1 adrenoleucodistrofia, 4 leucodistrofia a cellule globoidi, 10 mucopolisaccaridosi tipo I-H, MPS I-H), età mediana alla diagnosi 16,1 mesi, range 1-365, sono stati sottoposti a 20 HCT (2 da familiare, 18 da donatore non correlato; 2 CB, 18 BM); 3 pazienti dopo rigetto hanno ricevuto con successo un secondo HCT. Risultati. Ad un follow-up mediano di 6,2 aa (range 0,5-9,6) dopo HCT, 17/18 pazienti (età mediana attuale 9,6 aa, range 0,6-37,5) sono vivi (1 paziente è deceduto ad un anno dall'HCT per complicanze immunoematologiche in corso di rigetto), 11 completa, 5 parziale chimera stabile e 1 ricostituzione autologa. L'outcome nelle leucodistrofie è stato prevalentemente insoddisfacente, segnalando la necessità di criteri più restrittivi per l'eleggibilità. Nei pazienti MPS I-H invece i risultati ottenuti sono stati notevoli; questi pazienti sono ora tutti inclusi in uno studio internazionale finalizzato a definire l'outcome neuropsicologico. Conclusioni. Nei pazienti LSD, oggi la principale problematica del trapianto è il rischio di rigetto. L'HCT rappresenta l'unico trattamento efficace nei bambini affetti da MPS I-H non solo per le possibilità di sopravvivenza, ma soprattutto per l'impatto sulle pos-

sibilità di sviluppo neurocognitivo e autonomia personale con conseguente miglioramento delle prospettive di qualità di vita. L'HCT può essere un'opportunità per alcune leucodistrofie in casi altamente selezionati, ma va invece controindicato nei pazienti con malattia francamente sintomatica o rapidamente evolutiva. L'esperienza del nostro Centro, la maggiore oggi in Italia, consente la partecipazione a studi cooperativi internazionali e lo sviluppo di prospettive di ricerca peculiari. In questa direzione abbiamo avviato uno studio preclinico in un modello murino immunodeficiente di MPS-I per valutare se l'uso di una terapia cellulare aggiuntiva (coinfusione di cellule mesenchimali multipotenti derivate dal midollo del donatore) sia in grado di migliorare l'efficacia dell'HCT sia in termini di riduzione dell'incidenza di rigetto che, soprattutto, di miglioramento dei difetti scheletrici nei pazienti affetti da MPS I-H.

P032

IL TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI COMPLICATO DALL'INFEZIONE DA HBV NELL'ADULTO E NEL BAMBINO

Montante B, Bernasconi S, Mancini S, Majolino I, Locasciulli A
Istituto di Ematoterapia ed Ematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera San Camillo, Forlanini, Roma, Italy

Introduzione. La riattivazione dell'HBV dopo trapianto nei pazienti HbsAg positivi prima della procedura è un evento noto; è interessante notare che ciò può avvenire non solo nei soggetti HbsAg "carriers" ma anche nei pazienti che presentano anticorpi (anti-HBc e/o anti HBs) prima del trapianto. Le manifestazioni cliniche della riattivazione possono variare da un'epatite asintomatica alla forma progressiva/fulminante; i meccanismi che possono concorrere alla riattivazione del virus sono: chemioterapia, steroidi, immunosoppressione, ricostituzione dello stato immunologico.

Materiali. 235 pazienti vennero sottoposti a trapianto allogeneico presso la nostra unità operativa tra il 2001 e il 2007. 13 (5%) (1 m, 11 f) mostrarono una infezione da HBV attiva prima (5) e dopo (8) il trapianto. I pazienti erano affetti da: LA (4), LMC e LLC (3), MM (1), AAS (5), l'età mediana era 30 anni (3-61). Un paziente ricevette trapianto autologo ed 12 allogeneico (10 da donatore familiare HLA-correlato, 1 da alternativo, 1 da familiare mismatch). Tutti furono trattati con Lamivudina 100 mg al di secondo il seguente schema: trattamento iniziale durante il condizionamento nei pazienti HBV carriers; terapia *pre-emptive* alla comparsa della viremia e/o dell'antigenemia durante il follow-up post-trapianto. La durata della terapia variava in base alla risposta sierologica: i pazienti che mostravano sierconversione a HBV-DNA e HbsAg negativi furono trattati per ulteriori tre mesi e monitorizzati mensilmente. I pazienti con infezioni in corso e nessuna evidenza di mutazione virale ricevettero almeno 12 mesi di trattamento.

Risultati. 8 pazienti con infezione da HBV (2 carriers e 6 riattivazioni post trapianto) mostrarono sierconversione da HbeAg a anti Hbe, da HBV-DNA + a HBV-DNA neg e comparsa di anti HBS in tre mesi dall'inizio del trattamento. Nessun paziente sviluppò epatite fulminante o flare-ups, 1/13 mostrò epatite franca concomitante alla riattivazione ma le transaminasi tornarono normali dopo 30 giorni di terapia. I restanti 11 pazienti presentarono un modesto e transitorio incremento delle transaminasi o nessuna alterazione. Non è stata rilevata alcuna tossicità né d'organo né sul midollo.

Conclusioni. La Lamivudina si è dimostrata essere efficace e sicura quando somministrata sia nei pazienti HbsAg carriers

che nelle riattivazioni post-trapianto come *pre-emptive therapy*. Il suo impatto è importante non solo nel prevenire la malattia epatica HBV correlata ma anche nell'indurre la clearance virale portando a completa sierconversione e scomparsa della viremia che è rimasta stabile dopo la sospensione della terapia.

P033

CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI ISOLATE DA LIQUIDO AMNIOTICO DIFFERENZIANO IN PROGENITORI NEURONALI CON CANALI DEL SODIO ATTIVI

Mareschi K, Rustichelli D, Ferrero I, Comunanza V,² Fazio R,³ Cravero C, Saglio F, Martinoglio B,¹ Medico E,¹ Carbone E,² Benedetto C,² Fagioli F

Laboratorio Centro Trapianti e Terapia Cellulare, Oncoematologia Pediatrica; Ospedale Regina Margherita, Torino; ¹Laboratorio di Genomica Funzionale, IRCC di Candiolo; ²Dipartimento di Neuroscienze e ³Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, Università degli Studi di Torino, Italy

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 alpha-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) (Lonza, Belgium).

Risultati. A partire da 27 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, CD73, 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 mostravano a livello molecolare e proteico i marcatori Nanog e Oct-4 e differenziavano in osteoblasti, condroblasti, adipociti. In NPMM queste cellule esprimevano marcatori neuronali e incrementavano la densità dei canali del sodio, TTX- sensibili. Mostrando caratteristiche funzionali molto simili alle cellule progenitrici neuronali.

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.

P034**VALUTAZIONE FUNZIONALE DI PROGENITORI CD34+ DA SANGUE CORDONALE DOPO ESPANSIONE *IN VITRO* PER DUE SETTIMANE IN PRESENZA DI SCF, FL, TPO E IL-6**

Timeus F, Crescenzo N, Doria A, Foglia L, Pagliano S, Mereuta OM, Berger M, Fagioli F

Oncoematologia pediatrica, Università di Torino, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino, Italy

Introduzione e obiettivi. Precedenti lavori del nostro gruppo hanno dimostrato che l'associazione SCF, FL, Tpo e IL-6 espande significativamente i progenitori emopoietici cordonali. Altri autori, tuttavia, hanno osservato un difetto nell'homing e engraftment causato dall'esposizione a citochine. Nel presente lavoro abbiamo valutato espressione di molecole di adesione e chemochine, ciclo cellulare, test funzionali di adesione e migrazione in cellule CD34⁺ cordonali coltivate per 2 settimane in presenza di SCF, FL, Tpo e IL-6.

Materiali e metodi. Selezione CD34⁺ da 3 unità di sangue placentare: MiniMACS Miltenyi. Coltura: per 2 settimane in IMDM + FCS 10% in presenza di SCF 50 ng/mL, FL 50 ng/mL, Tpo 20 ng/mL e IL-6 10 ng/mL. Espressione di molecole di adesione e chemochine: citofluorimetria con analisi in doppia fluorescenza per CD34 e rispettivamente VLA4, VLA5, H-CAM, LFA-1, L-selectina, CXCR4. Test di adesione: su fibronectina 10 µg/cm². Test di migrazione: su gradiente di SDF1. Ciclo cellulare: valutazione citofluorimetrica dell'espressione di CD34 in superficie e propidio ioduro nucleare.

Risultati. Sono riassunti in tabella. Al giorno 7 si osserva un significativo aumento delle cellule in fase S e riduzione di quelle in G0/G1, meno evidente al giorno 14. Durante il periodo di coltura non si osserva significativa variazione dell'espressione delle molecole di adesione e di CXCR4, né della migrazione su gradiente di SDF. Un significativo aumento dell'adesione alla fibronectina è già evidente dopo 7 giorni, persistendo al giorno 14.

Conclusioni. La valutazione funzionale dei progenitori emopoietici durante l'espansione *ex vivo* permette di identificare il timing più opportuno in termini di incremento numerico e favorevoli caratteristiche adesive e migratorie. Nel nostro modello sperimentale non abbiamo osservato il deficit di adesione e migrazione riportato da altri autori dopo esposizione a citochine.

Tabella 1.

	giorno 0		giorno 7		giorno 14	
	%	MFI	%	MFI	%	MFI
VLA-4	91.9±7.7	3.7±2.1	91.9±2.6	4.3±1.2	78.7±19.3	4.8±2.2
VLA-5	67.0±41.8	2.1±0.8	67.0±3.7	2.1±0.3	69.9±31.8	2.3±0.9
H-CAM	98.8±1.6	27.6±10.7	98.9±1.0	21.5±9.0	96.8±3.0	18.0±7.9
L-selectina	70.4±8.8	8.0±5.7	70.4±15.8	4.2±0.5	61.3±16.6	3.3±0.8
LFA-1	79.3±3.6	3.9±0.9	79.3±17.6	9.8±3.2	79.2±14.5	9.4±4.3
CXCR4	87.3±7.9	4.2±1.8	87.3±5.3	4.4±0.6	83.2±12.0	6.5±1.3
%	giorno 0		giorno 7		giorno 14	
G0/G1	89±7,8		39.7±3.4		61.0±5.2	
G2+M	2.7±2.4		12.8±0.5		16.4±7.6	
S	7.8±5.3		47.4±3.8		22.5±2.5	
adesione	8.1±7.7		40.6±25.4		44.3±12.5	
migrazione	51.8±1.8		42.5±13.4		55.0±9.9	

MFI= intensità media di fluorescenza

P035**TOSSICITÀ DOPO CHEMIOTERAPIA AD ALTE DOSI CON BUSULFANO E MELPHALAN E TRAPIANTO AUTOLOGO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE PERIFERICHE NEI PAZIENTI CON SARCOMA DI EWING METASTATICO ALLA DIAGNOSI: CONFRONTO TRA PAZIENTI PEDIATRICI E ADULTI**Abate ME,¹ Luksch R,² Tienghi A,³ Fagioli F,⁴ Tamburini A,⁵ Prete A,⁶ Bisogno G,⁷ Favre C,⁸ Pedrazzoli P,⁹ Grignani G,¹⁰ Palmerini E,¹ Fossati-Bellani F,² Ferrari S¹

¹Sezione di Chemioterapia dei Tumori dell'Apparato Muscoloscheletrico, Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna; ²Divisione di Oncologia Pediatrica, Istituto Nazionale Tumori, Milano; ³Dipartimento di Oncologia ed Ematologia, Ospedale Civile di Ravenna; ⁴Dipartimento Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza, Ospedale Infantile Regina Margherita - Torino; ⁵U.O. Oncoematologia Pediatrica, A.O. Universitaria Meyer, Firenze; ⁶Oncologia ed Ematologia, Clinica Pediatrica, Policlinico S'Orsola-Malpighi, Bologna; ⁷Dipartimento di Pediatria, Oncoematologia Pediatrica, Università di Padova; ⁸Centro di Oncoematologia Pediatrica e Trapianto Midollo Osseo, Pisa; ⁹Divisione di Oncologia Medica, Ospedale Niguarda Cà Granda - Milano; ¹⁰Istituto di Ricerca sul Cancro, Candiolo, Italy

Introduzione e obiettivi. Il presente studio si propone di confrontare la tossicità osservata dopo chemioterapia ad alte dosi con busulfano e melphalan (BuMel) e trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche periferiche (TCSEP) nei pazienti pediatrici - P (età inferiore a 18 anni) e adulti - A (età uguale-superiore a 18 anni) affetti da SEW metastatico.

Metodi. L'analisi riguarda i pazienti arruolati in Italia dal 1/6/99 al 31/12/2007 nel protocollo ISG-SSG IV, comprendente la chemioterapia con vincristina, doxorubicina, ifosfamide, ciclofosfamide ed etoposide, il trattamento locale chirurgico e/o radioterapico e, nei pazienti responsivi, il trattamento con alte dosi di busulfano (1 mg/kg/dose x 16 dosi x os) e melphalan (140 mg/mq EV) seguito da TCSEP (uguale-superiore 2,5x10⁶/kg). La radioterapia sulle metastasi polmonari si effettuava al termine del protocollo di trattamento. I dati analizzati sono stati ricavati dalle schede raccolta-dati centralizzate per ciascun paziente. Le tossicità sono state valutate secondo i criteri NCIC CTG.

Tabella 1.

	Pediatrici - 26 pz	Adulti - 21 pz	p-value
Tempo medio di recupero leucocitario (superiore a 1500/mmc)	13,2 gg (SD 7,2)	9,5 gg (SD 2,1)	0,039
Tempo medio di recupero piastrinico (superiore a 50.000/mmc)	15 gg (SD 7,7)	11,7 gg (SD 2,2)	0,09
Trasfusioni GRC	68%	65%	0,83
Trasfusioni PLT	96%	79%	0,08
Neutropenia febbrile	88%	80%	0,46
Stomatite grado 3-4	44%	55 %	0,46
Ematuria grado 3-4	4%	5 %	0,42
Ipetransaminasemia grado 3-4	8,3%	5 %	0,89

Risultati. 47 pazienti sono risultati valutabili, età mediana 17 (3-34) anni, 27 maschi e 20 femmine, P 26 (55,3%) A 21 (44,7%). La mediana di ritardo di inizio di BuMel è stata di 11 gg (P 2-49; A 2-25). In 1 P e 1 A è stato utilizzato Busulfano EV (Busilvex) alla dose di 0,8 mg/kg/dose x 16 dosi. In 1 P non è stato somministrato il Busulfano per deficit ventilatorio restrittivo. La mediana di CSEP infuse risulta: P 9,6 (2,6-54)x10⁶/kg; A 9,2 (3,9-17,6)x10⁶/kg. In tutti i pazienti, tranne 1 P, è stato utilizzato il G-CSF dopo TCSEP. Il confronto tra P ed A ha fornito i seguenti risultati (tabella): è stato inoltre segnalato un episodio convulsivo con anomalie EEG in 1 P.

Conclusioni. Dopo BuMel e TCSEP gli A mostrano un recupero leucocitario più rapido rispetto ai P. L'analisi dei restanti profili di tossicità non mostra significative differenze tra P e A, sebbene negli A si osservi un recupero piastrinico più rapido e un ridotto supporto trasfusionale di piastrine.

P036

IL TRAPIANTO DA DONATORE HLA IDENTICO OFFRE OTTIME PROBABILITÀ DI GUARIGIONE A BAMBINI TALASSEMICI IN CLASSE I E II PROVENIENTI DA PAESI A RISORSE LIMITATE

Markt S, Cappelli B, Chiesa R, Rocca T, Evangelio C, Noè A, Cattaneo F, Biral E, Frugnoti I, Rizzato E, Crocchiolo R, Matozzo V, Ciceri F, Roncarolo MG

Unità di Immunoematologia Pediatrica e Trapianto di Midollo; IRCCS San Raffaele, Milano, Italy

Introduzione e obiettivi. Nei paesi sviluppati la sopravvivenza e la qualità di vita nei pazienti affetti da beta-talassemia è significativamente migliorata con l'ottimizzazione del regime trasfusionale e della terapia ferrochelante. Al contrario, nei paesi a risorse limitate la maggioranza dei bambini talassemici muore entro la seconda decade di vita a causa della ridotta disponibilità di emoderivati sicuri, del costo dei farmaci ferrochelanti, e dell'inadeguata gestione delle comorbidità. Per questi pazienti il trapianto di midollo osseo rappresenta una possibilità di cura con bassa morbilità e mortalità.

Metodi. Dal giugno 2005 al febbraio 2008, 22 pazienti consecutivi affetti da beta-talassemia in classe I (1) e II (21) sono stati sottoposti a TMO da familiare HLA-identico presso il nostro Centro. I pazienti (11 maschi e 11 femmine) con età mediana di 5 anni (2-13) provenivano da Libano (9), Iraq (4), Palestina (4), Siria (5). Ferrochelazione regolare (6), irregolare (13) o assente (3). Ferritina mediana 1935 ng/mL (956-5698). Emoglobina pre-trasfusionale mediana 8 g/dL (5.5-10). 15 pazienti di età superiore a 4 anni sono stati sottoposti a condizionamento con busulfano ev (dosaggio stabilito sul peso, aggiustato dalla V dose su AUC target 4800 mcg/l*h) e ciclofosfamide (200 mg/kg); nei 4 pazienti di età inferiore a 4 anni è stato aggiunto thiotepa (10 mg/kg). Tutti i pazienti hanno ricevuto ciclosporina, metilprednisolone e metotrexate (3 dosi) come profilassi della GvHD. La sorgente di cellule staminali è stata midollo osseo non manipolato da fratello HLA-identico; mediana CD34⁺ infuse 9.5x10⁶/kg (2.6-21.7), mediana CD3⁺ 74x10⁶/kg (49.7-117).

Risultati. L'attecchimento si è verificato in tutti i pazienti, con una mediana di 20 gg (12-25) per i neutrofili e di 16 gg (10-43) per le piastrine. L'incidenza di GvHD acuta è stata di 6/22 (grado I-II), e 1/22 (grado III-IV). GvHD cronica si è verificata in 2/22 pazienti. Tutti i pazienti sono vivi e indipendenti da supporto trasfusionale. Il follow-up mediano post-trapianto è di 373 gg (105-801).

Conclusioni. Nonostante la terapia medica inadeguata pre-trapianto, i pazienti affetti da beta-talassemia in classe I-II pro-

venienti da paesi a risorse limitate mostrano risultati clinici simili ai pazienti dei paesi sviluppati sottoposti a TMO in termini di sopravvivenza libera da malattia e mortalità correlata al trapianto.

P037

SIGNIFICATO PREDITTIVO DELL'ANALISI CHIMERICA DOPO TRAPIANTO ALLOGENICO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE IN ETÀ PEDIATRICA

Di Martino D, Terranova MP, Di Duca M, Lanino E, Dini G, Morreale G

IRCCS G Gaslini, Genova, Italy

Introduzione. I primi studi sul trapianto di cellule staminali ematopoietiche (TCSE), affermano che raggiungere la completa ematopoiesi del donatore è essenziale per mantenere l'attecchimento (chimerismo completo: DC). Tuttavia è dimostrato che il repertorio ematopoietico di donatore e ricevente possono coesistere (chimerismo misto: MC). Tale condizione può rimanere stabile (SMC), progredire fino a un DC (TMC) o regredire fino alla ripresa autologa del ricevente (PMC). L'obiettivo del nostro studio è analizzare l'evoluzione del chimerismo sui pazienti sottoposti a trapianto allogenico presso l'Unità TCSE dell'IRCCS G. Gaslini, e valutarne il significato predittivo di insorgenza di GvHD, rigetto o ricaduta. Metodi. Il DNA, estratto da sangue periferico e midollare di 53 pazienti, a tempi diversi dopo il trapianto, è stato amplificato per lo studio degli STR. Per ciascun paziente sono stati caratterizzati 9 loci polimorfici contenenti sequenze nucleotidiche ripetute.

Risultati. 18/53 pazienti sono stati sottoposti a condizionamento non mieloablativo: 4/18 non hanno attecchito (rigetto precoce); 2/18 presentavano TMC poi trasformato in DC a 3 mesi, senza GvHD; 4/18 presentavano SMC, senza GvHD; 1/18 PMC, senza GvHD, e rigetto a 3 mesi; 7/18 presentavano DC. Di questi ben 6/7 hanno manifestato GvHD medio/grave. 35/53 pazienti sono stati sottoposti a condizionamento mieloablativo: 28/35 avevano malattia neoplastica e 7/35 non neoplastica. Dei 28 pazienti con malattia neoplastica 24/28 presentavano DC già nel primo mese post TCSE, 3/28 PMC evoluto in recidiva, solo 1/28 TMC evoluto in DC a +6 mesi senza GvHD. Dei 7 pazienti con malattia non neoplastica, 2/7 presentavano TMC poi risolto in DC rispettivamente a +7 (senza GvHD) e +4 mesi (con GvHD), 2/7 SMC con risoluzione della malattia congenita di base e infine 3/7 DC anche in questo caso con risoluzione della malattia di base ma con GvHD medio/grave. Nessun paziente sottoposto a condizionamento mieloablativo ha avuto mancato attecchimento o rigetto precoce. Conclusioni. Dai risultati ottenuti si può concludere che il TMC si associa, in tutti i casi studiati, a buona prognosi e riduce il rischio di GvHD. È evidente come nelle malattie neoplastiche non si riscontri mai SMC mentre nelle altre patologie questo si associa a prognosi buona e ridotto rischio di GvHD. Inoltre nelle malattie neoplastiche il PMC ha sempre significato di recidiva, mentre nelle non neoplastiche è indice di rigetto secondario. A conferma dei dati in letteratura il DC precoce è la situazione più frequente post TCSE per malattia neoplastica ed è inoltre associato ad aumentato rischio di GvHD.

P038**RUOLO DEL CONDIZIONAMENTO AD INTENSITÀ RIDOTTA NELLA RICOSTITUZIONE IMMUNOLOGICA DOPO TRAPIANTO DI MIDOLLO HLA-IDENTICO NELLE SCID: IL CASO DI DUE PAZIENTI ADA-SCID**

Cancrini C,^{1,2} Ferrua F,^{3,4} Finocchi A,^{3,4} Simonetti A,^{1,2} Scarselli A,¹ Brigida I,⁴ Romiti L,¹ Roccia T,⁴ Chiesa R,⁴ Bareta G,⁵ Rossi P,^{1,2} Roncarolo MG,^{3,4} Caniglia M,⁵ Aiuti A,^{1,4}

¹Università di Roma "Tor Vergata"; ²U. Immunoinfeziologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; ³Università "Vita-Salute" S.Raffaele, Milano; ⁴Immunematologia Pediatrica e Trapianto di Midollo e HSR-TIGET, Istituto Scientifico HS Raffaele Milano; ⁵U. Pediatria e Neonatologia, Istituto Scientifico HS Raffaele Milano; ⁶U. MITA, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italy

Introduzione e obiettivi. Il trattamento di scelta per le SCID è il trapianto di midollo osseo (TMO) da donatore HLA-identico senza condizionamento. Gli studi di follow up hanno mostrato una riduzione nella ricostituzione immunologica a lungo termine in questi pazienti, anche per l'assenza di una riserva adeguata di cellule staminali sane. Qui descriviamo il caso di 2 bambini affetti da SCID da deficit di adenosina deaminasi (ADA), appartenenti alla stessa famiglia (mutazione R211H) sottoposti a TMO da fratello HLA-identico senza (paziente 1) o con (paziente 2) condizionamento ad intensità ridotta all'età di 4 e 5 mesi, rispettivamente.

Metodi. Il paziente 1 ha ricevuto un TMO senza condizionamento e senza profilassi per GVHD. Il paziente 2, dopo aver rigettato un trapianto di cellule di cordone ombelicale da familiare HLA-identico senza condizionamento è stato sottoposto a TMO HLA-identico previo trattamento con busulfano (8 mg/kg) e fludarabina (100 mg/mq) con profilassi GVHD (ciclosporina). I pazienti hanno ricevuto una dose simile di cellule nucleate/kg (paziente 1: 9.2×10^8 ; paziente 2: 7.2×10^8) e CD34⁺/kg (paziente 1: 23×10^6 ; paziente 2: 32×10^6). Abbiamo quindi valutato l'attecchimento e la ricostituzione immunologica e metabolica nel primo anno post-TMO.

Risultati. Entrambi i pazienti hanno avuto un decorso privo di complicanze. Il paziente 1 ha mostrato una ripresa linfocitaria più rapida rispetto al paziente 2, sostenuta soprattutto da cellule CD8⁺ e CD4⁺CD45RO⁺. Nel paziente 2, dopo sospensione della profilassi GVHD, abbiamo osservato una progressiva normalizzazione delle conte linfocitarie sostenuta prevalentemente da cellule CD4⁺CD45RA⁺ naive, policlonali, con timo di dimensioni normali all'ecografia. In accordo, l'attività timica è risultata essere più elevata nel paziente 2 (TREC: 9440 copie/100 ng) rispetto al paziente 1 (610 copie). Abbiamo osservato una migliore ricostituzione linfoide B nel paziente che ha effettuato il condizionamento, mentre i livelli di NK sono risultati paragonabili. Entrambi i pazienti hanno mostrato un attecchimento quasi esclusivamente "donor" nei linfociti T ed NK, mentre solo il paziente 2 ha mostrato chimerismo misto stabile (65-80%) nelle altre linee, compresi i linfociti B ed i granulociti nel midollo osseo. I livelli di metaboliti tossici dAXP nei GR si sono normalizzati in entrambi i pazienti.

Conclusioni. Questi risultati preliminari suggeriscono l'utilità di esplorare l'efficacia a lungo termine di un condizionamento ad intensità ridotta per il TMO da donatore HLA-identico nelle SCID.

P039**LE CELLULE T-REGOLATORIE COME MEDIATORI DI EFFICACIA DELLA FOTOCHIMIOterapia EXTRACORPOREA IN PAZIENTI AFFETTI DA GVHD REFRATTARIA POST-TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO**

Di Biaso I,¹ Gaipa G, Renoldi G, Bugarin C, Di Maio L, D'Amico G, Balduzzi A, Biondi A, Perseghin P,¹ Biagi E

Centro di Ricerca "M. Tettamanti", Clinica Pediatrica, Università Milano Bicocca, Ospedale San Gerardo, Monza *Centro di immunoferesi Ospedale San Gerardo, Monza, Italy

Introduzione e obiettivi. La Graft-versus-Host Disease (GvHD) rappresenta uno dei maggiori fattori di mortalità e morbilità in seguito a trapianto di cellule staminali emopoietiche. Diversi studi hanno dimostrato che le cellule T regolatorie (T-reg) CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ svolgono un ruolo protettivo nei confronti della GvHD. Scopo del presente studio è stato quello di monitorare la frequenza e la funzionalità delle T-reg circolanti in pazienti affetti da GvHD refrattaria sottoposti a fotochemioterapia extracorporea (ECP) e di valutarne l'impatto come indicatori di risposta clinica.

Metodi. Sono stati arruolati ventisette pazienti (GvHD acuta, n=9; GvHD cronica, n=18). Le cellule T-reg sono state analizzate nel sangue periferico tramite analisi dei marcatori CD3, CD4, CD25, Foxp3. Saggi di Elispot per IFN-gamma ed IL-17 sono stati utilizzati per verificare la capacità inibitoria delle cellule T-reg e la frequenza di cellule circolanti Th17, descritte recentemente come mediatori delle fasi attive di GvHD. Esperimenti di fosfoproteomica hanno, infine, permesso di valutare lo stato di attivazione delle cellule T-reg tramite analisi della forma fosforilata della proteina STAT-5 su cellule T-reg CD4⁺CD25⁺CD127⁻, dopo FACS sorting.

Risultati. Il monitoraggio fenotipico ha dimostrato un incremento significativo delle T-reg nei pazienti responsivi all'ECP, paragonati ai pazienti non responsivi (valore medio pari rispettivamente a 35% vs. 3% sulla quota CD4⁺, in corrispondenza della 12ma procedura; $p < 0.05$). Un incremento delle cellule T-reg si è accompagnato ad una riduzione della quota circolante di cellule Th17, misurata come Spot Forming Cells tramite metodiche di Elispot per l'IL-17 (frequenza media di 60 SPC su 10^5 cellule nei pazienti responsivi vs. 750 nei pazienti non responsivi, in corrispondenza della 12ma procedura). L'analisi dello stato di fosforilazione di STAT-5 ha dimostrato un incremento delle quote fosforilate dopo stimolazione con IL-2, come descritto nelle cellule T-reg attivate in condizioni fisiologiche (ratio mediana quota stimolata verso quota non stimolata pari a 3.9, n=3).

Conclusioni. Il presente studio dimostra che l'ECP si accompagna ad un incremento delle cellule T-reg (esprimenti elevati livelli di Foxp3 e STAT-5), e ad una parallela riduzione delle cellule Th17. Il monitoraggio delle cellule T-reg potrebbe divenire un indicatore di risposta clinica dopo ECP, e consentire una più adeguata modulazione della strategia terapeutica.

P040**CORIORETINITE DA CMV IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO DI CSE T-DEPLETATE**

Boaro MP, Cesaro S, Messina C, Pillon M, Calore E, Varotto S, Martelli M, Aversa F

Oncematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova; Unità Trapianto di Cellule Staminali Emopoietiche, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Perugia, Italy

Introduzione ed obiettivi. La retinite da citomegalovirus (CMV) è una tipica complicanza dei pazienti HIV mentre è riportata nell'1,4-2,2% nei pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche (CSE) allogeniche. Descriviamo l'incidenza e le caratteristiche della retinite da CMV in pazienti adulti e bambini sottoposti a trapianto T-depleto di CSE.

Metodi. Raccolta retrospettiva di casi di retinite da CMV presso i centri trapianto di Perugia e Padova nel periodo '99-'06 in cui sono stati eseguiti 326 trapianti T-depleti in adulti e 13 trapianti T-depleti in età pediatrica.

Risultati. La retinite da CMV è stata diagnosticata in 7 pazienti, 6 adulti e 1 adolescente di 15 anni affetti da LLA, 3, LMA, 1, LNH, 1, mieloma multiplo, 1, SAA, 1. L'incidenza complessiva è stata del 2%. La fonte di CSE è stata un familiare HLA aploidentico in 4 casi e un familiare HLA identico in altri 3 casi. Lo stato CMV della coppia R/D era pos/pos in 6 casi e neg/pos in 1 caso. 6/7 hanno presentato una riattivazione precoce CMV: mediana g. + 29, range tra g.+ 20 e g.+ 33, mentre in 1 solo caso la coriorretinite è stata l'unica espressione clinica dell'infezione da CMV. L'intervallo di tempo tra trapianto e insorgenza di coriorretinite è stato in mediana 300 giorni, range da g. +242 a g. +350 e in 1 solo caso questa è stata preceduta da malattia da CMV (polmonite g. + 330, coriorretinite g. + 350). Tutti i pazienti sono stati sottoposti a valutazione oculistica approfondita (oftalmoscopia, fluroangiografia) perché sintomatici. Il trattamento è consistito nell'associazione di ganciclovir e foscarnet in 6 pazienti (media 63.5 giorni, range 45-83) o, nel paziente adolescente, di foscarnet e cidofovir per 6 settimane seguito da un mantenimento con foscarnet o ganciclovir 3 volte a settimana per 100 giorni. 6/7 pazienti sono migliorati con la terapia antivirale e di questi solo 1 è recidivato dopo 3 mesi dalla sospensione della terapia. Una paziente ha presentato un grave esito con cecità da distacco di retina ed atrofia ottica e successivamente è deceduta per polmonite da CMV mentre 2 pazienti sono deceduti per altre cause (1 per recidiva di malattia e 1 per grave anemia emolitica autoimmune post-trapianto).

Conclusioni. L'interessamento oculare da CMV rappresenta la seconda causa di malattia da CMV nel paziente trapiantato ed è una complicanza tardiva anche nel trapianto T-depleto. Il pronto trattamento antivirale è fondamentale per evitare danni permanenti.

LEUCEMIE E LINFOMI**C010****L' ANALISI QUANTITATIVA DELLA MALATTIA RESIDUA MINIMA È IL FATTORE PROGNOSTICO PIÙ IMPORTANTE NEI BAMBINI CON LEUCEMIA LINFBLASTICA ACUTA (LLA): RISULTATI DELLO STUDIO AIEOP-BFM ALL 2000**

Conter V,¹ Schrappe M,⁸ Valsecchi MG,² Schrauder A,⁸ Zimmermann M,¹⁰ Panzer-Grümayer R,⁹ Aricò M,³ Möricke A,⁸ Bartram CR,¹² De Rossi G,⁴ Mann G,⁹ Stanulla M,¹⁰ Locatelli F,⁵ Reiter A,¹³ Basso G,⁶ Niggli F, Henze G,¹⁶ Messina C,⁶ Ludwig W-D,¹⁵ Cazzaniga G,¹¹ Harbott J,¹⁴ Parasole R,⁷ Beier R,¹⁷ Vormoor B,¹⁰ Maserà G,¹ Riehm H,⁸ Biondi A¹¹

¹Department of Pediatrics, University of Milano-Bicocca, Ospedale S. Gerardo, Monza, Italy; ²Medical Statistics Unit, Department of Clinical Medicine, Biotechnologies and Prevention, University of Milano-Bicocca; ³Department of Pediatric Hemato-Oncology, Ospedale Meyer, Firenze, Italy; ⁴Department of Pediatric Hematology, Ospedale Bambin Gesù, Rome, Italy; ⁵Department of Pediatrics, Ospedale San Matteo, Pavia, Italy; ⁶Pediatric Hematology-Oncology, University of Padua, Italy, Ospedale Policlinico, Padova, Italy; ⁷Department of Pediatrics, Ospedale Pausillipon, Napoli, Italy; ⁸Department of Pediatrics, University Medical Center Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Kiel, Germany; ⁹CCRI, St. Anna Kinderhospital, Wien; ¹⁰Department of Pediatric Hematology and Oncology, Medical School Hannover, Hannover, Germany; ¹¹Centro M. Tettamanti, Clinica Pediatrica Università Milano-Bicocca, Monza, Italy; ¹²Institute of Human Genetics, Ruprecht-Karls University, Heidelberg, Germany; ¹³Ped. Hematology and Oncology, Univ. Hospital Giessen, Germany; ¹⁴Oncogenetic Laboratory, Ped. Hematology and Oncology, University Hospital Giessen; ¹⁵Hematology/Oncology, Robert-Rössle-Klinik at the HELIOS Klinikum, Charité, Berlin, Germany; ¹⁶Ped. Hematology and Oncology, Virchow Hospital, Charité, Berlin, Germany; ¹⁷Ped. Hematology and Oncology, Univ. Medical Center Homburg, Germany; ¹⁸Ped. Hematology and Oncology, University Hospital Zuerich, Switzerland. V. Conter e M. Schrappe hanno contribuito in egual misura a questo studio

Introduzione e obiettivi. Nel corso degli ultimi 10-15 anni sono state sviluppate diverse metodiche per la valutazione della risposta precoce mediante Malattia Residua Minima (MRM) nella LLA in età pediatrica. I gruppi che collaborano nell' International "Berlin-Frankfurt-Münster" Study Group (I-BFM-SG) hanno valutato la MRM in due time points precoci (TP1 al giorno +33, TP2 al giorno +78), valutata mediante metodica basata sui riarrangiamenti dei geni per le Immunoglobuline (Ig) e T-cell receptors (TcR) come targets di PCR. Lo studio collaborativo prospettico AIEOP-BFM ALL 2000 ha utilizzato l'analisi quantitativa della MRM per stratificare i pazienti trattati con protocolli BFM. In questo studio viene valutato il valore prognostico della MRM.

Metodi. 3707 pazienti, stratificati con i criteri di MRM, sono stati valutati in questo studio. I pazienti sono stati definiti a rischio standard per MRM (MRM-SR) se la MRM era negativa al TP1 e TP2; a rischio intermedio per MRM (MRM-IR) se la MRM era positiva al TP 1 o al TP2 ma minore 10⁻³ al TP2; ad alto rischio per MRM (MRM-HR) se MRM maggiore-uguale 10⁻³ al TP2. L' outcome è valutato come Event Free Survival (EFS) ed incidenza di recidiva. Lo studio è registrato sul sito <http://clinicaltrials.gov> con il numero identificativo NCT

00613457 per il gruppo AIEOP.

Risultati. La stima globale di EFS e sopravvivenza a 5 anni è risultata del 81,8% (0.8) e 91.2% (0.6) rispettivamente, con un follow-up mediano di 3 anni. Dei 3707 pazienti, 1449 erano a MRM-SR, 1972 a MRM-IR e 286 a MRM-HR. La EFS a 5 anni ottenuta in questi tre gruppi di rischio è risultata pari a 92,6% (1.0), 78.8% (1.3) e 45.6% (4.1) rispettivamente. Resistenza al trattamento, morte in CCR e seconde neoplasie maligne si sono verificate rispettivamente in 7.53 e 21 pazienti. La maggior parte degli eventi era rappresentata da recidive (N=376), con un'incidenza cumulativa a 5 anni del 5.5% (0.9), 19.7% (1.3) e 38.5% (3.8) nei pazienti MRM-SR, MRM-IR e MRM-HR rispettivamente ($p < 0.001$).

Conclusioni. Questo studio mostra che la risposta alla terapia valutata come MRM con metodica PCR è il più importante fattore predittivo per recidive nella LLA, e riduce significativamente la rilevanza dei fattori prognostici convenzionali. La risposta di MRM si dimostra quindi utile non solo per la definizione dei gruppi diagnostici ma anche per la valutazione dell'efficacia delle strategie terapeutiche nella LLA in età pediatrica.

C011

PROTOCOLLO AIEOP LAM 2002/01: RISULTATI PRELIMINARI

Pession A, Masetti R, Putti C, Rizzari C, Locatelli F, Santoro N, Luciani M, Menna G, Fagioli F, Lo Nigro L, Micalizzi C, Casale F, Testi AM, Zecca M, Rondelli R, Biondi A, Basso G

CSS AIEOP LANL, Italy

Obiettivo. Analisi 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 31/12/2007. **Risultati.** Arruolati 227 pazienti in 62 mesi da 33/42 centri aderenti. 205/227 i casi (90%) eleggibili, tutti valutabili. Per caratteristiche molecolari e risposta al primo ciclo di induzione, 34/205 (16%) risultano SR (rischio standard), ed 171 (84%) HR (alto rischio). La distribuzione per età in anni è: <2 20%, 2-10 42%, >10 38%; per FAB: M0 7%, M1 18%, M2 21%, M4 16%, M5 25%, M6 1%, M7 12%. La media dei globuli bianchi all'esordio è 46.000/mmc. Il 5% dei casi è SNC positivo. FLT3-ITD risulta mutato nell'8% dei pazienti mentre FLT3-D835 nel 2%. Su 205 casi valutabili, 168 casi (82%), hanno raggiunto la RC (remissione completa): 160 al termine del I ICE e 8 dopo il II ICE. L'8% dei pazienti (tutti ad HR) ha presentato una *Primary Induction Failure*. I pazienti morti in induzione sono il 4% (tutti HR). Dei 168 casi in RC, 50 (24%) sono recidivati (4 SR e 46 HR). I morti in CR sono 5 (2.4%) tutti HR. I casi vivi in CCR risultano pari a 113/205 (55%). Sono 116 i trapianti in I RC: 63 autologi (49 purgati con mafosfamide, 12 non purgati) con una EFS a 3 anni del 61%, 53 allogeneici di cui 24 MFD (EFS 77%), 15 MUD (EFS 86%), 5 PMFD (EFS 40%) e 9 PMUD (EFS 86%). Con un tempo mediano di FUP di 33,4 mesi la OS è pari al 67% (SR: 96%, HR: 62%), la EFS al 54% (SR: 82%, HR: 48%) e la DFS al 62% (SR: 83%, HR: 57%). La EFS dei casi HR FLT3-ITD positivi è del 28% mentre quella degli HR FLT3-ITD negativi è del 50%. La tossicità extra-midollare, (di grado 3-4 secondo OMS), ha interessato dei casi, concentrata nelle due fasi di induzione, riguardando in particolare l'apparato gastrointestinale, la cute e le complicanze infettive.

Conclusioni. buona la percentuale di RC globale (82%) dopo l'induzione specialmente per il gruppo SR che non ha ripor-

tato eventi. I casi FLT3-ITD costituiscono un sottogruppo di pazienti a prognosi decisamente sfavorevole (EFS 28%). Ottimo l'outcome dei casi che hanno eseguito un trapianto MUD (EFS globale a 3 anni del 77%). OS, EFS e DFS a 5 anni risultano globalmente superiori a quelle riscontrate nelle generazioni di protocolli AIEOP precedenti.

C012

LA "LAL INFANT" PRESENTA UN PROFILO GENOMICO SPECIFICO

Bardini M^{1,2} Spinelli R,³ Corral L,¹ Mangano E,^{3,4} Fazio G,¹ Cifola I,⁵ Basso G,⁵ De Rossi G,⁶ Biondi A,¹ Battaglia C,^{4,7} Cazzaniga G¹

¹Centro Ricerca Tettamanti, Clinica Pediatrica Univ. Milano-Bicocca, Monza; ²International PhD in Molecular Medicine, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano; ³Istituto di Tecnologie Biomediche-Segrate, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Milano; ⁴Centro Interdisciplinare Studi bio-molecolari e applicazioni industriali (CISI), Università degli studi di Milano, Milano; ⁵Clinica Pediatrica Università Padova, Padova; ⁶Divisione di Ematologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Città del Vaticano, Roma; ⁷Dipartimento di scienze e tecnologie biomediche (DiSTeB) e Scuola di dottorato di medicina molecolare, Università degli studi di Milano, Italy

Introduzione. Studi recenti hanno dimostrato che singole lesioni genetiche, sia nella LAL pediatrica che dell'adulto, non sono sufficienti per l'insorgenza della leucemia, ma è necessaria la cooperazione di ulteriori anomalie successive (es. delezioni e mutazioni). Al contrario, la patogenesi delle LAL con insorgenza entro il primo anno di vita (*LAL Infant*) non è ancora ben chiara. La *LAL Infant* è una malattia molto aggressiva, con caratteristiche peculiari, tra le quali il riarrangiamento del gene MLL nella maggior parte dei casi. Sebbene sia stata dimostrata l'origine prenatale di tale anomalia e che la latenza prima della manifestazione clinica sia per definizione molto breve, diversi studi su modelli animali indicano che il riarrangiamento del gene MLL non è sufficiente per indurre la manifestazione clinica della leucemia in tempi brevi.

Obiettivo. Scopo del lavoro è valutare la presenza di aberrazioni genomiche non rilevabili con tecniche convenzionali, che cooperano nello sviluppo della *LAL Infant*. L'identificazione di tali lesioni è necessaria per indagare la patogenesi della leucemia e per individuare eventuali bersagli per una terapia mirata.

Metodo. È stata eseguita analisi di SNParray, esplorando circa 100.000 SNPs distribuiti su tutto il genoma; questa metodica permette di identificare la perdita di eterozigosi (LOH) associata o meno ad alterazioni numeriche di regioni cromosomiche. Per ridurre la possibile eterogeneità genetica, è stato analizzato il DNA alla diagnosi, remissione e ricaduta di 28 casi di *LAL Infant* con t(4;11).

Risultati. Rispetto ai pazienti LAL ad insorgenza più tardiva, è stato identificato un numero estremamente limitato di delezioni. Sono invece state rilevate numerose regioni di LOH senza alterazione del numero di copie (CNN-LOH), validate tramite sequenziamento. Tali regioni di omozigosi sono distribuite in tutto il genoma; i geni che mappano nelle regioni di CNN-LOH più ricorrenti sono coinvolti in meccanismi frequentemente alterati nei tumori, principalmente nel riparo del DNA (FANC, BRCA1, RAD). Nella maggior parte dei casi, tali CNN-LOH si sono rivelate costitutive, in quanto presenti anche in remissione.

Conclusioni. Questi risultati dimostrano che nella *LAL Infant* il riarrangiamento di MLL non è associato alle anomalie cromosomiche identificate nei pazienti LAL pediatrici ed adulti.

Pertanto può essere ipotizzato che questo primo e unico evento, in un assetto genomico specifico, sia capace di indurre la leucemogenesi; o, in alternativa, che la presenza di regioni costitutive di omozigosi sia precedente il riarrangiamento di MLL ed abbia un ruolo nel predisporre l'insorgenza della malattia, favorendo lo stesso riarrangiamento. Ulteriori studi su un'ampia casistica sono necessari per validare e comprendere il ruolo funzionale delle CNN-LOH.

C013

L'ESPRESSIONE DI UN RECETTORE CHIMERICO SPECIFICO PER L'ANTIGENE CD33 SULLE CELLULE KILLER INDOTTE DA CITOCHINE AUMENTA RADICALMENTE LA LORO ATTIVITÀ ANTI-LEUCEMICA

Marin V,¹ Pizzitola I,¹ Agostoni V,¹ Pule M,² Rousseau R,³ Biondi A,¹ Biagi E¹

¹Centro Ricerca M. Tettamanti, Clinica Pediatrica, Ospedale San Gerardo, Università Milano-Bicocca, Monza, Italy; ²University College London, London; ³Centre Leon Berard, Lyon, France

Introduzione e obiettivi. La leucemia mieloide acuta (LMA) è la causa del 30% delle morti nei bambini con leucemia. Gli attuali trattamenti assicurano remissione a lungo termine nel 40% dei pazienti e la terapia con anticorpo monoclonale anti-CD33 ha dimostrato significativi effetti collaterali. L'immunoterapia basata sull'utilizzo di CD33 come bersaglio terapeutico potrebbe essere potenziata grazie alle cellule CIK modificate geneticamente con recettore chimerico anti-CD33. Le CIK sono cellule immuni CD3⁺-CD56⁺, espresse *ex vivo*, che mostrano ottime capacità migratorie verso i tessuti infiltrati dalla leucemia.

Metodi. Le cellule CIK sono state trasdotte con il vettore retrovirale contenente il recettore anti-CD33-zeta. L'attività citotossica contro la linea leucemica HL-60 o contro blasti primari di LMA è stata misurata dopo co-cultura per 4 ore o per 6 giorni su uno strato di cellule mesenchimali (citotossicità a lungo termine). Il rilascio di citochine dalle cellule CIK stimolate per 48 ore con cellule HL-60 a rapporto 1:1 è stato misurato mediante citofluorimetria.

Risultati. Le cellule CIK sono state efficientemente trasdotte con il recettore anti-CD33, (espressione media di recettore, 70% range, 56-83%, n=5). Le cellule CIK esprimono il recettore anti-CD33 hanno mostrato potente citotossicità dopo 4 ore contro cellule HL-60 (85% di lisi; range, 66-100%, n=5) e contro blasti LMA (50% di lisi; range, 20-100%, n=3) ad un rapporto effetto:bersaglio 5:1, al contrario delle cellule non trasdotte (lisi media 38% e 8%, rispettivamente, n=3; p=0.05). Risultati simili sono stati ottenuti in colture a lungo termine a rapporto effetto:bersaglio 0.01:1. In questi esperimenti, le cellule CIK trasdotte si sono mostrate molto più efficaci delle cellule non trasdotte. Infatti, la lisi media di blasti di LMA è stata rispettivamente di 80% (range, 71-97%) e di 27% (range, 22-31%; n=3, p=0.005). Inoltre, le cellule esprimono il recettore anti-CD33 hanno mostrato un'elevata secrezione di citochine dopo stimolazione con HL-60. In 3 diversi esperimenti le cellule CIK trasdotte hanno mostrato un aumento di 12 volte di rilascio di IFN-gamma (p=0.05), di 13-volte di TNF-alfa (p=0.05), 300-volte di TNF-beta (p=0.05), 2-volte di IL-8 (p=0.05) rispetto alle cellule non manipolate.

Conclusioni. questi risultati preliminari suggeriscono che le cellule CIK trasdotte con recettore anti-CD33-zeta potrebbero rappresentare uno strumento promettente per l'immunoterapia della LMA.

C014

CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO PROTEOMICO NELLE LEUCEMIE ACUTE PEDIATRICHE CON RIARRANGIAMENTO DEL GENE MLL

Lo Nigro L,¹ Accordi B,¹ Espina V,³ Cazzaniga G,⁴ Biondi A,⁴ Liotta L,³ Basso G²

¹Centro di riferimento regionale di ematologia ed oncologia pediatrica, azienda policlinico, Università di Catania, Catania; ²Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova, Padova; ³Center for Applied Proteomics & Molecular Medicine George Mason University, Manassas, VA, USA; ⁴Centro di Ricerca Tettamanti, Clinica Pediatrica Università Milano Bicocca, Monza, Italy

Background. I riarrangiamenti del gene MLL sono presenti nel 3% dei casi pediatrici di Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA) e nel 10% di Leucemia Mieloide Acuta (LMA). Nei bambini di età inferiore ai 12 mesi (infant) i riarrangiamenti di MLL sono presenti rispettivamente nell'80% di LLA e nel 60% di LAM. La prognosi in questi bambini è sfavorevole e gli attuali protocolli hanno raggiunto un plateau di efficacia. Più del 50% dei casi presenta una recidiva di malattia e diventa resistente alla terapia di seconda linea. L'obiettivo principale delle analisi proteomiche funzionali è quello di identificare nuovi biomarkers che possano essere utili per determinare la prognosi e la risposta alla terapia di prima linea e di caratterizzare potenziali nuovi targets di terapie mirate.

Materiali e Metodi. Abbiamo analizzato 20 campioni diagnostici di leucemie acute pediatriche MLL positive, provenienti da tre centri AIEOP (Catania, Padova e Monza): 10 LLA [7 con t(4;11) e 3 con t(9;11)] e 10 LAM [4 con t(6;11), 3 con t(9;11), 1 t(10;11) e 2 MLL positive in FISH]. Tutti i pazienti sono stati trattati con protocolli AIEOP. I nostri risultati non sono stati confrontati con l'outcome. È stata utilizzata la tecnologia dei *Reverse Phase Arrays*, ovvero una analisi multiplex di fosfoproteomica, studiando complessivamente 41 proteine fosforilate o in forma nativa. Abbiamo valutato i pathways di apoptosi, antiapoptosi, protein chinasi, ed i recettori di fattori di crescita.

Risultati. Per l'analisi statistica è stato utilizzato il T-Test. Due proteine in forma nativa [Annexin 1 (p<0.014) e p27Kip1 (p<0.005)] e due proteine fosforilate [AKT T308 (p<0.04) e Bad S155 (p<0.05)] sono risultate in grado di separare le LLA MLL positive dalle LAM MLL positive. L'espressione di Bcl-XL, and due proteine fosforilate [Bcl2 S70 (p<0,02) e PKCalfa S657 (p<0,02)] sarebbero in grado di discriminare le LLA con MLL riarrangiato da quelle con MLL germline.

Conclusioni. Questi dati preliminari sono incoraggianti nell'ottica di utilizzare nuovi composti diretti verso Bcl-2, PKCalfa e AKT in uno specifico subset di pazienti pediatriche affetti da una leucemia acuta MLL positiva, che falliscono il raggiungimento della remissione morfologica. Sebbene i nostri dati siano molto promettenti, necessitano di essere validati mediante uno studio su una popolazione più grande con lo scopo di disegnare un trattamento tailored per quei casi che potrebbero beneficiare di una terapia meno tossica e più efficace.

C015**TEL-AML1 CONFERISCE UN VANTAGGIO SELETTIVO ALLA CELLULA STAMINALE PRE-LEUCEMICA MEDIANTE ALTERAZIONE DEL PATHWAY DI TGF β**

Palmi C,^{1,2,3} Ford A,² Bueno C,² Knight D,² Cardus P,² Hong D,⁴ Cazzaniga G,¹ Enver T,⁴ Greaves M²

¹Centro Ricerca M. Tettamanti, Clinica Pediatrica Univ. Degli Studi di Milano-Bicocca, Monza (Mi), Italy; ²Section of Haemato-Oncology, The Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, United Kingdom; ³PhD Program in Molecular Medicine, Vita Salute San Raffaele University, Milano, Italy; ⁴MRC Molecular Haematology Unit, Weatherall Institute of Molecular Medicine, Oxford, UK

La traslocazione t(12;21), che genera il gene di fusione TEL-AML1, è la più frequente anomalia genetica riscontrata nei tumori pediatrici. In particolare, tale aberrazione cromosomica è il primo evento pre-natale che promuove la leucemia acuta linfoblastica (LAL) nel 20% dei casi. Il processo di trasformazione risulta nella generazione di un clone pre-leucemico persistente, che determina l'insorgenza di LAL conclamata in età post-natale (età all'insorgenza: 1-15 anni), solo in seguito ad acquisizione di alterazioni genetiche secondarie. Il meccanismo attraverso il quale l'alterazione trascrizionale, causata da TEL-AML1, determina il fenotipo pre-leucemico è ancora sconosciuto. Utilizzando un modello di espressione inducibile di TEL-AML1, abbiamo dimostrato che, in precursori cellulari murini, questa proteina blocca il pathway di risposta a TGF β , che comprende p27, critico regolatore del ciclo cellulare. Tale inibizione facilita l'espansione selettiva delle cellule progenitrici TEL-AML1 positive, altrimenti caratterizzati da una più lenta crescita. Il meccanismo d'azione di TEL-AML1 non coinvolge la fosforilazione di SMAD2/3 (attivata da TGF β), ma coinvolge il reclutamento di repressori della trascrizione sui geni target di TGF β .

In topi transgenici TEL-AML1, abbiamo riscontrato un'espansione dei precursori pro-B e tali cellule sono meno sensibili agli effetti inibitori di TGF β rispetto ai loro corrispettivi *wild-type*. Inoltre, abbiamo dimostrato che l'espressione di TEL-AML1, in cellule precursori umane isolate da sangue cordonale, determina l'espansione di una popolazione staminale dal potenziale pre-leucemico, caratterizzata da un fenotipo associato a cellule B (CD34⁺/CD38⁻/CD19⁺) che possiede un vantaggio di crescita selettivo in presenza di TGF β .

C016**ANALISI MUTAZIONALE DELL'ONCOGENE NPM-ALK DERIVATO DALLA TRASLOCAZIONE RECIPROCA T(2;5)(P23;Q35)E IMPLICAZIONI FUNZIONALI SUL PRODOTTO PROTEICO**

Bonvini P, Zorzi E, Mussolin L, Moro S, Rosolen A

I.O.V., Istituto Oncologico Veneto-IRCCS, Padova; Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera-Università di Padova; Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Padova, Italy

ALK (anaplastic lymphoma kinase) è una chinasi per cui il ruolo nella trasformazione neoplastica è stato dimostrato, sia *in vivo* che *in vitro*, quando coinvolta in traslocazioni reciproche che giustappongono la regione del suo dominio chinasi con sequenze codificanti domini di dimerizzazione di proteine *housekeeping*. Il 75% delle traslocazioni che coinvolgono il gene *alk* genera NPM-ALK, proteina di fusione costitutivamente attiva in cellule di linfoma anaplastico a grandi cellule (ALCL). Tra tutte le interazioni molecolari che coinvolgono NPM-ALK quelle con Hsp90 e Hsc/Hsp70 sono uniche per-

ché critiche per la maturazione e attività della proteina. In questo studio abbiamo analizzato la maturazione e la stabilità di NPM-ALK in funzione della sequenza aminoacidica espressa, e l'attività in funzione dell'interazione con Hsp90 e/o Hsc/Hsp70. Il cDNA di *npm-alk*, clonato in vettori di espressione eucariotici, è stato utilizzato per indurre mutazioni sito-specifiche (K210A; Y338/343A) o delezionali (Δ 171; Δ 438; Δ 171-438; Δ N312; Δ C182) critiche per l'attività enzimatica di NPM-ALK. Mutanti di NPM-ALK incapaci di legare l'ATP, di formare omodimeri o privi del dominio catalitico sono stati quindi inseriti in cellule di mammifero, e l'espressione, la localizzazione e l'attività valutata sia in condizioni native che denaturanti. I nostri dati dimostrano che sintesi della forma inattiva e mantenimento della forma attiva di NPM-ALK dipendono strettamente dalla presenza di Hsp90 e Hsc/Hsp70. In particolare, l'associazione costitutiva con Hsc70 e quella inducibile con Hsp70 regola l'equilibrio tra sintesi e degradazione della chinasi oncogenica immediatamente dopo la sua traduzione ribosomale, mentre Hsp90 fornisce supporto condizionale durante la sintesi de novo della chinasi e dopo la sua attivazione. L'inibizione di Hsp90 risulta infatti nella rapida degradazione proteosomale di NPM-ALK, indipendentemente dal suo stato funzionale, mentre l'inibizione dell'attività catalitica di NPM-ALK influenza significativamente l'emivita della proteina, capace di mantenere il suo stato stabile, e flessibile, solo attraverso l'interazione della sua forma fosforilata con Hsp90. Per NPM-ALK, quindi, il supporto di Hsp90 è condizionale all'attività catalitica, ma non dipendente, e la propensione della proteina alla degradazione viene evitata nelle cellule tumorale proprio da Hsp90, risultando quindi critico per l'attività trasformante di NPM-ALK.

P041**RISPOSTA IMMUNOLOGICA UMORALE ANTI-ALK ED ATTIVITÀ EPARANASICA NEL LINFOMA ANAPLASTICO A GRANDI CELLULE PEDIATRICO: DUE NUOVI MARKER BIOLOGICI?**

Mussolin L, Masola V, Pillon M, Tridello G, Buffardi S,¹ Sala A,² Lombardi A,³ Garaventa A,⁴ Aricò M,⁵ Onisto M, Rosolen A

Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera-Università di Padova, Padova; ¹Ospedale Pausilipon, Napoli; ²Clinica Pediatrica, Ospedale S. Gerardo, Monza; ³Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; ⁴Ematologia Pediatrica, Istituto Gaslini, Genova; ⁵Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Meyer, Firenze, Italy

Introduzione e obiettivi. Il Linfoma Anaplastico a Grandi Cellule (ALCL) è caratterizzato dalla presenza della proteina di fusione NPM-ALK, un antigene tumore-associato (TAA) capace di indurre un'immunità umorale anti-ALK *in vivo* in pazienti affetti da ALCL. Recentemente è stato dimostrato che l'enzima eparanasi, noto in molte neoplasie dell'adulto per la capacità di degradare l'heparan solfato della matrice extracellulare e quindi per il ruolo metastatico, è significativamente elevato anche nel plasma di molti bambini con neoplasia e correla con l'efficacia della terapia. Scopo del nostro lavoro è a) determinare la presenza di anticorpi anti-ALK alla diagnosi ed allo stop terapia (ST) nel plasma di pazienti affetti da ALCL trattati all'interno del protocollo ALCL-99; b) determinare l'attività eparanasica in questi stessi pazienti e c) valutare se titolo anticorpale (TA) e/o attività dell'eparanasi correlino con la prognosi.

Metodi. Il plasma alla diagnosi e allo ST di 17 pazienti affet-

ti da ALCL ALK positivi, è stato testato mediante un saggio immunocitochimico per valutare la presenza di anticorpi anti-ALK. L'attività dell'eparanasi nel plasma è stata valutata utilizzando un saggio ELISA che si basa sulla capacità dell'enzima di degradare l'eparan-solfato presente nel matrigel, un analogo della matrice extracellulare.

Risultati. L'88% dei pazienti presentava una positività anticorpale anti-ALK nel plasma all'esordio e il 73% (11/15) rimanevano positivi anche allo ST. Dei 5 pazienti recidivati, 2 si erano negativizzati e due avevano un titolo anti-ALK molto basso allo ST. Il valore medio dell'attività dell'eparanasi è risultato di 0.38 (più/meno 0.04) alla diagnosi e 0.32 (più/meno 0.04) allo ST. Non sono state rilevate differenze tra i pazienti ad alto rischio e rischio standard. Il valore medio dell'attività dell'eparanasi allo ST dei pazienti che hanno mantenuto la remissione clinica è risultato 0.28 (più/meno 0.04) mentre per coloro che sono recidivati era 0.39 (più/meno 0.08). Nessuno dei pazienti in cui allo ST l'attività eparanasica diminuiva, ma rimaneva stabile il titolo anticorpale è recidivato. 4/5 recidive si sono verificate nei pazienti con aumento dell'attività eparanasica allo ST rispetto alla diagnosi e contemporanea riduzione del titolo anticorpale.

Conclusioni. Lo studio del titolo anticorpale e dell'attività dell'eparanasi esteso ad una casistica più ampia potrà aiutarci a definire meglio il ruolo che questi due nuovi markers rivestono nella terapia e nella prognosi dell'ALCL.

P042

ANALISI MOLECOLARE COMBINATA DI MYC-IGH E DEL RIARRANGIAMENTO DELLE IG PER LA VALUTAZIONE DI MALATTIA MINIMA RESIDUA NELLA LEUCEMIA A CELLULE B MATURE

Mussolin L, Lovisa F, Pillon M, Corral L,¹ Cazzaniga G,¹ Piglione M,² Lippi A,³ Mura R,⁴ Favre C,⁵ Lo Nigro L,⁶ Arcamone G,⁷ Biondi A,¹ Rosolen A

Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera-Università di Padova, Padova; ¹*Clinica Pediatrica, Ospedale S. Gerardo, Monza;* ²*Ospedale Regina Margherita, Torino;* ³*Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Meyer, Firenze;* ⁴*Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera, Cagliari;* ⁵*U.O. Oncoematologia Pediatrica- Azienda Ospedaliera, Pisa;* ⁶*Clinica di Oncoematologia Pediatrica-Università di Catania, Catania;* ⁷*Clinica pediatrica-Azienda Ospedaliera, Bari, Italy*

Introduzione e obiettivi. Ampi studi nelle leucemie linfoblastiche pre-B e T hanno dimostrato che la quantificazione della malattia residua minima (MRM) è in grado di stratificare i pazienti per gruppi di rischio. Recentemente, abbiamo dimostrato che la MRM, studiata mediante la ricerca della t(8;14) è un fattore prognostico negativo anche nella leucemia a cellule B mature (LLA-B). Tuttavia la t(8;14) è presente in circa l'80% di questi pazienti. Lo scopo del nostro studio è stato il confronto dei risultati di MRM ottenuti mediante la ricerca della t(8;14) e lo studio del riarrangiamento del gene per le Immunoglobuline (Ig), per poter quindi estendere lo studio di MRM a tutti i casi di LLA-B.

Metodi. Abbiamo analizzato in totale 72 campioni di midollo osseo (MO) di LLA-B corrispondenti ai seguenti time-point (TP): TP1-diagnosi; TP2-prima del secondo ciclo di chemioterapia; TP3-stop terapia. DNA ad alto peso molecolare è stato isolato dai campioni alla diagnosi, ed è stato utilizzato per la ricerca della t(8;14) mediante *Long-Distance PCR* (LD-PCR) e per lo studio del riarrangiamento del gene per le catene pesanti delle Ig. Questo test richiede l'amplificazione con vari set di primers delle regioni CDR (*Complementary Determing*

Region) generate dal riarrangiamento dei geni nei loci delle Ig, analisi heteroduplex dei prodotti di PCR ottenuti, sequenziamento, e quantificazione mediante Real-Time PCR specifica per il target scelto secondo le linee guida del Gruppo di Studio Europeo della MRM nelle leucemie linfoblastiche. Il marker molecolare identificato nel MO alla diagnosi è stato utilizzato per lo studio di MRM.

Risultati. 20/24 pazienti sono risultati positivi per la t(8;14) alla diagnosi. Si sono negativizzati tutti al TP2; 2 pazienti si sono ripositivizzati al TP3 ed entrambi sono in seguito recidivati. Lo studio di MRM mediante riarrangiamento delle Ig ha dato gli stessi risultati. Inoltre i 4 pazienti negativi alla diagnosi per t(8;14) sono risultati positivi per almeno due marker di riarrangiamento: tre si sono negativizzati al TP2, mentre uno ha mantenuto la positività molecolare ed è recidivato a fine terapia.

Conclusioni. I nostri risultati preliminari mostrano che i due metodi hanno sensibilità simile e suggeriscono un ruolo prognostico negativo della positività al TP2 e TP3 con entrambi i marcatori. Poiché uno studio di MRM dovrebbe essere condotto con un metodo veloce e poco costoso, suggeriamo di analizzare tutti i campioni di LLA-B all'esordio per la presenza della t(8;14) mediante LD-PCR: se la traslocazione è presente lo studio di MRM verrà condotto usando questo marker, se il paziente è negativo, il campione verrà avviato allo studio del riarrangiamento delle Ig.

P043

PROTOCOLLO AIEOP-MH'96 PER LA TERAPIA DEL LINFOMA DI HODGKIN IN ETÀ PEDIATRICA: RISULTATI A LUNGO TERMINE

Burnelli R, Rinieri S, Carli M, Bianchi M, Garaventa A, Locatelli F, Indolfi P, Sala A, D'Amico S, De Santis R, Santoro N, Lippi A, Farruggia P, Balter R, Buffardi S, Russo L, Zanazzo G, Cellini M, Favre C, Porta F, Pierani P, Iaria G, Mascarin M, Bertolini P, Di Marzio A, Consarino C, Acquaviva A, Fedeli F, Cornelli PE, Schiavetti A, Pericoli R, Felici L, Portaleone D, Sperli D, Nocerino D, Ganassin G, Fabbri E, Rondelli R, Vecchi V

Associazione Italiana Ematologia ed Oncologia Pediatrica, Italy

Il prot. AIEOP-MH'96, aperto dal 02/06 al 05/04, suddivideva i pazienti in 3 gruppi terapeutici. G1: st. IA e IIA con meno di 4 stazioni linfonodali senza impegno mediastinico o con M/T inf 0.33, senza adenopatie ilari; in cui utilizzare 3 ABVD e RT solo ai pazienti con localizzazione mediastinica o in RP al termine della CT; G2: pazienti non inclusi nei G1 e G3, trattati con 4 COPP/ABV+RT-IF; G3: pazienti con M/T sup/uguale 0.33, stadio IIIB e IV trattati con 6 COPP/ABV+RT-IF.

Risultati. Al 31/05/04 sono stati registrati 606 pazienti: di cui 554 pazienti valutabili: 324 M, 230 F, età mediana 12 aa. La distribuzione per sottotipo istologico era: SN 374, PL 52, CM 117, DL 3, comune ricca in linfociti 1, NC 7; quella in base allo stadio: 6 IA, 197 IIA, 6 IB, 75 IIB, 52 IIIA, 64 IIIB, 45 IVA, 52 IVB. 159 pazienti erano inclusi nel G1, 85 nel G2 (27 per l'interessamento di > 4 stazioni linfonodali e/o coinvolgimento ilare) e 310 nel G3 (149 per Med bulky). 43 pazienti sono stati considerati off-study (errore o deviazioni dal protocollo).

La risposta dopo i primi 2 cicli di CT era: 86 RC, 451 RP sup 50%, 14 RP inf 50% (7 dei quali hanno intensificato il trattamento), 2 PM; 1 paziente è deceduto alla diagnosi.

L'analisi, eseguita secondo l'*intention-to-treat*, con tempo mediano d'osservazione di 7 anni (2 m-12 anni) ha mostrato: SUR globale a 5 e 10 anni pari a 95.5% (SE 0.9) e 91% (1.8),

EFS pari a 83.6% (1.6) e 80.2% (2), FFP pari a 84.3% (1.6) e 82.1% (1.9). Le EFS a 5 e 10 anni relative ai G1, G2 e G3 sono risultate rispettivamente pari a 92.8% (2.1) e 89.6% (2.8), 82.1% (4.2) e 80.4% (4.4), 79.3% (2.3) e 75.4 (3). I 38 pazienti con varietà PL inclusi nel G1 sono tutti vivi, la EFS è 86.5% (5.6) e 83.3% (6.3) a 5 e 10 anni rispettivamente.

Conclusioni. Ottimi risultati in termini di sopravvivenza, a conferma della possibilità di recupero dei pazienti ricaduti. Buoni i risultati in termini di EFS e FFP globali, sovrapponibili a quelli di altri gruppi internazionali, che non presentano però tempi d'osservazione altrettanto lunghi. Conferma della possibilità di ricadute a lungo termine, a oltre 8 e 10 dall'esordio. Ottimi risultati del G1, ove si è ottenuta una RC già al termine della CT in più del 50% dei pazienti, evitando la RT in quelli senza impegno mediastinico. Buoni i risultati del G3, conseguiti con un ridotto carico terapeutico, mentre risultano insoddisfacenti quelli relativi al G2. Sarà necessario valutare gli effetti collaterali a medio e lungo termine per poter trarre delle conclusioni definitive e complessive.

P044

PROTOCOLLO AIEOP-LH 2004 PER LA TERAPIA DEL LINFOMA DI HODGKIN IN ETÀ PEDIATRICA: ANALISI AD INTERIM

Burnelli R, Rinieri S, Todesco A, Locatelli F, Sala A, Buffardi S, Garaventa A, D'Amico S, Russo L, Bianchi M, Farruggia P, Favre C, Santoro N, Indolfi P, Porta F, Cornelli P, Iaria G, Lippi A, Zanazzo G, De Santis R, Bertolini P, Pericoli P, D'Ambrosio A, Aversa F, Schiavetti A, Riccardi R, Fedeli F, Consarino C, Di Marzio A, Pierani P, Cellini M, Sperli D, Portaleone D, Mascarini M, Aru B, Cosmi C, Nocerino D, Civino A, Guerrini G, Fabbri E, Rondelli R

Associazione Italiana Ematologia ed Oncologia Pediatrica, Italy

Il prot. AIEOP-LH 2004 è aperto dal 01/06/04, con i seguenti obiettivi: ridurre la tossicità nei pazienti senza fattori prognostici negativi (G1: st. IA e IIA con meno di 4 stazioni linfonodali senza impegno mediastinico o con M/T inf 0.33, senza adenopatie ilari) evitando la RT nei pazienti in RC dopo 3 ABVD; incrementare le RC e la EFS nei pazienti a prognosi intermedia (G2: pazienti non inclusi nei G1 e G3) intensificando il trattamento con 2 IEP se RP dopo 4 COPP/ABV, seguiti da RT; incrementare le RC e EFS nei pazienti ad alto rischio (G3: pazienti con M/T sup/uguale 0.33, stadio IIIB e IV), intensificando la terapia con 2 IEP±2 ulteriori COPP/ABV se RP dopo i primi 4 COPP/ABV, seguiti da RT; ridurre la tossicità secondaria a RT impiegando basse dosi (14.4Gy) solo sulle sedi di malattia (local field) nei G2 e G3; migliorare la FFP in tutti i pazienti in RP dopo CT utilizzando 25.2 Gy.

Risultati. Al 10/07 sono stati registrati 301 pazienti, 256 valutabili: 141 M, 115 F, età mediana 13 aa. 56 pazienti erano inclusi nel G1, 48 nel G2 (19 per l'interessamento di più di 4 stazioni linfonodali e/o coinvolgimento ilare) e 152 nel G3 (68 per Med. bulky). La risposta dopo i primi 2 cicli di CT era: 20 RC, 232 RP sup 50%, 4 RP inf 50%. 22/46 pazienti off-therapy del G1 erano in RC dopo la CT ed hanno evitato la RT. Il 30% (12) dei pazienti nel G2 e il 10% (14) dei pazienti nel G3 che hanno completato 4 COPP/ABV era in RP e ha dovuto intensificare il trattamento con 2 IEP. La SUR e EFS globali a 3 anni sono risultate rispettivamente pari a 96.1% (SE 1.6) e 84.7% (2.7), dopo un tempo mediano d'osservazione di 16.5 mesi (38 gg -42 m). Le EFS a 3 anni relative a G1, G2 e G3 sono risultate pari a 95.8% (2.9) e 82.8% (4.8), 78.7% (4.2) rispettivamente. Sono stati registrati 28 eventi: 12 PM (tutti prima della RT), 14 ricadute (tempo mediano: 10 mesi), e 2 SNM: 2

LNH a larghe cellule B del mediastino inclusi nel G3. Sei pazienti sono deceduti: 3 per PM, 1 in CCR per sepsi, 1 per MOF in altra CR, 1 per SNM.

Conclusioni preliminari. I risultati sono sovrapponibili a quelli ottenuti con precedente prot. MH'96, dopo un simile periodo d'osservazione. L'eliminazione della RT nei pazienti con impegno mediastinico del G1 non ha compromesso la prognosi, facendo registrare una EFS analoga. Al momento l'intensificazione della CT non ha incrementato i risultati: anzi, sono state registrate ricadute più precoci, senza una chiara giustificazione. La valutazione degli effetti delle modifiche del trattamento radiante richiedono un più lungo periodo d'osservazione.

P045

LINFOMA ANAPLASTICO A GRANDI CELLULE (ALCL) IN ETÀ PEDIATRICA: RISULTATI INTERINALI DEL PROTOCOLLO AIEOP ALCL99

Pillon M,¹ Boaro MP,¹ Mussolin L,¹ Tridello G,¹ Garaventa A,² Nardi M,³ D'Amore E,⁴ Tettoni K,⁵ Sala A,⁶ Lombardi A,⁷ Burnelli R,⁸ Santoro N,⁹ Spreafico F,¹⁰ Pigiore M,¹¹ Moleti ML,¹² Fiori GM,¹³ Varotto S,¹ Rosolen A,¹

Per il CSS AIEOP LNH, ¹Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Padova; ²Istituto G. Gaslini, Genova; ³Clinica Pediatrica, Pisa; ⁴Ospedale S. Bortolo, Vicenza; ⁵Spedali Civili, Brescia; ⁶Ospedale S. Gerardo, Monza, Milano; ⁷Ospedale Bambino Gesù, Roma; ⁸Clinica Pediatrica, Ferrara; ⁹Clinica Pediatrica, Bari; ¹⁰Istituto Tumori, Milano; ¹¹OIRM, Torino; ¹²Ematologia La Sapienza, Roma; ¹³Servizio di Oncoematologia Pediatrica, Cagliari, Italy

Introduzione e obiettivi. L'ALCL rappresenta circa il 10% dei linfomi in età pediatrica. Clinicamente è caratterizzato da interessamento di linfonodi periferici, mediastinici o intraddominali, da presenza di sintomi B e da interessamento extranodale, in particolare cute, polmone, fegato, milza. L'ALCL è caratterizzato da espressione di CD30, EMA e recettori per l'IL2. La traslocazione t(2;5)(p23;q35) è presente in oltre il 90% dei casi pediatrici. Obiettivo dello studio è valutare i risultati interinali dei pazienti italiani arruolati nel trial internazionale ALCL99.

Metodi. ALCL99 è un trial prospettico multicentrico che coinvolge gruppi europei e giapponesi. Esso prevede due randomizzazioni: 1) MTX 1 g/mq in infusione di 24 h con IT vs. MTX 3 g/mq in infusione di 3 h senza IT; 2) terapia con o senza VBL durante i blocchi e come mantenimento per un totale di un anno per i pazienti ad alto rischio (HR), considerati tali per coinvolgimento di mediastino, polmone, fegato, milza o cute. L'assenza di queste localizzazioni configura il rischio standard (SR). Sono esclusi dall'analisi pazienti con coinvolgimento SNC. Analisi condotte: descrittiva delle varie caratteristiche demografiche e cliniche e della sopravvivenza mediante Kaplan-Meier e log-rank test.

Risultati. 82 pazienti sono stati registrati da novembre 1999 a dicembre 2007 nel protocollo ALCL99, di cui 7 non eleggibili per pretrattamento (3 casi), revisione istologica (2), cerebropatia (2). La revisione istologica è stata eseguita nel 90% dei casi. Dei 75 pazienti eleggibili (47 M, 28 F) l'età mediana alla diagnosi era 9.7 anni (range 1.5-17.7). Il 40% dei pazienti appartiene al gruppo SR, il 60% al gruppo HR. Tra i sintomi generali la febbre era presente nel 63% dei casi e la perdita di peso nel 23%. Le sedi principali coinvolte erano: mediastino (48%), polmone (21%), fegato (10%), milza (16%), cute (25%). 15 pazienti sono ricaduti, 3 hanno presentato progressione di malattia (PM) in induzione della RC, uno ha presentato persistenza di malattia allo stop terapia. 5 pazienti sono deceduti: 2 per sepsi in RC e 3 per PM.

Ad un tempo mediano di osservazione di 3 anni (range 0.06-7.7), l'OS è 94% (E.S.: 3%) e l'EFS è 69% (E.S.: 6%). Non si è riscontrata alcuna differenza in termini di EFS tra gruppo SR e HR, 68% vs 70%.

Conclusioni. Rispetto al precedente protocollo italiano AIEOP LNH92 per gli ALCL le probabilità di OS e EFS sono al momento maggiori, pur con il limite del minor tempo mediano di osservazione.

P046

DETERMINANTI FARMACOGENETICI NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA DEL BAMBINO

Marino S,¹ Rabusin M,³ Decorti G,² Verzegnassi F,¹ Bartoli F,¹ Zanazzo G,³ Tamaro P³

¹Università di Trieste, Dipartimento di Scienze della Riproduzione e Sviluppo IRCCS Burlo Garofolo Trieste; ²Università di Trieste, Dipartimento di Scienze Biomediche; ³U.C.O. di emato-oncologia pediatrica IRCCS Burlo Garofolo Trieste, Italy

Introduzione e obiettivo. I glucocorticoidi (GC) sono farmaci fondamentali nella chemioterapia combinata delle LLA soprattutto nella fase di induzione. Molti studi hanno correlato la loro attività e tossicità a polimorfismi genetici del recettore (hGR), nonché di enzimi coinvolti nel loro metabolismo.

È stato dimostrato infatti che polimorfismi del gene di hGR (NR3C1) possono modificare la risposta a questi farmaci; alcuni sono stati correlati clinicamente alla resistenza, altri invece, tra cui il comune polimorfismo BclI, ad un'umentata sensibilità; inoltre polimorfismi di alcune isoforme dell'enzima Glutazione-S-Transferasi (GST-T, M e P), coinvolto nel metabolismo di molti farmaci e xenobiotici, e del gene MDR1, che codifica per la proteina trasportatrice P-glicoproteina, sono stati associati all'outcome della terapia delle LLA. Lo scopo dello studio è pertanto quello di valutare la presenza di polimorfismi dei geni importanti nella farmacodinamica e/o farmacocinetica dei GC, ed in particolare il polimorfismo BclI del gene NR3C1, polimorfismi del gene delle GST (T, M, P) e del gene MDR1 (G2677T e C3435T), e se la presenza di questi possa essere associata al processo di leucemio-genesi o alla risposta al trattamento. L'analisi è stata condotta per mezzo di RFLP e ASO PCR.

Metodi. Lo studio comprende 94 pazienti pediatriche affette da LLA trattati secondo il protocollo AIEOP LLA 2000 (47 femmine e 47 maschi; età mediana 4,52 (1.19-17.62); 85 LLA della linea B, 4 tipo T e 5 bifenotipiche; stratificati in base ai criteri di rischio in 58 MR e 24 SR e 18 HR.

Risultati. L'analisi dei genotipi ha mostrato che vi è un numero significativamente maggiore di pazienti con genotipo GST-T NOR rispetto ai controlli ($p=0.012$): questo dato suggerisce che GST-T possa essere un possibile enzima attivatore di sostanze endogene con proprietà cancerogene. Per gli altri polimorfismi in esame non si sono osservate differenze statisticamente significative tra pazienti e controlli mentre l'analisi nei pazienti divisi in classi di rischio ha evidenziato la presenza di un numero significativamente maggiore di pazienti con genotipo BclI mutato nel gruppo HR rispetto agli altri pazienti ($p=0.031$).

Conclusioni. La caratterizzazione dei polimorfismi e la loro valutazione in funzione delle caratteristiche cliniche dei pazienti potrebbero contribuire al miglioramento della terapia delle LLA nei pazienti pediatriche ed in questo senso riteniamo di proporre un'analisi estesa di tipo prospettico nel prossimo protocollo LLA.

P047

LA ATTIVAZIONE COSTITUTIVA DI STAT 3 E STAT5 A NELLE LEUCEMIE LINFOBLASTICHE ACUTE DELLA ETÀ PEDIATRICA INDUCE LA IPERESPRESSIONE DI BCL-XL

Iannotta A, Crisci S, D'Angelo V, Indolfi P, Pecoraro G, Giuliano M, Pota E, Di Martino M, Di Pinto D, Fusco C, Russo ML, Affinita MC, Oreste M, Casale F

Servizio Oncologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria Seconda Università di Napoli, Italy

Introduzione. Le proteine della famiglia STAT comprendono fattori di trascrizione presenti nel citoplasma cellulare in forma inattiva che, in risposta a stimoli extracellulari, modulano i normali eventi cellulari quali differenziamento, proliferazione e apoptosi. Diversi studi hanno dimostrato che, in particolare, STAT 3 e STAT 5a giocano un ruolo importante nell'oncogenesi regolando la attivazione della ciclina D1, di c-Myc e la espressione del gene Bcl-xl. Scopo del nostro studio è stato quello di analizzare il livello di STAT 3, STAT 5a e Bcl-xl alla diagnosi in bambini affetti da LLA per valutare il coinvolgimento di tali fattori nella leucemio-genesi e nella inibizione della apoptosi.

Materiali e Metodi. Sono stati arruolati nello studio 81 bambini affetti da LLA, 78/81 (95%) negativi per il riarrangiamento del gene MLL e 3/81 (5%) MLL positivi con traslocazione t(4;11), diagnosticati e seguiti presso il Servizio di Oncologia Pediatrica - II Università di Napoli. La attivazione fosforilata di STAT3 e STAT 5a è stata quantizzata utilizzando il TransAM STAT Family Kit (Active Motif) La analisi quantitativa di Bcl-xl è stata effettuata mediante western blotting.

Risultati e Conclusioni. STAT 3 e STAT 5a mostravano una forma attiva fosforilata in 66/81 (81.4%) e 63/81 (77.7%) campioni, con valori medi di 0,93 µg (95% IC 0.74-1.11) e 2,38 µg (95% IC 0.37-4.39) rispettivamente. La analisi quantitativa di Bcl-xl ha mostrato un livello di espressione rilevabile in 30/37 (81%) campioni studiati con valore medio di 1.87 u.a. (95% IC 1.34-2.41). Il nostro studio evidenzia che nello 80% dei pazienti affetti da LLA è presente alla diagnosi una attivazione costitutiva delle proteine STAT3 e STAT 5a cui si associa, relativamente a STAT3, una significativa up-regolazione della espressione di Bcl-xl ($p=0.0006$). L'identificazione di fattori e vie di trasduzione del segnale coinvolti nella oncogenesi e nella regolazione dei livelli di antiapoptotici quali Bcl-xl, potrebbe essere di notevole importanza per definire e identificare fenotipi chemioresistenti e ricorrenti nella leucemia del bambino.

Ci proponiamo di rianalizzare i dati su più ampia casistica e di correlare i risultati ottenuti allo outcome dei pazienti.

Studio realizzato nell'ambito del Progetto PRIN 2005.

P048

STRATIFICAZIONE DEI PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA LEUCEMIA ACUTA MIELOIDE SECONDO NUOVI CRITERI CITOGENETICI: RISULTATI PRELIMINARI DEL PROTOCOLLO AIEOP LAM 2002/01

Masetti R, Rondelli R, Putti C, Rizzari C, Locatelli F, Santoro N, Luciani M, Menna G, Fagioli F, Lo Nigro L, Micalizzi C, Casale F, Basso G, Biondi A, Testi AM, Zecca M, Pession A

CSS AIEOP LANL, Italy

Obiettivo. Valutare l'outcome in termini di risposta alla terapia, sopravvivenza e sopravvivenza libera da malattia (EFS) di 3 gruppi di pazienti del Protocollo AIEOP LAM 2002/01 stratificati secondo la Tabella 1, in rischio favorevole (SR), intermedio (HR) e sfavorevole (VHR) sulla base di caratteristiche

citogenetiche.

Risultati. Al 31/12/2007 sono stati arruolati al protocollo AIEOP LAM 2002/01 227 pazienti: di questi 34 (15%) sono risultati potenzialmente attribuibili alla fascia SR, 127 (56%) HR e 44 (19%) VHR. Durante l'induzione la popolazione SR ha raggiunto la remissione completa (RC) nel 100% dei casi non riportando alcun evento. Gli HR hanno avuto questo andamento: 82% in RC, 11% *Primary Induction Failure* (PIF), 5% morti, 1% recidivato al II ICE. I VHR invece: 68% in RC, 23% PIF, 4% morti, 5% recidivati. Il 100% degli SR ha consolidato lo stato post-RC con la sola chemioterapia, gli HR sono stati sottoposti a tutt'oggi nel 69% dei casi a trapianto di midollo osseo (39% autologo, 30% allogenico), mentre i VHR nel 70% (22% autologo, 48% allogenico). Le recidive si sono così distribuite: 14% negli SR, 25% negli HR e 32% nei VHR. La EFS a 5 anni della popolazione SR risulta dunque essere dell'82,4%, quella degli HR del 52,8%, mentre quella dei VHR del 36,3%. **Conclusioni.** La stratificazione dei pazienti affetti da LAM secondo le caratteristiche citogenetiche riportate (Tabella 1), permette di differenziare 3 popolazioni con diverse caratteristiche di risposta alla terapia e di outcome globale. Insieme ad altre caratteristiche morfologiche e molecolari risultate di impatto significativo sulla EFS a 5 anni, queste costituiscono un ottimo punto di partenza per la diversificazione dei pazienti nelle future generazioni di protocolli.

Tabella 1.

RISCHIO FAVOREVOLE (SR)	t(8-21)(q22;q22) inv(16)(p13q22) t(16;16)(p13;q22)
RISCHIO INTERMEDIO (HR)	Cariotipo normale t(9-11)(p22;q23) del(7q) del(9q) del(11q) -Y +8 +11 +13 +21
RISCHIO SFAVOREVOLE (VHR)	Cariotipo complesso Inv(3)(q21q26) t(3;3)(q21;q26) t(6-9)(p23;q34) t(6-11)(q27;q23) t(11-19)(q23;p13.1) -5 -7

P049

CORRELAZIONE TRA MUTANTI DEL FATTORE TRASCRIZIONALE GATA-1 E LIVELLI DI ESPRESSIONE DELLA PROTEINA DEL TUMORE DI WILMS IN NEONATI CON SINDROME DI DOWN AFFETTI DA DISORDINE MIELOPROLIFERATIVO TRANSITORIO

Grosso M, Sessa R, Catapano F, Montano G, Di Concilio R, D'Urzo G, Amendolara M, Izzo P, Costanzo P, Amendola G

Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli "Federico II" e U.O.C. di Pediatria-TIN, Ospedale Umberto I, Nocera Inferiore, Salerno, Italy

Disordini mieloproliferativi transitori (TMD) sono riscontrati alla nascita nel 10% di neonati affetti da sindrome di Down (DS). Sebbene nella maggior parte dei casi tali condizioni regrediscono spontaneamente dopo il primo mese di vita, nel 20% circa di questi individui si sviluppa, entro i primi quattro anni di vita, una leucemia megacarioblastica acuta (AMKL-DS). Diversi studi hanno dimostrato in questo tipo di patologia la presenza di mutazioni somatiche nella regione codificante per il dominio di transattivazione N-terminale di GATA-1, un fattore trascrizionale coinvolto nel differenziamento eritroide. Recentemente, in pazienti TMD-DS si è osservato un aumento dei livelli di espressione della proteina del tumore di Wilms (WT1) che tendono a normalizzarsi in fase di remissione, per cui è stato ipotizzato che la persistenza di elevati livelli di espressione di WT1 potrebbero rappresentare un rischio di sviluppare AMKL-DS. Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare eventuali relazioni tra mutazioni del gene GATA1 e livelli di espressione di WT1.

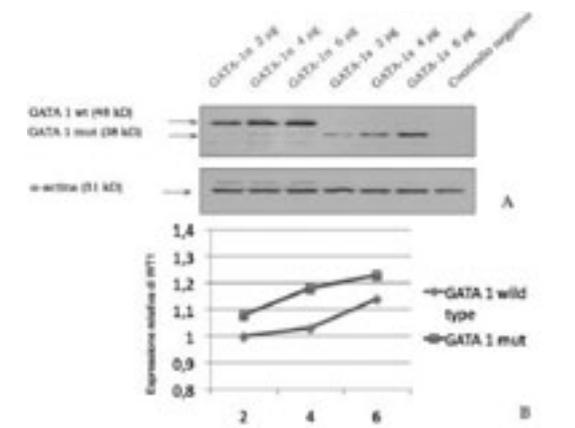


Figura 1. (A) Western blot su estratti proteici da cellule K562 trasfettate con 2, 4 e 6 microgrammi dei vettori di espressione rispettivamente per la forma wild type (GATA 1n) e mutata (GATA 1s) di GATA 1; (B) analisi quantitativa in real time PCR dei livelli di espressione di WT1 nelle cellule K562 trasfettate con 2, 4 e 6 microgrammi dei vettori di espressione rispettivamente per la forma wild type e mutata di GATA 1.

Lo studio è stato effettuato su due neonati DS ricoverati presso l'Unità di Terapia Intensiva che presentavano iperleucocitosi con anemia, trombocitopenia ed epatosplenomegalia marcata e che hanno richiesto supporto trasfusionale e respiratorio. In entrambi i casi era presente, sia a livello periferico che midollare, un numero elevato di cellule atipiche, identificate come megacarioblasti. Dopo circa due mesi i pazienti hanno mostrato una completa remissione clinica ed ematologica che tuttora persiste, all'età rispettivamente di 2 anni e 14

mesi. In questi pazienti abbiamo identificato rispettivamente due mutazioni somatiche nel gene GATA 1: una mutazione già nota (Tyr63Stop) e un'inserzione di 22 nucleotidi, non ancora riportata in letteratura, che crea uno stop codon precoce a livello del codone 74. In entrambi i casi, tali mutazioni non sono risultate rilevabili nella fase di remissione. Inoltre, in un paziente è stato possibile confermare la presenza di elevati livelli di espressione di WT1 solo nella fase blastica. Dati preliminari da noi ottenuti con esperimenti di trasfezione transiente in cellule eritroleucemiche umane K562 indicano che la forma mutata di GATA 1 induce un aumento dei livelli di espressione di WT1 (Figura 1).

Questo studio potrebbe fornire un modello sperimentale di notevole interesse per una migliore comprensione dei meccanismi molecolari coinvolti nella trasformazione leucemica.

P050

SINTOMI DA TRAUMA IN 92 GENITORI DI BAMBINI AFFETTI DA LLA NEL SECONDO MESE DI TERAPIA: ANALISI DEI POSSIBILI FATTORI PREDITTIVI VALUTATI NELLA SECONDA SETTIMANA DOPO LA DIAGNOSI

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

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

Introduzione e obiettivi. Gli studi che riportano l'incidenza dei sintomi da trauma (PTSS) nei genitori durante il trattamento attivo del bambino sono esigui, riportando elevati livelli di PTSS nei genitori fino anche al 99% (Kazak *et al.*, 2005) e una loro possibile persistenza fino ai due anni successivi alla diagnosi (Phipps *et al.*, 2005). Un nostro studio preliminare (Axia *et al.*, 2006) su 58 madri italiane dà invece dei risultati più confortanti, con il 34.5% con elevati punteggi di PTSS vicini a una diagnosi di disturbo post-traumatico da stress (PTSD). Lo scopo di tale studio è quello di replicare queste prime analisi con una campione più ampio di genitori. In tal senso, diventa inoltre essenziale valutare anche i possibili predittori e mediatori dell'insorgenza di PTSS nei genitori già nel momento iniziale del dopo diagnosi, dato che gli studi in tal senso riguardano esclusivamente i genitori dei bambini sopravvissuti (Kazak *et al.*, 1998).

Metodi. I partecipanti allo studio sono 92 genitori di bambini con leucemia (età media=37.80; DS=6.07), di cui 78 madri e 14 padri, con 12.15 anni di scolarità media (DS=3.89). 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 somministrato un questionario self-report per valutare la sintomatologia depressiva, di arousal e fisica del genitore (BSI-18, 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 PTSD, CCSS).

Risultati. Il numero medio di PTSS riportati dal genitore al T2 è di 5.91 (DS=3.36), con una maggiore incidenza nello specifico di sintomi di intrusione (Media=2.30, DS=1.4), seguiti da quelli di evitamento (Media=1.85; DS=1.57) e di arousal (Media=1.74; DS=1.31).

Un modello di regressione lineare controllato per l'effetto di moderazione ($R^2=0.16$; $p=0.02$) identifica i sintomi fisici riportati dal genitore alla diagnosi ($\beta=0.32$) come predittore e il numero dei blasti comunicato al giorno +8 come moderatore ($\beta=0.80$).

Conclusioni. La comunicazione dei blasti al giorno +8 amplifica la sintomatologia fisica del genitore al T1 che, a sua vol-

ta, predice la sintomatologia da trauma al T2. Nella gestione di questo tipo di comunicazione al genitore è utile tener conto di tali effetti fisici iniziali e psicologici a lungo termine.

P051

PAX5/TEL, GENE DI FUSIONE IDENTIFICATO IN PAZIENTI LLA, INTERFERISCE CON IL DIFFERENZIAMENTO, LA MIGRAZIONE E LA SOPRAVVIVENZA DEI LINFOCITI B

Maccabruni I,¹ Palmi C,¹ Rolink A,² Biondi A,¹ Cazzaniga G¹

¹Centro Ricerca Tettamanti, Clinica Pediatrica Univ. Milano-Bicocca, Ospedale S Gerardo, Monza, Italy; ²University of Basel, Basel, Switzerland

Il gene PAX5 codifica per la proteina PAX5/BSAP, essenziale per il differenziamento dei linfociti B. Dopo la nostra prima identificazione del gene di fusione PAX5/TEL, originato dalla traslocazione t(9;12)(q11;p13), in un paziente affetto da LLA a fenotipo B, PAX5 è stato descritto come un target frequente di anomalie di vario tipo nelle leucemie linfoblastiche acute infantili (che rappresentano il 30% dei casi di LLA dei precursori delle cellule B). Il gene TEL/ETV6 codifica per un repressore sequenza-specifico della trascrizione ed è frequentemente coinvolto nei tumori ematologici. Scopo dello studio è investigare i ruoli molecolari e funzionali della proteina PAX5/TEL e delucidare i potenziali meccanismi cellulari con i quali interferisce, agendo probabilmente come fattore di trascrizione aberrante. Abbiamo dimostrato una specifica localizzazione nucleare della proteina chimerica e il reclutamento del corepressore mSin3A, suggerendo un suo ruolo come repressore trascrizionale. Abbiamo investigato il ruolo funzionale di PAX5/TEL in cellule wild type e PAX5^{-/-} pre-BI murine. Nelle cellule pre-BI w.t PAX5/TEL funziona come repressore trascrizionale, diminuendo l'espressione di geni target di PAX5 con un ruolo chiave nel differenziamento dei linfociti B, come CD19, B220, BLNK/SLP65, MB-1/CD79a, ma anche CD44 e CD11a. Le cellule trasdotte con PAX5/TEL hanno mostrato un blocco nel riarrangiamento della catena pesante μ delle immunoglobuline. PAX5/TEL causa la diminuzione dell'espressione di FLT3 e non attiva il gene MCSFR; reprime anche geni target di TEL, quali KLF4, PHLDA1 e SPHK1. Nelle cellule pre-BI PAX5^{-/-}, PAX5/TEL reprime i medesimi geni target di TEL e non consente di attivare l'espressione di CD19. L'espressione di CXCR4 e la migrazione verso CXCL12/SDF1 hanno un ruolo importante nella proliferazione tumorale; PAX5/TEL induce un incremento dell'espressione del recettore CXCR4 e quindi della migrazione delle cellule verso questa chemochina. PAX5/TEL rende le cellule resistenti agli effetti anti-proliferativi di TGF e conferisce un vantaggio nella sopravvivenza cellulare in assenza di IL-7, pur non mostrando una completa indipendenza dalla citochina per la proliferazione. Complessivamente PAX5/TEL agisce come un repressore dominante della trascrizione dei geni target di PAX5 e TEL, inducendo un vantaggio di sopravvivenza e interferendo con i processi di differenziamento e migrazione, eventi chiave nel processo di trasformazione delle cellule B.

P052**DIAGNOSI SIMULTANEA DI LEUCEMIA ACUTA E NEUROBLASTOMA IN ETÀ PEDIATRICA: DESCRIZIONE DI DUE CASI**

D'Angelo P,¹ Defferrari R,² Lo Nigro L,³ Macaluso A,¹ Magro G,⁴ Sementa AR,⁵ Tonini GP,⁶ Di Cataldo A³

¹U. O. di Oncoematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina" Palermo; ²Laboratorio di Ricerca per il Neuroblastoma, Fondazione Italiana Neuroblastoma, Genova; ³Divisione di Ematologia ed Oncologia Pediatrica, Università di Catania; ⁴Istituto di Anatomia Patologica G. F. Ingrassia, Università di Catania; ⁵Sezione di Anatomia Patologica, Istituto G. Gaslini, Genova; ⁶Oncologia Pediatrica Trasazionale, Istituto Nazionale Ricerche sul Cancro, Genova, Italy

Introduzione ed obiettivi. Il neuroblastoma (NB) è il tumore solido più frequente in età pediatrica dopo i tumori cerebrali, e nella forma disseminata può talvolta infiltrare massivamente il midollo, determinando una metaplasia totale che può originare inizialmente un sospetto diagnostico errato. Descriviamo due casi di bambini nei quali è stata posta contemporaneamente diagnosi di NB e, rispettivamente, di LMA e LLA.

Casi clinici. D.D. maschio, 7 anni, ricoverato per febbre, astenia e dolore agli arti inferiori. All'E.O. linfadenomegalia laterocervicale bilaterale ed ecchimosi agli arti inferiori. Gli esami ematochimici mostravano lieve Hb 10 g/dL, G.B. 14.000/mmc e PTLs 90.000/mmc, LDH e NSE nella norma. All'Rx e TC torace massa di 7 cm di diametro nel mediastino posteriore. AVM e AOV urinari erano fortemente elevati. La scintigrafia con 123I-MIBG era positiva solo sulla massa. Non vi erano fattori di rischio chirurgici (FRC) e la massa è stata asportata radicalmente. L'esame istologico ha permesso di definire diagnosi di Ganglioneuroblastoma (GNB) intermixed secondo la classificazione INPC, con all'interno foci cellulari costituiti da elementi blastici della serie mieloide, positivi x MPO, CD15, CD34 e lisozima. Lo studio biologico dei neuroblasti è risultato negativo per amplificazione di MYCN e delezione di 1p36. L'analisi del midollo osseo, negativa per infiltrazione da NB, mostrava un 90% di blasti, positivi per MPO, CD11c, CD13, CD15, CD34, e CD33, che ha permesso di porre diagnosi di LMA FAB M2. Nella scelta del trattamento, considerato che il GNB, non avrebbe dovuto ricevere alcuna terapia post-chirurgia, il bambino ha ricevuto chemioterapia (CT) per la LMA secondo prot. AML-BFM 93. Il bambino, ottenuta la remissione completa (RC) dopo la fase di induzione, ha proseguito la chemioterapia fino a 18 mesi dall'esordio, ed a 9 anni dalla diagnosi, è in 1° RC per entrambe le neoplasie.

G.M. femmina, 33 mesi, per il riscontro radiografico di massa del mediastino posteriore, grave anemia (Hb 3.9 g/dL), GB 19.700/mmc (PMN 4%) ci è stata trasferita con la diagnosi di sospetto NB metastatico. All'E.O. estremo pallore, lieve epatomegalia (a 2 cm dall'arco), poliadenia laterocervicale ed inguinale. Gli altri esami di laboratorio hanno evidenziato LDH normale, AVM urinario di 2.61 mg/24 h. (0.22 mg/kg/24 h.) con un rapporto AVM creat. di 15.56 (v.n.<12), ed un valore di NSE di 19 ng/mL (v.n.<15). L'aspirato midollare ha messo in evidenza una metaplasia subtotale (90%) da elementi atipici FAB L1, negativi x MPO e positivi per CD19, CD10, CD22, CD44, CD58, CD38, Cy-Ig, permettendo di porre diagnosi di LLA pre-B. Il giorno successivo è stata eseguita TC encefalo-torace-addome che ha confermato la presenza di neoformazione di 5x3x6 cm in corrispondenza del campo polmonare inferiore di sinistra. Sull'aspirato midollare la ricerca dei neuroblasti con anti-GD2 è risultata negativa. La bambina è stata sottoposta, in assenza di FRC, ad intervento di

asportazione completa della massa mediastinica, ed è stata intrapresa la CT secondo Prot. AIEOP LLA 2000. La massa di cm 6,5x4,5x3,8 cm, ben capsulata, è risultata all'esame istologico un GNB intermixed sec. INPC negativo per amplificazione di MYCN e delezione di 1p36. In considerazione della contemporanea presenza di GNB e LLA, essendo il primo, suscettibile del solo trattamento chirurgico, la bambina ha proseguito la CT prevista per la LLA ed è in prima RC per entrambe le neoplasie a 3 mesi dallo stop terapia.

Discussione. La presenza simultanea di due neoplasie nello stesso paziente è un evento estremamente raro. Una parte delle associazioni riportate in letteratura, sono frutto di errori di diagnosi. In altri casi la leucemia acuta è secondaria al trattamento per NB. Dopo attenta revisione della letteratura possiamo affermare che i nostri due casi costituiscono la prima descrizione di diagnosi simultanea di GNB/LMA o LLA in età pediatrica.

P053**ASSOCIAZIONE TRA ELEVATA ESPRESSIONE DEI GENI NATURAL KILLER (NCAM/CD94) E MORTE IN INDUZIONE NEI BAMBINI CON LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA**

Lo Nigro L,¹ Mirabile E,¹ Munda S,¹ Barchitta M,² Bottino D,¹ Tumino M,¹ Agodi A,² Samperi P,¹ Di Cataldo A¹

¹Centro di Riferimento Regionale di Ematologia Ed Oncologia Pediatrica, Azienda Policlinico, Università di Catania, Catania; ²Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Catania, Catania, Italy

Background. La morte in induzione è un evento raro e drammatico nei bambini affetti da Leucemia Mieloide Acuta (LAM). Abbiamo tentato di identificare markers di aggressività della malattia in un subset di bambini affetti da LAM attraverso una valutazione molecolare prospettica dell'espressione dei geni CD56 *neural cell adhesion molecule* (NCAM) e CD94.

Materiali e Metodi. Abbiamo analizzato un totale di 44 bambini con LAM, così distribuiti: 5 con FAB M3v (gruppo A), 9 con la leucemia promielocitica acuta (LAP) (gruppo B) e 30 con la LAM non-LAP (gruppo C). Abbiamo eseguito una valutazione in RT-PCR semiquantitativa. I seguenti fattori di rischio sono stati valutati in analisi univariata: epatomegalia, splenomegalia, numero dei globuli bianchi (cut-off 50.000/mmc), delle piastrine (cut-off 30.000/mmc), l'espressione in citofluorimetria del CD56 e l'espressione dei geni NCAM-CD94.

Risultati. Abbiamo trovato che 9 casi su 14 hanno mostrato elevati livelli di espressione di NCAM-CD94 e sono deceduti in induzione per eventi legati alla malattia: emorragie o coagulazione intravasale disseminata (CID). L'analisi univariata ha mostrato che la morte in induzione era significativamente associata a l'espressione citofluorimetrica del CD56 solo nel gruppo B ($p < 0.05$). Tuttavia, nel gruppo A abbiamo riscontrato che tutti i pazienti morti in induzione mostravano una elevata espressione dei geni NCAM-CD94. Di contro, nei gruppi B e C, abbiamo riscontrato una significativa associazione tra l'assenza o la bassa espressione dei geni NCAM-CD94 e l'assenza di casi di morte in induzione ($p < 0.05$). Considerando l'intera popolazione, l'assenza o bassi livelli di espressione dei geni NCAM-CD94 sembrano giocare un ruolo protettivo dall'evento di morte in induzione ($p < 0.000$; RR: 0.357-CI95%: 0.177-0.721).

Conclusioni. I nostri risultati suggeriscono che i geni natural killer-related sono coinvolti nella patogenesi della morte in induzione nei bambini con LAM. Un approfondita carat-

terizzazione di questo fenomeno ci permetterebbe di sviluppare composti specificatamente disegnati allo scopo di interagire con le molecole di adesione, migliorando il decorso clinico dei bambini affetti da LAM durante i primi giorni di induzione.

P054

L'ESPRESSIONE DI MIR34B CORRELA CON LE FASI DI MALATTIA CONTROLLANDO L'ESPRESSIONE DI CREB NELLA LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA

Pigazzi M, Manara E, Baron E, Basso G

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

I microRNA sono RNA non codificanti di 19-25 nucleotidi che regolano l'espressione genica inducendo la degradazione del messaggero target o inibendone la traduzione in proteina. È stato dimostrato che queste molecole influenzano tutti gli aspetti della vita cellulare, compresa l'ematopoiesi e il cancro. Questa ricerca, si propone di stabilire se i microRNA hanno un ruolo nella overespressione proteica del fattore di trascrizione CREB, precedentemente dimostrata nel nostro laboratorio in linee cellulari leucemiche e midolli di pazienti pediatrici affetti da leucemia acuta all'esordio, rispetto a campioni sani e in remissione.

Utilizzando l'algoritmo miRanda sono stati identificati i microRNAs che riconoscono il 3'UTR del gene CREB. 5 microRNAs sono stati selezionati per l'alto valore predittivo e per l'elevata conservazione tra specie differenti (Mir25, Mir32, Mir34b, Mir124a, Mir367). È stata valutata l'espressione mediante RQ-PCR in una serie di linee leucemiche, culture primarie umane e aspirati midollari all'esordio e in remissione di leucemia.

I risultati dimostrano che solo Mir34b è espresso in modo inversamente proporzionale alla proteina CREB e quindi sostiene la nostra ipotesi di regolazione della traduzione di CREB. Mir34b risulta fortemente sotto espresso in tutte le linee leucemiche rispetto a linee primarie sane. L'analisi di espressione condotta su 60 pazienti all'esordio di leucemia acuta mieloide (LAM) rivela che Mir34b si esprime a bassi livelli rispetto alla sottopopolazione sana mieloide CD3-CD19-, in particolare modo nei pazienti 11q23 riarrangiati. Inoltre, l'analisi condotta su 26 campioni di aspirati midollari in remissione di malattia raccolti durante il follow up di 9 pazienti affetti da LAM ha rivelato che Mir34b è più espresso (in media 9,4 volte) rispetto all'espressione riscontrata nel rispettivo esordio. La validazione *in vitro* del legame tra Mir34b e il gene CREB conferma che la reintroduzione di Mir34b nelle linee leucemiche causa un abbassamento dell'espressione proteica di CREB, provocando inoltre un blocco della proliferazione cellulare e della clonogenicità.

Infine, l'approfondimento del ruolo di Mir34b può apportare novità nella comprensione dell'oncogene CREB e della leucemogenesi. L'elevata espressione di Mir34b strettamente associata al midollo sano e alla remissione di malattia può offrire un nuovo punto di partenza per valutarlo come target molecolare soprattutto nelle LAM senza marcatore noto.

P055

FREQUENZA DEI RIARRANGIAMENTI DI MLL NELLA LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA

Pigazzi M, Beghin A, Gelain S, Basso G

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

I riarrangiamenti cromosomici che coinvolgono il gene MLL caratterizzano in modo specifico la leucemia. La loro presenza è considerata un fattore prognostico indipendente nelle leucemie linfatiche acute e un parametro necessario per prendere decisioni cliniche rapide e sicure. I riarrangiamenti di MLL che avvengono più frequentemente nelle leucemie acute mieloidi (LAM) invece, non sono stati ancora ben caratterizzati, soprattutto a livello clinico: la loro identificazione come marker molecolare e la successiva valutazione della malattia residua minima potrebbe contribuire a una stratificazione più corretta, al miglioramento della terapia e dell'outcome delle LAM.

Sono stati reclutati 272 pazienti affetti da LAM all'esordio senza marcatore molecolare noto previsto dal protocollo LAM-2002, ed è stato condotto uno screening mediante RT-PCR per la ricerca dei riarrangiamenti più frequenti del gene MLL. Oltre ai trascritti di fusione più comuni, cioè MLL/AF9, MLL/AF10 e MLL/ENL che rendono normalmente conto dell'85% delle traslocazioni di MLL, abbiamo messo a punto in RT-PCR e caratterizzato a livello di breakpoint del trascritto le traslocazioni rare t(6;11)MLL/AF6, t(x;11)MLL/SEPT6, t(1;11)MLL/AF1 e t(11;17)MLL/SEPT9 che permetteranno di arrivare a caratterizzare il 90% delle leucemie MLL positive.

28/272 (10%) dei pazienti sono risultati positivi per t(9;11), 12/272 (4,4%) per t(10;11) e 6/272 (2,2%) per t(11;19). Le traslocazioni rare invece sono state identificate con una incidenza di 7/272 (2,6%) per t(6;11), 3/272 per t(x,11) (1,1%), 2/272 per t(1;11) (0,7%) e 1/272 (0,4%) per t(11;17). In totale i riarrangiamenti di MLL avvengono nel 21,4% delle leucemie LAM. Circa il 5% dei pazienti presenta una traslocazione rara. Le traslocazioni rare si associano prevalentemente al FAB M4/M5 e a una prognosi infausta. Lo screening rivela che la t(6;11) ha delle caratteristiche peculiari tra cui un'incidenza elevata (2,6%), l'associazione con il FAB M5b, l'esordio in media a 9 anni e l'alto tasso di morte (4/7 pazienti deceduti).

Infine, identificare le traslocazioni coinvolgenti il gene MLL permette a una significativa quota di pazienti LAM di avere un nuovo marcatore molecolare. L'analisi dei parametri di sopravvivenza può aprire nuove prospettive per creare nuovi farmaci e gruppi di rischio per protocolli terapeutici mirati. La caratterizzazione a livello funzionale di questi geni chimerici potrebbe apportare nuove conoscenze sul ruolo del gene partner di MLL.

P056**INCIDENZA DI OSTEONECROSI (ON) NEI PAZIENTI AFFETTI DA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA (LLA) DELL'ETÀ PEDIATRICA E TRATTATI SECONDO IL PROTOCOLLO AIEOP LLA 2000**

Paolucci P,¹ Colombini A,² Aricò M,³ Barisone E,⁴ Citterio M,² De Rossi G,⁵ Locatelli F,⁶ Lo Nigro L,⁷ Parasole R,⁸ Rizzari C,² Silvestri D,² Valsecchi MG,² Varotto S,⁹ Conter V²

¹U.O. di Ematologia, oncologia e trapianto, Azienda Policlinico di Modena; ²Clinica Pediatrica dell'Università degli Studi di Milano-Bicocca; ³U.O. Oncoematologia pediatrica Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer; ⁴Dip. Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza Ospedale Infantile Regina Margherita; ⁵Divisione di Ematologia Pediatrica Ospedale "Bambin Gesù"; ⁶Oncoematologia Pediatrica IRCCS Policlinico San Matteo; ⁷Divisione Ematologia-Oncologia Pediatrica, Clinica Pediatrica; ⁸Dipartimento di Oncologia, A.O. Santobono-Pausilipon; ⁹Dipartimento di Pediatria Università di Padova, Italy

Introduzione e obiettivi. L'ON è una complicanza rilevante nei bambini trattati per LLA con terapia intensiva e dosi cumulative elevate di steroidi. Nel Protocollo AIEOP LLA 95 l'incidenza di ON sintomatica è risultata molto elevata nei pazienti ad alto rischio (HR) di età > 10 anni (15%, Aricò et al, Haematologica 2003). Nel protocollo AIEOP LLA 2000, tutti i pazienti potevano ricevere in induzione desametasone (DXM) o prednisone (PDN) (studio randomizzato); inoltre i pazienti HR sono stati trattati con DXM discontinuo nei Protocolli II (reinduzione) e senza le pulsas con vincristina + PDN in mantenimento. Lo scopo di questo studio è valutare l'impatto di queste strategie terapeutiche nei pazienti arruolati nel Protocollo AIEOP LLA 2000.

Metodi. Dal settembre 2000 al giugno 2006, sono stati arruolati 1999 pazienti [515 rischio standard (SR), 1173 rischio intermedio (IR) e 311 HR] affetti da LLA Ph negativa di età compresa tra 1 e 18 anni. I dati sull'incidenza di ON sono stati raccolti mediante segnalazione su schede di eventi avversi severi (SAE).

Risultati. In totale sono stati segnalati 37 casi di ON su 1999 pazienti (1.9%), verificatisi in fase di induzione (3), consolidamento (2), reinduzione (11) e mantenimento (21). L'incidenza è stata del 2% (18/886) nelle femmine e del 1,7% (19/1113) nei maschi; 0.3% in età 1-5 anni, 0.7% in età 6-9 anni e 7.4% in età 10-17 anni (30/402); 1.8%, 2.1% e 3% nei pazienti a SR, IR e HR, rispettivamente; 1.2% (8/687) per i pazienti trattati con DXM in induzione e 2.2% (29/1300) nei pazienti trattati con PDN (randomizzati e non). Nei pazienti di età >10 anni, l'incidenza di ON è risultata di 6.8% nei maschi e 8,3% nelle femmine; 11.1% nei pazienti SR (8/72), 8.2% nei pazienti IR (20/244) e 2.3% nei pazienti HR (2/86); 7.4% nel gruppo DXM e 7.6% nel gruppo PDN.

Conclusioni. Nel protocollo AIEOP LLA 2000 l'incidenza di ON nei pazienti trattati con DXM e PDN in Induzione è sovrapponibile (1,2% vs. 2,2%). Rispetto allo Studio AIEOP LLA 95 si è osservata una marcata riduzione dell'incidenza nei pazienti HR (2% vs. 15%). L'ON peraltro appare strettamente associata all'età > 10 anni (7,5% vs. 0,4% in età <10 anni). Questi risultati confermano il ruolo cardine dell'età e della dose cumulativa di steroidi nella eziopatogenesi della ON e il possibile beneficio della somministrazione discontinua di DXM in reinduzione. L'uso di DXM o PDN in fase di induzione appare invece ininfluente rispetto al rischio di ON.

P057**COMPLICANZE MECCANICHE ED INFETTIVE DEI CATETERI VENOSI CENTRALI TIPO GROSHONG NEI BAMBINI CON TUMORE**

Ruggiero A, Nanni L, Pittiruti M, Mastrangelo S, Maurizi P, Barone G, Arlotta A, Rizzo D, Puma N, Margani G, Riccardi R

Divisione di Oncoematologia Pediatrica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italy

Introduzione. I cateteri venosi centrali (CVC) sono dei dispositivi affidabili utilizzati da diversi anni nei bambini affetti da tumore. Tali dispositivi permettono di ridurre il disagio determinato dai frequenti prelievi ematici, e di somministrare in maniera sicura chemioterapici e le terapie di supporto quali trasfusioni di emoderivati e nutrizione parenterale totale. Ad oggi pochi dati sono disponibili sull'affidabilità dei CVC tipo Groshong nella popolazione pediatrica.

Pazienti e Metodi. Nel nostro studio abbiamo valutato le complicanze meccaniche e infettive correlate al CVC tipo Groshong in una vasta coorte di bambini con malattie oncologiche. Abbiamo preso in considerazione in maniera consecutiva tutti i pazienti a cui erano stati posizionati i dispositivi Groshong presso il nostro centro da gennaio 2000 a novembre 2005. I dati relativi agli eventi infettivi e non, sono stati raccolti dal database del nostro laboratorio di microbiologia e dalle cartelle cliniche dei nostri pazienti.

Risultati. Durante il periodo di studio sono stati posizionati 190 CVC tipo Groshong in 190 pazienti. Il periodo medio di permanenza è stato di 330 giorni a paziente (range 7-1037). Non ci sono state complicanze precoci legate alla tecnica di inserimento che da settembre 2004 si è avvalsa dell'ausilio dell'ecografia. L'incidenza delle infezioni CVC-correlate è stata di 0.56 per 1000 giorni di permanenza. Il rapporto infezione CVC-relata/paziente è stata di 0.69. Gli eventi infettivi sono stati caratterizzati principalmente dall'isolamento di batteri Gram-negativi e da infezioni polimicrobiche, inoltre la maggior parte di tali episodi (94.4%) erano concomitanti a grave neutropenia. In 20 dispositivi si sono verificati complicanze meccaniche o trombotiche, con un'incidenza di 0.33 episodi per 1000 giorni di permanenza. Le complicanze di tipo meccanico sono state causa di rimozione del catetere in 6 casi (3.1%), mentre per le infezioni sono stati rimossi 10 CVC (5.2%).

Conclusioni. Il CVC tipo Groshong nei bambini affetti da tumore può essere considerato un dispositivo utile e sicuro, che permette la somministrazione dei trattamenti antitumorali e le terapie di supporto. Un adeguato training delle infermiere, dei medici e, occasionalmente, dei parenti dei pazienti sulla corretta gestione di tali dispositivi ha contribuito a ridurre il tasso di complicazioni sia meccaniche, intrinsecamente basse per questo tipo di dispositivi, e soprattutto, di eventi infettivi catetere correlati.

P058**EFFICACIA E SICUREZZA DI PROPOFOL-ALFENTANIL VS PROPOFOL-KETAMINA DURANTE LE SEDAZIONI PROCEDURALI ESEGUITE IN BAMBINI AFFETTI DA LLA**

Ruggiero A, Barone G, Attinà G, Lazzareschi I, Liotti L, Chiaretti A, Coccia P, Furfaro IF, Riccardi R

Divisione di Oncoematologia Pediatrica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italy

Introduzione. Nel bambino affetto da LLA, la sedazione procedurale permette di ridurre le esperienze dolorose legate a puntura lombare e aspirati/biopsie osteo-midollari, con il

miglioramento della loro qualità di vita. L'esperienza dolorosa genera inoltre processi adattativi all'interno dei network neuronali grazie all'effetto di differenti neuro peptidi. L'obiettivo è valutare l'efficacia e la sicurezza di due protocolli di sedazione procedurale, confrontandoli fra loro e valutando i livelli di NGF, sostanza P ed encefaline all'interno dei campioni di liquor raccolti durante la rachicentesi.

Materiali e Metodi. Abbiamo condotto uno studio prospettico, cross-over su 20 bambini affetti da LLA, confrontando la sicurezza e l'efficacia del protocollo A (propofol + alfentanil) e del protocollo B (propofol + ketamina). La sicurezza e la profondità della sedazione sono state valutate grazie al monitoraggio dei parametri vitali (FC, FR, SpO₂). L'analgesia è stata valutata utilizzando le scale Ramsay e CHEOPS. In relazione all'età dei pazienti e alle condizioni cliniche è stato anche sottoposto un questionario sul grado di soddisfazione al momento del risveglio. Sono stati inoltre tenuti in considerazione parametri quali il tempo del risveglio, il tempo necessario di osservazione post-procedurale, il grado di immobilità del paziente durante la rachicentesi e il numero di tentativi durante la procedura eseguita da personale esperto. I campioni di liquor sono stati raccolti ed esaminati per la concentrazione di NGF, sostanza P ed encefaline.

Risultati. Sono state eseguite 40 sedazioni procedurali, 20 per ciascun protocollo. Tutti i pazienti hanno sperimentato una analgesia-sedazione soddisfacente. Nonostante l'assenza di differenze significative in termini di efficacia, i pazienti cui veniva somministrato il protocollo A hanno presentato una maggiore percentuale di effetti collaterali come depressione respiratoria (11/20) rispetto al protocollo B (3/20). Tra i due protocolli non è stata evidenziata alcuna differenza significativa dei livelli dei neuromodulatori del dolore nel liquor.

Conclusioni. Entrambi i protocolli sono efficaci nell'ottenere un buon grado di sedazione e di analgesia nei bambini affetti da LLA sottoposti a puntura lombare, sebbene l'associazione propofol e ketamina appaia più sicura per la minore percentuale di effetti collaterali.

P059

INFEZIONE SISTEMICA DA MICOBATTERIO NON-TUBERCOLARE (MNT) IN BAMBINA AFFETTA DA LLA

Liotti L, Maurizi P, Arlotta A, Cefalo MG, Attinà G, Ridola V, Rizzo D, Riccardi R

Divisione di Oncoematologia Pediatrica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italy

I MNT sono raramente responsabili di infezioni nel bambino oncologico, sebbene possano determinare quadri invasivi a decorso invalidante. Formulare una rapida diagnosi non è agevole data la difficoltà dell'isolamento colturale e la rarità della malattia.

Caso clinico. Bambina di 11 anni affetta da LLA MR durante la fase di mantenimento ad interim (AIEOP 2000) in remissione completa ha presentato febbre e tosse, con quadro radiologico polmonare reticolo-micronodulare, aree di consolidamento bilobarici con progressiva cavitazione, lesioni nodulari epatiche e linfoadenopatie diffuse. Presentava pancitopenia, alterazione degli indici di flogosi e di funzionalità epatica. Gli esami colturali e sierologici su sangue periferico, midollare e liquor erano negativi. La ricerca colturale e con PCR per micobatteri su tutti i fluidi biologici e su agoaspirato di una lesione polmonare erano negativi. Dopo 20 giorni di antibiotico terapia ad ampio spettro senza beneficio, ha iniziato terapia con claritromicina e voriconazolo per 1 mese,

con miglioramento clinico-radiologico. È stata dunque ripresa la chemioterapia completando la Reinduzione (escludendo gli steroidi). Per la comparsa di prolungata pancitopenia, ha eseguito aspirato midollare negativo per recidiva di LLA e BOM che mostrava una mielite granulomatosa. Gli esami colturali e la ricerca del Genoma non mostravano micobatteri. Per peggioramento respiratorio, considerata la DD con la granulomatosi linfomatoide, ha eseguito biopsia polmonare a cielo aperto. Nel post-operatorio ha necessitato di ventilazione meccanica. Ha intrapreso steroidoterapia ad alte dosi e trattamento antitubercolare su base empirica. La diagnosi è stata formulata grazie ad un'unica PCR per Micobatteri atipici positiva su un unico granuloma a necrosi caseosa identificato istologicamente. La terapia con claritromicina, etambutolo e ciprofloxacina è stata protratta per 9 mesi. La chemioterapia è stata definitivamente sospesa. Dopo un anno, scomparsa dell'infiltrazione granulomatosa alla BOM e delle lesioni epatiche. Permangono gli esiti radiologici polmonari ed un quadro restrittivo moderato alle PFR. Attualmente la paziente è in remissione completa a 5 anni dall'esordio di LLA ed a 3 anni dalla grave complicanza infettiva.

Conclusioni. Nel sospetto clinico-radiologico di MNT è giustificato un atteggiamento diagnostico invasivo. Tale infezione, seppur rara, può compromettere la sopravvivenza ed il percorso terapeutico dei pazienti oncologici

P060

OSTEOLISI MASSIVA PARANEOPLASTICA RILEVATA DA PET-TC IN PAZIENTE CON MALATTIA RESIDUA MINIMA PER LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

De Zen L,¹ Borsatti E,² Bulian P,² Dall'Amico R,¹ Kiren V,³ Gigante M,² Mascarini M²

¹Servizio Oncologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera S.Maria degli Angeli, Pordenone; ²Area Giovani IRCS CRO Aviano; ³Oncologia Pediatrica, IRCCS Burlo Garofolo Trieste, Italy

Introduzione e obiettivi. L'ipercalemia con osteolisi massiva è una sindrome paraneoplastica che si può presentare in pazienti con leucemia linfoblastica acuta (LLA) all'esordio. Segnaliamo un caso di tale sindrome, documentata con PET-TC, in sola presenza di malattia residua minima per LLA.

Caso clinico. Ragazzo di 21 anni, con storia pregressa di LLA-common, esordita nel 2000, trattato con chemioterapia secondo il protocollo AIEOP LLA 2000, nel 2003 recidiva midollare quindi sottoposto a nuova chemioterapia e trapianto di midollo da fratello. Nel 2005 ricaduta isolata testicolare dx, esegue orchietomia dx, radioterapia testicolare, chemioterapia e secondo trapianto di midollo da fratello. Nel dicembre 2005 comparsa di dolore alla spalla sin per cui esegue RMN, accertamenti ematochimici, malattia residua minima nel periferico, aspirato midollare, biopsia osteomidollare, PET-TC.

Risultati. La RMN alla spalla sin, evidenzia sfumate aree di alterato segnale spongioso all'articolazione acromion-claveare, con accumulo di contrasto. Accertamenti ematici: emocromo nella norma, malattie residua minima nel periferico negativa, ipercalcemia grave (fino a 19.4 mg/dL), PTH 1,3 pg/mL (vn 12-72). PET-TC: numerosi patologici iperaccumuli ossei di [18F]fluorodesossiglucosio (FDG) in corrispondenza di C2, C4, processo spinoso di D6, D9, D12, bacino, manubrio sternale, entrambe le clavicole, entrambe le scapole, gli omeri, olecrano dell'ulna sin, alcune coste bilaterali, entrambi i femori e dialisi prossimali della tibia sin, discreta captazione al testicolo sin sede di pregressa irradiazione (obiettività ed ecografia testicolare peraltro negativi). Aspirato midollare: 0,6% di cellule blastiche CD19⁺CD34⁺CD10⁺. Biopsia osteomidollare

negativa. Nel sangue periferico riscontro di 1×10^{-4} blasti. Il quadro era compatibile con malattia residua minima, ma non giustificava l'importante interessamento osseo. Dopo una settimana ripetuta la biopsia osteomidollare in una delle lesioni del bacino attive alla PET con rilievo di infiltrazione neoplastica linfoproliferativa (20%). Eseguiti dosaggi di PTH related peptide (PTHrP) risultato nella norma (5 ng/mL, vn 0-20), TNFalfa e IL-6 risultati elevati (11.3 ng/mL, vn 0-5.9 e 14.9 ng/mL, vn 0-5.9, rispettivamente).

Conclusioni. Dai lavori sinora pubblicati, questo risulta essere il primo caso di osteolisi massiva paraneoplastica mediata da citokine rilasciate da blasti leucemici in presenza di malattia residua minima, anticipando la ricaduta midollare e testicolare sin. La PET-TC ha definito precocemente il massivo coinvolgimento osseo e testicolare, indirizzandoci alla diagnosi.

P061

ANDAMENTO LONGITUDINALE DELLA MINERALIZZAZIONE SCHELETRICA VALUTATA CON ULTRASONOGRAFIA (QUS) ALLA FALANGE IN PAZIENTI PEDIATRICI TRATTATI PER LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA (LLA)

Mussa A,¹ Galletto C,² Bertorello N,² Corrias A,³ Barisone E,² Nicolosi MG,⁴ Fiore L,¹ Fagioli F²

¹Dipartimento di Pediatria, Università di Torino; ²Dipartimento di Oncoematologia pediatrica ospedaliera, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ³Dipartimento di Endocrinologia Pediatrica, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ⁴Dipartimento di Ginecologia ed Ostetricia, Ospedale Sant'Anna, Torino, Italy

Introduzione e obiettivi. I bambini trattati per LLA sono a rischio di sviluppare alterazioni metaboliche dell'osso dovute alla malattia stessa, alla scarsa attività fisica e alla terapia. La mineralizzazione ossea in questi pazienti è stata fino ad ora valutata quasi esclusivamente dopo la fine della terapia e con l'utilizzo di metodiche radiologiche. L'obiettivo del presente studio è descrivere in modo prospettico, con metodiche non radiologiche, le variazioni della massa ossea durante la terapia per LLA in età pediatrica.

Metodi. Di 60 pazienti con diagnosi consecutiva di LLA tra Ottobre 2003 e Marzo 2006, 45 (23 maschi, 22 femmine; età 6.6 più o meno 3.7 anni, range 2.5-14.9) sono stati valutati con QUS alla falange eseguita alla diagnosi e dopo 6, 12 e 24 mesi dall'inizio della terapia secondo il Protocollo AIEOP LLA 2000. È stato osservato l'andamento dei parametri AD-SoS (*Amplitude-Dependent Speed-of-Sound*) e BTT (*Bone Transmission Time*), correlati rispettivamente alla mineralizzazione ossea e allo spessore della zona corticale.

Risultati. AD-SoS e BTT si sono significativamente ridotti nei primi dodici mesi, con un decremento più rapido nei primi sei mesi ($p < 0.001$). Nonostante si osservi una ripresa di tali valori durante il secondo anno di terapia, alla fine del trattamento i parametri valutati permangono inferiori a quelli riscontrati alla diagnosi ($p < 0.001$). L'andamento dei parametri è riassunto in Tabella 1. Nei soggetti che hanno manifestato fratture ($n=8$), osteonecrosi ($n=3$) o segni radiologici di grave osteoporosi ($n=4$), la perdita di massa ossea nei primi sei mesi è stata più rapida ($p < 0.01$) e i livelli di mineralizzazione scheletrica dopo dodici mesi sono risultati più bassi ($p < 0.01$) di quelli riscontrati nei soggetti senza queste alterazioni.

Conclusioni. La mineralizzazione ossea valutata con QUS alla falange in bambini con LLA si riduce soprattutto durante le prime fasi della terapia e mantiene valori significativamente inferiori a quelli della diagnosi anche alla fine del trattamento. Poiché differenze significative sono state osservate tra soggetti con e senza complicanze ossee, la QUS può essere

considerata un esame non invasivo utile ad individuare un gruppo di pazienti da sottoporre a terapia per prevenire gli effetti collaterali che gli attuali schemi terapeutici possono determinare sul metabolismo osseo.

Tabella 1.

	AD-SoS SDS		BTT SDS	
		<i>p</i> vs. Diagnosi		<i>p</i> vs. Diagnosi
Diagnosi (n=45)	0.45±1.01	-	0.25±0.71	-
6 mesi (n=41)	-0.51±1.01	<0.001	-0.45±0.75	<0.001
12 mesi (n=38)	-0.50±1.04	<0.001	-0.61±0.90	<0.001
24 mesi (n=37)	-0.55±1.06	<0.001	-0.30±0.88	<0.001

P062

CLOFARABINA IN ASSOCIAZIONE A VEPESIDE + ENDOXAN (CLOVE) PER IL TRATTAMENTO DI LEUCEMIE RESISTENTI: ESPERIENZA IN 3 CENTRI AIEOP

Micalizzi C, Parasole R, Banov L, Petruzzello F, de Rosi G, Luciani M

Centri AIEOP di Genova Gaslini, Napoli Pausilipon, Roma Bambino Gesù, Italy

Introduzione e obiettivi. La clofarabina, un analogo purinico di sintesi di nuova generazione, è un chemioterapico promettente per il trattamento delle leucemie acute resistenti o recidivate. Attualmente è in corso di valutazione presso i maggiori centri di emato-oncologia pediatrica americani, in uno studio di fase 2, l'associazione della clofarabina (40 mg/mq) con vepeside (100 mg/mq) e endoxan (440 mg/mq) (CLOVE). Il tasso di risposta overall è del 71%. Tale schema di trattamento è utilizzato dal novembre 2007 in 3 centri AIEOP come terapia di salvataggio di pazienti con LLA e LMA.

Metodi. Si è concordato l'utilizzo di CLOVE in induzione (5 giorni di terapia): 1 o 2 cicli per l'ottenimento di RC o RCp, seguito da 1 o 2 cicli di consolidamento (4 giorni di terapia). In tutti i pazienti è stata effettuata terapia IT con citarabina (giorno 0) o MTX (giorno + 6). Al trattamento è stato associato prednisone 0.5 mg/kg per la profilassi della sindrome da rilascio di citochine.

Risultati. Ad oggi sono stati trattati 9 pazienti (2 f, 7 m), 6 LLA e 3 LMA. Età mediana all'avvio del CLOVE 9 anni (1.75-16.6), 5 pazienti in prima, 2 pazienti in seconda e 2 pazienti in terza recidiva. La mediana dei trattamenti chemioterapici precedentemente effettuati è di 2 (range 1-3). 7/9 pazienti erano stati sottoposti a una precedente procedura trapiantologia. I 3 pazienti con LMA sono stati trattati con CLOVE in prima recidiva resistente al protocollo Daunoxome-FLAG: 2/3 (66%) hanno ottenuto una remissione (1 RCp e 1 RP). 4/6 pazienti con LLA (66%) hanno ottenuto una risposta: (2RCp e 2 RC). 1 paziente ha presentato sepsi, 2 pazienti dolori addominali e diarrea (WHO 3). 1 paziente ha presentato importanti dolori muscolari, con impotenza funzionale e associato versamento pleurico bilaterale: la sintomatologia, insorta dopo 7 giorni dalla conclusione del ciclo di induzione, si è completamente risolta in 4 giorni. 4/6 pazienti (3 LLA e 1 AML), che avevano raggiunto la remissione midollare sono stati sottoposti a TMO da donatore volontario. Follow up mediano dopo il TMO 3 mesi (range 1-5), non valutata tossicità trapianto correlata.

Conclusioni. L'associazione CLOVE è globalmente ben tollerata. Nei nostri pazienti non si è dimostrata tossicità epatica superiore al grado 2 WHO, nessuno dei pazienti sottopo-

sti successivamente a procedura trapiantologica ha presentato VOD. La percentuale di risposta al trattamento è soddisfacente anche se il follow up è ancora breve.

P063

STUDIO MEDIANTE MICROARRAY DEL PROFILO DI ESPRESSIONE GENICA NELLE SINDROMI MIELODISPLASTICHE E MIELOPROLIFERATIVE IN PAZIENTI IN ETÀ PEDIATRICA

Bresolin S, Trentin L, Campo Dell'Orto M, te Kronnie T, Zecca M, Sainati L, Basso G

Laboratorio di Oncoematologia, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova; Laboratorio di Oncoematologia, Dipartimento di Pediatria, IRCCS, Policlinico San Matteo, Pavia, Italy

Introduzione e obiettivi. Le sindromi mielodisplastiche e mieloproliferative sono un gruppo eterogeneo di malattie ematopoietiche caratterizzate da displasia in almeno due linee cellulari. Sono condizioni pre-leucemiche che nel 30-40% dei casi possono evolvere in LAM. In età pediatrica rappresentano meno del 5% delle neoplasie ematopoietiche. La diagnosi si basa soprattutto su criteri morfologici. L'obiettivo di questo studio prevede l'applicazione della tecnologia microarray per l'analisi del profilo d'espressione genica delle MDS, MPD e LAM in pazienti in età pediatrica per valutare la presenza di particolari profili genici caratteristici dei vari sottogruppi.

Metodi. Mediante studio del profilo d'espressione genica su piattaforma Affymetrix HG-U133 Plus 2.0, sono stati analizzati 48 pazienti LAM di cui 19 con cariotipo normale, 5 BM di controlli normali, 17 MDS suddivise in 7 AREB, 3 AREB-t, 5 CR, 2 MDS secondarie e 11 JMML. L'analisi dei profili d'espressione genica è stata effettuata mediante il software Partek Genomic Suite.

Risultati. L'analisi non supervisionata di tutta la coorte di pazienti ha suddiviso in 2 cluster i pazienti con MDS/MPD e LAM (Figura 1).

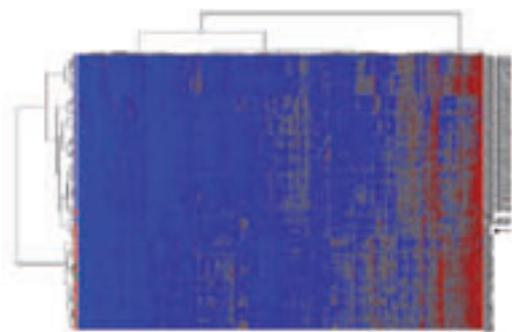


Figura 1. Dendrogramma dell'analisi non supervisionata degli 81 pazienti in esame. In rosso sono evidenziate le MDS e MPD, in blu le LAM e in verde i controlli normali. La freccia indica i 3 esordi MDS che evolveranno in LAM.

Tre pazienti all'esordio MDS che evolveranno precocemente in LAM si raggruppano con il cluster delle LAM de novo. Un'indipendente analisi multivariata ANOVA sui soli pazienti LAM con cariotipo normale, le 17 MDS e i controlli normali ha identificato 62 probe sets (FDR pari a 0.1^{-7}) in grado di discriminare i 3 gruppi di pazienti presi in esame. Il dendrogramma mostra come i controlli normali formino un gruppo omogeneo all'interno del cluster delle MDS.

Conclusioni. L'analisi del profilo d'espressione genica distingue i pazienti affetti da MDS e sembra essere in grado d'identificare già alla diagnosi quei pazienti MDS che evolveranno precocemente in LAM. I dati dimostrerebbero come nonostante non vi sia ancora una conclamata evoluzione in LAM dal punto di vista immunofenotipico e citogenetico, questa sia già presente a livello molecolare. L'identificazione di 62 probe sets ha permesso di suddividere le MDS dai midolli normali e dalle LAM. Considerando che le MDS in età pediatrica sono delle sindromi di difficile diagnosi ed alquanto eterogenee lo studio del profilo d'espressione genica potrebbe costituire uno strumento utile da affiancare alle tecniche diagnostiche standard per la diagnosi e la prognosi di queste malattie.

P064

MODIFICAZIONI DEL CICLO CELLULARE COME NUOVA STRATEGIA TERAPEUTICA NEL LINFOMI ALCL PEDIATRICI

Bonvini P, Zorzi E, Monaco G, Mussolin L, Basso G, Rosolen A

Istituto Oncologico Veneto-IRCCS, Padova; Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera-Università di Padova; VIMM, Istituto Veneto di Medicina Molecolare, Padova, Italy

Nella cellula eucariotica il ciclo cellulare, la trascrizione e la duplicazione del DNA sono eventi regolati dall'associazione transiente tra cdk (chinasi ciclina-dipendenti) e cicline. Nella cellula neoplastica l'espressione delle cdk e delle cicline è frequentemente deregolata, e l'attività costitutiva di tali complessi comporta la perdita del controllo proliferativo, una forte instabilità genetica e chemio-resistenza. Dal momento che poche sono le informazioni sull'attività degli inibitori del ciclo cellulare nelle neoplasie dell'età pediatrica, abbiamo valutato l'attività di Flavopiridolo, un potente inibitore delle cdk, in cellule di linfoma ALCL (Anaplastic Large Cell Lymphoma), caratterizzate dalla sovraespressione di proteine associate alla proliferazione cellulare. L'efficacia di Flavopiridolo nelle linee cellulari di ALCL è stata valutata mediante saggi enzimatici di citotossicità, analisi al citofluorimetro del ciclo cellulare, e quantificazione della trascrizione endocellulare. L'effetto inibitorio è stato valutato mediante analisi di espressione e localizzazione di cdk (cdk2, cdk4, cdk7 e cdk9), cicline (ciclina A, D3, E, B1), dei substrati dei complessi cdk-ciclina (RB-S780, -S612, -T821, e RNA Pol II-S2) e delle proteine coinvolte nei meccanismi di citotossicità (caspasi-3, -8 e -9). I nostri dati dimostrano che le cellule di ALCL sono particolarmente sensibili all'attività anti-proliferativa di Flavopiridolo, quando somministrato a concentrazioni nanomolari (IC_{50} 140nM a 24h; $IC_{50} \leq 70$ nM a 72h), senza però risultare nel blocco del ciclo cellulare. L'inibizione della proliferazione cellulare dipende dall'induzione dell'apoptosi in fase S, come dimostrato dalla ridotta incorporazione di BrdU in cellule attivamente proliferanti, dalla degradazione proteica dei marcatori fase-specifici (ciclina E, A, cdk2 e E2F1), e dalla maggiore citotossicità osservata dopo sincronizzazione in fase G1. I nostri dati confermano che le cdk sono enzimi critici per la regolazione dell'espressione proteica delle cellule di ALCL, dal momento che l'inibizione dell'attività mediata da Flavopiridolo comporta, sia a livello trascrizionale che posttraduzionale, importanti modificazioni di espressione delle proteine coinvolte nella sopravvivenza e nella proliferazione cellulare (RNA Pol II, RB, Akt, XIAP, Mcl-1, PARP), con effetti ancora più drammatici quando sostenuta dall'inibizione competitiva delle vie di trasduzione del segnale che rispondono a JAK3-STAT3.

P065

APPLICAZIONE DI CLUSTER ANALYSIS PER L'IDENTIFICAZIONE DI PATTERN IMMUNOFENOTIPICI DELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA PHILADELPHIA-POSITIVA DELL'INFANZIA

Buldini B,¹ Zangrando A,¹ Tosato F,¹ Michielotto B,¹ Benetello A,¹ Giarin E,¹ Cazzaniga G,² Veltroni M,³ Aricò M,³ Basso G¹

¹Laboratorio di Emato-Oncologia Pediatrica, Università di Padova;

²Centro Ricerca Tettamanti, Clinica Pediatrica Università di Milano, Bicocca, Monza; ³Ospedale Meyer, Firenze, Italy

Introduzione e obiettivi. Il cromosoma Philadelphia (Ph), presente nel 3-5% delle ALL pediatriche, origina dalla traslocazione reciproca bilanciata tra i cromosomi 9 e 22. La presenza di questa anomalia genetica in pazienti pediatriche affetti da ALL-B precursor (pB-ALL) costituisce un fattore prognostico sfavorevole. La metodica più efficace per l'identificazione di tale anomalia è la PCR; non è disponibile un metodo di screening rapido per l'identificazione delle pB-ALL Ph⁺. Recentemente, è stato possibile caratterizzare specifici sottotipi genetici di ALL studiandone il profilo di espressione genica con la tecnologia dei microarray, ed antigenica con l'ausilio della citofluorimetria. Lo scopo del nostro studio è la caratterizzazione del pattern immunofenotipico delle pB-ALL Ph⁺.

Metodi. Utilizzando l'analisi multiparametrica quantitativa su valori di espressione di 16 antigeni in citofluorimetria a 5 colori, abbiamo valutato l'immunofenotipo all'esordio di 140 pazienti pediatriche con diagnosi di pB-ALL (41 Ph⁺ e 99 Ph⁻). La popolazione dei blasti è stata selezionata mediante gate immunologico con CD19; l'espressione dei singoli antigeni è stata quantificata tramite Geometric Mean Fluorescence (GMF). Un'analisi non-supervisionata tramite clustering è stata eseguita sull'intera coorte di 140 pazienti, per individuare gruppi di pazienti con simili profili di espressione antigenica. Successivamente, è stata applicata un'analisi supervisionata per associare specifici markers immunofenotipici ai sottogruppi identificati dalla metodica di clustering.

Risultati. La tecnica di analisi di clustering bidimensionale per GMF ha permesso di separare i pazienti in 2 clusters principali (A e B+C). Il cluster A comprende la maggioranza dei pazienti Ph⁺ (35 su 41) mentre nel cluster B+C troviamo la maggior parte dei pazienti Ph⁻ (86 su 99). Mediante un'indagine di tipo supervisionato, sono stati in seguito identificati dei subset di antigeni che caratterizzano i due clusters. I criteri immunofenotipici permettono di identificare le pB-ALL Ph⁺ con sensibilità dell'85%, specificità dell'87% ed accuratezza dell'86%.

Conclusioni. Le pB-ALL Ph⁺ presentano caratteristiche immunofenotipiche peculiari rispetto a quelle Ph⁻. La presenza della traslocazione t(9;22) si associa ad upregolazione degli Ag CD52, TdT, CD45, CD34, HLA-DR, CD33 e downregolazione degli Ag CD38, CD24, CD58, CD22, CD19. La caratterizzazione immunofenotipica potrebbe quindi rappresentare un metodo di screening rapido ed efficace per l'identificazione delle pB-ALL Ph⁺.

EMATOLOGIA E COAGULAZIONE

C017

REGOLAZIONE DELL'ESPRESSIONE DI SLC11A2 (ISOFORMA NON IRE) MEDIATA DAL MICRORNA LET-7D

Andolfo I, De Falco L, Asci R, Colucci S, Totaro F, Zollo M, Iolascon A

CEINGE, Centro di Ingegneria Genetica e Biotecnologie Avanzate, Napoli; Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. Il gene SLC11A2 codifica per DMT1, una proteina transmembrana espressa sulla membrana basolaterale degli enterociti duodenali, coinvolta nel trasporto del ferro non eme dal lume intestinale. DMT1 è coinvolto, inoltre, nel ciclo endosomiale della transferrina dei precursori eritroidi, dove trasferisce ferro al citosol e ai mitocondri. La trascrizione di SLC11A2 da origine a 4 trascritti che differiscono per espressione tessuto-dipendente e per regolazione. L'isoforma non IRE rispetto all'isoforma IRE, infatti, non presenta nella regione 3' UTR (non tradotta) la sequenza IRE (elemento regolabile dal ferro) che regola la stabilità dell'mRNA in base alla presenza del ferro. Mutazioni in DMT1 sono responsabili di anemie microcitarie ipocromiche dovute a difetti nell'assorbimento del ferro a livello intestinale ed a difetti nell'acquisizione del ferro a livello dei tessuti periferici, inclusi i precursori eritroidi. L'obiettivo nel nostro lavoro è studiare una possibile regolazione di DMT1 isoforma NON IRE da parte dei microRNAs. Questi ultimi sono piccole molecole di RNA, di circa 22 basi, non codificanti per proteine, che regolano negativamente l'espressione dei loro mRNA target.

Metodi. Clonaggi in vettori di espressione del microRNA e della regione 3'UTR di DMT1 in vettori reporter luciferasi, saggi di luciferasi, trasfezioni in transiente nella linea cellulare K562, mutagenesi sito diretta, Real Time PCR (metodo Syber Green), saggi TaqMan per microRNA.

Risultati. I dati preliminari ci hanno condotto alla selezione del microRNA LET-7D, che regola l'espressione del trasportatore DMT1 (isoforma non IRE). L'overespressione del microRNA nella linea cellulare K562 riduce l'espressione sia dell'RNA messaggero di DMT1 che della proteina, dimostrando che il meccanismo di regolazione è basato sulla degradazione dell'mRNA. Saggi con gene reporter luciferasi, condotti sull'intera regione 3'UTR di DMT1, hanno evidenziato una diminuzione di circa il 60% dell'attività luciferasica, dimostrando l'effettivo legame del microRNA al suo putativo target.

Conclusioni. In questo lavoro abbiamo identificato un nuovo meccanismo di regolazione dell'espressione di DMT1 (isoforma NON IRE) mediata da un microRNA. Sono in corso studi funzionali per dimostrare che le cellule overespressanti il microRNA presentano un deficit di assorbimento del ferro.

C018**UTILIZZO DELLA TECNICA MLPA (MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION) NELLA DIAGNOSI MOLECOLARE DELL'ANEMIA DI DIAMOND-BLACKFAN**

Quarello P,¹ Garelli E,¹ Brusco A,² Carando A,¹ Pappi P,² Barberis M,² Coletti V,³ Campagnoli MF,¹ Dianzani I,⁴ Ramenghi U¹

¹Ematologia, Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza, Università di Torino; ²Dipartimento di Genetica, Biologia e Biochimica, Università di Torino; ³Divisione di Ematologia, Ospedale Bambin Gesù, Roma; ⁴Dipartimento di Scienze Mediche, Università del Piemonte Orientale, Novara, Italy

Introduzione. L'anemia di Diamond-Blackfan (DBA, #MIM105650) è la più frequente forma di aplasia congenita pura della serie eritroide. La maggior parte dei casi è sporadica; alterazioni a carico del gene RPS19, codificante la proteina ribosomiale S19, rappresentano la causa più comune di DBA essendo presenti in circa il 20-25% dei pazienti. Recentemente sono state riportate mutazioni a carico di altri geni codificanti proteine ribosomiali (RPS24 and RPS17), presenti tuttavia in una minima percentuale di pazienti. Ad oggi sono state descritte 83 differenti mutazioni del gene RPS19, tutte in eterozigosi e distribuite lungo l'intero gene. Le tecniche standard basate sulla amplificazione genomica mediante PCR, utilizzate per la ricerca di mutazioni puntiformi, non sono tuttavia in grado di identificare delezioni o duplicazioni in quanto l'allele normale maschera quello alterato. Il nostro studio si propone di valutare il contributo di tali alterazioni nella patogenesi della DBA mediante l'utilizzo della tecnica MLPA. La tecnica MLPA si basa sull'ibridazione simultanea di differenti sonde complementari ai singoli esoni, seguita da amplificazione mediante PCR e da elettroforesi su sequenziatore capillare. In caso di presenza di delezione o duplicazione si osserva rispettivamente la riduzione o l'incremento del picco relativo al singolo esone.

Metodi e risultati. L'analisi di sequenza del gene RPS19 su 123 pazienti ha evidenziato 31 mutazioni. I 92 pazienti non mutati in RPS19 sono stati sottoposti a screening con MLPA che ha permesso l'identificazione di 3 ampie delezioni comprendenti l'intero gene RPS19. Non sono state riscontrate delezioni parziali né duplicazioni del gene. La successiva analisi di segregazione mediante microsatelliti della regione 19q13 ha confermato la presenza delle delezioni e ne ha definito l'estensione.

Conclusioni. Il nostro studio ha evidenziato che le delezioni totali di RPS19 sono più frequenti di quando stimato in precedenza, rappresentando il 12% di tutte le mutazioni nella nostra casistica. Il gene RPS19, analizzato mediante sequenziamento e MLPA, risulta pertanto coinvolto nel 28% dei pazienti italiani. In conclusione, riteniamo indispensabile l'associazione della tecnica MLPA all'analisi di sequenza nella diagnostica molecolare di pazienti con fenotipo DBA in quanto solo un approccio combinato può permettere l'identificazione complessiva di tutte le alterazioni del gene RPS19.

C019**TROMBOCITEMIA ESSENZIALE IN ETÀ PEDIATRICA: ANALISI RETROSPETTIVA DI 94 CASI RACCOLTI NEI CENTRI AIEOP**

Putti MC,¹ Giona F,² Teofili L,² Citterio M,⁵ Consarino C,³ De Mattia D,⁴ Duner E,¹³ Errigo G,¹ Giordano P,⁴ Jankovich M,⁵ Ladogana S,⁶ Micalizzi C,⁷ Pession A,⁸ Saracco P,⁹ Scapin M,¹³ Ramenghi U,⁹ Tettoni K,¹⁰ Tucci F,¹¹ Zanazzo GA,¹² Randi ML¹³

Centri AIEOP di: ¹Padova, ²Roma La Sapienza, ³Catanzaro, ⁴Bari, ⁵Monza, ⁶S. Giovanni Rotondo, ⁷Genova, ⁸Bologna, ⁹Torino, ¹⁰Brescia, ¹¹Firenze, ¹²Trieste, ¹³Medicina Interna, Università Padova, Italy

Introduzione. La trombocitemia essenziale (TE) è una malattia mieloproliferativa cronica dell'adulto, ma rara in pediatria. La letteratura è scarsa e mancano chiari criteri diagnostici e terapeutici per i bambini con TE.

Metodi. Vengono descritti i dati clinici e di laboratorio di 94 casi di TE raccolti presso i centri AIEOP, diagnosticati secondo i criteri di PVSG. La mutazione JAK2^{V617F} è stata cercata con PCR allele specifica su granulociti; le colonie eritroidi spontanee (EEC) sono ottenute con e senza eritropoietina; la clonalità è stata studiata con metodo HUMARA; le mutazioni dei geni di trombopoietina (TPO) e di c-MPL (recettore di TPO) sono state cercate con sequenziamento.

Risultati. Le principali caratteristiche cliniche dei bambini sono riassunte in Tabella 1.

Tabella 1.

Pazienti		Sintomatologia		Trattamento	
Totale	94	Asintomatici	52 (55%)	Nessuno	28
maschi/femmine	38/56	Budd Chiari	2	Aspirina	28
Età diagnosi	7 aa (1m-17aa)	TVP	1	Anagrelide	25
FU mediano	4.75 aa (2-11)	Cefalea	20	Alfa-IFN	15
Pfts x 10 ⁹ /L	1252 (611-4020)	Parestesie	3	Idrossiurea	29
WBC x 10 ⁹ /L	11.75	Epistassi	2		
Hb g/L	136 (121-139)	Algie addominali	4		
JAK2 V617F/WT15/61 (20%)		Splenomegalia	20		
EEC pos	13/50				
Monoclonalità	16/32				

Aspirato e biopsia midollare erano compatibili con diagnosi di TE; non sono state riscontrate alterazioni del cariotipo né positività di bcr/abl. Le più gravi trombosi (v.cava inferiore e sovraepatiche) sono state osservate all'esordio. Nessuno ha presentato emorragie maggiori. Un paziente non ha risposto a IFN; uno in IFN e 3 in anagrelide hanno sospeso la terapia per effetti collaterali. Non sono state trovate mutazioni dei geni di TPO e di c-MPL nei casi sporadici. I 15 casi familiari, appartenenti a 5 diverse famiglie, sono caratterizzati dalla presenza di mutazioni dei geni di c-mpl (13 casi); la mutazione di TPO è stata riscontrata in un neonato con malformazioni ossee. Nessun caso presentava JAK2^{V617F}, 3 casi mostravano crescita di EEC; un caso ha presentato una grave complicanza (infarto splenico) e 3 hanno richiesto terapia citoreducente con HU.

Conclusioni. Questa casistica è la più numerosa di TE pediatriche, con elevata quota di TF che presentano mutazioni di c-MPL. In pediatria TE sono spesso pauci o a-sintomatiche; l'origine mieloproliferativa, suggerita da clonalità mieloide, EEC e JAK2^{V617F}, non è sempre confermata. La mutazione

JAK2^{V617F} è meno frequente che nell'adulto e non sembra correlare con il quadro clinico è quindi necessaria la raccolta di dati prospettici per elaborare linee guida diagnostiche e strategie terapeutiche.

C020

FENOTIPO CLINICO, VALUTAZIONE IMMUNOLOGICA E ANALISI MOLECOLARE IN PAZIENTI AFFETTI DA TROMBOCITOPENIA ISOLATA X-RECESSIVA (XLT)

Notarangelo LD, Giliani S,¹ Moratto D,¹ Mazza C,¹ Soresina A,² D'Ippolito C, Tettoni K, Soresina R, Verdoni L,² Ricci F,² Meda Spaccamela V, Noris P,³ Jankovic M,⁴ Ladogana S,⁵ Cossu F,⁶ De Mattia D,⁷ Notarangelo LD,⁸ Porta F

U.O. di Oncoematologia e trapianto di midollo osseo, Ospedale dei bambini, Brescia, Italy; ¹Laboratorio di medicina molecolare A.Nocivelli, Spedali Civili, Brescia, Italy; ²Clinica Pediatrica, Ospedale dei bambini, Brescia, Italy; ³Laboratorio Fisiopatologia delle piastrine, IRCCS policlinico S. Matteo, Pavia, Italy; ⁴Clinica Pediatrica, Ospedale Nuovo S. Gerardo, Monza, Italy; ⁵Divisione di Pediatria, Ospedale Casa Sollievo della Sofferenza, S. Giovanni Rotondo, Italy; ⁶Ospedale microcitamico, Cagliari, Italy; ⁷U.O. Pediatria F. Vecchio, Bari, Italy; ⁸Division of Immunology, Children's Hospital, Boston, USA

Introduzione e obiettivi. La storia naturale della XLT non è del tutto nota. Questo studio si propone di valutare gli aspetti clinici, immunologici e molecolari in una coorte di pazienti affetti da XLT.

Metodi. Sono stati valutati tutti i pazienti con fenotipo XLT. L'analisi di mutazione è stata condotta tramite PCR (Polymerase chain reaction), DHPLC (Denaturing High-Performance Liquid Chromatography) e sequenza diretta. L'espressione della proteina WASp nei linfociti e piastrine è stata effettuata con marcatura intracitoplasmatica seguita da analisi citofluorimetrica.

Risultati. Sono risultati eleggibili 19 pazienti. (età tra 2 e 56 anni, mediana 14 aa.); la mediana di osservazione dalla diagnosi è di 63 mesi (range 1-132). 17 pazienti (89%) presentano mutazioni missenso e 2 pazienti (11%) mutazioni di splicing. L'espressione della proteina è ridotta in 17 pazienti (89%) assente in 2 (11%). 3 pazienti sono stati diagnosticati in età adulta. 6 pazienti (31%) presentano solo piastrinopenia, 2 pazienti. (11%) piastrinopenia ed eczema, 1 paziente conta normale con microtrombociti. 6 pazienti (31%) sono stati splenectomizzati. 13 pazienti (68%) hanno avuto eventi infettivi lievi, 4 pazienti (21%) otiti ricorrenti, 1 paziente (5%) otomastoidite, 1 paziente (5%) otiti e broncopolmoniti, 1 paziente (5%) un episodio settico fungino. 1 paziente (5%) ha sviluppato vasculite. 1 paziente (5%) ha sviluppato un linfoma cutaneo. 1 paziente è deceduto per emorragia endocranica. 2 pazienti sono persi al follow up. Dei 16 pazienti valutabili, tutti hanno linfociti > 1.600/mm³ e cellule CD3⁺ tra 529 e 3.590/mm³; 5 pazienti (31%) hanno IgM inferiori alla norma, 9 pazienti (56%) presentano bassa risposta *in vitro* all'anti CD3. 2 pazienti (fratelli) con mutazioni missenso e proteina ridotta hanno presentato un progressivo decremento della quota di cellule CD3⁺ e uno ha sviluppato una sepsi. I 3 pazienti adulti presentano piastrinopenia lieve (2 pazienti), moderata (1 paziente), otiti (1 paziente) e linfoma cutaneo (1 paziente). Gli eventi maggiori (vasculite, sepsi, linfomi) si sono registrati durante il follow up.

Conclusioni. La maggioranza di pazienti XLT ha un fenotipo lieve/moderato. Eventi potenzialmente letali possono

riscontrarsi in pazienti. XLT rendendo il fenotipo non chiaramente distinguibile dalla WAS se non nell'età media di sviluppo di tali eventi. Non è stata evidenziata correlazione tra mutazioni, espressione della proteina e fenotipo clinico e immunologico. Il riscontro di pazienti adulti con mutazioni del gene WASP suggerisce di considerare sempre la diagnosi di XLT in presenza di piastrinopenia con microtrombociti.

C021

DIAGNOSI, TRATTAMENTO E MONITORAGGIO DEL DEFICIT DI ADENOSIN DEAMINASI: ESPERIENZA DI UN SINGOLO CENTRO

Porta F, Notarangelo LD, Baffelli R, Mazzolari E, Lanfranchi A

U.O. Oncoematologia Pediatrica e Trapianto di Midollo Osseo, Ospedale dei Bambini, Brescia, Italy

Introduzione. Il deficit di adenosin deaminasi (ADA) è un'immunodeficienza autosomica recessiva. ADA è un enzima che catalizza la conversione di Ado e dAdo in Ino e dIno. La mancanza di ADA causa l'accumulo di dAdo, che risulta essere tossico per i linfociti immaturi e non ne permette la maturazione. Il sistema immunitario risulta gravemente compromesso o completamente assente.

Metodi. Il nostro centro ha seguito 12 bambini affetti da deficit di ADA. La diagnosi è stata eseguita presso il nostro centro entro il 3° mese di vita mediante screening enzimatico e successivamente con un test molecolare rapido in DHPLC. 4 pazienti hanno ricevuto TMO, 3 da HLA-id familiare e 1 da HLA-id non correlato. In assenza di un donatore compatibile, 8 pazienti sono stati avviati alla terapia enzimatica sostitutiva con PEG-ADA. Tutti i pazienti sono costantemente monitorati per quantificare Ado e dAdo nei RBC e per i pazienti trapiantati anche la % di chimerismo nei linfociti T e B.

Risultati. 5 pazienti trattati con PEG-ADA, 3 da più di 10 anni, mostrano normali livelli di metaboliti: Ado 0.940 micromol/mL RBC (range 1.179±0.360), dAdo 0.004 micromol/mL RBC (0.004±0.001). I 2 pazienti più recenti, arrivati presso il nostro centro 5 mesi fa, hanno iniziato, subito dopo la diagnosi, il trattamento con PEG-ADA. I loro livelli di metaboliti sono nella norma: Ado 1.331, dAdo 0.004 micromol/mL. Il dosaggio di PEG-ADA viene modulato, oltre al peso, in base al livello dei metaboliti tossici. In un caso, nonostante la detossificazione, 1 bimba mostrava un basso numero di linfociti T e sotto terapia con PEG-ADA è deceduta in seguito a complicanze polmonari successive ad un'infezione da virus morbilloso. Quattro pazienti trapiantati hanno un follow up medio di 68 mesi. Questi mostrano normali livelli di Ado (1.064) e leggermente elevati di dAdo (0.036 micromol/mL RBC). La % di don varia tra 92.7-100% nei linf. T e 54.3-92.6% nei linf. B. I nostri dati mostrano che pazienti trattati con peg-ADA (follow up medio 111 mesi; range 4-134) sono più detossificati rispetto a quelli trapiantati, sebbene abbiano un n° medio di linf. T di 360/mmc (range 34-1570) e una funzionalità T testata attraverso la risposta alla PHA che varia tra 2000 e 28000 cpm (media 20000). Pazienti trapiantati hanno un numero medio di linfociti T di 1010/mmc (741-4115/mmc) con una risposta alla PHA che varia tra 24000 e 134000 cpm (media 55000).

Conclusioni. Diversi studi clinici dimostrano che la ricostituzione dei pazienti trapiantati è più lenta rispetto a quelli trattati con PEG-ADA. Il TMO, nonostante possa avere rischi relativi alla procedura, nella nostra casistica dimostra avere una ricostituzione più efficiente. Le opzioni terapeutiche, tut-

tavia, sono difforni tra paesi a diverso grado di sviluppo economico, infatti le nazioni. Inoltre risulta essere un approccio terapeutico economicamente più vantaggioso e quindi approcciabile per più pazienti e in paesi emergenti.

P066

MIELOFIBROSI CON METAPLASIA MIELOIDE AD ESORDIO PRECOCE

Zanazzo GA, Bua J

IRCCS materno infantile Burlo Garofolo Trieste, U.O. Oncematologia, Italy

Introduzione. La mielofibrosi con metaplasia mieloide (MMM) è una malattia mieloproliferativa cronica caratterizzata da marcata fibrosi midollare, presenza nel sangue periferico di elementi immaturi della linea granulocitaria ed eritroblastica e metaplasia mieloide a prevalenza epatosplenica. È più frequente nell'età anziana, molto rara nel giovane.

Metodi. Descriviamo il caso d'una ragazza di 13 anni con diagnosi di MMM.

Risultati. La paziente venne ricoverata in DH per severa piastrinosi e anemia microcitica con trait talassemico. All'anamnesi episodi di cefalea da alcuni anni. E.O: splenomegalia (+ 2 cm dall'arcata costale) con diametro massimo in ecografia di 16 cm. Emocromo: piastrine 2.440.000/mmc, Hb 10.3 gr%, MCV 55 fl, WBC 19.420/mmc, granulociti 12.500/mmc. HbA2 6.3%. Striscio periferico: piastrinosi con anisocitosi, anisopoichilocitosi delle emazie, presenza di mielo/metamielociti (4%). Laboratorio: LDH 881 U/l, INR 1.26, PTTR 1.57. Negativa la ricerca del trascritto di BCR/ABL. Aspirato midollare (al limite della punctio sicca): cellularità ++++, M/E 3.5, normale numero di megacariociti, note di displasia della serie eritroide e megacariocitaria. Negativa la ricerca di sideroblasti. Biopsia osteomidollare: cellularità aumentata (95%) sostenuta al 50% da megacariociti in cluster con forme megalocarioblastiche e atipiche; presenza di reticolo argentofilo marcatamente e diffusamente aumentato (Figura 1).

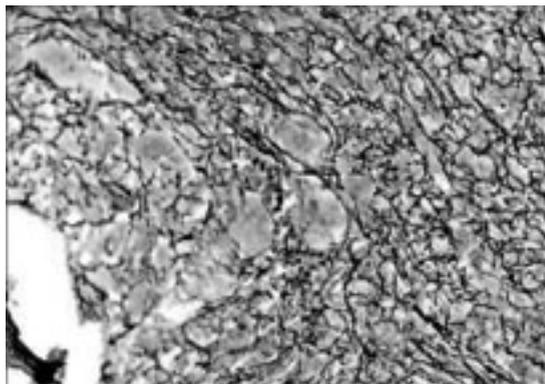


Figura 1.

Su questi reperti formalizzata diagnosi di MMM. CD34+ periferiche 104/microlitro, negativa la ricerca di mutazioni del gene JAK2. Terapia: fratello HLA non compatibile, non abbiamo ritenuto indicato un trapianto da MUD. Inizialmente somministrato ac. acetilsalicilico, poi sospeso per emorragia digestiva, quindi da 2 anni a tutt'oggi anagrelide giornaliera, preferita all'oncocarbone in considerazione della giovane età della paziente per il teorico minor effetto mutageno, alla dose sufficiente a mantenere le piastrine sotto il milione (attual-

mente 0.5 mg 2 volte al dì). Follow up: controllo trimestrale dell'emocromo (range delle piastrine da 747.000 a 1.448.000/mmc), annuale dell'aspirato midollare, non modificato rispetto alla diagnosi.

Conclusioni. la giovanissima età della paziente propone molti spunti di riflessione: è indicato il trapianto di CSE in malattia asintomatica e senza fattori di rischio per evoluzione in leucosi, emorragie, trombosi, infezioni? è necessario ridurre il numero delle piastrine? Se sì, con quale farmaco e quale il valore a cui mirare?

P067

SINDROME DI CHEDIAK-HIGASHI: UNA RARA DIAGNOSI DIFFERENZIALE NEI BAMBINI CON SINDROME EMOFAGOCITICA

Cetica V, Dufour C,¹ Caprino D,¹ Pende D,² Martini S,² Banov L,¹ Burlando O,¹ Casini T, Caselli D, Aricò M

Dipartimento Oncematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer, Firenze; ¹Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica Istituto G. Gaslini; ²Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova, Italy

La sindrome di Chediak-Higashi (CHS; OMIM 214500) è una rara malattia genetica in cui mutazioni del gene *lysosomal trafficking regulator* (*LYST*; 606897), che mappa nella banda 1q42.1-q42.2, causano un difettivo targeting alla membrana delle proteine, in particolare perforina, presenti nei granuli litici. Il quadro clinico è caratterizzato da: ipopigmentazione di capelli ed occhi (albinismo parziale), fotofobia, nistagmo, polimorfonucleati eosinofili di grandi dimensioni, presenza di inclusioni a carico dei precursori mieloidi, neutropenia, aumentata suscettibilità alle infezioni. In alcuni casi il paziente con CHS può andare incontro, specie a seguito di una infezione, ad un quadro di iperattivazione macrofagica ("fase accelerata") indistinguibile da quello della linfoistocitosi emofagocitica familiare (LEF), con cui entra in diagnosi differenziale. Di recente abbiamo analizzato una bambina libica, con capelli grigi e colorito chiaro per l'etnia, che a 3 anni di vita ha presentato un'iperattivazione macrofagica con febbre, splenomegalia, insufficienza epatica, iperferritinemia, pancitopenia emofagocitica midollare ed inclusi granulocitari azzurrofilo. Nel sospetto di fase accelerata di CHS è stato iniziato trattamento con desametasone, VP16 e CsA (protocollo HLH-2004) cui la paziente ha risposto. Abbiamo analizzato la funzionalità dei linfociti natural killer (NK) dimostrando un chiaro deficit di citotossicità, sia in test di rilascio del cromo con target quali linee B-EBV, sia in test di degranulazione con il metodo citofluorimetrico di espressione del CD107a dopo cocultura con K562. L'espressione di perforina in colorazione intracitoplasmatica al citofluorimetro appariva positiva anche se più debole rispetto a controlli sani; al confocale apparivano abnormi granuli allargati in ogni cellula analizzata. L'analisi di mutazioni del gene *LYST* ha documentato la presenza di una nuova mutazione, 1897A>T (K633X), allo stato omozigote. Lo studio dei genitori ha permesso di confermare la presenza in entrambi della medesima mutazione allo stato eterozigote. Il dato è compatibile con la loro consanguineità peraltro nota. Lo studio funzionale e genetico della sorellina asintomatica, escludendo che ella sia affetta, ha permesso di sceglierla come donatore per il TCSE, unica procedura che ha il potenziale di guarire la bambina.

P068**DIAGNOSI PRENATALE DI LINFOISTIOCITOSI EMOFAGOCITICA FAMILIARE: ESPERIENZA ITALIANA**

Cetica V, Cannella S,² Santoro A,⁴ Cariati E,¹ Damiani F,⁵
De Fusco C,³ Micalizzi C,⁶ Aricò M

Dipartimento Oncoematologia Pediatrica e Cure Domiciliari, ¹Difetti Congeniti, Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer, Firenze; ²Oncoematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini, ARNAS Civico, Palermo; ³Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Pausilipon, Napoli; ⁴Divisione di Ematologia I e ⁵Servizio di Diagnosi Prenatale, U.O. Ginecologia, A.O. V.Cervello, Palermo; ⁶Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica IRCCS G.Gaslini, Genova, Italy

La Linfoistiocitosi Emofagocitica Familiare (LEF) è una malattia rara, caratterizzata da febbre persistente, epatosplenomegalia, citopenia; talora si osservano anche linfoadenomegalia, rash cutaneo, alterazioni nervose. La LEF non trattata è rapidamente fatale, con una mediana di sopravvivenza di circa due mesi. L'uso di chemio-immunoterapia permette di ottenere il controllo della malattia ed avviare il paziente al TCSE, unica procedura con possibilità di guarigione completa. La LEF origina da un difetto di linfocitotossicità di cellule T e NK. Mutazioni di geni quali PRF1, Munc13-4, STX11 causano un difetto delle rispettive proteine, implicate nella linfocitotossicità. Poiché la malattia colpisce solitamente bambini piccoli, è frequente che i genitori siano in età fertile. La identificazione del marcatore apre dunque la possibilità di eseguire una diagnosi prenatale nelle coppie a rischio. Abbiamo eseguito diagnosi prenatale su villi coriali in 5 gravidanze a rischio per FHL2 o FHL3. Le mutazioni implicate erano le seguenti: PRF1: del50T, 283delK W374X e W454X; Munc13-4: M204V, Q884X, 1076fsX. In tutti i casi, per escludere la possibilità di contaminazione materna del campione, sono stati analizzati il DNA materno ed il DNA dei villi mediante PCR ed analisi di 15 microsatelliti (Identifiler–Applied Biosystem). Lo studio ha mostrato l'assenza di contaminazione materna dei villi. L'analisi ha mostrato che in due casi il feto era geneticamente affetto, ed i genitori hanno deciso di interrompere la gravidanza. In tre casi il feto era non affetto, e la gravidanza è stata condotta a termine; l'analisi del sangue neonatale ha confermato il risultato della diagnosi prenatale. Inoltre, una ulteriore coppia ci ha richiesto la diagnosi prenatale; poiché il loro bambino affetto era deceduto in epoca pre-diagnosi genetica, abbiamo eseguito uno studio dei genitori che ha permesso la identificazione della mutazione familiare di Munc13-4. La diagnosi prenatale è in corso. In conclusione, la diagnosi prenatale di LEF è oggi fattibile con le metodiche utilizzate abitualmente. In alcuni casi l'analisi dei genitori consente la diagnosi genetica retrospettiva di pazienti per cui non sia disponibile materiale diagnostico, offrendo quindi la possibilità di adire alla diagnosi prenatale.

P069**REGISTRO ITALIANO TROMBOSI INFANTILI (RITI)**

Giordano P ed il Gruppo per il Registro Italiano delle Trombosi Infantili

Neuropsichiatria Infantile, OIRM-S.Anna, Torino; Pediatria Neonatale AOUS, Siena; Neurologia, Torino; Gastroenterologia Pediatrica, Pediatria di Padova; Società Italiana di Pediatria; Oncoematologia, Ospedale di Bergamo; Neuropsichiatria Infantile, Padova; Terapia Intensiva Pediatrica, Padova; Oncoematologia pediatrica, Università di Bari; Neurologia Pediatrica, Padova; Neuropsichiatria Infantile, Policlinico A. Gemelli, Roma; Neonatologia, Ospedale Evangelico Villa Betania, Napoli; Emato Oncologia, IRCCS Giannina Gaslini, Genova; Unità di Trombosi e Emostasi, ORIM-S. Anna, Torino; Pediatria d'urgenza, IRCCS Giannina Gaslini, Genova; Neonatologia, Siena; Neonatologia, Napoli; Pediatria, Ospedale San Carlo, Milano; Neonatologia, Osp. Maggiore, Mangiagalli, Milano; Clinica Pediatrica, Policlinico San Matteo, Pavia Ematologia Pediatrica, OIRM S.Anna, Torino; Clinica Medica II, Padova; Neurofisiologia Pediatrica, Pediatria, Padova, Italy

Ipotesi. La patologia tromboembolica in neonatologia ed in pediatria non è molto frequente, tuttavia è gravata da un'elevata morbilità e mortalità. I fattori di rischio, le manifestazioni cliniche e la prognosi sono correlate con l'età del bambino. Diversi gruppi di studio nazionali ed internazionali stanno concentrando, di recente, la loro attenzione sulle trombosi pediatriche ed in particolare sullo stroke, ma la ricerca in questo campo è appena agli albori. Dal momento che non è stato elaborato alcuno studio controllato-randomizzato (tranne che nei pazienti con anemia falciforme), i protocolli per il trattamento delle trombosi pediatriche sono stati realizzati basandosi sui risultati di studi eseguiti nell'adulto, sebbene essi non siano correttamente applicabili per le note differenze maturative dei processi coagulativi e vascolari. La carenza di letteratura scientifica è in parte imputabile alle difficoltà etiche e pratiche di effettuare ricerche nel bambino ed in parte all'assenza dei dati epidemiologici sulla trombosi. Questi dati sono importanti per classificare nei vari sottogruppi i pazienti pediatrici con trombosi, per definire gli obiettivi da raggiungere e per sviluppare linee guida di trattamento.

Obiettivo primario. Registrare il maggior numero dei casi italiani (ipoteticamente tutti) di eventi tromboembolici in età pediatrica (0-18 anni) per definire l'epidemiologia, per perfezionare gli approcci diagnostico-terapeutici, per intensificare la conoscenza e la ricerca sulla malattia tromboembolica tra i pediatri italiani. *Progetto.* Registro nazionale on-line. *Durata.* Illimitata *Numero dei centri già coinvolti o da coinvolgere:* 11 (aperto anche ad altri) *Criteri di inclusione.* Pazienti di età compresa tra 0 e 18 anni con patologia trombo embolica sistemica e/o cerebrale, diagnosticati in Italia dal 1 gennaio 2007.

Dati clinici raccolti. Data di nascita, razza, età all'esordio dell'evento, tipologia di evento trombotico (1: trombosi arteriosa cerebrale; 2: trombosi venosa cerebrale; 3: trombosi arteriosa sistemica; 5: embolia polmonare; 6: trombosi coronarica e cardiaca), localizzazione della trombosi, manifestazioni cliniche, tests diagnostici radiologici e di laboratorio, screening per la trombofilia, fattori di rischio, terapia, outcome. Il medico referente invierà i dati raccolti al follow-up form a: 3-6-12-24-36 mesi dall'esordio.

Outcome primari. Morte, recidiva, outcome neurologico (PSOM scale) e sistemico

Outcome secondari. Qualità di vita, attività quotidiane, numero di accessi ospedalieri e di procedure effettuate per seguire l'evoluzione della malattia.

Analisi statistiche e campione. 1000 pazienti, l'analisi statistica sarà stabilita ad un anno dall'avvio del registro.

P070

APPLICAZIONE DELLE RACCOMANDAZIONI AIEOP PER LA SINDROME DI WISKOTT-ALDRICH E LA PIASTRINOPENIA X-RECESSIVA (WAS/XLT): CARATTERISTICHE CLINICHE ED IMMUNOLOGICHE DI 65 PAZIENTI CON WAS/XLT

Soresina A, Mazzolari E, Notarangelo LD, Ventura A, Locatelli F, Dufour C, Galanello R, Zanesco L, Izzi G, De Mattia D, Azzari C, Cornelli PE, Ricci A, Rossi P, Porta F, Mazza C, Moratto D, Giliani S, Rondelli R, Pession A, Ugazio AG, Plebani A, Notarangelo LD

Per il Comitato Strategico e di Studio Immunodeficienze (CSS ID) AIEOP, Italy

A marzo 2004 è iniziato l'arruolamento dei pazienti con sindrome di Wiskott Aldrich (WAS) e piastrinopenia X-recessiva (XLT) nelle Raccomandazioni WAS-XLT AIEOP attraverso la centralizzazione dei dati nella Banca Dati specifica web-based. A dicembre 2007 risultano arruolati 65 pazienti, per i quali è stata eseguita l'analisi di mutazione del gene WASP e l'espressione della proteina WASP presso il Laboratorio centralizzato di Brescia. I criteri di inclusione previsti dal protocollo diagnostico, cioè numero piastrine $< 100.000/\text{mm}^3$ e volume piastrinico $< 6 \text{ fL}$, sono risultati avere una sensibilità del 99%: la mediana del numero di piastrine è $30.000/\text{mm}^3$ e la mediana del volume piastrinico è $5,1 \text{ fL}$. Sulla base del tipo di mutazione, dell'espressione della proteina WASP e del fenotipo clinico abbiamo distinto 45 pazienti con WAS e 20 con XLT: l'età mediana alla diagnosi risulta essere 7,5 mesi per i soggetti con WAS e 52 mesi per i soggetti con XLT. Tra i sintomi di esordio le infezioni più frequenti sono risultate le otiti (39% nei soggetti WAS e 59% negli XLT), quindi le polmoniti e le sepsi, segnalate solo nei pazienti WAS. Gli accertamenti immunologici hanno mostrato valori di linfociti B e T periferici alla diagnosi sovrapponibili nei pazienti WAS e XLT. Al follow-up abbiamo osservato un peggioramento progressivo della linfocitopenia con l'aumentare dell'età, in particolare dei linfociti CD8^+ , sia negli WAS che negli XLT. Inoltre, al follow-up i livelli di IgM sieriche dei pazienti WAS sono risultati più bassi rispetto a quelli dei pazienti XLT: la mediana è di 15 mg/dL per gli WAS e di 40 mg/dL per gli XLT. A dicembre 2007 la sopravvivenza a 15 anni è del 98,8% per gli XLT e del 72% per gli WAS. La nostra coorte di WAS/XLT rappresenta una delle casistiche nazionali più numerose ed il primo studio prospettico che permetterà di meglio conoscere la storia naturale e le alterazioni immunologiche di pazienti con WAS e XLT e rivalutare l'efficacia delle diverse strategie terapeutiche.

P071

TERAPIA GENICA DELLA BETA-TALASSEMIA: ANALISI DI EFFICACIA TERAPEUTICA IN MODELLI PRE-CLINICI

Roselli E,¹ Miccio A,¹ Rossi C,¹ Tiboni F,¹ Markt S,² Biral E,² Sanvito F,³ Ponzoni M,³ Andreani M,⁴ Lucarelli G,⁴ Ferrari G¹

¹Istituto Telethon per la Terapia Genica, HSR-TIGET; ²Unità di Ricerca Clinica Pediatrica, HSR-TIGET; ³Unità di Anatomia Patologica, IRCCS H.S.Raffaele, Milano; ⁴Fondazione IME, Policlinico Tor Vergata, Roma, Italy

Introduzione e obiettivi. Le talassemie rappresentano globalmente il gruppo di malattie monogeniche più frequente al mondo. I pazienti colpiti dalla forma più grave di beta-talassemia sono caratterizzati da uno stato di grave anemia che, in assenza di adeguato trattamento (regolari trasfusioni di sangue e terapia chelante), porta a morte precoce. Il trapianto di midollo allogenico rappresenta ad oggi l'unica cura definitiva, anche se limitato ai pazienti con donatori compatibili, che rappresentano meno del 30%. Un approccio di terapia genica basato sul trapianto di cellule staminali emopoietiche (CSE) autologhe, geneticamente modificate, rappresenterebbe quindi una importante alternativa terapeutica. Lo scopo di questo progetto è dimostrare l'efficacia e la sicurezza di un approccio di terapia genica per la cura della beta-talassemia mediato da vettori lentivirali.

Metodi. Abbiamo sviluppato vettori lentivirali per l'espressione regolata del gene della beta-globina umana. L'attività di tali vettori è stata saggiata nel modello preclinico murino di talassemia. I topi talassemici sono stati trapiantati con CSE tradotte con un vettore lentivirale per la beta-globina ed analizzati a diversi tempi dal trapianto per valutare la correzione del fenotipo. Per quanto riguarda le cellule umane, abbiamo sviluppato sistemi di colture eritroblastiche a partire dalle cellule CD34^+ midollari dei pazienti talassemici, per valutare il ripristino della sintesi di emoglobina derivata dal vettore in seguito a traduzione.

Risultati e conclusioni. Il trapianto di CSE tradotte con un vettore lentivirale esprime beta-globina in topi talassemici a portato alla correzione stabile e a lungo termine del fenotipo talassemico, ed alla correzione della patologia degli organi secondari (milza e fegato). Abbiamo inoltre dimostrato che le cellule geneticamente modificate vengono selezionate *in vivo*, permettendo la correzione dell'anemia anche a moderati livelli di attecchimento di CSE tradotte. Risultati preliminari sulle cellule dei pazienti indicano un efficiente livello di traduzione e l'espressione di emoglobina a livelli comparabili ai controlli normali. L'insieme di questi risultati costituisce il razionale per un futuro approccio di terapia genica della talassemia.

P072

TROMBOFILIA ED EPILESSIA FOCALE CRIPTOGENETICA NEI BAMBINI E NEI GIOVANI ADULTI

Pansini V, Luciani M, Prischich F,¹ Coletti V, Funaro D, Soldati M, De Rossi G

Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Divisione di Ematologia e Laboratorio Analisi; ¹Ospedale Sant'Andrea, Roma, Divisione di Neurologia, Italy

La patogenesi dell'epilessia è frequentemente multifattoriale e la precisa causa è spesso impossibile da trovare. Il ricorso a sofisticate indagini neurodiagnostiche, prima tra tutte l'angio RMN cerebrale, ha determinato la riduzione della per-

centuale di epilessia ad eziologia sconosciuta. Tra i casi classificati come idiopatici (29.3% Jallon *et al.* 1997) è possibile ipotizzare una patogenesi trombotica non diagnosticabile mediante neuroimmagini. L'obiettivo di questo studio è dimostrare la possibile correlazione tra specifici fattori di rischio protrombotico (trombofilia) e l'insorgenza di epilessia focale. Sono stati studiati 48 pazienti (32 maschi, 16 femmine) di età compresa tra 1 e 32 anni, età media di 11.5 anni, affetti da epilessia focale nei quali era stato possibile escludere una qualsiasi forma di epilessia idiomatica focale. L'iter diagnostico prevedeva una prima fase caratterizzata da raccolta anamnestica, esame obiettivo, EEG di veglia e/o sonno, esami neuro-radiologici. In una seconda fase i pazienti con diagnosi di epilessia parziale criptogenica venivano sottoposti ad uno screening emocoagulativo. 15 pazienti (12 maschi, 3 femmine) presentavano livelli aumentati di fattore VIII (>120%) range 123-226, mediana 159; 10 pazienti (8 maschi, 2 femmine) presentavano iperomocisteinemia (15>mmol/L) range 15.9-47.3, mediana 24.5. 1 paziente (F) aveva proteina S<50% (37%). Un solo paziente presentava una mutazione in eterozigosi del fattore V Leiden ed un altro paziente una mutazione in eterozigosi del fattore II protrombinico. Non sono emerse correlazioni significative relative agli altri parametri studiati. Questo studio evidenzia in questa coorte di pazienti una minore incidenza di fattore V Leiden ed una più alta incidenza di livelli aumentati di fattore VIII e di omocisteina in confronto alla popolazione generale (11% e 5% rispettivamente). Inoltre, complessivamente, la popolazione studiata mostra un'aumentata frequenza di alterazioni trombofiliche rispetto alla popolazione generale che merita ulteriori approfondimenti.

P073

OUTCOME DEI PAZIENTI CON SOSPETTA DIAGNOSI INIZIALE DI IPOGAMMAGLOBULINEMIA TRANSITORIA DELL'INFANZIA

Moschese V,¹ Graziani S,¹ Chini L,¹ La Rocca M,¹ Pignata C,² Soresina AR,³ Consolini R,⁴ Trizzino A,⁵ Martino S,⁶ Bossi G,⁷ Putti MC,⁸ Bertolini P,⁹ Pietrogrande MC,¹⁰ Zecca M,⁷ Marseglia GL,¹¹ Cardinale F,¹² Rossi P,¹³ Plebani A^{3*} per il CSS-ID/AIEOP

*Coordinatore del CSS-ID/AIEOP-IPINET. ¹Centro Interdisciplinare di Pediatria Specialistica, Allergologia ed Immunologia, Policlinico Tor Vergata, Università di Tor Vergata, Roma; ²Unità Specialistica di Immunologia, Dipartimento di Pediatria, Università degli Studi di Napoli; ³Clinica Pediatrica, Spedali Civili, Brescia; ⁴Clinica Pediatrica, Università di Pisa; ⁵Oncoematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, Palermo; ⁶Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino; ⁷Clinica Pediatrica, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; ⁸Clinica Oncoematologica Pediatrica, Università di Padova; ⁹Oncoematologia Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Azienda Ospedaliera di Parma; ¹⁰Clinica Pediatrica II, Università di Milano; ¹¹Dipartimento di Scienze Pediatriche, Università di Pavia; ¹²Clinica Pediatrica III, Università di Bari; ¹³Ospedale Pediatrico Bambin Gesù, Roma, Italy

Introduzione e obiettivi. L'ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia (THI) è un disordine immunologico, caratterizzato da bassi valori di IgG, che interessa il bambino dopo il sesto mese di vita quando si assiste alla graduale riduzione degli anticorpi materni trasmessi per via transplacentare. La THI viene inizialmente sospettata dopo l'esclusione di tutte le altre possibili cause di ipogammaglobulinemia e può essere confermata solo a posteriori quando si assiste alla norma-

lizzazione dei valori di IgG. Nel 2003, nell'ambito del Comitato Strategico e di Studio per le Immunodeficienze dell'AIEOP, è stato istituito un protocollo diagnostico e terapeutico per la THI al fine di meglio definire questa immunodeficienza e la sua storia naturale.

Metodi. Nell'ambito del protocollo, fino ad oggi, sono stati arruolati 93 pazienti (61 maschi e 32 femmine) di età compresa tra 12 e 36 mesi che rispondevano ai seguenti criteri: a) livelli di IgG e IgA e/o IgM inferiori alle 2 deviazioni standard rispetto ai valori normali previsti per l'età; b) linfociti B circolanti >2%; c) esclusione di altre cause di ipogammaglobulinemia.

Risultati. A distanza di 3 anni dalla diagnosi iniziale di sospetta THI dalle schede di follow-up, ottenute per 71 pazienti (71/93; 76%), è emerso che in 62/71 (87%) pazienti i valori di IgG si erano normalizzati confermando quindi la diagnosi di Ipogammaglobulinemia Transitoria dell'Infanzia. In particolare 50/71 (70%) presentavano valori normali di tutti gli isotipi di immunoglobuline (Ig) mentre in 12/71 (17%) persisteva un difetto isolato o combinato di IgA. Diversamente, 9/71 (13%) pazienti mostravano ancora bassi valori di IgG. In particolare, in 5 (5/71; 7%) bambini è stata effettuata diagnosi di immunodeficienza comune variabile (CVID) mentre i restanti 4 (4/71; 5%) non rispondevano ai criteri della THI, della CVID o di altre forme note di immunodeficienze primitive (IDP).

Conclusioni. L'attento monitoraggio dei pazienti con diagnosi iniziale di sospetta THI è fondamentale per discriminare le forme realmente transitorie con decorso clinico favorevole da quelle in cui si ha una persistente ipogammaglobulinemia. Il riconoscimento precoce di questi ultimi può infatti contribuire a far luce sulla storia naturale di nuove e sconosciute IDP che, attualmente, definiamo come non-THI e non-CVID in attesa di una più precisa caratterizzazione.

P074

RISPOSTA ANTICORPALE SPECIFICA ALLA VACCINAZIONE ANTI-MORBILLO IN BAMBINI CON IPOGAMMAGLOBULINEMIA TRANSITORIA DELL'INFANZIA

Moschese V,¹ D'Agostini C,² La Rocca M,¹ Graziani S,¹ Chini L,¹ Iuvara A,³ Castaldi C,³ Soresina AR,⁴ Consolini R,⁵ Trizzino A,⁶ Bossi G,⁷ Cardinale F,⁸ Plebani A,⁴ (nell'ambito dello studio dell'Ipogammaglobulinemia Transitoria dell'Infanzia per il CSSID- AIEOP-IPINET)

¹Dipartimento di Pediatria, Unità di Allergologia ed Immunologia, Policlinico Tor Vergata, Università di Tor Vergata, Roma; ²Dipartimento di Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Policlinico Tor Vergata, Università di Tor Vergata, Roma; ³Laboratorio di Microbiologia Clinica, Policlinico Tor Vergata, Roma; ⁴Dipartimento di Pediatria, Spedali Civili, Brescia; ⁵Clinica Pediatrica III, Università di Pisa; ⁶Dipartimento di Oncoematologia Paediatrica, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, Palermo; ⁷Dipartimento di Pediatria, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; ⁸Clinica Pediatrica III, Università di Bari, Italy

Introduzione e obiettivi. L'ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia (THI) è un'immunodeficienza (ID) umorale caratterizzata da un ritardo nella sintesi delle IgG. La diagnosi di THI viene posta a posteriori con la normalizzazione dei valori di IgG. La prognosi è generalmente favorevole, sebbene alcuni bambini con diagnosi iniziale di THI possano sviluppare disammaglobulinemie. Ai fini della diagnosi delle ID umorali, è importante la valutazione funzionale della risposta anticorpale. Una ridotta risposta anticorpale specifica ai vaccini

polipeptidici e polisaccaridici è stata talora osservata transitoriamente in alcuni pazienti. Non vi sono invece informazioni sufficienti sulla risposta anticorpale antivirale e i dosaggi anticorpali specifici non vengono comunemente effettuati nei bambini con THI. L'obiettivo del presente studio è stato quello di analizzare la produzione post-vaccinale antimorbillo nei bambini con diagnosi iniziale di THI al fine di valutare la risposta antivirale specifica.

Metodi. Il dosaggio anticorpale specifico, dopo vaccinazione anti-morbillo, è stato eseguito in 22 bambini (età media 33 mesi) con diagnosi iniziale di THI ed in 25 controlli sani di pari età. La diagnosi iniziale di THI è stata formulata sulla base dei seguenti criteri: a) valori di IgG inferiori alle 2 deviazioni standard per l'età e IgA e/o IgM; b) linfociti B circolanti > 2%; c) esclusione di altre cause di ipogammaglobulinemia.

Risultati. L'analisi dei valori anticorpali antimorbillo non ha evidenziato differenze significative nella frequenza della sierconversione tra i bambini con THI ed i controlli (100% in entrambi i gruppi). Tuttavia, il titolo anticorpale specifico antimorbillo è risultato significativamente più basso nei bambini con THI (mediana: 4,085 mg/dL) rispetto ai controlli (mediana: 8,24 mg/dL) ($p < 0.001$). Infine, nei 3 anni di follow-up non sono state segnalate reazioni avverse alla vaccinazione antimorbillo in entrambi i gruppi.

Conclusioni. I nostri dati preliminari indicano che i bambini con diagnosi iniziale di THI hanno una risposta anticorpale post-vaccinale antimorbillo, sebbene i livelli di IgG specifici risultino inferiori rispetto a quelli dei controlli. Il monitoraggio dei titoli anticorpali antimorbillo e l'estensione ad una più ampia casistica fornirà ulteriori indicazioni sulla opportunità di attuare calendari vaccinali specifici per alcune categorie di pazienti affetti da immunodeficienza umorale, i.e. i pazienti con THI.

P075

TRATTAMENTO CON ANAGRELIDE IN UN PAZIENTE PEDIATRICO AFFETTO DA TROMBOCITOSI EREDITARIA ASSOCIATA A DIFETTI TRASVERSALI DEGLI ARTI

Marino F, Seri M,¹ Graziano C,¹ Facchini E, Cantarini ME, Paone G, Pession A

Oncoematologia Pediatrica e Terapia Cellulare, Università degli Studi di Bologna; ¹UO e Cattedra di Genetica Medica, Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna, Italy

Introduzione e obiettivi. La trombocitosi ereditaria (HT) è una condizione geneticamente eterogenea, dovuta nel 20% dei casi, a mutazioni del gene della trombopoietina (TPO) e del suo recettore (MPL). Le 4 mutazioni di TPO sinora descritte presentano trasmissione AD a penetranza completa e inducono iperproduzione di TPO mediante un meccanismo di derepressione traduzionale. L'unica mutazione descritta di MPL (S505N) nelle HT, a trasmissione AD, induce trombocitosi mediante un'attivazione costitutiva del recettore. Mentre è ben nota l'associazione tra difetti degli arti e trombocitopenia (TAR, Fanconi), è stato descritto un unico caso di anomalie scheletriche e trombocitosi. Data la rarità della patologia, non esistono linee guida pediatriche per il trattamento di tali forme. Riportiamo il caso di un paziente pediatrico affetto da HT con difetti scheletrici, trattato con anagrelide (AA). **Metodi e Risultati.** M, 8 mesi, amputazione congenita dell'avampiede destro, giunge alla nostra osservazione per piastrinosi persistente (Plt superiori a $2.000 \times 10^9/L$). Il padre, portatore di difetti scheletrici congeniti (assenza di avambraccio, mano e piede destro) e il nonno, sono affetti da trombocitosi priva di

complicanze vascolari. Nel nostro paziente l'agobiopsia midollare ha evidenziato iperplasia megacariocitaria, assenza di t(9;22) e della mutazione V1617F su JAK2, e normalità del cariotipo. Lo screening per trombofilia è risultato negativo. Data la familiarità, si è effettuato sequenziamento diretto di TPO tramite PCR. Nel paziente e nei familiari con trombocitosi è stata individuata una mutazione (G185T) a livello dell'esone 2 (5'UTR) di TPO già descritta in una famiglia giapponese. Il paziente ha eseguito terapia con ASA a basso dosaggio senza mai presentare complicanze vascolari eccetto rari episodi di epistassi. In seguito a piastrinosi ingravescente (Plt superiori a $3.000 \times 10^9/L$) è stata intrapresa terapia citoriduttiva con AA a dosi crescenti (max 2.5 mg/die) con ottima tolleranza e rapido calo dei valori delle piastrine.

Conclusioni. HT è una patologia rara, gravata da scarse complicanze vascolari e assente trasformazione leucemica. La terapia citoriduttiva nei pazienti pediatrici asintomatici è controversa. Nel nostro caso, la scelta di intraprendere terapia con AA è stata dettata dalla presenza di piastrinosi ingravescente associata a difetti scheletrici congeniti per i quali si può ipotizzare, seppur non escludendo la concomitanza di altre cause genetiche e/o ambientali, un ruolo della trombocitosi quale fattore di rischio per necrosi focali in epoca prenatale.

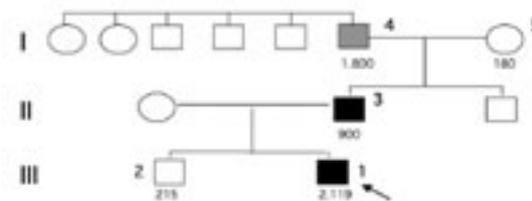


Figura 1. Albero genealogico I4, II3, III1 sono i membri della famiglia affetti da HT. II3, III1 rappresentano i membri della famiglia con alterazioni scheletriche HT. Il n. posto al di sotto dei simboli indica la conta piastrinica $\times 10^9/L$ al momento della diagnosi.

P076

SICKLE CELL DISEASE ED ACCIDENTI CEREBROVASCOLARI: DIMENSIONE DEL PROBLEMA E PREVENZIONE PRIMARIA/SECONDARIA DELLO STROKE

Giraldi E, Provenzi M, Cavalleri L, Morali L, Corsari B,¹ Agostinis C,² Quarti P, Codazzi D,³ Foglia C, Ravasio E, Cornelli P, Locatelli F,⁴ Torre G

Dipartimento Scienze Pediatriche, ¹Neurologia, ²Neuroradiologia, ³Terapia Intensiva Pediatrica, Ospedali Riuniti, Bergamo; ⁴Centro Trapianto di Midollo Osseo, Pediatria, Policlinico San Matteo, Pavia, Italy

Introduzione. Lo stroke (SK), più frequentemente di tipo ischemico, rappresenta la maggiore complicanza invalidante ed, insieme alla sindrome polmonare acuta, una significativa causa di morte precoce (10%) per i bambini affetti da sickle cell disease (SCD). La sua I cumulativa è dell'11% entro i 20 anni (picco 2-9 a) con un rischio di ricorrenza superiore al 60%. In SCD vi è un ampio spettro di accidenti cerebrovascolari (AC) tra cui più frequenti sono gli infarti cerebrali "silenti" (IS), subclinici ma ad elevato rischio - fino al 38% - di divenire più estesi e/o sintomatici, spesso responsabili di deterioramento neurocognitivo. Il rischio complessivo di AC supera il 30%. Oltre che su base clinica, il rischio di SK è determinabile tramite angio-RMN ed Ecodoppler transcranico (TCD), ad

elevato valore predittivo. Di dimostrata efficacia per la prevenzione sia primaria che secondaria di SK è la politica trasfusionale (TR), in grado di ridurre rispettivamente dell'80% e del 40% il rischio di primo e successivo SK. Incoraggianti risultati sono segnalati anche con l'idrossiurea (IDR).

Pazienti. Tabella 1.

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti e risultati.

Pz nome	SEX	Età anni	Età Diag (anni)	Clinica Diagnosi + Decorso	Fattori Rischio TCD	Età IC (anni)	IC	Terapia/profil prim (PP) e sec (PS)	Evoluzione/Sequela	FU
1 M.B.	M	11	1	Crisi Emolisi acute	Aum. PLT Aum. GB HbF<13% TCD NE A.RMN NE	5	Stroke Emisfero DX + Trombosi a. carotide int. dx	Trasfusioni Allo-HSCT	Emiparesi Epilessia A.RMN Gliosi	5.5 anni
2 A.G.	F	14	10	Scarsa crescita + Crisi Emolisi acute	Aum. Reticol HbF<13% TCD pat. A-RMN IS	12	Stroke Temporoparietale Dx	Trasfusioni Idrossiurea dopo Alloimmuniz	Deficit Scolastico + Peggioramento RMN/TCD subclinico	2 anni
3 L.P.	M	14	1	Crisi Emolisi acute	Aum. PLT Aum. Reticol HbF<13% TCD pat.	10	IS 2 lesioni frontali	Idrossiurea	Peggioramento subclinico A-RMN + TCD intermedia	4 anni
4 A.B.	M	14	5	Crisi Emolisi Acute + Sequestro splenico	Familiarità Aum. PLT Aum. Reticol HbF<13% Hb<7.5 g/dL TCD pat	8	IS sostanza bianca centro-lobare centrale sn + sottocorticofrontale dx	Trasfusioni Idrossiurea	Evoluzione A-RMN gliotico-malacica + TCD normale	6 anni
5 M.P.	M	15	1	Anemia Scarsa crescita + Crisi dolorose Cefalea	Aum. Reticol HbF<13% Hb<7.5 g/dL TCD pat	14	IS Leucopatia area trigonale bilaterale	Idrossiurea	Stazionario	1 anno

TCD pat: Ecodoppler transcranico patologico (velocità media di flusso superiore a 200 cm/sec); IC: ischemia cerebrale; IS: Infarti silenti; PP: Profilassi primaria; PS: Profilassi secondaria; A-RMN: angio-RMN.

Su 29 SCD (14F/15M, età media 10.3 a) si sono osservati 5 AC ischemici (2 SK, 3 IS) in 1F e 4M (età 5-14 a). Per A.B. familiarità per SK. Non altri fattori di rischio clinici, solo alcuni laboratoristici. In 4 su 5 pz TCD eseguita e patologica. In A.G. pregresso IS trattato. M.B. all'esordio zoppia da emiplegia falciante gamba sn seguita da cefalea, disartria, disfagia, plegia braccio sn ed episodio critico generalizzato. In A.G. convulsioni generalizzate in corso di osteomielite acuta. IS evidenziati da screening in pz con lievi deficit scolastici

Terapia e risultati. Stroke. ripetute exsanguinotrasfusioni, antiaggreganti/coagulanti, Carbamazepina.

Profilassi secondaria. In M.B. TR e, dopo 17 mesi, alloCBT familiare: chimerismo completo del donatore a 50 mesi. In A.G., per alloimmunizzazione, IDR ed apertura ricerca MUD.

Profilassi primaria. In tutti IS IDR, associata a TR in 1 pz. Sono tutti vivi, senza sequela invalidanti e sviluppo o ricorrenza di SK a distanza di 3.7 a (range 1-6) dall'evento. Esiti: in M.B. lieve emiparesi ed epilessia parziale complessa ben controllata; negli altri modesti deficit apprendimento scolastico. In A.G. ed L.P dopo rispettivamente 2 e 4 anni di IDR peggioramento subclinico di A-RMN e TCD per cui inizio TR.

Conclusioni. Come nelle altre esperienze gli AC sono stati di natura ischemica ed in pz di giovane età (sotto i 15 anni). In nessuno, tranne 1 con familiarità, erano individuabili fattori di

rischio clinici specifici per SK. In tutti, però, TCD patologica. Si conferma la validità di un attento programma di screening e di monitoraggio degli AC con A-RMN e TCD e dell'efficacia del piano di prevenzione primaria e secondaria di SK. In 2 pz in IDR l'evoluzione peggiorativa di RMN e TCD ha condotto verso la TR, unica arma dimostratamente efficace anche se non sicuramente protettiva. Per tutti i SCD con AC rimane, comunque, l'indicazione ad alloHSCT quale unica terapia risolutiva.

P077

PTI IN ETÀ PEDIATRICA: CASISTICA DI SINGOLO CENTRO

Rivetti E, Parodi E, Quarello P, Renga D, Vallero S, Farinasso L

Divisione di Ematologia, Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza, Torino, Italy

Introduzione e obiettivi. La PTI in età pediatrica presenta nella maggior parte dei casi decorso autolimitantesi, con risoluzione entro 6 mesi dalla diagnosi (PTI acuta). Età alla diagnosi > di 10 anni, sesso femminile e PLTs all'esordio >20.000/mmc, si associano ad aumentato rischio di cronicizzazione. Obiettivo dello studio è stato quello di valutare: l'evoluzione della malattia e la relazione con i trattamenti effettuati e la presenza d'eventuali fattori predittivi di cronicizzazione.

Metodi. Abbiamo valutato i pazienti inviati consecutivamente per piastrinopenia dal 01/01/1999 al 31/12/2007 presso la nostra Divisione.

Risultati. Sono risultati valutabili 225 bambini (115:M, 110:F); età mediana alla diagnosi: 64 mesi (range: 7 mesi-18 anni). Nessuno dei pazienti è andato incontro a fenomeni emorragici gravi. Trattamento: 125/159 pazienti trattati (78,6%) hanno presentato un incremento di piastrine durante il follow up superiore a 50.000/mmc ad una mediana di 3 giorni (range 1-11). Tabella 1.

Tabella 1.

Terapia effettuata	Numero pazienti	PLTs >50.000/mmc	Ricaduti
IGIV	137 (61%)	115 (83.9%)	48 (35%)
Steroidi	12 (5,2%)	10 (83%)	4 (33,3%)
Nessun trattamento	76 (33,8%)	57 (75%)	12 (15,8%)

Il follow up è stato di 17,7 mesi (mediana, range: 7-94). Il 69.7% dei pazienti ha presentato piastrine normali entro i 6 mesi. Solo il 16.4% presenta piastrinopenia dopo 18 mesi dalla diagnosi, 4.6% dopo 5 anni. Correlazione con la cronicizzazione: le percentuali di remissione a 6 mesi sono sovrapponibili in maschi e femmine (63.5% e il 57.3% rispettivamente). I cronici avevano una conta piastrinica alla diagnosi <5.000/mmc nel 18,75% dei casi, gli acuti nel 37% ($p=0.05$). L'età media alla diagnosi è di 52 mesi negli acuti e 93 mesi nei cronici ($p=0.05$). Nessun paziente esordito dopo i 13 anni è guarito entro i 6 mesi.

Conclusioni. Lo studio ha confermato la buona prognosi della piastrinopenia nell'età pediatrica. Il 70% dei pazienti ha infatti raggiunto valori normali di piastrine a 6 mesi dalla diagnosi, indipendentemente dalla terapia effettuata. Meno del 5% dei pazienti è ancora piastrinopenico a 5 anni dalla diagnosi. La risoluzione della PTI nei soggetti trattati si è ottenuta in soli 3 giorni, riducendo così il numero di controlli nei mesi successivi. Il costo della terapia è stato quindi bilanciato

dal risparmio ottenuto eseguendo meno ricoveri. Non abbiamo trovato importanti fattori prognostici di cronicizzazione; gli unici elementi identificati sono l'età alla diagnosi e il valore di piastrine all'esordio.

P078

ANTICORPO MONOCLONALE ANTI CD20 NELLA PTI REFRATTARIA SINTOMATICA

Parodi E,¹ Rivetti E,¹ Amendola G,² Bisogno G,³ Di Concilio R,² Faruggia P,⁵ Giordano P,⁴ Licciardello M,⁹ Matarese SMR,⁷ Nardi M,⁶ Nobili B,⁷ Notarangelo L,⁸ Russo G,⁹ Vimercati C,¹⁰ Zecca M,¹¹ De Mattia D,⁴ Ramenghi U¹

Centri AIEOP di: ¹Torino, ²Nocera Inferiore, ³Padova, ⁴Bari, ⁵Palermo, ⁶Pisa, ⁷Napoli 2 Università, ⁸Brescia, ⁹Catania, ¹⁰Monza, ¹¹Pavia, Italy

Introduzione e obiettivi. Riferiamo dati relativi all'esperienza dei centri AIEOP nel trattamento della PTI sintomatica e refrattaria con rituximab

Metodi. 49 pazienti con PTI (33 femmine e 16 maschi) sono stati trattati con uno o più cicli di rituximab (375 mg/mq/dose/settimana per 2-6 infusioni). Trattamento precedente: IVIg (49/49), PDN o mPDN (47/49), DXM (25/49), CSA (3/49) e Ig antiD (4/49); 5/49 erano stati splenectomizzati. La risposta positiva è stata definita come incremento delle piastrine a valori superiori a 50.000/mmc per almeno 7 giorni; la recidiva come nuova riduzione delle piastrine a valori inferiori a 50.000/mmc durante il periodo del follow up.

Risultati. Il trattamento è risultato ben tollerato (lievi e transitori effetti collaterali in 9/49 pazienti). Il follow-up mediano dall'ultima infusione di rituximab è di 37 mesi (range 1-84). 34/49 (69%) hanno presentato risposta, in 26/49 (53%) la risposta è stata completa (PLTs >150.000/mmc). 13/34 pazienti responsivi (38%) hanno presentato recidiva ad una mediana di 4 mesi (range 1-8) dal trattamento. 21/34 (62%) mantengono una risposta stabile a una mediana di 33 mesi (range 1-77) dal trattamento. Il 71% dei soggetti responsivi ha presentato valori >50.000 piastrine entro 20 giorni dal trattamento. I pazienti che hanno presentato PLTs > 150.000/mmc hanno raggiunto il valore soglia di 50.000/mmc piastrine ad un tempo significativamente più breve dal trattamento rispetto agli altri soggetti responsivi (rispettivamente ad una mediana di 7 e 30 giorni dalla somministrazione del farmaco; $p=0.004$). La probabilità di remissione stabile di malattia a 12 mesi è del 73.7% nei soggetti con risposta entro 20 giorni, del 22% nei soggetti con risposta più tardiva ($p=0.002$). Un maggiore età alla diagnosi di PTI e al trattamento con rituximab è risultata fattore predittivo di risposta completa e di remissione stabile. Sesso, precedente splenectomia, numero di infusioni non sono risultati fattori predittivi di risposta, risposta completa o assenza di recidiva.

Conclusioni. I nostri dati confermano l'efficacia del rituximab in più dei 2/3 dei pazienti con PTI refrattaria. Con il più lungo follow up al momento riportato in letteratura, più del 60% dei responsivi è in remissione stabile di malattia. Il trattamento è risultato più efficace in pazienti adolescenti. Il farmaco è risultato ben tollerato e non sono stati registrati effetti collaterali a medio-lungo termine.

P079

STUDIO MULTICENTRICO SULLE COMPLICANZE INFETTIVE IN PAZIENTI AFFETTI DA APLASIA MIDOLLARE ACQUISITA

Quarello P,¹ Bezzio S,¹ Aricò M,² Longoni D,³ Svhan J,⁴ Dufour C,⁵ Varotto S,⁶ Cesaro S,⁶ Amendola A,⁷ Cellini M,⁸ Paolucci P,⁸ Burlando O,⁴ Rana I,⁹ Saracco P,¹ Giacchino M¹

¹Dipartimento di Scienze Pediatriche, Università degli Studi di Torino; ²Onco-Ematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, Palermo; ³Clinica Pediatrica, Ospedale San Gerardo, Monza; ⁴Onco-Ematologia Pediatrica, IRCCS G. Gaslini, Genova; ⁵Clinica di Oncoematologia Pediatrica, Padova; ⁷Sezione di Ematologia, Dip. Di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Università La Sapienza, Roma; ⁸U.O. Ematologia, Oncologia, Immunologia e Trapianto di CSE, Università degli studi di Modena e Reggio Emilia; ⁹Ospedale Bambin Gesù, Roma, Italy

Introduzione. Gli episodi infettivi (EI) associati a neutropenia rappresentano un' importante causa di decesso nei pazienti (pz) affetti da aplasia midollare acquisita (AA). Pochi sono gli studi pediatrici relativi all'incidenza e alle caratteristiche delle complicanze infettive in AA. Il nostro studio si propone di valutare in modo retrospettivo/prospettivo l'incidenza, i fattori associati e la sopravvivenza a distanza in bambini affetti da AA che sviluppino una complicanza infettiva.

Pazienti e metodi. La nostra casistica comprende 66 pz (40 M, 26 F) affetti da AA diagnosticata tra il 1.01.96 e il 31.12.06 e seguiti fino al 31.12.07 presso 6 Centri AIEOP. Il trattamento immunosoppressivo ALG+CSA è stato adottato in 94% (62/66 pz); 3% (2/66) sono stati trattati con solo ALG e 3% (2/66) unicamente con CSA. Il G-CSF è stato somministrato nel 68% (45/66) dei pz.

Risultati. Il 53% (35/66) dei pazienti ha presentato almeno un EI con un totale di 110 EI (3.1 episodi/paziente): 46% (51/110) febbre di origine sconosciuta, 20% (22/110) infezioni clinicamente documentate, 13% (14/110) infezioni microbiologicamente documentate (IMD) con batteriemia non CVC correlate; 8% (9/110), IMD con batteriemia CVC correlate, 10% (11/110) IMD senza batteriemia, 3% (3/110) infezioni fungine di cui 1/110 documentata, 1/110 probabile e 1/110 possibile. La maggior parte degli IE era di natura batterica (84%; di cui 49% Gram + e 35% Gram -); solo il 5% di natura fungina. Il primo EI si è verificato entro 30 giorni dalla diagnosi di AA in tutti i pz. La mediana dei neutrofili al primo EI è 127/mmc (range 0-810/mmc), la mediana di tutti gli IE è di 450/mmc (range 0-17000/mmc). Il trattamento con G-CSF era in corso nel 44% (48/110) degli EI. All'ultimo follow up (mediana 44 mesi, range: 1,6-130 mesi) il 94% dei pz è sopravvissuto; 4 pz deceduti (di cui 2 per infezioni fungine). Tutti i pz deceduti erano non responsivi al trattamento IS, ricevevano G-CSF, 2/4 erano in profilassi antibiotica e 3/4 in profilassi antifungina. I decessi sono avvenuti entro 10 mesi dalla diagnosi di AA.

Conclusioni. La buona risposta al trattamento IS e il miglioramento della terapia di supporto ha ridotto la mortalità correlata ad infezione nei pz affetti da AA. Gli EI rappresentano tuttavia la principale causa di decesso in questi pz. Studi multicentrici pediatrici sono necessari per pianificare adeguate strategie di prevenzione ed istituire protocolli diagnostici e terapeutici ad hoc.

P080**IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE E SARCOIDOSI: DESCRIZIONE DEL PRIMO CASO DI SARCOIDOSI NELL'AGAMMAGLOBULINEMIA X-RECESSIVA**

Bolognini S, Pelucchi F, Filisetti M, Zattoni V, Brescianini A, Perfetti F, Bruni F, Lougaris V, Bondioni MP,¹ Soresina A, Plebani A

Unità di Immunologia e Reumatologia Pediatrica, Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Brescia, Spedali Civili di Brescia; ¹Servizio di Radiologia Pediatrica, Spedali Civili di Brescia, Italy

L'apparato respiratorio rappresenta uno degli organi più colpiti nei soggetti con Immunodeficienze Primitive di tipo umorale. La terapia sostitutiva con Immunoglobuline ed un adeguato follow-up hanno consentito di ridurre gli episodi di infezioni acute e le complicanze a lungo termine, come la broncopneumopatia cronica e la sinusite cronica. Questo ha migliorato la sopravvivenza, permettendo di osservare nel tempo l'emergenza di nuove condizioni associate alla patologia di base. Ad esempio, in letteratura sono stati descritti alcuni casi di sarcoidosi in pazienti con immunodeficienza comune variabile, con caratteristiche distintive rispetto alla sarcoidosi isolata, mentre ad oggi non sono segnalati casi di sarcoidosi associati a agammaglobulinemia X-recessiva (XLA). Descriviamo un caso di sarcoidosi toracica in un soggetto con XLA. All'età di 18 anni il ragazzo ha presentato tosse secca in apiressia e dispnea da sforzo: la radiografia del torace mostrava presenza di noduli polmonari e adenopatie a livello del mediastino. Nel sospetto di malattia linfoproliferativa veniva eseguita biopsia linfonodale per via toracotomica con riscontro istologico di linfoadenite granulomatosa sarcoido-simile. Accertamenti cardiologici, oculistici, gastroenterologici e dermatologici permettevano di escludere altre localizzazioni e veniva posta diagnosi di sarcoidosi toracica I stadio, supportata da elevati valori di ACE plasmatico. La sarcoidosi è una malattia granulomatosa sistemica ad etiologia multifattoriale in cui un substrato genetico predispone ad una particolare risposta immunitaria a triggers ambientali. Il riscontro di sarcoidosi associato ad Immunodeficienze primitive conferma il ruolo etiopatogenetico del meccanismo immunitario. Un'ipotesi è che le lesioni sarcoidosiche siano il risultato di una risposta ad un processo infettivo. Il tipo di risposta immunitaria influenza l'evoluzione della patologia; pare che una risposta Th1 sia associata ad un minor rischio di fibrosi polmonare rispetto alla risposta Th2 e quindi ad una miglior prognosi. È di particolare interesse segnalare questo caso, perché rappresenta la descrizione del primo caso di sarcoidosi nell'XLA, sottolineando da un lato la necessità di considerare anche tale patologia nella diagnosi differenziale delle complicanze polmonari dei soggetti con XLA e dall'altro offrendo un modello nuovo per cercare di chiarire i meccanismi patogenetici della stessa sarcoidosi.

P081**UNA CRISI EMOLITICA DA AMOXICILLINA IN UN PAZIENTE AFFETTO DA DEFICIT DI GLUCOSIO-FOSFO-ISOMERASI**

Rossi F, Citarella S, Gallo Afflitto I, Montano AV, Gallicola F, Capasso M, Perrotta S, Nobili B, Matarese SMR

Dipartimento di Pediatria F. Fede, Seconda Università di Napoli, Napoli, Italy

La mutazione del gene che codifica per la glucosio-fosfoisomerasi (GPI) è responsabile di un'anemia emolitica a trasmissione autosomica recessiva. La malattia è associata a defi-

cit neurologico psicomotorio. In tali pazienti possono manifestarsi crisi emolitiche in concomitanza di processi infettivi ed in caso di assunzione di farmaci. Riportiamo il caso clinico di un paziente affetto da deficit della GPI che ha sviluppato un' emolisi acuta in seguito alla somministrazione di amoxicillina. All'età di tre mesi al paziente veniva posta diagnosi di RVU di IV° grado. A sei mesi, veniva prescritta terapia antibiotica con amoxicillina per una urino-coltura positiva. A 72 ore dalla somministrazione del farmaco il piccolo presentava un episodio di ipotonia generalizzata con perdita di coscienza. L'emocromo evidenziava: Hb 4.4 g/dL; MCV 111.2 fl; LDH 2369 UI/L; reticolociti 58%. Veniva praticata una emotrasfusione e sospesa la terapia antibiotica. Il paziente veniva inviato presso la nostra struttura in cui veniva posta diagnosi di anemia emolitica da deficit di GPI con un quadro di doppia eterozigosi (A489G->alterazione dello splicing e G1415A->Arg472His). All'età 2 anni, il piccolo veniva nuovamente ricoverato per febbre, inappetenza, pallore mucocutaneo e subittero. Hb 6,9 g/dl; LDH 1301 U/L; bilirubina ind. 2,35 mg/dl; all'esame delle urine proteine ++, leucociti tracce, pH 7, nitriti presenti, sangue +++++. Nel sospetto di una infezione delle vie urinarie veniva iniziato trattamento con amoxicillina. Dopo le prime due somministrazioni di antibiotico le condizioni generali del piccolo peggioravano con estremo pallore, episodi di vomito e comparsa di ittero. Si praticavano esami ematochimici d'urgenza da cui emergeva: Hb 5,8 g/dL, reticolociti 58%, ulteriore incremento della bilirubina indiretta 5,0 mg/mL. Nel sospetto che la crisi emolitica fosse un evento avverso dell'amoxicillina veniva deciso di sospendere l'antibiotico e praticare emotrasfusione. A 48 ore dalla sospensione dell'amoxicillina si assisteva ad un miglioramento clinico-laboratoristico del paziente con riduzione progressiva dell'emolisi. L'amoxicillina può causare un'anemia emolitica in particolare nei pazienti affetti da favismo, per i quali è disponibile una lista di farmaci "induttori di crisi". Bisogna sottolineare l'attuale mancanza di una lista di farmaci da evitare in caso di deficit di GPI e pertanto risulta problematica la gestione di tali pazienti nel corso di episodi infettivi.

P082**UNA FORMA TRONCA DEL RECETTORE DELL'ERITROPOIETINA DETERMINA UNA ERITROCITOSI DOMINANTE**

Perrotta S, Rossi F, Roberti D, Citarella S, Gallo Afflitto I, Montano AV, Gallicola F, Capasso M, Nobili B, Della Ragione F

Dipartimento di Pediatria "F. Fede", Seconda Università di Napoli, Napoli, Italy

Abbiamo investigato il gene EPOR in una famiglia con policitemia dominante. A livello dei precursori eritroidi del paziente si è valutata l'ipotesi di un'alterazione del metabolismo del recettore conducendo ad una disregolazione della proliferazione cellulare e del differenziamento. Il probando è un ragazzo di 14 anni con una storia di cefalea. Il paziente presentava una eritrocitosi con assenza di splenomegalia ed ipertensione. Risultavano affetti anche altri familiari (Figura 1). L'Epo sierica era <4 mU/mL in tutti i pazienti della famiglia mentre la p50 era normale. Nelle persone affette è stata riscontrata una nuova mutazione G1251T in eterozigosi del gene EpoR (Glu417Stop). Abbiamo osservato che le cellule EpoR-mut/WT, in assenza di Epo, aumentano di 16 volte dopo 12 giorni comparate con le 6 volte di quelle di soggetti con Policitemia Vera (PV). Alle stesse condizioni i normali precursori eritroidi non crescono ma vanno incontro ad apoptosi. Una

significativa percentuale di cellule EpoRmut/WT CD34⁺ (cresciute per 14 giorni senza Epo) esprimono la glicoforina A. Contrariamente, nessun grado di espressione è stato riscontrato nei precursori eritroidi di pazienti con PV. La percentuale di cellule esprimenti CD36/CD235a-glicoforina A dopo 14 giorni di proliferazione senza Epo è di circa il 37±5% nel probando comparata al 5±2% della PV. Quando i precursori eritroidi del paziente sono messi in coltura, dopo 14 giorni, formano larghe colonie con presenza di emoglobina. Contrariamente solo piccole colonie sono osservabili nella PV. Abbiamo investigato l'espressione dei due alleli EpoR nei precursori eritroidi EpoRmut/WT con una PCR semiquantitativa riscontrando che entrambe le forme sono espresse ugualmente. Abbiamo quindi ricercato la presenza della proteina EpoR sulla membrana dei precursori eritroidi tramite immunoblotting osservando la presenza di un forte segnale a livello della forma mutata e nessuna banda a livello della proteina wild-type. Abbiamo valutato l'attività del pathway Jak2-Stat5 osservando una significativa iperespressione di Stat5. Si è inoltre evidenziato che le cellule eritroidi EpoRmut/WT presentano un significativo accumulo di fosfo-Erk2 ed un basso contenuto di p27Kip1. In questo studio riportiamo l'evidenza che la perdita di funzione di EpoR determina profonde alterazioni nella crescita e nel differenziamento dei precursori eritroidi umani. Il recettore troncato determina una costitutiva e marcata attivazione di segnali di crescita Epo-dipendenti.

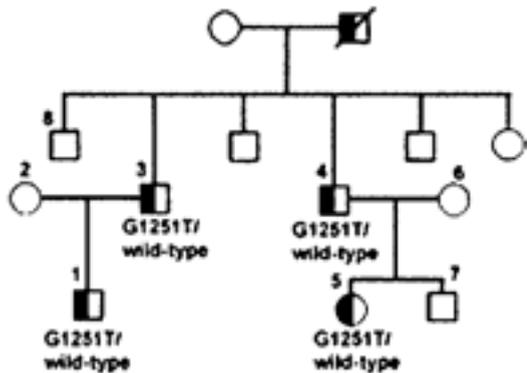


Figura 1.

P083

DEFICIT OMOZIGOTE DI PROTEINA S: PRESENTAZIONE DI UN CASO CLINICO

Albano V, Pasqualini C, Carloni I, Fabrizzi B, Pierani P

Centro Oncoematologia, Clinica Pediatrica, Ospedale Salesi, Ancona, Italy

La proteina S è una proteina K dipendente che incrementa l'attività anticoagulante della proteina C attivata (APC), agendo da cofattore nell'inattivazione di fattore Va e fattore VIIIa. Il deficit di proteina S è trasmesso con modalità autosomica dominante. Il deficit omozigote è saltuariamente descritto con presentazione clinica di porpora fulminante neonatale. Riportiamo il caso clinico di una bambina (SA) affetta da deficit omozigote della proteina S diagnosticato nei primi giorni di vita. La bambina nasce nel gennaio 2006 a 31 sett+3 giorni per alterazioni cardiocografiche (tracciato silente) e basso peso alla nascita (1060 gr) (piccola per età gestazionale). Per la presenza di grave piastrinopenia, alterazione della coagulazione, già evidenziati alla nascita, ed

anemia viene sottoposta a trasfusione di piastrine, plasma ed emazie. In seconda giornata di vita presenta cianosi e successiva evoluzione in necrosi delle falangi terminali della mano destra. In quarta giornata presenta trombosi della vena anonima di destra e successiva embolia polmonare. Gli accertamenti eseguiti hanno permesso di diagnosticare un deficit severo della proteina S (Proteina S libera 4%; dosaggio materno S libera 24%, dosaggio paterno S libera 37%). La paziente inoltre è andata incontro a sindrome trombofilica con frequente attivazione di CID per la quale è stato intrapreso trattamento con eparina, warfarin e somministrazioni di plasma. Trasferita dalla TIN, giunge alla nostra attenzione a 2 mesi di vita. La piccola ha in seguito effettuato trattamento sostitutivo con plasma, per poi essere avviata a terapia con warfarina sodica, che le consente ad oggi un buon controllo clinico laboratoristico. Da allora segnaliamo quale unico evento avverso alla somministrazione del warfarin un episodio di necrosi cutanea pretibiale warfarin indotta che è andata incontro a risoluzione in circa 3 mesi, senza necessità di ricorrere ad intervento di chirurgia plastica, ma solo con medicazioni locali quotidiane. La paziente è ad oggi in buona salute, con regolare sviluppo psicomotorio ed effettua monitoraggio domiciliare dell'INR del PT mediante Coagucheck.

P084

PET-TC NELL'ISTIOCITOSI A CELLULE DI LANGERHANS

De Zen L,¹ Borsatti E,³ Dall'Amico R,¹ Todesco A,² Mascarin M³

¹Servizio Oncologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera S.Maria degli Angeli, Pordenone; ²Emato-Oncologia Pediatrica Padova, ³Dip. di Oncologia Radioterapica e Medicina Nucleare IRCS CRO Aviano, Italy

Introduzione ed obiettivi. L'istiocitosi a cellule di Langerhans (ICL) colpisce prevalentemente il sistema scheletrico con o senza coinvolgimento di altri organi. Una delle caratteristiche principali per la gestione della malattia è la valutazione della risposta alla terapia dopo 6 settimane. In molti casi le lesioni ossee valutate con l'imaging tradizionale rimangono stabili per lunghi periodi di tempo nonostante una buona risposta intralesionale. I metodi più utilizzati a tutt'oggi sono la radiografia e la scintigrafia con ⁹⁹Tc. Entrambe le metodiche mostrano un miglioramento attraverso la normalizzazione dell'osso piuttosto che dimostrare il grado di attività - inattività della malattia. Per questi motivi, tecniche che possano valutare l'attività delle lesioni oltre che alle dimensioni sono importanti per la diagnosi e il follow-up dei pazienti con ICL. In un caso di ICL, abbiamo utilizzato la PET-TC per valutare se la metodica, attraverso un unico esame, oltre a fornire informazioni morfologiche era in grado di definire il grado di attività della malattia.

Materiali. Bambina di 21 mesi giunta alla nostra osservazione per tumefazione sovraorbitaria dx e lesioni cutanee multiple. La RMN ha evidenziato una neoformazione a carico dell'occhio dx extraorbitario laterale e craniale all'orbita con accumulo di contrasto. La TC ha evidenziato una importante erosione del profilo orbitario superiore e laterale. La biopsia della massa orbitaria e della cute ha posto diagnosi di ICL. Anziché procedere con scintigrafia ossea, è stata eseguita una PET-TC con [¹⁸F]fluorodesossiglucosio (FDG). È stata inoltre eseguita radiografia panoramica dello scheletro. Dopo sei settimane di terapia secondo il protocollo LCH-III basso rischio è stata eseguita rivalutazione con PET-TC.

Risultati. All'esordio lo studio PET-TC ha evidenziato modesto (SUV: 3.7) ma significativo iperaccumulo del tracciante FDG in corrispondenza della lesione sovraorbitaria dx e in nessun altro distretto corporeo. Tale risultato è stato confermato anche dalle radiografie. Dopo 6 settimane alla PET-TC persisteva modesto iperaccumulo FDG in sovraorbitaria dx, meno esteso rispetto al precedente. È stata eseguita anche RMN che ha confermato la riduzione delle dimensioni con riduzione >2/3 in volume della lesione. La paziente è stata quindi valutata come Active disease better e ha proseguito la terapia di mantenimento.

Conclusioni. Lo studio PET-TC può essere proposto come metodica di valutazione nelle lesioni da istiocitosi, è di facile utilizzo e fornisce informazioni sia morfologiche che metaboliche.

P085

CORREZIONE DEL DIFETTO IMMUNOLOGICO E METABOLICO A LUNGO TERMINE DOPO TERAPIA GENICA PER L'ADA-SCID

Aiuti A,^{1,2} Galimberti S,³ Cattaneo F,¹ Biral E,¹ Frugnoli I,¹ Brigida I,^{1,2} Cassani B,¹ Casiraghi M,¹ Callegaro L,¹ Ferrua F,¹ Carlucci F,⁴ Rossi P,² Cappelli B,¹ Chiesa R,¹ Markt S,¹ Valsecchi MG,³ Miniero R,⁵ Bordignon C,⁶ Ciceri F,⁷ Roncarolo MG^{1,6}

¹Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica (HSR-TIGET) e Immunoematologia Pediatrica e Trapianto di Midollo, Istituto Scientifico HS Raffaele, Milano; ²Università di Roma Tor Vergata; ³Centro di Biostatistica, Università di Milano Bicocca; ⁴Dip. MISEMB, Università di Siena; ⁵Div. di Ematologia e Trapianto di Midollo, Istituto Scientifico HS Raffaele, Milano; ⁶Università Vita-Salute San Raffaele, Milano; ⁷Università di Torino, Italy

Introduzione e obiettivi. Il difetto di Adenosina Deaminasi (ADA) è una forma di SCID associata a tossicità sistemica da alterato metabolismo purinico. Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (CSE) da donatori non familiari o aploidentici comporta una elevata mortalità, mentre la terapia enzimatica sostitutiva si associa spesso ad inadeguata ricostituzione immunologica. Obiettivo dello studio è il follow up a lungo termine dei pazienti ADA-SCID trattati con terapia genica.

Metodi. Il protocollo di fase I/II prevede il trapianto autologo di cellule CD34⁺ di midollo osseo trasdotte con un vettore retrovirale codificante l'ADA, previo condizionamento con busulfano a bassa dose (4 mg/kg ev). I pazienti non disponevano di un donatore HLA-identico familiare e non avevano risposto alla terapia enzimatica sostitutiva o questa non era disponibile a lungo termine.

Risultati. Nei 14 bambini ADA-SCID trattati (età alla terapia: 0.5-6 anni) non sono stati osservati eventi avversi legati alla terapia genica. Dieci pazienti hanno raggiunto un follow up minimo di un anno e sono oggetto della presente analisi (mediana di follow up: 3.8 anni, intervallo 1.5-7.7). Le CSE hanno attecchito stabilmente differenziando in cellule geneticamente corrette della serie mieloide (media ad un anno nel midollo: 3.5-8.9%) e linfoide (media ad un anno nel periferico: 52.4-88.0%). In tutti i pazienti abbiamo osservato un aumento sostanziale del numero dei linfociti T con ripresa dell'attività timica policlonale e normalizzazione della funzionalità T *in vitro*. Questi risultati sono in accordo con l'aumento di volume timico osservato dopo terapia genica in 4 pazienti. Abbiamo inoltre dimostrato in 5 pazienti la produzione endogena di anticorpi associata alla risposta ad antigeni specifici dopo vaccinazione. Negli 8 pazienti che non

necessitano di terapia enzimatica sostitutiva abbiamo osservato un'espressione dell'ADA prolungata nei linfociti e globuli rossi ed una detossificazione efficace dei metaboliti purinici. Tutti i bambini sono in buone condizioni cliniche, ad eccezione di un paziente in cui persistono manifestazioni autoimmuni già presenti in trattamento enzimatico sostitutivo. Complessivamente abbiamo osservato una forte riduzione del tasso di infezioni severe ed un miglioramento della crescita staturo-ponderale.

Conclusioni. La terapia genica con CSE, combinata con un condizionamento ad intensità ridotta è un trattamento efficace e sicuro per la cura dell'ADA-SCID.

P086

LA MUTAZIONE ACQUISITA DEL RECETTORE DI G-CSF È DAVVERO UN INDICATORE PREDITTIVO DI EVOLUZIONE PRECOCE IN MIELODISPLASIA O LEUCEMIA?

Tucci F, Giunti L,¹ Gambineri E,² Tondo A, Giglio S,¹ Sainati L,³ Aricò M

Dipartimento di Oncoematologia Pediatrica e Cure Domiciliari AOU Meyer - Firenze; ¹UO Genetica Medica AOU Meyer, Firenze; ²Dipartimento di Pediatria, Università di Firenze; ³Laboratorio di Oncoematologia Pediatrica Università di Padova, Italy

La neutropenia congenita grave (NCG) è un disturbo eterogeneo della mielopoiesi caratterizzato da valori di neutrofili costantemente <500/mm³, con arresto maturativo a livello dei promielociti, alta incidenza di infezioni batteriche, fatali in era pre-G-CSF. Con l'introduzione del trattamento con G-CSF, la prognosi della malattia, come sopravvivenza e qualità di vita, è radicalmente cambiata mentre l'evoluzione in MDS/AML, descritta anche in era pre-G-CSF, è diventata più frequente. Dai dati del *Severe Chronic Neutropenia International Registry* l'incidenza cumulativa di MDS/AML in pazienti con NCG dopo un trattamento di 10 anni è del 21%. La comparsa di mutazioni puntiformi del gene per il recettore del G-CSF (G-CSF-R), insieme alla comparsa di alterazioni citogenetiche, è stata messa in relazione con l'evoluzione in MDS/AML. Descriviamo una paziente che, a circa 7 anni dalla comparsa di mutazione del G-CSF-R, non ha evidenziato segni di evoluzione in MDS/AML. MV, nata il 16/06/81, affetta da NCG con mutazione ELA2 458 T>C, trattata con G-CSF dal 1990 alla dose media di 1.9 microgr/kg/die, con neutrofili mantenuti tra 1500-2000/mm³ e buon controllo delle infezioni; follow-up annuale con mieloaspirato, BOM, citogenetica (FISH con ibridizzazione in situ per asat cr7, 8 e LSI 21) e screening molecolare (CBFB-MYH11, AML1-ETO, PML-RARA). Dal 1999 ha anche effettuato, in occasione di ogni prelievo di sangue midollare, ricerca di mutazioni acquisite di G-CSF-R. Nel dicembre 2001, attraverso l'analisi di sequenza del cDNA della porzione intracellulare del gene CSF3R clonato, è stata individuata la mutazione puntiforme acquisita 2390C>T. La mutazione è stata confermata in occasione degli ulteriori controlli. In considerazione delle segnalazioni di aumentato rischio di evoluzione in MDS/AML dopo comparsa di mutazione del G-CSF-R, è stato condotto un follow up con mieloaspirato, BOM e valutazione citogenetica ogni 6 mesi. La indicazione ad eseguire un TCSE allogenico non risultata applicabile per mancanza di un donatore compatibile familiare o volontario. Ad oggi non è stata documentata la comparsa di ulteriori mutazioni del G-CSF-R, né di alterazioni citogenetiche; da un punto di vista morfologico, la valutazione del mieloaspirato e della BOM non hanno mostrato segni di evoluzione in

mielodisplasia/AML. La osservazione di casi come questo potrebbe rimettere in discussione la attuale indicazione al TCSE sulla base della sola comparsa di mutazioni di GCSF-R.

P087

SINDROMI MIELOPROLIFERATIVE CRONICHE PHILADELPHIA NEGATIVE: MARKER BIOLOGICI ED ANDAMENTO CLINICO IN PAZIENTI PEDIATRICI

Amendola A, Teofili L,¹ Palumbo G, Rea M, Nunes V, Cenci T,¹ Torti L,¹ Moleti ML, Foà R, Giona F

Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Sezione di Ematologia, Università "Sapienza" di Roma; ¹Dipartimento di Ematologia e Patologia, Università Cattolica, Divisione di Ematologia, Roma, Italy

Introduzione ed obiettivi. Le sindromi mieloproliferative croniche (SMC) Philadelphia negative (Ph⁻) sono dei disordini rari in età pediatrica e comprendono la trombocitemia essenziale, la policitemia vera e la mielofibrosi idiopatica (rarissima). La scoperta della mutazione JAK2^{V617F} e l'identificazione di marker specifici hanno avuto un impatto sui criteri diagnostici. L'obiettivo dello studio è stato quello di classificare le SMC Ph⁻ da noi osservate, in base al profilo biologico, clinico e di laboratorio.

Metodi. Dal settembre 1985 al maggio 2008 sono giunti alla nostra osservazione 554 pazienti di età inferiore a 20 anni con quesito di trombocitosi, eritrocitosi, SMC, splenomegalia e/o epatomegalia, di cui 102 con un follow-up maggiore di 6 mesi. Secondo i criteri del PVSG o del WHO, 46 pazienti sono stati classificati come TE, 9 come PV e 4 come SMC. In 37/59 pazienti sono stati studiati: la mutazione JAK2^{V617F}, l'overespressione del PRV-1 mRNA, la crescita spontanea delle colonie eritroidi endogene, l'emopoiesi clonale, le mutazioni del gene della trombopoietina (TPO), del suo recettore (c-MPL) e del gene per il recettore dell'eritropoietina (Epo-R).

Risultati. Dei 28 pazienti con TE studiati, 17 sono stati classificati come TE sporadica e 11 come trombocitosi familiari (TF) (anamnesi, caratteristiche biologiche). La mutazione JAK2^{V617F} è stata riscontrata in 8/17 (47%) con TE, mentre gli 11 pazienti con TF sono risultati tutti negativi. L'over-espressione del PRV-1 mRNA era presente in 14/17 (82%) TE e in 4/11 (36%) TF. L'emopoiesi è risultata clonale in 6/10 (60%) donne con TE, mentre le 5 donne con TF sono risultate policlonali. In 9/11 pazienti con TF è stata riscontrata la mutazione MPLS505A. Dei 6 pazienti con PV studiati, 5 sono stati classificati come PV sporadiche e 1 come policitemia familiare (PF) (anamnesi e alterazione molecolare). Tutti e 6 i pazienti erano negativi per JAK2^{V617F}, mentre l'overespressione del PRV-1 era presente in 3/6 (50%). Tutti i pazienti con SMC presentavano l'overespressione del PRV-1 mRNA e la mutazione JAK2^{V617F}.

Conclusioni. In base a questi risultati, stiamo allargando lo studio dei marker biologici ai pazienti già diagnosticati o in diagnosi allo scopo di: a) caratterizzare meglio le SMC Ph⁻ in età pediatrica; b) identificare e definire meglio le forme familiari; c) impostare un approccio terapeutico adeguato per l'età.

P088

TROMBOCITOSI EREDITARIA: CARATTERISTICHE E ANDAMENTO CLINICO IN 4 FAMIGLIE OSSERVATE IN UN CENTRO DI EMATOLOGIA PEDIATRICA

Giona F, Rea M, Amendola A, Nunes V, Martini M,¹ Palumbo G, Foà R, Teofili L¹

Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Sezione di Ematologia, Università Sapienza di Roma; ¹Dipartimento di Ematologia e Patologia, Università Cattolica, Divisione di Ematologia, Roma, Italy

Introduzione ed obiettivi. La trombocitosi ereditaria, trasmessa per via autosomica dominante, può essere determinata da mutazioni coinvolgenti il gene per la trombopoietina (TPO) o quello per il recettore per la trombopoietina (MPL). Nell'ambito delle trombocitosi ereditarie sono state identificate due forme differenti per caratteristiche cliniche e biologiche: la trombocitemia essenziale familiare (TEF) e la trombocitosi ereditaria (TE). La TEF (penetranza variabile, con caratteristiche ed andamento clinico simili a quelli della forma sporadica-TES), è caratterizzata dalla positività per la mutazione del JAK2^{V617F} e dalla presenza della mutazione MPLW515L. La TE (predominanza completa, con trombocitosi d'esordio ed andamento clinico benigno) è caratterizzata dalla negatività per la mutazione del JAK2^{V617F} e dalla presenza della mutazione MPL S505A o di mutazioni del gene TPO. Obiettivo nel nostro studio è quello di riportare le caratteristiche cliniche e biologiche di pazienti appartenenti a quattro famiglie, diagnosticati e seguiti presso il nostro Centro con un follow-up mediano di 82 mesi.

Metodi. Dei 46 pazienti con trombocitemia essenziale, diagnosticati secondo i criteri del PVSG o del WHO dal 1989 al 2007, sono stati identificati 14 pazienti (M: 8; F 6; età mediana: 15 anni) appartenenti a 4 famiglie. Abbiamo studiato in 11/14 pazienti la mutazione del JAK2^{V617F}, l'overespressione del PRV-1, la crescita spontanea di colonie eritroidi (EECs), la clonalità, le mutazioni del gene TPO e dell'MPL e lo screening trombofilico.

Risultati. Nella Tabella 1 sono riassunte le caratteristiche, la terapia ed il follow-up dei pazienti. La mediana delle piastrine alla diagnosi era di 931x10⁹/L; 2 pazienti presentavano organomegalia. Tutti i pazienti studiati sono risultati negativi per la mutazione JAK2^{V617F} e tutte le femmine policlonali. In nessun paziente è stata riscontrata una mutazione del gene TPO, mentre in 9 pazienti (famiglie 1, 2, 3) è stata riscontrata la positività per la mutazione MPLS505A. Nei 2 pazienti della famiglia 4 non è stata riscontrata alcuna mutazione né del gene TPO né del MPL. 9/11 pazienti (82%) sono risultati eterozigoti per l'MTHFRC677T. 4 pazienti (28,5%) hanno iniziato trattamento specifico ma solo 2 sono in terapia per il difficile controllo della trombocitosi.

Conclusioni. Un'anamnesi approfondita e lo studio dei markers biologici di bambini con TES è importante per identificare le forme sporadiche e caratterizzare quelle familiari.

Tabella 1. Caratteristiche delle quattro famiglie osservate.

	Sex/Età diagn	PLTs diagn (x10 ⁹ /L)	Organo- megalia	JAK2 ^{V617F}	PRV-1	EECs	Clonalità	Mutazione MPL	Eterozigosi MTHFR ^{C677T}	Eterozigosi FII ^{G20210A}	Terapia	Follow-up	Durata Follow-up (mesi)
Fam 1	M/18aa	900	no	neg	neg	neg	-	MPL ^{S505A}	+	-	NO	PLT≤1.000x10 ⁹ /L	> 330
	M/8m	1,459	no	neg	neg	neg	-	MPL ^{S505A}	+	-	NO	PLT≤1.500 x10 ⁹ /L	> 79
Fam 2	M/18aa	700	Epatospleno	neg	pos	neg	-	MPL ^{S505A}	-	-	HU→sosp	Epatite C PLT≤1.000x10 ⁹ /L	> 228
	M/11aa	783	no	neg	neg	neg	-	MPL ^{S505A}	+	-	NO	PLT≤1.000x10 ⁹ /L	> 39
	F/16aa	963	no	neg	pos	pos	Poli	MPL ^{S505A}	+	-	NO	PLT≤1.500x10 ⁹ /L	>129
	F/17aa	695	no	neg	pos	neg	Poli	MPL ^{S505A}	+	-	NO	PLT≤1.000x10 ⁹ /L	> 39
Fam 3	F/14aa	1,060	no	neg	pos	pos	Poli	MPL ^{S505A}	+	-	NO	1 gravidanza PLT≤1.000 x10 ⁹ /L	> 229
	M/3m	1,528	no	neg	pos	pos	-	MPL ^{S505A}	+	+	NO	PLT = 1.500x10 ⁹ /L	> 44
	F/10aa	611	no	neg	pos	neg	Poli	MPL ^{S505A}	+	-	NO	PLT<1.000x10 ⁹ /L	>131
	M/10aa	759	no	N.V.	N.V.	N.V.	-	N.V.	N.V.	N.V.	NO	Perso al follow-up	49
	M/14aa	2,950	N.V. x splenectomia post trauma	N.V.	N.V.	N.V.	-	N.V.	N.V.	N.V.	Vercite→HU	Ischemia alluce piede sn Perso al follow-up	72
	F/3aa	1,430	no	N.V.	N.V.	N.V.	N.V.	N.V.	N.V.	N.V.	NO	Perso al follow-up	36
Fam 4	M/19aa	690	Spleno	neg	pos	pos	-	neg	-	+	HU→Anagrelide	Splenectomia diagnostica PLT<1.000 x10 ⁹ /L	> 86
	F/17aa	1,118	no	neg	neg	neg	Poli	neg	+	+	HU→Anagrelide→ IFN	PLT<1.500 x10 ⁹ /L	> 144

P089**VALUTAZIONE CLINICA COMPARATIVA DEL FATTORE DI CRESCITA DEI GRANULOCITI (G-CSF) PEGILATO E NON IN BAMBINI NEUTROPENICI**

Brusati M, Schumacher RF, Tettoni K, Notarangelo LD, Soresina R, D'Ippolito C, Porta F

Oncoematologia pediatrica, Spedali Civili di Brescia, Italy

Introduzione e obiettivi. Studio clinico per valutare l'efficacia e la sicurezza della forma pegilata del fattore di crescita dei granulociti (G-CSF), PEG-Filgrastim, in confronto alla forma non pegilata, Filgrastim, in bambini neutropenici affetti da patologie oncoematologiche.

Metodi. Sono stati arruolati sia bambini che avevano precedentemente ricevuto Filgrastim, sia bambini che non lo avevano mai ricevuto. Nei primi abbiamo paragonato i risultati dopo PEG-Filgrastim con quelli da loro riportati dopo Filgrastim e con i dati in letteratura. Nei secondi abbiamo confrontato i risultati dopo PEG-Filgrastim con quanto riportato in letteratura. I dati sono stati ricavati dall'emocromo, dalle visite pediatriche, da quanto riferito dai genitori e dal bambino. Si è proceduto a una valutazione comparativa, e non un'analisi statistica data l'eterogeneità dei casi. Come criteri di efficacia si sono considerati: risoluzione o meno della neutropenia, valori e momento del nadir, durata totale e tempo di risoluzione

della neutropenia e valori di leucociti e neutrofilii raggiunti al picco. Come criteri di sicurezza si sono considerati: effetti collaterali, necessità di ricovero, necessità di farmaci endovena.

Risultati. Sono stati analizzate 18 somministrazioni di PEG-Filgrastim in 7 bambini: 6 con malattie oncologiche (1 NB, 1 sarcoma di Ewing, 1 LLA in ricaduta, 1 sarcoma dell'osso a cellule fusate, 1 linfoma di Hodgkin (MH) in ricaduta, 1 osteosarcoma) e 1 con aplasia midollare. In tutti i casi PEG-Filgrastim è risultato avere efficacia e sicurezza non inferiori a Filgrastim, sia nel confronto intraindividuale sia nel confronto con la letteratura. 2 casi non hanno apparentemente presentato risposta né a PEG-Filgrastim né a Filgrastim, probabilmente per le caratteristiche delle malattie di base (una ricaduta di LLA con midollo totalmente sostituito da blasti e un'aplasia midollare). Inoltre, un caso ha presentato marcata leucocitosi neutrofila in seguito alla somministrazione di PEG-Filgrastim associata a glucocorticoide in un paziente con MH mai pretrattato con GCSF.

Conclusioni. I vantaggi di PEG-Filgrastim sono notevoli: riduzione delle somministrazioni e quindi di dolore e ansia nel bambino, minore tempo speso dai genitori per recarsi in ospedale, minori costi globali. È auspicabile un utilizzo di PEG-Filgrastim più diffuso ma oculato, con una valutazione ulteriore in quelle condizioni risultate senza apparente risposta o con eccessivo picco di neutrofilii.

ALTRO

C022

GLI ADOLESCENTI CON TUMORE IN ITALIA: VALUTAZIONE COMPARATIVA DEL NUMERO DEI CASI OSSERVATI NEI CENTRI AIEOP E DEI CASI ATTESI

Ferrari A,¹ Dama E,² Pession A,³ Rondelli R,³ Pascucci C,⁴ Locatelli F,⁵ Ferrari S,⁶ Mascarin M,⁴ Merletti F,² Masera G,⁸ Aricò M,⁹ Pastore G^{2,10}

¹Oncologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano; ²Registro Tumori Infantili del Piemonte, CPO Piemonte, CeRMS, Ospedale S.Giovanni e Università di Torino, Torino; ³Ematologia e Oncologia Pediatrica Lalla Seràgnoli, Università di Bologna, Bologna; ⁴Registro Tumori Infantili e negli Adolescenti delle Marche, Università di Camerino, Camerino; ⁵Ematologia e Oncologia Pediatrica, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia; ⁶Divisione di Chemioterapia, Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna; ⁷Radioterapia, Centro di Riferimento Oncologico, Aviano; ⁸Clinica Pediatrica dell'Università di Milano-Bicocca, A.O. S.Gerardo, Monza; ⁹Ematologia e Oncologia Pediatrica, Ospedale Anna Meyer e Università di Firenze, Firenze; ¹⁰Pediatria, Dipartimento Scienze Mediche, Università del Piemonte Orientale, Novara, Italy

Introduzione e obiettivi. I miglioramenti dei risultati terapeutici ottenuti negli anni nei pazienti adolescenti (15-19 anni) sono stati relativamente deludenti se paragonati a quelli ottenuti nei pazienti di altre fasce di età, e questo dato è stato messo in relazione, almeno in parte, ad un ridotto accesso degli adolescenti ai centri di riferimento di oncologia pediatrica e ai protocolli clinici.

Metodi. Lo studio confronta il numero di pazienti di età 15-19 anni trattati nei centri AIEOP e registrati attraverso il modello 1.01 con il numero di casi attesi in Italia, stimato per le diverse categorie ICCO in funzione dei tassi di incidenza ricavati dalla rete dei registri di popolazione afferenti ad AIR-Tum. L'analisi è effettuata tenendo conto di tre successivi periodi di studio, 1989-1994, 1995-2000 e 2001-2006. Il rapporto osservati/attesi è stato poi paragonato con quello relativo ai pazienti di età 0-14 anni. Dal modello 1.01 sono stati poi ricavati i dati sull'arruolamento dei pazienti nei protocolli AIEOP.

Risultati. Dal 1989 al 2006, oltre 28.000 casi sono stati registrati nel data-base AIEOP, di cui 1745 adolescenti (312, 559 e 874, rispettivamente, nei tre diversi periodi). Il rapporto osservati/attesi è risultato essere 0.10 per i pazienti 15-19 anni (versus 0.77 per i pazienti 0-14 anni), con un costante aumento negli anni (0.05, 0.10 e 0.18 nei tre periodi temporali di studio). I sarcomi sono risultati le neoplasie con il maggior rapporto osservati/attesi: 0.28 e 0.43 per osteosarcoma e sarcoma di Ewing, 0.33 and 0.39 per rhabdomyosarcoma e altri sarcomi delle parti molli, rispettivamente. I casi formalmente inseriti nei protocolli AIEOP sono stati il 55% per i pazienti 15-19 e il 69% per i pazienti 0-14 anni.

Conclusioni. Nonostante la maggioranza dei pazienti adolescenti sia affetta da tumori tipici dell'età pediatrica, anche in Italia solo una minoranza di questi è trattata nei centri AIEOP, con conseguente ridotto accesso ai protocolli di cura cooperativi e quindi ai trattamenti potenzialmente più efficaci. Negli ultimi anni pare esserci però un graduale miglioramento di questa situazione. L'AIEOP ha recentemente istituito un gruppo di lavoro dedicato ai pazienti adolescenti con tumore.

C023

PROGETTO PILOTA PER LA CURA E LA PRESA IN CARICO DEL BAMBINO CON TUMORE CEREBRALE: LA PRIMA APPLICAZIONE ITALIANA DELLA CLASSIFICAZIONE ICF-CY

Leonardi M,¹ Ajovalasit D,¹ Massimino M,² Biassoni V,² Riva D,³ Vago C,³ Usilla A,³ Fidani P,⁴ Serra A,⁴ Gentile S⁵

¹SSD Neurologia, Salute Pubblica, Disabilità, Direzione Scientifica, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano; ²U.O. di Neuro-oncologia pediatrica, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei tumori, Milano; ³U.O. Neurologia dello Sviluppo, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano; ⁴U.O. Oncologia Pediatrica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; ⁵UONPI - Servizio di Psicologia Clinica - Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italy

Il progetto "Cura e Care del bambino con patologia neuro-oncologica", coordinato dalla Fondazione Besta e finanziato dal Ministero della Salute, è un progetto di ricerca che prevede la raccolta di dati sul funzionamento e la disabilità in bambini con tumore cerebrale. È una ricerca inter-istituzionale e i centri coinvolti sono la Fondazione Besta (MI), la Fondazione IRCCS Istituto dei Tumori (MI) e l'Ospedale Bambino Gesù (Roma). Una collaborazione trasversale è data da ABIO, Associazione Bambino in Ospedale sede di Milano. Il progetto di durata biennale finirà nel Dicembre 2008. La ricerca svolta su un campione di 30 bambini, provenienti da tutta l'Italia, è ha utilizzato un protocollo di studio basato sulla Classificazione Internazionale del Funzionamento, della Disabilità e della Salute nella versione per bambini e adolescenti (ICF-CY) dell'OMS (2007), uno strumento in grado di cogliere il funzionamento e la disabilità di questi bambini tenendo ampiamente conto dei bisogni e delle caratteristiche età-specifiche di questi. Cura e Care è il primo progetto che vede applicata la Classificazione ICF-CY in ambito oncologico, e in particolare nei tumori cerebrali. I primi risultati della ricerca mostrano come ICF-CY sia un utile strumento di comprensione e analisi del funzionamento e della disabilità capace di evidenziare le diverse esigenze evolutive. Le aree di funzionamento più colpite sono le aree del Movimento e delle Funzioni Cognitive nelle Funzioni Corporee e la Scuola e le Aree di vita principali per quanto concerne la Partecipazione. L'ambiente svolge un ruolo molto importante come facilitatore, in particolare sono molto rilevanti le relazioni familiari e amicali e la presenza di tecnologie che risultano promotrici della comunicazione (ICT, PC, cellulare). Sin d'ora è possibile concludere che pur se in molti casi i bambini risultano essere "guariti" dal tumore, spesso a questo dato corrisponde un elevato livello di disabilità: permangono difficoltà di funzionamento in diverse aree di vita rilevanti per la persona. ICF-CY è apparso essere in utile strumento di supporto per il lavoro dei pediatri oncologi e, nel lavoro interistituzionale, un mezzo di implementazione della comunicazione per la capacità di creare dialogo tra differenti operatori utilizzando un linguaggio comune e condiviso. Uno degli outcome del progetto è la realizzazione di un data-base per la raccolta dei dati.

C024**ALTERAZIONI IATROGENE DEL PARENCHIMA TIROIDEO: STUDIO RETROSPETTIVO E PROSPETTICO**

Massimino M, Gandola L, Mattavelli F, Seregni E, Spreafico F, Marchianò A e Collini P

Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano, Italy

Introduzione e obiettivi. L'irradiazione incidentale o terapeutica della tiroide è una nota causa di ipotiroidismo e di patologia nodulare tiroidea. I bambini guariti da una neoplasia ed irradiati nel trattamento precedente anche sul letto tiroideo, sono in aumento: la diagnosi precoce e il trattamento delle alterazioni tiroidee correlate alla radioterapia deve essere garantito.

Metodi. Nel 1998 abbiamo iniziato una valutazione retrospettiva della funzione e del parenchima tiroideo su tutti i pazienti trattati dal 1975 al 1997; in seguito abbiamo sottoposto alle stesse indagini – ecografia, FT3, FT4, TSH, tireoglobulina – in modo prospettico, tutti i pazienti che avevano ricevuto radioterapia sulla tiroide, due anni dopo la conclusione del trattamento.

Risultati. 468/596 pazienti hanno aderito alla valutazione "retrospettiva" proposta. 128 avevano uno o più noduli che, se maggiori di 1 cm di diametro, venivano sottoposti ad esame citologico; 57% si presentavano con ipotiroidismo concomitante o precedente e 22 avevano un adenocarcinoma; agli altri venivano prescritte dosi TSH-soppressive di levo-tiroxina. La latenza "apparente" mediana prima della comparsa dei noduli è stata di 10 anni, la dose mediana alla regione tiroidea 32 Gy, 42% dei pazienti erano stati trattati per linfoma di Hodgkin, 15% per tumori cerebrali, 14% per linfoma non-Hodgkin, 9% per neuroblastoma e sarcoma ed i rimanenti per varie neoplasie. 144/157 altri pazienti, trattati tra il 1998 e il 2004 sono stati sottoposti agli stessi esami con trattamento precoce dell'ipotiroidismo e dei noduli. 18 presentavano noduli: due che crescevano in trattamento con l-tiroxina erano adenocarcinomi papillari. La latenza mediana per la manifestazione dei noduli è stata di 54 mesi; la dose mediana alla tiroide di 25 Gy, 7 pazienti erano stati trattati per neoplasie cerebrali, 7 per sarcoma and 4 per linfoma di Hodgkin. Il numero dei pazienti con noduli è stato significativamente più basso ($p < 0.01$) nel gruppo valutato prospettivamente di quello retrospettivo ad una mediana di osservazione di 56 mesi.

Conclusioni. Il trattamento dell'ipotiroidismo e l'ecografia precoce sono strumenti semplici ed economici per controllare l'apparizione dei noduli e la loro possibile evoluzione maligna.

C025**ANALISI DELL'IMPATTO DELLA PROFILASSI ANTIFUNGINA IN 42 BAMBINI AFFETTI DA LLA IN TERAPIA**

Guerra M, Bennato V, Spinelli B, Tettoni K, D'Ippolito C, Soresina R, Notarangelo LD, Brontesi D, Schumacher RF, Porta F

Oncoematologia e Trapianto di Midollo Osseo, Ospedale dei Bambini, Brescia, Italy

Introduzione e obiettivi. Nell'ambito delle patologie tumorali infantili, la LLA si distingue per il tipo di cura effettuata, un trattamento sequenziale che prevede l'utilizzo di dosi minime di farmaci chemioterapici per tempi lunghi, e che non comporta quindi un'immunosoppressione tale da rendere necessaria una terapia profilattica. Presso il reparto di onco-

ematologia pediatrica di Brescia abbiamo osservato 42 pazienti affetti da LLA e curati secondo il protocollo LLA 2000, con lo scopo di valutare l'impatto infettivo nella fase più intensiva della chemioterapia (l'induzione), in relazione alla terapia profilattica antifungina e alla randomizzazione DMX-PDN prevista dal protocollo stesso.

Metodi. I pazienti sono stati raggruppati in base alla profilassi antifungina effettuata, (17 fanno parte del gruppo profilassi, 25 del gruppo di controllo) e in base alla terapia steroidea assunta a seguito della randomizzazione prevista dal protocollo stesso. Abbiamo analizzato eventi febbrili, neutropenia, ricoveri per infezione e terapia empirica antifungina durante i primi 6 mesi di terapia, distinguendo tra 1° mese e mesi successivi (remissione), ed abbiamo confrontato i risultati ottenuti tra i rispettivi gruppi.

Risultati. Profilassi. 6 pazienti su 17 del gruppo con profilassi hanno presentato almeno un episodio febbrile (35%), contro 11 pazienti su 25 dell'altro gruppo (44%). Su 26 episodi febbrili totali, 22 si sono verificati nei mesi successivi al primo: 9 (41%) nel gruppo con profilassi e 13 (59%) nel gruppo di controllo. 7 pazienti su 17 (41%) del gruppo profilassi ha effettuato terapia empirica antifungina, mentre ciò si è verificato solo in 8 pazienti su 25 (32%) del gruppo di controllo. È stata infine riscontrata un'infezione fungina certa (aspergillosi) in 3 pazienti, tutti appartenenti al gruppo privo di terapia profilattica. Terapia steroidea. 5 pazienti sono stati ricoverati per febbre, neutropenia, PCR elevata: 4 appartenenti al gruppo DMX, solo 1 al gruppo PDN. 13 pazienti con aspergillosi, sono così suddivisi: 2 nel gruppo DMX, 1 nel gruppo PDN.

Conclusioni. Questi risultati sembrano suggerire l'efficacia di un'adeguata terapia profilattica nella riduzione delle IFI e, in misura minore, anche nella diminuzione di episodi febbrili; sembra invece che la profilassi non riduca la necessità di terapia empirica antifungina, che appare maggiore nel gruppo con profilassi. Relativamente alla terapia steroidea, sembra che l'assunzione di DMX aumenti la probabilità di eventi infettivi fungini.

P090**ENCEFALOPATIA DI WERNICKE IN BAMBINI CON NEOPLASIA: DESCRIZIONE DI UN CASO E REVISIONE DELLA LETTERATURA**

Catania R,¹ La Spina M,¹ Lo Nigro L,¹ De Grandi C,³ Palmucci S,² D'Amico S,¹ Intagliata D,¹ Di Cataldo A¹

¹Centro di Riferimento Regionale di Ematologia ed Oncologia Pediatrica; ²Istituto di Radiologia, Università degli studi di Catania, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Gaspare Rodolico Catania; ³Servizio di Neuroradiologia, Università degli studi Milano Bicocca, Ospedale S. Gerardo, Monza, Italy

Introduzione. L'encefalopatia di Wernicke (EW) è una sindrome neuro-psichiatrica acuta legata alla carenza di tiamina e caratterizzata da significativa morbilità ed elevata mortalità. Diagnosticata frequentemente negli adulti alcolisti, in età pediatrica può presentarsi in associazione a gravi affezioni, come le neoplasie, nelle quali con diversi meccanismi può instaurarsi il deficit di tiamina. La triade clinica caratteristica, costituita da oftalmoplegia, atassia e confusione globale, è presente in un terzo dei pazienti.

Caso clinico. L.A., ragazzo di 12 anni con leucemia mieloide acuta FAB M2, in trattamento secondo protocollo AIEOP-LAM 2002-01. Dopo circa dodici giorni dall'inizio del primo ciclo ICE, in seguito a vomito persistente e mucosite di grado 4, è stato sottoposto a nutrizione parenterale totale, non arricchita con vitamine. In ventesima giornata di nutrizione parenterale totale ha improvvisamente presentato sopore, eloquio

rallentato, diplopia ingravescente, paralisi bilaterale dei retti laterali, nistagmo, ipoacusia destra ed allucinazioni uditive. La RM encefalo ha evidenziato alterazioni iperintense nelle sequenze T2 e T2 FLAIR nella sostanza bianca della parte posteriore del ponte, della regione periacqueductale, dei collicoli inferiori della lamina quadrigemina, dei talami e della regione mammillo-talamica (Figura 1). È stata posta diagnosi di EW e somministrato tiamina per via orale, alla dose di 300 milligrammi ogni dodici ore, ottenendo un progressivo miglioramento clinico, fino alla risoluzione completa della sintomatologia dopo 3 mesi di trattamento.

Discussione. Dal 1970 al 2008 in 11 articoli, sono stati riportati 12 casi di bambini con neoplasia ed EW: 5 su 12 erano stati sottoposti con successo ad adeguato trattamento, mentre in 7 su 12 la diagnosi è stata autoptica. Si tratta dunque di una complicanza rara rispetto al numero di pazienti oncologici che, in seguito ad inappetenza, nausea e mucosite, non ricevono un'alimentazione orale o parenterale equilibrata causa di ridotto assorbimento di tiamina. Pertanto, è possibile che il deficit si riveli clinicamente solo in soggetti geneticamente predisposti.

Conclusioni. In corso di nutrizione parenterale totale, senza supporto vitaminico, l'insorgere di sintomi neurologici deve indurre a considerare tempestivamente il sospetto diagnostico di EW, grazie soprattutto all'ausilio del quadro radiologico (RM).

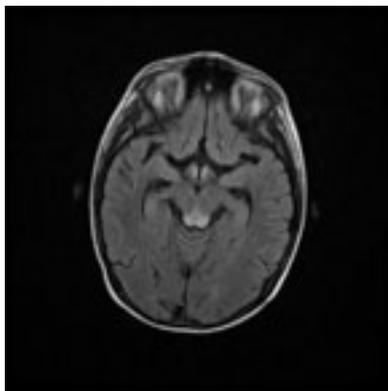


Figura 1.

P091

TERAPIA CON IMMUNOGLOBULINE PER VIA ENDOVENOSA: STUDIO PROSPETTICO MULTICENTRICO DI SORVEGLIANZA DEGLI EFFETTI COLLATERALI

Soresina A, Rondelli R, Quinti I, Marzollo R, Agostini C, Spadaro G, Martino S, Pietrogrande MC, Putti C, Aricò M, Moschese V, Consolini R, Plebani A, Pession A, Ugazio AG
Comitato Strategico e di Studio Immunodeficienze (CSS ID) AIEOP

Numerosi sono i lavori sulla tollerabilità delle Immunoglobuline per via endovenosa (IVIG) con diversa incidenza e gravità di eventi avversi (ADR). Obiettivo del nostro studio prospettico multicentrico osservazionale è stato di identificare e quantificare le ADR durante e dopo infusione di un singolo prodotto di IVIG. I criteri di inclusione prevedevano la diagnosi di Immunodeficienza con difetto anticorpale, primitivo (IDP) o secondario, di malattie immunomediata del SNC o altre patologie che richiedano terapia con IVIG. I pazienti (pz) sono stati arruolati durante i primi 6 mesi dello studio (giugno-

dicembre 2005) con successivo follow-up di 12 mesi. A dicembre 2006 è stata chiusa la raccolta dei dati di follow-up. Tutti i pz hanno utilizzato il prodotto IVIG Kedrion, che rappresenta oltre l'80% del mercato nazionale di IVIG nell'ambito del programma di autosufficienza di emoderivati. Per la raccolta dei dati è stato creato ad hoc un agile strumento informatico, la banca dati IGVENA-PMS, strutturata secondo lo schema delle banche dati web-based dell'AIEOP. Sono stati registrati: numero di pz arruolati, numero di infusioni totali e di infusioni associate ad ADR, caratteristiche cliniche e severità delle ADR osservate in un anno dall'arruolamento di ogni pz, incidenza di ADR e incidenza di ADR/pz/anno. Durante i 6 mesi di arruolamento sono stati arruolati 192 pz (84 femmine, 108 maschi) da 10/59. Centri: 178/192 pz erano in IVIG prima dello studio e in anamnesi risultava che 32/178 (18%) avevano presentato ADR lievi/moderate alle IVIG ed erano premedicati con steroidi o antistaminici. 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 un tempo cumulativo di osservazione di 87 anni. Si sono osservate 7 ADR lievi (febre, 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. Le IVIG sono ben tollerate e le ADR osservate sono più frequenti nelle 24 ore successive all'infusione piuttosto che durante l'infusione stessa. Questo suggerisce che la sorveglianza degli effetti collaterali deve sistematicamente prevedere il monitoraggio fino a 24 ore successive all'infusione per meglio definire strategie terapeutiche e migliorare il benessere dei pazienti.

P092

INFEZIONI DA PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRESISTENTI IN PAZIENTI PEDIATRICI IN CHEMIOTERAPIA ANTIBLASTICA: STUDIO COOPERATIVO ITALIANO

Caselli D, Cesaro S, Tropia S, Zanazzo G, Giacchino M, Pecile P,¹ Livadiotti S, Cellini M, Frenos S, Milano GM, Licciardello M, Beretta C, Castagnola E

Dipartimento di Oncoematologia Pediatrica e Cure Domiciliari, Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer, ¹Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi, Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Firenze, Italy

Introduzione e obiettivi. *Pseudomonas aeruginosa* (PA) è un germe con resistenze intrinseche a molti antibiotici ed antisettici che può causare gravi infezioni nei pazienti immunodepressi; è il Gram negativo isolato più frequentemente e può colonizzare i pazienti ospedalizzati creando un reservoir da cui l'infezione può diffondersi ad altri ed essere quindi l'origine di un focolaio epidemico. In alternativa, rimanendo clinicamente silente nei periodi di immunocompetenza, può ripresentarsi con una diffusione sistemica durante terapie aggressive come il trapianto. I ceppi multiresistenti sono estremamente difficili da trattare ed associati ad un'alta mortalità. Non esistono dati sulla frequenza e gravità del problema in Italia ed in particolare in pazienti oncoematologici pediatrici.

Metodi. Studio retrospettivo di tutti i casi osservati nei centri partecipanti dal 2000 al 2007. I dati sono stati raccolti su una scheda di segnalazione che comprende anche dettagli sull'antibiogramma del ceppo isolato. Viene definito caso di infezione da PA multiresistente (PAM) ogni paziente non affetto da fibrosi cistica, con un isolamento di P. A. resisten-

te o intermedio ad almeno 3 classi diverse di antibiotici tra le seguenti: penicilline anti pseudomonas, chinolonici, cefalosporine di III-IV generazione, carbapenemici, aminoglicosidi, tetracicline.

Risultati. Sono stati raccolti in 108 pazienti (età 2 mesi -20 anni; 42 LLA, 20 LMA, 2 LMC, 9 LNH, 6 NBL, 5 Sarcomi, 24 altre neoplasie) 109 casi di infezione da P.A., di cui 48 PAM (44%). La mortalità complessiva è stata del 33% (36/109) ma la mortalità dei ceppi PAM è stata del 66% (32/48); 21 pazienti erano sottoposti a TMO che non pare correlato ad un rischio di mortalità maggiore. In 9 pazienti sono segnalate lesioni perineali associate (8,5%).

Conclusioni. Questo studio è a nostra conoscenza il più numeroso ed omogeneo in letteratura. La infezione da PAM rappresenta un problema clinico rilevante ad alta mortalità nei centri AIEOP.

P093

LA DIAGNOSI ONCO-EMATOLOGICA NEI PRIMI TRE ANNI DI VITA: L'ADATTAMENTO DELLA FAMIGLIA E LO SVILUPPO PSICOLOGICO DEL BAMBINO

Capello F,¹ Scrimin S,¹ Pillon M,³ Axia G,¹ Bornstein MH,² Levrero P,³ Dufour C,⁴ Carli M³

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

Introduzione e obiettivi. Lo scopo del lavoro è di comprendere come il la malattia onco-ematologica nei primi tre anni di vita può influenzare lo sviluppo delle abilità cognitive e motorie del bambino e il funzionamento psicologico della famiglia. Pochi studi hanno valutato le conseguenze a lungo termine del tumore in tenera età (Kaleita, Reaman, MacLean, Sather, e Whitt, 1999) e la relazione tra lo sviluppo psicologico del bambino e l'adattamento della famiglia alla malattia (Hoekstra-Weebers, Jaspers, Klip and Kamps, 1999).

Metodi. 47 bambini malati (leucemia=59,5%, tumori solidi=40,5%) tra i 9 e i 40 mesi di età (22 maschi e 25 femmine) e le loro madri sono stati valutati alla diagnosi attraverso un'intervista semi-strutturata con il genitore (EFL_C) e a circa tre mesi dall'inizio delle terapie con una sessione di assessment psicologico con il bambino (Bayley Scales of Infant Development). Inoltre, 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 un ritardo nello sviluppo cognitivo e motorio dei bambini malati rispetto ai dati normativi. La performance cognitiva dei bambini è significativamente correlata con le capacità di coping ($r=.488, p=0.025$), la qualità di vita ($r=.531, p=0.013$) e l'adattabilità alla situazione di malattia ($r=.631, p=0.002$) dei bambini stessi, così come valutati dalla madre. Le variabili legate all'adattamento materno non sono direttamente connesse con lo sviluppo dei bambini, tuttavia nel genitore si presentano un numero maggiore di sintomi da stress post traumatico quando questo si giudica come poco abile nella dimensione del parenting ($r=-0.477, p=0.029$) e con scarse capacità di coping emotivo ($r=-0.578, p=0.006$). Un maggiore distress è associato anche con una scarsa coesione di coppia ($r=-0.535, p=0.015$).

Conclusioni. I piccoli pazienti presentano una performance psicologica carente a tre mesi dalla diagnosi. Le scarse competenze cognitive risultano associate ad una valutazione negativa da parte della madre del coping, della qualità di vita e del-

l'adattabilità del bambino alla diagnosi. Questo merita una particolare attenzione clinica e la pianificazione di specifici interventi, date le ripercussioni che questo potrebbe avere sullo sviluppo psicologico successivo.

P094

COMPLICANZE CORRELATE AL CATETERE VENOSO CENTRALE (CVC) IN BAMBINI CON PATOLOGIA ONCO-IMMUNO-EMATOLOGICA: STUDIO PROSPETTICO ANNI 2001-2007

Giacchino M,¹ Pinon M,² Bezzio S,² Calabrese R,² Longo S,³ Barisone E,¹ Saracco P,⁴ Fagioli F¹

¹SC Onco-Ematologia Ospedaliera ASO OIRM-S. Anna, Torino; ²Dipartimento di Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza Università di Torino; ³Dipartimento di Cardiologia-Cardiologia ASO OIRM-S. Anna, Torino, Italy

Introduzione e obiettivi. I CVC a lunga permanenza rappresentano un presidio insostituibile nel trattamento dei pazienti affetti da malattia onco-immuno-ematologica. L'obiettivo dello studio è determinare l'incidenza e i fattori di rischio delle complicanze associate alla presenza del CVC.

Metodi. Sono stati valutati i pazienti afferenti all'Ospedale Infantile Regina Margherita in cui è stato inserito un CVC a lunga permanenza nel periodo compreso tra il 01/01/2001 ed il 31/12/2007. I dati sono stati raccolti in modo prospettico mediante database. È stata eseguita un'analisi univariata sulle complicanze sia totali sia stratificate a seconda del tempo di insorgenza (precoci = entro 1 mese dall'inserzione; tardive = oltre 1 mese). A partire dall'analisi univariata stratificata è stata inoltre effettuata un'analisi multivariata. I fattori di rischio indagati sono stati: tipo, numero di lumi, diametro del CVC, sito di inserzione, patologia di base, età del paziente.

Risultati. Sono stati inseriti 915 CVC in 748 bambini (307.846 gg CVC). Si sono verificate 635 complicanze con incidenza di 2,06/1000 gg CVC, rappresentate nel 48% dei casi da eventi infettivi (1/1000 gg CVC), nel 49% da eventi meccanici (1/1000 gg CVC) e nel 2% da eventi trombotici (0,05/1000 gg CVC). In particolare sono state riscontrate le seguenti incidenze (eventi/1000 gg CVC): occlusioni: 0,85; dislocamenti: 0,3; batteriemie CVC correlate: 0,55; infezioni del tunnel: 0,10; trombosi: 0,05. Sono emersi come fattori di rischio significativi per le occlusioni: CVC multilume, diametro superiore a 6,6 French, inserzione in giugulare e in bambini affetti da LLA; per i dislocamenti: bambini con meno di 3 anni ed affetti da LLA; per le batteriemie CVC correlate: CVC tunnellizzati, multilume ed inseriti in giugulare; per le infezioni del tunnel: CVC multilume ed età minore di 3 anni; per le trombosi: bambini affetti da LLA e CVC inseriti in giugulare.

Conclusioni. L'incidenza delle complicanze è analoga o inferiore a quanto riportato in letteratura. Ciò depone a favore di un'attenta gestione dei CVC presso il nostro Centro. La dimostrazione di specifici fattori di rischio può essere di aiuto nell'identificazione di una strategia preventiva. Dallo studio derivano le seguenti raccomandazioni: preferire l'inserzione del CVC da vena succlavia, introdurre CVC di piccolo diametro, optare per CVC monolume qualora la terapia richiesta lo consenta, mantenere il CVC in situ per il tempo strettamente necessario.

P095**CREAZIONE DI UNA STRUTTURA INFORMATICA CHE SOTTENDA UNA RETE ONCOLOGICA PEDIATRICA REGIONALE**Murano A,¹ Menna G,² Parasole R,² Petruzzello F,² Poggi V²¹Dipartimento di Scienze Fisiche, Università degli Studi di Napoli Federico II; ²Dipartimento di Oncologia, AORN Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. Nella regione Campania diagnosi, cura ed assistenza ai pazienti pediatrici affetti da patologie oncoematologiche sono assicurati esclusivamente da due strutture ad alta specializzazione, entrambe localizzate a Napoli, una delle quali è il Dipartimento di Oncologia Pediatrico dell'AORN Santobono-Pausilipon (DOP-SP). Uno dei fini perseguiti dal DOP-SP è quello della creazione di una rete oncologica pediatrica regionale sottesa da una struttura informatica. A tal scopo è stata attivata una collaborazione con il Dipartimento di Scienze Fisiche - Sezione di Informatica - dell'Università "Federico II" di Napoli ed è stata avviata la realizzazione di un sistema informativo per la gestione automatizzata del percorso clinico dei pazienti afferenti al DOP-SP.

Metodologie. Il fine è perseguito applicando tecnologie innovative di Web Services su reti locali interne all'uso realizzate, integrate con reti esterne già esistenti (internet). Relativamente all'hardware è stata disegnata ed è in fase di implementazione una "infrastruttura tecnologica". È stato sviluppato un software in grado di gestire pazienti in regime di DH e ricovero ordinario, mediante una "cartella clinica intelligente" capace di "assistere" gli operatori sanitari, nello svolgimento delle loro mansioni. Tale cartella è accessibile sia in locale che in remoto, tramite accessi protetti realizzando di fatto la "rete informatica". Inoltre, sono state sperimentate applicazioni di nuove tecnologie informatiche per il controllo automatico dei dati clinici (per esempio tramite l'uso di RFID) e la gestione di situazioni di emergenza.

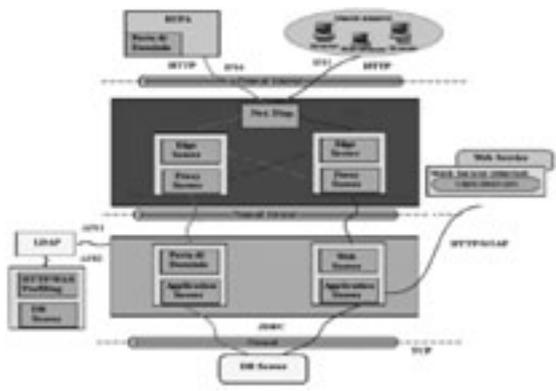


Figura 1. Infrastruttura tecnologica.

Risultati e Conclusioni. Il sistema garantisce la continuità terapeutica e l'erogazione di cure adeguate attraverso la registrazione informatizzata del percorso clinico della malattia, con la possibilità di aggiornarlo nel tempo e di pianificarne l'evoluzione e la sua condivisione. Il sistema assicura la generazione di dati elettronici coerenti ed affidabili relativi al singolo paziente, limitando al minimo l'errore umano. Permette la condivisione dei dati da parte anche di operatori remoti, inclusi pediatra di base e famiglia, previo livelli predefiniti di accesso. Il progetto vuole sperimentare un approccio di tipo

ingegneristico, attraverso la creazione di un'architettura informatica completa ed efficiente e l'utilizzo di tecnologie innovative di sistema e di rete, teso all'organizzazione ed alla condivisione delle informazioni cliniche.

P096**MENINGOENCEFALITE DA ENTEROVIRUS IN PAZIENTE CON IMMUNODEFICIENZA DA DEFICIT DI STAT1**Marzollo R, Bennato V, Schumacher RF, De Martiis D, Forino C, Tettoni KC, Aliprandi S, Balduzzi B, Molinaro S*, Bardini P*, Mardighian D[^], Porta F*Oncoematologia Pediatrica e Trapianto di Midollo Osseo, Spedali Civili di Brescia; Anestesia e Rianimazione Pediatrica, Spedali Civili di Brescia; Neuroradiologia, Spedali Civili di Brescia, Italy*

Introduzione. STAT1 (*Signal Transducer and Activator of Transcription 1*) è una molecola fondamentale per la trasduzione del segnale interferon (IFN)-indotto lungo la via JAK/STAT. Seguendo l'attivazione STAT1 forma omodimeri (gamma activating factor GAF) o trimeri (STAT1/STAT2/ p48 chiamati IFN stimulated gamma factor 3 ISGF3). L'assenza della molecola funzionale comporta una maggiore suscettibilità a infezioni da micobatteri e virus. Gli Enterovirus sono ubiquitari e appartengono alla famiglia dei *Picornaviridae*; causano encefaliti, paralisi e miocarditi. Ne fanno parte i *Poliovirus*, *Coxsackievirus*, *Echovirus* e il tragicamente famoso *Enterovirus 71*, che da marzo 2008 sta causando un'epidemia in Cina con decine di morti e migliaia di contagiati. Riportiamo il caso di un paziente con deficit di STAT1 e meningoencefalite da Enterovirus.

Caso clinico. Paziente, nato nel 2004, secondogenito di una coppia pakistana consanguinea. A 10 mesi sviluppa una micobatteriosi atipica a localizzazione polmonare, associata ad infezione da Aspergillo. Successivamente presenta numerosi infezioni, prevalentemente virali (Herpes cutaneo, polmonite interstiziale da CMV con insufficienza respiratoria, sepsi associata a CID e stato di male epilettico). Gli episodi sono tutti caratterizzati da iperleucocitosi. Nel 2007 giunge alla nostra attenzione per sospetta immunodeficienza. I primi accertamenti permettono di escludere una forma di SCID classica, una LAD o una CGD. Viene però evidenziata una ridotta risposta funzionale dei PMN allo stimolo con INF-gamma. Nel sospetto di un deficit dell'immunità innata viene analizzato STAT1 con riscontro di una mutazione in omozigosi con effetto di *exon-skipping*. In attesa di TMO su richiesta dei genitori intraprende un viaggio in Pakistan da dove ritorna anticipatamente per la comparsa di febbre, diarrea ed astenia. Le condizioni peggiorano velocemente e per sopore e rigor esegue TC encefalo (normale) e PL che dimostra leucocitosi linfocitica e ipoglicorachia. Le culture batteriologiche rimangono sterili, anche per micobatteri, ma la ricerca di Enterovirus risulta positiva. La RMN seguente dimostra anche una trombosi estesa dei seni venosi laterali e del torcolare. In assenza di una terapia specifica il decorso è prolungato, ma a distanza di 2 mesi il paziente è attualmente a domicilio in terapia con warfarin in attesa di TMO.

Conclusioni. Riportiamo il primo caso di infezione del SNC da *Enterovirus* in paziente con deficit di STAT1.

P097

NEUROTOSSICITÀ ACUTA E INGRAVESCENTE IN CORSO DI TERAPIA CON CICLOSPORINA-A (CSA): SINDROME DELL' ENCEFALOPATIA POSTERIORE REVERSIBILE (PRES)

Paone G,¹ Prete A,¹ Rondelli R,¹ Kleinschmidt K,¹ Tani G,² Pession A¹

¹Ematologia e Oncologia Pediatrica Lalla Seragnoli Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Bologna; ²Radiologia Pediatrica, Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Bologna, Italy

Introduzione. La PRES è un'entità clinica caratterizzata da cefalea, vomito, convulsioni, alterazioni di visus e stato di coscienza e ipomagnesemia, preceduta da ipertensione arteriosa acuta e che spesso si associa a terapia immunosoppressiva/citotossica quale CsA e/o trapianto di cellule staminali emopoietiche allogene (TCSEa). L'eziopatogenesi è ignota: probabili turbe dell'autoregolazione del circolo cerebrale e dell'endotelio causano edema e vasospasmo. Nei casi sottoposti a terapia con CsA, la PRES è causata dal danno diretto della CsA sulla sostanza bianca. Il gold standard per la diagnosi è la RM associata a studio di diffusione che rileva edema localizzato nella sostanza bianca parieto-occipitale, ipercaptante nelle sequenze T2. La sindrome, ancora poco nota, è virtualmente reversibile instaurando celermente adeguata terapia.

Materiali e metodi. Dal 2003 al 2008, in 6 pz, M/F 5/1, età compresa tra 3 e 17aa, sottoposti a TCSEa da MUD (4) e sibling (2), perchè affetti da talassemia major (2), LAM (2), drepanocitosi (1) e anemia di Blackfan-Diamond (1), è comparsa sintomatologia neurologica acuta, caratterizzata da ipertensione, convulsioni (3 tonico-cloniche generalizzate, 3 assenze) e ipomagnesemia. In 2 pz era presente nistagmo, in 1 cecità centrale e in 1 shock settico. Quattro pz hanno sviluppato stato di male e coma. I sintomi sono comparsi tra i giorni +11 e +83 post-TCSEa; in corso di terapia con CsA, con livelli plasmatici compresi tra 95 e 690 ng/mL. La RM in 3 pz, la TC in 1, TC+RM in 2 e studio con tecnica di diffusione in 1 hanno documentato in tutti i casi sofferenza della sostanza bianca sottocorticale e, nella RM, iperintensità di segnale nelle sequenze T2 in sede cortico-sottocorticale; la tecnica di diffusione ha mostrato edema citotossico. La remissione delle manifestazioni neurologiche si è ottenuta entro 36 ore dalla sospensione della CsA mentre si è assistito ad un graduale miglioramento del quadro radiologico in tutti i pz. Al momento attuale nessuno dei 6 pz osservati presenta segni o sintomi di deficit neurologico.

Conclusioni. Nella nostra esperienza la tempestiva interpretazione dei sintomi, l'applicazione di specifiche tecniche di imaging, l'immediata sospensione della CsA e l'avvio di un trattamento sintomatico adeguato hanno garantito la totale e rapida reversibilità del quadro clinico (36-48 ore) e radiologico (7-10 giorni), consentendo una restituito ad integrum, senza reliquati funzionali e anatomici.

P098

VERSO L'INTEGRAZIONE: PRIMO MONITORAGGIO DELLO STRUMENTO DEL "LUNCH MEETING"

Camera F, Pinto A, Martino ML, Gallo S, Menna G, Poggi V
Dipartimento di Oncologia, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli; Dipartimento di Scienze-Relazionali, G. Iacono, Università degli Studi di Napoli Federico II, Italy

Introduzione e obiettivi. Negli ultimi anni è sempre più ogget-

to di attenzione l'integrazione dell'equipe socio-sanitaria entro i contesti ospedalieri. Il continuo dialogo tra varie figure professionali implicate nella relazione terapeutica rappresenta la possibilità concreta di offrire una presa in carico efficace e convergente dei bambini affetti da patologie gravi implementando così, in loro, un senso di continuità e contenimento.

Metodo. È stato introdotto, da circa 7 mesi, dal Direttore del Dipartimento di Oncologia lo strumento del *lunch meeting*. Spazio bisettimanale conviviale ed empatico, coincidente con la pausa pranzo, il *lunch meeting* si struttura come *gruppo di lavoro* composto da 10/15 operatori: medici, infermieri, psicologi, insegnanti. L'intento è stato quello di creare uno spazio di pensiero e di dialogo/aggiornamento intorno a casi clinici di particolare interesse o altra problematica inerente la dimensione ospedaliera. L'interessante evolversi delle dinamiche relazionali ha indotto il Servizio Psicologico del Dipartimento ad introdurre nel contesto uno psicologo osservatore per impostare una prospettiva di analisi fenomenica dei processi gruppal.

Risultati. Da una prima analisi psicodinamica del materiale osservativo è stato possibile evincere alcuni aspetti salienti. Il leader/primario, abbandonando quote di potere, ha favorito una orizzontalità del gruppo; il gruppo, però, si è orientato prevalentemente sulla dimensione medica nel desiderio di ridare all'equilibrio instabile delle emozioni, l'ordine e la quiete dell'omeostasi: non sono mancate espressioni di aggressività e di conflitto tra partecipanti. La creazione di uno spazio "altro" di confronto ha permesso di implementare il senso di appartenenza al contesto, la coesione di gruppo ed il contenimento/nutrimiento reciproco di ansie e dubbi bypassando l'interesse del singolo verso l'interesse comune del gruppo: la qualità dell'assistenza offerta ai pazienti.

Conclusioni. Il continuo confronto rappresenta la possibilità di esplicitare i "non-detti" e i "fantasmi" che spesso si annidano, improduttivamente, entro le relazioni professionali. Il *lunch meeting* può favorire la creazione di un clima relazionale più caldo e "nutritivo" tra colleghi, nonché, una migliore qualità dell'assistenza per sostenere senza "contraddizioni" il percorso terapeutico della famiglia. L'equipe di psicologi sta mettendo in atto strumenti di "analisi narrativa" del materiale testuale per poter monitorare l'utilizzo di tale strumento.

P099

OSPEDALIZZAZIONE E ADOLESCENZA: ESPERIENZA DI UN CORTOMETRAGGIO

Pinto A, Camera F, Giuliano A, d'Aniello D, Palmentieri B, Cadoni A, Menna G

Dipartimento di Oncologia, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. Dall'esigenza di poter assicurare un sostegno ai bambini che vivono il trauma relativo alla malattia, nascono i Laboratori dell'Anima, una serie di attività che, utilizzando tecniche ludiche ed artistico-espressive, favoriscono l'output delle complesse dinamiche emotive. È noto come gli adolescenti, per la peculiarità delle loro strategie difensive, oppongano nella relazione barriere che ostacolano la compliance terapeutica. Il fine di questi laboratori è creare uno spazio, dove accogliere e condividere le loro vicissitudini emotive nonché i desideri e i bisogni. Abbiamo, pertanto, tentato attraverso l'esperienza grupale di ricomporre le varie soggettività, di dare un senso alle loro esperienze e di favorire la ricostruzione della rete di rapporti con i pari interrotta dall'ospedalizzazione.

Metodo. Il lavoro ha coinvolto un gruppo di adolescenti formato da 8 ragazzi di età compresa tra i 13 ed i 16 anni, di cui 5 maschi e 3 femmine, con percorsi terapeutici diversi. Di questi la metà erano già familiari agli operatori, l'altra metà, invece, completamente sconosciuti. Il gruppo motivato dalla creazione di un cortometraggio, ha elaborato un testo in cui appare molto evidente il bisogno di narrarsi e di definire il significato della malattia e del suo contesto. La storia nelle sue linee essenziali è quella di uno psicologo che coinvolge i bambini nei suoi "giochi" e che li aiuta e li sostiene creando un clima familiare all'interno di un contesto difficile come l'ospedale.

Risultati. Il pretesto della partecipazione al Premio Massimo Troisi (premio dedicato a opere di genere comico) e la collaborazione di professionisti del campo cinematografico, quali registi e cameraman, ha consentito ai ragazzi di sentirsi parte di un progetto "importante" in cui per la prima volta erano protagonisti senza il peso della malattia. Inoltre sono venute alla luce delle tematiche che tutti i ragazzi hanno esperito allo stesso modo: la necessità di un sostegno psicologico, la frustrazione dell'ospedalizzazione forzata, il bisogno di affiliazione.

Conclusione. Il cortometraggio è riuscito ad avere un riscontro positivo tanto da portare una partecipazione spontanea dei ragazzi, anche di quelli che difficilmente prima si mostravano disponibili nei confronti degli operatori, mettendo in atto comportamenti oppositivi e di evitamento. La formazione di microgruppi sta aiutando i ragazzi nella rielaborazione della loro esperienza ospedaliera grazie alla condivisione delle angosce, e, nel contempo li sta aiutando a riallacciare un rapporto sano con i propri pari, perso a causa della malattia.

P100

TRA MENTE E CORPO: L'INFANT OBSERVATION NEI REPARTI DI ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA

Barone A

Dipartimento di neuroscienze e scienze del comportamento-unità di psicologia clinica e psicoanalisi applicata, Università degli studi di Napoli, Federico II, Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. Il contributo che la psicologia clinica ad orientamento psicoanalitico può offrire in ambito ospedaliero, si articola in proposte operative che si sviluppano su due fronti, in prima e in seconda linea: nel primo caso attraverso interventi di sostegno all'interno di una relazione a diretto contatto con la sofferenza psichica dei pazienti e dei familiari, nel secondo caso attraverso l'elaborazione delle difficoltà incontrate dall'équipè medica, soprattutto dal personale in

formazione. Questa progettazione poggia le basi su una visione unitaria della sofferenza fisica e del dolore mentale, in un approccio relazionale e globale all'unità mente corpo: in tal senso appare di fondamentale importanza affinare la sensibilità del personale medico e paramedico che lavora con bambini e genitori, soprattutto in quei casi in cui si è a contatto con angosce primitive, di perdita, separazione, lutto.

Metodo. È questo il caso di patologie onco-ematologiche pediatriche dove l'introduzione della metodologia psicoanalitica dell'Infant Observation può rappresentare una risorsa in diversi momenti, sia nel lavoro di contenimento con i genitori di bambini portatori di malattie croniche e mortali, sia nel lavoro con i diversi operatori che si occupano di loro, al fine di comprendere e contenere le proprie e le altrui angosce. Tale metodologia può essere attuata, quindi, sui due fronti sopra citati: nell'ambito del lavoro con bambini e famiglie attraverso l'ingresso in reparto dello psicologo-osservatore; nell'ambito del supporto rivolto al personale ospedaliero attraverso la strutturazione di spazi formativi e di riflessione.

Risultati. Nel primo caso, lo psicologo, attraverso una presenza attenta ma non intrusiva, può fornire ai genitori ascolto e comprensione, trasmettendo una "dimensione osservabile" del bambino, del suo disagio e della sua sofferenza, elicitando l'emergere di quelle parti adulte della personalità indispensabili per prendersi cura del proprio bambino. Nel secondo caso invece, la redazione dei protocolli osservativi e la loro discussione in gruppo permette di stimolare, soprattutto negli operatori in formazione, la costruzione di uno spazio di pensiero condiviso, entro il quale riflettere sugli aspetti psicologici caratterizzanti la relazione professionista/paziente, confrontandosi sulle esperienze vissute e sui vissuti emotivi da queste elicitati. In entrambi i casi la metodologia attuata mira ad affinare la capacità di stimolare l'esperienza di tollerare le angosce e l'attesa, accettare l'impotenza e la frustrazione senza perdere la speranza e continuando a sostenere la fiducia dei piccoli pazienti fondamentale per il lavoro terapeutico.

Conclusioni. L'osservazione e l'affinamento della sensibilità empatica può pertanto rappresentare un metodo utile nei contesti ospedalieri e/o di cura, introducendo variabili mentali che promuovono positivi processi di trasformazione e di integrazione di quella scissione corpo-mente che troppo spesso caratterizza il lavoro sanitario. Il lavoro osservativo, infatti, permette di ricondurre il pensiero non solo sui bisogni fisici di pazienti e operatori, ma anche e soprattutto sulla dimensione emotiva e relazionale del loro reciproco rapporto, favorendo un livello di assistenza qualitativamente migliore.

DATI PER LETTI

L001

TOSSICITÀ DA MTX CORRELATA A MUTAZIONE DEL GENE MTHFR C677T IN UN BAMBINO AFFETTO DA LLA

Galea E, Dello Russo A, Mandaglio R, Galati MC, Rocca P, Consarino C

U.O. Ematologia ed Oncologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera Pugliese-Ciaccio Presidio De Lellis, Viale Pio X, Catanzaro, Italy

La mutazione del gene metil tetra-idrofolato redattasi (MTHFR) è ritenuta la più frequente causa di alterato metabolismo dei folati. Il difetto genetico più comune è rappresentato dalla mutazione C677T. L'attività dell'enzima risulta ridotta del 50-70% nei soggetti omozigoti e l'incidenza di tale mutazione in omozigosi nella popolazione italiana è del 23,08%. La forma omozigote è significativamente associata ad un aumento di tossicità in corso di terapia con methotrexate (MTX). Descriviamo il caso di un paziente affetto da C-ALL trattato secondo protocollo AIEOP LLA 2000 (fascia di rischio MR), che presenta tossicità neurologica ed epatica durante la terapia con MTX. Paziente S.F., anni 11 all'esordio, presenta durante il trattamento di consolidamento con MTX-HD (2 gr/mq) il ciclo, emisindrome sinistra caratterizzata da disartria, ipostenia arto superiore destro e paresi centrale del VII° paio di nervi cranici. Gli esami radiologici dell'encefalo (TAC ed Angio-RMN) non evidenziano lesioni focali del parenchima cerebrale né segni di ipertensione endocranica. La sintomatologia regredisce in 48 ore con terapia anti-edemigena. Il paziente continua il trattamento di consolidamento e le fasi successive senza ulteriori complicanze. Dopo otto settimane dall'inizio della terapia di mantenimento con 6-mercaptopurina (6MP) e MTX per os e I.T., il paziente presenta cefalea intensa, che si accentua in ortostatismo, vomito, non segni neurologici focali. L'esame TC encefalo con mdc evidenzia: zona ipodensa in sede fronto-parietale profonda dx come da ischemia senza segni di ipertensione endocranica. L'Angio-RMN encefalo arteriosa e venosa, in particolare il FLAIR, non evidenzia deficit di irrorazione. La sintomatologia regredisce in 24 ore con terapia anti-edemigena; in concomitanza aumento delle transaminasi (30 volte il v.n.) e della latticodeidrogenasi (3 volte il v.n.) associati a rilievo ecografico di epatomegalia, ad ecostruttura finemente disomogenea esente da lesioni focali e modesta splenomegalia. Lo studio trombofilico evidenzia valori normali di omocisteina e mutazione del gene MTHFR C677T in omozigosi. La tossicità da MTX correlata all'alterato metabolismo dei folati indotto dalla mutazione del gene MTHFR C677T in omozigosi impone la necessità di individuare una strategia terapeutica che riduca la tossicità del trattamento mantenendone l'efficacia.

L002

ANEMIA DI FANCONI E PREDISPOSIZIONE A TUMORI SINCRONI

Fuser M, Soloni P, Toffolutti T, Carli M, Bisogno G

Clinica di Oncoematologia e Unità di Radiologia, Dipartimento di Pediatria di Padova, Azienda Ospedaliera di Padova, Italy

Introduzione. Alcuni autori hanno segnalato l'associazione tra anemia di Fanconi e neoplasie sincrone. A supporto di questa ipotesi si segnala il caso di una bimba plurimalformata con sospetta anemia di Fanconi che ha sviluppato in contemporanea tumore di Wilms e neuroblastoma.

Caso clinico. Una bambina plurimalformata (dismorfismi facciali, microcefalia, polidattilia preassiale destra, atresia ano-rettale, lussazione bilaterale delle anche, difetti interventricolari multipli, slargamento della quarta costa) nata a termine da parto eutocico dopo gravidanza regolare, presenta al settimo mese di vita una massa palpabile in emiaddome destro. Ricoverata per accertamenti, esegue TAC che mostra la presenza di multiple masse addominali: una sostituita ampiamente il rene destro, una in loggia surrenalica sinistra estesa al retroperitoneo e una in regione sovraclaveare sinistra. Gli esami ematochimici dimostrano elevazione di enolasi neuronospecifica, alfafetoproteina e dei metaboliti urinari delle catecolamine. La piccola sottoposta a duplice indagine bioptica risulta affetta da tumore di Wilms (rene destro) e neuroblastoma (surrene sinistro e linfonodi). Inizia pertanto terapia secondo protocollo neuroblastoma infant a dosi ridotte (pro/kg). Nel frattempo veniva inviato materiale per test al desossibutano nel sospetto di anemia di Fanconi. Al termine del primo ciclo con carboplatino ed etoposide le condizioni della bimba peggiorano concomitantemente a prolungata e grave pancitopenia, segni di coagulazione intravascolare disseminata, elevazione degli indici di flogosi e della temperatura corporea, malattia veno-occlusiva del fegato. La bambina muore per arresto cardiaco ed emorragia polmonare dopo 7 giorni di cure intensive e a 15 giorni dalla fine della chemioterapia. La diagnosi di anemia di Fanconi è risultata "altamente sospetta" secondo il test al desossibutano riuscito purtroppo su una sola metafase.

Conclusioni. La presenza di tumori sincroni è una rarissima condizione ma già segnalata in pazienti con anemia di Fanconi. Questa condizione va quindi sospettata in caso di doppi tumori e soprattutto in presenza di malformazioni. Tale informazione risulta essenziale anche per il trattamento del paziente per il quale le dosi di chemioterapia vanno ridotte in maniera importante rispetto a quanto si fa usualmente.

L003

I BISOGNI E LE ASPETTATIVE DELL'ADOLESCENTE CON CANCRO

Massimo LM

Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica Istituto Gianni-Gaslini, IRCCS, Genova, Italy

Introduzione e obiettivi. Nell'adolescenza qualsiasi handicap induce cambiamenti che possono ripercuotersi sull'intera famiglia, può crearsi una discrepanza tra la maturazione fisica e quella cognitiva e i due percorsi possono seguire vie non parallele. Un adolescente ammalato gravemente è costretto a un brusco cambiamento di vita, il coping e il mantenimento di un buon equilibrio diventano essenziali. Possono verificarsi difficoltà di rapporto tra medico e paziente perché nel giovane malato si attivano meccanismi di difesa, alterazioni della percezione, delle emozioni, dell'accettazione, della comunicazione, delle capacità razionali e di giudizio. Spesso l'ambiente ospedaliero non prende in adeguata considerazione i bisogni e le aspettative del bambino e dell'adolescente e non cerca di conoscere se le sue necessità vengono soddisfatte. Se l'adattamento e il controllo delle emozioni avvengono con successo la qualità di vita sarà accettabile per l'intero nucleo familiare.

I bisogni dell'adolescente malato. La maggior parte degli adolescenti esprime il bisogno di condividere le scelte che li riguardano, di essere informati sulla malattia, sulla terapia, sugli effetti a breve e lungo termine, su possibili danni, sulla loro futura condizione sessuale. Alcuni chiedono consigli sull'attività

fisica, sportiva e sulla nutrizione. Oggi internet è divenuto un facile mezzo fai-da-te per conoscere ogni cosa, inclusa la medicina. Il medico e lo psicologo debbono porre una particolare attenzione a questo e con l'ascolto e il dialogo debbono precedere fonti errate di notizie e malintesi.

Conclusioni. I bisogni e le aspettative degli adolescenti malati richiedono attenzioni particolari. Risposte insufficienti e affrettate possono provocare insoddisfazione, disturbi psicologici e psicosomatici, crisi depressive, frustrazione, ansia, stress, rabbia, dolore. Il curante dovrebbe sempre valutare se i bisogni del suo paziente adolescente sono soddisfatti, se le sue aspettative sono raggiunte, in modo da evitare che in seguito si instauri l'insidioso post-traumatic stress. In questo largo spettro il medico si può trovare in grandi difficoltà che deve superare mediante un approccio personalizzato e accurato. Lo psicologo clinico, adeguatamente preparato, diventa un collaboratore indispensabile, che dovrebbe essere costantemente presente nell'ospedale per prevenire il disagio.

L004

MULTIPLE MALFORMAZIONI VASCOLARI BENIGNE AD ANDAMENTO SEVERO: UN CASO EMBLEMATICO DELLA RARA SINDROME DI BEAN

Petruzzello F,¹ Parasole R,¹ Barberi A,⁴ Marchese L,¹ Martone A,² Menna G,¹ Marra N,¹ Buonanno MT,¹ Campanile R,³ Graziano U,³ D'Onofrio V,⁵ Poggi V¹

¹SC di Ematologia Oncologica e ²SC di Chirurgia Oncologica, Dipartimento di Oncologia; ³SC di Chirurgia Pediatrica e d'Urgenza Dipartimento di Scienze Chirurgiche; ⁴SC di Radiologia Generale e ⁵SC di Anatomia Patologia, Dipartimento dei Servizi, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. La sindrome di Bean o sindrome del nevo boloso angiomaticoide è una rara patologia in cui morbilità e mortalità dipendono dal grado di coinvolgimento degli organi. La natura delle lesioni è benigna, ma la malattia può avere un andamento aggressivo, a volte fatale. Riportiamo il caso di un bimbo di nove anni affetto da sindrome di Bean, con multiple malformazioni vascolari che, sebbene benigne, ne compromettono la qualità di vita e lo espongono a rischio elevato di emorragie.

Metodi e Risultati. I tratti salienti della storia clinica del paziente sono così riassunti: angioma congenito al torace, progressione delle lesioni con l'età, mancata risposta a terapia chirurgica e medica con Interferone e cortisone, invaginazioni intestinali ed emorragie digestive, anemia sideropenica e coagulopatia da consumo. Il bambino presenta angiomi diffusi a testa, collo, addome, arti, mani, torace e organi ipocondriaci. Le lesioni craniche erodono il tavolato; quelle del tronco hanno un parziale sviluppo endotoracico. Il tratto gastrointestinale (soprattutto colon) è estesamente coinvolto. La severa anemia da perdita e da sequestro richiede trasfusioni settimanali. Scopo dello studio è quello di bloccare la progressione delle lesioni mediante terapia combinata chirurgica sulle lesioni gastroenteriche sanguinanti e medica con talidomide. La talidomide è un noto farmaco ad azione antiangiogenetica, antiproliferativa ed antinfiammatoria, già usato con successo in casi di angiodisplasia intestinale. Il programma terapeutico prevede trattamento chirurgico delle lesioni sanguinanti e una dose giornaliera di 25 mg/die di talidomide (1 mg/kg/die). La risposta alla terapia sarà valutata dopo 1 mese in base ad assenza di nuove lesioni angiomatiche e stazionarietà delle preesistenti. In caso di risposta la terapia sarà proseguita per almeno 3-6 mesi.

Conclusioni. Malgrado non esista un trattamento specifico

per la sindrome di Bean il clinico deve cercare di alleviare gli inestetismi della malattia e di contenere le emorragie spesso fatali. La talidomide per il costo contenuto, la buona tollerabilità e l'uso già noto in pediatria potrebbe essere il farmaco ideale per questa grave forma di sindrome di Bean.

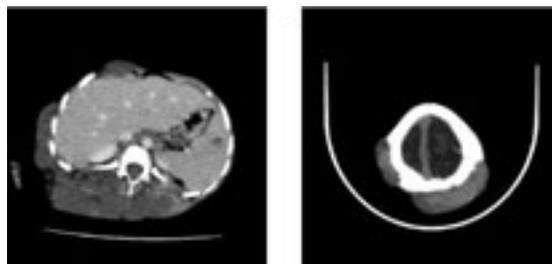


Figura 1. TAC: le neoformazioni vascolari coinvolgono anche gli organi e quelle a livello cranico erodono il tavolato.

L005

VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON CLOFARABINA NEI PAZIENTI PEDIATRICI CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

Andresciani E,¹ Ambrosini Spinella F,¹ Bagagiolo S,¹ Carloni I,² Ciuccarelli F,¹ Moretti V,¹ Pierani P,² Pompilio A¹

¹Farmacia Galenica; ²Oncoematologia Pediatrica Azienda Ospedale Riuniti Ancona Presidio Alta Specializzazione G. Salesi, Italy

Introduzione e obiettivi. La leucemia linfoblastica acuta rappresenta l'80% dei casi di leucemia pediatrica con una incidenza annuale di 3-4 nuovi casi ogni 100.000 bambini di età compresa tra 0 e 15 anni. Il 25% circa dei pazienti sottoposti a regimi polichemioterapici tuttavia presenta una recidiva di malattia o una forma refrattaria. La clofarabina, un nucleoside purinico che agisce come antimetabolita, nel 2006 ha ottenuto l'approvazione dall'EMA per il trattamento dei pazienti pediatrici che hanno sviluppato recidive o che sono refrattari ad almeno due precedenti trattamenti ed essendo impiegato per una malattia rara (il numero di pazienti affetti da tale patologia risulta comunque basso) è stato qualificato come "farmaco orfano". L'AIFA lo ha inserito tra i farmaci sottoposti a monitoraggio intensivo, per i quali è previsto l'obbligo di segnalare tutte le sospette reazioni avverse gravi e non gravi, attese e non attese, al fine di poterne più adeguatamente valutare il profilo di sicurezza. Nonostante il costo elevato, studi farmacoeconomici collocano la clofarabina all'interno del range calcolato per i farmaci oncologici in Italia (27.013 euro/LYG). L'obiettivo dello studio è stato valutarne l'efficacia e gli effetti collaterali in due pazienti sottoposti a trattamento nel reparto di oncoematologia pediatrica.

Metodi. Lo schema di trattamento da scheda tecnica prevede: 52 mg/m² per cinque giorni con un trattamento ripetuto dopo sei settimane ed una risposta attesa dopo 1-2 cicli. Nel reparto di Oncoematologia Pediatrica dell'Ospedale Salesi di Ancona sono in terapia con clofarabina due pazienti, di 7 ed 11 anni, entrambi affetti da LLA in terza recidiva midollare. Lo schema terapeutico applicato è stato il seguente: il primo paziente, già sottoposto a due TMO allogeneici da familiare HLA compatibile, ha ricevuto 40 mg/mq/die per 5 giorni nel primo trattamento e 52 mg/mq/die per 5 giorni nel secondo; il secondo paziente già sottoposto a TMO allogeneico da MUD ha ricevuto 52 mg/mq/die per 5 giorni associato a etoposide 15 mg/mq e ciclofosfamide 400 mg/mq nel primo trattamento e 52 mg/mq/die per 5 giorni nel secondo per l'ec-

cessiva tossicità ematologica del primo ciclo.

Risultati e conclusioni. Entrambi i pazienti hanno ottenuto la remissione completa di malattia alla ripresa midollare. Non si sono registrati effetti collaterali rilevanti se non una prolungata pancitopenia nel secondo paziente che ha ricevuto il primo ciclo di terapia combinata.

LO06

LINFOMA DI BURKITT TONSILLARE ISOLATO IN ETÀ PEDIATRICA. DESCRIZIONE DI 2 CASI

Russo D, Macaluso A, Napolitano S,¹ Di Marco F, Grigoli A, D'Amore E,² D'Angelo P

U.O. di Oncoematologia Pediatrica e ¹U.O. di Otorinolaringoiatria, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, A.R.N.A.S., Palermo; ²Sezione di Anatomia Patologica, Dipartimento di Scienze Oncologiche, Università di Padova, Italy

Introduzione. Il linfoma non-Hodgkin (LNH) extranodale della testa e del collo rappresenta il 10-20% di tutti i LNH. Tra questi un ruolo preponderante è costituito dall'istotipo Burkitt. Descriviamo due casi di linfoma di Burkitt tonsillare isolato.

Casi clinici. Caso 1. Maschio, 7 anni, giunge per ipertrofia tonsillare sinistra con rapido aumento di volume nell'ultimo mese (circa 5x4 cm). Il pz. aveva praticato antibiotico-terapia ad ampio spettro senza ottenere alcun beneficio. Successivamente è insorta anche linfadenopatia satellite omolaterale (diametro circa 2 cm). Il piccolo è stato sottoposto a tonsillectomia sinistra e l'esame istologico ha permesso di porre diagnosi di linfoma di Burkitt (immunofenotipo: CD3⁻, CD10⁺, CD20⁺, CD99⁻, Mum1⁻, bcl2⁻, bcl16+foc., TdT⁻); indice proliferativo con Mib1 (Ki67) > 95%. Lo studio della traslocazione t(8;14)(q24;q32) è risultato positivo sul tessuto tonsillare e negativo su midollo osseo. La citofluorimetria sul tessuto tonsillare ha mostrato una espansione clonale k positiva sul gate dei CD19⁺ al 60%. Gli esami ematochimici non hanno mostrato alterazioni degne di nota (LDH 189 u/L) e la sierologia per EBV è risultata negativa. Il pz., completati gli esami per la stadiazione, è stato arruolato al protocollo AIEOP LNH B (stadio II gruppo R 2) ed ha eseguito prefase, due blocchi A e 2 blocchi B senza particolari disturbi legati al trattamento ed è attualmente in remissione completa (RC) a 5 mesi dalla diagnosi. Caso 2. Maschio, 7 anni, comparsa di ipertrofia tonsillare ingrossante non responsiva alla terapia antibiotica. Giunge dopo aver eseguito tonsillectomia con esame istologico di linfoma di Burkitt, confermato dalla revisione dei preparati: profilo immunologico: CD20⁺, Mum1⁻, bcl2⁻, bcl16+foc., TdT⁻; indice proliferativo con Mib1 (Ki67) > 95%. Gli esami eseguiti non hanno evidenziato particolari alterazioni (LDH 245 u/L). La sierologia per EBV ha mostrato positività solo di IgG-VCA con negatività per PCR-EBV. Il piccolo ha ricevuto chemioterapia secondo protocollo AIEOP LNH 97 B gruppo R1 (no prefase e schema A+B) ed è attualmente in RC a 6 mesi dall'esordio.

Conclusioni. Il linfoma di Burkitt isolato della tonsilla è raro ed è pertanto molto insolito che i due casi si siano presentati alla nostra osservazione quasi contemporaneamente. Va enfatizzato che il segno di sospetto in entrambi i casi è stata la notevole asimmetria dell'ipertrofia tonsillare; ha indotto lo specialista ORL a riferirci il bambino nel caso 1 ed a mandare la tonsilla al patologo nel caso 2, determinando una diagnosi molto precoce, in assenza di altri segni o sintomi, con implicazioni rilevanti sulla prognosi di entrambi i bambini.

LO07

TRAPIANTO DI MIDOLLO PER TALASSEMIA IN PAZIENTE CON INSUFFICIENZA RENALE IN EMODIALISI

Argiolu F,¹ Sanna MA,¹ Bartoli A,² Ferrara R,³ Piroddi A,¹ Addari C,¹ Orofino MG,¹ Rizzo F,¹ Cossu F,¹ Scalas MR,³ Broglia M,² Giagu N,⁴ Galanello R^{1,4}

¹Unità Trapianti CSE II Clinica Pediatrica Università Cagliari / Ospedale per le Microcitemie ASL Cagliari; ²Unità Farmacocinetica Clinica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo Pavia; ³Servizio Dialisi Ospedale SS Trinità ASL Cagliari; ⁴DH Talassemie Ospedale per le Microcitemie ASL Cagliari / Università degli Studi Cagliari, Italy

Caso clinico. Fino ad oggi pochi pazienti affetti da insufficienza renale e in trattamento emodialitico sono stati sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche, nessuno con talassemia. Paziente di 45 anni, UPN 168, con beta talassemia major, composto genetico beta zero 39 C-->T - beta zero 6 -A, intrasfondibile per anemia emolitica autoimmune (auto e alloanticorpi con Coombs positivo, Hb 5-7 g/dL), in trattamento emodialitico da tre anni per nefrosclerosi focale bilaterale. Il paziente presentava quali complicanze della sua malattia di base: cardiopatia (trombosi atriale, ipertensione polmonare, dilatazione atriale e ventricolare), ipotiroidismo, epatopatia (HCV positiva con emosiderosi di grado II), ed inoltre aveva una qualità di vita molto compromessa per la grave anemia cronica e la nefropatia. In data 12.12.07 esegue trapianto di midollo osseo da fratello HLA identico. Regime di condizionamento: busulfano (Bu) e.v. (*Busilvex Pierre Fabre*) in unica somministrazione giornaliera (3.5 mg/kg/die) per 4 giorni, ciclofosfamida 40 mg/kg/die per 3 giorni. Profilassi della GvHD: ciclosporina 3 mg/kg/die e.v. da -2 a +1, 2 mg/kg/die e.v. da +2 a +42, 4 mg/kg/die per os da +43. Emodialisi a giorni alterni in camera sterile. Cellule nucleate midollari infuse: 4.4x10⁸ /kg. A +19 chimerismo misto (VNTR superiore a 90% donatore). ANC superiori a 500 al giorno +21. PLT superiori a 20x10⁹/L a +15. A 5 mesi dal trapianto il paziente è in buone condizioni generali, con chimerismo misto stabile (superiore a 95% donatore), emoglobina sopra 10 g/dL, leucociti e piastrine nella norma. Il paziente ha avuto un miglioramento della qualità di vita per la risoluzione della anemia cronica e può essere considerato un candidato al trapianto di rene. La unicità del caso non permette di trarre conclusioni definitive sulla indicazione al trapianto in pazienti con insufficienza renale cronica e in trattamento emodialitico. Possiamo osservare che la somministrazione del busulfano per via endovenosa in unica dose (dopo la seduta emodialitica) ha consentito di mantenere livelli nel range terapeutico, come è stato documentato dallo studio della farmacocinetica del busulfano.

LO08

ACIDOSI LATTICA SEVERA E DEFICIT DI TIAMINA IN BAMBINI CON EMOPATIE MALIGNHE: UNA COMPLICANZA COSÌ RARA?

Coletti V, Luciani M, Vergine G,¹ Pansini V, Dionisi Vici C,² Funaro D, Russo LA, De Rossi G

Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Divisione di Ematologia; ¹Divisione di Nefrologia; ²Divisione di Patologia Metabolica, Roma, Italy

L'acidosi lattica è considerata una rara complicanza che può occorrere nelle emopatie maligne. È più frequente negli adulti, ma sono descritti anche casi pediatrici in pazienti affetti da leucemia o linfoma. L'acidosi lattica può essere di tipo A

(dovuta ad ipoperfusione od ipossia) e di tipo B, secondaria a varie patologie, a farmaci, tossici e disordini ereditari. Vari meccanismi fisiopatologici sono supposti in quest'ultimo tipo. Uno di questi è legato al deficit di tiamina. Riportiamo due casi pediatrici affetti da emopatie maligne che hanno presentato una acidosi lattica severa. Il primo caso riguarda una bambina di 5 mesi con diagnosi di leucemia linfoide acuta che ha presentato, dopo aver effettuato un ciclo di consolidamento con alte dosi di methotrexate, in fase di pancitopenia e in nutrizione parenterale, ripetuti episodi di diarrea, vomito e sonnolenza. Il secondo caso riguarda un maschio di 9 anni con diagnosi di leucemia mieloide acuta che ha presentato vomito persistente, febbre e iperglicemia dopo il primo ciclo di Induzione, che prevede l'utilizzo di Idarubicina, Etoposide e Citarabina, anch'esso in nutrizione parenterale prolungata. In entrambi i casi i dati di laboratorio hanno mostrato acidosi metabolica severa, alti livelli ematici di lattato, ipopotassiemia, un profilo degli acidi organici urinari caratteristico e ridotti livelli ematici di tiamina. Il quadro clinico di estrema gravità ha reso necessario il trasferimento di entrambi in terapia intensiva. I ripetuti tentativi di correzione con bicarbonato sono risultati inefficaci, mentre la somministrazione di un cocktail di vitamine, tra cui la tiamina, ha permesso una rapida risoluzione dell'acidosi. Il deficit di tiamina deve essere sospettato nei casi di acidosi lattica severa che insorgono durante la nutrizione parenterale e prevenuto mediante supplementazione con vitamine.

L009

TRISOMIA 17 IN SCHWANNOMA CELLULARE PLESSIFORME

Tassano E,¹ Morerio C,¹ Rapella A,¹ Garaventa A,¹ Sementa A,² Gambini C,² Panarello C¹

¹Dipartimento di Ematologia ed Oncologia Pediatrica, ²U.O. di Anatomia Patologica, IRCCS Istituto G. Gaslini, Genova, Italy

Lo schwannoma cellulare è un tumore non comune delle cellule di Schwann che può raramente assumere l'architettura plessiforme, manifestandosi come tumori multipli capsulati. Nonostante caratteristiche morfologiche di aumentata cellularità, alto indice mitotico e atipia nucleare, questi tumori non metastatizzano sebbene possano recidivare localmente, mostrando un decorso clinico benigno. Lo studio citogenetico degli schwannoma sia del tipo classico che cellulare ha evidenziato in circa la metà dei casi analizzati monosomie complete o parziali del cromosoma 22. Caso clinico: un bambino di 8 mesi giungeva alla nostra osservazione con una voluminosa massa glutea sottocutanea, già presente alla nascita ed accresciutasi progressivamente. L'esame istologico su agobiosia riportava una neoplasia mesenchimale a cellule fusate con reazioni immunoistochimiche coerenti con fenotipo schwannico. Il paziente veniva sottoposto ad ablazione chirurgica della massa. L'esame microscopico evidenziava noduli polidimensionali, circoscritti da delicata capsula fibrosa, che infiltravano diffusamente, in fascicoli disordinati digitiformi, il tessuto sottocutaneo ed il derma della cute. I noduli ed i fascicoli neoplastici risultavano costituiti da cellule allungate, fusiformi, provviste di nuclei allungati ed ipercromici e abbondante citoplasma a limiti indistinti. Molti dei noduli presentavano un'elevata densità cellulare e vivace attività cariocinetica con frequenti aspetti di "palizzata nucleare" (corpi di Verocay). Gli elementi neoplastici esprimevano intensamente e diffusamente proteina S100 e neurofilamenti. Venne posta diagnosi di schwannoma cellulare plessiforme dell'infanzia. L'analisi citogenetica in bande Q della coltura cellulare a breve termine di un frammento di tessuto neoplastico

mostrava cariotipo 46,XY+17[7]/46,XY[13]; la FISH con la sonda painting del cromosoma 17 e con la sonda dual-color iso17q (17p11.2-12/17q21.3-q23) confermava la presenza del clone trisomico. In letteratura è stato riportato lo studio citogenetico di un solo caso di schwannoma cellulare plessiforme con cariotipo 47,XY,+17[6]/48,XY,+17,+18 [2]/46,XY[12]. La presenza della trisomia 17 come unica anomalia cromosomica nel nostro caso sembra confermare la ricorrenza e specificità della trisomia 17 nello schwannoma cellulare plessiforme. Indagini citogenetiche di ulteriori casi di questo raro tumore sono necessarie per convalidare questa associazione fornendo utili indicazioni diagnostiche e patogenetiche.

L010

OSSERVATORIO PSICOLOGICO DEI PAZIENTI "GUARITI" MANAGEMENT DEI PERCORSI AZIENDALI

Scarponi D, Puglisi I, Pession A

Oncologia ed Ematologia Pediatrica Lalla Seràgnoli, Policlinico S.Orsola-Malpighi, Italy

Introduzione ed Obiettivi. Quando si parla di guarigione in oncologia pediatrica si pensa al costo, in termini medici, psicologici e relazionali, richiesto ad ogni paziente e alla sua famiglia. Le terapie a cui i bambini sono sottoposti, durante l'iter terapeutico per la cura del tumore, possono portare a effetti collaterali, nel breve e/o nel lungo termine, che si ripercuotono sugli aspetti fisici e psicologici. Il paziente sopravvive a una malattia potenzialmente mortale, ma si ritrova a dover gestire da solo nuovi aspetti della sua "identità da guarito". Può essere fondamentale porsi la domanda su come mantenere aperto un canale di comunicazione dopo la guarigione, per garantire la continuità di un supporto globale al nucleo familiare. Metodi: l'osservatorio dei pazienti oncologici pediatrici è nato per rispondere al bisogno di continuità delle cure mediche e psicologiche, attraverso percorsi aziendali che individuano procedure operative specifiche. La procedura di servizio approvata nel dicembre 2005 ["Valutazione Psicodiagnostica del paziente oncologico pediatrico e del fratello/sorella potenziale donatore di cellule staminali emopoietiche"] prevede per il paziente guarito, la valutazione psicologica tramite: test intellettivi e della personalità, somministrati alla sospensione delle terapie e dopo cinque anni da questa; e colloqui psicologici clinici, effettuati con una frequenza annuale, per osservare lo sviluppo affettivo, sociale e relazionale del bambino.

Risultati. L'assessment di base descritto è risultato efficace nel rilevare l'incidenza di disturbi dell'umore, di quelli relazionali e intellettivi nel campione raccolto formato da 178 pazienti.

Conclusioni. L'osservatorio psicologico si presenta, quindi, come strumento efficace per valutare lo stato di guarigione complessiva del paziente e della sua famiglia.

L011**MONITORAGGIO DEI LIVELLI PLASMATICI DI VORICONAZOLO IN UN CASO DI ASPERGILLOSI POLMONARE DOPO TRAPIANTO APOLOIDENTICO**Pagliai F,¹ Brandigi F,¹ Fallani S,² Frenos S,¹ Mazzei T,² Sanvito C,¹ Tintori V,¹ Veltroni M,¹ Caselli D¹¹Dipartimento di Oncematologia pediatrica e cure domiciliari, Ospedale Meyer, Firenze; ²Dipartimento di Farmacologia, Policlinico di Careggi, Firenze, Italy

Introduzione e obiettivi. Importanti variazioni nella farmacocinetica del voriconazolo, dovute a fattori quali epatopatie, età, poliformismi genetici del citocromo CYP2C19 ed interazioni con altri farmaci possono ridurre l'efficacia o incrementarne la tossicità. Il monitoraggio dei livelli plasmatici può risultare utile nel valutare una adeguata esposizione al farmaco.

Metodi. Nell'ottobre 2005 un bambino di 13 anni, affetto da paralisi cerebrale infantile e convulsioni, si è presentato con AML post-mielodisplasia, e non disponendo di un donatore familiare è stato sottoposto a 2 trapianti aploidentici dal padre, seguiti da rigetto, quindi ad un terzo trapianto aploidentico dalla madre, attecchito con successo. A 14 mesi dal TMO il bambino ha manifestato febbre e bronchite, con numerosi noduli subcentimetrici alla TC polmonare e aumentati livelli sierici di galattomannano, compatibilmente con la diagnosi di aspergilloso polmonare. È stato inizialmente trattato con voriconazolo ev 7 mg/kg b.i.d, senza risposta, quindi con caspofungina e amfotericina B liposomiale, ottenendo solo un transitorio miglioramento. Nonostante l'assenza di sintomatologia respiratoria, l'antigenemia per galattomannano si è mantenuta positiva e la TC torace ha mostrato un incremento dei noduli; è stato aggiunto il voriconazolo per os a dosaggio standard, senza risposta. È stato quindi eseguito il monitoraggio dei livelli plasmatici di voriconazolo che ha mostrato valori inferiori a 0.1 mg/L (1 mg/L è la minima concentrazione alla quale risulta suscettibile il 90% dei patogeni fungini). La dose del voriconazolo orale è stata quindi incrementata da 7 mg/kg a 13,5 mg/kg b.i.d., risultando nel raggiungimento di adeguati livelli plasmatici (Figura 1), senza tossicità, e nella risoluzione completa dell'infezione che ha consentito di sospendere la terapia.

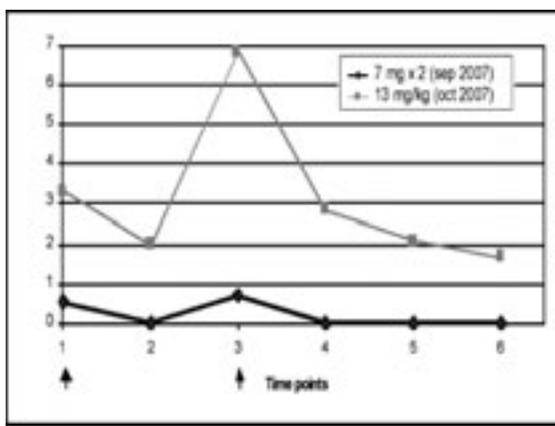


Figura 1.

Risultati. Solo dopo l'incremento del dosaggio del voriconazolo i livelli plasmatici sono risultati terapeutici (valori superiori a 2 mg/L). I livelli di galattomannano si sono progressivamente ridotti e nei 3 mesi successivi i noduli polmonari scomparsi.

Conclusioni. L'interazione con i farmaci antriconvulsivanti cui il paziente era sottoposto può aver influenzato il metabolismo del voriconazolo. Nonostante non sia noto il dosaggio ottimale del voriconazolo in pediatria, il monitoraggio dei livelli terapeutici e l'aggiustamento della dose nel singolo paziente possono incrementarne l'efficacia specie nei casi refrattari.

L012**ALVEOLITE ATTINICA**

Corongiu F, Mura R, Casula L, Scarzello G, Bisogno G

Servizio di Oncematologia Pediatrica Cagliari; Servizio di Radioterapia Padova; Clinica di Oncematologia Pediatrica Padova, Italy

Caso clinico. Il nostro paziente è un bambino di 5 anni affetto da rhabdomyosarcoma alveolare metastatico (polmone e vertebra D4) trattato secondo il protocollo RMS4 99. Due mesi dopo il trattamento radiante, durante la terapia di mantenimento VAC, presenta alla rivalutazione TC due formazioni nodulari parenchimali nel lobo inferiore del polmone sinistro, confermate da PET e RMN. È presente febbricola ma non altri segni flogistici né sintomatologia respiratoria specifica. Nel sospetto di una eziologia infettiva (esami culturali peraltro negativi) viene sottoposto a terapia antibiotica e antifungina, mentre viene procrastinato l'esame biotico delle lesioni. La peculiarità delle immagini e l'evoluzione del quadro portano infine alla diagnosi di alveolite attinica. Dopo tre mesi il bambino conclude la chemioterapia e attualmente, dopo due anni dallo stop terapia, sta bene: non segni di ripresa di malattia né manifestazioni cliniche di pneumopatia attinica, persiste alla diagnostica per immagini il danno al parenchima polmonare del lobo inferiore sn per il quale viene sottoposto a follow-up di rivalutazione periodica funzionale e strumentale.

Discussione. La polmonite attinica è una infiammazione polmonare interstiziale che può comparire nel 5-15% dei pazienti che effettuano irradiazione toracica per tumore e in percentuali maggiori (50% circa) come reperto radiologico occasionale e asintomatico. Il quadro evolve attraverso tre fasi. In una fase precoce (primo mese dalla radioterapia) è asintomatica ed è caratterizzata dalla perdita dei pneumociti di I e II ordine e dalla trasudazione alveolare di proteine sieriche con edema degli spazi interstiziali. Successivamente (1°-6° mese), per l'ispessimento dei setti alveolari dovuto al passaggio di proteine non possono comparire sintomi quali febbricola, tosse, tachicardia e dispnea. In una fase tardiva (dopo il 6° mese) per perdita dei capillari alveolari e deposizione di collagene sui setti interalveolari si può assistere ad alterazioni di tipo restrittivo con riduzione della capacità vitale, dei volumi polmonari e della capacità polmonare totale. La morbilità e la mortalità sono strettamente correlate al volume polmonare irradiato, alla dose di radiazione, all'uso concomitante di chemioterapici e alla presenza di fattori predisponenti (fumo, patologie vasculitiche, astensione da assunzione di corticosteroidi). Le indagini necessarie per arrivare alla diagnosi comprendono: radiografia e TC del torace; scintigrafia polmonare e PET. La diagnosi differenziale si pone con pneumopatie infettive, patologie cardiache e infiltrazione neoplastica.

Conclusioni. Si sottolinea la necessità, anche in età pediatrica, di considerare l'alveolite attinica nella diagnostica differenziale delle pneumopatie evidenziate con indagini strumentali nei pazienti che hanno effettuato radioterapia della regione toracica, in presenza o meno di sintomi clinici specifici e di programmare un attento follow-up per la valutazione di una eventuale evoluzione in fibrosi polmonare.

L013**L'INTENSIFICAZIONE DELL' IMMUNOSOPPRESSIONE CON ATG RIDUCE L'INCIDENZA DI RIGETTO POST-TMO IN BAMBINI TALASSEMICI ALLOSENSIBILIZZATI AD ALTO RISCHIO TRAPIANTOLOGICO**

Chiesa R, Markt S, Cappelli B, Rocca T, Biral E, Frugnoli I, Noè A, Crocchiolo R, Soliman C, Bagnato MG, Fossati M, Ciceri F, Roncarolo MG

Unità di Immunoematologia Pediatrica e Trapianto di Midollo IRCCS San Raffaele, Milano, Italy

Introduzione ed obiettivi. Il TMO rappresenta l'unica possibilità di cura per pazienti affetti da talassemia major, ma il rigetto è la causa più frequente di fallimento terapeutico, soprattutto in pazienti allo-sensibilizzati. Descriviamo una casistica di bambini talassemici ad alto rischio trapiantologico e sottoposti a TMO che hanno ottenuto un miglioramento dell'outcome con una intensificazione dell'immunosoppressione pre trapianto.

Metodi. Dal mese di giugno 2005 al mese di aprile 2008, 21 bambini (età mediana 10 anni, range 5-10) affetti da talassemia major in classe III sono stati sottoposti a TMO presso il nostro centro. I pazienti sono stati riferiti da paesi quali Iraq (16), Egitto (2), Siria (3), dimostrando una grave siderosi (ferritina mediana 4810 ng/mL) dovuta ad inadeguata (15) o assente (6) terapia ferrochelante ed una politica trasfusionale scadente per l'utilizzo di emoderivati infetti non leucodepleti. La maggioranza dei pazienti (13/21) è risultata HCV positiva e tutti i pazienti hanno evidenziato anticorpi anti HLA.

Risultati. I pazienti sono stati sottoposti a TMO da donatore familiare genotipicamente identico. Il regime di condizionamento per i primi 9 pazienti (gruppo A) era costituito da BU ev e CY 160 mg/kg preceduto da pre-condizionamento con HU, AZT, FLU (100 mg/mq) secondo lo schema proposto da Sodani et al (Blood 2004). La profilassi della GVHD è stata costituita da CSA, MPD e 3 dosi di MTX. Otto pazienti hanno presentato attecchimento e un paziente ha presentato primary engraftment failure con ricostituzione autologa. Quattro pazienti hanno successivamente presentato un rigetto; nessun paziente è morto. Data l'alta incidenza di rigetto, è stato deciso di intensificare l'immunosoppressione pre TMO nei successivi 13 pazienti con FLU 150 mg/mq e ATG Thy-moglobuline 7,5 o 10 mg/kg (gruppo B). Undici pazienti hanno presentato attecchimento mieloide, mentre due bambini hanno presentato primary engraftment failure: un bambino è deceduto per multi organ failure dopo mancata ricostituzione autologa. La riduzione del rigetto nel gruppo B è apparsa significativa (5/9 gruppo A, 2/13 gruppo B; $p=0.07$). Due pazienti per gruppo hanno sviluppato GVHD grado II e nessun paziente ha sviluppato GVHD cronica.

Conclusioni. Bambini talassemici allosensibilizzati hanno un maggior rischio di rigetto dopo TMO; la nostra casistica suggerisce che una intensificazione dell'immunosoppressione con ATG aumenta la sopravvivenza libera da talassemia.

L014**RUOLO DELL'IPERTENSIONE ARTERIOSA NELLA DIAGNOSI DI NEUROBLASTOMA**

Astarita L,¹ Ferrante MR,¹ Antignano A,¹ Fecarotta S,¹ Quaglietta L,¹ Verrico A,¹ Zanotta G,¹ Capasso M,¹ Martone A,² Migliorati R¹

¹Struttura Complessa di Pediatria Oncologica, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli; ²Struttura Complessa di Chirurgia Oncologica, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. Il nostro studio comprende 21 pazienti affetti da neuroblastoma di età compresa fra un mese e 9 anni, ricoverati presso l'Azienda Ospedaliera "Santobono-Pausilipon" di Napoli nel periodo compreso tra il 2004 e il 2007. La diagnosi è stata ipotizzata in base all'anamnesi ed al quadro clinico, supportata da aumentati valori di acido vanilmandelico e omovanilico nelle urine e dall'evidenza del tumore agli esami strumentali, e confermata dall'esame istologico. Dei nostri 21 pazienti, 12 risultavano affetti da neuroblastoma IV stadio, 2 stadio IVs, 6 III stadio ed 1 II stadio. 19 pazienti presentavano una localizzazione addominale del tumore, 1 una localizzazione multifocale, 1 una localizzazione toracica. L'obiettivo del nostro lavoro è quello di valutare la rilevanza dell'ipertensione come uno dei primi sintomi individuabili nel bambino affetto da neuroblastoma.

Metodi. Per quanto concerne l'apparato cardiovascolare, basandoci su un nostro protocollo di sorveglianza, i pazienti sono stati valutati all'esordio della malattia e dopo determinati periodi di tempo, mediante visita, controllo pressorio, ECG, Ecocardiogramma mono e bidimensionale e Color Doppler. In questo lavoro ci riferiamo al controllo eseguito su pazienti prima dell'inizio della terapia. I pazienti esaminati non assumevano farmaci che potessero incidere sulla pressione arteriosa (PA). La PA è considerata significativa se i valori di PAS e PAD sono compresi tra il 95° e 99° centile per sesso, età e statura, severa se i valori di PAS e PAD sono superiori al 99° (The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. Pediatrics 2004;114:555-576).

Risultati. 15 pazienti sono risultati ipertesi al momento della diagnosi. In 6 di questi è stata rilevata una pressione significativa, in 9 una pressione severa. Considerando gli ipertesi, 2 pazienti presentavano anomalie dell'ECG (ipertrofia e sovraccarico del ventricolo sinistro; sovraccarico del ventricolo sinistro), mentre 3 pazienti presentavano alterazioni dell'ecocardiogramma (ipertrofia concentrica del ventricolo sinistro; ispessimento del pericardio; versamento pericardico).

Conclusioni. In base ai dati da noi ottenuti, l'ipertensione arteriosa nel paziente affetto da neuroblastoma è presente alla diagnosi nel 71% dei pazienti, e frequentemente è severa (60%). Nel 14% dei casi l'ipertensione è risultata essere il primo sintomo del tumore. Riteniamo quindi che il ruolo dell'ipertensione nella diagnosi del neuroblastoma, attualmente non riconosciuto, necessita di ulteriori valutazioni, potendo rappresentare un valido ausilio nella diagnosi precoce di questa patologia.

L015

EMODIALISI IN CORSO DI SINDROME DA LISI TUMORALE ALL'ESORDIO DI LLA

Grigoli A, Tropia S, D'Alessandro MM,¹ Pavone G,¹ Russo D, Ziino O, D'Angelo P, Aricò M

Oncoematologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, Palermo; ¹Nefrologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, Palermo, Italy

Introduzione ed obiettivi. Le LLA o i linfomi di linea T si caratterizzano all'esordio per una maggiore frequenza di sindrome da lisi tumorale a causa della iperleucocitosi o della presenza di voluminose masse neoplastiche. In taluni casi il quadro di insufficienza renale acuta appare prevalente e pertanto va trattato rapidamente, al fine di prevenire danni renali permanenti che potrebbero influenzare in maniera significativa il successivo trattamento.

Metodi. L'emodialisi rappresenta il trattamento d'elezione nei casi di grave insufficienza renale che poco si avvantaggiano degli approcci tradizionali. I limiti al suo uso sono rappresentati dall'invasività della procedura stessa soprattutto in pazienti che all'esordio di patologie così gravi spesso presentano significative comorbidità.

Risultati. Abbiamo osservato due pazienti con T-LLA che presentavano una importante sindrome da lisi tumorale con segni di insufficienza renale ingravescente. Il primo caso è un ragazzo di 17 anni con T-LLA e massa mediastinica che determinava difficoltà respiratoria e versamento pleuro-pericardico. Il ragazzo è venuto alla nostra osservazione due giorni dopo essere stato trattato in un P.S. Generale per la dispnea con 1 gr di metilprednisolone e.v. e già all'ingresso presentava segni clinici e laboratoristici di IRA (azotemia 76 mg/dL, creatininemia 2.2 mg/dL, uricemia 41.2 mg/dL, LDH 4513 u/L). È stata praticata terapia con Rasburicasi e EDX a basse dosi ed avviato all'emodialisi (sei sedute). Il secondo caso riguarda un bambino di 11 anni con T-LLA ad esordio iperleucocitosico (GB 260.000/mm) e segni di insufficienza renale (azotemia 25 mg/dL, creatininemia 2.2 mg/dL, uricemia 13,5 mg/dL). Dopo 24 ore di terapia con PDN a 20 mg/mq associata ad idratazione alcalinizzante ed allopurinolo, il bambino ha mostrato un peggioramento della funzione renale (azotemia 73 mg/dL, creatininemia 2.8 mg/dL, calcemia 5 mg/dL, K 6.6 mEq/L) che ha condotto alla decisione di eseguire emodialisi per un totale di tre sedute. Ambedue i pazienti hanno ben tollerato il trattamento emodialitico senza presentare complicanze rilevanti; attualmente si trovano in Mantenimento in CCR, senza segni di danno renale residuo. Nel primo paziente non è stata valutata la risposta allo steroide mentre il secondo è PGR.

Conclusioni. L'emodialisi è una procedura invasiva che tuttavia può essere presa in considerazione nei casi di insufficienza renale associata a sindrome di lisi tumorale.

L016

INDIVIDUAZIONE D'INDICATORI DI RILEVAZIONE DEL VISSUTO DI MALATTIA ATTRAVERSO TEST PROIETTIVO C.A.T.

Palmentieri B, Pinto A, Camera F, d'Aniello D, Iuliano A, Cadoni A, Menna G

Azienda Ospedaliera Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. Di certo nella pratica clinica è più facile monitorare le reazioni comportamentali di un paziente oncologico che monitorarne gli stati d'animo e i vissuti emotivi. Accanto allo scopo diagnostico del C.A.T. (Children's Apperception Test) sono stati individuati alcuni indicatori

utili a monitorare l'incidenza della malattia sul vissuto emotivo dopo un mese dall'inizio delle terapie.

Metodi. Sono stati raccolti 20 C.A.T. somministrati a 13 pazienti femmina e 7 maschi tra i 5/10 anni con LLA e LMA. Tale test è stato sottoposto ad un'analisi del contenuto tematico (Losito 1996) facendo riferimento ad una griglia di codifica costituita da 5 indicatori individuati dalla psicoanalista M. Boekholt (1996) secondo la quale il bambino racconta le sue storie ricorrendo a: 1) la relazione con il clinico 2) la realtà esterna 3) l'evitamento del conflitto e/o l'inibizione 4) l'affetto 5) l'immaginario e il fantasmatico.

Risultati. Le storie raccontate dai pazienti, nelle tavole del C.A.T rientravano nelle seguenti categorie della Boekholt: della realtà esterna, dell'immaginario e del fantasmatico. Laddove, secondo la Boekholt, l'indicatore dell'immaginario e del fantasmatico presuppongono la capacità del bambino di proiettarsi al di fuori del campo percettivo, ricorrendo a personaggi immaginari, il bambino ospedalizzato pur ricorrendo ad esso, lo usa per raccontare storie di morte e di malattia e per trasformare i personaggi delle tavole in attori del contesto ospedaliero.

Conclusioni. Sembra che i bambini presi in esame non possano fare a meno di riferirsi ad aspetti inquietanti della malattia, anche quando fanno ricorso ad aspetti fantasmatici. Si delinea pertanto la possibilità di ulteriori studi per confrontare le emozioni del bambino nelle diverse fasi della malattia in modo da costruire ipotesi interpretative sugli effetti dell'ospedalizzazione.

L017

LINFOMA ANAPLASTICO A GRANDI CELLULE T, ALK-NEGATIVO CD30+ A LOCALIZZAZIONE CUTANEA

Cerri C, Capolsini I, Mastrodicasa E, Milano GM, Falini B, Rosolen A,¹ Aversa F,

Onco-Ematologia Pediatrica, Ematologia ed Immunologia Clinica, Università ed Azienda Ospedaliera di Perugia, ¹Onco-Ematologia Pediatrica, Università ed Azienda Ospedaliera di Padova, Italy

Introduzione e obiettivi. Il linfoma anaplastico a grandi cellule CD 30+ (ALCL) rappresenta il 10-15% dei Linfomi non-Hodgkin in età pediatrica ed estremamente rare sono le forme a localizzazione primaria cutanea ALK-negative. In relazione alla rarità ed alla regressione spontanea segnalata in letteratura, non vi sono approcci univoci nel trattamento di questi pazienti. Riportiamo il caso di un bambino di 7 anni giunto alla nostra attenzione nel settembre 2007.

Metodi. Giugno 2007: comparsa di una lesione alla coscia sinistra rilevata, eritematosa, del diametro di circa 0,5 cm. Il bambino godeva di buone condizioni cliniche generali, non sintomi sistemici; esami ematobiochimici nella norma. Settembre 2007: persistenza della lesione primaria e comparsa di una seconda lesione a livello del lobo auricolare destro con le stesse caratteristiche. La biopsia della lesione alla coscia dimostra "Disordine linfoproliferativo cutaneo a cellule T, CD 30+, tipo linfoma anaplastico a grandi cellule ALK-negativo." Indagini di stadiazione: Rx torace (negativo), ecografia addominale (negativa), TC total Body (negativa), biopsia ossea bilaterale (negativa), PET/TC total body ("area focale di iperaccumulo in corrispondenza dell'orecchio destro"). In accordo con il protocollo AIEOP "ALCL 99" si decideva di procedere al solo monitoraggio del paziente. Febbraio-Marzo 2008: progressione di malattia a livello cutaneo (le lesioni apparivano aumentate in numero e dimensioni). Per tale motivo si è deciso di intraprendere terapia con acido 13-cis-retinoico (1

mg/kg/die).

Risultati. Maggio 2008: a due mesi circa dall'inizio della terapia abbiamo assistito ad una riduzione e parziale risoluzione delle lesioni cutanee.

Conclusioni. La nostra esperienza dimostra che, seppur nell'ambito di una patologia a carattere di benignità, l'evoluzione locale spesso richiede l'inizio di terapie sistemiche. L'uso di acido 13 cis-retinoico sembra rappresentare una valida scelta terapeutica in casi selezionati per efficacia e tollerabilità. Casistiche più numerose e follow-ups più prolungati sono necessari per un migliore inquadramento terapeutico dei linfomi anaplastici a grandi cellule CD 30⁺ ALK-negativo a sola localizzazione cutanea.

L018

RIFLESSIONI SULLA COMUNICAZIONE DELLA DIAGNOSI ALLA FAMIGLIA: UNA PROCEDURA PSICOLOGICA

Camera F, Pinto A, Martino ML, Orlando R, Menna G, Poggi V

Dipartimento di Oncologia, A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli. Dipartimento di Scienze-Relazionali, "G. Iacono", Università degli Studi di Napoli, Federico II, Italy

Introduzione e obiettivi. Entro un filone di studi volto ad implementare il passaggio dall'evidence based medicine alla narrative based medicine si è dedicato un particolare interesse alla fase della "comunicazione della diagnosi" (c.d.d.) in pediatria. La c.d.d. rappresenta una fase complessa per la relazione terapeutica, compito "ingrato, difficile e frustrante" per il pediatra stesso (Mastriacovo e Memo, 2006) ma che se ben realizzata è direttamente proporzionale ad una buona compliance terapeutica e ad un buon adattamento alla nuova situazione (Buckman, 1992). È stata osservata (Ritorto, 2002; D'Aiuto, 2003) una carente comprensione da parte della famiglia delle informazioni ricevute e la difficoltà relativa a prendere decisioni così importanti.

Metodo. Da anni presso il Dipartimento di Oncologia è in atto una riflessione sui processi comunicativi/informativi della c.d.d. e sulla dialettica umana e professionale del consenso informato (c.i.). Il Servizio Psicologico sta, nel tempo, mettendo a punto una serie di strumenti di analisi e valutazione per migliorare le strategie di empowerment. Nel 2006 è stata redatta una procedura di supporto alla c.d.d. ai genitori che prevede tra i punti principali: 1) incontro di equipe per la valutazione dello stato emotivo della famiglia, prima/dopo la c.d.d.; 2) c.d.d. e c.i. alla presenza dello psicologo; 3) almeno 1 incontro di sostegno successivo alla c.d.d. dei genitori con lo psicologo. Dal 2007 è in corso uno studio pilota su 20 famiglie attraverso il Test di Coping di Berna (1993), somministrato nel I mese di terapia, volta a misurare il livello di comprensione/elaborazione della famiglia a seguito della c.d.d. e le successive capacità di fronteggiamento. Risultati Da una preliminare osservazione qualitativa dei dati emersi si nota che le principali strategie di fronteggiamento sono relative all'area cognitiva (90%) rispetto a quelle emotive (10%), con una predominanza di risposte operative dove "il fare" è protagonista. Per quanto concerne le emozioni, esse non vengono del tutto negate, ma evitate, difensivamente, al fine di non sentire il dolore e rispondere pragmaticamente alla malattia. Conclusione Tale procedura ha permesso di potere riflettere congiuntamente al medico sulla fase della c.d.d. e di recuperare la giunzione tra psiche/soma. Impostare una buona relazione creando spazi per pensare insieme, sin dalle prime fasi, rappresenta per i genitori quel nutrimento/contenimen-

to di cui hanno bisogno, nonché, la base per la co-costruzione di buona relazione terapeutica.

L019

ANALISI DEL CHIMERISMO DI LINFOCITI CD3⁺ IN BAMBINI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO ALLOGENICO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE

Terranova MP, Di Martino D, Di Duca M, Cuzzubbo D, Faraci M, Morreale G

IRCCS G. Gaslini, Genova, Italy

Introduzione e Obiettivi. Dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche (TCSE), si crea nell'organismo una chimera dinamica che può evolvere verso un completo attecchimento delle cellule del donatore (chimerismo completo) o rimanere un chimerismo misto (stabile, progressivo o transitorio). Precedenti studi hanno evidenziato che, dopo TCSE, le diverse popolazioni cellulari ematiche possono presentare una differente chimera. Il nostro obiettivo è valutare come il diverso chimerismo di tali popolazioni possa essere predittivo dell'esito del TCSE.

Metodi. Lo studio è iniziato con 4 Pz trapiantati presso la nostra Unità TCSE. Tutti sono stati sottoposti a trapianto non correlato ma con decorso post TCSE diverso per ognuno. Per la separazione immunomagnetica di cellule CD3⁺ su colonne MACS è stato utilizzato sangue periferico a mesi 3, 6, 8 e 18 post TCSE. Dopo l'estrazione i DNA sono stati amplificati per 9 loci genomici polimorfici con sistema AmpFISTR. Risultati. Un Pz ha rigettato il trapianto a 3 mesi quando le cellule CD3⁺ erano del ricevente al 70% rispetto al 43% del sangue intero. In un secondo Pz, l'iniziale chimerismo misto progressivo è diventato stabile a 8 mesi con cellule CD3⁺ e sangue intero al 43% ricevente; un terzo ha presentato chimerismo misto progressivo fino a 6 mesi con cellule CD3⁺ ridotte fino al 18% ricevente rispetto al 75% del sangue intero, con tuttavia una contemporanea comparsa di GvHD. A 18 mesi, dopo trattamento della GvHD, la situazione è evoluta in chimerismo misto transitorio con cellule CD3⁺ al 3% ricevente rispetto all'8% su sangue intero; a 20 mesi il chimerismo diventa completo. Il quarto Pz ha mantenuto chimerismo completo per diversi anni e al momento dell'esordio di una sospetta mielodisplasia secondaria, ha rivelato un chimerismo misto con uguale quota del 34% ricevente sia su cellule CD3⁺ che su sangue intero.

Conclusioni. L'analisi del chimerismo di sottopopolazioni cellulari, specie nei primi mesi dopo TCSE, è importante per capire il ruolo di ciascuna popolazione nella dinamica dell'attecchimento. Lo studio iniziale sui nostri Pz ha confermato l'importanza dei linfociti CD3⁺: nel primo Pz, proprio alla maggior quota di cellule T del ricevente è attribuibile il rigetto, mentre nel terzo Pz il mantenimento di un'elevata quota di cellule T del donatore, rispetto al totale delle altre popolazioni, spiega il recupero dell'apparente rigetto. Il secondo e il quarto Pz sono tuttora in osservazione evolutiva. L'analisi su un maggior numero di Pz ci permetterà di valutare meglio la predittività clinica di questo studio.

L020

MALATTIA DI CROHN POST-TRAPIANTO ALLOGENICO DI CSE: IMPLICAZIONI PATOGENETICHE E TERAPEUTICHE

Casazza G, De Marco E, Najajreh M, Menconi M, Villanacci V,¹ Nardi M, Favre C

U.O. Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa; ¹2° Servizio di Anatomia e Istologia Patologica, Sezione di Diagnostica Gastroenterologica, Spedali Civili Brescia, Italy

Introduzione. Il meccanismo patogenetico della malattia di Crohn (MC) è oggi attribuito ad una inappropriata risposta immune intestinale a stimoli ambientali, in un soggetto geneticamente suscettibile. Il manifestarsi di MC post-TCSE alloigenico pone problemi di diagnosi differenziale oltre che di approccio terapeutico.

Caso clinico. M. 11 aa, sottoposto a TCSE alloigeniche da MUD per LMA in 1° RC. Non familiarità per affezioni infiammatorie intestinali croniche. 4 mesi post-trapianto, in corso di terapia con CsA, comparsa di anoressia, nausea con notevole calo ponderale. Gastroscoopia con biopsia mucosa gastrica orientativa per GVHD cronica grado lieve, con negatività per CMV. A 6 mesi post-trapianto, dopo un temporaneo miglioramento clinico, comparsa di dolori addominali persistenti e diarrea ematica. La colonscopia evidenziava, a livello del cieco, del colon ascendente e del trasverso prossimale, la presenza di edema diffuso con erosioni multiple del diametro di 1-2 mm ed alcune ulcere di diametro variabile da 5-6 mm fino a 10-15 mm., con fondo coperto di fibrina. Esame istologico: "GVHD cronica grado lieve(G1) con presenza di occasionali corpi apoptotici. L'elemento peculiare è tuttavia il riscontro in tutte le sedi biotiche esaminate di multiple formazioni granulomatosi che sono risultate Ziehl-Nielsen negative e CD68 positive. Tale reperto è estremamente inusuale in corso di GVHD e a nostra conoscenza non è riportato in letteratura. Tale fenomeno associato al riscontro di metaplasia a cellule di Paneth nelle biopsie del sigma indirizza verso una colite *long standing* ponendo la concreta possibilità di una condizione di M. di Crohn associata a GVHD (V. Villanacci)". Il paziente ha quindi intrapreso terapia con Prednisone e Azatioprina. A distanza di 3 mesi si osservava miglioramento clinico ed istologico (Quadro morfologico nettamente migliorato dal punto di vista flogistico, con solo focali aspetti di MC. Assenti aspetti di GVHD). Il bambino ha successivamente presentato riacutizzazioni cliniche, ed è tuttora in trattamento specifico.

Conclusioni. Mentre sono descritti diversi casi di remissione a lungo termine di MC in pazienti post-TCSE, molto raro è il manifestarsi *de novo* di MC post-trapianto. È ipotizzato un trasferimento adottivo di suscettibilità genetica dal donatore al ricevente, anche se il donatore non presenta, al momento del trapianto, manifestazioni cliniche. Trattandosi di una genesi multifattoriale, è possibile tuttavia che un ruolo primario sia svolto da un fattore ambientale (dieta, flora intestinale). Fondamentale è la corretta valutazione istologica delle biopsie intestinali, che consente la diagnosi differenziale con una GVHD cronica.

L021

UN'ANEMIA EMOLITICA AUTOIMMUNE IN UN LATTANTE CAUSATA DA ASSUNZIONE MATERNA DI METILDOPA

Rossi F, Gallo Afflitto I, Citarella S, Gallicola F, Montano AV, Capasso M, Roberti D, Nobili B, Matarese SMR

Dipartimento di Pediatria F. Fede, Seconda Università di Napoli, Napoli, Italy

L'anemia emolitica autoimmune (AEA) è un'anemia legata alla presenza in circolo di autoanticorpi diretti contro antigeni della membrana eritrocitaria. L'AEA ha un'incidenza di 1/80000 nati/anno. Si riconoscono forme idiopatiche e forme secondarie ad infezioni virali, neoplasie, immunodeficienze, malattie autoimmuni e farmaci. I farmaci possono determinare AEA mediante quattro diversi meccanismi immunologici: aptene ad alta affinità (penicillina), complesso ternario (chinidina), induzione del processo autoanticorpale (-metildopa), adsorbimento di proteine di natura non immunitaria (cefalotina). L' -metildopa si lega alla membrana eritrocitaria quando il globulo rosso contiene relativamente poca Hb (nello stadio di proeritroblasto o di gerocita). Questo legame determina alterazioni degli antigeni di membrana che fungono da stimolo per la produzione di autoanticorpi diretti contro se stessi. Riportiamo il caso clinico di un lattante di 40 giorni giunto alla nostra osservazione per anemia severa (Hb 5,8 g/dL, MCV 105,7 fL; Ht del 11,2%, reticolociti 93000/mm³), ittero (bilirubina totale 17,7 mg/dL; indiretta 16,92 mg/dL) e test di Coombs diretto (DAT) positivo per IgG e C3, con indici di funzionalità epatica e renale nella norma. L'anamnesi familiare risultava negativa per consanguineità tra i genitori e per patologie ematologiche. La gravidanza era stata complicata da gestosi EPH, trattata con -metildopa nell'ultimo mese di gestazione. Date le caratteristiche dell'anemia e la positività del DAT, il lattante veniva inizialmente sottoposto a trasfusione di emazie concentrate e successivamente trattato con immunoglobuline endovena (1 gr/kg/die per 2 giorni) e cortisone (metilprednisolone ev alla dose di 15 mg/kg/die per 3 giorni e poi prednisone alla dose di 2 mg/kg/die), con negativizzazione del DAT in circa 15 giorni. Le caratteristiche dell'anemia, la buona e rapida risposta alla terapia e l'assunzione di -metildopa dalla madre nell'ultimo mese di gravidanza, hanno reso possibile la diagnosi di AEA farmaco-indotta. Numerosi sono i casi riportati in Letteratura di AEA secondaria all'assunzione di -metildopa, ma nessuno in un lattante nato da madre trattata con metildopa. L'AEA metildopa-indotta è legata alla capacità del farmaco di attraversare la placenta e di accumularsi nel siero del bambino in concentrazioni simili a quelle materne.

L022

EPIDEMIOLOGIA DEI TUMORI MALIGNI IN ETÀ PEDIATRICA NELLA PROVINCIA DI TRIESTE NEL PERIODO 1972-2003

Carobolante F, Brunetti D,¹ Tamaro P²

¹Registro dei tumori della provincia di Trieste, Ospedale di Cattinara, Trieste; ²U.O. di Emato-oncologia, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste, Italy

Si è provveduto a stimare l'incidenza e la sopravvivenza per cancro nei bambini di età compresa tra 0 e 14 anni residenti nella provincia di Trieste nel periodo 1972-2003. Sono stati registrati 168 nuovi casi di cancro (95% verificati microscopicamente) pari ad un tasso standardizzato per età sulla popolazione mondiale di 169.5 (errore standard ES=13.4) casi

all'anno per milione di bambini, con un rapporto tra maschi e femmine pari a 1. Il tasso più alto è stato registrato per le leucemie (53.3; ES=7.5; 52 casi), seguono i tumori del SNC (45.2; ES=6.9; 46 casi) ed i linfomi (17.6; ES=4.0; 20 casi). Suddividendo il periodo d'osservazione in due periodi di 16 anni ciascuno, nel primo compreso tra il 1972 e il 1987, è stato registrato un tasso d'incidenza standardizzato per età di 155.2 (ES=16.7) per milione; nel secondo, compreso tra il 1988 e il 2003, di 192.8 (ES=22.6) per milione pari a un aumento dell'incidenza del 24%. Considerando i diversi tipi di tumore, lo studio condotto nella provincia di Trieste riporta un andamento crescente per tutti i tipi di neoplasia. Nei due periodi di osservazione per tutte le leucemie nel loro insieme sono stati registrati tassi standardizzati di 51.7 (ES=9.8) e 57.4 (ES=12.3) per milione, con un incremento dell'incidenza dell'11%; per i tumori del SNC tassi di 41.0 (ES=8.2) e 50.1 (ES=11.6) per milione, per i linfomi di 15.9 (ES=5.0) e 21.1 (ES=7.1) per milione con un aumento dell'incidenza del 22% e del 33%, rispettivamente. Per i bambini della provincia di Trieste, con diagnosi di tumore posta tra il 1972 e il 1996, la probabilità di sopravvivenza a 10 anni dalla diagnosi è risultata del 61% (ES=4.5). La sopravvivenza è passata dal 51%, per i casi riscontrati nel periodo 1972-1987 al 72% per quelli del periodo 1984-1996, con una differenza tra i due periodi di diagnosi statisticamente significativa (logrank test: $p=0.007$). Anche la sopravvivenza per la leucemia linfoblastica acuta è migliorata dal 68% all'85% nonostante la differenza tra i due periodi di diagnosi non sia risultata significativa dal punto di vista statistico ($p=0.2$). Una differenza statisticamente significativa invece è stata osservata per i tumori cerebrali, dal 23% al 71% ($p=0.002$).

L023

IL SOSTEGNO PSICOLOGICO NELLE CURE PALLIATIVE IN ONCOLOGIA PEDIATRICA: IL PAZIENTE, LA FAMIGLIA, LA SCUOLA

Gallo S, Camera F, Pinto A, Orlando R, Borrometi F, Menna G

Dipartimento di Oncologia, AORN Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Introduzione. L'OMS definisce le cure palliative pediatriche come l'attiva presa in carico globale di corpo, mente e spirito del bambino, che comprende il supporto attivo alla famiglia (1993). Ancora oggi le cure palliative in ambito pediatrico costituiscono un problema clinico-assistenziale cui mancano adeguate risposte sul territorio nazionale e tuttavia sono le uniche adatte e necessarie per competenza e globalità di approccio: costituiscono un momento insostituibile di supporto adeguato per il bambino/adolescente e per la famiglia. Queste le premesse del progetto dell'equipe di Psiconcologia e del Servizio di Terapia del Dolore e Cure Palliative in collaborazione con l'Associazione DO.NO Dolore no.

Obiettivi. Migliorare l'assistenza ai bambini e adolescenti affetti da patologia oncologica che non possono guarire e favorire l'interazione tra istituzioni pubbliche: ospedale, scuola in ospedale, scuola sul territorio, medici di base, assistenza domiciliare, associazioni di volontariato; evitare ad ogni bambino con tumore in fase terminale inutili dolori fisici, paura, ansia; assicurare al bambino e alla famiglia adeguata assistenza medica, spirituale e sostegno psicologico; implementare l'assistenza domiciliare e ridurre i costi di ospedalizzazione; fornire sostegno psicologico a compagni di classe e insegnanti.

Metodi. L'intervento, sperimentale, integra il supporto psi-

cologico agli interventi palliativi del team ospedaliero e domiciliare e si pone come trait d'union per assicurare una continuità di cura nel rispetto dell'iter terapeutico e del vissuto del bambino. Mantenendo una natura flessibile, poichè è impossibile prevedere il numero di bambini e i tempi di attuazione, l'intervento si articola in 3 fasi: 1. dalla cura alla palliazione; 2. la fase terminale, 3. l'elaborazione del lutto. Inoltre, in accordo con la scuola in ospedale, nelle scuole di provenienza dei bambini si attivano percorsi di supporto psicologico, modulati per età, rivolti a compagni di classe, insegnanti e genitori. È stata predisposta una scheda raccolta dati per la valutazione in itinere ed a posteriori del progetto.

Risultati e conclusioni. Il Progetto realizza uno specifico supporto psicologico al bambino in fase terminale e alla famiglia ed in più allarga il focus a compagni di classe e insegnanti, anche loro costretti a vivere una esperienza innaturale in una solitudine che accresce l'angoscia sia nel momento immediato che nei tempi successivi all'evento che divengono spesso insostenibili.

L024

RARA RECIDIVA TARDIVA SIMIL-LINFOMA DI LAL-B

Mastrodicca E, Capolsini I, Cerri C, Milano GM, Falzetti F, Falini B, Aversa F

Onco-Ematologia Pediatrica, Ematologia ed Immunologia Clinica, Università ed Azienda Ospedaliera di Perugia, Italy

Introduzione e obiettivi. Le recidive extramidollari isolate in sedi diverse dal SNC o dai testicoli sono eventi rari in pazienti con LAL. Riportiamo il caso di una recidiva extramidollare tardiva (8 anni dalla RC1 e 6 anni dallo stop terapia) e isolata di LAL pre-B simulante un linfoma.

Metodi. Per la comparsa di astenia e calo ponderale, la paziente esegue esami ematochimici che evidenziano una moderata pancitopenia (GB 2000/mm³; Hb 10,3 g/dL; PLT 121.000/mm³). L'esame obiettivo dimostra adenomegalie diffuse confermate alla TC: coinvolgimento dei linfonodi sovraclaveari, mediastinici, paratracheali, paracardiaci, della finestra aorto-polmonare, carenali, sottodiaframmatici, paraesofagei, retro crurali, dell'ilo epatico, della radice del piccolo omento, del retroperitoneo fino alla pelvi con secondaria compressione dei grossi vasi intraddominali, splenomegalia con lesioni focali spleniche, infiltrazione degli ureteri e sospetta infiltrazione della testa del pancreas. La biopsia linfonodale sovraclaveare ha mostrato coinvolgimento linfonodale da LAL-B. Non era presente malattia midollare (doppia biopsia ossea e aspirato midollare negativi) né periferica. Rachicentesi e TC cranio escludevano coinvolgimento del SNC.

Risultati. La bambina viene sottoposta a chemioterapia con alte dosi di citosina-araboside e mitoxantrone ottenendo una buona risposta parziale (riduzione delle adenomegalie superiori al 60%) e di seguito viene avviata a TMO da sorella identica raggiungendo la remissione completa.

Conclusioni. In letteratura sono riportati solo casi aneddotici di recidive extramidollari in sedi inusuali, il nostro caso si dimostra peculiare anche per la lunga latenza fra la sospensione della terapia e la recidiva (oltre sei anni dalla fine della terapia e oltre otto anni dall'ottenimento della RC1), per l'evidenza che si tratta di una recidiva e non di una seconda neoplasia, per la drammaticità del quadro di presentazione (coinvolgimento di pressochè tutte le stazioni linfatiche) in sedi esclusivamente extra-midollari. Il nostro caso dimostra che le recidive tardive possono verificarsi e in sedi diverse da quelle considerate tipiche. Vista la peculiarità del caso potrebbe

essere interessante valutare retrospettivamente, nell'ambito del registro AIEOP, l'incidenza e l'outcome di questa rara forma di recidiva

L025

RECIDIVA EXTRAMIDOLLARE POST TRAPIANTO ALLOGENICO DI LEUCEMIA ACUTA MEGACARIOBLASTICA IN UN BAMBINO CON PORPORA TROMBOCITOPENICA IDIOPATICA

Pulini S, Carlino D, Sau A, La Barba G, Salutati P, Onofrillo D, Bavaro P,¹ Recchia A, Di Lorenzo R, Melatti G, D'Arcangelo L, Di Bartolomeo P,¹ Fioritoni G

U.O. Ematologia Clinica, Dipartimento di Ematologia, Ospedale Civile Spirito Santo, Pescara; ¹Unità di Terapia Intensiva Ematologica per il Trapianto Emopoietico, Dipartimento di Ematologia, Ospedale Civile Spirito Santo, Pescara, Italy

Introduzione e obiettivi. Un bambino con una porpora trombocitopenica idiopatica (PTI) ha sviluppato una leucemia acuta megacarioblastica (LAM M7), poi recidivata come sarcoma megacarioblastico isolato.

Metodi. Un bambino di 18 mesi è giunto alla nostra attenzione per una piastrinopenia diagnosticata in età neonatale. Le piastrine si sono mantenute circa a 50000/ μ L e non ha presentato manifestazioni emorragiche. La biopsia midollare (BM) ha documentato solo iperplasia megacarioblastica; tale PTI non ha richiesto terapia. Dopo circa 10 mesi la piastrinopenia è peggiorata (20000), ma la rivalutazione midollare è risultata sovrapponibile. Dopo un mese vi è stato un netto decremento delle piastrine (7000) con comparsa di anemia ed una nuova BM ha posto diagnosi di LAM M7 con blasti positivi per CD33, 38, 41, 61, 105, negativi per CD15, 34, 117, MPO. Citogenetica, biologia molecolare (traslocazioni BCR/ABL, AML1/ETO, CBFbeta/MYH11, DEK/CAN, PML-RARalpha) nonché liquor sono risultati nella norma. Il piccolo è stato avviato a chemioterapia secondo il protocollo AIEOP LAM 2001 e successivo trapianto allogenico di PEC da MUD. Durante il follow up ha sviluppato una GVHD cronica localizzata al cavo orale.

Risultati. Dopo 17 mesi è comparsa una voluminosa tumefazione omerale descritta alla RMN come processo infiltrativo; la biopsia dell'osso ha evidenziato cellule leucemiche immature con MIB1 alto, positive per LAT e CD41 e negative per CD20, 3, 30, 117, 99, citocheratina, CD68/PG-M1. Il quadro era dunque compatibile con un sarcoma granulocitico a differenziazione megacarioblastica, mentre vi era una persistente remissione completa midollare e l'analisi allelica mostrava un chimerismo completo. È stata effettuata chemioterapia (schema MyFLAN) e radioterapia locoregionale ed attualmente il bambino è avviato ad un secondo trapianto allogenico dopo condizionamento con TBI.

Conclusioni. La LAM M7 costituisce meno del 10% delle LAM pediatriche; è difficile stabilire in tale caso una correlazione tra la sua insorgenza e la PTI. I rari sarcomi mieloidi possono costituire manifestazioni extramidollari che accompagnano la recidiva midollare di LAM post trapianto allogenico. Il nostro paziente, forse anche grazie alla GVHD cronica, ha manifestato solo la recidiva extramidollare. In tali circostanze è sempre opportuno prediligere terapie aggressive (TBI e secondo trapianto) in considerazione dei frequenti fallimenti con schemi convenzionali.

L026

RICONOSCIMENTO PRECOCE E TRATTAMENTO TEMPESTIVO DI UNA CRISI FALCEMICA

Brandigi F, Casini T, Cardellicchio S, Frenos S, Lavizzari A, Sanvito MC, Lippi AA

Azienda Ospedaliera Universitaria A. Meyer Dipartimento di Ematologia Pediatrica, Italy

Introduzione. Le crisi vasocclusive, complicanza dell'anemia falciforme, possono determinare un danno morfo-funzionale irreversibile degli organi coinvolti. Il precoce riconoscimento e trattamento rappresenta il principale fattore condizionante la durata della degenza, la morbilità e la prognosi a lungo termine.

Case report. E.S., nigeriano, a. 4, affetto da HbSS giunge al PS di un ospedale periferico con dolore addominale in apiresia. Esame obiettivo negativo. Esami ematici: Hb 7,8 mg/dL; GB 18.700/ mm^3 , N%80; non segni di emolisi; LDH 2.236 UI/L. Nel sospetto di una crisi falcemica instaurata terapia reidratante ev, antibiotica, analgica e ricoverato. Esame ultrasonografico dell'addome negativo. Dopo 24 ore per il persistere del dolore e per lo scadimento delle condizioni generali si esegue un secondo esame che evidenzia ecostruttura della milza disomogenea con numerosi spot iperecogeni, versamento in sede perisplenica ed in fossa iliaca destra. La radiografia del torace e l'ecocardiogramma eseguiti nello stesso giorno mostrano oblitterazione del senocostofrenico sinistro, versamento e falda pericardica. Nonostante la terapia instaurata per la persistenza dei sintomi, in V giornata si decide di effettuare trasfusione di emazie. Dopo dieci giorni di stretto monitoraggio clinico, ematologico e strumentale, per la completa regressione dei sintomi e segni, il paziente viene dimesso.

Conclusioni. Le crisi vasocclusive che interessano l'addome, il torace e il SNC rappresentano il 1.4% delle cause di morte nei soggetti minori di 10 a e la principale causa di danno d'organo nei pazienti affetti HbSS, se non trattate adeguatamente. Il mantenere % di HbS inferiore alla soglia critica del 30% appare l'unica terapia efficace per prevenire le crisi falcemiche. Nei soggetti in cui le crisi si ripetono con gravità e frequenza elevata, risultano terapie efficaci le trasfusioni periodiche programmate o salasso-trasfusione che evita l'accumulo marziale oppure l'ausilio di farmaci in grado di incrementare l'HbF. Lo studio della velocità di flusso cerebrale sembra essere allo stato attuale la sola metodica in grado di identificare i soggetti a rischio di stroke. In assenza di esami specifici per l'identificazione precoce delle crisi, un ruolo fondamentale è affidato alla valorizzazione della sintomatologia. In seguito ai cambiamenti demografici, si rende necessaria la sensibilizzazione dei medici di pronto soccorso e di famiglia rispetto a tale problematica.

L027

PANIPOPITUITARISMO REVERSIBILE IN LEUCEMIA LINFOLASTICA ACUTA

Kiren V, Rabusin M, Zanazzo GA, Tamaro P

S.C.O. Oncoematologia, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste, Italy

Un ragazzo di 14 anni ha ricevuto diagnosi di leucemia linfoblastica T ed ha iniziato terapia secondo il protocollo AIEOP LLA R2006. Il paziente è stato inoltre messo in profilassi con itraconazolo. Al giorno 29 dell'induzione il paziente presentava importante calo di peso con astenia, alvo diarroico e poliuria marcata comparsi due settimane prima. Riferiva inoltre

dolore mandibolare e si osservava difficoltà alla deambulazione. Dopo aver ricevuto la terapia prevista con daunomicina, vincristina e methotrexate intratecale il ragazzo ha manifestato due crisi tonico-cloniche generalizzate a distanza di pochi minuti risolte dopo somministrazione di diazepam endovenoso. Nei giorni seguenti inoltre la neuropatia periferica si è aggravata con comparsa di paralisi flaccida agli arti inferiori e superiori, e ileo paralitico. Gli esami biochimici rilevavano un quadro di panipopituitarismo: insufficienza surrenalica centrale con iponatremia e iperkaliemia, ipotiroidismo centrale, deficit di ormone della crescita, deficit di gonadotropine. La RMN cerebrale mostrava multiple lesioni ipointense in T1, iperintense in T2, senza enhancement dopo somministrazione di mezzo di contrasto, a livello frontale, cerebellare e occipitale. Non lesioni visibili all'ipofisi. È stata avviata terapia sostitutiva con fluoridrocortisone acetato, levotiroxina e testosterone acetato ed è stato sospeso l'itraconazolo. Dopo 20 giorni il ragazzo aveva ripreso a camminare, l'ACTH si era normalizzato con comparsa di ipercortisolemia e sviluppo di ipertensione arteriosa, per cui è stato sospeso il fluoridrocortisone. Dopo 40 giorni si è provveduto a scalare la levotiroxina per comparsa di ipertiroidismo mentre ad una seconda valutazione funzionale l'ormone della crescita si era normalizzato. Il testosterone era ancora basso ma nei limiti. La RMN cerebrale mostrava la scomparsa delle lesioni. Da una revisione della letteratura riteniamo che la tossicità neurologica (periferica e centrale) possa essere attribuita all'interazione vincristina/ itraconazolo. Vengono infatti descritti molti casi di tossicità caratterizzata da grave neuropatia periferica e ileo paralitico, convulsioni, iponatremia o SIADH, correlati alla contemporanea assunzione di questi farmaci, in pazienti verosimilmente predisposti (polimorfismo del citocromo p450-3A). Non ci sono segnalazioni di panipopituitarismo in LLA.

L028

COMBATTERE IL BURN-OUT DELL'OPERATORE D'AUTO NELLA REALTÀ ONCOLOGICA

Orlando R, Amura S, Pinto A, Camera F, Gallo S, Menna G
Azienda Ospedaliera Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Introduzione e obiettivi. Il Progetto nasce dall'esigenza di individuare percorsi di supporto formativo e psicologico per operatori d'aiuto nei reparti di oncematologia pediatrica, tali da ridurre concretamente il fenomeno del burnout. Spesso, infatti, alla crescente richiesta di volontari adeguatamente formati alla relazione d'aiuto nei confronti dei minori affetti da patologie tumorali e delle loro famiglie, corrisponde una limitata disponibilità di risorse umane che, dopo un iniziale impegno sul campo, abbandona la scena. Al turnover dei volontari corrisponde un crescente disorientamento dei pazienti che sono già di per sé alla ricerca di contenimento e affidabilità. Gli obiettivi perseguiti, pertanto, sono stati: - maggiore consapevolezza delle specificità del contesto ospedaliero scelto - potenziamento delle capacità di autoesplorazione - potenziamento delle competenze di counseling dei volontari operanti nei reparti di oncematologia pediatrica - incremento le abilità di cooperazione in team - implementazione delle abilità di coping per il fronteggiamento del burnout.

Metodo. Il percorso formativo è stato articolato in 3 momenti, quali: I° Pre - contatto. - Presentazione e significato del tema - Presentazione dei principali approcci teorici sul tema. Strumenti: Visioni di filmati e/o video, altri supporti tecnici (ipermedia, lucidi) II° Contatto Pieno. Attivazione di

lavori esperienziali di gruppo attraverso: - Narrazione del sé - Focalizzazione mediante stimolo - Autodescrizione Strumenti: circle time, role playing, simulate, modelling III° Post Contatto - Verifica mediante debriefing del significato percepito del lavoro svolto (diario di bordo collettivo condiviso fra i partecipanti). Strumenti: Feedback informativo ed emotivo

Risultati. Potenziamento delle capacità di ascolto; incremento delle abilità di lavoro in team; potenziamento delle capacità di autoesplorazione - sviluppo di un maggiore senso di autoefficacia; maggiore consapevolezza delle specificità del contesto ospedaliero scelto

Conclusioni. I volontari formati hanno ridotto dell'89% i livelli di ansia prestazionale iniziale e attivato risorse personali inesplorate (coping) nel 90% dei casi. L'efficacia dell'intervento ha consentito di prevedere un monitoring mensile finalizzato al potenziamento delle competenze d'aiuto ed alla prevenzione del burn-out ospedaliero.

L029

LA MALATTIA DI PEARSON: UNA CAUSA RARISSIMA DI CITOPENIA NEONATALE

Farruggia P, De Crescenzo N,² Castana C,¹ Caserta M,¹ Liotta G, Zirilli G

U.O. di Oncematologia Pediatrica e ¹U.O. di Malattie Metaboliche, Ospedale dei Bambini G. Di Cristina, Palermo; ²Dipartimento di Ematologia Pediatrica, Ospedale Regina Margherita, Torino, Italy

Introduzione. Le malattie mitocondriali spesso all'esordio coinvolgono un solo organo/apparato e poi, in tempi variabili, tendono a divenire malattie sistemiche. Le citopenie, spesso presenti nel corso della malattia, si accompagnano quasi sempre ad un esteso corredo sintomatologico. Descriviamo un caso atipico di S. di Pearson a lungo caratterizzato unicamente da pancitopenia.

Caso clinico. P.C., nato da cesareo di emergenza alla 38^a sett.: Apgar 1'=5 e a 10'=5; peso g. 2.230. Immediato ricovero in UTIN in condizioni gravissime: Hb alla nascita 1.8 gr/dL. Decorso neonatale caratterizzato da complicanze respiratorie e da grave anemia con trasfusione-dipendenza, accompagnata da leucopenia (GB in media 3-4.000/mm³) con neutropenia non responsiva al G-CSF (neutrofilii in media 500-800/mm³) e piastrinopenia (PP in media 80.000/mm³). Assenza di malformazioni e dismorfismi. Dopo dimissione dall'UTIN le indagini espletate evidenziavano: negatività di sierologie e PCR per virus e normalità di ammoniemia, lattato, aptoglobina, ceruloplasmina, folati, Vit B12, omocisteina, DEB Test e chimotripsina fecale. Alla routine ematochimica tutto nella norma fuorché un lieve aumento della gammaGT. Eritropoietinemia 5 volte la norma. L'aspirato midollare mostrava cellularità notevolmente ridotta (praticamente assente la serie eritroide; ridotta e con segni di displasia la serie mieloide): Pearls non valutabile per sostanziale assenza di eritroblasti. Colture. Progenitori emopoietici eritroidi: attività clonogenica assente. Progenitori granulomonocitari: discreta riduzione. Non aumento di attività clonogenica all'aggiunta di SCF^β. Nei primi mesi, a parte la dipendenza da trasfusioni (ret. sempre <1%), sempre ottime condizioni generali con buon accrescimento staturale-ponderale; mai vomito. A 4 mesi, per difficoltà di accesso venoso, posizionamento di CVC: al risveglio dall'anestesia comparsa di lieve acidosi metabolica (pH di 7.22) e ipoglicemia (48 mg/dL). Nelle settimane successive si verificavano altri lievi episodi analoghi (ipoglicemia e acidosi) e due episodi di sepsi grave in neutropenia, il secondo dei quali,

a 6,5 mesi di vita, fatale. Lo studio del DNA mitocondriale effettuato su coltura di fibroblasti cutanei evidenziava, post-mortem, ampia delezione di circa 5.0 Kb, diagnostica per S. di Pearson.

Conclusioni. Il caso in oggetto è particolarmente interessante per alcuni aspetti: 1. Esordio praticamente prenatale (Hb alla nascita di 1.8 gr%); 2. Lunga assenza dei sintomi di norma associati a malattia metabolica (vomito, scarsa crescita etc); 3. Seri problemi di diagnosi differenziale con malattie, in primo luogo la BDA, maggiormente noti all'ematologo pediatra.

L030

MALATTIE AUTOIMMUNI NELL'AMBITO DELLE PTI

Farruggia P, Tropa S, Messina S, Liotta G, Di Marco F, Trizzino A

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

Introduzione ed obiettivi. La porpora trombocitopenica idiopatica (PTI) è una malattia relativamente frequente in età pediatrica e autolimitantesi in circa il 60-70% dei casi. Riportiamo qui l'esperienza del centro di Palermo in un arco di tempo di 6 anni.

Pazienti e metodi. Nel periodo marzo 2002-marzo 2008 sono stati diagnosticati nel nostro centro 55 casi di PTI. In tutti è stato effettuato un aspirato midollare al momento dell'esordio. La terapia di 1° livello è stata prednisone per os in 40/55 casi; in 10 pazienti le PP si sono mantenute sempre > 20.000 e non è stata necessaria alcuna terapia, mentre, negli altri 5 casi, la somministrazione di IGEV ha costituito la terapia iniziale (spesso effettuata in un centro periferico prima dell'esecuzione dell'aspirato midollare). In 40 pazienti su 55, entro 3 mesi dalla diagnosi, è stata eseguita una batteria di esami che comprendeva: LAC (lupus anticoagulante), ANA, ENA, Anti-dsDNA, anticardiolipina, Test di Coombs diretto e indiretto, TSH, FT3, FT4, antitireoglobulina, antitireoperossidasi e antitransglutaminasi. 15 pazienti non hanno eseguito lo screening per autoimmunità e non sono quindi inseriti nella valutazione, perchè too early o perchè seguiti presso altri centri dopo l'aspirato midollare e la valutazione iniziale effettuati presso la nostra U.O. Nei casi che sono andati incontro a cronicizzazione, ogni 6-12 mesi, è stato ripetuto il dosaggio di ANA, ENA, Anti-dsDNA, anticardiolipina, TSH, FT3, FT4, antitireoglobulina e antitireoperossidasi.

Risultati. Due dei 40 pazienti valutabili erano in realtà affetti da una forma iniziale di LES: da sottolineare come si trattasse di 2 pazienti di sesso femminile e come una delle due sia guarita dalla piastrinopenia dopo una iniziale cronicizzazione mentre l'altra è ancora piastrinopenica a circa 30 mesi dall'esordio. Altre 2 pazienti, sempre di sesso femminile, sono risultate essere affette da una tiroidite autoimmune: una delle due è guarita spontaneamente dalla PTI (dopo una iniziale non risposta allo steroide per os) mentre l'altra è ancora affetta da PTI cronica a più di 2 anni dall'esordio. Conclusioni I nostri dati, con un 5% di incidenza di LES e tiroidite in soggetti con PTI, sono in linea con altri studi che da tempo segnalano l'associazione PTI-tiroiditi autoimmuni e PTI-LES, e contribuiscono a riaffermare con forza la necessità di adottare uno screening per autoimmunità in tutti i pazienti affetti da PTI. Il sesso femminile si conferma, infine, importante fattore di rischio per altra patologia autoimmune associata alla PTI.

L031

LE INFEZIONI SISTEMICHE DEL BAMBINO IMMUNOCOMPROMESSO: IL PUNTO DI VISTA DELL'INFERMIERE

De Falco G, Oreste M

Seconda Università degli Studi di Napoli (Servizio autonomo di oncologia pediatrica), Napoli, Italy

Introduzione Le infezioni rappresentano una delle più importanti cause di letalità e morbosità nei pazienti in trattamento per malattia neoplastica. Studi ormai storici, riguardanti prevalentemente pazienti in età adulta, hanno dimostrato che un'infezione, con o senza emorragia, rappresenta la causa terminale di morte nel 50-80% delle leucemie mieloidi acute e nel 50% dei linfomi. È stato osservato che circa l'80% degli episodi di neutropenia post-chemioterapia che durano più di una settimana si complicano con febbre e che il 60% circa di questi episodi febbrili è di documentata origine infettiva. L'insorgenza della complicanza infettiva può determinare ritardi nella ideale successione dei cicli di terapia antitumorale ("dose-intensity"), può causare la comparsa di fenomeni di tossicità legati alla terapia anti-infettiva e sicuramente peggiora la qualità della vita dei pazienti (ricoveri prolungati). Non secondario, infine, è l'impatto delle complicanze infettive sui costi assistenziali. L'approccio multidisciplinare, coinvolgente non solo ematologi, oncologi e personale infermieristico, ma anche infettivologi e microbiologi, rappresenta certamente la modalità ottimale per la gestione delle complicanze infettive nel soggetto neutropenico. Ciò soprattutto a causa della crescente intensità ed aggressività delle terapie antineoplastiche e della comparsa di preoccupanti fenomeni di resistenza agli antibiotici e di quadri clinici insoliti.

Scopi e metodologia. La valutazione e il trattamento del paziente ricoverato con neutropenia in atto, rappresenta per lo staff sanitario una situazione complessa e spesso difficile da gestire. La febbre in corso di neutropenia rappresenta un quadro clinico di urgenza e come tale deve essere affrontata. È necessario, quindi, eseguire esami culturali estensivi precedenti l'inizio del trattamento ed iniziare il più presto possibile una terapia antibiotica empirica ad ampio spettro rivolta contro i patogeni che più frequentemente possono causare comparsa di shock settico e morte del paziente entro poche ore dall'esordio della sintomatologia, anche se questi non risultano essere necessariamente i patogeni che vengono più frequentemente isolati. Questo studio è stato redatto con lo scopo di standardizzare le procedure di gestione della febbre che insorge in corso di neutropenia conseguentemente alla chemioterapia praticata nell'ambito del Servizio di Oncologia Pediatrica della Seconda Università degli Studi di Napoli. In generale si è ritenuto opportuno affrontare il problema principalmente valutando la capacità di ciascuna opzione terapeutica di indurre lo sfebbramento, senza modificare la terapia antibatterica empirica iniziale, nei pazienti neutropenici e febbrili.

Risultati. I motivi che hanno giustificato questo studio si possono schematizzare nel modo seguente: - il costo elevato delle procedure antiinfettive; - la prevenzione delle infezioni esogene; - la necessità di arginare l'antibiotico-resistenza. È bene sottolineare che la scelta della terapia antibiotica empirica iniziale è basata sulla conoscenza dell'epidemiologia locale, sia per quanto riguarda i patogeni più frequentemente isolati, sia per quanto riguarda la loro sensibilità agli antibiotici. Questi dati possono fornire, sia pur in maniera grossolana, un quadro della situazione microbiologica osservabile nel Centro di Oncologia Pediatrica della Seconda Università degli Studi di Napoli. Lo studio è stato effettuato nel quadriennio

dal 01.01.2003 al 31.12.2007 e prevedeva la raccolta delle risposte di emocolture praticate a pazienti neutropenici e febbrili ricoverati presso il nostro Centro. I risultati ottenuti sono i seguenti: ANNO 2003 - emocolture eseguite = 77 di cui positive 16; ANNO 2004 - emocolture eseguite = 54 di cui positive 20; ANNO 2005 - emocolture eseguite = 74 di cui positive 24; ANNO 2006 - emocolture eseguite = 81 di cui positive 27; ANNO 2007 - emocolture eseguite = 61 di cui positive 19. Per un totale nel quadriennio di 106 emocolture positive su un totale di 347 e con 5 casi di rimozione del catetere venoso centrale per contaminazione. *Conclusioni.* Da questo studio ne scaturisce un progressivo incremento delle sepsi da Gram-positivi e una diminuzione di quelle da gram-negative. Le ragioni di tale modifica del quadro epidemiologico sono da imputare all'incrementato uso del CVC e la profilassi con farmaci antibatterici come i fluorochinoloni che sono in grado di ridurre nettamente la sepsi da Gram-negativi, ma non egualmente efficaci nel controllo delle infezioni da cocchi Gram-positivi. Per quanto riguarda le infezioni fungine, esse rapp-

resentano un'importante complicanza nei pazienti immunocompromessi, infatti il rischio di sviluppare una micosi invasiva è particolarmente elevato nei pazienti con emopatie maligne e che sono sottoposti a chemioterapia citostatica intensiva a causa della conseguente profonda e prolungata neutropenia e dell'alterazione della mucosa intestinale. Inoltre, i notevoli progressi ottenuti nella profilassi e terapia delle infezioni batteriche espongono ad altri rischi infettivi tra cui le micosi. Quindi le strategie di prevenzione delle infezioni nel paziente ematologico immunocompromesso sono molteplici e si va dalla riduzione dell'acquisizione di nuovi microorganismi con l'utilizzo delle procedure di isolamento inverso alla riduzione delle procedure invasive (utilizzo CVC) nonchè al miglioramento dei meccanismi di difesa dell'ospite attraverso il controllo del grado e della durata della neutropenia con i fattori di crescita ed infine alla soppressione della flora microbica endogena con una profilassi chemio-antibiotica.

Publisher's Note

The Abstract Book of the National Congress of the Italian Association of Pediatric Hematology Oncology in the ISI Web of Knowledge.

Haematologica is included in the ISI Web of Knowledge – published by Thomson Reuters – as Haematologica-The Hematology Journal (abbreviation Haematol Hematol J). The journal can be searched in the Web of Science® and the Journal Citation Reports® (Impact Factor) as Haematol*.

In addition to regular issues, the following 2007 Haematologica supplements are present in the Web of Science®:

1. Abstract Book: 12th Congress of the European Hematology Association - Vienna, Austria, June 7-10, 2007. HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL 2007: 92 (Suppl 1). Published: JUN ~2007.
2. Abstract Book: XIth International Myeloma Workshop & IVth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia - 25-30 June 2007 - Kos Island, Greece. HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL 2007: 92 (Suppl 2). Published: JUN ~2007.
3. Abstract Book: 41st Congress of the Italian Society of Hematology - Bologna, Italy, October 14-17, 2007. HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL 2007: 92 (Suppl 3). Published: OCT ~2007.
4. Abstract Book: XXXIV National Congress of the Italian Association of Pediatric Hematology Oncology. HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL 2007: 92 (Suppl 4). Published: OCT ~2007.
5. Abstract Book: 7th International Symposium on Hodgkin Lymphoma - 3-7 November 2007 - Cologne, Germany. HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL 2007: 92 (Suppl 5). Published: NOV ~2007.

All the abstracts presented last year during the XXXIV National Congress of the Italian Association of Pediatric Hematology Oncology (October 21-23, 2007, Acconia di Curinga, Catanzaro, Italy) and included in the Abstract Book, are now present in the Web of Science®. 1-155 The abstract search can be performed using one or more keywords, the author name, the journal name (Haematol*), and the publication date (2007). For instance, a search for "clofarabine", "Pession A", "Haematol*" and "2007" will generate:

Title: Clofarabine in acute lymphoblastic leukemia: Cost-effective analysis from the SSN Italiano perspective

Author(s): Pession A, Martini N, Berto P

Source: HAEMATOLOGICA-THE HEMATOLOGY JOURNAL Volume: 92 Issue: 6, Pages: 20-21, Supplement: Suppl. 4 Published: OCT 2007

In the future, the use of the English for abstract preparation is advisable.

References

1. [Anon]. XXXIV national congress of the Italian association of pediatric oncology hematology – Abstracts. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):1.
2. Garzia L, Marrone A, Cusanelli E, et al. Micromas study involved in the principle signs of a medulloblastoma transducer [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):1.
3. Massimino M, Gandola L, Garre ML, et al. Preliminary results of the second AIEOP protocol for intracranial ependymoma [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):2.
4. Spreafico F, Collini P, Piva L, et al. AIEOP protocol for Wilms tumors 2003: Preliminary observations [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):2.
5. Muraro M, Carraro F, Mereuta OM, et al. Specific cell immunotherapy in patients affected by high risk osteosarcoma [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):2.
6. Albino D, Scaruffi P, Moretti S, et al. Malign neuroblastic cells and Schwann cells in two neuroblastic tumors show two distinct gene signatures [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):3.
7. Provenzi M, Giraldo E, Cavalleri L, et al. Liver transplants and chemotherapy in epatocarcinoma in chronic liver deliveries in pediatric ages [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):3.
8. De Bernardi B, Haupt R, Conte M, et al. Ganglioneuroma. 146 cases of registered italian neuroblastomas [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):3.
9. De GE, Conte M, Battaglia MF, et al. Opsoclonus-myoclonus-atassia syndrome: Neuropsychological and neuro-radiological series [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):4.
10. Indolfi P, Spreafico F, Collini P, et al. Papillary type nephritic carcinoma: Italian experiences [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):4.
11. Ingresso A, Chiriaco D, Foco M, et al. Localized neonatal neuroblastoma with ivs evolution [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):4.
12. Timeus F, Crescenzo N, Fandi A, et al. Anti-proliferative and anti-migratory activity of dasatinib on ewing sarcoma and neuroblastoma cell-lines [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):5.
13. Timeus F, Crescenzo N, Doria A, et al. Saquinavir anti-proliferative activity on ewing sarcoma and neuroblastoma cell-lines [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):5.
14. Fidani P, De Ions MA, Cozza R, et al. Combined therapy, surgery, radiotherapy and conventional chemotherapy to high doses of teratoid tumors/atypical rabdoid: Monocentric experiences [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):6.
15. De Ioris MA, Ilari I, Serra A, et al. Extra-ocular retinoblastoma: Experience of the The Infant Jesus pediatric hospital [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):6.
16. Ilari I, De LMA, Castellano A, et al. Induction chemotherapy based on topotecan in front-line treatment of unfavorable neuroblastoma prognosis [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):7.
17. Aglio V, Orloff N, Tonini G, et al. Identification of three new genes associated with neuroblastoma tumoral progression [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):7.
18. D'Angelo P, Grigoli A, Macaluso A, et al. Stiff neck in the pediatric age: Often a non-banal problem [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):7.
19. Biassoni V, Pallotti F, Spreafico F, et al. Edema and inflammatory injuries induced from the equivalent therapy with growth hormones in a patient treated for medulloblastoma [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):8.
20. Terenziani M, D'Angelo P, Bisogno G, et al. Teratoma with somatic-type malign component in pediatric oncology: AIEOP experience [abstract]. Haematologica 2007;92 (Suppl 4):9.
21. Camerin C, Tortori A, Purgato S, et al. Specific inhibition of mycn and myc through anti-gene pna-nls in medul-

- loblastoma human cell: Characterizations of anti-tumoral activity [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):9.
22. Pistollato F, Chen HL, Panchision DM, et al. Effects of hypoxia on the proliferation of cells derived from cerebral tumors and oxygen-dependant modulation depending on bmp and notch indirect signals [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):9.
 23. Giuliano M, Squillaro T, Crisci S, et al. Neuroblastoma in a pediatric era: Specific gene expression of staminality [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):10.
 24. Cozzi F, Schiavetti A, Totonelli G, et al. Long term results of hyperplastic nephroblastoma treatment: Literature review [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):10.
 25. Calafiore L, Villa G, Hanau G, et al. Ewing sarcoma (ES) in a preschoolly age. Survey of the Gaslini Institute [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):11.
 26. Coco S, Pezzolo A, Capra V, et al. Genomic analysis of medulloblastoma in pediatric patients [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):11.
 27. Garre ML, Haupt R, Bertolini P, et al. Treatment of malign glioma in very young children: Results of the first AIEOP cooperative study [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):12.
 28. Coccoli L, Cavazzana A, Iannelli A, et al. Germinal R158x mutations of the INI-1 gene in children with teratoid tumor/atypical rhabdoid [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):12.
 29. Modena P, Facchinetti F, Livio A, et al. Isolation and characterization of culture cells in pediatric ependymoma [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):13.
 30. Giorgiani G, Zecca M, Bonetti F, et al. Hemapoetic peripheral stem cell transplant from partially compatible familiar donors in pediatric patients affected by malign hemopathy [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):14.
 31. Turin I, Montagna D, Maccario R, et al. Infusion of CTL anti-leukemia for relapse treatment after allogeneic hematopoietic stem cell allogeneic transplant [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):14.
 32. Gunetti M, Ferrero I, Rustichelli D, et al. Ex vivo hematopoietic stem cell cord cryopreserved for allogeneic treatment: Validation in GMP conditions of phase I/II clinical protocol [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):14.
 33. Messina C, Calore E, Calo A, et al. Extracorporeal photochemotherapy (ECP) improves survival from the children's illness steroid resistant acute graft-versus-host disease (AGVHD) [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):15.
 34. Abdelrazik H, Morreale G, Terranova MP, et al. Evaluation of the immunological repertory in the first 100 days of allogeneic transplant in pediatric patients [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):15.
 35. Di Martino D, Terranova MP, Morreale G, et al. B lymphocyte repertory after hematopoietic stem cell transplant in a pediatric patient with fanconi anemia: Is a correlation possible with cytomegalovirus reactivation? [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):16.
 36. Di Martino D, Di Duca M, Terranova MP, et al. Quantitative analysis of post-transplant allogeneic chimerism of hematopoietic stem cells in pediatric patient subjected to non-myeloablative conditioning [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):16.
 37. Ilari I, Cozza R, Castellano A, et al. Chemotherapy with high amounts of etoposide, thiotepa and cyclophosphamide (ETC) of high risk Ewing sarcoma [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):16.
 38. Rustichelli D, Mareschi K, Ferrero I, et al. Mesenchymal stem cells isolated from amniotic fluid differentiate in neuronal cells [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):17.
 39. Manetta T, Rustichelli D, Mareschi K, et al. Placenta: An alternative source of mesenchymal stem cells [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):17.
 40. Sanna MA, Badiali M, Addari MC, et al. Haploidentical thalassemia transplant. Experience of the Cagliari center [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):18.
 41. Accordi B, Espina V, Milani G, et al. Analysis of phosphoproteomic profile of B-ALL pediatric with reverse phase protein arrays [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):19.
 42. Fabbri G, Paganin M, Polato K, et al. Significance of monitoring minimal residual illness in LLA pediatric patient follow-up [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):19.
 43. Cazzaniga G, Flohr T, Schrauder A, et al. Minimal residual disease in stratification through quantitative PCR somatic rearrangement of genes for T antigen receptors and international multicentric immunoglobulin protocol AIEOP-BFM ALL2000 for acute lymphoblastic leucemia pediatric: Feasibility analysis and laboratory results [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):19.
 44. Cazzaniga G, Bungaro S, Campo Dell'Orto M, et al. Integrated analysis of the genotypic profile of expression. LAL pediatric non-classified genetically identify new gene anomalies [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):20.
 45. Pession A, Martini N, Berto P. Clofarabine in acute lymphoblastic leukemia: Cost-effective analysis from the SSN Italiano perspective [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):20.
 46. Tremolada M, Axia G, Bonichini S, et al. Effects of communication on the symptomatology of the parent in crucial moments of the therapeutic course of children affected by LLA [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):21.
 47. Tremolada M, Axia G, Bonichini S, et al. Effect of psychological reactions of children affected by LLA cortisone on the symptomatology of parents during re-induction [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):21.
 48. Tremolada M, Axia G, Bonichini S, et al. Post-diagnosis predictors of motor development in children with leukemia at a pre-school age after 12 months of therapy [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):21.
 49. Casale F, Crisci S, D'Angelo V, et al. Role of polymorphism of methylene-tetrahydro-folate-reductase (MTHFR-C677T) on the sensibility of methotrexate in acute lymphoblastic leukemia in those of pediatric age [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):22.
 50. Migliavacca M, Biagi E, Col M, et al. PTX3 and the invasive fungal infection: New diagnosis role and monitoring the clinical response of immunocompromised children [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):22.
 51. Lo Nigro L, Mirabile E, Poli A, et al. New form of acute t-lineage lymphoblastic leukemia in children? A resistant illness relapse case treated with imatinib mesylate (Glivec) [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):23.
 52. Lo Nigro L, Leszl A, Basso G, et al. Analysis of acute myeloid leukemia (AML) with rearrangement of band 11Q23/MLL gene treated with AIEOP protocol LAM 2002-01: Clinical presentation and response to treatment [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):23.
 53. Taormina C, Balsamo F, Trizzino A, et al. Description and evolution of emotional discomfort in pediatric oncology during therapeutic procedure and comparison with a group of off therapy patients [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):24.
 54. Morerio C, Panarello C, Tassano E, et al. Cloning chromosome anomaly in congenital amegakaryocytic thrombocytopenia (CAMT, OMIM #604498) [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):24.
 55. Arico M, Valsecchi MG, Rizzari C, et al. DNA index has prognostic value of LLA in children treated with BFM type intense chemotherapy. Final protocol results AIEOP-LLA-94 [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):24.
 56. Masetti R, Rondelli R, Putti C, et al. AIEOP protocol LAM 2002/01: Preliminary results [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):25.
 57. Germano G, Robinson BW, Song Y, et al. Cloning and expression of orthologous CDNA of MLL in zebrafish (*Danio rerio*) [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):25.
 58. Caruso R, Funari D, Pansini V, et al. Burkitt's lymphoma in children with HIV [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):26.
 59. Campo Dell'Orto M, Zangrando A, Trentin L, et al. New

- data on the robustness of the gene expression pattern of leukemia: Comparison of three distinct methods of RNA extraction [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):26.
60. Giannelli R, Bulleri M, Di Quirico D, et al. Evaluation of hTERT gene expression in pediatric patients affected by acute leukemia: Preliminary data [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):26.
 61. Rizzari C, Conter V, Valsecchi MG, et al. Long term results obtained by children with acute lymphoblastic leukemia and immunophenotypic T used in AIEOP protocol LLA 91 E 95 [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):27.
 62. Paganin M, Zecca M, Fabbri G, et al. Monitoring minimal residual disease in patients with type S3-S4 acute lymphoblastic leukemia treated with AIEOP protocol LAL rec 2003 [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):27.
 63. Pigazzi M, Manara E, Basso G. Transcription factor ICER induced apoptosis in the HL60 modulating CREB activity [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):27.
 64. Formica S, Astolfi A, Franzoni M, et al. Pharmacogenomic study of the resistance to clofarabin in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):28.
 65. Farinasso L, Parodi E, Renga D, et al. Hyperglycemia during induction therapy in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia: Case study of an individual center [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):28.
 66. Mussolin L, Bonvini P, Pillon M, et al. Immunological anti-alk tumoral response 'in vivo' in pediatric anaplastic large cell lymphoma (ALCL) [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):29.
 67. Pillon M, Mussolin L, Lombardi A, et al. Analysis of the survival of patients afflicted with B-cell non-Hodgkin lymphoma with SNC localization: Results of AIEOP LNH 97 national protocol [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):29.
 68. Pillon M, Mainardi C, Tridello G, et al. Comparative analysis of toxicity and survival of two AIEOP LNH92 and LNH97 national protocols for lymphoblastic lymphomas [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):30.
 69. Morello W, Fagioli F, Favre C, et al. Indication of the use and toxicity profile of non-pegylated liposomal doxorubicin (Mycoet) in hematology and pediatric oncology [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):30.
 70. Cannella S, Santoro A, Trizzino A, et al. Mutations in determined alterations of m-RNA splicing are the genetic defects more frequent in patients with FHL3 [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):31.
 71. Trizzino A, Cannella S, Santoro A, et al. Severe mutations of MUNC 13-4 gene associated with precocious beginning of FHL3 [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):31.
 72. Origa R, Satta S, Cipollina MD, et al. Polymorphism of S-transferase glutathione gene and a major thalassaemia cardiac iron [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):32.
 73. Amendola G, Di Concilio R, D'Urzo G, et al. Therapy with recombinant erythropoietin in child pinocytosis [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):32.
 74. Timeus F, Crescenzo N, Doria A, et al. Functional evaluation of hemopoietic circulating progenitor in patients with Noonan syndrome [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):32.
 75. Farruggia P, Lanza T, Porretti L, et al. Autoimmune neutropenia: A diagnosis problem in pediatric oncohematology [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):33.
 76. Pigullo S, Lanciotti M, Ferretti E, et al. Aplastic anemia of TERC gene mutation: Genotypic-phenotypic correlation and effect of mielosuppressive cytokine on ancestor's medullary [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):34.
 77. Lanciotti M, Caridi G, Pigullo S, et al. Complex heterozygosis of the gene ELA2 in a case of severe congenital neutropenia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):34.
 78. Ladogana S, Ciliberti A, De Santis R, et al. Thrombocytopenia essential in a pediatric era [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):34.
 79. Pigullo S, Santamaria G, Caridi G, et al. Analysis of gene mutation of complex telomerase GAR1 in patients with aplastic anemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):35.
 80. Parodi E, Riverti E, Quarello P, et al. Efficiency of treatment with IG Anti-D intravenous injection in PTI [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):35.
 81. Pastore M, Ciliberti A, De Santis R, et al. Success of estrogenic therapy in a case of severe gastrointestinal haemorrhage in serious chronic thrombocytopenia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):36.
 82. Trentin L, Dell C, Orto M, et al. Study of gene expression profile in patients affected by Langerhans cell histiocytosis [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):36.
 83. Sollaino MC, Perseu L, Desogus MF, et al. Variability of delta globin gene [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):36.
 84. Cipollina MD, Satta S, Borgna C, et al. Severe chronic neutropenia from Hax 1 gene mutation [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):37.
 85. Longo F, Roggero S, Boetti T, et al. Build up of iron in pediatrics [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):37.
 86. Perrotta S, Rossi F, Ferraro M, et al. Functional characterization of a variant (E417X) of the EPO-R gene in an Italian family with familial congenital primitive polycythemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):38.
 87. Perrotta S, Passaro I, Rossi F, et al. Effects of a surge of iron on the proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells from human bone marrow [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):38.
 88. Dorotea L, Gabelli M, Magro E, et al. Immunomodulatory property of mesenchymal stem cells (MSC) derived from the umbilical chord [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):39.
 89. Amendola A, Palumbo G, Moleti ML, et al. Idiopathic Thrombocytopenic Purpura: Therapy with high doses of desametasone in children and adolescents [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):40.
 90. Capello F, Scrimin S, Pillon M, et al. Cognitive, motor and interaction development during a game in young patients with tumoral pathology [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):40.
 91. Haupt R, Masera G, D'Angio GJ, et al. The Erice Document: When to be considered cured and how to monitor tumoral subjects of a pediatric age outside of therapy [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):41.
 92. Dallorso S, Berger M, Caviglia I, et al. Individual administration of PEG-G-CSF 100 mcg/kg in the treatment of chemo-driven neutropenia and the mobilization of circulating hemopoietic progenitors CD34+ in pediatric age patients [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):41.
 93. Notarangelo LD, Galiani S, Moratto D, et al. Analysis of genotypic-phenotypic correlation in patients with WASP gene mutation [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):42.
 94. Aiuti A, Marangoni F, Scaramuzza S, et al. Gene therapy of Wiskott-Aldrich syndrome [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):42.
 95. Giraldi E, Provenzi M, Cornelli P, et al. Use of anti-CD20 monoclonal antibodies (Rituximab) in the treatment of severe illnesses correlated to Epstein-Barr Virus infections [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):43.
 96. Giraldi E, Provenzi M, Morali L, et al. Lymphoproliferative x-recessive syndrome (XLP): Severe infective mononucleus in lymphoproliferative disorders in unusual localization [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):43.
 97. Castellano A, Serra A, Ilari I, et al. Pharmacological treatment of dangerous angiomas for life [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):43.
 98. Azzali M, Pedretti S, Orzan E, et al. TRMA syndrome: Follow-up of 3 patients [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):44.
 99. Camera F, Pinto A, Gallo S, et al. Psychological discomfort in siblings: Analysis of 4 years of pediatric oncology activity [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):44.
 100. Moschese V, La Rocca M, Graziani S, et al. Expressions

- and functionality of B lymphocytes in patients with an initial diagnosis of transitory hypogammaglobulinemia of infancy [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):45.
101. Piccoli M, Grisafi D, Pozzobon M, et al. Efficiency of stem cell infections of amniotic fluid by means of adenoviral carriers [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):45.
 102. Dama E, Rondelli R, Pastore G, et al. Migrations in registered children from the AIEOP centers with MOD.1.01 from 1989-2005 [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):46.
 103. Taormina C, Maniaci G, Balsamo F, et al. Anxiety and coping strategy in pediatric oncohematology: Management and adjustment of parent groups on the long therapeutic course [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):46.
 104. Caselli D, Cesaro S, Tropa S, et al. Multiresistant aeruginosa pseudomonas infections: Cooperative studies of pediatric oncohematological centers [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):46.
 105. Marinello S, Tridello G, Penazzato M, et al. 10-year observational study on the incidence and characteristics of candidemia in pediatric oncohematology [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):47.
 106. Soresina A, Rondelli R, Quinti I, et al. Definitive results of a multicentric prospective surveillance study of the collateral effects of the use of immunoglobulin by an intravenous route [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):47.
 107. Sau A, La BG, Pulini S, et al. Resolution of pilonidal fistula with the application of piastrinic gel in chemotherapy patients with acute lymphoblastic leukemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):48.
 108. Fusco M, Cecere F, Vitale A, et al. Feasibility study of an infantile regional registered tumor in Campania: Preliminary analysis of informative sources [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):48.
 109. Italia S, Favara Scacco C. Therapy art as support during the terminal phase in children with Neoplasia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):49.
 110. Svahn J, Ferretti E, Van Lint M, et al. Characterizations of cytochonic profile in acquired aplastic anemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):49.
 111. Bernardo ME, Cometa AM, Villa R, et al. Mesenchymal stem cell derived from bone marrow do not meet the neoplastic transformation after in vitro culture to long term and unexpressed telomeric activity [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):49.
 112. Bolda F, Bosi A, Baffelli R, et al. Role of mesenchymal stem cells from amniotic fluid in gene and cellular therapy [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):50.
 113. Baffelli R, Bolda F, Berta S, et al. Post-treatment monitoring of 10 patients affected by adenosine deaminase deficit [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):50.
 114. De Carolis G, Menconi M, Casazza G, et al. Palliative sedation in pediatric oncohematology [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):51.
 115. Morello W, Fagioli F, Favre C, et al. Current indications of the use and profile of toxicity in non-pegylated liposomal doxorubicin (Myocet (R)) in hematology and pediatric oncology [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):51.
 116. Postini A, Pagano M, Berta M, et al. Histiocytosis and Langerhans cells: 40 years of monocentric experience [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):52.
 117. Giliani S, Pegoiani E, Vairo D, et al. Phenotypic variability in RMRP gene alterations [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):52.
 118. Pagano M, Postini A, Berta M, et al. Ataxia and spinocerebral neurodegeneration in 15 years of diagnosis in a case of Langerhans cell histiocytosis plurirecidivate [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):52.
 119. Piastra M, Tomesello A, Zorzi G, et al. Intensive cure for children with oncological difficulties: Preliminary results of an Italian survey 2003-2005 [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):53.
 120. Favara SC, Carciotto T, Pistorio L, et al. Survivors: Evaluation of the possible continuation of holistic cures [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):53.
 121. Acquaviva A, Onnis A, Luzzi A, et al. PRB2/P130: A new candidate of retinoblastoma genes [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):54.
 122. Di Cataldo A, Bertuna G, D'Amico S, et al. Neuroblastoma (NB) disseminated in the first year of life: Preliminary results of the first European study [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):54.
 123. Schiavetti A, Ingrosso A, Chiriaco D, et al. Gastrointestinal tract stenosis as a delayed affect of antineoplastic treatment [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):55.
 124. Acquaviva A, Cozza R, Hadjistilianou T, et al. Protocol for diagnosis and retinoblastoma therapy AIEOP RB 05: Analysis ad interim [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):55.
 125. Shiha K, Tettoni K, D'ippolito C, et al. Appearance of iliopsoas metastasis in patients with three years of osteoblastic osteosarcoma diagnosis [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):56.
 126. Tettoni K, Corti A, Grassi V, et al. A difficult case of diagnosing kapisiform neonatal hemangioendothelioma [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):56.
 127. Casale F, Crisi S, Francese M, et al. Polymorphism of methylene-tetrahydrofolic reductase (MTHFR-C677T) and relative risk of neoplasia in pediatric patients affected by solid neoplasia or acute lymphoblastic leukemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):56.
 128. D'Angelo P, Caselli D, Farruggia P, et al. Second tumors in pediatric oncohematology: A spacious specter of conditions. Experience of Palermo's AIEOP center [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):57.
 129. Cozzi F, Schiavetti A, Spagnol L, et al. Neonatal cervical neuroblastoma treatment [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):57.
 130. Zin A, Sartori F, Bisogno G, et al. Prognostic evaluation of the transcribed EWS-FLI1 type 1 and type 2 Ewing sarcoma/PNET in soft parts [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):58.
 131. Bianchi M, Pagano M, Bertin D, et al. Hodgkin's disease: A debut with unusual localization [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):58.
 132. Battaglia M, Viscardi E, Grada C, et al. A cognitive rehabilitation and psycho-social approach in evolutionary age patients with central nervous system tumor results [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):58.
 133. Lanino E, Conte M, Barbino A, et al. Histiocytosis in Langerhans cutaneous and intestinal cells: Persistent remission despite rejection of a cordonal stem cell transplant [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):59.
 134. Menconi M, Casazza G, Nardi M, et al. EBV encephalitis correlated in pediatric patients subjected to allogeneic hemopoietic stem cell transplant from a non-familial donor [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):59.
 135. Tesse R, Santoro N, Cecinati V, et al. Association of beta gene defensina-1 haplotypes and susceptibility to infection in acute lymphoblastic leukemia patients [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):60.
 136. Santoro N, Cecinati V, Delvecchio M, et al. Low prevalence of tiroidite autoimmune in off-patient pediatric patients with acute lymphatic leukemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):60.
 137. Grassi M, Giordano P, Di Cuonzo F, et al. Angio-RMN surveillance of cerebral thromboembolic events in pediatric patients affected by acute lymphoblastic leukemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):60.
 138. Mirabile E, Poli A, Tummo M, et al. Support role of the molecular biology laboratory for the diagnostic characterization of children affected by acute leukemia: Monocentric experience [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):61.
 139. Giordano P, Santoro N, Cecinati V, et al. Supplementation of protein C concentrate in pediatric oncological patients during feverish neutropenia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):61.

140. Colombini A, Citterio M, Spinelli M, et al. Patomorphosis and clinical lapse of chicken pox in 16 LLA cases treated in accordance to AIEOP LLA 2000 protocol: Monocentric experience [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):62.
141. Di Marzio A, La Barba G, Sau A, et al. Delayed effect in patients treated with radio-chemotherapy for Hodgkin's lymphoma: Monocentric case study [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):62.
142. D'ippolito C, Soresina R, Brusati M, et al. Cerebral mycosis: Clinical update of two patients affected by LLA [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):62.
143. Amendola G, Di Concilio R, D'urzo G, et al. Cytometric evaluation of red blood cells and reticulocyte in the diagnosis of neonatal hemolytic anemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):63.
144. Coletti V, Funaro D, Pansini V, et al. Efficiency of rituximab therapy in cases of autoimmune resistant hemolytic anemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):63.
145. Trizzino A, Farruggia P, Crescenzo N, et al. Relapsed candida infections in a patient affected by ALPS [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):64.
146. Pulini S, Di Marzio A, La Barba G, et al. Complicated juvenile myelofibrosis idiopathy from portal vein thrombosis: Difficult direction [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):64.
147. Portaleone D, Taroni F, Cognizzoli P, et al. Interferon alpha in the treatment of a PHACES syndrome case: Effects of therapy and epileptic complications of the syndrome [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):65.
148. Massucco G, Caprino D, Assistance to children with tumoral pathology: Which qualities of life [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):66.
149. Camera F, Pinto A, Gallo S, et al. Art therapy: Experience in a pediatric oncological center [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):66.
150. Pinto A, Camera F, Barbuto C, et al. Reflections on a psychological procedure: Diagnosis communication in children with leukemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):66.
151. Pinto A, Camera F, Barbuto C, et al. Verification of the efficiency of psychological procedure adopted by patients affected by leukemia [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):67.
152. Cecinati V, Santoro N, Grassi M, et al. Histiocytosis in Langerhan cells in a pediatric patient affected by thrombocytopenia syndrome-absence of radium [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):67.
153. Giuliano M, De Benedetta G, Abate V, et al. Anorexia in adolescents with tumors: Case study [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):67.
154. Casale F, De Benedetta G, Ruggiero C, et al. Humanization of hospitalization and music therapy in pediatric oncology [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):68.
155. Paolucci P, Cano C, Cioni V, et al. New challenge in the prescription of medicines in pediatric oncology [abstract]. *Haematologica* 2007;92 (Suppl 4):68.

Indice degli autori

- Abate M 2
 Abate ME 19
 Abbadi S 8
 Accordi B 24
 Acquaviva A 11, 26
 Addari C 61
 Affinita MC 1, 28
 Agodi A 31
 Agostini C 54
 Agostinis C 44
 Agostoni V 24
 Aiuti A 21, 49
 Ajovalasit D 52
 Alaggio R 4
 Albano V 48
 Aliprandi S 56
 Ambrosini Spinella F 60
 Amendola A 46, 50
 Amendola G 29, 46
 Amendolara M 29
 Amura S 70
 Andolfo I 37
 Andracchio A 2
 Andreani M 42
 Andresciani E 60
 Angelini P 9
 Antignano A 64
 Arcamone G 1, 26
 Ardissino G 6
 Argioli F 61
 Aricò M 4, 6, 7, 12, 13, 22, 25, 33, 37, 40, 41, 46, 49, 52, 54, 65
 Arlotta A 33, 34
 Aru B 1, 27
 Asci R 37
 Astarita L 6, 64
 Attinà G 33, 34
 Attiyeh EF 3
 Aversa F 22, 27, 65, 68
 Axia G 55
 Azzari C 42
- Bacci G 2
 Baffelli R 17, 39
 Bagagiolo S 60
 Bagnato MG 64
 Balduzzi A 16, 17, 21
 Balduzzi B 56
 Balistreri A 11
 Balter R 1, 12, 26
 Banov L 35, 40
 Barberi A 60
 Barberis M 38
 Barchitta M 31
 Bardini M 23
 Bardini P 56
- Barera G 21
 Barisone E 33, 35, 55
 Baron E 32
 Barone A 58
 Barone G 33
 Bartoli A 61
 Bartoli F 28
 Bartram CR 22
 Basso G 8, 22, 23, 24, 28, 32, 36, 37
 Basso S 3
 Battaglia C 23
 Bavaro P 69
 Beghin A 32
 Beier R 22
 Benedetto C 18
 Benetello A 37
 Bennato V 53, 56
 Beretta C 54
 Berger M 19
 Bernardo ME 17
 Bernasconi S 18
 Bernini G 13
 Berta M 2, 11
 Berta S 17
 Bertolini P 26, 27, 43
 Bertorello N 35
 Bertuna G 1
 Bezzio S 46, 55
 Biagi E 16, 17, 21, 24
 Bianchi M 1, 9, 26, 27
 Biassoni V 12, 52
 Biondi A 16, 17, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 30
 Biral E 20, 42, 49, 64
 Bisogno G 2, 4, 7, 19, 46, 59, 63
 Boaro MP 22, 27
 Bolda F 17
 Bolognini S 47
 Bomarzo A 11
 Bonanomi S 17
 Bondioni MP 47
 Bonichini S 30
 Bonvini P 25, 36
 Bordignon C 49
 Bornstein MH 55
 Borrometi F 68
 Borsatti E 34, 48
 Bossi G 43
 Bottino D 31
 Brach del Prever A 2, 11
 Brach del Prever E 2
 Brandigi F 63, 69
 Brescianini A 47
 Bresolin S 36
 Brigida I 21, 49
 Brodeur GM 3
 Broglia M 61
 Brontesi D 53
 Brunetti D 67
- Bruni F 47
 Brusati M 51
 Brusco A 38
 Bruzzi P 9
 Bua J 40
 Buccoliero AM 12, 13
 Bueno C 25
 Buffardi S 25, 26, 27
 Bugarin C 21
 Buldini B 37
 Bulian P 34
 Buonanno MT 60
 Burlando O 40, 46
 Burnelli R 26, 27
 Burnelli R 11
- Cadoni A 57, 65
 Calabrese R 55
 Calafiore L 9, 10
 Callegaro L 49
 Calore E 22
 Camera F 57, 65, 66, 68, 70
 Campagnoli MF 38
 Campanile R 60
 Campo Dell'Orto M 36
 Cancrini C 21
 Caniglia M 21
 Cannella S 41
 Cantarini ME 44
 Caocci G 17
 Capanna R 2
 Capasso M 6, 47, 64, 67
 Capello F 55
 Capolsini I 65, 68
 Cappelli B 20, 49, 64
 Caprino D 40
 Carando A 38
 Carbone E 18
 Cardellicchio S 6, 69
 Cardinale F 43
 Cardus P 25
 Cariati E 41
 Carli M 4, 7, 26, 30, 55, 59
 Carlino D 69
 Carloni I 48, 60
 Carlucci F 49
 Carnevali P 4
 Carobolante F 67
 Casale F 1, 23, 28
 Casanova M 7
 Casazza G 14, 67
 Caselli D 40, 54, 63
 Caserta M 70
 Casini T 6, 40, 69
 Casiraghi M 49
 Cassani B 49
 Castagnola E 54
 Castaldi C 43

Indice degli autori

- Castana C 70
 Castellano A 1, 5, 8
 Castello MA 8
 Casula L 63
 Catania R 53
 Catania S 6
 Catapano F 29
 Cattaneo F 20, 49
 Cavalleri L 44
 Cavallotti I 1
 Cazzaniga G 22, 23, 24, 25, 26, 30, 37
 Cecchetto G 7
 Cefalo G 2
 Cefalo MG 14, 34
 Cellini M 26, 27, 46, 54
 Cenci T 50
 Censori B 44
 Cerri C 65, 68
 Cesaro S 22, 46, 54
 Cetica V 7, 13, 40, 41
 Chiaretti A 33
 Chiesa R 20, 21, 49, 64
 Chini L 43
 Chiriaco D 8, 9
 Ciceri F 20, 49, 64
 Cifola I 23
 Cinalli G 6
 Cioni M 3
 Cistaro A 2
 Citarella S 47, 67
 Citterio M 33, 38
 Ciuccarelli F 60
 Civino A 27
 Clerico A 8
 Coccia P 14, 33
 Coccoli L 14
 Codazzi D 44
 Cole K 3
 Coletti V 38, 42, 61
 Collini P 6, 9, 53
 Colombini A 33
 Colucci S 37
 Comoli P 3, 17
 Compostella A 4
 Comunanza V 18
 Consarino C 26, 27, 38, 59
 Consolini R 43, 54
 Conte M 1
 Conter V 22, 33
 Conti L 9
 Cornelli P 26, 27, 42, 44
 Corongiu F 63
 Corral L 23, 26
 Corrias A 35
 Corrias MV 9
 Corti P 17
 Cosmi C 27
 Cossu F 39, 61
 Costanzo P 29
 Cozza R 2, 5, 8, 11
 Cravero C 18
 Crescenzo N 19
 Crisci S 1, 28
 Crocchiolo R 20, 64
 Cugno C 17
 Cuzzubbo D 66
 D'Agostini C 43
 D'Alessandro MM 65
 D'Ambrosio A 27
 D'Amico G 16, 21
 D'Amico S 11, 26, 27, 53
 D'Amore E 27, 61
 D'Angelo P 1, 31, 61, 65
 D'Angelo V 1, 28
 d'Aniello D 57, 65
 D'Arcangelo L 69
 D'Ippolito C 17, 39, 51, 53
 D'Onofrio V 60
 D'Urzo G 29
 Dall'Amico R 34, 48
 Dama E 52
 Damiani F 41
 Dander E 16
 Dassiè A 12
 De Bernardi B 1, 9, 10
 De Bortoli M 4
 De Crescenzo N 70
 De Falco G 71
 De Falco L 37
 De Francesco S 11
 De Fusco C 41
 De Gaetano AM 15
 De Grandi C 53
 De Ioris MA 5, 8
 De Laurentis C 8
 De Luca A 1
 De Marco E 14, 67
 De Martiis D 17, 56
 De Mattia D 38, 39, 42, 46
 De Pasquale MD 5, 8
 De Rosi G 35
 De Rossi G 22, 23, 33, 42, 61
 De Santis R 26, 27
 De Sio L 8
 De Zen L 12, 34, 48
 Decorti G 28
 Defferrari R 31
 Defilippi C 2
 Della Ragione F 47
 Dello Russo A 59
 Devoto M 3
 Di Bartolomeo P 69
 Di Biaso I 21
 Di Cataldo A 1, 4, 31, 53
 Di Concilio R 29, 46
 Di Duca M 20, 66
 Di Lorenzo R 69
 Di Maio L 21
 Di Marco F 61, 71
 Di Martino D 20, 66
 Di Martino M 28
 Di Marzio A 26, 27
 Di Pinto D 1, 28
 Dianzani I 38
 Dini G 20
 Dionisi Vici C 61
 Dominici C 8, 9
 Donfrancesco A 4, 5, 8, 11
 Doria A 19
 Drigo A 12
 Dufour C 40, 42, 46, 55
 Duner E 38
 Enver T 25
 Errigo G 38
 Espina V 24
 Evangelio C 20
 Fabbri E 26, 27
 Fabrizzi B 48
 Facchini E 44
 Fagioli F 2, 11, 18, 19, 23, 28, 35, 55
 Falini B 65, 68
 Fallani S 63
 Falzetti F 68
 Faraci M 66
 Farina S 6
 Farinasso L 45
 Farruggia P 26, 27, 46, 70, 71
 Favini F 7
 Favre C 2, 14, 19, 26, 27, 67
 Fazio G 23
 Fazio R 18
 Fecarotta L 6
 Fecarotta S 64
 Fedeli F 26, 27
 Felici L 26
 Ferrante MR 64
 Ferrara R 61
 Ferrari A 4, 7, 52
 Ferrari G 42
 Ferrari S 2, 11, 19, 52
 Ferrero I 18
 Ferrua F 21, 49
 Fidani P 8, 52
 Filisetti M 47
 Finocchi A 21
 Fiore L 35
 Fiore M 7
 Fiori GM 27
 Fiorillo A 6
 Fioritoni G 69
 Foà R 50

- Foco M 8, 9
 Foglia C 44
 Foglia L 19
 Ford A 25
 Forino C 17, 56
 Fossati M 64
 Fossati-Bellani F 2, 6, 19
 Frenos S 6, 54, 63, 69
 Frugnoli I 20, 49, 64
 Funaro D 42, 61
 Furfaro I 33
 Furfaro IF 14
 Fuser M 59
- Gabrielli O 4
 Gaipa G 21
 Galanello R 42, 61
 Galati MC 59
 Galea E 59
 Galimberti S 49
 Galleni B 10
 Galletto C 35
 Gallicola F 47, 67
 Gallo S 57, 68
 Gallo S, 70
 Gallo Afflitto I 47, 67
 Gambineri E 49
 Gambini C 4, 62
 Ganassin G 26
 Gandola L 6, 53
 Garaventa A 1, 4, 9, 10, 25, 26, 27, 62
 Garelli E 38
 Garré ML 11
 Garrone E 2, 11
 Gelain S 32
 Genitori L 12, 13
 Gentile S 52
 Giacchino M 46, 54, 55
 Giagu N 61
 Giarin E 37
 Gigante M 12, 34
 Giglio S 49
 Giliani S 39, 42
 Giona F 38, 50
 Giordano P 38, 41, 46
 Giorgiani G 17
 Giraldi E 44
 Giuliano M 1, 9, 28
 Giunti L 13, 49
 Graziani S 43
 Graziano C 44
 Graziano U 60
 Greaves M 25
 Grignani G 19
 Grigoli A 61, 65
 Gronchi A 7
 Grosso M 29
 Guerra M 53
- Guerrini G 27
 Gurrado A 3
- Hadjistilianou T 11
 Hakonarson H 3
 Hanau G 2, 10
 Harbott J 22
 Henze G 22
 Hong D 25
- Iacobini M 9
 Iannotta A 1, 28
 Iaria G 26, 27
 Ilari I 8
 Indolfi P 1, 11, 26, 27, 28
 Ingrosso A 8, 9
 Inserra A 5
 Intagliata D 53
 Iolascon A 37
 Iuliano A 57, 65
 Iuvara A 43
 Izzi G 42
 Izzo P 29
- Jankovic M 39
 Jankovich M 38
 Jenkner A 5, 8
- Kiren V 16, 34, 69
 Kleinschmidt K 57
 Knight D 25
- La Barba G 69
 La Nasa G 17
 La Rocca M 43
 La Spina M 53
 Labirio M 3
 Ladogana S 38, 39
 Lanfranchi A 17, 39
 Lanino E 20
 Laquaglia MJ 3
 Laudenslager M 3
 Laureys G 3
 Lavizzari A 69
 Lazzareschi I 14, 33
 Le Pera L 11
 Leonardi M 52
 Levrero P 55
 Licciardello M 46, 54
 Linari A 2
 Liotta G 70, 71
 Liotta L 24
 Liotti L 33, 34
 Lippi A 6, 12, 26, 27
 Lippi AA 69
 Littarru GP 4
 Livadiotti S 54
 Lo Nigro L 23, 24, 26, 28, 31, 33, 53
- Locasciulli A 18
 Locatelli F 3, 17, 22, 23, 26, 27, 28, 33, 42, 44, 52
 Lombardi A 25, 27
 Longo L 3
 Longo S 55
 Longoni D 16, 17, 46
 Lougaris V 47
 Lovisa F 26
 Lucani M 35
 Lucarelli A 15
 Lucarelli G 42
 Lucchini G 17
 Luciani M 23, 28, 42, 61
 Ludwig W-D 22
 Luksch R 1, 2, 9, 19
 Lynch JE 3
- Macaluso A 31, 61
 Maccabruni I 30
 Maccario R 3
 Maggi S 4
 Magnano GM 10
 Magro G 31
 Majolino I 18
 Manara E 32
 Mancini S 18
 Mandaglio R 59
 Manente L 1
 Manfrini M 2
 Mangano E 23
 Mann G 22
 Mappelli S 2
 Marchese L 60
 Marchianò A 6, 53
 Mardighian D 56
 Mareschi K 18
 Margani G 33
 Marin V 24
 Marino F 44
 Marino S 28
 Maris JM 3
 Markt S 20, 42, 49, 64
 Marra N 60
 Marrocco E 17
 Marseglia GL 43
 Martelli M 22
 Martini M 50
 Martini S 40
 Martino ML 57, 66
 Martino S 43, 54
 Martinoglio B 18
 Martone A 60, 64
 Marucci G 8, 9
 Marzollo R 54, 56
 Mascarin M 2, 12, 26, 27, 34, 48, 52
 Masera G 22, 52
 Masetti R 23, 28

Indice degli autori

- Masola V 25
 Massimino M 12, 13, 52, 53
 Massimo LM 59
 Mastrangelo S 1, 14, 33
 Mastrodicasa E 65, 68
 Mastronuzzi A 17
 Matarese SMR 46, 47, 67
 Matozzo V 20
 Mattavelli F 53
 Maurizi P 33, 34
 Mazza C 12, 39, 42
 Mazzei T 63
 Mazzolari E 39, 42
 Meazza C 7
 Meda Spaccamela V 39
 Medico E 18
 Melatti G 69
 Menconi M 14, 67
 Menna G 23, 28, 56, 57, 60, 65, 66, 68, 70
 Mercuri M 2
 Mereuta OM 19
 Merletti F 52
 Messina C 22
 Messina S 71
 Micalizzi C 23, 28, 35, 38, 41
 Miccio A 42
 Michelazzi A 10
 Michielotto B 37
 Midena E 11
 Migliorati R 1, 6, 12, 64
 Milano GM 54, 65, 68
 Miniero R 49
 Mirabile E 31
 Modena P 13
 Moleti ML 27, 50
 Molinaro S 56
 Monaco G 36
 Monfredini C 17
 Montano AV 47, 67
 Montano G 29
 Montante B 18
 Morali L 44
 Moratto D 39, 42
 Morerio C 10, 62
 Moretti V 60
 Möricke A 22
 Moro S 25
 Morreale G 20, 66
 Moschese V 43, 54
 Mossé YP 3
 Munda S 31
 Mura R 26, 63
 Murano A 56
 Mussa A 35
 Mussolin L 25, 26, 27, 36

 Najajreh M 14, 67
 Nanni L 33

 Nantron M 10
 Napolitano S 61
 Nardi M 14, 27, 46, 67
 Nicolosi A 1
 Nicolosi MG 35
 Niggli F 22
 Nobili B 46, 47, 67
 Nocerino D 12, 26, 27
 Noè A 20, 64
 Noris P 39
 Notarangelo L 46
 Notarangelo LD 17, 39, 42, 51, 53
 Novelli C 15
 Novielli C 15
 Nozza P 10
 Nunes V 50

 Onisto M 25
 Onofrillo D 69
 Oreste M 1, 28, 71
 Orlando R 66, 68, 70
 Orofino MG 61

 Pagano M 2, 11
 Pagliai F 63
 Pagliano S 19
 Palmentieri B 57, 65
 Palmerini E 11, 19
 Palmi C 25, 30
 Palmucci S 53
 Palumbo G 50
 Panarello C 10, 62
 Panchision D 8
 Pansini V 42, 61
 Panzer-Grümayer R 22
 Paolucci P 33, 46
 Paone G 44, 57
 Pappi P 38
 Paradies G 15
 Parasole R 22, 33, 35, 56, 60
 Parini R 17
 Parodi E 45, 46
 Pascucci C 52
 Pasqualini C 48
 Pastore G 9, 52
 Pavone G 65
 Pecile P 54
 Pecoraro G 1, 28
 Pedrazzoli P 3, 19
 Pelucchi F 47
 Pende D 40
 Peratoner D 12
 Perfetti F 47
 Pericoli P 27
 Pericoli R 26
 Perri P 3
 Perrotta S 47
 Perseghin P 16, 21

 Pession A 1, 11, 23, 28, 38, 42, 44, 52, 54, 57, 62
 Pessolano R 5, 8
 Petris MG 11
 Petruzzello F 35, 56, 60
 Picci P 11
 Pierani P 4, 26, 27, 48, 60
 Pietrogrande MC 43, 54
 Pigazzi M 32
 Piglione M 26, 27
 Pignata C 43
 Pillon M 22, 25, 26, 27, 30, 55
 Pinon M 55
 Pinto A 57, 65, 66, 68, 70
 Piras E 17
 Piroddi A 61
 Pistollato F 8
 Pittiruti M 33
 Piva L 6
 Pizzitola I 24
 Plebani A 42, 43, 47, 54
 Podda M 9
 Poggi V 56, 57, 60, 66
 Pompilio A 60
 Ponzoni M 42
 Porta F 17, 26, 27, 39, 42, 51, 53, 56
 Portaleone D 26, 27
 Postini A 2, 11
 Pota E 28
 Prete A 19, 57
 Priolo G 11
 Prischich F 42
 Provenzi M 1, 44
 Puglisi I 62
 Pule M 24
 Pulini S 69
 Puma N 14, 33
 Putti C 23, 28, 54
 Putti MC 38, 43

 Quaglietta L 6, 64
 Quarello P 38, 45, 46
 Quarti P 44
 Quinti I 54

 Rabusin M 28, 69
 Ramenghi U 38, 46
 Rana I 46
 Randi ML 38
 Rapella A 10, 62
 Rappaport E 3
 Ravasio E 44
 Rea M 50
 Recchia A 69
 Reibaldi A 11
 Reiter A 22
 Renga D 45
 Renoldi G 21

- Riccardi R 14, 27, 33, 34
 Ricci A 42
 Ricci F 39
 Ridola V 14, 34
 Riehm H 22
 Rigosa C 17
 Rinieri S 26, 27
 Riva D 52
 Rivetti E 45, 46
 Rizzari C 23, 28, 33
 Rizzato E 20
 Rizzo D 33, 34
 Rizzo F 61
 Roberti D 47, 67
 Rocca P 59
 Roccia T 20, 21, 64
 Rolink A 30
 Romiti L 21
 Roncarolo MG 20, 21, 49, 64
 Rondelli R 23, 26, 27, 28, 42, 52, 54, 57
 Roselli E 42
 Rosolen A 4, 25, 26, 27, 36, 65
 Rossi C 42
 Rossi F 47, 67
 Rossi P 21, 42, 43, 49
 Rossodivita AN 14
 Rousseau R 24
 Rovelli A 16, 17
 Ruggiero A 33
 Russo D 61, 65
 Russo G 46
 Russo L 26, 27
 Russo LA 61
 Russo ML 28
 Rustichelli D 18
- Saglio F 18
 Sainati L 36, 49
 Sala A 25, 26, 27
 Salutari P 69
 Samperi P 31
 Sanna MA 61
 Santoro A 41
 Santoro N 11, 23, 26, 27, 28
 Sanvito C 63
 Sanvito F 42
 Sanvito MC 69
 Saracco P 38, 46, 55
 Sardi I 12, 13
 Sau A 69
 Scalas MR 61
 Scalzone M 14
 Scapin M 38
 Scarponi D 62
 Scarselli A 21
 Scarsello G 11
 Scarzello G 63
- Schiavetti A 8, 9, 26, 27
 Schiavo R 3
 Schork NJ 3
 Schrappe M 22
 Schrauder A 22
 Schumacher RF 51, 53, 56
 Scoccianti S 12
 Scrimin S 55
 Secondino S 3
 Sementa A 62
 Sementa AR 31
 Sennett R 3
 Serafini M 17
 Seregini E 53
 Seri M, 44
 Serra A 8, 52
 Sessa R 29
 Siena S 3
 Silvestri D 33
 Simonetti A 21
 Skrap M 12
 Soldati M 42
 Soliman C 64
 Soloni P 4, 59
 Soresina A 39, 42, 43, 47, 54
 Soresina R 39, 51, 53
 Spadaro G 54
 Speleman F 3
 Sperli D 26, 27
 Spinelli B 53
 Spinelli R 23
 Spreafico F 6, 27, 53
 Staals E 11
 Stanulla M 22
 Svhan J 46
- Tamaro P 16, 28, 67, 69
 Tamburini A 1, 2, 6, 7, 11, 19
 Tani G 57
 Tassano E 10, 62
 te Kronnie T 36
 Teofili L 38, 50
 Terenziani M 6
 Terranova MP 20, 66
 Testa S 6
 Testi AM 23, 28
 Tettoni K 1, 27, 38, 39, 51, 53
 Tettoni KC 56
 Tiano L 4
 Tiboni F 42
 Tienghi A 19
 Timeus F 19
 Tintori V 63
 Todesco A 27, 48
 Toffolutti T 59
 Tondo A 6, 49
 Tonini GP 3, 31
- Torkamani A 3
 Tornesello A 15
 Torre G 44
 Torsello M 15
 Torti L 50
 Tosato F 37
 Totaro F 37
 Tremolada M 30
 Trentin L 36
 Tridello G 25, 27
 Trizzino A 43, 71
 Tropia S 54, 65, 71
 Trovò M 12
 Tucci F 7, 38, 49
 Tumino M 31
- Uderzo C 17
 Ugazio AG 42, 54
 Usilla A 52
- Vacca A 17
 Vago C 52
 Vallero S 45
 Valsecchi MG 22, 33, 49
 Vanel D 11
 Varotto S 22, 27, 33, 46
 Vasta I 15
 Vecchi V 26
 Veltroni M 37, 63
 Ventura A 42
 Verdoni L 39
 Vergine G 61
 Verrico A 6, 64
 Verzegnassi F 28
 Villanacci V 67
 Vimercati C 46
 Viscardi E 1, 9
 Vitali E 17
 Vormoor B 22
 Wood A 3
- Zanazzo G 12, 26, 27, 28, 54
 Zanazzo GA 1, 38, 40, 69
 Zanesco L 42
 Zangrando A 37
 Zanutta G 6, 64
 Zappa G 16
 Zattoni V 47
 Zecca M 17, 23, 28, 36, 43, 46
 Ziino O 65
 Zimmermann M 22
 Zin A 4
 Zirilli G 70
 Zollo M 37
 Zorzi E 25, 36