**PROGETTO DI RICERCA**

**Studio degli stadi precoci dell’ematopoiesi per identificare nuovi target terapeutici nell’ambito delle non-DS-AMKL pediatriche**

**INTRODUZIONE**

Le leucemie megacarioblastiche acute non associate a sindrome di Down (non-DS-AMKL) rappresentano il 4-15% delle leucemie mieloidi acute pediatriche (AML). Un terzo di esse sono caratterizzate dalla presenza di geni di fusione associati a prognosi infausta, fra cui si identifica NUP98-KDM5A, in grado di originare una non DS-AMKL diagnosticata in genere ad un’età significativamente più bassa rispetto ad altri pazienti con AML. Studi recenti hanno evidenziato come l’ematopoiesi fetale sia più suscettibile alla trasformazione neoplastica a AMKL, sottolineando il ruolo chiave delle cellule staminali progenitrici derivate dalla via fetale nella cancerogenesi. Durante lo sviluppo embrionale si distinguono tre principali vie ematopoietiche: l’ematopoiesi extraembrionale da sacco vitellino che dà origine alla via primitiva e ai progenitori eritro-mieloidi seguita dal programma definitivo intra-embrionale, che dà origine alle cellule staminali ematopoietiche e a tutte le popolazioni ematologiche mature. I progenitori derivanti da ognuna di queste vie completano la loro maturazione nel fegato fetale, in cui sono state per l’appunto individuate popolazioni di progenitori megacariocitici-eritroidi-mastocitici altamente ciclanti che possono dunque essere più suscettibile a trasformazioni maligne.

L’ipotesi del progetto, in cui si colloca l’attività di ricerca oggetto di questa borsa di studio, è che i precursori ematopoietici derivanti da diverse vie dello sviluppo ematopoietico mostrino un diverso grado di suscettibilità ad aberrazioni genetiche e a conseguente trasformazione in AMKL. Sulla base delle conoscenze attuali basate su modelli murini e su dati di *sequencing* relativi a progenitori ematopoietici di fegato fetale, si ipotizza che l’ematopoiesi extraembrionale date le sue proprietà in termini di *self*-*renewal* possa contribuire in maniera significativa nell’esordio di questa tipologia di leucemia.

Il modello preclinico utilizzato nell’ambito di questo progetto si basa su cellule staminali embrionali (ES) e cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) ingegnerizzate con il gene di fusione NUP98-KDM5A, in grado di riprodurre le caratteristiche molecolari e cellulari delle non-DS-AMKL pediatriche.

**OBIETTIVI**

Le cellule staminali esprimenti o meno il gene di fusione saranno soggette a *single cell RNA sequencing* a diversi *step* del differenziamento ematopoietico con la finalità di individuare particolari vie di segnalazioni alterate in diversi sottotipi cellulari a diversi stadi differenziativi.

Il fine ultimo è quindi quello di indentificare il profilo trascrizionale della popolazione che meglio ricapitola la malattia, evidenziandone le differenze con gli altri sottogruppi e individuando eventuali potenziali bersagli trascrizionali condivisi dalle cellule esprimenti il gene di fusione.

**METODOLOGIE**

Analisi bioinformatica di dati di sequenziamento *whole transcriptome* e *single cell RNA sequencing* a partire da dati di letteratura ottenuti su blasti di pazienti AMKL e già disponibili su *database online* e dati ottenuti dal modello di studio basato su ES e iPSC ottenuto in laboratorio. Saranno condotte analisi di *over-representation* ma soprattutto *gene set enrichment* su *database* selezionati.

**CONCLUSIONI**

La precisa caratterizzazione trascrizionale di cellule staminali umane nel corso del processo di sviluppo di una AMKL rappresenta una preziosissima fonte di informazioni relative alla sua patogenesi. Ciò potrebbe infatti aiutare nell’individuare *pathway* chiave che, se trascrizionalmente alterati, favoriscano l’innesco e/o la progressione leucemica e nel valutarne il loro potenziale *targeting* a fini terapeutici, contribuendo così al miglioramento della prognosi di questo sottogruppo di AML pediatriche.