



# 46° Convegno Nazionale di Studi di Medicina Trasfusionale

*Rimini, 13-15 maggio 2026*

## **Monitoraggio dell'apoptosi indotta da fotochemioterapia extracorporea (ECP) in GVHD cronica-Sindrome di Sézary -CLAD post- trapianto: Esperienza monocentrica 2020-2025**

*Dott.ssa Manuela Rigno*

Poster ABS277

Dipartimento di Medicina Trasfusionale AULSS 8 Berica - Vicenza

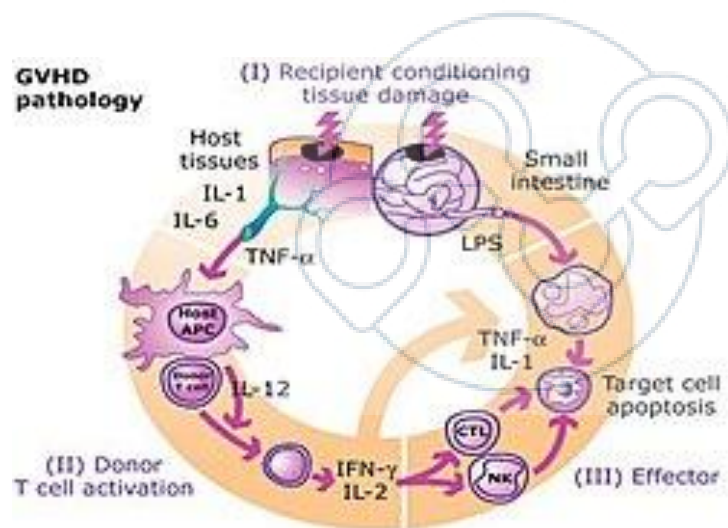


La sottoscritta, in qualità di Relatore  
dichiara che

nell'esercizio della Sua funzione e per l'evento in oggetto, NON È in alcun modo portatore di interessi commerciali propri o di terzi; e che gli eventuali rapporti avuti negli ultimi due anni con soggetti portatori di interessi commerciali non sono tali da permettere a tali soggetti di influenzare le sue funzioni al fine di trarne vantaggio.



# GVHD



Nel trapianto di CSE i linfociti T del donatore attaccano i tessuti del ricevente riconosciuti antigenicamente estranei.

I linfociti T producono un eccesso di citochine, tra cui TNF- $\alpha$  e interferone-gamma (IFN $\gamma$ ).

# SDR SEZARY

La sindrome di Sézary è un sottotipo di CTCL più aggressivo rispetto alla micosi fungoide.

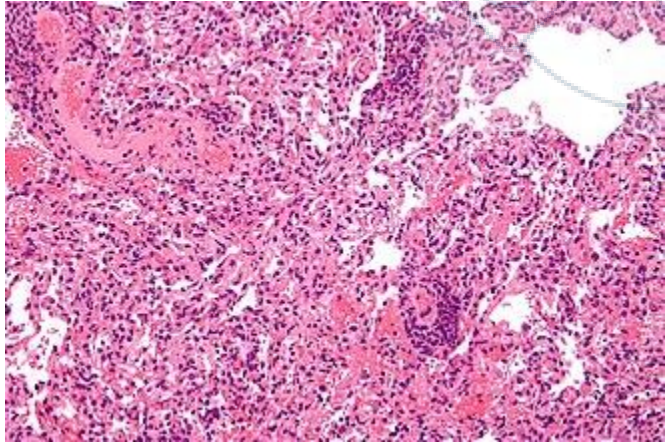
È anche molto più rara e rappresenta meno del 5% di tutti i CTCL.

L'incidenza stimata della SS è di circa 0,1 per 1.000.000 di abitanti.

La SS è spesso caratterizzata dalla triade di eritrodermia, linfadenopatia generalizzata e coinvolgimento ematico con cellule T neoplastiche clonalmente correlate con nuclei cerebriformi (cellule di Sézary).



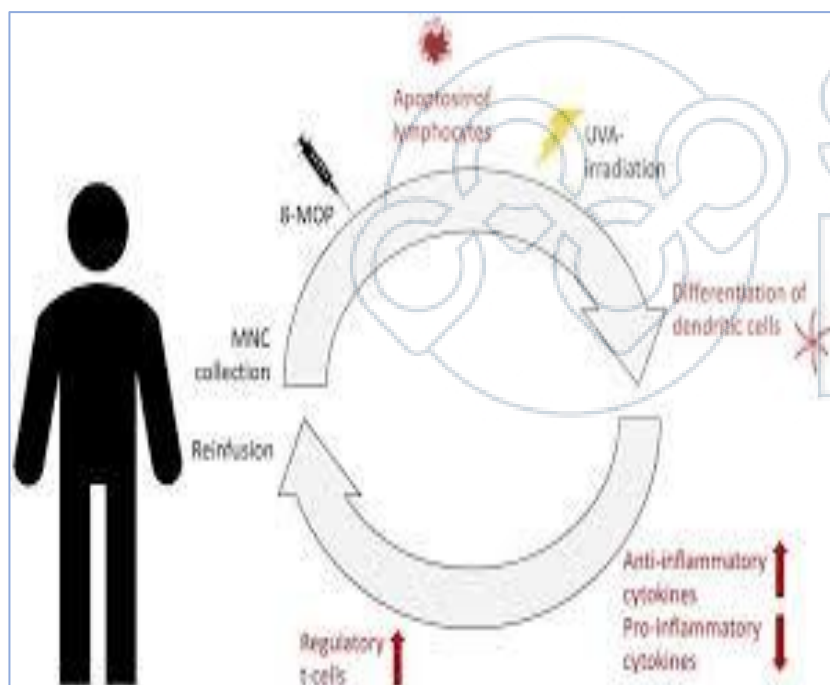
# CLAD



L'acronimo CLAD in medicina sta per **Chronic Lung Allograft Dysfunction** (Disfunzione Cronica dell'Allotrapianto di Polmone).

Si riferisce alla forma più comune di **rigetto cronico** che si manifesta nei pazienti sottoposti a trapianto polmonare.

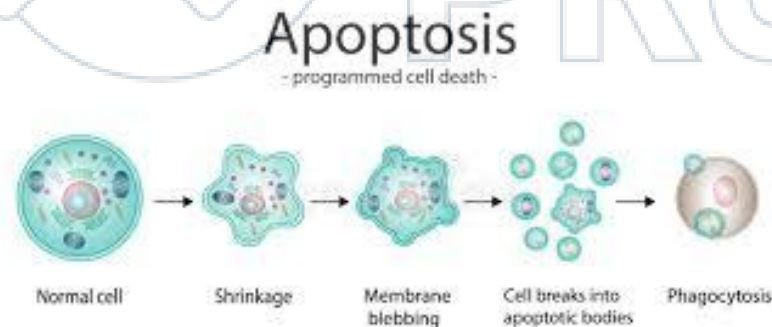
# ECP: FOTOCHEMIOTERAPIA EXTRACORPOREA



L'ECP è un trattamento che coniuga la separazione cellulare dei Linfociti mediante aferesi e l'azione di un fotosensibilizzatore (8-metossipsoralene) attivato dall'irradiazione con UVA mediante tecnologia off-line/on-line per indurre l'apoptosi selettiva dei linfociti T autologhi.

# ECP: apoptosi linfocitaria

A ciò deriva un effetto immunomodulante.  
Tuttavia, il monitoraggio dell'efficacia biologica rimane un aspetto critico, in particolare nei trattamenti protratti.  
L'apoptosi linfocitaria indotta da ECP costituisce un potenziale biomarcatore dinamico di risposta.



# METODICHE

## Riprodurre in vitro gli effetti ascrivibili all'attivazione dell'8-MOP sui MNs.

- ▶ Quantificazione dell'inibizione dello stimolo proliferativo con radioattiva 3-H thymidine.
- ▶ Quantificazione dell'inibizione allo stimolo proliferativo con 3-H thymidine and a nonradioattiva CFSE in florocitometria.
- ▶ Monitoraggio dell'induzione dell'apoptosi delle MNs con annexin V/PI in florocitometria.

# Evaluation of lymphocytes inactivation by extracorporeal photopheresis using tetrazolium salt based-assay.

Katia Chierгато, et al.

Transfusion and Apheresis Science. Volume 53, Issue 2, October 2015, Pages 242-245

## Studio comparativo di tre saggi analitici:

1. Valutazione citofluorimetrica con CFSE della proliferazione linfocitaria pre e post-8 –MOP in presenza di anti CD3 e IL2 → COSTOSA e LABORIOSA
2. Utilizzava metodica fluorimetrica con WST1 per la valutazione dell'effetto dell'8-MOP sull'attività metabolica → RAPIDA, MENO QUANTIFICATIVA (solo effetto finale)
3. Quantificazione citofluorimetrica dell'apoptosi indotta dal trattamento con 7-aminoactinomomicina-D (marker di vitalità) e Annessina V (per identificare i primi danni sulla membrana extracellulare)

## Evaluation of lymphocytes inactivation by extracorporeal photopheresis using tetrazolium salt based-assay.

Katia Chierгато, et al.

Transfusion and Apheresis Science. Volume 53, Issue 2, October 2015, Pages 242-245

Apoptosi con test con l'Annexina V e 7ADD- D (composto chimico fluorescente con una forte affinità per il DNA).

$\Delta$ apoptosis = % 7AAD(+)**ANN V(+)** postECP – %7AAD(+)**ANN V(+)**preECP.

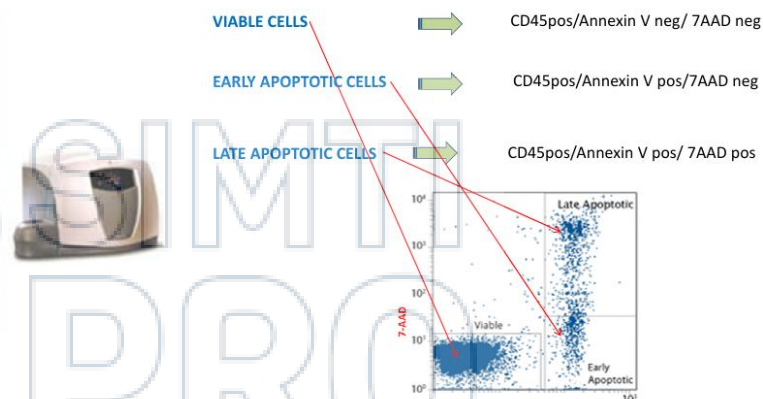
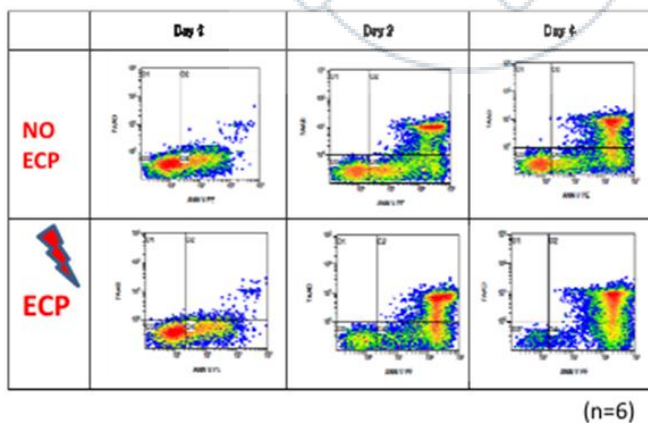
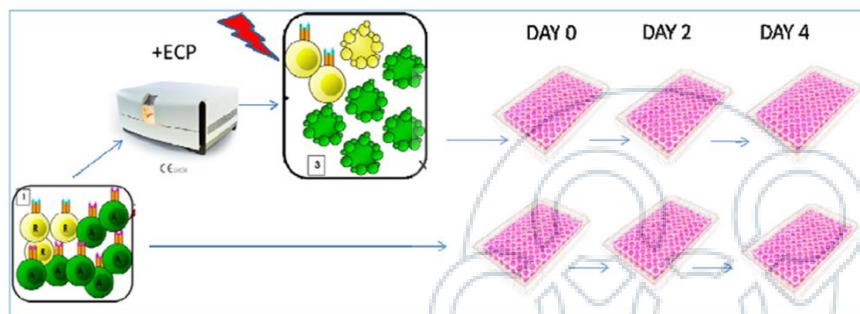
### INDICATORI

% Apoptosi totale (Ann V+ 7ADD) dopo trattamento >50%

% Incremento apoptosi totale dopo trattamento Ann V+ 7ADD a +2/4 gg >15%

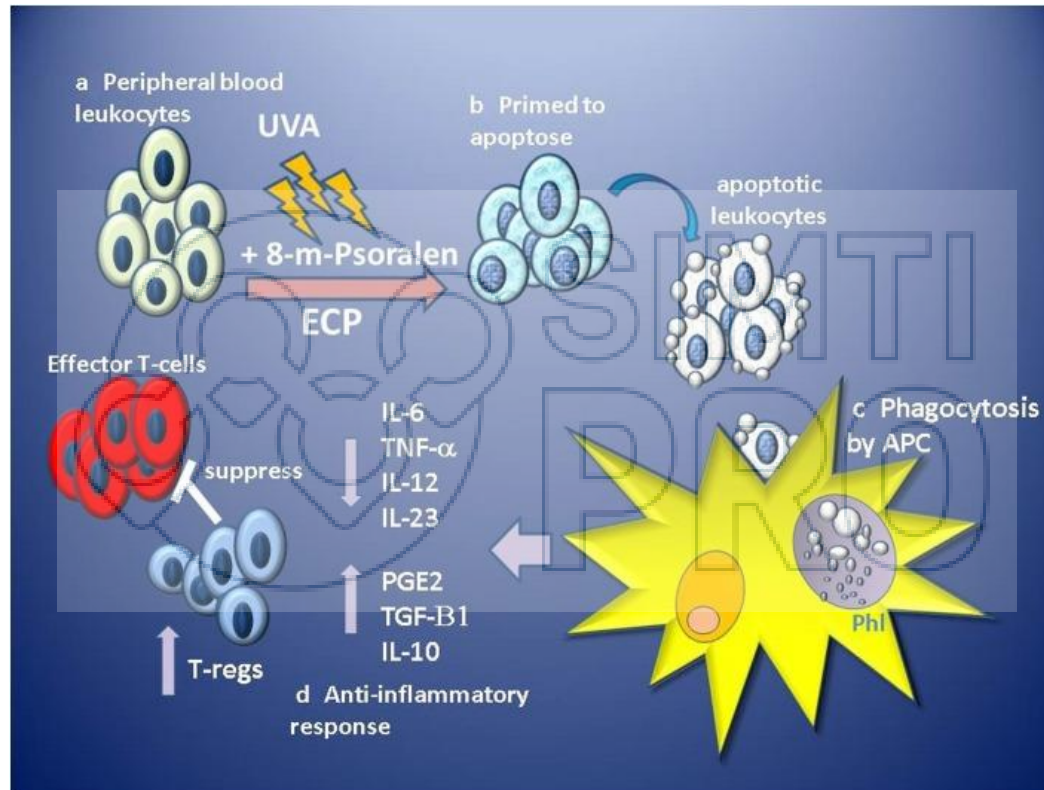
Nello studio di validazione venivano valutate due tempistiche (2/4 giorni); settati a 2 giorni in quanto si rischiava di perdere l'effetto dell'8-MOP

# ECP: apoptosi in vitro



- Increase in early apoptotic cells (day 4) =  $19 \pm 14\%$  ( $p < 0.05$ )
- Total apoptotic cells (day 4):  $98 \pm 2$  (range: 95–100)
- No differences between CD4, CD8, and NK

# ECP: Biomarkers in GVHD



**Extracorporeal Photopheresis (ECP) and the Potential of Novel Biomarkers in Optimizing Management of Acute and Chronic Graft vs. Host Disease (GvHD)**

[Matthew Mankarious Front. Immunol. 2020](#)

# ESPERIENZA DI VICENZA

## METODI

- Studio retrospettivo monocentrico
- Monitoraggio 2020–2025
- Citofluorimetria Annexin V / 7-AAD
- Apoptosi totale post MOP+UVA (t0)
- Incremento apoptosi a +2 e + 4 gg (t1/t2) (settata a +2 gg dal 2022) % vs baseline
- Cut-off biologico: incremento  $\geq 15\%$

## WORKFLOW

- 8-mop
- UVA
- Annexin V/7-AAD Inc  $\geq 15\%$

## KEY DATASET

- 78 FCE
- 27 pazienti
- 3 indicazioni

# SETTING A CONFRONTO

GVHD-c

- NUMERO ECP: 55
- Mediana Apoptosi post UVA: 87.7%
- Mediana Incremento ap. dopo 24/48h: 23.5%
- Efficacia ( $\geq 15\%$ ): **76%**

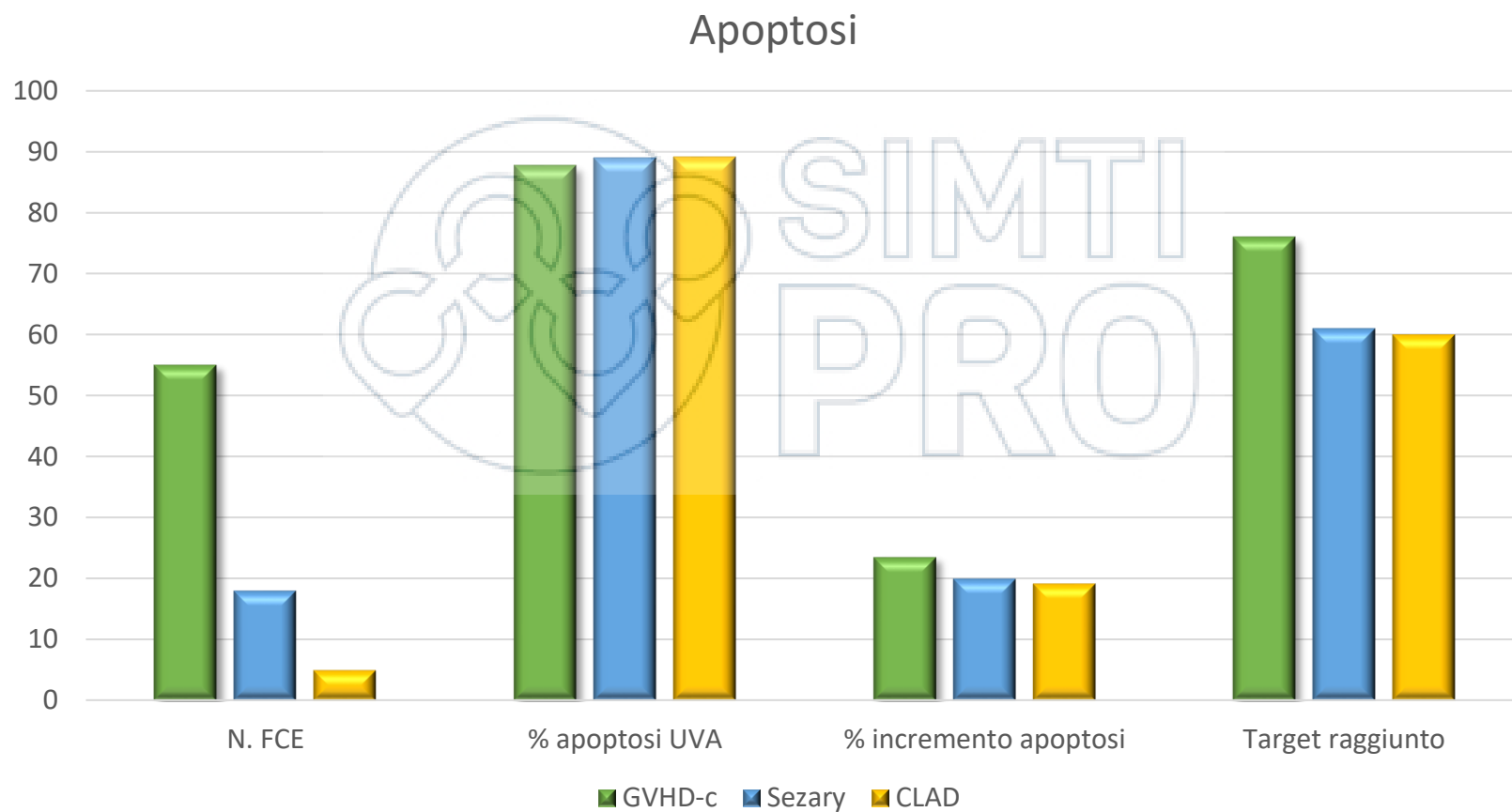
Sdr  
Sezary

- NUMERO ECP: 18
- Mediana Apoptosi post UVA: 89.9%
- Mediana Incremento ap. dopo 24/48h: 20%
- Efficacia ( $\geq 15\%$ ): **61%**

CLAD

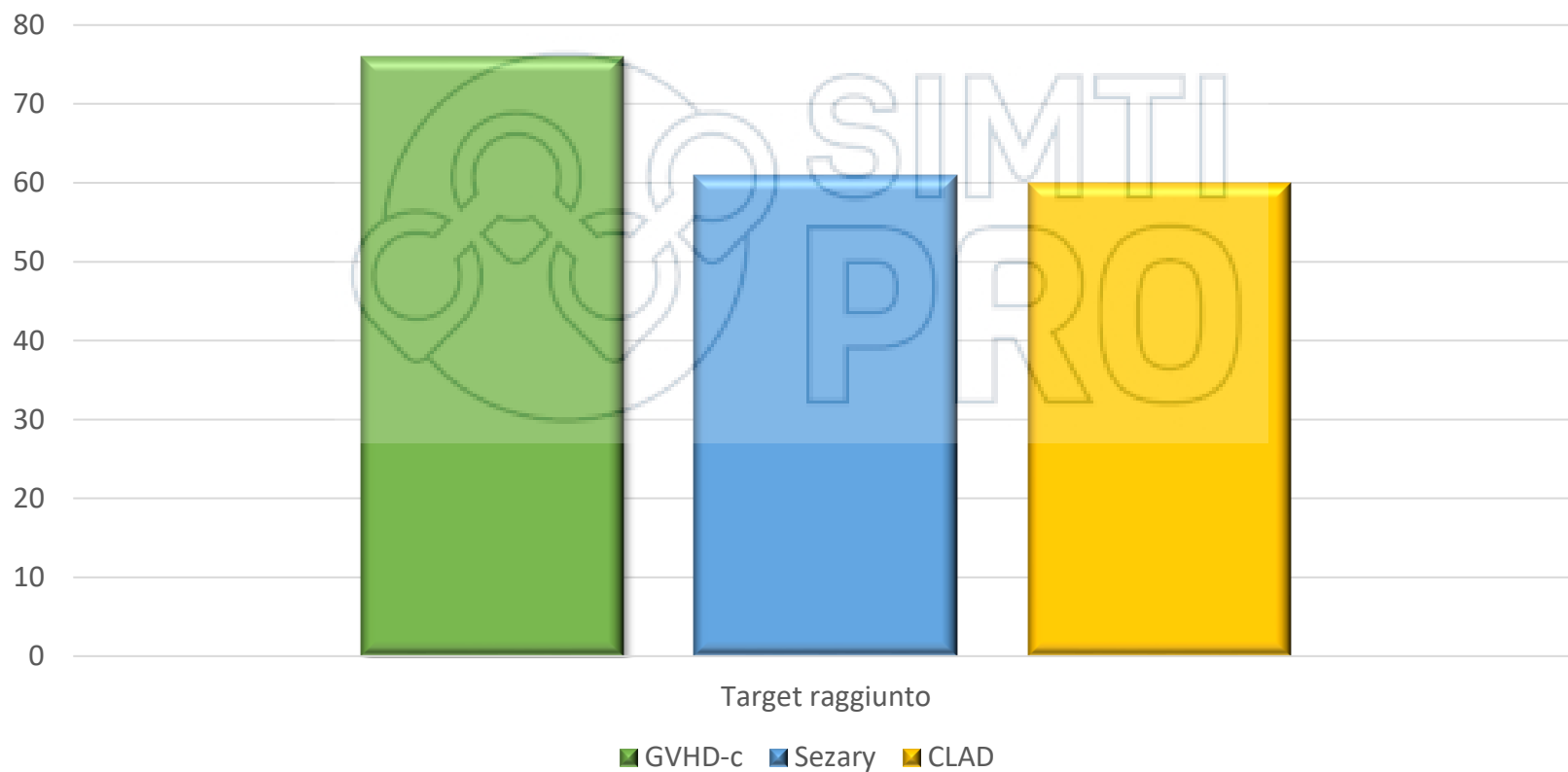
- NUMERO ECP: 5
- Mediana Apoptosi post UVA: 89.9%
- Mediana Incremento ap. dopo 24/48h: 19.2%
- Efficacia ( $\geq 15\%$ ): **60%**

# PATTERN APOPTOSICI



# PATTERN APOPTOSICI

## Apoptosi



# RISULTATI

- Apoptosi totale post-UVA (T0) elevata in tutti i patterns.
- GVHDc: incremento apoptosi a +2+4 gg (T1/T2) è più robusto e più costante.
- Sindrome di Sézary: risposta più eterogenea e variabile nel tempo.
- CLAD: segnale biologico favorevole, ma numeri ancora contenuti.

# CONCLUSIONI

Apoptosi totale  $\neq$  risposta biologica

Incremento apoptotico a +2/+4 gg => discrimina la risposta biologica  
parametro più correlabile alla clinica, utile come F-up più sensibile e  
più efficace a guidare una possibile personalizzazione di frequenza e  
durata del trattamento.

**L'incremento dell'apoptosi linfocitaria indotta dal  
processo ECP costituisce un potenziale biomarcatore  
dinamico di risposta alla terapia.**



# RINGRAZIAMENTI



*Dott.ssa Manuela Rigno*

Dipartimento di Medicina Trasfusionale AULSS  
8 Berica - Vicenza

- SIMTI
- CO-AUTORI: Astori G, Sartori B, Fiorin F.
- TEAM AFERESI TERAPEUTICA
- LABORATORIO DI TERAPIA CELLULARE AVANZATE UOC EMATOLOGIA
- GLI ASTANTI
- MODERATORI