



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE **LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):**

dove siamo e dove stiamo andando?



Venezia | 20 novembre 2025 Ospedale SS. Giovanni & Paolo, Sala S. Domenico

IL MICROAMBIENTE NELLE LAL: MECCANISMI BIO-MOLECOLARI, BIOMARCATORI E POTENZIALI BERSAGLI TERAPEUTICI



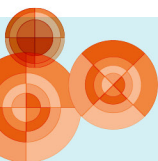
Università
degli Studi
di Ferrara

Prof.ssa Carolina Simioni
Università degli Studi di Ferrara



**THE AUTHOR HAS NOTHING TO DISCLOSE REGARDING THE
CONTENT OF THIS PRESENTATION AND HAS NO CONFLICT
OF INTEREST.**

Company name	Research support	Employee	Consultant	Stockholder	Speakers bureau	Advisory board	Other



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

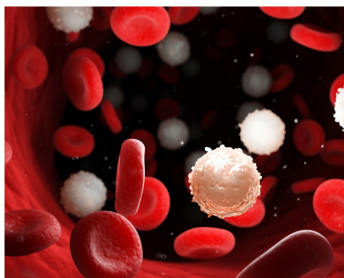
LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo

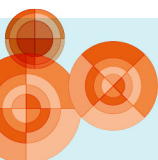




The Complexity of the Tumor Microenvironment and Its Role in Acute Lymphoblastic Leukemia: Implications for Therapies

Carolina Simioni^{1,2}, Ilaria Conti³, Gabriele Varano³, Cinzia Brenna³, Eva Costanzi³ and Luca M. Neri^{2,3}*

¹ Department of Life Sciences and Biotechnology, University of Ferrara, Ferrara, Italy, ² Laboratory for Technologies of Advanced Therapies (LTTA) - Electron Microscopy Center, University of Ferrara, Ferrara, Italy, ³ Department of Translational Medicine, University of Ferrara, Ferrara, Italy



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

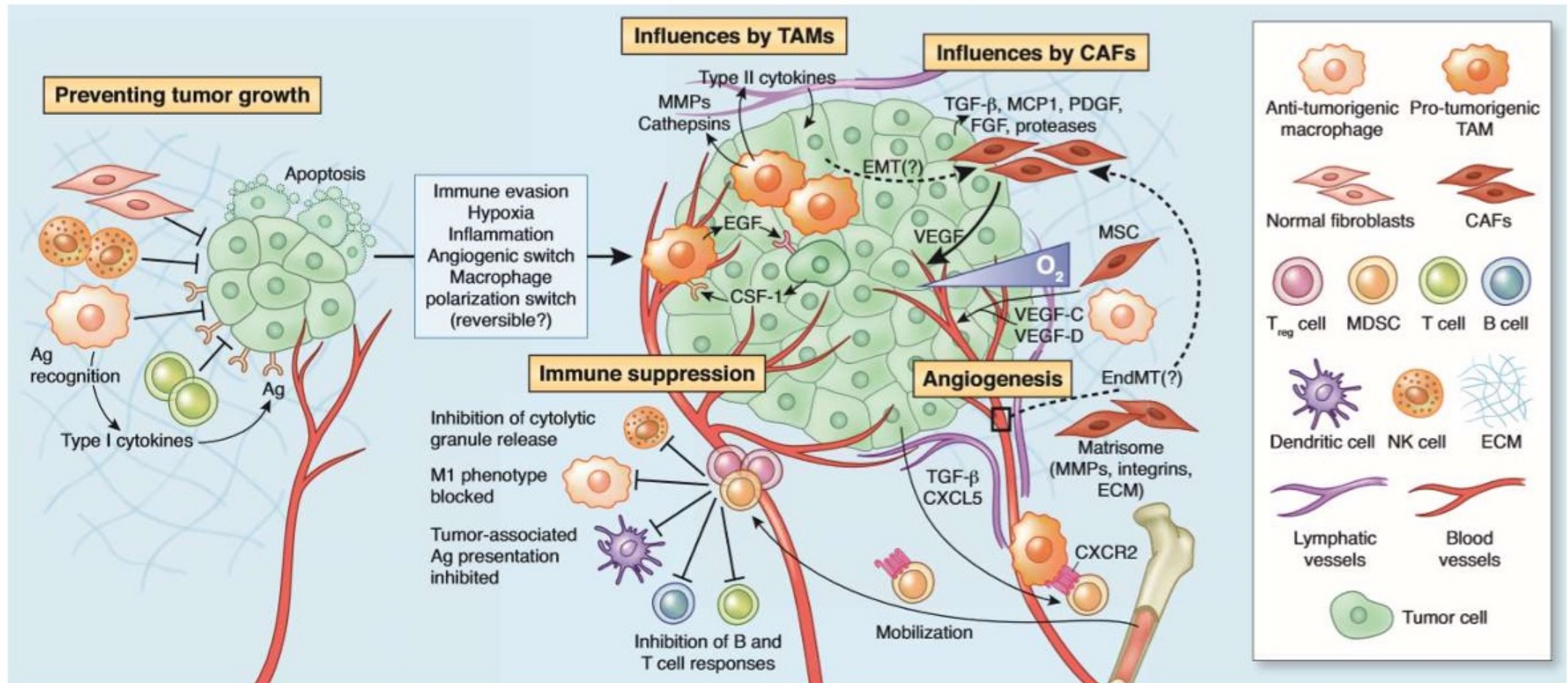
dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo



MICROAMBIENTE: ruolo nelle fasi iniziali



Quail et al. Nature Medicine 2013

EQUILIBRIUM



PROMOTING/ESCAPE

MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

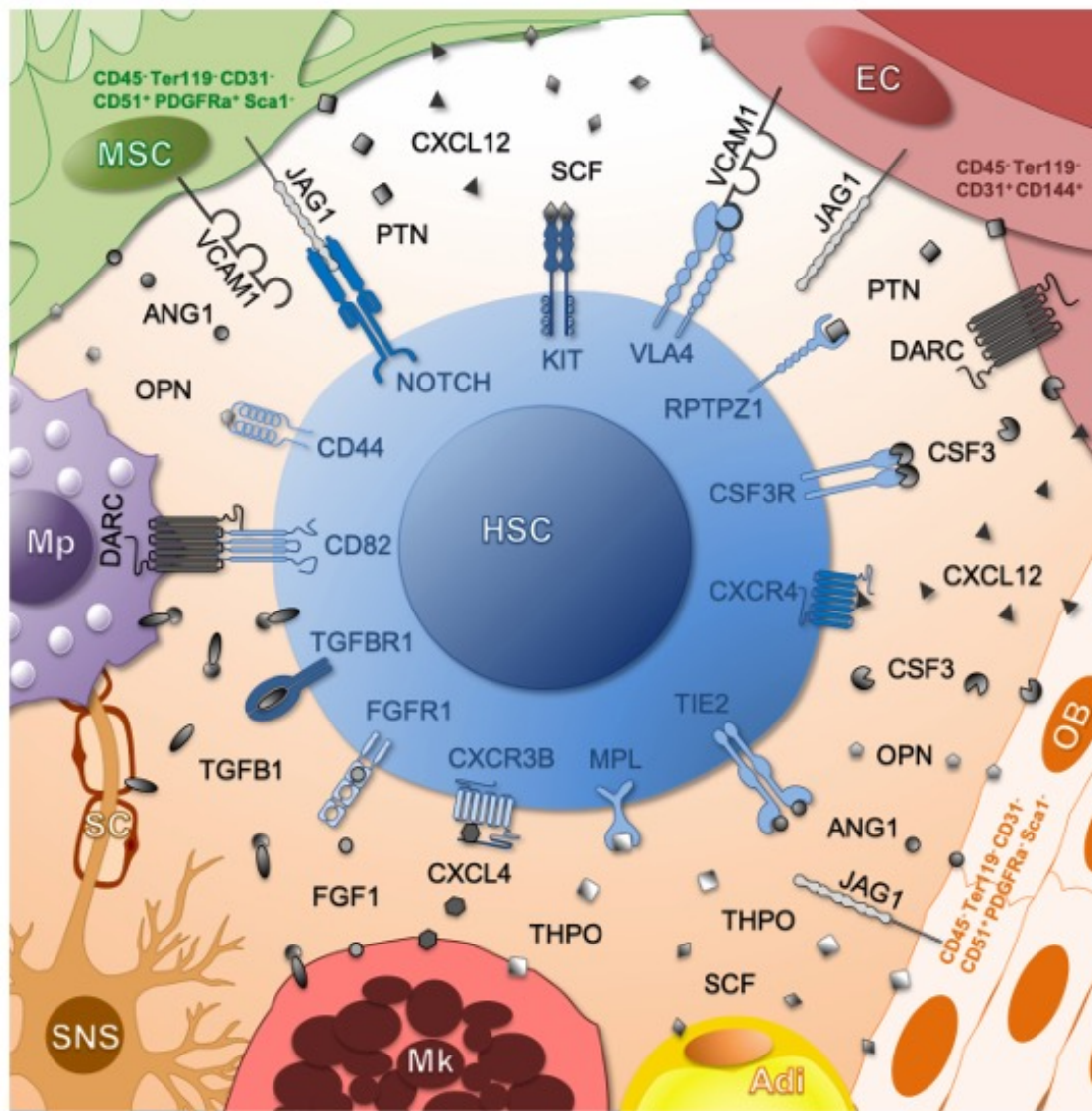
LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo

IL MICROAMBIENTE DEL MIDOLLO OSSEO



Fröbel J et al. 2021

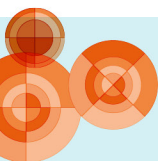
HSC al centro della nicchia: le cellule staminali ematopoietiche, circondate dai principali regolatori del microambiente midollare.

Diversi tipi cellulari coinvolti: cellule stromali mesenchimali (MSC), endoteliali (EC), osteoblasti (OB), megacariociti (Mk), adipociti (Adi), macrofagi (Mp) e componenti del sistema nervoso simpatico (SNS).

Segnali chiave della nicchia: fattori secreti come CXCL12, Stem Cell Factor (SCF), Angiopoietin-1 (ANG1) coinvolti nella quiescenza, sopravvivenza e differenziamento delle HSC.

Molecole di adesione e recettori: espressione di VCAM1, integrine, CD44, Notch, KIT, CXCR4, che mediano il contatto diretto tra HSC e cellule della nicchia.

I segnali e le interazioni cellula-cellula mantengono l'equilibrio tra auto-rinnovamento, attivazione e differenziamento delle HSC.



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

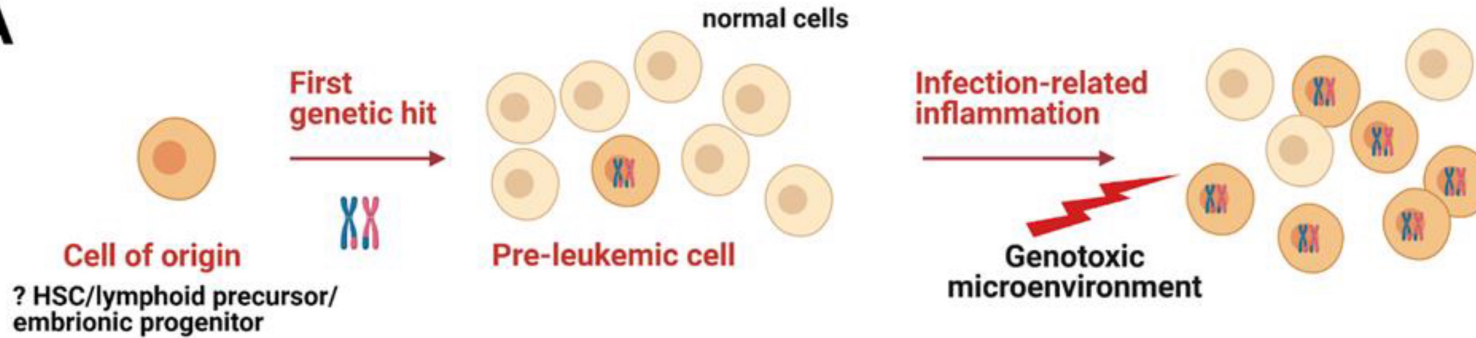
Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo



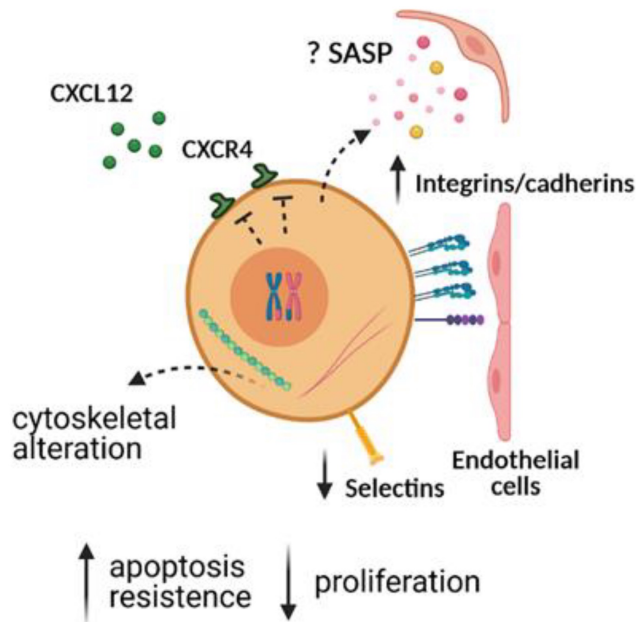
PERCHE' SONO IMPORTANTI I BIOMARCATORI

A



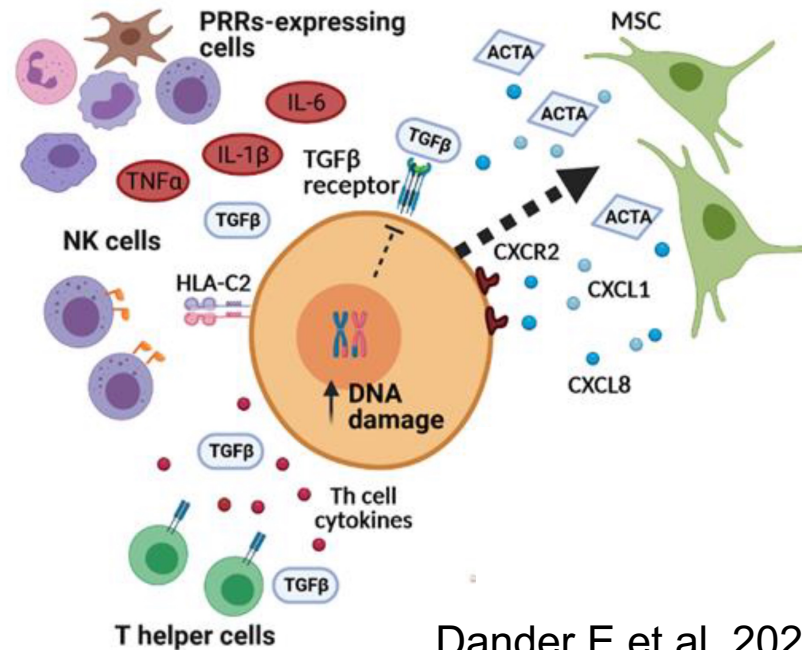
A: La trasformazione leucemica inizia da un primo “hit” genetico e viene favorita da infiammazione e stress microambientale.

B



B: La nicchia midollare supporta la sopravvivenza delle cellule pre-leucemiche grazie a **chemochine** e **molecole di adesione**.

C



C: Citochine infiammatorie (IL-6, IL-1β, TNF-α), TGF-β, MSC e microbiota contribuiscono al danno al DNA e alla progressione della neoplasia

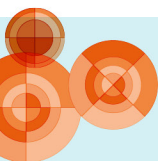
Dander E et al. 2021

Microambiente sano

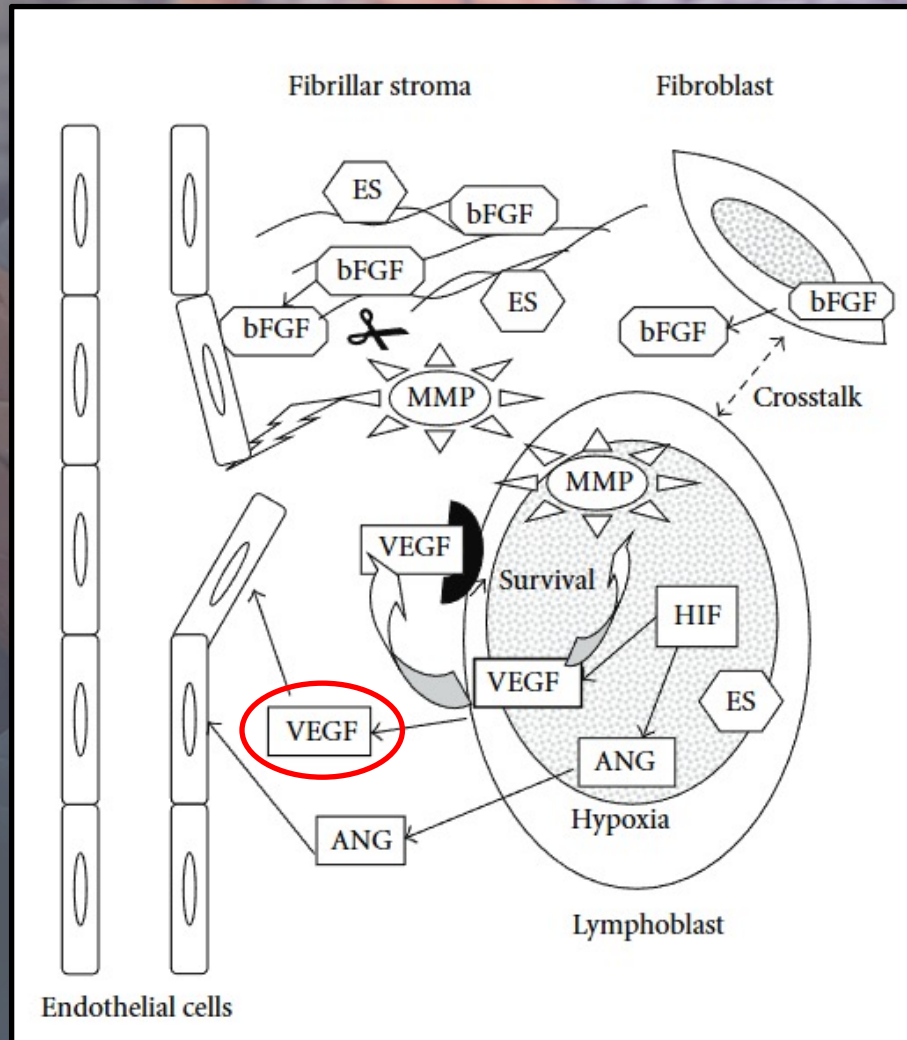
- Equilibrio tra **quiescenza, auto-rinnovamento e differenziamento** delle cellule staminali ematopoietiche (HSC).
- Alta disponibilità di **CXCL12** (ancoraggio e protezione delle HSC).
- Presenza regolata di **Stem Cell Factor (SCF)** e **Interleukin-7 (IL-7)**, essenziale per una corretta ematopoiesi.
- Interazioni fisiologiche tramite **VCAM-1, ICAM-1** e altre molecole di adesione.
- Ridotta infiammazione.
- Osteoblasti, MSC, cellule endoteliali e SNS cooperano per mantenere la stabilità del sistema.

Microambiente leucemico

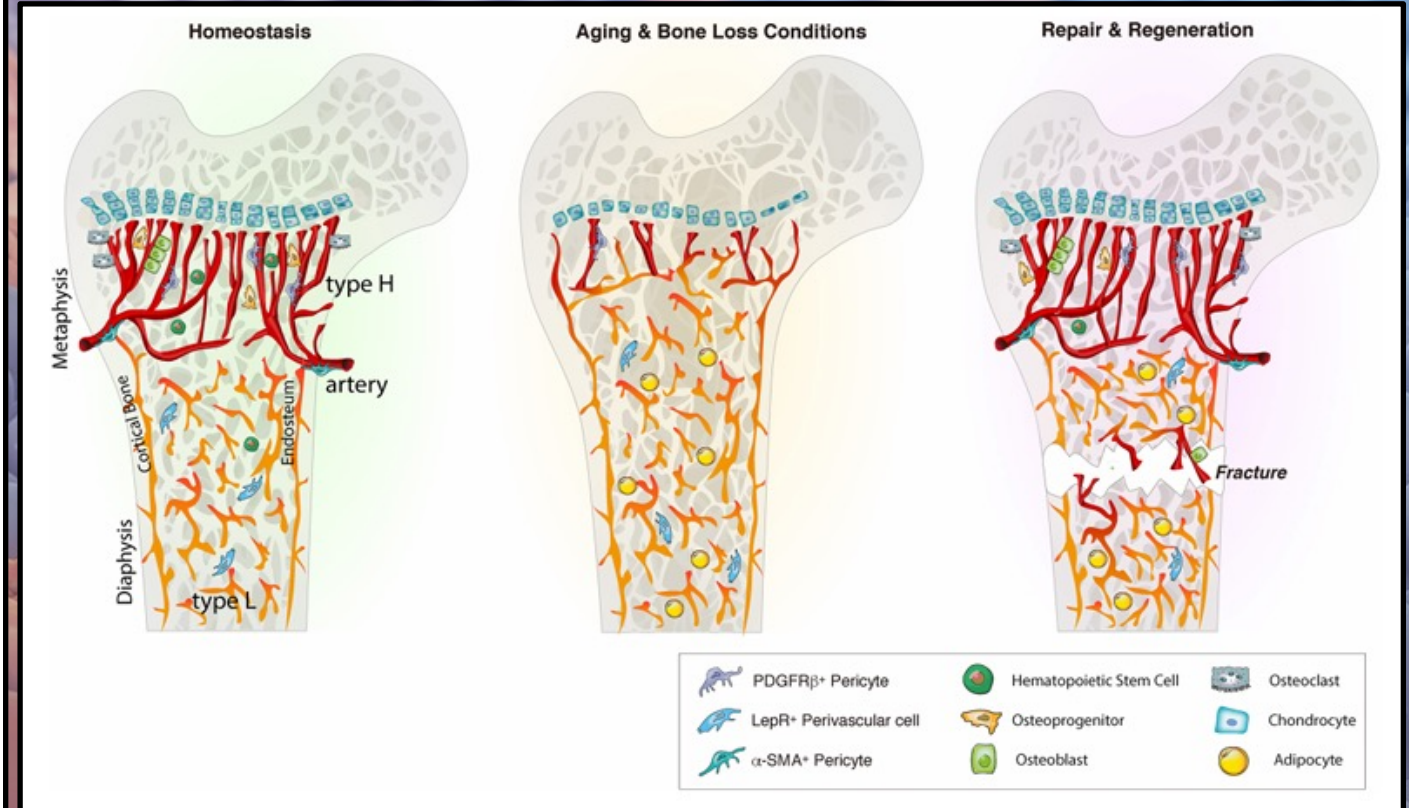
- Rimodellamento della **nicchia**
- **Riduzione o redistribuzione di CXCL12**, che viene “sequestrato” dai blasti.
- **Aumento di IL-6, TNF- α , IL-1 β** → ambiente pro-infiammatorio favorevole alla leucemia
- Condizione stromale alterata: MSC e osteoblasti modificano la secrezione di **SCF, IL-7, G-CSF**, favorendo la sopravvivenza leucemica.
- Up-regolazione di **VCAM-1** e **VLA-4** che **proteggono** i blasti dalla chemioterapia.
- Evasione immunitaria.
- Degradazione della matrice e maggiore invasività tramite **MMP-9**.



CELLULE ENDOTELIALI E ANGIOGENESI: RIMODELLAMENTO VASCOLARE NEL MICROAMBIENTE



Schneider P et al., 2011



Stücker S et al., 2020

MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

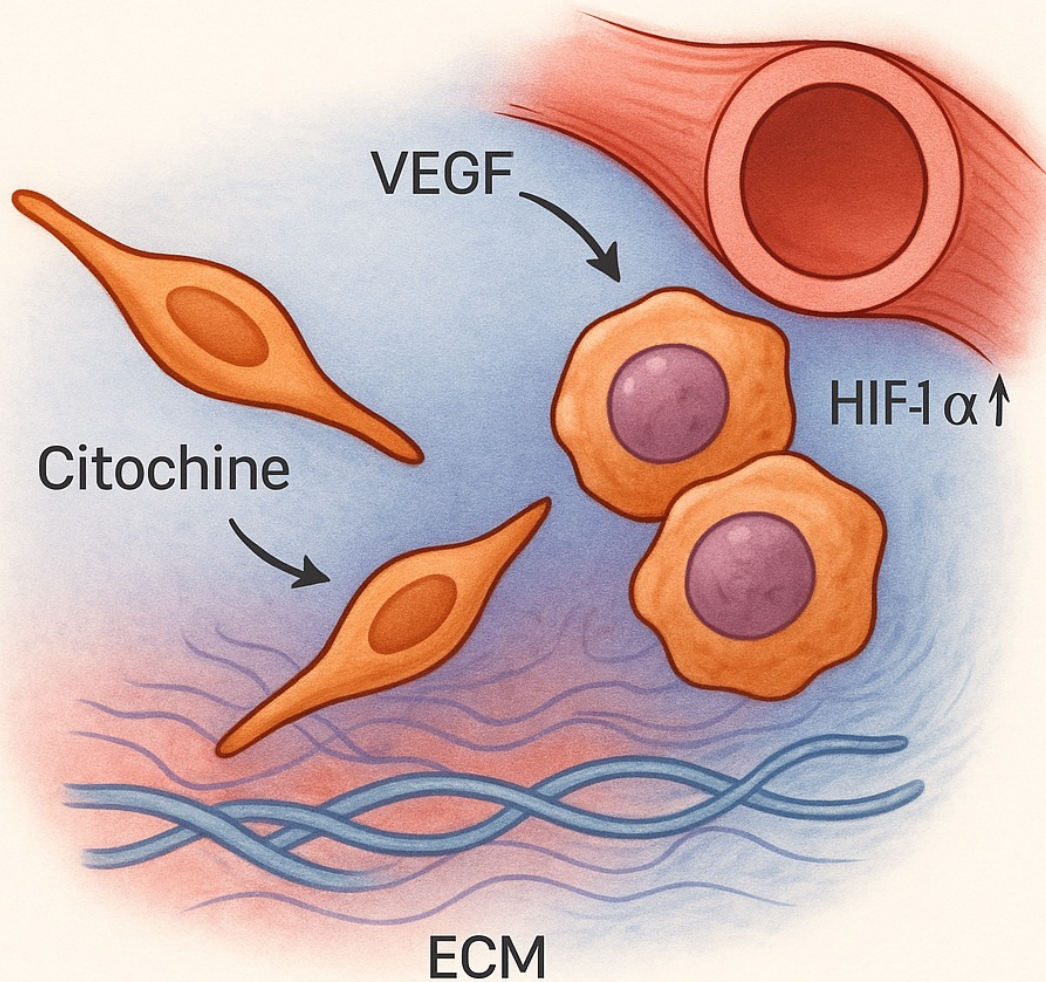
LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo

NICCHIA IPOSSICA

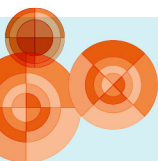


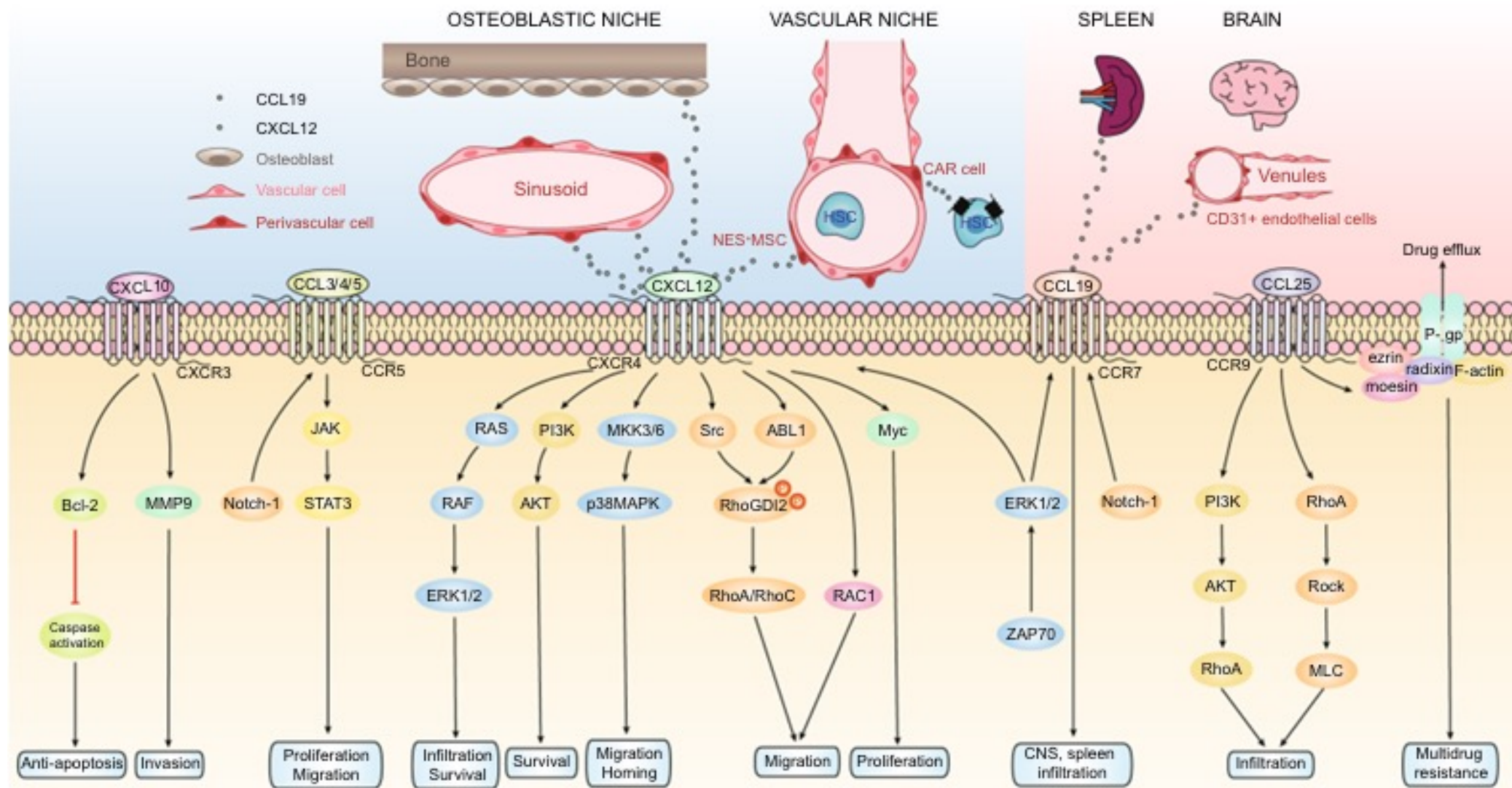
La riduzione dell'ossigeno favorisce l'attivazione di **HIF-1 α** nelle cellule leucemiche, che a sua volta induce la produzione di **VEGF** e altri fattori pro-angiogenici.

Le **cellule stromali e i fibroblasti associati alla leucemia** rilasciano **citochine** che rinforzano questo stato ipossico e promuovono la **sopravvivenza** delle cellule leucemiche. Contemporaneamente, la **matrice extracellulare** viene rimodellata, diventando più densa e strutturalmente alterata.



Nel complesso, questa nicchia crea un ambiente **protettivo**, che favorisce la **resistenza terapeutica** e la persistenza della malattia.





Hong Z et al. 2021

MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

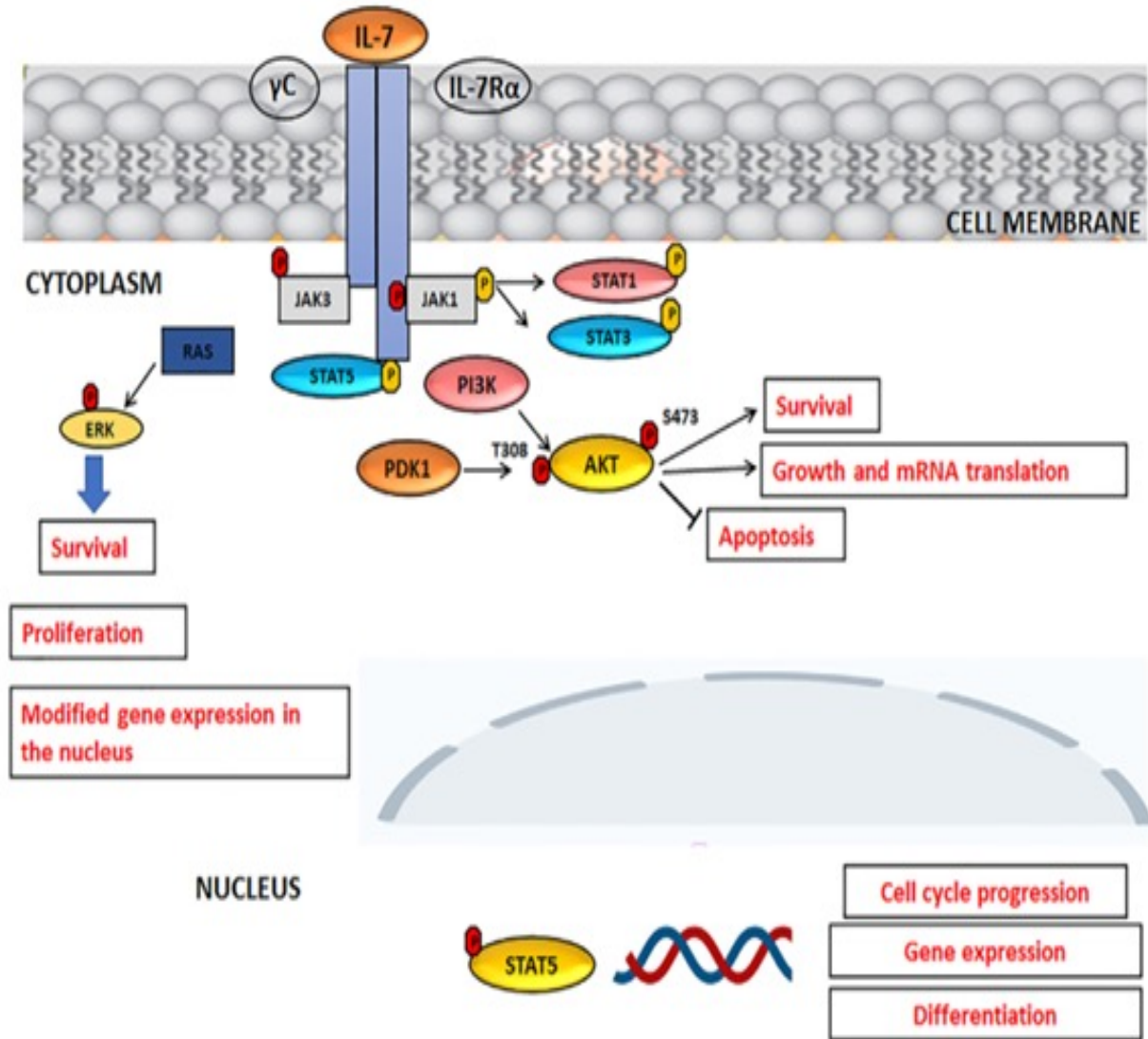
LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo

LE INTERAZIONI TRA VIE DI TRASDUZIONE DI SEGNALE



Quando **IL-7** si lega al suo recettore, vengono attivate le chinasi JAK1 e JAK3, che a loro volta fosforilano le proteine STAT (soprattutto STAT5).

- STAT5 fosforilato entra poi nel nucleo e promuove sopravvivenza, progressione del ciclo cellulare, aumenta il metabolismo a favore della crescita tumorale
- Parallelamente, IL-7 attiva anche la via **PI3K/AKT/mTOR**, che sostiene:
 - **Sopravvivenza cellulare**
 - **Crescita e traduzione proteica**
 - **Resistenza all'apoptosi**

Simioni C et al. 2021

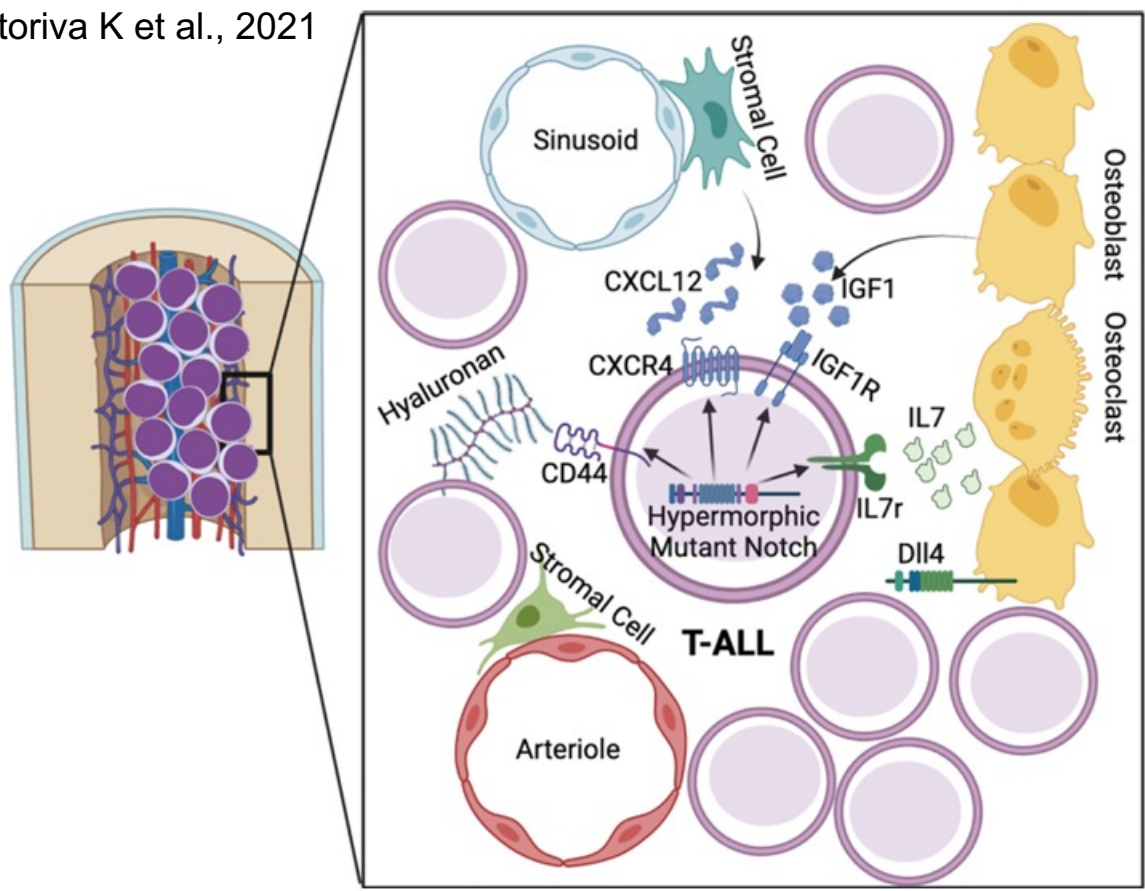
MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

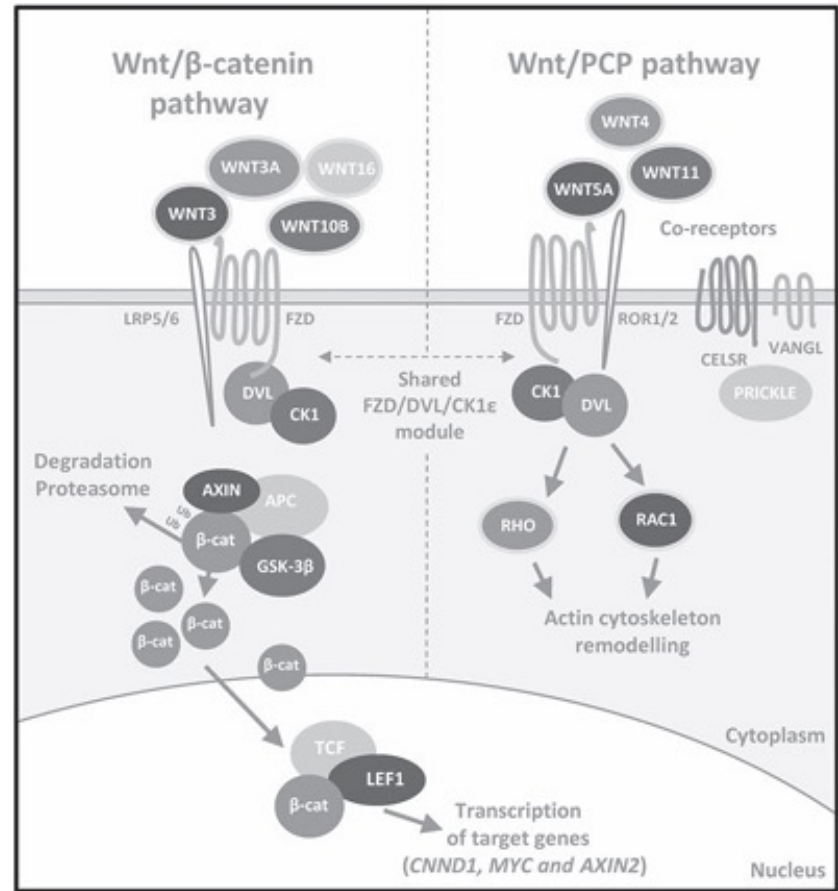
Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo

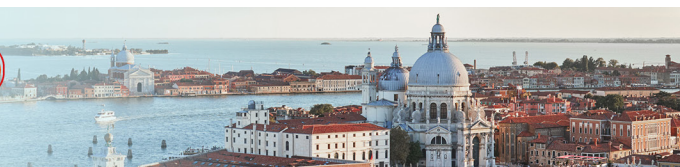
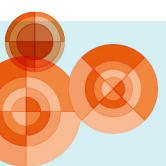


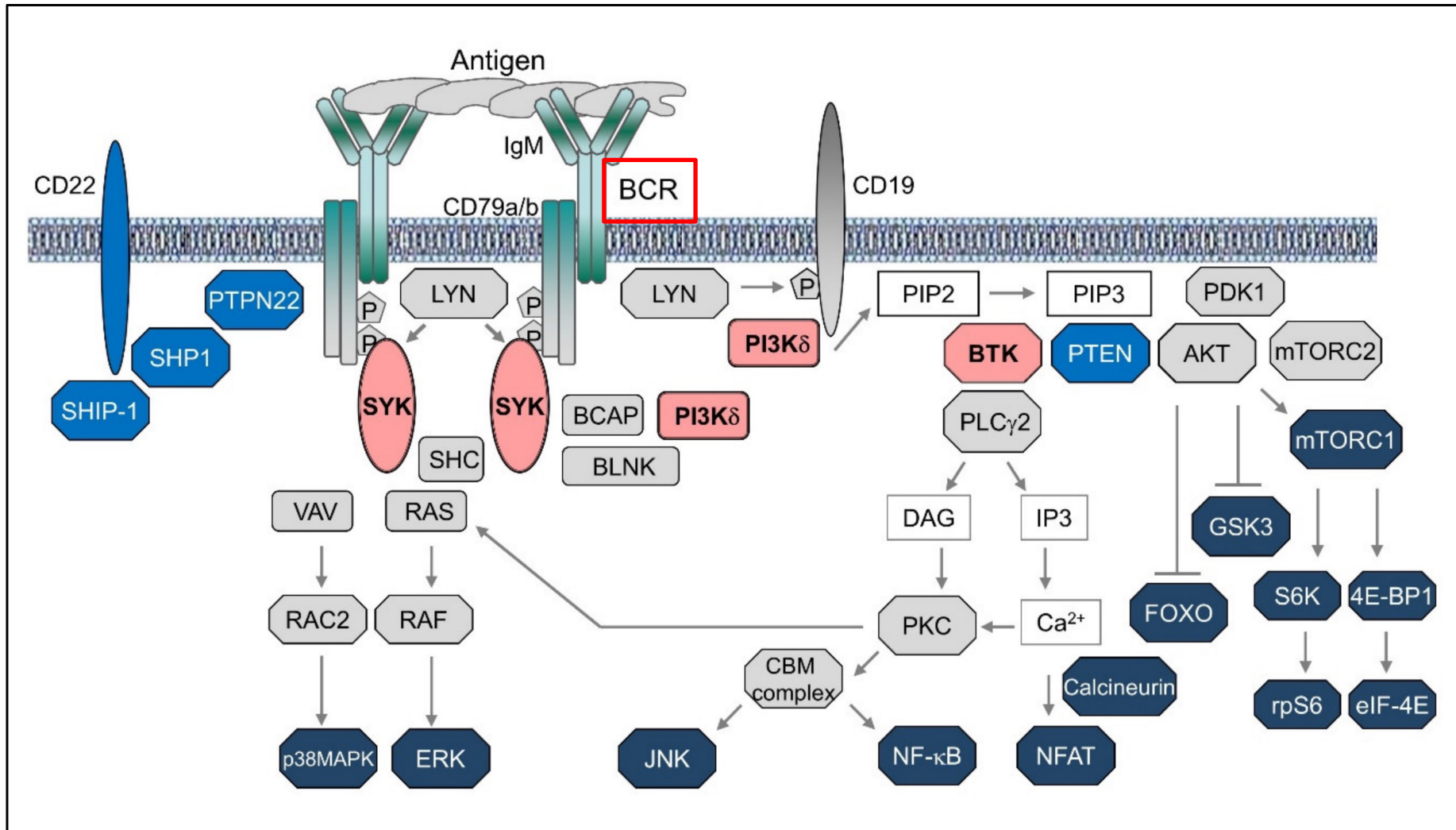
La via di segnale di **Notch** promuove la progressione della LAL e l'amplificazione di vie coinvolte nella linfopoiesi precoce del midollo osseo.

- Aumento di IL-7 e IGF1
- CXCR4 e CD44 promuovono il mantenimento dei blasti LIC nel midollo osseo

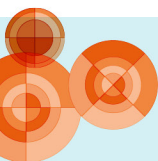


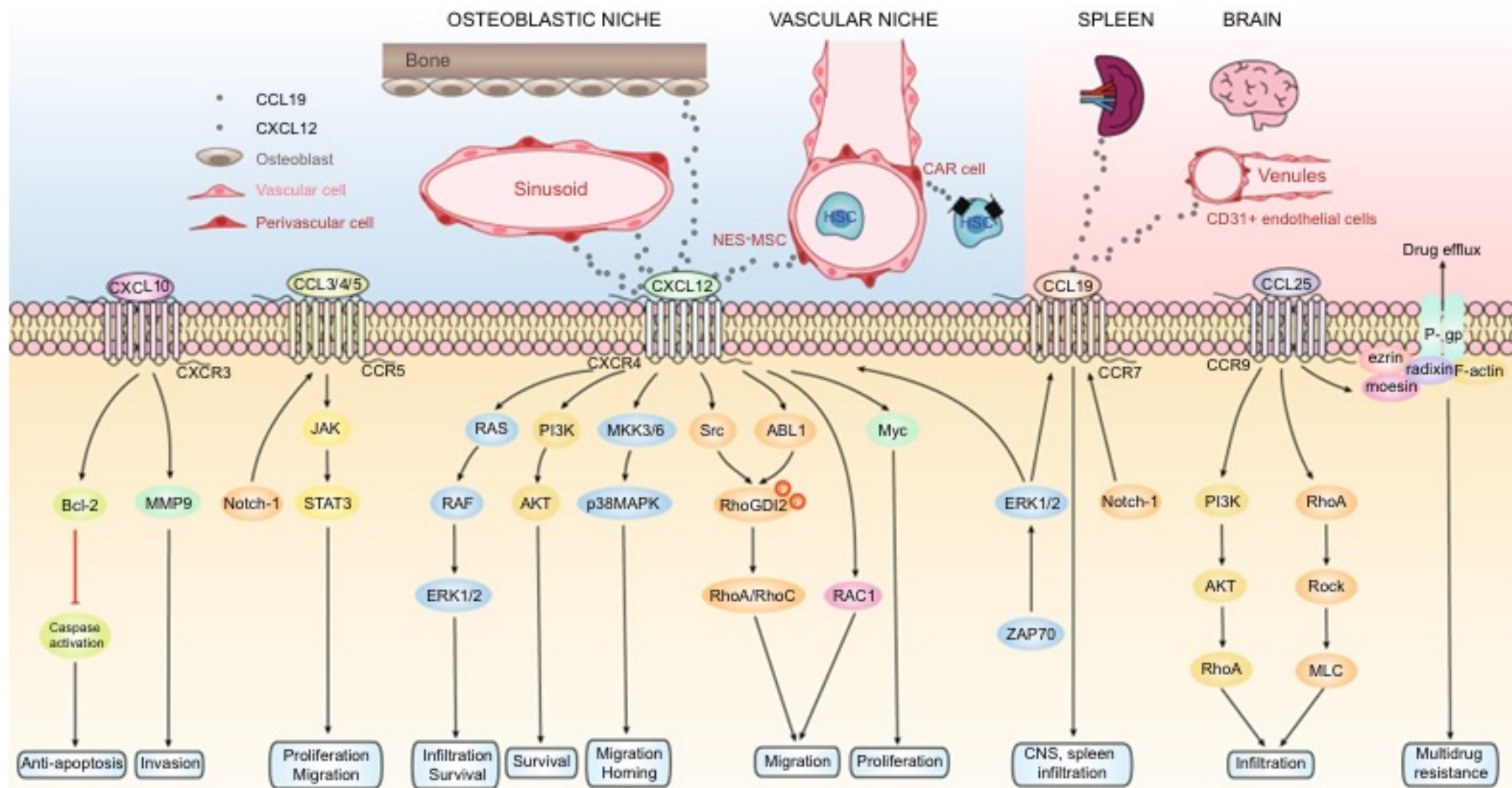
La via di segnale **Wnt/β-catenina** è strettamente correlata alla proliferazione cellulare, alla regolazione del ciclo cellulare e all'omeostasi delle cellule staminali, pertanto il suo malfunzionamento è una caratteristica distintiva di molti tumori, tra cui le LAL





Efremov DG et al. 2020





Hong Z et al. 2021

MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

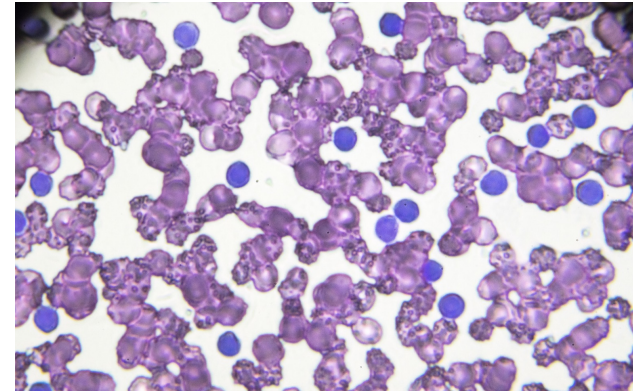
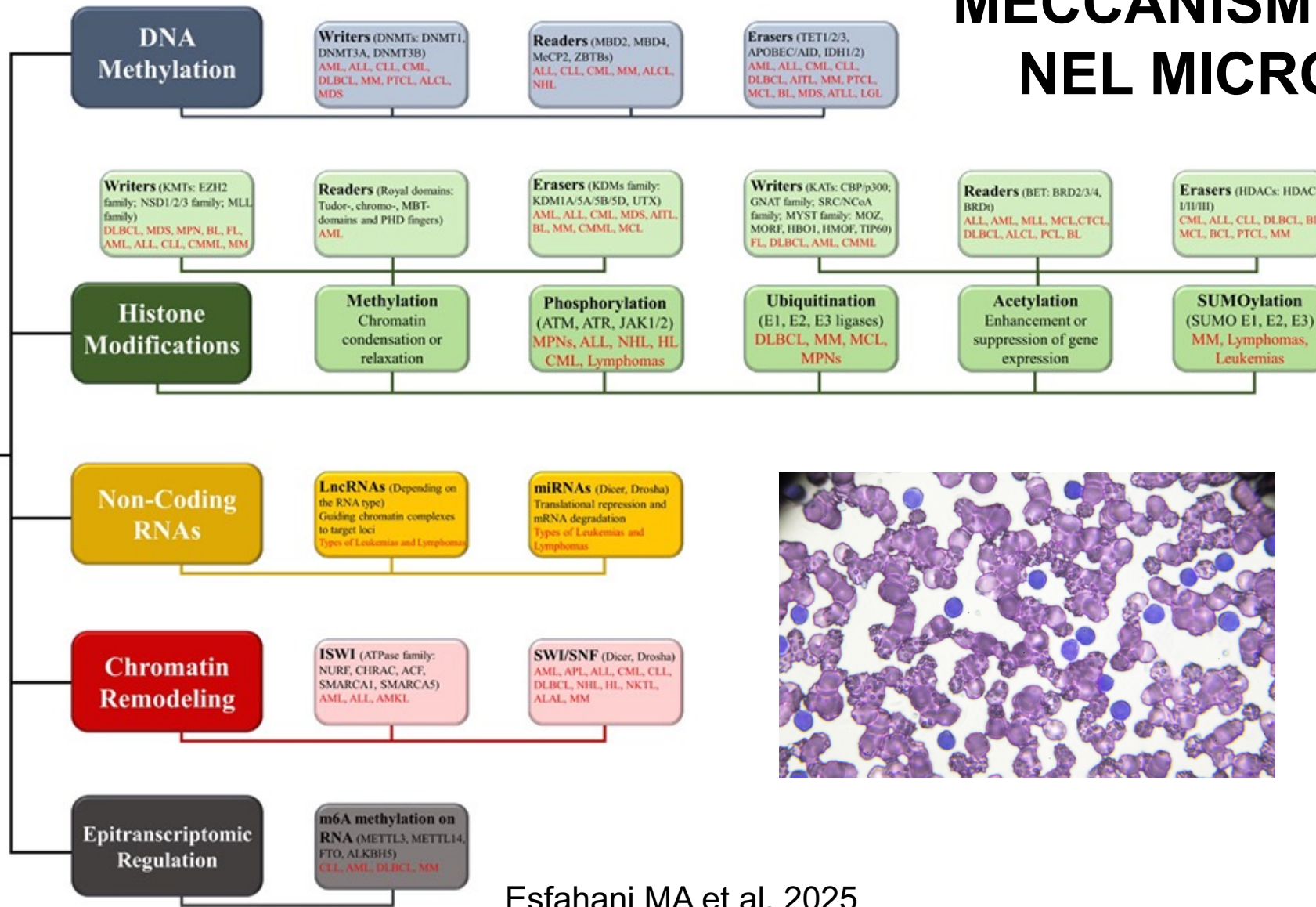
dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo

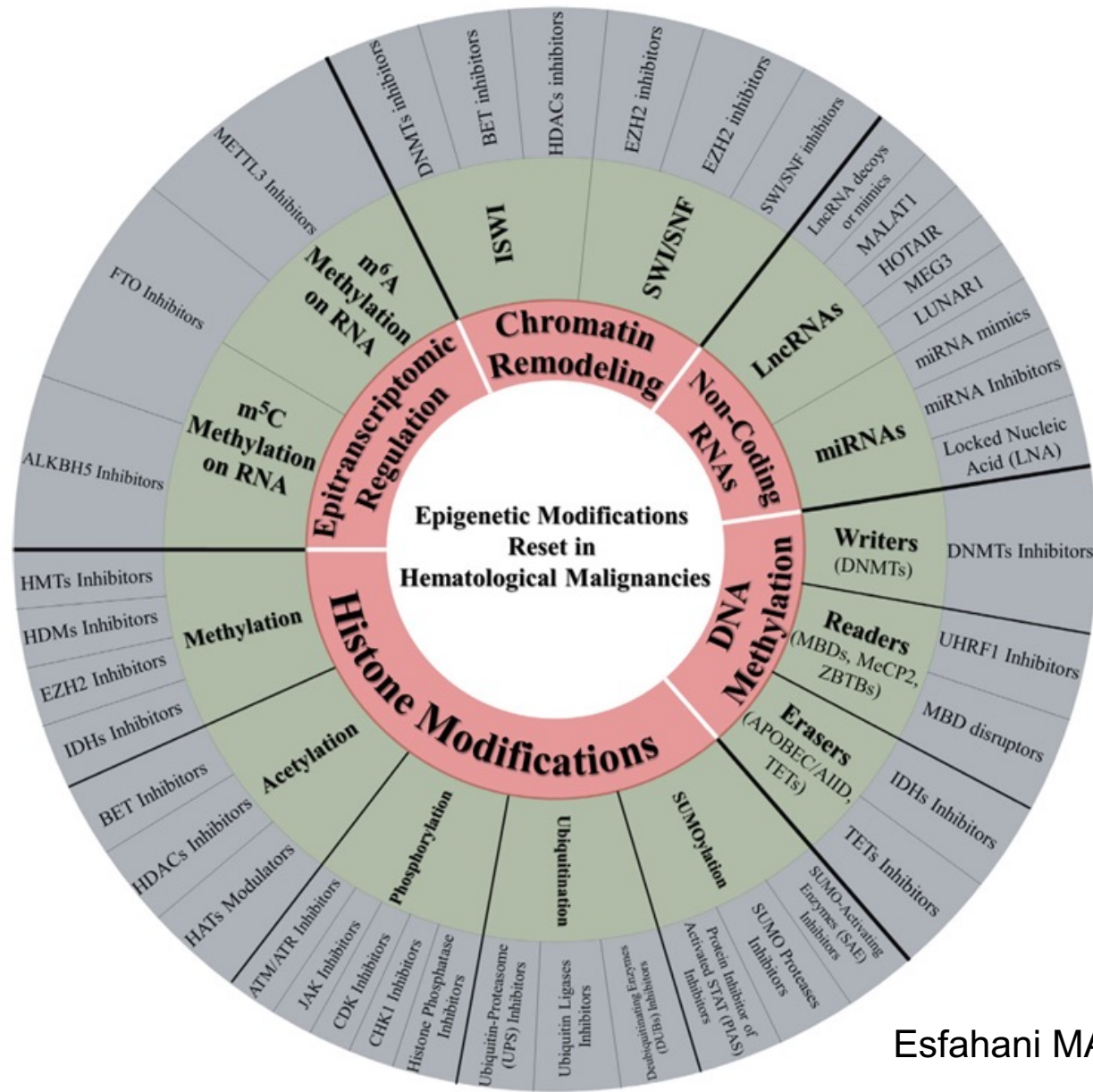
MECCANISMI EPIGENETICI NEL MICROAMBIENTE

Main Types Of Epigenetic Modifications And Their Roles In Hematological Malignancies

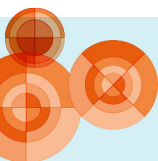


Esfahani MA et al. 2025

MECCANISMI EPIGENETICI NEL MICROAMBIENTE



Esfahani MA et al. 2025



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo





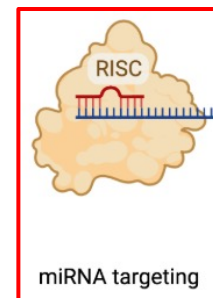
Review

miRNAs as Influencers of Cell–Cell Communication in Tumor Microenvironment

Ilaria Conti ¹, Gabriele Varano ¹, Carolina Simioni ¹, Ilaria Laface ¹, Daniela Milani ¹, Erika Rimondi ¹ and Luca M. Neri ^{1,2,*}



IL RUOLO DEI MicroRNAs



International Journal of
Molecular Sciences



Review

MiRNAs in Hematopoiesis and Acute Lymphoblastic Leukemia

Diana Karen Mendiola-Soto ^{1,2}, Diego Alberto Bárcenas-López ^{1,3}, Carlos Jhovani Pérez-Amado ^{1,4} , Gabriela Marisol Cruz-Miranda ^{1,3} , Juan Manuel Mejía-Aranguré ¹ , Julian Ramírez-Bello ⁵ , Alfredo Hidalgo-Miranda ¹ and Silvia Jiménez-Morales ^{1,*}



HHS Public Access

Author manuscript

Clin Cancer Res. Author manuscript; available in PMC 2015 December 15.

Published in final edited form as:

Clin Cancer Res. 2014 December 15; 20(24): 6247–6253. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-2500.

Molecular Pathways: microRNAs, Cancer Cells, and Microenvironment

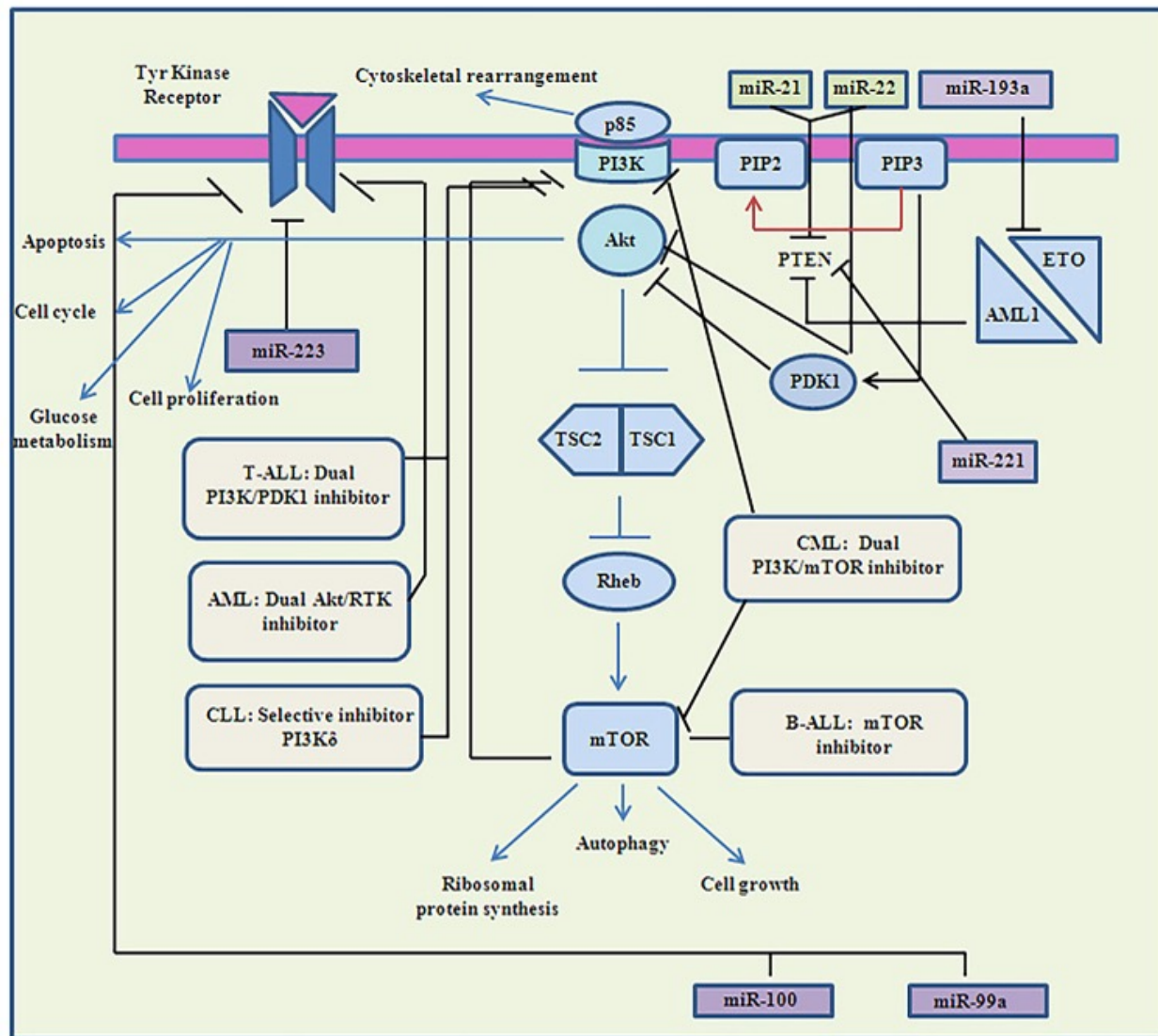
MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo



Ultimo S et al. 2017

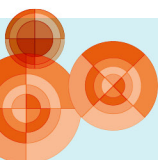
MiR-21: coinvolto nella regolazione della via di segnalazione **PI3K/Akt/mTOR**.

MiR-21 agisce come un miRNA **attivatore** del pathway PI3K/Akt/mTOR ed è espresso ad un **alto livello** nella LAL.

MiR-99a e MiR-100: questi miRNA sono risultati sottoregolati nei pazienti LAL. La loro sovraespressione inibisce la proliferazione cellulare e promuove la differenziazione mieloide regolando mTOR, IGF-1, e MCL1. Agiscono come soppressori tumorali e la loro integrazione potrebbe essere una strategia terapeutica.

MiR-223: è parte di una signature comune rilevata nei campioni di T-LAL. La sua espressione è stata riportata come bassa nelle cellule LAL isolate da pazienti pediatrici e linee cellulari. MiR-223 è in grado di ridurre la crescita cellulare attraverso l'inibizione del recettore del fattore di crescita insulino-simile 1 (IGF1-R), bloccando il segnale PI3K.

MiR-193a invece può agire in senso opposto, inibendo componenti del pathway, ed è spesso down-regolato nella LAL, contribuendo così alla perdita di controllo proliferativo.



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

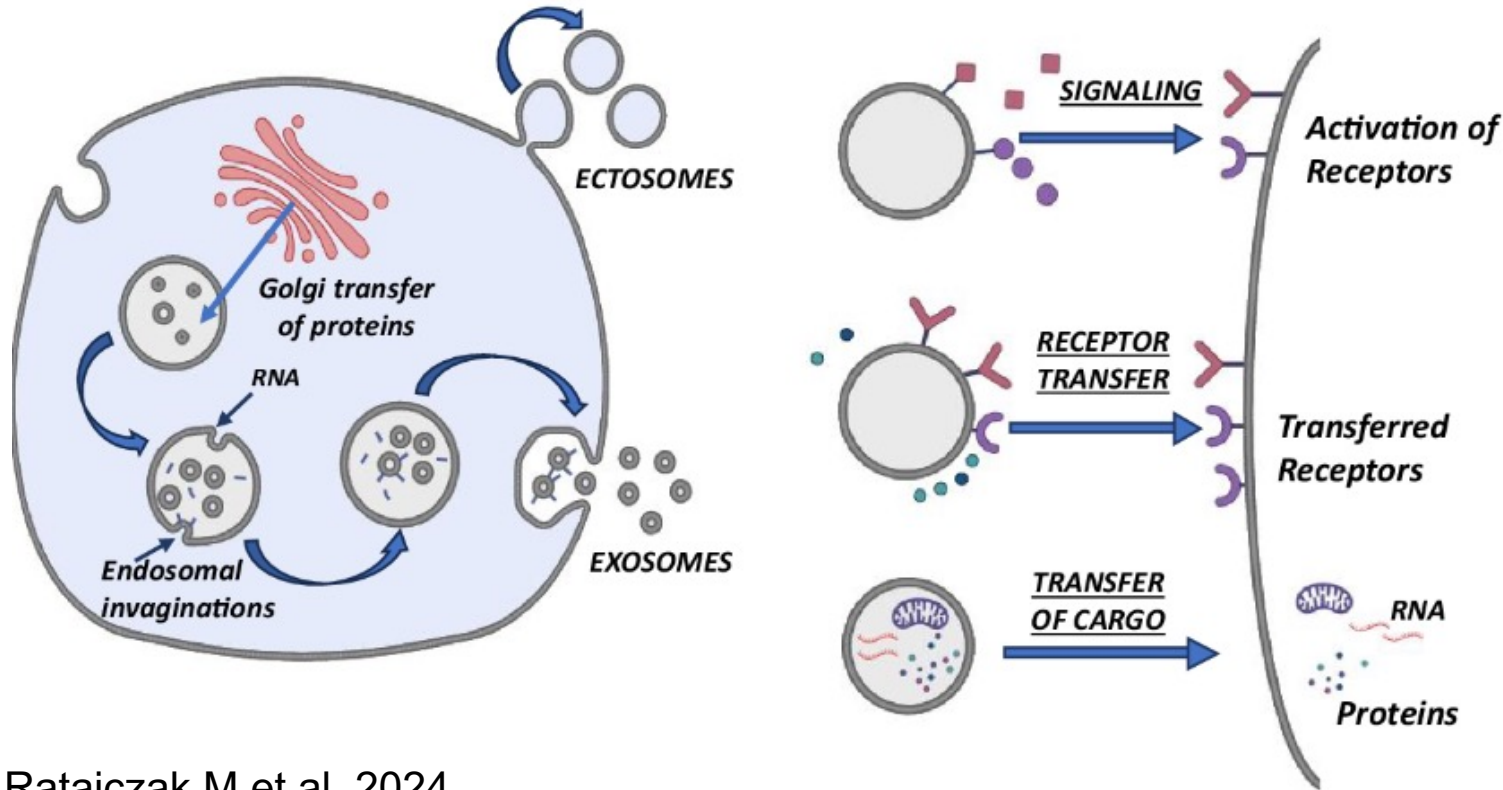
dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

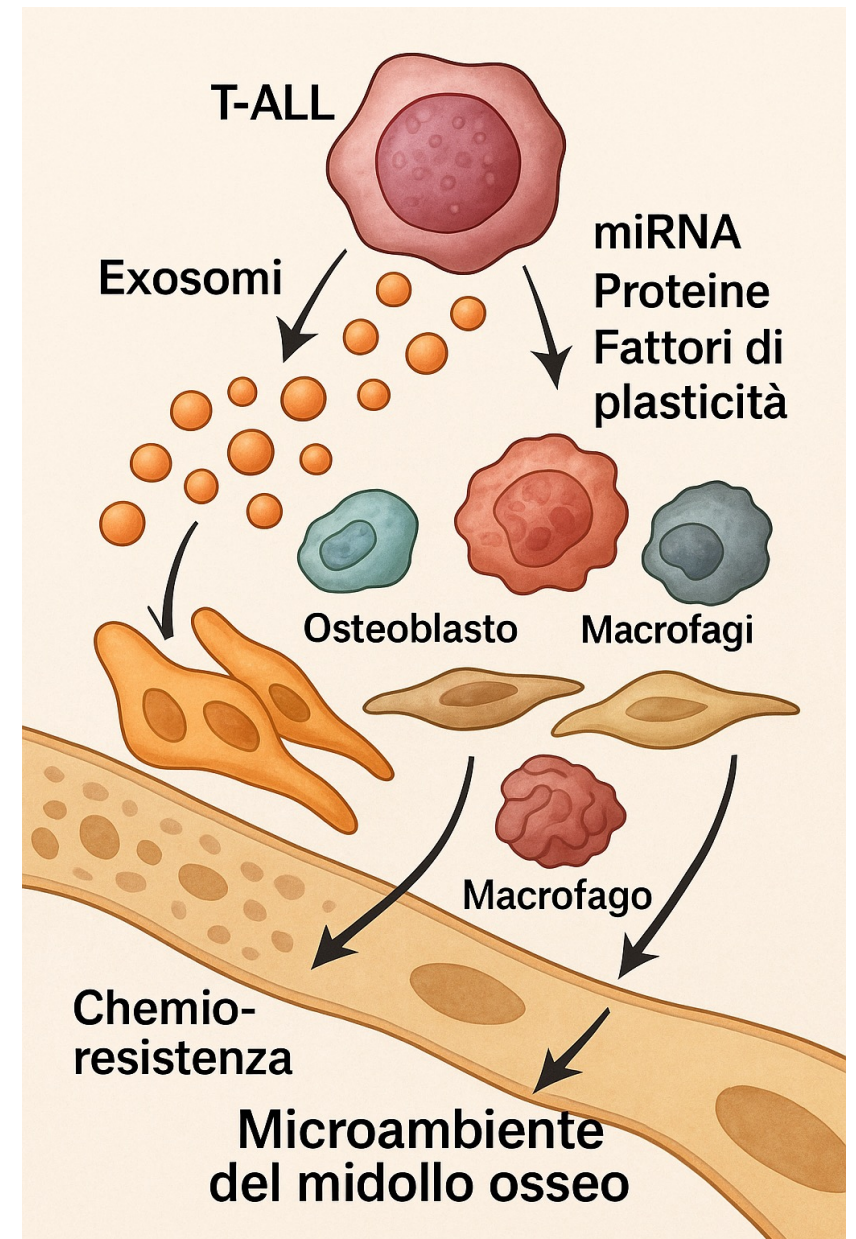
Ospedale SS. Giovanni & Paolo



GLI ESOSOMI: QUALE RUOLO?



Ratajczak M et al. 2024



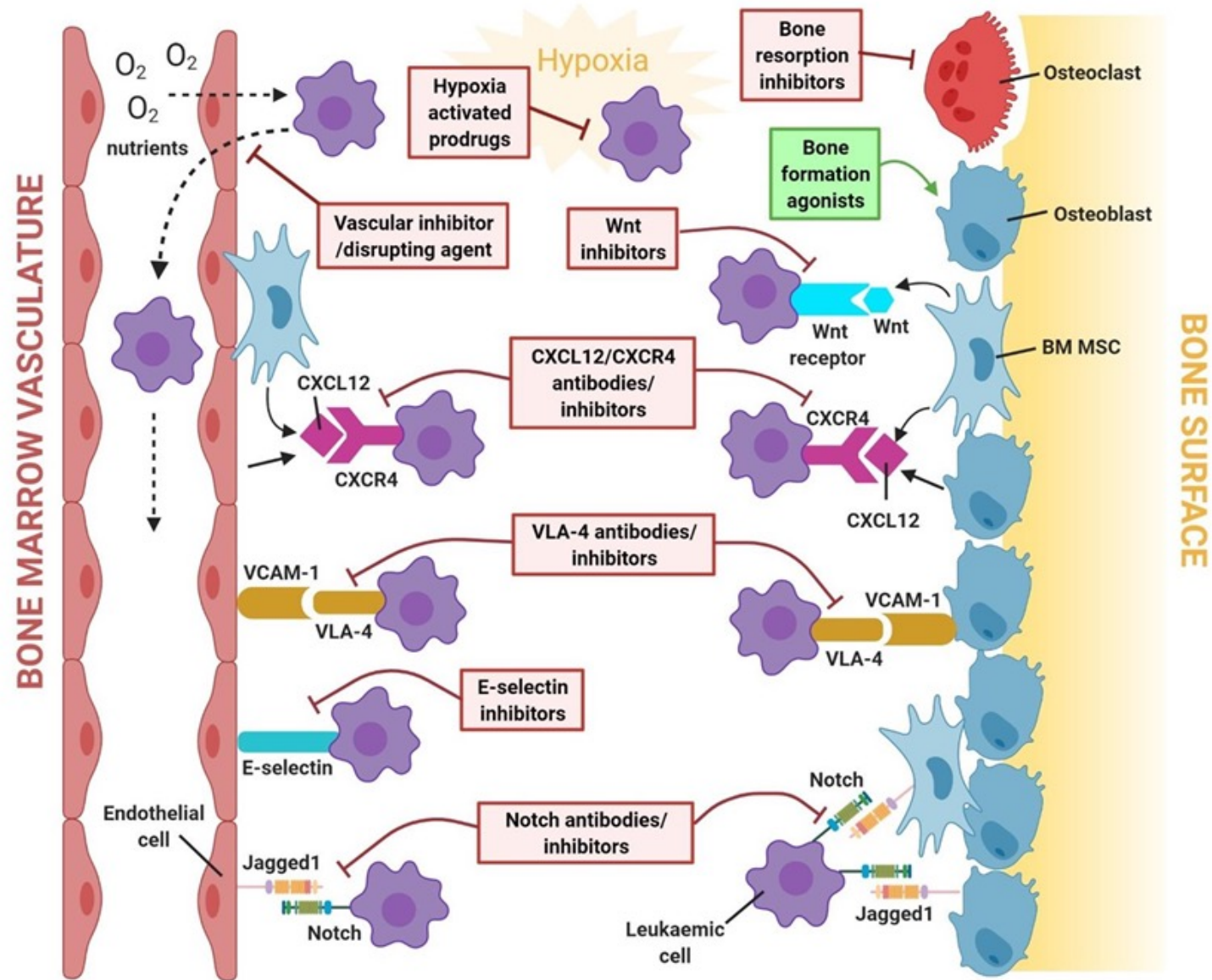
MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

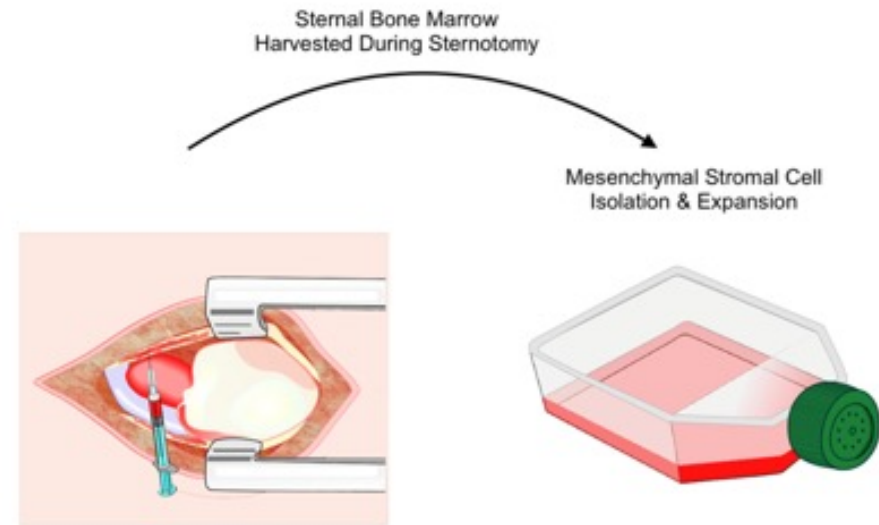
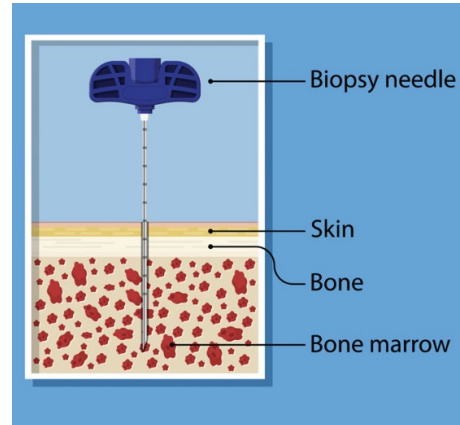
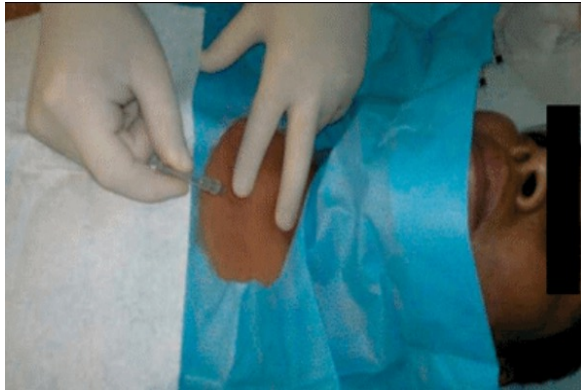
Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo



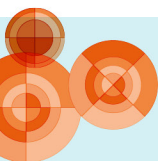
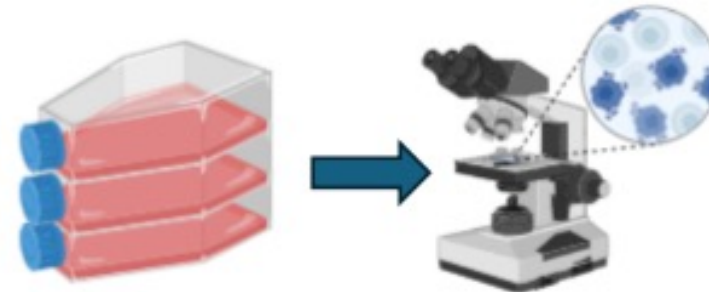
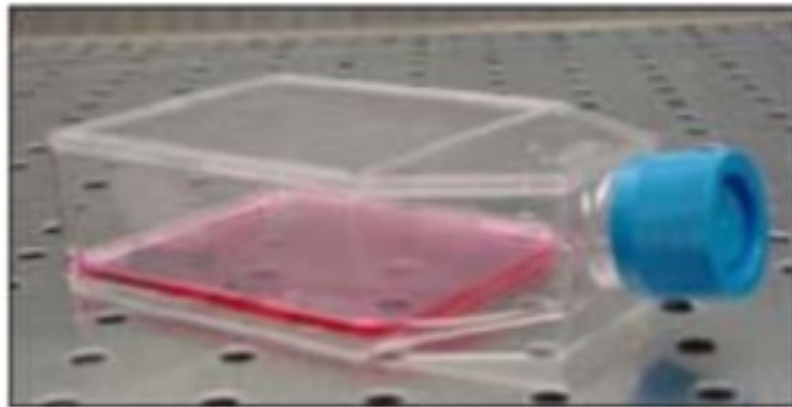
Kuek V et al. 2021

1. ASPIRATO MIDOLLARE



Trejo-Ayala RA et al. 2015

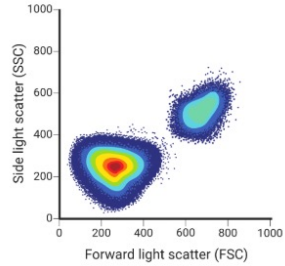
2. LINEE CELLULARI IMMORTALIZZATE



QUALI INFORMAZIONI SI POSSONO OTTENERE?

❖ Morfologia midollare

- Percentuale di blasti, maturazione delle varie linee (eritroide, mieloide, megacariocitaria, linfocitaria).
- Segni di **displasia**, iper-/ipocellularità, infiltrati (leucemici, linfomatosi, metastasi).



❖ Immunofenotipo delle cellule

- Identificazione della popolazione patologica (es. linfoblasti B/T, mieloblasti).
- Definizione del **tipo di leucemia/linfoma** e dell'eventuale eterogeneità clonale.

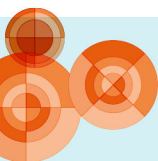
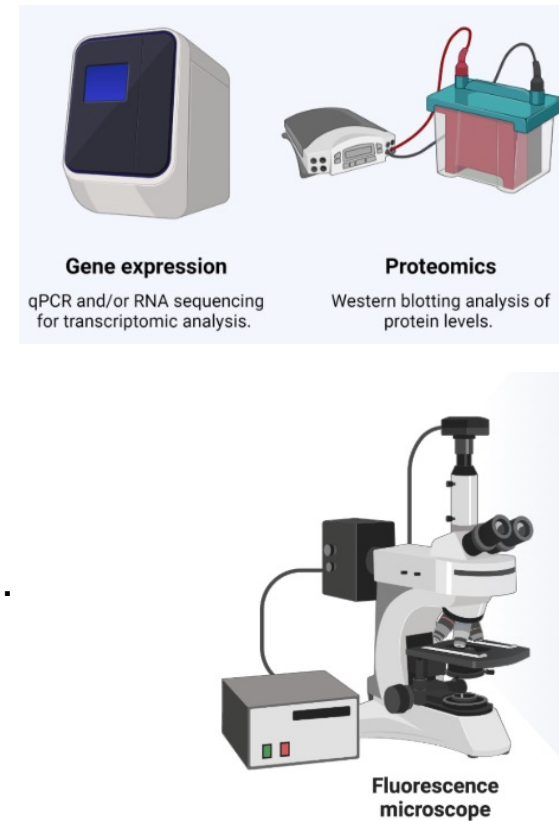
❖ Citogenetica

- Presenza di **traslocazioni, delezioni, aneuploidie**.
- Cariotipo completo e anomalie ricorrenti (es. nel contesto di LLA, LMA, mielodisplasie).

❖ Biologia molecolare

- Mutazioni puntiformi, riarrangiamenti genici, fusioni (es. BCR-ABL1, ETV6-RUNX1, ecc.).
- Quantificazione di trascritti leucemici per **malattia minima residua (MRD)**.

❖ Proliferazione, sensibilità ai farmaci



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo



METODOLOGIE SPERIMENTALI APPLICABILI AL MATERIALE

❖ Striscio midollare + colorazioni istologiche

- Striscio o “spalmato” su vetrino, colorazioni tipo **May-Grünwald Giemsa**
- Valutazione morfologica al microscopio ottico

❖ Citofluorimetria a flusso (immunofenotipo)

- Anticorpi monoclonali marcati (CD19, CD10, CD34, CD3, CD13, CD33, ecc.)
- Definizione della popolazione leucemica e monitoraggio MRD

❖ Citogenetica convenzionale

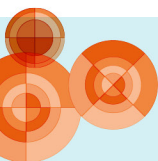
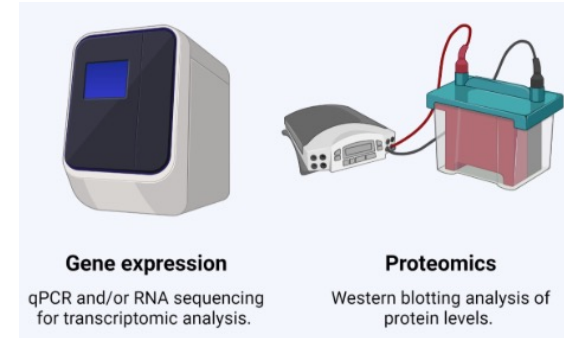
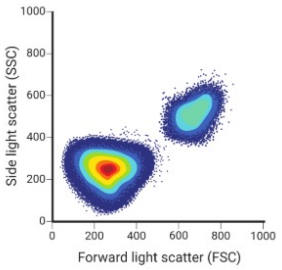
- Coltura cellulare + **cariotipo** in metafase
- Evidenza grandi riarrangiamenti cromosomici

❖ FISH (ibridazione fluorescente in situ)

- Ricerca mirata di traslocazioni/delezioni (es. BCR-ABL1, t(12;21), t(9;22), ecc.)

❖ Biologia molecolare classica

- **PCR / RT-PCR / qPCR** per fusioni, riarrangiamenti di Ig/TCR, mutazioni specifiche.



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo



METODI AVANZATI DI RICERCA

❖ NGS (Next-Generation Sequencing)

- Pannelli mirati, whole exome o targeted RNA-seq per profilo mutazionale completo

NGS Sequencing



❖ Single-cell technologies

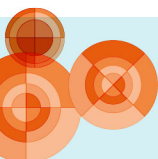
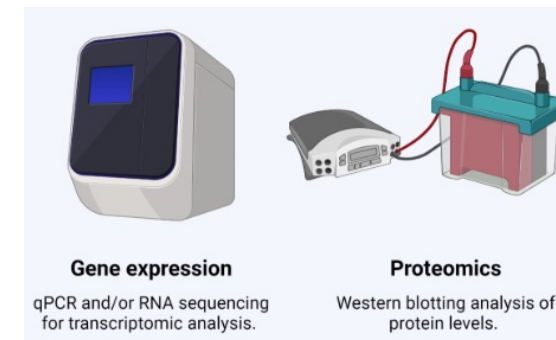
- Single-cell RNA-seq per studiare eterogeneità clonale e interazioni con la nicchia

❖ Colture e saggi funzionali

- Colture in vitro su cellule stromali/MSC, trattamenti con farmaci sperimentali
- Saggi di **apoptosi**, ciclo cellulare

❖ Proteomica / fosfo-proteomica

- Analisi di pathway attivati a livello proteico (es. PI3K/AKT, JAK/STAT)



LA MICROSCOPIA ELETTRONICA: ANALISI DEL MICROAMBIENTE NELL'ULTRAISTRUTTURA

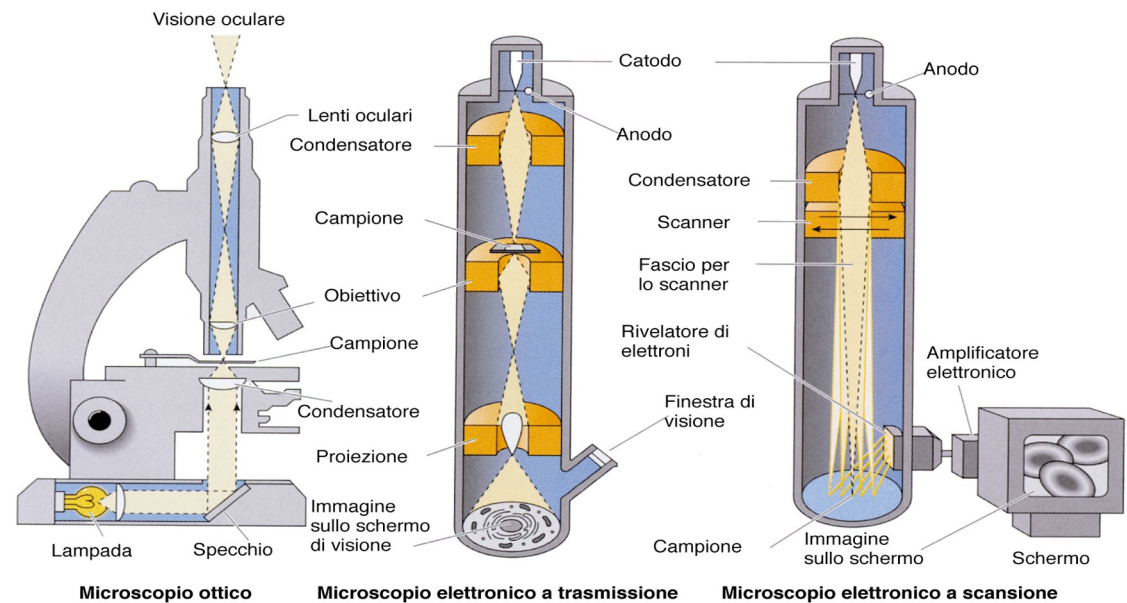
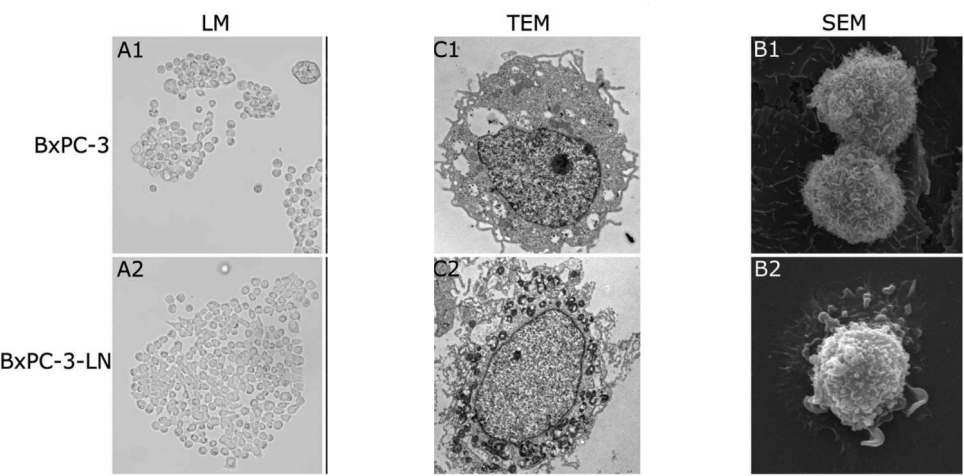
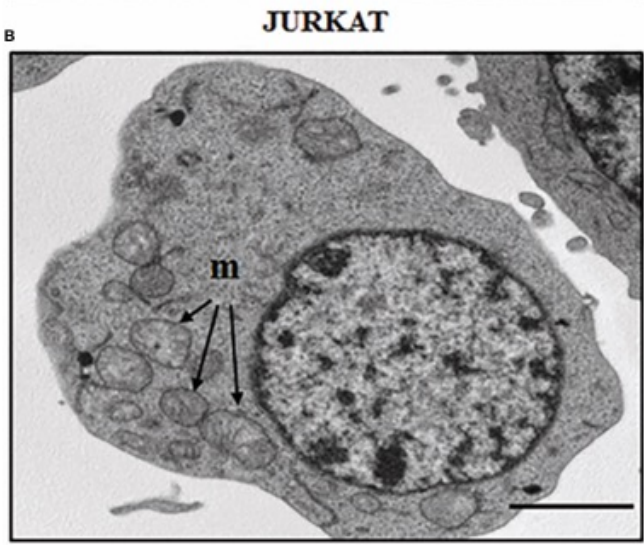


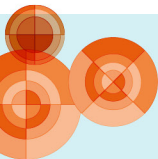
Figura 1-1



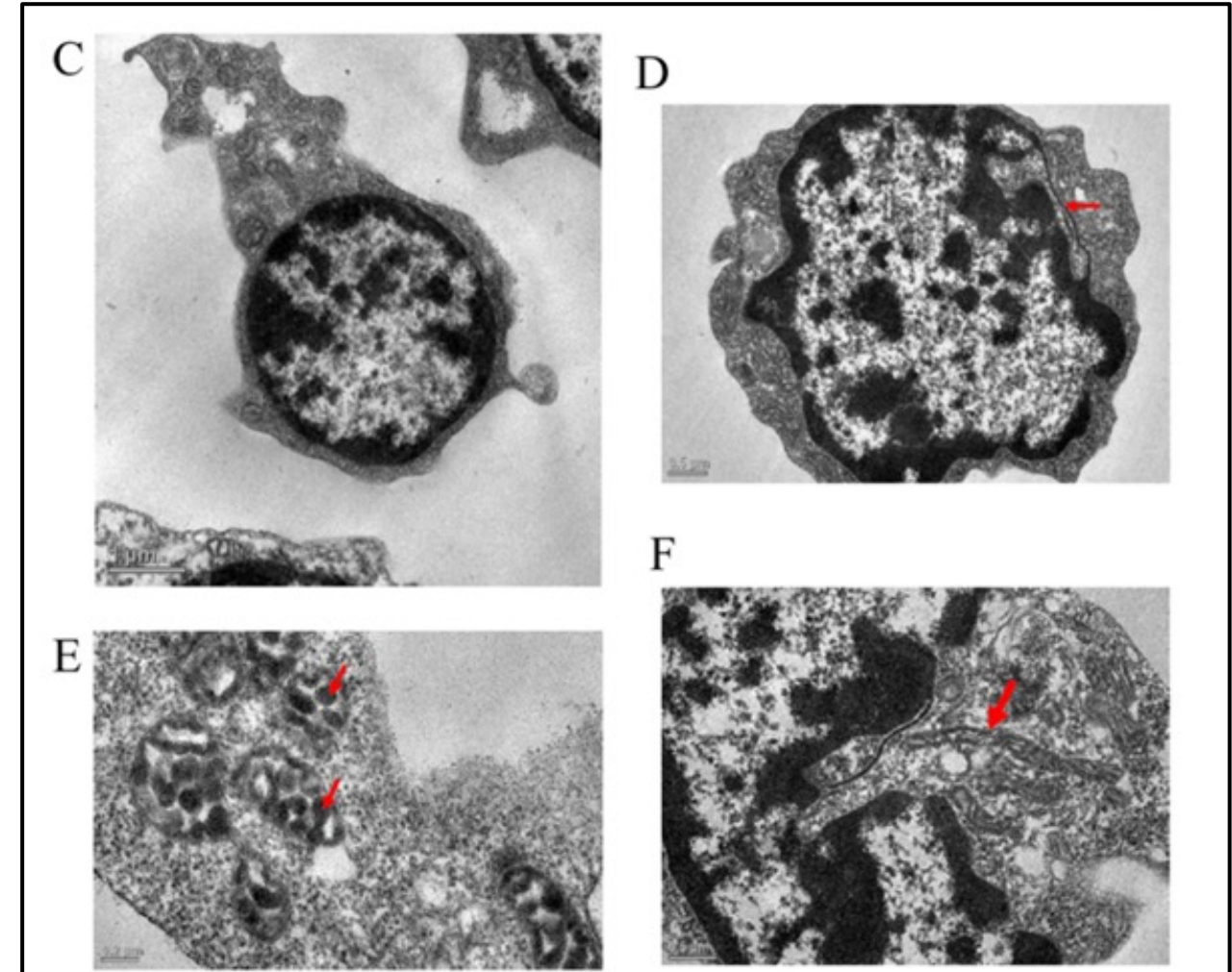
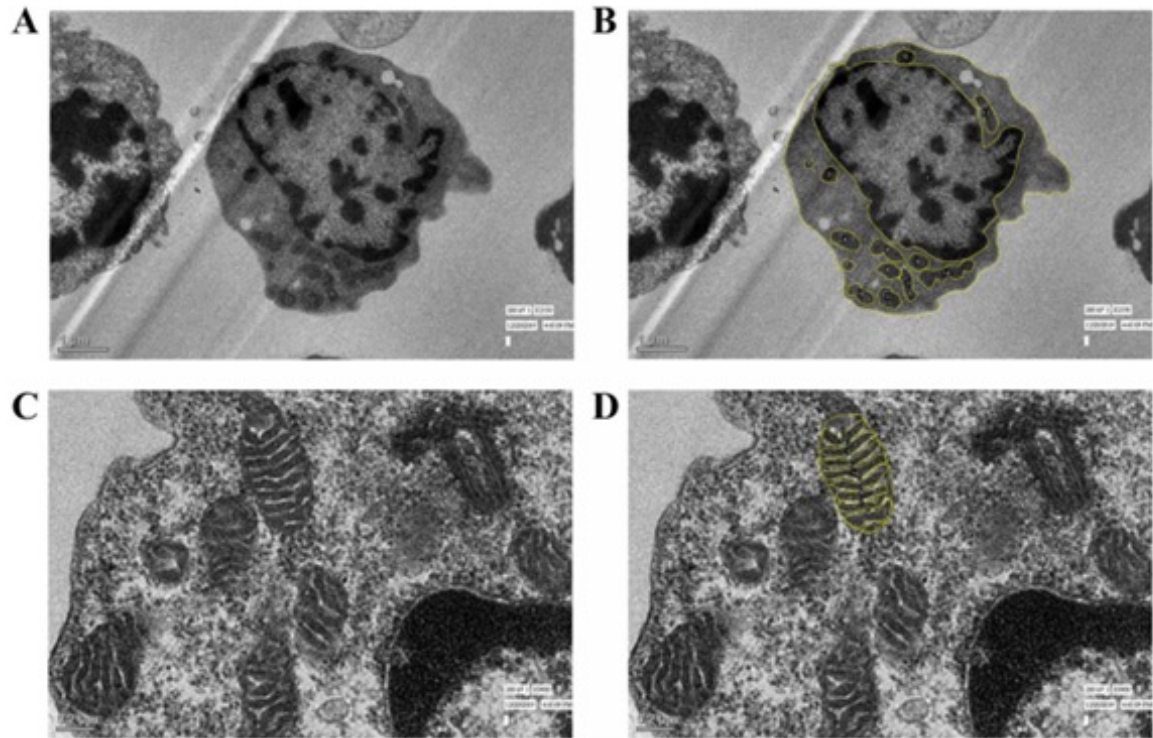
Long et al. 2012



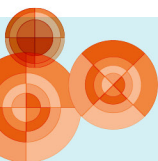
Simioni C et al. 2021



LA MICROSCOPIA ELETTRONICA: ANALISI DEL MICROAMBIENTE NELL'ULTRAISTRUTTURA



Singh R et al. 2021



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo

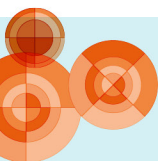


CONCLUSIONI

- ✓ Il microambiente midollare **non è un semplice “contenitore”**, ma un attore attivo nella **genesì, progressione e chemioresistenza** delle LAL.
- ✓ Le cellule leucemiche **rimodellano la nicchia** alterando segnali chiave tra cui **CXCL12, IL-6, IL-7, TGF- β** , creando un ambiente pro-leucemico.
- ✓ I **biomarcatori del microambiente** offrono strumenti diagnostici e predittivi e guidano la stratificazione del rischio.



Lo studio del microambiente è fondamentale per comprendere la biologia della malattia e sviluppare terapie più mirate.





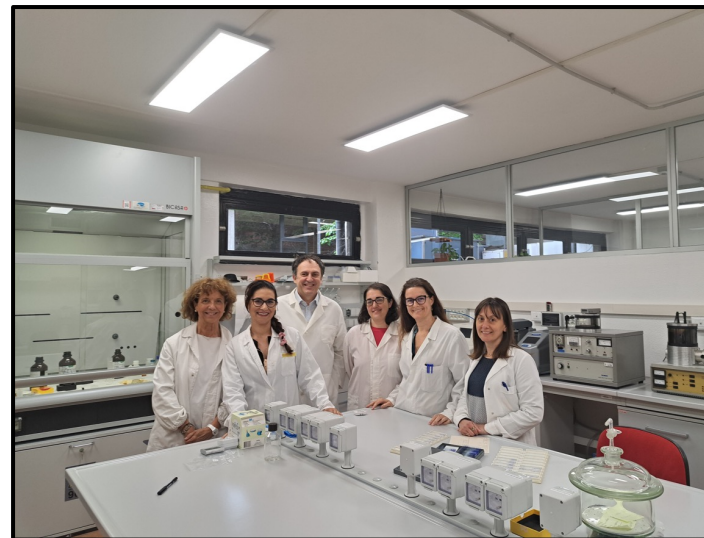
Università
degli Studi
di Ferrara

Dipartimento di

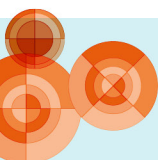
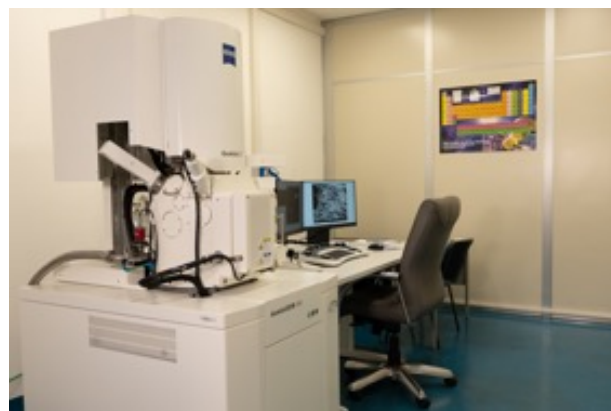
Medicina Traslazionale e per la Romagna



Centro Interdipartimentale di Microscopia Elettronica Università di Ferrara



Prof.ssa C. Simioni
Prof. L.M. Neri
Dott.ssa M. Sicurella



MEDICINA DI PRECISIONE NELLE

LEUCEMIE ACUTE LINFOBLASTICHE (LAL):

dove siamo e dove stiamo andando?

Venezia | 20 novembre 2025

Ospedale SS. Giovanni & Paolo

