



Report sull'attività di ricerca svolta nel 2015 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 2015.

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 del profilo immunocitometrico midollare di pazienti con citopenie refrattarie pediatriche (RCC), stadio precoce di mielodisplasia pediatrica, al fine di valutare la possibilità di utilizzare la citofluorimetria per differenziare la RCC dalla anemia aplastica severa (AAG). E' stato dimostrato come i pazienti con citopenia refrattaria, malgrado una riduzione importante del compartimento midollare, abbiano una citopenia meno severa dei pazienti con AAG, ma un più alto numero di anomalie citofluorimetriche. Questa osservazione sembra suggerire l'utilità della citofluorimetria quale test integrativo nella diagnosi delle RCC.

Inoltre, uno studio condotto su pazienti con leucemia mielomonocitica giovanile (JMML) ha mostrato come l'ipermetilazione dell'isoforma 2 di 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-TCSE. Il dato di una peggiore prognosi nei pazienti con MDS/JMML in presenza di ipermetilazione del DNA ha portato alla sperimentazione di un farmaco ipometilante (azacitidina) nel trattamento delle recidive post-trapianto di MDS/JMML. Il nostro centro è responsabile per l'Italia di uno studio europeo di fase I sull'impiego di azacitidina nelle mielodisplasie pediatriche recidivate, che ha continuato ad arruolare pazienti nell'anno 2015.

2) Caratterizzazione del microambiente midollare in pazienti con MDS:

Nel corso dell'anno, sono stati condotti studi per caratterizzare cellule stromali mesenchimali (MSC) derivate da pazienti con MDS, e valutarne la stabilità genetica.

Sono state isolate e caratterizzate MSC derivate da sangue midollare di 38 pazienti con MDS e 15 donatori sani. Lo studio ha mostrato che le MSC isolate da pazienti con MDS hanno caratteristiche funzionali diverse dalle MSC ottenute da donatori sani, in particolare una ridotta capacità proliferativa e ridotto potenziale differenziativo in senso osteogenico. Inoltre, le MSC ottenute da pazienti con MDS raggiungono la senescenza più rapidamente rispetto ai controlli sani, e mostrano anomalie genetiche eterogenee, e generalmente complesse. Questi dati sembrano supportare l'ipotesi che difetti nelle MSC possano portare o favorire lo sviluppo di MDS, rappresentando un



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

particolare meccanismo di leucemogenesi nel quale sia le MSC che l'emopoiesi sono alterate in risposta a fattori che inducono un danno cellulare.

L'attività di ricerca relativa al 2015 è stata in parte pubblicata:

- 1) Aalbers AM, van den Heuvel-Eibrink MM, Baumann I, Dworzak M, Hasle H, Locatelli F, Moerloose BD, Schmugge M, Mejstrikova E, Nováková M, Zecca M, Zwaan CM, Te Marvelde JG, Langerak AW, Dongen JJ, Pieters R, Niemeyer CM, van der Velden VH. Bone marrow immunophenotyping by flow cytometry in refractory cytopenia of childhood. *Haematologica*. 2015;100(3):315-23.
- 2) Silvia Bresolin, Paola De Filippi, Francesca Vendemini, Mirko D'Alia, Marco Zecca, Lueder H. Meyer, Cesare Danesino, Franco Locatelli, Riccardo Masetti, Giuseppe Basso and Geertruy te Kronnie. Mutations of SETBP1 and JAK3 in Juvenile Myelomonocytic Leukemia: A Report from the Italian AIEOP Study Group. Sottomesso alla rivista *OncoTarget*.

Pavia, 18/01/2016

Dott. Marco Zecca, Dott.ssa MA Grignano
Oncoematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia

Prof. Cesare Danesino, Dott.ssa Paola de Filippi
Genetica Medica – Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia