

CARATTERIZZAZIONE CLINICA, FUNZIONALE E CITOFLUORIMETRICA DELLA cGVHD in pazienti pediatrici: ANALISI COMPARATIVA DI COORTE E RUOLO DEI BIOMARCATORI VESCICOLARI

Dott. Gennaro Pagano

Pediatric Hematology and Oncology, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Bologna, Italy
Department of Medical and Surgical Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy

AIEOP
ASSOCIAZIONE ITALIANA EMATOLOGIA ONCOLOGIA PEDIATRICA

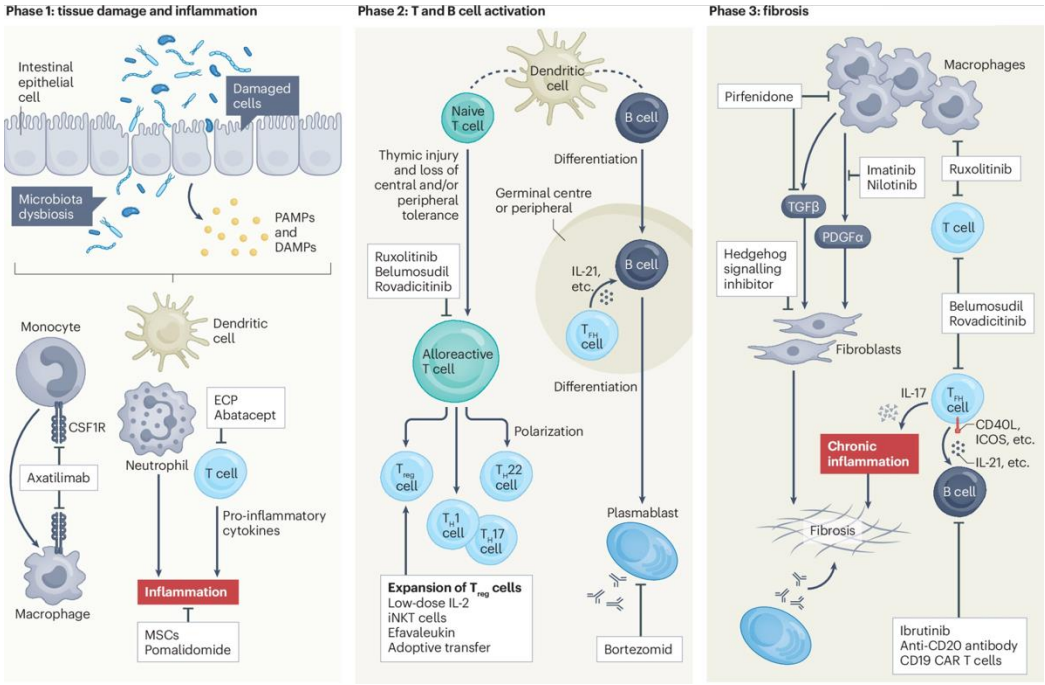
AIEOP MEDICI
LECCE, 12-14 ottobre 2026
HILTON GARDEN INN

Disclosures of Gennaro Pagano

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

cGvHD: fisiopatologia

Principale causa di morbidità tardiva e di NRM nei lungo-sopravviventi post-TCSE



1 Danno tissutale e infiammazione

Tossicità del condizionamento e disbiosi: rilascio di PAMP/DAMP e attivazione dell'immunità innata

Target: *axatilimab, ECP*

2 Attivazione linfocitaria T e B

Danno timico e perdita di tolleranza: espansione di linfociti T allo-reattivi e plasmablasti

Target: *ruxolitinib, belumosudil*

3 Fibrosi

Macrofagi profibrotici (TGFβ, PDGFα) attivano i fibroblasti: fibrosi e infiammazione cronica

Target: *imatinib, ibrutinib*

cGvHD: score di gravità NIH 2014

Mild	• 1 or 2 organs or sites (except lung) with score 1 • Mild oral symptoms, no decrease in oral intake • Mild dry eyes, lubricant eyedrops ≤ 3x/day
Moderate	• 3 or more organs with score 1 • At least 1 organ or site with score 2 • 19-50% body surface area involved or superficial sclerosis • Moderate dry eyes, eyedrops > 3x/day or punctal plugs • Lung score 1 (FEV1 60-79% or dyspnea with stairs)
Severe	• At least 1 organ or site with score 3 • > 50% body surface area involved • Deep sclerosis, impaired mobility or ulceration • Severe oral symptoms with major limitation in oral intake • Severe dry eyes affecting ADL • Lung score 2 (FEV1 40-59% or dyspnea walking on flat ground)

Jagasia et al., Biol Blood Marrow Transplant 2015

cGvHD polmonare

INTRODUZIONE

La **sindrome da bronchiolite obliterante (BOS)** è la manifestazione più frequente di cGvHD polmonare



Cheng et al., Am J Respir Crit Care Med 2025

Organ Scoring of Chronic GVHD[a]	Score 0	Score 1	Score 2	Score 3
Liver				
	Normal total bilirubin and ALT or AP < 3 x ULN	Normal total bilirubin with ALT ≥ 3 to 5 x ULN or AP ≥ 3 x ULN	Elevated total bilirubin but ≤3 mg/dL or ALT > 5 x ULN	Elevated total bilirubin >3 mg/dL
○ Abnormality present but explained entirely by non-GVHD documented cause (specify):				
Lungs[d]				
Symptom score: _____	No symptoms	Mild symptoms (shortness of breath after climbing one flight of steps)	Moderate symptoms (shortness of breath after walking on flat ground)	Severe symptoms (shortness of breath at rest; requiring O_2)
Lung score: _____% FEV1 Pulmonary function tests: Not performed	FEV1 ≥80%	FEV1 60–79%	FEV1 40–59%	FEV1 ≤39%
○ Abnormality present but explained entirely by non-GVHD documented cause (specify):				

Organ scoring polmonare – Jagasia et al., Biol Blood Marrow Transplant 2015

< 10%

incidenza

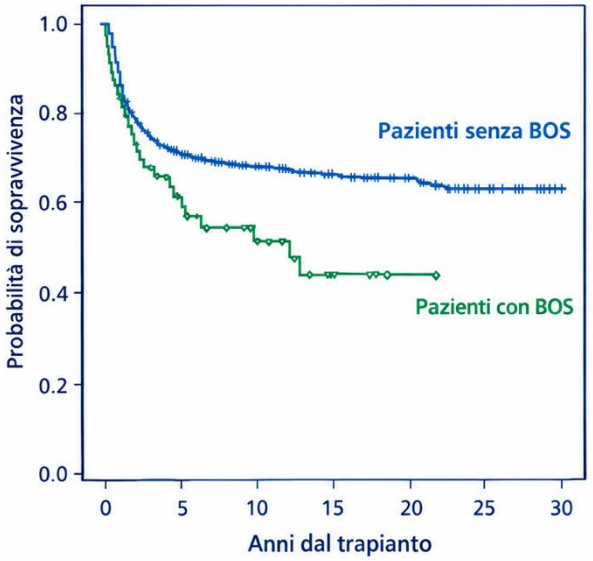
≤ 2 anni

insorgenza tipica dopo il TCSE

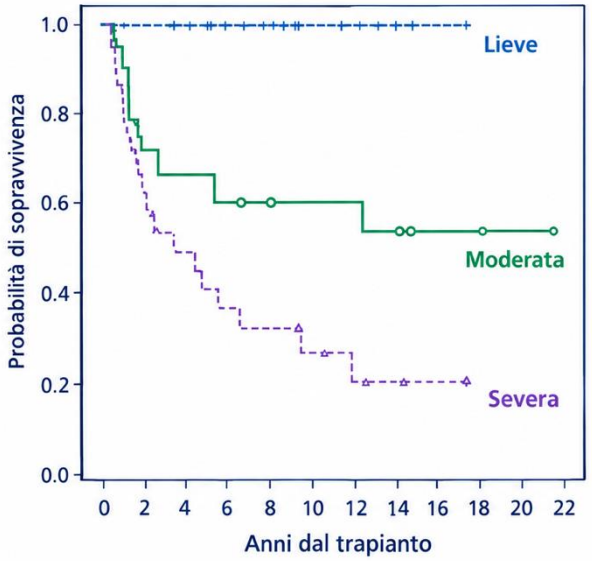
- Fibrosi bronchiolare → deficit ostruttivo
- Clinicamente silente nelle fasi precoci

Impatto della BOS sulla sopravvivenza globale

Sopravvivenza in pazienti con e senza sindrome da bronchiolite obliterante (BOS)



Sopravvivenza in base alla gravità dell'impatto polmonare



1,6×

aumento del rischio di mortalità dopo la diagnosi di BOS

~40%

sopravvivenza globale a 5 anni

Vieira et al., Bone Marrow Transplantation 2014

Vescicole extracellulari (EVs)

Nanoparticelle di membrana (30–150 nm) che trasportano proteine, RNA e lipidi, mediando la **comunicazione intercellulare** nel sistema immunitario e nel microambiente tumorale.

RESILIENZA STRUTTURALE

La membrana lipidica protegge il carico dalla degradazione enzimatica

IDENTITÀ CELLULARE

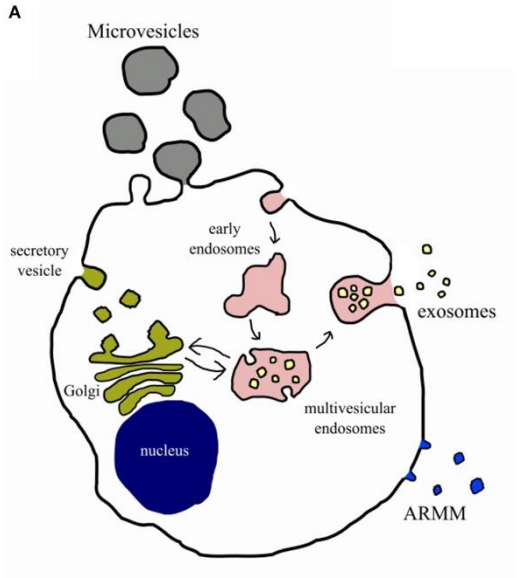
Riflettono lo stato della cellula d'origine

MARCATORI SPECIFICI

Tetraspanine (CD9, CD63, CD81)

SPECIFICITÀ D'ORGANO

Tropismo guidato dall'espressione di specifiche integrine



Lia et al., Front Immunol 2020

Obiettivi dello studio

Scopo dello studio

Caratterizzazione **clinica, funzionale e citofluorimetrica** di pazienti pediatrici post-TCSE che sviluppano cGvHD polmonare

Disegno dello studio

Studio monocentrico retrospettivo-prospettico

Analisi comparativa di 3 sottogruppi: pazienti con **cGvHD polmonare**, con **cGvHD extrapolmonare** e **senza cGvHD**

Inquadramento clinico

Valutazione anamnestica e criteri NIH

Monitoraggio funzionale

Prove di funzionalità respiratoria e test del cammino nei 6 minuti (6MWT)

Biomarcatori

Analisi delle vescicole extracellulari al giorno +90

Materiali e metodi

Studio ibrido retrospettivo/prospettico monocentrico · UOC Oncoematologia Pediatrica, IRCCS Sant'Orsola · 2021–2025

Criteri di inclusione

- Età < 21 anni al momento del trapianto
- Emopatia maligna o benigna con indicazione al TCSE
- Allo-TCSE eseguito tra 2021 e 2024
- Campione plasmatico al giorno +90

Criteri di esclusione

- Perdita del follow-up prima del giorno +90

Prove di funzionalità respiratoria

PFR seriate a differenti timepoint (basale, 6, 12, 24, >36 mesi)

Valutazione dello stato funzionale

Test del cammino dei 6 minuti (6MWT) post-trapianto in pazienti con cGvHD polmonare e senza cGvHD

Analisi citofluorimetrica

Fenotipizzazione delle EVs con MACSPlex EV Kit MSC human (pannello di 37 biomarcatori)

Popolazione dello studio

RISULTATI

Variabile	Totale (n=57)	cGvHD– (n=37)	cGvHD+ (n=17)	p
Età, anni – mediana (range)	9.6 (1.2–20.9)	10.8 (1.2–20.9)	8.9 (3–19.2)	0.98
Ricevente sesso maschile, n (%)	43 (75.4%)	32 (86.5%)	9 (53%)	**0.012**
Donatore sesso maschile, n (%)	38 (66.7%)	24 (64.9%)	12 (70.6%)	0.76
Emopatie maligne, n (%)	47 (82.4%)	31 (83.8%)	13 (76.5%)	0.70
Donatore (MSD / MUD / Haplo)	11 / 25 / 21	9 / 16 / 12	2 / 8 / 7	0.46
Fonte PBSC, n (%)	18 (31.6%)	9 (24.3%)	6 (35.3%)	0.51
Condizionamento (Bu / TBI / Treo / FluCy)	33 / 12 / 7 / 5	21 / 7 / 5 / 4	10 / 4 / 2 / 1	>0.99
Profilassi GvHD (ATG / PTCy / CNI+MTX)	19 / 26 / 12	12 / 15 / 10	6 / 9 / 2	0.48
aGvHD grado ≥ II, n (%)	32 (56.1%)	15 (40.5%)	15 (88.2%)	**0.001**
Riattivazione CMV, n (%)	22 (38.6%)	12 (32.4%)	9 (52.9%)	**0.002**
Riattivazione EBV, n (%)	9 (15.8%)	5 (13.5%)	4 (23.5%)	0.44
Riattivazione ADV, n (%)	7 (12.3%)	3 (8.1%)	3 (17.7%)	0.36
Infezioni precoci (<100 gg), n (%)	50 (87.7%)	32 (86.5%)	15 (88.2%)	>0.99
Infezioni tardive (>100 gg), n (%)	13 (22.8%)	5 (13.5%)	8 (47.1%)	**0.014**

p < 0.05

Caratterizzazione clinica: gravità e organi

RISULTATI

Variabile	cGvHD+ extrapolmonare (n=6)	cGvHD+ polmonare (n=11)
Severità globale cGvHD		
Lieve	2 (33.3%)	0
Moderata	3 (50%)	8 (72.7%)
Severa	1 (16.7%)	3 (27.3%)
Coinvolgimento d'organo		
Polmonare	0	11 (100%)
Cutaneo	5 (83.3%)	6 (54.5%)
Gastrointestinale	5 (83.3%)	2 (18.2%)
Epato/biliare	4 (66.7%)	3 (27.3%)
Oculare	1 (16.7%)	4 (36.4%)
Mucosale	2 (33.3%)	2 (18.2%)
Articolare/fasciale	1 (16.7%)	2 (18.2%)
Onset, giorni – mediana (IQR)	115 (103–412)	172 (126–581)

Nessun paziente cGvHD– (n=37) presentava coinvolgimento d'organo

100%

forme moderate/severe nei pazienti con cGvHD polmonare (vs 67% extrapolmonare)

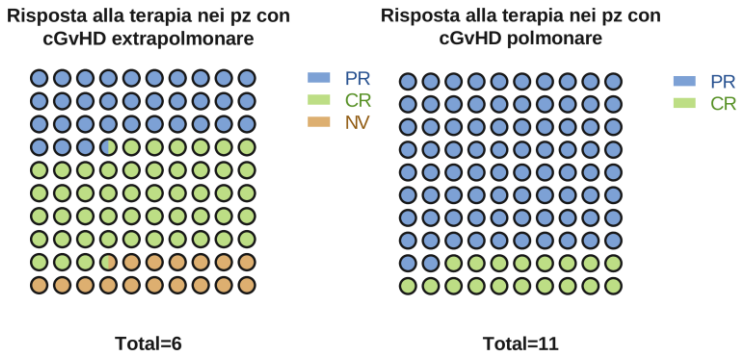
172 vs 115

giorni: onset mediano, cGvHD polmonare vs extrapolmonare

Caratterizzazione clinica: terapia e risposta

RISULTATI

Terapia	cGvHD– (n=37)	cGvHD+ extrapolm. (n=6)	cGvHD+ polm. (n=11)
Steroide inalatorio + azitromicina	0	0	11 (100%)
Ruxolitinib	5 (13.5%)	6 (100%)	10 (90.9%)
Steroide sistemico	19 (51.3%)	5 (83.3%)	6 (54.5%)
Belumosudil	0	0	4 (36.4%)
Ibrutinib	0	1 (16.7%)	3 (27.3%)
MMF	0	0	2 (18.2%)
Axatilimab	0	0	1 (9.1%)
Infliximab	2 (5.4%)	1 (16.7%)	0
Abatacept	1 (2.7%)	2 (33.3%)	0
Fotoaferesi extracorporea (ECP)	0	2 (33.3%)	1 (9.1%)



Risposta alla terapia

Extrapolmonare: **CR 50%**, PR 33%, NV 17%

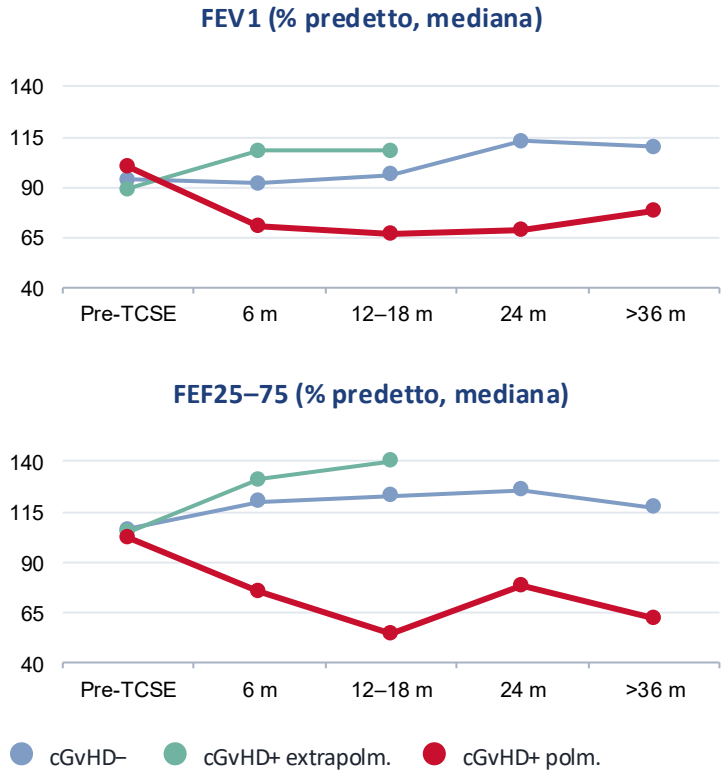
Polmonare: CR 18%, **PR 82%**

PR: risposta parziale; CR: risposta completa; NV: non valutabile

Caratterizzazione funzionale: PFR

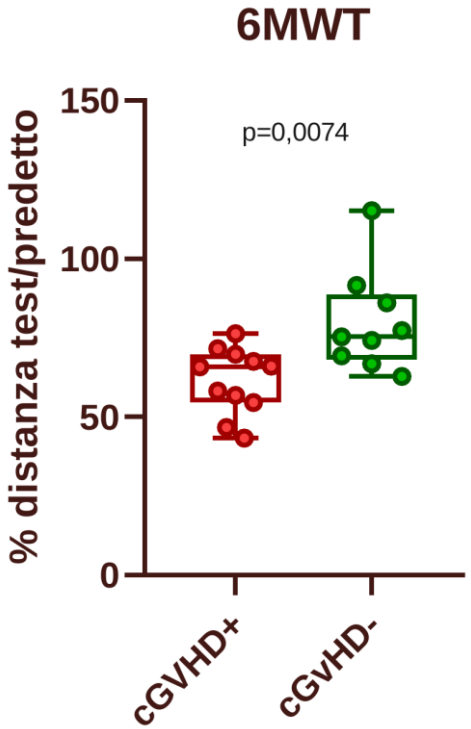
RISULTATI

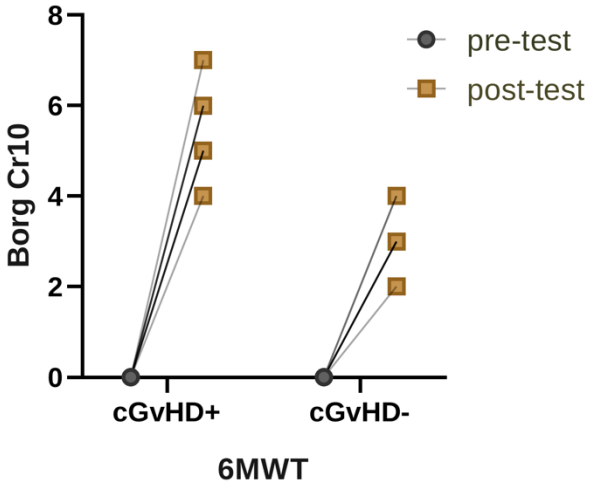
% predetto, mediana (IQR)	cGvHD– (n=37)	cGvHD+ extrapolm. (n=6)	cGvHD+ polm. (n=11)
PFR pre-trapianto			
Disponibili, n (%)	24 (64.9%)	3 (50%)	8 (72.7%)
FEV1	94% (67–118)	89% (88–105)	100% (86–112)
FEF25–75	106% (65–140)	105% (104–125)	102% (79–114)
PFR a 6 (±2) mesi			
Disponibili, n (%)	10 (27.0%)	2 (33.3%)	8 (72.7%)
FEV1	92% (79–115)	108% (106–110)	71% (70–91)
FEF25–75	120% (77–156)	131% (129–133)	75% (49–130)
PFR a 12–18 mesi			
Disponibili, n (%)	13 (35.1%)	2 (33.3%)	8 (72.7%)
FEV1	96% (81–115)	108% (98–118)	67% (49–119)
FEF25–75	123% (69–143)	140% (137–143)	54% (33–154)
PFR a 24 (±3) mesi			
Disponibili, n (%)	4 (10.8%)	0	6 (54.5%)
FEV1	113% (91–119)	—	69% (35–91)
FEF25–75	126% (105–156)	—	78% (34–93)
PFR > 36 mesi			
Disponibili, n (%)	2 (5.4%)	0	8 (72.7%)
FEV1	110% (105–115)	—	78% (37–98)
FEF25–75	117% (109–124)	—	62% (20–104)



Caratterizzazione funzionale: 6MWT

RISULTATI





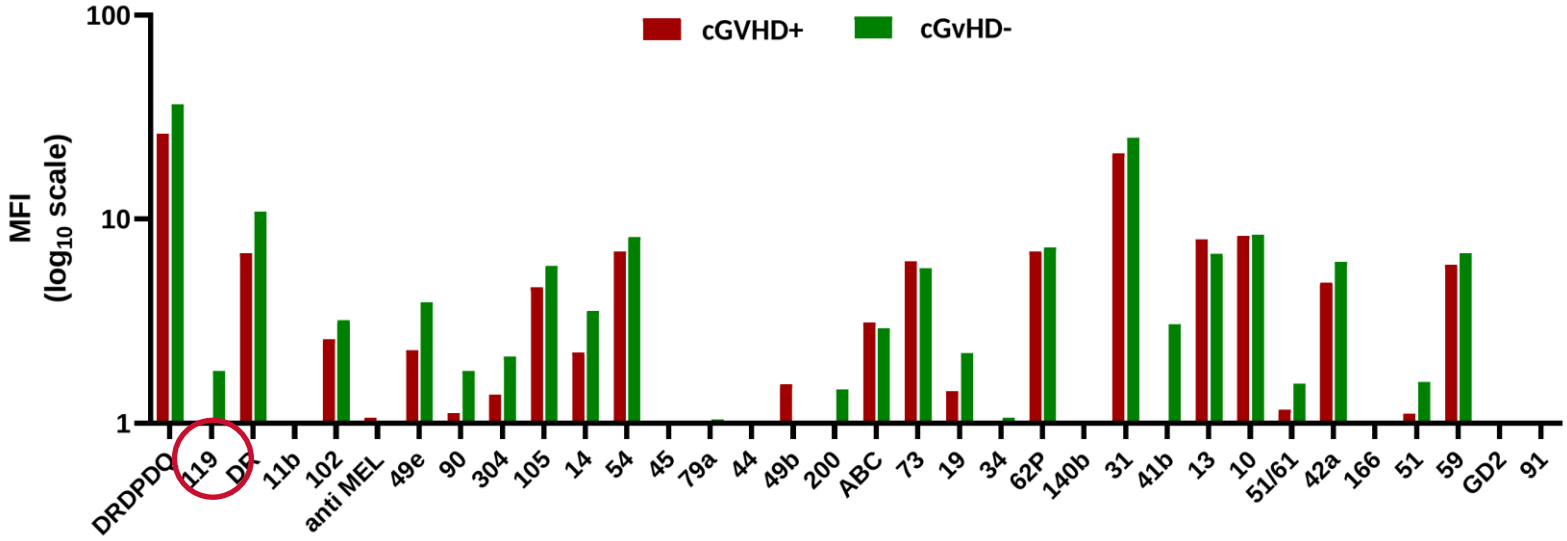
Dispnea percepita pre/post-test (scala di Borg CR10)

Distanza percorsa al 6MWT (% del predetto) **significativamente ridotta** nei pazienti con cGvHD polmonare
p = 0.0074

Caratterizzazione citofluorimetrica

RISULTATI

Pannello di 37 biomarcatori vescicolari MSC (MACSPlex EV) · giorno +90

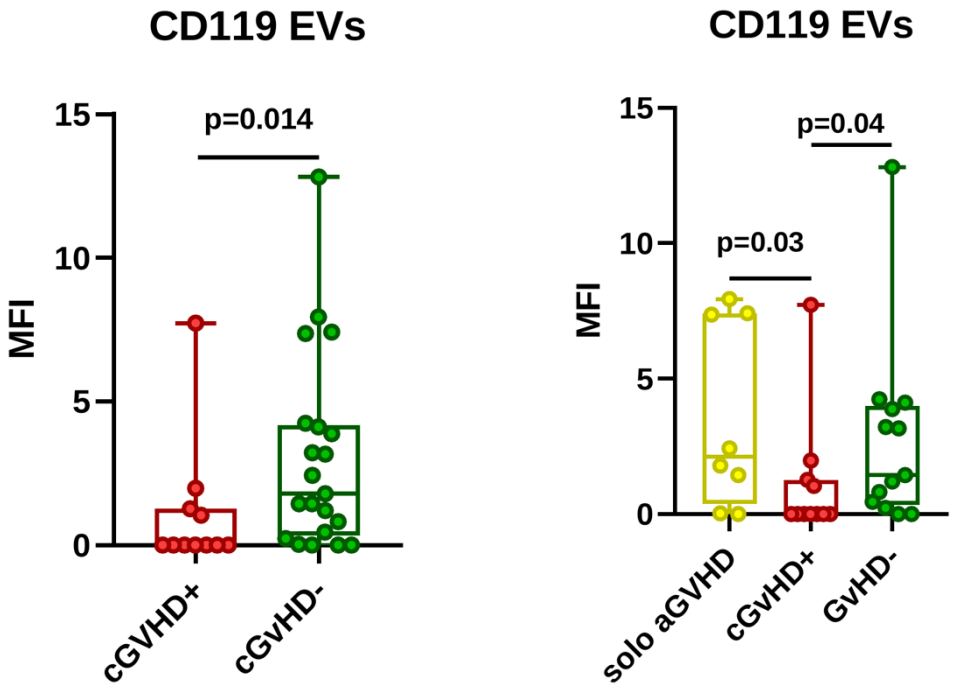


Al giorno +90 i livelli di **CD119 EVs** differiscono in modo **statisticamente significativo** tra i sottogruppi

CD119 EVs nei sottogruppi

RISULTATI

Livelli di espressione di CD119 EVs al giorno +90



CD119 EVs **ridotte** nei pazienti cGvHD+ vs cGvHD−
p = 0.014

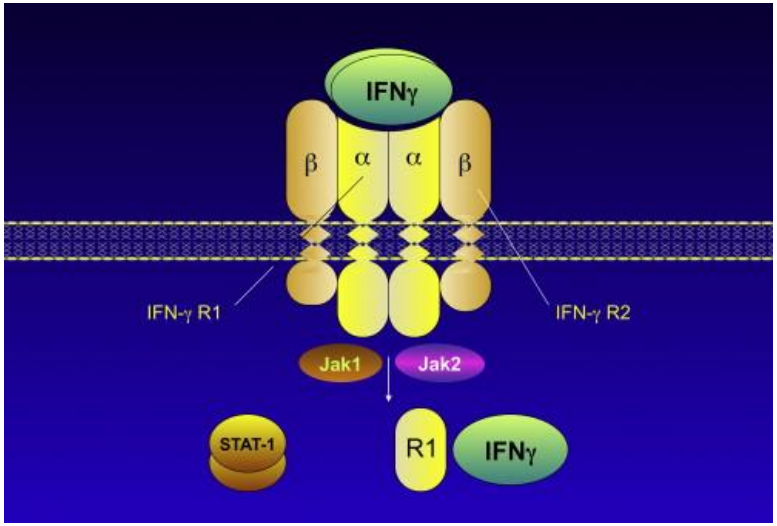
Solo aGvHD vs cGvHD+: **p = 0.03**

cGvHD+ vs cGvHD−: **p = 0.04**

CD119 (IFNGR1) e pathway JAK-STAT

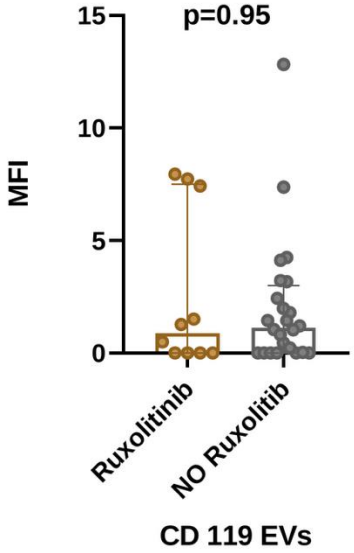
RISULTATI

CD119 (IFNGR1) a monte del pathway JAK-STAT



Dhagat et al., Encyclopedia of Cell Biology 2016

Impatto del ruxolitinib sui livelli di CD119 EVs



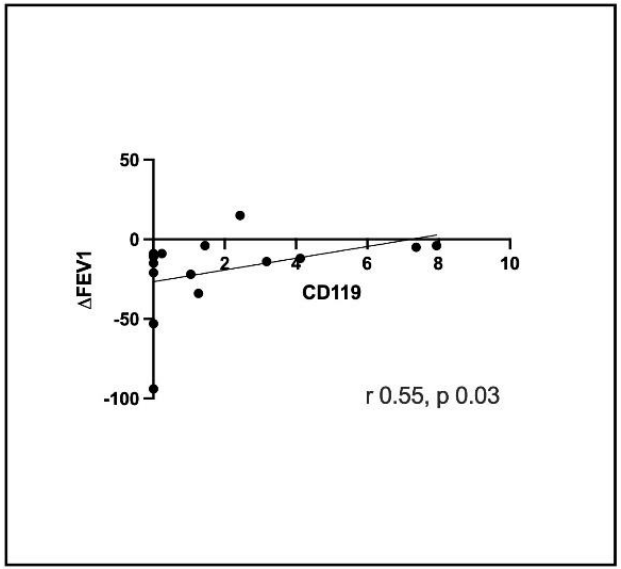
p = 0.95

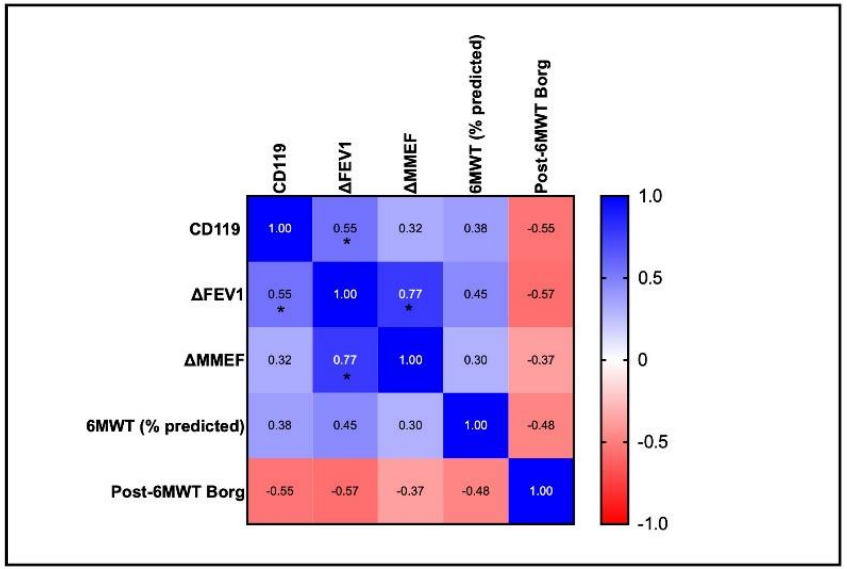
nessun effetto del ruxolitinib

CD119 potrebbe avere un **ruolo eziopatogenetico nella BOS**: modelli murini knockout per CD119 e RAG2 sviluppano spontaneamente fibrosi polmonare irreversibile (Otaki et al., Nat Commun 2023)

Analisi delle correlazioni

Correlazioni tra CD119 EVs, parametri spirometrici e indicatori dello stato funzionale





Il **declino della funzionalità respiratoria** (ΔFEV1) è associato alla **riduzione dei livelli di CD119 EVs**

Conclusioni

Le **CD119 EVs** potrebbero avere un ruolo prognostico, permettendo di **predire** il rischio di **cGvHD** e soprattutto il **declino della funzionalità respiratoria**

Il **test del cammino dei 6 minuti** discrimina i pazienti con **cGvHD polmonare** dai controlli negativi

Un **approccio diagnostico integrato** – funzionalità respiratoria, stato funzionale e analisi citofluorimetrica delle EVs – permetterebbe di **intercettare precocemente** i pazienti che sviluppano **cGvHD polmonare**

Limiti e prospettive future

Limiti

- Studio **monocentrico** e campione **ridotto**
- Natura in parte **retrospettiva**

Prospettive future

- Monitoraggio della **cinetica di espressione** dei biomarcatori vescicolari
- **Standardizzazione dei timepoint** per il 6MWT

Grazie per l'attenzione

UOC Oncoematologia Pediatrica

Prof. Riccardo Masetti
Prof. Arcangelo Prete
Dr.ssa Francesca Gottardi
Dr.ssa Tamara Belotti
Dr. Francesco Baccelli
Dr. Davide Leardini
Dr. Edoardo Muratore
Dr.ssa Laura Pedretti
Dr.ssa Sara Cerasi
Dr. Francesco Venturelli
Dr.ssa Martina Colli
Dr.ssa Elena Facchini
Dr.ssa Maria Elena Cantarini
Dr.ssa Elena Lara Legnani
Dr. Federico Mercolini
Dr. Alessandro Ruggi

Laboratorio di Immunobiologia dei Trapianti e Terapie Cellulari (IBT)

Prof.ssa Francesca Bonifazi
Prof. Massimiliano Bonafè
Dr.ssa Serena De Matteis
Dr. Gianluca Storci
Dr.ssa Irene Salamon
Dr.ssa Francesca Vaglio

ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA
Azienda Ospedaliero - Universitaria di Bologna
IRCCS Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico

POLICLINICO DI SANT'ORSOLA