

FILE UNICO

Aggiornamento delle competenze diagnostiche in Citofluorimetria e Biologia Molecolare per la caratterizzazione biologica di EPN, LMC e MPN Ph-

Cagliari, 1 ottobre 2026 – 31 marzo 2027

Ospedale Oncologico A. Businco, Via Jenner, 8 - 09121

Responsabili scientifici: Giovanni Caocci, Marianna Greco

PROGRAMMA SCIENTIFICO

Periodo totale: 1 Ottobre 2026 – 31 Marzo 2027

Totale Ore Formative: 162 ore (80h Teoria + 82h Pratica)

Docenti: Prof. Giovanni Caocci, Dott.ssa Marianna Greco

TRANCHE 1: Formazione Teorica (Totale 80 ore)

- Ottobre 2026 (26 ore): Basi biologiche e linee guida internazionali per EPN (Emoglobinuria Parossistica Notturna), LMC (Leucemia Mieloide Cronica) e MPN Ph- (Neoplasie Mieloproliferative cromosoma Philadelphia).
- Novembre 2026 (27 ore): Standardizzazione dei protocolli di biologia molecolare (RT-PCR [Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction], NGS [Next Generation Sequencing]) e citofluorimetria multiparametrica.
- Dicembre 2026 (27 ore): Gestione delle criticità pre-analitiche e analisi teorica dei controlli di qualità.

TRANCHE 2: Formazione sul Campo / Pratica (Totale 82 ore)

- Gennaio 2027 (27 ore): Training on the job sull'allestimento campioni e acquisizione dati strumentali (Citofluorimetro e NGS [Next Generation Sequencing]).
- Febbraio 2027 (27 ore): Sessioni pratiche di analisi dei tracciati, interpretazione dei dati NGS [Next Generation Sequencing] (rilevazione mutazioni/VAF [Variant Allele Frequency]) e gating EPN (Emoglobinuria Parossistica Notturna).
- Marzo 2027 (28 ore): Discussione collegiale dei casi clinici complessi, correlazione biologico-clinica e debriefing finale.

RAZIONALE SCIENTIFICO

Le neoplasie mieloproliferative rappresentano un gruppo eterogeneo di patologie clonali della cellula staminale ematopoietica caratterizzate da proliferazione delle linee mieloidi e da specifiche alterazioni molecolari che ne determinano la patogenesi, il decorso clinico e la risposta ai trattamenti.

Le più recenti classificazioni internazionali dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) e dell'International Consensus Classification distinguono in modo netto le forme BCR::ABL1 positive, rappresentate principalmente dalla leucemia mieloide cronica (LMC), dalle neoplasie mieloproliferative Ph-negative, che comprendono Policitemia Vera, Trombocitemia Essenziale e Mielofibrosi Primaria [1,2].

Negli ultimi anni la diagnostica ematologica ha subito una significativa evoluzione grazie all'introduzione di tecnologie molecolari ad elevata sensibilità che hanno progressivamente modificato il ruolo del laboratorio nel percorso diagnostico e nel monitoraggio delle malattie mieloproliferative.

Nel caso della LMC, la quantificazione del trascritto BCR::ABL1 mediante Real Time PCR quantitativa rappresenta lo standard internazionale per il monitoraggio della risposta molecolare alla terapia. La valutazione seriale dei livelli di trascritto consente infatti di definire la profondità della risposta molecolare e di identificare precocemente eventuali segnali di perdita di risposta [3]. In una quota di pazienti con risposta subottimale o con perdita della risposta molecolare possono emergere mutazioni del dominio tirosin-chinasico di ABL1, responsabili di meccanismi di resistenza terapeutica. Tra queste, la mutazione T315I riveste un ruolo particolarmente rilevante dal punto di vista clinico e la sua identificazione mediante metodiche molecolari sensibili rappresenta un passaggio diagnostico fondamentale nel percorso di gestione della malattia [4].

Parallelamente, nelle Neoplasie Mieloproliferative Ph-negative, la diagnostica molecolare si basa sull'identificazione delle principali mutazioni driver coinvolte nell'attivazione costitutiva della via di segnalazione JAK-STAT. In particolare, la ricerca delle mutazioni JAK2 V617F, CALR e MPL costituisce oggi un elemento centrale nel processo diagnostico e nella definizione biologica della malattia [5].

L'introduzione delle tecnologie di Next Generation Sequencing (NGS) ha ulteriormente ampliato le possibilità di caratterizzazione molecolare delle MPN. L'analisi mediante pannelli genici mirati consente infatti di identificare un assetto mutazionale più complesso che può includere geni coinvolti nella regolazione epigenetica, nello splicing dell'RNA e nei processi di proliferazione cellulare, tra cui ASXL1, TET2, DNMT3A, EZH2, IDH1/2 e SRSF2. La presenza di tali alterazioni può fornire informazioni utili sulla biologia della malattia e sulla sua evoluzione nel tempo [6].

Un ulteriore ambito diagnostico di rilevante interesse è rappresentato dall'emoglobinuria parossistica notturna (EPN), rara patologia clonale determinata da mutazioni del gene PIGA, che comportano la perdita delle proteine ancorate al GPI sulla superficie cellulare. L'identificazione del clone EPN si basa oggi su metodiche di citometria a flusso ad elevata sensibilità, che utilizzano

marcatori specifici quali FLAER, CD55 e CD59, consentendo la rilevazione anche di cloni cellulari di piccole dimensioni [7].

Nel contesto della moderna ematologia, caratterizzata da una crescente disponibilità di terapie mirate e da strategie terapeutiche sempre più personalizzate, il laboratorio riveste un ruolo centrale nell'identificazione dei marcatori biologici utili alla definizione del percorso diagnostico e al monitoraggio della risposta ai trattamenti nel tempo.

Alla luce di questi sviluppi, appare fondamentale promuovere percorsi strutturati di formazione sul campo, finalizzati al consolidamento delle competenze tecniche del personale di laboratorio e all'aggiornamento delle metodiche diagnostiche utilizzate nella pratica clinica.