



UMBERTO I
POLICLINICO DI ROMA

Policlinico "Umberto I"

Centro di Riferimento Regionale per la Diagnosi e Terapia delle Istiocitosi Croniche

Medico responsabile: Dott.ssa Fiorina Giona - tel. 06/85795735 - giona@bce.uniroma1.it

Via Benevento, 6 - Roma (Ematologia, piano 1)



Ospedale Pediatrico Bambino Gesù

Centro di Riferimento Regionale per la Diagnosi e Terapia delle Istiocitosi Croniche

Medico responsabile: Dott.ssa May El Hachem - tel. 06/68592509 - maychebl.elhachem@opbg.net

Piazza S. Onofrio, 4 - Roma (Padiglione Pio XII, piano 3)

ISTIOCITOSI CRONICHE PERCORSO DIAGNOSTICO TERAPEUTICO ASSISTENZIALE

(elaborato nel mese di maggio 2013)

1. Inquadramento della malattia	2
1.1 Definizione ed epidemiologia	2
1.2 Eziopatogenesi	2
2. Diagnosi	4
2.1 Quadro clinico	4
2.2 Decorso clinico e prognosi	6
2.3 Criteri diagnostici.....	7
2.4 Classificazione clinica	10
3. Terapia	10
3.1 Opzioni terapeutiche	10
3.2 Valutazione della risposta al trattamento	11
3.3 Linee guida per il trattamento dell'ICL del bambino	12
3.4 Linee guida terapeutiche per il trattamento dell'ICL nell'adulto	12
4. Implementazione del PDTA	13
5. Aspetti assistenziali	14
Allegati	15
Bibliografia	21

1. Inquadramento della malattia

1.1 Definizione ed epidemiologia

Le istiocitosi sono un gruppo di patologie acquisite rare, caratterizzate dall'accumulo, in diversi organi, di cellule dendritiche con caratteristiche simili a quelle delle cellule di Langerhans (CL) normalmente presenti nell'epidermide.

La scarsa conoscenza dell'eziopatogenesi giustificò la definizione di "Istiocitosi X", utilizzato per la prima volta da Lichtenstein nel 1953 per definire tre diversi disordini, conosciuti come *granuloma eosinofilo*, *malattia di Hand-Schüller-Christian* e *malattia di Letterer-Siwe*, caratterizzati tutti dalla presenza di aggregati simil neoplastici di istiociti con infiltrazione di granulociti eosinofili. Nel 1973, Nezelof dimostrò che i granulomi erano il risultato della proliferazione e diffusione di istiociti patologici, simili alle cellule di Langerhans, la cui presenza era indispensabile per la diagnosi. Nel 1987, l'Histiocyte Society (HS) sostituì il termine Istiocitosi X con il termine *'Istiocitosi a Cellule di Langerhans'* (ICL) per definire questi disordini.

In questo documento, quindi, viene utilizzato il termine di *'Istiocitosi a Cellule di Langerhans'* (ICL) in sostituzione della vecchia definizione di "Istiocitosi X".

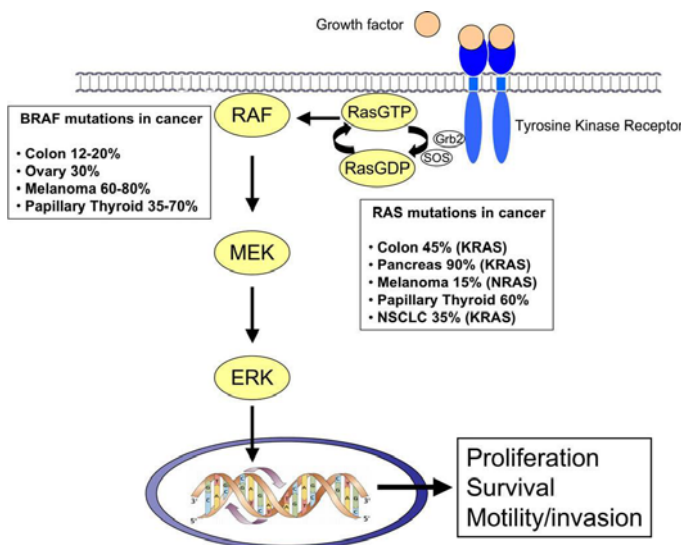
L'esordio della malattia può avvenire a qualsiasi età, dalla nascita fino oltre i 75 anni. L'incidenza stimata è di 5,4 casi per milione per anno, ma potrebbe essere più alta in virtù dell'esistenza di forme cliniche paucisintomatiche e della scarsità dei dati nella popolazione adulta. In Italia sono riportati 4-5 nuovi casi/anno/1.000.000 in soggetti di età <15 anni, con un picco di incidenza tra 1 e 3 anni (un'incidenza simile è riportata in altri paesi dell'Europa occidentale). La distribuzione per sesso è variabile nelle diverse casistiche; in età pediatrica i maschi risultano colpiti in proporzione più che doppia rispetto alle femmine, ma con l'aumentare dell'età la predominanza del sesso maschile si riduce fin quasi ad invertirsi. La distribuzione dell'ICL è ubiquitaria anche se le diverse presentazioni di malattia potrebbero variare nei differenti gruppi etnici. Quantunque siano stati riportati casi di malattia in gemelli e tra fratelli, non è stata dimostrata ad oggi alcuna componente genetica. Non sono stati identificati fattori di rischio particolari, ad eccezione del fumo nelle forme polmonari di ICL dei giovani adulti.

1.2 Eziopatogenesi

L'ICL è un disordine proliferativo reattivo caratterizzato dall'accumulo di istiociti atipici, accanto a istiociti normali, linfociti ed eosinofili, che formano gli infiltrati caratteristici della malattia, i granulomi. L'eziopatogenesi rimane sconosciuta, anche se sono state formulate diverse ipotesi, da un'alterazione del sistema immunitario, ad infezioni virali, a modificazioni specifiche dei linfociti. I primi dati sull'origine degli istiociti anomali sono emersi nel 1982 con l'evidenza, attraverso la microscopia elettronica, di granuli di Birbeck negli istiociti dell'ICL. I granuli di Birbeck sono organelli citoplasmatici funzionalmente importanti per la presentazione dell'antigene, presenti, sembra, solo nella cellula di Langerhans; la loro presenza anche nelle CL proliferanti dell'ICL suggerisce una origine comune. Le diverse forme cliniche di ICL sono caratterizzate tutte dalla proliferazione di CL, come dimostrato dalla presenza, su queste cellule, di altri marcatori di superficie, specifici. Gli istiociti dell'ICL esprimono il CD207, noto anche come langerina, che è una lectina tipo C, che agisce internalizzando l'antigene in collegamento con i granuli di Birbeck. Un indicatore più specifico per gli istiociti sia normali che patologici dell'ICL è il CD1a, il cui riscontro è diagnostico per Istiocitosi. Le CL sono cellule di derivazione emopoietica con la funzione di presentare l'antigene e appartengono, quindi, alla categoria delle cellule dendritiche; tuttavia, i meccanismi omeostatici (fattori di crescita e trascrizionali) che regolano numero e distribuzione delle CL sono diversi da quelli delle cellule dendritiche classiche. Recenti studi sull'espressione genica nell'ICL sostengono l'ipotesi che la malattia può derivare da precursori mieloidi piuttosto che da CL mature. I primi tentativi di comprendere la patogenesi dell'ICL sono stati concentrati sul ruolo nella risposta immunitaria e infiammatoria del suo presunto precursore cellulare. La funzione principale delle CL è quella di utilizzare i processi dendritici presenti nello strato basale dell'epidermide per rilevare antigeni estranei grazie anche alla presenza di diverse citochine, alcune delle quali (per esempio, il TNF- α) secrete dai cheratinociti epidermici. La CL attivata raccoglie ed elabora l'antigene, migra nei linfonodi regionali dove dà inizio ad una risposta immunitaria adattativa, presentando ai linfociti T l'antigene trasformato. Il processo di migrazione delle CL sembra essere controllato, almeno in parte, dall'espressione sequenziale di recettori per le chemochine presenti sulla loro superficie. Una caratteristica di alcune forme di ICL, come la malattia di Letterer-Siwe, è la contemporanea presenza di CL patologiche in più organi e tessuti, compresi la cute e i linfonodi. Questa osservazione ha portato a formulare l'ipotesi che l'infiltrazione tissutale nella ICL potrebbe essere dovuta ad una disregolata espressione dei recettori per le chemochine. Su questi presupposti, diverse aziende farmaceutiche e biotecnologiche stanno sviluppando farmaci antagonisti dei recettori per le chemochine. Il fatto che l'ICL possa essere una malattia dovuta ad un difetto molecolare solleva il problema sulla sua natura: è una neoplasia o una malattia infiammatoria? A sostegno della natura infiammatoria è il fatto che la presunta cellule di origine, la CL, è una cellula

immunitaria che risponde agli stimoli infiammatori con un' attivazione e una proliferazione. L'aumentata produzione di diverse citochine, quali l'IFN- γ , il TNF- α , l'IL-6, il GM-CSF da parte delle CL e dei linfociti associati potrebbe spiegare alcune manifestazioni cliniche della malattia. Ad esempio, l'incremento del TNF- α nei tessuti lesionali potrebbe essere responsabile della febbre, dei fenomeni osteolitici, delle alterazioni ematologiche e di quelle epatiche. La morfologia benigna, il cariotipo normale e, fino a poco tempo fa, l'assenza di anomalie genetiche ricorrenti nelle CL patologiche dell'istiocitosi supportano l'ipotesi di una malattia reattiva. Anche i casi ben documentati di remissione spontanea depongono a favore del carattere benigno dell'ICL. Ad oggi, tuttavia, non ci sono studi epidemiologici che supportino l'ipotesi che alla base della malattia vi siano stimoli ambientali o infettivi, né sono stati identificati genomi virali nelle lesioni dell'ICL. Nonostante le caratteristiche infiammatorie del cosiddetto granuloma, la morfologia generalmente benigna delle cellule proliferanti, e l'occasionale remissione spontanea, l'ICL può avere un andamento simile a quello di una neoplasia aggressiva. Tra i dati più convincenti a sostegno della patogenesi neoplastica è il fatto che le CL patologiche nelle forme non-polmonari di ICL sono clonali. Tuttavia, anche se la clonalità è caratteristica di una neoplasia, la sua presenza senza anomalie genetiche ricorrenti non sarebbe sufficiente a considerare l'ICL una neoplasia. Gli sforzi rivolti alla ricerca di queste anomalie sono stati improduttivi per anni, per la rarità della malattia. Fortunatamente, i recenti progressi nelle tecnologie genomiche hanno permesso l'analisi di campioni di tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina. Di recente, sono state identificate una mutazione attivante, BRAF V600E (confermata con altre metodiche), e altre mutazioni puntiformi più rare nel 57% di casi di campioni di ICL archiviati. La mutazione di BRAF V600E è specifica delle CL dell'ICL come dimostrato, in diversi studi, dalla sua assenza in CL proliferanti normali ed in altri tipi di istiocitosi, quali la malattia di Rosai-Dorfman e lo xantogranuloma giovanile. Le funzioni di BRAF si esplicano con l'iniziale attivazione di un recettore delle tirosin-chinasi e procede con la fosforilazione di diverse chinasi RAF, RAS, MEK ed ERK (Figura 1) con il risultato di una modulazione dell'espressione genica. La variabilità nel comportamento clinico e nelle caratteristiche patologiche dell'ICL potrebbe essere spiegato, in parte, dalla presenza della mutazione BRAF V600E, la cui comparsa in una CL potrebbe fornirle un vantaggio proliferativo e favorire, quindi, lo sviluppo di una lesione clonale. Finora non è emersa alcuna correlazione tra la presenza di BRAF V600E e le caratteristiche cliniche della malattia, ovvero la prevalenza della mutazione nella forma multi-sistemica rispetto a quella uni-sistemica e le sedi anatomiche coinvolte. È emerso, invece, che la presenza di BRAF V600E sembra correlare con l'età (76% in bambini <10 anni di età vs 44% in pazienti di età >10 anni di età, compresi gli adulti). Pur essendo la mutazione di BRAF presente in una parte dei casi di ICL studiati, la fosforilazione di MEK e ERK è stata rilevata nel 100% dei campioni esaminati, indipendentemente dallo stato mutazionale di BRAF. Per questo, è stato ipotizzato che il meccanismo di attivazione di un recettore tirosin-chinasico sia dovuto ad una iperespressione del recettore stesso o del suo ligando. L'ICL, quindi, potrebbe essere considerata come un disordine proliferativo incontrollato che origina da una mutazione somatica di un gene regolatore della proliferazione cellulare, non ancora identificato, con attivazione di citochine infiammatorie di accompagnamento.

Figura1. Rappresentazione lineare semplificata dell'attivazione RAF-MEK-ERK nelle neoplasie umane (Montagut &Settleman, 2009, *mod*)



2. Diagnosi

2.1 Quadro clinico

L'ICL è una patologia sistemica, ma il quadro clinico e sintomatologico dipende dal tipo di tessuto coinvolto e dal grado di implicazione funzionale di questo interessamento nonché dall'estensione della malattia.

La malattia può essere localizzata (per lo più a livello osseo cutaneo), oppure diffusa con interessamento di più organi e/o apparati (osso, ipofisari, sistema emopoietico, fegato, milza, linfonodi, occhio, intestino, cuore e sistema nervoso) con una prognosi più severa. In alcuni casi, la diagnosi può essere occasionale. Nelle forme disseminate sono frequenti sintomi generali quali febbre, astenia e ridotto accrescimento staturale-ponderale. In una minoranza di casi la malattia esplose, gravissima, già nei primi mesi di vita con un quadro simil-leucemico: lesioni cutanee diffuse papulo-pustolose, purpuriche e/o necrotiche, febbre, epato-splenomegalia, adenomegalia, citopenia. Questa forma, in passato definita Malattia di Letterer-Siwe, è gravata da una mortalità del 20%, anche con i più moderni trattamenti.

L'andamento della malattia è in genere benigno, ma nei bambini, soprattutto in quelli di età <2 anni, può essere più aggressivo rispetto a quanto si verifica nell'adulto.

Coinvolgimento osseo

L'interessamento osseo è presente nell'80-90% circa dei pazienti con ICL e le manifestazioni cliniche dipendono dalla sede colpita. La presentazione più frequente, soprattutto nelle forme localizzate, è una tumefazione accompagnata da dolore. Cranio, ossa lunghe, bacino, ossa piatte e vertebre sono i segmenti ossei più spesso interessati, mentre sono eccezionalmente colpite le ossa delle mani e dei piedi. In alcuni casi, le lesioni possono essere caratteristiche, come nel caso di quelle che determinano compressione e collasso dei corpi vertebrali, che assumono, all'esame radiografico della colonna, il caratteristico aspetto di "*vertebra plana*", tipico dell'ICL. In altri casi la diagnosi clinica è più complessa come nel caso dell'interessamento della mastoide i cui sintomi (otiti ricorrenti, colesteatoma e persino la perdita dell'udito) non sono specifici; nei bambini, la compromissione della mastoide si manifesta con otiti ricorrenti, che portano ad un ritardo diagnostico nelle forme isolate.

Coinvolgimento del cavo orale

L'incidenza delle localizzazioni a carico del cavo orale, più frequenti negli adulti, varia dal 10 al 35%, nelle diverse casistiche. Le lesioni istiocitotiche possono interessare l'osso mandibolare e, meno frequentemente, il mascellare e/o la mucosa orale e/o i denti. Il coinvolgimento osseo è rappresentato da una lesione osteolitica unica con o senza compromissione dell'osso alveolare. Il coinvolgimento dell'alveolo dentale può determinare un'ipermobilità del/i dente/i. Si possono osservare anche un'ipertrofia e/o un'ulcerazione localizzata della mucosa gengivale come manifestazione isolata o associata a lesioni dell'alveolo e/o dell'osso. La diagnosi differenziale deve essere fatta con un processo parodontopatico con perdita dei denti.

Coinvolgimento cutaneo

La cute è sede di malattia in circa un terzo di pazienti con diagnosi di ICL. Come localizzazione isolata è più comune nei bambini al di sotto dell'anno di vita, mentre le forme multiorgano si riscontrano con uguale frequenza nei bambini e negli adulti. Le sedi maggiormente colpite sono le pieghe, il capo, il tronco. Le lesioni possono assumere gli aspetti più diversi: usualmente si presentano come delle papule purpuriche di colorito variabile dal bruno al rosso, vescicole, pustole, ulcere e/o croste. In alcuni casi le lesioni cutanee si manifestano con un aspetto *seborrea-like* ossia placche eritematose ricoperte da squame sottili localizzate al cuoio capelluto, dietro le orecchie, nelle pieghe inguinali o ascellari o nell'area perineale; in queste ultime sedi si possono presentare con delle fessurazioni purpuriche. In rari casi, si osservano lesioni vegetanti in particolare a livello perineale che si confondono con i condilomi. Nel 10% dei casi la malattia cutanea è isolata e può andare incontro, soprattutto nei bambini, a regressione spontanea nel corso di settimane o mesi.

Compromissione polmonare

Il polmone è, caratteristicamente, un organo bersaglio della ICL nel paziente adulto e fumatore, mentre è interessato solo nel 20% dei bambini con malattia disseminata. Le lesioni, inizialmente nodulari, evolvono verso la cavitazione fino alla formazione di bolle enfisematose che compromettono la normale funzionalità respiratoria anche a riposo. Il quadro radiologico può mettere in evidenza un'infiltrazione interstiziale, di tipo reticolare o micronodulare o numerose cisti che configurano un quadro polmonare di tipo "*honeycombing*". Negli stadi più avanzati si evidenziano ampie bolle con un quadro enfisematoso, che si accompagna a fibrosi. Le bolle enfisematose possono rompersi e provocare uno pneumotorace, evenienza che si verifica soprattutto in giovani adulti di sesso maschile. Le lesioni più gravi si riscontrano tipicamente nei campi polmonari superiori e nelle zone peri-ilari. La funzionalità respiratoria può essere, quindi,

variamente compromessa: da una riduzione degli scampi gassosi a livello alveolare, clinicamente asintomatica, fino ad un'alterazione di tipo restrittivo di entità variabile fino all'insufficienza respiratoria.

Coinvolgimento linfonodale

Il coinvolgimento linfonodale può essere isolato (unico sistema compromesso), generalmente laterocervicale oppure può accompagnarsi a lesioni ossee e/o cutanee; raramente, può far parte di una malattia disseminata, soprattutto nei bambini.

Compromissione del midollo osseo

Il coinvolgimento del sistema emopoietico è raro nell'adulto, con una frequenza pari a quella del sistema nervoso centrale (SNC); nei bambini, invece, l'interessamento del midollo osseo fa parte di un quadro di malattia disseminata ed è quasi sempre associato ad un'epatomegalia. Il coinvolgimento midollare può manifestarsi con anemia, leucopenia, trombocitopenia e con sintomi associati, quali la febbre o le emorragie. L'entità della citopenia può non essere in relazione con il grado di infiltrazione midollare; in questo caso è spesso dovuto ad un ipersplenismo conseguente a compromissione splenica della malattia.

Compromissione del fegato e della milza

L'epatomegalia è molto comune nella istiocitosi disseminata, ma la disfunzione d'organo non sempre è presente. L'aumento di volume del fegato può essere dovuto diversi fattori, quali una localizzazione di malattia nel parenchima epatico oppure un'ipertrofia ed iperplasia delle cellule del Kupffer, e/o, più raramente, una compressione da parte dei linfonodi dell'ilo epatico. Si può riscontrare anche un'ostruzione dei dotti biliari con segni di colestasi anche severa. Nei casi avanzati, la colangite può esitare in fibrosi e cirrosi, la cui patogenesi non è chiara; in questo stadio, l'evoluzione epatica può essere indipendente dallo stato di attività della malattia sistemica. La splenomegalia è rara all'esordio ed è caratteristica delle forme disseminate, soprattutto in età pediatrica. Può contribuire alla citopenia periferica.

Compromissione del sistema nervoso

Talora la malattia può esordire con poliuria e polidipsia (assunzione di 6-8 litri di acqua al giorno) che rappresentano la manifestazione clinica del diabete insipido (DI), indice di compromissione ipofisaria. Il DI può essere l'unico sintomo di malattia, precedendo anche di molti anni la diagnosi di ICL, oppure può manifestarsi a distanza variabile dalla diagnosi. In questo caso, il rischio di sviluppare un DI è maggiore nei pazienti con coinvolgimento delle ossa del volto o della base cranica. Oltre al DI, lesioni dell'area ipotalamo-ipofisaria possono più raramente causare pan-ipopituitarismo e modificazioni del comportamento, soprattutto quando colpiscono i bambini molto piccoli. La presenza alla RM di ispessimento del peduncolo ipofisario sembra associata ad una fase di attività della malattia e quindi al rischio di sviluppare un deficit ipofisario multiplo, con deficit di ormone della crescita (GH) e talora anche di ormoni tiroidei e gonadotropine.

Se si esclude il coinvolgimento della regione ipotalamo-ipofisaria, una localizzazione di malattia sintomatica a carico del sistema nervoso, sia centrale che periferico (SNP) è raro in tutti i gruppi di età ed è rarissimo nel bambino. Può precedere la diagnosi ma può comparire anche durante il decorso della malattia, sia come lesione unica che associata a lesioni della teca cranica, delle orbite e della mastoide. I distretti cerebrali coinvolti sono: il ponte, gli emisferi cerebrali, i gangli della base, il chiasma e i nervi ottici; sporadicamente si osserva un coinvolgimento meningeo diffuso. I sintomi neurologici dipendono dalla sede e dalle dimensioni della lesione e comprendono: atassia, disartria, nistagmo, deficit dei nervi cranici, iper-riflessia, alterazioni delle funzioni intellettive e del comportamento, emi o paraparesi. Questi sintomi, comunque, possono essere dovuti anche all'estensione di lesioni presenti in un osso contiguo o nelle meningi. Le lesioni extra-assiali esercitano un effetto massa che può causare sintomi focali, ipertensione endocranica e idrocefalo.

In circa l'1% dei casi si può osservare la comparsa di sintomi quali atassia, incoordinazione, deficit dei nervi cranici non dovuti a localizzazione di malattia ma a lesioni degenerative progressive a carico dei nuclei dentati cerebellari, dei gangli della base e/o del ponte o della sostanza bianca cerebellare e/o cerebrale.

Altre localizzazioni

Anche se non molto frequente, una tumefazione intra o peri-orbitaria, senza coinvolgimento osseo, che determina esoftalmo e che può regredire spontaneamente è una manifestazione caratteristica dell'ICL.

Un coinvolgimento primitivo della tiroide, con o senza alterazione funzionale (ipotiroidismo) è molto raro e può interessare sia i bambini che gli adulti.

Localizzazioni più rare, segnalate soprattutto nell'ambito di una malattia disseminata, sono quelle a carico dell'apparato gastrointestinale con una sintomatologia caratterizzata da vomito, diarrea e un quadro di malassorbimento e quelle a carico dell'apparato genitale femminile, prevalentemente nella popolazione adulta.

2.2 Decorso clinico e prognosi

Il decorso della malattia è variabile e, in parte, imprevedibile. I dati disponibili sull'andamento clinico e sulla risposta alla terapia derivano prevalentemente da casistiche pediatriche. Le forme localizzate (cute, osso) hanno una buona prognosi e possono regredire anche spontaneamente o con terapie locali. Le forme diffuse richiedono, invece, la chemioterapia che non sempre risulta efficace, soprattutto nella malattia multi-sistemica con disfunzione d'organo, frequenti nei bambini di età <2 anni.

Risposta alla terapia

I primi farmaci citotossici che hanno dimostrato efficacia nel trattamento dell'ICL, in monochemioterapia o in associazione, sono stati: il clorambucil, la vincristina (VCR), la ciclofosfamide (TX), il methotrexate (MTX), la 6-mercaptopurina (6-MP), la vinblastina (VBL). Solo a partire dagli anni '80, grazie allo sviluppo di studi clinici cooperativi prospettici, è stato possibile avere indicazioni che hanno contribuito al miglioramento della strategia terapeutica, con progressivo miglioramento nella prognosi nei pazienti con ICL. Dallo studio clinico prospettico multicentrico italiano, AIEOP-CNR H.X '83, sono emersi due importanti indicazioni: a) l'efficacia della combinazione VBL e prednisone (PDN) nei bambini con malattia diffusa senza disfunzione d'organo; b) l'inefficacia di una polichemioterapia anche intensiva (VCR, adriamicina (ADR), CTX e PDN) in quelli con disfunzione d'organo. Contemporaneamente, da 2 studi cooperativi europei (DAL HX-83 e DAL HX-90), in cui erano previste, nelle forme disseminate, una polichemioterapia iniziale con PDN, VBL ed etoposide (VP-16) e, nei rispondenti, una terapia di mantenimento continuativa con 6-MP e reinduzioni con PDN e VBL + VP-16 + MTX a medie dosi in quelli con disfunzioni d'organo, sono emerse altre due utili indicazioni: l'identificazione della risposta alla terapia iniziale come fattore prognostico e l'utilità della terapia di mantenimento.

Su queste basi, a partire da 1991, vengono sviluppati studi collaborativi internazionali nell'ambito dell'HS, con l'obiettivo di migliorare l'andamento della malattia, riducendo sia l'incidenza della resistenza alla terapia e delle ricorrenze di malattia sia le sequele a lungo termine. Con il primo studio, LCH-I, è stata dimostrata un'efficacia sovrapponibile del VBL e del VP-16 nei bambini con forma multi-sistemica, per quanto riguarda sia la risposta al trattamento che la sopravvivenza, con una minore tossicità del VBL. Nello studio successivo, LCH-II, che prevedeva una strategia diversa in base alla presenza o assenza di alcuni fattori di rischio (epatomegalia, splenomegalia, compromissione midollare, età <2 anni), gli obiettivi principali erano chiarire il ruolo dell'aggiunta di un terzo farmaco, il VP-16, all'associazione VBL e PDN nelle forme "a rischio" e definire l'utilità della 6-MP nella terapia di mantenimento. Da questo studio è risultato che l'aggiunta del VP-16 come terzo farmaco non influiva né sulla risposta al trattamento né sulla sopravvivenza né sulla riduzione delle riattivazioni nei pazienti con un coinvolgimento degli organi a rischio (sistema emopoietico, fegato, milza, polmone) e/o con una scarsa risposta al trattamento iniziale, che continuavano ad avere una prognosi sfavorevole. Dall'analisi degli studi cooperativi DAL HX 83/90, LCH-I e II, è risultato che una maggiore durata del trattamento è più efficace nel ridurre l'incidenza di riattivazioni. Gli obiettivi del protocollo successivo, LCH-III, erano ridurre ulteriormente l'incidenza sia di riattivazioni che di tossicità nei bambini "a basso rischio" e migliorare la prognosi per quelli con compromissione d'organo "a rischio", con l'aggiunta di MTX a medie dosi, come terzo farmaco in associazione a VBL e PDN. Per i bambini "a basso rischio", una durata del trattamento di 12 mesi si è dimostrato più efficace nel ridurre l'incidenza di riattivazioni rispetto ad trattamento più breve (6 mesi). L'aggiunta di MTX a dosi medie non ha portato alcun benefico effetto né sulla risposta alla terapia né sulla prognosi dei pazienti "a rischio".

Purtroppo la prognosi dei bambini con malattia multistematica progressiva refrattari ai trattamenti di prima linea rimane infausta, soprattutto per quelli con disfunzione d'organo. Questi pazienti difficilmente rispondono alle terapie successive, compreso il trapianto allogenico di cellule staminali. Le forme multifocali ossee ricorrenti hanno un andamento cronico e invalidante e possono giovare della terapia con indometacina somministrata in maniera continuativa.

I dati pubblicati sull'ICL negli adulti sono frammentari ("case report" o casistiche limitate), dal momento che le manifestazioni d'esordio sono variabili e quindi interessano diversi specialisti. Tuttavia, dai dati disponibili è possibile identificare alcune caratteristiche nell'ICL dell'adulto che differiscono da quelle delle forme del bambino. In particolare, la malattia negli adulti ha una storia naturale meno aggressiva con la tendenza alla cronicizzazione; le remissioni spontanee sono rare; sono più frequenti la compromissione ossea (soprattutto multifocale), le forme polmonari isolate ed il coinvolgimento del cavo orale; la strategia terapeutica di prima linea impiegata con successo nei bambini non determina gli stessi risultati negli adulti.

Alcune sedi di malattia, quali il SNC, considerate "speciali", continuano ad essere difficilmente trattabili, sia negli adulti che nei bambini, con i chemioterapici convenzionali e/o con la radioterapia. Recentemente sono state segnalate risposte alla 2-Clorodeossadenosina (Cladribina) in casi con lesioni intraparenchimali cerebrali.

L'ICL può causare complicanze acute e/o sequele permanenti a carico degli organi colpiti e/o di quelli contigui. Possono essere potenzialmente coinvolti almeno 10 diversi organi (osso, cute, fegato, milza, polmone, sistema ematopoietico, ipofisi, cervello, linfonodi, mucose). Una volta instaurato, il danno a carico di alcuni di questi organi può essere

irreversibile; è il caso, per esempio, delle lesioni ipofisarie. Una complicanza non responsiva al trattamento sono le lesioni neurodegenerative a carico del SNC, che compaiono indipendentemente dalla presenza di malattia attiva soprattutto nei pazienti con DI (circa il 95% dei casi clinici con sindrome neurodegenerative hanno il DI).

2.3 Criteri diagnostici

In considerazione della variabilità sia delle manifestazioni che dell'andamento della malattie nelle diverse fasce d'età, il percorso diagnostico-terapeutico, sia pur con delle basi comuni, prevede una strategia diversa nei pazienti pediatrici (età <18 anni) rispetto agli adulti (età >18 anni).

Per l'estrema variabilità sia nell'età di insorgenza che nelle manifestazioni cliniche, la diagnosi di ICL può coinvolgere diversi specialisti: pediatri, onco-ematologi pediatri, ematologi, internisti, pneumologi, chirurghi toracici, dermatologi, internisti, odontoiatri, ortopedici, radiologi, radioterapisti, internisti, neurochirurghi, oncologi. Sia nel caso di un sospetto che di una diagnosi certa di ICL è opportuno indirizzare il paziente presso un Centro di Riferimento.

Il flow-chart diagnostico-terapeutico è schematizzato nella Figura 2.

Figura 2. Flow-chart diagnostico-terapeutico



Diagnosi di ICL

Di fronte ad un paziente con un sospetta di ICL, va identificato il tessuto lesionale più accessibile per una conferma istologica. La diagnosi definitiva si basa sull'esame istologico e immunohistochimico che permette l'identificazione morfologica delle CL che risultano positive per la proteina S-100 e per l'antigene CD1a. Da pochi anni, viene utilizzato un nuovo marcatore, un anticorpo monoclonale specifico per langherina, (CD207), che ha sostituito nella diagnostica la ricerca dei granuli di Birbek, dal momento che la sua espressione correla pienamente con la loro presenza. Ci sono, tuttavia, degli organi, quali il fegato, in cui le CL non contengono i granuli di Birbeck e il CD1a e/o la langherina (CD207) possono essere negativi. In alcune rare situazioni, la sede della lesione è tale che l'esecuzione della biopsia potrebbe comportare dei rischi per il paziente. È il caso della compromissione di un corpo vertebrale senza coinvolgimento di altri organi o tessuti. Le metodiche strumentali attualmente disponibili, TC multistrato e risonanza magnetica (RM), permettono di identificare una lesione tipica dell' ICL ed evitare, così, la biopsia.

Diagnosi differenziale

Le patologie da considerare per una diagnosi differenziale sono diverse e dipendono dalla sede e dall'organo coinvolto (Tabella 1). Un'anamnesi clinica accurata, un quadro radiologico approfondito e, soprattutto, una biopsia della lesione sono indispensabili per una corretta definizione della patologia. Per il polimorfismo delle lesioni cutanee è consigliabile sempre una conferma diagnostica mediante accertamento biptico della lesione.

Indagini diagnostiche per la valutazione dell'estensione della malattia o durante gli episodi di riacutizzazione.

L'anamnesi personale deve essere mirata all'identificazione del tipo e della durata dei sintomi, in particolare di quelli specifici quali: dolore, gonfiore, eruzioni cutanee, otorrea, irritabilità, febbre, perdita di appetito, diarrea, perdita di peso, ritardo nella crescita, polidipsia, poliuria, dispnea, esposizione al fumo, abitudini di vita e alterazioni neurologiche. L'esame fisico deve includere una valutazione accurata dello sviluppo fisico, della cute e delle mucose, dell'apparato

muscolo-scheletrico (presenza di eventuali tumefazioni), dell'addome (epato-splenomegalia), di segni neurologici e polmonari. Un esame clinico accurato deve essere eseguito ad ogni visita di follow-up, al fine di valutare, oltre la risposta alla terapia, una progressione o riattivazione della malattia, ed identificare eventuali sequele.

Per una corretta definizione dell'estensione della malattia è importante un approccio diagnostico razionale, che prevede anche la ricerca accurata di eventuali localizzazioni asintomatiche occulte, sia alla diagnosi che in occasione degli episodi di riattivazione della malattia.

Le indagini ematochimiche di base includono un conteggio completo del sangue, glicemia, funzionalità epatica e renale, VES e proteina C-reattiva (PCR). Le indagini strumentali comprendono una radiografia del torace e dello scheletro alla diagnosi, mentre in caso di riattivazione della malattia, la radiografia è mirata sulla sede/i con sintomi clinici. L'ecografia addominale è indicata per la valutazione delle dimensioni del fegato e della milza.

Al momento, la PET non ha indicazioni nella stadiazione dell'ICL.

Le indagini di base possono venire integrate da esami specialistici, in caso di coinvolgimento di sedi specifiche:

- *In caso di poliuria o polidipsia*: determinazione del peso specifico e dell'osmolarità urinaria; elettroliti sierici ed urinari; test di privazione di acqua, se possibile.
- *Nel sospetto di alterazioni endocrine* (bassa statura, deficit di crescita, pubertà precoce o ritardata): visita neurologica e workup endocrinologico.

In entrambe le situazioni è utile l'esecuzione di una RMN encefalo, con particolare riguardo alla sella turcica.

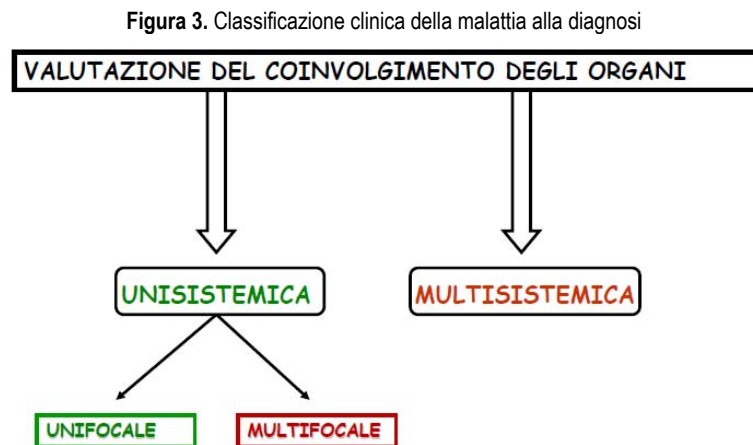
- *In presenza di disturbi neurologici e/o alterazioni del visus*: Visita neurologica e/o neuropsichiatrica; RMN.
- *In caso di sintomi da compromissione vertebrale*: visita neurologica, RMN della colonna vertebrale.
- *In presenza di un'alterazione della crasi ematica* (anemia e/o piastrinopenia e/o leucopenia, senza causa evidente): biopsia osteomidollare.
- *In caso di alterazione del parenchima polmonare*, evidenziato con l'indagine radiografica standard del torace: TC polmonare ad alta risoluzione, prove di funzionalità polmonare con diffusione dell'anidride carbonica (DLCO), broncoscopia con broncolavaggio in caso di diagnosi differenziale con un'altra patologia.
- *In caso di problemi al cavo orale*: visita odontoiatrica, radiografia ortopantomica.
- *In caso di alterata funzionalità epatica*: visita specialistica epatologica, RMN epatica, biopsia epatica (diagnosi differenziale tra l'ICL attiva e la colangite sclerosante).
- *In caso di otiti ricorrenti e/sordità e/o coinvolgimento della mastoide*: visita otorinolaringoiatrica, valutazione audiometrica, RMN dell'encefalo, TC-HR dell'osso temporale.

Tabella 1. Diagnosi differenziale delle manifestazioni dell'Istiocitosi a cellule di Langerhans.

Coinvolgimento	Manifestazioni	Possibili altre diagnosi
Cute e mucose	Vescicole (più comuni nella prima infanzia)	Eritema tossico (più comuni nella prima infanzia) Herpes simplex Varicella
	Dermatiti (più frequentemente cuoio capelluto, zona del pannolino o ascellare possono manifestarsi fino alla tarda infanzia)	Dermatite seborroica (eczema)
	Noduli	Mastocitosi Xantomatosi giovanile Neuroblastoma Leucemia infantile
	Prurito (più comune)	Scabbia
Osso	Vertebra plana	Sarcoma di Ewing Osteomielite settica Osteomielite cronica recidivante multifocale Leucemia Linfoma Cisti ossea aneurismatica Xantogranuloma giovanile Mieloma Osteoporosi
	Osso temporale	Otite media cronica Mastoidite Colesteatoma Sarcoma dei tessuti molli
	Orbita	Infezione acuta (cellulite presettale) Cisti dermoide Rabdomiosarcoma Neuroblastoma Tumore pseudo infiammatorio
	Altre lesioni litiche delle ossa lunghe	Osteomielite settica Osteomielite cronica recidivante Cisti ossea aneurismatica Angiomatosi ossea (Malattia di Gorham) Displasia fibrosa Infezioni da micobatteri atipici Sarcoma osteogenico Sarcoma di Ewing
Polmone	In particolare sintomi sistemici e noduli polmonari	Infezioni cavitate da pneumocisti Infezioni da Micobatteri Sarcoidosi Carcinomi bronchiolo-alveolari (adulti) Leiomiosarcoma linfangitico Emboli settici
Fegato	Ittero con iperbilirubinemia diretta Ipoalbuminemia	Colangite cronica distruente Malattie metaboliche Epatiti Neoplasia ostruttiva delle vie biliari Tossico (Sindrome di Reye) Deficit ereditario di coniugazione della bilirubina Malattie croniche infiammatorie intestinali Emocromatosi neonatali
Endocrino	Diabete insipido	Tumori delle cellule germinali del SNC
Anemia Trombocitopenia	Sindrome emofagocitica con epatosplenomegalia	Linfoistiocitosi emofagocitica familiare

2.4 Classificazione clinica

L'attuale classificazione, schematizzata nella Figura 3, distingue in base al numero degli organi coinvolti al momento della diagnosi: una malattia uni-sistemica o *single system* (SS-ICL) e una malattia multi-sistemica o *multisystem* (MS-ICL). La malattia viene definita uni-sistemica quando è colpito un solo organo o sistema; a sua volta, in base al numero delle lesioni viene definita uni-focale (unica lesione), multifocale (più lesioni a carico dello stesso organo o sistema). La malattia viene definita multi-sistemica quando sono coinvolti due o più organi o sistemi compresi quegli organi considerati "a rischio" per il paziente (sistema ematopoietico, milza e/o fegato). Questa classificazione è applicata alla diagnosi e non nella riacutizzazione della malattia; viene utilizzata per pianificare la strategia terapeutica sia negli adulti che nei bambini.



Definizione del coinvolgimento d'organo/definizione degli organi a rischio

Nell'ICL alcuni organi sono considerati come "organi rischio", dal momento che un loro coinvolgimento comporta un maggior rischio di complicanze per i pazienti. Per 'rischio' si intendono sia il rischio di morte sia il rischio di complicanza neurodegenerativa.

Nei bambini il principale "organo rischio" è il sistema ematopoietico, quasi sempre associato con un coinvolgimento della milza e del fegato. Negli adulti il principale organo di rischio è il polmone che nei bambini raramente è causa di morte.

Il SNC come 'sito speciale' è stato considerato solo recentemente, non solo per alcuni tipi di localizzazioni (meningea) ma soprattutto per il rischio di processi neurodegenerativi irreversibili, indipendenti dall'attività di malattia.

3. Terapia

La scelta terapeutica deve essere condizionata dal tipo e dal numero delle sedi coinvolte e/o dall'età. Obiettivo del trattamento è quello di favorire il processo di guarigione della malattia utilizzando una strategia che comporti meno tossicità ed effetti collaterali a breve e lungo termine.

Per il trattamento ottimale di alcune forme è indispensabile una gestione combinata multidisciplinare, che coinvolga contemporaneamente diversi specialisti.

3.1 Opzioni terapeutiche

Wait and watch

In alcune forme, quali una lesione unica della teca cranica, una localizzazione retro-oculare senza compromissione dei tessuti circostanti, lesioni cutanee isolate (senza compromissione di altri organi) nei neonati, è indicata l'osservazione clinica, laboratoristica e/o strumentale periodica, dal momento che le lesioni possono regredire spontaneamente.

Terapia locale

La terapia locale ha indicazione selettiva in alcune forme in cui sono interessati organi particolari, quali la cute e l'osso. In particolare,

- Il *curettage chirurgico* è indicato nelle lesioni ossee di piccole dimensioni (<2 cm) e può rappresentare il trattamento risolutivo; è controindicato nelle lesioni più estese perché può determinare un aumento sia della dimensioni del difetto osseo che del tempo di guarigione, con rischio di danno scheletrico permanente.

- L'*iniezione intra-lesionale* di metilprednisolone rappresenta una valida alternativa terapeutica in caso di lesioni ossee particolari (lesione vertebrale, osso alveolare con compromissione della mucosa e iper mobilità dei denti). In alcuni casi è indicata l'associazione con una terapia sistemica. La "vertebra plana" *di per sé* non è un'indicazione per il corsetto ortopedico; se isolata, è indicata la fisioterapia per ridurre le sequele funzionali a carico della colonna vertebrale.
- La *radioterapia* è indicata nel caso di lesioni uniche di particolari segmenti ossei non trattabili con altre terapie locali, quali per esempio la clavicola, e lesioni cerebrali da malattia non rispondenti ad altri trattamenti.
- *Applicazioni topiche di steroidi o di mecloretamina* sono utilizzate nelle lesioni cutanee.
- Lo pneumotorace, quando compare, viene trattato con tecniche standard, quali il drenaggio pleurico e, nei casi non rispondenti, con il talcaggio pleurico.

Terapia sistemica

Molti sono i farmaci attualmente utilizzati nel trattamento dell'ICL perché attivi: steroidi, farmaci antitumorali quali VCR, VBL, VP-16, 6-MP, MTX, antinfiammatori non steroidei (FANS), citarabina e cladribina. A questi bisogna aggiungere altri farmaci il cui ruolo è ancora da definire, quali gli agenti immunomodulatori (interferone alfa, ciclosporina A, ecc.) e altri il cui grado di evidenza della loro efficacia è scarso, in particolare l'imatinib, i retinoidi e i bifosfonati.

Per quanto riguarda la strategia terapeutica di prima linea è basata sui seguenti criteri:

- 1) L'associazione del VBL con uno steroide rappresenta un'opzione sicura ed efficace nel trattamento sia di bambini che di adulti con ICL.
- 2) Un trattamento prolungato è indicato sia per i bambini che per gli adulti con malattia multifocale e/o multisistemica; la durata dipende dall'età o dal tipo di sede di malattia. Nei bambini con malattia multi sistemica è indicata una durata del trattamento di 12 mesi. I farmaci utilizzati sono la 6-MP e/o la combinazione VBL, steroidi.
- 3) La cladribina in monoterapia è indicata nelle forme con localizzazioni del SNC.

Per quanto riguarda il trattamento delle forme refrattarie alla terapia standard, le opzioni terapeutiche possono comprendere la cladribina in monochimioterapia o in associazione con la citarabina ed il trapianto allogenico di cellule staminali.

- 1) La cladribina in monochimioterapia è indicata come terapia di seconda linea nei casi di malattia refrattaria senza compromissione di organi a rischio;
- 2) La cladribina in associazione con la citarabina è indicata nei pazienti con compromissione del sistema emopoietico e/o una disfunzione epatica, refrattari alla terapia standard.
- 3) Il trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche con un regime di condizionamento a intensità ridotta rappresenta un'opzione terapeutica di terza linea nei casi di malattia con coinvolgimento degli organi a rischio, refrattaria ad altre opzioni terapeutiche di salvataggio.

3.2 Valutazione della risposta al trattamento

Per quanto riguarda la definizione della risposta al trattamento, bisognerebbe evitare i termini "remissione" o "ricaduta", usati per le leucemie acute o per altre neoplasie.

Considerando la natura dell'ICL, è più corretto applicare altri criteri che prendono in considerazione l'attività di malattia e il tipo di risposta.

Valutazione dell'attività di malattia

La valutazione dell'attività di malattia correntemente utilizzata si basa sui criteri impiegati in studi randomizzati dell'HS su popolazioni pediatriche.

1. Malattia non attiva:
 - Non evidenza di malattia: risoluzione di tutti segni e/o sintomi.
2. Malattia attiva:
 - Malattia in regressione: regressione di segni e/o sintomi, assenza di nuove lesioni
 - Malattia stabile: persistenza di segni o sintomi, assenza di nuove lesioni
 - Malattia in progressione: progressione di segni o sintomi e/o comparsa di nuove lesioni

Definizione della risposta

La definizione della risposta utilizza criteri semi-quantitativi.

1. Risposta buona:

- Risoluzione completa: scomparsa dell'organomegalia e/o del coinvolgimento dei tessuti molli, scomparsa delle lesioni scheletriche o riduzione dell'area lesionale con note progressive di sclerosi e/o normalizzazione dei reperti polmonari. Malattia non attiva.
- Regressione delle lesioni (riduzione >50% delle lesioni a carico dei diversi organi) con miglioramento dei sintomi.

2. Risposta intermedia:

- Malattia stabile (riduzione <50% con persistenza dei segni o sintomi della malattia senza comparsa di nuove lesioni).
- Regressione delle lesioni nelle sedi in precedenza coinvolte ma comparsa di una nuova lesione in un'altra sede.

3. Risposta cattiva.

- Malattia in progressione.

3.3 Linee guida per il trattamento dell'ICL del bambino

I Centri di Riferimento che seguono pazienti di età <18 anni alla diagnosi di ICL aderiscono al gruppo cooperativo AIEOP e, quindi, applicano i protocolli nazionali o internazionali proposti in tale ambito.

Attualmente, in Italia, nell'attesa dell'approvazione del Protocollo internazionale LCH-IV (cui aderiscono 20 paesi tra cui l'Italia come gruppo AIEOP e che prevede indicazioni diagnostico-terapeutiche sia per la terapia di 1° linea che per la terapia di salvataggio), in accordo con quanto stabilito nel gruppo dell'HS, vengono seguite le indicazioni derivate dal protocollo precedente LCH-III.

I criteri per trattare un paziente secondo queste direttive sono quelle del protocollo LCH-III, in particolare:

- età <18 anni;
- diagnosi di certezza di ICL (presenza dell'antigene CD1a sulla superficie delle cellule evidenziate all'immunoistochimica)
- non precedenti trattamenti per ICL

L'iter diagnostico, successivo alla diagnosi, è quello previsto dal protocollo LCH-III, le cui indagini sono illustrate in dettaglio nell'Allegato 1. L'attenta valutazione dell'estensione della malattia permette l'identificazione del gruppo di rischio da assegnare al paziente (Allegato 1). La strategia terapeutica è illustrata nell'Allegato 1.

La terapia iniziale prevede, per tutte le fasce di rischio, l'associazione del VBL e PDN per 6 settimane, al termine della quale viene valutata la risposta al trattamento. Solo i pazienti con *risposta buona* proseguono con la terapia di mantenimento prevista, comprendente 6-MP, VBL e PDN per una durata totale del trattamento di 12 mesi (tranne per un definito gruppo di pazienti).

Per quanto riguarda la valutazione della risposta al trattamento iniziale, viene definita:

- *Risposta buona*: risoluzione completa (NAD, non active disease)= nessuna evidenza di malattia, risoluzione di tutti i segni o sintomi, nessuna nuova lesione) o malattia attiva (AD, active disease) in regressione.
- *Risposta cattiva*: progressione di malattia.
- *Risposta intermedia*: malattia stabile oppure malattia in regressione in alcune sedi e comparsa di nuove lesioni in sedi diverse.

3.4 Linee guida terapeutiche per il trattamento dell'ICL nell'adulto

Il Centro di Riferimento dell'Ematologia ha la prerogativa di seguire pazienti sia adulti che bambini affetti da ICL. Agli inizi del 2000, è stata avviata, nell'ambito del gruppo cooperativo GIMEMA (Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell'Adulto) una collaborazione attiva, che ha portato alla raccolta e valutazione dei dati dall'esperienza dei singoli centri e, successivamente, nel 2001 alla stesura di linee guida diagnostiche e terapeutiche, che coinvolgono non solo gli ematologi ma anche altri specialisti con l'obiettivo di uniformare i criteri diagnostici, l'iter diagnostico e la strategia terapeutica in base all'estensione della malattia nei soggetti di età >18 anni. Le linee guida GIMEMA LCH 2001 vengono tuttora utilizzate anche in altri centri italiani (Allegato 2).

4. Implementazione del PDTA

Nella Regione Lazio, il Centro Ematologia Pediatrica della UOC di Ematologia (primario: Prof. Roberto Foà), D.A.I. Ematologia, Oncologia, Anatomia Patologica e Medicina Rigenerativa, Azienda Policlinico Umberto I di Roma: Presidio di Riferimento Regionale per l'Istiocitosi (Medico responsabile: Dott.ssa Fiorina Giona) è Centro di Riferimento per la presa in carico dei pazienti con ICL.

Il Centro segue sia adulti che bambini con ICL. Per quanto riguarda i bambini partecipa al Gruppo di Lavoro (GL) AIEOP sull'Istiocitosi e, in questo ambito, a protocolli internazionali proposti dall'HS. Per quanto riguarda gli adulti con ICL utilizza delle linee guida proposte anche in ambito nazionale, linee guida GIMEMA LCH 2001.

Le informazioni utili ed i contatti sono illustrati in Tabella 2.

Tabella 2. Informazioni utili e contatti del Presidio di Riferimento dell'Ematologia Pediatrica, Azienda Policlinico Umberto I

Gruppo di Malattia	ISTIOCITOSI X
Patologie	Istiocitosi a cellule di Langerhans Istiocitosi a cellule non Langerhans
Popolazione	Adulti e Bambini
Codice esenzione	RCG150
Presidio di Riferimento	Reparto Pediatrico (Ematologia Pediatrica) U.O.C. Ematologia, primario prof. Roberto Foà - DAI Ematologia, Oncologia, Anatomia Patologica e Medicina Rigenerativa
Indirizzo	Via Benevento 6 - 1° piano – Accettazione Pediatrica
Medici referenti	Dott.ssa Fiorina Giona (Responsabile) Dott.ssa Giovanna Palumbo
Telefono	06-857951 (centralino) 06-4997735 (dal Lunedì al Venerdì dalle ore 14.00 alle ore 15.30) 06-4997732 (dal Lunedì al Venerdì dalle ore 8.00 alle ore 12.00)
Modalità di contatto	Telefono, e-mail, medico curante, o personalmente (Lunedì-Venerdì dalle 8.30-13.00)
Sito web	www.ematologiasapienza.org www.bce.ematologia.it
e-mail	giona@bce.uniroma1.it; fiorinagiona@gmail.com; palumbo@bce.uniroma1.it
Fax	06-44241984

È inoltre Centro di Riferimento l'Unità Operativa di Dermatologia dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma (Responsabile: Dott. ssa El Hachem Maya, maychebl.elhachem@opbg.net).

Per quanto riguarda i bambini con ICL, un centro di riferimento per numerosi pazienti, è l'Unità Operativa di Onco-Ematologia (Primario: Prof. Franco Locatelli) – Dipartimento di Onco-Ematologia Pediatrica e Medicina Trasfusionale dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma, che partecipa attivamente al GL AIEOP sull'Istiocitosi e, sempre in ambito AIEOP, a protocolli nazionali e internazionali proposti dall' HS (medico di riferimento: Dott.ssa Alessandra Lombardi).

Tabella 3.

Gruppo di Malattia	ISTIOCITOSI X
Patologie	Istiocitosi a cellule di Langerhans Istiocitosi a cellule non Langerhans
Popolazione	Bambini
Codice esenzione	RCG150
Presidio di Riferimento	Unità Operativa di Dermatologia dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma Unità Operativa di Onco-Ematologia (Primario: Prof. Franco Locatelli) – Dipartimento di Onco-Ematologia Pediatrica e Medicina Trasfusionale dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma
Indirizzo	Piazza S. Onofrio, 4 - Roma Dermatologia: Padiglione Pio XII, piano 3 Onco-Ematologia: Padiglione S.Onofrio, piano terra
Medici referenti	Dott.ssa May El Hachem Prof. Franco Locatelli
Telefono	06/68592509 - 06/68592129

Modalità di contatto	Telefono, e-mail, medico curante, o personalmente
Sito web	http://www.ospedalebambinogesu.it/
e-mail	maychebl.elhachem@opbg.net ; franco.locatelli@opbg.net

5. Aspetti assistenziali

Il Centro di Riferimento Regionale istituzionalmente riconosciuto ha il compito di definire la diagnosi, l'estensione e la gravità della malattia, di decidere il trattamento e di effettuarne il monitoraggio, di garantire l'assistenza medica e burocratica ai pazienti affetti da ICL. In considerazione della particolarità della malattia, la presa in carico del paziente è *a vita*. I controlli previsti sia durante il trattamento che nel follow-up sono individualizzati. La rete di professionisti operanti nelle strutture di riferimento garantisce la possibilità di un approccio multidisciplinare coordinato sia per l'iter diagnostico che per la strategia terapeutica.

Nel processo diagnostico viene utilizzata l'esenzione che definisce il sospetto di patologia rara (Codice esenzione: R99). Dopo la conferma diagnostica della patologia viene rilasciata al paziente la certificazione utile al rilascio della esenzione per patologia da parte dell'ASL di appartenenza (Codice esenzione **RCG150**). Tale codice serve al malato per poter usufruire gratuitamente sia delle prestazioni diagnostiche (esami ematochimici, strumentali e visite specialistiche) che dei trattamenti su tutto il territorio nazionale che dei farmaci.

Allegato 1

Protocollo LCH III: Valutazioni indispensabili per un corretto iter diagnostico nei pazienti di età <18 anni con diagnosi di ICL

BASELINE DIAGNOSTIC EVALUATIONS

(modified according to Clinical Writing Group of the Histiocyte Society)

- Clinical evaluation
 - o Complete history: Fever, pain, irritability, failure to thrive, loss of appetite, diarrhea, polydipsia, polyuria, recurrent otitis, skin rashes, activity level, behavioural changes, neurological changes
 - o Complete physical examination:
 - Measurement of temperature, height, weight, head circumference, pubertal status
 - Skin and scalp rashes, purpura, bleeding
 - Jaundice, pallor
 - Aural discharge
 - Orbital abnormalities
 - Gum and palatal lesions, dentition
 - Soft tissue swelling, lymphadenopathies
 - Dyspnea, tachypnea, intercostal retractions
 - Liver and spleen size, ascites, edema
 - Neurological examination (including papilledema, cranial nerve abnormalities, cerebellar dysfunction)

Protocollo LCH III: Indagini ematochimiche e strumentali indispensabili per un corretto iter diagnostico nei pazienti di età <18 anni con diagnosi di ICL

- Laboratory and radiographic evaluation
 - o Mandatory minimum baseline evaluations for all patients:
 - Hemoglobin and/or hematocrit
 - Ferritin, iron, transferrin
 - White blood count and differential
 - Platelet count
 - Erythrocyte sedimentation rate (ESR)
 - Liver enzymes and function tests (SGOT, SGPT, γ-GT, alkaline phosphatase, bilirubin, total protein, albumin)
 - Coagulation studies (PT, PTT, fibrinogen)
 - Chest radiograph, p.a. and lateral
 - Skeletal radiograph survey (radionuclide bone scan is not as sensitive as the skeletal radiograph survey in most patients)
 - Urine osmolality (measurement after overnight water deprivation)
 - o Mandatory for multi-system patients
 - Bone marrow aspiration and trephine with CD1a staining
 - HLA-typing (for “RISK” patients only)

Protocollo LCH III: Indagini specifiche da eseguire per un corretto iter diagnostico nei pazienti di età <18 anni con diagnosi di ICL

Indication	Test
Abnormal chest radiograph, tachypnea, intercostal retractions	High resolution – CT, Pulmonary function test (if age appropriate)
Patients with abnormal pulmonary high resolution-CT: to yield a diagnosis in case of isolated lung involvement or to exclude infection	Lung biopsy, Bronchoalveolar lavage
Unexplained chronic diarrhea or failure to thrive, evidence of malabsorption	Endoscopic biopsy
Liver dysfunction: to differentiate active LCH of the liver from sclerosing cholangitis	Sonography, Liver biopsy
Visual or neurologic abnormalities	MRI of brain with i.v. gadolinium – DTPA, Neurological evaluation, psychological tests

Polyuria, polydipsia, short stature, growth failure, hypothalamic syndromes, galactorrhea, precocious or delayed puberty	Endocrine evaluation including water deprivation test, dynamic tests of the anterior pituitary, MRI of brain with i.v. gadolinium – DTPA
Gingiva involvement, loose teeth	Panoramic dental radiography and computed tomography of mandible and maxilla, oral surgery consultation
Aural discharge, deafness	Otolaryngology consultation and audiogram, MRI of brain with i.v. gadolinium - DTPA

Protocollo LCH III: caratteristiche dei diversi gruppi di rischio

GROUP 1 - MULTISYSTEM "RISK" PATIENTS

Multisystem patients WITH involvement of one or more "RISK" organs i.e. hematopoietic system, liver, spleen or lungs

Patients with single system lung involvement are not eligible for randomisation

GROUP 2 - MULTISYSTEM "LOW RISK" PATIENTS

Multisystem patients with multiple organs involved but WITHOUT involvement of "RISK" organs

GROUP 3 - SINGLE SYSTEM "MULTIFOCAL BONE DISEASE" AND LOCALIZED "SPECIAL SITE" INVOLVEMENT

Patients with multifocal bone disease, i.e. lesions in 2 or more different bones

Patients with localized special site involvement, like "CNS-RISK" lesions with intracranial soft tissue extension or vertebral lesions with intraspinal soft tissue extension

Protocollo LCH III: Trattamento dei pazienti con compromissione di organi a rischio

GROUP 1 - MULTISYSTEM "RISK" PATIENTS

INITIAL TREATMENT

VBL 6 mg/m²/weekly x 6 weeks

PRD 40 mg/m²/day x 4 weeks, tapering in 2 weeks

CONTINUATION TREATMENT

6-MP 50 mg/m²/day

VBL 6 mg/m²/weekly q 3 weeks

p 40 mg/m²/day x 5 days q 3 weeks

Overall therapy duration: 12 months

Protocollo LCH III: Trattamento dei pazienti a basso rischio (Gruppo 2) e di quelli con patologia multifocale ossea o con coinvolgimento di sedi "speciali" (Gruppo 3)

INITIAL TREATMENT

VBL 6 mg/m² /weekly q 6 weeks

PRD 40 mg/m²/day x 4 weeks, tapering in 2 weeks

Evaluation at week 6: Non active disease/Active disease better

CONTINUATION TREATMENT

VBL 6 mg/m²/weekly q 3 weeks

PRD 40 mg/m²/day x 5 days q 3 weeks

6-MP) 50mg/m²/ daily

THERAPY DURATION:

12 months (Group 2)

6 months (Group 3)

Allegato 2



GIMEMA

Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell'Adulto

GIMEMA LCH 2001

ISTIOCITOSI a CELLULE di LANGERHANS dell'ADULTO: LINEE GUIDA per l'APPROCCIO DIAGNOSTICO e TERAPEUTICO

Dott.ssa Fiorina Giona
Ematologia, Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia
Università degli Studi "La Sapienza"
Via Benevento 6
00161 Roma
Tel: +39 06 857951
Fax: +39 06 44241984
e-mail: giona@bce.uniroma1.it 26

BACKGROUND E RAZIONALE

L'istiocitosi a cellule di Langerhans (LCH) è un raro disordine proliferativo reattivo caratterizzato dall'accumulo di istiociti atipici, accanto a quelli normali, linfociti ed eosinofili, che formano infiltrati caratteristici della malattia. L'eziopatogenesi rimane sconosciuta, anche se sono state formulate diverse ipotesi, da un'alterazione del sistema immunitario, ad infezioni virali, a modificazioni specifiche dei linfociti. Malgrado alcuni studi ne abbiano dimostrato la clonalità, viene unanimemente riconosciuta come una malattia reattiva. La LCH comprende le entità precedentemente denominate granuloma eosinofilo, malattia di Hand-Schuller-Christian e malattia di Letterer-Siwe, che riflettono diversi stadi della stessa malattia. Studi epidemiologici hanno dimostrato che è una patologia rara che può colpire entrambi i sessi a qualsiasi età, e che può avere manifestazioni ed andamento clinico diversi. Pazienti con malattia localizzata, per esempio alla cute o all'osso, possono guarire, dopo terapia locale (chirurgica, radiante, infiltrazioni) o addirittura senza alcuna terapia mentre altri, soprattutto bambini, che presentano manifestazioni cliniche simil-leucemiche, possono avere una prognosi infausta. Negli adulti sono più frequenti le forme caratterizzate da lesioni ossee multiple associate a coinvolgimento di altri organi, quali polmone, cute o cavo orale, che hanno un andamento cronico. Il trattamento dipende dall'estensione della malattia. I dati finora disponibili derivano da studi su popolazioni pediatriche mentre negli adulti i dati sono frammentari, dal momento che le diverse manifestazioni d'esordio possono interessare diversi specialisti (ematologi, internisti, pneumologi, chirurghi toracici, dermatologi, internisti, odontoiatri, ortopedici, radiologi, radioterapisti, internisti, neurochirurghi).

D'altra parte ci sono differenze tra adulti e bambini, che giustificano un approccio terapeutico diverso:

- la malattia negli adulti ha una storia naturale più lenta ed un'andamento più cronico;
- le remissioni spontanee sono rare;
- rispetto ai bambini sono più frequenti le localizzazioni ossee, quelle al cavo orale con coinvolgimento osseo e le forme polmonari isolate;
- con la chemioterapia normalmente impiegata con successo nei bambini difficilmente si ottengono gli stessi risultati, soprattutto è difficile ottenere la guarigione;
- la malattia ossea ha un'andamento ricorrente, difficilmente rispondente ad approcci terapeutici convenzionali comprendenti corticosteroidi ed antiproliferativi.
- Risultati incoraggianti sono stati ottenuti con trattamenti terapeutici alternativi, quali l'indometacina e l'interferone;
- la forma polmonare isolata, tipo honey-combing, è difficile da trattare: buoni risultati si ottengono con l'uso del prednisone a dosaggio non elevato.
- Negli adulti, è giustificato un approccio sia diagnostico che terapeutico diverso, che coinvolga più specialisti.

CRITERI DI INCLUSIONE

1. Diagnosi istopatologica certa di Istiocitosi a cellule di Langerhans, basata sulla dimostrazione dell'antigene CD1a (T6), localizzato sulla membrana citoplasmatica oppure sulla presenza dei granuli di Birbeck all'interno delle cellule rilevati con la microscopia elettronica oppure
2. Diagnosi istopatologica di Istiocitosi a cellule di Langerhans basata sull'aspetto tipico delle lesioni alla microscopia ottica e sulla presenza di due o più delle seguenti caratteristiche: positività per l'ATPasi, per la proteina S-100, o alfa-D-mannosidasi oppure
3. Diagnosi presuntiva di Istiocitosi a cellule di Langerhans, quando le caratteristiche del materiale biotico alle colorazioni convenzionali sono tipiche
4. Età >18 anni.

APPROCCIO DIAGNOSTICO

Per una corretta definizione dell'estensione della malattia è importante un approccio diagnostico razionale, che prevede due tappe. La prima prevede delle indagini obbligatorie che possono venire integrate da ulteriori esami.

VALUTAZIONE DIAGNOSTICA DI BASE:

1. Valutazione clinica

- Anamnesi accurata, in particolare per: febbre, dolori, poliuria, polidipsia, tosse, problemi al cavo orale.
- Esame clinico accurato

2. Indagini di laboratorio e radiografiche obbligatorie :

- Esame emocromocitometrico completo
- Sideremia, ferritina e transferrina
- Tests di funzionalità epatica (GOT, GPT, γ -GT, fosfatasi alcalina, bilirubina, proteine totali ed albumina)
- Tests di funzionalità renale (Azotemia, creatinina, uricemia, elettroliti)
- Esame urine
- Profilo coagulativo (PT, PTT, fibrinogeno)
- Radiografia del torace
- Radiografia dello scheletro (la scintigrafia ossea è facoltativa)
- Ecografia addominale
- visita odontoiatrica

Le indagini diagnostiche di base possono essere ulteriormente completate dalle INDAGINI DIAGNOSTICHE SPECIFICHE, che richiedono la collaborazione di diversi specialisti.

Nel caso di alterazione del parenchima polmonare, evidenziato con l'indagine radiografica standard del torace vanno effettuate ulteriori indagini, quali:

- prove di funzionalità polmonare che comprenda anche studio della DLCO
- TC polmonare ad alta risoluzione
- Scintigrafia al gallio

Se la TC polmonare rileva un coinvolgimento del parenchima polmonare e la malattia è localizzata esclusivamente al polmone, è d'obbligo procedere con:

- broncoscopia e broncolavaggio con esame citologico.

Se l'esame citologico è negativo per la presenza di cellule del Langerhans, è d'obbligo procedere alla:

- biopsia polmonare.

In caso di problemi al cavo orale, siano essi rappresentati da un gengivite spesso localizzata o da mobilità di alcuni denti o da dolore localizzato alla mandibola o alla mascella è indispensabile approfondire, con la collaborazione di un odontoiatra:

- Radiografia ortopantomica con studio sia della mandibola che della mascella
- Biopsia delle lesioni

Se si evidenzia un'alterazione della crasi ematica, quali anemia e/o piastrinopenia e/o leucopenia, senza causa evidente si deve procedere con:

- Biopsia osteomidollare bilaterale

Le lesioni della teca cranica, rilevate radiologicamente vanno approfondite con:

- TC del cranio

La presenza di disturbi neurologici e/o diabete insipido vanno approfonditi con:

- Visita neurologica
- RMn del cranio con gadolinio

Tali indagini vengono ripetute a intervalli stabiliti per controllare l'andamento della malattia.

CLASSIFICAZIONE DELLA MALATTIA

1. UNISISTEMICA UNIFOCALE

- OSSEA: singola lesione ossea
- CUTANEA o MUCOSA: singola lesione cutanea
- LINFONODALE: un solo linfonodo coinvolto

- Altri organi (tiroide, etc.)
 - SNC: unica lesione coinvolgente il SNC
2. UNISISTEMICA MULTIFOCALE
- OSSEA: due o piu' lesioni ossee
 - CUTANEA o MUCOSA: lesioni cutanee o mucose multiple
 - LINFONODALE: diversi linfonodi coinvolti
 - POLMONARE: localizzazione polmonare (lesioni di diverso tipo: honey-combing, interstiziale, nodulare)
 - Altri organi (tiroide, etc.)
 - SNC: lesioni multiple coinvolgente il SNC
3. MULTISISTEMICA
- OSSEA+VISCERALE: lesioni ossee + localizzazioni polmonari e/o mucose e/o cutanee e/o epatomegalia e/o splenomegalia e/o adenomegalia e/o sistema nervoso centrale.
 - VISCERALE: localizzazioni polmonari e/o mucose e/o cutanee e/o epatomegalia e/o splenomegalia e/o adenomegalia e/o sistema nervoso centrale.

APPROCCIO TERAPEUTICO

- MALATTIA UNISISTEMICA UNIFOCALE:
 - o OSSEA: CURETTAGE CHIRURGICO O RADIOTERAPIA LOCALE O INFILTRAZIONE LOCALE
 - o LINFONODALE: ASPORTAZIONE CHIRURGICA
 - o CUTANEA: infiltrazione locale
 - o SNC: localizzazione unica coinvolgente il SNC (trattamento personalizzato)
- MALATTIA MULTIFOCALE OSSEA:
 - o INDOMETACINA (INDOXEN, METACEN) 2 mg/Kg/die (dose massima 150 mg/die) in 3 dosi giornaliere + PAMIDRONATO SODICO (AREDIA) 60 mg ogni 3 settimane x 12 settimane.
Durante il trattamento, il controllo della crasi ematica va eseguito ogni 15 giorni, mentre la funzionalità epatica e renale una volta al mese o a comparsa dei sintomi. Una prima valutazione della malattia si esegue dopo 12 settimane. Se si ottiene una RISPOSTA BUONA O INTERMEDIA, SI continua fino ad un massimo di 24 settimane, se invece la malattia è in progressione si passa ad altra terapia. Nei pazienti rispondenti, al termine del trattamento si esegue una rivalutazione della malattia, che, nei primi due anni va fatta a scadenza semestrale o a comparsa dei sintomi, e successivamente a scadenza annuale.
- MALATTIA POLMONARE con lesioni tipo interstiziale e/o honey-combing:
 - o PREDNISONE 40 MG/M2/DIE X 1 MESE, QUINDI RIDURRE LENTAMENTE IN 1 MESE
Una prima valutazione della malattia si esegue dopo 6 mesi dall'inizio del trattamento. Se si ottiene una RISPOSTA BUONA O INTERMEDIA, si esguono controlli della malattia annuali, se invece la malattia è in progressione si passa ad altra terapia.
- MALATTIA UNISISTEMICA MULTIFOCALE (escluso osso e lesioni polmonari honey-combing) MALATTIA MULTISISTEMICA VISCERALE:
 - o VINBLASTINA (VELBE) 6 mg/m2/settimana X 6 settimane+ PREDNISONE (PDN) 40 mg//m2/die x 4 settimane con riduzione in altre 2 settimane.
Durante il trattamento, il controllo della crasi ematica va eseguito settimanalmente, mentre la funzionalità epatica e renale una volta al mese o a comparsa dei sintomi. Una prima valutazione della malattia si esegue dopo 6 settimane. Se si ottiene una RISPOSTA BUONA O INTERMEDIA, SI continua l'associazione VINBLASTINA (VELBE) 6 mg/m2 /dose + PREDNISONE 40 mg/ m2/die/ x 5 giorni ogni 2 settimane x 6 cicli. Se invece la malattia è in progressione si passa ad altra terapia. Nei pazienti rispondenti, al termine del trattamento si esegue una rivalutazione della malattia, che, nei primi due anni va fatta a scadenza semestrale o a comparsa dei sintomi, e successivamente a scadenza annuale.
- MALATTIA MULTISISTEMICA VISCERALE + OSSEA:
 - o VINBLASTINA (VELBE) 6 mg/m2/settimana X 6 settimane + PREDNISONE (PDN) 40 mg//m2/die x 4 settimane con riduzione in altre 2 settimane + PAMIDRONATO SODICO (AREDIA) 60 mg ogni 3 settimane.
Durante il trattamento, il controllo della crasi ematica va eseguito settimanalmente, mentre la funzionalità epatica e renale una volta al mese o a comparsa dei sintomi. Una prima valutazione della malattia si esegue dopo 6 settimane. Se si ottiene una RISPOSTA BUONA O INTERMEDIA, SI continua l'associazione VELBE 6 mg/m2 /dose + PREDNISONE 40 mg/ m2/die x 5 giorni ogni 2 settimane x 6 cicli + PAMIDRONATO SODICO (AREDIA) 60 mg ogni 3 settimane. Se invece la malattia è in progressione si passa ad altra terapia. Nei pazienti rispondenti, al termine del trattamento si esegue una rivalutazione della malattia, che, nei primi due anni va fatta a scadenza semestrale o a comparsa dei sintomi, e successivamente a scadenza annuale.
- COINVOLGIMENTO DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE, escluso il diabete insipido:
 - o 2-CLORODEOSSIADENOSINA (2-CDA) 5 mg/m2/die X 5 giorni ogni 4 settimane, x 3 cicli.
Al termine di ogni ciclo, il controllo della crasi ematica va eseguito 3-4 giorni, mentre la funzionalità epatica e renale una volta a settimana. Una prima valutazione della malattia si esegue dopo 3 cicli. Se si ottiene una RISPOSTA BUONA O INTERMEDIA, SI continua (2-CDA) 5 mg/m2/die X 5 giorni ogni 4 settimane, x 3 cicli. Se

invece la malattia è in progressione si passa ad altra terapia. Nei pazienti rispondenti, al termine del trattamento si esegue una rivalutazione della malattia, che, nei primi due anni va fatta a scadenza semestrale o a comparsa dei sintomi, e successivamente a scadenza annuale. NON SOSPENDERE il trattamento dopo i primi 3 cicli in presenza di un miglioramento dei sintomi, senza miglioramento della lesione. Dal momento che la 2-CDA è un farmaco linfocitotossico, si possono avere complicanze infettive di natura virale, e quindi è importante monitorare le sottopopolazioni linfocitarie ogni 3 mesi.

DEFINIZIONE DELLA RISPOSTA

1. BUONA

- *Risoluzione o Risposta completa (RC): scomparsa dell'organomegalia e/o del coinvolgimento dei tessuti molli, scomparsa delle lesioni scheletriche o riduzione dell'area lesionale con note progressive di sclerosi e/o normalizzazione dei reperti polmonari.*
- *Regressione progressiva delle lesioni: riduzione > 50% del coinvolgimento o delle lesioni a carico dei diversi organi senza l'evidenza di nuove lesioni.*

2. INTERMEDIA

- *Malattia stabile: risposta <50% con persistenza dei segni o sintomi della malattia senza comparsa di nuove lesioni.*

3. CATTIVA

- *Malattia in progressione: progressione delle lesioni preesistenti e/o comparsa di nuove lesioni.*

DEFINIZIONE DELLO STATO DI MALATTIA

1. MALATTIA NON ATTIVA

- *Non evidenza di malattia*
- *Malattia in regressione*

2. MALATTIA ATTIVA

- *Malattia stabile*
- *Malattia in progressione*

Bibliografia

1. Malpas JS, Norton AJ. Langerhans cell histiocytosis in adult. *Med Ped Oncol* 1996, 27: 540-6.
2. Bhatia S, Nesbit ME Jr, Egeler RM, Buckley JD, Mertens A, Robison L. Epidemiologic study of Langerhans cell histiocytosis in children. *J Pediatr.* 1997 May;130(5):774-84.
3. Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA, Rodriguez-Galindo C, Rollins BJ. Recent advances in the understanding of Langerhans cell histiocytosis. *Br J Haematol.* 2012 Jan;156(2):163-72.
4. Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA, MacConaill LE, Brandner B, Calicchio ML, Kuo FC, Ligon AH, Stevenson KE, Kehoe SM, Garraway LA, Hahn WC, Meyerson M, Fleming MD, Rollins BJ. (2010) Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood*, 116, 1919–1923.
5. Montagut, C. & Settleman, J. (2009) Targeting the RAF-MEK-ERK pathway in cancer therapy. *Cancer Letters*, 283, 125–134.
6. Lau SK, Chu PG, Weiss LM. Immunohistochemical expression of Langerin in Langerhans cell histiocytosis and non-Langerhans cell histiocytic disorders. *Am J Surg Pathol.* 2008 Apr;32(4):615-9.
7. Ceci A, de Terlizzi M, Colella R, Loiacono G, Balducci D, Surico G, Castello M, Testi AM, De Bernardi B, Indolfi P, et al. Langerhans cell histiocytosis in childhood: results from the Italian Cooperative AIEOP-CNR-H.X '83 study. *Med Pediatr Oncol.* 1993;21(4):259-64.
8. Gadner H, Grois N, Arico M, Broadbent V, Ceci A, Jakobson A, Komp D, Michaelis J, Nicholson S, Pötschger U, Pritchard J, Ladisch S; Histiocyte Society. A randomized trial of treatment for multisystem Langerhans' cell histiocytosis. *J Pediatr.* 2001 May;138(5):728-34. Erratum in: *J Pediatr* 2001 Jul;139(1):170.
9. Gadner H, Grois N, Pötschger U, Minkov M, Aricò M, Braier J, Broadbent V, Donadieu J, Henter JI, McCarter R, Ladisch S; Histiocyte Society. Improved outcome in multisystem Langerhans cell histiocytosis is associated with therapy intensification. *Blood.* 2008 Mar 1;111(5):2556-62. Epub 2007 Dec 18.
10. Donadieu J, Chalard F, Jeziorski E. Medical management of langerhans cell histiocytosis from diagnosis to treatment. *Expert Opin Pharmacother.* 2012 Jun;13(9):1309-22. Epub 2012 May 11. Review.
11. Giona F, Caruso R, Testi AM, Moleti ML, Malagnino F, Martelli M, Ruco L, Giannetti GP, Annibali S, Mandelli F. Langerhans' cell histiocytosis in adults: a clinical and therapeutic analysis of 11 patients from a single institution. *Cancer.* 1997 Nov 1;80(9):1786-91.