



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CAGLIARI

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia

**MALATTIA VENO-OCCLUSIVA EPATICA
(VOD) SECONDARIA A CHEMIOTERAPIA.
L'ESPERIENZA DEL CENTRO DI
ONCOEMATOLOGIA PEDIATRICA DI CAGLIARI**

Relatore:

Prof. Paolo MOI

Correlatore:

Dott.ssa Rosamaria MURA

Tesi di Laurea di:

Ilaria MARTIS

Anno Accademico 2014/2015

SOMMARIO

| | |
|--|-----------|
| 1. MALATTIA VENO-OCCLUSIVA EPATICA (VOD) | 7 |
| 1.1 PATOGENESI..... | 7 |
| 1.2 FATTORI DI RISCHIO | 8 |
| 1.3 MANIFESTAZIONI CLINICHE | 11 |
| 1.4 TRATTAMENTO | 13 |
| 2 CASISTICA DEL CENTRO | 15 |
| 3 CASO 1 E MEDULLOBLASTOMA | 16 |
| 3.1 MEDULLOBLASTOMA | 16 |
| 3.1.1 EPIDEMIOLOGIA | 17 |
| 3.1.2 EZIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO..... | 17 |
| 3.1.3 ANATOMIA PATOLOGICA..... | 18 |
| 3.1.4 MANIFESTAZIONI CLINICHE | 19 |
| 3.1.5 DIAGNOSTICA STRUMENTALE E DI LABORATORIO..... | 20 |
| 3.1.6 STADIAZIONE E PROGNOSI | 20 |
| 3.1.7 TRATTAMENTO | 23 |
| 3.1.8 RADIOTERAPIA..... | 23 |
| 3.1.9 CHEMIOTERAPIA..... | 24 |
| 3.2 CASO 1 | 26 |
| 3.3 GRAFICI: | 29 |
| 4 CASO 2 E LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA | 31 |
| 4.1 LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA | 31 |
| 4.1.1 EPIDEMIOLOGIA | 31 |
| 4.1.2 EZIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO..... | 31 |
| 4.1.3 CLASSIFICAZIONE | 33 |
| 4.1.4 MANIFESTAZIONI CLINICHE | 36 |
| 4.1.5 DIAGNOSI..... | 37 |
| 4.1.6 PROGNOSI..... | 38 |
| 4.1.7 TRATTAMENTO | 40 |
| 4.2 CASO 2 | 42 |
| 4.3 GRAFICI | 46 |

| | | |
|----------|--------------------------|-----------|
| 5 | DISCUSSIONE..... | 50 |
| 6 | BIBLIOGRAFIA..... | 55 |

INTRODUZIONE

La malattia veno-occlusiva epatica (VOD), anche conosciuta come Sindrome da ostruzione dei sinusoidi epatici (HSOS), è la più comune complicanza del Trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSTC). Si manifesta di solito entro le prime 3-4 settimane dal trapianto e ha una incidenza, nei pazienti pediatrici, di circa il 10-20%.

Al contrario la VOD è una complicanza più rara in corso di chemioterapia convenzionale; è stata osservata in bambini con tumori solidi, quali il Tumore di Wilms, con un tasso di incidenza dal 1.2% al 8%, correlata al trattamento con Actinomicina -D e Vincristina (9) e in pazienti affetti da Rhabdomyosarcoma correlata al trattamento con Actinomicina- D, Vincristina e Cyclofosfamide, con un'incidenza dal 1.2% al 5.3%.(14-18)

Sebbene la VOD rappresenti un evento avverso ampiamente conosciuto in ambito trapiantologico e durante il trattamento combinato chemio-radioterapico di sopraccitati tumori solidi, ci sono poche segnalazioni in letteratura della comparsa di tale sindrome durante il trattamento del Medulloblastoma e della Leucemia Linfoblastica Acuta.

L'obiettivo della tesi è quello di descrivere l'esperienza del Centro di Oncoematologia Pediatrica dell'Ospedale Pediatrico Microcitemico "Antonio Cao" di Cagliari, analizzando e descrivendo nell'ambito della casistica del Centro, due casi di VOD in corso di terapia per Medulloblastoma e per Leucemia Linfoblastica Acuta.

1. MALATTIA VENO-OCCLUSIVA EPATICA (VOD)

La malattia veno-occlusiva epatica (VOD), anche conosciuta come Sindrome da ostruzione dei sinusoidi epatici (HSOS) è la più comune complicanza del Trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT)(1)effettuato con regimi di condizionamento mieloblativi (MAC)(2).

L'incidenza è stimata tra il 5% e il 54% negli adulti sottoposti a trapianto e dal 10 al 20% nei pazienti pediatrici (4)in relazione alle caratteristiche del campione, al regime di condizionamento, alla tipologia del trapianto e ai criteri diagnostici utilizzati dai vari studi.

Tale complicanza è stata riportata anche durante il trattamento di tumori solidi quali soprattutto, il Tumore di Wilms e il Rhabdomyosarcoma, correlata al trattamento con Actinomomicina- D, Vincristina e Ciclofosfamide o durante il trattamento combinato di chemio e radioterapia(5).

L'espressività clinica varia da forme lievi, che si risolvono in poche settimane, fino a forme severe, che possono evolvere in quadri di insufficienza multiorgano(MOF) associate ad elevata mortalità.(6)

1.1 PATOGENESI

Durante il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT) le cellule endoteliali dei sinusoidi possono essere attivate e danneggiate da diversi fattori: chemioterapia e radioterapia del regime di condizionamento, dalle citochine prodotte dai tessuti danneggiati, da agenti microbici endogeni mobilizzati a causa della lesione della barriera mucosa intestinale(10) e da altri farmaci utilizzati durante la procedura trapiantologica (quali G-CSF:fattore stimolante le colonie macrofagiche e inibitori della calcineurina)(11).

Tutti questi fattori sono responsabili dell'attivazione dell'endotelio sinusoidale e del successivo danno endoteliale, soprattutto se agiscono in maniera intensa e prolungata: le cellule endoteliali diventano globose, determinando l'interruzione dell'integrità della barriera endoteliale sinusoidale e favoriscono la fuoriuscita dei globuli rossi, dei leucociti e di detriti cellulari nello spazio di Disse(7).

I detriti cellulari, accumulandosi nel lume dei sinusoidi, causano un ostruzione del flusso e, conseguentemente, l'aumento della pressione transparietale con dilatazione sinusoidale, edema subendoteliale e deposizione di fibrinogeno e fattore VIII sia all'interno dei sinusoidi sia nelle venute epatiche(9).

Questi eventi sono seguiti da ischemia, necrosi epatocitaria, deposizione di collagene e fibrosi dei sinusoidi, che portano ad obliterazione degli stessi seguita da sclerosi, fino all'occlusione delle venule epatiche.

Con la progressione di questo processo, l'esteso danno intraepatico zonale determina ipertensione portale, aggravando ulteriormente la disfunzione epatica e l'ascite, fino a determinare, in alcuni casi, un'insufficienza multiorgano (MOF) fatale. La MOF rappresenta la causa di morte di più del 90% dei pazienti con VOD severa.

La gravità di questa sindrome, solitamente definita retrospettivamente, varia da una forma lieve di norma autolimitante, ad una forma moderata, che, nonostante richieda un trattamento, si risolve entro il giorno +100 dal HCST, alla VOD severa.

1.2 FATTORI DI RISCHIO

I principali fattori di rischio della VOD (vedi tabella 1) sono:

- **Chemioterapia e regimi di condizionamento** : la Ciclofosfamide (CY) è frequentemente implicata nei casi osservati: in particolare si verifica un'

incidenza maggiore nei trapiantati che hanno ricevuto condizionamento con CY/TBI, Busulfano (BU)/CY, Carmustina (BCNU)/CY/ Etoposide (VP-16). La CY ha un metabolismo complesso, molto variabile da soggetto a soggetto, per cui coloro che producono più metaboliti tossici sono maggiormente suscettibili allo sviluppo di VOD. Il BU è un altro componente dei regimi di condizionamento, ma non sembra di per sé epatotossico, piuttosto sembra indurre uno stress ossidativo, riducendo i livelli di glutazione negli epatociti e nelle cellule endoteliali dei sinusoidi in particolare quando associato alla CY nel condizionamento dei pazienti affetti da leucemia mieloide cronica (LMC).

Il rischio di sviluppare VOD è maggiore dopo Allo-trapianto, piuttosto che Auto-trapianto, in seguito a trapianto da donatore non familiare o donatore HLA- aploidentico e trapianto non T-depleto(12).

Per quanto riguarda la terapia immunosoppressiva, i dati sono più controversi e suggeriscono che il Sirolimus sia associato alla comparsa di VOD dopo Allo-trapianto con regime di condizionamento mieloablativo (MAC) e irradiazione corporea totale (TBI)quando usato in associazione con Metotrexate(13).

• **Irradiazione totale corporea:** la frequenza di VOD severa è di circa l'1% dopo condizionamento con CY/TBI 10 Gy, del 4-7% dopo CY/TBI 12-14 Gy e del 20 % dopo CY/TBI >14%.(8)

• **Danno intestinale e neutropenia:** queste due condizioni, secondarie alla chemioterapia di condizionamento e alla TBI, favoriscono l'ingresso di batteri nei sinusoidi epatici attraverso il flusso portale, ove il lipopolisaccaride, grazie all'antigene CD14, si lega all'endotelio sinusoidale e stimola il rilascio di TNFalfa e IL-1b, citochine procoagulanti in grado di attivare la cascata coagulativa. Ne deriva un

deposito di fibrina nella parete delle venule che stimola il rilascio di citochine e fattore di von Willebrand, attivando l'adesione piastrinica(9).

- **Cellule stellate e fibrosi dei sinusoidi:** nel siero dei pazienti con VOD si riscontrano peptidi del procollagene ed inibitori della fibrinolisi, in accordo con l'intensa fibrosi sinusoidale e della parete venulare, caratteristica delle forme letali.

- **Fattori genetici:** si ritiene che l'incidenza di VOD possa variare in relazione alle differenze individuali. In particolare, i pazienti che presentano polimorfismi genetici (GSTM1 e GSMTT1, eparanasi nei bambini)(14-15), deficit di Antitrombina III o di t-PA e resistenza all'attivazione della proteina C-reattiva hanno un maggior rischio.(16)

- **Precedenti patologie epatiche:** rappresenta uno dei fattori di rischio più importanti ; di conseguenza, alterazioni degli indici di funzionalità epatica, come concentrazioni sieriche di transaminasi che superano di 2,5 volte il valore normale; presenza di malattie epatiche in fase attiva come cirrosi, fibrosi epatica o epatite virale, aumentano il rischio di VOD in maniera considerevole.

Tuttavia le alterazioni epatiche possono essere asintomatiche e derivare da una precedente terapia con farmaci epatotossici (Gentuzumab Ozogamicina) o un'irradiazione a livello addominale.(9)

| Principali fattori di rischio della VOD | |
|--|--|
| Associati al trapianto | Allo-trapianto > Autotrapianto Donatore non familiare Donatore HLA-aploidentico Regime di condizionamento mieloablativo Regime di condizionamento con BU Regime di condizionamento con TBI Trapianto con T-cell depleto Secondo trapianto |
| Associati al paziente e alla patologia | Assunzione di Norethisterone Performance Status sotto il 90% Polimorfismi genetici (GSTM1, GSM1T1, eparinasi) Malattia avanzata Sindrome Metabolica Deficit di AT III, t-PA Talassemia |
| Fattori di rischio epatici | Transaminasi >2,5 volte valore normale Cirrosi Fibrosi epatica Epatite virale attiva Irradiazione epatica Uso di farmaci epatotossici in precedenza |
| Fattori di rischio pediatrici | Adrenoleucodistrofia, Osteopetrosi Auto trapianto in pazienti con Neuroblastoma Età inferiore ai 2 anni Basso peso Leucemia mielomonocitica cronica giovanile(JMML) |

Tabella 1.1.Principali fattori di rischio di VOD.

1.3 MANIFESTAZIONI CLINICHE

Durante la procedura trapiantologica la VOD si manifesta solitamente entro un mese dal trapianto di cellule staminali, sebbene siano stati riportati casi ad esordio più precoce.

I primi sintomi, che compaiono circa 8-10 giorni dopo l'inizio della terapia citoriduttiva sono epatomegalia con dolorabilità in ipocondrio destro, ittero, aumento ponderale $> 5\%$ ingiustificato, con o senza ascite(18).

Tali sintomi sono accompagnati da segni ematochimici di VOD: iperbilirubinemia, incremento di GOT, GPT, LDH, alterazione di parametri coagulativi e fibrinolitici e alterazioni dell'emocromo con piastrinopenia ingravescente e resistente al supporto trasfusionale.

La diagnosi di VOD è possibile utilizzando criteri clinici che permettono di evitare il ricorso alla biopsia epatica . Due distinti gruppi statunitensi hanno proposto dei criteri per la diagnosi di VOD in soggetti sottoposti a trapianto.

Secondo gli **Original Seattle Criteria**(19) è sufficiente che nei primi 30 giorni post trapianto (20, nei Modified Seattle Criteria)si verifichino almeno due condizioni tra le seguenti:

- Bilirubinemia >2 mg/dl;
- epatomegalia e dolore al quadrante superiore destro dell'addome;
- ascite, con o senza ingiustificato incremento ponderale $>2\%$ del basale.

I **Baltimora Criteria** (20)richiedono, invece, la presenza di iperbilirubinemia > 2 mg/dl entro il ventunesimo giorno post trapianto associata ad almeno due delle seguenti condizioni:

- Epatomegalia (solitamente dolente)
- ascite
- incremento ponderale $> 5\%$ del basale.

Per quanto riguarda gli esami strumentali, nel sospetto di VOD il riscontro di inversione del flusso portale all'ecocolordoppler epatico, è patognomonico.

La classificazione di gravità della VOD è riportata nella Tabella 1.2(21).

| | LIEVE | MODERATO | GRAVE |
|---------------------------------|-------------|--------------|-------------|
| Bilirubina, mg/dL | <5 | 5.1-8.0 | >8 |
| Enzimi epatici (AST/ALT) | <3x normale | 3-8x normale | >8x normale |
| Aumento ponderale | <2% | 2-5% | >5% |
| Creatinina sierica | Normale | <2x normale | >2x normale |
| Velocità di progressione | Lenta | Moderata | Rapida |

Tabella 1.2

1.4 TRATTAMENTO

Il trattamento dei pazienti che sviluppano una VOD si basa quasi esclusivamente su **terapia di supporto**(restrizione idrica, diuretici, infusione di plasma e albumina, supporto trasfusionale, antibiotici ad ampio spettro) (22).

Sono disponibili farmaci che potrebbero agire sul meccanismo patogenetico alla base della VOD, in particolare l'rh-tPA, l'Antitrombina III e il Defibrotide si sono dimostrati utili nell'invertire il quadro protrombotico e antifibrinolitico.

La **Rh-tPA** (recombinant humanized tissue plasminogen activator) è una proteasi che incrementa la conversione fibrino-mediata del plasminogeno in plasmina, inducendo la fibrinolisi. Con l'utilizzo di tale farmaco sono tuttavia stati segnalati casi gravi, spesso fatali, di emorragie tissutali e di organo e la risposta al trattamento è subottimale (<40% dei pazienti)(23).

L'**antitrombina III(ATIII)** riduce il danno infiammatorio sull'endotelio vascolare bloccando l'attivazione della trombina elevata tra i leucociti e l'endotelio. Bassi livelli di ATIII sono descritti nella gran parte dei pazienti affetti da VOD, ma in realtà non ci sono studi randomizzati sull'argomento e le serie di pazienti studiate sono poco numerose (24).

Il **defibrotide** è un polideossiribonucleotide a singola catena con proprietà fibrinolitica, antitrombotica e anti-ischemica. È un farmaco molto maneggevole, privo di significativi effetti collaterali e si è dimostrato utile nella terapia della VOD, in particolare nei pazienti sottoposti a TCSE, con una possibilità di risposta elevata.

Il defibrotide ha mostrato di legarsi a diversi siti sull'endotelio vascolare coinvolti nella regolazione cellulare, fornendo uno stimolo che promuove la protezione delle cellule endoteliali attivate.

Il defibrotide ha anche mostrato di proteggere le cellule endoteliali dall'apoptosi mediata da fludarabina, senza incidere sul suo effetto antileucemico; inibisce anche l'espressione dell'eparanasi contribuendo all'integrità della matrice extracellulare e quindi all'omeostasi tissutale. Si suppone che queste azioni proteggano le cellule endoteliali(25).

Inoltre, in vitro, ha mostrato aumentare la funzione dell'attivatore di tipo tissutale del plasminogeno(t-PA) e di ridurre l'attività dell'inibitore-1 dell'attivatore del plasminogeno(PAI-1) con successiva diminuzione dell'attività procoagulante e conseguente aumento del potenziale fibrinolitico delle cellule endoteliali.

2 CASISTICA DEL CENTRO

Abbiamo esaminato retrospettivamente tutti i pazienti di età compresa tra 1 e 18 anni seguiti presso l'Oncoematologia Pediatrica di Cagliari durante un periodo di 20 anni (1994-2014). I pazienti con diagnosi di patologia oncologica sono stati 488, in particolare tra questi 191 erano affetti da Leucemia acuta, 14 da Tumore di Wilms, 47 pazienti da Tumore del Sistema Nervoso Centrale.

Tra questi 488 pazienti 5(1,02%) hanno presentato un episodio di VOD durante il trattamento chemioterapico a dosi standard.

In particolare sono stati osservati 3 episodi in pazienti affetti da Tumore di Wilms (21,42%). I pazienti, due maschi e una femmina, in trattamento secondo il Protocollo AIEOP CNR 92, avevano tutti un'età \leq a due anni e hanno manifestato tutti tale complicanza durante la fase di chemioterapia pre-operatoria con Vincristina e Actinomicina-D e nonostante fosse stata somministrata loro una dose di farmaci adeguata per peso e per età. In tutti i casi si è trattato di una forma moderato-grave di VOD. Attualmente i 3 pazienti sono lungosopravvissuti in prima remissione continua e nessuno di essi ha presentato tossicità epatica a lungo termine.

Altri 2 episodi di VOD sono stati osservati più recentemente in un paziente affetto da Leucemia Linfoblastica Acuta in terapia di Reinduzione (0,52%) e in una paziente affetta da Medulloblastoma durante la fase di chemioterapia di Mantenimento (2,12%). Questi ultimi 2 casi peculiari sono oggetto della nostra descrizione.

3 CASO 1 E MEDULLOBLASTOMA

3.1 MEDULLOBLASTOMA

Il medulloblastoma è il tumore cerebrale maligno più frequente nell'infanzia, rappresentando tra il 15 ed il 20% di tutte le neoplasie infantili primitive del sistema nervoso centrale (SNC).

L'incidenza annuale in Europa è di circa 8 casi per milione nella fascia d'età 0-19 anni, senza differenze di sesso. (rapporto ARTIUM 2012)(26-27)

Il Medulloblastoma è una neoplasia embrionale maligna ad elevata cellularità, classificata come Tumore Primitivo Neuroectodermico (PNET).

Come altri PNET, i medulloblastomi hanno una spiccata tendenza a disseminare nel liquor cerebrospinale (LCR), evenienza che si verifica in più del 35% dei casi alla diagnosi.

La chirurgia seguita dalla chemioterapia rappresenta l'approccio standard al trattamento nei bambini con età inferiore ai tre anni, sopra i tre anni è prevista la chirurgia, la chemioterapia e la radioterapia craniospinale.

L'avanzamento delle metodiche diagnostiche, delle tecniche neurochirurgiche e radioterapiche ha migliorato la prognosi dei tumori cerebrali.

Complessivamente la sopravvivenza a 5 anni è stimata intorno all' 80 %. (rapporto ARTIUM 2012)

3.1.1 EPIDEMIOLOGIA

I tumori cerebrali costituiscono la seconda neoplasia più comune dell'infanzia dopo le leucemie ed il Medulloblastoma è il tumore solido maggiormente rappresentato in età pediatrica.

Nel 70% dei casi la diagnosi viene formulata in pazienti di età inferiore a 15 anni. L'età d'esordio è prevalentemente compresa tra 3 e 6 anni, solo il 25% dei pazienti ha un'età compresa tra i 15 e 44 anni (rapporto ARTIUM 2012).

3.1.2 EZIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

L'eziologia del Medulloblastoma è multifattoriale, non sono stati identificati in modo certo fattori causali ambientali o di stili di vita.

Occasionalmente i PNET insorgono in associazione con sindromi genetiche, quali la sindrome di Li-Fraumeni, la sindrome di von Hippel-Lindau, la Neurofibromatosi (tipo 1 e 2), la Sclerosi tuberosa, la Sindrome di Turcot (in associazione a cancro del colon da poliposi familiare) e la Sindrome da carcinoma neuroendocrinale (associata a mutazioni della linea germinale PTCH) (28). La pregressa esposizione a radiazioni ionizzanti a dosi terapeutiche rappresenta un importante fattore di rischio.

Pochi studi epidemiologici si sono focalizzati sul ruolo potenziale dei virus come causa di tumori maligni cerebrali: i poliomavirus, incluso il JC (JCV), il virus BK (BKV) e il virus della scimmia 40 (SV40) sono stati isolati ripetutamente da vari tumori umani, inclusi quelli ad origine dal sistema nervoso centrale. Le sequenze di DNA del JVC sono state isolate da un certo numero di tumori umani del SNC, compreso il Medulloblastoma.(29)

3.1.3 ANATOMIA PATOLOGICA

Il Medulloblastoma origina dalla fossa cranica posteriore, probabilmente nasce da residui di cellule tumorali primitive della linea mediana a livello posteriore del cervelletto (nodulus) e del IV ventricolo.

Nel 40 % dei casi si localizza nel cervelletto negli emisferi laterali o lungo la linea mediana, nel verme cerebellare nel tetto del IV ventricolo. Può diffondere rapidamente, attraverso il liquor, al III ventricolo ed a quelli laterali, alle leptomeningi ed allo spazio subaracnoideo, tanto che al momento della diagnosi un terzo dei pazienti mostra un'evidente disseminazione metastatica.

Macroscopicamente, si presenta come una massa ben circoscritta, grigiastra e friabile e può estendersi alle circonvoluzioni cerebellari fino ad interessare le leptomeningi.

Le varianti istologiche sono: (30-31-32)

- Classica, la più frequente, 80% dei casi,
- Desmoplastica, con prognosi migliore,
- A cellule larghe o anaplastica, a prognosi peggiore,
- Melanocitica , forma rara con cellule che producono melanina,
- Medullomioblastoma, rara, costituita da cellule che producono proteine specifiche del muscolo.

Dal punto di vista biologico le cellule di medulloblastoma possono presentare la perdita di materiale genetico dal braccio corto del cromosoma 17, con la formazione di un cromosoma anomalo derivante dalla duplicazione del braccio lungo di questo cromosoma (isocromosoma 17q o i(17q)). La perdita del 17p è indice di prognosi infausta. Anche la presenza

dell'amplificazione del MYC si è rivelata essere associata a comportamento più aggressivo del tumore

Diverse vie di segnalazione coinvolte nel normale sviluppo cerebellare risultano alterate nei sottotipi di Medulloblastoma. Queste includono la via della proteina SHH(coinvolta nel controllo della normale proliferazione delle cellule granulari cerebellari), la via di segnalazione di WNT (comprendente APC e la β -catenina) e la via di segnalazione di Notch. Le neoplasie con aumentati livelli di recettore della neurotropina TRK presentano un'evoluzione clinica migliore, al pari di quelli che mostrano accumuli di β -catenina.

3.1.4 MANIFESTAZIONI CLINICHE

La sintomatologia d'esordio del tumore è riconducibile essenzialmente alla ipertensione endocranica causata da un ostacolo alla normale circolazione del liquido cerebrospinale (LCS), alla compressione e all'infiltrazione delle strutture cerebrali, in particolare dei nervi cranici.

Nel bambino sotto di 1 anno di età, la plasticità della scatola cranica e la mancata chiusura delle suture possono consentire una tolleranza protratta dell' **ipertensione endocranica**, la quale si manifesta con macrocrania, tensione della fontanella anteriore, diastasi delle suture e, solo più tardi, con vomito, anoressia, irritabilità, sonnolenza, arresto dello sviluppo neurologico e perdita delle acquisizioni motorie. Nei bambini di età superiore a 1 anno i sintomi sono più chiari e la diagnosi più veloce; l'ipertensione endocranica si manifesta con **episodi di vomito mattutino** accompagnati da **cefalea ingravescente**.

Inoltre si possono manifestare **deficit dei nervi cranici, atassia e disturbi dell'equilibrio e dismetria**.

3.1.5 DIAGNOSTICA STRUMENTALE E DI LABORATORIO

Nel sospetto di una neoplasia del SNC la risonanza magnetica (**RM**) cerebrale rappresenta attualmente l'esame diagnostico di scelta. Tuttavia in condizioni di emergenza una tomografia computerizzata (**TC**) può essere eseguita rapidamente e riesce ad evidenziare una massa ben definita nel cervelletto che presenta densità superiore rispetto al tessuto cerebrale e che si potenzia intensivamente con il contrasto intravenoso. Si osserva potenziamento meningeo qualora si sia verificata una diffusione subaracnoidea.

L'**esame citologico del liquor** è fondamentale per individuare eventuali cellule tumorali, indicative di disseminazione leptomeningea; la puntura lombare dovrebbe essere eseguita dopo la TC o la RM, ovvero dopo aver escluso la presenza di un'ipertensione endocranica.

La stadiazione deve prevedere, prima dell'intervento chirurgico, una **RM del midollo spinale** per escludere la presenza di metastasi midollari. La RM post-operatoria dell'encefalo dovrebbe essere eseguita entro 72 ore dall'intervento per quantificare l'eventuale presenza di residuo tumorale post chirurgico, utili ai fini prognostici e terapeutici. Nel corso del follow-up, la RM spettroscopica può aiutare a distinguere la recidiva tumorale dalla necrosi tumorale.

3.1.6 STADIAZIONE E PROGNOSI

La stadiazione viene effettuata secondo il sistema di Chang (Tabella 3.1), sviluppato nel 1969, che valuta l'estensione del tumore primitivo (stadio T) e l'eventuale malattia metastatica (stadio M), utilizzando le indagini di

imaging preoperatorie, le impressioni intraoperatorie del chirurgo e la citologia del liquor.

I principali fattori prognostici sono:

- età del paziente (< 3 anni)
- presenza di metastasi
- residuo tumorale post chirurgico > 1,5 cm

Questi ci consentono di distinguere pazienti con **Medulloblastoma a rischio standard** e pazienti con **Medulloblastoma ad alto rischio** che presentano prognosi differente e necessitano di un approccio terapeutico differente.

I pazienti con Medulloblastoma a rischio standard sono quelli con età > di 3 anni e istologia non anaplastica e non a grandi cellule, tumore non disseminato (M0), che sono sottoposti a resezione chirurgica completa.

I pazienti con Medulloblastoma ad alto rischio invece sono pazienti con età < di 3 anni e/o presentano una disseminazione metastatica (M1-M4) e/o sono stati sottoposti a resezione chirurgica incompleta, con un residuo post-chirurgico > 1,5 cm.

| STADIO TUMORE | DEFINIZIONE |
|------------------|---|
| T1 | Tumore di diametro < di 3cm, limitato alla linea mediana nel verme, tetto del IV ventricolo e menofrequentemente, negli emisferi cerebellari. |
| T2 | Tumore di diametro > di 3cm, che invade ulteriormente una struttura adiacente o riempie parzialmente il IV ventricolo. |
| T3 | Diviso in T3a e T3b |
| T3a | Tumore che invade due strutture adiacenti o occupa completamente il IV ventricolo con interessamento dell'acquedotto del Silvio, del forame di Magendie o del forame di Luschka, e idrocefalo |
| T3b | Tumore che deriva dal pavimento del IV ventricolo o dal trono encefalico e riempie il IV ventricolo |
| T4 | Tumore che diffonde ulteriormente attraverso l'acquedotto del Silvio e invade il III ventricolo o il mesencefalo, o che si estende al midollo cervicale superiore |
| METASTASI | |
| M0 | Nessuna evidenza di metastasi subaracnoidee o ematogene |
| M1 | Presenza di cellule tumorali nel liquido cerebro spinale |
| M2 | Presenza di voluminosi noduli disseminati nello spazio subaracnoideo cerebellare o nel III ventricolo o nei ventricoli laterali |
| M3 | Presenza di voluminosi noduli nello spazio sub aracnoideo spinale |

| | |
|----|------------------------|
| M4 | Metastasi extraneurali |
|----|------------------------|

Tabella 3.1. Stadiazione secondo Chang del Medulloblastoma della fossa posteriore.

3.1.7 TRATTAMENTO

Il trattamento del Medulloblastoma richiede un approccio multidisciplinare: neurochirurgico, radioterapico e oncologico(33). In prima istanza si interviene chirurgicamente, spesso in regime di urgenza, per effettuare la resezione tumorale e drenare il liquor all'esterno, riducendo l'ipertensione endocranica e risolvendo l'idrocefalo. L'estensione della resezione e l'eventuale presenza di residuo post-chirurgico sono importanti fattori prognostici che guidano la scelta terapeutica ed, in particolare, l'intensità dei regimi terapeutici successivi.

3.1.8 RADIOTERAPIA

Nel corso degli ultimi 40 anni ci sono stati progressivi miglioramenti nei risultati terapeutici che hanno permesso di ottenere gli attuali tassi di sopravvivenza a lungo termine, che arrivano a l'80% nei casi di MB completamente resecato ad istologia favorevole e con parametri biologici favorevoli.

I recenti progressi nelle tecniche di radioterapia hanno consentito di migliorare la prognosi, introducendo trattamenti potenzialmente più efficaci con modalità che incrementano il controllo tumorale e limitano la tossicità attinica.

Essi comprendono schemi di iperfrazionamento della dose e sfruttano le diverse caratteristiche radiobiologiche del tumore e del tessuto sano. L'irradiazione cranio spinale (CS) è seguita da una sovraddose in fossa

posteriore (BOOST FP), che viene eseguita con sistemi di pianificazione tridimensionale in modo da risparmiare il tessuto sano.

L'irradiazione cranio spinale è associata a morbidità endocrine, disturbi cognitivi e della crescita, più marcate nei pazienti più giovani; per questo motivo studi recenti si sono concentrati nell'individuare coorti di pazienti che potessero ricevere un'irradiazione cranio spinale a dosi più contenute. In nord America uno studio a braccio singolo, di medie dimensioni, ha messo in evidenza un controllo della malattia in oltre l'80% dei pazienti sottoposti a irradiazione CS a dose ridotta (23,4 Gy/13 frazioni), seguita da una sovradosi in fossa posteriore (BOOST FP) di 54 Gy e dall'attuale regime chemioterapico 'standard' con Vincristina, Cisplatino e CCNU(60).

3.1.9 CHEMIOTERAPIA

Il potenziale beneficio della chemioterapia nel trattamento del Medulloblastoma è stata dimostrata in primo luogo dall'International Society of Pediatric Oncology ed è stata successivamente confermata dagli studi CCG e POG.(61)

Il Medulloblastoma è il più chemio-sensibile tra tutti i tumori cerebrali, in particolare la chemioterapia ha dimostrato migliorare il controllo della malattia e la sopravvivenza dei pazienti, ridurre gli effetti avversi della radioterapia e permette di rimandare o abolire la radioterapia nei pazienti con età alla diagnosi < di tre anni. Gli agenti chemioterapici più comunemente utilizzati sono: gli alchilanti, gli analoghi del platino, l'etoposide e la vincristina.

La chemioterapia viene utilizzata sia come trattamento neoadiuvante (pre-radioterapia) sia come adiuvante (post-radioterapia). Nei pazienti che presentano metastasi o un residuo tumorale post-chirurgico la terapia

neoadiuvante ha permesso di curare le micro metastasi del SNC e di ridurre le dimensioni dei tumori più voluminosi, prima di iniziare la terapia radiante convenzionale. Numerosi studi clinici sono stati effettuati con lo scopo di identificare il singolo agente chemioterapico o la combinazione di farmaci da utilizzare nella terapia neoadiuvante: ciclofosfamide(62); cisplatino e vincristina(63); “8-in-1”(64); cisplatino e etoposide(65); cisplatino, vincristina e ciclofosfamide(66); e carboplatino ed etoposide(67).

La chemio-sensibilità del tumore ha permesso di modulare il trattamento chemioterapico tenendo conto, da una parte, quello che è il rischio di ripresa di malattia e, dall'altra, le sequele a lungo termine della terapia.

Attualmente si stratificano i pazienti in due categorie di rischio differenti: **pazienti con malattia ad alto rischio e pazienti con malattia a rischio standard**. Lo scopo è ridurre il peso complessivo del trattamento in questi pazienti, riducendo l'intensità dell'irradiazione in fossa posteriore.

Per quanto riguarda la chemioterapia nei pazienti ad alto rischio, diversi studi hanno dimostrato che l'aggiunta della chemioterapia all'irradiazione cranio spinale ha aumentato il tasso di sopravvivenza rispetto all'utilizzo della sola radioterapia(68-69). Al contrario, la riduzione dell'intensità della RT, in combinazione con la chemioterapia adiuvante, può ridurre il tasso di sopravvivenza(70).

In un recente studio è stato dimostrato che è possibile utilizzare schemi con alte dosi di chemioterapia, grazie alla raccolta delle cellule staminali da sangue periferico dopo l'irradiazione ed è questa la strategia terapeutica che ha migliorato la prognosi anche nei pazienti di età inferiore ai 3 anni. Infine, la possibilità di ottenere una radio sensibilizzazione con carboplatino, seguito dalla chemioterapia adiuvante, è stato dimostrato nello studio CCG-99701.

3.2 CASO 1

La paziente è una bambina di 7 anni, che è arrivata alla nostra osservazione nel febbraio del 2014 per quadro clinico caratterizzato da episodi di vomito mattutino e cefalea intensa, la RMN encefalo evidenziava la presenza di neoformazione del IV ventricolo di circa 4x4 cm. La paziente veniva quindi sottoposta presso la NCH dell'Ospedale Brotzu ad intervento chirurgico di resezione completa della massa ; l'esame istologico definiva la diagnosi di Medulloblastoma,(MB) variante classica IV grado WHO.

Considerata l'età maggiore di tre anni, l'assenza di residuo tumorale post-chirurgico, l'assenza di secondarismi midollari alla RM e la negatività all'esame del liquido cefalorachidiano per la ricerca di cellule neoplastiche, veniva arruolata nel Protocollo HIT-SIOP PNET IV per pazienti con MB a rischio standard.

Il protocollo terapeutico prevede l'uso combinato di radioterapia (RT) e chemioterapia(ChT).

La RT, da Fotoni X di acceleratore lineare 6 MV, eseguita da Maggio a Giugno 2014, ha previsto la dose totale di 54 Gy (irradiazione dell'asse cranio-spinale con 23.4 Gy in 13 frazioni e della fossa posteriore con 30.6 Gy in 17 frazioni) accompagnata dalla somministrazione settimanale di Vincristina, alla dose di 1.5 mg/mq per 8 settimane in regime di day hospital.

Il trattamento di Mantenimento successivo consta di 8 cicli di VCP ad intervalli di 6 settimane: ogni ciclo prevede la somministrazione di 3 dosi di Vincristina (1.5 mg/mq) ad intervallo di una settimana l'una dall'altra (g 0, g +7, g+ 14) con somministrazione di Lomustina (CCNU) alla dose di

75 mg/mq e di Cisplatino a 70mg/mq al giorno 1 di ogni ciclo in regime di ricovero ordinario.

Dopo il primo ciclo di trattamento la paziente ha manifestato tossicità epatica di media gravità, secondi i criteri CTCAE¹, con elevazione delle transaminasi sieriche (GOT e GPT) di grado 2, modesto incremento della bilirubinemia (grado 1) e innalzamento della LDH fino a 2127 UI/l.

I sintomi di VOD sono comparsi dopo la seconda somministrazione di Vincristina (giorno +10) del secondo ciclo di VCP.

Considerando i criteri di Seattle e Baltimora per la diagnosi di VOD, la paziente presentava ascite con aumento ponderale >10% rispetto al peso basale, epatomegalia, dolore addominale in ipocondrio destro e ittero franco.

Erano presenti grave piastrinopenia (16000/mmc), anemia (Hb 5.5 g/dL), ipertransaminasemia di grado4 e iperbilirubinemia mista di grado 3 secondo i criteri CTCAE¹,(vedi grafici 3.1-3.2-3.3-3.4), aumento importante della latticodeidrogenasi e degli indici di colestasi, alterazione di tutti i parametri coagulativi (riduzione dell'ATIII, elevati livelli di D-dimeri, aumento del fibrinogeno).

| Grado di tossicità (criteri CTCAE) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|-------------|----------|------------|-------------|----------|
| GOT/GPT | Normale (N) | >N-2.5xN | >2.5-5.0xN | >5.0-20.0xN | >20.0xN |
| Bilirubina | Normale (N) | >N-1.5xN | >1.5-3.0xN | >3.0-10.0xN | >10.0xN |

Si è assistito durante l'episodio a progressiva contrazione della diuresi con quadro di oligoanuria e innalzamento della creatinina di grado 3.

La diagnosi clinica è stata confermata dalla valutazione ecografica seriata che ha messo in evidenza fegato marcatamente aumentato di volume (diametro longitudinale del lobo destro di circa 16 cm) con grossolana e diffusa disomogeneità del parenchima, senza evidenti lesioni focali e con inversione del flusso portale.

Possiamo definire il quadro di gravità severa secondo Chao (vedi tabella 1.2);

La paziente, è stata trattata inizialmente con importante terapia di supporto che prevedeva (trasfusione con concentrati piastrinici, emazie concentrate, plasma fresco congelato, supplementazione con albumina, antitrombina III, diuretici, nutrizione parenterale totale e antibioticoterapia ad ampio spettro.

La terapia con Defibrotide è stata instaurata appena possibile alla dose di 6,5 mg/kg in quattro somministrazioni giornaliere ed è proseguita 19 giorni.

A partire dalla dodicesima giornata si è assistito ad un lento e progressivo miglioramento delle condizioni generali e cliniche con riduzione della sintomatologia dolorosa addominale e dell'epatomegalia e calo ponderale. Dal punto di vista laboratoristico progressiva riduzione e normalizzazione della bilirubinemia, riduzione delle transaminasi e della lattico deidrogenasi.

Dopo venti giorni dall'insorgere della sintomatologia la paziente era in pieno recupero, in assenza di sequele evidenti ed è stata dimessa.

La paziente è stata sottoposta successivamente ad uno stretto follow-up clinico ed ecografico e non ha presentato altre complicanze legate all'evento. Non ha presentato epatossicità a lungo termine.

3.3 GRAFICI:

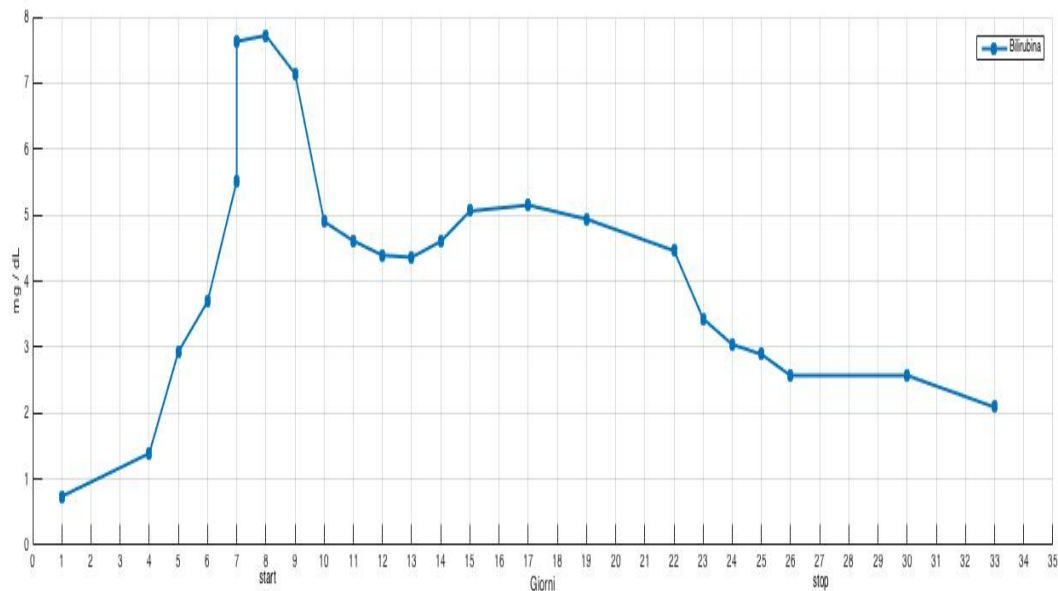


GRAFICO 3.1. Profilo della bilirubina durante il secondo ciclo di chemioterapia di mantenimento, in riferimento all'inizio e la fine del trattamento con Defibrotide.

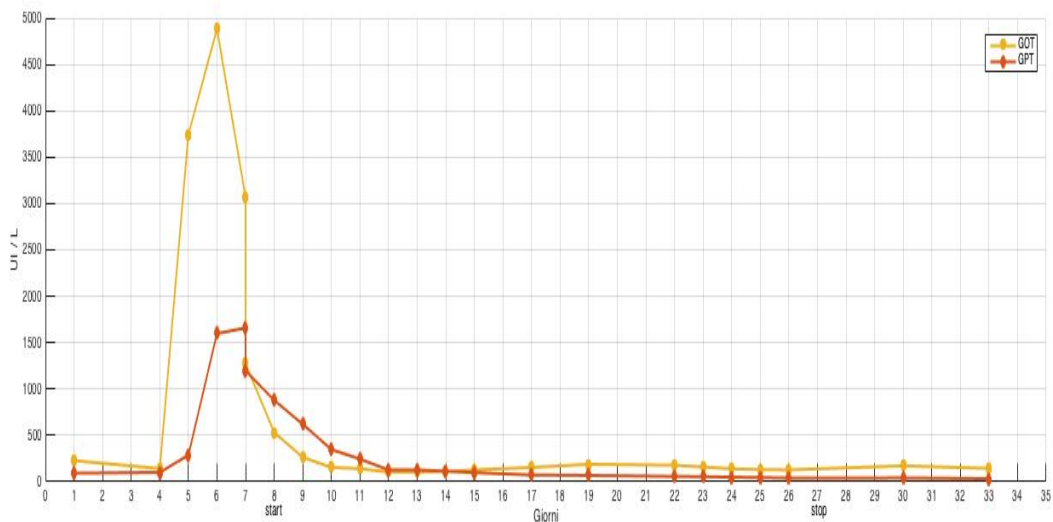


GRAFICO 3.2. Profilo delle transaminasi (GOT e GPT) durante il secondo ciclo di chemioterapia di mantenimento, in riferimento all'inizio e la fine del trattamento con Defibrotide.

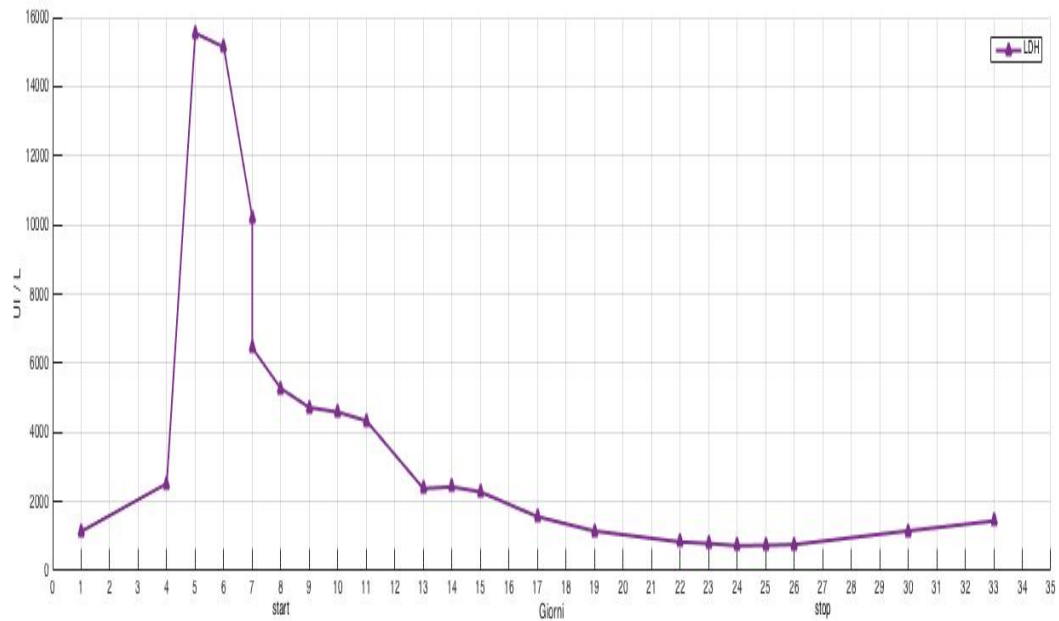


GRAFICO 3.3. Profilo dell' LDH durante il secondo ciclo di chemioterapia di mantenimento, in riferimento all'inizio e la fine del trattamento con Defibrotide.

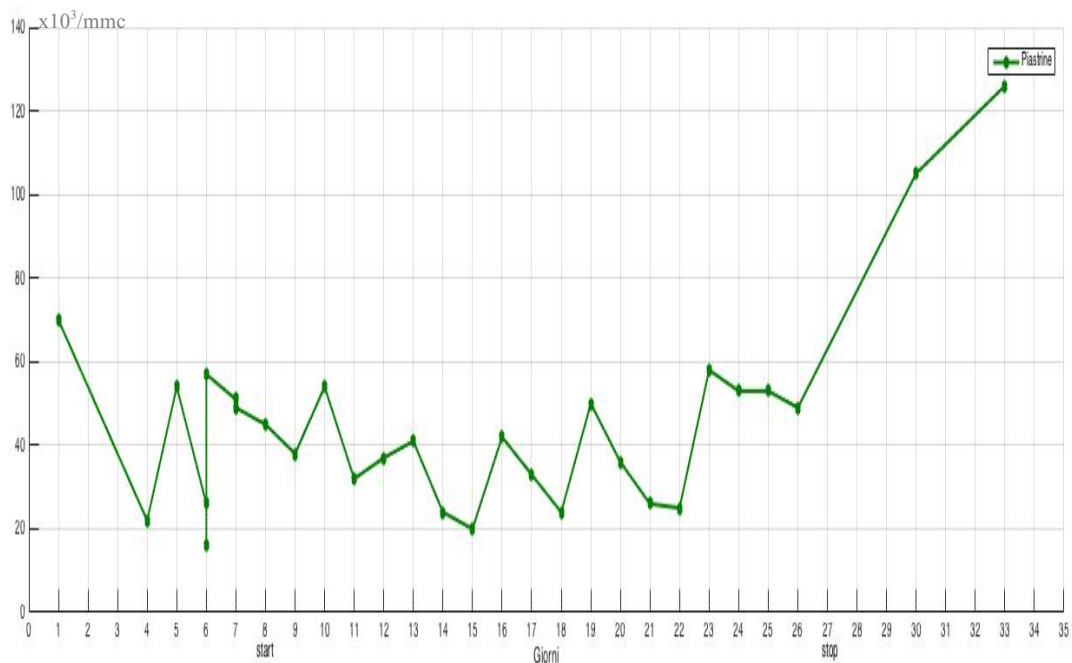


GRAFICO 3.4. Profilo delle piastrine durante il secondo ciclo di chemioterapia di mantenimento, in riferimento all'inizio e la fine del trattamento con Defibrotide.

4 CASO 2 E LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

4.1 LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

La Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA) è la neoplasia più comune in età pediatrica, e nonostante la percentuale di sopravvivenza per questa patologia superi attualmente l'80% (34) rimane la principale causa di morte per malattia oncologica nei bambini e nei giovani adulti.(34)

Alla base del miglioramento nella cura della LLA vi sono una sempre più approfondita conoscenza dei sottogruppi biologici, una migliore capacità di stratificare i pazienti e un'elevata qualità della terapia di supporto.(34)

4.1.1 EPIDEMIOLOGIA

La LLA rappresenta il 75% delle forme di leucemia in età pediatrica, l'altro 15-20% è rappresentato dalla LMA e meno del 5% dalle forme croniche, essenzialmente LMC.

In Italia (Rapporto AIRTUM 2012), il tasso di incidenza standardizzato è di 36,7 casi per milione di pazienti 0-19 anni, l'incidenza è più elevata nei ragazzi (38,6 casi per milione), che nelle ragazze(36,4 casi per milione). L'andamento dell'incidenza per età presenta un caratteristico picco di incidenza nella classe di età 1-4 anni; in genere quasi due terzi dei casi riguardano bambini con età compresa tra i 2 e 6 anni.(35-36)

4.1.2 EZIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

L'eziologia della leucemia in età pediatrica è sconosciuta ed è probabilmente multifattoriale. Hanno un ruolo importante sia fattori genetici sia ambientali.

L'esposizione a radiazioni ionizzanti ed alcuni agenti chemioterapici, quali gli inibitori delle topo isomerasi di tipo II e gli agenti alchilanti, si associa

ad un aumentato rischio di leucemia acuta. Il rischio di LLA da esposizione a radiazioni, come nell'incidente alla centrale nucleare di Chernobyl, era significativamente aumentato nei soggetti esposti a più di 10mSv.

Condizioni genetiche come la sindrome di Down, la neurofibromatosi, la sindrome di

Schwachman, la sindrome di Bloom, l'ataxia telangectasia e la sindrome di Klinefelter sono associate ad una maggiore frequenza di LLA. In particolare nella sindrome di Down è riportato un rischio 20 volte aumentato rispetto alla popolazione normale. (37)

La ricerca degli ultimi decenni ha chiarito due aspetti fondamentali di questa patologia:

- la LLA del bambino è una malattia eterogenea composta da numerosi sottogruppi biologici, classificati in base alle alterazioni genetiche che li caratterizzano. (Figura 4.1)
- è il risultato di un processo multistep associato all'acquisizione di alterazioni genetiche nelle cellule leucemiche (mutazioni somatiche);

E' ormai accertato che la maggior parte dei casi di LLA derivino da mutazioni somatiche che insorgono durante la fase di post-concepimento *in utero* nelle cellule linfoidi in sviluppo.(38) Questa evidenza emerge chiaramente dagli studi sui gemelli monozigoti, che mostrano elevata concordanza di eventi leucemici, compresi identici riarrangiamenti genetici.(39)

La malattia sarebbe il risultato di due mutazioni, delle quali la prima si verifica durante la gestazione (mutazione genetica) selezionando un clone con vantaggio proliferativo mentre la seconda promuoverebbe la trasformazione leucemica in seguito a una risposta anomala del sistema

immunitario a stimoli da infezioni comuni e non specifiche. Inoltre, un sistema immunitario immaturo, a causa della mancanza di stimoli dovuti all'igiene, aumenterebbe tale probabilità di risposta anomala. (57)

4.1.3 CLASSIFICAZIONE

La classificazione delle leucemie acute si basa su criteri morfologici e citochimici, immunofenotipici, citogenetici e molecolari.

L'analisi morfologica al microscopio e la citochimica rappresentano il requisito minimo per una corretta diagnosi di LLA e per la diagnosi differenziale.(40)

La storica classificazione FAB , che distingue morfologicamente tre sottotipi L1, L2, L3 (vedi tabella 4.1) ha perso significato sia dal punto di vista clinico che prognostico

La nuova **classificazione del gruppo EGIL** (vedi tabella 4.2) consente di distinguere le leucemie linfoblastiche, di linea B e T, in base all'utilizzo combinato di marcatori altamente linea specifici e altri di differenziazione cellulare. (41)

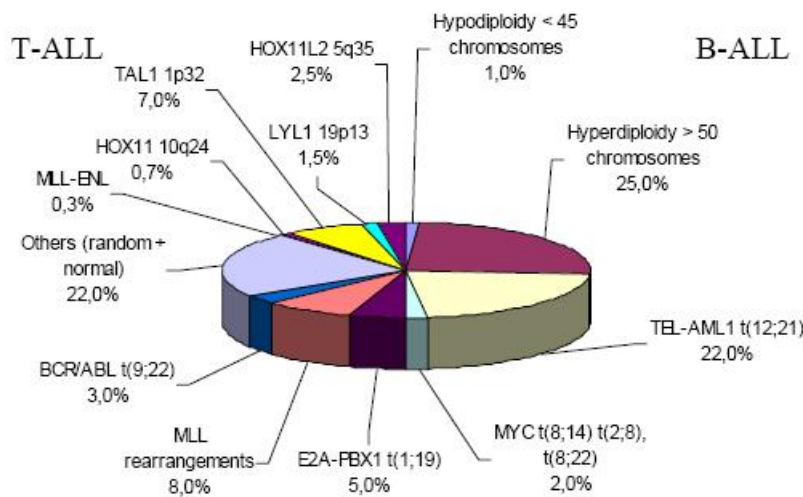
Circa il 75% delle LLA appartengono alla linea B; i marcatori espressi sulla superficie dei blasti B sono il CD19, CD20, CD22, CD24 e il CD79a.(43-44)

Le leucemie acute di linea T costituiscono circa il 25% dei casi ed esprimono marcatori quali il CD1a, CD2, CD3 (di membrana e citoplasmatico), CD4, CD5, CD7 e CD8.

I più comuni difetti cromosomici osservati nei blasti leucemici sono *gains* numerici o *losses* di interi cromosomi e traslocazioni. L'iperdiploidia è segnalata in quasi un terzo dei casi e l'iperdiploidia con 51-65 cromosomi è associata ad un buona prognosi.(43) La prognosi favorevole nella

iperdiploidia sembra esser maggiormente correlata con i gains dei cromosomi 4, 10 e 17 (Tripla Trisomia) o dei cromosomi 4 e 10 (Doppia Trisomia).(42) Di contro, l'ipodiploidia con meno di 44 cromosomi nei blasti leucemici è legata ad una cattiva prognosi.(42)

Le traslocazioni nella LLA del bambino comunemente colpiscono fattori di trascrizione ematopoietici o attivano oncogeni e sono eventi chiave nella leucemogenesi: questi comprendono la traslocazione t(12;21) *TELAML1*(o *ETV6-RUNX1*) che è riscontrata nel 25% dei casi; la t(1;19) *TCF3-PBX1* nel 5%; la t(9;22) *BCR-ABL1* (generalmente p190) nel 3%; i riarrangiamenti del gene *MLL* (cromosoma 11 banda q23) nell'8% dei casi.



da: Pui C-H et al., *N Engl J Med* 2004;350:1535-48

Figura 4.1: Il diagramma mostra la distribuzione e l'incidenza dei vari sottotipi biologici fin qui identificati nella Leucemia Linfoblastica Acuta del bambino B-lineage e T-lineage (adattata da nota bibliografica 59).

| CATEGORIA | MORFOLOGIA | INCIDENZA |
|------------------|--|------------------|
| L1 | Piccole cellule linfoidi, cromatina omogenea, assenza di nucleoli,scarso citoplasma,nuclei regolari | 25-30% |
| L2 | Grandi cellule eterogenee,cromatina disomogenea, forma irregolare del nucleo,presenza di nucleoli,citoplasma abbondante | 65-70% |
| L3 | Grandi cellule con cromatina finemente punteggiata, nucleoli prominenti,citoplasma fortemente basofilo e vacuolato | 5-10% |

Tabella 4.1:Classificazione FAB(French-American-British) delle LLA

| LINEA B | IMMUNOFENOTIPO | CITOGENETICA |
|----------------------------|------------------------|---------------------|
| B-I (pro-B) | CD34, CD19, CD79a | t(4;11) MLL/AF4 |
| B-II (common-B) | CD34, CD19, CD10 | t(9;22) BCR/ABL |
| B-III (pre-B) | CD19, CD10, CD20, cIgM | t(1;19) PBX/E2A |
| B-IV (B matura) | CD19, CD20, sIgM | t(8;14) Myc/IgH |
| LINEA T | | |
| T-I (pro-T) | CD34, CD7, cCD3fed | |
| T-II (pre-T) | CD2, CD5, CD1a neg | |
| T-III (T corticale) | CD4, CD8, CD1a pos | |
| T-IV (T-matura) | sCD3, CD4o CD8 | |

Tabella 4.2. Classificazione EGIL delle LLA

4.1.4 MANIFESTAZIONI CLINICHE

I sintomi della LLA sono dovuti alla progressiva invasione midollare da parte del clone leucemico e, secondariamente, all'infiltrazione di altri organi ed ai conseguenti disturbi metabolici. (45)

La compromissione della normale emopoiesi comporta anemia, piastrinopenia e neutropenia con facilità al sanguinamento mucoso e cutaneo, e sintomi sistemici quali astenia, febbre, letargia e dolori ossei o artralgie.

Segni e sintomi meno comuni includono cefalea, vomito, dispnea, oliguria ed anuria.

L'esame fisico può evidenziare pallore, petecchie ed ecchimosi mucocutanee.

Alla diagnosi, la maggior parte dei bambini presenta splenomegalia e/o epatomegalia, solitamente asintomatiche. La linfoadenopatia (solitamente non dolente, localizzata o sistemica) dovuta ad infiltrazione leucemica è ugualmente frequente.(46)

I più comuni siti di diffusione extramidollare sono il SNC e nel maschio il testicolo, anche se teoricamente qualunque organo o tessuto può essere infiltrato.

4.1.5 DIAGNOSI

Nel sospetto di leucemia deve essere effettuato un esame microscopico dello striscio di sangue periferico alla ricerca di cellule blastiche.

La conferma diagnostica si ottiene con l'analisi del sangue midollare, prelevato mediante **Agoaspirato midollare**, quando l'esame morfologico al microscopio ottico mostri una quota blastica \geq al 25% (criterio BFM).

Sul campione di sangue midollare vengono eseguiti lo studio dei marcatori espressi dalle cellule neoplastiche mediante citofluorimetria a flusso e la ricerca di anomalie cromosomiche, mediante FISH e PCR, per la stratificazione dei pazienti in categorie a diversa prognosi.(47-48)

L'iter diagnostico comprende sempre **l'analisi del liquido cefalorachidiano** e la valutazione strumentale con TC o RMN encefalo per individuare i casi con interessamento del SNC asintomatici ed eventuali esami strumentali specifici per valutare l'infiltrazione di altri organi e apparati.

4.1.6 PROGNOSI

I fattori prognostici convenzionali includono l'età, il sesso, la conta leucocitaria e/o la massa tumorale, l'immunofenotipo, il DNA index, e citogenetica; il valore prognostico di questi fattori tuttavia si è dimostrato in gran parte dipendente dal trattamento.(49)

I principali fattori prognostici, utilizzati dai gruppi cooperativi americani, sono elencati schematicamente nella tabella 4.3.

Negli ultimi anni, con la progressiva intensificazione della terapia e il graduale miglioramento dei risultati, si è dimostrato che la risposta al trattamento è di fatto il fattore prognostico indipendente più importante; in particolare nei pazienti trattati con i protocolli terapeutici BFM attualmente in uso in Italia, tale risposta può essere valutata attraverso la **Malattia Residua Minima (MRM)**, in corrispondenza di due *time points* definiti (giorno +33 e giorno + 78 dall'inizio del trattamento).

Il termine MRM definisce la presenza submicroscopica di blasti leucemici residui nel midollo osseo e/o nel sangue periferico di pazienti in Remissione Completa (RC).(50-51-52)

La MRM viene studiata con metodiche di PCR quantitativa che valutano la presenza di specifici riarrangiamenti clonali dei geni per il T-cell Receptor (TcR) e per le Immunoglobuline (Ig) o mediante la valutazione citofluorimetrica di antigeni inusuali, aberranti o ectopici, utilizzando sonde multiple di anticorpi monoclonali. (53-54-55)

Ottenuta la RC con la terapia di induzione, i pazienti possono essere distinti in tre gruppi prognostici principali:

I pazienti a rischio standard (SR) sono definiti da:

- Buona risposta alla prefase cortisonica (PGR), con blasti periferici < 1000/mmc all'8° giorno;

- Remissione citomorfologica completa dopo la prima fase di induzione, con blasti midollari inferiori al 5% mmc al giorno +33;
- Assenza di traslocazioni t(9;22) o t(4;11);
- MRM negativa sia al giorno+ 33 (fine fase IA dell'Induzione) che al giorno +78 (fine fase IB).

I **pazienti a rischio intermedio (MR)** presentano tutte le condizioni precedenti con MRM positiva $\leq 1 \times 10^{-3}$ al giorno +33 e negativa al giorno +78.

I **pazienti ad alto rischio (HR)** presentano:

- Cattiva risposta alla prefase cortisonica (PPR), con blasti periferici $>1000/\text{mmc}$ all'8° giorno;
- Mancata remissione completa dopo la prima fase di induzione, con blasti midollari $\geq 5\%$ al giorno +33;
- Presenza di traslocazioni t(9;22) o t(4;11) oppure
- MRM $\geq 1 \times 10^{-3}$ dopo la seconda fase (78°giorno) della terapia di Induzione

| FATTORI | FAVOREVOLI | SFAVOREVOLI |
|---------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Età | 2-7 anni | <2 o >10 anni |
| Sesso | Femminile | Maschile |
| Razza | Bianca | Nera |
| GB all'esordio | < 10000/mmc | > 50000/mmc |
| Adenomegalia | Assente | Presente |
| Epatosplenomegalia | Assente | Presente |
| Morfologia | L1 | L2 o L3 |
| Citogenetica | Iperdiploidia | t(4;11), (8;14), (9;22) |
| DNA index | > 1,16 | ≤ 1,16 |
| Markers di superficie | LLA CD10 + | LLA T o B cells |
| Risposta a prefase cortisonica | Blasti periferici al g 8 < 1000/mmc | Blasti periferici al g 8 > 1000/mmc |
| Risposta precoce a induzione | RC al g 14 | Blasti nel midollo al g 14 > 25 % |

Tabella 4.3. Fattori prognostici generali della LLA

4.1.7 TRATTAMENTO

La prognosi della LLA in età pediatrica è drammaticamente migliorata negli ultimi trent'anni grazie alla progressiva intensificazione del trattamento ed all'affinamento dei criteri di stratificazione dei pazienti in gruppi a differente rischio di ricaduta.

Il trattamento della LLA, nei protocolli di chemioterapia adottati dai maggiori

gruppi cooperativi internazionali, si articola generalmente in 4 fasi:

Induzione, Profilassi del SNC, Consolidamento/Reinduzione e Mantenimento.

- **INDUZIONE**

Il trattamento previsto in questa fase ha lo scopo di ottenere la *remissione completa* (RC). L'intensità della chemioterapia di

Induzione è aumentata nel corso degli ultimi decenni, con una combinazione dapprima di due farmaci (vincristina + steroidi), indi di tre o quattro agenti (+ antracicline e/o asparaginasi) e con un tasso di RC attualmente superiore al 95%.

Prednisone e prednisolone sono stati i glicocorticoidi più comunemente usati in questa fase. Tuttavia recenti evidenze suggeriscono che il desametasone sia più efficace nella prevenzione delle ricadute midollari e SNC isolate o combinate. Questo tuttavia comporta una più severa immunosoppressione e aumenta la tossicità acuta e a lungo termine.

- PROFILASSI DEL SNC

La prevenzione della localizzazione della malattia al SNC è un concetto acquisito sin dalla fine degli anni '60. L'introduzione della radioterapia craniale (RTC) combinata con chemioterapia intratecale ha consentito di ottenere una riduzione della ricaduta al SNC dal 50% dei casi al 10% circa.(57-58).

Attualmente, tuttavia, la profilassi si basa sulla somministrazione di chemioterapia sistemica ad alte dosi con farmaci in grado di superare la barriera emato-encefalica e sulla ripetuta e protratta somministrazione intratecale di MTX durante le diverse fasi della chemioterapia, mentre la RTC viene utilizzata nei pazienti ad alto rischio di recidiva o con localizzazione al SNC.

- **CONSOLIDAMENTO/REINDUZIONE**

L'obiettivo della terapia di consolidamento/reinduzione della remissione è quello di minimizzare lo sviluppo di cellule resistenti e agire sulla malattia residua minima, aumentando la sopravvivenza libera da malattia.

- **MANTENIMENTO**

La terapia di mantenimento ha lo scopo di bloccare la crescita leucemica e continuare la citoreduzione fino all'azzeramento delle cellule leucemiche.

Nella maggior parte dei regimi terapeutici di Mantenimento vengono somministrati metotrexate settimanalmente e 6-mercaptopurina (6-MP) giornalmente associati eventualmente a pulsezsi di Vincristina/steroidi.

La durata ottimale della terapia non è ancora stata definitivamente stabilita. Tuttavia la maggior parte dei gruppi utilizza uno schema che prevede di trattare i pazienti per una durata totale di terapia di 2 anni (compresa la terapia di mantenimento).

4.2 CASO 2

Il nostro paziente è un bambino di 11 anni, affetto da Leucemia Linfoblastica Acuta in trattamento secondo il protocollo AIEOP LLA 2000.

Il ragazzo arriva alla nostra osservazione nel febbraio 2006 per il riscontro di diatesi emorragica e epatosplenomegalia. L'iter diagnostico definisce la

presenza di LLA Common, non traslocazioni all'analisi molecolare, non interessamento del SNC. Considerato prednison poor responder al giorno + 8 dell'Induzione IA diventa eleggibile alla fascia di alto rischio. La valutazione della malattia residua minima molecolare con 2 marcatori al giorno +33 e + 78 dell'Induzione evidenzia positività a entrambi i punti con valore inferiore a 1×10^{-3} .

Durante la fase IA del protocollo di Induzione, il paziente ha manifestato segni di lieve tossicità epatica con subittero, modesto incremento delle transaminasi (GPT grado 2²), iperbilirubinemia di grado 2 e incremento di LDH a 756 UI/L. Tossicità epatica lieve si evidenziava anche durante la fase IB, nella quale il paziente presenta quadro di addome acuto e successivo intervento chirurgico di appendicectomia in urgenza, e anche durante la terapia a blocchi.

Il protocollo prevede, nei pazienti ad alto rischio, radioterapia craniale profilattica con 18 GY in 10 frazioni da 180 cGy che viene somministrata al ragazzo nel novembre 2006 durante la fase di Mantenimento ad interim tra il primo e il secondo protocollo II della Reinduzione.

2

| Grado di tossicità (criteri CTCAE) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|-------------|----------|------------|-------------|----------|
| GOT/GPT | Normale (N) | >N-2.5xN | >2.5-5.0xN | >5.0-20.0xN | >20.0xN |
| Bilirubina | Normale (N) | >N-1.5xN | >1.5-3.0xN | >3.0-10.0xN | >10.0xN |

Il 20 Dicembre 2006 il paziente inizia il secondo protocollo II, vengono somministrate due dosi di Vincristina (VCR) a 1,5 mg/mq, quattro di L-asparaginasi e una di Doxorubicina (ADM).

Al giorno +22 di tale fase terapeutica il ragazzo si presenta in DH in condizioni fortemente scadute, febbrile , presenta lesioni ulcero-necrotiche di grosse dimensioni nel palato e alla mucosa orale con scialorrea importante, lesioni vescicolose diffuse soprattutto al volto e alla parte superiore del tronco, subittero.

Viene ricoverato, sospende la chemioterapia e incomincia terapia antibiotica, antivirale e di supporto.

Nei giorni successivi lesioni del cavo orale peggiorano, gli esami colturali eseguiti permettono di isolare da queste l' Enterobacter Cloacae, si definiscono meglio le lesioni erpetiche lungo il decorso del nervo facciale di destra con successiva paralisi e lagoftalmo. Persiste iperpiressia (isolato alla emocoltura da CVC Staphilococcus Epidermidis). Dopo nove giorni si assiste ad una stabilizzazione dell'esantema e miglioramento delle lesioni ulcerative del palato duro.

Considerando i criteri di Seattle e Baltimora per la diagnosi di VOD, il paziente presentava epatomegalia, dolorabilità in ipocondrio destro, modesto versamento ascitico e reticoli venosi superficiali. Compare quadro di insufficienza epatica ingravescente , con progressivo incremento della bilirubina (grado 4), aumento delle transaminasi di grado 3, delle lattico deidrogenasi (vedi grafici 4.1-4.2-4.3-4.4) e degli indici di colestasi, ipoalbumiemia. E' presente coagulopatia con riduzione dell'ATIII ,allungamento del PTT, iperfibrinogenemia e importante e prolungata citopenia.

L'ecografia evidenziava restrizione del calibro delle vene sovra epatiche con flusso demodulato, epatofugo e compressione della vena cava, che confermava il sospetto di VOD. La TC dell'addome non evidenziava

rilievi particolari oltre la importante epatomegalia, con margine inferiore in fossa iliaca destra.

È stata iniziata terapia di supporto che ha previsto trasfusione con emazie concentrate, concentrati piastrinici, plasma fresco congelato, nutrizione parenterale totale, terapia sostitutiva con albumina e antitrombina III.

Considerato il quadro compatibile con VOD viene intrapresa terapia con Defibrotide dopo dieci giorni dalla comparsa dei sintomi, inizialmente alla dose di 10mg/kg in quattro somministrazioni giornaliere.

A causa della persistenza dell'ittero e dell'intensa sintomatologia addominale la dose viene progressivamente aumentata prima a 15 mg/kg, poi a 20 mg/kg e infine a 25 mg/kg.

A circa 9 giorni dall'inizio della terapia si assiste ad un decremento della bilirubina, lieve riduzione dell'epatomegalia, riduzione del reticolo venoso superficiale e un lento ma progressivo miglioramento delle condizioni generali.

La terapia con Defibrotide viene sospesa dopo 34 giorni, con la completa normalizzazione dei parametri laboratoristici.

A 10 settimane dall'interruzione della chemioterapia il paziente riprende chemioterapia con Mantenimento rotazionale secondo il protocollo R11 del gruppo St Jude modificato omettendo la 6-mercaptopurina, e solo successivamente passa alla terapia con MTX e 6MP prevista dal protocollo

Durante la terapia di Mantenimento ha manifestato osteonecrosi multifocale del bacino e del femore .

Il paziente è attualmente in stop terapia senza reliquati legati all'evento e in particolare senza segni di epatotossicità .

4.3 GRAFICI

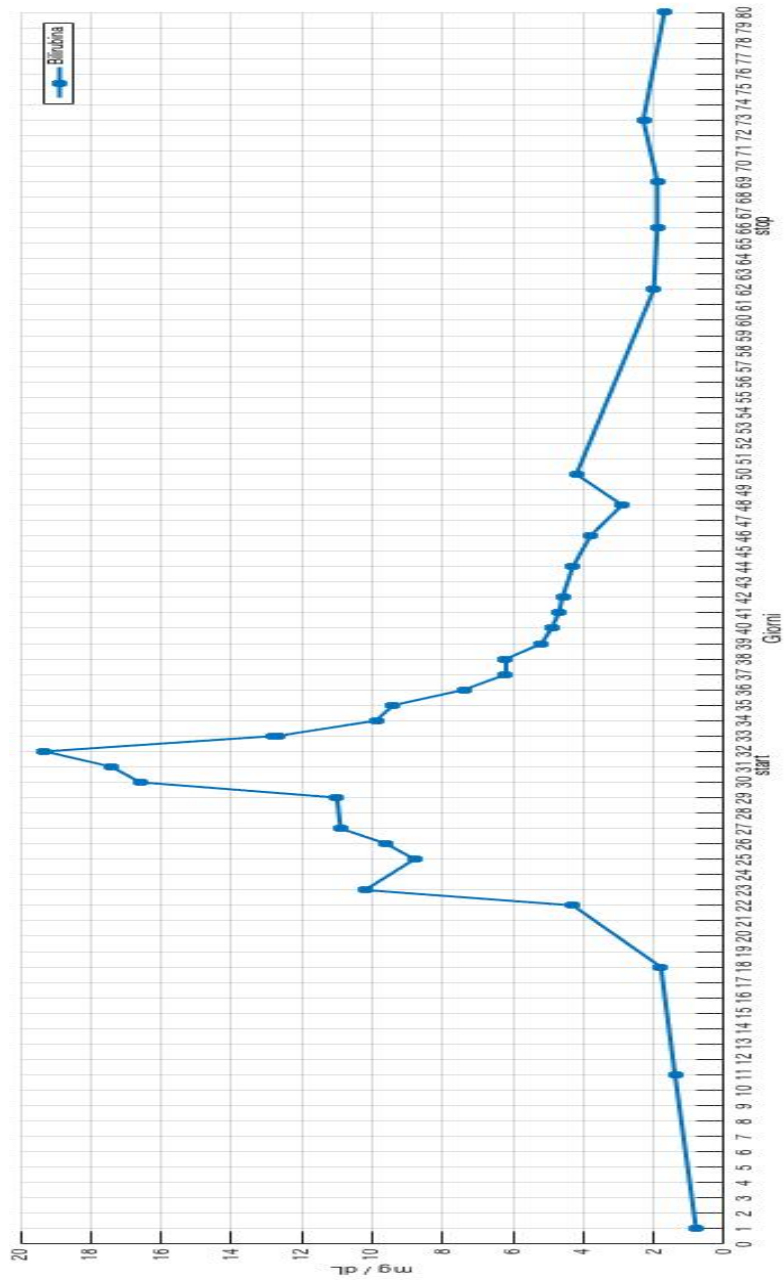


GRAFICO 4.1. Profilo della bilirubina durante il secondo protocollo di Reinduzione, in riferimento all'inizio e la fine della terapia con Defibrotide.

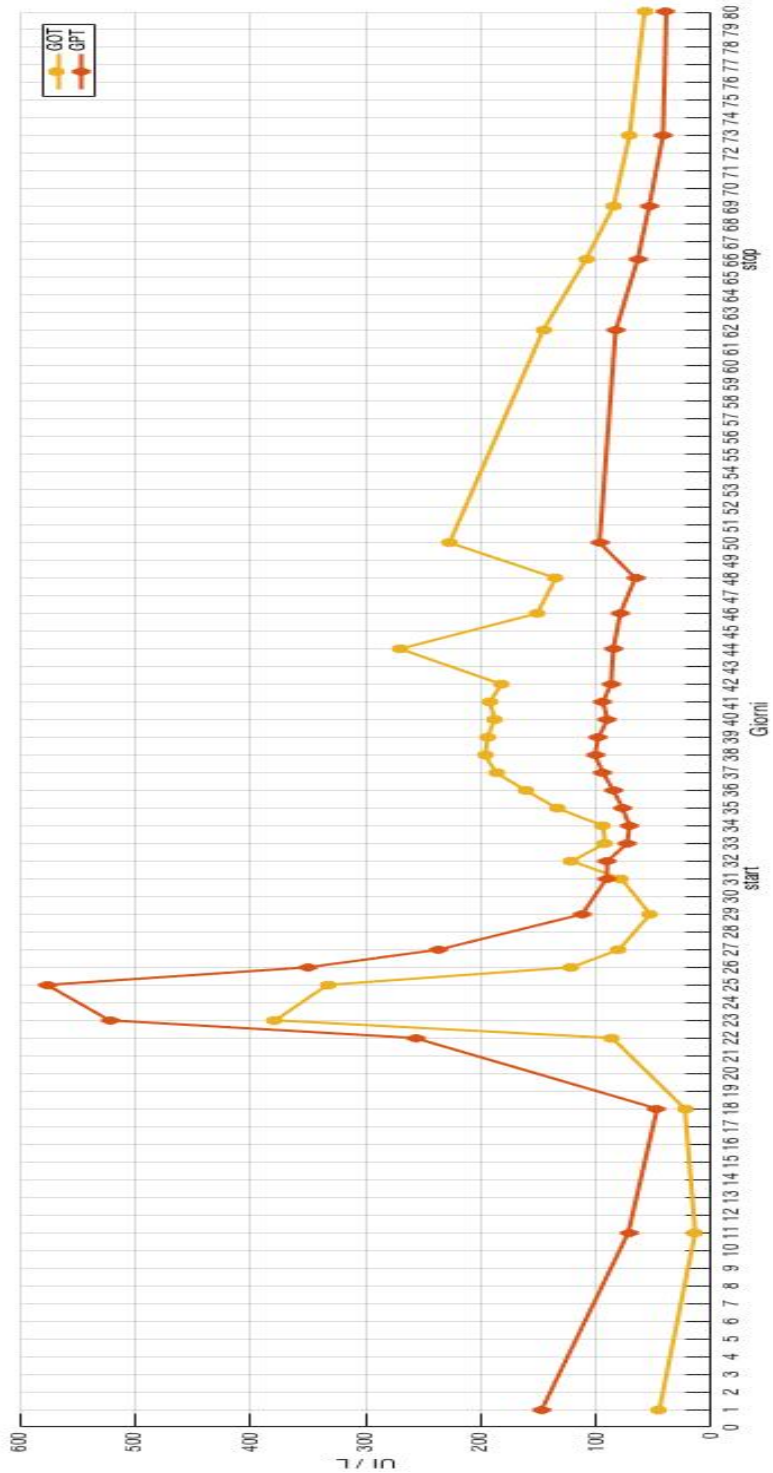


GRAFICO 4.2. Profilo della transaminasi (GOT e GPT) durante il secondo protocollo di Reinduzione, in riferimento all'inizio e la fine della terapia con Defibrotide

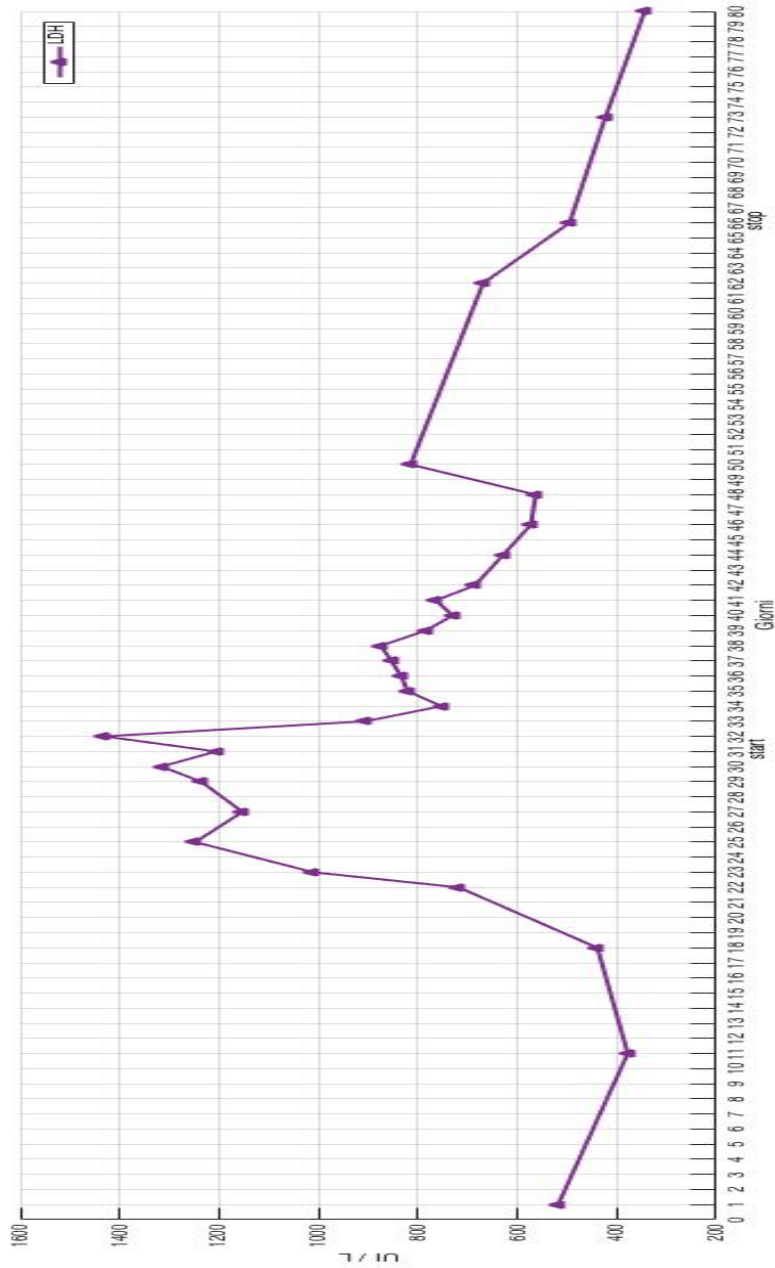


GRAFICO 4.3. Profilo della LGH durante il secondo protocollo di Reinduzione, in riferimento all'inizio e alla fine della terapia con Defibrotide.



GRAFICO 4.4. Profilo delle piastrine durante il secondo protocollo di Reinduzione, in riferimento all'inizio e alla fine della terapia con Defibrotide.

5 DISCUSSIONE

La malattia veno-occlusiva epatica (VOD), anche conosciuta come Sindrome da ostruzione dei sinusoidi epatici (HSOS) è la più comune complicanza del Trapianto di cellule staminale ematopoietiche (1).

Sebbene la VOD sia una complicanza ben conosciuta in ambito trapiantologico e durante la chemioterapia di tumori solidi quali soprattutto il Tumore di Wilms e il Rabbdomiosarcoma(71-72-73), ci sono pochissime segnalazioni in letteratura della comparsa della sindrome durante il trattamento del Medulloblastoma e della Leucemia Linfoblastica Acuta.

In letteratura sono presenti solo 3 *case reports* di VOD correlata al trattamento del Medulloblastoma (74-75-76). Due pazienti, 14 e 5 anni, con MB ad alto rischio e una paziente di 19 mesi con malattia a rischio standard. I pazienti ad alto rischio hanno eseguito RT con irradiazione cranio-spinale di 36 Gy e sovradosi in fossa posteriore di 20 Gy associata a somministrazione settimanale di Vincristina. Entrambi hanno manifestato i primi sintomi di VOD dopo la prima settimana della chemioterapia di mantenimento a base di Vincristina (1,5mg/mq), Cisplatino (75 mg/mq) e Ciclofosfamide (1000mg/mq).

La paziente di 19 mesi ha manifestato una forma fatale di VOD una settimana dopo l'inizio della chemioterapia con Carboplatino, Lomustina e Vincristina. I pazienti non presentavano fattori di rischio di VOD (vedi tabella 1.1), ad eccezione dell'età minore di 3 anni nell'ultimo caso.

La VOD si manifesta raramente durante il trattamento di Induzione della leucemia acuta; nel 1976, Griner et al. hanno descritto 2 casi di VOD durante la terapia di mantenimento a base di 6-tioguanina in pazienti precedentemente trattati con Citosina-Arabinoside (77). Nel 2003, Kramer et al. hanno descritto il caso di un paziente affetto da LLA con sindrome di

Marfan, che ha manifestato VOD durante il trattamento di induzione a base di Vincristina e Daunorubicina (78).

Nel 2008, in una donna affetta da LLA, è stato descritto un caso di VOD dodici giorni dopo il protocollo di induzione che prevedeva : Vincristina (1,5 mg/mq al giorno 1 e 8), Daunorubicina (45 mg/mq/die per due giorni) , Prednisone (40mg/mq/die), L-Asparaginasi (6000 UI/mq) e Methotrexate it (12.5 mg)(79).

La VOD si verifica raramente in corso di chemioterapia convenzionale per tumori diversi da quelli sopracitati, e la consapevolezza che essa si possa verificare durante la terapia del MB o della Leucemia Acuta, non è così chiara, considerato l'esiguo numero di casi riportati in letteratura.

Mentre risulta facile sospettare questa complicanza nei pazienti con Tumore di Wilms e con Rabdomiosarcoma, in cui si verifica con una frequenza fino all'8% e 5% rispettivamente, è più difficilmente ipotizzabile in corso di chemioterapia per altre patologie neoplastiche in età pediatrica.

Peraltro, una tossicità epatica di grado lieve-moderato è un'evenienza comune nei pazienti pediatrici sottoposti a trattamento chemioterapico, per questo motivo può essere difficile, soprattutto all'esordio, discriminare un'epatotossicità di grado lieve e autolimitante, correlata alla terapia, da un iniziale quadro di VOD.

La VOD si manifesta, fin dall'inizio, con importante aumento degli indici di citonecrosi epatica e degli indici di colestasi, alterazione della funzione biosintetica con ipoalbuminemia e coagulopatia e si accompagna a segni quali epatomegalia dolente, ittero franco, aumento ponderale > del 2% rispetto al basale con ritenzione idrica, ascite ed edemi. Il quadro tossico è particolarmente grave, tanto che può compromettere la funzionalità di diversi organi, quali il rene, ed evolvere in un insufficienza multi organo, gravata da elevata mortalità (6).

La diagnosi è essenzialmente clinica, la biopsia epatica raramente viene effettuata per la concomitante coagulopatia e le condizioni spesso estremamente scadute dei pazienti. Una diagnosi precoce, pertanto, è fondamentale affinché venga instaurato prontamente una terapia di supporto adeguata e terapia specifica prima che la progressione del quadro comprometta la prognosi del paziente.

In un recente studio retrospettivo sul ruolo della biopsia epatica nei bambini che sviluppano VOD in corso di trattamento per Tumore di Wilms, è emerso peraltro che l'esecuzione della biopsia epatica durante l'intervento di nefrectomia ha certamente valore diagnostico, ma non utilità prognostica.

Un altro aspetto di cui tenere conto riguardo la gestione dei casi in corso di chemioterapia standard è che il Defibrotide, farmaco specifico per il trattamento della VOD, è attualmente approvato esclusivamente per il trattamento della patologia in ambito trapiantologico e la prescrizione in questi casi risulta *off-label*. Ciò può rappresentare una ulteriore difficoltà a reperire e somministrare il farmaco al tempestivamente a questi pazienti.

Per quanto riguarda i nostri due casi, la bambina del caso 1 non mostrava i noti fattori di rischio di VOD (vedi tabella 1.1) quali giovane età, precedente patologia epatica, irradiazione totale corporea o regimi di condizionamento a base di Ciclofosfamide o Busulfano. In ogni caso la paziente aveva comunque già presentato quadro di necrosi epatocitaria durante il primo ciclo del Mantenimento.

Per quanto riguarda il ruolo patogenetico della radioterapia, come per gli altri casi descritti in letteratura, la VOD si è manifestata dopo l'irradiazione cranio spinale con 23,4 Gy e dopo almeno il primo ciclo di chemioterapia di Mantenimento, a base di Vincristina, Lomustina e Cisplatino. La rivalutazione del piano di trattamento, eseguito con tecnica

conformata 3D, ha escluso irradiazione epatica documentabile, tuttavia come è noto, non è possibile escludere una contemporanea minima irradiazione diffusa al fegato .

Nella nostra paziente i primi sintomi sono comparsi dopo 10 giorni dalla somministrazione del secondo ciclo VCP e a soli due giorni di distanza dalla somministrazione dell'ultima Vincristina; per questa correlazione temporale e per la costante evidenza dell'associazione in letteratura fra tale complicanza e la terapia con Vincristina si è ritenuta l'associazione significativa e se ne è omessa l'ulteriore somministrazione nel resto del Mantenimento .

Anche nel nostro 2° caso il paziente non presentava tutti i fattori di rischio noti per VOD ed in particolare anamnesi positiva per patologia epatica, tuttavia appare significativa la tossicità epatica che il paziente ha presentato durante tutta la chemioterapia di Induzione e a blocchi eseguita precedentemente all'evento e la concomitante presenza di un quadro infettivo particolarmente severo con sepsi da *Staphylococcus Haemolyticus*, varicella e paralisi dell'emifaccia destra come complicanza neurologica dell'Herpes-Zoster.

Come la paziente del caso 1 anche il paziente affetto da LLA aveva peraltro eseguito recentemente trattamento radioterapico con 18 Gy limitato tuttavia all'encefalo fino a C2 , che esclude la possibile irradiazione epatica , fattore di rischio noto per VOD.

Anche in questo secondo caso il paziente ha manifestato una forma severa di VOD, secondo i criteri di Chao(vedi tabella 1.2) e, considerato di intensità adeguata il trattamento chemioterapico fino ad allora eseguito, si è deciso di omettere l'ultima parte della Reinduzione (2 somministrazioni di VCR e ADM, la successiva parte IIB con la somministrazione dell'antimetabolita 6-Thioguanina) e di reinserire solo tardivamente nella terapia di Mantenimento la 6-Mercaptopurina.

Dalle evidenze in letteratura è emerso che la presenza di alcuni polimorfismi genetici quali GSTM1 e GSMTT1, eparanasi (14-15), il deficit di Antitrombina III o di t-PA e la resistenza all'attivazione della proteina C-reattiva (16) possa aumentare il rischio di insorgenza di VOD. Se non è stato possibile nei nostri pazienti eseguire l'analisi molecolare per lo studio di tali polimorfismi nel secondo caso era documentabile deficit acquisito di ATIII secondario alla somministrazione dell'Asparaginasi di questa fase della Reinduzione.

In conclusione, ci pare degno di nota che in entrambi i nostri pazienti concomitantemente al quadro tossico, sia stata isolata la presenza dello stesso microrganismo Gram-negativo: nel 1° caso l'Enterobacter Cloacae è stato identificato da un tampone vulvare in associazione a diarrea, mentre nel caso 2 è stato isolato dalle lesioni ulcerative del cavo orale.

Da alcuni studi pubblicati (10) emerge che le endotossine batteriche, in particolare il lipopolisaccaride, grazie all'antigene CD14, si leghino all'endotelio sinusoidale stimolando il rilascio di TNFalfa e IL-1b, citochine procoagulanti in grado di attivare la cascata coagulativa. Ne deriva il deposito di fibrina nella parete delle venule che stimolando il rilascio di citochine e fattore di von Willebrand, attiva l'adesione piastrinica. Per tali reperti non si può escludere la patogenesi infettiva come uno dei fattori scatenanti del danno endoteliale e dell'insorgere di VOD.

6 BIBLIOGRAFIA

1. McDonald GB, Sharma P, Matthews DE et al. Veno-occlusive disease of the liver after bone marrow transplantation: diagnosis, incidence, and predisposing factors. *Hepatology* 1984;4:116-122.
2. McCune JS, Batchelder A, Deeg HJ et al. Cyclophosphamide following targeted oral busulfan as conditioning for hematopoietic cell transplantation: pharmacokinetics, liver toxicity, and mortality. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007; 13:853-862.
3. Jones RJ, Lee KS, Beschorner WE, et al. Venooclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987; 44:778-783.
4. Cesaro S, Pillon M, Talenti E, et al. A prospective survey on incidence, risk factors and therapy of hepatic veno-occlusive disease in children after hematopoietic stem cell transplantation. *Hematologica* 2005; 90:1396-1404.
5. Czauderna P, Chyczewski L, Lech K, et al. Experimental model of hepatic venoocclusive disease (VOD) caused by dactinomycin- Preliminary report about hepatoprotective effect of amifostine. *Med Sci Monit* 2000;6:446-453.
6. Coppell JA, Richardson PG, Soiffer R, Martin PL, Kernan NA, Chen A et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16: 157–168.
7. Cathy Q. Fan, James M. Crawford. Sinusoidal Obstruction Syndrome (Hepatic Veno-Occlusive Disease). *Journal of clinical and experimental hepatology* 2014;332-346.

8. McDonald GB. Hepatobiliary Complication of Hematopoietic Cell Transplantation, 40 years On. *Hepatology* 2010;51:1450-1460.
9. M. Mothy, F. Malard, M. Abecassis et al. Sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease: current situation and perspectives-a position statement from the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplantation* 2015;1-9.
10. Eissner G, Multhoff G, Holler E. Influence of bacterial endotoxin on the allogenicity of human endothelial cells. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 1286–1288.
11. Fuste B, Mazzara R, Escolar G, Merino A, Ordinas A, Diaz-Ricart M. Granulocyte colony-stimulating factor increases expression of adhesion receptors on endothelial cells through activation of p38 MAPK. *Haematologica* 2004; 89: 578–585.
12. Carreras E, Bertz H, Arcese W, Vernant JP, Tomas JF, Hagglund H et al. Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. Blood* 1998; 92: 3599–3604.
13. Nagler A, Labopin M, Berger R, Bunjes D, Campos A, Socie G et al. Allogeneic hematopoietic SCT for adults AML using i.v. BU in the conditioning regimen: outcomes and risk factors for the occurrence of hepatic sinusoidal obstructive syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49: 628–633.
14. Srivastava A, Poonkuzhali B, Shaji RV, George B, Mathews V, Chandy M et al. Glutathione S-transferase M1 polymorphism: a risk factor for hepatic venoocclusive disease in bone marrow transplantation. *Blood* 2004; 104: 1574–1577.

15. Seifert C, Wittig S, Arndt C, Gruhn B. Heparanase polymorphisms: influence on incidence of hepatic sinusoidal obstruction syndrome in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Cancer Res Clin Oncol* e-pub ahead of print 22 October 2014.
16. Lee JH, Lee KH, Kim S, Lee JS, Kim WK, Park CJ et al. Relevance of proteins C and S, antithrombin III, von Willebrand factor, and factor VIII for the development of hepatic veno-occlusive disease in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation: a prospective study. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 883–888.
17. Corbacioglu S, Honig M, Lahr G, Stohr S, Berry G, Friedrich W et al. Stem cell transplantation in children with infantile osteopetrosis is associated with a high incidence of VOD, which could be prevented with defibrotide. *Bone Marrow Transplant* 2006; 38: 547–553.
18. Carreras E. How I manage sinusoidal obstruction syndrome after haematopoietic cell transplantation. *Br J Haematol* 2014; 168: 481–491.
19. McDonald GB, Sharma P, Matthews DE, Shulman HM, Thomas ED. Venocclusive disease of the liver after bone marrow transplantation: diagnosis, incidence, and predisposing factors. *Hepatology* 1984; 4: 116–122.
20. Jones RJ, Lee KS, Beschoner WE, Vogel VG, Grochow LB, Braine HG et al. Venocclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987; 44: 778–783.
21. Chao N. How I treat sinusoidal obstruction syndrome. *Blood*. 2014; 123:4023-4026

- 22.M. Senzolo, G. Germani, E. Cholongitas, P. Burra, AK. Burroughs.
Veno occlusive disease: Update on Clinical management. *World J Gastroenterol* 2007; 13(29):3918-3924.
- 23.Bearman SI, Lee JL, et al. Treatment of hepatic venocclusive disease with recombinant human tissue plasminogen activator and heparin in 42 marrow transplant patients. *Blood* 1997;89:1501-1506.
- 24.Morris JD, Harris RE, et al. Antithrombin-III for the treatment of chemotherapy-induced organ dysfunction following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1997;20:871-878.
- 25.S Corbacioglu, S. Cesaro, M. Faraci, D. Valteau-Cuoianet et al. Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in pediatric haemopoietic stem-cell transplantation: an open label, phase 3, randomized controlled trial. *Lancet* 2012;379:1301-1309.
- 26.McNeil DE, Cote TR;Clegg L. et al. Incidence and trends in pediatric malignancies medullloblastoma/primitive neuroectodermal tumor: a SEER update. *Surveillance Epidemiology and End Results. Med Pediatr Oncol* 2002;39:190-194.
- 27.Rickert CH, Paulus W. Epidemiology of central nervous system tumors in childhood and adolescence based on the new WHO classification. *Child Nerv Syst* 2001;17;503-511.
- 28.Stewart BW, Kleihus P, Editors. *World Cancer Report.* Lyon: IARC Press. 2003.
- 29.Croul S, Otte J, Khalili K. Brain tumors and polyomaviruses. *J Neurovirol* 2003; 9: 173-182.
- 30.Russell DS, Rubinstein LJ. *Pathologyof tumors of the nervous system, 5th ed.* Baltimore. Williams & Wilkins,1989.

31. Giangaspero F, Rigobello I, Badiali M, et al. Large-cell medulloblastomas. A distinct variant with highly aggressive behavior. *Am J Surg pathol* 1992;16:687-693.
32. Brown HG, Kepner JL, Perlman EJ, et al. "Large cell/anaplastic" medulloblastomas: a pediatric Oncology Group Study. *J NeurophatolExp Neurol* 2000;59:857-865.
33. Ellison DW, Clifford SC, Gajjar A, et al. What's new in neuro-oncology? Recent advances in medulloblastoma. *Eur J Paediatr Neurol* 2003;7:53-66.

34. Pui C.H., Carroll W., Meshinchi S., Arceci R. Biology, Risk stratification and therapy of Pediatric leukemias: an update. *Journal Clinical Oncology*,29(5).551-65; 2011.
35. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, version 1.0. Lyon: IARC Press. IARC Cancer Base No. 5. 2001
36. Ferlay J, Bray F, Sankila R, et al. Cancer incidence, mortality and prevalence in the European Union. Lyon: IARC Press. 1999

37. Pui C.H., Carroll W., Meshinchi S., Arceci R. Biology, Risk stratification and therapy of Pediatric leukemias: an update. *Journal Clinical Oncology* 2011; 29(5).551-65;

38. Cazzaniga G., van Delft F.W., Lo Nigro L., et al. Developmental origins and impact of BCR-ABL1 fusion and IKZF1 deletions in monozygotic twins with Ph⁺ acute lymphoblastic leukaemia. *Blood* 2011; 118(2):5559-64.
39. Greaves M., Maia A.T., Wiemels J.L., Ford A.M. Leukemia in twins: lessons in natural history. *Blood* 2003; 102:2321-33

40. Lai R, C.F., Bueso-Ramos C. Pathologic diagnosis of acute lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2000; 14: 1209-1235
41. Thalhammer-Scherrer R, Mitterbauer G, Simonitsch I, Jaeger U, Lechner K, Schneider B, et al. The immunophenotype of 325 adult acute leukemias: relationship to morphologic and molecular classification and proposal for a minimal screening program highly predictive for lineage discrimination. *Am J Clin Pathol* 2002; 117:380-389
42. Harrison C.J. Cytogenetics of pediatric and adolescent acute lymphoblastic leukemia. *British Journal of Haematology* 2009; 144:147-56.
43. Hurwitz CA, Gore SD, Stone KD, Civin CI. Flow cytometric detection of rare normal human marrow cells with immunophenotypes characteristic of acute lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia* 1992; 6: 233-239
44. Huh YO, Ibrahim S. Immunophenotypes in adult acute lymphocytic leukemia. Role of flow cytometry in diagnosis and monitoring of disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 2000; 14: 1251-1265
45. Gur H, Koren V, Ehrenfeld M, Ben-Bassat I, Sidi Y. Rheumatic manifestations preceding adult acute leukemia: characteristics and implications in course and prognosis. *Acta Haematol* 1999; 101; 1-6.
46. Porcu P, Cripe LD, Ng EW, Bhatia S, Danielson CM, Orazi A, et al. Hyperleukocytic leukemias and leukostasis: a review of pathophysiology, clinical presentation and management. *Leuk Lymphoma* 2000; 39; 1-18.

47. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976; 33: 451-458
48. Thomas X, Le QH, Danaila C, Lheritier V, Ffrench M. Bone marrow biopsy in adult acute lymphoblastic leukemia: morphological characteristics and contribution to the study of prognostic factors. *Leuk Res* 2002; 26: 909-918
49. Chessells JM. Risk analysis in acute lymphoblastic leukaemia: problems and pitfalls. *Eur J Cancer* 1995; 31A: 1656-1659
50. Miller CB, Zehnbauer BA, Piantadosi S, Rowley SD, Jones RJ. Correlation of occult clonogenic leukemia drug sensitivity with relapse after autologous bone marrow transplantation. *Blood* 1991; 78: 1125-1131
51. Potter MN, Cross NC, van Dongen JJ, Saglio G, Oakhill A, Bartram CR, et al. Molecular evidence of minimal residual disease after treatment for leukaemia and lymphoma: an updated meeting report and review. *Leukemia* 1993; 7: 1302-1314
52. Pui CH, Campana D. New definition of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2000; 14: 783-785
53. Flohr T, Schrauder A, Cazzaniga G, Panzer-Grümayer R, van der Velden V, Fischer S, Stantulla M, Basso G, Niggli FK, Schäfer BW, Sutton R, Koehler R, Zimmermann M, Valsecchi MG, Gadner H, Masera G, Schrappe M, van Dongen JJ, Biondi A, Bartram CR. Minimal residual disease-directed risk stratification using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the International multi center trial AIEOP-BFM ALL 2000 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2008.

54. Van Dongen JJ, Seriu T, Panzer-Grümayer ER, Biondi A, Pongers-Willems MJ, Corral L, Stolz F, Schrappe M, Masera G, Kamps WA, Gadner H, van Wering ER, Ludwig WD, Basso G, de Bruijn MA, Cazzaniga G, Hettinger K, van der Does-van den Berg A, Hop WC, Riehm H, Bartram CR. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Lancet* 1998; 352(9142):1731-1738
55. Wering ERv, Beushuizen A, Roeffen ETJM et al. Immunophenotypic changes between diagnosis and relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia . *Leukemia* 1995; 9:1523-1533
56. Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute Lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine* 2004; 350(15): 1535-1548
57. Conter V., Arico M., Valsecchi M.G., et al. Extended intrathecal methotrexate may replace cranial irradiation for prevention of CNS relapse in children with intermediate-risk acute lymphoblastic leukemia treated with Berlin-Frankfurt-Munster-based intensive chemotherapy. *The Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica. J Clin Oncol* 1995;13:2497–2502.
58. Pui C.H., Campana D., Pei D., et al. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *N Engl J Med.* 2009 Jun 25;360(26):2730-41.
59. Greaves MF “ Aetiology of acute leukemia” *Lancet* 1997;349(9048):344-9
60. Packer RJ, Goldwein j, Nicholson HS, et al. Treatment of children with medulloblastomas with reduced-dose craniospinal therapy and adjuvant chemotherapy: a children’s Cancer Group Study. *J Clin Oncol* 1999;17:2127-2136.

61. Goldwein JW, Leahy JM, Packer RJ, Sutton L, et al. Intracranial ependymomas in children. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1990 Dec;19(6):1497-502.
62. Allen JC, Helson I, Jereb B. Preradiation chemotherapy for newly diagnosed childhood brain tumors. A modified Phase II Trial. *Cancer* 1983;52:2001-2006.
63. Loeffler JS, Kretschmar CS, Sallan SE, et al. Preradiation chemotherapy for infants and poor prognosis children with medulloblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;15:177-181.
64. Pendergrass TW, Milstein JM, Geyer JR, et al. Eight drugs in one day chemotherapy for brain tumors: experience in 107 children and rationale for preradiation chemotherapy. *J Clin Oncol* 1987;5:1221-1231.
65. Kovnar EH, Kellie SJ, Horowitz ME et al. Preirradiation cisplatin and etoposide in the treatment of high risk medulloblastoma and other malignant embryonal tumors of the central nervous system: a phase II study. *J Clin Oncol* 1990;8:330-336.
66. Mosijczuk AD, Nigro MA, Thomas PR, et al. Preradiation chemotherapy in advanced medulloblastoma. A Pediatric Oncology Group pilot study. *Cancer* 1993;72:2755-2762.
67. Heideman RI, Kovnar EH, Kelly SJ, et al. Preirradiation chemotherapy with carboplatin and etoposide in newly diagnosed embryonal pediatric CNS tumors. *J Clin Oncol* 1995;13:2247-2254.
68. Evans AE, Jenkin RD, Sposto R, et al. The treatment of Medulloblastoma. Results of a prospective randomized trial of radiation therapy with and without CCNU, vincristine and prednisone. *J Neurosurg* 1990;72:572-582.

69. Packer RJ, Sutton LN, Goldwein JW, et al. Improved survival with the use of adjuvant chemotherapy in the treatment of medulloblastoma. *J Neurosurg* 1991;74:433-440.
70. Prados MD, Wara W, Edwards MS, Ater J, Rabbit J, Lamborn K, Davis R, Levin VA. Treatment of high risk medulloblastoma and other primitive neuroectodermal tumors with reduced dose craniospinal radiation therapy and multi-agent nitrosurea-based chemotherapy. *Pediatr Neurosurg* 1996;25:174-181.
71. D'Antiga L, Baker A, Pritchard J, et al. Veno-occlusive disease with multi-organ involvement following actinomycin-D. *Eur J Cancer*. 2001;37:1141–1148.
72. Arndt C, Hawkins D, Anderson JR, et al. Age is a risk factor for chemotherapy-induced hepatopathy with vincristine, dactinomycin, and cyclophosphamide. *J Clin Oncol*. 2004;22:1894–1901.
73. Ortega JA, Donaldson SS, Ivy SP, et al. Venoocclusive disease of the liver after chemotherapy with vincristine, actinomycin D, and cyclophosphamide for the treatment of rhabdomyosarcoma. A report of the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Group, Childrens Cancer Group, the Pediatric Oncology Group, and the Pediatric Intergroup Statistical Center. *Cancer*. 1997;79:2435–2439.
74. Elli M, Pinarli FG, Dagdemir A, et al. Veno-occlusive disease of the liver in a child after chemotherapy for brain tumor. *Pediatr Blood Cancer*. 2006;46:521–523.

75. Ishaqi MK, Jamil A, Khanani M, et al. Hepatic sinusoidal obstruction syndrome in a child after chemotherapy for medulloblastoma. *J Neurooncol*. 2010;97:137–141.
76. Rischis s. Kotecha, MB ChB (Hons) et al. Hepatic Sinusoidal Obstruction Syndrome During Chemotherapy for Childhood Medulloblastoma: Report of a case and Review of the Literature. *J pediatr hematol Oncol* 2014;36:76-80.
77. Griner PF, Elbadawi CH. Veno-occlusive disease of the liver after chemotherapy of acute leukemia. *Ann Intern Med* 1976;85:578-582.
78. Kraemer DM, Waschke J, Kunzmann V, Wilhelm M. Venoocclusive disease in a male patient with Marfan syndrome and common acute lymphoblastic leukemia during induction therapy. *Ann Hematol*. 2003;82:444–7.
79. Papadopolus A., Ntaios G, Kaifa G, et al. Veno-occlusive disease of the liver during therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol* 2008;88:441-442.