

notiziario fanconi

I PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI DALL'AIRFA

L'A.I.R.F.A. nel periodo 4 gennaio - 4 luglio 2010 ha finanziato il progetto di ricerca "Sviluppo di un test di complementazione genica per la tipizzazione di soggetti Fanconi", condotto con la viva e sentita collaborazione del Dr. **Carmine Carbone** e di tutta l'Unità di Farmacologia Sperimentale dell'Istituto Nazionale dei Tumori-Fondazione G. Pascale, diretto dal Prof. **Alfredo Budillon**.

La complementazione genica è una metodica che ha come finalità il ripristino delle funzioni biochimiche che sono alterate nelle cellule dei soggetti affetti da **Anemia di Fanconi (AF)**, attraverso l'introduzione, nelle cellule stesse, di uno specifico gene funzionante che "complementa" l'azione dei corrispondenti geni alterati.

Tali tecnologie, preludio di una possibile "terapia genica", sono attualmente utilizzate dalla comunità scientifica a scopo strettamente di ricerca e non terapeutico per poter individuare il gene-malattia e tipizzare molecolarmente i soggetti affetti da malattie ad elevata eterogeneità genetica come l'Anemia di Fanconi. Ricordiamo infatti che l'AF può essere determinata da mutazioni in 15 geni (FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1/BRCA2, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCIJ/BRIP1, FANCL, FANCM, FANCN/PALB2, FANCO/RAD51C e FANCP/SLX4).

L'attività sperimentale condotta è stata finalizzata all'allestimento del test di complementazione genica per individuare i soggetti di sottotipo A, dato che il gene FANCA risulta mutato nel 65-70% dei soggetti affetti da AF. Per far ciò

sono stati amplificati in cellule batteriche competenti un vettore contenente il gene FANCA (vettore FANCA) ed un vettore vuoto di controllo (vettore vuoto) e sono state condotte delle prove preliminari di trasfezione diretta di linee cellulari linfoblastoidi (LCL) di sottotipo A, utilizzando dei reagenti per trasfezioni cellulari commerciali.

L'attività di ricerca è proseguita con la produzione di vettori retrovirali, contenenti il vettore FANCA o il vettore vuoto, con i quali sono state infettate le LCL di un soggetto di gruppo A (06-0300). Le cellule infettate con il vettore FANCA e selezionate con puomicina hanno mostrato il ripristino del "pathway Fanconi" mediante test di immunowestern blotting a differenza di quelle infettate con il vettore vuoto.

Con tale esperimento abbiamo potuto dimostrare l'avvenuta complementazione del campione 06-0300.

Il risultato ottenuto ci incoraggia nel proseguire la lunga e laboriosa operazione di tipizzazione dei soggetti Fanconi, perfezionando il test di complementazione con vettori retrovirali e avviando l'analisi molecolare per la ricerca delle mutazioni del gene FANCA.

Dr.ssa **Oriana Catapano**
Ospedale Elena d'Aosta - ASL Na1

SPECIALE
EDIZIONE
SCIENTIFICA

UN NUOVO MODO DI FARE SANITÀ

L'Italia sta attraversando un momento economico difficile, che si traduce in una minore disponibilità dei fondi destinati ai servizi sociali e tra questi la sanità è una delle aeree più colpite con tagli e riduzione delle strutture (accorpamenti). La Campania ne risente in maniera particolare, poiché oltre ai tagli subiti come le altre regioni, deve approntare un piano di rientro dal debito accumulato nell'area della sanità e questo comporta ulteriori tagli alla disponibilità dei fondi da investire.

In questa difficile realtà sono nati progetti sanitari che hanno del nuovo e uno di questi ha coinvolto il Dipartimento di Oncologia della AORN Santobono Pausilipon Annunziata, il più grosso Presidio Ospedaliero della Regione Campania, che opera nel mondo Pediatrico, con il Dipartimento di Oncoematologia dell'Istituto Gianna Gaslini di Genova, eccellenza nazionale nell'assistenza Pediatrica.

I due Dipartimenti che da tempo collaborano, hanno istituzionalizzato un protocollo d'intesa, accettato e firmato dai rispettivi Direttori Generali, che determina nell'ambito della oncologia pediatrica una collaborazione scientifica basata su scambi culturali continui.

Sono stati organizzati meeting su argomenti medici ritenuti utili alle due istituzioni con scambi di visite dei professionisti dell'una e dell'altra azienda. La novità più interessante è stata la creazione di una piattaforma digitale con la quale è possibile scambiare immagini e referti e in video conferenza gli esperti del Gaslini e quelli del Pausilipon sono in grado di analizzare casi clinici di particolare rilevanza, esprimendo pareri e concordandone le linee terapeutiche. Queste video conferenze hanno una cadenza settimanale e rappresentano momenti di incontro, discussione e confronto.

Ormai sono circa quattro mesi che questo programma è stato avviato e vari sono stati gli argomenti di discussione come: i tumori cerebrali, gli osteosarcomi, il neuroblastoma, i trapianti di midollo osseo, le istiocitosi e anche l'**Anemia di Fanconi**. Il dott. **Carlo Dufour** (Ospedale Pediatrico Gaslini, Genova) ha visitato il nostro Centro e ha tenuto una lezione magistrale sugli ultimi aggiornamenti in tema di diagnosi di Anemia di Fanconi e sul programma di riclassificazioni che questa malattia sta subendo alla luce delle individuazioni di nuove alterazioni genomiche. Anche il sottoscritto è stato coinvolto in questo programma e, nel mese di novembre, terrà a Genova un incontro in tema trapiantologico sulla gestione delle complicanze che il trapianto di midollo osseo comporta. Questo progetto ha visto l'unione di due realtà pediatriche che coagulando le loro forze offrono ai piccoli ammalati il meglio che il mondo medico dispone.

Mimmo Ripaldi

Responsabile dell'Unità trapianto di Midollo Osseo
AORN Santobono Pausilipon Annunziata
Napoli

ANEMIA DI FANCONI E TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO

L'**Anemia di Fanconi** (FA) è una rara malattia genetica caratterizzata da instabilità cromosomica, da tendenza a sviluppare tumori ematologici e non e da un difetto produttivo del midollo osseo che comporta anemia, piastrinopenia e leucopenia. Sono stati individuati un gruppo di 15 geni che coinvolgendo le funzioni di riparazione del DNA, i processi di ossido-riduttasi, di regolazione di

citochine e dell'apoptosi sono alla base dei fenomeni che determinano la malattia di Fanconi.

Usualmente intorno ai 5-10 anni compaiono i primi difetti di emopoiesi e si comincia ad evidenziare anemia, piastrinopenia e leucopenia. Da studi su animali e su cellule umane si è visto che le cellule dei pazienti affetti da FA, in presenza di un eccesso di citochine infiammatorie (TNF) e di Interferon-Gamma (IFN), vanno incontro a morte (apoptosi) per incremento delle alterazioni dei cromosomi, i quali non possono essere riparati in quanto è geneticamente alterato il sistema di riparazione. Questo scenario è anche il quadro delle malattie precancerose tanto che, nel midollo dei pazienti affetti da FA, spesso prima della comparsa di una Leucemia Mieloide Acuta si assiste al comparire di una sindrome mielodisplastica associata ad alterazione genetica come la monosomia del cromosoma 7.

I pazienti affetti da AF in alcuni casi rispondono alla terapia con androgeni o con corticosteroidi correggendo l'anemia e la piastrinopenia con il midollo residuo ancora funzionante, ma alla lunga, questi effetti benevoli tendono a scomparire lasciando evidenti solo gli effetti negativi di tali terapie (mascolinizzazione, irsutismo, epatiti, bassa statura e carcinomi epatici). L'uso dei fattori di crescita come EPO, GSM e IL-3 hanno determinato risposte parziali e transitorie. Molto più interessanti sono le terapie a base di anti TNF che, ancora in fase sperimentale, stanno ottenendo, in alcuni casi, risultati incoraggianti. Ma il primo presidio terapeutico nella AF, quando si osserva un decremento della emopoiesi con la necessità di trasfusioni e si possiede un familiare HLA identico, è il trapianto di midollo osseo. Dalla fine degli anni 90 i protocolli di preparazione al trapianto sono stati quelli utilizzati dalla prof.ssa **Gluckman** e perfezionati da diversi gruppi (**Dufour et al**, **Zanis-Neto et al**, **Farzin et al**). I risultati raggiunti da questi programmi sono stati interessanti con mortalità trapiantologica (TRM) pari al 8-18%, rigetto pari al 9% e sopravvivenza pari al 80%. L'introduzione di condizionamenti a intensità ridotta (RIC), a base di fludarabina, ha migliorato quello che era uno dei più importanti aspetti negativi la TRM portandola al 9% con una sopravvivenza che supera l'85%. La natura della malattia (genetica)

e la bassa probabilità di un familiare compatibile (25%) rappresentano due degli ostacoli a un trapianto familiare, per cui spesso si è costretti a ricorrere ad un donatore compatibile non familiare, ma in questo caso si ha un incremento dei rischi di mortalità trapiantologica (TRM), della possibilità dell'incremento della reazione contro l'ospite da parte delle cellule immunocompetenti del donatore (GVH) e del mancato attecchimento del midollo infuso, tanto che la sopravvivenza globale è valutata intorno al 35%. Anche in questi casi l'introduzione della fludarabina nella preparazione al trapianto ha incrementato in maniera netta la sopravvivenza toccando valori intorno al 53%. Bisogna comunque ricordare che, con il trapianto di midollo osseo, si correggono le alterazioni ematologiche ma non si corregge la tendenza che i pazienti con FA hanno nello sviluppare tumori non ematologici. Appare chiaro che, al momento, la terapia trapiantologica, anche con le sue limitazioni, appare quella che attualmente offre le migliori garanzie per la guarigione. In Italia numerosi sono i Centri di Trapianto che hanno avuto in cura pazienti affetti da questa malattia. Anche il Centro Trapianti Pediatrico da me diretto, allocato presso l'Ospedale Pausilipon nel Dipartimento di Oncologia Pediatrica diretto dal prof. Vincenzo Poggi, ha maturato esperienze con bambini affetti da FA effettuando il trapianto di midollo osseo sia da donatore familiare che da donatore non familiare. I dati del nostro centro, con i suoi 220 trapianti effettuati sia allogenici che autologhi in piccoli pazienti affetti sia da patologie oncologiche sia da patologie genetiche come l'A.F. ma non solo questa, sono sovrapponibili a quelli di tutti gli altri centri nazionali ed internazionali ed esso può rappresentare per l'Italia meridionale un punto di riferimento senza la necessità di dover emigrare, come spesso è capitato negli anni passati, in altre regioni.

Dott. Mimmo Ripaldi

Direttore SSD Trapianto di Midollo Osseo
AORN Pediatrica Santobono Pausilipon
Napoli

Si può contattare il dott. **Mimmo Ripaldi** presso infofanconi@airfa.it