

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA "TOR VERGATA"
DOTTORATO IN EMATOLOGIA XIX CICLO
Direttore: prof. S.Amadori
AA 2006-2007

**“TRAPIANTO AUTOLOGO DI CELLULE
STAMINALI EMOPOIETICHE DOPO
CHEMIOTERAPIA AD ALTE DOSI NEL
SARCOMA DI EWING/PNET AD ALTO RISCHIO
IN ETÀ PEDIATRICA”**

RELATORE:
Chiar.mo Prof.
S. Amadori

CANDIDATA:
Dott.ssa I. Ilari

INDICE

INTRODUZIONE	pag. 3
○ <i>Sarcoma di Ewing/PNET</i>	
○ <i>Razionale delle alte dosi</i>	
MATERIALE E METODI.....	pag. 9
○ <i>Caratteristiche dei pazienti</i>	
○ <i>Chemioterapia ad alte dosi (ETC)</i>	
RISULTATI.....	pag. 14
○ <i>Tossicità</i>	
○ <i>Risposte</i>	
DISCUSSIONE.....	pag. 20
CONCLUSIONI.....	pag. 23
BIBLIOGRAFIA.....	pag. 24

INTRODUZIONE

Significativi progressi sono stati ottenuti negli ultimi 30 anni nella terapia e sopravvivenza dei pazienti affetti da sarcoma di Ewing/PNET localizzato, con una percentuale di sopravvivenza a lungo termine variabile dal 50 al 70%. Sicuramente l'approccio multidisciplinare (chemioterapia, radioterapia e chirurgia) e l'introduzione di antracicline nei protocolli terapeutici sono tra i fattori determinanti. Meno confortanti rimangono, invece, i dati sul Sarcoma di Ewing/PNET ad alto rischio, che mostrano percentuali di sopravvivenza non superiori al 25%. Alcuni studi suggeriscono che un consolidamento con chemioterapia ad alte dosi e rescue di cellule staminali emopoietiche potrebbero migliorare l'outcome di questi pazienti. L'obiettivo del nostro studio è analizzare la tossicità e l'efficacia di un regime di condizionamento con ETC (etoposide, thiotepa e ciclofosfamide) come terapia di consolidamento in pazienti affetti da sarcoma di Ewing/PNET ad alto rischio in prima remissione.

Sarcoma di Ewing/PNET ad alto rischio

Il sarcoma di Ewing (SE) è un tumore indifferenziato dell'osso, descritto per la prima volta nel 1921 da James Ewing come una neoplasia che, a differenza dell'osteosarcoma, era sensibile alla radioterapia. In realtà oggi si parla di tumori della famiglia del sarcoma di Ewing (ESFT) che comprendono, oltre al sarcoma di Ewing intraosseo, il sarcoma di Ewing extraosseo e una sua variante più differenziata, nota come tumore neuroectodermico periferico primitivo (pPNET), che può insorgere sia nell'osso che nei tessuti molli circostanti. Dal punto di vista citogenetico i tumori della famiglia del sarcoma di Ewing presentano una caratteristica traslocazione reciproca $t(11;22)(q24;q12)$ che coinvolge uno specifico punto di rottura del cromosoma 11 e del 22 diverso rispetto a quello interessato nella medesima traslocazione costituzionale. Tale anomalia citogenetica suggerisce l'ipotesi di un'origine comune per il sarcoma di Ewing e il pPNET ed è stata proposta come marker nella diagnosi differenziale con altri tumori a piccole cellule rotonde.

In Italia, gli ESFT rappresentano la seconda neoplasia dell'osso più frequente in età pediatrica con circa 100 nuove diagnosi ogni anno; il picco di incidenza è nella seconda decade di vita (70%).

I fattori di rischio correlati ad una prognosi peggiore includono: alterazioni genetiche, età maggiore alla diagnosi, volume del tumore, elevati livelli di lattico

deidrogenasi, localizzazione pelvica o assiale, grado di risposta istologica alla terapia (intesa come percentuale di necrosi e fusione di trascritto) e presenza di metastasi alla diagnosi, quest'ultimo resta il fattore prognostico più importante.

In particolare da un'analisi più razionale dei fattori di rischio attribuiti alla ESFT risultano due diversi gruppi: il primo dipendente dalle caratteristiche della neoplasia definito dal volume del tumore primitivo ($> 200 \text{ cm}^3$), presenza di metastasi (polmonari vs extrapolmonari) e/o micrometastasi midollari individuate mediante PCR; il secondo legato a fattori biologici definiti dal grado di risposta istologica alla terapia e dal tipo di trascritto di fusione.

Razionale delle alte dosi

Il principio di una stretta correlazione tra dose di farmaco antiblastico somministrato ed effetto anti-tumorale, è stato stabilito da risultati *in vitro* su linee cellulari tumorali: la risposta ottimale (logaritmica-lineare) è stata osservata con gli agenti alchilanti. Ad una certa dose di farmaco corrisponde una determinata frazione di cellule neoplastiche uccise, indipendentemente dal numero di partenza.

Il numero di cellule tumorali diminuisce in maniera logaritmica con un aumento lineare all'aumentare della dose di antiblastico. Una buona illustrazione *in vivo* è data da una metanalisi che prende in considerazione le risposte complete e la percentuale

di sopravvivenza ottenute aumentando le dosi di ciclofosfamide, doxorubicina, etoposide e composti del platino in regimi chemioterapici di induzione.

La chemioterapia somministrata a dose subletale seleziona e favorisce lo sviluppo di cellule tumorali resistenti, ma la chemioterapia a dosi massimali è limitata dalla mielosoppressione. Il supporto di cellule staminali permette di aumentare le dosi e la combinazione di farmaci che altrimenti produrrebbero un grado di mielosoppressione incompatibile con la vita.

Idealmente un regime di megaterapia dovrebbe utilizzare uno o più agenti non schedula-dipendenti, con una curva dose-risposta ottimale per quella particolare neoplasia, ma senza tossicità extramidollare o tossicità di organo sovrapposta.

Per gli agenti alchilanti e le antracicline (farmaci non ciclo-cellulare dipendenti) la massima intensità della dose è raggiunta somministrando la dose massima totale in un'unica somministrazione. Per gli altri in cui la tossicità dose limitante (DLT) è rappresentata dalla mielosoppressione, il rescue di cellule staminali permette un aumento della dose da 5 a 10 volte maggiore.

Nonostante i trattamenti aggressivi, il 30-40% di pazienti con sarcoma di Ewing localizzato e l'80% di pazienti con malattia metastatica vanno incontro a progressione. L'intensificazione della dose di chemioterapici e l'uso di megaterapia seguita da reinfusione di cellule staminali emopoietiche autologhe sono valide alternative per pazienti ad alto rischio.

I risultati del trattamento con megaterapia e trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche per pazienti affetti da sarcoma di Ewing ad alto rischio devono essere analizzati considerando l'assenza di studi randomizzati e l'eterogeneità dei pazienti studiati.

In un lavoro pubblicato su *Journal of Clinical Oncology* da Kushner e Meyers sono stati valutati i pazienti affetti da ESFT che presentavano metastasi ossee o a livello di midollo osseo alla diagnosi. 21 pazienti che avevano ottenuto la remissione completa o una risposta maggiore dopo induzione, venivano avviati a terapia mieloablattiva con 2 diversi protocolli: 1) TBI (15 Gy iperfrazionata) + melphalan (180 mg/m²) e 2) Thiotepa (900 mg/m²) + carboplatino (1500 mg/m²). I risultati non erano soddisfacenti: solo un paziente è lungosopravvive, la risposta iniziale in induzione è stata CR/VGPR in 19 pz, 8 sono progrediti prima delle alte dosi, 8 sono stati trattati con TBI/Melphalan, 3 con Thiotepa/Carboplatino. I dati della letteratura sono simili a quelli del Memorial Sloan Kettering Cancer Center con percentuali di DFS comprese tra 20 e 25%. I risultati del registro dell'European Bone Marrow Transplantation (EBMT) in due studi consecutivi hanno mostrato in un gruppo di 22 pazienti con metastasi ossee e/o midollari una percentuale di DFS del 21%; tuttavia in 63 pazienti sottoposti a terapia ad alte dosi e trapianto di midollo osseo autologo i risultati sono stati superiori per il gruppo di pazienti che hanno ricevuto la combinazione Melphalan e Busulfan e per quelli che non hanno ricevuto TBI. In un lavoro che ha preso in considerazione 111 pazienti con ESFT metastatici a osso e

midollo osseo viene confermato il vantaggio dei protocolli che includono Busulfan: OS a 5 anni era del 44% per i 18 pazienti che avevano ricevuto Busulfan e solo 23% per il gruppo di 93 pazienti trattati senza Busulfan. L'uso di Busulfan ha determinato un vantaggio anche per pazienti con metastasi polmonari (66 vs 39%) o con malattia localizzata ad alto rischio (75 vs 38%). Infine in un lavoro di Davies et al. venivano trattati 11 pazienti con ESFT ad alto rischio metastatici o recidivati con un protocollo che utilizzava tre alchilanti in associazione (Busulfan, Melphalan e Thiotepa). Per questo piccolo gruppo di pazienti che includeva anche coloro senza coinvolgimento di osso o midollo osseo, la DFS a 3 anni era del 62%.

Un recente lavoro di Oberlin et al. ha suggerito che la chemioterapia ad alte dosi seguita da trapianto di cellule staminali può migliorare la prognosi di pazienti con ESFT e metastasi polmonari; infatti su 97 pazienti arruolati, 75 hanno ricevuto terapia ad alte dosi: EFS a 5 anni per tutti i 97 pazienti è stata del 37%, OS 38%, EFS dopo alte dosi 47%; per i pazienti con solo metastasi polmonari 52%, mentre per quelli con metastasi ossee senza coinvolgimento midollare 36%. Di 23 pazienti con localizzazione midollare di malattia, solo uno è sopravvissuto. L'analisi multivariata di entrambe EFS e OS ha identificato tre fattori prognostici indipendenti: età alla diagnosi > 15 anni, febbre alla diagnosi e localizzazione di malattia al midollo osseo hanno un impatto negativo su EFS.

MATERIALI E METODI

Caratteristiche dei pazienti

Da agosto 1998 ad aprile 2007, 25 pazienti (pz), 10 maschi 15 femmine, età mediana alla diagnosi 7.9 anni (range 1-15.8), con diagnosi istologica di sarcoma di Ewing/PNET alto rischio sono stati arruolati allo studio. 17/25 pz sono valutabili per le alte dosi (1 è in trattamento radioterapico, 2 sono a distanza rispettivamente di 20 e 40 giorni dal trapianto, gli altri 5 sono ancora nella fase di induzione).

Abbiamo considerato ad alto rischio i pz affetti da Sarcoma di Ewing/PNET con presenza di uno o più dei seguenti fattori di rischio: volume tumorale >200 mL, localizzazione di malattia pelvica o assiale, presenza di metastasi, percentuale di necrosi < 95 %.

Il consenso informato è stato firmato dai genitori o tutori dei minori eleggibili allo studio.

Dei 17 pz arruolati per le alte dosi, 7 presentavano metastasi (in 4 pz solo a livello polmonare, in 1 paziente polmone, midollo osseo ed encefalo, in 1 osso e midollo osseo, in 1 solo midollo), 4 erano alto rischio per sede (2 pelvi e 2 parete

toracica), in 4 pazienti la necrosi dopo chirurgia sul tumore primitivo era < 90% e in 2 pz il volume tumorale alla diagnosi era > 200 ml.

Tutti i pz sono stati sottoposti a stadiazione di malattia mediante diagnostica per immagine TC, RMN secondo l'indicazione per la definizione della lesione primitiva e metastasi, scintigrafia scheletrica con Tc 99m, aspirati midollari e biopsie osteomidollari.

La fase di induzione prevedeva 7 cicli di chemioterapia convenzionale: 2 cicli di ICE (Ifosfamide 9 g/m², Carboplatino 800 mg/m², Etoposide 500 mg/m²) seguiti da 2 cicli CAV (Ciclofosfamide 3 g/m², Adriamicina 75 mg/m² infusione continua per 72 h, Vincristina 1.5 mg/m² infusione continua per 72 h), intervento chirurgico, ove possibile, 2 cicli reclutanti con CE (etoposide 300 mg/m² e ciclofosfamide 4 g/m²) ed un ulteriore ciclo CAV.

L'harvest di cellule staminali emopoietiche da sangue periferico è stato eseguito dopo i primi 2 ICE nei pazienti che non presentavano metastasi osteomidollari all'esordio o, in cicli successivi, in coloro con infiltrazione.

In 13/17 pz è stato possibile eseguire aferesi di cellule staminali emopoietiche da sangue periferico, i restanti 4 pz sono stati sottoposti ad espianto di midollo osseo in anestesia generale.

Il tumore primitivo e le eventuali metastasi sono stati valutati ogni 2 cicli mediante TC o RMN. Aspirati midollari e biopsie osteomidollari, ove indicato,

venivano ripetuti dopo 4 cicli e al termine del trattamento, scintigrafia scheletrica con Tc 99m all'esordio della malattia e al termine della terapia.

10 pz sono stati sottoposti ad intervento chirurgico dopo 4 cicli di terapia neoadiuvante, uno è stato operato all'esordio di malattia, in un pz non era più visibile la lesione dopo 4 cicli di chemioterapia; un paziente non ha subito chirurgia che sarebbe stata demolitiva (amputazione dell'arto superiore) per volere dei genitori e in un altro vi erano molteplici localizzazioni ossee ed è stata effettuata solo una biopsia, 3 pz sono stati operati al termine del trattamento. In 13 pz sottoposti a chirurgia radicale solo 4 presentavano una necrosi < 90%.

I pz che ottenevano una risposta completa o parziale dopo ulteriori 3 cicli di terapia venivano avviati a chemioterapia ad alte dosi .

8 pz hanno ricevuto terapia radiante sul tumore primitivo dopo le alte dosi.

Vedi tabella: Caratteristiche dei pazienti

Pazienti/Sesso	ETA' ALLA DIAGNOSI	SEDE TUMORE PRIMITIVO	SEDE METASTASI	Induzione	Fonte CSE (BM, PB)	Follow-up/Mesi
Pazienti metastatici						
1/F	6,9	Scapola	Polmone	ICE/CAV	BM	RC/108
2/F	3,5	Omero	Polmone bilaterali	ICE/CAV	PB	DOD/23
3/F	6,3	Femore	Osteomidollari	ICE/CAV	PB	DOD/34
4/M	11,8	Femore + meta. Osso e midollo	Osso e midollo	ICE/CAV	BM	AWD/55
5/M	3,1	Paraspinale toracico	Polmone	ICE/CAV	PB	DOD/26
6/M	1,0	Massiccio facciale	Midollo osseo, polmonare unica, endocranica	ICE/CAV	PB	DOD/12
7/F	13,0	Tibia	Polmone	ICE/CAV	PB	RC/22
Pazienti non metastatici						
8/F	9,6	Tibia dx	no	ICE/CAV	BM	RC/76
9/F	3,5	Scapola	no	ICE/CAV	PB	RC/66
10/M	7,9	Sacro-pelvico	no	ICE/CAV	PB	AWD/70
11/F	2,3	Mediastino + canale vertebrale	no	ICE/CAV	PB	RC/67
12/M	12,9	Branca ischio-pubica	no	ICE/CAV	PB	DOD/44
13/F	5,3	Parete toracica	no	ICE/CAV	PB	RC/57
14/M	5,0	Addome femore + branca ischio-pubica	no	ICE/CAV	PB	RC/46
15/F	11,6	Fossa iliaca destra + ala iliaca	no	ICE/CAV	BM	RC/51
16/F	9,8	Tibia	no	ICE/CAV	PB	RC/29
17/M	9,0	Seno mascellare	no	ICE/CAV	PB	RC/25
Pazienti ancora in terapia						
18/M	2,9	Parete toracica	no	ICE/CAV	PB	TETE
19/F	6,8	Scapola recidiva	no	ICE/CAV	PB	TETE
20/M	11,9	Scapola	no	ICE/CAV	PB	TETE
21/F	12,6	Caviglia	Osso	ICE/CAV	—	
22/F	14,9	Parete toracica	Polmone	ICE/CAV	—	
23/F	7,3	Parete toracia	no	ICE/CAV	—	
24/F	8,9	Vertebra + canale vertebrale	no	ICE/CAV	—	
25/M	15,8	Vertebra + canale vertebrale	no	ICE/CAV	—	

TETE= too early to evaluated

PB= cellule staminali da sangue periferico .BM= Midollo Osseo

Chemioterapia ad alte dosi (ETC)

Al momento del trapianto, l'età mediana era di 7.6 anni (range 1.6 – 13.7 anni).

Il regime di condizionamento da noi proposto (ETC) prevedeva un'associazione di 3 farmaci: Thiotepa dose totale 750 mg/m^2 gg 1-3 in associazione a Etoposide 600 mg/m^2 gg 1-3 e Ciclofosfamide 120 mg/kg gg 4 e 5 .

A distanza di 72 ore dal termine dell'infusione della chemioterapia (giorno 0), venivano reinfuse, attraverso il catetere venoso centrale, le cellule staminali emopoietiche autologhe (mediana $5.5 \times 10^6/\text{kg}$ di peso corporeo; range 1.5- 14.9) precedentemente criopreservate e scongelate rapidamente in un bagno a 37°C .

Lo stesso giorno della reinfusione iniziava la somministrazione di G-CSF, alla dose totale di $5+5 \mu\text{g/kg/die}$ fino al recovery granulocitario (neutrofili $> 500/\text{mmc}$ confermato per tre giorni successivi).

Tutti i pz sottoposti a chemioterapia mieloablativa sono stati isolati in stanze di degenza a bassa carica microbica dove sono state rispettate le norme di sterilità per ogni oggetto o persona che veniva a contatto con il bambino ed è stata effettuata una sorveglianza giornaliera da parte del personale medico ed infermieristico.

Per ogni pz, dal giorno -7 , è stata effettuata profilassi antivirale (con Aciclovir 30 mg/kg/die) e antifungina (con Fluconazolo alla dose di 5 mg/kg/die) fino ad una

conta di PMN $\geq 1000/\text{mmc}$ ed è stato somministrato sulfametossazolo (25 mg/kg/die) per la profilassi della polmonite da *Pneumocystis Carinii* fino al giorno -1.

RISULTATI

Tossicità

Tutti i pz sono stati valutati per tossicità secondo la classificazione di Bearman. La tossicità è stata principalmente ematologica: il recovery mediano di granulociti neutrofili ($N > 500/\text{mmc}$) è stato al giorno +10 (range 6-22), il recovery mediano delle piastrine ($> 50.000/\text{mmc}$) il giorno + 18 (range 9- 114).

Nell'ambito delle tossicità previste dai criteri CTC (Common Toxicity Criteria) della WHO, in 1 paziente si è verificata la comparsa di un eritema pruriginoso importante e ipercromia cutanea e sindrome di Stevens Johnson, attribuibile al thiotepa, regredito in seguito a somministrazione di antistaminici per

via sistemica; un paziente ha presentato tossicità renale di tipo tubulare grado II CTC mentre non sono state registrate tossicità polmonari, cardiache e neurologiche.

Si sono verificati 3 episodi di infezioni microbiologicamente documentate (sostenute da aerobi gram-positivi).

Mucosite orale si è verificata in 14 pz su 17: in 12 di grado II, in 2 di grado I e III. Tossicità intestinale di grado II si è verificata in 2 pz, in 1 pz di grado I.

In 2 pz è stata osservata una tossicità epatica rispettivamente di grado II e III.

Non si sono verificate morti tossiche.

Risposte

La risposta definita dai criteri del RECIST (response evaluation criteria in solid tumor) è stata valutata a distanza di almeno 30 giorni dalla reinfusione mediante tecniche per immagine (tomografia computerizzata o risonanza magnetica nucleare, scintigrafia ossea con ^{99m}Tc) e, se indicato, biopsie osteomidollari e aspirati midollari (esame immunocitologico con anticorpi monoclonali).

Risposta completa (RC) è definita come la scomparsa di tutte le lesioni conosciute per almeno 4 settimane; risposta parziale (PR) è la riduzione $\geq 50\%$ della somma dei prodotti delle dimensioni maggiori delle lesioni misurabili per almeno 4 settimane; risposta minore (MR) è la riduzione $< 50\%$ ma $> 25\%$ della somma dei prodotti delle dimensioni maggiori delle lesioni misurabili per almeno 4 settimane; malattia stabile (SD) riduzione $< 25\%$ o non aumento della somma dei prodotti delle

dimensioni maggiori delle lesioni misurabili per almeno 4 settimane; progressione di malattia (PR) qualunque aumento di lesioni conosciute o comparsa di nuove lesioni.

Dopo induzione le risposte iniziali erano 11 RC e 6 RP inclusa necrosi 100% in 7/10 pz sottoposti a chirurgia dopo 4 cicli. 4/7 pz metastatici erano in remissione completa di malattia dopo chemioterapia convenzionale e chirurgia. Al termine delle alte dosi, 8 pz hanno ricevuto terapia radiante sul tumore primitivo e 3 sono stati sottoposti a chirurgia radicale (in 1/3 la necrosi era < 90%).

A distanza di un follow up mediano di 46 mesi dalla diagnosi (range 12-108) vi sono 10 pz vivi in remissione completa (RC) e 2 pz vivi con malattia (1 con residuo visibile alla scintigrafia ossea stabile a 55 mesi dal termine della terapia e l'altro recidivato dopo 66 mesi di remissione completa e attualmente in terapia di seconda linea), 5 pz sono recidivati a distanza di una mediana di 11 mesi dal trapianto (range 1,7- 25,2) e deceduti per recidiva di malattia (DOD).

Lo studio statistico è stato eseguito utilizzando il software Statistica 99' Edition, Kernel release 5.5, Copyright ©1984-1999, StatSoft.Inc.

L'analisi di sopravvivenza è stata eseguita utilizzando il metodo di Kaplan-Meier con data limite 15 maggio 2007 e la significatività statistica della differenza tra le curve è stata analizzata mediante Test Log-Rank (significativa se $p < 0.05$).

Dall'osservazione della figura 1, dove sono rappresentate la sopravvivenza globale (Overall Survival) e la sopravvivenza libera da progressione (Progression-

free Survival) dell'intera popolazione in studio, emerge come la OS a 5 anni dalla diagnosi sia del 70% e la PFS è di circa il 62%.

In particolare, analizzando singolarmente la OS (Figura 2) e distinguendola tra pazienti metastatici e pazienti con malattia localizzata, non solo è evidente una differenza statisticamente significativa tra le curve e, quindi, una prognosi nettamente peggiore per i metastatici rispetto ai localizzati ad alto rischio (dati già ampiamente riscontrabili in letteratura), ma è possibile affermare che l'andamento della OS nel tempo è influenzato maggiormente dall'outcome dei metastatici (soprattutto nei primi 36 mesi dopo il trapianto) e meno dall'andamento dei localizzati.

Questo trend è rispettato, ma probabilmente in maniera meno evidente, anche per quanto riguarda la PFS (Figura 3): se la si studia singolarmente e la si distingue per le due popolazioni (localizzati vs metastatici), si nota come l'andamento nel tempo è più influenzato dall'outcome dei metastatici rispetto a quanto non lo sia da quello dei localizzati: la curva dei metastatici "scende" più ripidamente e con un delta maggiore di quella dei localizzati.

Tutto questo suggerisce che, nell'ambito dei pazienti affetti da sarcoma di Ewing ad alto rischio, si potrebbe individuare un ulteriore sottogruppo di pazienti con malattia metastatica a rischio ancora maggiore, per i quali potrebbe essere utile un'ulteriore intensificazione terapeutica, ma questo richiede una maggiore numerosità del campione.

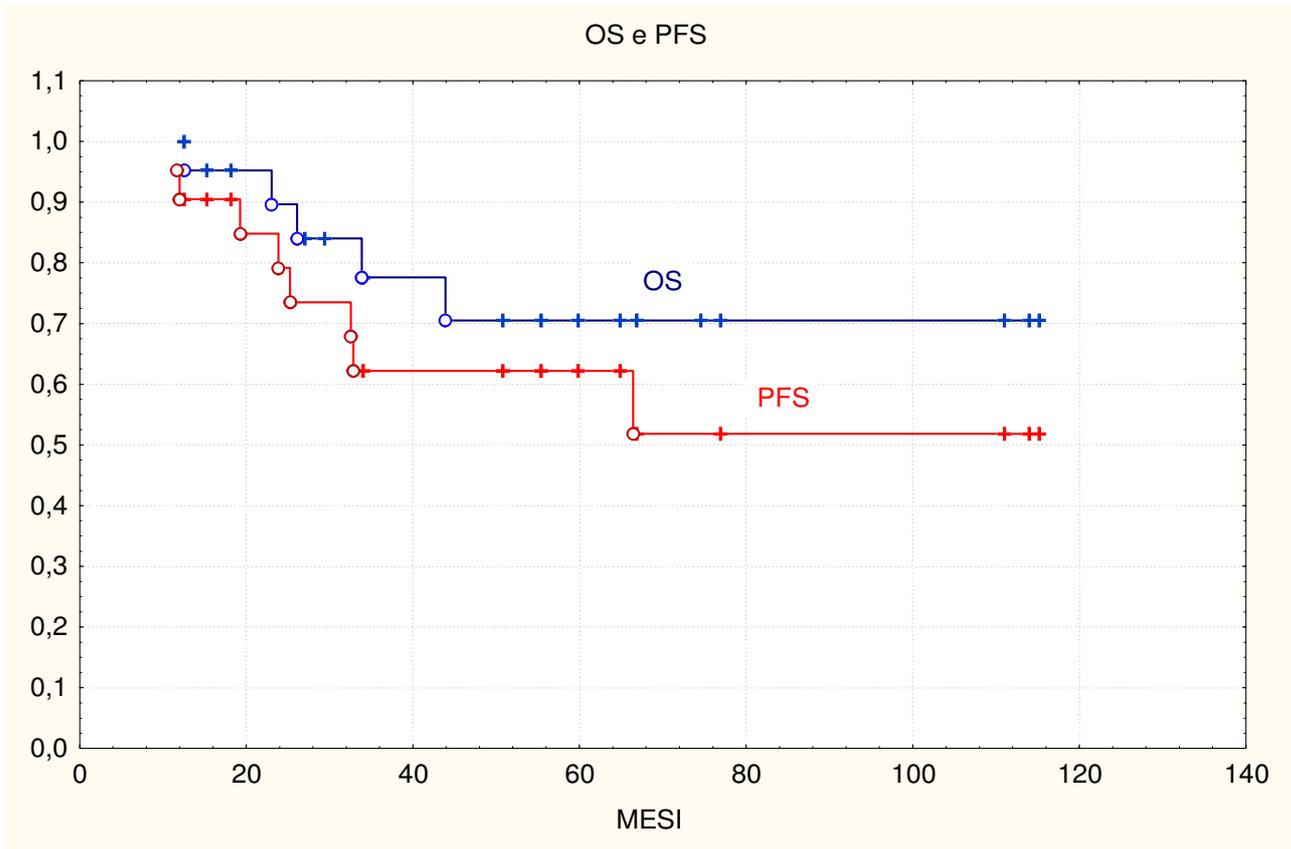


Figura 1: sopravvivenza globale (OS) e sopravvivenza libera da progressione (PFS) nella popolazione di pazienti in studio

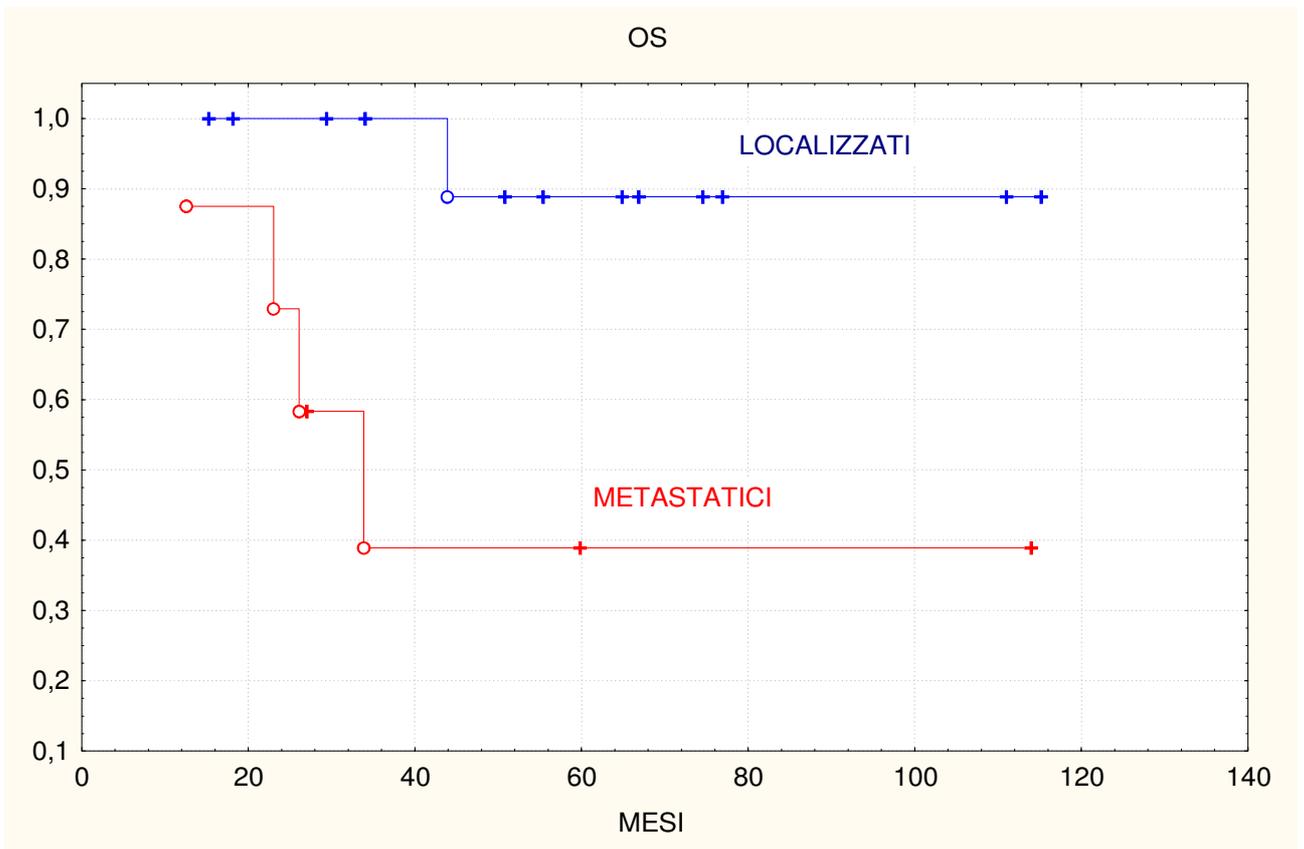


Figura 2: Sopravvivenza globale (OS) distinta per i pazienti con malattia localizzata ad alto rischio ed i pazienti con malattia metastatica ($p < 0.05$)

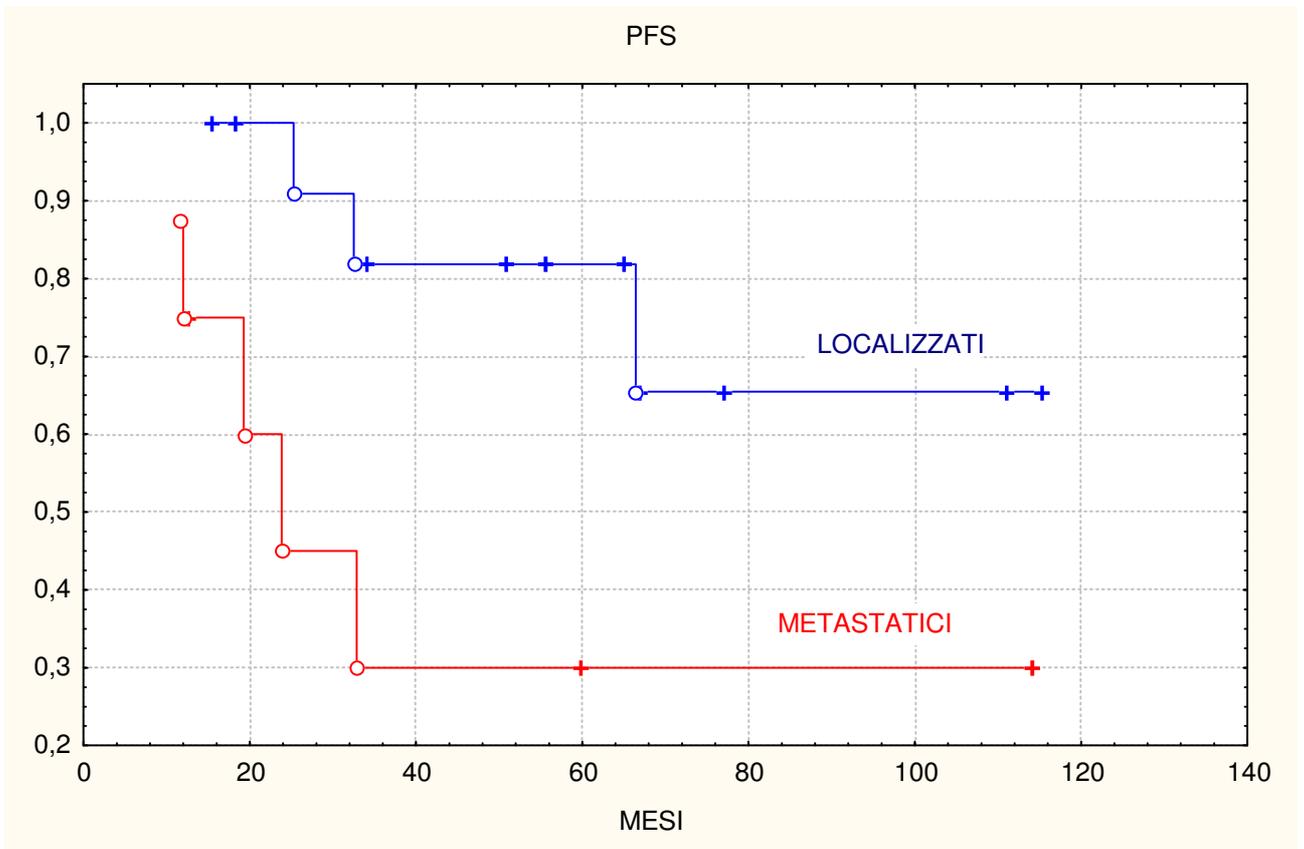


Figura 3: Sopravvivenza libera da progressione distinta per i pazienti con malattia localizzata ad alto rischio ed i pazienti con malattia metastatica ($p < 0.05$)

DISCUSSIONE

I risultati di molti studi su ESFT ad alto rischio e chemioterapia ad alte dosi con reinfusione di cellule staminali emopoietiche non hanno dimostrato un reale beneficio in questi pazienti specialmente in coloro con presenza di metastasi osteomidollari alla diagnosi.

Nel nostro gruppo di pz con diagnosi di SE/PNET ad alto rischio abbiamo voluto analizzare la tollerabilità e la risposta ad un regime di condizionamento ad alte dosi con ETC seguito da reinfusione di cellule staminali emopoietiche autologhe come terapia di consolidamento dopo induzione intensiva con ICE-CAV in pazienti che raggiungevano una remissione completa o una risposta maggiore.

Da un riesame della letteratura è risultato che la combinazione ETC ad alte dosi seguita da trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche non è mai stata utilizzata in pz con ESFT ad alto rischio mentre il thiotepa utilizzato da solo o in associazione con altri agenti alchilanti sembrava fornire buoni risultati. Abbiamo preferito non utilizzare chemioterapici con elevata tossicità extramidollare, dal

momento che si tratta di pazienti già intensamente chemiotrattati, per evitare importanti tossicità di organo.

Per quanto riguarda la tossicità del regime proposto, possiamo sicuramente affermare che si tratta di un regime tollerabile: la principale tossicità osservata è stata ematologica, con mediane di tempi di recupero della conta neutrofila di 10 giorni e della conta piastrinica di 18 giorni. L'altra tossicità più frequentemente osservata è stata a carico delle mucose: mucosite orale infatti è stata osservata nell'86% dei pazienti, la maggiorparte dei quali (89%) ha richiesto terapia antidolorifica con oppioidi o analoghi in infusione endovenosa continua. Tossicità intestinale ed epatica sono state osservate nel 19% dei pazienti.

A differenza di quanto riportato in letteratura dai maggiori gruppi americani ed europei, non abbiamo osservato né morti tossiche, né graft-failures.

Dopo l'induzione con ICE-CAV il 70.5% di pazienti erano in remissione di malattia, l'obiettivo della chemioterapia ad alte dosi era consolidare la risposta e mantenere lo stato di remissione. Dopo le alte dosi veniva valutata caso per caso l'opportunità di una radioterapia per il controllo locale di malattia secondo la sede della neoplasia, l'età del paziente e il risultato della chirurgia.

Nel gruppo di pazienti (11) in remissione completa di malattia al momento delle alte dosi di chemioterapia, il **27%** sono recidivati, ad una mediana di 21 mesi dal trapianto (range 11-59); invece, nei pazienti in RP (6) al momento del trapianto,

una progressione di malattia si è verificata nel **50%** dei casi, ad una mediana di 9,6 mesi dal trapianto stesso.

Quindi, lo stato di malattia al termine dell'induzione, cioè prima del trapianto, sembrerebbe determinante sull'outcome di questi pazienti e maggiori sforzi terapeutici, probabilmente rivolti al controllo locale di malattia mediante chirurgia e radioterapia, sono necessari al fine di ottenere un maggior numero di remissioni complete al momento delle alte dosi. Tuttavia, la significatività statistica di tali dati deve essere confermata su un numero maggiore di pazienti.

Dalla nostra osservazione, infine, emerge che:

- nei 7 pz metastatici non sembrano esistere delle differenze in termini di sopravvivenza in relazione alla sede delle metastasi. Infatti dei 4 pz con metastasi solo polmonari 2 sono recidivati a distanza di 4 e 11 mesi dal trapianto, 2 sono vivi in RC a 13 e 99 mesi dal trapianto; gli altri 3 pazienti: 1 con metastasi a livello di osso, midollo osseo e polmone, è deceduto dopo 4.8 mesi dal trapianto (la progressione è stata dopo 1.7 mesi), 1 pz con metastasi midollari è recidivato dopo 25 mesi dal trapianto e l'altro con localizzazione ossea e midollare è vivo con malattia stabile alla scintigrafia scheletrica a 55 mesi dalla diagnosi e 46 mesi dal trapianto.
- nei pazienti con tumore localizzato ad alto rischio sembra invece che la sede pelvica rappresenti una localizzazione maggiormente sfavorevole nonostante la risposta maggiore all'induzione e il trattamento locale (chirurgia o radioterapia)

infatti i 2 pz con ES/pPNET pelvico in remissione completa dopo le alte dosi, trattati con radioterapia sulla sede della lesione primitiva alla dose di 4500 cGy sono entrambi recidivati a 17.3 e 59.6 mesi dal trapianto, uno è deceduto per progressione di malattia e l'altro è in trattamento di seconda linea.

Complessivamente i risultati del nostro studio sul condizionamento con il regime ETC ad alte dosi sono molto promettenti in termini di tollerabilità, considerata la tossicità esclusivamente ematologica e a livello delle mucose; per quanto riguarda i dati sulla sopravvivenza globale: il 70.5% dei pazienti arruolati è vivo, il 60% in remissione completa di malattia ad un follow up mediano di 46.2 mesi (range 12-108). La percentuale di overall survival, pari a 67% a 5 anni, si mantiene a livelli superiori rispetto a quanto riportato in letteratura, ma è un dato che deve essere sicuramente confermato su una popolazione più ampia.

CONCLUSIONI

I dati al termine dell'induzione sono molto incoraggianti, il regime di condizionamento ad alte dosi con ETC si è rivelato nei nostri pazienti sufficientemente sicuro, in termini di tossicità, ed efficace per il tipo di risposte ottenute. Si tratta inoltre di un protocollo non utilizzato in letteratura che si avvale di un alchilante come il thiotepa in grado di penetrare la barriera ematoencefalica e con una tossicità non ematologica molto contenuta, rimane da migliorare la prognosi di questi pazienti in termini di durata della remissione e di insorgenza di recidive specialmente tardive. Per questo sarebbe necessaria una collaborazione multicentrica nell'ambito di un protocollo randomizzato, al fine di valutare il definitivo vantaggio dell'associazione etoposide, thiotepa e ciclofosfamida ad alte dosi come trattamento di consolidamento in pazienti affetti da ESFT ad alto rischio, dopo una prima remissione.

BIBLIOGRAFIA

1. Pizzo A, Poplack DG, **Principles and Practice of Pediatric Oncology** 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 2003.
2. Cotteril SJ, Arhens S, Paulussen M, et al **Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: Analisis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group.** J Clin Oncol 2000; 18:3108-3114
3. Delattre O, Zucman J, Melot T et al. **The Ewing Family of tumors: a subgroup of small-round-cell tumors defined by specific chimeric transcripts.** N Engl J Med 1994; 331: 294-299
4. Dominici C; Deb G, Angioni A, Landolfo A, Parisi F, Helson L, Donfrancesco A. **Peripheral Blood Stem Cells in Children with Solid Tumors. Part II. Immunocitologic Detection of Tumors Cells in Bone Marrow and Peripheral Blood Stem Cell Harvest.** Anticancer Res, 1993 13: 2573-2576
5. Brochstein JA, Pecora AL, Van Vliet A **HD etoposide, thiotepa and ciclophosphamide with autologous marrow support for pediatric patients with high risk solid tumors.** Blood 1993;82: 628 (Abstr. 2495)
6. O'Dwyer PJ, LaCreta F, Engstrom PF et al **Phase I: pharmacokinetics reevaluation of thioTEPA.** Cancer Res 1991; 51: 3171-3176
7. Rodriguez Galindo C, Spunt SL, Pappo AS. **Treatment of Ewing sarcoma family of tumors: current status and outlook for the future.** Med Pediatr Oncol 2003; 40: 276-287
8. Skipper HE. **Dose intensity versus total dose of chemotherapy: an experimental basis.** Important Adv Oncol 1990: 43-64
9. Kushner BH, Mayers PA. **How effective is dose-intensive/myeloablative Therapy against Ewing's Sarcoma/primitive neuroectodermal tumor metastatic to bone or bone marrow? The Memorial Sloan-Kettering experience and a literature review.** J Clin Oncol 19 (3): 870-880, 2001.

10. Ladestein R, Lasset C, Pinkerton R et al. **Impact of megatherapy in children with high risk Ewing's tumor in complete remission : a report from the EBMT solid tumor registry.** Bone Marrow Trasplant 1995; 15 697-705
11. Ladestein R, Hartmann O, Pinkerton R et al. **A multivariate and matched pair analysis of high risk Ewing tumor (ET) patients treated by megatherapy (MGT) and stem cell reinfusion (SCR) in Europe.** Proc Annual Meet Am Soc Clin Oncol 1999; 18: 555 (abstract)
12. Davies SM, DeFor TE, Weigel BJ et al **High-dose Busulfan based chemotherapy with autologous stem cell transplantation (ASCT) for high risk Ewing's sarcoma family of tumors.** Proc Annual Meet Am Soc Clin Oncol 2001; 20: 364 (abstract)
13. Oberlin O, Rey A, Desfachelles AS et al. **Impact of high dose Busulfan plus Melphalan as consolidation in metastatic Ewing tumors: a study by the Societè Francaise des cancers de l'enfant .** J Clin Oncol 24: 3997-4002, 2006
14. Milano GM, Cozza R, Ilari I et al **High histologic and overall response to dose intensification of Ifosfamide, Carboplatin and Etoposide with Cyclophosphamide, Doxorubicin and Vincristine in patients with high-risk Ewing sarcoma family tumors.** Cancer April 15, 2006 vol 106 n 8: 1838- 1845
15. Paulussen M, Ahrens S, Burdach S et al **Primary metastatic (stage IV) Ewing tumor: survival analysis of 171 patients from EICESS studies.** Ann Oncol 1998; 9: 275-281
16. Ahrens S, Hoffman C, Jabar S et al. **Evaluation of prognostic factors in a tumor volume-adapted treatment strategy for localized Ewing sarcoma of the bone: the CESS 86 experience** Med Ped Oncol 1999; 32: 186-195
17. Evans R, Nesbit M, Askin F et al. **Local recurrence rate and site of metastases and time to relapse as a function of treatment regimen, size of primary and surgical history in 62 patients presenting with non-metastatic Ewing's sarcoma of the pelvic bone.** Int J Radiat Oncol Biol Phys 1985; 11: 129-136

18. Picci P, Bohling T, Bacci G et al. **Chemotherapy induced tumor necrosis as a prognostic factor in localized Ewing's sarcoma of the extremities.** J Clin Oncol 1997; 15: 1553-1559
19. West DC, Grier HE, Swallow MM et al. **Detection of circulating tumor cells in patients with Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumor.** J Clin Oncol 1997; 15: 583-588
20. Zoubek A, Ladenstein R, Windhager R et al. **Predictive potential of testing for bone marrow involvement in Ewing tumor patients by RT-PCR : A preliminary evaluation** Int J Cancer 1998; 79: 56-60
21. Fagnou C, Michon J, Peter M et al. **Presence of tumor cells in bone marrow but not in blood is associated with adverse prognosis in patients with Ewing's tumor** J Clin Oncol 1998; 16: 1707-1711
22. Saarinen UM, Hovi L, Makiperna A et al. **High-dose thiotepa with autologous bone marrow rescue in pediatric solid tumors** Bone Marrow Transplant 1994; 8: 369-376
23. Weaver CH, Bensinger WI, Appelbaum FR, et al. **Phase I study of high dose busulfan, melphalan and thiotepa with autologous stem cell support in patients with refractory malignancies.** Bone marrow Transplant 1994; 14: 813-819
24. Schiffman KS, Bensinger WI, Appelbaum FR, et al. **Phase II study of high dose busulfan, melphalan and thiotepa with autologous peripheral blood stem cell support in patients with malignant disease.** Bone Marrow Transplant 1996; 17: 943-950
25. Steward DA, Gyonyor E, Paterson AHG, et al. **High melphalan ± total body irradiation and autologous hematopoietic and autologous hematopoietic stem cell rescue for adult patients with Ewing's sarcoma or peripheral neuroectodermal tumor.** Bone Marrow Transpl 1996; 18:315-318
26. Burdach S, van Kaick B, Laws HJ, et al. **Allogenic and autologous stem cell transplantation in advanced Ewing tumors. An update after long term follow up from two centers of the European Intergroup Study EICESS.** Ann Oncol 2000; 11: 1451-1462

27. Ladenstein R, Peters C, Zoubek A, et al. **The role of megatherapy (MGT) followed by stem cell rescue (SRC) in high risk Ewing tumors (ET). 11 years single center experience.** Med Pediatr Oncol 1996; 27: 237 (abstract).
28. Meyers PA, Krailo MD, Ladanyi M, et al. **High dose melphalan, etoposide, total body irradiation and autologous stem cell reconstitution as consolidation therapy for high risk Ewing's sarcoma does not improve prognosis.** J Clin Oncol 2001; 19: 2812-2820.