



AGGIORNAMENTI IN EMATOLOGIA

25-26 NOVEMBRE 2016
TREVISO
Sala Congressi
Ospedale Ca' Foncello

Le Mastocitosi

Dr. Roberta Zanotti
U.O. di Ematologia
Gruppo Interdisciplinare per lo Studio della Mastocitosi
Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata
Verona

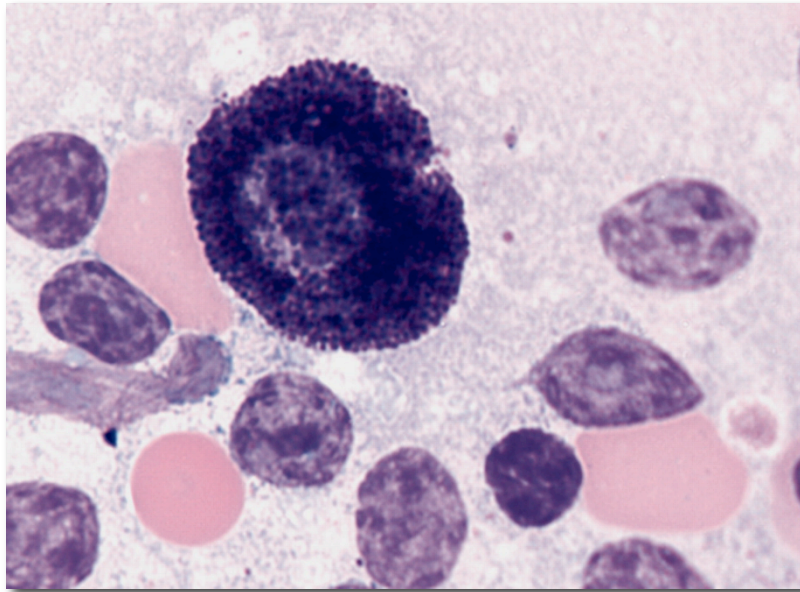


 AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA INTEGRATA
VERONA 



GISM
GRUPPO INTERDISCIPLINARE
STUDIO MASTOCITOSI

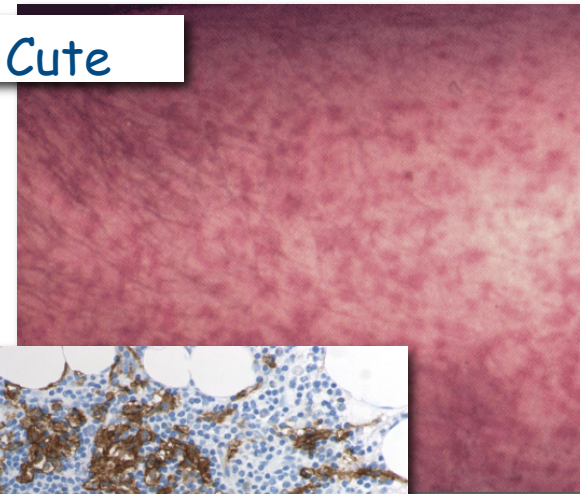
Mastocitosi e disordini clonali mastocitari



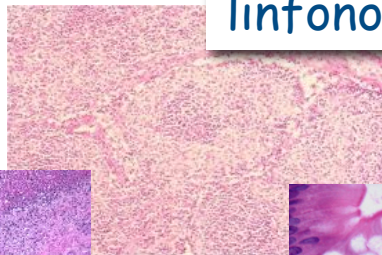
Eterogeneo gruppo di patologie caratterizzate da:

- **Prolifera**zione di MC anomali
- **Accumulo** di MC in uno o più tessuti
- Attivazione dei mastociti patologici

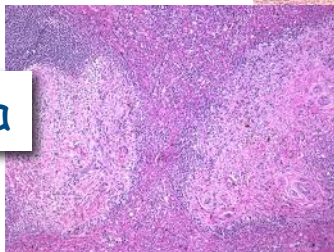
Cute



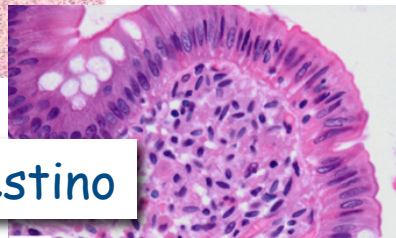
linfonodi



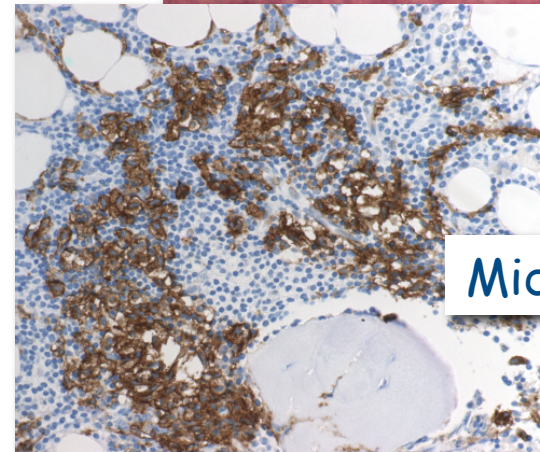
milza



intestino



Midollo osseo



Dominio

Funzioni principali

Esone

Posizione della mutazioni di KIT nella Mastocitosi

N-terminale

Extracellulare

Sito di legame

2

3

4-6

6-7

8-9

Transmembrana

10

Juxtamembrana

11

Legame con ATP

12

Regione 1

Tirosin-chinasica

13

Regolatoria

14

15

le mutazioni a livello del **dominio kinasico** determinano in genere una attivazione costitutiva indipendente dal ligando e autofosforilazione di *kit*

delD419, K509I (rare)

F522C, A533D (rare)

V599I, V560G (rare)

D816V (>85%), D816H, D816Y, D816F, R815K, E839K (rare)



Classificazione WHO delle Neoplasie Mieloidi (revisione 2016)

Myeloproliferative neoplasm (MPN)

Chronic Myelogenous leukemia *BRC-ABL1 positive*

Chronic Neutrophilic leukemia

Polycythemia vera

Primary myelofibrosis

- PMF, prefibrotic/early stage
- PMF, overt fibrotic stage

Essential thrombocytemia

Chronic eosinophilic leukemia, not otherwised specified

Myeloproliferative neoplasm, unclassifiable

Mastocytosis

Arber A et al
Blood 2016

Classificazione WHO della Mastocitosi

Cutaneous Mastocytosis (CM)

Indolent systemic mastocytosis (ISM)

- bone marrow mastocytosis (BMM)

Smouldering Systemic mastocytosis (SSM)

Aggressive Systemic Mastocytosis (ASM)

Systemic Mastocytosis with Associated Haematological Neoplasia (ISM-AHN, ASM-AHN, MCL-AHN..) - MDS/MPN, MDS, AML, MPN, NHL...

Mast Cell Leukaemia (MCL)

Mast cell sarcoma (MCS)

Classificazione della Mastocitosi cutanea

consenso dell'European Competence Network on Mastocytosis

Maculopapular cutaneous mastocytosis (syn. urticaria pigmentosa)	Monomorphic	
	Polymorphic	
Diffuse cutaneous mastocytosis		
Cutaneous mastocytoma		

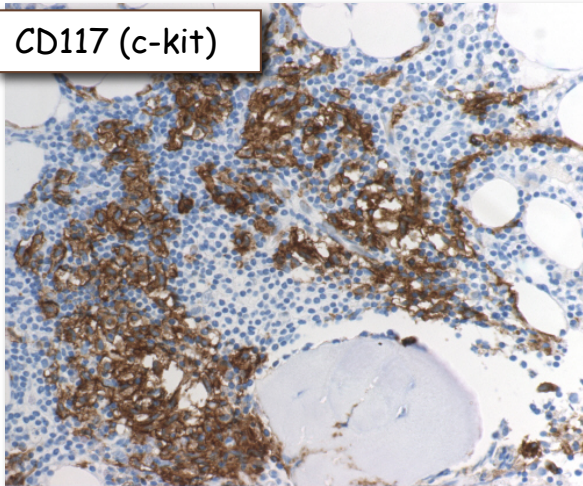
Hartmann K et al
JACI 2016

Mastocitosi Sistemica: criteri diagnostici WHO

Richiede:

- criterio maggiore + 1 Minore
- 3 criteri minori

Criterio maggiore: presenza multifocale di aggregati di mastociti (>15 per aggregato) in sezioni di BM o altro tessuto extracutaneo.

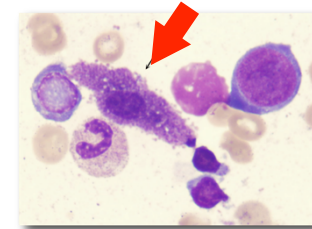


by Marco Chilosi

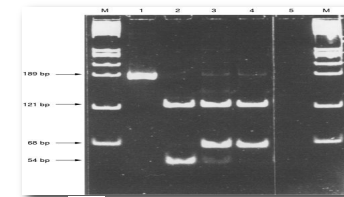
**Criteri
Minori**

Valent et al.
- *Leuk Res* (2001)
- *Eur J Clin Invest* (2007)

I Criterio minore:
% di mastociti atipici
> 25% di tutti i
mastociti

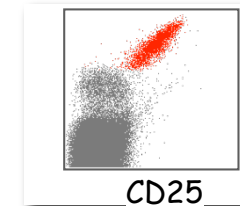


II Criterio minore:
presenza di una
mutazione a livello
dell'esone 816 di *c-kit*

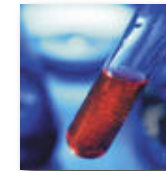


CD 117

III Criterio minore:
espressione di CD25 e/o
CD2 su mastociti



IV Criterio minore:
livelli basali di Triptasi
sierica >20 ng/mL



gc Dr Omar Perbellini

Varianti della Mastocitosi Sistemica

B-findings

- A) BM biopsy showing >30% infiltration by MC (focal, dense aggregates) and/or serum total tryptase level >200 ng/mL
- B) Signs of dysplasia or myeloproliferation, in non-MC lineage(s), but insufficient criteria for definitive diagnosis of a hematopoietic neoplasm (AHNMD), with normal or slightly abnormal blood counts
- C) Hepatomegaly without impairment of liver function, and/or palpable splenomegaly without hypersplenism, and/or lymphadenopathy on palpation or imaging.

2 or more B-findings
and no C-findings:

**Smouldering
Systemic Mastocytosis**

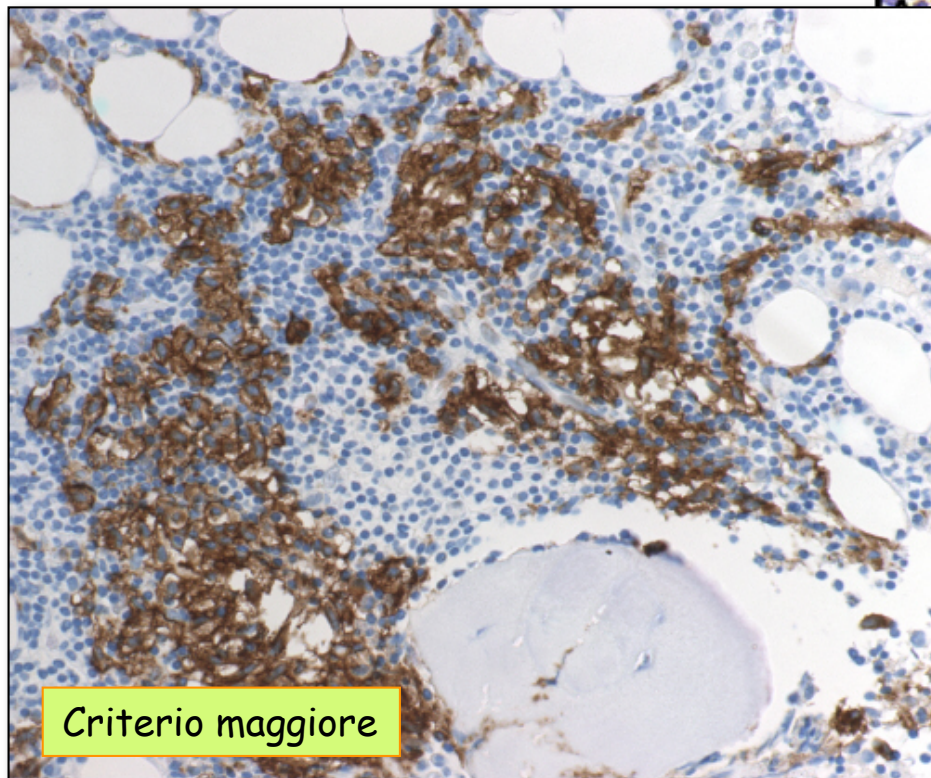
C-findings

- 1) Bone marrow dysfunction manifested by one or more cytopenia(s) (ANC <1.0 × 10⁹/L, Hgb <10 g/dL, or platelets <100 × 10⁹/L), but no obvious non-mast cell hematopoietic malignancy
- 2) Palpable hepatomegaly with impairment of liver function, ascites and/or portal hypertension
- 3) Skeletal involvement with large osteolytic lesions and/or pathological fractures
- 4) Palpable splenomegaly with hypersplenism
- 5) Malabsorption with weight loss due to gastrointestinal mast cell infiltrates.

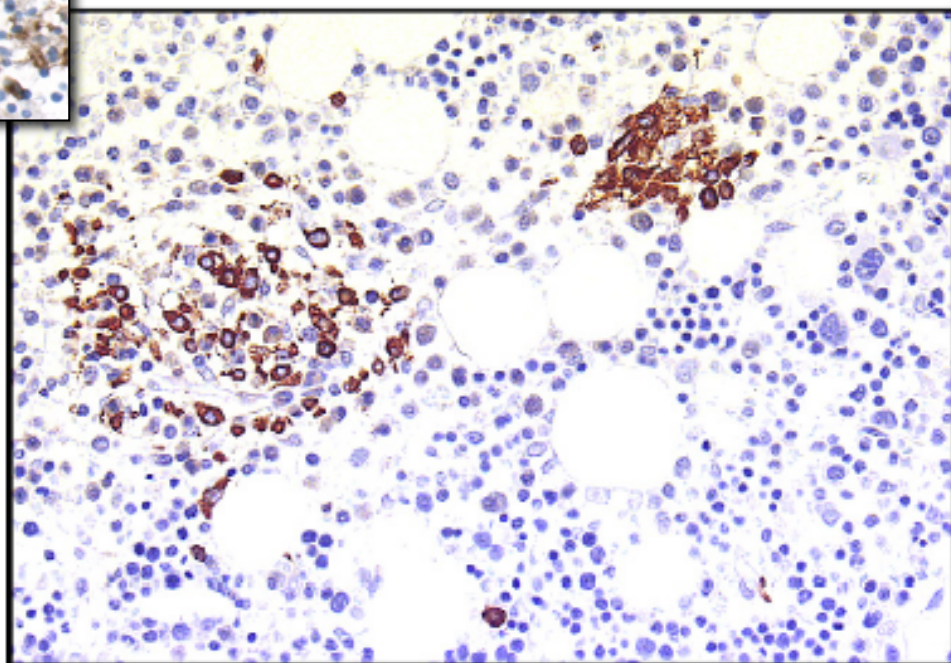
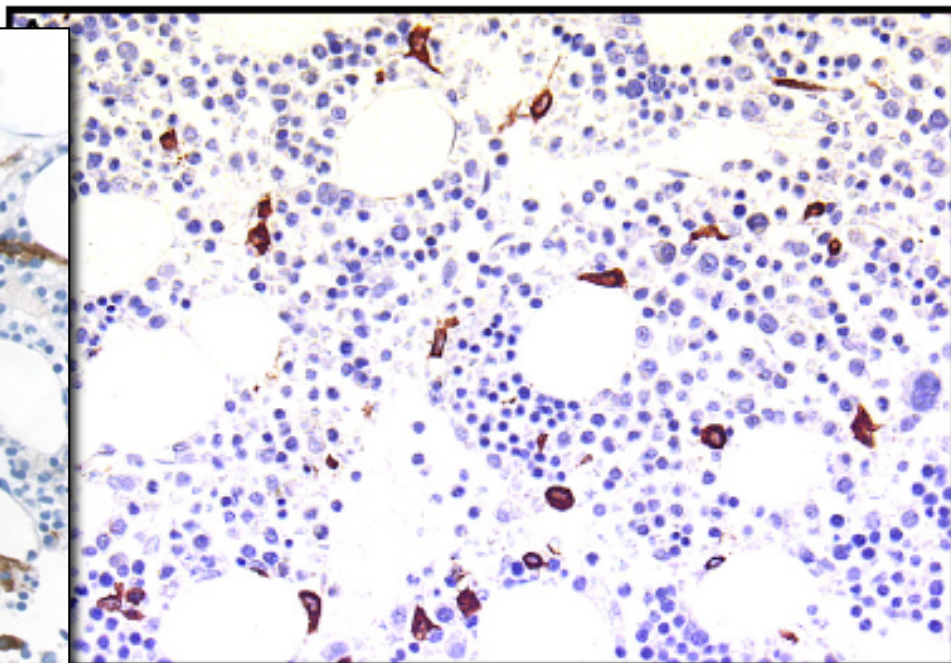
1 or more C-findings:

**Aggressive
Systemic Mastocytosis**

Presence of C-finding. BM biopsy: diffuse and compact infiltration by atypical (mostly immature) MCs. BM aspirate smears ≥20% MCs and/or at least 10% of PB cells.
MC leukemia (leukemic and aleukemic variant)



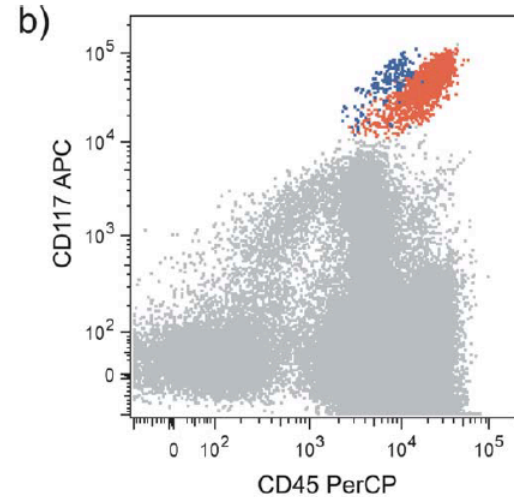
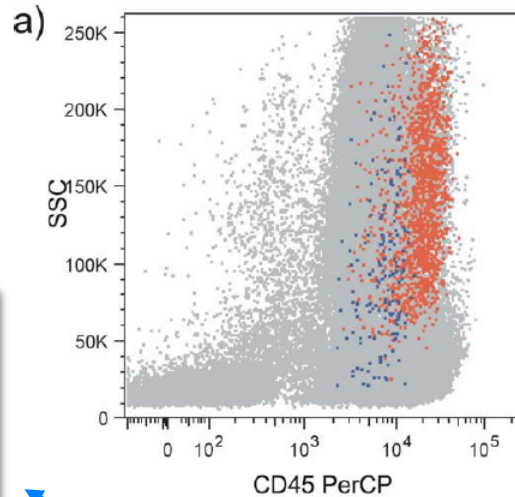
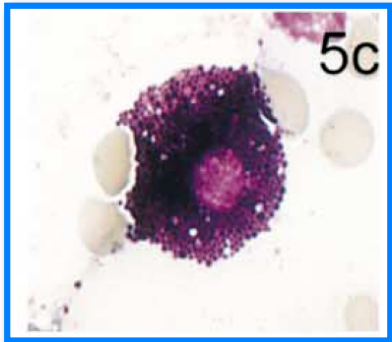
Criterio maggiore



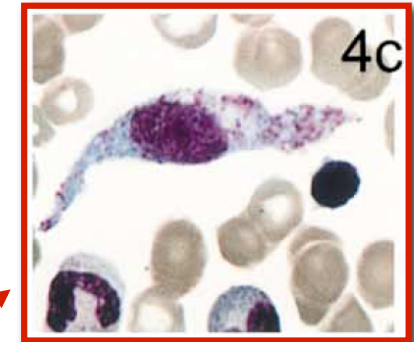
Immunoistochimica:
CD117 (Kit)
Triptasi

Immunofenotipo dei mastociti patologici: coespressione di CD25 e CD2

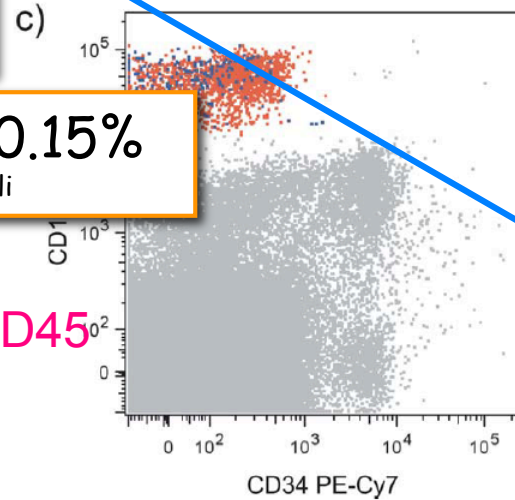
CD25-
CD2-



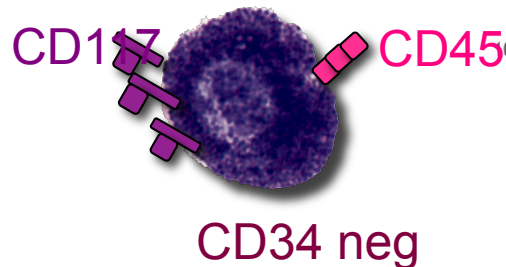
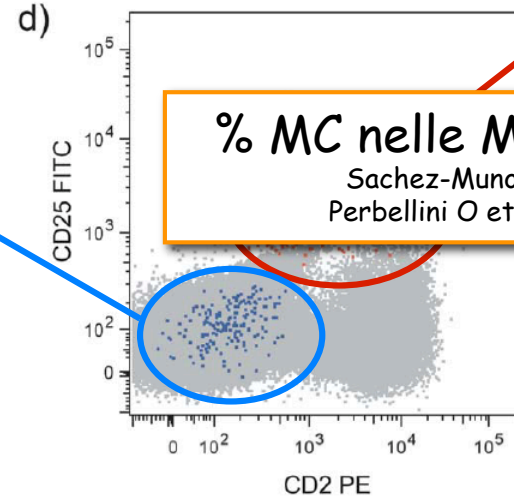
CD25+
CD2+



% MC 0.001-0.15%
Soggetti normali



% MC nelle MSI: 0,0007-2,5%
Sachez-Munoz L. et al, Am J Clin Pathol 20137
Perbellini O et al. Cytometry B Clin Cytom. 2011.

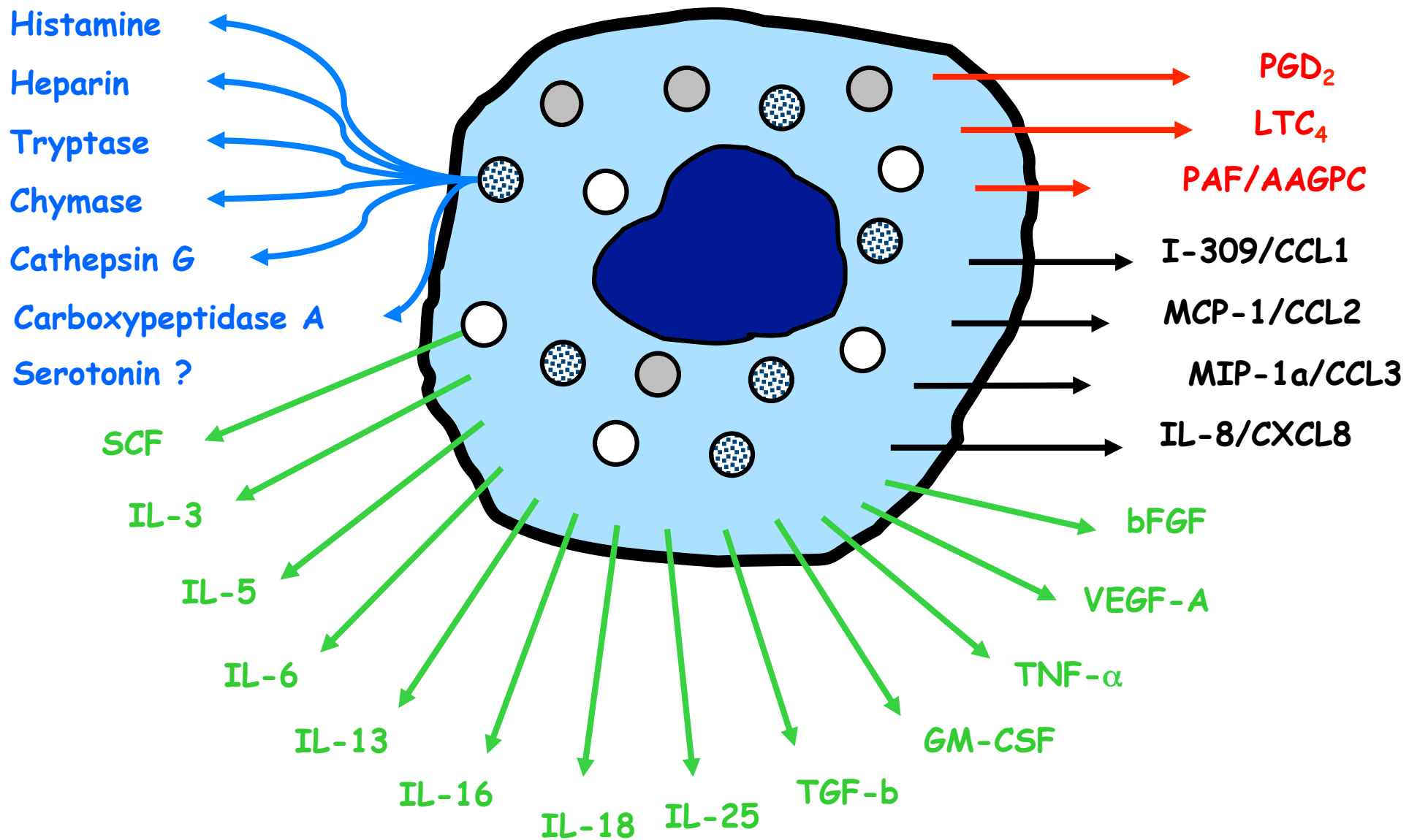


Biologia molecolare: identificazione di mutazioni di c-Kit

La mutazione di KIT si può documentare vari tessuti (midollo osseo, s. periferico, biopsia cutanea, etc) tramite varie metodiche tra cui:

- **Sequenziamento genico** poco sensibile ma identifica mutazioni diverse dalla D816V
- **Allele specific PCR**
- **PNA-mediated PCR** sensibile identifica mut. diverse dalla D816V
- **qRT-PCR** preferibilmente su DNA nel s.p. e DNA e RNA nel m.o. molto sensibile anche su SP, non identifica mutazioni diverse da D816V
- **NGS** non utilizzato per ora nella diagnostica

Mastocitosi: sintomi da liberazione di mediatori



SINTOMI DA MEDIATORI MASTOCITARI

Prurito, flushing, orticaria

Anafilassi (imenotteri/ farmaci/alimenti)

Sincope/palpitazioni

Osteoporosi, fratture vertebrali osteosclerosi

Cefalea, difficoltà di concentrazione
Depressione, insonnia

Diarrea, crampi addominali, gastrite

Sintomi costituzionali
(astenia, sudorazioni, calo di peso
artralgie)

Ascite
Epatosplenomegalia
Linfoadenomegalia
Citopenia
Malassorbimento/enteropatia
osteolisi

SINTOMI DA INFILTRAZIONE D'ORGANO

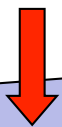
Mastocitosi
Pre-diagnost

MS
indolente

MS
Smouldering

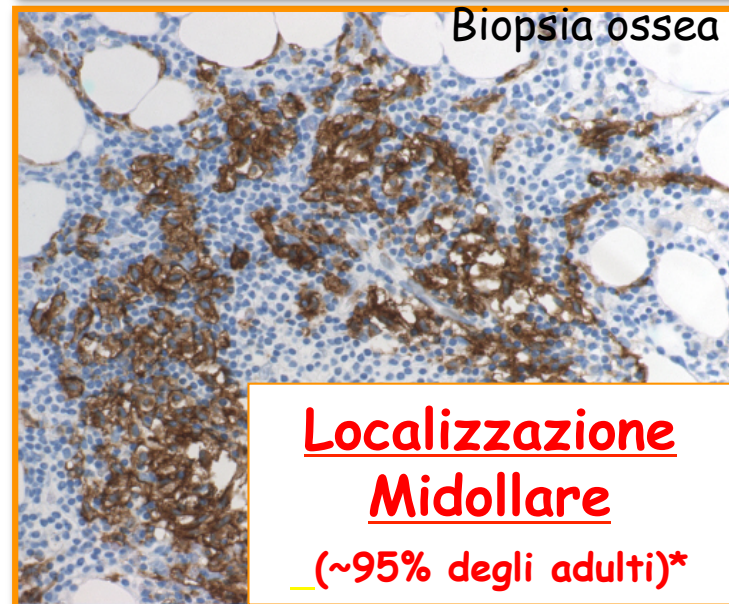
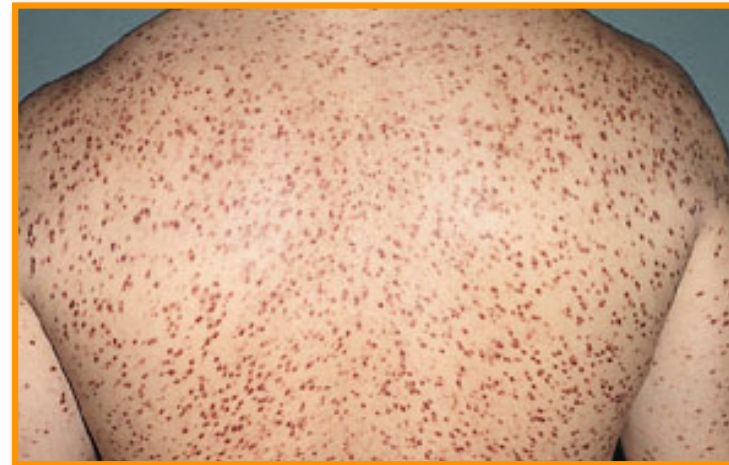
MS Aggressiva
MS associata ad altre emopatie

Leucemia
MC

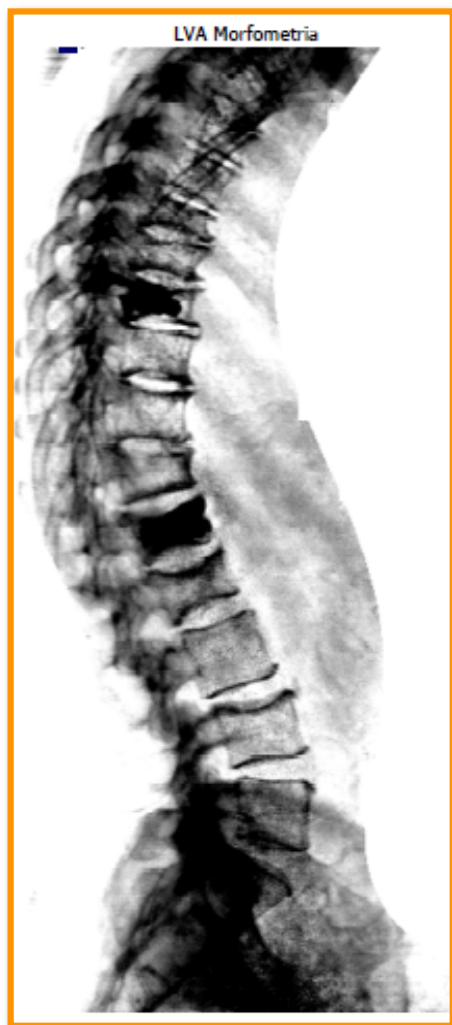


AGGRESSIVITA'

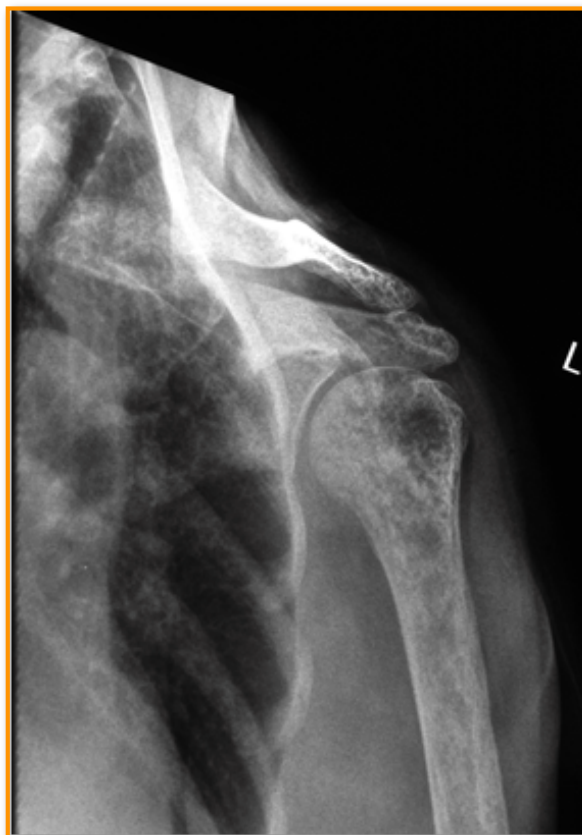
Orticaria Pigmentosa:
prurito, flushing, cefalea, diarrea,
crampi addominali, alter. del tono
dell' umore, osteoporosi/osteosclerosi, ...



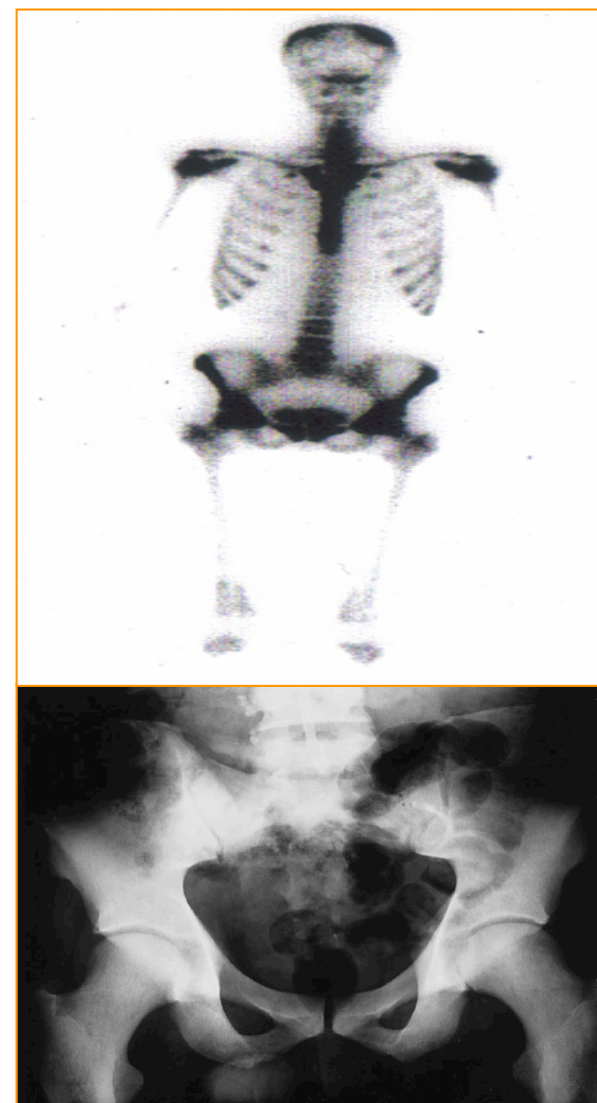
* Sanchez-Munoz et al Mod Pathol 2011



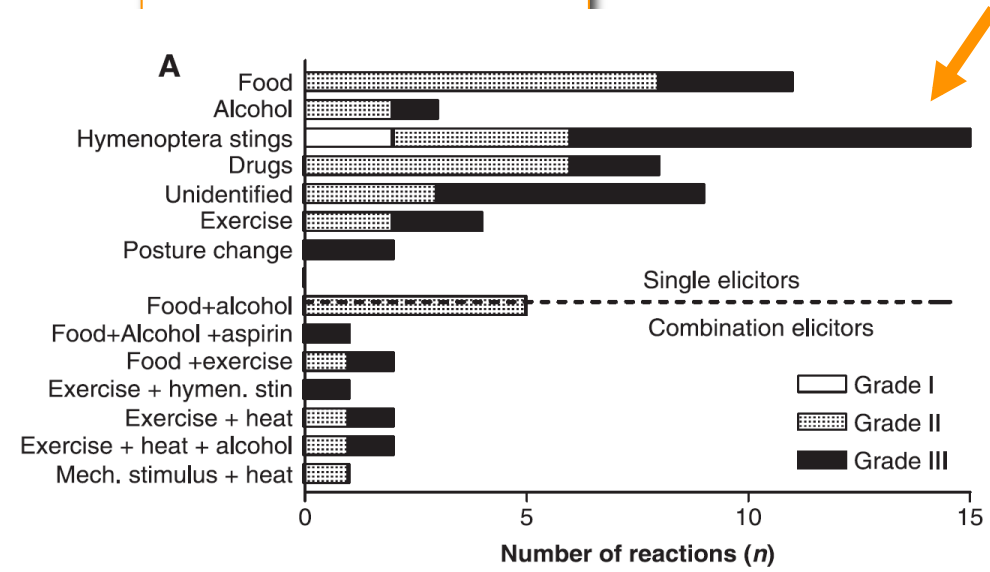
Osteoporosi e/o fratture
osteoporotiche
18-34% delle ISM



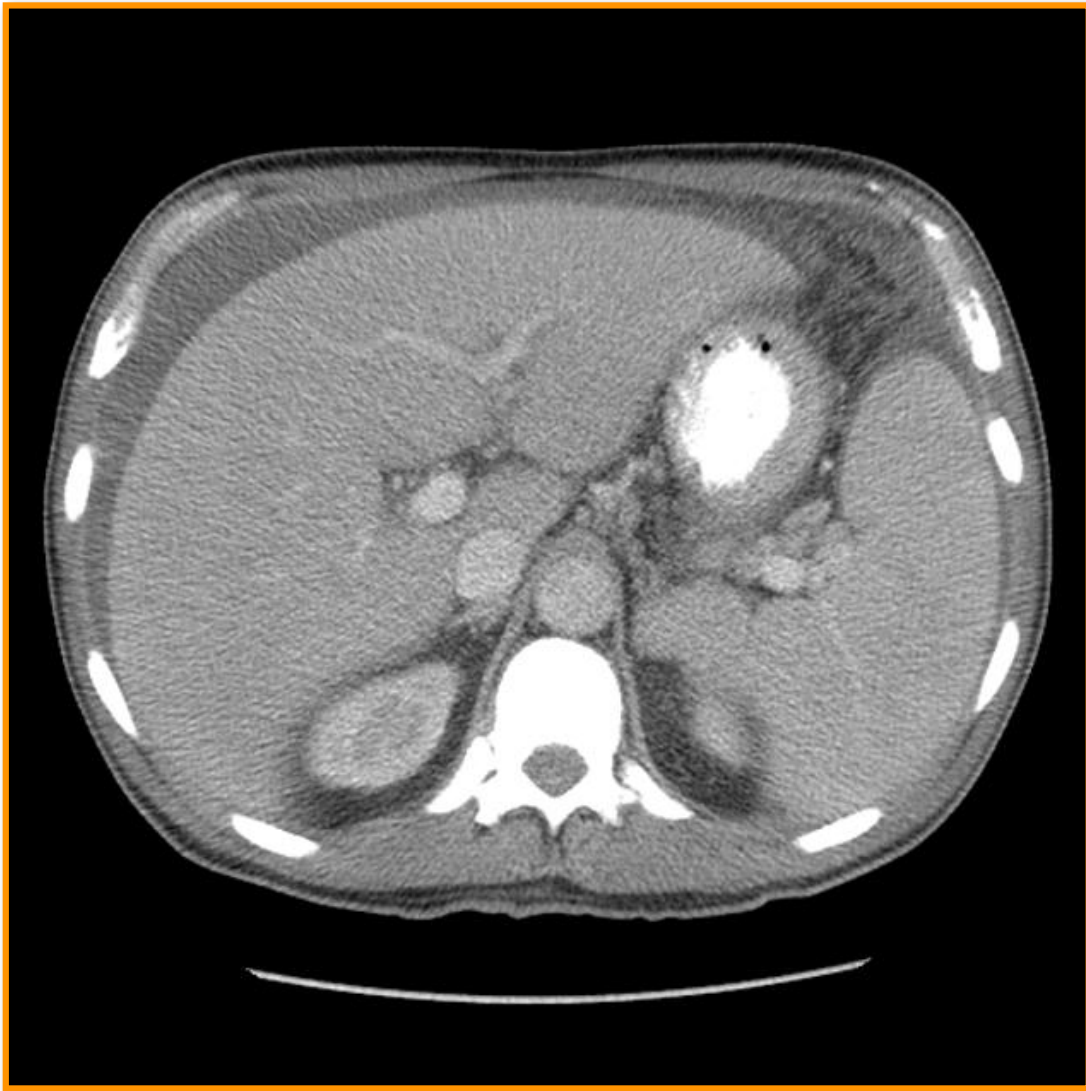
Quadro misto (osteolitico/
addensante)
4% delle ISM



Osteosclerosi diffusa
4% delle ISM



Anafilassi isolata o ricorrente, Flushing ricorrente spesso in assenza di lesioni cutanee

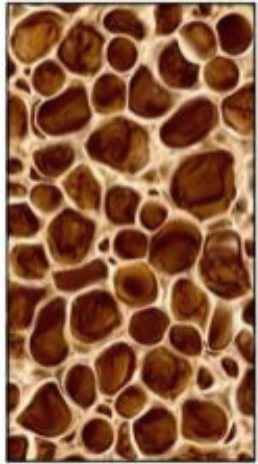


Triptasi >200 ng/mL
Ascite
Epato-splenomegalia
Citopenie
Calo ponderale
Osteosclerosi diffusa

Mastocitosi Aggressiva



UP
Flushing
orticaria
Osteoporosis



Osteoporosi

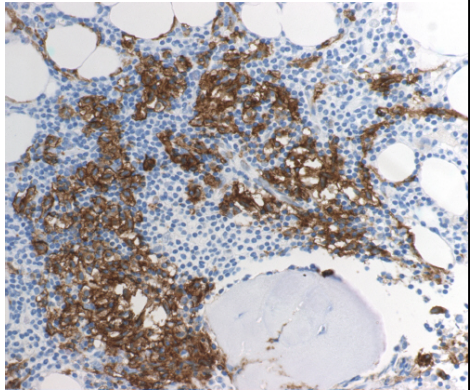
VALUTAZIONE Multidisciplinare



Sintomi G-I



Anafilassi di ndd o da alimenti/farmaci
o imenotteri



citopenie

Rete di specialisti territoriali



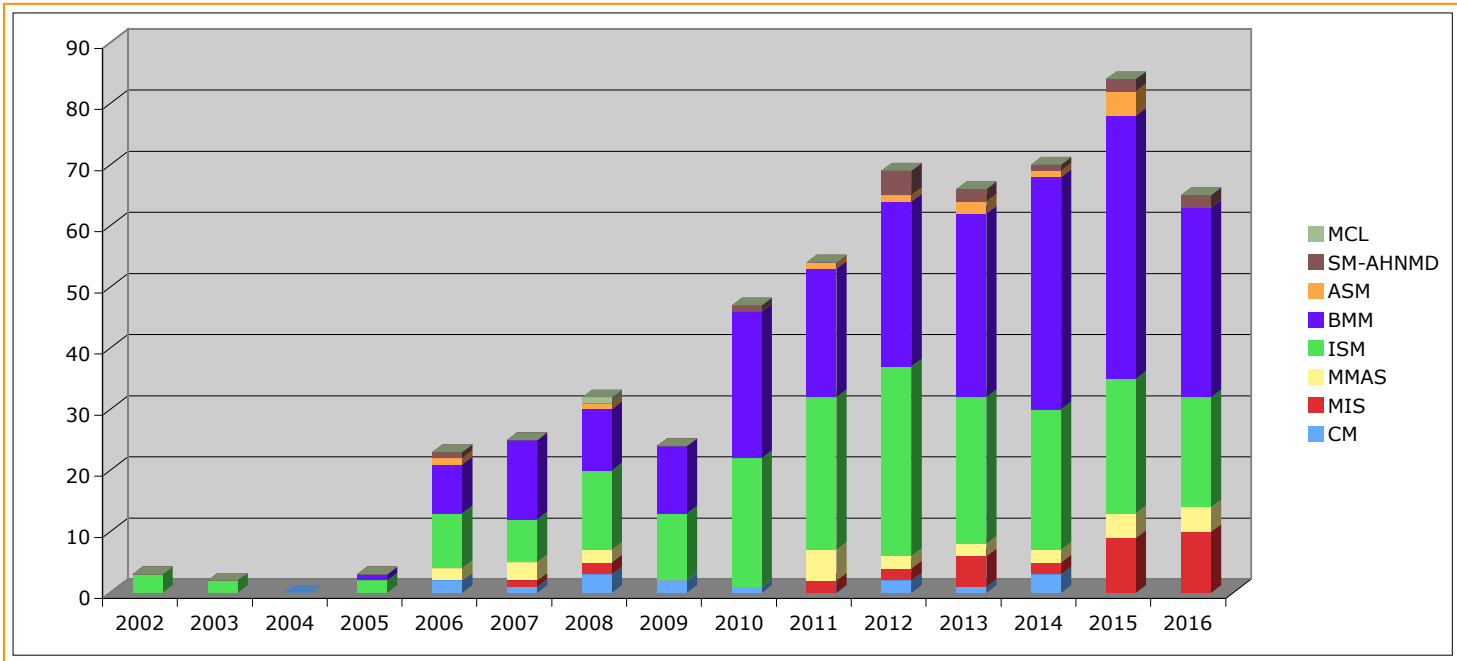
UO di Ematologia

UO di Reumatologia



UO di Allergologia

UO di Dermatologia



566 pazienti tot (9/2019)



Frequenza delle varianti WHO di Mastocitosi Sistemica

Systemic Mastocytosis (WHO classification)	Horny (2004) n (%)	Lim (2009) n (%)	Wang (2013) n (%)	Sanchez (2011) n (%)	Wimazal (2012) n (%)	Pieri (2016) n (%)
ISM	35 (54.7)	159 (46.5)	31 (45.0)	93 (82.3)	81 (82.6)	418 (89.1)
- BMM	nr	36 (10.5)	nr	16 (14.1)	nr	165 (35.9)
SSM	nr	22 (6.4)	nr	nr	7 (7.1)	20 (4.3)
ASM	7 (10.9)	41 (12.0)	5 (7.2)	11 (9.7)	5 (5.1)	28 (6.1)
SM-AHN	20 (31.3)	138 (40.4)	29 (42.0)	6 (5.3)	11 (11.2)	21 (4.6)
MCL	2 (3.1)	4 (1.2)	4 (5.8)	2 (1.8)	1 (1.0)	1 (0.2)
total	64	342	69	113	98	460

Abbreviations: ISM: indolent systemic mastocytosis, SSM: smouldering systemic mastocytosis; BM: bone marrow; ASM: aggressive systemic mastocytosis, AHN, associated hematologic neoplasia; MCL: mast cell leukemia.

Horny HP et al. *J Clin Pathol*. 2004;57:604-8.
 Lim KH et al. *Blood*. 2009;113:5727-36
 Wang SA et al. *Am J Hematol*. 2013;88:219-24
 Wimazal F et al. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;157:399-405
 Sánchez-Muñoz L et al. *Mod Pathol*. 2011;24:1157-68
 Pieri et al. *Am J Hematol* 2016;91:692-9.



379 pazienti con reazione severa a puntura di imenotteri



TEST ALLERGOLOGICI

44

TRIPTASI > 11.4 ng/mL

34

VALUTAZIONE MIDOLLARE

21 MSI

9 MMAS

7.9%

Clonal mast cell disorders in patients with systemic reactions to Hymenoptera stings and increased serum tryptase levels

Nonaggressive systemic mastocytosis (SM) without skin lesions associated with insect-induced anaphylaxis shows unique features versus other indolent SM

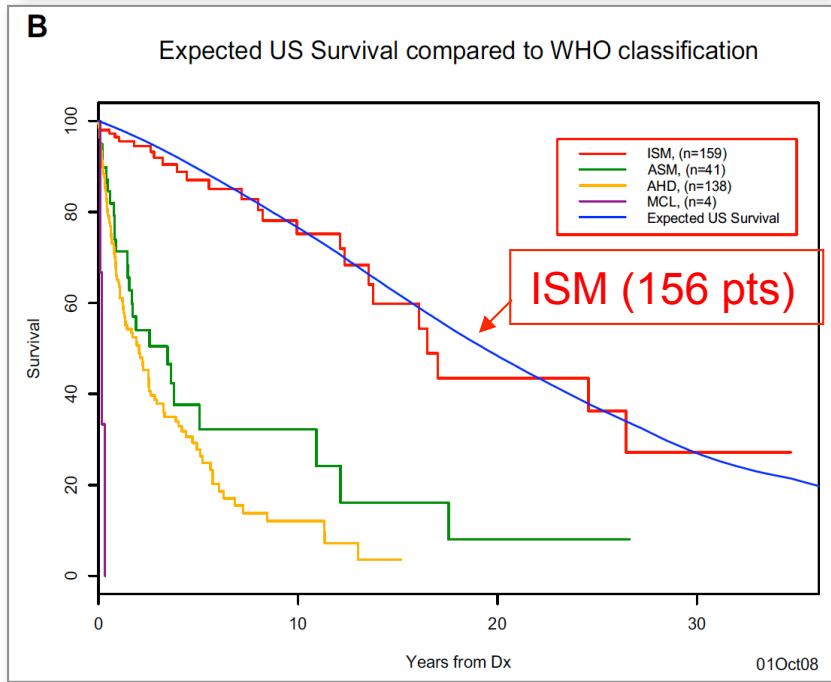
Patrizia Bonadonna, MD,^{a,j} Omar Perbellini, MD,^{b,i} Giovanni Passalacqua, MD,^c Beatrice Caruso, MD,^d Sabrina Colarossi, BS,^{e,i} Daniela Dal Fior, MD,^f Luca Castellani, MD,^g Chiara Bonetto, MSc,^h Francesco Frattini, MD,^b Annarita Dama, MD,^a Giovanni Martinelli, MD,^{e,i} Marco Chilosi, MD,^f Gianenrico Senna, MD,^g Giovanni Pizzolo, MD,^b and Roberta Zanotti, MD^{b,i} Verona, Genoa, Bologna, and Rovereto, Italy

Iván Álvarez-Twose, MD,^{a,b} Roberta Zanotti, MD,^{c,d} David González-de-Olano, MD,^{b,e} Patrizia Bonadonna, MD,^{d,f} Arantza Vega, MD,^g Almudena Matito, MD,^{a,b} Laura Sánchez-Muñoz, MD, PhD,^{a,b} José Mário Morgado, MSc,^{a,b} Omar Perbellini, MD,^{c,d} Andrés García-Montero, PhD,^{b,h} Giovanna De Matteis, MD,^{d,i} Cristina Teodósio, MSc,^{b,h} Maurizio Rossini, MD,^{d,j} María Jara-Acevedo, MSc,^{b,h} Donatella Schena, MD,^{d,k} Andrea Mayado, PhD,^{b,h} Alberto Zamò, MD,^{d,l} Manuela Mollejo, MD, PhD,^{b,m} Paula Sánchez-López, MD,ⁿ Nieves Cabañes, MD,ⁿ Alberto Orfao, MD, PhD,^{b,h,*} and Luis Escribano, MD, PhD,^{b,*} on behalf of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) and the Italian Network on Mastocytosis (RIMA) Toledo, Madrid, Guadalajara, and Salamanca, Spain, and Verona, Italy

Fattori prognostici (sopravvivenza globale)

Il fattori prognostici principali per l' OS risultano essere la **variante WHO** (indolente > aggressiva > leucemia), l' **età** avanzata , il **livello elevato di ALP** e l' insorgenza di una **AHN**

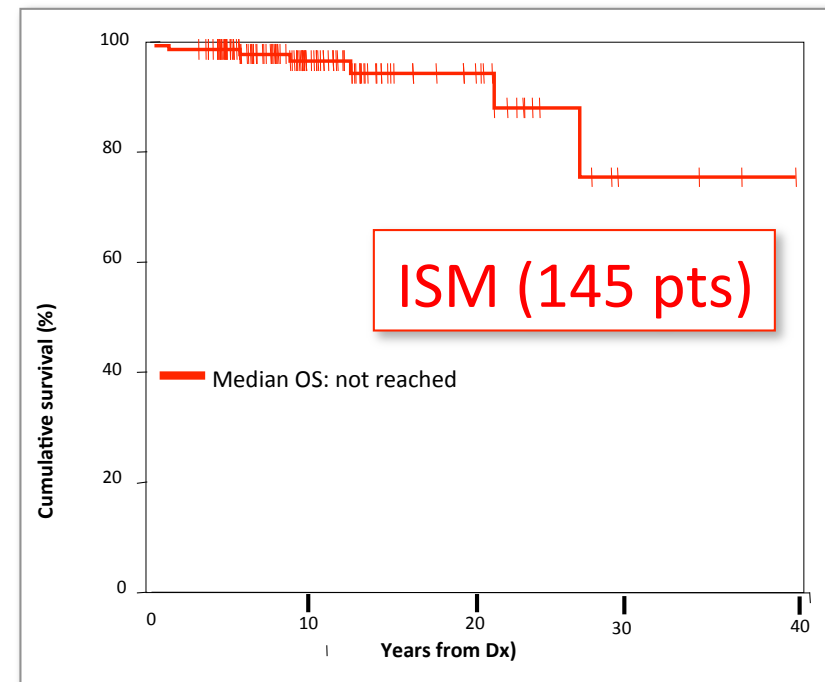
The Mayo Clinic
Lim et al. Blood. 2009; 113: 5727-36



Multivariate analysis (OS): 342 pts:

WHO sub-type	p<0.0001,
advanced age	p<0.0001
History of weight loss	p=0.01
Anemia	p=0.007
Trombocytopenia	p=0.0008
Hypoalbuminemia	p=0.0008
Excess BM blasts (>5%)	p=0.00

REMA.
Escrignano et al. J Allergy Clin Immunol. 2009



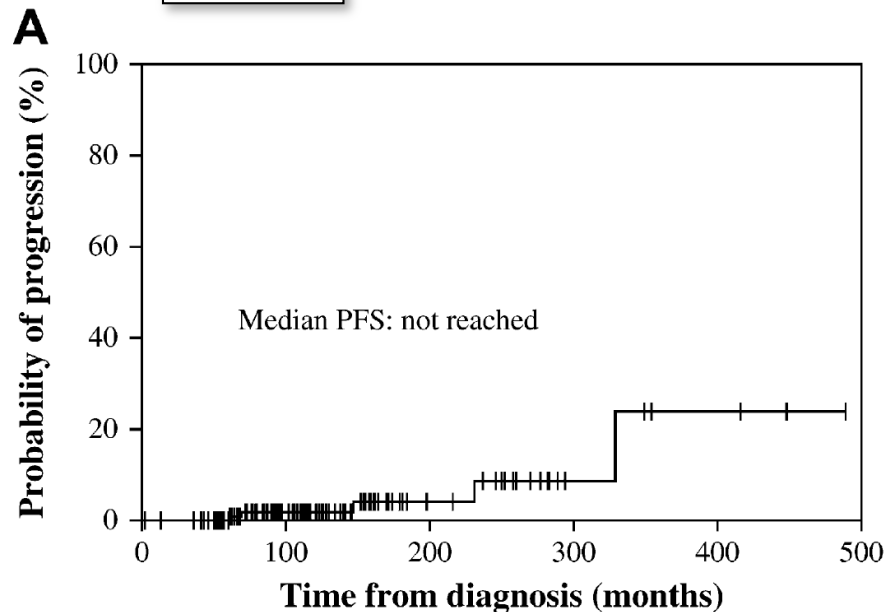
Multivariate analysis (OS): 145 pts

Development of AHN	p=0.03
Increased serum alkaline phosphatase	p=0.03
Age >60 yrs	p=0.005

Fattori prognostici nelle mastocitosi indolenti (PFS):

- La presenza di **Mutazione D816V di tipo "multilineage"** risulta particolarmente predittivo ma non è facilmente accessibile a tutti i centri e richiede una buona standardizzazione.

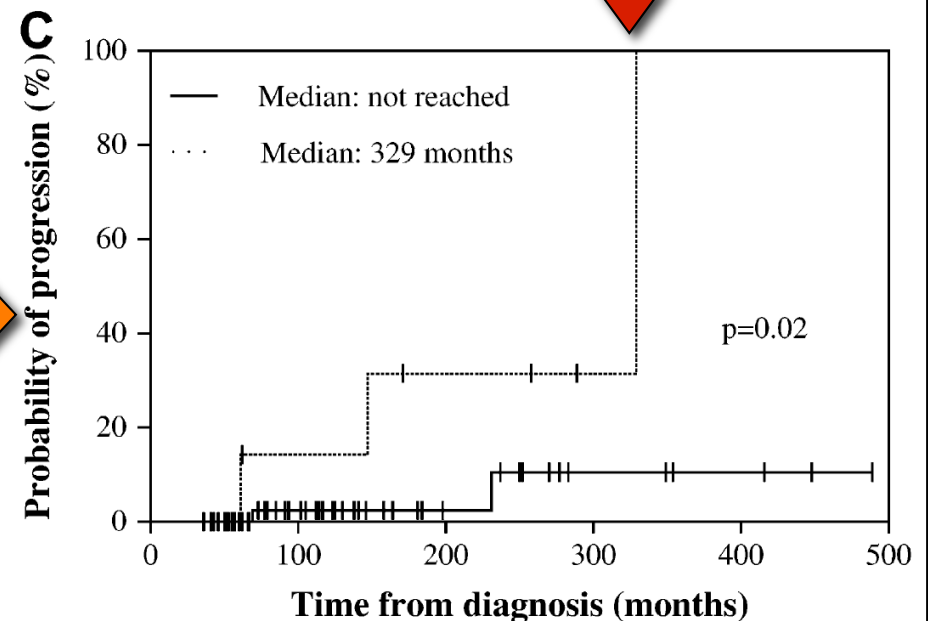
ISM



Escrignano et al J Allergy Clin Immunol.2009

Cumulative probability of disease progression
8.4% ± 5.0% at 20 and 25 years

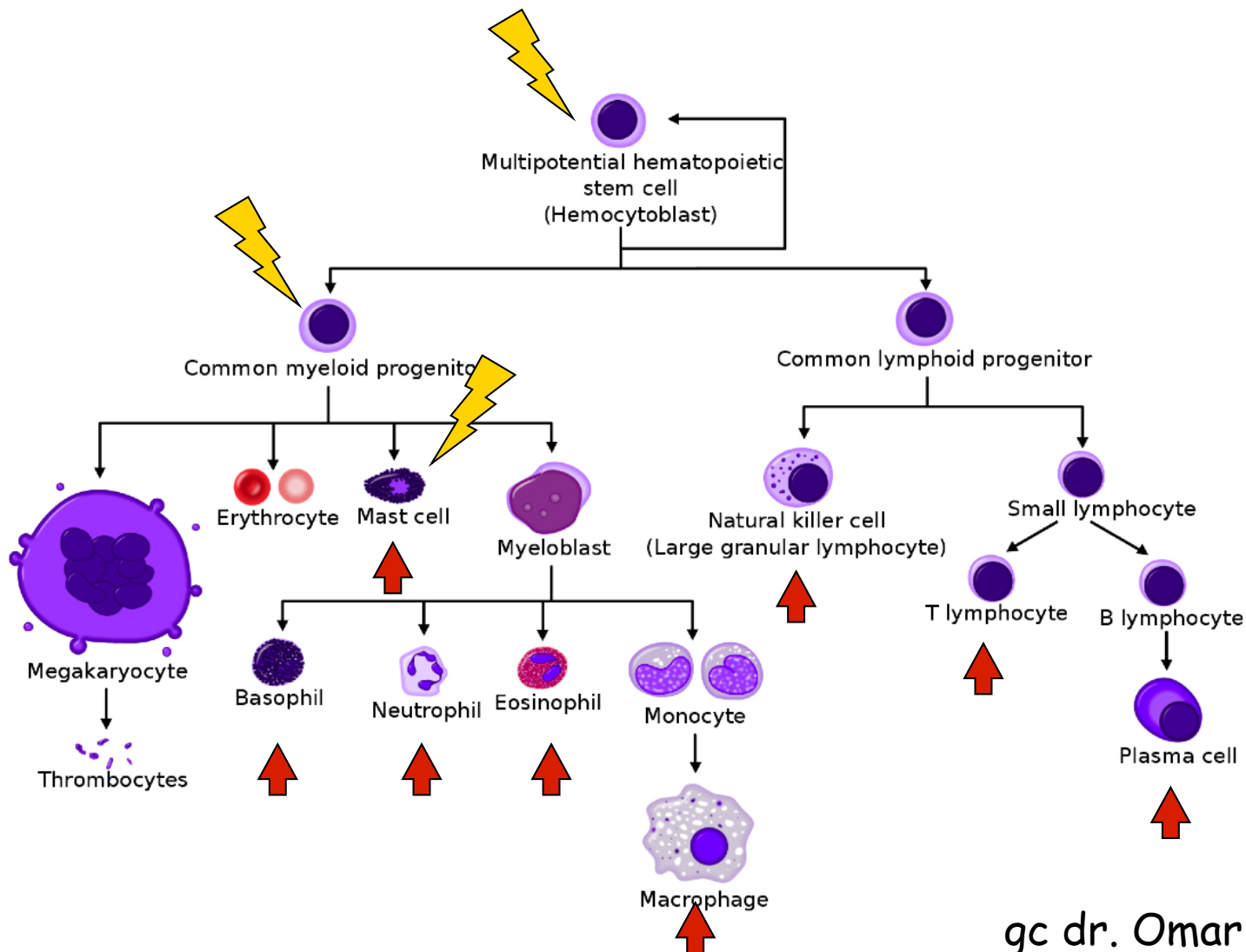
multi-lineage KIT mutation



Progression in 5 pts (MDS:1, PV:1, AML:1, MCL:2)

Multivariate analysis (OS): 145 pts
KIT mutation in all haematopoietic lineage p=0.02
Elevated β 2microglobulin p=0.003

Mastocitosi unilineale/multilineale



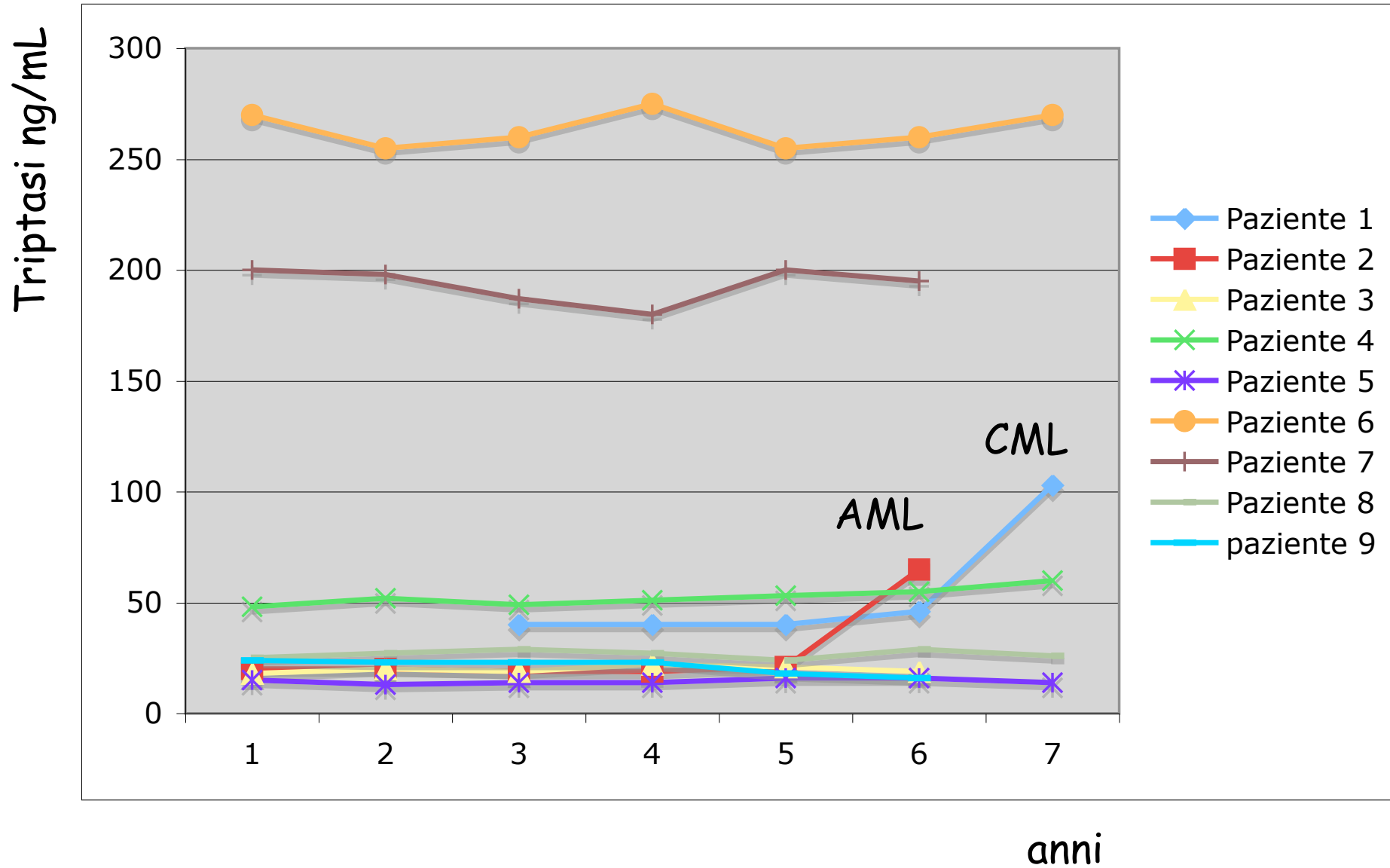
gc dr. Omar Perbellini

Altri Fattori prognostici

Fattore prognostico	referenza
Espressione CD123	Pardanani et al 2016
Immunofenotipo immaturo CD251/FCεR1low/FSClow/SSClow/CD45low	Teodosio et al 2012
Espressione di CD30	Sotlar et al, 2011 Morgado JM et al 2013
Elevati livelli sierici di sCD25	Pardanani et al 2013
KIT- D816V allele burden (SP e MO)*	Hoermann et al 2014 Erben et al 2014 Jara-Acevedo et al 2015
Mutazione D816V nelle cellule mesenchimali*	Garcia- Montero et al 2016
Mutazioni aggiuntive (TET2, SRFS2, ASXL1 ect)	Schwaab J at al 2013 Pieri L ASH 2016

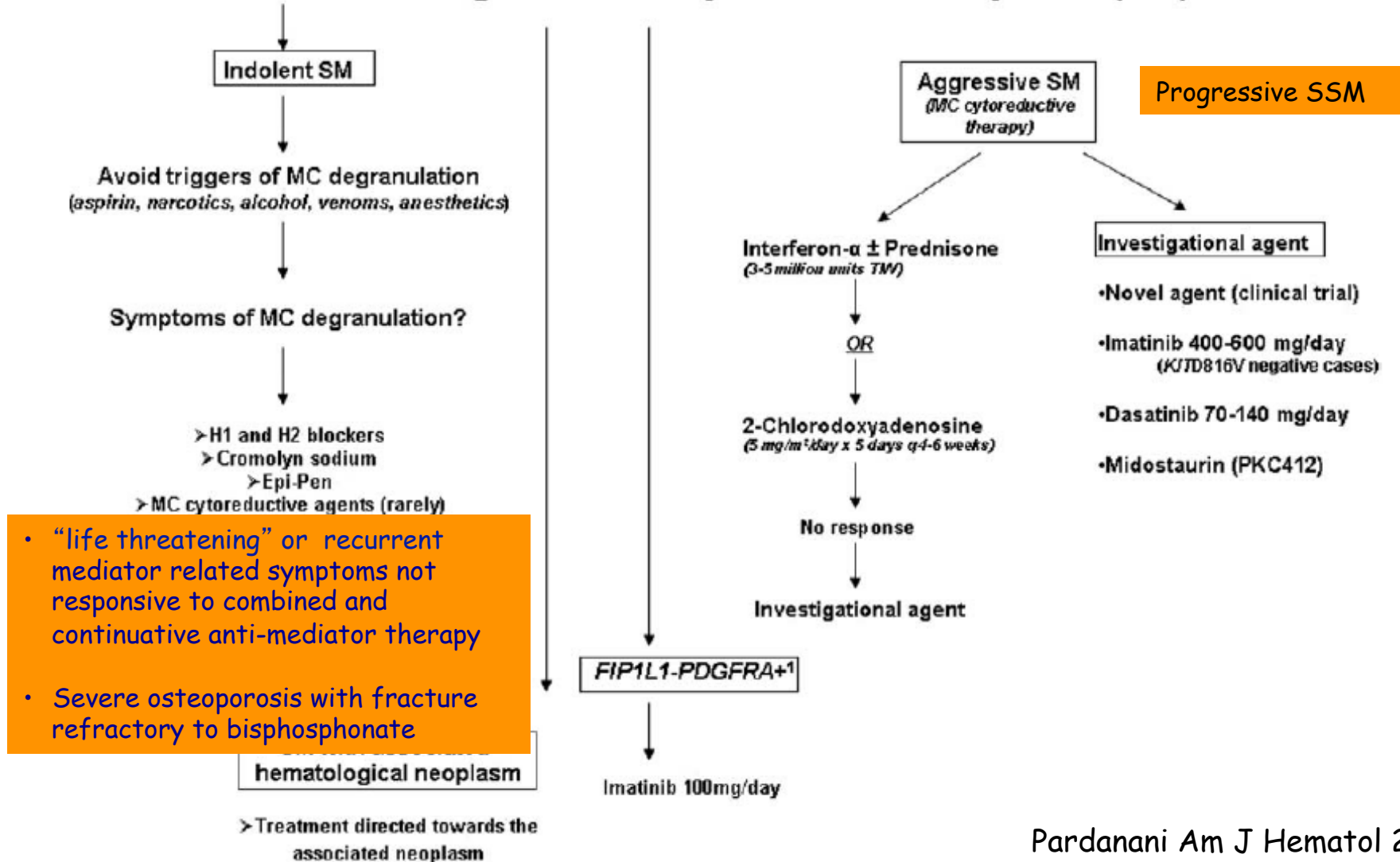
*Indice surrogato di malattia multilineale

Triptasi



Terapia della Mastocitosi sistemica

Treatment algorithm for systemic mastocytosis (SM)



Pardanani Am J Hematol 2013

Terapia dei sintomi da mediatori

Prurito, flushing, orticaria	<p>Anti-H1 di II generazione</p> <p>Anti H1 di I generazione</p> <p>Anti H1+stabilizzatori di membrana</p> <p>antileucotrienici</p> <p>FANS</p> <p>PUVA</p>	<p>Desloratadina, Cetirizina, Rupatadina, Fexofenadina</p> <p>Idrossizina , Clorfeniramina</p> <p>Ketotifene.</p> <p>Montelukast, Zafirlukast (Aspirina)</p>
Dolori addominali, Crampi, diarrea, nausea. gastrite	Anti H2	Ranitidina, Famotidina
	Inibitori di pompa	
	Stabilizzatori di membrana	Sodio cromoglicato
	Steroidi	Budesonide, prednisone..
Cefalea, difficoltà cognitive, depressione	<p>AntiH1, anti H2</p> <p>Sodio cromoglicato, antidepressivi</p>	
Storia di anafilassi Episodi di ipotensione e/o anafilassi ricorrenti*	<p>Adrenalina autoiniettabile</p> <p>AntiH1 + anti H2 (+ sodio cromoglicato)</p> <p>Immunoterapia specifica (imenotteri)</p> <p>Omalizumab (IgE mediati)</p>	
Osteoporosi	<p>Terapia anti-mediatori</p> <p>Vitamina D</p> <p>Bisfosfonati</p>	Alendronato, zolendronato, etc

Terapia “citoriduttiva” della Mastocitosi sistemica

- **α -INTERFERONE:** Non definita la dose ottimale (1-5 MU/m²/die o 3 volte la settimana), né la durata del trattamento (probabilmente > 12 mesi). Possibile alternativa: alfa-interferone pegilato. In genere si associa all'inizio a piccole dosi di steroide. No RC, 53-65% ORR, durata della risposta mediana 12 mesi

Casassus et al. Br J Haemat 2004, Lim KH et al Am J Hematol 2009

- **CLADRIBINA:** 0,1-0,14 mg/kg x 5 gg, per 4-8 cicli. La formulazione sottocute è l'unico farmaco con indicazione in Italia per la mastocitosi aggressiva e la leucemia mast-cellulare (legge 648), no RC, 55-70% ORR.
durata della risposta mediana 11 mesi-3,7 anni

Kuin- Nelemans et al Blood 2003

Lim KH et al Am J Hematol 2009

Barete et et al. Blood 2015

- **IDROSSIUREA:** pazienti anziani

Terapia “citoriduttiva” della Mastocitosi sistemica

- **IMATINIB:** è indicato solo nelle forme con:
 - KIT veramente WT
 - varianti mutate di KIT (D560G, F522C, K509I)
 - riarrangiamento FIP1L1/PDGFRA
 - Rari casi pediatrici (non D816V)

Negli altri casi riportate risposte nel 5% dei casi

- **MASITINIB:** In vitro inibisce KIT con mutazioni attivanti nella regione iuxtamembrana ma solo debolmente KIT D816V-mutato. Risposte nel 50-67% dei casi, soprattutto per i sintomi nelle forme indolenti

Carl et al Am J Hematol 2010 , Silva Moura et al PLOSone 2011

DASATINIB: risposte nel 30-50% dei casi. Tossicità elevata legata al peggioramento di versamenti

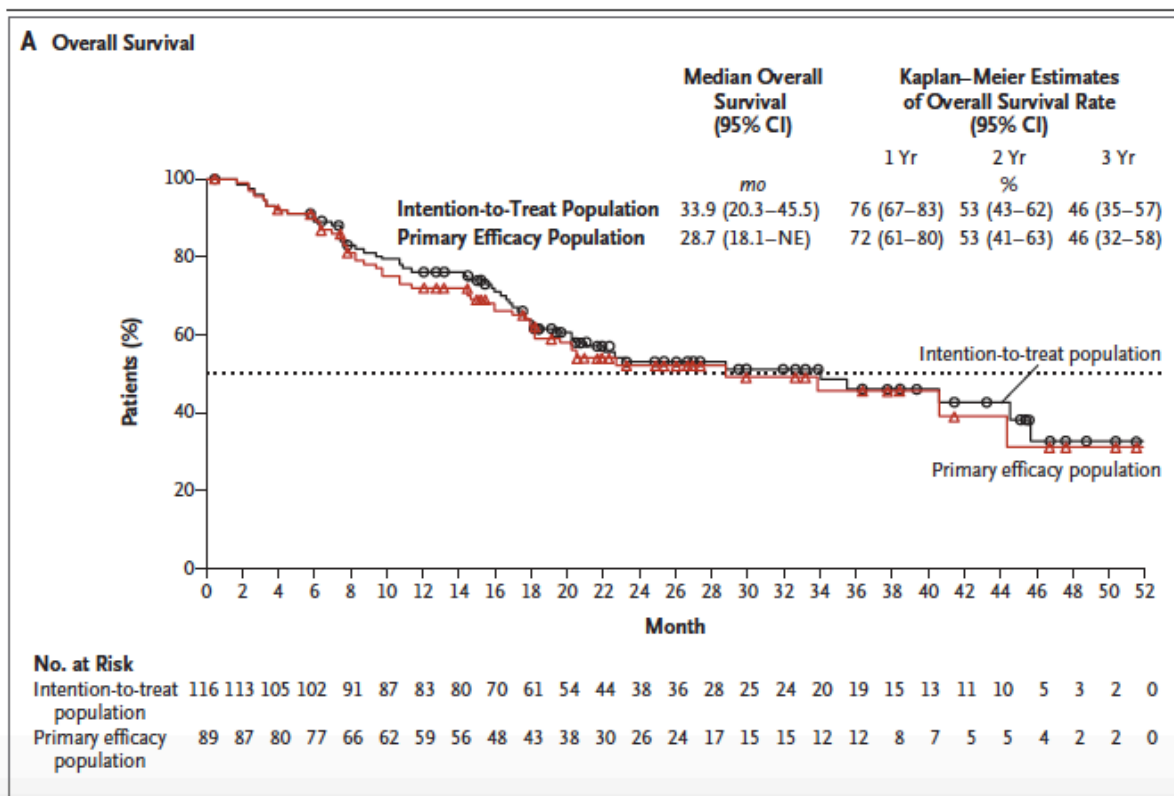
Verstovsek et al Clin Cancer Res 2008

Purtill et al. Eur J Haematol. 2008

Rondoni M. et al ASH 2007

MIDOSTAURINA

- Inibitore di PKC, FLT3, c-KIT, VEGF-R e PDGF-R
- Dose: 100 mg x 2 per os, effetti collaterali: > diarrea, nausea, astenia, citopenia



WHO	N°	ORR %
ASM	16	75
SM-AHN	57	58
MCL	12	50

J Gotlib, NEJM 2016

ORR : 60% (nessuna RC). Durata mediana della risposta: 28,7 mesi (non raggiunta la mediana nei pazienti con leucemia Mastcellulare!)

Quali altre Terapie in futuro?

NUOVI INIBITORI TK:

BLU-285 (inibitore selettivo di KIT D816V mutato),

DCC-2618 (inibitore FLT3, KIT, FMS, and PDGFR)

BRENTUXIMAB-VEDOTIN

IBRUTINIB

AK002 (anti-Siglec-8 antibody)

IFN+ CLADRIBINA

Advanced Mastocytosis:

Prot [NCT02561988](#) coordinato da
Blueprint Medicine Corporation,
Cambridge, MA, USA)

Prot: [NCT02571036](#)

Coordinato da Deciphera
Pharmaceutical, Boston, USA

Advanced Mastocytosis:

prot: [NCT01807598](#) coordinato da J
Gotlib (Stanford University, USA)

prot: [NCT02415608](#) coordinato da J
Gotlib (Stanford University, USA))

Indolent Systemic Mastocytosis

Coordinato da Allakos, inc

prot: [NCT02808793](#) phase 1 study

Prot: [NCT01602939](#) coordinato dalla
REMA, Toledo, Spagna

Terapia della citoriduttiva della Mastocitosi: conclusioni

- Non esiste al momento una terapia curativa della mastocitosi
- la terapia standard di prima linea è rappresentata da interferone e cladribina le quali possono dare circa un 40-70% di risposte, quasi sempre parziale, con miglioramento dei sintomi e/o riduzione del “tumor burden”.
- l’imatinib in prima linea nei casi con mutazioni di KIT in regione iuxta-membrana/transmembrane (o KIT WT) o mutazione di FIL1P1-PDGFR
- nei pazienti che falliscono o sono intolleranti alla prima linea o nei pazienti con Leucemia MC è indicata una terapia sperimentale

MULTIDISCIPLINARY OUTPATIENTS GROUP FOR MASTOCYTOSIS OF VERONA



Allergy Unit
P. Bonadonna



R. Zanotti



Hematology Unit
M. Bonifacio



L. Scaffidi



Intensive Unit
A. Bisoffi-Varani



Gastroent. Unit
M. Tebaldi



Psychiatry Unit
C. Goss



Rheumatology Unit
M. Rossini



G. Tripi



Dermatology Unit
D. Schena



E. Mimiola



Flow Cytometry S.
F. Zampieri



F. Zoppi



Obstetric Unit
R. Raffaelli



Pediatric Unit
A. Zaccaron



Neurosurg Unit
F. Moscolo



Laboratory
B. Caruso



A. Zamò



Pathology Unit
C. Colato



A. Parisi



Molecular Biol
G. De Matteis



Immunology
G. Zanoni