



Report sull'attività di ricerca svolta nel 2014 dalla Dr.ssa **Maria Antonietta Grignano** nell'ambito della caratterizzazione biologica e molecolare della leucemia mielomonocitica giovanile (JMML).

La JMML (OMIM 607785) è una rara forma di disordine clonale mieloproliferativo e mielodisplastico che si sviluppa in bambini di età inferiore ai 5 anni; l'incidenza annuale di questa patologia è di circa 4×10^{-6} e rappresenta il 2% di tutte le leucemie diagnosticate annualmente.

I sintomi clinici più comuni sono: febbre, pallore, epatomegalia e linfadenopatia, leucocitosi, monocitosi, presenza di blasti circolanti, elevati livelli di emoglobina fetale (HbF) e ipersensibilità dei progenitori mieloidi al fattore stimolante la formazione di colonie granulocito- macrofagiche (GM-CSF). La JMML è dovuta a mutazioni somatiche a carico dei geni PTPN11 (35%; Esoni 3 e 13), NRAS o KRAS (20%; esoni 1 e 2), NF1 (15%) e CBL (22,6%; esoni 8 e 9).

L'attività svolta presso l'Oncoematologia Pediatrica della Fondazione Policlinico "San Matteo" di Pavia, e nel laboratorio di Genetica Medica – Dipartimento di Medicina Molecolare dell'Università di Pavia, prevede l'analisi dei geni implicati nella JMML (PTPN11, NRAS, KRAS e CBL) per la ricerca della mutazione somatica responsabile della patologia in pazienti con sospetto diagnostico di JMML. Grazie alla Borsa di Studio della Fondazione Rebuffat, questa attività ha potuto continuare anche nell'anno 2014.

Attività svolta:

1) *Studio integrato citogenetico, molecolare e di array-CGH in relazione a patogenesi e implicazioni cliniche in sindromi mieloproliferative pediatriche:*

Sono stati raccolti campioni di sangue midollare e periferico e di altri tessuti da pazienti con nuova diagnosi di MDS o con patologie predisponenti alle MDS, che sono stati processati ed inviati per indagini citogenetiche, molecolari e di array-CGH.

E' stato condotto uno studio su pazienti con JMML, che ha mostrato come l'ipermetilazione dell'isoforma 2 del gene RASA4 correli con la presenza di mutazioni di PTPN11, con parametri



clinici di prognosi infausta (età, HbF elevata), e con maggior rischio di ricaduta post-trapianto di cellule staminali emopoietiche. Il dato di una peggiore prognosi nei pazienti con MDS/JMML in presenza di ipermetilazione del DNA ha portato alla sperimentazione di un farmaco che induce ipometilazione del DNA, chiamato azacitidina, nel trattamento delle recidive post-trapianto di MDS/JMML.

Il nostro centro è attualmente responsabile per l'Italia di uno studio europeo di fase I sull'impiego di azacitidina nelle mielodisplasie pediatriche recidivate.

2) Definizione delle implicazioni cliniche delle mutazioni identificate in MDS/LMA per la prognosi della malattia e per gli approcci terapeutici:

Sono proseguiti studi atti a identificare fattori di rischio citogenetici e molecolari predittivi di outcome clinico in pazienti con MDS.

Sono stati ottenuti i risultati definitivi di uno studio di screening atto ad identificare nuove aberrazioni genetiche in pazienti pediatriche con leucemia mieloide acuta (LAM). Lo studio ha mostrato come la t(6;9)/DEK-NUP214 rappresenti un sottotipo unico di LAM, associato in tutti i casi a pregresse anomalie mielodisplastiche, che si associa significativamente ad un maggior rischio di recidiva.

Inoltre, è stata condotta una analisi delle signatures genetiche di due gemelli entrambi affetti da JMML, e sottoposti a TCSE. Il gemello con signature di tipo LMA-like ha rigettato un primo TCSE, ed è ricaduto dopo secondo allotrapianto, mentre il fratello, affetto da JMML con espressione genica di tipo non LMA-like, è vivo in remissione dopo il primo TCSE. Questa osservazione suggerisce un ruolo importante della signature genetica nelle JMML, anche in soggetti con background genetico comune.

L'attività di ricerca relativa al 2014 è stata in parte pubblicata:

- 1) Cesaro S, De Filippi P, Di Meglio A, Leszl A, Donska S, Zaccaron A, Cagioni C, Galavotti R, Danesino C, Aprili F, Cugno C, Te Kronnie G, Zecca M, Bresolin S. Different outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplant in a pair of twins affected by juvenile myelomonocytic leukemia. *Int J Hematol.* 2014;99(2):208-12. doi: 10.1007/s12185-013-1489-3.



FONDAZIONE
IRCCS POLICLINICO "SAN MATTEO"
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico di diritto pubblico
C.F. 00303490189 - P. IVA 00580590180
V.le Golgi, 19 - 27100 PAVIA
Tel. 0382 5011

- 2) Sandahl JD, Coenen EA, Forestier E, Harbott J, Johansson B, Kerndrup G, Adachi S, Auvrignon A, Beverloo HB, Cayuela JM, Chilton L, Fornerod M, de Haas V, Harrison CJ, Inaba H, Kaspers GJ, Liang DC, Locatelli F, Masetti R, Perot C, Raimondi S, Reinhardt K, Tomizawa D, von Neuhoff N, Zecca M, Zwaan CM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hasle H. t(6;9)(p22;q34)/DEK-NUP214-rearranged pediatric myeloid leukemia: an international study of 62 patients. *Haematologica*. 2014;99(5):865-72.
- 3) Poetsch AR, Lipka DB, Witte T, Claus R, Nöllke P, Zucknick M, Olk-Batz C, Fluhr S, Dworzak M, De Moerloose B, Starý J, Zecca M, Hasle H, Schmutz M, van den Heuvel-Eibrink MM, Locatelli F, Niemeyer CM, Flotho C, Plass C. RASA4 undergoes DNA hypermethylation in resistant juvenile myelomonocytic leukemia. *Epigenetics*. 2014;9(9).
- 4) Zecca M, Strocchio L, Pagliara D, Comoli P, Bertaina A, Giorgiani G, Perotti C, Corbella F, Brescia L, Locatelli F. HLA-Haploidentical T Cell-Depleted Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Fanconi Anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(4):571-6.

Pavia, 13/02/2014

Dott.ssa Maria Antonietta Grignano - Oncoematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

Dott. Marco Zecca - Oncoematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia

Prof. Cesare Danesino - Genetica Medica - Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia