



All'incontro del gruppo di studio sul **SINDROMI MIELOPROLIFERATIVE PH+ e PH-** tenutosi il **16 dicembre 2019** erano presenti i professionisti rappresentanti le seguenti Aziende:

A.O.U. Città della Salute e della Scienza di Torino

A.O.U. S. Luigi Gonzaga Orbassano

A.O. S. Croce e Carle Cuneo

ASL Città di Torino

ASL TO 4

ASL TO 5

AUSL Valle d'Aosta

Il programma della riunione prevede una sessione dedicata alla diagnostica genetica (Dr. Enrico Gottardi) e

una discussione conclusiva tra tutti i partecipanti di valutazione del lavoro svolto e di programmazione per l'anno successivo.

Biologia molecolare

La biologia molecolare e le tecniche di analisi citogenetica rappresentano un elemento fondamentale nella diagnosi e nel follow-up delle malattie mieloproliferative.

Il dott. Enrico Gottardi (San Luigi, Orbassano) ci presenta le varie tecniche attualmente in uso nei pazienti affetti da Leucemia Mieloide Cronica (LMC) Ph+.

La citogenetica convenzionale è la tecnica che consente la definizione del cariotipo e la rilevazione di eventuali anomalie citogenetiche addizionali all'esordio; la FISH (ibridazione in situ fluorescente) permette la valutazione della popolazione cellulare Ph+ e può essere utilizzata preferenzialmente nel follow-up e nelle LMC BCR/ABL1 pos ma Ph-negative in citogenetica.

Le tecniche di biologia molecolare classiche, che includono la RT Polymerase Chain reaction (RT-PCR), tecnica qualitativa, e la Real Time PCR quantitativa (RT-Q-PCR), consentono la rapida rilevazione del riarrangiamento BCR/ABL1 e raggiungono livelli di elevata sensibilità nella valutazione della malattia residua.

Alla diagnosi, la RT-PCR definisce la presenza di un trascritto ibrido BCR-ABL1 e permette di identificare i breakpoints. Oltre ai classici trascritti b2a2 (e13a2) o b3a2 (e14a2) p210, presenti nella maggioranza dei pazienti, e al più raro e1a2 (p190), la RT-PCR permette di rilevare i breakpoint rari



con trascritti atipici (ex. b2a3, b3a3, e1a3, e19a2 e altri) che se non identificati all'esordio con tecniche qualitative non vengono rilevati dalla RQ-PCR.

La RQ-PCR è la tecnica preferenziale nel follow-up dei pazienti, sottoposta a standardizzazione a livello italiano e europeo, eseguita secondo i criteri della rete Labnet GIMEMA.

La definizione del livello di risposta molecolare (MR3, MR4, MR4.5, MR5) si basa sulla quantità di trascritto anomalo ma anche sulla valutazione del gene di controllo che fornisce un indice della sensibilità della singola reazione (Cross NC, Leukemia 2015).

Sono in corso di sperimentazione nuove metodiche (Q-LAMP) che consentono di dare una prima valutazione in tempi molto più rapidi (4-5 ore) e che permettono quindi di indirizzare rapidamente l'iter diagnostico-terapeutico.

Nei casi più avanzati e nei pazienti resistenti è indicata la ricerca di mutazioni di BCR-ABL1, basata ancora di routine sulla tecnica del Sanger Sequencing, che però presenta un basso livello di sensibilità.

La tecnica NGS (next-generation sequencing) permette l'identificazione di mutazione geniche con un livello molto più elevato di sensibilità. Trova applicazione nella LMC per lo studio delle mutazioni di ABL1 ma è molto importante anche il suo uso in altre patologie, incluse le MPN Ph-negative. Nella mielofibrosi, la presenza di mutazioni di ASXL1, EZH2, SRSF2 e IDH identifica i pazienti a rischio per morte prematura e/o trasformazione leucemica (Vannucchi AM, Leukemia 2013) e riveste quindi un ruolo prognostico rilevante.

Viene condivisa dal gruppo la necessità dell'attivazione e della standardizzazione di questa tecnica che attualmente è in corso di allestimento nel Laboratorio di Orbassano.

Programma di lavoro

La bozza del PDTA sarà distribuita ai colleghi dei vari centri per l'approvazione.

Vengono inoltre discusse le prospettive di lavoro per il gruppo, che i partecipanti concordano nel valutare molto positivamente. Nella riunione si propone che nel corso del prossimo anno si discuta dei percorsi diagnostici e terapeutici nella Leucemia Mieloide Cronica Atipica, una patologia molto rara caratterizzata dall'assenza della traslocazione t(9;22) e dalla prognosi sfavorevole. I colleghi Eloise Beggiato (Molinette) e Davide Rapezzi (Cuneo) sono interessati ad approfondire le tematiche legate a questa malattia.



Altri argomenti di interesse generale, che meritano approfondimento nell'anno 2020, includono: il counseling delle pazienti che affrontano o richiedono di pianificare una gravidanza; i criteri che possono consentire di sospendere la terapia con inibitori delle tirosin-chinasi in pazienti selezionati.