

Giornate Ematologiche Vicentine
VII Edizione
10-12 ottobre 2016

Le insufficienze midollari congenite

Carlo Dufour
UOC Ematologia IRCCS G.Gaslini



Contenuti

- Definizione e classificazione
- Anemia di Fanconi
- Telomeropatie
- Neutropenia Cronica Grave

INSUFFICIENZE MIDOLLARI GLOBALI

ACQUISITE

Aplasia midollare idiopatica

Secondaria a -Radiazioni

- Farmaci ed agenti chimici

- Virus

EBV, Epatite non A, non B, non C, non E, non G

HIV

-Malattie immunologiche

Fascite eosinofila

Ipoimmunoglobulinemia

LES

-Timoma

-Gravidanza

Mielodisplasia

Emoglobinuria parossistica notturna

Deficit vitamina B12 e Folati

EREDITARIE

Anemia di Fanconi (circa 1200 pazienti noti) Aut. Rec.

Sindrome di SHWACHMAN-DIAMOND (circa 350 pz. Noti) Aut. Rec.

Sindrome di PEARSON (circa 70 pz. Noti). Delezione DNA mitocondriale
Trasmissione materna

DISCHERATOSI CONGENITA (circa 275 pz. Noti)

X-linked e sporadica , (200 pts), Aut.Rec.(44pts.) e Dom. (30pts.)

TROMBOCITOPENIA AMEGACARIOCITICA (circa 75 pts. Noti) Aut. Rec.

DISGENESIA RETICOLARE (circa 25 pts. Noti) Aut. Rec.

IPOPLASIA CAPELLICARTILAGINE (circa 300 pts noti). Aut. Rec.

APLASIE FAMILIARI

Sindromi di DOWN, DUBOWITZ, SECKEL

INSUFFICIENZE MIDOLLARI SELETTIVE

EREDITARIE

LINEA ERITROIDE

- **Anemia di Blackfan Diamond**
(circa 700 pazienti noti)
Aut Rec, Dom, Sporadica
- Anemie Diseritropoietiche Congenite
- (circa 700 pazienti noti) Aut, Rec Dom.
- **Sindrome di Perason** (circa 70 pazienti noti).
Delezione DNA mitocondriale. Trasmissione materna.

LINEA MIELOIDE

- * **Neutropenia Congenita Grave**
(circa 300 pz noti). **Aut. Rec.Dom. Sporadica**
- * Neutropenia ciclica
(circa 150 pz noti). Aut. Dom. Sporadica
- * **Sindrome di Shwachman-Diamond.** (circa 350 pz noti)
Aut. Rec.
- * **Sindrome di Pearson.** (circa 70 pz noti). Del. DNA mitocondriale.
Trasmissione materna
- Disgenesia Reticolare (circa 25 pz noti). Aut. Rec.
- Mielocatessi. Aut. Dom.
- Neutropenia familiare benigna o etnica
- Neutropenie associate a Malattie metaboliche (*Glicogenosi Ib, Organicoacidosi).
- * Neutropenie associate a immunodeficit

LINEA MEGACARIOCITARIA

Microtrombocitopenie

- **Sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS)** X linked
- **Trombocitopenia X linked**

Normotrombocitopenie

- **Trombocitopenia Amegacariocitica con e senza difetti somatici congeniti** (circa 75 pz. noti Aut.Rec).
- **Trombocitopenia con assenza del radio** (circa 225 pz. noti) Aut. Rec.
- **Trombocitopenia autosomica dominante**
- **Disordine piastrinico familiare e predisposizione alle leucemie**
- **Mieloide acuta** Aut. Dom.
- **Trombocitopenie associate a Malattie Metaboliche (Organicoacidosi)**

Macrotrombocitopenie

- Sindrome di Bernard Soullier.** Aut. Dom.
- **Sindrome Cardio - Facio paltina.** Aut. Dom.
- **Pseudo Malattia di von Willebrand.** Aut. Dom.
- **Macrotrombocitopenia benigna Mediterranea** Aut. Dom.
- **Trombocitopenia con Anemia diseritropoietica . X-linked**
- **Trombocitopenia con talassemia . X-linked**
- **Trombocitopenia tipo Paris-Trousseau.** Aut. Dom.
- ° **Trombocitopenie da mutazione del gene MYH9** Aut.Dom.
- **Gray Platelet Syndrome.** Aut. Dom.
- **Sindrome di Montreal** Aut. Dom.
- **Macrotrombocitopenia con espressione piastrinica della Glicoforina .** Aut. Dom.

o

Contenuti

- Definizione e classificazione
- Anemia di Fanconi
- Telomeropatie
- Neutropenia Cronica Grave

Anemia di Fanconi

- Signora adulta
- Facies sui generis (microcefalia/microftalmia sfumate)
- Chirurgia per carcinoma della lingua alcuni anni prima
- Alopecia frontale
- Non malformazioni

- Un fratello sano
- Un altro fratello deceduto nell'infanzia negli anni 70 per "non meglio precisate cause ematologiche".

- Moderata piastrinopenia (75.000). Restante emocromo OK

- DEB test positivo
Mutazione gene FANCA

- ETA 55 anni!

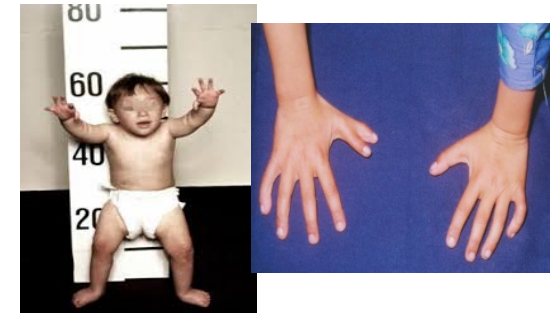
- Ecco una buona ragione per parlare di AF con gli ematologi dell' adulto!

Anemia di Fanconi

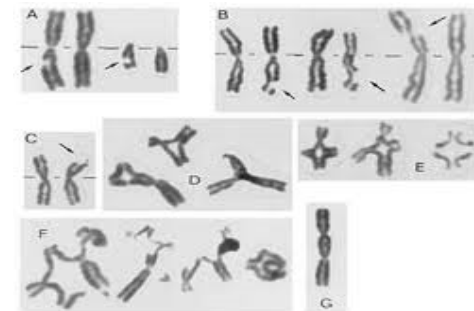
- Malattia Eterogenea

Autosomica recessiva e X-linked
20 geni

- rischio neoplasie (+ 700 LMA, + 600 HNSCC)
- insufficienza midollare
- +/- malformazioni somatiche. 20-30% assenti o minime!
- Incidenza: 3 casi/milione neonati/anno
- Prevalenza: 1-5/milione
- Frequenza eterozigosi 1:180 (USA – Europa Occidentale)
1:100 (Sud– Africa)
- Pancitopenia progressiva usualmente inizia nella prima decade di vita



- Diagnosi: Test di fragilità cromosomica (DEB/MMC)
NGS



MARROW FAILURE IN FA

97 pazienti FA italiani alla diagnosi

Non citopenia 3%
 Citopenia 97%

Grave 25%
 Moderata 27%
 Lieve 45%

Età 6.5 anni (0.1- 22.1)

F up 2.4 anni (censorizzato a TMO)

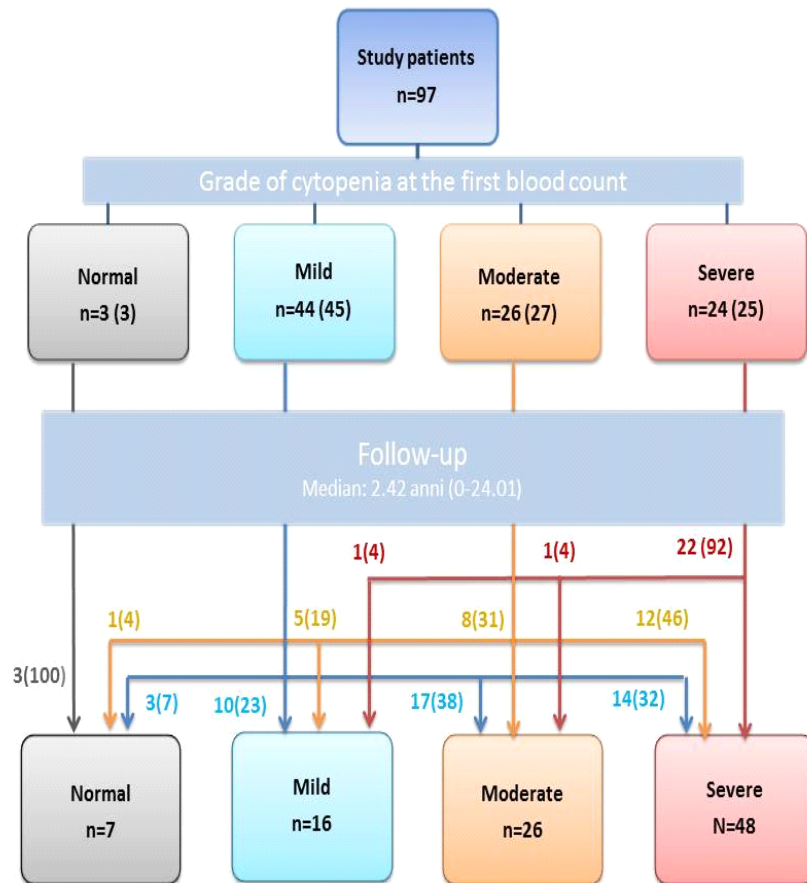
66% peggiora la citopenia

33 % citopenia stabile o migliorata

3 pz LMA

10 pz MDS

2 tumori solidi



IL NETWORK AIEOP

Sospetto di FA
Centri



Test di Fragilità Cromosomica

Ciclo cell, MMC assay, allestimento linea linfoblastoide & Complementazione. Consenso

Genova

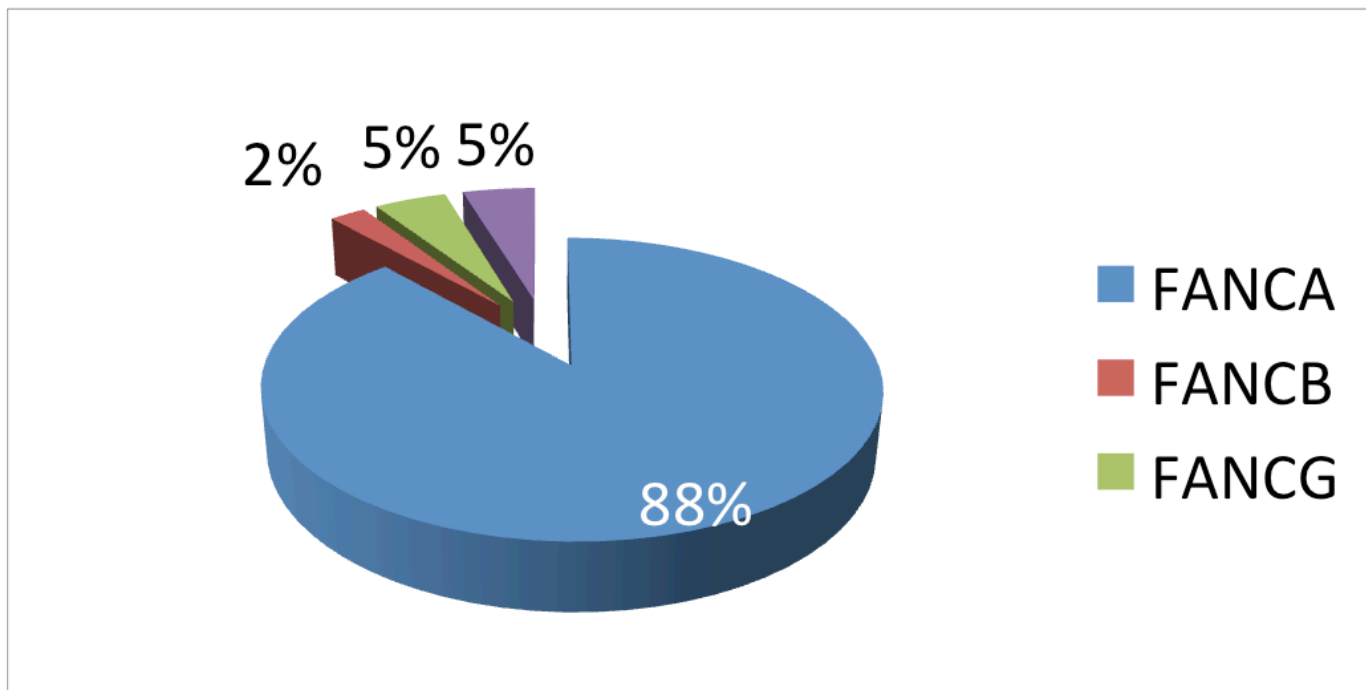


Molecolare
Trieste



NETWORK AIEOP FA in ITALIA

«Molecular analysis of Fanconi anemia: the experience of the BMF study group of the Aieop»

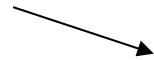


Network diagnostico FA in Italia



AIEOP Insufficienze Midollari NETWORK

sospetto clinico
in un pz

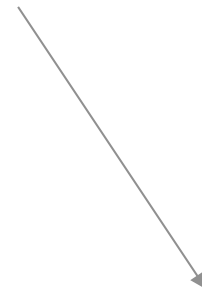


Chromosomal Fragility test (DEB test)



ciclo cellulare, MMC assay,
Analisi di Complementazione
& linea cellulare linfoblastoide

Genova

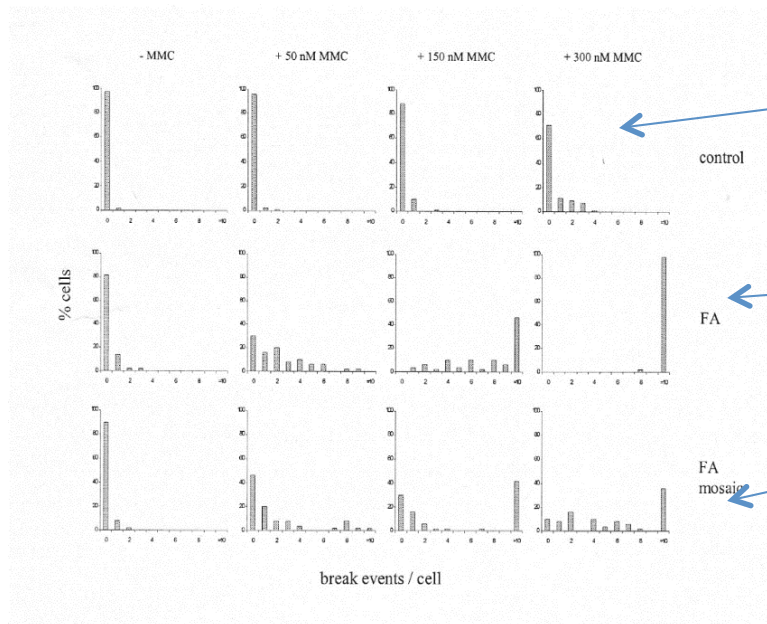


screening molecolare
Trieste



Mosaicismo

- Si forma almeno un copia normale di un gene FA in una popolazione di cellule (staminali o linfociti) e nella sua progenie
- Si forma quindi una popolazione cellulare eterozigote con fenotipo cellulare corretto



Tutte cellule **normali**
a massima conc MMC

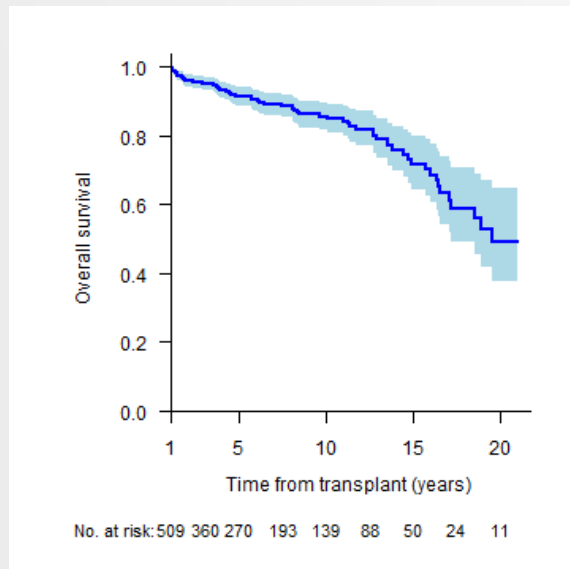
Tutte cellule **FA**
a massima conc MMC

Circa 40% sono cellule FA
a massima conc MMC. **Mosaico**

Mosaicismo

- Le cellule con fenotipo corretto potrebbero avere un **vantaggio** sulle celle FA “vere”
- “gene therapy spontanea”
- Possibile un miglioramento dell’ematopoiesi
Non visto in tutti gli studi .

- 789 pazienti sottoposti a primo SCT
- MRD 65%
- Midollo come sorgente cellulare 79%
- Condizionamento
 - Fludarabine-based 29%
 - Irradiazione 27%
 - T-cell deplezione 41%



R Peffault de Latour, SAAWP EBMT, Blood 2013

Overall Survival

71% a 15 anni (95%CI 64–80)

49% at 20 anni (95%CI 38–65)

f up 6 anni

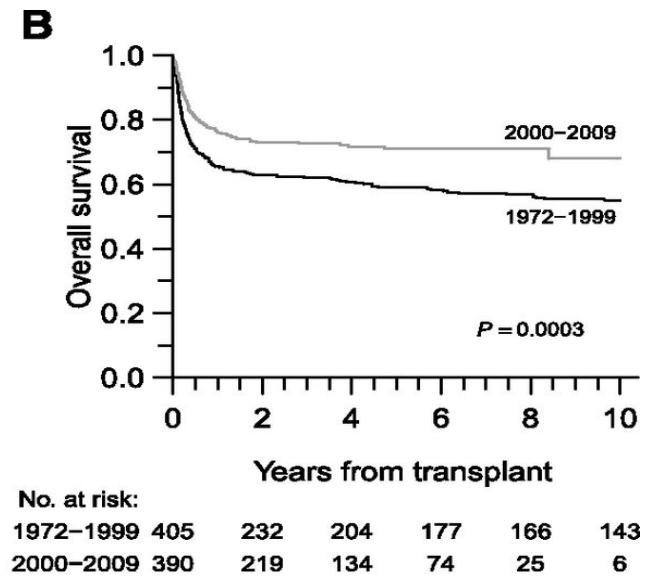
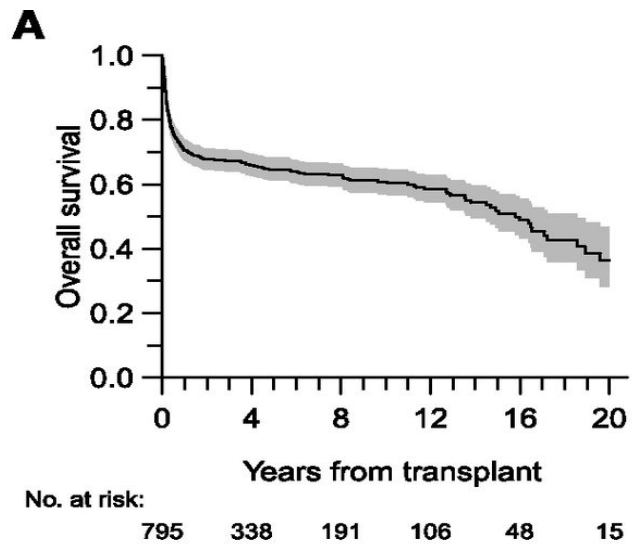
Ac GvHD

MSD	MUD	
19%	36%	p= 0.0003

C GvHD

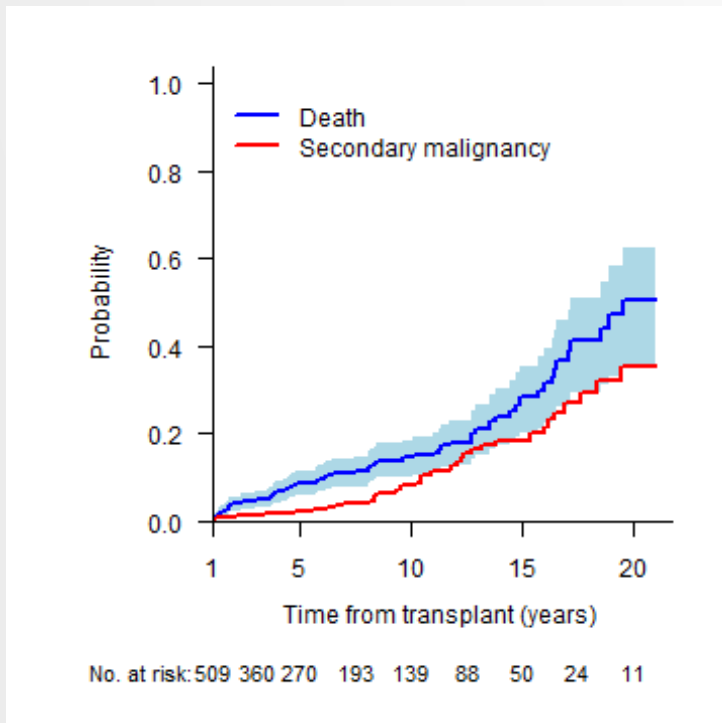
MSD	MUD	
11 %	12%	(p=0.6).

TRAPIANTO per periodo e donatore



Cause di morte

- GvHD 34%
- Infezioni 27%
- Tumori tardivi 10%



R Peffault de Latour EBMT, Blood 2013

Tumori tardivi

- 40% of pts sviluppa tumori 15-20 anni dopo SCT.
- Head & Neck SCC precoci ~ 8 anni dopo SCT con TAI & CY se **GVDH**.

P Rosenberg, Blood 2005

Impatto positivo su OS

- Flu
- ATG
- BM come sorgente cellulare in MUD (no in MSD)

TBI no effetto sia su MUD sia su MSD HSCT

Impatto negativo su tumori tardivi

- Eta' a trapianto >10 anni
- Uso di PBSC
- Precedente cGVHD
- MDS/AML

Trapianto da donatore alternativo

- 130 pazienti . 1995-2012
- Condizionamento: TBI 300 cGy (piu recenti 48 pts) +Thymic Shielding, FLU, CY, ATG
- TCD MUD midollo 56%
- TCD 1Ag MM MUD 14%
- 1-2 Ag MM No TCD CB 30%
- OS a 1 anni 63% (95% CI, 54-71%)
a 5 anni 58% (95% CI, 49-59%),
a 10 anni 57% (95% CI, 47-65%).

OS a 5 anni 94% in piccoli gruppi selezionati (13%) di pz non trasfusi e non infetti

M.Mc Millan Blood, June 11, 2015, 125(24);3798-3804

- MSD

Ciclofosfamide 40mg/Kg D-6 a D-2

Fludarabina 90mg/m² D-6 a D-3

Sorgente cellulare BM

Profilassi GvHD CSA-MMF

95% OS a 2 anni

15 % Ac GvHD Acuta 3-4

10% GvHD cronica

Benajiba L et al, St Louis. Blood 2015

- MUD

Ciclofosfamide 40 mg/kg per 4 gg

Fludarabina 120 mg/m² per 4 gg

ATG 7,5 mg/kg per 2 gg

TBI 2 Gy (ATG per 4 gg se <14 anni)

Sorgente cellulare BM

Profilassi GvHD CSA-MMF

Hopital St Louis, Paris

- MDS/AML/anomalie clonali ad alto rischio (-7q,+3q, anomalie complesse)

FLAG + SCT in aplasia

HD ARA C + SCT

HAPLO IN FANCONI ANEMIA

- 16 pazienti consecutivi
-
- Flu 150 mg/m², TBI 100-200 cGy, rabbit ATG 4-5 mg/kg
- i.v. MMF per profilassi GvHD
- Midollo NON manipolato da genitore o fratello HLA haplo-identico
- Ciclofosfamide post trapianto dose totale 50 mg/Kg (d +3, +4)

- 13/16 vivi (81%)
- Ac GvHD grado III-IV 4/16 pazienti (25%)
- cGvHD severa 2/16 (total 7/16)
- follow-up mediano 22 mesi

C. Bonfim, 28th FARF Symposium, Seattle 15-18 sept 2016

Fattibile e con successo

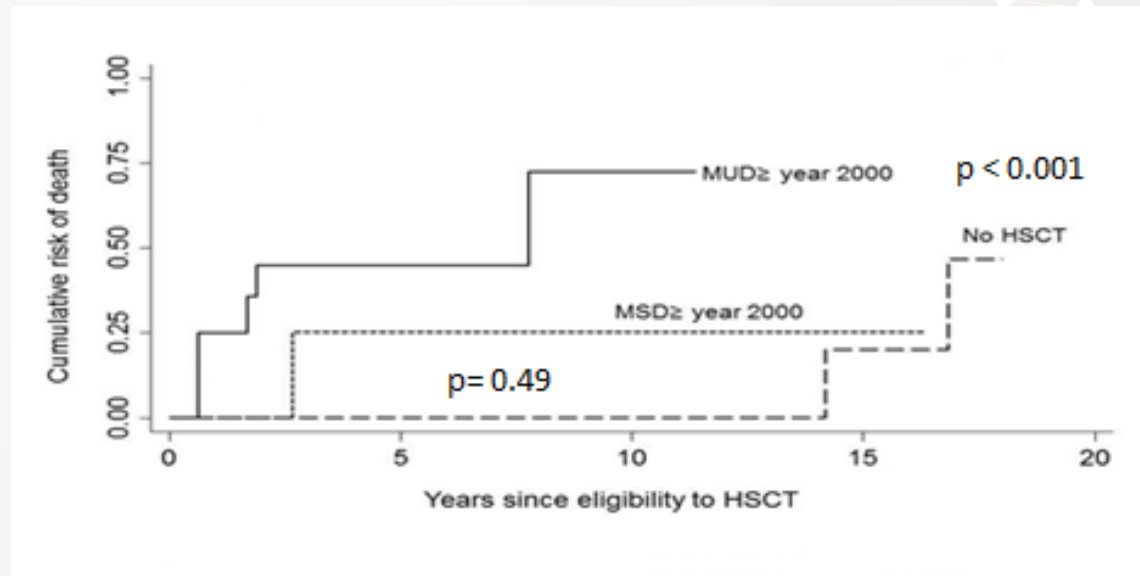
Timing del trapianto

- Citopenia puo stabilizzarsi o migliorare in circa 1/3 dei pazienti

41 pz eligibile per citopenia **moderata**

20 NO SCT,
 13 MUD SCT
 8 MSD SCT

F-up 4.6 anni



I NON trapiantati vanno **come** MSD SCT ma **meglio** di MUD SCT

J Svahn et al for Aieop, Am J Hematol 2016, Jul;91(7):666-71

- Pz con citopenia moderata, no clone, no MDS/AML ?
No MUD ma si MSD SCT
- Trapianto precoce per mutazioni ad alto rischio di trasformazione o mutazioni bi-alleliche gene BRCA/FANCD2.

Trattamenti non trapiantologici

- Danazolo

80% risposta in 6 mesi

talvolta trilineare

dose dipendente

No effetti collaterali

Scheckenbach K Blood Cells Mol Dis 2012 Feb 15; 48(2): 128-31

- Oxandrolone

80% risposta in 3 mesi

50% bilineare (Hb & Plts)

30% virilizzazione, 20% aumenti enzimi epatici

SR Rose et al Pediatr Blood Cancer 2014;61:11-19

- Oxymetholone

83% risposta (Ts indipendenza) in 3 mesi. 12 % persistente dopo lo stop

55% multilineare

Virilizzazione in tutti

50 % giunti al SCT . Di questi 90% alive and well

Ribeirão & C Bonfim, University of Paraná, Brazil , 26° Annual FARF Symposium, sept 2014

- Stretto monitoraggio del paziente per intercettare il «momentum»
- Marrow failure **moderato** da solo e MSD **sano** (malattia genetica!)
- Marrow failure **grave** e donatore **fully** matched (10/10, 8/8)
- Comunque prima di evoluzione clonale
- Obbligatorio follow up per tutta la vita per tumori tardivi

Contenuti

- Definizione e classificazione
- Anemia di Fanconi
- **Telomeropatie**
- **Nuuetropenia Cronica Grave**

TELOMEROPATIE

- Ragazzo di 22 anni

Anamnesi personale negativa

GB 2700, Neutr 900, Hb 14 g/dl, Pia 73.000, Reticolociti 50.000

Anamnesi familiare: padre deceduto di LLA a 46 anni

Esame clinico normale

- Midollo e biopsia Ipocellulati
 - lieve displasia
 - non blasti
 - citogenetica normale
- No clone PNH
- Diagnosi di Aplasia Moderata
 - CsA
 - Mantenimento valori, mai trasfusioni, per diversi anni
 - Entra nel programma di screening molecolare dei geni del telomero in AA

Telomeropatie

- X linked, Autosomiche dominanti o recessive
- Circa 60% dei pazienti ha mutazioni in 11 geni del complesso telomerasi-sheletrina

DKC1 (36%)

TNF2 (11%)

TERC (6%)

TERT (1%)

NOLA2 (<1%)

NOLA 3 (<1%)

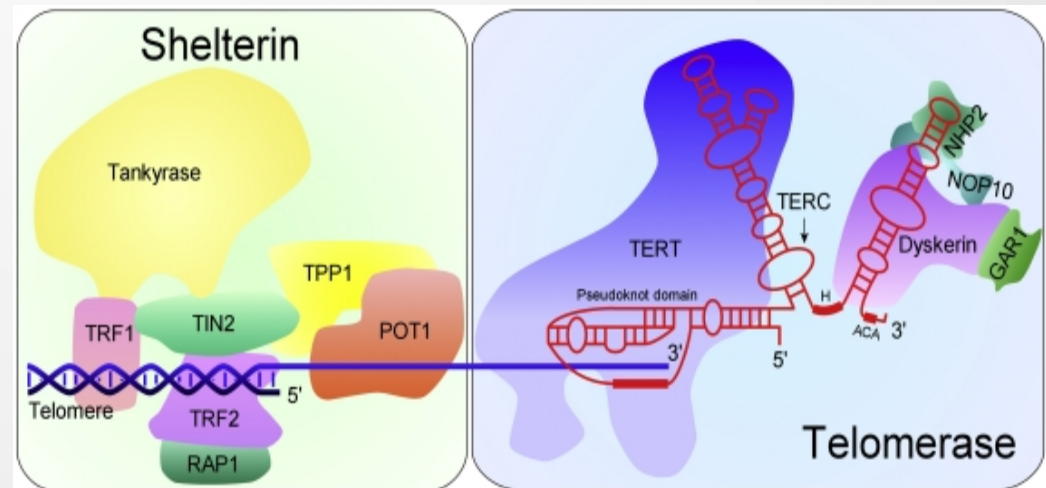
ACD (<1%)

R TEL

WRAP 53 (*T CAB 1*)

CTC1

PARN



- Penetranza variabile
- Significativo accorciamento del telomero

Telomero

Integrità e stabilità cromosomi

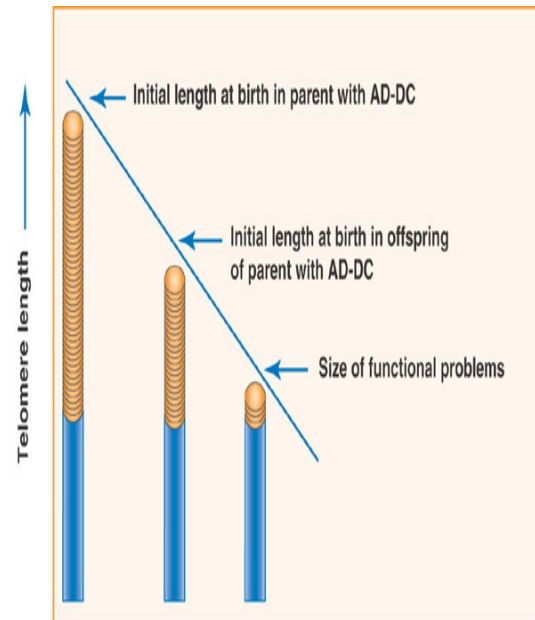
Prevenzione scambio materiale genico durante mitosi

Prevenzione apoptosi

Anticipazione di malattia

Un soggetto malato trasferisce alla progenie un telomero già accorciato

La malattia quindi si manifesta più precocemente nei figli



Telomeropatie

Variable combinazione, gravità e tempo di comparsa di:

- Insufficienza midollare
- Malattia polmonare (*fibrosi*)
- Malattia epatica (*cirrosi criptogenetica*)

Tendenza al cancro (*MDS/LMA, K a cell squamose di testa e collo, lingua*)

Classica Discheratosi Congenita

Dispimentazione reticolare della cute

Unghie anomale

Leuco/Ertroplachia. Più variabile combinazione di

Fibrosi polmonare

Insufficienza midollare (60-80%)

Immunodeficit (T e B)

Malformazioni somatiche (epiphora, blepharitis, delayed develop)

Suscettibilità al neoplasie (MDS/LMA, HNSCC, Cute ano-rettali) 20-30% a 50 anni



Suggestive personal/family history:

- AA, AML, MDS
- Thrombocytopenia, macrocytosis +/- anemia
- Pulmonary fibrosis
- Cryptic cirrhosis, NRH, portal hypertension
- Premature greying of hair
- Mucocutaneous triad: leukoplakia, skin hypo/hyper-pigmentation, nail dyskeratosis

or

Suspected BMF

Exclude Fanconi Anemia

Measure leukocytes' telomere content

Flow-FISH or qPCR (PB)

>10^o percentile

Telomere disease **unlikely**

1^o - 10^o percentile

Telomere disease **possible** if suggestive history

< 1^o percentile

Telomere disease **likely**

If personal/family history is **STRONGLY** suggestive

Consider genetic screening for telomere maintenance genes (patient and family)

If BMT, genetic screen of family donors

*Modified from D. Townsley, B. Dumitriu, N. Young. Bone Marrow failure and the telomeropathies. Blood 30 Oct 2014, 124:18

Implicazioni cliniche

- Evitare Immunosoppressione (ATG). DKC usualmente non risponde riportati casi di risposta in TERT
- Considerare Androgeni. DKC risponde in $> 2/3$ dei casi
- Non usare il fratello, apparentemente sano, HLA identico come donatore.
- Monitorare il fratello apparentemente sano ma TERC mutato.
- In caso di necessità estrema di donazione studiare a fondo la sua ematopoiesi (LTCIC, progenitori), telomero e telomerasi.

Trapianto

109 pazienti dalla letteratura

Popolazione mista

Condizionamento: MAC 71%, RIC 29%

52% donatore familiare

5 yr OS 70 %, 10 yr **OS 28%** (post 2000)

Ac GvHD 9.3%, CGvHD 43%

Mortalità precoce: 32%. Infezioni, graft failure, emorragie

Mortalità tardiva (>7 anni) 19 %. Malattia polmonare ed epatica .

Malattia polmonare post SCT letale nel 73% dei casi

Analisi MV: **cattivi** marker prognostici

trapianto a età > 20 anni,

SCT pre 2000

donatore alternativo

RIC

non associato a significativo aumento della sopravvivenza

ma trend verso **minor** malattia polmonare

Trattamenti non trapiantologici

Danazolo

800 mg/gg per 24 mesi

Fase I/II

- 27 pazienti, principalmente mutati in TERC, TERT, DKC
- 9 trattamento terminato in anticipo. In alcuni per end point raggiunto, in altri per scarsa tolleranza.
- Risposta ematologica 19/24 (79%) se valutata a 3 mesi).
10/12 (83%) se valutata a 24 mesi.
- 12 valutabili per allungamento telomero.
11/12 allungamento a 24 mesi; la maggior parte prima.

Frequente stabilizzazione della funzione polmonare

Aumento enzimi epatici 41%

crampi muscolari 33%

INDICAZIONI per SCT in TELOMEROPATIE

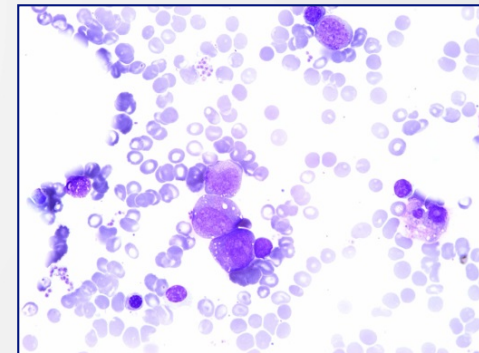
- Insufficienza midollare e donatore matched, familiare meglio di NON familiare
- Attenta valutazione del donatore se familiare (telomero, analisi di mutazione)
- Prima di evoluzione clonale.
- Assenza di maggior danno d'organo .
- RIC con Fludarabina
- Monitoraggio tutta la vita delle funzioni d'organo e sorveglianza su cancro.

Contenuti

- Definizione e classificazione
- Anemia di Fanconi
- Telomeropatie
- **Neutropenia Cronica Grave**

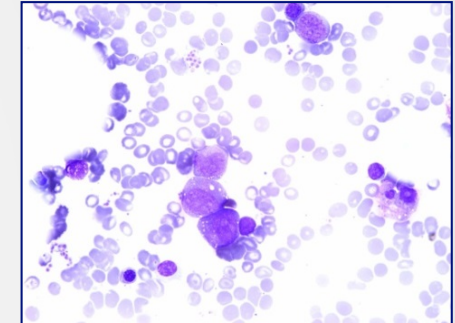
Neutropenia Congenita Grave

- Neutropenia generalmente $< 0.5 \times 10^9/l$.
 - Alto rischio infettivo. Letale nell'era pre- G-CSF
 - Aumentato rischio di MDS/AL
 - Molteplici geni coinvolti
- Associati a blocco maturativo
ELA-2
HAX-1
G6PC3
WAS (exon 9)
JAGN1
 - Senza blocco maturativo + anomalie somatiche
VPS45,
CSF3R
 - Associati con immuno-deficit
GFI 1
WAS (exon 9)
CXCR4 (WHIM)
COH (Cohen)
BTK X linked , CD40 L (Iper IgM)



25-30% dei pazienti è gene orphan

Neutropenia Grave Congenita



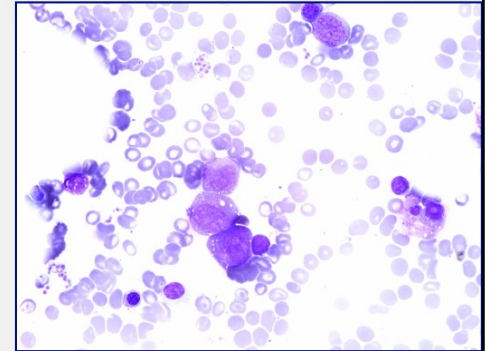
- Sopravvivenza a lungo termine to 90-95% con G-CSF.
- Alcuni pazienti necessitano alte dosi di G-CSF e/o hanno gravi infezioni
- G-CSF nel lungo termine è leucemogeno
- Trasformazione in MDS/AML 11% - 31% dopo 10-15 anni di G-CSF
Dose - dipendente.
- Alcuni pazienti mal tollerano l'iniezione quotidiana e sono sotto-trattati con aumento del rischio infettivo.

G-CSF Peghilato

Peg filgrastim ogni 7/8 gg per s.c

- Aumenta neutrofili p 0.002
- Riduce infezioni p 0.029

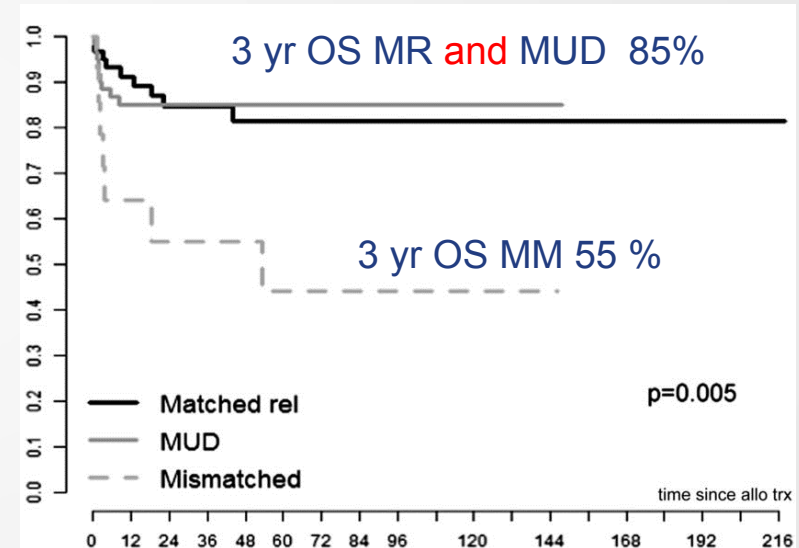
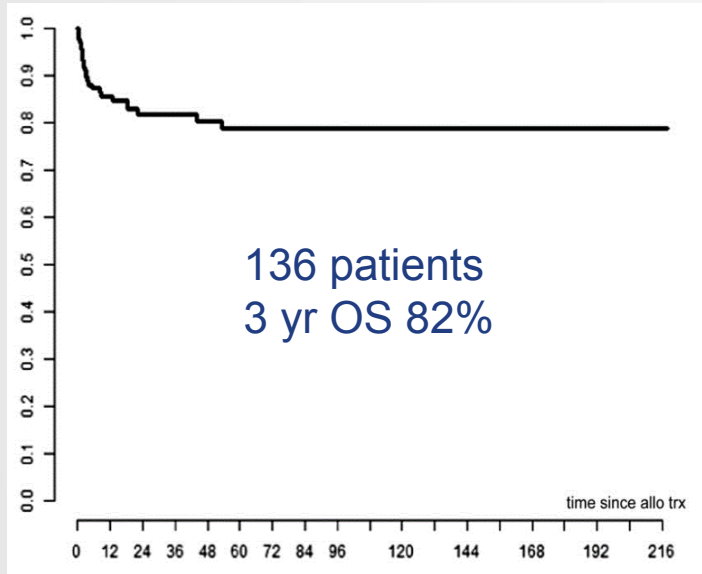
} rispetto a G-CSF nn peghilato



- Crescita di recupero
- Migliora qualità di vita (SF-36 questionnaire) riducendo limitazioni fisico/mentali e dolore
- Osteoporosi, mutazione G-CSFR
- Livelli serici nadir comparabili a quelli in G-CSF classico

Efficace alternativa in pazienti poco complianti al G-CSF classico

Trapianto



TRM 17 %
Cr GvHD 28%

Trend to better OS and EFS with BM over PB and CB

Attuali indicazioni al trapianto in NCS

- Scarso controllo delle infezioni con alte dosi di G-CSF
- Progressione verso ma non conclamata MDS/ leucemia
- Mutazioni isolate G-CSF R mutations “per se” richiedono solo monitoraggio più stretto.
- Necessità di altri segni associati di trasformazione (Runx1, cloni ctogenetici, morfologia dsplastica)

EMATOLOGIA G. Gaslini



SAAWP EBMT: Regis Peffault de Latour, Antonio Risitano, Simona Iacobelli
Cora Knol

