

## AGGIORNAMENTI SU ASPETTI BIOLOGICI DELLE NEOPLASIE MIELOPROLIFERATIVE PRESENTATI AL CONGRESSO EUROPEO DI EMATOLOGIA 2022

E-Congress in modalità anche virtuale – Vienna Giugno 2022

P983 SINGLE CELL ANALYSIS ALLOWS THE EARLY DETECTION OF LEUKEMIC CLONES IN MPN PATIENTS

### **L'analisi a cellula singola consente la rilevazione precoce di cloni leucemici nei pazienti con malattie mieloproliferative croniche**

Nelle malattie mieloproliferative croniche esiste un noto rischio di progressione a leucemia mieloide acuta (LAM), maggiore nei pazienti affetti da mielofibrosi primaria (PMF), dove questo raggiunge il 15-20%. Con l'obiettivo di identificare quali fattori possano influire su tale progressione, è stato valutato il profilo mutazionale di più di 20.000 cellule provenienti da pazienti con trombocitemia essenziale (TE) e PMF successivamente progrediti a LAM. A tale scopo sono state impiegate moderne tecniche di *single cell analysis* ("analisi a singola cellula"), che permettono di analizzare le caratteristiche delle singole cellule con una precisione superiore alle convenzionali tecniche di NGS. Dall'analisi così condotta è emerso che le mutazioni ad essere più strettamente correlabili all'evoluzione leucemica sono diverse da quelle definite driver (*JAK2*, *CALR*, *MPL*), ma piuttosto in geni che effettuano un controllo epigenetico (che regolano cioè il grado di attivazione di specifiche sequenze di DNA). Sebbene tali mutazioni possano essere identificate precocemente usando queste tecniche, il loro uso non è ancora stato introdotto nella pratica clinica, ed è tuttora limitato a scopo di ricerca.

P979 EXOSOMES IN POLYCYTHEMIA VERA: "MINI PLATELETS" WITH THROMBOGENIC POTENTIAL

### **Il ruolo degli esosomi nella policitemia vera (PV)**

La fisiopatologia della trombosi nella PV è ancora poco chiara. In un nuovo studio di Abulafia e colleghi è stato indagato il ruolo degli esosomi, piccole vescicole secrete da molti tipi cellulari, nell'instaurare un ambiente protrombotico. Gli autori del lavoro hanno isolato gli esosomi sia dal siero di pazienti con PV sia dal siero di persone sane, dimostrando che gli esosomi dei pazienti con PV aumentano la velocità di attivazione della protrombina. *In vitro*, piastrine esposte agli esosomi dei pazienti con PV dimostrano un fenotipo di tipo "attivato", cosa che non accade quando esposte a agli esosomi di persone sane. Inoltre, cellule endoteliali esposte ad esosomi di pazienti con PV diminuiscono l'espressione di Tight-Junctions (specifici sistemi di connessione tra cellule), suggerendo un ruolo nella creazione di una forma di disfunzione endoteliale. Questi dati suggeriscono che gli esosomi nella PV possano avere un ruolo nell'instaurare un ambiente protrombotico direttamente (aumento della produzione di trombina, attivazione piastrinica) e indirettamente (disfunzione endoteliale).

P987 A DIFFERENT BALANCE IN OXIDATIVE STRESS RESPONSE IN CALR AND JAK2 MUTATED MYELOFIBROSIS PATIENTS CORRELATES WITH CLINICAL OUTCOME

### **I pazienti con mielofibrosi JAK2- e CALR-mutata presentano una diversa risposta allo stress ossidativa che correla con l'esito clinico**

Nella mielofibrosi (MF) le mutazioni driver *JAK2* e *CALR* determinano proliferazione cellulare e aumento dello stress ossidativo mediante la produzione di ROS (specie reattive dell'ossigeno), che causando danno al DNA inducono instabilità genomica e trasformazione cellulare. In questo studio sono stati confrontati i livelli di marcatori ossidativi (8-OHdG, SOD) nelle cellule staminali (CD34+) di pazienti con MF *JAK2*-mutata (20 pazienti) o *CALR*-mutata (14 pazienti) confrontati con donatori sani (17); inoltre è stata valutata la differenza nella capacità antiossidante totale (TAC) in 129 pazienti con MF. I risultati dimostrano che la produzione di ROS è aumentata nei pazienti *CALR*--mutati rispetto ai pazienti *JAK2*-mutati e che sono presenti livelli di TAC inferiori, con una minor capacità di risposta allo stress ossidativo. È stato visto però che alti livelli di TAC correlano con la presenza della mutazione di *JAK2*, condizioni cliniche peggiori e ridotta sopravvivenza, identificando il TAC come un nuovo possibile fattore prognostico indipendente. Gli autori ipotizzano infine che alti livelli di ROS possano indurre meccanismi di protezione che portano a morte cellulare; viceversa, i bassi livelli di ROS presenti nei pazienti *JAK2*-mutati potrebbero causare un danno cronico del DNA e quindi un accumulo di mutazioni tale da portare a progressione di malattia.

P996 UTILITY OF KIT P.D816 IN MYELOID NEOPLASM WITHOUT DOCUMENTED SYSTEMIC MASTOCYTOSIS TO DETECT HIDDEN MAST CELLS IN BONE MARROW

**Utilità della mutazione *KIT* D816 nel rilevare i mastociti “nascosti” nel midollo osseo di pazienti con neoplasia mieloide senza diagnosi di mastocitosi sistemica**

La mutazione *KIT* D816V è fortemente associata alla mastocitosi sistemica (MS) costituendo uno dei criteri per la diagnosi, specialmente se associata alla presenza di mastociti atipici o in cluster nel midollo osseo. Un recente studio di Do Hwan Kim e colleghi (MD Anderson Cancer Center, Houston) ha valutato se la mutazione di *KIT* fosse presente in pazienti che avevano eseguito il pannello NGS per altre patologie mieloidi. Sono risultati positivi alla mutazione 49 pazienti e di questi, 38 (77,6%) avevano una diagnosi di leucemia acuta mieloide, 6 (12,2%) di leucemia mielomonocitica cronica. Sulla biopsia midollare di questi 49 casi è stata quindi eseguita la ricerca in immunoistochimica del CD117 e della triptasi, ed è risultato che 8 dei 49 pazienti incontravano i criteri per la diagnosi di MS. Lo studio suggerisce quindi che nei pazienti in cui la mutazione di *KIT* è inaspettatamente presente allo studio NGS è raccomandato eseguire ulteriori accertamenti per escludere una sottostante MS.

P990 T CELL RESPONSE ANDOMICRON VARIANT NEUTRALISATION FOLLOWING VACCINATION AGAINST SARS-COV-2 IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID DISORDERS

**Valutazione della risposta T-linfocitaria e della capacità di neutralizzazione della variante Omicron in seguito a vaccinazione contro SARS-Cov-2 in pazienti con neoplasie mieloidi croniche**

Il lavoro di Lavallade e colleghi presentato all'edizione 2022 del meeting EHA descrive i risultati di un recente studio sulla risposta immunitaria nei pazienti con malattie mieloproliferative dopo vaccinazione per SARS-CoV-2. Sono stati prelevati campioni di sangue (37 dopo la prima dose, 61 dopo la seconda e 30 dopo la terza) di un totale di 102 soggetti affetti da leucemia mieloide cronica, policitemia vera, trombocitemia essenziale e mielofibrosi. Sono stati dosati i livelli di anticorpi specifici e il livello di citochine infiammatorie liberate dai linfociti dopo contatto con molecole del virus in laboratorio. I pazienti con malattie mieloproliferative riescono a raggiungere adeguati tassi di risposta anticorpale e cellulare al vaccino per SARS-CoV-2, con

l'importante eccezione dei pazienti in terapia con ruxolitinib. Il farmaco, come suggeriscono altri studi recenti (tra cui uno del gruppo di Firenze), sembra interferire soprattutto con la capacità del sistema immunitario cellulare di rispondere all'infezione e mantenere memoria immunologica. Questo effetto negativo viene però contrastato dalla somministrazione di una dose "booster": la reattività dei linfociti T dopo la terza dose è risultata infatti notevolmente aumentata. Secondo le ultime ricerche sul SARS-CoV-2, la difesa delle cellule immunitarie come i linfociti T (e non solo quella data dagli anticorpi) è fondamentale per la guarigione dall'infezione, soprattutto per quanto riguarda le varianti Omicron. Questi dati, anche alla luce dell'insorgenza delle varianti virali, rafforzano le indicazioni alla vaccinazione con dosi aggiuntive nei pazienti con malattie mieloproliferative, soprattutto nei pazienti affetti da mielofibrosi e/o in trattamento con ruxolitinib.

P999 ERK1/2 INHIBITION REDUCES OSTEOPONTIN PLASMA LEVELS AND BONE MARROW FIBROSIS IN A MYELOFIBROSIS MOUSE MODEL

**L'inibizione di ERK1/2 riduce i livelli plasmatici di osteopontina e la fibrosi midollare in un modello murino di mielofibrosi primaria**

Nella mielofibrosi primaria (PMF), l'alterazione del microambiente del midollo osseo secondario alla deposizione di materiale fibroso è il tratto distintivo della PMF ed è accompagnata dalla mobilitazione delle cellule staminali ematopoietiche con conseguente extramidollare. In precedenza è stato dimostrato che l'osteopontina (OPN) contribuisce allo sviluppo della fibrosi midollare e che i livelli plasmatici di OPN sono aumentati nei pazienti con PMF, correlando con un grado di fibrosi midollare più alto, cellule CD34+ circolanti più alte e sopravvivenza inferiore. Un recente studio di Rontauroli e colleghi ha valutato il ruolo dell'inibizione dei meccanismi di produzione dell'OPN, in particolare l'inibizione delle proteine ERK1/2, in un modello murino di PMF. I risultati dello studio mostrano che l'inibizione di diverse vie di segnalazione (ERK1/2, MEK1/2, p38, canali del calcio) sono in grado di ridurre l'espressione di OPN nei monociti primari, sia a livello di RNA che di proteine. Nel modello murino di PMF, l'inibizione di ERK1/2 da parte di ulixertinib non ha influenzato lo sviluppo di trombocitosi e splenomegalia ma è stata in grado di ridurre significativamente i livelli plasmatici di OPN e contrastare lo sviluppo di fibrosi midollare. Infine, la combinazione di ulixertinib e ruxolitinib ha determinato una riduzione sia dei livelli di OPN sia della fibrosi midollare. In conclusione, questi dati dimostrano che il trattamento con ulixertinib è in grado di ridurre la produzione di OPN sia in vitro che in vivo e che l'inibizione simultanea delle vie di segnalazione ERK1/2 e JAK2 ha effetti sinergici diminuendo i livelli plasmatici di OPN e limitando la fibrosi midollare. Questi risultati forniscono un razionale per lo sviluppo di un nuovo approccio terapeutico di combinazione per i pazienti con PMF.