



Le neoplasie mieloproliferative (MPN) sono disordini clonali acquisiti della cellula staminale emopoietica e comprendono la Trombocitemia Essenziale (ET), la Policitemia Vera (PV) e la Mielofibrosi (MF). La MF può sorgere de novo (PMF) o dopo ET (Post ET-MF) e PV (Post PV-MF). Le MPN sono stati preleucemici con aspettativa di vita complessivamente ridotta (soprattutto MF e PV). Questi pazienti infatti presentano un aumentato rischio di trombosi, infezioni, seconda neoplasia, progressione della malattia (da ET/PV a MF) ed evoluzione verso leucemia acuta. E' necessario identificare fattori di rischio specifici, possibilmente correlati ad "outcome" a breve termine in termini di trombosi, infezione, morte ed eventualmente progressione della malattia (da PV/ET a MF e/o a fase blastica).

Queste malattie sono caratterizzate da mutazioni "driver" in 3 geni (JAK2, CALR e MPL), che attivano la via di segnale di JAK/STAT, e da uno stato di infiammazione cronica e disregolazione del sistema immunitario. Cellule dell'immunità innata e adattativa mostrano infatti anomalie quantitative e funzionali. Da notare che le infezioni sono una delle principali cause di morbidità e mortalità nella MF. Le MPN sono tumori del sangue al momento privi di farmaci con un potenziale curativo e che colpiscono prevalentemente l'anziano.

La senescenza cellulare è un ulteriore contributo ai meccanismi di propagazione dell'infiammazione e l'accumulo di cellule senescenti può favorire l'insorgenza di tumori. Sebbene non proliferanti, le cellule senescenti sono metabolicamente attive e secernono una varietà di molecole proinfiammatorie per comunicare con le cellule vicine (senescence-associated secretory phenotype (SASP)).

Tra i possibili meccanismi di senescenza cellulare e propagazione dell'infiammazione, il contributo delle vescicole extracellulari (EVs) è cruciale. Le EVs sono microparticelle che vengono rilasciate da vari tipi cellulari con effetti sulla comunicazione intercellulare. Le EVs sono caratterizzate da eterogeneità di dimensione, cargo (proteine, lipidi, acidi nucleici) e funzione. Le EVs sono attori fondamentali nella regolazione dell'immunità e dell'infiammazione. Inoltre, è noto che possono avere un ruolo nella propagazione di segnali di senescenza.

Il ruolo della senescenza cellulare nella patogenesi delle MPN è attualmente sconosciuto. In particolare, la capacità delle EVs di propagare segnali di senescenza e modellare in modo anomalo il microambiente immunitario deve essere ancora chiarito. L'ipotesi guida del presente progetto è che nelle MPN il microambiente infiammatorio influenza il pattern di senescenza di cellule chiave del sistema immunitario. Le cellule senescenti, a loro volta, mediano la propagazione dei segnali di senescenza, probabilmente attraverso le EVs. Infine, la senescenza mediata da EVs può contribuire a favorire l'immuno-evasione del clone maligno. A tal fine, l'analisi biomolecolare e funzionale delle EVs sarà importante per chiarire il ruolo delle EVs e della senescenza cellulare nel microambiente infiammatorio maligno delle MPN e per identificare biomarcatori per nuove strategie terapeutiche mirate alla senescenza e al blocco della propagazione dei segnali di senescenza.

**Obiettivi dello studio (massimo 3000 caratteri):** Endpoint primario; Endpoint secondari; Obiettivi esplorativi

Ad oggi, c'è un'urgente necessità di opzioni terapeutiche curative e innovative nelle MPN. Questo studio ha lo scopo di valutare se la senescenza cellulare guidata dalle EVs gioca un ruolo patogenetico nelle MPN. I goal di questo progetto sono: 1) identificare possibili biomarcatori di senescenza basati su EV, che siano specifici della malattia, correlati alla biologia del MPN e predittivi di "outcome" a breve termine per l'insorgenza di trombosi, infezioni, morte ed eventualmente progressione della malattia (da PV/ET a MF e/o da PV/MF a fase blastica) 2) definire target personalizzati per nuovi approcci terapeutici. Lo studio si propone di:

Aim 1: studiare se il fenotipo senescente è presente nelle EVs da sangue periferico o da midollo osseo di pazienti con MPN

Aim 2: valutare se l'infiammazione è un "driver" di senescenza attraverso il rilascio di EVs da parte di selezionate cellule del sistema immunitario

Aim 3: investigare se le EVs circolanti dei pazienti con MPN hanno un carico di informazioni epigenetiche correlato alla senescenza cellulare

Aim 4: studiare se le EVs circolanti dei pazienti con MPN sono capaci di propagare il fenotipo senescente

Aim 5: identificare un indice prognostico a breve termine basato sulla "signature" di senescenza delle EVs

**Disegno dello studio:** Indicare la tipologia di studio [Osservazionale (prospettivo/retrospettivo/retroprospettivo), interventistico (randomizzato/non randomizzato, in aperto/in cieco, controllato con placebo/con comparatore attivo/non controllato), studio su campioni biologici]

Questo è uno studio prospettico pluricentrico in vitro su tessuti umani. Pazienti e raccolta dei casi: Questo è uno studio di 3 anni. Pazienti: 120 pazienti con MPN (ET e PV n=45+45); MF N=30) saranno arruolati per un periodo di 22 mesi. Follow-up: 12 mesi. I pazienti (ET= Gruppo A; PV= Gruppo B; MF= Gruppo C) saranno arruolati presso l'Unità Operativa Complessa di Ematologia-IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna e presso i Centri di Ematologia di Reggio Emilia, Brescia, Meldola, Ravenna. Il campione di sangue periferico dei pazienti con ET, PV e MF (Gruppo A-C; 40 ml) e/o di midollo osseo dei pazienti con ET e PV (Gruppo A, B; 5 ml) sarà effettuato alla diagnosi nell'ambito della normale pratica clinica seguendo le linee guida di trattamento in uso presso il Centro. L'analisi dei campioni verrà effettuata presso l'Unità Operativa Complessa di Ematologia-IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna in collaborazione con l'Istituto Romagnolo per lo Studio dei Tumori "Dino Amadori" - IRST IRCCS (analisi numero e dimensione delle EVs) e con l'Università di Perugia (analisi del carico lipidico delle EVs). L'analisi dei dati verrà effettuata in collaborazione con il Dipartimento di Fisica ed Astronomia dell'Università di Bologna per ciò che riguarda le analisi di "Machine Learning". Come gruppo di controllo, saranno reclutati donatori sani "match" per sesso/età (HD; n=125; Gruppo D) per la raccolta di sangue periferico (40 ml). Nello specifico, HD (Gruppo D) saranno arruolati fra i volontari di un'organizzazione no profit denominata AIL Bologna. Il prelievo di sangue periferico degli HD verrà effettuato presso l'Unità Operativa Complessa di Ematologia-IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna dopo aver acquisito il consenso informato firmato.

**Popolazione dello studio:** Condizione/malattia; Numero di pazienti da arruolare; Criteri di inclusione; Criteri di esclusione; Se non applicabile riportare NA.

Pazienti: 120 pazienti con MPN (ET e PV n=45+45); MF N=30) saranno arruolati per un periodo di 22 mesi. Follow-up: 12 mesi. I pazienti (ET= Gruppo A; PV= Gruppo B; MF= Gruppo C) saranno arruolati presso l'Unità Operativa Complessa di Ematologia-IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna e presso i Centri di Ematologia di Reggio Emilia, Brescia, Meldola, Ravenna.

Criteri di inclusione per i pazienti (Gruppo A-C): 1. età uguale o superiore a 18 anni; 2. pazienti con diagnosi definita dal WHO 2018 di ET, PV o MF; 3. pazienti di nuova diagnosi; 4. consenso informato firmato

Criteri di esclusione per i pazienti (Gruppo A-C): 1. pazienti con concomitante seconda neoplasia

Criteri di inclusione per i donatori sani (Gruppo D): 1. età uguale o superiore a 18 anni; 2. consenso informato firmato

Criteri di esclusione per i donatori sani (Gruppo D): 1. soggetti con neoplasia

**Se studio Interventistico specificare l'intervento;** se non applicabile riportare NA.

NA

**Tempistica dello studio:** Durata dello studio per paziente; Durata dell'arruolamento; Durata dello studio in toto; se non applicabile riportare NA.

Questo è uno studio di 3 anni. Pazienti: 120 pazienti con MPN (ET e PV n=45+45); MF N=30) saranno arruolati per un periodo di 22 mesi. Follow-up: 12 mesi.

**Durata dello studio in toto: 3 anni**

**Durata dell'arruolamento: 22 mesi**

**Durata dello studio per paziente: 12 mesi**

Per la dichiarazione dei conflitti d'interesse si rinvia al relativo documento presentato e valutato dal Comitato Etico di competenza ai sensi di legge.