

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA
SCUOLA SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE
SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN EMATOLOGIA

Direttore Prof. Roberto Massimo Lemoli



**Analisi retrospettiva monocentrica degli outcomes
clinici e delle classi di rischio nei pazienti affetti da
mielofibrosi primitiva e secondaria.**

Relatore: **Prof. Maurizio Miglino**

Candidato: **Hashem Mahmoud**

Matricola: **5012383**

Data: **22/06/2026**

INDICE

| | |
|---|----|
| INTRODUZIONE..... | 3 |
| ANALISI RETROSPETTIVA MONOCENTRICA | 14 |
| RISULTATI | 17 |
| Statistiche popolazione globale | 17 |
| Caratteristiche dei pazienti affetti da PMF | 18 |
| Caratteristiche dei pazienti affetti da SMF | 20 |
| Confronto tra PMF e SMF | 21 |
| Analisi dei fattori di rischio e loro significato prognostico | 23 |
| Risultati analisi genetica..... | 35 |
| Analisi degli outcomes globali | 37 |
| Classificazione di rischio ed analisi per classe | 41 |
| DISCUSSIONE DEI RISULTATI E CONCLUSIONI..... | 58 |
| BIBLIOGRAFIA | 62 |

INTRODUZIONE

Con il termine Mielofibrosi si definisce un insieme di patologie ematologiche clonali caratterizzate da alterazioni dell'emopoiesi e fibrosi del midollo osseo, oltre a possibili segni e sintomi sistemici. Questa condizione rientra tra le neoplasie mieloproliferative croniche (MPN), un gruppo eterogeneo di malattie che condividono una proliferazione clonale, e tendenzialmente aumentata, di una o più linee cellulari mieloidi (granulociti, eritrociti, piastrine) che mantengono la loro capacità di differenziazione cellulare, ma che si differenziano per i meccanismi genetici, fisiopatologici e clinici.

Secondo la classificazione dell'OMS quinta edizione, e l'International Consensus Classification (ICC) del 2022, le MPN si suddividono in due grandi gruppi: la Leucemia Mieloide Cronica (LMC), che è caratterizzata dalla traslocazione cromosomica (9;22) e dalla formazione del cromosoma Philadelphia, e le MPN Philadelphia negative (MPN Ph-). Le MPN Ph- includono patologie come la Policitemia Vera (PV), la Trombocitemia Essenziale (TE) e la Mielofibrosi Primitiva (PMF), che può essere ulteriormente suddivisa in Mielofibrosi in fase pre-fibrotica e Mielofibrosi fibrotica (o "Overt"/Conclamata). Inoltre, il gruppo delle MPN Ph- comprende anche la Leucemia Neutrofilica Cronica (CNL), la Leucemia Eosinofilica Cronica non altrimenti specificata (CEL-NOS) e le Neoplasie Mieloproliferative Croniche non altrimenti classificabili (MPN-U).¹

Tra le MPN Ph-, la PV e la TE condividono con la PMF alcune caratteristiche genetiche, fisiopatologiche e cliniche e, con il tempo, possono evolvere in forme di Mielofibrosi secondaria. Quando ciò accade, la condizione prende il nome rispettivamente di Mielofibrosi post Policitemia Vera (PPV-MF) e Mielofibrosi post Trombocitemia Essenziale (PTE-MF).

Il tratto distintivo della MF, sia primitiva che secondaria, è un aumento del numero di megacariociti e precursori mieloidi a livello midollare, che derivano da un'espansione clonale causata da mutazioni genetiche nelle cellule staminali emopoietiche pluripotenti. La risposta a questo processo mieloproliferativo è la secrezione di numerose citochine

profibrogene, angiogeniche e infiammatorie, che alla fine porta alla fibrosi policlonale del midollo osseo. Il tratto biologico distintivo della malattia è la deregulation della via di segnalazione delle Janus chinasi e del trasduttore di attivazione della trascrizione (via JAK-STAT). La MF è tipicamente associata a eritropoiesi extra midollare con splenomegalia progressiva, leucoeritroblastosi e, in molti casi, epatomegalia, che possono portare ad altre complicazioni, come l'ipertensione portale o gli infarti splenici, le citopenie e una maggiore probabilità di trasformarsi in fase blastica.

La mielofibrosi primitiva (PMF) è una malattia che si manifesta tipicamente dopo i 50 anni. L'incidenza della malattia è di circa 0,5-1,5 casi per 100.000 persone per anno nei paesi Europei. Negli adulti, la malattia si presenta con frequenza simile sia negli uomini che nelle donne. L'età media alla diagnosi è di circa 65–70 anni (età media di esordio di 67 anni), sebbene la malattia possa verificarsi occasionalmente anche nei neonati e nei bambini.²

La diagnosi è basata principalmente sull'analisi istologica della biopsia osteomidollare, cui si accompagnano criteri clinici e laboratoristici secondo le indicazioni WHO 5th Edition/ICC 2022 (Tabella I).

La mielofibrosi primitiva viene distinta in due categorie, che potrebbero rappresentare fasi non obbligatorie di transizione dalla prima alla seconda. Nelle fasi iniziali (categoria della “early o prefibrotic-PMF”) il midollo è solitamente ipercellulare con preminente proliferazione granulocitaria e megacariocitaria e riduzione della linea eritroide. L'aspetto che caratterizza questa fase, oltre alle alterazioni morfologiche dei megacariociti, è la presenza di fibrosi midollare di grado non superiore ad 1 secondo i criteri di gradazione 0-3, mentre nella forma conclamata o “overt” il midollo tende ad essere progressivamente ipocellulato con riduzione in particolare della componente eritroide e prevalenza di proliferazione megacariocitaria, con elementi fortemente abnormi sotto il profilo morfologico e con spiccata tendenza alla formazione di cluster coesi, e con presenza di fibrosi di grado almeno 2. Nella attuale classificazione, la diagnosi viene facilitata dalla presenza di almeno uno dei criteri minori; a differenza della forma “overt” o avanzata di MF non è presente leucoeritroblastosi. Si noti che la mutazione di JAK2 V617F, MPL e CALR fa parte dei criteri maggiori per stabilire la

clonalità della malattia. In assenza delle mutazioni driver, la clonalità della malattia può essere dimostrata con una delle mutazioni non driver epigenetiche.

| | PREFIBROTIC /EARLY PMF | OVERT PMF |
|--|---|--|
| Criteri maggiori: | <p>1) Proliferazione della linea megacariocitaria e atipia# associata SENZA fibrosi reticolinica di grado > 1 associato a un incremento della cellularità midollare, con proliferazione dei granulociti e spesso ridotta eritropoiesi (fase di malattia cellulare, pre-fibrotica)</p> <p>2) Assenza di criteri WHO per PV, LMC, MDS o altre neoplasie mieloidi</p> <p>3) Presenza della mutazione JAK2V617F, CALR o MPL O di altre anomalie clonali O nessuna evidenza di fibrosi midollare reattiva *</p> | <p>1) Proliferazione della linea megacariocitaria e atipia# associata alla presenza di fibrosi reticolinica e/o fibrosi collagene di grado ≥ 2 o 3</p> <p>2) Assenza di criteri WHO per PV, LMC, MDS o altre neoplasie mieloidi</p> <p>3) Presenza della mutazione JAK2V617F, CALR o MPL O di altre anomalie clonali O nessuna evidenza di fibrosi midollare reattiva *</p> |
| | #Rapporto nucleo/citoplasmatico aberrante; nuclei ipercromatici e irregolarmente ripiegati; formazione di cluster densi; | |
| | *infezioni, malattie autoimmuni o altre condizioni infiammatorie croniche, leucemia a cellule capellute o altre neoplasie linfoidi, neoplasie metastatiche o mielopatie tossiche croniche | |
| Criteri minori: (in almeno 2 determinazioni consecutive) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Leucocitosi $\geq 11000/\text{mm}^3$ 2. Aumento dei livelli sierici di LDH 3. Anemia non dovuta ad altre condizioni 4. Splenomegalia palpabile | <ol style="list-style-type: none"> 1. Leucocitosi $\geq 11000/\text{mm}^3$ 2. Leucoeritroblastosi 3. Aumento dei livelli sierici di LDH 4. Anemia non dovuta ad altre condizioni 5. Splenomegalia palpabile |
| Combinazioni diagnostiche: | Tutti e 3 i criteri maggiori + 1 criterio minore | Tutti e 3 i criteri maggiori + 1 criterio minore |
| Grading fibrosi: | <ul style="list-style-type: none"> - MF grado 0: reticolina lineare sparsa senza intersezioni (cross-over) corrispondente al midollo osseo normale - MF grado 1: rete lassa di reticolina con numerose intersezioni, soprattutto nelle aree perivascolari - MF grado 2: aumento diffuso e denso della reticolina con estese intersezioni, occasionalmente con fasci focali di fibre spesse per lo più coerenti con collagene e/o osteosclerosi focale - MF grado 3: aumento diffuso e denso della reticolina con estese intersezioni e fasci grossolani di fibre spesse per lo più coerenti con il collagene, solitamente associato all'osteosclerosi | |

Le mutazioni drivers, ovvero mutazioni acquisite il cui evento promuove l'insorgenza della malattia, avvengono a livello delle proteine JAK2 (Janus kinase 2),

CALR (carleticulina) e MPL (myeloproliferative leukemia virus oncogene, ovvero il recettore per la trombopoietina TPO-R).

Nelle cellule staminali emopoietiche si possono sviluppare queste mutazioni somatiche tra loro mutuamente esclusive, e tutte esse agiscono deregolando l'attivazione della via JAK-STAT. Fisiologicamente, il pathway di JAK-STAT ha un ruolo essenziale nella segnalazione mediata da citochine che stimolano l'emopoiesi, quali l'eritropoietina, la trombopoietina e il fattore stimolante le colonie di granulociti. Per questo motivo, le mutazioni driver, promuovendo questo pathway, favoriscono la proliferazione, la differenziazione e la sopravvivenza delle cellule della linea mieloide (Figura 1).

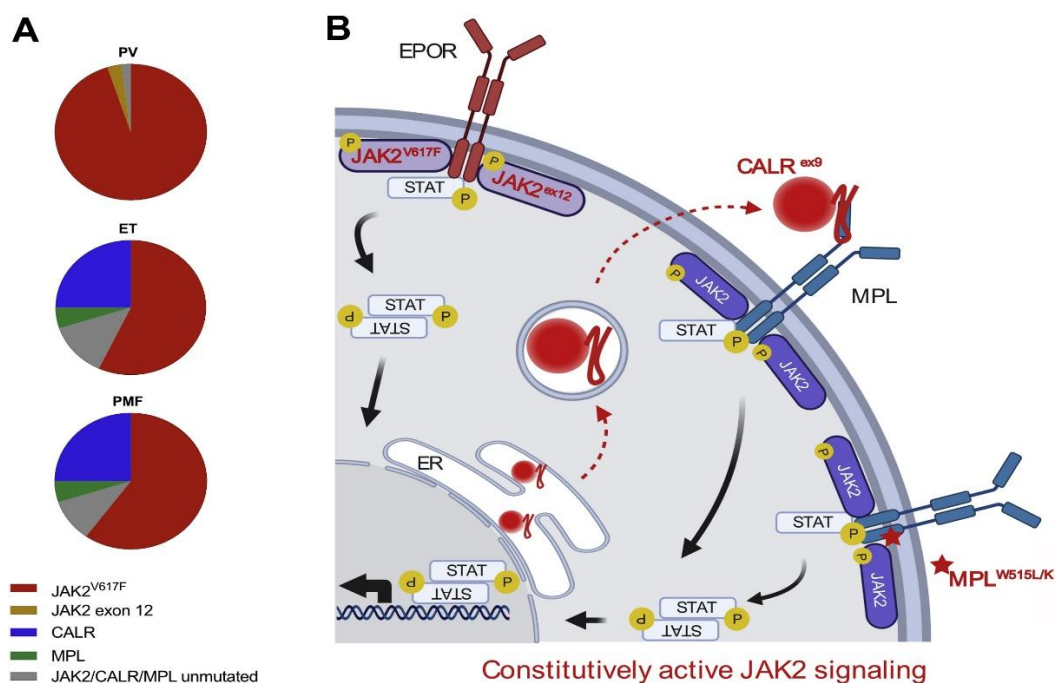


Figura 1 A): Frequenza delle mutazioni driver nelle diverse MPN; B): mutazione V617F del gene JAK2 si associa a EPOR e MPL in tutti i sottotipi di MPN. Le mutazioni nell'esone 12 del gene JAK2 si associa esclusivamente a EPOR nelle PV. Le mutazioni CALR si trovano nell'esone 9 e si presentano in ET e PMF. Mutazioni di MPL sono a carico dell'esone 10 come mutazioni missense soprattutto del residuo W515L e si trovano in pazienti con ET e PMF. Le tre mutazioni driver somatiche (JAK2, CALR e MPL) convergono nella attivazione costitutiva del pathway di signaling JAK2-STAT. (Szybinski, 2021).

Gli effetti della cascata JAK-STAT nella patogenesi della mielofibrosi sono legati anche al suo ruolo nel rilascio di citochine pro-infiammatorie, che risultano aumentate nelle MPN e sono direttamente correlate alla presenza di sintomi sistemici.

Come detto le mutazioni driver delle MPN possono avvenire direttamente a livello della proteina JAK2 (JAK2 V617F e, solo nella PV, anche mutazioni a carico dell'esone 12), oppure a monte della stessa, a livello del recettore per la trombopoietina

determinandone l'attivazione costitutiva (in particolare MPL W515L), o della calreticulina (CALR); mentre le mutazioni a livello di JAK2 e MPL sono di tipo “gain of function”, in quest'ultimo caso il meccanismo patogenetico è dato dal fatto che la calreticulina mutata, anziché rimanere ancorata al citoscheletro a livello intracellulare, viene secreta (solitamente associata al recettore solubile per la transferrina sTFR1), ed a sua volta si lega al TPO-R determinandone l'attivazione.

Una minoranza dei casi di mielofibrosi primitiva, circa il 5%, non presenta invece mutazioni note a livello del sistema JAK-STAT, e costituiscono la cosiddetta variante “triplo negativa”.

La Mielofibrosi Secondaria (SMF) rappresenta l'evoluzione fibrotica di altre neoplasie mieloproliferative croniche Philadelphia-negative, in particolare della Policitemia Vera (PV) e della Trombocitemia Essenziale (TE). In questi casi, la trasformazione mielofibrotica è il risultato di una progressiva alterazione clonale delle cellule staminali emopoietiche, che comporta un esaurimento della capacità proliferativa efficace e un aumento della fibrosi midollare.

Dal punto di vista nosologico, la SMF si distingue in due forme:

- Mielofibrosi post-Policitemia Vera (PPV-MF)
- Mielofibrosi post-Trombocitemia Essenziale (PTE-MF)

Queste condizioni condividono molte caratteristiche morfologiche, cliniche e molecolari con la mielofibrosi primitiva in fase conclamata (“overt PMF”), ma si differenziano per la storia naturale della malattia e per i criteri diagnostici, che richiedono la documentata evoluzione da una precedente PV o TE secondo i criteri OMS/ICC. La diagnosi di SMF si basa sulla dimostrazione istologica di fibrosi midollare (grado ≥ 2 secondo la scala OMS) in un paziente con storia pregressa di PV o TE, in presenza di segni clinici e laboratoristici compatibili con la progressione fibrotica.

I criteri maggiori e minori sono definiti dalla classificazione WHO 5th Edition/ICC 2022 (Tabella II):

| | PPV-MF | PTE-MF |
|-----------------------------------|---|--|
| Criteri maggiori: | 1) Diagnosi pregressa di PV secondo criteri WHO 2) Evidenza istologica di fibrosi midollare reticolinica e/o collagena di grado ≥ 2 | 1) Diagnosi pregressa di TE secondo criteri WHO 2) Evidenza istologica di fibrosi midollare reticolinica e/o collagena di grado ≥ 2 |
| Criteri minori: | *Presenza di anemia o peggioramento significativo dei parametri ematologici, *splenomegalia nuova o progressiva *Leucoeritroblastosi *Sintomi costituzionali | *Presenza di anemia o peggioramento significativo dei parametri ematologici, *splenomegalia nuova o progressiva *Leucoeritroblastosi *Sintomi costituzionali *incremento LDH UNL |
| Combinazioni diagnostiche: | Tutti e 2 i criteri maggiori + 2 criteri minori | |

Dal punto di vista clinico, la SMF condivide molte manifestazioni con la PMF avanzata: splenomegalia, sintomi costituzionali, leucoeritroblastosi periferica, citopenie e eritropoiesi extramidollare. Tuttavia, i pazienti con SMF tendono a presentare una storia ematologica più lunga, con una fase iniziale di iperproliferazione (eritrocitosi nella PV o trombocitosi nella TE) seguita da progressivo esaurimento midollare e comparsa di fibrosi.

Le mutazioni JAK2 V617F, CALR e MPL sono presenti nella grande maggioranza dei casi e riflettono la continuità biologica con la malattia originaria. La frequenza della mutazione JAK2 V617F è particolarmente elevata nella PPV-MF (> 95%), mentre nella PTE-MF compaiono anche le mutazioni CALR e MPL con frequenza simile a quella della PMF. Come nella PMF, anche nella SMF possono coesistere mutazioni aggiuntive “high molecular risk” (ASXL1, EZH2, SRSF2, IDH1/2, U2AF1), che influenzano negativamente la prognosi.⁴

Nella gestione clinica della mielofibrosi, sia primitiva che secondaria, la corretta classificazione del rischio individuale rappresenta uno dei capisaldi della good clinical practice.

Negli anni sono stati riconosciuti molti fattori, inizialmente clinici e successivamente genetici, che hanno un peso nel determinare l'impatto clinico della mielofibrosi, sia inteso come burden di sintomi e disabilità, sia come sopravvivenza libera da progressione e sopravvivenza globale.

L'utilizzo di questi score è fondamentale in tutti i pazienti affetti da mielofibrosi, ma risulta particolarmente necessario nei pazienti giovani, indicativamente fino ai 70 anni, che potenzialmente sono candidabili all'unica terapia curativa possibile, il trapianto di cellule staminali ematopoietiche.

Attualmente nella pratica clinica per quanto riguarda la PMF sono utilizzati score che valutano solo fattori clinici (IPSS, DIPSS), solo fattori genetici (MIPSS) e sia fattori clinici che genetici, a livello di analisi citogenetica (DIPSS+), molecolare (MIPSS70) o entrambi (IPSS70+ 2.0).

I parametri utilizzati nella determinazione di questi score sono riassunti nella seguente tabella:

| Score | Fattori di rischio (punteggi) | Classi di rischio / Punteggio totale | Sopravvivenza globale mediana (OS) |
|----------------------|--|---|---|
| IPSS | <ul style="list-style-type: none"> • Età > 65 anni (1) • Sintomi costituzionali (1) • Hb < 10 g/dL (1) • Leucociti > 25×10⁹/L (1) • Blasti periferici ≥ 1% (1) | <ul style="list-style-type: none"> • Basso: 0 • Intermedio-1: 1 • Intermedio-2: 2 • Alto: ≥ 3 | Basso ≈ 11,3 anni Int-1 ≈ 7,9 anni Int-2 ≈ 4 anni Alto ≈ 2,3 anni |
| DIPSS | Stessi fattori dell'IPSS, ma Hb < 10 g/dL vale 2 punti . | <ul style="list-style-type: none"> • Basso: 0 • Intermedio-1: 1-2 • Intermedio-2: 3-4 • Alto: 5-6 | Basso: NR Intermedio-1 ≈ 14,2 anni Intermedio-2 ≈ 4 anni Alto ≈ 1,5 anni |
| DIPSS+ | Tutti i fattori del DIPSS +: <ul style="list-style-type: none"> • Dipendenza trasfusionale (1) • Piastrine < 100×10⁹/L (1) • Cariotipo sfavorevole (1) | <ul style="list-style-type: none"> • Basso: 0 • Intermedio-1: 1 • Intermedio-2: 2-3 • Alto: ≥ 4 | Basso ≈ 15,4 anni Intermedio-1 ≈ 6,5 anni Intermedio-2 ≈ 2,9 anni Alto ≈ 1,3 anni |
| MIPSS70 | Fattori clinici e molecolari (età ≤ 70 anni): <ul style="list-style-type: none"> • Hb < 10 g/dL (1) • Leucociti > 25×10⁹/L (2) • Piastrine < 100×10⁹/L (2) • Blasti periferici ≥ 2% (1) • Fibrosi midollare ≥ grado 2 (1) • Sintomi costituzionali (1) • Assenza mutazione CALR tipo 1 (1) • 1 mutazione HMR (1) • ≥ 2 mutazioni HMR (2) | <ul style="list-style-type: none"> • Basso: 0-1 • Intermedio: 2-4 • Alto: ≥ 5 | Basso ≈ 27,7 anni Intermedio ≈ 7,1 anni Alto ≈ 2,3 anni |
| MIPSS70+ v2.0 | <ul style="list-style-type: none"> • Anemia severa (Hb < 8 g/dL donne, < 9 uomini) (2) • Anemia moderata (Hb 8-9,9 donne / 9-10,9 uomini) (1) • Blasti periferici ≥ 2% (1) • Assenza mutazione CALR tipo 1/like (2) • 1 mutazione HMR (2) • ≥ 2 mutazioni HMR (3) • Cariotipo “very high risk” (4) • Cariotipo “unfavourable” (3) | <ul style="list-style-type: none"> • Molto basso: 0 • Basso: 1-2 • Intermedio: 3-4 • Alto: 5-8 • Molto alto: ≥ 9 | Molto basso: NR Basso ≈ 16,4 anni Intermedio ≈ 7,7 anni Alto ≈ 4,1 anni Molto alto ≈ 1,8 anni |
| MYSEC-PM | <ul style="list-style-type: none"> * Età` (0,15*anno) * Sintomi costituzionali (1) * Hb <11g/dl (2) * Blasti ≥3% (2) * Plt <150000/mm3 * Assenza di mutazione CALR | <ul style="list-style-type: none"> *Low <11 *Int-1: 11-13.9 *Int-2: 14-15.9 *High ≥16 | Low NR Int-1 9.3 y Int-2 4.4 y High 2 y |

Le mutazioni prese in considerazione negli score prognostici sono le seguenti:

- DIPSS+³: Cariotipo complesso, trisomia 8, delezione 7 o braccio lungo 7, delezione 5 o braccio lungo 7, delezione del braccio corto del 12, isocromosoma del braccio lungo del 17 (uno dei bracci del cromosoma originale viene perso e le braccia dell'isocromosoma risultanti sono geneticamente identici l'uno all'altro), inversione del 3, riarrangiamento banda 23 del braccio lungo del cromosoma 11
- MIPSS70⁴: *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1/2*
- MIPSS70+⁵ 2.0:
 - *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1/2*, *U2AF1*
 - UF: qualsiasi cariotipo diverso da quello normale o dalle singole anomalie -20q, -13q, +9, traslocazioni e duplicazioni del 1, -Y o altre alterazioni dei cromosomi sessuali
 - VHR: single/multiple abnormalities of -7, i(17q), inv(3)/3q21, 12p-/12p11.2, 11q-/11q23, or other autosomal trisomies not including +8/ +9 (e.g., +21, +19)

La sopravvivenza nella SMF è generalmente sovrapponibile o lievemente superiore a quella della PMF, ma varia ampiamente in base ai fattori clinici e molecolari. Per la valutazione prognostica è stato sviluppato uno score specifico, il MYSEC-PM⁶ (Myelofibrosis Secondary to PV and ET Prognostic Model), che integra variabili cliniche e genetiche per stratificare i pazienti in quattro categorie di rischio: basso, intermedio-1, intermedio-2 e alto.

Questo modello ha dimostrato una buona capacità predittiva della sopravvivenza globale e dell'evoluzione leucemica, ed è oggi lo strumento di riferimento per la gestione clinica della mielofibrosi secondaria.

Il trattamento della mielofibrosi, sia primitiva che secondaria, si basa su una strategia personalizzata che considera l'età del paziente, lo stadio di malattia, le comorbidity, il rischio clinico e genetico, il burden sintomatico e l'obiettivo terapeutico, che può essere palliativo, sintomatico o curativo. La gestione clinica della MF ha subito negli ultimi anni un'evoluzione significativa grazie alla comprensione dei meccanismi

molecolari della malattia, in particolare del ruolo delle mutazioni driver e della via JAK-STAT, e allo sviluppo di farmaci mirati.

Un elemento centrale nella gestione della MF è il controllo dei sintomi costituzionali e della splenomegalia, che possono ridurre significativamente la qualità di vita. Le opzioni di trattamento sintomatico includono:

1. Farmaci citoreducenti: Idrossicarbamide è storicamente utilizzata per ridurre la splenomegalia e migliorare i sintomi ematologici come leucocitosi o trombocitosi, soprattutto nei pazienti con MF ad alto carico splenico o con citopenie controllabili. Tuttavia, non influisce sulla fibrosi midollare né sulla sopravvivenza a lungo termine.
2. Terapie sintomatiche: Corticosteroidi a basso dosaggio, anti-infiammatori non steroidei (FANS) e farmaci anti-prurito possono essere utilizzati per controllare prurito, dolore osseo e sintomi costituzionali. L'uso prolungato di corticosteroidi è limitato dalle complicanze sistemiche.
3. Supporto ematologico: Trasfusioni di globuli rossi o piastrine sono indicate nei pazienti con anemia o trombocitopenia sintomatica, mentre l'uso di agenti stimolanti l'eritropoiesi (ESA) può essere considerato in casi selezionati, soprattutto in MF a basso rischio con anemia lieve-moderata.

Il trattamento farmacologico di prima linea, soprattutto nei pazienti con MF sintomatica e splenomegalia, prevede l'impiego degli inibitori della Janus chinasi (JAK), che agiscono riducendo l'attivazione aberrante della via JAK-STAT:

1. Ruxolitinib: È il primo JAK1/2 inibitore approvato per PMF e SMF sintomatica. È indicato nei pazienti con splenomegalia rilevante o sintomi sistemici moderati-gravi. Ruxolitinib riduce significativamente il volume della milza e i sintomi costituzionali e migliora la qualità della vita. Gli effetti collaterali più comuni includono citopenie, in particolare anemia e trombocitopenia, che richiedono aggiustamenti posologici. Studi a lungo termine hanno suggerito anche un possibile beneficio sulla sopravvivenza.
2. Fedratinib: Inibitore selettivo di JAK2, approvato per pazienti con PMF o SMF che non tollerano o non rispondono a ruxolitinib. Può essere particolarmente utile

in presenza di trombocitosi o splenomegalia refrattaria. La principale limitazione clinica è il rischio di encefalopatia Wernicke, richiedendo supplementazione preventiva di tiamina.

3. Momelotinib e pacritinib: Sono inibitori in sviluppo avanzato o approvati in contesti specifici, indicati rispettivamente per pazienti con anemia significativa o trombocitopenia grave. Questi farmaci ampliano le opzioni terapeutiche soprattutto nei casi più complessi.

L'unica terapia con potenziale curativo per la MF rimane il trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (allo-HSCT). L'indicazione è particolarmente rilevante nei pazienti giovani (generalmente fino a 70 anni) con MF ad alto rischio, in presenza di mutazioni ad alto rischio o progressione della malattia. Il successo del trapianto dipende da vari fattori: età, comorbidità, stato funzionale, compatibilità HLA del donatore, e controllo della splenomegalia pre-trapianto.

Il trapianto può essere preceduto da una terapia di riduzione della malattia (ruxolitinib o chemio-soppressiva) per ridurre volume splenico e carico mieloproliferativo, migliorando la tollerabilità del regime di condizionamento. Le complicanze principali dell'allo-HSCT includono mortalità legata al trapianto, malattia del trapianto contro l'ospite (GvHD) e infezioni opportunistiche. Nonostante ciò, il trapianto rimane l'unica opzione con potenziale di remissione completa, inclusa la regressione della fibrosi midollare.

La mielofibrosi secondaria (PPV-MF e PTE-MF) richiede un approccio analogo a quello della PMF, con alcune differenze:

- La progressione da PV o TE a MF secondaria può essere più lenta e spesso presenta splenomegalia meno pronunciata nella fase iniziale.
- L'uso di inibitori JAK è indicato nei pazienti sintomatici con splenomegalia o sintomi costituzionali, come nella PMF. Tuttavia, la valutazione prognostica deve considerare il tempo trascorso dalla malattia di base e l'eventuale accumulo di mutazioni ad alto rischio.

- L'allo-HSCT rimane la sola opzione curativa per i pazienti ad alto rischio di MF secondaria, soprattutto nei soggetti giovani con mutazioni adverse o rapida progressione clinica.

In conclusione, il trattamento della MF, sia primitiva che secondaria, richiede un approccio multidisciplinare e personalizzato, che combini gestione sintomatica, terapie mirate e, nei pazienti idonei, la possibilità di trapianto allogenico. La scelta terapeutica è guidata da un bilancio tra rischio della malattia, potenziale beneficio della terapia e tollerabilità, considerando anche gli sviluppi molecolari che stanno aprendo nuove prospettive terapeutiche.

ANALISI RETROSPETTIVA MONOCENTRICA

Scopi dello studio

Lo scopo principale di questo studio è stato quello di analizzare retrospettivamente le caratteristiche cliniche e biologiche di malattia in una coorte di pazienti seguita presso il nostro centro, con particolare attenzione riguardo ai fattori di rischio noti per essere associati con una prognosi peggiore in merito a sopravvivenza globale ed evoluzione, confermare la significatività di tali fattori nella nostra popolazione e valutare l'efficacia della stratificazione eseguita considerando i parametri presenti alla diagnosi nel correlare con gli outcomes clinici (Overall Survival e Progression Free Survival) osservati nelle rispettive classi di rischio.

È stata inoltre valutata l'influenza di dati relativi a fattori di rischio genetico, non noti per un numero sufficiente di pazienti per eseguire indagini statistiche, nella decisione sulle scelte cliniche relative ad alcuni pazienti.

Pazienti e metodi

Sono stati considerati i pazienti seguiti per mielofibrosi presso la U.O. Clinica Ematologica dell'Ospedale Policlinico San Martino tra Gennaio 2019 ed Ottobre 2025. Tra di essi sono stati inclusi i pazienti con diagnosi di Mielofibrosi Primitiva (EMF) o

OMF) e secondaria (PPV-MF e PTE-MF) secondo i criteri WHO (istologici, biologici e clinici) corrispondenti al momento della diagnosi, avvenuta tra il 1999 ed il 2025; sono stati inoltre inclusi due pazienti in cui la biopsia osteomidollare non era risultata diagnostica (per inadeguatezza del campione), in considerazione della concordanza tra tutti gli altri criteri biologici, clinici e laboratoristici. Sono stati quindi inclusi nello studio i pazienti che in tale periodo di tempo avessero eseguito almeno 3 controlli presso la nostra struttura e fossero rimasti in follow-up per almeno 6 mesi, o almeno 4 mesi se attualmente in follow-up attivo; sono stati esclusi i pazienti in cui la diagnosi di mielofibrosi è stata posta dopo l'ultimo accesso presso la nostra struttura (presso altro centro) ed i pazienti che abbiano manifestato all'esordio un quadro di leucemia acuta mieloide secondaria a mielofibrosi.

I pazienti così selezionati sono stati 95, e di essi sono stati raccolti i dati alla diagnosi relativi a: stato mutazionale, analisi citogenetica, valori emocromocitometrici, conta citofluorimetrica di cellule CD34+ su sangue periferico, presenza di sintomi costituzionali, splenomegalia (misurata ecograficamente e definita come ≥ 13 cm), grado di fibrosi midollare e necessità trasfusionali.

Tali dati sono stati sottoposti ad analisi univariata per valutarne l'influenza sulla OS della popolazione globale e, per quelli risultati significativi, ad analisi multivariata.

È stata valutata anche la diversa espressione di tali valori tra le forme primitive (EMF e OMF) e secondarie (PPV-M e PTE-MF) e la differenza in OS tra le stesse.

Sono stati inoltre acquisiti i dati relativi alle stesse caratteristiche e alle terapie eseguite relativamente alla sindrome mieloproliferativa attuale o pregressa al momento dell'ultima valutazione presso il nostro centro o, nei pazienti che sono andati incontro a progressione leucemica, all'ultima valutazione prima della progressione (relativamente alle terapie sono state indicate anche quelle eseguite in fase leucemica).

In 16 pazienti in cui erano disponibili sono stati analizzati i risultati relativi all'analisi NGS, eseguita alla diagnosi o in seguito.

I pazienti sono stati quindi suddivisi nelle rispettive classi di rischio in base allo score prognostico più adeguato alle loro caratteristiche alla diagnosi: IPSS e DIPSS per tutti i pazienti affetti da PMF; MYSEC per tutti i pazienti affetti da SMF; DIPSS+,

MIPSS70 e MIPSS70+ 2.0 per tutti i pazienti con caratteristiche citogenetiche e/o molecolari note.

Per quanto riguarda i dati relativi all'NGS e gli score prognostici ad esso legati (MIPSS70 e MIPSS70+ 2.0), considerata l'esiguità del campione ed il fatto che nella totalità dei casi sono stati ottenuti in un momento successivo alla diagnosi, non stati utilizzati nella valutazione della sopravvivenza e della PFS ma unicamente riportati ed utilizzati nella discussione di singoli casi in cui hanno cambiato le scelte cliniche.

Sulla base delle varie classificazioni sono state prodotte delle curve Kaplan Meier relative alla Overall Survival ed alla Progression Free Survival (registrando come evento il passaggio a fase accelerata ed a fase leucemica).

Relativamente all'analisi di OS i pazienti sono stati censorizzati al momento dell'ultima visita (in presenza o, in casi selezionati, da remoto) presso il nostro centro; i pazienti sottoposti a trapianto allogenico sono stati valutati sia censorizzando i dati al momento del trapianto, sia proseguendo l'osservazione fino all'ultima visita presso il nostro centro o presso il centro trapianti (analisi "intention to treat").

Relativamente all'analisi di PFS i pazienti sono stati censorizzati al momento dell'ultima visita presso il nostro centro prima dell'eventuale trapianto allogenico.

Analisi statistica

Tutti i test statistici, tranne quando altrimenti riportato, sono stati effettuati assumendo come valore di significatività $p < 0,05$.

L'analisi dei fattori di rischio è stata effettuata determinando i valori di HR con IC95% mediante regressione di Cox univariata; i fattori che hanno mostrato una correlazione significativa sono stati sottoposti anche ad analisi multivariata. Per quanto riguarda l'analisi nei pazienti affetti da PMF sono stati adottati come valori soglia quelli utilizzati negli score IPSS-DIPSS e DIPSS+ (Hb ≤ 10 g/dl, CD34+ $\geq 1\%$, Plt ≤ 100000 /mm³, WBC ≥ 25000 /mm³, Eta' ≥ 65 anni); per la valutazione della splenomegalia è stata effettuata un'analisi preliminare che ha determinato un valore di cut-off di 20cm. Nei pazienti affetti da SMF sono stati invece utilizzati i valori di rischio previsti dallo score MYSEC (Hb < 11 g/dl, Plt < 150000 /mm³) tranne che per le CD34+ per cui, dato che solo un paziente mostrava valori superiori a quelli considerati nello score MYSEC

(>3%), e' stata condotta l'analisi anche con cut-off ad 1%; infine sono stati conservati il valore di cut-off per eta' a 65 anni (per la difficoltà di adattare il sistema progressivo del MYSEC) e splenomegalia pari a 20cm.

Il confronto tra i valori alla diagnosi nella PMF (EMF e OMF) e quelli nella SMF (PPV-MF e PTE-MF) e' stato condotto sottoponendo preliminarmente i dati ad un test di normalità di Shapiro-Wilk; per i valori a distribuzione normale e' stato quindi utilizzato un test di comparazione ANOVA con correzione di Sidak per l'analisi post-hoc, mentre per i valori non gaussiani e' stato usato un test non parametrico di Kruskal-Wallis con analisi post-hoc con test di Dunn. I test di distribuzione per variabili categorizzabili sono stati eseguiti mediante test del χ^2 test o test di Fischer.

Le curve di sopravvivenza (Overall survival e Progression Free Survival) sono state create secondo il metodo di Kaplan-Meier ed analizzate utilizzando il test Log-rank per la significatività ed e' stato calcolato l'indice di correlazione per gli score di rischio (C index).

Le analisi statistiche e la rappresentazione grafiche sono state effettuate utilizzando i software Jamovi 2.6.44, GraphPad Prism 8.0.1 e RStudio 2025.9.1.

RISULTATI

Statistiche popolazione globale

In totale sono stati inclusi nello studio 95 pazienti, 57 maschi e 38 femmine, di eta' media pari a 60,9 anni (compresa tra i 26 e gli 86 anni); di questi il 58% era affetto da PMF ed il 42% da SMF. Il follow-up medio e' stato di 87 mesi (da 4 a 326 mesi) ed al momento della censorizzazione risultavano in vita 63 pazienti, di cui 47 attualmente seguiti presso il nostro centro e 12 in follow-up presso il centro trapianti; 33 pazienti sono deceduti e 3 sono stati persi al follow-up (2 trasferiti, una non tornata a visita da piu' di 12 mesi).

| | | |
|----------------------------|-------------------------------------|--------------|
| POPOLAZIONE TOTALE | 95 | |
| MASCHI/FEMMINE | 57 (60%) | 38 (40%) |
| ETA` MEDIA DIAGNOSI | 60,9 (26-86) | |
| | 62,2 (29-86) | 59,0 (26-83) |
| PMF/SMF | 55 (58%) | 40 (42%) |
| FOLLOW UP | 87 mesi (4-326) | |
| VIVENTI | 63 (66,3%) | |
| | M 34 (60%) | F 29 (76%) |
| IN FOLLOW UP | 47 + 13 seguiti da centro trapianti | |
| OVERALL SURVIVAL | mediana 179 mesi (IC 95% 142-NR) | |

Tabella 2 Riassunto della popolazione generale dello studio

Caratteristiche dei pazienti affetti da PMF

I pazienti affetti da mielofibrosi primitiva sono risultati il 60% del totale; il rapporto tra maschi e femmine e' risultato 1,75:1 e l'eta' media alla diagnosi pari a 60,8 anni (26-86); il profilo genetico relativo alle mutazioni driver e' mostrato in tabella.

Tabella 4 Frequenze di mutazioni driver in PMF

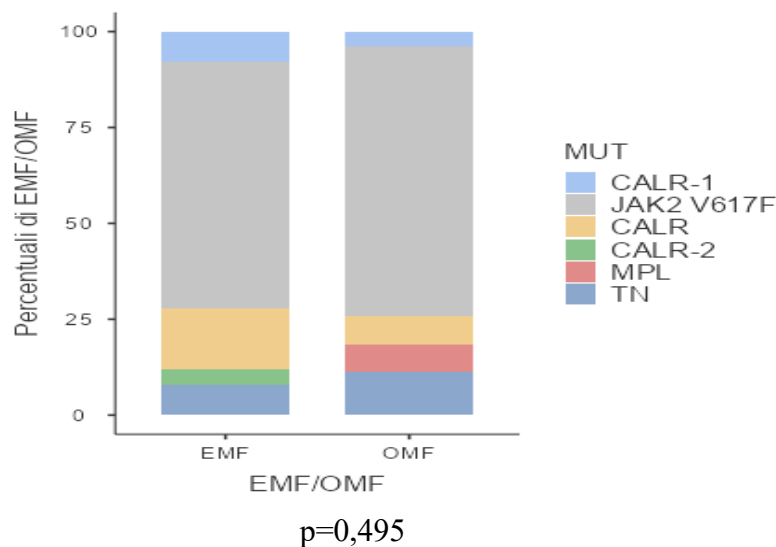
| MUT | Frequenze | % del Totale | % Cumulata |
|-------------------|------------------|---------------------|-------------------|
| JAK2 V617F | 35 | 63.6% | 63.6% |
| CALR-1 | 3 | 5.5% | 69.1% |
| CALR | 6 | 10.9% | 80.0% |
| CALR-2 | 1 | 1.8% | 81.8% |
| MPL | 2 | 3.6% | 85.5% |
| TN | 5 | 9.1% | 94.5% |
| ND | 3 | 5.5% | 100.0% |

Alla diagnosi 30 pazienti si presentavano con un grado di fibrosi midollare >1 e criteri compatibili con OMF, mentre 24 mostravano grado MF pari a 0-1 e venivano diagnosticati come EMF.

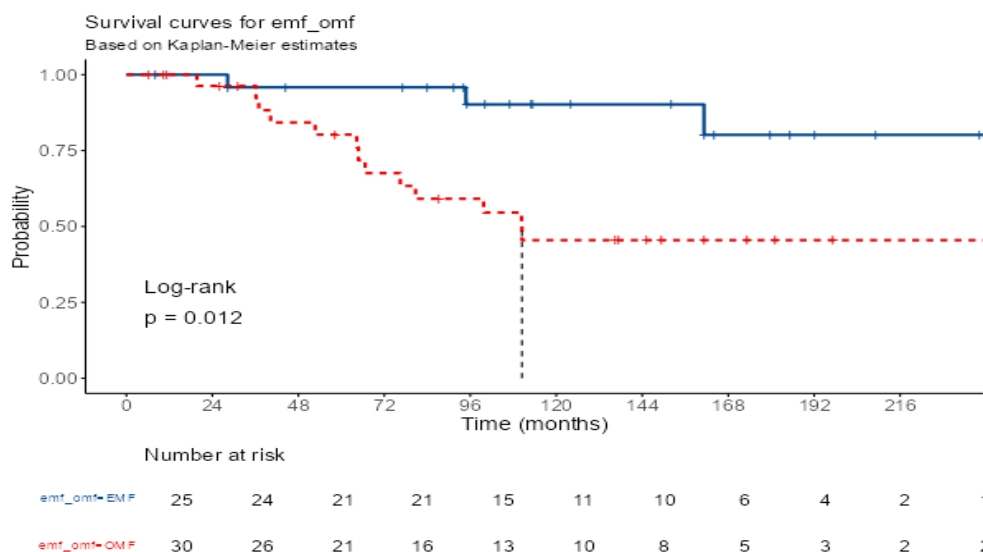
L'età alla diagnosi dei pazienti affetti da OMF era significativamente maggiore (mediana 69,5; IC95% 62-73) rispetto a quelli EMF (mediana 51,5; IC95% 44-65).

Tra i pazienti diagnosticati come EMF alla diagnosi, in seguito 5 sono andati incontro a progressione ad OMF con tempo mediano di progressione 92 mesi (17-131); 2 avevano come mutazione JAK2 V617F ed entrambi hanno sviluppato una fase accelerata, di cui uno ulteriormente progredito a fase blastica; gli altri 3 presentavano una mutazione driver a carico di CALR (2 CALR-1 ed 1 non specificato) e di questi uno ha sviluppato in seguito un quadro di emoglobinuria parossistica notturna; in totale di questi 5 pazienti 4 sono stati sottoposti a trapianto allogenico di CSE per progressione di malattia, ed 1 è in seguito deceduto per recidiva post-trapianto.

La frequenza delle mutazioni driver tra i pazienti EMF e quelli OMF, riportata nel grafico in figura, non ha dimostrato differenze significative.

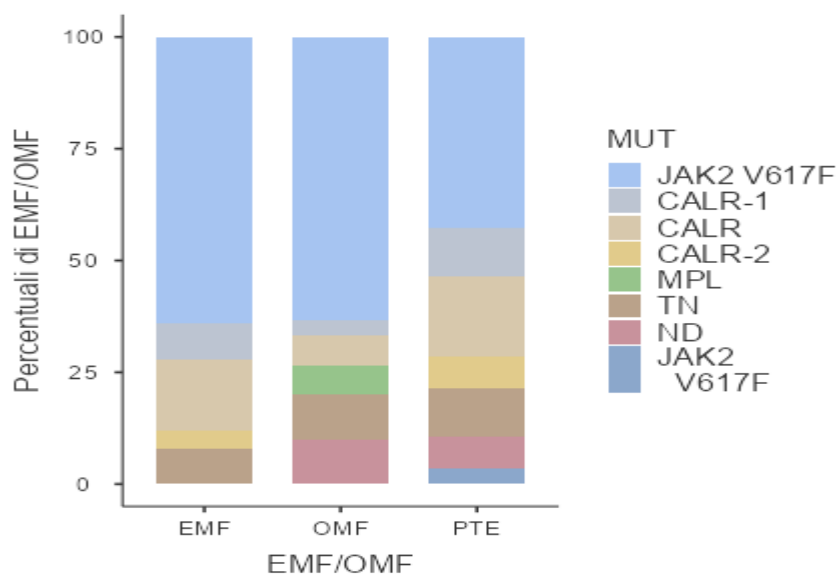


Come prevedibile l'overall survival dei pazienti affetti da EMF è risultata significativamente migliore (mediana 244 mesi, IC95% 244-NR) rispetto a quella della OMF (mediana 110 mesi, IC95% 76,5-NR) con HR 3.78 (IC95% 1.24-11.52, p=0.020); la curva Kaplan Meier relativa è mostrata in figura.



Caratteristiche dei pazienti affetti da SMF

I pazienti affetti da mielofibrosi secondaria sono risultati il 40% del totale, con un rapporto tra maschi e femmine pari a 1,22:1 ed un'età media alla diagnosi pari a 61,1 anni (30-81). I pazienti con diagnosi di PPV-MF sono stati 12, mentre quelli con PTE-MF 28. Il profilo genetico relativo alle mutazioni driver nelle PTE-MF è simile a quello delle PMF, mentre nelle PPV-TE la totalità dei pazienti ha mostrato la mutazione JAK2 V617F.



La sopravvivenza globale, riportata in tabella, non presenta differenze tra pazienti affetti da PPV-TE e PPV-PV (HR per PPV=0,65; IC95% 0,2-2,2; p=0.490).

Median Survival Table: Levels for PTE/PMV

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| TE | 28 | 10 | 148 | 26.1 | 174 | 86.4 | NR |
| PV | 12 | 4 | 168 | 30.3 | 179 | 110.5 | NR |

Anche il tempo mediano di trasformazione da TE e da PV non ha mostrato differenze significative.

Median Time to trasformation PTE/PMV-MF

| Levels | | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|-----------------------------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | Lower | Upper |
| TE | | 163 | 16.8 | 145 | 116.0 | 202 |
| PV | HR1.06 (0.54-2.11, p=0.859) | 154 | 27.5 | 131 | 98.0 | NR |

Confronto tra PMF e SMF

Per quanto riguarda eta` alla diagnosi, prevalenza nei due sessi ed overall survival non si sono registrate differenze significative tra PMF e SMF. Di seguito le tabelle ed i grafici relativi all'OS:

Median Survival Table: Levels for PMF/SMF ITT

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| PMF | 55 | 18 | 184 | 14.0 | 242 | 161 | NR |
| SMF | 40 | 14 | 153 | 19.5 | 174 | 103 | NR |

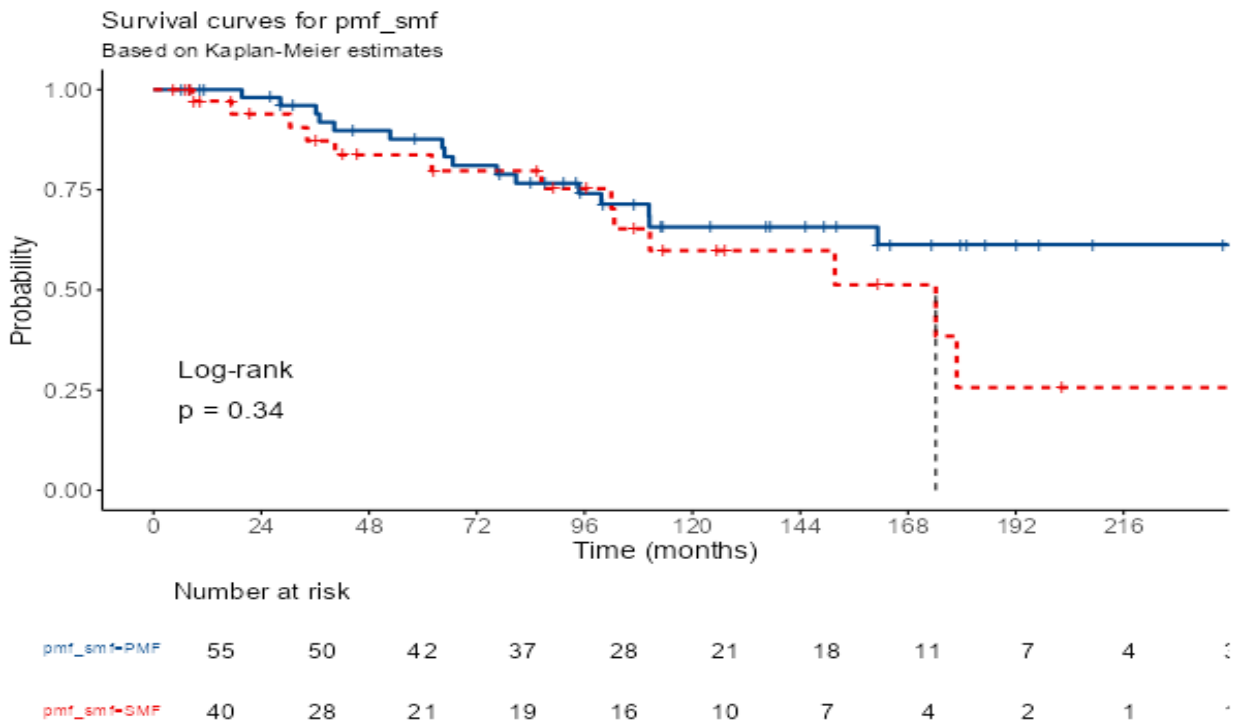
HR 1.41 (IC95% 0.69-2.89, p=0.342)

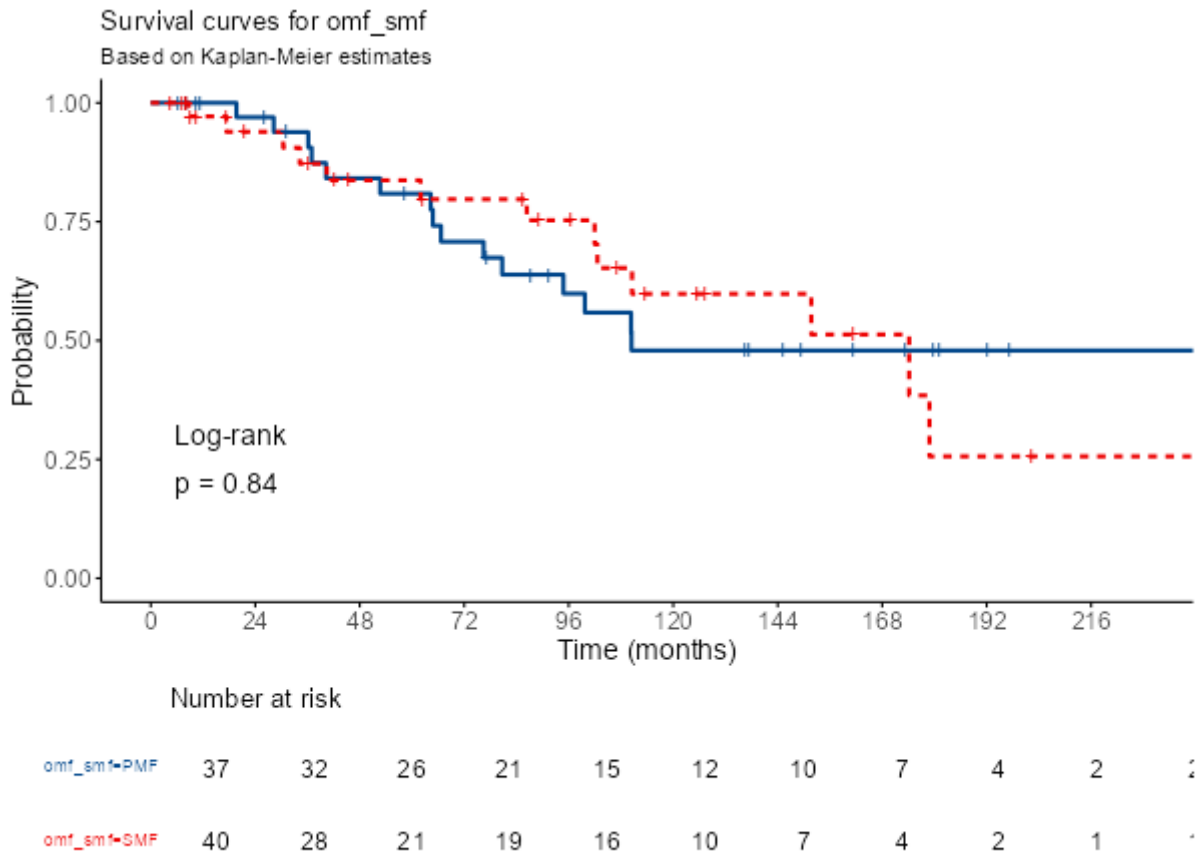
La tendenza leggermente migliore della curva della PMF deriva sostanzialmente dalla quota di pazienti affetti da EMF; infatti confrontando la OS dei pazienti con OMF con quella della SMF i dati risultano sovrapponibili.

Median Survival Table: Levels for OMF/SMF

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| PMF | 37 | 16 | 157 | 18.3 | 110 | 80.7 | NR |
| SMF | 40 | 14 | 153 | 19.5 | 174 | 102.6 | NR |

HR 0.93 (0.45-1.93, p=0.841)





Analisi dei fattori di rischio e loro significato prognostico

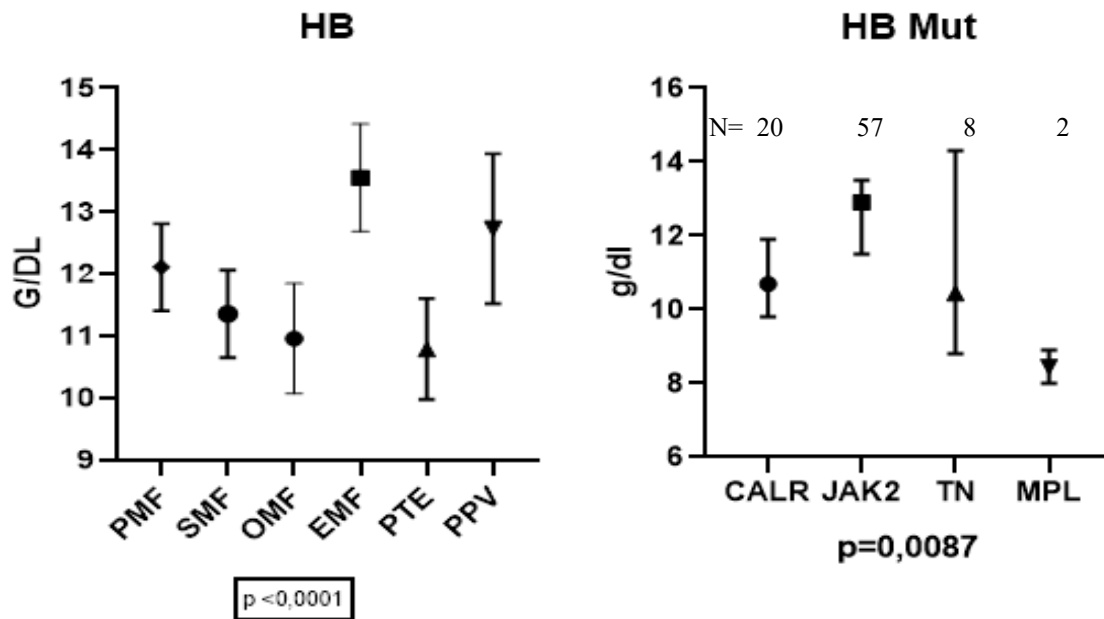
Dall'analisi dell'espressione dei fattori di rischio e delle caratteristiche cliniche mediante test ANOVA o di Kruskal-Wallis tra le due patologie sono emerse alcune differenze tra PMF e SMF e tra le varie sottoclassi che le compongono per l'espressione di tali fattori.

Tramite analisi mediante regressione di Cox è stato valutato l'impatto di tali fattori in termini di HR ed il significato prognostico che rivestono a seconda che si tratti di pazienti affetti da PMF o SMF. I fattori risultati significativi in analisi univariata sono stati poi confrontati a livello multivariato.

Emoglobina

Per quanto riguarda i valori di emoglobina, tra i pazienti affetti da PMF essi sono risultati significativamente più alti nelle forme EMF e PPV-MF rispetto alle altre, come riportato in tabella e nel grafico:

| HB diagnosi | PMF | OMF | EMF | SMF | PTE | PPV |
|------------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| Number of values | 54 | 30 | 24 | 41 | 29 | 12 |
| Minimum | 6,9 | 6,9 | 8,8 | 7,6 | 7,6 | 8 |
| 25% Percentile | 9,7 | 8,975 | 11,93 | 9,85 | 9,2 | 11,6 |
| Median | 12 | 10,95 | 13,75 | 11,1 | 10,5 | 13 |
| 75% Percentile | 14,25 | 12,98 | 15,18 | 13 | 11,95 | 14,25 |
| Maximum | 16,9 | 16,8 | 16,9 | 17,2 | 17,2 | 14,6 |



Analizzando i valori a livello di intera coorte suddivisa per mutazione driver si conferma il dato di valori di Hb alla diagnosi piu` alti nei pazienti con mutazione di JAK2, in particolare nei confronti di quelli con mutazione di CALR.

Per quanto riguarda il valore prognostico di bassi valori di emoglobina (inferiore a 10g/dl nelle classificazioni IPSS e DIPSS per la PMF; inferiore a 11g/dl per la classificazione MYSEC delle SMF) e` stata testata la rilevanza in analisi univariata mediante regressione di Cox nelle due sottopopolazioni, che hanno dimostrato una rilevanza prognostica nei pazienti PMF, mentre non e` stata raggiunta la significativita` statistica nella coorte SMF:

PMF Median Survival Table: Levels for HB<10g/dl

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|---------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| >10g/dl | 39 | 10 | 203.3 | 12.4 | 241.8 | 241.8 | NR |
| <10g/dl | 15 | 8 | 94.4 | 26.3 | 64.3 | 40.3 | NR |

HR (Univariable) 7.60 (2.65-21.79, p<0.001)

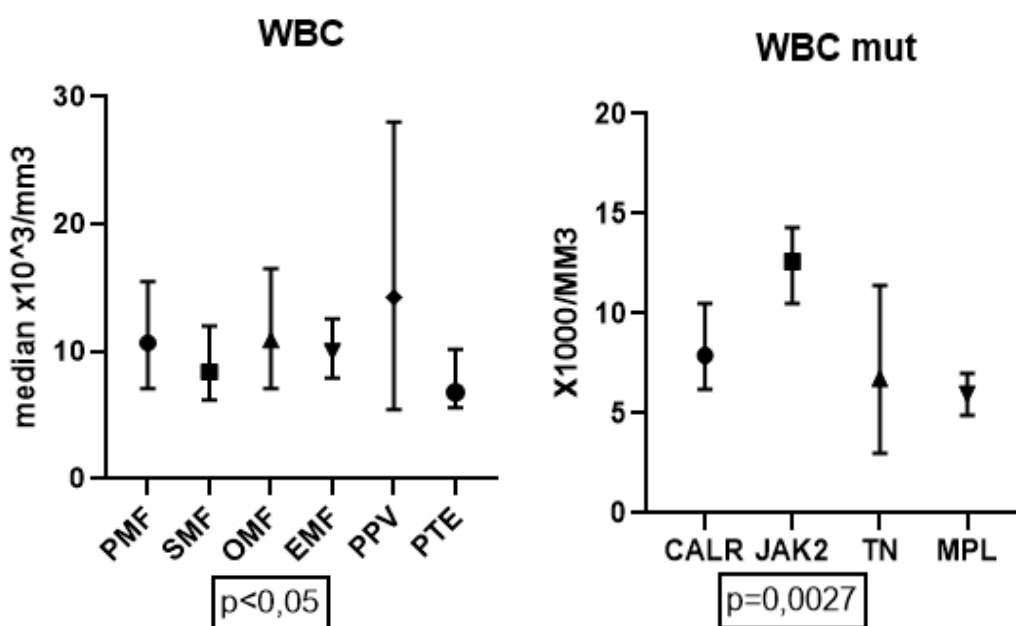
SMF Median Survival Table: Levels for HB<11g/dl

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|---------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| >11g/dl | 20 | 5 | 170 | 26.2 | 174 | 110.5 | NR |
| <11g/dl | 19 | 9 | 139 | 28.0 | 103 | 62.0 | NR |

HR (Univariable) 1.73 (0.56-5.34, p=0.337)

Globuli bianchi

Per quanto riguarda i valori assoluti di globuli bianchi l'unica differenza significativa e' stata tra i valori dei campioni PPV-MF e PTE-MF, con valori maggiori per i pazienti PPV, confermata a livello mutazionale dai riscontri piu' elevati nei pazienti con mutazione di JAK2 V617F nei confronti di tutte le altre classi.



| WBC x 1000/mm ³ | PMF | SMF | OMF | EMF | PPV | PTE |
|----------------------------|------|-------|------|------|-------|-------|
| Number of values | 33 | 41 | 31 | 23 | 12 | 29 |
| Minimum | 3 | 2,9 | 4 | 3 | 4,6 | 2,9 |
| 25% Percentile | 6,3 | 5,23 | 6,5 | 6,4 | 5,745 | 4,9 |
| Median | 10,7 | 8,4 | 10,9 | 10 | 14,25 | 6,8 |
| 75% Percentile | 19,6 | 14,05 | 18,8 | 13,4 | 26,13 | 10,75 |
| Maximum | 54 | 33 | 54 | 27 | 33 | 17,1 |
| Range | 51 | 30,1 | 50 | 24 | 28,4 | 14,2 |

Un valore di globuli bianchi superiore a 25000/mm³ e' risultato statisticamente significativo in senso prognostico negativo nei pazienti affetti da PMF, come previsto dagli score IPSS e DIPSS:

PMF Median Survival Table: Levels for WBC > 25000/mm³

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| <25000 | 49 | 15 | 186 | 13.2 | 241.8 | 161.3 | NR |
| >25000 | 5 | 3 | 107 | 40.6 | 73.7 | 37.0 | NR |

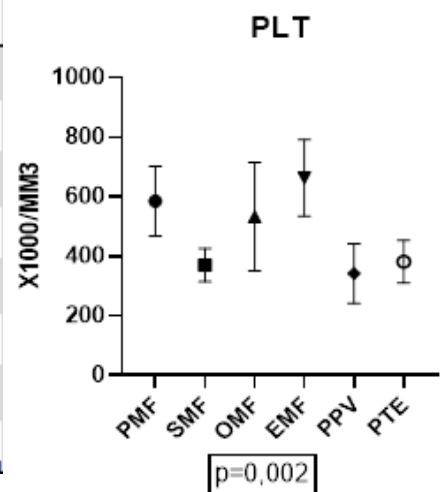
HR (Univariable) 4.57 (1.21-17.29, p=0.025)

Non e' stata invece riscontrata una correlazione significativa tra elevati valori di WBC e overall survival nei pazienti affetti da SMF, ed infatti tale parametro non rientra tra quelli valutati nel MYSEC-PM.

Piastrine

I valori di piastrine sono risultati significativamente superiori nei pazienti affetti da PMF, indipendentemente dal fatto che si tratti di EMF o OMF; dal punto di vista mutazionale non si sono osservate differenze significative.

| Plt x1000/mm3 | PMF | SMF | OMF | EMF | PPV | PTE |
|------------------|-------|-----|------|-------|-------|-----|
| Number of values | 54 | 41 | 31 | 24 | 12 | 29 |
| Minimum | 60 | 85 | 60 | 82 | 95 | 85 |
| 25% Percentile | 297,3 | 210 | 249 | 447,5 | 162,5 | 227 |
| Median | 519 | 389 | 478 | 669 | 394,5 | 389 |
| 75% Percentile | 815,8 | 490 | 600 | 922,3 | 490 | 488 |
| Maximum | 2500 | 873 | 2500 | 1210 | 505 | 873 |
| Range | 2440 | 788 | 2440 | 1128 | 410 | 788 |



Valori di piastrine rispettivamente inferiori a 100000/mm3 e 150000/mm3 sono considerati fattori prognostici negativi negli score DIPSS+/MIPSS70 e MYSEC-PM, tuttavia nella popolazione dello studio non sono risultati significamente correlati con una peggiore overall survival, ne' nei pazienti PMF ne' in quelli SMF.

PMF Median Survival Table: Levels for PLT <100

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|---------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| >100000 | 49 | 16 | 176 | 13.9 | 244 | 161.3 | NR |
| <100000 | 5 | 2 | 202 | 36.2 | 242 | 76.5 | NR |

HR (Univariable) 0.66 (0.13-3.38, p=0.621)

SMF Median Survival Table: Levels for PLT <150

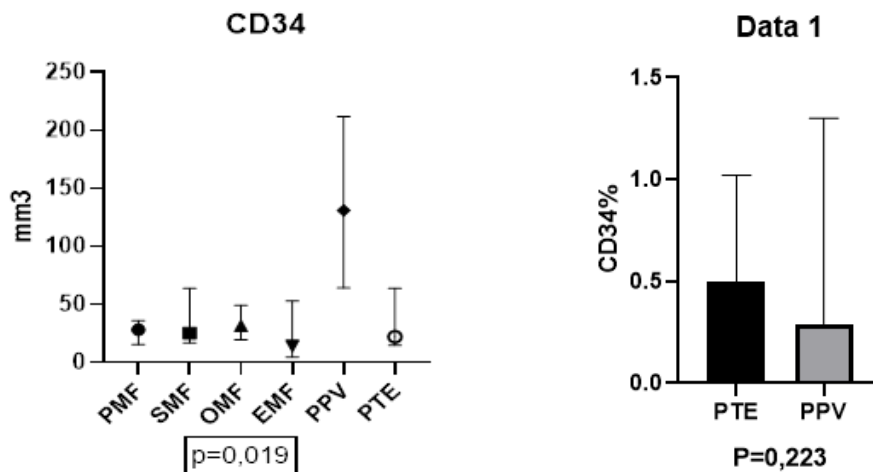
| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|---------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| >150000 | 34 | 12 | 160 | 21.9 | 152 | 103 | NR |
| <150000 | 5 | 2 | 145 | 30.4 | 179 | NR | NR |

HR (Univariable) 1.29 (0.27-6.10, p=0.752)

Cellule CD34+ circolanti

La ricerca di precursori e cellule immature mieloidi mediante immunofenotipo su sangue periferico ha dimostrato un netto aumento medio soprattutto nei pazienti affetti da PPV-MF, mentre non ha evidenziato significative variazioni tra le altre sottopopolazioni; i valori assoluti piu' elevati comunque sono stati osservati in pazienti affetti da OMF e PTE-MF.

| CD34+ x mm3 | PMF | SMF | OMF | EMF | PPV | PTE |
|------------------|-------|------|-------|-------|-------|------|
| Number of values | 49 | 35 | 28 | 22 | 12 | 25 |
| Minimum | 0,53 | 0,3 | 0,1 | 0,53 | 18 | 0,3 |
| 25% Percentile | 10,6 | 13,5 | 15,86 | 4,15 | 72,55 | 3,55 |
| Median | 28 | 25 | 31,48 | 13,94 | 131 | 22 |
| 75% Percentile | 55,5 | 75,6 | 77,25 | 53,63 | 206,5 | 5,64 |
| Maximum | 694,8 | 1436 | 694,8 | 135 | 347 | 1436 |
| Range | 694,3 | 1436 | 694,7 | 134,5 | 329 | 1436 |



Riguardo gli score prognostici, il DIPSS fissa come cut-off un valore dell'1% dei leucociti circolanti, il MIPSS70/MIPSS70+ il 2%, mentre il MYSEC-PM lo pone al 3%.

Nell'analisi effettuata un valore pari o superiore all'1% è risultato prognosticamente significativo nella PMM, mentre nessun valore lo è risultato nei pazienti affetti da SMF.

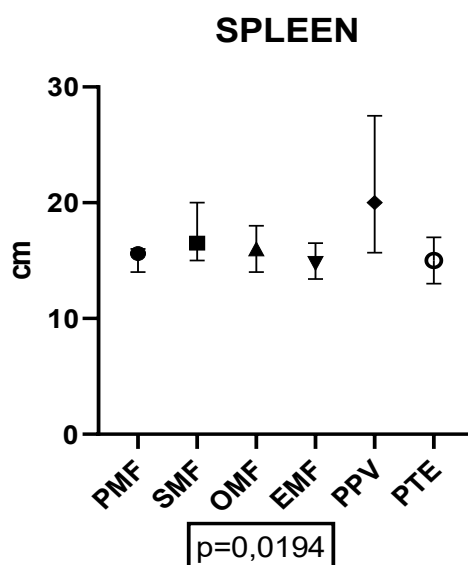
PMF Median Survival Table: Levels for CD34 \geq 1%

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|----------------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| CD34<1% | 43 | 12 | 189 | 13.9 | 243.6 | 161.3 | NR |
| CD34 \geq 1% | 7 | 4 | 103 | 38.0 | 66.7 | 40.3 | NR |

HR (Univariable) 4.52 (1.37-14.94, p=0.013)

Splenomegalia

Splenomegalia, definita come diametro massimo splenico ecografico uguale o superiore a 14 cm o milza palpabile ad almeno 5cm dall'arcata costale sinistra, era presente alla diagnosi nel 73% dei pazienti (70 su 95); i valori maggiori si osservano in maniera significativa nei pazienti affetti da PPV-MF (media 21,38cm; IC95% 18-24,5cm).



La valutazione delle dimensioni spleniche, per quanto abituale nella pratica clinica, non rientra in nessuno degli score prognostici attualmente in uso. Nella popolazione dello studio è stato condotto un test di cut-off (cutpoint log-rank) che ha indicato come valore ideale di screening 20cm; sono quindi state testate entrambe le popolazioni (PMF e SMF) per valutare tale valore in analisi univariata, ma non è stata osservata una significatività statistica, sebbene per la popolazione PMF la correlazione sia molto stretta.

PMF Median Survival Table: Levels for MILZA 20cm

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| <20cm | 36 | 6 | 211 | 12.4 | 241.8 | NR | NR |
| ≥20cm | 9 | 5 | 134 | 36.2 | 66.7 | 37.0 | NR |

HR (Univariable) 3.71 (0.99-13.94, p=0.052)

Sintomi

La presenza di sintomi costituzionali alla diagnosi è stata riscontrata in maniera sostanzialmente uniforme nella popolazione dello studio, senza differenze tra PMF e SMF, né tra i diversi stati mutazionali. Essa è risultata significativamente prognostica nell'analisi dei pazienti affetti da PMF, come previsto dagli score specifici, mentre, non si è dimostrata abbastanza significativa nei casi di SMF.

Presenza di sintomi costituzionali

| | pa r s e n t i | ND | Total e |
|-----|----------------------------------|----|------------|
| PMF | 32 31 | 1 | 55 |
| SMF | 21 64 | 0 | 40 |

Presenza di sintomi costituzionali

| | pa r s e s e n t t i | ND | Total e |
|--------|---|----|------------|
| Totale | 53 95 | 1 | 95 |

Test χ^2

| | V a l o r e | p |
|----------|----------------------------|-------|
| χ^2 | 0 . 8 8 4 | 0.643 |
| N | 9 5 | |

PMF Median Survival Table: Levels for SINTOMI

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|----------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| Assenti | 33 | 8 | 201 | 13.4 | 241.8 | NR | NR |
| Presenti | 21 | 10 | 135 | 24.0 | 76.5 | 64.8 | NR |

HR (Univariable) 3.31 (1.22-8.96, p=0.018)

SMF Median Survival Table: Levels for SINTOMI

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| 0 | 25 | 9 | 170 | 24.0 | 174 | 110.5 | NR |
| 1 | 14 | 5 | 111 | 23.1 | 103 | 86.4 | NR |

HR (Univariable) 2.04 (0.66-6.31, p=0.214)

Eta`

In tutti gli score prognostici non basati sull'analisi molecolare l'eta`, con valore cut-off a 65 anni nel DIPSS o crescente nel MYSEC-PM, viene registrato tra i fattori di rischio; anche nella popolazione dello studio si e` confermato quale principale fattore significativo alla diagnosi ai fini dell'overall survival, sia nella coorte PMF che in quella SMF.

PMF Median Survival Table: Levels for AGE

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|----------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| ≤65 anni | 27 | 2 | 230 | 10.2 | NR | NR | NR |
| >65 anni | 28 | 16 | 127 | 18.9 | 110 | 64.8 | NR |

HR (univariable) 11.69 (IC95% 2.65-51.52, p=0.001)

SMF Median Survival Table: Levels for AGE

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|----------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| ≤65 anni | 24 | 6 | 194.6 | 26.5 | 266 | 174.2 | NR |
| >65 anni | 15 | 8 | 99.4 | 17.2 | 103 | 62.0 | NR |

HR (Univariable) 3.62 (IC95% 1.17-11.17, p=0.025)

Fibrosi midollare

Il grado di fibrosi reticolinica, con cut-off superiore al grado 1, rientra nei fattori di rischio valutati dallo score MIPSS70 per la MPF, separando sostanzialmente nell'ambito della PMF la EMF dalla OMF; nella popolazione in studio ha dimostrato significatività prognostica.

PMF Median Survival Table: Levels for MF>1

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| MF≤1 | 24 | 4 | 218 | 13.6 | 244 | NR | NR |
| MF>1 | 28 | 13 | 146 | 19.2 | 110 | 66.7 | NR |

HR (Univariable) 5.27 (IC 95% 1.50-18.56, p=0.010)

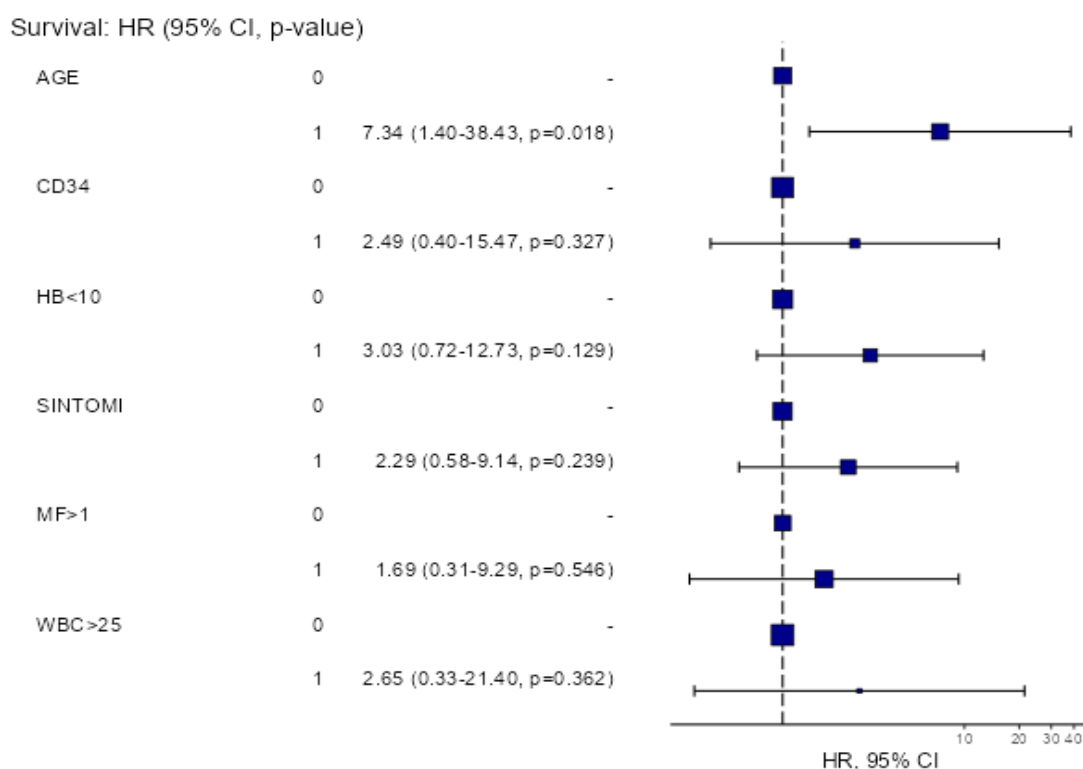
Analisi multivariata

Dopo l'esecuzione dei test univariati per i parametri significativi è stata condotta un'analisi multivariata; per quanto riguarda la PMO sono stati analizzati l'età, l'anemia, la leucocitosi, il grading di fibrosi midollare, la presenza di sintomi e l'alto numero di CD34+ periferiche; rispetto ai fattori presi in considerazione negli score DIPSS e DIPSS+ è stata esclusa solo la conta piastrinica <100000/mm³, che non ha dimostrato correlazione con l'OS della popolazione di studio.

I risultati dell'analisi multivariata hanno mostrato che solo l'età >65 anni mantiene una correlazione statisticamente significativa con l'outcome OS, confermandosi pertanto il fattore prognostico più importante, tra quelli puramente clinici, nella sopravvivenza della popolazione.

| Analisi multivariata PMF | | | |
|--------------------------|---------------|-----------------------------|----------------------------|
| | all | HR (univariable) | HR (multivariable) |
| ETA` | ≤65 25 (53.2) | - | - |
| | >65 22 (46.8) | 10.72 (2.36-48.72, p=0.002) | 7.34 (1.40-38.43, p=0.018) |
| CD34+ | <1% 40 (85.1) | - | - |
| | ≥1% 7 (14.9) | 4.68 (1.38-15.82, p=0.013) | 2.49 (0.40-15.47, p=0.327) |
| HB<10 | 32 (68.1) | - | - |
| | ≥10 15 (31.9) | 9.08 (2.81-29.32, p<0.001) | 3.03 (0.72-12.73, p=0.129) |

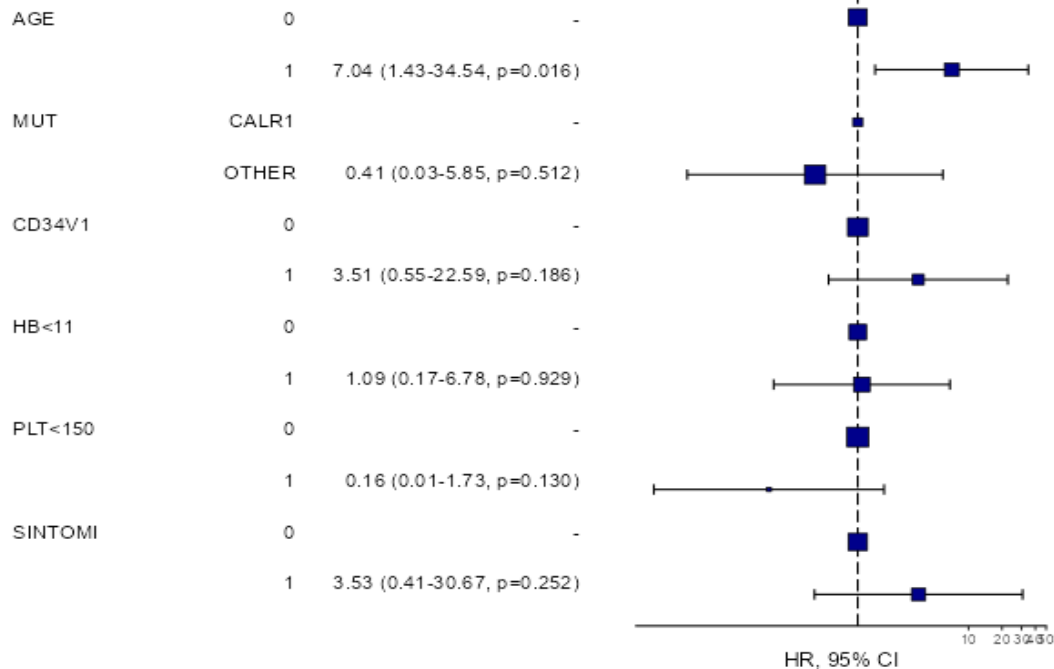
| | | | | |
|----------------|------------|-----------|----------------------------|----------------------------|
| SINTOMI | ASSENTI | 29 (61.7) | - | - |
| | PRESENTI | 18 (38.3) | 3.86 (1.29-11.56, p=0.016) | 2.29 (0.58-9.14, p=0.239) |
| MF>1 | ASSENTE | 21 (44.7) | - | - |
| | PRESENTE | 26 (55.3) | 4.39 (1.22-15.81, p=0.024) | 1.69 (0.31-9.29, p=0.546) |
| WBC | ≤25000/MM3 | 43 (91.5) | - | - |
| | >25000/MM3 | 4 (8.5) | 4.05 (0.84-19.55, p=0.081) | 2.65 (0.33-21.40, p=0.362) |



Per quanto riguarda la classe SMF, l'unico fattore di rischio significativo in modalita' univariata e' risultata l'eta' alla diagnosi, si e' comunque proceduto ad analizzare in multivariata i fattori che costituiscono lo score MYSEC, compresa la presenza della mutazione CALR-1:

| Analisi multivariata SMF | | | | |
|--------------------------|-------|------------------|----------------------------|----------------------------|
| | all | HR (univariable) | HR (multivariable) | |
| AGE | 0 | 21 (61.8) | - | - |
| | 1 | 13 (38.2) | 5.54 (1.42-21.54, p=0.013) | 7.04 (1.43-34.54, p=0.016) |
| MUT | CALR1 | 7 (20.6) | - | - |
| | OTHER | 27 (79.4) | 1.18 (0.14-9.82, p=0.879) | 0.41 (0.03-5.85, p=0.512) |
| CD34V1 | 0 | 25 (73.5) | - | - |
| | 1 | 9 (26.5) | 2.41 (0.59-9.79, p=0.220) | 3.51 (0.55-22.59, p=0.186) |
| HB<11 | 0 | 18 (52.9) | - | - |
| | 1 | 16 (47.1) | 1.12 (0.32-3.92, p=0.860) | 1.09 (0.17-6.78, p=0.929) |
| PLT<150 | 0 | 29 (85.3) | - | - |
| | 1 | 5 (14.7) | 1.57 (0.31-7.84, p=0.585) | 0.16 (0.01-1.73, p=0.130) |
| SINTOMI | 0 | 22 (64.7) | - | - |

Survival: HR (95% CI, p-value)



Risultati analisi genetica

I risultati dei test riguardanti le mutazioni driver sono stati esposti nelle sezioni dedicate alle varie sottoclassi di mielofibrosi; in questa sezione vengono esposti i risultati riferiti all'analisi citogenetica e molecolare mediante NGS.

Analisi citogenetica:

Sono stati esaminati i dati riguardanti un totale di 50 pazienti che hanno eseguito un aspirato midollare per cariotipo da metafasi spontanee alla diagnosi, o comunque prima di eventuale evoluzione, quando possibile visionando direttamente i referti ma in 13 casi facendo affidamento unicamente sul referto riportato in cartella o nelle precedenti valutazioni mediche.

In 11 pazienti su 50 il cariotipo non è risultato significativo neanche in maniera indicativa, in 5 casi per un numero di metafasi troppo basso (<6) ed in 6 casi per assenza di metafasi. In 3 pazienti l'analisi è fallita anche in una seconda determinazione.

In 41 pazienti il cariotipo alla diagnosi è risultato normale; in sostanza dei pazienti di cui era disponibile la documentazione nessuno alla diagnosi presentava un rischio citogenetico aumentato; in 2 casi in cui il cariotipo risultava mutato presentava una mutazione questa era una trisomia del cromosoma 9, frequente nelle MPN e priva di significato prognostico secondo gli attuali score basati sulla citogenetica; in altri 2 casi l'anomalia riscontrata era una monosomia del cromosoma Y.

Significativo è stato il riscontro di campioni non diagnostici o non valutabili, in totale 18 su 72 prelievi pari al 25%, considerando solo i casi in cui il materiale era stato mandato in refertazione, ed escludendo quindi le procedure non riuscite per punctio sicca.

Due pazienti hanno eseguito la prima valutazione citogenetica al momento dell'evoluzione della patologia rispettivamente a fase accelerata e fase blastica; nel primo caso è stata riscontrata una monosomia del cromosoma 7, nel secondo un cariotipo complesso non altrimenti specificato.

Tre pazienti hanno eseguito una rivalutazione citogenetica dopo quella iniziale al momento dell'evoluzione a leucemia acuta; in due casi il cariotipo alla diagnosi era fisiologico, ed in entrambi alla trasformazione è stato riscontrato un cariotipo complesso (in un caso anche con mutazione di TP53); il terzo paziente che ha ripetuto il cariotipo al momento della trasformazione presentava alla diagnosi un cariotipo con trisomia del cromosoma 9, mentre alla trasformazione blastica un cariotipo complesso, evoluto dal precedente clone, così strutturato: 47,XY,+9[4]/47,XY,del(5)(q13q33),-6,+9,+r[10]/47,XY,del(5)(q13q33),-6,+9,del(11)(p15),del(13)(q14),+r[8].

Un paziente infine che presentava alla diagnosi cariotipo normale 46XY ha effettuato una rivalutazione di malattia per modifiche del quadro clinico (incremento della splenomegalia, peggioramento delle conte periferiche) ed è stato riscontrato un cariotipo a mosaico così strutturato: 47,XY,i(9)(p10),del(11)(q13q22)[11] / 47,XY,i(9)(p10)[6] / 46,XY[3]; alla luce di tale riscontro la sua classe di rischio passava da DIPSS INT-1 a DIPSS+ INT-2 e MIPSS70+ HIGH e veniva pertanto indirizzato ad iter trapiantologico.

Analisi NGS

Nella coorte totale di 95 pazienti 16 (16,8%) sono stati sottoposti ad analisi NGS, ma nessuno di loro ha svolto tale indagine all'esordio della patologia; la maggior parte (14 pazienti) di essi e' stato studiato con NGS per confermare o meno la candidabilita' a trapianto allogenico; in 1 caso l'analisi e' stata inviata al momento dell'evoluzione a fase accelerata; nell'ultimo caso al momento dell'evoluzione a fase leucemica.

Il numero mediano di mutazioni rilevate nel singolo paziente e' risultato pari a 3 (media 3,6; min=1 max=10) e tra di essi 6 presentavano mutazioni significative secondo gli score prognostici MIPSS70 – MIPSS70+ 2.0 e GIPSS; i loro dati sono riassunti in tabella.

| Timing esecuzione NGS | N di mut | Mutazione driver | Mutazioni HR | Altre mutazioni | Classe MIPSS70 | Classe MIPSS70+ |
|-----------------------|----------|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|-----------------|
| Fase accelerata | 10 | CALR | ASXL1 + EZH2 (2 mutazioni) | DNMT3A SETBP1 TET2 | 2 | 2 |
| Fase accelerata | 3 | JAK2 V617F | SRSF2 | RUNX1 | 1 | 1 |
| HSCT | 3 | JAK2 V617F | ASXL1 | SF3B1 | 1 | 1 |
| HSCT | 2 | JAK2 V617F | U2AF1 | | 0 | 1 |
| HSCT | 7 | JAK2 V617F | ASXL1 EZH2 (2mutazioni) | NRAS TET2 (2 mutazioni) | 2 | 2 |
| HSCT | 7 | CALR 34,4% MPL 1,6% | ASXL1 (2 mutazioni) | GATA2 KMT2A TET2 | 1 | 1 |

Analisi degli outcomes globali

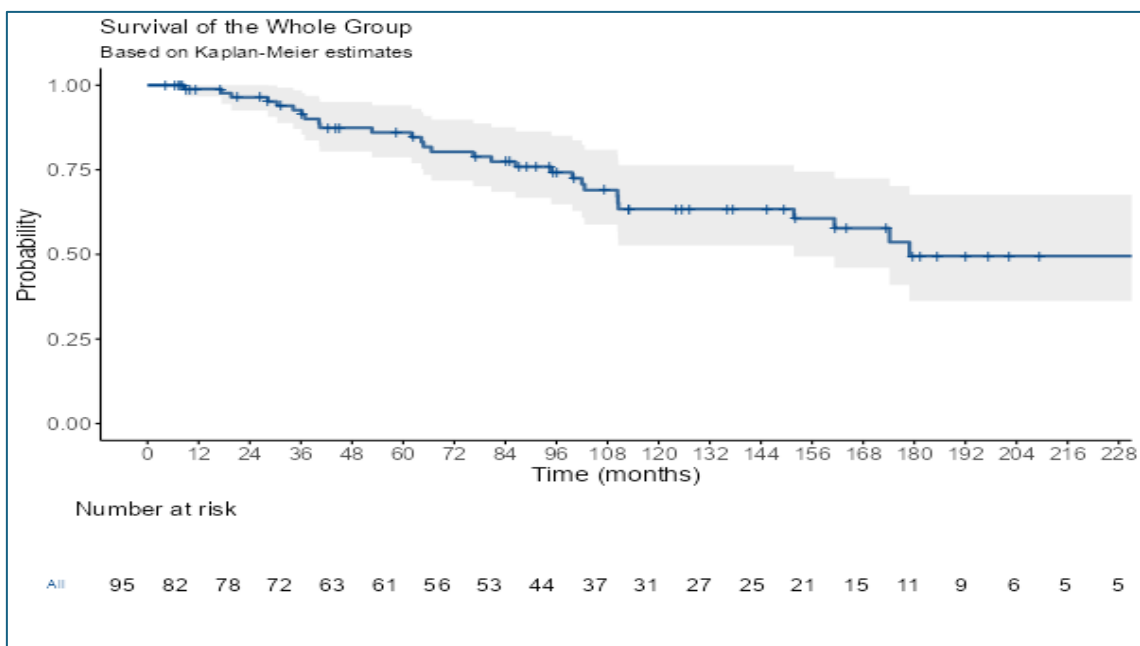
Overall survival

Il tasso di mortalita' globale e' stato del 33,7% risultando leggermente superiore negli uomini rispetto alle donne (p=0,094 non statisticamente significativo).

L'overall survival mediana stimata e' risultata 179 mesi (IC95% 142-NR) e la sopravvivenza a 10 anni il 63.4% (IC95% 52.6-76.3%); i dati sono riassunti nelle tabelle 2 e 3 mentre la curva di OS globale e' rappresentata nella figura 2.

| OS globale a 10 anni | | | | | | |
|----------------------|----------------|------------------|----------|------------|-------------------------|-------|
| Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
| | | | | | Lower | Upper |
| 95 | 32 | 174 | 11.7 | 179 | 152 | NR |
| Time | Number at Risk | Number of Events | Survival | IC95 Lower | IC 95 Upper | |
| 12 | 82 | 1 | 98.9% | 96.7% | 100.0% | |
| 36 | 72 | 5 | 92.6% | 87.1% | 98.5% | |
| 60 | 61 | 5 | 86.0% | 78.7% | 94.1% | |
| 120 | 31 | 14 | 63.4% | | | |

Tabella 3: sopravvivenza globale e a 10 anni



Dei 32 decessi, 28 si sono registrati mentre il paziente era in follow-up, mentre 4 dopo la procedura di trapianto allogenico (in 1 caso il paziente era tornato presso la nostra struttura per proseguire l'iter terapeutico dopo recidiva, negli altri 3 casi il decesso e' avvenuto mentre era seguito dal centro trapianti).

L'eta' media al momento del decesso era 77 anni (52-86) e la sopravvivenza mediana dalla diagnosi 79 mesi; 18 pazienti erano affetti da PMF e 14 da SMF.

Per 10 pazienti dei 32 deceduti non è stato possibile conoscere la causa del decesso; per gli altri le cause sono riassunte in tabella.

| CAUSE DECESSI | |
|---------------------------|--------------------|
| Progressione mielofibrosi | 3 |
| Complicanze HSCT | 2 |
| Recidiva post HSCT | 2 |
| LAM | 3 |
| Causa infettiva | 3 (tutte concause) |
| Seconda neoplasia | 5 (1 concausa) |
| Cardiovascolare | 2 |
| Neurologica | 2 (1 concausa) |
| COVID19 | 4 (1 concausa) |

Progression free survival

Tra i 95 pazienti inclusi (55 con mielofibrosi primitiva e 40 con mielofibrosi secondaria), 13 (13,7%) hanno sviluppato una fase accelerata o una leucemia acuta.

L'evoluzione si è verificata in 5 pazienti (9,1%) con mielofibrosi primitiva e in 8 pazienti (20,0%) con mielofibrosi secondaria.

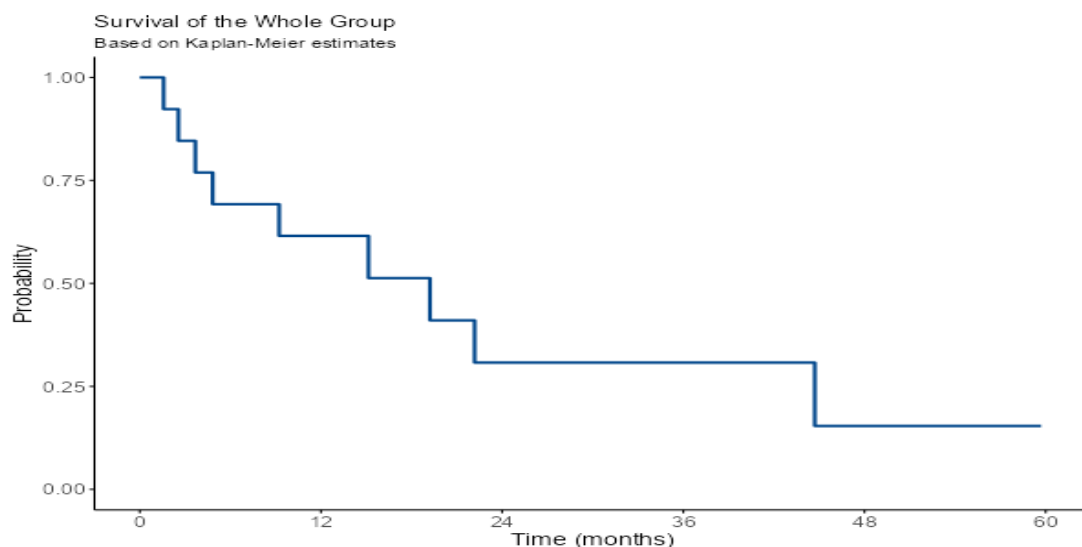
Al test esatto di Fisher, tale differenza non è risultata statisticamente significativa ($p = 0.23$), sebbene si osservi una tendenza verso una minore probabilità di evoluzione nei pazienti con mielofibrosi primitiva (odds ratio = 0.40; IC95% 0.12–1.27).

I dati dei pazienti sono riassunti in tabella. In particolare 10 di essi sono evoluti a fase accelerata e tra loro 3 sono poi passati a fase blastica, mentre in 3 pazienti non vi è stato riscontro di fase accelerata ma direttamente di leucemia acuta (in 1 di esso di sarcoma mieloido). L'età media al momento dell'evoluzione era di 67,4 anni (range 54-77) e la PFS mediana 75,7 mesi (range 5-170 mesi). Per quanto riguarda il profilo mutazionale 7 di essi erano mutati per JAK2 V617F, 2 per CALR e 4 Triplici negativi.

| AF/LAM | MUT | SEC | PMF/SMF | ETA AF/LAM | HSCT | HMA | BCL2 | DEAD | OS |
|--------|------|-----|---------|---------------|------|-----|------|------|-------|
| AF | CALR | NO | PMF | 54 | | X | X | | 12,88 |
| AF | JAK2 | PV | SMF | 77 | | | | X | 2,56 |
| AF | JAK2 | NO | PMF | 71 | SI | | | | 59,70 |

| | | | | | | | | | |
|----------|------|----|-----|----|----|---|---|---|-------|
| AF | JAK2 | NO | PMF | 65 | SI | X | X | X | 19,22 |
| AF | TN | TE | SMF | 74 | | | | X | 1,58 |
| AF | TN | TE | SMF | 75 | | | | X | 22,18 |
| AF | TN | NO | PMF | 77 | | X | | X | 44,71 |
| AF E LAM | JAK2 | NO | PMF | 64 | SI | X | X | | 26,81 |
| AF E LAM | JAK2 | TE | SMF | 67 | | | | X | 9,23 |
| LAM | CALR | TE | SMF | 62 | | X | | X | 4,83 |
| LAM | JAK2 | PV | SMF | 54 | SI | | | X | 3,68 |
| LAM | TN | TE | SMF | 66 | SI | | | | 13,83 |
| AF E LAM | JAK2 | TE | SMF | 70 | | X | X | X | 15,15 |

Tra di essi 9 sono deceduti, di cui 5 direttamente per progressione di malattia, 2 per recidiva dopo HSCT, 1 per cause ignote ed 1 per infezione da COVID19 mentre era in remissione in corso di terapia con Decitabina. La sopravvivenza mediana dalla progressione e` stata, nei pazienti deceduti, pari a 9 mesi (range da 1,5 a 44 mesi); la sopravvivenza mediana di tutta la popolazione evoluta e` stimabile a 19,2 mesi (IC95% 4,84-NR).



Trapianto allogenico di CSE

Dal 2019 sono stati 16 i pazienti della coorte di studio che sono stati sottoposti a trapianto allogenico di CSE; uno studio approfondito di tale popolazione esula dagli scopi di questa analisi.

La diagnosi iniziale per 6 di essi e` stata di SMF (5 casi di PTE-MF e 1 di PPV-MF) mentre gli altri 10 la diagnosi era di PMF, in 4 casi di EMF e in 6 di OMF.

Dei 16 pazienti 6 sono andati a trapianto dopo evoluzione a AF o LAM.

In tabella sono riportate le classi di rischio alla diagnosi ed al momento del trapianto dei pazienti che sono poi stati sottoposti a HSCT.

| C-DIPSS | C-DIPSS+ | MYSEC | C-MYSEC | UC-DIPSS | UC-DIPSS+ | UC-MIPSS70 | UC-MIPSS70+ | U-MYSEC | UC-MYSEC |
|---------|----------|-------|---------|----------|-----------|------------|-------------|---------|----------|
| INT-1 | | | | INT-2 | HIGH | HIGH | | | |
| LOW | LOW | | | INT-2 | INT-2 | HIGH | HIGH | | |
| INT-2 | INT-2 | | | INT-2 | INT-2 | | | | |
| INT-2 | INT-2 | 12,3 | INT-1 | INT-2 | INT-2 | INT | INT | 14,6 | INT-2 |
| LOW | LOW | | | INT-1 | INT-2 | | | | |
| LOW | LOW | | | HIGH | HIGH | | | | |
| LOW | | 9,1 | LOW | INT-2 | | INT | | 12,6 | INT-1 |
| LOW | LOW | | | INT-2 | INT-2 | HIGH | INT | | |
| INT-1 | INT-1 | | | LOW | | HIGH | | | |
| LOW | LOW | | | INT-1 | INT-2 | INT | HIGH | | |
| INT-2 | | 14,20 | INT-2 | INT-2 | | | | 16,1 | HIGH |
| INT-2 | INT-2 | 14,20 | INT-2 | HIGH | HIGH | | | 15,4 | INT-2 |
| INT-1 | INT-1 | 12,1 | INT-1 | INT-2 | INT-2 | | | 13,9 | INT-1 |
| INT-2 | INT-2 | 14,70 | INT-2 | INT-2 | INT-2 | INT | HIGH | 16,1 | HIGH |
| INT-2 | | | | INT-2 | | INT | | | |
| INT-2 | | | | INT-1 | | INT | | | |
| INT-2 | INT-2 | | | INT-2 | INT-2 | HIGH | VERY HIGH | | |
| LOW | | | | LOW | | INT | INT | | |

Classificazione di rischio ed analisi per classe

Sulla base dei parametri che erano stati rilevati alla diagnosi, i pazienti sono stati assegnati alle classi di rischio degli score prognostici attualmente in uso, che spesso non erano disponibili al momento della diagnosi. I pazienti affetti da PMF sono stati classificati secondo gli score IPSS, DIPSS e per i pazienti per cui era disponibile l'analisi citogenetica anche DIPSS+, mentre i pazienti affetti da SMF secondo gli score MYSEC-PM e DIPSS+. I pazienti in possesso dei dati provenienti dall'analisi NGS non erano sufficienti per utilizzarli in un'analisi di sopravvivenza di classe.

Overall survival nei pazienti affetti da PMF

I pazienti sono stati classificati secondo gli score IPSS, DIPSS e DIPSS+ secondo le frequenze riportate in tabella.

| | IPSS | DIPSS | DIPSS+ |
|--------------|-------------|--------------|---------------|
| LOW | 17 (32%) | 16 | 15 |
| INT-1 | 19 (35%) | 22 | 7 |
| INT-2 | 7 (13%) | 14 | 4 |
| HIGH | 11 (20%) | 2 | 1 |

Dopo la classificazione dei pazienti e' stata eseguita un'analisi di sopravvivenza con la creazione delle corrispettive curve di Kaplan-Meier per le varie classi di rischio, analizzate col metodo dei log-rank per valutarne la significativita`.

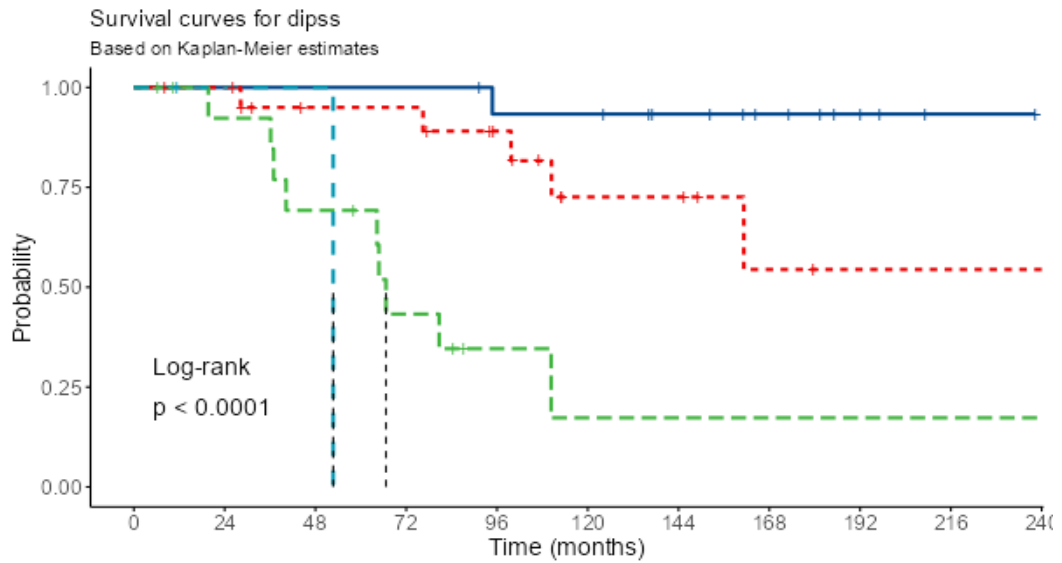
La prima analisi riguarda i pazienti affetti da PMF secondo lo score DIPSS:

Median Survival Table: Levels for PMF DIPSS

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|---------------|----------------|---------------|--------------|-----------------|---------------|--------------------------------|--------------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 16 | 1 | 235.3 | 9.70 | NaN | NaN | NaN |
| INT-1 | 22 | 7 | 184.7 | 20.79 | 241.8 | 161.3 | NaN |
| INT-2 | 15 | 9 | 95.7 | 24.21 | 66.7 | 40.3 | NaN |
| HIGH | 2 | 1 | 52.7 | 0.00 | 52.7 | NaN | NaN |

Cox Table- PMF DIPSS

| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) |
|--------------------|---------------|------------|-------------------------------|
| DIPSS | LOW | 16 (29.1) | - |
| | INT-1 | 22 (40.0) | 7.82 (0.95-64.37, p=0.056) |
| | INT-2 | 15 (27.3) | 26.37 (3.18-218.76, p=0.002) |
| | HIGH | 2 (3.6) | 89.38 (4.80-1664.56, p=0.003) |



| | Number at risk | | | | | | | | | | |
|-------------|----------------|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 | 192 | 216 | 240 |
| dipss=LOW | 16 | 16 | 16 | 16 | 14 | 14 | 11 | 7 | 4 | 1 | 0 |
| dipss=INT-1 | 22 | 21 | 16 | 16 | 12 | 6 | 6 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| dipss=INT-2 | 15 | 12 | 9 | 5 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| dipss=HIGH | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Concordance 0,845 (se=0,048)

Anche lo score IPSS e' molto efficace nel dividere i pazienti in base alle effettive classi di rischio alla daignosi:

Median Survival Table: Levels for IPSS PMF

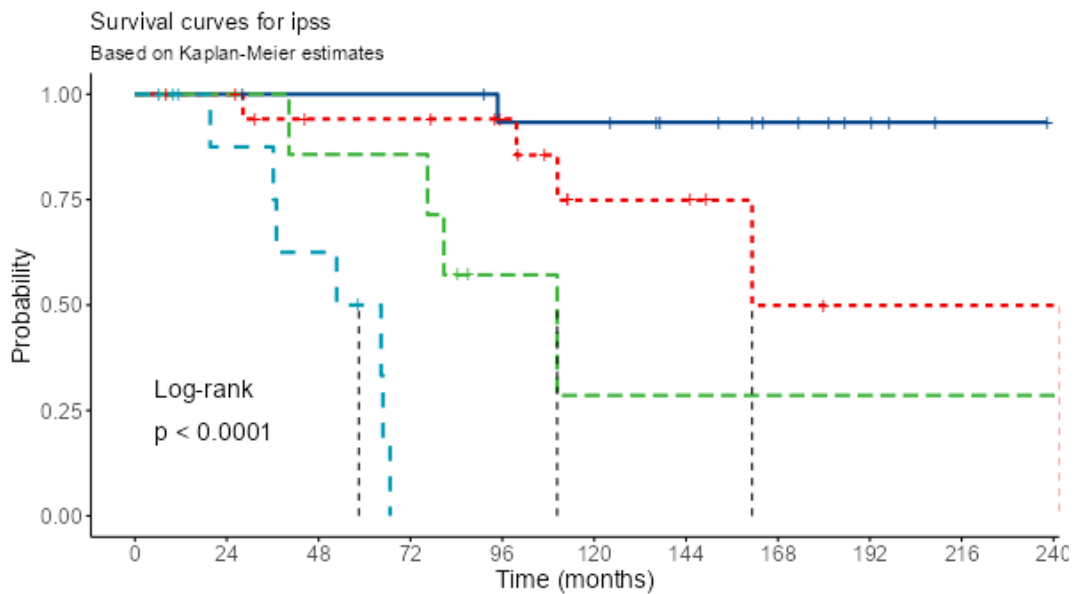
| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 17 | 1 | 233.6 | 9.58 | NaN | NaN | NaN |
| INT-1 | 19 | 5 | 182.9 | 23.16 | 161.3 | 161.3 | NaN |
| INT-2 | 7 | 5 | 129.3 | 34.30 | 110.3 | 76.5 | NaN |
| HIGH | 11 | 7 | 50.8 | 5.89 | 58.5 | 37.0 | NaN |

Cox Table- IPSS PMF

| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) |
|-------------|--------|-----|------------------|
|-------------|--------|-----|------------------|

Median Survival Table: Levels for IPSS PMF

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------------|--------|--------------------------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| IPSS | LOW | 17 (31.5) | - | | | | |
| | INT-1 | 19 (35.2) | 7.22 | (0.83-62.92, p=0.074) | | | |
| | INT-2 | 7 (13.0) | 17.60 | (1.84-168.24, p=0.013) | | | |
| | HIGH | 11 (20.4) | 222.84 | (17.33-2866.20, p<0.001) | | | |



| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 | 192 | 216 | 240 |
|------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ipss=LOW | 17 | 17 | 16 | 16 | 14 | 14 | 11 | 7 | 4 | 1 | 0 |
| ipss=INT-1 | 19 | 18 | 14 | 14 | 11 | 5 | 5 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| ipss=INT-2 | 7 | 7 | 6 | 6 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ipss=HIGH | 11 | 7 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Concordance 0,851 (se=0,045)

Per i pazienti in cui era disponibile il dato di analisi citogenetica alla diagnosi, o che avessero eseguito la stessa in un secondo momento e questa fosse risultata fisiologica, e' stata testata anche la stratificazione secondo lo score DIPSS+.

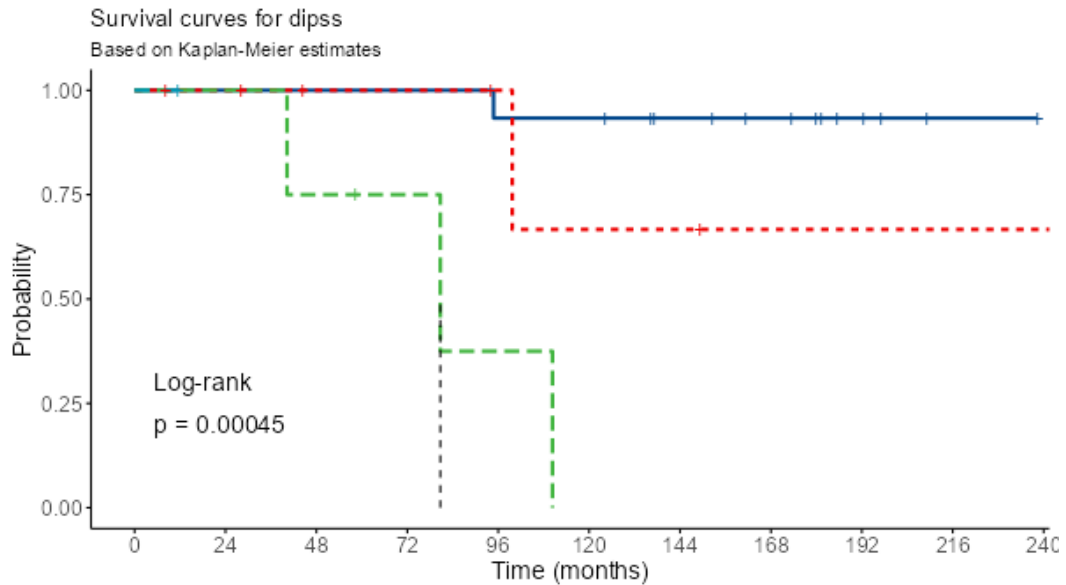
Median Survival Table: Levels for DIPSS+ PMF

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 15 | 1 | 233.6 | 9.58 | NaN | NaN | NaN |
| INT-1 | 7 | 2 | 195.6 | 39.15 | 243.6 | 99.7 | NaN |
| INT-2 | 4 | 4 | 73.9 | 12.74 | 72.5 | 40.3 | NaN |
| HIGH | 1 | 0 | 243.6 | 0.00 | NaN | NaN | NaN |

Cox Table- DIPSS+ PMF

| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) |
|-------------|--------|-----------|------------------------------|
| DIPSS+ | LOW | 15 (55.6) | - |
| | INT-1 | 7 (25.9) | 4.99 (0.31-80.13, p=0.257) |
| | INT-2 | 4 (14.8) | 36.79 (3.96-341.92, p=0.002) |
| | HIGH | 1 (3.7) | NA (NA-NA, p=NA) |

Survival Plot - DIPSS+



| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 | 192 | 216 | 240 |
|-------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| dipss=LOW | 15 | 15 | 15 | 15 | 14 | 14 | 11 | 8 | 4 | 1 | 0 |
| dipss=INT-1 | 7 | 6 | 4 | 4 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| dipss=INT-2 | 4 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| dipss=HIGH | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

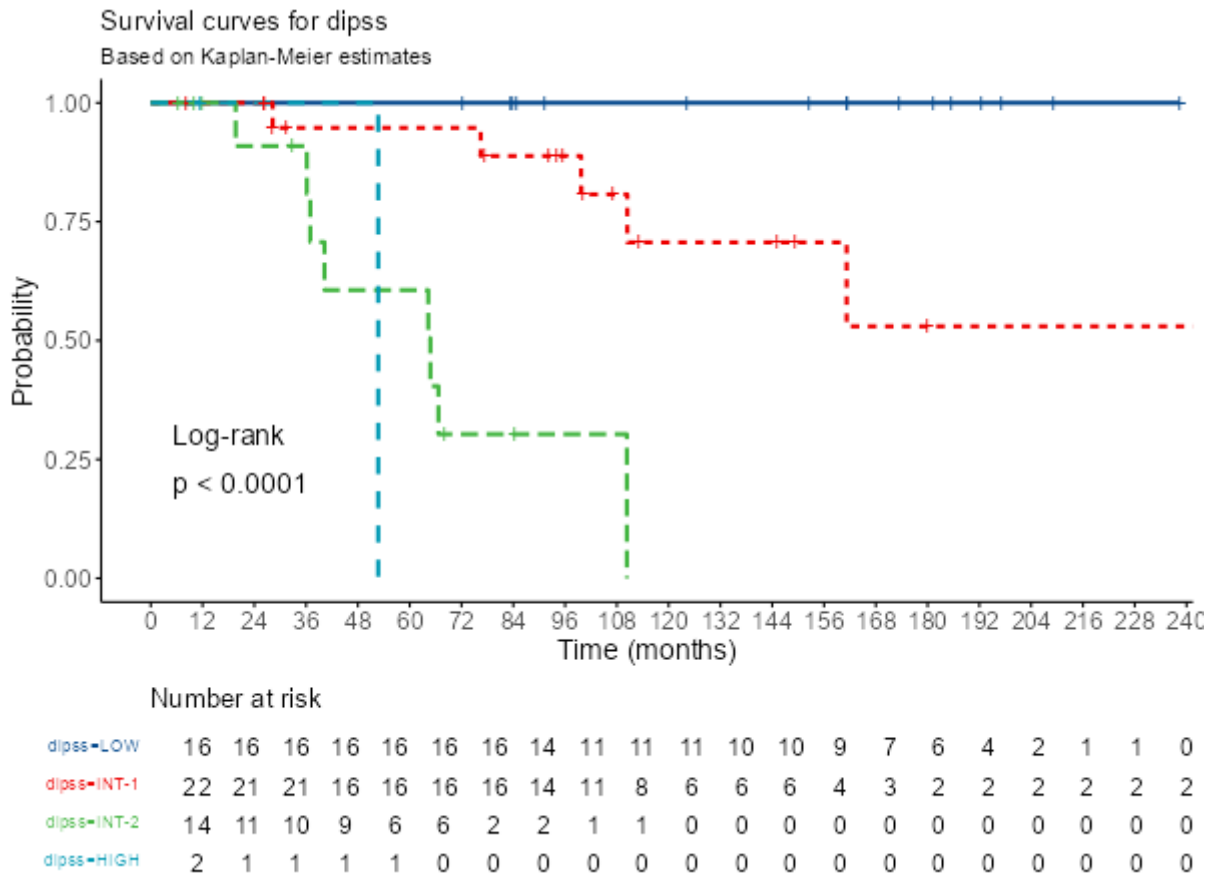
Concordance 0,84 (se=0,091)

E' stata inoltre ripetuta la valutazione con lo score DIPSS procedendo pero' alla censura dei pazienti sottoposti a trapianto di midollo:

Median Survival Table: Levels for DIPSS

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 16 | 0 | 257.4 | 0.0 | NaN | NaN | NaN |
| INT-1 | 22 | 7 | 186.4 | 22.8 | 243.6 | 110.4 | NaN |
| INT-2 | 14 | 8 | 66.4 | 10.1 | 64.8 | 37.0 | NaN |
| HIGH | 2 | 1 | 52.7 | 0.0 | 52.7 | NaN | NaN |

A causa del basso numero di pazienti classificati ad alto rischio risulta poco valutabile la capacita' di discriminare tra le classi INT-2 e HIGH.



Overall survival nei pazienti affetti da SMF

La classificazione dei paziente con diagnosi di SMF e` stata eseguita con gli scores MYSEC-PM e DIPSS+, con la seguente distribuzione nelle varie classi:

| | MYSEC-PM | DIPSS+ |
|--------------|----------|--------|
| LOW | 10 | 4 |
| INT-1 | 17 | 10 |
| INT-2 | 10 | 6 |
| HIGH | 3 | 1 |

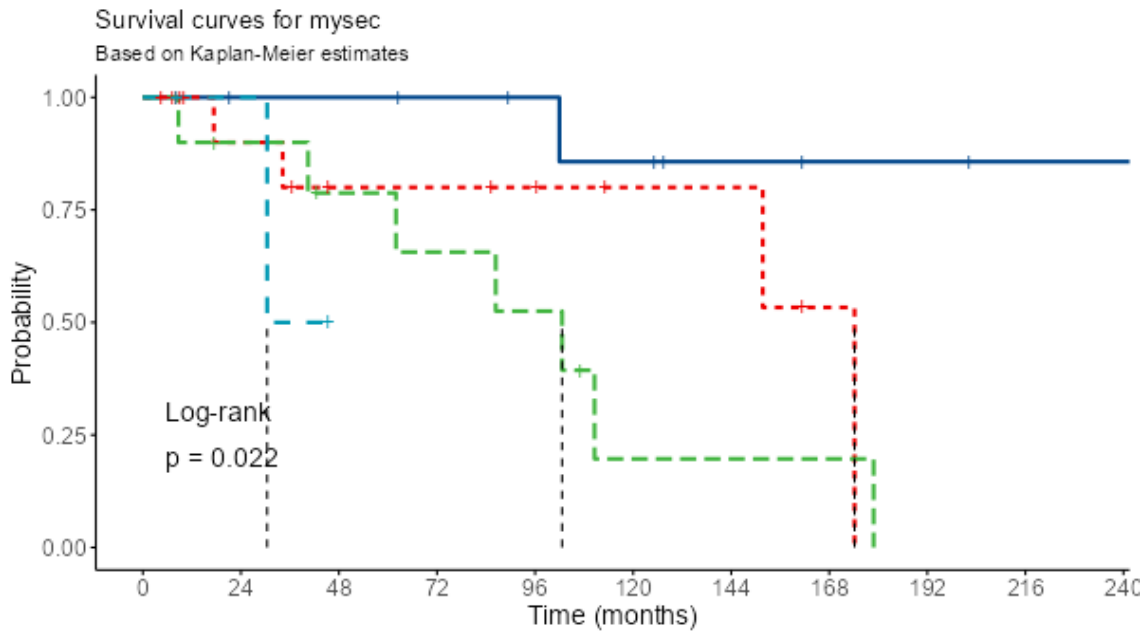
l'analisi dell'OS nella popolazione ha dimostrato una discreta capacita` di separazione, sebbene inferiore rispetto a quella riscontrata nei test nella popolazione PMF:

Median Survival Table: Levels for SMF MYSEC

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 10 | 2 | 243.0 | 21.8 | 266.5 | NaN | NaN |
| INT-1 | 17 | 4 | 138.5 | 18.5 | 174.2 | 151.7 | NaN |
| INT-2 | 10 | 7 | 95.3 | 18.6 | 102.6 | 62.0 | NaN |
| HIGH | 3 | 1 | 148.5 | 83.5 | 30.4 | 30.4 | NaN |

Cox Table- MYSEC SMF

| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) |
|-------------|--------|--------------|------------------------------|
| MYSEC | LOW | 10 (25.0) | - |
| | INT-1 | 17 (42.5) | 6.19 (0.67-56.84, p=0.107) |
| | INT-2 | 10 (25.0) | 11.72 (1.43-95.95, p=0.022) |
| | HIGH | 3 (7.5) | 26.72 (1.42-503.88, p=0.028) |



| | Number at risk | | | | | | | | | | |
|-------------|----------------|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 | 192 | 216 | 240 |
| mysec=LOW | 10 | 9 | 9 | 8 | 7 | 6 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| mysec=INT-1 | 17 | 9 | 6 | 6 | 5 | 3 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| mysec=INT-2 | 10 | 8 | 6 | 5 | 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| mysec=HIGH | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Concordance= 0.747 (se = 0.074)

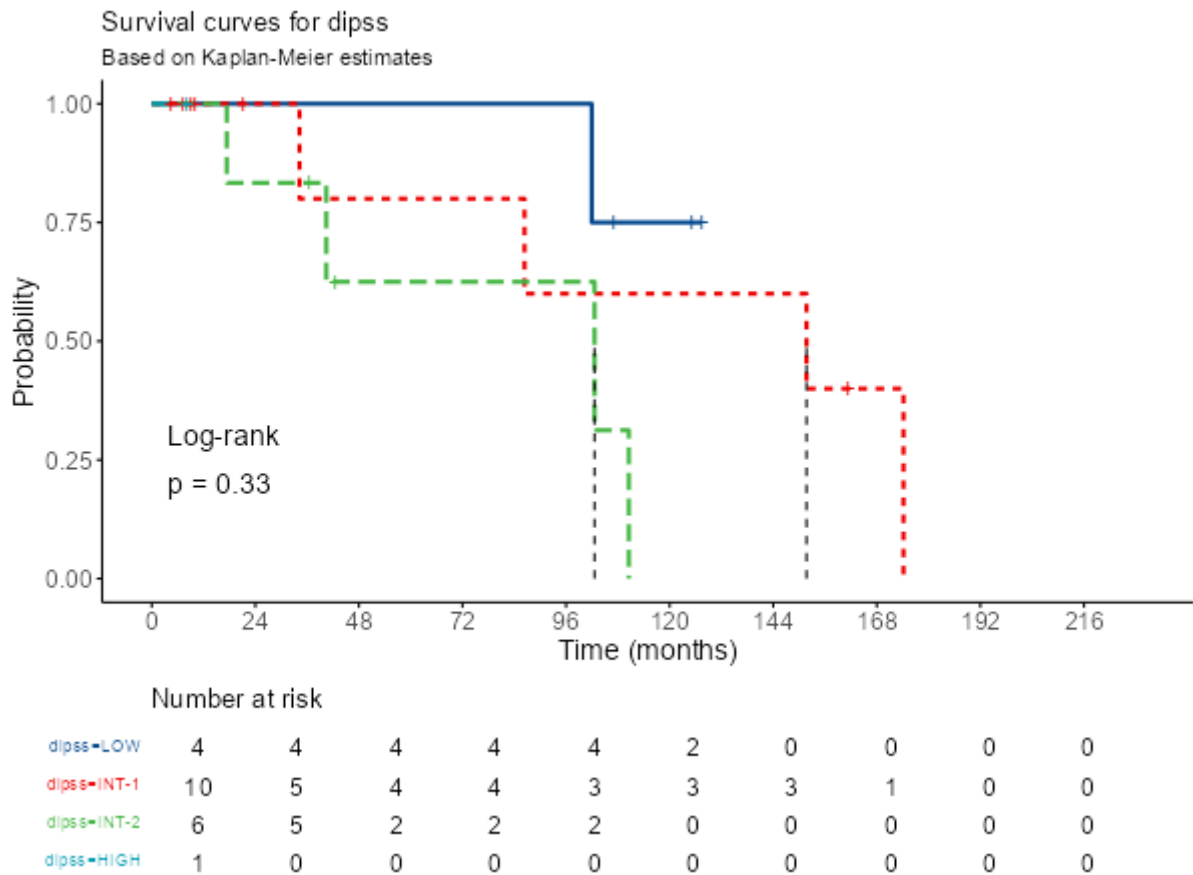
Nei pazienti di cui si conoscevano le caratteristiche citogenetiche e` stata quindi eseguita un'analisi sulla base della classificazione DIPSS+, risultata inadeguata pero` per tale popolazione in cui non raggiunge significativita` statistica, inficiata anche dal basso numero di soggetti analizzati (21):

Median Survival Table: Levels for DIPSS+ SMF

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 4 | 1 | 156.1 | 15.6 | NaN | 102.0 | NaN |
| INT-1 | 10 | 4 | 124.1 | 24.7 | 152 | 86.4 | NaN |
| INT-2 | 6 | 4 | 77.9 | 16.4 | 103 | 40.4 | NaN |
| HIGH | 1 | 0 | 174.2 | 0.0 | NaN | NaN | NaN |

Cox Table- DIPSS+SMF

| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) |
|-------------|--------|-----------|----------------------------|
| DIPSS+ | LOW | 4 (19.0) | - |
| | INT-1 | 10 (47.6) | 1.82 (0.16-20.27, p=0.624) |
| | INT-2 | 6 (28.6) | 5.35 (0.59-48.95, p=0.137) |
| | HIGH | 1 (4.8) | NA (NA-NA, p=NA) |



Concordance= 0.686 (se = 0.079)

Progression free survival

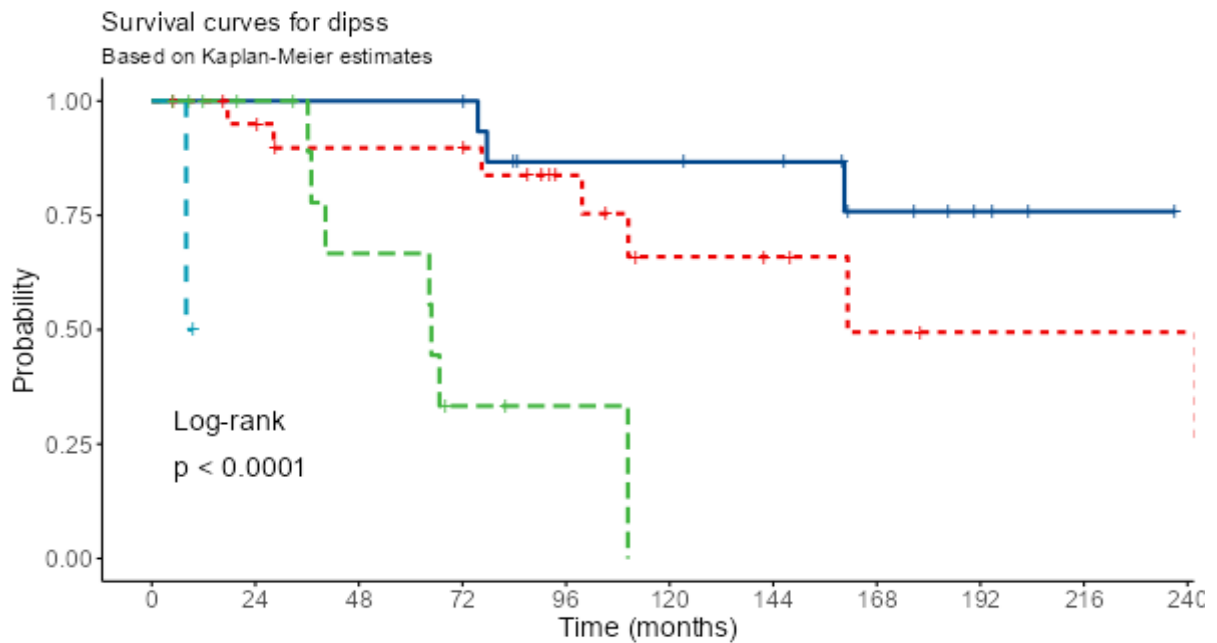
E' stata valutata anche la progression free survival nella PMF e nella SMF; in tale analisi e' stata considerata progressione l'evoluzione a fase accelerata, l'evoluzione a leucemia e la morte per qualsiasi causa, mentre i pazienti sottoposti a trapianto, se l'evento non si era verificato prima della procedura, sono stati censorizzati all'ultima visita pre-trapianto.

Median PFS Table: Levels for DIPSS PMF

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 16 | 3 | 212.3 | 16.11 | NaN | NaN | NaN |
| INT-1 | 22 | 8 | 172.3 | 22.08 | 161.25 | 110.42 | NaN |
| INT-2 | 13 | 7 | 71.1 | 9.97 | 64.79 | 40.25 | NaN |
| HIGH | 2 | 1 | 125.8 | 83.29 | 7.98 | 7.98 | NaN |

Cox Table- DIPSS PMF

| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) |
|-------------|--------|--------------|---------------------------------------|
| DIPSS | LOW | 16 (30.2) | - |
| | INT-1 | 22 (41.5) | 2.45 (0.61-9.90, p=0.209) |
| | INT-2 | 13 (24.5) | 15.27 (3.35-69.58, p<0.001) |
| | HIGH | 2 (3.8) | 16780239509612.54 (0.00-Inf, p=1.000) |



| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 | 192 | 216 | 240 |
|-------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| dipss=LOW | 16 | 16 | 16 | 16 | 11 | 11 | 10 | 6 | 3 | 1 | 0 |
| dipss=INT-1 | 22 | 19 | 16 | 16 | 10 | 6 | 5 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| dipss=INT-2 | 14 | 10 | 6 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| dipss=HIGH | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Concordance 0,76 (se=0,065)

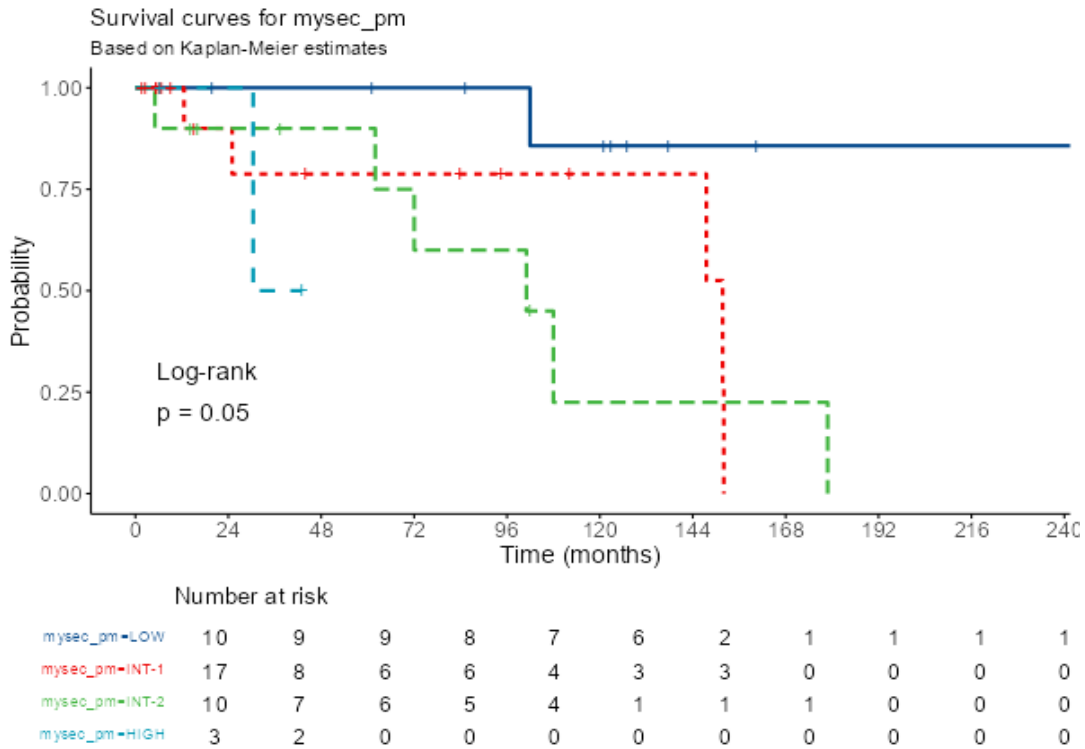
Nell'ambito della SMF la classificazione con lo score MYSEC altrettanto efficace nell'ambito della PFS che in quello della OS.

PFS Table: Levels for MYSEC-PM SMF

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 10 | 2 | 243 | 21.8 | 266.5 | NaN | NaN |
| INT-1 | 17 | 5 | 123 | 17.6 | 151.7 | 147.5 | NaN |
| INT-2 | 10 | 6 | 100 | 19.7 | 101.0 | 62.0 | NaN |
| HIGH | 3 | 1 | 148 | 83.5 | 30.4 | 30.4 | NaN |

Cox Table- MYSEC-PM

| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) |
|-------------|--------|--------------|------------------------------|
| MYSEC-PM | LOW | 10 (25.0) | - |
| | INT-1 | 17 (42.5) | 6.97 (0.80-60.66, p=0.079) |
| | INT-2 | 10 (25.0) | 10.03 (1.19-84.40, p=0.034) |
| | HIGH | 3 (7.5) | 23.80 (1.21-466.28, p=0.037) |



Concordance 0,724 (se=0,079)

Popolazione under 70

E' stata poi testata l'accuratezza degli score solamente clinici (MYSEC e DIPSS) o misto clinico-genetico (DIPSS+) nel valutare correttamente il rischio nei pazienti sotto i 70 anni, ovvero potenzialmente candidabili a trapianto.

Nell'ambito della PMF lo score DIPSS separa abbastanza bene tra pazienti a rischio basso-intermedio e pazienti a rischio intermedio-alto, pur non distinguendo tra rischio INT-1 e LOW e non evidenziando pazienti a rischio indubbiamente elevato:

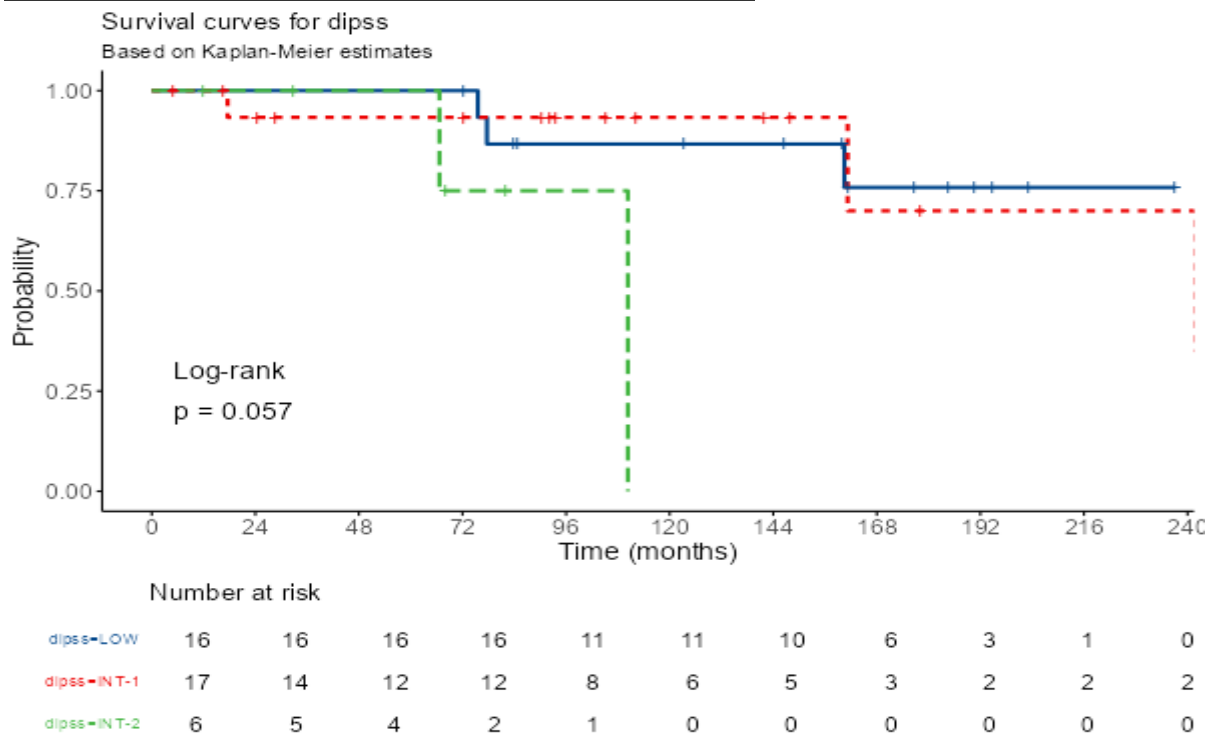
Median PFS: Levels for DIPSS U70

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 16 | 3 | 212.3 | 16.11 | NaN | NaN | NaN |
| INT-1 | 17 | 4 | 208.7 | 21.09 | 242 | 161.3 | NaN |
| INT-2 | 6 | 2 | 99.4 | 9.45 | 110 | 66.7 | NaN |

Cox Table- DIPSS U70

Median PFS: Levels for DIPSS U70

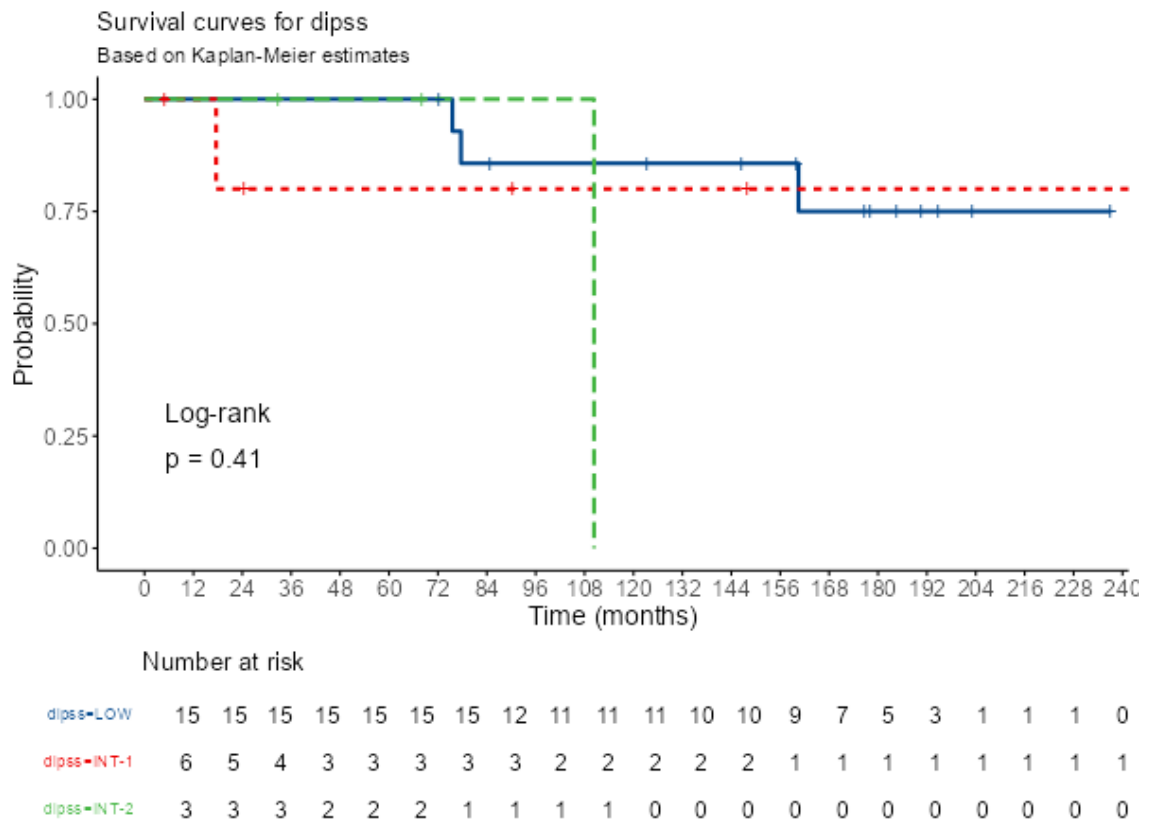
| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|---------------|------------|----------------------------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) | | | | |
| DIPSS | LOW | 16 (41.0) | - | | | | |
| | INT-1 | 17 (43.6) | 1.01 (0.17-6.11, p=0.988) | | | | |
| | INT-2 | 6 (15.4) | 6.92 (0.95-50.48, p=0.056) | | | | |



Concordance 0,634 (se=0,058)

L'analisi utilizzando lo score DIPSS+ risulta seriamente inficiata dal numero troppo ristretto di pazienti per cui i dati di citogenetica sono risultati significativi:

PFS Plot - DIPSS+ U70



Concordance 0,646 (se=0,066)

Per quanto riguarda la SMF il MYSEC riconosce bene i pazienti a rischio piu' basso ma, risentendo anche del fatto che anche qui diminuendo l'influenza dell'eta' sostanzialmente spariscono i pazienti in classe HIGH alla diagnosi, separa in maniera poco efficace tra le classi INT-1 e INT-2, ovvero quelle in cui maggiormente bisogna valutare con maggiore cura se avviare il paziente all'iter trapiantologico.

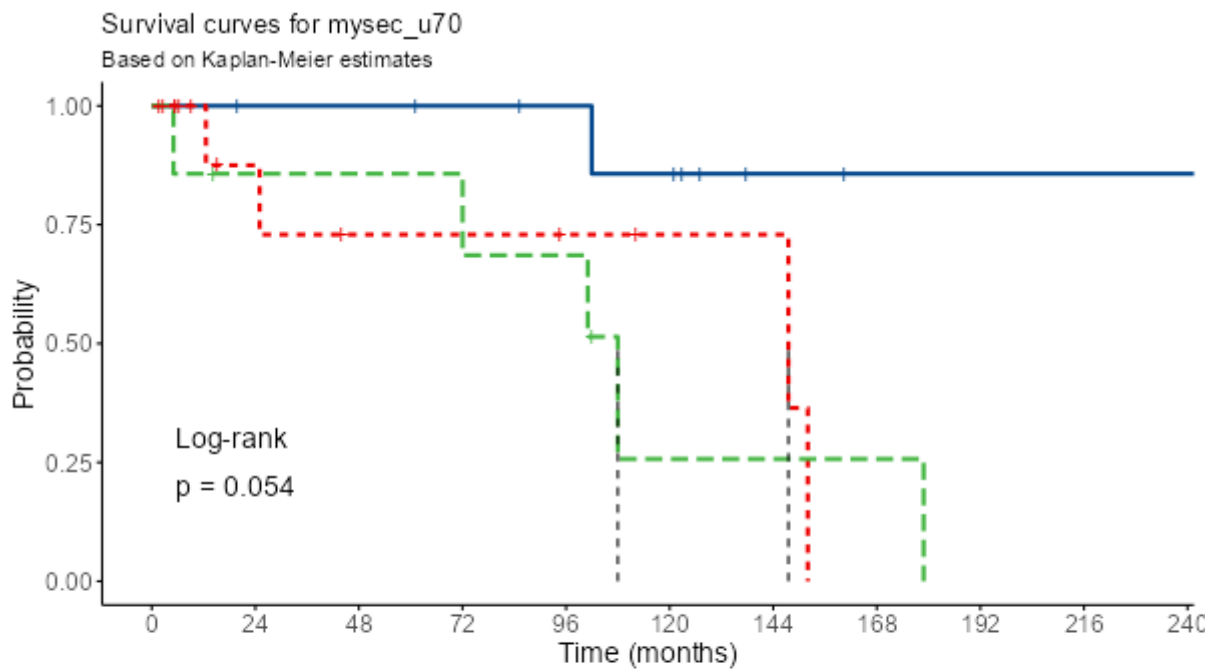
PFS Table: Levels for MYSEC U70

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 10 | 2 | 243 | 21.8 | 266 | NaN | NaN |
| INT-1 | 14 | 4 | 114 | 21.5 | 148 | 25.0 | NaN |
| INT-2 | 7 | 5 | 104 | 22.9 | 108 | 72.0 | NaN |

Cox Table- MYSEC U70

PFS Table: Levels for MYSEC U70

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|---------------|--------------|----------------------------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| Explanatory | Levels | all | HR (Univariable) | | | | |
| MYSEC U70 | LOW | 10 (32.3) | - | | | | |
| | INT-1 | 14 (45.2) | 7.21 (0.79-65.86, p=0.080) | | | | |
| | INT-2 | 7 (22.6) | 9.25 (1.07-80.31, p=0.044) | | | | |



| | Number at risk | | | | | | | | | | |
|-----------------|----------------|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 | 192 | 216 | 240 |
| mysec_u70=LOW | 10 | 9 | 9 | 8 | 7 | 6 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| mysec_u70=INT-1 | 14 | 6 | 4 | 4 | 3 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| mysec_u70=INT-2 | 7 | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |

Concordance 0,75 (se=0,079)

Un risultato simile e' stato ottenuto utilizzando lo score DIPSS nella popolazione SMF-U70:

PFS Table: Levels for DIPSS SMF U70

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| LOW | 10 | 2 | 243 | 21.8 | 266 | NaN | NaN |
| INT-1 | 11 | 5 | 125 | 21.2 | 148 | 72.0 | NaN |

PFS Table: Levels for DIPSS SMF U70

| Levels | Records | Events | rmean | se_rmean | Median | 95% Confidence Interval | |
|--------|---------|--------|-------|----------|--------|-------------------------|-------|
| | | | | | | Lower | Upper |
| INT-2 | 10 | 4 | 120 | 40.5 | 101 | 12.6 | NaN |



Concordance 0,785 (se=0,07)

In conclusione la capacita` di separazione in classi di rischio omogenee dei test puramente clinici, molto buona nella popolazione generale dello studio comprendente le fasce anagrafiche piu` avanzate, perde di specificita` in maniera significativa quando applicata alle fasce piu` giovani, pur mantenendo una capacita` predittiva significativa soprattutto per le fasce di rischio piu` polarizzate.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI E CONCLUSIONI

La popolazione generale osservata in analisi è risultata leggermente più giovane della media attesa nei pazienti affetti da mielofibrosi (età media 60,9 anni vs 65 attesa); in ciò può avere avuto un ruolo l'inserimento nel gruppo analizzato di una rilevante quota di pazienti con mielofibrosi early, che ha un'età di insorgenza minore rispetto alla fase conclamata. Associata alla minore età alla diagnosi si è osservata anche una migliore sopravvivenza mediana, dato che la sopravvivenza mediana globale è risultata di quasi 15 anni (179mesi con IC95% 152-NR); tale valore è sostanzialmente sovrapponibile a quello osservato nella popolazione affetta da mielofibrosi secondaria, che almeno dal punto di vista della sopravvivenza risulta globalmente omogenea tra la forma PPV e PTE; diverso il caso della PM, dove accanto ad una forma early con una OS mediana superiore nettamente a quella della popolazione globale (OS mediana superiore a 20 anni) si assiste nella OMF ad una OS nettamente inferiore a quella di tutte le altre forme; tale fattore va considerato anche nell'analisi dei dati di sopravvivenza tra le classi, in cui le forme a basso rischio di PMF corrispondono spesso con i quadri EMF. Sebbene in altri studi sulla PMF sia stato scelto di escludere i pazienti affetti da EMF nell'analisi riguardo la sopravvivenza (ad esempio negli studi relativi agli score prognostici)⁷, si è preferito condurre l'analisi includendo anche queste forme, tendenzialmente meno aggressive, perché, oltre a presentare un profilo mutazionale di base molto simile a quelle delle forme conclamate, il loro comportamento risulta comunque estremamente variegato, e come evidenziato non sono rari i casi di pazienti che, inquadrati come EMF, mostrano nel corso della storia clinica un'evoluzione a OMF, con anche evoluzione in forma accelerata o leucemica, o necessità di trapianto allogenico.

L'analisi della presentazione clinica e dell'impatto dei fattori di rischio nelle diverse forme di MF ha dimostrato alcune differenze significative, oltre che tra la forma EMF e OMF ampiamente attese, anche tra la forma PPV e PTE. Da notare che, mentre la forma Early sembra come caratteristiche sostanzialmente una forma meno avanzata della forma overt, le differenze nelle forme post SMF sono più marcate, e in alcuni aspetti presentano dati agli antipodi tra loro. In particolare la forma PPV sembra maggiormente connotata in senso "proliferante", con valori più elevati di emoglobina, globuli bianchi, diametri splenici e cellule CD34+ circolanti, sebbene per quest'ultimo parametro cioè sia vero solo in senso assoluto, mentre in percentuale risultano tendenzialmente, anche se non in maniera statisticamente significativa, più elevate nella forma PTE. Tali differenze possono essere almeno in parte riconducibili anche al diverso profilo genetico delle due forme, data la totale dipendenza della forma PPV dall'espressione della mutazione JAK2 V617F, mentre la forma PTE mostra maggiore varietà ed un setting simile a quello della PMF. In base ai valori riscontrati la forma PTE sembra ricollegarsi alla definizione "myelodepletive" usata in un recente articolo di Chiftoides H. et al⁹, mentre la forma PPV rappresenta probabilmente l'estremo "myeloproliferative".

La presenza di caratteristiche così diverse tra le due sottopopolazioni può essere responsabile della minore correlazione riscontrata nella popolazione SMF globale tra i fattori di rischio analizzati e la sopravvivenza globale, rispetto a quanto osservato nella PMF. Da notare comunque come queste caratteristiche differenti tra PTE-MF e PPV-MF non conducano alla fine ad una differenza significativa nella sopravvivenza mediana tra di esse.

Per quanto riguarda l'analisi genetica i dati sono risultati poco significativi nella classificazione generale della popolazione, sebbene per problematiche differenti.

L'analisi citogenetica ha mostrato una prevalenza pressoché assoluta di cariotipo non patologico alla diagnosi, sebbene tale dato sia in contrasto con la letteratura in merito. Un altro problema della metodica, intrinsecamente correlato alle caratteristiche della malattia, è dato dall'elevato riscontro di campioni non valutabili, per punctio sicca o per assenza o numero insufficiente di metafasi.

Al contrario l'analisi eseguita al momento della trasformazione in senso accelerato o blastico ha mostrato sovente anomalie citogenetiche significative e di significato

prognostico negativo, sebbene la conoscenza di questo dato verosimilmente ha avuto poca influenza sulle successive decisioni cliniche.

Per quanto riguarda l'analisi NGS, essendo entrata di recente nella pratica clinica ematologica routinaria, i dati erano disponibili solo in una minoranza dei casi, e perlopiù solo relativamente a fasi della malattia successive alla diagnosi; in almeno un caso abbiamo riscontrato come la conoscenza completa del profilo mutazionale del paziente dal momento della diagnosi avrebbe molto probabilmente modificato l'iter terapeutico successivo, indirizzandolo precocemente a valutazione trapiantologica, e presumibilmente evitando la successiva evoluzione leucemica che, sebbene sia stata trattata con successo, ha sicuramente messo a rischio a vita del paziente.

L'NGS riveste sicuramente un'importanza fondamentale nella scelta dell'iter terapeutico, e tale ruolo diventerà sempre maggiore con la maggiore implementazione della metodica la definizione di schemi di utilizzo per la sua valutazione in modalità dinamica, andando cioè a rivalutare periodicamente lo stato mutazionale del paziente per intercettare precocemente la comparsa di mutazioni ad alto rischio, prima che determinino un peggioramento del quadro clinico.

Uno dei limiti principali di questa analisi è che essa ha utilizzato come classificazione dei pazienti per l'analisi della sopravvivenza solo quella eseguita al momento della diagnosi, senza tracciare la rivalutazione dinamica del rischio del paziente che è uno dei cardini della gestione clinica nella mielofibrosi. Ciò è stato dovuto principalmente al fatto che, essendo un'analisi retrospettiva di una popolazione eterogenea e non sottoposta ad un follow up rigido come quelli predisposti in studi prospettici, pertanto non è stato possibile determinare dei time point omogenei per le rivalutazioni del rischio.

Nonostante questo limite significativo l'analisi ha dimostrato la buona capacità degli score clinici in uso, fin dalla diagnosi, di attribuire con buona correlazione i pazienti alla classe di rischio corrispondente a quello che poi sarebbe stato l'andamento clinico della patologia.

Questo è risultato vero soprattutto considerando i pazienti più anziani, o comunque la popolazione nel suo insieme; l'importanza del dato anagrafico nella

determinazione del rischio negli score prognostici rende gli stessi meno precisi e affidabili quando applicati alle fasce piu` giovani, in cui la necessita` di discriminare tra la probabilita` di evoluzione e` piu` importante per l'eventuale avvio dell'iter trapiantologico, potenzialmente curativo ma gravato da una mortalita` e morbidita` ancora significative; per questo motivo risulta imprescindibile l'adozione di score maggiormente efficaci e l'accesso routinario alle metodiche su cui si basano.

Ringraziamenti

In primis, desidero rivolgere un ringraziamento speciale al mio relatore, il **Professor Maurizio Miglino**, per la sua immensa pazienza, per i preziosi consigli e per le fondamentali conoscenze che mi ha trasmesso con dedizione durante l'intero percorso di stesura di questo elaborato.

Alla mia **famiglia**, infinita fonte di amore e supporto. Grazie per avermi insegnato i valori supremi dell'onestà e della dignità, trasmettendomi la tenacia, lo spirito di sacrificio e la pazienza necessari per costruire, giorno dopo giorno, il mio futuro.

Un ringraziamento di vero cuore a **mio padre**, per i suoi sacrifici silenziosi, il sostegno costante e gli insegnamenti preziosi che mi hanno reso la persona che sono oggi. Senza di te non sarei mai arrivato fin qui. Spero, con questo traguardo, di poterti ripagare almeno in parte, rendendoti profondamente fiero di me.

Ringrazio infinitamente **mia madre**, che mi ha sorretto ogni volta che ho dubitato di me stesso o di non essere all'altezza. Con la tua ostinazione – la forza pura di chi insegue un sogno vero – mi hai insegnato che l'unico modo per vincere paure e insicurezze è affrontarle a viso aperto, appoggiando sempre ogni mia decisione. Tutto questo, semplicemente, non sarebbe stato possibile senza di te.

Un ringraziamento profondo e del tutto particolare va al **Dottor Ahmad**. Sei stato una vera e propria bussola fin dal giorno della mia immatricolazione. La tua costante disponibilità, il tuo supporto incondizionato e la tua capacità di guidarmi nei meandri di questo lungo percorso universitario sono stati per me un faro. Se oggi sono qui, a un passo dall'indossare questa corona d'alloro, è in grandissima parte merito tuo: grazie per non avermi mai lasciato.

Al **Dottor Felix**, compagno prezioso di questo lungo viaggio. Abbiamo condiviso percorsi paralleli, sostenendoci a vicenda attraverso infinite giornate di studio e affrontando insieme tutto ciò che la vita ci ha riservato in questi anni. Grazie per essere stato sempre al mio fianco, per avermi spronato a dare il massimo e per essere riuscito a tirare fuori il meglio di me ogni volta che il carico sembrava troppo pesante, la fatica troppa e la meta troppo distante.

A tutte le persone che, in questi anni, hanno incrociato la loro strada con la mia: grazie per aver contribuito, ciascuno a proprio modo, alla mia crescita, arricchendomi e lasciando un segno nel medico e nell'uomo che sono diventato.

Infine, dedico questa tesi a **me stesso**, all'impegno profuso, ai sacrifici fatti e a quella tenacia che non mi ha mai abbandonato, permettendomi di tagliare oggi questo traguardo tanto atteso.

BIBLIOGRAFIA:

1. Chen X, Patkar N, Tembhare P, et al. Fifth edition WHO classification: myeloid neoplasms. *J Clin Pathol.* 2025;78(5):335-345. doi:10.1136/jcp-2024-210022
2. Means RT, Jr., Rodgers GM, Glader B, et al. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 15e. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; 2024. <https://oncology.lwwhealthlibrary.com/book.aspx?bookid=3281§ionid=0>
3. Passamonti F, Tefferi A. et al A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood.* 2010 Mar 4;115(9):1703-8. doi: 10.1182/blood-2009-09-245837. Epub 2009 Dec 14. PMID: 20008785.
4. Guglielmelli P, Tefferi A. et al. MIPSS70: Mutation-Enhanced International Prognostic Score System for Transplantation-Age Patients With Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol.* 2018 Feb 1;36(4):310-318. doi: 10.1200/JCO.2017.76.4886. Epub 2017 Dec 9. PMID: 29226763.
5. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, Gangat N, Ketterling RP, Pardanani A, Vannucchi AM. MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol.* 2018 Jun 10;36(17):1769-1770. doi: 10.1200/JCO.2018.78.9867. Epub 2018 Apr 30. PMID: 29708808.
6. Passamonti F, Vannucchi AM. Et al. A clinical-molecular prognostic model to predict survival in patients with post polycythemia vera and post essential thrombocythemia myelofibrosis. *Leukemia.* 2017 Dec;31(12):2726-2731. doi: 10.1038/leu.2017.169. Epub 2017 May 31. PMID: 28561069.
7. Guglielmelli P, Vannucchi AM; AGIMM Group. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of prefibrotic and overt primary myelofibrosis. *Blood.* 2017 Jun 15;129(24):3227-3236. doi: 10.1182/blood-2017-01-761999. Epub 2017 Mar 28. PMID: 28351937.

8. Tefferi A, Vannucchi AM. Risk models in myelofibrosis-the past, present, and future. *Am J Hematol*. 2024 Apr;99(4):519-522. doi: 10.1002/ajh.27270. Epub 2024 Feb 23. PMID: 38400565.

9. Chifotides HT, Verstovsek S, Bose P. Association of Myelofibrosis Phenotypes with Clinical Manifestations, Molecular Profiles, and Treatments. *Cancers (Basel)*. 2023 Jun 24;15(13):3331. doi: 10.3390/cancers15133331. PMID: 37444441; PMCID: PMC10340291.

10. Passamonti F, Mora B. Myelofibrosis. *Blood*. 2023 Apr 20;141(16):1954-1970. doi: 10.1182/blood.2022017423. PMID: 36416738; PMCID: PMC10646775.