

Anno 1 - Numero 1 - 2014

Ematologia **Oncologica**.it

Sindromi mielodisplastiche

Organo Ufficiale della **Fondazione Matarelli** - Milano

dynamicom
edizioni

Con il supporto non condizionato di



Sindromi mielodisplastiche

Approccio diagnostico

Giorgina Specchia, Luca Formigaro, Luisa Anelli, Antonio Cuneo **7**

Fisiopatologia

Domenica Caramazza, Francesco Passamonti **23**

Nuove entità clinico-biologiche

Cristina Mecucci, Tamara Iannotti **35**

Terapia

Alessandro Levis, Flavia Salvi, Emanuela Messa **41**

Qualità di vita

Esther Natalie Oliva, Tatyana Ionova, Sam Salek **51**

Ematologia Oncologica.it

Vol 1 - n.1 - 2014

Direttore Responsabile

Giorgio Maggiani

Direttore Scientifico

Giorgio Lambertenghi Deliliers

Fondazione Matarrelli, Milano

Comitato Editoriale

Sergio Amadori

Università degli Studi Tor Vergata, Roma

Mario Boccardo

Università degli Studi, Torino

Alberto Bosi

Università degli Studi, Firenze

Michele Cavo

Università degli Studi, Bologna

Antonio Cuneo

Università degli Studi, Ferrara

Marco Gobbi

Università degli Studi, Genova

Cristina Mecucci

Università degli Studi, Perugia

Fabrizio Pane

Università degli Studi, Napoli

Francesco Passamonti

Università degli Studi, Varese

Gianni Pizzolo

Università degli Studi, Verona

Giorgina Specchia

Università degli Studi, Bari

Ematologia Oncologica.it

è una rivista quadrimestrale monotematica, di aggiornamento in lingua italiana, che ha essenzialmente lo scopo educativo di rendere disponibili le informazioni più aggiornate su argomenti pertinenti le malattie del sangue, in particolare quelle neoplastiche. Per raggiungere questo obiettivo la rivista desidera coinvolgere gli specialisti italiani più qualificati e informare il lettore sui più recenti progressi nel campo della ricerca di base, della clinica e della terapia.

La rivista si attiene alle raccomandazioni indicate dal World Association of Medical Editors (WAME) riguardante l'etica delle pubblicazioni in ambito sanitario.

Registrazione Tribunale di Milano

n. 348 del 19/11/2013

Progetto grafico

Dynamicom srl

Sito Internet

www.ematologiaoncologica.it

Coordinamento editoriale

Dynamicom - Milano

Tel. (+39)0289693750 - Fax (+39)02201176

Editore

Dynamicom Edizioni

Periodicità

Quadrimestrale

Avvertenze ai lettori

L'Editore declina ogni responsabilità derivante da errori od omissioni eventualmente citati negli articoli, ed invita il lettore a controllare personalmente l'esattezza, facendo riferimento alla bibliografia relativa.

Norme per gli Autori

- L'accettazione dei testi inviati è comunque subordinata al parere del Comitato Editoriale che deve verificare la loro compatibilità con le norme redazionali.

- Gli Autori dei testi sono gli unici responsabili del loro contenuto, e della riproduzione delle immagini allegate.

- Il primo Autore è tenuto ad ottenere l'autorizzazione di "Copyright" qualora utilizzi figure e/o tabelle già pubblicate altrove.

- La proprietà dell'articolo, una volta pubblicato, appartiene alla Fondazione Matarrelli che ha depositato il nome della rivista presso il Tribunale di Milano in data 19/11/2013

- Il manoscritto deve essere inviato a Dynamicom Edizioni (segreteria@ematologiaoncologica.it) che, dopo averlo controllato ed impaginato, lo invierà al Direttore Scientifico (giorgio.lambertenghi@unimi.it) per la revisione e il controllo della stesura secondo le norme redazionali. Le bozze di stampa verranno quindi rinviate all'Autore per le opportune correzioni, che dovrà provvedere entro cinque giorni lavorativi a rinviarle a: segreteria@ematologiaoncologica.it

Norme redazionali

Il contenuto dell'articolo, redatto utilizzando il programma Microsoft Word per Windows o Macintosh, non deve superare le 30-35 cartelle dattiloscritte (2000 battute cad.) compresa la bibliografia, e corredato delle illustrazioni (tabelle, grafici, figure) nel numero che l'Autore ritiene necessario, in file ad alta risoluzione (salvate in formato .pdf, .jpg o .eps).

Lo stile del manoscritto, le citazioni bibliografiche e il loro riferimento nel testo nel manoscritto devono seguire le raccomandazioni dell'International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). Per le relative informazioni, gli Autori sono pregati di consultare il sito <http://www.icmje.org>.

L'articolo deve essere così strutturato:

- **Titolo conciso** e pertinente con il tema della rivista;

- **Prima pagina** con nome e cognome degli Autori, istituzione di appartenenza, foto tessera a colori del primo Autore;

- **Introduzione iniziale** che esponga in maniera chiara lo scopo dell'articolo;

- **Corpo del testo** suddiviso in sottocapitoli a contenuto omogeneo;

Pagina finale:

1) nome e cognome del primo autore, con telefono, fax, e-mail al quale andrà indirizzata la corrispondenza;

2) eventuali **ringraziamenti** a persone e/o associazioni;

3) 3-5 parole chiave.

Bibliografia

Per lo stile nella stesura seguire le seguenti indicazioni o consultare il sito "International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals Sample References". Le **voci bibliografiche** non devono superare il numero massimo di 150, numerate secondo l'ordine di comparsa nel testo, citate tra parentesi con il testo in apice e con i numeri arabi, tenendo presente gli esempi sottostanti.

Articoli con 1-6 autori

Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. N Engl J Med. 2000;30(1):100-1.

Bianchi AG, Rossi M, Patruno S, Miliani E. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. N Engl J Med. 2000;30(1):100-1.

Articoli con più di 6 autori

Bianchi AG, Rossi M, Patruno S, Miliani E, De Giglio I, Baldoni A, et al. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. N Engl J Med. 2000;30(1):100-1.

Abstract e Congressi

Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. ASH Annual Meeting Abstracts. 2000;100(10):1000.

Capitoli di libri

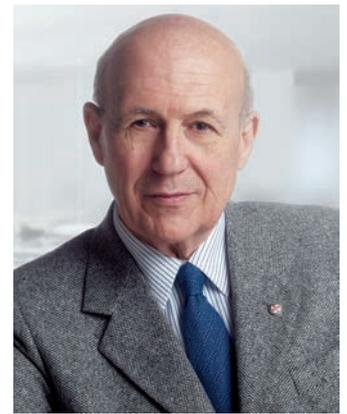
Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. In: Spagnoletti M. ed. The Hemoglobin, Vol 10. London: Raven Livingstone. 1980:10-15.

Bianchi AG. Immunologic effect of donor lymphocytes in bone marrow transplantation. Hematology Am Soc Program 1980:10-15.

Editoriale

Giorgio Lambertenghi Delilieri

Fondazione Matarrelli - Milano



Ematologia Oncologica.it si presenta ai medici italiani, cultori dell'ematologia e dell'oncologia, con il primo numero dedicato alle Sindromi Mielodisplastiche, malattie la cui incidenza nel mondo occidentale è in costante aumento a causa del progressivo invecchiamento della popolazione e dell'utilizzo di regimi di chemio-radioterapia intensivi, in particolare nel condizionamento al trapianto.

È un capitolo complesso costituito da numerosi sottotipi, eterogenei sul piano clinico-prognostico, ma accomunati da un disturbo clonale delle cellule staminali, da un'emopoiesi inefficace e dalla predisposizione all'evoluzione leucemica. Il percorso diagnostico prevede un'integrazione tra la storia clinica, le tradizionali indagini morfologiche e le nuove tecnologie citogenetiche-molecolari, in particolare il sequenziamento genico che permette il rilievo simultaneo, in un'unica seduta, sia di mutazioni somatiche che delle più significative anomalie citogenetiche. Utilizzando questi marcatori biologici è stato dimostrato che le mutazioni somatiche nei progenitori emopoietici più immaturi determinano lo sviluppo di un clone dominante, da cui derivano elementi che, morendo prematuramente nel midollo per eccesso di apoptosi, causano una citopenia periferica. Durante il corso naturale della malattia, la comparsa di ulteriori mutazioni determina l'insorgenza di subcloni che compromettono i processi di differenziazione e maturazione con aumento della quota blastica midollare. Ne deriva un quadro leucemico mieloide costituito da un mosaico di diversi cloni e/o genomi. Nel percorso diagnostico va tenuto presente che un'eventuale sindrome genetica o mutazioni germinali acquisite in epoca prenatale possono causare mutazioni somatiche e/o difetti dei meccanismi di riparazione del DNA, che predispongono all'evoluzione mielodisplastica. La combinazione dei diversi parametri morfologici, istopatologici e citogenetici nella classificazione WHO, attualmente in uso, ha un'impor-

tante rilevanza prognostica, insieme a fattori estrinseci alla malattia legati alle caratteristiche biologiche e cliniche dei pazienti. La stratificazione del rischio si avvale di sistemi dinamici che in questi ultimi anni sono stati via via integrati dall'inserimento di variabili sempre più affidabili, anche se, per l'eterogeneità della patologia, si sente la necessità di inserire fattori prognostici più robusti, come ad esempio le mutazioni somatiche quali risultano dalla caratterizzazione genomica.

La filosofia attuale è quella di individuare strategie terapeutiche univoche all'interno dei vari gruppi prognostici. Le opzioni variano dalla semplice gestione dei sintomi correlati alla malattia con presidi di supporto per correggere l'anemia ed il sovraccarico di ferro, o prevenire complicanze infettive ed emorragiche con i fattori di crescita, a terapie immunosoppressive e immunomodulanti in grado di bloccare la secrezione di citochine proinfiammatorie, responsabili della neoangiogenesi e dell'eccesso di apoptosi. La chemioterapia convenzionale nei pazienti ad alto rischio è poco efficace per la resistenza del clone mielodisplastico e per la tossicità correlata. Una valida alternativa sono i farmaci demetilanti che stimolano il processo di differenziazione bloccando gli enzimi implicati nella metilazione del DNA, responsabili del silenziamento genico. La loro efficacia è ormai dimostrata da studi internazionali randomizzati che hanno evidenziato un significativo prolungamento della sopravvivenza e un ritardo della progressione leucemica.

Il trapianto allogenico di cellule staminali, anche se riservato per la sua elevata mortalità e morbilità a categorie selezionate di pazienti, rimane per ora l'unico approccio curativo. Ma la scelta della strategia terapeutica più opportuna non può prescindere da una valutazione della qualità di vita attraverso strumenti che misurano la realtà soggettiva del paziente, cioè il suo impatto con la malattia e con gli effetti collaterali del trattamento.

Approccio diagnostico



Giordina Specchia¹, Luca Formigaro², Luisa Anelli¹, Antonio Cuneo²

¹ Sezione di Ematologia con Trapianto, Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organi (D.E.T.O.), Università degli Studi di Bari A. Moro - Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico, Bari, Italia

² Sezione di Ematologia e Reumatologia, Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Ferrara

Introduzione

Le sindromi mielodisplastiche (SMD) sono un gruppo di disordini della cellula staminale emopoietica, classificati fra le neoplasie mieloidi, caratterizzati dalla presenza di ematopoiesi displastica, citopenia di una o più filiere nel sangue periferico e aumentato rischio di evoluzione leucemica. L'incidenza di questa condizione è all'incirca di 5 casi su 100.000 persone per anno nella popolazione generale, ma aumenta fino a 50 casi su 100.000 persone per anno dopo i 60 anni di età. L'età mediana alla diagnosi è attorno ai 65 - 70 anni con una predominanza del sesso maschile⁽¹⁻³⁾. Questo significa che nella popolazione italiana sono attese circa 3000 diagnosi di SMD per anno; a causa del progressivo invecchiamento della popolazione l'incidenza di queste patologie è in aumento. L'incidenza potrebbe essere addirittura più elevata di quella riportata dai registri internazionali se si considera che molti casi sfuggono alla diagnosi a causa della sintomatologia sfumata o della non candidabilità del paziente all'esecuzione di un aspirato midollare⁽⁴⁾. L'insorgenza prima dei 50 anni è rara se si escludono le forme correlate a terapie⁽⁵⁾.

Il percorso diagnostico moderno delle SMD deve prevedere necessariamente un'integrazione tra la storia clinica del paziente e le diverse indagini di laboratorio che devono essere pianificate in una strategia multistep (Figura 1).

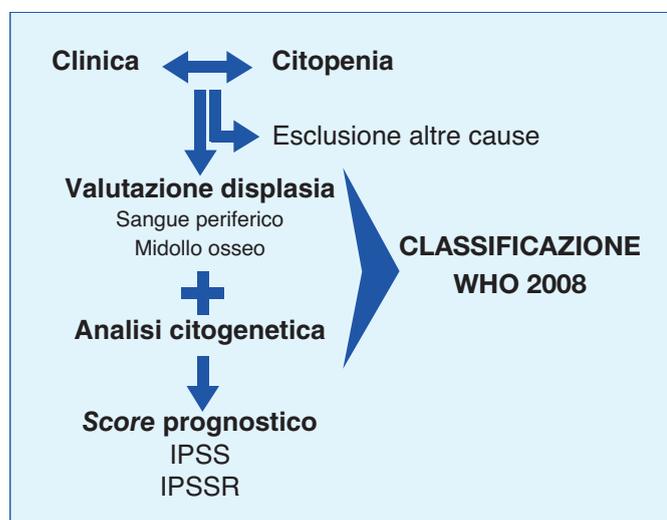


Figura 1 – Algoritmo diagnostico delle SMD

Anamnesi

La diagnostica delle SMD comincia con un'accurata raccolta anamnestica che permette di individuare le manifestazioni cliniche correlate alla presenza di malattia, l'avvenuta esposizione a fattori di rischio e la presenza di altre cause di citopenia. Le principali manifestazioni cliniche correlate alla presenza di malattia sono astenia, infezioni e sanguinamenti ricorrenti dovuti allo stato di citopenia periferica⁽⁶⁾. Raramente le SMD si associano a manifestazioni cutanee come la sindrome di Sweet, endocrinologiche come il diabete insipido o reumatologiche come il lupus eritematoso sistemico^(7,8). I principali fattori di rischio, riassunti nella Tabella 1, sono l'esposizione a chemioterapia, radioterapia, radioimmunoterapia, radioiodio e l'esposizione occupazionale o per hobby ad agenti tossici⁽⁹⁾. Fra i farmaci antitumorali risulta particolarmente rilevante l'esposizione ad alchilanti, antracicline, inibitori delle topoisomerasi^(10,11) e il trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche⁽¹²⁾.

GENETICI	
Malattie genetiche costituzionali	Sindrome di Down Mosaicismo con trisomia 8 Monosomia 7 familiare Neurofibromatosi 1
Neutropenie congenite	Sindrome di Kostmann Sindrome di Shwachman Diamond
Deficit nella riparazione del DNA	Anemia di Fanconi Atassia teleangectasia Sindrome di Bloom Xeroderma pigmentoso
ACQUISITI	
Invecchiamento	
Esposizione a mutageni	Agenti alchilanti Inibitori delle topoisomerasi II β-emittenti Trapianto autologo di cellule staminali Benzene Tabacco
Malattie ematologiche	Anemia aplastica Emoglobinuria parossistica notturna

Tabella 1 – Principali fattori di rischio per lo sviluppo delle SMD

Il principale agente chimico correlato ad un aumentato rischio di insorgenza è il benzene⁽¹³⁾. La corretta individuazione di questi fattori di rischio permette di discriminare le SMD insorte de novo da quelle secondarie.

Ai fini di escludere le cause non neoplastiche di citopenia risulta particolarmente utile individuare eventuali comorbidità, utilizzo di sostanze da abuso come alcool o tabacco e raccogliere un'accurata anamnesi farmacologica⁽¹⁴⁾. L'anamnesi familiare risulta utile soprattutto nei rari casi di SMD ad insorgenza giovanile nei quali può essere valutata un'ereditarietà per sindromi da insufficienza midollare, la più comune delle quali è l'anemia di Fanconi seguita dalle patologie dei telomeri^(15,16). Il rischio di insorgenza risulta aumentato anche nella sindrome di Down e in altre condizioni benigne come l'emoglobinuria parossistica notturna. Infine sono descritte forme familiari associate a mutazioni germinali dei geni RUNX1, CEBPA, TERC, TERT e GATA2^(17,18).

Poiché la prognosi delle SMD dipende sia da fattori correlati alla malattia che da fattori correlati al paziente, la raccolta anamnestica permette anche un'iniziale stratificazione prognostica di queste patologie. Fra i fattori valutabili a scopo prognostico mediante la raccolta anamnestica troviamo età, performance status e comorbidità. L'invecchiamento è un noto fattore prognostico sfavorevole⁽¹⁹⁾; infatti i principali *score* presentano curve di sopravvivenza aggiustate per l'età^(20,21). Essendo i pazienti con SMD principalmente anziani troviamo un'elevata prevalenza di comorbidità che spesso limita le scelte terapeutiche^(22,23). Si stima che almeno metà dei pazienti presentino una o più comorbidità extraematologiche alla diagnosi, le più frequenti delle quali sono le patologie cardiovascolari e il diabete mellito⁽²⁴⁾. La valutazione del grado di comorbidità può essere effettuata con strumenti come il *Charlson Comorbidity Index* o l'*Hematopoietic Stem Cells Comorbidity Index*; studi recenti hanno dimostrato che questi strumenti hanno una valenza prognostica sulla sopravvivenza indipendente dalle scale prognostiche tradizionali come l'*International Prognostic Scoring System (IPSS)* e il *WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS)*⁽²⁵⁻²⁷⁾.

Il significato prognostico sfavorevole delle comorbidità è diverso a seconda della classe di rischio: nelle SMD a basso rischio infatti le comorbidità hanno un effetto diretto aumentando il rischio di morte non leucemica, nelle SMD ad alto rischio, al contrario, le comorbidità hanno un effetto indiretto in quanto compromettono la candidabilità del paziente a trattamenti specifici e ne limitano la tolleranza⁽²⁴⁾.

Indagini diagnostiche

L'approccio diagnostico raccomandato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) nel caso di un paziente con sospetta SMD prevede l'integrazione della valutazione citologica degli strisci di sangue periferico, degli aspirati midollari e della biopsia osteomidollare (BOM) con i dati derivanti dall'analisi citogenetica convenzionale e/o di ibridazione in situ fluorescente (FISH), e in casi selezionati dall'analisi immunofenotipica e molecolare⁽²⁸⁾ (Tabella 2).

Una diagnosi di SMD a volte può essere complessa poichè esistono

casi *borderline* e/o privi all'inizio dei classici criteri codificati dalle classificazioni Franco Americano Britannico (FAB) e WHO e nei quali è fortemente consigliato un adeguato monitoraggio clinico-ematologico anche per mesi.

Si possono riscontrare anche casi con citopenia ma privi di specifiche alterazioni morfologiche, nei quali una diagnosi presuntiva di SMD può basarsi sulla presenza di anomalie citogenetiche frequenti nelle SMD e/o sulla rilevazione in citofluorimetria di anomalie del *pattern* immunofenotipico. Inoltre nei pazienti citopenici senza specifiche alterazioni morfologiche, immunofenotipiche, genetiche e citogenetiche tipiche delle SMD e per i quali le altre cause di citopenia sono state escluse, la diagnosi di citopenia idiopatica di significato incerto può essere posta ma con uno stretto monitoraggio clinico e di laboratorio⁽²⁹⁻³¹⁾.

ESAME	SIGNIFICATO DIAGNOSTICO	PRIORITÀ
Striscio di sangue periferico	<ul style="list-style-type: none"> • Valutazione della displasia uni o multi lineare • Conta dei blasti 	Mandatorio
Aspirato midollare	<ul style="list-style-type: none"> • Valutazione della displasia uni o multi lineare • Conta dei blasti • Conta dei sideroblasti ad anello 	Mandatorio
Biopsia osteomidollare	<ul style="list-style-type: none"> • Valutazione della cellularità • Identificazione di blasti CD34+ • Valutazione della fibrosi 	Mandatorio
Analisi citogenetica convenzionale	<ul style="list-style-type: none"> • Identificazione di anomalie cromosomiche clonali con importante significato diagnostico e prognostico 	Mandatorio
Analisi citogenetica molecolare (FISH)	<ul style="list-style-type: none"> • Identificazione di anomalie cromosomiche clonali specifiche dopo fallimento della citogenetica convenzionale 	Raccomandato
Analisi immunofenotipica	<ul style="list-style-type: none"> • Valutazione di anomalie a carico di specifiche linee cellulari 	Raccomandato
Analisi molecolari	<ul style="list-style-type: none"> • Valutazione di specifiche anomalie genetiche con significato diagnostico e prognostico 	Suggerito

Tabella 2 – Indagini diagnostiche per le SMD

Morfologia

La valutazione morfologica delle cellule del sangue periferico e/o midollare è il primo step fondamentale per la diagnosi di SMD; deve essere specificato che per rilevare i diversi aspetti morfologici/displastici è necessario disporre di preparati citologici ottimali sia per omogeneità di allestimento degli strisci che di colorazione (*May Grunwald Giemsa, etc.*). La valutazione della displasia su strisci di sangue periferico e di midollo osseo è cruciale per la diagnosi di SMD secondo la classificazione 2008 delle neoplasie mieloidi proposta dalla WHO⁽²⁸⁾. Tuttavia è importante precisare che l'evidenza di displasia morfologica non è sempre equivalente a diagnosi di SMD; infatti, la displasia a carico degli elementi della linea eritroide, mieloide, megacariocitaria può essere osservata in soggetti con molteplici altre condizioni quali ad esempio emoglobinopatie, deficit nutrizionali, infezioni, terapia con fattori di crescita (CSFs). È opportuno valutare almeno 200 cellule negli strisci di sangue periferico e 500 negli aspirati midollari, e contare almeno 100 eritroblasti e 30 megacariociti. Le caratteristiche displastiche possono essere presenti in una singola linea emopoietica (displasia unilineare) o coinvolgere due o tre linee cellulari (displasia bilineare, multilineare) nel sangue periferico e/o nel midollo. Le alterazioni displastiche possono essere di grado moderato o severo ed è stato stabilito che la percentuale di cellule displastiche a carico di una o più linee emopoietiche (eritroide, mieloide, megacariocitica) deve essere > 10% per poter essere significativa ai fini della diagnosi. La classificazione WHO prevede che per ogni sottotipo di SMD sia definito il *grading* e tipologia di displasia, la linea e/o le linee coinvolte, la percentuale e tipologia di blasti e la presenza di peculiari anomalie citogenetiche come la delezione del braccio lungo del cromosoma 5. Le più frequenti caratteristiche displastiche che si possono riscontrare negli strisci di sangue periferico a carico degli elementi maturi della serie eritroide sono: anisocitosi, poichilocitosi, corpi di Jolly, punteggiatura basofila, anelli di Cabot; in alcuni casi possono essere presenti precursori eritroidi con anomalie nucleari. A livello del midollo si osserva spesso una iperplasia dei pro-

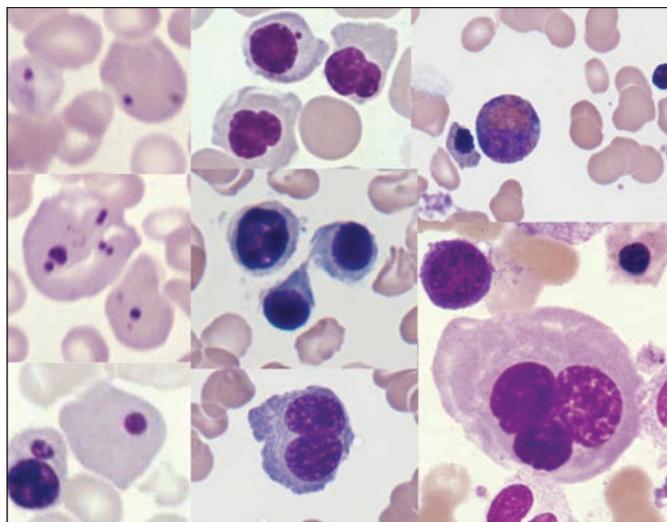


Figura 2 – Aspetti morfologici displastici della linea eritroide.

genitori eritroidi e diverse anomalie a carico del nucleo, quali la gemmazione e la frammentazione nucleare, i contorni nucleari irregolari, la carioressi, i ponti internucleari, la multinuclearità, la megaloblastosi e la cromatina grossolanamente addensata (Tabella 3; Figura 2). La presenza di vacuoli citoplasmatici e l'incompleta emoglobinnizzazione rappresentano ulteriori segni di displasia eritroide⁽³²⁻³⁴⁾. Per completare la valutazione della displasia a carico della linea eritroide, deve essere effettuata la reazione di Perls per valutare la presenza e il numero dei sideroblasti. I sideroblasti ad anello tipici delle SMD devono essere eritroblasti con un numero minimo di cinque granuli siderotici che coprono almeno un terzo della circonferenza nucleare⁽³⁴⁾. Frequentemente si possono osservare nel sangue periferico e nel midollo osseo anche alterazioni a carico dei granulociti: la disgranulopoiesi si può manifestare spesso sotto forma di anomalie nucleari, quali l'ipolobulazione (neutrofili pseudo-Pelger-Huet o monolobati), la presenza dei nuclei ipersegmentati e/o allargati, di frammenti nucleari, e di anomalie nella condensazione della cromatina, che spesso coesistono con l'ipolobulazione nucleare (Tabella 3; Figura 3).

Le caratteristiche citoplasmatiche della displasia a carico dei neutrofili includono l'ipogranularità, la presenza dei granuli pseudo-Che-diak-Higashi e raramente dei corpi di Auer. L'ipogranularità si verifica frequentemente ed è associata a difetti nella formazione dei granuli secondari. Tuttavia, la valutazione di questa caratteristica è altamente soggettiva e può dipendere dalla qualità della colorazione. L'osservazione al microscopio di un neutrofilo segmentato ben colorato e/o di un precursore dei neutrofili con granuli secondari ben sviluppati, preferibilmente nello stesso preparato, è indicativa di una buona qualità della colorazione. La morfologia dei megacariociti dovrebbe essere valutata analizzando sia gli strisci degli agoaspirati che le sezioni istologiche. Per l'identificazione della dismegacariopoiesi, l'esame di almeno 30 megacariociti è stato proposto unitamente alla soglia raccomandata del 10% di elementi displastici⁽²⁸⁾.

Le caratteristiche displastiche consistono nella presenza dei nuclei

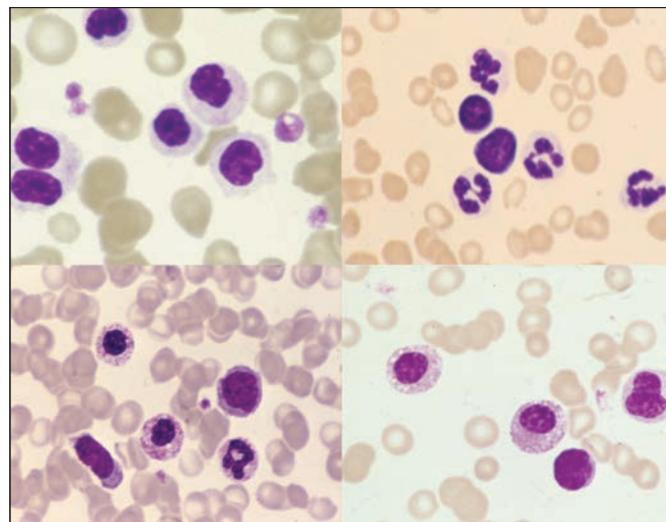


Figura 3 – Aspetti morfologici displastici dei granulociti neutrofili.

monolobati, ipolobati e iperlobati (Figura 4), e di nuclei multipli e ben distanziati come le forme *pawn-ball*.

I megacariociti di dimensione normale o ridotta con un singolo nucleo disposto in modo eccentrico sono frequenti nella sindrome del 5q- e nei casi con anomalie a carico del cromosoma 3.

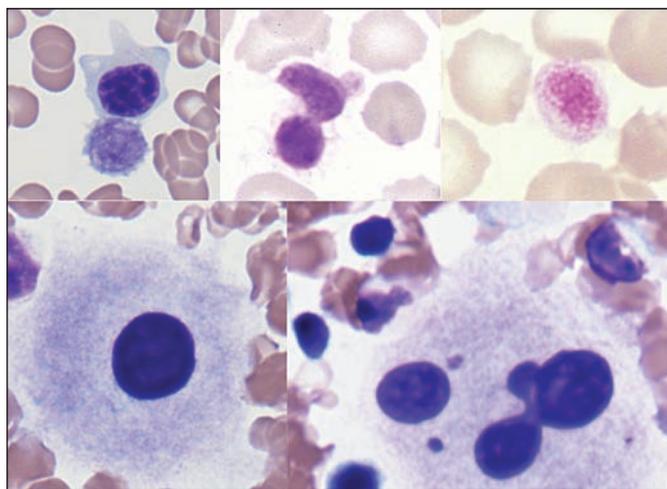


Figura 4 – Aspetti morfologici displastici delle piastrine e dei megacariociti

La displasia dei megacariociti è spesso associata alla trombocitopenia e ad alterazioni morfologiche delle piastrine, quali l'anisopoichilocitosi con a volte piastrine giganti, l'ipogranularità e i *blebs* citoplasmatici (Tabella 3).

Oltre alla valutazione del *grading* displastico e della linea cellulare coinvolta, la rilevazione/presenza di blasti costituisce un altro aspetto cruciale per una classificazione accurata delle SMD. In accordo con i criteri recentemente stabiliti, i mieloblasti sono definiti sulla base di diversi aspetti morfologici nucleari e citoplasmatici, quali l'alto rapporto nucleo/citoplasma, la presenza di nucleoli ben visibili, la struttura fine della cromatina nucleare e la variabile basofilia citoplasmatica. I mieloblasti possono presentare o meno granuli o corpi di Auer, mentre è spesso non visibile la zona di Golgi. Indipendentemente dal numero di granuli, i mieloblasti delle SMD devono essere classificati come agranulari o granulari^(33,34). Dato che la valutazione morfologica dei blasti risente della soggettività dell'operatore, il gruppo di lavoro internazionale sulla morfologia delle sindromi mielodisplastiche ha proposto alcune raccomandazioni per l'identificazione dei blasti e la diagnosi differenziale tra blasto granulare e promielocito displastico⁽³³⁾.

LINEA ERITROIDE	Sangue periferico	Anisocitosi Poichilocitosi Punteggiatura basofila
	Midollo osseo	Binuclearità Ponti internucleari Contorni nucleari irregolari Cambiamenti megaloblastoidi Sideroblasti ad anello Inclusioni citoplasmatiche Ponti citoplasmatici Emoglobinizzazione incompleta Vacuolarizzazione
LINEA MIELOIDE	Sangue periferico	Ipolobulazione nucleare granulocitaria (pseudo Pelger-Huet) Ipogranulazione/degranulazione citoplasmatica granulocitaria Blasti
	Midollo osseo	Forme nucleari bizzarre Ipolobulazione nucleare (pseudo Pelger-Huet) Ipersegmentazione nucleare Granuli pseudo Chediak-Higashi Ipogranulazione/degranulazione citoplasmatica Anisocitosi
LINEA MEGACARIOCITARIA	Sangue periferico	Anisocitosi piastrinica Piastrine giganti
	Midollo osseo	Grandi forme monolobulari Piccoli elementi binucleari Nuclei dispersi Micromegacariociti Degranulazione

Tabella 3 – Caratteristiche cellulari displastiche nel sangue periferico e nel midollo

Istopatologia

La BOM fornisce importanti informazioni sugli aspetti architetturali del tessuto midollare consentendo di valutare in modo completo la cellularità, le caratteristiche topografiche della componente megacariocitaria, la presenza, la percentuale e topografia di blasti e la fibrosi midollare. Consente, inoltre, di definire i quadri di SMD ipocellulari e soprattutto permette di effettuare diagnosi differenziale con altre condizioni come ad esempio l'aplasia midollare, le Leucemie Acute Mieloidi (LAM) ipocellulari o lesioni focali derivate da metastasi di neoplasie solide. Le colorazioni utilizzate includono l'ematossilina-eosina, il Giemsa, il blu di Prussia, immunocolorazioni per mieloperossidasi, glicoforina A o C, CD34, CD117, megacariociti (CD61 o CD42b), monociti (KP1/CD68, PGM1/CD68R), CD20 (per i linfociti B), CD3 (per i linfociti T), e l'impregnazione argentea di Gomori per valutare la fibrosi midollare⁽²⁹⁾. Nella maggior parte dei casi di SMD (circa l'80%) l'aspetto più frequentemente rilevato è rappresentato dalla dismegacariopoiesi con megacariociti ipo o iperlobulati, alto rapporto nucleo/citoplasma, cromatina delicata e presenza di uno o più nucleoli. Nel 70% circa dei casi di SMD la BOM rileva inoltre diseritropoiesi con megaloblastosi o con difetti di maturazione dell'eritrono, composto da cellule nello stesso stadio di sviluppo, talora con predominanza di proeritroblasti e/o eritroblasti basofili.

Nel midollo dei pazienti affetti da SMD viene meno la normale architettura midollare; spesso gruppi di cellule mieloidi immature (definiti aggregati se formati da 3-5 cellule o *cluster* se formati da più di 5 cellule) sono frequentemente osservati nel centro dello spazio midollare, al di fuori della loro localizzazione endosteale; questo fenomeno prende il nome di *ALIP (Abnormally Localized Immature Precursor)*, si verifica più frequentemente nei casi ad alto grado (AREB) e potrebbe quindi avere un importante significato prognostico⁽³⁵⁾. L'identificazione di tali *cluster* è spesso condizionata dall'esperienza dell'istopatologo e dalle dimensioni del campione biptico analizzato. Per questo motivo può essere importante procedere con l'immunocolorazione con anticorpi anti CD34 per identificare i cluster di blasti, sebbene alcuni blasti nelle SMD possano risultare negativi per tale antigene. La presenza di ALIP e/o di focolai di cellule CD34+ può essere indice di iniziale trasformazione leucemica.

Il midollo è generalmente iper o normocellulare, ma in una minoranza di pazienti (circa il 10%) è ipocellulare (SMD ipoplastiche)^(36,37). A questo gruppo non è stato attribuito un differente significato prognostico, tuttavia è necessario considerare una diagnosi differenziale sia con l'anemia aplastica che con le LAM ipocellulari. Quando si considera la diagnosi di SMD ipoplastica è importante escludere anche mielopatie da sostanze tossiche e disordini autoimmuni. La distinzione tra queste entità può essere difficoltosa poiché le differenze morfologiche possono essere lievi⁽³⁸⁾. La BOM è inoltre necessaria per stabilire il grado di fibrosi midollare. Il sistema più recente usato per indicare il grado di fibrosi midollare è quello dell'*European Myelofibrosis Network (EUMNET)*⁽³⁹⁾. Nel 10-20% dei casi di SMD si osserva una fibrosi moderata o severa (di grado 2 o 3 secondo l'EUMNET). Si osserva una fibrosi significativa soprattutto nei casi ad alto rischio e nelle SMD secondarie a chemioterapia

e/o a radioterapia, tuttavia la fibrosi può essere rilevata anche nei casi a basso rischio⁽³⁹⁾. Le SMD con marcata fibrosi midollare identificano un sottogruppo distinto di SMD con displasia multilineare, eccesso di blasti, aumentato fabbisogno trasfusionale e un decorso clinico più aggressivo^(40,41). Questi casi vanno attentamente valutati per la diagnosi differenziale con altre neoplasie mieloidi quali la leucemia mielomonocitica cronica (LMMC), la mielofibrosi primaria (MP), la leucemia megacarioblastica e la panmielosi acuta con mielofibrosi.

Citofluorimetria

L'analisi citofluorimetrica è una procedura raccomandata nella diagnostica delle SMD ma, a differenza dell'analisi morfologica su sangue periferico e midollo osseo e dell'analisi citogenetica, non è ritenuta indispensabile⁽¹⁴⁾. La valenza diagnostica della citofluorimetria nelle SMD consiste nella possibilità di rilevare anomalie nella differenziazione e/o l'espressione di antigeni aberranti a livello dei compartimenti mieloidi e linfoidi, sia immaturi che maturi⁽⁴²⁾.

È noto come la sola analisi morfologica abbia una scarsa riproducibilità e specificità nel riconoscimento delle alterazioni displastiche rendendo talora problematica la distinzione di alcune SMD e altre condizioni di citopenia non clonale⁽³⁾. Lo strumento più importante, oltre alla morfologia, è rappresentato dall'analisi citogenetica che presenta significato diagnostico, prognostico e terapeutico; tuttavia, soprattutto nei pazienti con cariotipo normale, è utile associare altri strumenti diagnostici e in questi casi la citofluorimetria può rappresentare un valido contributo⁽⁴³⁾.

L'analisi citofluorimetrica si esegue su midollo osseo in provetta eparinata (in alternativa contenente EDTA), conservato a temperatura ambiente per un massimo di 24 ore prima dell'analisi; le cellule incubate devono essere almeno 500.000 per combinazione di anticorpi⁽⁴⁴⁾. Nonostante nessuna aberrazione citofluorimetrica, se presa singolarmente, sia patognomica, la combinazione di diverse aberrazioni permette di discriminare le SMD dalle citopenie non clonali, dalle citopenie di significato incerto e da altre neoplasie mieloidi^(45,46). Singole anomalie fenotipiche maturative sono spesso presenti anche nella popolazione sana, quindi non sono specifiche per SMD ma è stato dimostrato che la coesistenza di diverse aberrazioni citofluorimetriche in pazienti con sospetta SMD correla con il grado di displasia valutato all'esame morfologico⁽⁴⁷⁾.

Il ruolo della citofluorimetria quindi è quello di supportare l'analisi morfologica e citogenetica nei casi dubbi; tale strumento risulta particolarmente utile nelle forme a basso rischio in cui spesso manca un'anomalia citogenetica clonale e quindi la diagnosi dovrebbe basarsi sulla sola morfologia. Inoltre, dopo la diagnosi di SMD, la citofluorimetria permette di distinguere le anemie refrattarie dalle citopenie refrattarie con displasia multilineare identificando anomalie immunofenotipiche nei compartimenti granulocitario e monocitario, contribuendo così ad una prima stratificazione prognostica. I requisiti minimi citofluorimetrici sono riassunti nella Tabella 4; l'analisi di questi parametri è possibile utilizzando un'indagine citofluorimetrica a quattro colori⁽⁴⁸⁾. Nella diagnostica delle SMD l'indagine

citofluorimetrica deve obbligatoriamente interessare almeno i precursori mieloidi dei quali si riporterà percentuale, proprietà fisiche, espressione di CD117, maturazione ed espressione di marcatori aberranti, permettendo così di differenziare i precursori mieloidi normali da quelli patologici. In seconda battuta possono essere valutati neutrofilo maturi, monociti, progenitori B cellulari e il compartimento eritroide; scarsamente informativo risulta invece lo studio della filiera megacariocitaria. I marcatori citofluorimetrici da analizzare sono: CD45, CD34, CD117, CD7, e CD19 sui progenitori mieloidi; CD13 e CD33 su progenitori mieloidi, monociti e neutrofilo maturi; HLA-DR e CD11b su progenitori mieloidi e monociti; CD14 sui monociti e CD16 sui neutrofilo maturi ^(47,49).

L'European Leukemia NET ha sviluppato nelle SMD uno *score* citofluorimetrico basato su parametri riproducibili per migliorarne l'accuratezza diagnostica, consentendo una sensibilità del 70% e una specificità del 93%. Questi parametri sono rappresentati dalle aberrazioni citofluorimetriche di più frequente riscontro: aumentata espressione di CD34 ed espressione aberrante di CD45 nella popolazione mieloblastica, diminuita espressione di CD34 nella popolazione linfoide B, diminuito valore di *Side Scatter* (SCC) nei granulociti ⁽⁵⁰⁾. È stata anche dimostrata una correlazione fra uno *score* immuno-

fenotipico e la prognosi in pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali ⁽⁵¹⁾. Infine l'indagine citofluorimetrica permette di individuare eventuali cloni recanti l'anomalia dell'emoglobinuria parossistica notturna (EPN) associati alla SMD, eventualità che si presenta in circa il 20% dei casi ⁽⁵²⁾. La citofluorimetria deve essere eseguita solo da personale esperto e non deve mai sostituirsi alla morfologia nel conteggio delle cellule immature in quanto non tutti i blasti esprimono il CD34 e la diluizione del campione o la sua manipolazione possono dare origine a risultati talora confondenti ⁽²⁹⁾. Ad oggi la principale limitazione all'utilizzo dell'analisi citofluorimetrica nelle SMD è che essa si basa su protocolli e metodi non perfettamente standardizzati, non ancora validati nell'ambito di studi multicentrici prospettici.

Citogenetica

L'indagine citogenetica ha un ruolo fondamentale nel documentare la presenza di clonalità in pazienti con sospetta SMD e rappresenta un'indagine indispensabile non solo nella diagnostica ma anche nella definizione della prognosi ⁽¹⁴⁾. In alcuni casi la citogenetica può essere utilizzata anche per la scelta terapeutica come nel caso della sindrome del 5q- che ha trovato nella lenalidomide un trattamento

LINEA CELLULARE	ANALISI RACCOMANDATE	ABERRAZIONI
Progenitori mieloidi e monocitari	Percentuale fra le cellule nucleate	Aumentata
	Espressione di CD45, CD34, CD117, HLA-DR, CD13 e CD33	Assente/diminuita/aumentata
	Espressione di CD11b e CD15	Espressione asincrona
	Espressione di CD5, CD7, CD19	Espressione aberrante
Neutrofilo maturi	Percentuale	Diminuita
	SSC vs SSC linfocitario	Diminuito
	Relazione fra CD13 e CD33 o CD16, relazione fra CD15 e CD10	Alterate
Monociti	Percentuale	Diminuita/aumentata
	Distribuzione dei gradi di maturazione	Incremento delle forme immature
	Espressione di CD13 e CD33	Aumentata/diminuita
	Relazione fra HLA-DR e CD11b, CD36 e CD14	Alterate
Progenitori B cellulari	Percentuale del totale di cellule CD34+	Diminuita/assente
Compartimento eritroide	Percentuale fra le cellule nucleate	Aumentata
	Espressione di CD71 e relazione con CD235a	Diminuita
	Espressione di CD36	Diminuita
	Percentuale di precursori CD117+	Aumentata

Tabella 4 – Criteri minimi raccomandati per la valutazione citofluorimetrica di displasia, adattato da Westers et al. ⁽⁴⁷⁾

efficace⁽⁵³⁾. Le anomalie citogenetiche spesso interessano singoli cromosomi, con alterazioni che di solito comportano guadagno o perdita di materiale genico (perdita o guadagno di un intero cromosoma, note rispettivamente come monosomia o trisomia, ovvero perdita di porzioni di un cromosoma, cioè delezioni). Meno frequentemente si rinvencono alterazioni della struttura sotto forma di inversioni di segmenti cromosomici o traslocazioni bilanciate che rappresentano scambi di materiale tra due o più cromosomi. In alcuni casi si rinviene un cariotipo complesso: questa condizione è spesso associata a riarrangiamenti che coinvolgono multipli cromosomi, inclusi i cosiddetti cromosomi derivativi (der) o marcatori (mar) che nascono dalla traslocazione di materiale di uno o più cromosomi su un altro cromosoma. Nelle forme di SMD secondaria si osservano talora i cosiddetti *double minutes*, rappresentati da piccole porzioni di cromosomi duplicati molte volte che, al pari delle *homogeneously staining regions* (segmenti di materiale genico aggiuntivo su un cromosoma che assume il colorante del bandeggio in maniera omogenea), rispecchiano fenomeni di amplificazione genica rilevanti per la progressione tumorale. Nelle SMD le delezioni sono le anomalie citogenetiche singole che si presentano con maggior frequenza⁽⁵⁴⁾. Anomalie citogenetiche sono presenti nel 50-60% dei

casi di SMD, la loro incidenza è anche superiore nelle forme ad alto rischio e arriva fino all'80% nelle forme secondarie. Le più frequenti fra queste anomalie sono (Tabella 5): delezione 5q, monosomia 7 o delezione 7q, trisomia 8, delezione 20q e perdita del cromosoma Y; il 10-15% delle SMD infine presenta cariotipi complessi con anomalie multiple⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾. Anomalie addizionali possono insorgere durante il corso della malattia spesso precedendo una possibile evoluzione in LAM⁽⁵⁸⁾. Un'analisi citogenetica su sangue midollare dovrebbe essere eseguita in tutti i pazienti con sospetta SMD candidabili all'esecuzione di un aspirato midollare, almeno 20 metafasi dovrebbero essere analizzate e descritte secondo le raccomandazioni dell'*International System for Human Cytogenetic Nomenclature* (ISCN)⁽⁵⁹⁾. Sulla base di queste linee guida si definisce clone la presenza di almeno 2 cellule midollari che mostrino un'anomalia strutturale o acquisizione di materiale genetico oppure almeno 3 cellule midollari che presentino la stessa perdita di materiale genetico. Come detto, un cariotipo si definisce invece complesso se presenta almeno 3 anomalie citogenetiche clonali indipendenti in almeno 2 cellule. Nonostante non esistano lesioni citogenetiche patognomoniche per SMD, in quanto la maggior parte di esse sono riscontrabili anche nelle LAM, il riscontro di una lesione citogenetica ricorrente in pazienti con citopenia non altrimenti spiegabile è sufficiente per porre diagnosi di SMD anche in assenza di displasia all'esame morfologico; secondo la classificazione WHO 2008 questa condizione farà parte della categoria SMD non classificabile⁽⁶⁰⁾.

Alcune anomalie citogenetiche come la trisomia 8 e la delezione 20q, nonostante siano frequentemente riscontrate nelle SMD, si presentano con elevata frequenza anche in altre patologie ematologiche come alcune sindromi mieloproliferative croniche e, talora, nell'anemia aplastica⁽⁶¹⁾. Nei casi dubbi o in cui non è possibile eseguire un cariotipo a causa di metafasi assenti o di scarsa qualità, l'analisi citogenetica convenzionale può essere sostituita dalla FISH eseguita su nuclei in interfase. L'utilizzo della FISH permette inoltre di riscontrare anomalie citogenetiche in un 15% dei casi in cui il cariotipo risulti normale all'indagine citogenetica convenzionale permettendo quindi l'individuazione di lesioni citogenetiche occulte e piccoli cloni⁽⁶²⁾.

L'indagine FISH dovrebbe comprendere le sonde per le seguenti regioni cromosomiche: 5q31, centromero dei cromosomi 7 e 8, 7q31, 20q, e 17p13⁽²⁹⁾. In caso di presenza di piccole percentuali di positività l'analisi dovrebbe essere ripetuta. Il limite principale della FISH è che può rilevare solo le lesioni genetiche per le quali vengono testate specifiche sonde di interesse. Ad oggi inoltre, gli *score* prognostici più utilizzati si basano sulla citogenetica convenzionale; l'esecuzione della FISH risulta quindi indicata solo in caso di fallimento ripetuto di questa metodica.

In casi selezionati in cui non sia disponibile materiale midollare l'indagine FISH può essere eseguita su cellule di sangue periferico pur considerando che un risultato negativo non esclude la presenza di anomalie citogenetiche coinvolgenti regioni cromosomiche non incluse nel pannello di sonde utilizzate.

ANOMALIA CITOGENETICA	FREQUENZA (%)
-5 o del (5q)	10-15
-7 o del (7q)	10
+8	5-10
i (17q) o t (17p)	2-3
del (12p) o t (12p)	1-2
del (11q)	1-2
-13 o del (13q)	1-2
del (9q)	1
idic (X) (q13)	1
inv (3) (q21;q26.2)	1
t (6;9) (p23;q34)	1
t (3;21) (q26.2;q22.1)	<1
t (1;3) (p36.3;q21.2)	<1
t (11;16) (q23;p13.3)	<1
t (2;11) (p21;q23)	<1

Tabella 5 – Frequenza delle anomalie citogenetiche ricorrenti nelle SMD. Adattato da Schanz J et al.⁽⁵⁷⁾

Delezione del cromosoma 5

La delezione del braccio lungo del cromosoma 5 (5q) è la più frequente anomalia cromosomica osservata nelle SMD, si presenta infatti in un 15% dei casi⁽⁶³⁾. Nonostante le delezioni siano spesso ampie, le indagini citogenetiche e molecolari hanno portato a riconoscere due regioni frequentemente delete: 5q33.1 associata alla sindrome 5q- e quindi ad un significato prognostico favorevole e 5q31 spesso associata alle SMD secondarie a terapia e quindi ad un significato prognostico sfavorevole^(64, 65).

Il braccio lungo del cromosoma 5 contiene numerosi geni implicati nella patogenesi delle SMD. La proteina RPS14, indispensabile per la maturazione della subunità ribosomiale 40S, è stata associata alla patogenesi della sindrome 5q- in cui è presente un deficit della funzione ribosomiale simile a quello osservato nell'anemia di Diamond-Blackfan⁽⁶⁶⁾. Il deficit ribosomiale indotto dalla delezione di RPS14 sarebbe potenziato dalla perdita dei geni codificanti per i micro-RNA miR-145 e miR-146, anch'essi codificati in questa regione cromosomica⁽⁶⁷⁾.

Studi in modelli murini suggeriscono che il danno ribosomiale presente nella sindrome 5q- determini un danno cellulare con meccanismo p53 dipendente⁽⁶⁸⁾.

Un ruolo nella espansione clonale può essere giocato dalla perdita di geni quali SPARC, mentre la sensibilità del clone 5q- alla lenalidomide sarebbe determinata dalla delezione di CDC25C e PP2A; altri geni situati sul braccio lungo del cromosoma 5, comunemente associati alle SMD secondarie a terapia e alla LAM sono EGR1, NPM1, CTNNA1 e APC^(69, 70).

Monosomia o delezione del cromosoma 7

Le anomalie del cromosoma 7 sono rappresentate per il 90% dei casi da monosomie e per il 10% dei casi da delezioni del braccio lungo (7q), sono presenti in circa il 10% dei pazienti con SMD de novo e in circa il 50% dei pazienti con SMD secondaria a terapia⁽⁷¹⁾. Ad oggi non sono stati identificati geni potenzialmente coinvolti nella patogenesi delle SMD. Una interessante associazione è recentemente emersa tra delezione 7q e mutazioni del gene SETBP1⁽⁷²⁾.

Trisomia del cromosoma 8

La trisomia del cromosoma 8 è presente in meno del 10% dei casi di SMD, il ruolo di questa anomalia citogenetica nella patogenesi delle SMD è stato associato ad un'augmentata espressione dell'oncogene MYC e di altri geni antiapoptotici⁽⁷³⁾. Nelle SMD con questa anomalia è stata prospettata una genesi autoimmune: è infatti stata documentata la presenza di espansioni oligoclonali di linfociti T CD8+ soppressori in grado di riconoscere l'antigene WT1, sovraespresso nelle cellule CD34+ di SMD recanti trisomia 8⁽⁷⁴⁾.

È inoltre riportata la possibilità di rispondere alla terapia immunosoppressiva⁽⁷⁵⁾. Occorre precisare tuttavia che i fattori biologici predittivi più significativi sono rappresentati dalla giovane età dall'espressione dell'HLA-B15⁽⁷⁶⁾.

Delezioni del cromosoma 20

Le delezioni del braccio lungo del cromosoma 20 (20q) sono presenti in meno del 5% dei casi di SMD. Ad oggi sono state individuate regioni comunemente delete ma non ancora geni associati alla patogenesi della malattia⁽⁷⁷⁾. Poco meno di un terzo dei casi con 20q- può presentare anomalie citogenetiche aggiuntive, soprattutto nelle fasi avanzate di malattia⁽⁷⁸⁾.

Perdita del cromosoma Y

La perdita del cromosoma Y è un'anomalia frequente nell'uomo, soprattutto nell'anziano, anche in assenza di patologia ematologica, perciò non si ritiene che abbia un ruolo nella patogenesi delle SMD⁽⁷⁹⁾.

Cariotipo complesso

Presente nel 5-10% dei casi, questa condizione riflette una condizione di instabilità genetica e di evoluzione clonale; si associa frequentemente ad anomalie dei cromosomi 5 e/o 7 e alla mutazione di TP53⁽⁸⁰⁾.

Classificazione

L'integrazione tra le valutazioni morfologiche, istopatologiche e citogenetiche consente di definire la diagnosi di SMD in accordo con l'attuale classificazione proposta dalla WHO del 2008 (Tabella 6).

In base a questa classificazione vengono identificate sette distinte categorie: le citopenie refrattarie con displasia unilineare (CRDU), l'anemia refrattaria con sideroblasti ad anello (ARSA), la citopenia refrattaria con displasia multilineare (CRDM), l'anemia refrattaria con eccesso di blasti (AREB), la SMD con isolata del (5q), la sindrome mielodisplastica inclassificabile (SMD-U) e la citopenia refrattaria dell'infanzia⁽⁶⁰⁾. Tale classificazione rappresenta uno strumento utile per la definizione di diversi sottotipi caratterizzati da differenti prognosi.

1	Citopenie refrattarie con displasia unilineare (CRDU) - Anemia refrattaria (AR) - Neutropenia refrattaria (NR) - Trombocitopenia refrattaria (TR)
2	Anemia refrattaria con sideroblasti ad anello (ARSA)
3	Citopenia refrattaria con displasia multilineare (CRDM)
4	Anemia refrattaria con eccesso di blasti (AREB-1 e 2)
5	Sindrome mielodisplastica con del(5q) isolata
6	Sindrome mielodisplastica inclassificabile (SMD-U)
7	Sindrome mielodisplastica del bambino Entità provvisoria: Citopenia refrattaria del bambino

Tabella 6 – Classificazione WHO 2008⁽²⁸⁾

Tra le principali differenze rispetto alla precedente edizione della classificazione WHO 2001 vi è l'introduzione della nuova categoria CRDU, che comprende l'anemia refrattaria (AR), la neutropenia refrattaria (NR) e la trombocitopenia refrattaria (TR); tali condizioni rappresentano complessivamente circa il 10-20% di tutte le SMD. Questo sottotipo include i pazienti con citopenia isolata o bicitopenia associata a displasia unilineare.

Indipendentemente dalla linea emopoietica coinvolta, i blasti nel gruppo delle CRDU sono assenti o rappresentano meno dell'1% della conta differenziale del sangue periferico. La CRDU ha un lungo decorso clinico e raramente progredisce in LAM (il tasso di trasformazione è di meno del 5% dopo 5 anni). La maggior parte dei pazienti con CRDU presenta un'anemia normocitica/normocromica o macrocitica con anisopoichilocitosi e anisocromasia e meno dell'1% di blasti nel sangue periferico.

Similmente, il numero di blasti nel midollo non è aumentato (meno del 5%). Le diagnosi di NR e TR sono molto rare interessando circa l'1-2% di tutti i casi di SMD. Queste entità sono caratterizzate da neutropenia (ANC, *Absolute Neutrophil Count*, meno di $1.8 \times 10^9/L$) o trombocitopenia (meno di $100 \times 10^9/L$) unitamente a morfologia displastica nella rispettiva linea emopoietica.

È stata modificata la definizione di sideroblasti ad anello rispetto alla WHO 2001⁽⁸¹⁾; l'unica categoria caratterizzata dalla presenza dei sideroblasti ad anello è rappresentata dall'anemia refrattaria con sideroblasti ad anello (ARSA)⁽²⁸⁾. I pazienti con ARSA presentano anemia inspiegabile, morfologia displastica a carico della linea eritroide e almeno il 15% di sideroblasti ad anello. I blasti non si osservano nel sangue periferico e rappresentano meno del 5% delle cellule del midollo osseo. È importante ricordare che i sideroblasti possono essere osservati in un'ampia varietà di stati reattivi e possono comparire transitoriamente in associazione con l'esposizione ai farmaci e tossine. L'ARSA rappresenta il 5-10% di tutti i casi di SMD ed è considerata una malattia a basso rischio essendo caratterizzata da progressione in LAM soltanto nell'1-2% dei casi.

Le due categorie di citopenia refrattaria con displasia multilineare definite nella WHO 2001 (CRDM e CRDM-SA) sono ormai riconosciute come un'unica categoria (CRDM), che include i casi caratterizzati da displasia a carico di 2 o 3 linee cellulari midollari. È comunque importante segnalare l'eventuale presenza dei sideroblasti ad anello al fine di predire la risposta al trattamento terapeutico. I pazienti con CRDM, caratterizzati da un tempo di sopravvivenza mediana di circa 3 anni, hanno una prognosi più sfavorevole e un rischio maggiore di sviluppare leucemia rispetto ai pazienti con CRDU e ARSA (caratterizzati da una sopravvivenza mediana di circa 6 anni). È comunque importante sottolineare che la prognosi dei pazienti con CRDM dipende dal grado di displasia e dai dati citogenetici. La CRDM rappresenta un sottotipo comune che rappresenta il 30-40% dei casi di SMD.

Sono stati definiti, inoltre, due diversi sottotipi di anemia refrattaria con eccesso di blasti (AREB-1 e AREB-2). I pazienti con un numero di blasti compreso tra il 2-4% nel sangue periferico e con una

percentuale nel midollo osseo inferiore al 5% sono classificati come AREB di tipo 1, mentre i pazienti con una percentuale di blasti nel sangue periferico compresa tra il 5% e il 19% o tra il 10-19% nel midollo osseo sono classificati come AREB di tipo 2. I pazienti con AREB presentano una severa citopenia, mostrano dispoiesi in tutte le linee emopoietiche ed hanno un più alto rischio di sviluppare LAM con una sopravvivenza mediana di 1-2 anni. La sopravvivenza correla con la percentuale dei blasti nel sangue periferico e nel midollo osseo.

Se l'analisi citogenetica mostra la presenza di una del(5q) isolata senza eccesso di blasti, la diagnosi è di SMD con del(5q) isolata. In questa condizione si osserva più frequentemente anemia, tuttavia anche altre citopenie possono essere evidenziate. La sindrome del 5q- è caratterizzata da anemia macrocitica e da una conta normale o elevata delle piastrine. I blasti comprendono meno dell'1% dei leucociti nel sangue periferico. La monocitosi è assente. Il midollo osseo mostra frequentemente ipoplasia eritroide e aumento della megacariopoiesi con i tipici megacariociti monolobati o ipolobati. Raramente può essere osservata anche displasia a carico della serie eritroide e mieloidi. I blasti rappresentano meno del 5% di cellule nucleate midollari. I corpi di Auer sono assenti. La prognosi dei pazienti con la sindrome del 5q- è generalmente favorevole e la maggior parte dei pazienti risponde al trattamento con l'immunomodulatore lenalidomide. Tuttavia, è importante distinguere la sindrome del 5q- dai casi con delezioni del 5q più prossimali associate a SMD e LAM ad alto rischio. La SMD-U rappresenta un sottotipo di SMD che comprende i casi che non soddisfano i criteri di altri sottotipi. Può essere diagnosticata nei pazienti che presentano le seguenti caratteristiche:

- non sono soddisfatti i criteri per una diagnosi di CRDU o CRDM, ma in occasione di almeno due prelievi consecutivi si riscontra l'1% dei blasti nel sangue periferico;
- pancitopenia e displasia morfologica limitata alla linea emopoietica;
- citopenia persistente, nessun aumento dei blasti, assenza di caratteristiche morfologiche diagnostiche della SMD (meno del 10% di cellule displastiche in ogni linea), ma presenza di anomalie citogenetiche clonali considerate come una prova presuntiva della SMD.

Secondo la classificazione WHO del 2008, se nel corso della malattia insorgono caratteristiche di uno specifico sottotipo di SMD, il caso inizialmente classificato come SMD-U dovrebbe essere riclassificato. La prognosi di SMD-U è variabile e devono essere effettuati controlli ravvicinati.

Infine, la classificazione WHO del 2008 ha definito un subset di pazienti pediatrici con specifiche caratteristiche differenti da quelle normalmente osservate negli adulti. È stata inclusa una categoria distinta definita come citopenia refrattaria dell'infanzia; essa comprende i bambini con SMD che hanno citopenia persistente con meno del 2% dei blasti nel sangue periferico e meno del 5% dei blasti nel midollo.

Prognosi

Le SMD rappresentano un gruppo di disordini estremamente eterogenei dal punto di vista del decorso clinico, infatti comprendono forme indolenti a basso rischio con un'aspettativa di vita simile alla popolazione generale e forme ad alto rischio, più simili ad una LAM. I fattori prognostici possono essere suddivisi in fattori correlati alle caratteristiche della malattia (percentuale dei blasti, presenza di anomalie cromosomiche, grado di insufficienza midollare) e fattori legati alle caratteristiche del paziente (età, comorbidità, richiesta trasfusionale).

Fattori prognostici legati alla malattia

La definizione del rischio correlato alle caratteristiche della malattia si avvale di sistemi prognostici che combinano molteplici caratteristiche cliniche con variabili ematologiche. Nel 1997 l'*International SMD Risk Analysis Workshop* ha proposto il sistema IPSS basato sulla valutazione della presenza di blasti nel midollo, anomalie citogenetiche e numero di citopenie periferiche⁽²⁰⁾ (Tabella 7). In base a questo sistema vengono identificate 4 classi di rischio (basso, intermedio-1, intermedio-2 e alto) con differente sopravvivenza media e probabilità di evoluzione in LAM.

Il sistema IPSS ha rappresentato per molti anni il riferimento per le decisioni cliniche e per il disegno di numerosi importanti *trial* clinici. Successivamente si è visto che altri fattori possono avere un importante significato prognostico, come la displasia multilineare, l'anemia severa o la dipendenza da trasfusione e la presenza di fibrosi midollare^(41,82,83).

Queste variabili sono state integrate nel nuovo sistema prognostico WPSS, basato sulla classificazione WHO, in grado di classificare i pazienti in 5 classi di rischio (molto basso, basso, intermedio, alto, molto alto) con differente sopravvivenza e probabilità di

evoluzione leucemica^(84,85). Questo sistema è stato validato in diverse casistiche di pazienti affetti da SMD ed è stato recentemente incluso nelle linee guida terapeutiche del *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN)⁽⁸⁶⁾. Nel sistema WPSS la displasia multilineare, l'anemia severa o la dipendenza da trasfusione e la presenza di fibrosi midollare consentono una più accurata definizione della prognosi soprattutto nelle classi a rischio basso o intermedio-1 definite dal sistema IPSS⁽⁸⁷⁾. Il sistema WPSS, inoltre, ha il vantaggio di essere efficace anche in momenti diversi dalla diagnosi e può essere utilizzato come un sistema di *score* prognostico dinamico.

Più recentemente l'*International Working Group* per la prognosi delle SMD ha rivisto il sistema IPSS (IPSS-R) sulla base dell'analisi di un'ampia coorte di pazienti non trattati affetti da SMD⁽²¹⁾ (Tabella 8).

Quest'analisi ha consentito di attribuire un significato prognostico anche alle più rare anomalie citogenetiche, identificando 5 gruppi di rischio citogenetico invece dei tre identificati dal sistema IPSS; le anomalie citogenetiche insieme alla valutazione dei blasti midollari e alle citopenie periferiche sono alla base del nuovo sistema IPSS-R⁽²¹⁾. Sono a disposizione dei sistemi di calcolo online per definire la classe di rischio IPSS-R (<http://www.ipss-r.com>).

I pazienti inclusi nel gruppo a rischio molto alto hanno una media di sopravvivenza di soli 0.8 anni, mentre la sopravvivenza media dei pazienti a rischio molto basso è di 8.8 anni, comunque molto diversa dall'aspettativa di vita degli individui coetanei appartenenti alla popolazione generale⁽²¹⁾. Questo *score*, tuttavia, è più complicato da utilizzare rispetto al sistema IPSS e non è ancora stato incorporato nelle linee guida o nella definizione dei pazienti inclusi in *trial* terapeutici. Altri studi hanno confermato il significato prognostico di alcuni fattori precedentemente identificati come

SCORE	0	0.5	1	1.5	2
Categoria di rischio Citogenetico	Favorevole	Intermedia	Sfavorevole		
Percentuale di blasti midollari	<5	5-10		11-20	21-30
Citopenie	0/1	2/3			
CATEGORIA DI RISCHIO PROGNOSTICO	SCORE	Gruppi citogenetici: Favorevole: cariotipo normale, del (5q), del (20q); Intermedio: alterazioni non incluse negli altri due gruppi; Sfavorevole: cariotipo complesso (> 3 anomalie cromosomiche), anomalie del cromosoma 7 Definizione di citopenia: Emoglobina < 10 g/dl; Neutrofili < 1,8x10 ⁹ /l Piastrine: <100x10 ⁹ /l			
Basso	0				
Int-1	0.5-1.0				
Int-2	1.5-2.0				
Alto	≥2.5				

Tabella 7 – International Prognostic Scoring System (IPSS).

il grado di fibrosi midollare, i livelli sierici di LDH, l'albumina, la 2-microglobulina, la ferritina e la richiesta trasfusionale (40,84,88,89). Anche se sono stati identificati nuovi fattori con significato prognostico e sono stati introdotti nuovi sistemi di scoring per migliorare la stratificazione dei pazienti con SMD, la maggior parte degli studi clinici condotti fino ad ora per valutare l'efficacia e la sicurezza degli agenti terapeutici si sono basati principalmente sul sistema IPSS (14). Di conseguenza tutte le attuali raccomandazioni basate su evidenze terapeutiche si riferiscono a pazienti stratificati secondo il sistema IPSS. Pertanto, è attualmente raccomandato che tutti i pazienti siano stratificati per rischio secondo tale sistema. Tuttavia, alcuni studi clinici e registri prospettici includono anche la stratificazione dei pazienti secondo i sistemi WPSS e IPSS-R (14). Recentemente si è visto che anche l'analisi immunofenotipica mediante citometria a flusso può essere utile per identificare sottogruppi di pazienti con diverse caratteristiche cliniche e risposta ai trattamenti terapeutici (90,91). La diffusione, inoltre, delle tecnologie di sequenziamento massivo ha consentito di identificare nuove mutazioni somatiche che potrebbero essere inserite negli *score* prognostici e consentire una più accurata stratificazione di rischio dei pazienti (80,92,93). Per cinque anomalie genetiche (mutazioni dei geni TP53, ETV6, RUNX1, ASXL1, EZH2) è stato definito un significato prognostico sfavorevole (80,94,95). Le mutazioni del gene SF3B1 sono associate ad anemia e alla presenza di sideroblasti ad anello (96).

Fattori prognostici legati al paziente

Diversi fattori legati alle condizioni generali di salute del paziente influenzano il decorso clinico e la gestione dei pazienti. Tra questi fattori sono inclusi l'età, le comorbidità, le abilità funzionali (il *performance status*), le condizioni di nutrizione e lo stato cognitivo. L'età avanzata è un fattore prognostico sfavorevole indipendente condizio-

na la probabilità di sopravvivenza ed è stato inserito in diversi *score* prognostici (19-21). Nei pazienti affetti da SMD è stata osservata un'elevata incidenza di comorbidità; più della metà dei pazienti in fase di diagnosi presenta una o più comorbidità con un impatto significativo sulla sopravvivenza (22,23). La comorbidità più frequente è rappresentata dalle patologie cardiache e un significativo incremento di complicanze cardiache è stato riportato nei pazienti con anemia severa o con dipendenza da trasfusioni (26). I problemi legati alla presenza di comorbidità sono diversi se si considerano le classi di pazienti con SMD a basso e ad alto rischio. Nei pazienti a basso rischio le comorbidità influenzano la prognosi aumentando direttamente il rischio di morte per cause non legate alla evoluzione leucemica. Al contrario, nei pazienti ad alto rischio la rilevanza clinica delle comorbidità lievi o moderate è superata dalla severità della malattia; in questi pazienti, tuttavia, le comorbidità influenzano il decorso riducendo la tolleranza al trattamento terapeutico (24).

La rilevanza prognostica delle comorbidità può avere importanti implicazioni nella gestione dei pazienti e migliora notevolmente la stratificazione di rischio dei pazienti in relazione ai criteri legati alla malattia soprattutto nel gruppo dei pazienti a basso rischio.

È stato introdotto e validato uno *score* per le comorbidità che considera come fattori di rischio le comorbidità cardiache, epatiche, renali e polmonari, insieme ad evidenze di tumori solidi (26).

Sindromi mielodisplastiche secondarie a terapia

L'incidenza delle SMD secondarie a terapia è in aumento a causa dell'utilizzo di regimi di radioterapia e chemioterapia intensivi e dell'aumentata sopravvivenza dei pazienti affetti da patologie oncoematologiche. Ad oggi queste forme rappresentano il 10-20% delle SMD e sono una delle più gravi complicanze a lungo termine del-

SCORE	0	0.5	1	1.5	2	3	4
Categoria di rischio Citogenetico	Molto Favorevole		Favorevole		Intermedia	Sfavorevole	Molto Sfavorevole
Percentuale di blasti midollari	≤ 2		> 2 - < 5		5-10	> 10	
Emoglobina (g/dl)	≥ 10		8 - < 10	< 8			
Piastrine (10 ⁹ /l)	≥ 100	50 - < 100	≥ 50				
ANC (10 ⁹ /l)	≥ 0.8	< 0.8					
CATEGORIA DI RISCHIO PROGNOSTICO	SCORE	<p>Gruppi citogenetici: Molto Favorevole: -Y, del (11q); Favorevole: cariotipo normale, del (5q), del (12p), del (20q), del(5q) con un'altra anomalia; Intermedio: del (7q), +8, +19, i (17q), alterazioni cromosomiche non incluse negli altri gruppi; Sfavorevole: -7, inv (3)t (3q)/del (3q), -7/del (7q) con un'altra anomalia, cariotipo complesso (3 anomalie cromosomiche); Molto sfavorevole: cariotipo complesso (> 3 anomalie cromosomiche)</p>					
Molto Basso	≤ 1.5						
Basso	> 1.5-3						
Intermedio	> 3-4.5						
Alto	> 4.5-6						
Molto Alto	> 6						

Tabella 8 – Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R).

le terapie antineoplastiche⁽⁹⁷⁾. Le SMD secondarie sono caratterizzate da displasia trilineare, elevata frequenza di lesioni citogenetiche e comportamento clinico più aggressivo rispetto alle SMD insorte de novo, tuttavia non vengono inserite come entità autonoma nella classificazione IPSS⁽⁹⁸⁾. Il tempo di latenza medio dall'esposizione è di 4-7 anni⁽⁹⁸⁾, ma può variare da mesi ad anni in base al regime antineoplastico a cui il paziente è stato sottoposto. Fra i farmaci antitumorali risulta particolarmente rilevante l'esposizione ad alchilanti, antracicline, inibitori delle topoisomerasi^(99,100) e il trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche^(101,102) (Tabella 9). Il rischio di sviluppare una SMD a 10 anni da un trapianto autologo di cellule staminali è stato quantificato pari al 19,8%⁽¹⁰³⁾. L'accelerato accorciamento dei telomeri potrebbe avere un significato patogenetico in queste SMD in particolar modo in quelle secondarie a trapianto⁽¹⁰⁵⁾. Alcuni studi suggeriscono inoltre una correlazione fra SMD e utilizzo di fattori di crescita granulocitari⁽¹⁰⁴⁾. Le anomalie citogenetiche sono molto più frequenti in queste forme rispetto alle SMD insorte de novo e interessano la quasi totalità dei casi: in particolare monosomie e delezioni a carico dei cromosomi 5 e 7 so-

no presenti in un 50-70% dei casi, i cariotipi normali invece rappresentano solo il 5-10% dei casi⁽⁹⁸⁾. Traslocazioni bilanciate coinvolgenti la regione 11q23 sono correlate all'utilizzo di inibitori delle topoisomerasi⁽¹⁰⁶⁾. Fra le mutazioni geniche la più frequente nelle SMD secondarie a terapia è la mutazione del gene MLL sul cromosoma 11; altre mutazioni descritte coinvolgono i geni LMA1, RARA, CBFβ e RUNX1⁽¹⁰⁷⁾. Nonostante la mutazione di TP53 sia presente in meno del 10% delle SMD, nelle forme secondarie a terapia arriva al 28-38% dei casi associandosi spesso a delezioni dei cromosomi 5 e 7 o a cariotipi complessi⁽¹⁰⁸⁾. Alcuni polimorfismi di enzimi implicati nella detossificazione dei farmaci antineoplastici come NADPH ossidoreduttasi, glutatione transferasi e CYP3A4 sono stati associati ad un'aumentata suscettibilità allo sviluppo di SMD secondarie a terapia⁽¹⁰⁹⁾, così come polimorfismi del gene TP53⁽¹¹⁰⁾ e diversi polimorfismi di singolo nucleotide SNP⁽¹¹¹⁾. Recentemente studi di *gene expression profiling* hanno permesso di individuare, in pazienti trattati con trapianto autologo di cellule staminali, alcuni *pattern* di espressione genica dei progenitori emopoietici maggiormente associati allo sviluppo di SMD⁽¹¹²⁾.

Alchilanti	Busulfano Carboplatino Carmustina Chlorambucil Cisplatino Ciclofosfamide Dacarbazina Melphalan Procarbazina Thiotepa
Inibitori delle topoisomerasi II	Dactinomicina Daunorubicina Doxorubicina Etoposide Mitoxantrone
Antimetaboliti	Fludarabina 6-Mercaptopurina Methotrexate
Agenti antimicrotubuli	Vinblastina Vincristina
Immunomodulatori	Azatioprina
Fattori di crescita granulocitari	
Radioterapia	

Tabella 9 – Agenti citotossici implicati nello sviluppo di SMD secondarie a terapia. Adattato da Czader M et al.⁽¹⁰²⁾

Bibliografia

1. Rollison DE, Howlander N, Smith MT, Strom SS, Merritt WD, Ries LA et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood*. 2008;12(1):45-52.
2. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. 2010;116(19):3724-34.
3. Smith A, Howell D, Patmore R, Jack A, Roman E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *Br J Cancer*. 2011;105(11):1684-92.

4. Cogle CR, Craig BM, Rollison DE, List AF. Incidence of the myelodysplastic syndromes using a novel claims-based algorithm: high number of uncaptured cases by cancer registries. *Blood*. 2011;117(26):7121-5.
5. Kuendgen A, Strupp C, Aivado M, Hildebrandt B, Haas R, Gattermann N et al. Myelodysplastic syndromes in patients younger than age 50. *J Clin Oncol*. 2006 ;24(34):5358-65.
6. Meyers CA, Albitar M, Estey E. Cognitive impairment, fatigue, and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *Cancer*. 2005;104(4):788-93.
7. Soppi E, Nousiainen T, Seppa A, Lahtinen R. Acute febrile neutrophilic dermatosis (Sweet's syndrome) in association with myelodysplastic syndromes: a report of three cases and a review of the literature. *Br J Haematol*. 1989;73(1):43-7.
8. Saif MW, Hopkins JL, Gore SD. Autoimmune phenomena in patients with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2002;43(11):2083-92.
9. Ma X, Lim U, Park Y, Mayne ST, Wang R, Hartge P et al. Obesity, lifestyle factors, and risk of myelodysplastic syndromes in a large US cohort. *Am J Epidemiol*. 2009;169(12):1492-9.
10. Rigolin GM, Cuneo A, Roberti MG, Bardi A, Bigoni R, Piva N et al. Exposure to myelotoxic agents and myelodysplasia: case-control study and correlation with clinicobiological findings. *Br J Haematol*. 1998;103(1):189-97.
11. Le Deley MC, Suzan F, Cutuli B, Delaloue S, Shamsaldin A, Linossier C et al. Anthracyclines, mitoxantrone, radiotherapy, and granulocyte colony-stimulating factor: risk factors for leukemia and myelodysplastic syndrome after breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(3):292-300.
12. Tarella C, Passera R, Magni M, Benedetti F, Rossi A, Gueli A et al. Risk factors for the development of secondary malignancy after high-dose chemotherapy and autograft, with or without rituximab: a 20-year retrospective follow-up study in patients with lymphoma. *J Clin Oncol*. 2011;29(7):814-24.
13. Schnatter AR, Glass DC, Tang G, Irons RD, Rushon L. Myelodysplastic syndrome and benzene exposure among petroleum workers: an international pooled analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(22):1724-37.
14. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, Del Cañizo C et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood*. 2013;122(17):2943-64.
15. Alter BP, Greene MH, Velazquez I, Rosenberg PS. Cancer in Fanconi anemia. *Blood*. 2003;101(5):2072.
16. Kee Y, D'Andrea AD. Molecular pathogenesis and clinical management of Fanconi anemia. *J Clin Invest*. 2012;122(11):3799-806.
17. Kumar T, Mandla SG, Greer WL. Familial myelodysplastic syndrome with early age of onset. *Am J Hematol*. 2000;64(1):53-8.
18. Holme H, Hossain U, Kirwan M, Walne A, Vulliamy T, Dokal I. Marked genetic heterogeneity in familial myelodysplasia/acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2012;158(2):242-8.
19. Morel P, Declercq C, Hebbar M, Bauters F, Fenaux P. Prognostic factors in myelodysplastic syndromes: critical analysis of the impact of age and gender and failure to identify a very-low-risk group using standard mortality ratio techniques. *Br J Haematol*. 1996;94(1):116-9.
20. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997;89(6):2079-88.
21. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.
22. Goldberg SL, Chen E, Corral M, Guo A, Mody-Patel N, Pecora AL et al. Incidence and clinical complications of myelodysplastic syndromes among United States Medicare beneficiaries. *J Clin Oncol*. 2010;28(17):2847-52.
23. Sperr WR, Wimazal F, Kundi M, Baumgartner C, Nösslinger T, Makrai A et al. Comorbidity as prognostic variable in SMD: comparative evaluation of the HCT-CI and CCI in a core dataset of 419 patients of the Austrian SMD Study Group. *Ann Oncol*. 2010;21(1):114-9.
24. Della Porta MG, Malcovati L. Clinical relevance of extra-hematologic comorbidity in the management of patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2009;94(5):602-6.
25. Zipperer E, Pelz D, Nachtkamp K, Kuendgen A, Strupp C, Gattermann N et al. The hematopoietic stem cell transplantation comorbidity index is of prognostic relevance for patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2009;94(5):729-32.
26. Della Porta MG, Malcovati L, Strupp C, Ambaglio I, Kuendgen A, Zipperer E et al. Risk stratification based on both disease status and extra-hematologic comorbidities in patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2011;96(3):441-9.
27. Naqvi K, Garcia-Manero G, Sardesai S, Oh J, Vigil CE, Pierce S et al. Association of comorbidities with overall survival in myelodysplastic syndrome: development of a prognostic model. *J Clin Oncol*. 2011;29(16):2240-6.
28. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, Eds. World Health Organization classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC; 2008.
29. Valent P, Horny HP, Bennett JM, Fonatsch C, Germing U, Greenberg P, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference. *Leuk Res*. 2007;31(6):727-36.
30. Schroeder T, Ruf L, Bernhardt A, Hildebrandt B, Aivado M, Aul C, et al. Distinguishing myelodysplastic syndromes (SMD) from idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS): HUMARA unravels clonality in a subgroup of patients. *Ann Oncol* 2010;21(11):2267-71.
31. Mufti GJ, Goasguen J, Bain BJ, et al. Minimal diagnostic criteria and differential diagnosis of SMD: IWGM- SMD consensus proposal for identification of idiopathic cytopenia of uncertain significance (ICUS). Presented at 9th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes, Florence, Italy, 2007.
32. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 1982;51(2):189-199.
33. Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, et al. International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM- SMD) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica*. 2008;93(11):1712-1717.
34. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Vallespi T, Brunning R, Mufti GJ; International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome. Morphological evaluation of monocytes and their precursors. *Haematologica*. 2009;94(7):994-997.
35. Verburgh E, Achten R, Maes B, Hagemeyer A, Boogaerts M, De Wolf-Peeters C, et al. Additional prognostic value of bone marrow histology in patients subclassified according to the International Prognostic Scoring System for myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2003;21(2):273-82.
36. Huang TC, Ko BS, Tang JL, et al. Comparison of hypoplastic myelodysplastic syndrome (SMD) with normo-/hypercellular SMD by International Prognostic Scoring System, cytogenetic and genetic studies. *Leukemia*. 2008;22(3):544-550.
37. Sloan EM. Hypocellular myelodysplasia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23(2):347-360.
38. Bennett JM, Orazi A. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standardized approach. *Haematologica*. 2009; 94(2):264-268.
39. Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, Van der Walt J, Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 2005;90(8):1128-32.
40. Buesche G, Teoman H, Wilczak W, Ganser A, Hecker H, Wilkens L, et al. Marrow fibrosis predicts early fatal marrow failure in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2008;22(2):313- 322.
41. Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, Travaglio E, Pietra D, Pascutto C, et al. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2009; 27(5):754-762
42. Stetler-Stevenson M, Arthur DC, Jabbour N, Xie XY, Molldrem J, Barrett AJ et al. Dia-

- gnostic utility of flow cytometric immunophenotyping in myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2001;98(4):979-87.
43. Arroyo JL, Fernández ME, Hernández JM, Orfao A, San Miguel JF, del Cañizo MC. Impact of immunophenotype on prognosis of patients with myelodysplastic syndromes. Its value in patients without karyotypic abnormalities. *Hematol J*. 2004;5(3):227-33.
 44. Van de Loosdrecht AA, Alhan C, Béné MC, Della Porta MG, Dräger AM, Feuillard J et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2009;94(8):1124-34.
 45. Malcovati L, Della Porta MG, Lunghi M, Pascutto C, Vanelli L, Travaglino E et al. Flow cytometry evaluation of erythroid and myeloid dysplasia in patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 2005;19(5):776-83.
 46. Kern W, Haferlach C, Schnitter S, Haferlach T. Clinical utility of multiparameter flow cytometry in the diagnosis of 1013 patients with suspected myelodysplastic syndrome: correlation to cytomorphology, cytogenetics, and clinical data. *Cancer*. 2010;116(19):4549-63.
 47. Westers TM, Ireland R, Kern W, Alhan C, Balleisen JS, Bettelheim P et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group. *Leukemia*. 2012;26(7):1730-41.
 48. Borowitz MJ, Craig FE, Diguseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010;78(4):211-30.
 49. Wood BL, Arroz M, Barnett D, DiGiuseppe J, Greig B, Kussick SJ et al. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry B Clin Cytom*. 2007;72 Suppl 1:S14-22.
 50. Della Porta MG, Picone C, Pascutto C, Malcovati L, Tamura H, Handa H et al. Multicenter validation of a reproducible flow cytometric score for the diagnosis of low-grade myelodysplastic syndromes: results of a European LeukemiaNET study. *Haematologica*. 2012;97(8):1209-17.
 51. Scott BL, Wells DA, Loken MR, Myerson D, Leisenring WM, Deeg HJ. Validation of a flow cytometric scoring system as a prognostic indicator for posttransplantation outcome in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2008;112(7):2681-6.
 52. Borowitz MJ, Craig FE, Diguseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010;78(4):211-30.
 53. List A, Dewald G, Bennett J, Giagounidis A, Raza A, Feldman E et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med*. 2006;355(14):1456-65.
 54. Haase D, Germing U, Schanz J, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Hildebrandt B et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in SMD and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*. 2007;110(13):4385-95.
 55. Rigolin GM, Cuneo A, Roberti MG, Bardi A, Bigoni R, Piva N et al. Exposure to myelotoxic agents and myelodysplasia: case-control study and correlation with clinicobiological findings. *Br J Haematol*. 1998;103(1):189-97.
 56. Pozdnyakova O, Miron PM, Tang G, Walter O, Raza A, Woda B et al. Cytogenetic abnormalities in a series of 1,029 patients with primary myelodysplastic syndromes: a report from the US with a focus on some undefined single chromosomal abnormalities. *Cancer*. 2008;113(12):3331-40.
 57. Schanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (SMD) and oligoblastic acute myeloid leukemia after SMD derived from an international database merge. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):820-9.
 58. Jabbour E, Takahashi K, Wang X, Cornelison AM, Abruzzo L, Kadia T et al. Acquisition of cytogenetic abnormalities in patients with IPSS defined lower-risk myelodysplastic syndrome is associated with poor prognosis and transformation to acute myelogenous leukemia. *Am J Hematol*. 2013;88(10):831-7.
 59. ISCN. An international system for human cytogenetic nomenclature. *Cytogenet Cell Genet* 1981;31(1):5-23.
 60. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-51.
 61. Steensma DP, Dewald GW, Hodnefeld JM, Tefferi A, Hanson CA. Clonal cytogenetic abnormalities in bone marrow specimens without clear morphologic evidence of dysplasia: a form fruste of myelodysplasia? *Leuk Res*. 2003;27(3):235-42.
 62. Rigolin GM, Bigoni R, Milani R, Cavazzini F, Roberti MG, Bardi A et al. Clinical importance of interphase cytogenetics detecting occult chromosome lesions in myelodysplastic syndromes with normal karyotype. *Leukemia*. 2001;15(12):1841-7.
 63. Jerez A, Gondek LP, Jankowska AM, Makishima H, Przychodzen B, Tiu RV et al. Topography, clinical, and genomic correlates of 5q myeloid malignancies revisited. *J Clin Oncol*. 2012;30(12):1343-9.
 64. Boultonwood J, Fidler C, Strickson AJ, Watkins F, Gama S, Kearney L et al. Narrowing and genomic annotation of the commonly deleted region of the 5q- syndrome. *Blood*. 2002;99(12):4638-41.
 65. Kantarjian H, O'Brien S, Ravandi F, Borthakur G, Faderl S, Bueso-Ramos C et al. The heterogeneous prognosis of patients with myelodysplastic syndrome and chromosome 5 abnormalities: how does it relate to the original lenalidomide experience in SMD? *Cancer*. 2009;115(22):5202-9.
 66. Ebert BL, Pretz J, Bosco J, Chang CY, Tamayo P, Galili N et al. Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature*. 2008;451(7176):335-9.
 67. Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, Sung S, Morin R, Muranyi A et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med*. 2010;16(1):49-58.
 68. Barlow JL, Drynan LF, Hewett DR, Holmes LR, Lorenzo-Abalde S, Lane AL et al. A p53-dependent mechanism underlies macrocytic anemia in a mouse model of human 5q- syndrome. *Nat Med*. 2010;16(1):59-66.
 69. Joslin JM, Fernald AA, Tennant TR, Davis EM, Kogan SC, Anastasi J et al. Haploinsufficiency of EGRI1, a candidate gene in the del(5q), leads to the development of myeloid disorders. *Blood*. 2007;110(2):719-26.
 70. Lane SW, Sykes SM, Al-Shahrour F, Shterental S, Paktinat M, Lo Celso C et al. The Apc (min) mouse has altered hematopoietic stem cell function and provides a model for MPD/ SMD. *Blood*. 2010;115(17):3489-97.
 71. Le Beau MM, Espinosa R 3rd, Davis EM, Eisenbart JD, Larson RA, Green ED. Cytogenetic and molecular delineation of a region of chromosome 7 commonly deleted in malignant myeloid diseases. *Blood*. 1996;88(6):1930-5.
 72. Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, Przychodzen B, Sanada M, Okuno Y et al. Somatic SETBP1 mutations in myeloid malignancies. *Nat Genet*. 2013;45(8):942-6.
 73. Bejar R, Levine R, Ebert BL. Unraveling the molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2011;29(5):504-15.
 74. Sloand EM, Melenhorst JJ, Tucker ZC, Pfannes L, Brenchley JM, Yong A et al. T-cell immune responses to Wilms tumor 1 protein in myelodysplasia responsive to immunosuppressive therapy. *Blood*. 2011;117(9):2691-9.
 75. Sloand EM, Mainwaring L, Fuhrer M, Ramkissoon S, Risitano AM, Keyvanfar K et al. Preferential suppression of trisomy 8 compared with normal hematopoietic cell growth by autologous lymphocytes in patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2005;106(3):841-51.
 76. Sloand EM, Wu CO, Greenberg P, Young N, Barrett J. Factors affecting response and survival in patients with myelodysplasia treated with immunosuppressive therapy. *J Clin Oncol*. 2008;26(15):2505-11.
 77. Bench AJ, Nacheva EP, Hood TL, Holden JL, French L, Swanton S et al. Chromosome 20 deletions in myeloid malignancies: reduction of the common deleted region, generation of a PAC/BAC contig and identification of candidate genes. UK Cancer Cytogenetics Group (UKCCG). *Oncogene*. 2000;19(34):3902-13.
 78. Bacher U, Haferlach T, Schnitter S, Zenger M, Meggendorfer M, Jeromin S et al. Investigation of 305 patients with myelodysplastic syndromes and 20q deletion for associated cytogenetic and molecular genetic lesions and their prognostic impact. *Br J Haematol*. 2014;164(6):822-33.
 79. Wiktor A, Rybicki BA, Piao ZS, Shurafa M, Barthel B, Maeda K et al. Clinical significance of Y chromosome loss in hematologic disease. *Genes Chromosomes Cancer*.

- 2000;27 (1):11-6.
80. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2011;304(26):2496-506.
 81. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*. 2002;100 (7):2292-2302.
 82. Kantarjian H, O'Brien S, Ravandi F, et al. Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring System. *Cancer*. 2008; 113 (6):1351-1361.
 83. Kao JM, McMillan A, Greenberg PL. International SMD risk analysis workshop (IM-RAW)/IPSS reanalyzed: impact of cytopenias on clinical outcomes in myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol*. 2008;83 (10):765-770.
 84. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, Della Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2007; 25 (23):3503-3510.
 85. Malcovati L, Della Porta MG, Strupp C, Ambaglio I, Kuendgen A, Nachtigal K, et al. Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). *Haematologica*. 2011;96 (10):1433-1440.
 86. Greenberg PL, Attar E, Bennett JM, Bloomfield CD, Borate U, De Castro CM, et al. Myelodysplastic syndromes. *J Natl Compr Canc Netw*. 2013;11 (7):838-874.
 87. Cazzola M, Malcovati L. Prognostic classification and risk assessment in myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2010; 24 (2):459-468.
 88. Germing U, Hildebrandt B, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Valent P, Fonatsch C, et al. Refinement of the international prognostic scoring system (IPSS) by including LDH as an additional prognostic variable to improve risk assessment in patients with primary myelodysplastic syndromes (SMD). *Leukemia*. 2005;19 (12):2223-31.
 89. Neumann F, Gattermann N, Barthelmes HU, Haas R, Germing U. Levels of beta 2 microglobulin have a prognostic relevance for patients with myelodysplastic syndrome with regard to survival and the risk of transformation into acute myelogenous leukemia. *Leuk Res*. 2009;33:232-6. *Leuk Res* 2009;33(2):232-6.
 90. Van de Loosdrecht AA, Westers TM, Westra AH, Dräger AM, van der Velden VH, Ossenkoppele GJ. Identification of distinct prognostic subgroups in low- and intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes by flow cytometry. *Blood*. 2008;111 (3):1067-1077.
 91. Westers TM, Alhan C, Chamuleau ME, van der Vorst MJ, Eeltink C, Ossenkoppele GJ, van de Loosdrecht AA. Aberrant immunophenotype of blasts in myelodysplastic syndromes is a clinically relevant biomarker in predicting response to growth factor treatment. *Blood*. 2010;115 (9):1779-1784.
 92. Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature*. 2011; 478 (7367):64-69.
 93. Malcovati L, Papaemmanuil E, Bowen DT, Boulwood J, Della Porta MG, Pascutto C et al. Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2011;118 (24):6239-6246.
 94. Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, Abdel-Wahab O, Steensma DP, Galili N et al. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2012;30(27):3376-82.
 95. Thol F, Friesen I, Damm F, Yun H, Weissinger EM, Krauter J, et al. Prognostic significance of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2011;29(18):2499-506.
 96. Patnaik MM, Lasho TL, Hodnefield JM, Knudson RA, Ketterling RP, Garcia-Manero G, et al. SF3B1 mutations are prevalent in myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts but do not hold independent prognostic value. *Blood*. 2012;119(2):569-72.
 97. Leone G, De Gregori J, Jakoi L, Cook JG, Nevins JR. The incidence of secondary leukemias. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96 (12):6626-31.
 98. Smith SM, Le Beau MM, Huo D, Karrison T, Sobels RM, Anastasi J et al. Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: the University of Chicago series. *Blood*. 2003 1;102 (1):43-52.
 99. Rigolin GM, Cuneo A, Roberti MG, Bardi A, Bigoni R, Piva N et al. Exposure to myelotoxic agents and myelodysplasia: case-control study and correlation with clinicobiological findings. *Br J Haematol*. 1998;103 (1):189-97.
 100. Le Deley MC, Suzan F, Cutuli B, Delalogue S, Shamsaldin A, Linossier C et al. Anthracyclines, mitoxantrone, radiotherapy, and granulocyte colony-stimulating factor: risk factors for leukemia and myelodysplastic syndrome after breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25 (3):292-300.
 101. Tarella C, Passera R, Magni M, Benedetti F, Rossi A, Gueli A et al. Risk factors for the development of secondary malignancy after high-dose chemotherapy and autograft, with or without rituximab: a 20-year retrospective follow-up study in patients with lymphoma. *J Clin Oncol*. 2011;29 (7):814-24.
 102. Czader M, Orzi A. Therapy-related myeloid neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2009;132(3):410-25.
 103. Friedberg JW, Neuberg D, Stone RM, Alyea E, Jallow H, LaCasce A et al. Outcome in patients with myelodysplastic syndrome after autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*. 1999;17 (10):3128-35.
 104. Chakraborty S, Sun CL, Francisco L, Sabado M, Li L, Chang KL et al. Accelerated telomere shortening precedes development of therapy-related myelodysplasia or acute myelogenous leukemia after autologous transplantation for lymphoma. *J Clin Oncol*. 2009;27 (5):791-8.
 105. Gruschus SK, Lairson D, Dunn JK, Risser J, Du XL. Use of white blood cell growth factors and risk of acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome among elderly patients with non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2010;116 (22):5279-89.
 106. Pedersen-Bjergaard J, Philip P. Balanced translocations involving chromosome bands 11q23 and 21q22 are highly characteristic of myelodysplasia and leukemia following therapy with cytostatic agents targeting at DNA-topoisomerase II. *Blood*. 1991;78 (4):1147-8.
 107. Abdel-Wahab O, Figueroa ME. Interpreting new molecular genetics in myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012; 2012:56-64.
 108. Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Mutations with loss of heterozygosity of p53 are common in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia after exposure to alkylating agents and significantly associated with deletion or loss of 5q, a complex karyotype, and a poor prognosis. *J Clin Oncol*. 2001;19(5):1405-13.
 109. Bolufer P, Collado M, Barragan E, Calasanz MJ, Colomer D, Tormo M et al. Profile of polymorphisms of drug-metabolising enzymes and the risk of therapy-related leukaemia. *Br J Haematol*. 2007;136(4):590-6.
 110. Ellis NA, Huo D, Yildiz O, Worrillow LJ, Banerjee M, Le Beau MM et al. MDM2 SNP309 and TP53 Arg72Pro interact to alter therapy-related acute myeloid leukemia susceptibility. *Blood*. 2008;112(3):741-9.
 111. Knight JA, Skol AD, Shinde A, Hastings D, Walgren RA, Shao J et al. Genome-wide association study to identify novel loci associated with therapy-related myeloid leukemia susceptibility. *Blood*. 2009;113(22):5575-82.
 112. Li L, Li M, Sun C, Francisco L, Chakraborty S, Sabado M et al. Altered hematopoietic cell gene expression precedes development of therapy-related myelodysplasia/acute myeloid leukemia and identifies patients at risk. *Cancer Cell*. 2011;20 (5):591-605.

Parole Chiave

Morfologia, Citofluorimetria, Citogenetica, Classificazione

Indirizzi per la corrispondenza

Giorgina Specchia

Sezione di Ematologia con Trapianto

Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organi

(D.E.T.O.) Policlinico Piazza G. Cesare, 11 - 70124 Bari Italy

Tel/Fax (+39) 080 5593471

E-mail: giorgina.specchia@uniba.it



Domenica Caramazza, Francesco Passamonti

Ematologia, Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese

Introduzione

Il termine mielodisplasia è utilizzato in patologia per la descrizione di particolari anomalie morfologiche che interessano gli elementi delle linee mieloidi coinvolte nell'emopoiesi e che caratterizzano tipicamente le sindromi mielodisplastiche (SMD) (1). Nella classificazione delle neoplasie del sistema emopoietico e dei tessuti linfoidei dell'Organizzazione Mondiale della Sanità WHO, le SMD sono definite come disturbi clonali delle cellule staminali emopoietiche caratterizzate da citopenia, mielodisplasia, emopoiesi inefficace, e aumentato rischio di progressione in leucemia mieloide acuta (LMA) (1). La mielodisplasia non è limitata alle SMD, ma può essere riscontrata anche in altre neoplasie mieloidi secondo la classificazione WHO (Tabella 1). Sebbene i diversi sottotipi di neoplasie mieloidi abbiano caratteristiche distintive, esse possono condividere alcune anomalie morfologiche.

SOTTOGRUPPI PRINCIPALI	Patologie
SMD	Citopenia refrattaria con displasia unilineare, ARSA, citopenia refrattaria con displasia multilineare (CRDM), citopenia refrattaria con eccesso di blasti (AREB, tipo 1 e2), SMD con del(5q) isolata
NMP*	Leucemia mieloide cronica (LMC) (BCR-ABL1 positiva), leucemia neutrofilica cronica (LNC), policitemia vera, trombocitemia essenziale, mielofibrosi primaria (LMCE), mastocitosi
SMD/NMP	LMMC, leucemia mieloide cronica atipica (LMCa, BCR-ABL1 negativa), leucemia mielomonocitica cronica giovanile (LMMCG), ARSA-T
LMA	Vari sottotipi basati sulla morfologia dei blasti e/o su particolari anomalie genetiche

*Neoplasia mieloproliferativa
La Classificazione WHO delle neoplasie mieloidi include anche neoplasie mieloidi e linfoidei con eosinofilia e mutazioni di PDGFRA, PDGFRB O FGFR1 (1).

Tabella 1 – Classificazione WHO delle neoplasie mieloidi

L'esempio paradigmatico è l'anemia refrattaria con sideroblasti ad anello associata a marcata trombocitosi ARSA-T, che presenta sia le caratteristiche mielodisplastiche dell'anemia refrattaria con sideroblasti ad anello che le caratteristiche mieloproliferative della trombocitemia essenziale.

Questo suggerisce che gli aspetti morfologici di displasia presenti in diverse neoplasie mieloidi possano riflettere sottostanti comuni anomalie genetiche e che queste ultime contribuiscano a determinare i corrispettivi fenotipi clinici (2). Il sequenziamento genico di pazienti con SMD e neoplasie correlate è stato da poco terminato (3). Per un approfondimento sulla caratterizzazione genomica delle neoplasie mieloidi, si consigliano alcuni studi di genomica ed epigenomica sulle LMA, (4,5) oltre ad una review, (6) e al recente studio di Vogelstein et al. (7).

Le diverse tappe patogenetiche

Le SMD sono malattie clonali dell'emopoiesi displastica (1). La clonalità è dimostrabile con plurimi approcci, ma indubbiamente quello più semplice è l'identificazione di anomalie cromosomiche o riarrangiamenti genici utilizzabili come marcatori specifici di clonalità in popolazioni di cellule emopoietiche purificate (8). Utilizzando questo approccio, è stato dimostrato che le anomalie cromosomiche risultano essere limitate ai progenitori delle cellule mieloidi in pazienti affetti da sindrome mielodisplastica, suggerendo che la lesione genetica è avvenuta in una cellula emopoietica con la capacità di differenziarsi in cellule mieloidi mature (9,10). Walter et al. (11) ha identificato con il sequenziamento dell'intero genoma mutazioni somatiche in campioni di midollo osseo di pazienti con LMA evolute da SMD e successivamente studiato ciascun paziente da cui era stato ottenuto un campione di midollo osseo durante l'antecedente fase di SMD. Circa l'85-90% delle cellule del midollo osseo sono risultate clonali in questi pazienti, sia nella fase di SMD che nella fase di LMA, indipendentemente dal numero di blasti. Questo studio ha formalmente dimostrato che tutte le cellule delle linee mieloidi del midollo osseo (cioè globuli rossi immaturi, precursori di granulociti/monociti e megacariociti) derivano da una popolazione cellulare clonale in pazienti affetti da sindromi mielodisplastiche in qualsiasi

fase della malattia e non solo dopo la trasformazione in LMA ⁽¹¹⁾. Lo studio della mutazione TET2 ha svelato l'architettura clonale nelle SMD: cellule CD34+ di pazienti con sindromi mielodisplastiche sono state frazionate in cellule CD34+CD38- immature e progenitori CD34+ CD38+ maturi. Anche se le mutazioni di TET2 sono state riscontrate soltanto in una piccola frazione di cellule CD34+CD38-, erano presenti in un'elevata percentuale di progenitori più maturi ⁽¹²⁾. Ciò indica che la mutazione somatica iniziale di TET2 si è verificata in una cellula CD34+CD38- ed è stata poi trasmessa alla sua discendenza di cellule CD34+CD38+. Una simile architettura clonale è stata più recentemente osservata anche nei pazienti con leucemia mielomonocitica cronica (LMMC) ⁽¹³⁾.

La presenza di una mutazione somatica in una cellula staminale emopoietica immatura determina un vantaggio di sopravvivenza e di proliferazione (ad esempio, minore propensione all'apoptosi). Si forma così un clone locale, che potrebbe essere destinato a diventare dominante e propagarsi nel corpo ^(14,15) con meccanismi che rimangono in gran parte sconosciuti ⁽¹⁴⁾.

Tuttavia, è noto che le cellule staminali emopoietiche mutate tendono a raggiungere la predominanza clonale nel midollo osseo, e la maggior parte delle cellule mature circolanti derivano dal clone dominante. Lo sviluppo di un clone displastico pienamente dominante nel midollo osseo, può diventare clinicamente evidente o non determinare alcuna anomalia fenotipica. Per esempio, una mutazione somatica di SF3B1 sembra essere in grado di determinare un fenotipo clinico, ^(16,17) mentre una mutazione di TET2 può indurre un'emopoiesi clonale senza manifestazioni ematologiche ⁽¹⁸⁾ suggerendo che potrebbero essere necessari geni mutanti cooperanti per l'espressione fenotipica. L'emopoiesi mielodisplastica è caratterizzata da un'eccessiva apoptosi dei precursori emopoietici ⁽¹⁹⁾ e l'emopo-

iesi inefficace, cioè la prematura morte intramidollare degli eritroblasti, granulociti immaturi/monociti e megacariociti, è il principale evento responsabile del difetto di produzione di cellule mature del sangue periferico e dunque della citopenia periferica. Dovremmo pertanto assumere, come suggerito da Cazzola et al. ⁽²⁾ in una recente review, che la mutazione somatica responsabile di un guadagno di funzione a livello delle cellule staminali comporti la perdita di funzione a livello dei precursori delle cellule emopoietiche. La ARSA associata a mutazione di SF3B1 rappresenta un esempio esplicativo di un guadagno di funzione a livello di cellule staminali emopoietiche combinato con la perdita di funzione (eccessiva apoptosi delle cellule eritroidi immature) a livello del precursore emopoietico. ⁽¹⁷⁾ Nella LMMC, una precoce dominanza clonale delle mutazioni di TET2 porta ad una differenziazione soprattutto della linea granulomonocitica a spese di quella eritroide e megacariocitaria. ⁽¹³⁾ Durante il corso naturale della malattia, i pazienti con SMD possono progredire in LMA, ⁽¹⁾ a causa dell'acquisizione di ulteriori mutazioni con sub-cloni di cellule emopoietiche, determinando un'ulteriore compromissione della differenziazione e/o alterata capacità di maturazione. La percentuale di blasti aumenta progressivamente nel tempo, fino ad un quadro conclamato di LMA. Questo è stato dimostrato da Walter et al. ⁽¹¹⁾ in uno studio sull'architettura clonale dell'LMA secondaria. In ciascuno dei pazienti studiati, infatti, la progressione in LMA era definita dalla persistenza di un antecedente clone mielodisplastico e dall'emergere di un sub-clone caratterizzato da nuove mutazioni somatiche.

Così, la LMA secondaria a una SMD non è monoclonale in senso stretto, ma è un mosaico di diversi cloni/genomi con diverse mutazioni somatiche, esprimendo il concetto di eterogeneità intratumorale ⁽¹¹⁾.

SOTTOGRUPPI PROGNOSTICI	Anomalie citogenetiche	Proporzione dei pazienti con SMD, % (# pazienti: 7121)	Sopravvivenza globale mediana, anni	Mediana di tempo di evoluzione del 25% in LMA, anni
MOLTO BUONO	-Y, del (11q)	4	5,4	Non raggiunta
BUONO	Cariotipo normale, del (5q), del (12p), del (20q), anomalie doppie inclusa la del (5q)	72	4,8	9,4
INTERMEDIO	del (7q), +8, +19, i (17q), qualsiasi altra anomalia singola o doppia di cloni indipendenti	13	2,7	2,5
ALTO	-7, inv (3)/t (3q)/del (3q), doppie che includono -7/del (7q), complesso: 3 anomalie	4	1,5	1,7
MOLTO ALTO	Cariotipo complesso: >3 anomalie	7	0,7	0,7

Tabella 2 – Il modello prognostico basato sulla citogenetica ⁽²⁷⁾

Anomalie cromosomiche

Il ruolo fondamentale delle anomalie cromosomiche è dimostrato sia per la diagnosi sia per la definizione prognostica delle SMD. Per quanto riguarda la diagnosi, la presenza di un'anomalia citogenetica in un paziente con citopenia periferica e displasia del midollo osseo è un importante indicatore di proliferazione clonale. Dunque, la diagnosi di SMD può essere difficile in pazienti con un cariotipo normale.⁽²⁰⁾ Le anomalie cromosomiche ricorrenti vengono riscontrate in circa il 50% dei pazienti con SMD,⁽²¹⁾ e le anomalie citogenetiche singole più comuni sono la del (5q), la trisomia 8, la del (20q), e la monosomia 7 o del (7q)⁽²¹⁻²³⁾. Questi sono eventi genetici probabilmente secondari, derivanti dall'instabilità del genoma causata da una mutazione genetica *founding*⁽⁶⁾.

L'unica eccezione alla regola nota finora è la del(5q) isolata, che caratterizza la sindrome 5q-: infatti l'aploinsufficienza per RPS14 e miR-145, nella mappatura della regione comune eliminata, rappresenta la base fisiopatologica di questo sottotipo di SMD⁽²⁴⁻²⁶⁾. Per quanto riguarda la rilevanza prognostica delle anomalie citogenetiche ricorrenti, in un recente studio collaborativo finalizzato a sviluppare la revisione del sistema prognostico internazionale per le SMD (IPSS-R), i dati di pazienti provenienti da diverse istituzioni internazionali sono stati uniti per generare un *database* nel quale sono state studiate le anomalie citogenetiche di 7012 pazienti⁽²⁷⁾; in base all'impatto prognostico di tali anomalie citogenetiche è stato possibile individuare 5 sottogruppi prognostici con diverse mediane di sopravvivenza e di rischio di evoluzione in LMA (Tabella 2).

La classificazione del rischio citogenetico in 5 gruppi, come riportato nella Tabella 2, ha un impatto predittivo anche sull'*outcome* del trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche⁽²⁸⁾. In particolare, i pazienti con un cariotipo complesso (sottogruppo citogenetico a prognosi molto sfavorevole) hanno avuto una sopravvivenza molto breve dopo il trapianto. Questo era vero anche per il cariotipo monosomico, definito come la presenza di 2 monosomie autosomiche o 1 monosomia in combinazione con altre anomalie strutturali⁽²⁸⁾. Dunque, le anomalie cromosomiche probabilmente continueranno ad avere rilevanza clinica nelle SMD anche nell'era della medicina genomica⁽²⁹⁾.

Mutazioni geniche somatiche

La comprensione delle basi molecolari delle SMD è migliorata negli ultimi 4 anni. Il primo importante passo avanti è stato l'identificazione di mutazioni somatiche di TET2 in pazienti con riarrangiamenti del cromosoma 4q24^(12,30). Successivamente, Bejar et al.⁽³¹⁾ ha usato il next-generation sequencing e la spettrometria di massa in 439 pazienti con SMD. Negli ultimi due anni, gli studi sul sequenziamento del genoma hanno portato alla scoperta di mutazioni nella splicing machinery dell'RNA^(16,32,33), come mutazioni di SETBP1 nella LMCa⁽³⁴⁾, e mutazioni di CSF3R nella LNC⁽³⁴⁾.

È stata eseguita anche l'analisi di geni candidati, rilevanti nella fisiopatologia della mielodisplasia, utilizzando tecniche innovative come il sequenziamento massivo in parallelo, 3,36 o combinando il sequenziamento *deep* con l'ibridazione genomica *array-based*. In

più di 700 pazienti arruolati nei 2 studi più ampi si è visto come la frequenza delle lesioni genetiche sia compresa tra 78% e 90%. Un elenco dei geni più frequentemente mutati nei pazienti con SMD o SMD/NMP, sulla base di studi pubblicati finora, è riportata nella Tabella 3.

Mutazioni dello spliceosoma

Il pre-mRNA *splicing* è catalizzato dall'enzima *spliceosome*, una macromolecola composta da 5 piccoli RNA nucleari associati a proteine per formare particelle denominate piccole ribonucleoproteine nucleari snRNP⁽¹⁷⁾. Più del 50% dei pazienti con mielodisplasia presenta mutazioni somatiche in geni che codificano per proteine coinvolte nel sito di riconoscimento in 3' e nella funzione del snRNPU2⁽³⁾. Le mutazioni dello spliceosoma sono generalmente acquisite in età avanzata⁽³⁷⁾. Inoltre le mutazioni dello spliceosoma dell'RNA sono reciprocamente esclusive e sono spesso *founding*. Infatti, il carico allelico della mutazione è tipicamente compreso tra il 40% e il 50%, indicando la presenza di un clone nel midollo osseo che è eterozigote per la mutazione^(38,39). Mutazioni *hotspot* sono state descritte più frequentemente in 3 geni: SF3B1, SRSF2 e U2AF1; quasi tutte le mutazioni descritte sono missense, senza evidenza di mutazioni *nonsense* o *frameshift*^(3,32,33). Sono stati descritti diversi modelli di *missplicing* associati alle mutazioni dei geni sopra elencati^(40,41). Complessivamente, i dati attuali suggeriscono che le mutazioni dello spliceosoma interessano il sito di riconoscimento dello *splice* e la funzione del snRNPU2 producendo verosimilmente una nuova proteina isoforme che possa determinare una dominanza clonale di cellule emopoietiche staminali mutate⁽⁶⁾. Le diverse mutazioni dello *spliceosome* sono associate a diversi fenotipi e a diversi quadri clinici (Tabella 3)^(3,39).

Mutazioni somatiche di SF3B1 si trovano quasi esclusivamente in pazienti con anemia refrattaria con sideroblasti ad anello senza o con trombocitosi (ARSA e ARSA-T rispettivamente), e questo suggerisce chiaramente un relazione causale tra la mutazione e la formazione del sideroblasto ad anello⁽¹⁷⁾. Inoltre, la maggioranza dei pazienti con mutazione SF3B1 ha una prognosi favorevole, un decorso clinico indolente con una bassa probabilità di evoluzione in LMA⁽³⁸⁾. Mutazioni di SRSF2 si trovano principalmente in pazienti con displasia multilineare e/o eccesso di blasti e sono associate ad un elevato rischio di evoluzione leucemica e ad una ridotta sopravvivenza^(42,44). Mutazioni di SRSF2 sono state riscontrate in circa un quinto dei casi di LMA evolute da NMP⁽⁴⁵⁾ e, in particolare, sono state riportate nel 40-50% dei pazienti con LMMC dove sono spesso associate con mutazioni di TET2^(13,32). Mutazioni somatiche di U2AF1 sono state segnalate in vari sottotipi di SMD e sembrano essere predittive di un elevato rischio di evoluzione leucemica⁽³³⁾ e di una sopravvivenza sensibilmente ridotta⁽⁴²⁾. L'osservazione che le mutazioni dello spliceosoma sono principalmente mutazioni *founding* associate ai diversi fenotipi clinici ha portato ad ipotizzare che diano luogo alla formazione di popolazioni cellulari clonali con una predestinazione genetica diversa⁽³⁾.

GENI E PATHWAYS BIOLOGICI	FREQUENZA %*	TIPO DI MUTAZIONE §	RELAZIONE TRA IL GENE MUTATO E IL FENOTIPO CLINICO	PROGNOSI E RILEVANZA PREDITTIVA DEL GENE MUTATO
RNA SPLICING				
SFR3B1	15-30%	Più spesso una mutazione <i>founding</i>	Strettamente associata con il fenotipo dei sideroblasti ad anello (ARSA, ARSA-T)	Associata ad una buona sopravvivenza globale e ad un basso rischio di evoluzione leucemica
SRSF2	10-20%	Più spesso una mutazione <i>founding</i>	Associata con CRDM o AREB, co-mutata con <i>TET2</i> nella LMMC	Associata ad una scarsa sopravvivenza globale e ad un elevato rischio di evoluzione leucemica
U2AF1	< 10%	Più spesso una mutazione <i>founding</i>	Associata soprattutto a CRDM o AREB	Associata ad un elevato rischio di evoluzione in leucemia
ZRSR2	< 10%	Più spesso una mutazione <i>founding</i>	Non definita	Non definita
METILAZIONE DEL DNA				
TET2	20-30%	Più spesso una mutazione <i>founding</i>	Trovata in tutti i sottotipi di SMD, con alta frequenza mutazionale (50-60%) nella LMMC	Nessun impatto sulla sopravvivenza globale, può essere predittivo di risposta agli agenti ipometilanti
DNMT3A	~ 10%	Più spesso una mutazione <i>founding</i>	Trovata in tutti i sottotipi di SMD, co-mutata con SF3B1 nella ARSA	Associata ad una cattiva prognosi, mitigata da SF3B1 nella ARSA
IDH1/IDH2	~ 5%	Più spesso una mutazione <i>founding</i>	Associata con CRDM o AREB	Associata ad un <i>outcome</i> clinico sfavorevole
MODIFICAZIONE DELLA CROMATINA				
ASXL1	15-20%	Più spesso mutazione subclonale	Associata con CRDM o AREB alta frequenza della mutazione (40%) in LMMC	Associata ad un <i>outcome</i> clinico sfavorevole in tutte le neoplasie mieloidi (SMD, SMD/ NMP, NMP)
EZH2	~ 5%	Più spesso una mutazione subclonale	Associata con CRDM o AREB	Associata ad un <i>outcome</i> sfavorevole in tutte le neoplasie mieloidi (SMD, SMD/ NMP, NMP)
TRASCRIZIONE				
RUNX1	~ 10%	Tipica mutazione subclonale	Associata con CRDM o AREB	Associata ad un <i>outcome</i> clinico sfavorevole
BCOR	< 5%	Tipica mutazione subclonale	Associata con CRDM o AREB	Associata ad un <i>outcome</i> clinico sfavorevole
CONTROLLO DELLA RIPARAZIONE DEL DNA				
TP53	~ 5%	Tipica mutazione subclonale	Associata con malattia avanzata e cariotipo, mutata nel 20% di pazienti con SMD con del (5q)	Associata ad una scarsa sopravvivenza globale e alto rischio di evoluzione leucemica, predice una scarsa risposta alla lenalidomide
COESINA				
STAG2	< 10%	Molto spesso una mutazione subclonale	Associata con CRDM o AREB; mutata in circa il 10% di pazienti con leucemia acuta mieloide	Associata ad un <i>outcome</i> clinico sfavorevole
RAS PATHWAY				
CBL	< 5%	Molto spesso una mutazione subclonale	Trovata in differenti tipi di SMD, associata con LMMCg nei bambini	Non definita nelle SMD
NRAS/KRAS	< 5%	Molto spesso una mutazione subclonale	Trovata in differenti tipi di SMD, associata con LMMCg nei bambini	Non definita nelle SMD
NF1	< 5%	Molto spesso una mutazione subclonale	Trovata in differenti tipi di SMD, associata con LMMCg nei bambini	Non definita nelle SMD
REPLICAZIONE DEL DNA				
SETBP1	< 5%	Molto spesso una mutazione subclonale	Trovata nel 25% di pazienti con LMCa e in un sottogruppo di pazienti con avanzata SMD o LMMC	Associata ad una scarsa sopravvivenza globale e ad alto rischio di evoluzione leucemica
RECETTORI				
CSF3R	< 1%	Mutazione <i>founding driver</i> in LNC	Associata soprattutto a LNC e trovata in un sottogruppo di pazienti con LMCa	Il tipo di mutazione può predire la risposta a specifici inibitori

*La percentuale approssimativa di pazienti con SMD con la mutazione riportata negli studi pubblicati. § Basata sui valori del carico allelico della mutazione o sulla frequenza della variante allelica.

Tabella 3 – I più comuni geni driver nei pazienti con SMD e SMD/ NMP

Mutazioni somatiche

Issa ⁽⁴⁶⁾ ha recentemente descritto la differenziazione cellulare come un processo epigenetico che richiede un processo di metilazione del DNA con programmi di modificazione della cromatina specifici e molto ordinati. La differenziazione disordinata nelle SMD è spesso associata a mutazioni somatiche nei geni che controllano la metilazione del DNA (TET2, DNMT3A e IDH1/IDH2) o che regolano la modificazione della cromatina (ASXL1 e EZH2) ^(6,46). Mutazioni somatiche di TET2 sono state descritte in pazienti con neoplasie mieloidi nel 2009 ^(12,30). TET2 è mutato nel 20-25% dei pazienti con SMD ^(3,31) e nel 50-60% dei pazienti con LMMC ⁽⁴⁷⁾. In un studio di Busque et al. ⁽⁴⁸⁾ le mutazioni somatiche ricorrenti di TET2 sono state riscontrate in donne anziane che avevano un'emopoiesi clonale dimostrata attraverso l'inattivazione del cromosoma X, ma che non presentavano un fenotipo ematologico. Questa ed altre osservazioni supportano l'idea che una mutazione di TET2 può quindi portare ad un aumento della sopravvivenza e ad un auto-rinnovamento delle cellule staminali emopoietiche e promuovere la proliferazione clonale ^(49,50). Le mutazioni di TET2 sono frequenti in pazienti con cariotipo normale, e quindi possono rappresentare un utile *marker* di clonalità in questi soggetti ⁽³¹⁾; la compresenza di mutazioni di TET2 e SRSF2 è descritta in genere nelle LMMC ⁽³⁾. Finora, nessuna rilevanza prognostica è stata chiaramente definita in termini di sopravvivenza ^(31,51), ma studi recenti suggeriscono che la mutazione TET2 può predire la risposta agli agenti ipometilanti ^(52,53). Le mutazioni di TET2, inoltre, risultano associate ad una ridotta sopravvivenza globale in pazienti con LMA a rischio intermedio ⁽⁵⁴⁾. In uno studio basato sul sequenziamento, Ley et al. ⁽⁵⁵⁾ ha scoperto che le mutazioni DNMT3A sono ricorrenti in pazienti con LMA de novo e sono associate ad outcome sfavorevole. Mutazioni somatiche DNMT3A sono state successivamente riscontrate in una percentuale compresa tra il 10% e il 15% dei pazienti con differenti sottotipi di SMD ^(36,56,57). Esse sono associate ad un *outcome* clinico sfavorevole e ad una più rapida progressione in LMA nei pazienti con citopenia refrattaria con displasia multilineare CRDM o anemia refrattaria con eccesso di blasti AREB ⁽⁵⁶⁾, ma non in quelli con ARSA, probabilmente perché la presenza della mutazione SF3B1 mitiga l'effetto negativo della mutazione DNMT3A ⁽⁵⁷⁾. Come suggerito da Papaemmanuil et al. ⁽³⁾ questa osservazione può indicare che alcuni geni possono essere espressi con un particolare fenotipo solo in specifici contesti genomici. Mutazioni ricorrenti nei geni IDH1 e IDH2 che codificano per la isocitrato deidrogenasi sono state riscontrate in LMA e SMD ^(6,58). Nella LMA, la presenza di mutazioni di NPM1 e di IDH1 o IDH2 è associata con una buona prognosi. ⁽⁵⁴⁾ Nella SMD, invece, la mutazione IDH1 è associata ad una ridotta sopravvivenza libera da leucemia ⁽⁵⁹⁾. Due geni coinvolti nella modificazione e regolazione della cromatina sono ricorrentemente mutati nella SMD: *ASXL1*, che interagisce con il polycomb-group repressive complex 1 e 2 (PRC1, PRC2), ^(60,61) ed *EZH2*, che appartiene al PRC2 ^(3,31,62-66). In modelli cellulari e animali, le mutazioni di *ASXL1* promuovono la trasformazione mieloide attraverso la perdita dell'inibizione del gene mediata da PRC2 ⁽⁶¹⁾. Le mutazioni di

ASXL1 sono comuni non solo nelle SMD, ma anche nelle LMA, LMMC, e nella mielofibrosi primaria MFP, e sono generalmente associate ad un *outcome* clinico sfavorevole in tutte le neoplasie mieloidi ^(47,62,63,67). La mutazione di *ASXL1* è stata recentemente incorporata in uno *score* prognostico per la LMMC come fattore prognostico sfavorevole ⁽⁴⁷⁾. Analogamente, è stato dimostrato che le mutazioni di *EZH2* sono associate ad una inferiore sopravvivenza globale nelle SMD appartenenti a categorie di rischio più basso, quindi il loro inserimento in un modello prognostico potrebbe permettere una migliore stratificazione del rischio di questi pazienti ⁽⁵⁷⁾.

Le mutazioni acquisite dei fattori di trascrizione sono state descritte non solo nelle LMA, ma anche nelle SMD ^(5,31): mutazioni somatiche di *RUNX1* si trovano nel 7-8 % di tutti i pazienti con SMD e sono generalmente associate a malattia avanzata, trombocitopenia severa e *outcome* sfavorevole ^(3,31,57).

Il gene *TP53*, localizzato sul cromosoma 17p13.1, codifica per p53, che coordina i programmi di trascrizione che contribuiscono alla soppressione del tumore; mutazioni di proteine di p53 sono state identificate in diverse neoplasie ^(7,68). Le mutazioni di *TP53* sono presenti in circa il 5% dei pazienti con SMD, soprattutto nei soggetti con malattia avanzata, cariotipo complesso, anomalie del cromosoma 17, o delezioni del cromosoma 5 e 7 ^(31,56). I pazienti affetti da SMD con mutazioni di *TP53* hanno una prognosi sfavorevole ed un elevato rischio di evoluzione leucemica ^(3,31), e lo stesso vale per i pazienti con NMP ⁽⁶⁹⁾. In particolare, sub-cloni *TP53* mutati possono emergere in una fase precoce della malattia nelle SMD con del (5q), e sono associati con una risposta inferiore alla lenalidomide ed un aumento del rischio di progressione in LMA ⁽⁷⁰⁾.

La famiglia dei geni *RAS* include piccole proteine leganti il GTP coinvolto nella trasduzione del segnale intracellulare. Diverse mutazioni a carico di diversi geni appartenenti a questa superfamiglia sono state riscontrate in pazienti con mielodisplasia, tra cui *NRAS*, *KRAS*, *NF1*, *PTPN11* e *CBL* ⁽³⁾. Le mutazioni somatiche o germinali del *pathway* dei geni *RAS* sono presenti nel 90% dei pazienti con LMMC giovanile ⁽⁷¹⁾, una SMD/NMP nella quale le mutazioni secondarie di *SETBP1* e *JAK3* possono causare progressione di malattia ⁽⁷²⁾. *SETBP1* codifica una proteina che lega l'oncogene nucleare *SET* coinvolto nella replicazione del DNA.

Le mutazioni germinali de novo di *SETBP1* sono associate alla sindrome di Schinzel-Giedion ⁽⁷³⁾ e mutazioni somatiche dello stesso gene sono state recentemente individuate in pazienti con neoplasie mieloidi ^(34,74). In particolare, mutazioni *SETBP1* si trovano in pazienti affetti da LMCa in una percentuale compresa tra il 25% e il 30% ^(34,75). *SETBP1* ha un ruolo diretto nella regolazione trascrizionale di altri geni ⁽⁷⁶⁾ e le mutazioni di *SETBP1* sono spesso eventi genetici che promuovono la progressione della malattia ^(74,75,77). *CSF3R* codifica per il recettore del fattore 3 stimolante le colonie cellulari. L'acquisizione di mutazioni *nonsense* in questo gene, con conseguente espressione della proteina troncata *CSF3R*, è stata riscontrata in pazienti con grave neutropenia congenita con tendenza verso la progressione in SMD/LMA ⁽⁷⁸⁾. L'attivazione di mutazioni somatiche in *CSF3R* è stata recentemente rilevata nel 90% dei pazien-

ti con LNC e nel 40% di quelli affetti da LMCa⁽³⁵⁾. Questo studio ha anche mostrato che la distinzione tra queste due patologie può essere difficile usando i criteri WHO, considerando che gli studi sulle mutazioni di CSF3R e SETBP1 hanno dimostrato che non sono mutuamente esclusive⁽³⁵⁾.

Come sottolineato da Gotlib et al.⁽⁷⁹⁾ la LNC e la LMCa sono probabilmente neoplasie sovrapponibili per alcune caratteristiche, anche se la patogenesi della prima è caratterizzata principalmente dalla mutazione di CSF3R, mentre quella della LMCa è probabilmente multifattoriale. La Coesina è una struttura ad anello formata da 4 subunità altamente conservata che circonda i cromatidi fratelli durante la metafase, consentendo la loro coesione, e svolge anche un ruolo critico nella regolazione trascrizionale e nella riparazione dopo la replicazione del DNA⁽⁸⁰⁾. Le mutazioni somatiche in STAG2, un gene del complesso coesina, sono state riscontrate nel 6% dei pazienti con SMD⁽¹¹⁾. In un recente lavoro di Kon et al.⁽⁸¹⁾ sono state descritte mutazioni e delezioni che coinvolgono vari geni del complesso coesina (STAG2, RAD21, SMC1A e SMC3) nell'8% dei pazienti con SMD, nel 10% di quelli con LMMC, e nel 12% di quelli con LMA. Una frequenza simile è stata precedentemente riportata in pazienti affetti da LMA,⁽⁴⁾ suggerendo che un'alterata funzione della coesina svolge un ruolo nella leucemogenesi mieloide.

Il gene BCOR, localizzato sul cromosoma Xp11.4, codifica per un co-repressore di BCL6, un repressore della trascrizione di *POZ/zinc finger* che è necessario per la formazione del centro germinale e che può influenzare l'apoptosi. Mutazioni germinali di questo gene sono associate con le sindromi oculofaciodentale o microftalmia di Lenz.⁽⁸²⁾ L'inattivazione di mutazioni somatiche di BCOR è stata descritta nelle LMA con cariotipo normale⁽⁸³⁾ e più recentemente in un sottogruppo di pazienti con SMD^(3,84). Si tratta di mutazioni *driver* dei sub-cloni tipici, associate ad un *outcome* clinico sfavorevole⁽⁸⁴⁾.

SMD familiari

Le sindromi familiari predisponenti a SMD o LMA includono le patologie ereditarie di insufficienza midollare (Diamond - Blackfan, discheratosi congenita, la neutropenia congenita grave), sindromi da difetto dei meccanismi di riparazione del DNA, la sindrome di Noonan, neurofibromatosi I, la sindrome di Down, e il disordine piastrinico familiare con tendenza alla trasformazione in una neoplasia mieloide (associata a mutazioni della linea germinale di RUNX1 o CEBPA). Più recentemente, mutazioni germinali di GATA2 sono state descritte in sindromi familiari caratterizzate da predisposizione all'evoluzione in SMD e LMA⁽⁸⁵⁾. In 3 famiglie, i soggetti portatori della mutazione GATA2 (C1061T) presentavano un'anemia macrocitica e sviluppavano una SMD/LMA tra la seconda e quinta decade di vita. Varie mutazioni di GATA2 della linea germinale sono state riscontrate in pazienti con la sindrome di Emberger, caratterizzata da linfedema primario associato a predisposizione a sviluppare una LMA⁽⁸⁶⁾. Infine, varie mutazioni germinali in GATA2 sono state segnalate come associate con la sindrome autosomica dominante e sporadica con monocitopenia e infezione da micobatteri (MonoMAC), che predispone a neoplasie mieloidi⁽⁸⁷⁻⁸⁹⁾. Questi pazienti presenta-

no una monocitopenia grave con neutropenia lieve e livelli ridotti di emoglobina, e la progressione a SMD/LMA si verifica in genere nella seconda o terza decade di vita⁽⁸⁹⁾. Sebbene le mutazioni germinali di entrambi i geni RUNX1 o GATA2 possano predisporre a SMD,⁽⁹⁰⁾ mutazioni somatiche di questi stessi geni possono promuovere la progressione in neoplasie mieloidi⁽³⁾.

Geni mutati e SMD

In un recente articolo di Vogelstein et al.⁽⁷⁾ sono stati individuate mutazioni intrageniche che contribuiscono alla oncogenesi in 140 geni. In considerazione dei dati attualmente disponibili, il numero di geni potenzialmente interessati nella patogenesi della mielodisplasia è probabilmente inferiore (50-60 geni). Tuttavia, stime attendibili possono essere fornite unicamente da studi sul sequenziamento dell'intero genoma^(11,36).

Le coorti di pazienti studiate finora sono eterogenee, e tutti gli studi sono fondamentalmente retrospettivi. Tenendo conto di queste limitazioni, solo 4-6 geni (SF3B1, TET2, SRSF2, ASXL1, DNMT3A e RUNX1) sono mutati in più del 10% dei pazienti affetti da SMD, mentre ulteriori 40-50 geni sono mutati in una piccola percentuale di casi⁽³⁾. Nello studio di Walter et al.⁽³⁶⁾ i 2 geni più frequentemente mutati erano TP53 e U2AF1. Alla presentazione, la maggior parte dei pazienti affetti da SMD hanno 2 o 3 mutazioni *driver* di oncogeni e centinaia di mutazioni di passaggio da una fase più precoce ad una più avanzata della patologia. Considerando la frequenza della variante allelica, alcuni geni mutanti, tipicamente quelli coinvolti nello splicing dell'RNA e nella metilazione del DNA, sembrano essere principalmente associati alla proliferazione clonale iniziale, mentre altri sono prevalentemente implicati nell'evoluzione di sub-cloni (Tabella 3). Tuttavia, l'ordine temporale di acquisizione di mutazioni *driver* non è fisso e varia da soggetto a soggetto. Così, lo stesso gene mutante, ad esempio, TET2, può essere un *driver* precoce in alcuni pazienti ed un *driver* sub-clonale in altri. Walter et al.⁽³⁶⁾ ha osservato che le mutazioni *driver* in geni appartenenti alla stessa via biologica tendevano a non verificarsi contemporaneamente, suggerendo che una seconda mutazione nella stessa via non fornisce alcun vantaggio di ulteriore proliferazione. Welch et al.⁽⁴⁾ stima che anche due sole mutazioni somatiche sono sufficienti per causare la formazione di un clone maligno che possa manifestarsi clinicamente come leucemia. L'evidenza dei dati disponibili suggerisce che questo può valere anche per le SMD: a differenza delle LMA, tuttavia, le lesioni genetiche responsabili delle SMD si verificano probabilmente in sequenza nel corso di anni, anziché nel corso di mesi o settimane, soprattutto nei sottotipi a basso rischio con una lunga storia naturale della malattia, come è stato descritto da Cazzola et al.⁽⁹¹⁾ nella ARSA. In un modello animale l'aploinsufficienza di TET2 determina un fenotipo simile alla LMMC dell'uomo⁽⁴⁹⁾. I risultati riportati in un altro studio condotto su cellule umane o su topi knockout eterozigoti suggeriscono che SF3B1 o l'aploinsufficienza di SF3B1 porti alla formazione di sideroblasti⁽⁹²⁾. La mutazione CSF3R (T618I) in un modello murino ha portato alla comparsa di un disordine mieloproliferativo letale⁽⁹³⁾.

Studi di associazione genotipo/fenotipo sono stati effettuati nelle SMD, SMD/ NMP, e neoplasie mieloidi correlate. Saranno però necessari studi prospettici per arrivare a delle conclusioni. In sintesi, la mutazione SF3B1 sembra essere strettamente associata alla ARSA e alla ARSA-T, ^(16,38) la combinazione di mutazioni di SRSF2 e TET2 alla LMMC3 e una mutazione che determina l'attivazione di CSF3R alla LNC ⁽³⁵⁾. Cazzola et al ⁽²⁾ sottolineano che l'anemia refrattaria non ha un genotipo peculiare, quindi dovrebbe essere considerata come un'entità separata. La CRDM e la AREB-T potrebbero essere associate a diverse combinazioni di mutazioni founding, soprattutto coinvolgendo geni dell'RNA splicing (con la sola esclusione di SF3B1), della regolazione epigenetica e di mutazioni driver sub-clonali. È inoltre evidente che i geni specifici driver sono responsabili della componente mieloproliferativa delle diverse SMD/ NMP, come JAK2 o MPL nella ARSA-T, SETBP1 in LMCA e CSF3R in LNC. È stato dimostrato che ARSA-T si sviluppa dalla ARSA attraverso la presenza di una mutazione *driver* di JAK2 o MPL che porta allo sviluppo di un sub-clone nel clone iniziale che presenta SF3B1 mutato (Tabella 4) ^(38,94). Un ruolo simile potrebbero avere le nuove mutazioni del gene CALR ⁽⁹⁵⁻⁹⁷⁾, presenti nelle trombocitemie essenziali e mielofibrosi JAK2-, ma anche nelle ARSA-T.

Le mutazioni di geni *driver* sono implicate nella patogenesi delle SMD (Tabella 3), e sono frequentemente presenti anche in altre neo-

plasie mieloidi elencate nella Tabella 1. Tali mutazioni sono presenti prevalentemente nelle LMA ^(4,5,54), anche se, come sottolineato da Walter et al ⁽³⁶⁾ alcuni specifici geni mutati sono maggiormente rappresentati nelle SMD e altri nelle LMA. Infatti, nel recente studio condotto dal *Research Cancer Genome Atlas Network*, i 20 geni più frequentemente mutati nella LAM erano FLT3, NPM1, DNMT3A, IDH1/2, TET2, RUNX1, TP53, N/KRAS, CEPBPA, WT1, PTPN11, KIT, U2AF1, SMC1A, SMC3, PHF6, STAG2, e RAD21⁽⁵⁾. Solo la metà di questi geni sono compresi nei 20 geni più ricorrentemente mutati nelle SMD (Tabella 3) ⁽²⁾. Sebbene la fisiopatologia molecolare della SMD sia diversa da quella della LMA, alcuni geni driver della LMA potrebbero comportarsi come driver di sub-cloni nella SMD e quindi promuovere la trasformazione leucemica. Mutazioni somatiche di CBL, TET2, ASXL1, e IDH1/IDH2 sono state rilevate nella fase avanzata di leucemia mieloide cronica ⁽⁹⁸⁾. Molti dei geni riportati nella Tabella 3 possono essere mutati anche nella MFP, in combinazione con la mutazione JAK2 (V617F) o dell'esone 10 di MPL, e la presenza contemporanea di due o più mutazioni ha mostrato un impatto negativo sul decorso clinico di questa NMP ⁽⁶⁷⁾. Recentemente, mutazioni somatiche di TET2, SRSF2, ASXL1, CBL, e RUNX1 sono state riscontrate nel 90 % dei pazienti con mastocitosi avanzata, e la sopravvivenza globale è risultata significativamente ridotta nei pazienti con mutazioni aggiuntive rispet-

NEOPLASIE MIELOIDI SECONDO LA CLASSIFICAZIONE WHO	PRINCIPALI CARATTERISTICHE DIAGNOSTICHE E CLINICHE	GENI PIÙ FREQUENTEMENTE MUTATI
LMMC (classificate come SMD/NMP)	Monocitosi periferica (> 1 x 10 ⁹ /l) persistente	Mutazioni di TET2 e SRSF2 in concomitanza, in combinazione con mutazioni di ASXL1 con altri geni <i>driver</i> . La mutazione di ASXL1 è associata con una ridotta sopravvivenza globale e un lato rischio di progressione in LMA
LMCA (classificate come SMD/NMP)	Leucocitosi periferica (≥ 13 x 10 ⁹ /l) con disgranulopoiesi e granulociti immaturi circolanti ≥ 10%	Combinazioni di geni founding in vari geni e mutazioni sub-clonali di SETBP1 o ASXL1
*LNC (classificate come NMP)	Leucocitosi neutrofila (≥ 25 x 10 ⁹ /l) con meno del 10% di granulociti immaturi circolanti	Mutazioni somatiche di CSF3 nella maggior parte dei pazienti
LMMCg (classificate come SMD/NMP)	Persistente monocitosi (> 1 x 10 ⁹ /l) nel sangue periferico nei bambini	Mutazioni somatiche del pathway di RAS (NRAS, NF1, PTPN11 e CBL). L'eterozigosi delle mutazioni della linea germinale di CBL può predisporre a LMMC giovanile. Mutazioni sub-clonali <i>driver</i> di SETBP1 e JAK3 possono causare progressione di malattia
ARSA-T (Classificate come una entità provvisoria di SMD/NMP)	Anemia macrocitica, sideroblasti ad anello, e trombocitosi	Combinazioni di una mutazione somatica founding di SF3B1 e mutazioni <i>driver</i> sub-clonali di JAK2 o MPL

*La LNC è stata inclusa per le caratteristiche morfologiche/laboratoristiche in comune con la LMCA.

Tabella 4 – Mutazioni somatiche che caratterizzano diversi sottotipi di SMD/ NMP

to a quelli che presentavano solamente la mutazione KIT (D816V)⁽⁹⁹⁾. I geni driver della SMD possono anche interagire con le mutazioni somatiche che coinvolgono linee di cellule linfoidi, dando così origine a fenotipi peculiari come la leucemia linfocitica T a grandi cellule granulari che è caratterizzata da un'espansione clonale di linfociti T citotossici CD3+ che può essere associata a disturbi autoimmuni e citopenie immunomediatae⁽¹⁰⁰⁾. È stato dimostrato che l'espansione clonale delle cellule T è causata da mutazioni somatiche di STAT3 o STAT5b^(101,102). Le patologie autoimmuni contribuiscono alla citopenia in un sottogruppo di pazienti con SMD, e questi pazienti possono trarre beneficio da un trattamento con immunosoppressori⁽¹⁰³⁾. È interessante notare che un recente studio descrive la presenza di cloni di cellule T STAT3 mutate in un sottogruppo di pazienti con SMD, suggerendo che questo evento possa rappresentare un meccanismo molecolare che promuova la manifestazione di fenomeni autoimmuni⁽¹⁰⁴⁾. I progressi nell'ambito della diagnostica molecolare delle sindromi mielodisplastiche aprono nuove prospettive verso una classificazione molecolare delle neoplasie mieloidi. L'approccio diagnostico attuale per le SMD comprende: lo studio morfologico dello striscio di sangue periferico e del midollo osseo per valutare le anomalie che riguardano le cellule del sangue periferico dei precursori emopoietici; la biopsia del midollo osseo per valutare la cellularità midollare, la fibrosi e la topografia⁽¹⁰⁵⁾; la citogenetica per individuare anomalie cromosomiche non casuali (Tabella 2)⁽¹⁰⁶⁾. Il sequenziamento massivo parallelo può migliorare enormemente il nostro approccio alla diagnosi delle SMD.

Il sequenziamento *deep* può permettere il rilevamento simultaneo sia di mutazioni geniche somatiche che di anomalie citogenetiche tipiche delle SMD, in un'unica seduta⁽³⁾. Anche se l'intero sequenziamento del genoma è chiaramente più informativo, il sequenziamento massivo parallelo di un pannello di geni è più fattibile in un laboratorio clinico. I geni da sequenziare possono includere i 50-60 geni *driver* della mielodisplasia^(3,36) e geni associati con malattie ereditarie che predispongono a SMD, e un ragionevole numero di polimorfismi di singoli nucleotidi della linea germinale⁽³⁾.

Dalla patogenesi alla prognosi

La classificazione WHO delle SMD ha una preziosa rilevanza prognostica, considerando che la percentuale di blasti e la displasia multilineare rappresentano i parametri più importanti dal punto di vista morfologico. Tuttavia, la riproducibilità di questi ultimi parametri è tutt'altro che ottimale⁽¹⁰⁷⁾, e vi è dunque la necessità di individuare fattori prognostici più robusti. L'IPSS-R⁽²⁷⁾ rappresenta chiaramente un passo avanti, ma prende in considerazione solo le anomalie citogenetiche, che sono eventi genetici secondari, e non le lesioni *driver*. La definizione di mutazioni *founding* e mutazioni *driver* sub-clonali potrebbe migliorare sensibilmente la valutazione prognostica delle SMD e più in generale le decisioni terapeutiche in questo campo. In primo luogo, l'identificazione del gene mutato responsabile del clone iniziale è rilevante per l'*outcome* clinico. Per esempio, i sideroblasti si riscontrano non solo in pazienti con una mutazione *founding*

in SF3B1, ma anche in quelli con una lesione oncogenica iniziatrice in SRSF2⁽³²⁾. Tuttavia, la mediana di sopravvivenza libera da leucemia è maggiore di 10 anni nel primo caso versus 2 anni nel secondo^(3,38). In secondo luogo, la presenza di mutazioni *driver* sub-clonali associate a piccoli cloni possono consentire una diagnosi precoce della progressione della malattia, compresa l'evoluzione in LMA. Inoltre, il numero di mutazioni *driver* in ogni singolo paziente rappresenta un importante fattore prognostico di per sé. Nel recente studio di Papaemmanuil et al⁽³⁾ la mediana di sopravvivenza libera da leucemia è di 3 anni nei pazienti con 1 o 2 mutazioni *driver* versus 2 anni nei pazienti con ≥ 3 mutazioni *driver*. Alcuni studi hanno già suggerito che l'incorporazione di mutazioni somatiche nei sistemi di *score* prognostici può migliorare la prognosi delle SMD^(31,57). Solary et al.⁽⁴⁷⁾ hanno proposto un nuovo *score* prognostico per la LMMC che include non solo l'età e i parametri ematologici, ma anche lo stato mutazionale di ASXL1. L'*International Working Group for Prognosis in SMD* ha avviato un progetto di ricerca finalizzato a sviluppare un sistema di *score* prognostico che comprende parametri clinici, ematologici e molecolari (IPSS-Mol). Alcuni parametri aggiuntivi che possono contribuire in modo significativo ad una valutazione del rischio delle SMD includono l'espressione genica *profiling-based signatures*⁽¹⁰⁸⁾. Infine, la caratterizzazione del genoma dei pazienti può guidare il clinico verso un approccio terapeutico più mirato e corretto e contribuire alla selezione dei pazienti che potrebbero essere inclusi in studi clinici prospettici. Mutazioni di TET2 potrebbero essere associate con la risposta agli agenti ipometilanti⁽⁵³⁾, mentre mutazioni di U2AF1 potrebbero predire in modo indipendente l'*outcome* sfavorevole dopo trapianto allogenico⁽¹⁰⁹⁾. C'è un notevole potenziale terapeutico per le terapie epigenetiche *targeting* nell'LMA⁽¹¹⁰⁾, e questo può essere applicabile anche nelle SMD. Diversi farmaci che hanno come *target* lo *spliceosome* sono attualmente studiati per il loro potenziale utilizzo in diversi tumori maligni⁽¹¹¹⁾, mentre i farmaci diretti verso il bersaglio specifico del segnale dell'oncogene Ras⁽¹¹²⁾ potrebbero essere utilizzati in diverse neoplasie mieloidi. Dunque, l'identificazione delle vie biologiche attivate dalle diverse mutazioni potrebbe consentire un trattamento personalizzato in ciascun singolo paziente con sindrome mielodisplastica. La fisiopatologia delle SMD nella sua complessità è caratterizzata da mutazioni clonali che in diversi casi correlano strettamente con il fenotipo e/o con la prognosi. La mutazione SF3B1 è strettamente associata alla ARSA, mentre la combinazione della mutazione SF3B1 con mutazioni *driver* sub-clonali di JAK2 o MPL è presente nella ARSA-T. Non sono state identificate chiare correlazioni tra lo stato mutazionale e il fenotipo nell'anemia refrattaria. Varie combinazioni di mutazioni *driver* sub-clonali e *founding* possono essere riscontrate nella RCDM e nella AREB. Mutazioni somatiche di TET2 e di SRSF2 si associano alla LMMC, mentre la mutazione di ASXL1 conferisce a tale patologia un *outcome* sfavorevole. Diverse mutazioni *founding* in associazione alla mutazione sub-clonale di SETBP1 caratterizzano le SMD/ NMP e la LMCa, mentre le mutazioni di CSF3R sono associate alla LNC.

Bibliografia

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (ed 4th). Lyon, France: IARC Press; 2008.
2. Cazzola M, Della Porta MG, Malcovati L. The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. *Blood*. 2013;122(25):4021-34.
3. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013;122(22):3616-27; quiz 3699.
4. Welch JS, Ley TJ, Link DC, Miller CA, Larson DE, Koboldt DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell*. 2012;150(2):264-78.
5. Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2013;368(22):2059-74.
6. Lindsley RC, Ebert BL. The biology and clinical impact of genetic lesions in myeloid malignancies. *Blood*. 2013;122(23):3741-48.
7. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Jr., Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013;339(6127):1546-58.
8. Luzzatto L. Leukaemia is a genetic disorder of somatic cells. *Haematologica*. 1990;75(2):105-8.
9. Kibbelaar RE, van Kamp H, Dreef EJ, de Groot-Swings G, Kluin-Nelemans JC, Beverstock GC, et al. Combined immunophenotyping and DNA in situ hybridization to study lineage involvement in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1992;79(7):1823-28.
10. Gerritsen WR, Donohue J, Bauman J, Jhanwar SC, Kernan NA, Castro-Malaspina H, et al. Clonal analysis of myelodysplastic syndrome: monosomy 7 is expressed in the myeloid lineage, but not in the lymphoid lineage as detected by fluorescent in situ hybridization. *Blood*. 1992;80(1):217-24.
11. Walter MJ, Shen D, Ding L, Shao J, Koboldt DC, Chen K, et al. Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2012;366(12):1090-98.
12. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, James C, Trannoy S, Massé A, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med*. 2009;360(22):2289-2301.
13. Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, Morabito M, Preudhomme C, Berthon C, et al. Clonal architecture of chronic myelomonocytic leukemias. *Blood*. 2013;121(12):2186-98.
14. T, Scadden DT. Stem-cell ecology and stem cells in motion. *Blood*. 2008;111(8):3923-30.
15. Mazo IB, Massberg S, von Andrian UH. Hematopoietic stem and progenitor cell trafficking. *Trends Immunol*. 2011;32(10):493-503.
16. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med*. 2011;365(15):1384-95.
17. Cazzola M, Rossi M, Malcovati L. Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. *Blood*. 2013;121(2):260-69.
18. Busque L, Paquette Y, Provost S, Roy DC, Levine RL, Mollica L, et al. Skewing of X-inactivation ratios in blood cells of aging women is confirmed by independent methodologies. *Blood*. 2009;113(15):3472-74.
19. Claessens YE, Bouscary D, Dupont JM, Picard F, Melle J, Gisselbrecht S, et al. In vitro proliferation and differentiation of erythroid progenitors from patients with myelodysplastic syndromes: evidence for Fas-dependent apoptosis. *Blood*. 2002;99(5):1594-601.
20. Cazzola M, Malcovati L. Myelodysplastic syndromes--coping with ineffective hematopoiesis. *N Engl J Med*. 2005;352(6):536-38.
21. Haase D, Germsing U, Schanz J, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Hildebrandt B, et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in SMD and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*. 2007;110(13):4385-95.
22. Schanz J, Steidl C, Fonatsch C, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Tuechler H, et al. Coalesced multicentric analysis of 2,351 patients with myelodysplastic syndromes indicates an underestimation of poor-risk cytogenetics of myelodysplastic syndromes in the international prognostic scoring system. *J Clin Oncol*. 2011;29(15):1963-70.
23. Schanz J, Tuechler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (SMD) and oligoblastic acute myeloid leukemia after SMD derived from an international database merge. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):820-29.
24. Ebert BL, Pretz J, Bosco J, Chang CY, Tamayo P, Galili N, et al. Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature*. 2008;451(7176):335-39.
25. Starczynowski DT1, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, Sung S, Morin R, Muranyi A, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med*. 2010;16(1):49-58.
26. Barlow JL, Drynan LF, Hewett DR, Holmes LR, Lorenzo-Abalde S, Lane AL, et al. A p53-dependent mechanism underlies macrocytic anemia in a mouse model of human 5q- syndrome. *Nat Med*. 2010;16(1):59-66.
27. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.
28. Deeg HJ, Scott BL, Fang M, Shulman HM, Gyurkocza B, Myerson D, et al. Five-group cytogenetic risk classification, monosomal karyotype, and outcome after hematopoietic cell transplantation for SMD or acute leukemia evolving from SMD. *Blood*. 2012;120(7):1398-1408.
29. Afable MG 2nd, Wlodarski M, Makishima H, Shaik M, Sekeres MA, Tiu RV, et al. SNP array-based karyotyping: differences and similarities between aplastic anemia and hypocellular myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2011;117(25):6876-84.
30. Langemeijer SM, Kuiper RP, Berends M, Knops R, Aslanyan MG, Massop M, et al. Acquired mutations in TET2 are common in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2009;41(7):838-42.
31. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2011;364(26):2496-506.
32. Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature*. 2011;478(7367):64-69.
33. Graubert TA, Shen D, Ding L, Okeyo-Owuor T, Lunn CL, Shao J, et al. Recurrent mutations in the U2AF1 splicing factor in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2012;44(1):53-57.
34. Piazza R, Valletta S, Winkelmann N, et al. Recurrent SETBP1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia. *Nat Genet*. 2013;45(1):18-24.
35. Maxson JE, Gotlib J, Pollyea DA, Fleischman AG, Agarwal A, Eide CA, et al. Oncogenic CSF3R mutations in chronic neutrophilic leukemia and atypical CML. *N Engl J Med*. 2013;368(19):1781-90.
36. Walter MJ, Shen D, Shao J, Ding L, White BS, Kandoth C, et al. Clonal diversity of recurrently mutated genes in myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2013;27(6):1275-1282.
37. Hirabayashi S, Flotho C, Moetter J, Heuser M, Hasle H, Gruhn B, et al. Spliceosomal gene aberrations are rare, coexist with oncogenic mutations, and are unlikely to exert a driver effect in childhood SMD and JMML. *Blood*. 2012;119(11):e96-99.
38. Malcovati L, Papaemmanuil E, Bowen DT, Boulwood J, Della Porta MG, Pascutto C, et al. Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2011;118(24):6239-46.
39. Mian SA, Smith AE, Kulasekararaj AG, Kizilors A, Mohamedali AM, Lea NC, et al. Spliceosome mutations exhibit specific associations with epigenetic modifiers and proto-oncogenes mutated in myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2013;98(7):1058-66.
40. Nikpour M, Scharenberg C, Liu A, Conte S, Karimi M, Mortera-Blanco T, et al. The transporter ABCB7 is a mediator of the phenotype of acquired refractory anemia with ring sideroblasts. *Leukemia*. 2013;27(4):889-96.
41. Przychodzen B, Jerez A, Guinta K, Sekeres MA, Padgett R, Maciejewski JJ, et al. Patterns of missplicing due to somatic U2AF1 mutations in myeloid neoplasms. *Blood*. 2013;122(6):999-1006.

42. Makishima H, Visconte V, Sakaguchi H, Jankowska AM, Abu Kar S, Jerez A, et al. Mutations in the spliceosome machinery, a novel and ubiquitous pathway in leukemogenesis. *Blood*. 2012;119(14):3203-10.
43. Damm F, Kosmider O, Gelsi-Boyer V, Renneville A, Carbuca N, Hidalgo-Curtis C, et al. Mutations affecting mRNA splicing define distinct clinical phenotypes and correlate with patient outcome in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;119(14):3211-18.
44. Thol F, Kade S, Schlarman C, Löffeld P, Morgan M, Krauter J, et al. Frequency and prognostic impact of mutations in SRSF2, U2AF1, and ZRSR2 in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;119(15):3578-84.
45. Zhang SJ, Rampal R, Manshour T, Patel J, Mensah N, Kayserian A, et al. Genetic analysis of patients with leukemic transformation of myeloproliferative neoplasms shows recurrent SRSF2 mutations that are associated with adverse outcome. *Blood*. 2012;119(19):4480-85.
46. Issa JP. The myelodysplastic syndrome as a prototypical epigenetic disease. *Blood*. 2013;121(19):3811-17.
47. Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, Gelsi-Boyer V, Meggendorfer M, Morabito M, et al. Prognostic score including gene mutations in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2013;31(19):2428-36.
48. Busque L, Patel JP, Figueroa ME, Vasanthakumar A, Provost S, Hamilou Z, et al. Recurrent somatic TET2 mutations in normal elderly individuals with clonal hematopoiesis. *Nat Genet*. 2012;44(11):1179-81.
49. Moran-Crusio K, Reavie L, Shih A, Abdel-Wahab O, Ndiaye-Lobry D, et al. Tet2 loss leads to increased hematopoietic stem cell self-renewal and myeloid transformation. *Cancer Cell*. 2011;20(1):11-24.
50. Ko M, Huang Y, Jankowska AM, Pape UJ, Tahiliani M, Bandukwala HS, et al. Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature*. 2010;468(7325):839-43.
51. Kosmider O, Gelsi-Boyer V, Cheok M, Grabar S, Della-Valle V, Picard F, et al. TET2 mutation is an independent favorable prognostic factor in myelodysplastic syndromes (SMDs). *Blood*. 2009;114(15):3285-91.
52. Itzykson R, Kosmider O, Cluzeau T, Mansat-De Mas V, Dreyfus F, Beyne-Rauzy O, et al. Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 2011;25(7):1147-52.
53. Bejar R. Next-generation sequencing of 213 SMD patient samples identifies mutation profiles associated with response to hypomethylating agents and overall survival [abstract]. *Leukemia Res*. 2013;37 (Suppl1):519-20.
54. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2012;366(12):1079-89.
55. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, McLellan MD, Lamprecht T, Larson DE, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2010;363(25):2424-33.
56. Walter MJ, Ding L, Shen D, Shao J, Grillot M, McLellan M, et al. Recurrent DNMT3A mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2011;25(7):1153-58.
57. Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, Abdel-Wahab O, Steensma DP, Galili N, et al. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2012;30(27):3376-82.
58. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med*. 2009;361(11):1058-66.
59. Patnaik MM, Hanson CA, Hodnefield JM, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, et al. Differential prognostic effect of IDH1 versus IDH2 mutations in myelodysplastic syndromes: a Mayo Clinic study of 277 patients. *Leukemia*. 2012;26(1):101-05.
60. Sauvageau M, Sauvageau G. Polycomb group proteins: multi-faceted regulators of somatic stem cells and cancer. *Cell Stem Cell*. 2010;7(3):299-313.
61. Abdel-Wahab O, Adli M, LaFave LM, Gao J, Hricik T, Shih AH, et al. ASXL1 mutations promote myeloid transformation through loss of PRC2-mediated gene repression. *Cancer Cell*. 2012;22(2):180-193.
62. Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adélaïde J, Bonansea J, Cervera N, Carbuca N, et al. Mutations of polycomb-associated gene ASXL1 in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2009;145(6):788-800.
63. Boulwood J, Perry J, Pellagatti A, Fernandez-Mercado M, Fernandez-Santamaria C, Calasanz MJ, et al. Frequent mutation of the polycomb-associated gene ASXL1 in the myelodysplastic syndromes and in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2010;24(5):1062-65.
64. Ernst T, Chase AJ, Score J, Hidalgo-Curtis CE, Bryant C, Jones AV, et al. Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat Genet*. 2010;42(8):722-26.
65. Nikoloski G, Langemeijer SM, Kuiper RP, Knops R, Massop M, Tönnissen ER, et al. Somatic mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2010;42(8):665-67.
66. Thol F, Friesen I, Damm F, Yun H, Weissinger EM, Krauter J, et al. Prognostic significance of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2011;29(18):2499-2506.
67. Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, Biamonte F, Pardanani A, Pereira A, et al. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2013;27(9):1861-1869.
68. Muller PA, Vousden KH. p53 mutations in cancer. *Nat Cell Biol*. 2013;15(1):2-8.
69. Harutyunyan A, Klampfl T, Cazzola M, Kralovics R. p53 lesions in leukemic transformation. *N Engl J Med*. 2011;364(5):488-90.
70. Jädersten M, Saft L, Smith A, Kulasekararaj A, Pomplun S, Göhring G, et al. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol*. 2011;29(15):1971-79.
71. Loh ML. Childhood myelodysplastic syndrome: focus on the approach to diagnosis and treatment of juvenile myelomonocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010;2010(1):357-62.
72. Sakaguchi H, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraishi Y, Takahashi M, et al. Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet*. 2013;45(8):937-41.
73. Hoischen A, van Bon BW, Gilissen C, Arts P, van Lier B, Steehouwer M, et al. De novo mutations of SETBP1 cause Schinzel-Giedion syndrome. *Nat Genet*. 2010;42(6):483-85.
74. Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, Przychodzen B, Sanada M, Okuno Y, et al. Somatic SETBP1 mutations in myeloid malignancies. *Nat Genet*. 2013;45(8):942-46.
75. Meggendorfer M, Bacher U, Alpermann T, Haferlach C, Kern W, Gambacorti-Passerini C, et al. SETBP1 mutations occur in 9% of SMD/MPN and in 4% of MPN cases and are strongly associated with atypical CML, monosomy 7, isochromosome i(17)(q10), ASXL1 and CBL mutations. *Leukemia*. 2013;27(9):1852-60.
76. Trimarchi T, Ntziachristos P, Aifantis I. A new player SETs in myeloid malignancy. *Nat Genet*. 2013;45(8):846-47.
77. Fernandez-Mercado M1, Pellagatti A, Di Genua C, Larrayoz MJ, Winkelmann N, Aranz P, et al. Mutations in SETBP1 are recurrent in myelodysplastic syndromes and often coexist with cytogenetic markers associated with disease progression. *Br J Haematol*. 2013;163(2):235-39.
78. Beekman R, Touw IP. G-CSF and its receptor in myeloid malignancy. *Blood*. 2010;115(25):5131-36.
79. Gotlib J, Maxson JE, George TI, Tyner JW. The new genetics of chronic neutrophilic leukemia and atypical CML: implications for diagnosis and treatment. *Blood*. 2013;122(10):1707-11.
80. Dorsett D, Strom L. The ancient and evolving roles of cohesin in gene expression and DNA repair. *Curr Biol*. 2012;22(7):R240-50.
81. Kon A, Shih LY, Minamino M, Sanada M, Shiraishi Y, Nagata Y, et al. Recurrent mutations in multiple components of the cohesin complex in myeloid neoplasms. *Nat Genet*. 2013;45(10):1232-37.
82. Ng D, Thakker N, Corcoran CM, Donnai D, Perveen R, Schneider A, et al. Oculofaciocardiodental and Lenz microphthalmia syndromes result from distinct classes of mutations in BCOR. *Nat Genet*. 2004;36(4):411-16.
83. Grossmann V, Tiacci E, Holmes AB, Kohlmann A, Martelli MP, Kern W, et al. Whole-exome sequencing identifies somatic mutations of BCOR in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Blood*. 2011;118(23):6153-63.

84. Damm F, Chesnais V, Nagata Y, Yoshida K, Scourzic L, Okuno Y, et al. BCOR and BCORL1 mutations in myelodysplastic syndromes and related disorders. *Blood*. 2013;122(18):3169-77.
85. Hahn CN, Chong CE, Carmichael CL, Wilkins EJ, Brautigan PJ, Li XC, et al. Heritable GATA2 mutations associated with familial myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Nat Genet*. 2011;43(10):1012-17.
86. Ostergaard P, Simpson MA, Connell FC, Steward CG, Brice G, Woollard WJ, et al. Mutations in GATA2 cause primary lymphedema associated with a predisposition to acute myeloid leukemia (Emberger syndrome). *Nat Genet*. 2011;43(10):929-31.
87. Hsu AP, Sampaio EP, Khan J, Calvo KR, Lemieux JE, Patel SY, et al. Mutations in GATA2 are associated with the autosomal dominant and sporadic monocytopenia and mycobacterial infection (MonoMAC) syndrome. *Blood*. 2011;118(10):2653-55.
88. Dickinson RE, Griffin H, Bigley V, Reynard LN, Hussain R, Haniffa M, et al. Exome sequencing identifies GATA-2 mutation as the cause of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency. *Blood*. 2011;118(10):2656-58.
89. Pasquet M, Bellanné-Chantelot C, Tavitian S, Prade N, Beaupain B, Larochelle O, et al. High frequency of GATA2 mutations in patients with mild chronic neutropenia evolving to MonoMac syndrome, myelodysplasia, and acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;121(5):822-29.
90. Hyde RK, Liu PP. GATA2 mutations lead to SMD and AML. *Nat Genet*. 2011;43(10):926-27.
91. Cazzola M, Barosi G, Gobbi PG, Invernizzi R, Riccardi A, Ascarì E. Natural history of idiopathic refractory sideroblastic anemia. *Blood*. 1988;71(2):305-12.
92. Visconte V, Rogers HJ, Singh J, Barnard J, Bupathi M, Traina F, et al. SF3B1 haploinsufficiency leads to formation of ring sideroblasts in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(16):3173-86.
93. Fleischman AG, Maxson JE, Luty SB, Agarwal A, Royer LR, Abel ML, et al. The CSF3R T618I mutation causes a lethal neutrophilic neoplasia in mice that is responsive to therapeutic JAK inhibition. *Blood*. 2013;122(22):3628-31.
94. Malcovati L, Della Porta MG, Pietra D, Boveri E, Pellagatti A, Galli A, et al. Molecular and clinical features of refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. *Blood*. 2009;114(17):3538-45.
95. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2391-405.
96. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;369(25):2379-90.
97. Maffioli M, Genoni A, Caramazza D, Mora B, Bussini A, Merli M, et al. Looking for CALR mutations in familial myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. 2014; 20. doi:10.1038/leu.2014.33.
98. Makishima H, Jankowska AM, McDevitt MA, O'Keefe C, Dujardin S, Cazzoli H, et al. CBL, CBLB, TET2, ASXL1, and IDH1/2 mutations and additional chromosomal aberrations constitute molecular events in chronic myelogenous leukemia. *Blood*. 2011;117(21):e198-206.
99. Schwaab J, Schnittger S, Sotlar K, Walz C, Fabarius A, Pffirmann M, et al. Comprehensive mutational profiling in advanced systemic mastocytosis. *Blood*. 2013;122(14):2460-66.
100. Zhang D, Loughran TP, Jr. Large granular lymphocytic leukemia: molecular pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012(1):652-59.
101. Koskela HL, Eldfors S, Ellonen P, van Adrichem AJ, Kuusanmäki H, Andersson EI, et al. Somatic STAT3 mutations in large granular lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2012;366(20):1905-13.
102. Rajala HL, Eldfors S, Kuusanmäki H, van Adrichem AJ, Olson T, Lagström S, et al. Discovery of somatic STAT5b mutations in large granular lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013;121(22):4541-50.
103. Barrett AJ, Sloand E. Autoimmune mechanisms in the pathophysiology of myelodysplastic syndromes and their clinical relevance. *Haematologica*. 2009;94(4):449-51.
104. Jerez A, Clemente MJ, Makishima H, Rajala H, Gómez-Seguí I, Olson T, et al. STAT3 mutations indicate the presence of subclinical T-cell clones in a subset of aplastic anemia and myelodysplastic syndrome patients. *Blood*. 2013;122(14):2453-59.
105. Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, Travaglino E, Pietra D, Pascutto C, et al. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2009;27(5):754-62.
106. Cazzola M, Della Porta MG, Travaglino E, Malcovati L. Classification and prognostic evaluation of myelodysplastic syndromes. *Semin Oncol*. 2011;38(5):627-634.
107. Senet L, Arenillas L, Luno E, Ruiz JC, Sanz G, Florensa L. Reproducibility of the World Health Organization 2008 criteria for myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2013;98(4):568-75.
108. Pellagatti A, Benner A, Mills KI, Cazzola M, Giagounidis A, Perry J, et al. Identification of gene expression-based prognostic markers in the hematopoietic stem cells of patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2013;31(28):3557-64.
109. Thol F, Koenecke C, Dobbernack V, et al. Splicing gene mutations in SMD and secondary AML: Clinical implications in the setting of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [abstract]. *Leukemia Res*. 2013;37 (Suppl 1):118-19.
110. Abdel-Wahab O, Levine RL. Mutations in epigenetic modifiers in the pathogenesis and therapy of acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;121(18):3563-72.
111. Bonnal S, Viguevani L, Valcarcel J. The spliceosome as a target of novel antitumour drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(11):847-59.
112. Ward AF, Braun BS, Shannon KM. Targeting oncogenic Ras signaling in hematologic malignancies. *Blood*. 2012;120(17):3397-06.

Parole Chiave

Sindrome mielodisplastica, mutazioni, prognosi

Indirizzi per la corrispondenza

Domenica Caramazza

Ematologia, Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi

Viale Borri, 57 - 21100 Varese

E-mail: mimi.caramazza@gmail.com

Nuove entità clinico-biologiche



Cristina Mecucci, Tamara Iannotti

Ematologia, Università degli Studi di Perugia

Introduzione

La complessità clinico-biologica delle sindromi mielodisplastiche (SMD) è in parte testimoniata dal succedersi delle diverse classificazioni diagnostiche che, fino ad oggi, si sono avvalse prevalentemente delle caratteristiche ematologiche e morfologiche, combinando la citopenia nel sangue periferico con la displasia delle linee dell'ematopoiesi mieloide e la percentuale dei blasti a livello midollare. Con questi criteri la classificazione WHO 2008⁽¹⁾, di uso corrente, ha proposto cinque entità, considerando a parte l'età pediatrica per le sue specificità di incidenza e di correlazioni con la patologia congenita.

La genetica è entrata nella classificazione WHO delle SMD con la sindrome 5q-, inclusa nell'entità definita SMD con del(5q) isolato. Interessante notare che quest'ultima rappresenta l'unica vera entità clinico-biologica convalidata dalla WHO nell'ambito delle SMD, a fronte di sette condizioni nell'ambito delle leucemie acute mieloblastiche, in cui l'anomalia citogenetica è considerata patognomonica. È pertanto evidente che molto resta da fare nella comprensione della biologia e del suo significato clinico nelle sindromi mielodisplastiche. In assenza di genetica specifica, ma con la combinazione dei dati ematologici derivanti dall'analisi del sangue periferico e del midollo, la WHO ha enucleato dalle SMD la leucemia mielomonocitica cronica (LMMC) e altre condizioni con scriccio mieloproliferativo (leucemia mieloide cronica atipica BCR/ABL1 negativa; forme inclassificabili; leucemia mielomonocitica giovanile) definite come SMD/NMP (Neoplasia mieloproliferativa) per le caratteristiche comuni sia alle sindromi mielodisplastiche che ai disordini mieloproliferativi cronici.

Quale la definizione di entità clinico-biologica?

Il primo criterio è quello di un'associazione tipica e ricorrente, anche se non sempre esclusiva, di un marcatore biologico (anomalia cromosomica; mutazione genica; immunofenotipo; profilo di espressione; evento epigenetico) con i segni e i sintomi, nonché con l'andamento clinico della malattia. In questa accezione è evidente come il marcatore biologico sia di fondamentale importanza nel precisare la diagnosi differenziale con altre condizioni simili.

Si è appreso peraltro, che, in alcuni casi (vedi avanti riarrangiamen-

ti dei geni per i recettori tirosin-chinasici), l'impronta genetica possa essere sufficiente a riconoscere la malattia, indipendentemente dal fenotipo ematologico.

L'era genomica che stiamo vivendo ha originato un grande numero di conoscenze (vedi anche articolo di Caramazza-Passamonti in questo numero della rivista), alcune delle quali tuttavia necessitano di ulteriore validazione clinica. Di seguito saranno discusse le novità che gli studi biologici, con riferimento particolare a quelli sul genoma, hanno prodotto nelle SMD, e che sono significative nell'indirizzare la diagnosi e/o identificare specifiche associazioni clinico-ematologiche.

Sindrome 5q-

Come sopra accennato è l'unica entità clinico-biologica identificata su base citogenetica inserita dalla WHO 2008 nella classificazione delle SMD. La delezione è sempre interstiziale anche se la dimensione del tratto genomico perso può essere variabile per la diversa posizione dei punti di rottura, rispettivamente centromerico e telomerico, nel braccio lungo del cromosoma 5⁽²⁾.

Sul piano clinico-ematologico la sindrome 5q- è caratterizzata da: alta prevalenza nel sesso femminile, anemia macrocitica, ipoplasia della serie eritroide, piastrine normali o elevate, micromegacariociti monolobulati, prognosi migliore⁽³⁾.

È interessante notare che, nella classificazione WHO, la conta piastrinica normale o aumentata non è inserita come caratteristica distintiva della SMD con del(5q) isolato; tuttavia una piastrinopenia può condizionare la prognosi del del(5q) isolato⁽⁴⁾. Modelli *in vitro* e *in vivo* hanno prodotto informazioni patogenetiche rilevanti in questa entità. Innanzitutto la delezione genomica determina uno stato di aploinsufficienza nella cellula ematopoietica affetta con riduzione dei trascritti di geni critici, che vanno persi a causa della delezione mono-allelica⁽⁵⁾. Ad esempio l'aploinsufficienza del gene RPS14 a livello della banda 5q33, che codifica per una proteina della subunità ribosomiale 40S, riprodotta nel topo ko e *in vitro* per silenziamento del gene attraverso lo specifico RNA interferente, determina un'attivazione della p53 con repressione della serie eritroide e un fenotipo anemico⁽⁶⁾. Un altro modello animale aploinsufficiente per altri due geni compresi nella delezione, che codificano rispettivamente per miR145 e

miR146, riproduce alcuni aspetti fenotipici del 5q- isolato, nella fattispecie la dismegacariopoiesi e la trombocitosi⁽⁷⁾.

Altri geni del tratto deletato di 5q la cui aploinsufficienza si correla con aspetti fenotipici caratteristici delle sindromi mielodisplastiche sono riportati nella Tabella 1.

GENE	LOCUS	CDR1	CDR2
APC	5q22	no	no
IRF-1	5q31.1	no	no
EGR1	5q31.2	sì	no
DIAPH1	5q31.3	sì	no
CSF1R	5q32	no	sì
miR-145/ miR-146a	5q32/5q33.3	no	sì/adiacente al bordo distale di CDR
SPARC	5q33	no	sì
RPS14 and RBM22	5q33	no	sì
NPM1	5q35.1	no	no
CDR1, common deleted region at 5q31; CDR2, common deleted region at 5q33			

Tabella 1 – Geni aploinsufficienti nella delezione 5q coinvolti nella patogenesi della SMD

Le numerose varianti della delezione 5q non riguardano solo le localizzazioni dei breakpoints cromosomici e le dimensioni del tratto genomico che va incontro a delezione, come sopra citato⁽²⁾, ma anche le caratteristiche clinico-ematologiche e molecolari della SMD. Ne è esempio la mutazione V617F del gene JAK2 in un sottogruppo di SMD con del(5q) isolato e un midollo ipercellulare compatibile con un disordine mieloproliferativo⁽⁸⁾.

Anemia refrattaria con sideroblasti ad anello

Come la sindrome 5q-, l'anemia sideroblastica acquisita non è di certo una nuova entità clinico-biologica. Qui viene inclusa per la nuova definizione molecolare di malattia che coinvolge il complesso dello *splicing* (*spliceosome*), vale a dire quel complesso di piccoli RNA nucleari, che, associati a proteine, controllano lo *splicing* del pre-mRNA⁽⁹⁾. Nella fattispecie l'anemia refrattaria con sideroblasti ad anello presenta in circa il 90% dei casi una mutazione della subunità dello spliceosoma SF3B1 che costituisce anche un marcatore di buona prognosi e basso rischio di progressione in leucemia acuta mieloblastica⁽¹⁰⁾.

α-talassemia acquisita e SMD

Si tratta di una condizione rara, ma ben caratterizzata sul piano ematologico e molecolare. In questa entità, inaspettatamente per una SMD, i globuli rossi si presentano microcitici e ipocromici⁽¹¹⁻¹²⁾. La condizione è acquisita, prevalente nel sesso maschile, e sostenuta molecularmente o dalla delezione acquisita del *cluster* dei geni dell'α-talassemia (16p terminale), o da mutazioni somatiche inattivanti del gene ATRX (Xq13.3), che codifica per una proteina che lega la cro-

matina ed influenza l'espressione genica attraverso un meccanismo epigenetico. Dal punto di vista diagnostico nei globuli rossi si rilevano le tipiche inclusioni corrispondenti ai precipitati di HbH, evidenziate dalla colorazione con blu brillante di cresile⁽¹³⁾.

Geni malattia

Il riarrangiamento di PDGFRA, o di PDGFRB o di FGFR1 consiste in una traslocazione cromosomica in cui comunque la regione codificante per il dominio tirosin chinasi del recettore è sempre presente, così che si ha un'attivazione costitutiva. Questa caratteristica genetica è il denominatore comune di disordini neoplastici prevalentemente caratterizzati da un fenotipo classificabile come SMD/NMP anche se, meno frequentemente, la diagnosi può risultare compatibile con LMMC o SMD, sia a basso che ad alto rischio. Si tratta quindi di entità genetica-clinico-ematologiche riconosciute dal riarrangiamento di un gene che codifica per un recettore di membrana (PDGFRB, PDGFRA, FGFR1) con un dominio tirosin-chinasi che viene attivato a seguito della traslocazione (Figura 1).

Eosinofilia e monocitosi sono stigmati morfologici significativamente presenti. Meno costante la splenomegalia. In casi particolari, soprattutto associati a coinvolgimento di FGFR1, la neoplasia associata può essere di natura linfoide, linfoma o leucemia acuta linfoblastica, e si può anche osservare l'associazione di un tumore mieloidale e di un linfoide nello stesso individuo, sia concomitanti che in fasi diverse della malattia. Ad ulteriore supporto del ruolo patogenetico del riarrangiamento dei recettori gioca anche la brillante risposta di questi disordini al trattamento con inibitori dell'attività tirosinchinasi a dosaggi inferiori a quelli impiegati nella leucemia mieloidale cronica⁽¹⁴⁾.

Disordini SMD/NMP

Si tratta di una interessante indicazione classificativa da parte della WHO, che permette un inquadramento delle neoplasie mieloidi caratterizzate dalla concomitanza di un *trait* clinico-ematologico mieloproliferativo (leucocitosi, monocitosi, splenomegalia) con i segni di una mielodisplasia franca. Accanto a forme SMD/NMP senza un'etichetta genomica precisa, le tecnologie ad alta risoluzione per l'analisi del genoma hanno identificato mutazioni ricorrenti che, anche se non patognomiche, sono utili da un punto di vista classificativo e diagnostico.

Leucemia mielomonocitica cronica

Può essere considerato il prototipo di un disordine tipo SMD/NMP. Non a caso la LMMC in precedenza apparteneva alle classificazioni delle SMD. È importante notare che nella LMMC, a fronte di un'indicazione ematologica inequivocabile (monociti > 1x10⁹/l), a tutt'oggi non esiste una lesione genetica specifica. I contributi della citogenetica convenzionale sono limitati alla dimostrazione di clonalità e individuazione di anomalie ricorrenti, quali la del(12p) o la trisomia 8, in non più del 10% dei casi. Più ricca l'informazione relativa alle variazioni nucleotidiche rilevate dal sequenziamento, da cui particolarmente frequenti (30-50% dei casi) risultano le mutazioni dei geni TET2, ASXL1, SRSF2 e SETBP1⁽¹⁵⁾.

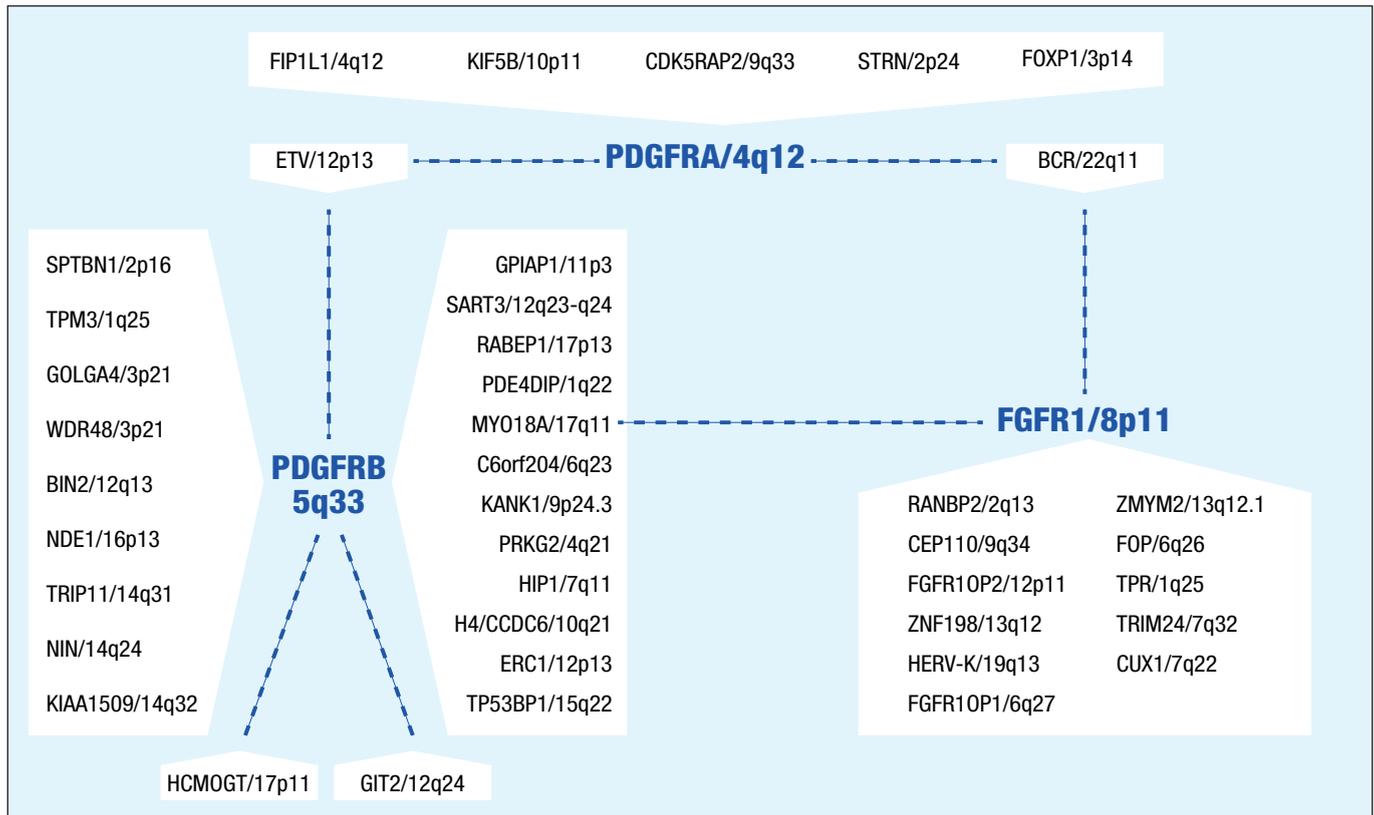


Figura 1 – Rappresentazione dei geni partners nelle diverse traslocazioni reciproche cui possono andare incontro i geni PDGFRA, PDGFRB o FGFR1 in singoli pazienti.

Leucemia mieloide cronica atipica

Molecolarmente questa rara condizione era definita solo in negativo per assenza del riarrangiamento BCR/ABL1, fino alla scoperta recente delle mutazioni del gene SETBP1 in oltre il 20% dei casi⁽¹⁶⁾. Successivamente SETBP1 è risultato mutato in altre neoplasie mieloidi, incluso il 4% dei casi di SMD, in particolare in casi con elevato rischio di evoluzione in leucemia acuta e monosomia 7 o iso (17q) al cariotipo⁽¹⁷⁾. Il gene SETBP1 codifica per una proteina con omologie per l'oncogene SKI e con un dominio capace di legare l'oncoproteina nucleare SET. Nei progenitori mieloidi SETBP1 avrebbe un'azione attivante la trascrizione dei geni HOXA9 e HOXA10⁽¹⁸⁾.

Leucemia mielomonocitica giovanile

Questa forma aggressiva di SMD/NMP vede il coinvolgimento di un particolare gruppo di geni coinvolti nella via di trasmissione del segnale RAS-MAPK che vanno incontro a mutazioni germinali e somatiche: PTPN11, NRAS, KRAS, NF1, CBL.

Anemia refrattaria con sideroblasti ad anello e trombocitosi (ARSA-T)

L'individuazione di questa entità clinico-patologica costituisce un importante contributo classificativo sia per le SMD che per le DMP. Infatti le stigmati ematologiche includono l'associazione di un'anemia refrattaria normo- o macro-citica, presenza di sideroblasti ad anello in una quota superiore al 15% nel midollo, e una conta piastrinica

aumentata ($>450 \times 10^9/L$). La sindrome, ben caratterizzata su base morfologica, è supportata da una stretta correlazione genotipo/fenotipo. Infatti da un punto di vista genomico si assiste alla presenza di mutazioni del gene JAK2 o MPL, come in circa il 10% delle trombocitemie essenziali, e, in aggiunta, mutazioni del gene SF3B1, come nel 90% delle anemie refrattarie con sideroblasti ad anello. Nella patogenesi sembra che la mutazione di SF3B1 preceda quella di JAK2⁽¹⁹⁾. Il quesito biologico se un solo clone o due distinte popolazioni sostengano la proliferazione mieloide di questa malattia, che costituisce un vero ibrido SMD/NMP, non è completamente chiarito. Dal punto di vista terapeutico gli inibitori di JAK2 costituiscono a tutt'oggi un potenziale che necessita evidenza di efficacia.

Sindromi genetiche e SMD

Sebbene le SMD presentino in circa l'80% dei casi il paradosso della citopenia periferica in presenza di elevata cellularità midollare, un'ipoplasia midollare non preclude la diagnosi di SMD e si riscontra in circa il 20% dei casi. Nel percorso diagnostico va considerata un'eventuale sindrome genetica che predispone allo sviluppo di SMD, non solo in età pediatrica (Tabella 2).

Lo studio di queste condizioni ha permesso non soltanto di inquadrare adeguatamente la diagnosi delle SMD, ma anche di arricchire il bagaglio di conoscenze sui geni coinvolti in processi critici per lo sviluppo della insufficienza midollare e mielodisplasia. È interessante notare che numerosi geni coinvolti in mutazioni germinali predisponenti

a SMD/LMA vanno anche incontro a mutazioni somatiche in sindromi mielodisplastiche de novo, sottolineando l'importanza patogenetica dei meccanismi molecolari regolati da tali geni.

Sindrome di Shwachman
Sindrome di Li Fraumeni
Anemia di Fanconi
Neurofibromatosi
Sindrome di Nijmegen
Sindrome del Telomero

Tabella 2 – Sindromi genetiche con insufficienza midollare e predisposizione a SMD

Neutropenie congenite

Nonostante la prima descrizione si debba a Kostmann nel 1956, le conoscenze biologiche sulle neutropenie congenite hanno visto avanzamenti determinanti nell'ultimo decennio⁽²⁰⁾. Nella Tabella 3 vengono riassunti i geni con mutazioni a oggi note che indirizzano la diagnosi di neutropenia congenita. Ciascuna di queste SMD costituisce una condizione preleucemica che frequentemente progredisce con l'acquisizione di mutazioni del gene CSF3R e/o della monosomia 7.

GENE	CROMOSOMA	MUTAZIONE	FREQUENZA
ELANE	19p13.3	loss of function	50-60%
WAS	Xp11.4-p11.21	gain of function	<1%
HAX1	1q21.3	loss of function	11-30%
GFI1	1p22	loss of function	<1%
G6PC3	17q21.31	loss of function	<3%

Tabella 3 – Geni coinvolti in circa il 60% dei casi della condizione preleucemica caratterizzata da neutropenia congenita severa

Bibliografia

- World Health Organization. Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC, Lyon, 2008.
- Nofrini V, La Starza R, Crescenzi B, Pierini V, Barba G, Mecucci C. Different boundaries characterize isolated and non-isolated 5q deletions in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. *Haematologica* 2012;97 (5):792-4.
- Van den Berghe H, Cassiman JJ, David G, Fryns JP, Michaux JL, Sokal G. Distinct haematological disorder with deletion of long arm of no. 5 chromosome. *Nature* 1974;251 (5474):437-8.
- Jonasova A, Cermak J, Vondrakova J, Siskova M, Hochova I, Kadlcikova E, Ebert BL, et al. Thrombocytopenia at diagnosis as an important negative prognostic marker in isolated 5q- SMD (IPSS low and intermediate-1). *Leuk Res.* 2012;36 (12):e222-4.
- Ebert BL. Deletion 5q in myelodysplastic syndrome: a paradigm for the study of hemizygous deletions in cancer. *Leukemia.* 2009;23 (7):1252-6.
- Ebert BL, Pretz J, Bosco J, Chang CY, Tamayo P, Galili N, et al. Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature.* 2008;451 (7176):335-9.
- Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, Sung S, Morin R, Muranyi A, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome

Mutazioni GATA2

Le mutazioni di GATA2, di natura geminale, forniscono un'importante precisazione diagnostica nelle SMD che insorgono in soggetti con neutropenia cronica associata a monocitopenia⁽²¹⁾. GATA2 è un fattore di trascrizione membro della famiglia GATA, insieme a GATA1 e GATA3, caratterizzato da domini zinc finger, che legano il DNA, e un dominio di transattivazione. Sono note almeno due sindromi genetiche a trasmissione autosomica dominante, predisponenti a SMD/LMA in cui GATA2 è mutato: la sindrome di Emberger, caratterizzata da linfedema; la cosiddetta sindrome MonoMAC, vale a dire monocitopenia, diminuzione dei linfociti B e natural killer, associate a infezioni ricorrenti virali, fungine e micobatteriche. Nella casistica di SMD a tutt'oggi più numerosa, investigata con sequenziamenti di nuova generazione, non sono emerse mutazioni somatiche di GATA2⁽²²⁾, suggerendo la natura prevalentemente congenita di queste aberrazioni e l'importanza della selezione clinica dei pazienti sulla base dei segni e sintomi delle sindromi associate per indirizzare le analisi mutazionali diagnostiche.

Disordine piastrinico familiare

La piastrinopenia su base genetica costituisce una condizione predisponente in cui circa il 35% dei casi va incontro a mielodisplasia e leucemia acuta⁽²³⁾. Le piastrine sono normali per dimensione e morfologia, ma funzionalmente incapaci di aggregare su stimolazione di collagene ed epinefrina. Il gene coinvolto è RUNX1/21q22.12 che codifica per una subunità del complesso trascrizionale CBF (core binding factor). Possono verificarsi sia delezioni che mutazioni missenso del gene, e queste ultime sembrano particolarmente presenti in soggetti che sviluppano SMD/LMA⁽²⁴⁾. È importante notare che mutazioni di RUNX1 si ritrovano nell'8-9% di SMD de novo generalmente interpretate come mutazioni somatiche.

- phenotype. *Nat Med.* 2010;16 (1):49-58.
- Ingram W, Lea NC, Cervera J, Germing U, Fenaux P, Cassinat B, et al. The JAK2 V617F mutation identifies a subgroup of SMD patients with isolated deletion 5q and a proliferative bone marrow. *Leukemia* 2006;20(7):1319-21.
- Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2013;122 (22):3616-27.
- Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, Abdel-Wahab O, Steensma DP, Galili N, et al. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol.* 2012;30 (27):3376-82.
- Steensma DP, Gibbons RJ, Higgs DR. Acquired alpha-thalassemia in association with myelodysplastic syndrome and other hematologic malignancies. *Blood.* 2005;105 (2):443-52.
- Steensma DP, Higgs DR, Fisher CA, Gibbons RJ. Acquired somatic ATRX mutations in myelodysplastic syndrome associated with alpha thalassemia (AT SMD) convey a more severe hematologic phenotype than germline ATRX mutations. *Blood.* 2004;103 (6):2019-26.
- Steensma DP, Porcher JC, Hanson CA, Lathrop CL, Hoyer JD, Lasho TA, et al. Prevalence of erythrocyte haemoglobin H inclusions in unselected patients with clo-

- nal myeloid disorders. *Br J Haematol.* 2007;139 (3):439-42.
14. Jovanovic JV, Score J, Waghorn K, Cilloni D, Gottardi E, Metzgeroth G, et al. Low-dose imatinib mesylate leads to rapid induction of major molecular responses and achievement of complete molecular remission in FIP1L1-PDGFR α -positive chronic eosinophilic leukemia. *Blood.* 2007;109 (11): 4635-40.
 15. Muramatsu H, Makishima H, Maciejewski JP. Chronic myelomonocytic leukemia and atypical chronic myeloid leukemia: novel pathogenetic lesions. *Semin Oncol.* 2012;39 (1):67-73.
 16. Piazza R, Valletta S, Winkelmann N, Redaelli S, Spinelli R, Pirola A, et al. Recurrent SETBP1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia. *Nat Genet.* 2013;45 (1):18-24.
 17. Fernandez-Mercado M, Pellagatti A, Di Genua C, Larrayoz MJ, Winkelmann N, Aranaz P, et al. Mutations in SETBP1 are recurrent in myelodysplastic syndromes and often coexist with cytogenetic markers associated with disease progression. *Br J Haematol.* 2013;163 (2):235-9.
 18. Oakley K, Han Y, Vishwakarma BA, Chu S, Bhatia R, Gudmundsson KO, et al. Setbp1 promotes the self-renewal of murine myeloid progenitors via activation of Hoxa9 and Hoxa10. *Blood.* 2012;119 (25):6099-108.
 19. Malcovati L, Cazzola M. Refractory anemia with ring sideroblasts. *Best Pract Res Clin Haematol* 2013;26(4):377-385.
 20. Van den Berghe P, Beel K. Severe congenital neutropenia, a genetically heterogeneous disease group with an increased risk of LMA/ SMD. *Pediatr Rep.* 2011;3 Suppl 2:e9.
 21. Pasquet M, Bellanné-Chantelot C, Tavitian S, Prade N, Beaupain B, Larochelle O, et al. High frequency of GATA2 mutations in patients with mild chronic neutropenia evolving to MonoMac syndrome, myelodysplasia, and acute myeloid leukemia. *Blood.* 2013;121 (5):822-9.
 22. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med.* 2011;364 (26):2496-506.
 23. Balduini CL, Savoia A. Genetics of familial forms of thrombocytopenia. *Hum Genet.* 2012;131 (12):1821-32.
 24. Song WJ, Sullivan MG, Legare RD, Hutchings S, Tan X, Kufrin D, et al. Haploinsufficiency of CBFA2 causes familial thrombocytopenia with propensity to develop acute myelogenous leukaemia. *Nat Genet.* 1999;23 (2):166-75.

Parole Chiave

SMD – Entità clinico-biologiche

Indirizzi per la corrispondenza

Cristina Mecucci

Ematologia, Università di Perugia
Ospedale Universitario S. Maria della Misericordia, 06132 Perugia
Tel. (+39) 0755783808 - Fax (+39) 0755783691
E-mail: cristina.mecucci@unipg.it

Terapia



Alessandro Levis¹, Flavia Salvi², Emanuela Messa³

¹ Fondazione Italiana Sindromi Mielodisplastiche (FISM) c/o Azienda Ospedaliera SS Antonio e Biagio - Alessandria

² Struttura Complessa Ematologia - Azienda Ospedaliera SS Antonio e Biagio - Alessandria

³ Struttura complessa di Medicina - Ospedale Civile - Carmagnola

Introduzione

La terapia delle sindromi mielodisplastiche (SMD) è migliorata negli ultimi anni, anche se il trapianto di cellule staminali rimane l'unico vero trattamento eradicante il clone displastico.

I nuovi farmaci quali la lenalidomide, i demetilanti e i ferrochelanti, ormai approvati con differenti modalità dalle autorità regolatorie occidentali, consentono di rallentare la storia naturale della malattia e indurre un miglioramento della qualità di vita dei pazienti non eleggibili per il trapianto⁽¹⁾. Molti fattori rendono difficile individuare una linea terapeutica univoca e chiara per la maggior parte dei casi. La causa principale è l'aggregazione sotto la dizione di SMD di entità differenti con prognosi e tendenza alla leucemizzazione variabili⁽²⁾.

La complessità di anomalie citogenetiche e molecolari correlate alla diagnosi di SMD non consente di individuare categorie a decorso univoco potenzialmente curabili con terapie selettive, con l'eccezione del sottogruppo di pazienti affetti da sindrome del 5q^(3,4).

Va inoltre considerato il fatto che le SMD sono malattie tipiche dell'anziano, come evidenziato anche dai dati real life della Rete Italiana dei Registri Regionali SMD riassunti nella Figura 1. Terapie aggressive e in particolare il trapianto allogenico di cellule staminali sono in genere difficilmente utilizzabili. La presente rassegna considera gli strumenti terapeutici disponibili e cerca di identificare il loro ruolo all'interno dei gruppi prognostici identificati dall'*International Prognostic Scoring System* (IPSS) come a rischio basso (*score* basso e intermedio-1) oppure alto (*score* intermedio-2 e alto)⁽⁵⁾. Lo *score* IPSS costituisce ancora il riferimento per la scelta della strategia più appropriata, pur essendo oggi superato da classificazioni più precise come il *WHO classification-based Prognostic Scoring System* (WPSS)⁽⁶⁾ o il *Revised International Prognostic Scoring System* (IPSS-R)⁽⁷⁾. Negli alti rischi IPSS (int-2 e alto), come emerge dalla Figura 2, vi è un'elevata tendenza alla progressione leucemica e la terapia dovrebbe perseguire l'obiettivo di modificare, se possibile, il decorso della malattia, mentre nei bassi rischi risulta più rilevante la correzione dell'anemia e il miglioramento della qualità di vita.

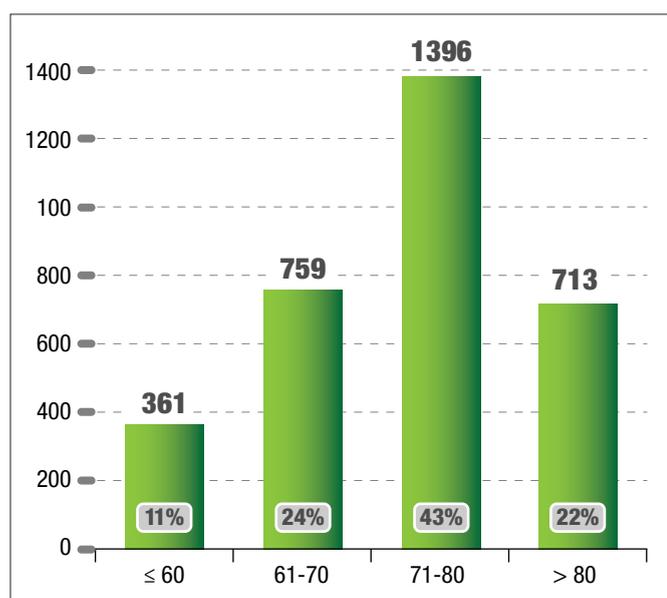


Figura 1 – Distribuzione della casistica dei 3229 casi della Rete Italiana dei Registri Regionali SMD per fasce di età. Il 65% dei casi presenta un'età media superiore a 70 anni con un'età mediana di 74 anni.

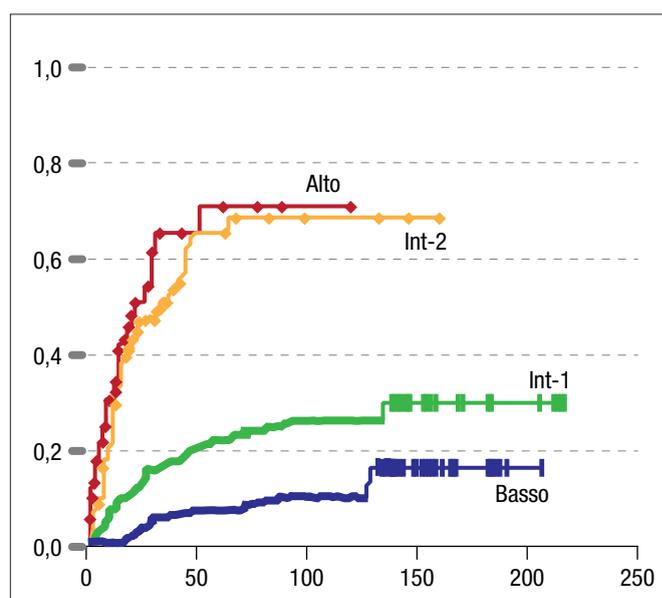


Figura 2 – Curve di leucemizzazione dei casi della Rete Italiana dei Registri Regionali SMD in base al rischio IPSS. In ascisse il tempo espresso in mesi.

Opzioni terapeutiche

Supporto trasfusionale

L'anemia è la citopenia che più frequentemente conduce alla diagnosi della malattia e ha il maggiore impatto sulla qualità di vita dei pazienti⁽⁸⁾. Uno dei principali obiettivi della terapia di supporto è perciò la correzione dell'anemia e la gestione dei sintomi ad essa correlati. Il supporto trasfusionale è quindi il cardine della terapia di supporto^(9,10) e le trasfusioni di concentrati eritrocitari sono responsabili di un'elevata quota di accessi ospedalieri⁽¹¹⁾. Per molti pazienti il supporto trasfusionale cronico è un'esigenza difficilmente modificabile legata al proprio stato di malattia. A questo proposito va osservato come l'impatto prognostico sfavorevole della dipendenza trasfusionale dimostrato da Cazzola et al⁽¹²⁾ non sia probabilmente giustificato solo dal fatto che i pazienti trasfusi, e quindi più anemici, siano quelli con malattia più avanzata o più grave. Il ruolo prognostico negativo della dipendenza trasfusionale è infatti documentato anche all'interno dei singoli *score* IPSS⁽¹³⁾. Va considerato che i pazienti trasfusi, oltre a soffrire le conseguenze dell'ipossia legata al basso livello di Hb, devono sopportare anche gli effetti collaterali del supporto trasfusionale stesso. Le trasfusioni ripetute si associano non tanto ai rischi infettivo e di allo-immunizzazione, oggi ridotti al minimo, quanto ai danni d'organo, soprattutto cardiaci, legati alle oscillazioni dei valori di Hb con fasi inevitabili di calo emoglobinico, ipossia tissutale, fatigue e alterazione della qualità di vita^(10,14,15).

A questo va aggiunto il sovraccarico marziale post-trasfusionale, che può essere clinicamente rilevante a livello cardiaco^(13,17). Non vanno infine trascurati la dipendenza nei confronti dell'ospedale e l'impegno economico e organizzativo familiare e sociale richiesti dalla conduzione di un programma trasfusionale cronico^(10,11).

Nonostante, per le ragioni esposte, il supporto trasfusionale cronico debba essere considerato una scelta di puro supporto sovente, è l'unico strumento disponibile a consentire un'accettabile qualità di vita per il paziente. Il livello di Hb sotto cui non è opportuno scendere per tarare l'entità e la frequenza del supporto trasfusionale è definito in modo differenziato per i singoli pazienti, pur considerando come *cut off* abitualmente adeguato un livello di Hb compreso tra gli 8 e i 9 gr/dl⁽¹⁸⁾. L'indicazione alle trasfusioni rimane una scelta basata in elevata misura su variabili individuali quali l'età, le comorbidità e la tolleranza soggettiva dello stato di anemia con relativa influenza sulla qualità della vita⁽¹⁰⁾.

Fattori di crescita

Fattori stimolanti l'eritropoiesi (ESAs)

Nei rischi IPSS basso/int-1 l'obiettivo principale della terapia è la riduzione dell'anemia e dei sintomi ad essa correlati. Come sopra evidenziato il supporto trasfusionale è gravato, oltre alle possibili reazioni e al rischio di immunizzazione, dall'oscillazione dei valori di Hb nel tempo, dal mantenimento di livelli di Hb non ottimali per garantire una buona qualità di vita e soprattutto dagli effetti del sovraccarico marziale. Gli ESAs (eritropoietina (EPO) ricombinante α e β e darbepoetina) possono contribuire ad innalzare i livelli di Hb, inducen-

do per periodi significativi un miglioramento delle qualità di vita dei casi non ancora trasfusione-dipendenti e per alcuni pazienti trasfusione-dipendenti possono ridurre o anche abolire la dipendenza trasfusionale^(10,19,20). Gli ESAs sono da considerare la terapia di prima linea dell'anemia della maggior parte dei casi a basso rischio. Pur non avendo ancora risultati di ampi studi randomizzati (sono in corso due trials randomizzati in doppio cieco, uno per EPO α e l'altro per la darbepoetina), vi sono in letteratura numerose dimostrazioni dell'incremento dei valori di Hb e/o riduzione o abolizione della dipendenza trasfusionale, come riassunto in varie meta-analisi^(21,22,23). I dati degli studi di fase II disponibili non consentono di dimostrare la superiorità di una delle diverse molecole di ESAs sulle altre⁽²²⁾, così come non sembrano emergere sicure differenze di risposta tra ESAs da soli o associati ai fattori di crescita mieloidi G-CSF o GM-CSF⁽²³⁾. Dosi settimanali di 40.000 UI di EPO α o di 30.000 UI di EPO β o 150 μ g di darbepoetina costituiscono la dose standard di attacco della terapia, anche se numerosi lavori suggeriscono che dosaggi più elevati (80.000 UI e 60.000 UI di EPO α e β rispettivamente e 300 μ g di darbepoetina) possono indurre una percentuale superiore di risposta⁽²³⁻²⁵⁾. Non esistono dati certi sul dosaggio ottimale di attacco e alcuni studi suggeriscono anche buoni risultati con dosi non particolarmente alte in pazienti selezionati per la loro buona probabilità di risposta⁽²⁶⁾. La presenza di un basso numero di blasti midollari con appartenenza a uno *score* IPSS basso o int-1 e uno scarso o assente fabbisogno trasfusionale sono fattori favorevoli alla risposta agli ESAs⁽²²⁾. Il gruppo nordico ha suggerito anni fa uno *score* predittivo di risposta all'EPO + fattore di crescita granulocitario-macrofagico basato su un fabbisogno trasfusionale superiore a 2 unità di emazie concentrate mensili e valori di EPO endogena superiori a 500 UI/l⁽²⁷⁾, con risposte del 74% per chi non possiede nessuno dei due fattori, del 23% per chi ne possiede uno e del 7% per chi li presenta entrambi. Revisioni più recenti di terapia con EPO o darbepoetina indipendentemente dall'associazione con fattori di crescita granulocitaria confermano l'importanza della bassa blastosi, del rischio IPSS basso o int-1, dell'indipendenza trasfusionale e dei bassi livelli di EPO endogena a valori al di sotto di 200 UI/l come predittori di risposta. La terapia con EPO ha poco significato in chi si presenta con uno o più di questi fattori per l'elevata probabilità di fallimento⁽²⁸⁾.

I criteri universalmente accettati per valutare la risposta eritroide sono quelli proposti da Cheson et al⁽²⁹⁾, caratterizzati da incremento di 1.5 gr/dl di Hb o da riduzione del supporto trasfusionale di almeno 4 unità nell'arco degli ultimi 2 mesi.

La durata minima della terapia iniziale prima di valutare la risposta ed interrompere il trattamento per non risposta è in genere fissata a 8 settimane, ma parecchi casi possono rispondere ancora entro la dodicesima settimana. Sono stati anche descritti casi di risposta tardiva tra la dodicesima e la ventiseiesima settimana⁽³⁰⁾. Poiché la percentuale di risposte molto tardive è comunque scarsa si considera ragionevole, in caso di non risposta, non proseguire la terapia oltre la dodicesima settimana. Durante il trattamento con ESAs è fondamentale proseguire un attento monitoraggio dei valori di Hb per evitare che essa superi i 12 gr/dl con possibili rischi trombotici, come evidenziato nell'espe-

rienza dei pazienti nefropatici⁽²⁰⁾. L'obiettivo della terapia di mantenimento è proseguire a tempo indeterminato lo stimolo eritroide con i dosaggi minori possibili di ESAs che consentano livelli di Hb oscillanti tra 10 e 12 gr/dl senza superare i 12 gr/dl. La durata della risposta, nonostante un mantenimento adeguato, è variabile e circa il 70% delle recidive non è dovuta a leucemizzazione, ma a semplice perdita di sensibilità dei progenitori eritroblastici agli ESAs stessi^(20,28).

Non vi sono studi randomizzati che dimostrino che i vantaggi sicuri indotti dagli ESAs in termini di risposta eritroide e di qualità di vita si trasformino anche in un vantaggio di sopravvivenza. Solo i due studi randomizzati attualmente in corso potranno chiarire questo punto, ma esistono analisi retrospettive suggestive per un allungamento della sopravvivenza indotta dagli ESAs, particolarmente se si tratta di pazienti non ancora trasfusione-dipendenti o con necessità di un debole supporto trasfusionale inferiore a 2 unità di emazie concentrate al mese⁽³¹⁾.

È inoltre escluso un incremento della probabilità di leucemizzazione a seguito del trattamento con ESAs. Musto et al. hanno inoltre evidenziato una migliore sopravvivenza dei casi responsivi agli ESAs rispetto ai *non responders* anche in un piccolo gruppo di pazienti tutti trasfusione-dipendenti⁽³²⁾. Una recente indagine retrospettiva della Rete Italiana dei Registri Regionali SMD suggerisce che il vero beneficio in termini di sopravvivenza sia limitato ai casi non ancora trasfusione dipendenti con valori di Hb oscillanti tra 8 e 10 gr/dl⁽³³⁾. Nei pazienti con sindrome del 5q- a rischio basso/int-1 la percentuale e la durata di risposta al trattamento con ESAs sono inferiori rispetto agli altri sottogruppi di SMD a basso rischio⁽³⁴⁾. L'utilizzo degli ESAs può essere indicato in prima istanza in chi non è ancora trasfusione-dipendente, ma per i casi 5q- che hanno già raggiunto la trasfusione dipendenza va considerata l'ottima probabilità di risposta alla lenalidomide⁽²⁰⁾. Le principali linee guida^(35,36,37) sono concordi nel consigliare l'uso degli ESAs limitatamente ai casi a rischio IPSS basso o int-1 con eritropoietina serica non elevata e non ancora o scarsamente trasfusione dipendenti. Sono indicate dosi settimanali sufficientemente elevate (da 40.000 a 80.000 UI di EPO alfa, o da 30.000 a 60.000 di EPO β , o da 150 a 300 μ g di darbepoetina) per almeno 12 settimane. La terapia potrà essere sospesa dopo tale intervallo in caso di non risposta, mentre nei *responders* proseguirà fino a perdita della risposta con l'indicazione a ridurre le dosi al minimo indispensabile a mantenere il livello di Hb tra 10 e 12 gr/dl.

Fattori stimolanti la piastrinopoiesi

Con l'eccezione dei casi in trasformazione blastica, il problema di una piastrinopenia così grave da creare un rischio emorragico è relativamente poco frequente. Solo raramente, e nelle fasi più avanzate di malattia, si richiede un ripetuto supporto trasfusionale piastrinico, che si associa peraltro a scarsa efficacia per la facile insorgenza di sensibilizzazione. L'attuale disponibilità di farmaci trombo-mimetici, quali romiplostim ed eltrombopag approvati per il trattamento delle piastrinopenie croniche su base immunologica, suggerisce una loro utilità anche nei casi di piastrinopenia grave da SMD e studi preliminari di fase 2 con entrambe le molecole confermano questo possibile ruolo.

La maggiore preoccupazione con il romiplostim è il possibile stimolo alla proliferazione blastica e il dubbio di accelerazione della fase di leucemizzazione⁽³⁸⁾. Un recente studio randomizzato in doppio cieco ha confermato l'efficacia del romiplostim sull'incremento delle piastrine e sulla riduzione delle emorragie, ma è stato interrotto precocemente per un aumento dei blasti circolanti⁽³⁹⁾.

Un'analisi successiva non ha tuttavia confermato la facilitazione della leucemizzazione e l'incremento dei blasti, quando presente, si è rivelato transitorio con regressione alla sospensione del farmaco⁽⁴⁰⁾. Più sicuro sotto il profilo della possibile leucemizzazione si sta rivelando l'eltrombopag, che sembra esercitare addirittura un effetto antileucemico⁽⁴¹⁾. Sono al momento attivi numerosi studi con eltrombopag sia in casi a *score* IPSS basso/int-1 con piastrine $< 30 \times 10^9/l$, sia in casi a *score* int-2/alto in associazione a demetilanti. I risultati preliminari di uno studio con eltrombopag per os a dosi tra 50 e 150 mg/die in pazienti IPSS basso/int-1 sono incoraggianti⁽⁴²⁾, ed in uno studio di fase I su pazienti ad alto rischio resistenti ai demetilanti sono state raggiunte dosi di 200 mg senza tossicità di grado 3 e 4⁽⁴³⁾. Il trattamento con farmaci trombo-mimetici è comunque ancora da riservare a studi clinici controllati.

Ferrochelazione

L'omeostasi del ferro è regolata principalmente a livello del suo assorbimento da parte degli enterociti. Poiché non esiste un meccanismo efficace di escrezione, la quota in eccesso di ferro che si accumula a seguito del supporto trasfusionale esita in una perdita di equilibrio con sovraccarico marziale a livello tissutale. Si calcola che ogni trasfusione comporti un apporto marziale di circa 250 mg di ferro con incapacità del sistema reticoloendoteliale di stoccare quote globalmente superiori a 10-15 gr circa.

Il problema maggiore del sovraccarico marziale è la presenza in circolo e soprattutto a livello tissutale di ferro non legato alla transferrina (frazione plasmatica labile) che ha importante attività ossidante e può produrre danni tissutali a livello epatico e cardiaco, come documentato nei pazienti talassemici.

Si ritiene che il sovraccarico marziale e i conseguenti danni miocardici possano incidere nel peggiorare la prognosi dei pazienti anziani con SMD costretti a supporto trasfusionale cronico⁽⁴⁴⁾.

L'esperienza accumulata con i pazienti talassemici suggerisce l'utilizzo di una terapia ferrochelante anche nei pazienti con SMD sottoposti a terapia trasfusionale prolungata per cui l'attesa di vita non sia già inficiata da trasformazione leucemica in atto o imminente⁽⁴⁵⁾.

Pur attendendo ancora i risultati dello studio TELESTO, che è l'unico studio prospettico randomizzato di confronto placebo-deferasirox disegnato per evidenziare un beneficio di sopravvivenza, la maggior parte delle linee guida considera già l'utilità di una ferrochelazione nei pazienti a rischio basso/int-1 sottoposti a ritmo trasfusionale prolungato⁽³⁵⁻³⁷⁾. Questa indicazione si basa sui risultati positivi della terapia con deferasirox nel sottogruppo di pazienti con SMD dello studio EPIC⁽⁴⁶⁾ e di altri studi di fase II condotti sempre con deferasirox⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾. Il monitoraggio del sovraccarico marziale e la definizione del momento di inizio del trattamento ferrochelante si basa nella pratica clinica

sul calcolo delle trasfusioni effettuate e sul dosaggio della ferritina serica, che pur essendo un marker impreciso è di facile esecuzione. Per quanto esistano strumenti molto più validi per monitorare l'accumulo marziale tissutale, quali la biopsia epatica, la risonanza magnetica cardiaca o la SQUID (*Superconducting Quantum Interference Device*), essi sono poco accessibili nella *real life* per motivi di complessità tecnica o di rischio clinico. La maggior parte delle linee guida individua un livello di 1000 µg/l di ferritina e un numero di trasfusioni superiori a 20 come indicatori di sovraccarico marziale, tali da far prendere in considerazione la terapia ferrochelante⁽³⁵⁻³⁷⁾.

Il deferasirox è il ferrochelante più adatto al trattamento dei pazienti mielodisplastici.

La deferoxamina ha infatti il difetto di non essere disponibile per somministrazione orale e di necessitare, per espletare un'accettabile attività ferrochelante, della somministrazione sottocutanea prolungata con conseguenti problemi di *compliance* nei pazienti anziani. Il deferiprone oltre a richiedere più somministrazioni giornaliere può presentare il rischio di granulocitopenia, effetto collaterale di rilievo nei pazienti mielodisplastici già gravati da emopoiesi inefficace. Uno studio retrospettivo di paragone tra 65 casi trattati con deferasirox e 48 con deferiprone, pur con tutti i limiti del confronto non randomizzato, presenta risultati a favore del deferasirox⁽⁵⁰⁾. Il deferasirox ha tuttavia il difetto di una possibile tossicità renale e di non essere adatto a pazienti con innalzamento della creatinina serica. Può inoltre presentare un'incidenza di disturbi gastroenterici che nei soggetti anziani mielodisplastici è nettamente più elevata di quanto si riscontra nei talassemici⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾. Si consiglia di non iniziare il trattamento con dosi superiori a 10 mg/kg/die per poi salire successivamente a dosaggi di 20-30 mg/kg/die se tollerate⁽³⁶⁾. Sono inoltre stati pubblicati i suggerimenti di un *panel* di esperti per controllare gli eventuali effetti collaterali gastroenterici⁽⁵¹⁾. Una chiara indicazione al trattamento ferrochelante è quella relativa ai pazienti ancora relativamente giovani che possono essere indirizzati al trapianto allogenico. È infatti ben dimostrato l'impatto prognostico sfavorevole del sovraccarico marziale ai fini della riuscita del trapianto⁽⁵²⁾. Il trattamento con deferasirox, oltre alla riduzione della ferritinemia e al correlato miglioramento delle transaminasi^(46,47,49), induce in una percentuale di circa il 20% di pazienti mielodisplastici una risposta ematologica con riduzione e anche abolizione del supporto trasfusionale^(48,49,53). Il meccanismo attraverso cui il deferasirox agisce favorendo l'emopoiesi normale è sconosciuto. Tra le possibili spiegazioni vi è la riduzione del danno da *Reactive Oxygen Species* (ROS) sul DNA come risultato della riduzione del ferro libero, ma sono stati ipotizzati anche altri meccanismi diretti indipendenti dalla ferrochelazione, come un'inibizione specifica dell'NF-κB⁽⁵⁴⁾.

Terapia immunosoppressiva

La terapia immunosoppressiva con siero antilinfocitario (SAL) è ben codificata nel trattamento dell'anemia aplastica, ma la componente di patogenesi immunologica è assai meno evidente nelle SMD. Ciò nonostante l'associazione delle SMD con malattie autoimmuni e alcune anomalie immunologiche hanno suggerito nel tempo l'impiego della terapia immunosoppressiva anche nelle SMD. Alcu-

ni studi di fase II su pochi casi hanno evidenziato percentuali limitate di risposta in *subset* particolari di pazienti con SAL ± ciclosporina e più recentemente con alemtuzumab⁽⁵⁵⁾. Oltre alle forme di SMD ipocellulari, che possono essere considerate *borderline* con l'anemia aplastica, vi è una certa probabilità di risposta in alcuni casi a IPSS basso o intermedio-1 nelle fasi precoci di diagnosi.

I lavori iniziali del *National Institute of Health* (NIH) di Bethesda hanno individuato nell'antigene HLA-DR15 un marcatore predittivo di risposta a SAL e/o ciclosporina⁽⁵⁶⁾. Gli stessi autori hanno identificato come predittori di risposta accanto all'HLA-DR15 anche l'età giovanile e una breve durata della dipendenza trasfusionale⁽⁵⁷⁾. In un'analisi retrospettiva dell'NIH è emersa una risposta del 24% a SAL ± ciclosporina, influenzata favorevolmente da età < 60 anni e *score* IPSS basso/int-1, con migliore sopravvivenza e ridotta leucemizzazione rispetto a casi gestiti con sola terapia di supporto⁽⁵⁸⁾. Esiste inoltre uno studio randomizzato europeo tra 45 casi trattati con 15 mg/kg di SAL di cavallo per 5 giorni + ciclosporina per 180 giorni contro 48 casi trattati con terapia di supporto⁽⁵⁹⁾. Pur evidenziando più risposte nel braccio trattato con terapia immunosoppressiva, non sono però emersi vantaggi di sopravvivenza o differenze di leucemizzazione. In questo studio il midollo ipoplastico si è rivelato predittore di risposta. L'utilizzo della terapia immunosoppressiva rimane un argomento controverso. Sono anche in corso studi con alemtuzumab e i primi risultati presentati sono ancora preliminari e richiedono ulteriori conferme. La terapia immunosoppressiva con SAL ± ciclosporina risulta in sintesi ancora di incerta efficacia e dovrebbe essere riservata prevalentemente a studi clinici o limitata a pazienti con età < 60 anni, *score* IPSS non elevato, blasti midollari < 5%, midollo ipoplastico ed eventuale HLA-DR15^(35,37).

Terapia immunomodulante

Attualmente lenalidomide viene utilizzata nella terapia delle SMD. La lenalidomide, analogo più potente e meno tossico della talidomide, dotata in test preclinici di importanti effetti immunomodulatori, anti-infiammatori e anti-angiogenetici⁽⁶³⁾ ha rivelato nel primo studio clinico di fase II un'inattesa efficacia nelle SMD, con particolare riferimento al gruppo con anomalia 5q-, al cui interno è stata ottenuta una risposta globale dell'83% con il 75% di risposte citogenetiche complete⁽⁶⁴⁾. Questa prima osservazione è stata subito seguita da un secondo studio di fase II limitato a 148 casi a rischio IPSS basso/int-1 trasfusione-dipendenti e tutti con anomalia 5q-. Questi pazienti sono stati trattati con lenalidomide 10 mg per 21 giorni ogni 4 settimane o in continuazione. È stata confermata una risposta nel 76% con raggiungimento di indipendenza trasfusionale nel 67% dei casi. Inoltre tra gli 85 casi valutabili per risposta citogenetica è stato confermato alla 24° settimana il 45% di risposte citogenetiche complete e il 28% di risposte citogenetiche parziali⁽⁶⁵⁾. Va inoltre osservato che tra le risposte citogenetiche solo il 74% dei casi aveva anomalia 5q- isolata e la rimanente parte presentava anche anomalie citogenetiche aggiuntive. Lo studio randomizzato successivo, sempre nei casi a rischio basso/int-1 trasfusione-dipendenti, ha confrontato in doppio cieco la lenalidomide somministrata ogni 28 giorni alla dose di 10 mg/die per

21 giorni contro la dose di 5 mg/die per 28 giorni contro placebo. La miglior risposta in termini di indipendenza trasfusionale e soprattutto di risposta citogenetica (50% vs. 25% vs. 0%) è stata ottenuta con la somministrazione di 10 mg/die per 21 giorni ogni 28⁽⁶⁶⁾. In tutti gli studi la tossicità più rilevante è stata quella ematologica, ma il rischio di trombosi venose profonde non è risultato totalmente irrilevante. La preoccupazione maggiore emersa da queste esperienze è stata un'incidenza di leucemizzazione attorno al 25% a 3 anni⁽⁶⁶⁾, ma va osservato che i pazienti erano tutti già trasfusione-dipendenti e almeno ¼ dei casi si presentava con anomalie citogenetiche plurime oltre alla delezione 5q. Un'analisi retrospettiva del gruppo francese ha paragonato 95 casi 5q- trattati con lenalidomide con altri 99 analoghi per caratteristiche cliniche e citogenetiche e non ha evidenziato nessuna tendenza superiore alla leucemizzazione indotta dal farmaco⁽⁶⁷⁾. Il rischio di trasformazione leucemica è del resto insito nella SMD con anomalia 5q-, particolarmente se associata ad altre alterazioni del cariotipo. In un gruppo di pazienti con anomalia 5q- trattati con lenalidomide i pazienti con associata mutazione TP53 hanno rivelato una ridotta probabilità di risposta citogenetica completa e un'augmentata incidenza di trasformazione leucemica⁽⁶⁸⁾. Il meccanismo di azione della lenalidomide nei casi 5q- è ancora in gran parte da chiarire, ma pare ormai evidente un'inibizione selettiva dei cloni 5q-⁽⁶³⁾. Assai meno interessanti sono i risultati della lenalidomide nelle forme a rischio basso/int-1 non 5q- o nei casi a rischio alto già tendenti alla trasformazione leucemica⁽⁶⁹⁾. Sulla base delle evidenze attuali le linee guida raccomandano l'uso della lenalidomide nei casi con anomalia 5q- a score IPSS basso/int-1 trasfusioni dipendenti⁽³⁵⁻³⁷⁾.

Terapia demetilante

Gli agenti ipometilanti 5-azacitidina (AZA) e decitabina costituiscono uno strumento importante per la terapia delle SMD, ma il loro impiego deve essere ancora ottimizzato in percorsi terapeutici sequenziali integrati. Le terapie convenzionali volte a distruggere il clone mutato, quali la polichemioterapia, hanno ben poche probabilità di ottenere remissioni durature nelle SMD senza successivo trapianto allogenico.

Nei pazienti con SMD in fase di trasformazione blastica la chemioterapia convenzionale è infatti poco efficace per la resistenza del clone mielodisplastico ed è gravata, se usata a dosi classiche, da una tossicità abitualmente inaccettabile per pazienti anziani e con comorbidità. Gli agenti ipometilanti, in virtù della scarsa tossicità anche in soggetti anziani, si inseriscono in questo scenario come uno strumento che, oltre a funzionare per eradicare il clone mutato, stimola un processo differenziante con conseguente miglioramento del quadro ematologico periferico e midollare, potenziale sospensione del supporto trasfusionale, miglioramento della qualità di vita e freno della fase di leucemizzazione⁽⁷⁰⁾. In considerazione dell'importanza della metilazione di molti geni regolatori della differenziazione e proliferazione nella patogenesi delle SMD, gli agenti demetilanti, con il loro inserimento nel DNA come analoghi pirimidinici che inibiscono la metilazione del DNA, riescono a favorire la differenziazione cellulare e l'apoptosi e a inibire la proliferazione⁽⁷¹⁾. Sono farmaci indicati nelle forme di

SMD a IPSS int-2/alto a più facile evoluzione verso la fase di leucemizzazione. Dopo la comparsa di dati preliminari di efficacia dell'AZA nelle SMD, il primo importante studio randomizzato di 5-azacitidina alla dose di 75 mg/mq per 7 giorni ogni 28 contro terapia di supporto fu condotto dal CALGB su SMD con differenti rischi IPSS. La risposta fu 60% vs. 5% ($p < 0.001$) e il tempo mediano alla leucemizzazione 21 mesi vs. 13 ($p < 0.007$), ma non fu possibile evidenziare una differenza di sopravvivenza significativa per un'elevata percentuale di cross-over all'AZA dei casi entrati nel braccio di controllo⁽⁷²⁾. L'analisi successiva di tre differenti studi CALGB su 309 casi trattati con AZA tutti alla dose di 75 mg/mq per 7 giorni ogni 28 ha confermato l'utilità dell'AZA nei casi di SMD al alto rischio⁽⁷³⁾. Un successivo studio internazionale multicentrico ha paragonato, in SMD a rischio int-2/alto, AZA alle dosi abituali di 75 mg/mq per 7 giorni ogni 28 contro trattamento convenzionale (solo supporto, ara-c a basse dosi o chemioterapia intensiva sulla base delle scelte prestabilite dal centro). In questo caso non era consentito il *cross-over* ed è stato possibile dimostrare un vantaggio dell'AZA non solo in termini di risposta e leucemizzazione, ma anche nella mediana di sopravvivenza a 2 anni con valori rispettivamente di 50% vs 26% ($p < 0.0001$)⁽⁷⁴⁾. Una sottoanalisi dello stesso studio su 113 casi di AREB-t secondo la classificazione FAB, ha confermato un beneficio di sopravvivenza anche limitatamente a questo sottogruppo di pazienti⁽⁷⁵⁾. Un'analisi retrospettiva del gruppo francese ha dimostrato, su un ampio numero di casi trattati con una blastosi midollare > 15%, che un precedente trattamento con ara-c e un cariotipo anomalo sono predittori di cattiva risposta all'AZA⁽⁷⁶⁾. Nello stesso lavoro un *performance status* ≥ 2 , una citogenetica sfavorevole, la presenza di blasti circolanti e un intenso supporto trasfusionale sono fattori prognostici sfavorevoli per la sopravvivenza. L'esperienza accumulata negli anni, sia all'interno degli studi clinici controllati, sia nella pratica clinica corrente, ha evidenziato che:

- per valutarne il beneficio è utile attendere 3-4 cicli;
- anche il solo miglioramento ematologico indotto dalla terapia può essere utile a prolungare la sopravvivenza;
- l'interruzione del trattamento, anche nei casi a risposta migliore, comporta la recidiva di quasi tutti i casi;
- i casi resistenti hanno in genere prognosi peggiore⁽⁷⁷⁾.

Anche per la decitabina vi sono dati favorevoli di risposta, analoghi a quelli dell'AZA, ma i risultati dello studio randomizzato di decitabina contro migliore terapia di supporto non hanno consentito al momento di dimostrare una superiorità in termini di sopravvivenza⁽⁷⁸⁾. Per questo motivo la decitabina non è ancora stata approvata per un uso clinico routinario dall'autorità regolatoria europea.

Non sono allo stesso modo utili i dati a favore dell'uso dei demetilanti nelle fasce di rischio IPSS basso/int-1, dove gli ESAs sono considerati i farmaci di prima scelta. Pur non essendoci studi randomizzati di fase III che supportino un'evidenza per l'impiego di AZA in questo *subset* di pazienti, vi sono dati derivanti da studi di fase II che suggeriscono una buona risposta all'AZA nei pazienti non-5q- con *score* int-1/basso divenuti resistenti agli ESAs e ormai trasfusione dipendenti^(79,80). La maggior parte delle linee guida raccomanda l'uso dell'AZA come terapia di scelta dei casi a rischio int-2/alto non candi-

dabili a trapianto allogenico per età o comorbidità⁽³⁵⁻³⁷⁾. L'impiego dei demetilanti, come preparatorio al trapianto allogenico o come mantenimento in fasi post-trapianto, è tuttora oggetto di studi, così come il loro impiego in associazione ad altri farmaci potenzialmente attivi nelle SMD quali la lenalidomide⁽⁸¹⁾.

Chemioterapia

- La chemioterapia di induzione secondo gli schemi aplastizzanti usati nelle leucemie acute è stata utilizzata nelle AREB-2 e nelle forme in trasformazione classificate come AREB-t secondo la vecchia dizione FAB. I risultati sono tuttavia deludenti rispetto alle leucemie acute all'esordio e nella maggior parte dei casi sono schemi poco tollerati per l'età avanzata dei pazienti e le eventuali comorbidità. Nello studio internazionale di confronto tra AZA e terapia convenzionale, (AZA001) l'AZA non è stata inferiore alla terapia convenzionale neanche nel sottogruppo in cui quest'ultima era una vera chemioterapia aplastizzante^(74,75). Nel complesso non vi sono indicazioni alla polichemioterapia, ad eccezione dei pazienti giovani da indirizzare al trapianto in cui è da discutere il suo impiego per ridurre la percentuale di blasti e affrontare il trapianto in condizioni di remissione completa o ridotta blastosi. La chemioterapia conserva ovviamente il suo ruolo nelle fasi di trasformazione blastica terminale, ma con funzione prevalente di contenimento, vista la scarsissima possibilità di ottenere vere remissioni complete.
- Negli anni passati, nei rischi intermedio-2 o alto è stato ampiamente usato uno schema di contenimento della blastosi con ara-c a basse dosi sottocute per 2 o 3 settimane al mese. Un confronto randomizzato tra ara-c 10 mg/mq al di sottocute per 21 giorni paragonato a terapia di supporto, nonostante differenti percentuali di risposta, non ha documentato una superiorità dell'ara-c a basse dosi in termini di sopravvivenza o di progressione in leucemia acuta⁽⁸²⁾. D'altro canto anche l'aggiunta di GM-CSF o interleukina-3 non ha consentito di migliorare gli stessi modesti risultati dell'ara-c da solo⁽⁸³⁾. Le basse dosi di ara-c non sono perciò più consigliabili nei pazienti con SMD ad alto rischio⁽³⁶⁾.

Trapianto di cellule staminali

Il trapianto allogenico è considerato, sulla base di numerosi studi prospettici e retrospettivi, l'unico approccio terapeutico in grado di guarire i pazienti con SMD. Il problema principale è la mortalità trapianto correlata e la difficoltà ad essere usato senza elevata tossicità in una popolazione anziana. Una delle prime ampie analisi retrospettive di casi sottoposti a trapianto allogenico mieloablativo da consanguineo ha dimostrato, nonostante l'elevata incidenza di mortalità correlata al trapianto, un dato di *disease free survival* a 3 anni del 40% con influenza negativa dell'età avanzata e del numero di blasti presenti al momento del trapianto⁽⁸⁴⁾. Un più recente lavoro europeo ha confrontato in modo non randomizzato nei pazienti in remissione dopo chemioterapia convenzionale l'evoluzione di chi aveva a disposizione un donatore familiare con chi è stato consolidato con chemioterapia o trapianto autologo. La sopravvivenza a 4 anni è risultata significativamente superiore per

chi disponeva di un donatore, con un vantaggio tuttavia limitato ai casi con *score* IPSS int-2/alto e assenza di vantaggio nei casi con *score* basso/int-1. Tra i pazienti che non potevano essere avviati al trapianto allogenico non è emersa nessuna differenza tra chemioterapia convenzionale di consolidamento e autotrapianto⁽⁸⁵⁾. Sulla base di questo e altri dati, il trapianto autologo non ha al momento nessuna indicazione particolare. Il ruolo e le modalità di gestione del trapianto allogenico nelle SMD sono oggi oggetto di ampio dibattito. Uno studio retrospettivo, con tutti i limiti del confronto non randomizzato, suggerisce che trattare con trapianto allogenico i pazienti *fit* ad alto rischio con età tra 60 e 70 anni induce un vantaggio di sopravvivenza rispetto a una terapia convenzionale con azacitidina⁽⁸⁶⁾. L'evoluzione della tecnica di trapianto, caratterizzato oggi da un miglior controllo della *graft versus host disease* (GVHD) e delle complicanze infettive, dall'impiego delle cellule staminali periferiche, da una minore tossicità del trapianto *unrelated* e conseguente maggiore disponibilità di donatori, consente questa procedura anche oltre i 60 anni età. I quesiti più rilevanti che rimangono aperti sono:

- chi e in quale fase della malattia sia candidabile con beneficio al trapianto allogenico;
- se sia opportuno indurre una remissione prima di avviare il paziente a trapianto;
- quale sia il miglior regime di condizionamento;
- se sia utile una terapia di mantenimento post trapianto.

Non esistono purtroppo risposte sicure a questi quesiti che siano basate sull'evidenza di studi randomizzati.

Circa il primo punto si è fatto per anni riferimento a un lavoro dell'IBMDR che consigliava, sulla base di un'analisi probabilistica su dati retrospettivi, di candidare al trapianto al momento della diagnosi i rischi int-2/alti e di posporre il trapianto alla progressione nei casi a rischio basso/int-1 in cui potrebbero esserci rischi da terapia superiori a quelli indotti dalla malattia stessa⁽⁸⁷⁾.

La variazione nel tempo della mortalità trapianto-correlata, la maggiore facilità a trovare donatori compatibili e l'importanza data alle condizioni del paziente, tra cui età e comorbidità⁽⁸⁸⁾, rendono ragione della complessità del dibattito e dell'assenza di regole fisse che non siano modulate sulle caratteristiche dei singoli pazienti⁽⁸⁹⁻⁹¹⁾. Per quanto riguarda il secondo quesito è noto che una persistenza di blasti midollari al momento del trapianto è un indicatore estremamente sfavorevole^(85,92), ma è anche da considerare il rischio della chemioterapia pre-trapianto che, oltre ad avere scarsa efficacia, può compromettere le condizioni di pazienti non più giovani ai fini del successivo trapianto. L'efficacia degli agenti demetilanti nell'indurre miglioramenti ematologici e anche vere remissioni con scarsa tossicità rende possibile l'ipotesi di un loro utilizzo al posto della chemioterapia convenzionale nella fase pre-trapianto. Questa strategia si è rivelata fattibile e sicura in varie esperienze prospettiche o retrospettive⁽⁹³⁻⁹⁴⁾.

La risposta preventiva ai demetilanti sembra inoltre essere un fattore positivo per il successivo trapianto allogenico⁽⁹⁵⁾. Sempre da un confronto retrospettivo non randomizzato emergerebbe un

vantaggio di una terapia di *debulking* con azacitidina rispetto a quella convenzionale con chemioterapia ⁽⁹⁶⁾. Il reale ruolo della terapia con demetilanti pre-trapianto rimane tuttavia da dimostrare in studi prospettici randomizzati. Per quanto riguarda il tipo di condizionamento è evidente nella popolazione anziana il vantaggio di condizionamenti a ridotta intensità. Rimane tuttavia da stabilire se schemi non mieloablativi siano sufficienti a produrre i vantaggi che sarebbero insiti nell'esecuzione del trapianto. Una recente indagine retrospettiva dell'EBMT su leucemie acute e SMD con blasti midollari < 10% ha confermato, come atteso, uno svantaggio precoce per tossicità del condizionamento mieloablativo e una maggiore incidenza di recidive nel condizionamento non mieloablativo.

Dati a lungo termine di *survival* e *progression free survival* non sembrano a favore del trapianto non mieloablativo, mentre sembrerebbero adeguati i condizionamenti a intensità ridotta intermedia ⁽⁹⁷⁾. Una risposta sicura su questo tema potrebbe venire solo da uno studio internazionale che confronti regimi a intensità ridotta intermedia verso schemi mieloablativi. L'ultimo punto in discussione è particolarmente attuale se si tiene conto della possibilità di effettuare un mantenimento con demetilanti dopo il trapianto allogenico.

I dati dello studio RELAZA sembrano confermare l'efficacia di un mantenimento con azacitidina. In un gruppo di pazienti in remissione post-trapianto, ma con chimerismo sulle CD34+ < 80% l'azacitidina ha infatti indotto un miglioramento del chimerismo e un probabile ritardo della recidiva ⁽⁹⁸⁾. Il ruolo positivo di un mantenimento post-allogenico con azacitidina non sarebbe solo giustificato dal suo effetto demetilante, ma anche dall'induzione di un'espansione della popolazione T regolatoria (Tregs) con possibile incremento della *graft versus leukemia* senza concomitante peggioramento della GHVD ⁽⁹⁹⁾.

Strategia terapeutica generale

La strategia terapeutica dipende dalla valutazione dei fattori prognostici legati sia al tipo di malattia che a variabili paziente-correlate. La modulazione e personalizzazione del trattamento si basano sui seguenti cardini: la diagnosi WHO ⁽²⁾, la valutazione del cariotipo e il conseguente calcolo dello *score* di rischio IPSS ⁽³⁾, l'età,

il *performance status* e le comorbidità. Su queste informazioni si definisce il tipo di terapia ideale e la possibilità di offrirla tenendo conto dell'aggressività terapeutica che può essere tollerata dal paziente in questione ⁽¹⁾. Negli alti rischi (IPSS intermedio-2 e alto), caratterizzati da un'elevata tendenza alla progressione leucemica, si cerca di modificare, se possibile, il corso della malattia con l'impiego dei farmaci demetilanti, riservando il trapianto allogenico di cellule staminali ai non molti pazienti in grado di tollerare la procedura. Nelle forme a basso rischio (IPSS basso e intermedio-1), ove la progressione leucemica, è meno frequente e la morte è facilmente correlata a problemi cardiologici aggravati dall'anemia, la priorità è la correzione delle citopenie e il miglioramento della qualità di vita ⁽²⁰⁾. L'orientamento terapeutico consigliato dalla maggior parte delle linee guida ⁽³⁵⁻³⁷⁾ può essere sintetizzato a grandi linee come segue:

- **Score IPSS basso o int-1.** Non sono previsti trattamenti finché il livello dell'anemia non scende al di sotto di valori di Hb di 10 gr/dl. Quando l'anemia è sintomatica o il livello di Hb è al di sotto di 10 gr/dl è previsto l'uso di ESAs a dosaggi elevati cercando di mantenere poi il dosaggio minimo efficace a mantenere la risposta senza superare i 12 gr/dl di Hb. Quando il supporto trasfusionale diviene indispensabile e continuo va presa in considerazione la terapia ferrochelante, da iniziare quando la ferritina serica supera i valori di 1000 µg/l e/o sono state superate le 20 unità di emazie concentrate trasfuse. I casi con anomalia 5q- isolata o in associazione ad altre alterazioni del cariotipo, una volta divenuti trasfusioni dipendenti, possono beneficiare con successo della terapia con lenalidomide. Il trapianto allogenico, per i casi relativamente giovani e senza comorbidità, dovrebbe tendenzialmente essere preso in considerazione non nelle fasi precoci, ma quando inizia la progressione dell'anemia e si sta creando l'esigenza del supporto trasfusionale.
- **Score IPSS int-2 o alto.** È da prevedere la possibilità precoce del trapianto allogenico nei casi che ne possono beneficiare per età, assenza di comorbidità e disponibilità del donatore. La maggior parte dei pazienti di questa fascia di rischio è da candidare alla terapia demetilante con azacitidina per almeno 4-6 cicli e con continuazione se è stata ottenuta una risposta adeguata.

Bibliografia

1. Lyons RM. Myelodysplastic syndromes: therapy and outlook. *Am J Med* 2012; 125:S18-S23.
2. Brunning RD, Orazi A, Germing U, Le Beau MM, Porwitt A, Baumann I et al. Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. In Swerdlow SH, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri SA, Stein H et al. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon WHO edition. 2008:88-93.
3. Jadersten M. Pathophysiology and treatment of the myelodysplastic syndrome with isolated 5q deletion. *Haematologica* 2010;95 (3):348-351.
4. Jadersten M, Karsan A. Clonal evolution of myelodysplastic syndromes with isolated del (5q): the importance of genetic monitoring. *Haematologica* 2011;96 (2):177-180.
5. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel, Sanz G et al. International Scoring System for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; (89):2079-2088.
6. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, Della Porta MG, Pascutto C et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2007;25(23):3503-3510.
7. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Sole F et al. Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;120(12):2454-2465.
8. Balducci L. Transfusion independence in patients with myelodysplastic syndromes: impact on outcomes and quality of life. *Cancer* 2006;106(10):2087-2094.
9. Hellstrom-Lindberg E, Malcovati L. Supportive care and use of hematopoietic

- growth factors in myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 2008;(45):14-22.
10. Platzbecker U, Hofbauer LC, Ehninger G, Hölig K. The clinical, quality of life, and economic consequences of chronic anemia and transfusion support in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research* 2012;(36):525-536.
 11. Kelaidi C, Stamatoullas A, Beyne-Rauzy O, Raffoux E, Quesnel B, Guerci A et al. Daily practice management of myelodysplastic syndromes in France: data from 907 patients in a one-week cross sectional study by the Group Francophone des Myelodysplasies. *Haematologica* 2010;95(6):892-899.
 12. Cazzola M, Malcovati L. Myelodysplastic syndromes - Coping with ineffective hematopoiesis. *N Engl J Med* 2005;352(6):536-538.
 13. Malcovati L, Della Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, Boni M, Travaglini E et al. Prognostic factors and life expectancy in myelodysplastic syndromes classified according to WHO criteria: a basis for clinical decision making. *J Clin Oncol* 2005;(23):7594-7603.
 14. Oliva EN, Dimitrov BD, Benedetto F, D'Angelo A, Nobile F. Hemoglobin level threshold for cardiac remodeling and quality of life in myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2005;(29):1217-1219.
 15. Caocci G, Baccoli R, Ledda A, Littera L, La Nasa G. A mathematical model for the evaluation of amplitude of hemoglobin fluctuations in elderly anemic patients affected by myelodysplastic syndrome: correlations with quality of life and fatigue. *Leuk Res* 2007;(31):249-252.
 16. Oliva EN, Finelli C, Santini V, Poloni A, Liso V, Cilloni D et al. Quality of life and Physician' perception in myelodysplastic syndrome. *Am J Blood Res* 2012;2(2):136-147.
 17. Takatoku M, Uchiyama T, Okamoto S, Kanakura Y, Sawada K, Tomonaga M et al. Retrospective nationwide survey of Japanese patients with transfusion-dependent SMD and aplastic anemia highlights the negative impact of iron overload on morbidity/mortality. *Eur J Haematol* 2007;78(6):487-494.
 18. Malcovati L, Della Porta MG, Strupp C, Ambaglio I, Kuendgen A, Nachtkamp K et al. Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based prognostic scoring system (WPSS). *Haematologica* 2011;96(10):1433-1440.
 19. Santini V. Treatment of low risk myelodysplastic syndrome: hematopoietic growth factors erythropoietins and thrombopoietins. *Semin Hematol* 2012;49(4):295-303.
 20. Fenaux P, Adès L. How we treat lower-risk myelodysplastic syndromes. *Blood* 2013;121(21):4280-4286.
 21. Ross SD, Allen IE, Probst CA, Sercus B, Crean SM, Ranganathan G. Efficacy and safety of erythropoiesis-stimulating proteins in myelodysplastic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Oncologist* 2007;12(10):1264-1273.
 22. Moyo V, Lefebvre P, Duh MS, Yektashenas B, Mundle S. Erythropoiesis-stimulating agents in the treatment of anemia in myelodysplastic syndromes: a meta-analysis. *Ann Hematol* 2008;87(7):527-536.
 23. Mundle S, Lefebvre P, Vekeman F, Duh S, Rastogi R, Moyo V. An assessment of erythroid response to epoetin alpha as a single agent versus in combination with granulocyte-or granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor in myelodysplastic syndromes using a meta-analysis approach. *Cancer* 2009;115(4):706-715.
 24. Park S, Kelaidi C, Sapena R, Vassilief D, Beyne-Rauzy O, Coiteux V et al. Early introduction of ESA in low risk SMD patients may delay the need for RBC transfusion: a retrospective analysis on 112 patients. *Leuk Res* 2010;34(11):1430-1436.
 25. Azzarà A, Carullo G, Galimberti S, Baratè C, Fazzi R, Cervetti G et al. High-dose (40,000 IU twice/week) alpha recombinant human erythropoietin as single agent in low/intermediate risk myelodysplastic syndromes: a retrospective investigation on 133 patients treated in a single institution. *Am J Hematol* 2011;86(9):762-767.
 26. Ballerai E, Clavio M, Arboscello E, Bellodi A, Bruzzone A, Del Corso L et al. Weekly standard doses of rh-EPO are highly effective for the treatment of anemic patients with low-intermediate risk myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2011;35(11):1472-1476.
 27. Hellstrom-Lindberg E, Gulbrandsen N, Lindberg G, Ahlgren T, Dhal IMS, Dybedal I et al. A validated decision model for treating the anemia of myelodysplastic syndromes with erythropoietin + granulocyte-colony-stimulating factor: significant effects on quality of life. *Br J Haematol* 2003;120(6):1037-1046.
 28. Park S, Grabar S, Kelaidi C, Beyne-Rauzy O, Picard F, Bardet V et al. Predictive factors of response and survival in myelodysplastic syndrome treated with erythropoietin and G-CSF: the GFM experience. *Blood* 2008;111(2):574-582.
 29. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2006;108(2):419-425.
 30. Terpos E, Mougiou A, Kouraklis A, Chatzivassili A, Michalis E, Giannakoulas N et al. Prolonged administration of erythropoietin increases erythroid response rate in myelodysplastic syndromes: a phase II trial in 281 patients. *Br J Haematol* 2002;118(1):174-180.
 31. Jadersten M, Malcovati L, Dybedal I, Della Porta MG, Invernizzi R, Montgomery SM et al. Erythropoietin and granulocyte-colony-stimulating factor treatment associated with improved survival in myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2008;26(21):3607-3613.
 32. Musto P, Villani O, Martorelli MC, Pietrantonio G, Guariglia R, Mansueto G et al. Response to recombinant erythropoietin alpha, without the adjunction of granulocyte-colony stimulating factor, is associated with a longer survival in patients with transfusion-dependent myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2010;34(8):981-985.
 33. Messa E, Gioia DM, Masiera E, Allione B, Angelucci E, Ballerai E et al. A real life survey on erythropoietin alpha treatment in a cohort on 1049 low risk SMD patients: an Italian SMD Registry Study. *ASH annual meeting abstracts*. 2013;122(21):745.
 34. Kelaidi C, Park S, Brechignac S, Mannone L, Vey N, Dombret H et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with 5q- deletion before the lenalidomide era: the GFM experience with EPO and thalidomide. *Leuk Res* 2008; 32(7):1049-1053.
 35. Santini V, Alessandrino PE, Angelucci E, Barosi G, Billio A, Di Maio M et al. Clinical management of myelodysplastic syndromes: updates of SIE, SIES, GITMO practice guidelines. *Leuk Res* 2012; 34(12):1576-1588.
 36. Greenberg PL, Attar E, Bennett JM, Bloomfield CD, De Castro CM, Deeg HJ et al. NCCN clinical practice guideline in Oncology: myelodysplastic syndromes. *J Natl Compr Canc Netw* 2011;9(1):30-56.
 37. Malcovati L, Hellstrom-Lindberg E, Bowen D, Ades L, Cermak J, Del Canizo C et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndrome in adults: recommendations from the European Leukemia Net. *Blood* 2013; 122(17):2943-2964.
 38. Gardner K, Mathe S, Sahu S. Leukemic transformation with romiplostim. *Brit J Haematol* 2012;158(2):153.
 39. Giagounidis A, Mufti GJ, Kantarjian HM, Fenaux P, Sekeres MA, Szer J et al. Treatment with the thrombopoietin (TPO)-receptor agonist romiplostim in thrombocytopenic patients (pts) with low or intermediate-1 (int-1) risk myelodysplastic syndrome (SMD): results of a randomized, double-blind, placebo (PBO)-controlled study. *ASH annual meeting abstracts*. 2011;118(21):117.
 40. Kantarjian HM, Mufti GJ, Fenaux P, Sekeres MA, Szer J, Platzbacker U et al. Treatment with the thrombopoietin (TPO)-receptor agonist romiplostim in thrombocytopenic patients (pts) with low or intermediate-1 (int-1) risk myelodysplastic syndrome (SMD); follow-up LMA and survival results of a randomized, double-blind, placebo (PBO)-controlled study. *ASH annual meeting abstracts*. 2012;120(21):421.
 41. Roth M, Will B, Simkin G, Narayanagari S, Barreyro L, Bartholdy B et al. Eltrombopag inhibits the proliferation of leukemia cells via reduction of intracellular iron and induction of differentiation. *Blood* 2012;120(2):386-394.
 42. Oliva EN, Santini V, Zini G, Palumbo GA, Poloni A, Cortelezzi A et al. Efficacy and safety of eltrombopag for the treatment of thrombocytopenia of low and intermediate-1 IPSS risk myelodysplastic syndromes: interim analysis of a prospective, randomized, single-blind, placebo-controlled trial (EQoL-SMD). *ASH annual meeting abstracts*. 2012;120(21):923.
 43. Komrokji RS, Duong VH, Zhang L, Lee JH, Padron E, Lancet J et al. A sequential two-stage dose escalation study evaluating the safety and efficacy of eltrombopag on thrombocytopenic patients with myelodysplastic syndrome (SMD) resistant to hypomethylating agents (HMA). *ASH annual meeting abstracts*. 2013;122(21):2760.
 44. Malcovati L, Della Porta MG, Cazzola M. Predicting survival and leukemic evolution in patients with myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2006;91(12):1588-1590.
 45. Adams RLC, Bird RJ. Safety and efficacy of deferasirox in the management of transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndrome and aplastic anaemia: a

- perspective review. *Ther Adv Hematol* 2013;4 (2):93-102.
46. Gattermann N, Finelli C, Della Porta M, Fenaux P, Ganser A, Guerci-Bresler A et al. Deferasirox in iron-overloaded patients with transfusion-dependent myelodysplastic syndromes: results from the large 1-year EPIC study. *Leuk Res* 2010;34 (9):1143-1150.
 47. List A, Baer MR, Steensma DP, Raza A, Esposito J, Lopez NM et al. Deferasirox reduces serum ferritin and labile plasma iron in RBC transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2012;30(17):2134-2139.
 48. Angelucci E, Santini V, Di Tucci AA, Finelli C, Cantore N, Quarta G et al. Deferasirox chelation therapy in transfusion dependent SMD patients. Final report from the GIMEMA SMD0306 prospective trial. *ASH annual meeting abstracts*. 2012;120 (21):425.
 49. Cheong JW, Kim HJ, Lee K-H, Yoon SS, Lee JH, Park HS et al. Deferasirox improves hematological and hepatic function with effective reduction of serum ferritin and liver iron concentration in transfusional iron overload patients with myelodysplastic syndrome or aplastic anemia. *Transfusion* 2013;doi:10.1111/trf.12507.
 50. Cermak J, Jonasova A, Vondrakova J, Cervinek L, Belohlavkova P, Neuwritova R. A comparative study of deferasirox and deferi-prone in the treatment of iron overload in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2013; 37 (12):1612-1615.
 51. Nolte F, Angelucci E, Beris P, Macwhannell A, Sellslag D, Schumann C et al. Clinical management of gastrointestinal disturbances in patients with myelodysplastic syndromes receiving iron chelation treatment with deferasirox. *Leuk Res* 2011;35(9):1131-1135.
 52. Alessandrino EP, Della Porta MG, Bacigalupo A, Malcovati L, Angelucci E, Van Lint MT et al. Prognostic impact of pre-transplantation transfusion history and secondary iron overload in patients with myelodysplastic syndrome undergoing allogeneic stem cell transplantation: a GITMO study. *Haematologica* 2010;95(3):476-484.
 53. Gattermann N, Finelli C, Della Porta MG, Fenaux P, Stadler M, Guerci-Bresler A et al. Hematological responses to deferasirox therapy in transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 2012;97 (9):1364-1374.
 54. Messa E, Carturan S, Maffè C, Pautasso M, Bracco E, Roetto A et al. Deferasirox is a powerful NF- κ B inhibitor in myelodysplastic cells and in leukemia cell lines acting independently from cell iron deprivation by chelation and reactive oxygen species scavenging. *Haematologica* 2010;95(8):1308-1316.
 55. Parikh AR, Olnes MJ, Barrett AJ. Immunomodulatory treatment of myelodysplastic syndromes: antithymocyte globulin, cyclosporine, and alemtuzumab. *Semin Hematol* 2012;49 (4):304-311.
 56. Sauntharajah Y, Nakamura R, Nam JM, Robyn J, Loberiza F, Maciejewski P et al. HLA-DR15 (DR2) is overexpressed in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia and predicts a response to immunosuppression in myelodysplastic syndrome. *Blood* 2002;100(5):1570-1574.
 57. Sauntharajah Y, Nakamura R, Wesley R, Wang CJ, Barrett AJ. A simple method to predict response to immunosuppressive therapy in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2003;102(8):3025-3027.
 58. Sloan EM, Wu CO, Greenberg P, Young N, Barrett J. Factors affecting response and survival in patients with myelodysplasia treated with immunosuppressive therapy. *J Clin Oncol* 2008;26(15):2505-2511.
 59. Passweg JR, Giagounidis A, Simcock M, Aul C, Dobbstein C, Stadler M et al. Immunosuppressive therapy for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized multicenter phase III trial comparing antithymocyte globulin plus cyclosporine with best supportive care-SAKK 33/99. *J Clin Oncol* 2011;29(3):303-309.
 60. Ades L, Fenaux P. Immunomodulating drug in myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:556-560.
 61. Tamburini, Elie C, Park S, Beyne-Rauzy O, Gardembas M, Berthou C et al. Effectiveness and tolerance of low to very low dose thalidomide in low-risk myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2009;33(4):547-550.
 62. Kelaidi C, Park S, Brechignac S, Mannone L, Vey N, Dombret L et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with 5q deletion before the lenalidomide era: the GFM experience with EPO and thalidomide. *Leuk Res* 2008;32(7):1049-1053.
 63. Shortt J, Hsu AK, Johnstone RW. Thalidomide-analogue biology: immunological, molecular and epigenetic targets in cancer therapy. *Oncogene* 2013;32(36):4191-4202.
 64. List A, Kurtin S, Roe DJ, Buresh A, Mahadevan D, Fuchs D et al. Efficacy of lenalidomide in myelodysplastic Syndromes. *N Engl J Med* 2005;352(6):549-557.
 65. List A, Dewald G, Bennett J, Giagounidis A, Raza A, Feldman E et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med* 2006;355(14):1456-1465.
 66. Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, Beyne-Rauzy O, Mufti G, Mittelman M et al. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with low/intermediate-1-risk myelodysplastic syndrome with del5q. *Blood* 2011;118 (14):3765-3778.
 67. Ades L, Le Bras F, Sebert M, Kelaidi C, Lamy T, Dreyfus F et al. Treatment with lenalidomide does not appear to increase the risk of progression in lower risk myelodysplastic syndromes with 5q deletion. A comparative analysis by the Group Francophone des Myelodysplasies. *Haematologica* 2012;97(2):213-218.
 68. Jadersten M, Saft L, Smith A, Kulasekaraj A, Pomplun S, Gohring G et al. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol* 2011;29(15):1971-1979.
 69. Giagounidis A. Lenalidomide for del(5q) and non-del(5q) myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 2012;49(4):312-322.
 70. Sauntharajah Y. Key clinical observations after 5-azacytidine and decitabine treatment of myelodysplastic syndromes suggest practical solutions for better outcomes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013;2013:511-521.
 71. Stresmann C, Lyko F. Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. *Int J Cancer* 2008;123 (1):8-13.
 72. Silvermann LR, Demakos EP, Peterson BL, Kornblith AB, Holland JC, Odchimar-Reissig R et al. Randomized controlled trial of azacytidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the Cancer And Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 2002;20(1):2429-2440.
 73. Silvermann LR, McKenzie DR, Peterson BL, Holland JF, Backstrom JT, Beach CL et al. Further analysis of the trials with azacytidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer And Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 2006;24(24):3895-3903.
 74. Fenaux P, Mufti G, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A et al. Efficacy of azacytidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomized, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009;10(3):223-232.
 75. Fenaux P, Mufti G, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Gattermann N, Germing U et al. Azacytidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28(4):562-569.
 76. Itzykson R, Threpot S, Quesnel B, Dreyfus F, Beyne-Rauzy O, Turlure P et al. Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacytidine. *Blood* 2011;117 (2):403-411.
 77. Santini V. Novel therapeutic strategies: hypomethylating agents and beyond. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:65-73.
 78. Lubbert M, Suci S, Baila L, Ruter BH, Platzbecker U, Giagounidis A et al. Low-dose decitabine versus best supportive care in elderly patients with intermediate- or high-risk myelodysplastic syndrome (SMD) ineligible for intensive chemotherapy: final results of the randomized phase III study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Leukemia Group and the German SMD Study Group. *J Clin Oncol* 2011;29 (15):1987-1996.
 79. Musto P, Maurillo L, Spagnoli A, Gozzini A, Rivellini F, Lunghi M et al. Azacytidine for the treatment of lower risk myelodysplastic syndromes: a retrospective study of 74 patients enrolled in an Italian named patient program. *Cancer* 2010;116 (6):3895-3903.
 80. Krawczyk J, Keane N, Freeman CL, Swords R, O'Dwyer M, Giles FJ. 5-azacytidine for the treatment of myelodysplastic syndromes. *Expert Opin Pharmacother* 2013;14 (9):1255-1268.
 81. Platzbecker U, Germing U. Combination of azacytidine and lenalidomide in myelodysplastic syndromes or acute myeloid leukemia – a wise liaison. *Leukemia* 2013;27(9):1813-1819.
 82. Miller KB, Kim K, Morrison FS, Winter JN, Bennett JM, Neiman RS et al. The evaluation of low-dose cytarabine in the treatment of myelodysplastic syndromes: a phase III intergroup study. *Ann Hematol* 1992;65 (4):162-168.

83. Zwierzina H, Suciú S, Loeffler-Ragg J, Neuwirtova R, Fenaux P, Beksac M et al. Low dose cytosine-arabinoside (LD-AraC) vs LD-AraC plus granulocyte/macrophage colony stimulating factor vs LD-AraC plus interleukin-3 for myelodysplastic syndrome patients with a high risk of developing acute leukemia: final results of a randomized phase III study (06903) of the EORTC Leukemia cooperative Group. *Leukemia* 2005;19(11):1929-1933.
84. Sierra J, Perez WS, Rozman C, Carreras E, Klein JP, Rizzo JD et al. Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment for myelodysplasia. *Blood* 2002;100(6):1997-2004.
85. De Witte T, Hagemeijer A, Suciú S, Belhabri A, Delforge M, Kobbe G et al. Value of allogenic versus autologous stem cell transplantation and chemotherapy in patients with myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia. Final results of a prospective randomized European Intergroup Trial. *Haematologica* 2010;95(10):1754-1761.
86. Platzbecker U, Schetelig J, Finke J, Trenscher R, Scott BL, Kobbe G et al. Allogenic hematopoietic cell transplantation in patients age 60-70 years with de novo high-risk myelodysplastic syndrome or secondary acute myelogenous leukemia: comparison with patients lacking donors who received azacitidine. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18(9):1415-1421.
87. Cutler CS, Lee SJ, Greenberg P, Deeg J, Perez WS, Anasetti C et al. A decision analysis of allogenic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood* 2004;104(2):579-585.
88. Sorror ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogenic HCT. *Blood* 2005;106(8):2912-2919.
89. Platzbecker U. Allogenic hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome. *Semin Hematol* 2012;49(4):342-349.
90. Mufti G, Potter V. Myelodysplastic syndromes: who and when in the course of the disease to transplant. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:49-55.
91. Platzbecker U. Who benefit from allogenic transplantation for myelodysplastic syndromes? New insight. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013;2013:522-528.
92. Warlick ED, Cioc A, Defor T, Dolan M, Weisdorf D. Allogenic stem cell transplantation for adults with myelodysplastic syndromes: importance of pretransplant disease burden. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:30-38.
93. Field T, Perkins J, Huang Y, Kharfan-Dabaja MA, Alsina M, Ayala E et al. 5-azacytidine for myelodysplasia before allogenic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010;45(2):255-260.
94. Kim DY, Lee JH, Park YH, Kim SD, Choi Y, Lee SB et al. Feasibility of hypomethylating agents followed by allogenic hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2012;47(3):374-379.
95. Yahng SA, Yoon JH, Shin SH, Lee SE, Cho BS, Lee DG et al. Response to pretransplant hypomethylating agents influences the outcome of allogenic hematopoietic stem cell transplantation in adults with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2013;90(2):111-120.
96. Gerds AT, Gooley TA, Estey EH, Appelbaum FR, Deeg HJ, Scott BL. Pretransplantation therapy with azacitidine vs induction chemotherapy and posttransplantation outcome in patients with SMD. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18(8):1211-1218.
97. Martino R, De Wreede L, Fiocco M, Van Biezen A, Von dem Borne PA, Hlmaadji RM et al. Comparison of conditioning regimens of various intensities for allogenic hematopoietic SCT using HLA-identical siblings donors in LMA and SMD with <10% BM blasts: a report from EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2013;48(6):761-770.
98. Platzbecker U, Wermke M, Radke J, Oelschlaegel U, Seltmann F, Kiani A et al. Azacitidine for treatment of imminent relapse in SMD or LMA patients after allogenic HSCT: results of the RELAZA trial. *Leukemia* 2012;26(3):381-389.
99. Goodyear OC, Dennis M, Jilani NY, Loke J, Siddique S, Ryan G et al. Azacitidine augments expansion of regulatory T cells after allogenic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia (LMA). *Blood* 2012;119(14):3361-3369.

Parole Chiave

Mielodisplasia, eritropoietina, demetilanti, ferrochelazione, trapianto

Indirizzi per la corrispondenza

Alessandro Levis

Fondazione italiana Sindromi Mielodisplastiche

Ospedale SS Antonio e Biagio

Via Venezia 16 - 15121 Alessandria

Tel: 0131-206262 - Fax: 0131-261029

E-mail: alevi.sandro@gmail.com

Qualità di Vita



Esther Natalie Oliva¹, Tatyana Ionova², Sam Salek³

¹ Divisione Ematologia, Azienda Ospedaliera "Bianchi-Melacrino-Morelli", Reggio Calabria, Italia

² North-Western Branch of the National Medical Surgical Center, St. Petersburg, Russia

³ WSP Centre for Socioeconomic Research, Cardiff University, Cardiff, UK

Introduzione

Le sindromi mielodisplastiche (SMD) sono neoplasie eterogenee con complicanze e prognosi variabili. Gli effetti delle citopenie periferiche, tra cui prevalgono le conseguenze dell'anemia, e l'impatto dei trattamenti (trasfusione-dipendenza, fattori di crescita, terapie ipometilanti, trapianto allogenico e terapie sperimentali) contribuiscono alle variazioni della qualità di vita (QoL) dei pazienti.

La maggior parte dei pazienti è anziana con scarsa probabilità di guarigione. La valutazione della QoL nella pratica clinica quotidiana è indispensabile per ottenere informazioni sull'impatto della malattia e dei trattamenti. Nell'ambito della ricerca clinica, in situazioni in cui esistono più opzioni di trattamento con esito di sopravvivenza simile o se una nuova strategia terapeutica deve essere valutata, l'inclusione della QoL come *end-point* è in grado di fornire ulteriori dati di efficacia e di tossicità.

L'attuale articolo affronterà la complessità della QoL legata alla SMD. Concetti noti e utilità della misurazione della QoL nella quotidianità verranno discussi.

Concetto di QoL

La QoL è un parametro multidimensionale complesso che rappresenta la percezione globale del paziente del suo stato di salute, dell'impatto della malattia da cui è affetto e dei suoi trattamenti^(1,2).

Il suo quadro teorico è in gran parte basato su una prospettiva multidimensionale della salute e del benessere secondo la definizione dell'OMS della salute (1947, 1948): "stato di completo benessere fisico, mentale e sociale e non meramente l'assenza di malattia e infermità". Ci sono tre componenti fondamentali nel concetto della QoL: multidimensionalità, soggettività e variabilità.

Una misura della QoL comprende vari aspetti, quali il funzionamento fisico, psicologico e sociale del soggetto. La QoL è considerata personale e deriva dal soggetto umano. Sebbene la QoL venga ancora oggi considerata un endpoint debole negli studi clinici, la soggettività non dovrebbe mai essere confusa con la mancanza di validità. Infatti, uno strumento appropriato di misura della QoL può garantire la raccolta di dati sostanziali che possono essere

analizzati con tanta fiducia come un valore ematochimico. Un'altra caratteristica importante della QoL è la sua variabilità nel tempo. Può cambiare in diversi punti temporali della malattia e durante il trattamento, associata ad un cambiamento della malattia stessa, all'efficacia o agli eventi avversi dei trattamenti.

Patient reported outcomes (PROs)

PROs, gli esiti riportati dai pazienti, è un termine generico che comprende una serie di parametri relativi allo stato di salute del paziente e alla percezione degli effetti collaterali del trattamento⁽³⁻⁵⁾.

PROs rappresentano una misura basata su una valutazione che proviene direttamente dal paziente sul suo stato di condizione, senza essere influenzata da parte di un medico o di chiunque altro (*Guidance for Industry su OPR US Food and Drug Administration, FDA, 2009*)⁽⁶⁾. Le valutazioni di PROs introducono la prospettiva del paziente nel processo clinico attraverso strumenti standardizzati che sono utilizzati dal paziente, non da un clinico o un ricercatore. L'uso di uno strumento per PROs è dunque consigliato quando si misura un concetto che è meglio conosciuto dal paziente o meglio misurato dalla prospettiva del paziente.

PROs comprendono la QoL, sintomi, soddisfazione e l'aderenza ai trattamenti e tutte le altre valutazioni del trattamento o il risultato ottenuto direttamente dai pazienti⁽⁷⁻⁹⁾. Misurano direttamente le percezioni delle variazioni della malattia e degli effetti del trattamento che per il paziente sono spesso i risultati di maggiore importanza, rispetto alla sopravvivenza e ai marcatori biochimici o strumentali della malattia (Fig. 1)⁽¹⁰⁾.

In uno studio osservazionale in pazienti affetti da SMD, la percezione soggettiva del benessere fisico del paziente è risultata ben diversa dal parametro obiettivo del *performance status* (ECOG) conferito dall'ematologo (Fig. 2)⁽¹¹⁾. Il rischio di un rilievo obiettivo che non corrisponda alla realtà soggettiva del paziente potrebbe tradursi in decisioni mediche errate, per esempio l'inclusione di un paziente in una sperimentazione clinica in cui un buon *performance status* rappresenta un criterio di inclusione.



Figura 1 – Un modello dictomo per la valutazione dei risultati di un trattamento nei pazienti affetti da neoplasie ematologiche.

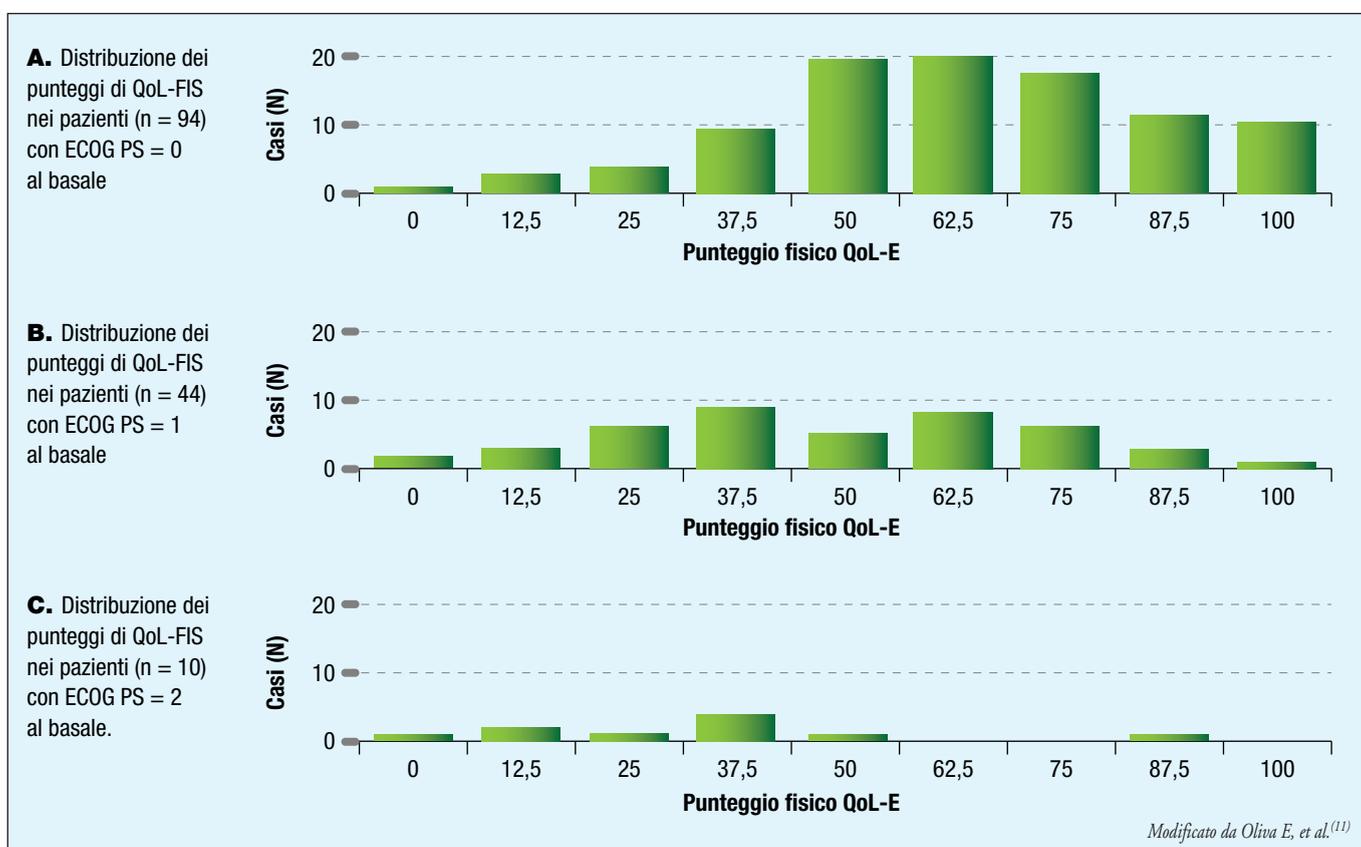


Figura 2 – La distribuzione dei punteggi di QoL fisica (questionario QoL-E) nei pazienti A) con ECOG PS = 0; B) con ECOG PS = 1; e C) con ECOG PS = 2.

Sintomi

I sintomi comprendono un'importante categoria dei PROs (12,13). Un sintomo è una manifestazione personale e soggettiva della malattia, della condizione di salute, o dell'effetto correlato al trattamento che può essere notato, riconosciuto, misurato e riferito solo da parte del paziente. Esempi di sintomi sono dolore, stanchezza, perdita di appetito, ecc. Invece, un segno è una manifestazione oggettiva della malattia, della condizione di salute, o dell'effetto correlato al trattamento che viene osservato e interpretato da un medico o paramedico, ma può essere notato e segnalato da un pa-

ziente o da un suo caregiver. Esempi sono l'edema e il rossore, l'ingrossamento dei linfonodi, la perdita di peso, e l'ittero.

Misurazione della QoL

La QoL è valutata da strumenti, spesso questionari (14-16). In linea di massima, esistono due tipi principali di strumenti di QoL, noti come generico (o generale) e malattia-specifico.

Strumenti generici della QoL

Sono progettati per misurare la QoL su una vasta gamma di stati

di malattia e delle popolazioni. Essi coprono un'ampia sfaccettatura di funzionamento giornaliero (fisico, sociale, psicologico), di disabilità e di disagio che sono rilevanti per la QoL di un individuo⁽¹⁷⁾. Il principale inconveniente dei questionari della QoL generici è che i problemi che sono specificamente comuni al gruppo di pazienti in studio spesso non vengono identificati, nonostante la loro importanza.

Strumenti malattia-specifici della QoL

Sono progettati per l'uso in una specifica popolazione o in uno specifico stato di malattia, e focalizzano aree di particolare interesse per i soggetti in esame. Una risposta robusta a cambiamenti piccoli, ma clinicamente importanti, rende lo strumento specifico di malattia particolarmente utile quando si misurano gli effetti degli interventi medici sulla QoL⁽¹⁸⁾.

Indici e profili della QoL

Un'altra classificazione degli strumenti QoL si basa sulla considerazione se lo strumento produce un punteggio complessivo singolo (indice) o punteggi per i vari componenti della QoL (profili). I profili generano un punteggio individuale per ciascuna delle aree (domini) della QoL che sono valutati dallo strumento, da cui si trae il vantaggio di avere punteggi per i diversi aspetti della QoL singolarmente, in modo che gli effetti specifici possono essere rilevati. In realtà, i profili dovrebbero essere considerati come l'attributo più importante per la scelta degli strumenti della QoL generici. L'applicazione degli indici della QoL è limitato agli studi clinici e alle misure di utilità generalmente favorite dagli economisti sanitari nella valutazione del valore costo/beneficio degli interventi sanitari, mentre sono poco informativi nella pratica clinica quotidiana. I principali usi di tali scale sono all'interno dei processi decisionali e per l'allocazione delle risorse. Il vantaggio principale dell'utilizzo di indici è la loro idoneità per determinare il costo di un dato trattamento per unità di guadagno in qualità di vita. Si raccomanda di utilizzare strumenti standardizzati auto-somministrati (da parte del paziente) e con adeguate proprietà. Proprietà psicometriche per le quali lo strumento deve essere valutato includono l'affidabilità, la validità, e la risposta (cioè, sensibilità ai cambiamenti clinicamente significativi nel corso del tempo). L'affidabilità è una misura del grado di riproducibilità, cioè della consistenza e stabilità dello strumento. Lo strumento è valido se misura ciò che pretende di misurare. Lo strumento è responsivo se è in grado di rilevare accuratamente le modifiche o le differenze di una grandezza che sono considerati importanti⁽¹⁹⁾. Questi cambiamenti potrebbero essere dovuti alla malattia di base o al trattamento farmacologico. Pertanto, lo strumento deve essere sensibile a cambiamenti piccoli ma clinicamente importanti per fornire informazioni utili per il processo decisionale clinico.

Strumenti per la misurazione della QoL nelle SMD

Per la QoL dei pazienti affetti da SMD esiste uno strumento specifico denominato QoL-E che raccoglie informazioni sul funziona-

mento fisico e sociale, sulla *fatigue* e su alcuni disturbi specifici delle SMD⁽²⁰⁾. Gli strumenti generici più frequentemente adoperati sono *European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Core Questionnaire-C30* (EORTC QLQ-C30) e *The Functional Assessment of Cancer Therapy – Anaemia* (FACT-An)⁽²¹⁾. QoL-E è l'unico questionario malattia-specifico per la misurazione della QoL nei pazienti affetti da SMD⁽²⁰⁾. Lo strumento è composto da 2 singole domande relative alla percezione generale di benessere; 4 domande nel profilo fisico, 3 nel funzionale, 4 nel sociale, e 2 nel profilo sessuale; 7 domande nel profilo della *fatigue* e 7 domande nel profilo malattia-specifico. Ad ogni domanda corrispondono delle opzioni di risposta a scala di atteggiamento di tipo *Likert*⁽²²⁾.

L'indice della QoL generale deriva dalla somma di tutti i profili, escluso quello malattia-specifico, e l'indice globale somma tutti i profili. Un indice legato al trattamento deriva dalla somma dei profili fisico, funzionale e SMD-specifico.

Il questionario viene valutato con una scala standardizzata con una gamma possibile di punteggi da 0 a 100. Un punteggio più alto indica una migliore salute per quel dominio. Il dominio SMD-specifico comprende domande relative ai disturbi legati alla dispnea, alla trasfusione-dipendenza, al trattamento, e alla dipendenza dalla struttura e dal personale ospedaliero.

QoL-E è stato incluso e validato in numerose sperimentazioni cliniche in pazienti affetti da SMD, contribuendo all'aumento delle conoscenze dell'impatto della malattia e del suo trattamento sulla QoL^(11, 23-6). Le sottoscale correlano con la trasfusione-dipendenza e con i livelli di emoglobina. È disponibile in 5 lingue europee (italiano, inglese, francese, tedesco e bulgaro).

L'EORTC QLQ-C30 è uno strumento generico di PROs sviluppato dall'Organizzazione Europea per la Ricerca e Cura del Cancro per la misurazione della QoL nei pazienti oncologici arruolati in studi clinici⁽²⁷⁾. È composto da 30 domande comprese in 5 scale funzionali (fisico, emotivo, sociale, ruolo e cognitivo); tre scale di sintomi (affaticamento, nausea/vomito, dolore); una serie di domande singole sulla dispnea, l'insonnia, la perdita di appetito, la costipazione, la diarrea, le difficoltà finanziarie); e 2 elementi per valutare la salute globale e la QoL complessiva.

La maggior parte delle opzioni di risposte sono poste su una scala di 4 punti da 1 (per niente) a 4 (molto), chiedendo fino a che punto il paziente aveva provato l'elemento durante l'ultima settimana. L'EORTC QLQ-C30 è disponibile in 30 lingue europee. È stato ampiamente testato nelle sperimentazioni cliniche e, pertanto, può fornire dati comparativi. È però carente di un profilo SMD-specifico. La scala *Functional Assessment of Cancer Therapy – General* (FACT-G) è uno strumento generico per la valutazione del funzionamento dei pazienti oncologici sottoposti a terapia antineoplastica (FACIT) con elevati coefficienti di affidabilità e validità⁽²⁸⁾.

L'ultima versione 4 è composta da un totale di 27 elementi in scale Likert con un punteggio di 0-4, dove 0 rappresenta "per niente" e 4 "molto". Gli elementi sono raggruppati in profili: fisico (7 elementi), emotivo (6 elementi), sociale/familiare (7 elementi) e funzionale (7 elementi). FACT-G è disponibile in 26 lingue europee. È stato

ampiamente testato nelle sperimentazioni cliniche e, pertanto, può fornire dati comparativi. Manca un profilo SMD-specifico.

FACT -An è un questionario di 55 elementi costituito da FACT- G con, in aggiunta, un profilo di anemia composto da 21 elementi, FACT -An, che copre la *fatigue* e sintomi correlati all'anemia (difficoltà di deambulazione, vertigini, cefalea, dispnea, dolore toracico, mancanza di interesse per l'attività sessuale, mancanza di motivazione per le normali attività) ⁽²⁹⁻³⁰⁾. La scala è correlata ai livelli di emoglobina in pazienti sottoposti a trattamento antineoplastico ed è stata applicata per la valutazione dei cambiamenti della QoL nei pazienti sottoposti a trattamento per l'anemia di SMD ⁽³¹⁻⁴⁾. Sebbene sia stato ampiamente testato nelle sperimentazioni cliniche ed è disponibile in diverse lingue, il profilo è stato creato per la valutazione della QoL nei pazienti oncologici con anemia cancro-correlata o indotta dal trattamento, ben diversa dall'anemia cronica delle SMD ⁽³⁵⁾.

Decorso clinico della SMD e QoL

Le SMD sono patologie prevalentemente dell'età adulta avanzata in cui la QoL è già di per sé deteriorata dalle comparsa o aggravamento di comorbidità. La cronicità della patologia stessa, la paura della trasformazione in leucemia acuta mieloide, la mutabilità delle caratteristiche fisiche proprie del paziente e le complicanze legate alle citopenie periferiche più o meno marcate e spesso ingravescenti, contribuiscono a rendere singolare la QoL del paziente mielodisplastico. In uno studio osservazionale di pazienti seguiti per 18 mesi dalla diagnosi di SMD, è stato rilevato che oltre all'anemia, anche le comorbidità, secondo l'indice di Charlson, rappresentano un fattore predittivo indipendente di tutti le dimensioni della QoL, comorbidità multiple essendo associate ad un QoL più scaduta ⁽¹¹⁾. L'effetto dell'età è risultato rilevante sulla QoL fisica secondo lo strumento QoL-E (età più giovane predice dei punteggi migliori).

QoL e Anemia

Durante il corso della SMD, circa il 90 % dei pazienti presenta anemia che influisce negativamente sulla QoL, indipendentemente dal rischio prognostico ^(35,36). Nei pazienti a rischio IPSS basso-intermedio, la *fatigue* non è prevalente al momento della diagnosi. In questi pazienti, i livelli di Hb sono il più importante predittore indipendente della QoL, i valori più alti essendo significativamente associati con migliori punteggi della QoL ⁽¹¹⁾. Per la maggior parte dei casi con anemia severa, la terapia di supporto, soprattutto le trasfusioni di emazie, rimane l'opzione terapeutica principale. Per tali pazienti con prognosi migliore (una sopravvivenza più lunga), la trasfusione-dipendenza può durare per diversi anni. In questa particolare popolazione di pazienti, la trasfusione - dipendenza di per sé ha un effetto indipendente sulla QoL - non dimostrato in ambiente oncologico - come conseguenza della procedura trasfusionale stessa (fluttuazione dell'Hb, sulla dipendenza alle strutture sanitarie, l'attesa della disponibilità dell'emoderivato compatibile, ecc.) e per l'anemia cronica e progressiva associata ⁽³⁵⁾. Secondo il questionario QoL-E, le trasfusioni si associano ad una peggiore QoL fisica, funzionale, e sociale, con maggiori disturbi SMD-correlati.

QoL e Piastrinopenia

Nelle SMD la QoL può essere deteriorata dalla piastrinopenia come citopenia SMD-correlata o indotta dal trattamento concomitante ⁽³⁷⁾. Sebbene non sia una condizione prevalente, il rischio emorragico conseguente alla piastrinopenia severa incide sull'emoattività del paziente, induce paura per il pericolo di vita associato, limitazioni funzionali, e disturbi legati agli eventi emorragici acuti o cronici e agli inestetismi cutanei (petecchie, ematomi). L'unico trattamento disponibile per la piastrinopenia severa e le sue complicanze è la trasfusione di piastrine che induce un effetto terapeutico breve (1-5 giorni) e lo sviluppo di refrattarietà alla trasfusione piastrinica.

Le informazioni riguardo l'impatto della piastrinopenia sulla QoL sono limitate. In uno studio prospettico randomizzato per valutare l'efficacia di eltrombopag per la piastrinopenia delle SMD a basso rischio, la QoL dei pazienti con conta piastrinica < 30000/mmc (piastrinopenia severa) è risultata compromessa nei domini fisico, funzionale e sociale (Fig. 3) ⁽²⁶⁾.

QoL e Neutropenia

La neutropenia grave può essere complicata da infezioni croniche o acute che possono richiedere terapia antimicrobica, fattori di crescita e/o il ricovero in ambiente ospedaliero. Oltre alla paura dell'evento infettivo, il paziente neutropenico è spesso costretto all'isolamento sociale. Le limitazioni sociali, funzionali ed emotive derivanti sono deducibili ma non sono state riportate in letteratura.

QoL legata ai trattamenti

Non vi è tutt'ora consenso sul regime trasfusionale ottimale nei pazienti con SMD trasfusione-dipendenti. La soglia individuale idealmente deve tener conto del danno organico dell'anemia cronica, ma anche della preservazione di una QoL accettabile. In uno studio trasversale, la soglia di emoglobina di 10,7 g/dl distingueva pazienti con rimodellamento cardiaco (con rischio cardiovascolare) e con scarsa QoL fisica, suggerendo di considerare questo valore come soglia ottimale nel percorso terapeutico dell'anemia SMD-correlata ^(23,38).

Per i pazienti con SMD a più basso rischio, il trattamento con agenti eritropoietici a dosi adeguate può indurre delle risposte eritroidi fino al 70% dei casi. Il miglioramento dell'anemia è stato ampiamente associato ad un miglioramento della QoL ^(24,32,33,38,39). Recentemente, sono stati determinati gli effetti del farmaco immunomodulatore, lenalidomide, sulla QoL nei pazienti con SMD a basso e medio rischio con del5q.

In uno studio randomizzato, i pazienti trattati percepivano un miglioramento della QoL, misurata come un aumento > 7 punti nel punteggio del questionario Fact- An ⁽³⁴⁾. In uno studio aperto a braccio singolo, i pazienti che ottenevano una risposta eritroide riportavano incrementi di > 10 punti della QoL-E nei profili della QoL fisica, funzionale e sociale ⁽²⁵⁾.

Nei pazienti con un elevato rischio IPSS, l'*endpoint* primario del trattamento è la sopravvivenza, sebbene sia necessario tener conto di PROs come guida alla scelta del trattamento. Anche se il tra-

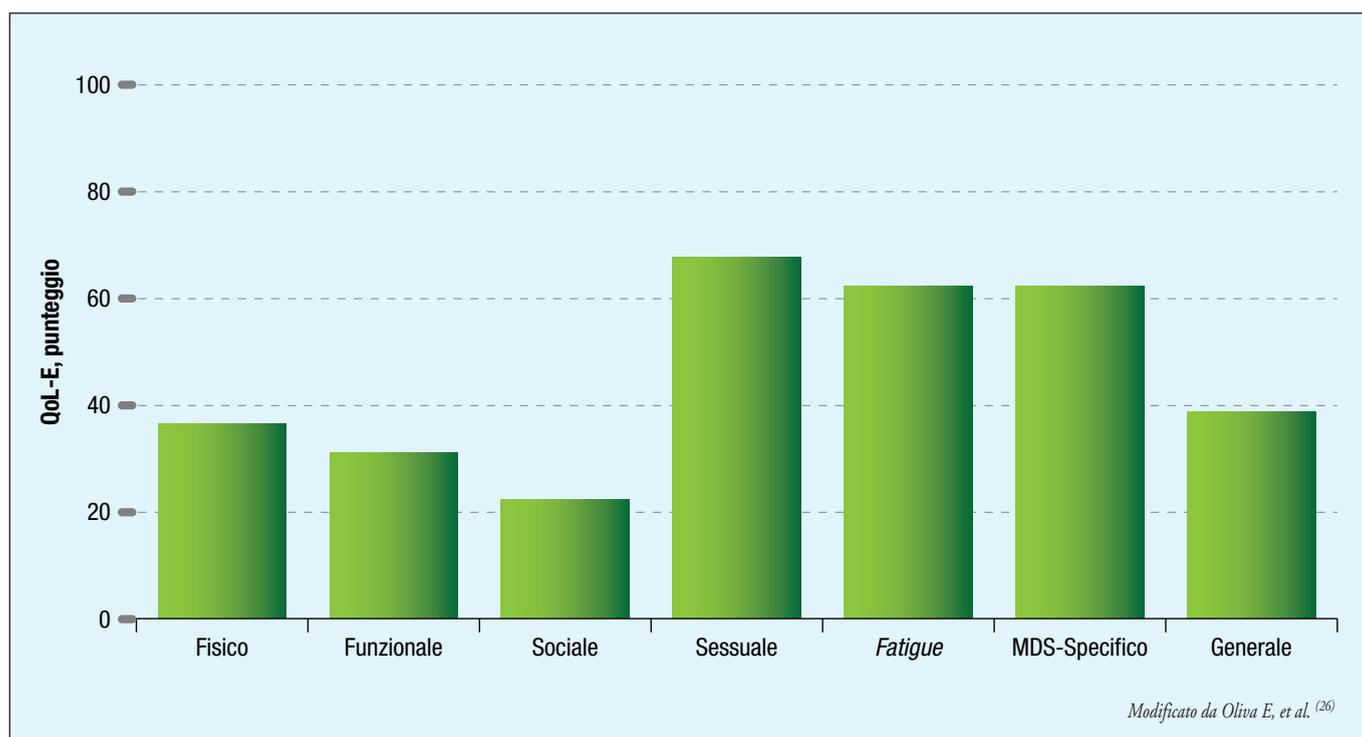


Figura 3 – Punteggi di QoL (questionario QoL-E) in 23 pazienti affetti da SMD a rischio IPSS basso/Int-1 con piastrinopenia severa.

pianto allogenico di midollo osseo è l'unico trattamento curativo, solo una minoranza di pazienti è candidabile a causa dell'età avanzata, delle patologie concomitanti e della disponibilità di un donatore compatibile. Negli ultimi dieci anni, gli agenti ipometilanti, soprattutto l'azacitidina, sono stati collocati in prima linea per i pazienti a più elevato rischio. È stato dimostrato che nei pazienti rispondenti questi farmaci non solo prolungano la sopravvivenza, ma inducono anche risposte eritroidi e sostengono/migliorano la QoL anche nei pazienti più anziani^(40,41).

Gli eventi avversi dei trattamenti devono essere misurati non solo con parametri obiettivi ma soprattutto con parametri soggettivi. Un esempio è l'evento vomito, la severità del quale viene comunemente misurata nell'ambito della ricerca clinica secondo i criteri *Common Toxicity Criteria for Adverse Events*: grado 1 è definito come 1-2 conati e il grado successivo come 3-5 conati di vomito nelle 24 ore. Il disturbo recato dal vomito in tale *range* potrebbe essere percepito come severo dal paziente, il quale ha malessere e limitazioni funzionali nella sua vita quotidiana, tali da portare al rifiuto del trattamento.

Bibliografia

- Bowling A. Health-related quality of life: conceptual meaning, use and measurement. In: Bowling A ed. *Measuring Disease*, Vol.2. Buckingham: Open University Press. 1997: 1-19.
- Gorodokin GI, Novik AA. Quality of cancer care. *Ann Oncol*. 2005;16(6):991.
- Doward LC, McKenna SP. Defining patient-reported outcomes. *Value Health*. 2004;7(1):4-8.
- Efficace F, Novik A, Vignetti M, Mandelli F, Cleland CS. Health-related quality of life and symptom assessment in clinical research of patients with hematologic malignancies: where are we now and where do we go from here? *Haematologica*. 2007;92(12):1596-8.
- Doward LD, Gnanasakthy A, Baker MA. Patient reported outcomes: looking beyond the label claim. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2010;8: 89.

Conclusioni

La prima edizione delle *Guidelines for measurement of Patient-Reported Outcomes in Hematology* è stato pubblicato nel 2012 dalla *European Working Group Scientific Hematology Association (EHA SWG) Quality of Life and Symptoms* per guidare la valutazione di PROs nella ricerca clinica. Viene sottolineata l'importanza di integrare PROs come endpoint primario degli studi clinici in Ematologia per valutare il beneficio clinico delle nuove strategie terapeutiche⁽¹⁰⁾.

Nella pratica clinica quotidiana, la valutazione della QoL con strumenti appropriati già nella raccolta anamnestica e durante le visite successive identifica i disturbi del paziente legati alla sua personale posizione nella vita e agli effetti della malattia.

Nelle SMD, tali elementi di PROs dovrebbero essere integrati insieme alle misure obiettive (severità delle citopenie, rischio prognostico, e comorbidità) nella scelta della terapia più adeguata per l'individuo. Il percorso terapeutico va adattato a seconda dei risultati obiettivi - cambiamenti biochimici - ma anche percepiti (eventi avversi e benefici) per mantenere o migliorare la QoL del paziente.

6. U.S. Department of Health and Human Services FDA Center for Drug Evaluation and Research, U.S. Department of Health and Human Services FDA Center for Biologics Evaluation and Research, U.S. Department of Health and Human Services FDA Center for Devices and Radiological Health. Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance. *Health Qual Life Outcomes*. 2006;4:79.
7. Levine MN, Ganz PA. Beyond the development of quality-of-life instruments: Where do we go from here? *J Clin Oncol*. 2002;20(9):2215-6.
8. Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance. *Health Qual Life Outcomes*. 2006;4:79.
9. Bottomley A, Jones D, Claassens L. Patient-reported outcomes: assessment and current perspectives of the guidelines of the Food and Drug Administration and the reflection paper of the European Medicines Agency. *Eur J Cancer*. 2009;45(3):347-53.
10. Salek S, Ionova T, Oliva E, EHA SWG Quality of Life and Symptoms. Patients' needs in hematology: whose perspectives? *Haematologica*. 2013;98(6):828-30
11. Oliva EN, Finelli C, Santini V, Poloni A, Liso V, Cillonì D, et al. Quality of life and physicians' perception in myelodysplastic syndromes. *Am J Blood Res*. 2012;2(2):136-47.
12. Trotti A, Colevas AD, Setser A, Basch E. Patient-reported outcomes and the evolution of adverse event reporting in oncology. *J Clin Oncology*. 2007;25(32):5121-7.
13. Spivak JL, Gascon P, Ludwig H. Anemia management in oncology and hematology. *The Oncologist*. 2009;14(1):43-56.
14. Fitzpatrick R, Davey C, Buxton MJ, Jones DR. Evaluating patient-based outcome measures for use in clinical trials. *Health Technol Assess*. 1998;2(14):1-74.
15. Berzon R. Understanding and using health-related quality of life instruments within clinical research studies. In: Staquet MJ, Hays RD, Fayes PM, ed. *Quality of life assessment in clinical trials: methods and practice*. Oxford, England: Oxford University Press. 2000:3-15.
16. Fayes P, Machin D. Quality of life: The assessment, analysis and interpretation of patient-reported outcomes. In: John Wiley & Sons. 2007.
17. Guyatt GH, Veldhuyzen Van Zanten SJ, Feeny DH, Patrick DL. Measuring quality of life in clinical trials: a taxonomy and review. *Can Med Assoc J*. 1989;140(12):1441-8.
18. Jaeschke R, Guyatt GH, Keller J, Singer J. Ascertaining the meaning of change in quality of life questionnaire score: data from N of 1 randomised control trials. *Controlled Clin Trials*. 1991;12:226S-233S.
19. Guyatt GH, Jaeschke R. Measurements in clinical trials: choosing the appropriate approach. In: B Spilker, ed. *Quality of life in Clinical Trials*. New York: Raven Press. 1990:37-46.
20. Oliva EN, Nobile F, Dimitrov BD. Development and validation of QoL-E© instrument for the assessment of health-related quality of life in myelodysplastic syndromes. *Cent Eur J Med*. 2013;8(6):835-44.
21. Pinchon DJ, Stanworth SJ, Dorée C, Brunskill S, Norfolk DR. Quality of life and use of red cell transfusion in patients with myelodysplastic syndromes. A systematic review. *Am J Hematol*. 2009;84(10):671-7.
22. Likert R. Technique for the measure of attitudes. *Arch Psycho*. 1932;22:140.
23. Oliva EN, Dimitrov BD, Benedetto F, D'Angelo A, Nobile F. Hemoglobin level threshold for cardiac remodeling and quality of life in myelodysplastic syndrome. *Leuk Res*. 2005;29(10):1217-9.
24. Oliva EN, Nobile F, Alimena G, Specchia G, Danova M, Rovati B, et al. Darbepoetin For The Treatment Of Anemia Of Myelodysplastic Syndromes: Efficacy And Quality Of Life. *Leuk Lymphoma*. 2010;51(6):1007-14.
25. Oliva EN, Latagliata R, Laganà C, Breccia M, Galimberti S, Morabito F, et al. Lenalidomide in Low-and Intermediate-1 IPSS risk myelodysplastic syndromes with del(5q): an Italian phase II trial of health-related quality of life, safety, and efficacy. *Leuk Lymphoma*. 2013; 54(11):2458-65.
26. Oliva E, Santini V, Zini G, Palumbo G, Poloni A, Cortelezzi A, et al. Eltrombopag For The Treatment Of Thrombocytopenia Of Low And Intermediate-1 IPSS Risk Myelodysplastic Syndromes: Results Of A Prospective, Randomized Trial. *EHA Annual Meeting Abstracts*. 2013;98(1): 456.
27. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, Bullinger M, Cull A, Duez NJ, et al. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: A quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst*. 1993;85(5):365-76.
28. Cella DF, Tulsky DS, Gray G, Sarafian B, Linn E, Bonomi A, et al. The Functional Assessment of Cancer Therapy scale: development and validation of the general measure. *J Clin Oncol* 1993;11(3): 570-9.
29. Yellen SB, Cella DF, Webster K, Blendowski C, Kaplan E. Measuring fatigue and other anaemia-related symptoms with the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) measurement system. *J Pain Symptom Manage*. 1997;13(2):63-74.
30. Cella D. The Functional Assessment of Cancer Therapy – Anaemia scale (FACT-An) scale. A new tool for the assessment of outcomes in cancer anaemia and fatigue. *Semin Hematol*. 1997;34:(3 Suppl 2):13-9.
31. Casadevall N, Durieux P, Dubois S, Hemery F, Lepage E, Quarré MC, et al. Health economic, and quality of life effects of erythropoietin and granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of myelodysplastic syndromes: A randomized, controlled trial. *Blood*. 2004; 104(2):321-7.
32. Spiriti MA, Latagliata R, Niscola P, Cortelezzi A, Francesconi M, Ferrari D, et al. Impact of a new dosing regimen of epoetin alfa on quality of life and anaemia in patients with low-risk myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol*. 2005;84(3):167-76.
33. Balleari E, Rossi E, Clavio M, Congiu A, Gobbi M, Grosso M, et al. Erythropoietin plus granulocyte colony-stimulating factor is better than erythropoietin alone to treat anaemia in low-risk myelodysplastic syndromes: results from a randomized single-centre study. *Ann Hematol*. 2006;85(3):174-80.
34. Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, Beyne-Rauzy O, Mufti G, Mittelman M, et al. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q. *Blood*. 2011;118(14):3765-76.
35. Oliva EN, D'Angelo A, Martino B, Nobile F, Dimitrov BD, Perna A. More concern about transfusion requirement when evaluating quality of life in anemic patients. *J Clin Oncol*. 2002;20(14):3182-3; author reply 3183-4.
36. Jansen AJG, Essink-Bot ML, Beckers EAM, Hop WC, Schipperus MR, Van Rhenen DJ. Quality of life measurement in patients with transfusion-dependent myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 2003;121(2):270-4.
37. Aloe Spiriti, Oliva EN. Il problema della qualità della vita. In: Aloe Spiriti, Cortelezzi A, Finelli C, Ghio R, Levis A, Liso V, et al. ed. *Sindromi mielodisplastiche. Dalla teoria alla pratica clinica*. Milan: Elsevier Masson. 2008:225.
38. Nilsson-Ehle H, Birgegård G, Samuelsson J, Antunovic P, Astermark J, Garelius H, et al. Quality of life, physical function and MRI T2* in elderly low-risk SMD patients treated to a haemoglobin level of ≥ 120 g/L with darbepoetin alfa ± filgrastim or erythrocyte transfusions. *Eur J Haematol*. 2011;87(3):244-52.
39. Stasi R, Abruzzese E, Lanzetta G, Terzoli E, Amadori S. Darbepoetin alfa for the treatment of anemic patients with low- and intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes. *Ann Oncology*. 2005; 16(12):1921-7.
40. Kornblith AB, Herndon JE 2nd, Silverman LR, Demakos EP, Odchimar-Reissig R, Holland JF, et al. Impact of azacytidine on the quality of life of patients with myelodysplastic syndrome treated in a randomized phase III trial: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol*. 2002; 20(10):2441-52.

41. Lübbert M, Suci S, Baila L, Rüter BH, Platzbecker U, Giagounidis A, et al. Low-dose decitabine versus best supportive care in elderly patients with intermediate- or high-risk myelodysplastic syndrome (SMD) ineligible for intensive chemothe-

rapy: final results of the randomized phase III study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Leukemia Group and the German SMD Study Group. *J Clin Oncol.* 2011;29(15):1987-96.

Parole Chiave

Qualità di vita, patient-reported outcomes, sindromi mielodisplastiche, sintomi

Indirizzi per la corrispondenza

Esther Natalie Oliva

Az. Ospedaliera, Bianchi Melacrino Morelli, Reggio Calabria
Via Giuseppe Melacrino, 21- 89124 Reggio Calabria
Tel 0965-397239 - Fax 0965-397929
E-mail: estheroliva@hotmail.com

Ringraziamenti per il supporto della ricerca clinica sulla QoL

1. *Associazione QoL-ONE per la ricerca sulla Qualità di Vita dei pazienti ematologici di Reggio Calabria per il supporto della ricerca clinica sulla QoL*
2. *European Working Group Scientific Hematology Association (EHA SWG) "Quality of Life and Symptoms"*

Nel prossimo numero

Emergenze in ematologia

Emorragiche

Trombotiche

Infettive

Nel trapianto

Da masse tumorali

Con il supporto non condizionato di

