

ARTICOLO DI RICERCA

Profilazione metabolomica dell'ematopoiesi leucemica: effetti della somministrazione del vaccino COVID-19 a mRNA BNT162b2

Batuhan Erdogdu^{1*}, Ozan Kaplan², Bilge Basak Fidan², Mustafa Çelebier², Umit Yavuz Malkan¹ e Ibrahim C. Haznedaroglu¹

¹Università di Hacettepe, Facoltà di Medicina, Dipartimento di Ematologia, Ankara, Turchia; ²Università di Hacettepe, Facoltà di Farmacia, Dipartimento di Chimica Analitica, Ankara, Turchia

Astratto: *Sfondo:* La leucemia è caratterizzata dall'espansione clonale delle cellule staminali emopoietiche e dalla riprogrammazione metabolica. Il vaccino contro il COVID-19 a mRNA BNT162b2 si è dimostrato efficace, sebbene permangano dubbi sui suoi effetti fisiologici più ampi. Questo studio indaga le alterazioni metabolomiche nel midollo osseo leucemico potenzialmente associate alla vaccinazione con BNT162b2.

Obiettivo: Confrontare i profili metabolomici del midollo osseo di pazienti affetti da leucemia con e senza vaccinazione BNT162b2 e di soggetti di controllo sani non vaccinati, per esplorare potenziali differenze metaboliche.

Metodi: Campioni di midollo osseo sono stati ottenuti da tre gruppi: pazienti leucemici vaccinati (n=7), pazienti leucemici non vaccinati senza anamnesi di COVID-19 (n=2) e controlli sani non vaccinati (n=7). La metabolomica non mirata è stata eseguita utilizzando LC-QTOF-MS. I dati sono stati analizzati utilizzando XCMS e MetaboAnalyst 5.0 per identificare differenze metaboliche statisticamente significative e vie metaboliche interessate. Fold change >1,5 e p <0,05 sono stati considerati significativi.

Risultati: Sono stati osservati profili metabolici distinti tra il gruppo leucemico e quello di controllo. Nei campioni di leucemia sono stati osservati un aumento della glicolisi, dell'attività della via dei pentoso fosfati e un'alterazione del metabolismo di triptofano, lipidi ed eme. Le alterazioni metaboliche nei pazienti vaccinati (ASL) erano più simili a quelle dei pazienti leucemici non vaccinati (LO) rispetto ai controlli sani, con lievi variazioni associate al vaccino. Tra i metaboliti più significativi figuravano 5-metossindolacetato, fosforilcolina e acido tetraidrofolico.

Conclusioni: Questo studio preliminare ha identificato alterazioni delle vie metaboliche nel midollo osseo leucemico e suggerisce differenze metabolomiche associate alla vaccinazione con BNT162b2. Sebbene i risultati non supportino un nesso causale tra la vaccinazione a mRNA e lo sviluppo della leucemia, evidenziano la necessità di ulteriori studi per comprendere la modulazione metabolica indotta dal vaccino in contesti ematologici.

Parole chiave: SARS-CoV-2, COVID-19, vaccino Pfizer-BioNTech contro il COVID-19, leucemia, emopoiesi, metabolomica.

1. INTRODUZIONE

La leucemia, una neoplasia maligna delle cellule ematopoietiche, è caratterizzata dalla proliferazione clonale di cellule blastiche leucemiche che presentano un metabolismo cellulare alterato [1-3]. I recenti progressi nella biologia dei sistemi, in particolare l'applicazione delle tecnologie omiche, hanno migliorato significativamente la nostra comprensione delle basi molecolari della leucemia [4, 5]. Tra questi, la metabolomica, focalizzata sulla profilazione di piccole molecole (<1500 Da), è emersa come una tecnologia particolarmente preziosa.

approccio per lo studio della leucemia [6-8]. A differenza della genomica o della trascrittomica, che riflettono principalmente informazioni genetiche statiche, la metabolomica cattura i cambiamenti dinamici e in tempo reale nel metabolismo cellulare, fornendo così una rappresentazione più accurata del fenotipo cellulare e della risposta biologica immediata agli stimoli interni ed esterni [9, 10].

Metabolomica tecniche, compreso nucleare spettroscopia a risonanza magnetica (NMR) e spettrometria di massa (MS), consentono l'analisi completa di reti metaboliche complesse, identificando alterazioni che possono essere direttamente collegate alla progressione della malattia, alle risposte terapeutiche e alle influenze ambientali [11, 12]. La patogenesi della leucemia è

* Per la corrispondenza indirizzata a questo autore, rivolgersi all'Università di Hacettepe, Facoltà di Medicina, Dipartimento di Ematologia, Ankara, Turchia, 06230 Sıhhiye, Ankara / Turchia; E-mail: dr.batuhan@gmail.com

frequentemente associato a percorsi metabolici riprogrammati, in cui le cellule staminali leucemiche (LSC) utilizzano preferibilmente la fosforilazione ossidativa, in contrasto con la dipendenza dalla glicolisi anaerobica osservata nelle normali cellule staminali ematopoietiche (HSC) [8, 13, 14]. Questa riprogrammazione metabolica presenta un'opportunità interessante per interventi terapeutici mirati volti a interrompere i vantaggi metabolici che sostengono la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule leucemiche [15].

Il SARS-CoV-2, un coronavirus zoonotico in grado di trasmissione interspecie, è emerso nel dicembre 2019 come un nuovo patogeno con significative implicazioni per la salute globale. Condividendo il 96% di similarità nucleotidica con il SARS-CoV, presumibilmente originario dei pipistrelli, è stato identificato per la prima volta attraverso il sequenziamento metagenomico di campioni clinici di pazienti con polmonite atipica inspiegabile [16-19]. Varianti come Delta, Omicron e Deltacron evidenziano l'adattabilità del SARS-CoV-2 attraverso differenze nella trasmissibilità, evasione immunitaria e patogenicità [20, 21]. Il significato patogeno del SARS-CoV-2 deriva dalla sua sofisticata interazione molecolare con il recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2), mediata dal suo complesso glicoproteico spike. Dopo il legame con ACE2, SARS-CoV-2 avvia una cascata di eventi immunologici, che culminano sia in una risposta infiammatoria che in una sindrome da rilascio di citochine disregolata, comunemente nota come tempesta di citochine, durante l'infezione da COVID-19 [22, 23]. Il suo dominio di legame al recettore (RBD-SD1) mostra un'affinità di legame particolarmente forte per le cellule del midollo osseo [24-26]. In particolare, la presenza di componenti completi del sistema renina-angiotensina (RAS) all'interno del microambiente del midollo osseo, insieme al loro ruolo regolatore nell'ematopoiesi e nel comportamento cellulare, in particolare nella proliferazione e migrazione delle cellule CD34+, suggerisce una complessa interazione tra l'infezione da SARS-CoV-2 e l'omeostasi ematologica attraverso percorsi mediati da RAS [27-30]. Il virus mostra potenziali meccanismi oncogeni attraverso la perturbazione delle proteine soppressori del tumore (pRb e p53) e l'induzione dello stress ossidativo tramite la deplezione dell'ACE2 [31-33].

Il vaccino Pfizer-BioNTech COVID-19 ha dimostrato efficacia nel conferire protezione immunologica contro SARS-CoV-2, inclusa la variante Omicron, attraverso l'induzione di robuste risposte immunitarie umorali e cellulari, mitigando così il rischio di esiti gravi della malattia [20]. BNT162b2 utilizza nanoparticelle lipidiche (LNP) per fornire mRNA modificato che codifica una proteina spike mutante (PS2) nelle cellule ospiti, dove viene tradotto in proteina virale e presentato sulla superficie cellulare [34, 35]. Ciò attiva una risposta immunitaria mediata dalle cellule T [36]. Mentre i vaccini a mRNA sono generalmente sicuri con bassi tassi di eventi avversi gravi, sono stati segnalati rari effetti collaterali gravi, tra cui infarto del miocardio, paralisi di Bell, trombosi, sindrome di Guillain-Barré, miocardite, embolia polmonare e complicazioni neurologiche [37-39]. Problemi ematologici come trombocitopenia, linfadenopatia e disturbi emorragici, così come segnalazioni di linfoma e leucemia mieloide a seguito della vaccinazione, sono preoccupazioni notevoli.

[40-43]. Sebbene efficaci nel generare immunità contro SARS-CoV-2, i meccanismi esatti alla base di questi eventi avversi rimangono poco chiari, con le nanoparticelle lipidiche che potenzialmente causano un'ampia distribuzione tissutale e infiammazione [35, 44].

In questo studio, abbiamo utilizzato un approccio metabolomico non mirato basato su LC-QTOF-MS per analizzare campioni di aspirato midollare provenienti da tre gruppi: pazienti leucemici con anamnesi di vaccinazione con BNT162b2, pazienti leucemici senza tale anamnesi e un gruppo di controllo sano non vaccinato. L'obiettivo era esplorare le variazioni metaboliche tra pazienti leucemici vaccinati e non vaccinati e confrontare questi profili con controlli sani. Studiando le differenze metabolomiche, miriamo ad acquisire informazioni sui potenziali cambiamenti metabolici associati al vaccino nella leucemia. Pur riconoscendo i benefici salvavita dei vaccini mRNA contro il COVID-19, il nostro studio si concentra sulla comprensione dei loro effetti per migliorare la sicurezza del vaccino e l'assistenza ai pazienti.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Raccolta dei campioni

Campioni di aspirato midollare sono stati ottenuti a seguito dell'esecuzione in sicurezza di procedure clinicamente indicate. L'indicazione primaria per queste procedure era l'esecuzione di analisi citofluorimetriche per identificare antigeni di superficie cellulare. I pazienti inclusi nello studio sono stati suddivisi in tre gruppi: il primo gruppo era costituito da pazienti leucemici con anamnesi di vaccinazione mRNA contro il COVID-19 (ASL), il secondo gruppo comprendeva pazienti leucemici senza anamnesi di vaccinazione o infezione da COVID-19 (LO), e il terzo gruppo fungeva da gruppo di controllo, comprendente individui senza anamnesi di vaccinazione mRNA contro il COVID-19, infezione da COVID-19 o qualsiasi neoplasia maligna (C). Sette pazienti erano nel gruppo ASL, due pazienti nel gruppo LO e sette pazienti nel gruppo C. Le caratteristiche demografiche e generali dei pazienti sono presentate nella Tabella 1.1.

2.2. Metabolomica non mirata

I campioni freschi di midollo osseo sono stati centrifugati a 3.000 giri al minuto per 20 minuti, dopodiché il surnatante (fase liquida) è stato accuratamente raccolto. Per l'estrazione del metabolita, 600 µL di metanolo (MeOH) sono stati aggiunti a 200 µL del campione raccolto, provocando la precipitazione delle proteine. Successivamente, 200 µL del surnatante sono stati trasferiti e il solvente è stato evaporato utilizzando una centrifuga sotto vuoto. Dopo l'evaporazione, i campioni essiccati sono stati ricostituiti in un ACN: H₂O (1:1, v/v) e trasferita in fiale di vetro per l'analisi.

Parallelamente, sono stati preparati un campione di estrazione (contenente solo solventi) e un pool di campioni di controllo di qualità (QC) (preparato combinando aliquote da tutti i campioni), elaborati insieme ai campioni sperimentali. Tutti i prodotti chimici utilizzati erano di grado LC/MS o di purezza superiore, garantendo l'affidabilità analitica. Le analisi LC/MS sono state

Tabella 1. Caratteristiche demografiche e generali dei pazienti.

| Gruppi | Diagnosi | Età | Sesso | Comorbidità | mRNA dose di vaccino numero | Tempo trascorso dall'ultimo vaccino mRNA a l'inizio di leucemia | COVID-19 |
|-------------------------|----------------------------------|-----|---------|-----------------|-----------------------------------|--|-------------|
| Gruppo di controllo (C) | - | 65 | Maschio | - | - | - | - |
| | - | 42 | Femmina | - | - | - | - |
| | - | 64 | Maschio | diabete mellito | - | - | - |
| | - | 38 | Maschio | - | - | - | - |
| | - | 69 | Femmina | Ipertensione | - | - | - |
| | - | 21 | Maschio | - | - | - | - |
| | - | 67 | Femmina | - | - | - | - |
| | TUTTO | 22 | Femmina | - | 2 | 52 giorni | - |
| | Leucemia mieloide acuta | 74 | Maschio | - | 3 | 31 giorni | - |
| | Leucemia mieloide acuta | 50 | Maschio | - | 2 | 63 giorni | + 6 mesi fa |
| | Leucemia linfatica cronica (LLC) | 59 | Maschio | - | 2 | 25 giorni | - |
| | Leucemia mieloide acuta | 62 | Maschio | - | 3 | 47 giorni | - |
| | TUTTO | 58 | Femmina | - | 3 | 21 giorni | + 4 mesi fa |
| | Leucemia mieloide acuta | 63 | Maschio | Ipertensione | 2 | 15 giorni | - |
| | Leucemia mieloide acuta | 52 | Maschio | - | - | - | - |
| | Leucemia mieloide acuta | 47 | Femmina | - | - | - | - |

Abbreviazioni:LMA: leucemia mieloide acuta, LLA: leucemia linfoblastica acuta, LLC: leucemia linfatica cronica.

Le analisi sono state eseguite utilizzando LC-QTOF-MS (Agilent Technologies 6530, Santa Clara, Stati Uniti). I campioni sono stati iniettati in duplicato e in ordine casuale, con un campione di controllo qualità ogni sei iniezioni. Le analisi sono state eseguite utilizzando una colonna BEH C18 (2,1×50 mm, 1,7 µm; Waters Acquity, Milford, MA). Le fasi mobili erano acqua (fase A) e acetonitrile (fase B), costituita da acido formico allo 0,1%. Il programma a gradiente inizia con H al 90%.₂O, diminuisce al 65% entro il 3rd minuto, diminuisce al 10% di acqua entro il 15^o minuto e include un post-run di 10 minuti. La portata era di 0,4 mL/min. Il volume di iniezione era di 10 µL. Per il dispositivo MS, l'intervallo di scansione era impostato su 100-1700 m/z, la temperatura della colonna era di 350 °C, la temperatura del gas di essiccazione era di 3500 °C e la tensione capillare era di 4000 V. Per elaborare i dati metabolomici dall'analisi LC-QTOF-MS, abbiamo utilizzato il pacchetto XCMS in R, che prevedeva l'importazione di dati grezzi, il rilevamento dei picchi, l'allineamento dei tempi di ritenzione, il raggruppamento di picchi simili e il riempimento

dati mancanti e normalizzazione delle intensità dei picchi. Questo flusso di lavoro ha consentito l'identificazione accurata e il confronto dei picchi dei metaboliti tra diversi gruppi di campioni.

2.3. Analisi statistica

In questo studio di metabolomica non mirata che utilizza LC-QTOF-MS, i dati grezzi di spettrometria di massa sono stati sottoposti a fasi di pre-elaborazione, tra cui rilevamento dei picchi, allineamento e deconvoluzione, per creare un elenco completo dei picchi dei metaboliti. La normalizzazione dei dati è stata eseguita utilizzando le aree totali dei picchi per standardizzare le aree dei picchi dei metaboliti, tenere conto delle variazioni sistematiche e consentire confronti significativi tra i campioni. Dopo la normalizzazione, i dati sono stati analizzati per identificare i metaboliti che mostravano variazioni significative tra i gruppi sperimentali [45-47].

È stata condotta un'analisi del fold change (FC) per quantificare l'entità delle differenze nei livelli di metaboliti tra i gruppi, dove un FC pari o superiore a 1,5 indicava un'alterazione sostanziale della regolazione metabolica. Per valutare la significatività statistica di queste variazioni, sono stati impiegati test t, utilizzando i valori p per indicare la probabilità che le differenze osservate fossero dovute al caso, con una soglia di significatività fissata a $p < 0,05$. I metaboliti significativi sono stati ulteriormente studiati per comprenderne il ruolo biologico e le potenziali implicazioni nella condizione studiata.

I picchi dei metaboliti estratti che mostravano differenze tra i gruppi sono stati selezionati, raggruppati, normalizzati e visualizzati utilizzando diagrammi a vulcano. I diagrammi a vulcano sono stati utilizzati per visualizzare i dati integrando i criteri di fold change e significatività statistica, che hanno aiutato a distinguere tra differenze biologiche effettive e fluttuazioni casuali. È stata quindi eseguita un'analisi discriminante con il metodo dei minimi quadrati parziali (PLS-DA) (incluse triple repliche dell'analisi) per illustrare la varianza complessiva e la separazione di gruppo in base ai profili metabolomici. I picchi statisticamente affidabili e significativamente alterati, con valori p del t-test $< 0,05$ e $FC > 1,5$, sono stati presumibilmente identificati utilizzando MetaboAnalyst 5.0 (<https://www.metaboanalyst.ca>). Questi metaboliti significativi sono stati ulteriormente elaborati per l'analisi dei pathway metabolici utilizzando IMPaLA (<http://impala.molgen.mpg.de>) per identificare pathway metabolici alterati.

3. RISULTATI

In questo studio metabolomico, è stata condotta un'indagine completa utilizzando LC-QTOF-MS per analizzare campioni di midollo osseo provenienti da tre gruppi (C, ASL e LO). Il profilo metabolomico è stato impiegato per chiarire le complesse alterazioni biochimiche che si verificano in questi campioni. Cromatogrammi del picco di base (Fig.1)

sono stati generati per catturare i profili metabolici dettagliati dei campioni biologici.

In particolare, i metaboliti polari hanno mostrato tempi di ritenzione più brevi e sono stati eluiti prima nella corsa cromatografica, mentre i metaboliti apolari hanno mostrato un'eluizione ritardata, comparendo più tardi nel cromatogramma. Questa netta differenziazione nel comportamento di eluizione tra composti polari e apolari evidenzia l'efficacia del metodo cromatografico nel separare i metaboliti in base alle loro caratteristiche di polarità. Questi cromatogrammi dimostrano che le nostre condizioni cromatografiche erano sufficientemente robuste da rilevare efficacemente i metaboliti estratti. L'identificazione coerente di cromatogrammi simili tra le repliche è fondamentale nelle analisi metabolomiche per garantire l'affidabilità e la riproducibilità dei dati ottenuti.

L'elaborazione dei dati è stata condotta utilizzando XCMS, come descritto nella sezione sperimentale. XCMS è uno strumento software ampiamente utilizzato, specificamente progettato per analizzare dati metabolomici non targettizzati acquisiti tramite cromatografia accoppiata a spettrometria di massa. Questo potente software facilita il rilevamento dei picchi, l'allineamento dei tempi di ritenzione e l'analisi statistica dei set di dati metabolomici, consentendo l'estrazione di informazioni biologiche significative da dati grezzi complessi. Nelle nostre condizioni sperimentali, XCMS ha rilevato un totale di 2.296 picchi. Ci siamo concentrati sui picchi che presentavano livelli di abbondanza differenziali tra i gruppi C e LO, utilizzando criteri di significatività statistica ($p < 0,05$) e un FC maggiore di 1,5 per valutare i risultati. Fig. (2) presenta grafici a vulcano utilizzati per illustrare le differenze nei picchi rilevati tra il gruppo C e LO nel nostro studio metabolomico non mirato.

In questi grafici, i punti grigi rappresentano i picchi dei metaboliti in cui non sono state riscontrate differenze significative tra

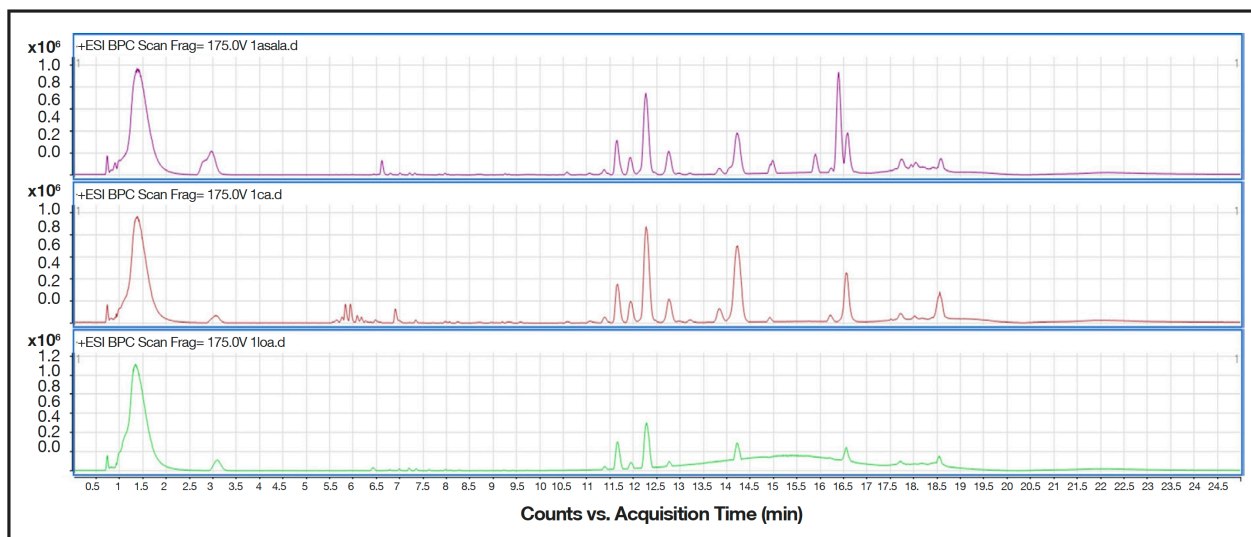


Figura (1). Cromatogrammi di picco di base rappresentativi selezionati casualmente in condizioni sperimentali per campioni di controllo (C), pazienti affetti da leucemia con vaccinazione BNT162b2 (ASL) e pazienti affetti da leucemia senza vaccinazione (LO). *Una versione a colori/risoluzione più alta di questa figura è disponibile nella copia elettronica dell'articolo.*

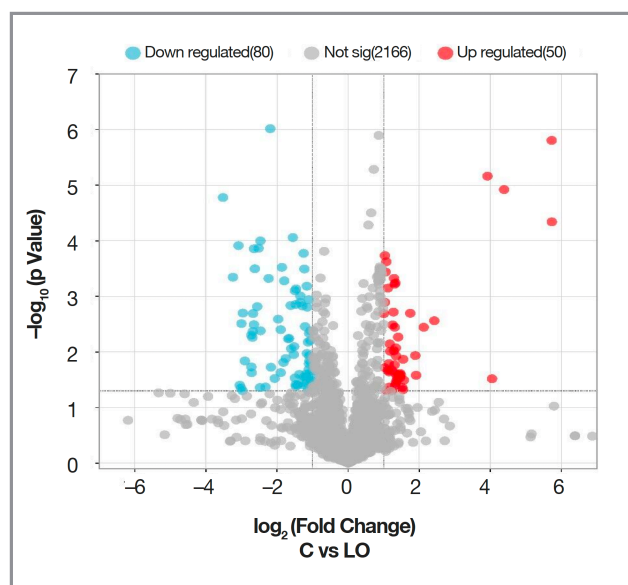


Figura (2). Grafico a vulcano che mostra l'abbondanza differenziale di metaboliti tra i gruppi di controllo (C) e di insorgenza di leucemia (LO). L'asse x rappresenta la variazione di \log_2 e l'asse y rappresenta il valore p di $-\log_{10}$. I punti rossi e blu indicano rispettivamente un aumento e una diminuzione significativi dei metaboliti nel gruppo LO, mentre i punti grigi rappresentano variazioni non significative. *Una versione a colori/risoluzione più alta di questa figura è disponibile nella copia elettronica dell'articolo.*

i gruppi, che appaiono nella regione centrale del grafico. La predominanza di punti grigi nel grafico a vulcano suggerisce che una parte sostanziale dei picchi dei metaboliti mantiene livelli di abbondanza costanti nei gruppi campione confrontati, nonostante le condizioni sperimentali applicate. Questa osservazione evidenzia la stabilità o l'assenza di variazioni nei livelli di questi metaboliti in risposta ai fattori studiati. In particolare, il numero maggiore di punti grigi rispetto ai punti rossi e blu indica che, sebbene vi siano differenze rilevabili, molti metaboliti rimangono simili tra i gruppi. Questo risultato conferma la robustezza del nostro approccio metodologico nel catturare sia le variazioni che le consistenze nei profili dei metaboliti in diverse condizioni sperimentali. Tabella 2 presenta l'elenco dei metaboliti presumibilmente identificati (Livello 3) utilizzando MetaboAnalyst 5.0. Questa presunta identificazione è fondamentale per interpretare la rilevanza biologica delle differenze metaboliche osservate e fornisce una base per ulteriori studi mirati. I metaboliti elencati nella Tabella 2 sono stati selezionati in base alle loro significative differenze di abbondanza tra i gruppi, come determinato dai criteri statistici e di fold change applicati durante l'analisi. Inoltre, è stata considerata una prospettiva clinica, supportata da un'ampia ricerca bibliografica, che ha fornito ulteriore contesto per comprendere come questi metaboliti possano essere collegati ai processi biologici in esame. Questo approccio combinato di rigore statistico e rilevanza clinica migliora la robustezza e l'applicabilità dei nostri risultati, aprendo la strada a future ricerche mirate.

PLS-DA (Fig. 3) è stato utilizzato per analizzare i dati metabolomici, evidenziando i metaboliti chiave che differenziano i gruppi. Un'osservazione chiave del grafico PLS-DA è la netta separazione e il clustering distinto dei gruppi C e LO, che indicano profili metabolici notevolmente diversi. Inoltre, la vicinanza del gruppo ASL al gruppo LO suggerisce che i cambiamenti metabolici indotti dal vaccino a mRNA siano relativamente minori rispetto alle alterazioni più significative associate all'insorgenza della leucemia.

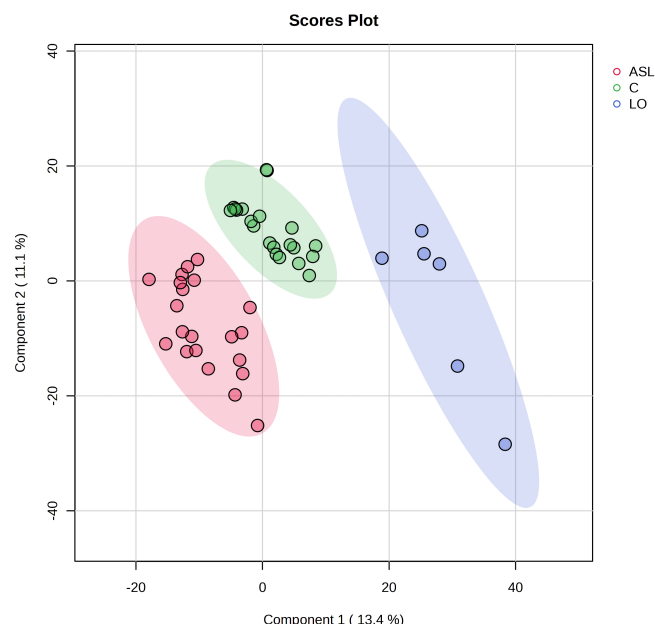


Figura (3). Grafico del punteggio PLS-DA (include tre repliche) che mostra la separazione dei profili metabolici tra tre gruppi: controllo (C), pazienti con leucemia con vaccinazione BNT162b2 (ASL) e pazienti con leucemia senza vaccinazione (LO). *Una versione a colori/risoluzione più alta di questa figura è disponibile nella copia elettronica dell'articolo.*

4. DISCUSSIONE

L'obiettivo principale del nostro studio era comprendere le potenziali differenze metaboliche tra pazienti leucemici con e senza una storia di vaccinazione BNT162b2 e confrontare questi profili con quelli di un gruppo di controllo sano e non vaccinato. Esaminando i profili metabolomici di questi tre gruppi, abbiamo cercato di scoprire eventuali cambiamenti metabolici che potrebbero essere associati al vaccino mRNA COVID-19 nel contesto della leucemia. L'utilizzo del midollo osseo come campione biologico unico ci ha permesso di concentrarci sull'ambiente cellulare più direttamente interessato dalla leucemia, il che potrebbe fornire informazioni più precise su come il vaccino potrebbe influenzare il panorama metabolico della leucemia [48, 49]. Questo approccio, nonostante le sue sfide, mirava a offrire una comprensione più approfondita delle complesse alterazioni metaboliche nei pazienti leucemici con storie vaccinali diverse.

Studi precedenti sulla leucemia hanno riportato cambiamenti nel metabolismo energetico, nella sintesi dei nucleotidi,

Tabella 2. Identificazione presunta di metaboliti differenzialmente abbondanti nei pazienti con leucemia con e senza BNT162b2 vaccinazione e controlli sanitari.

| NO. | Metabolita | LO/C | LO/C* | ASL/C | ASL/C* | ASL/LO | ASL/LO* |
|-----|--|------|-------|-------|--------|--------|---------|
| | | FC | | FC | | FC | |
| 1 | D-Glucosio/D-Fruttosio | 1.93 | + | 1.09 | + | 1.77 | - |
| 2 | 5-metossindolacetato | 1.55 | + | 1.03 | + | 1,50 | - |
| 3 | D-eritrosio 4-fosfato | 1.54 | + | 1.17 | + | 1.31 | - |
| 4 | 1-(sn-glicerio-3-fosfo)-1D-mio-inositolo | 1.71 | + | 1.15 | + | 1.48 | - |
| 5 | Uroporfirinogeno I/III | 1.56 | + | 1.15 | + | 1.35 | - |
| 6 | Dimetilarsinato | 1.71 | + | 1.09 | - | 1,87 | - |
| 7 | N-acetilattosamina | 1.76 | + | 2.07 | - | 3.66 | - |
| 8 | Condroitina | 2.09 | + | 2.21 | - | 4.64 | - |
| 9 | Acido tetraidrofolico | 1,65 | + | 1.17 | - | 1.94 | - |
| 10 | Delta 8,14 -Sterol | 1.51 | + | 1.20 | - | 1.81 | - |
| 11 | Acido N-formil-L-glutammico/N-Acido acetil-L-aspartico | 2.68 | - | 1.06 | + | 2,85 | + |
| 12 | Fosforilcolina | 1,80 | - | 1.02 | + | 1.84 | + |

FC: Cambio di piega
* +: Indica un aumento del livello del metabolita.
-: Indica una diminuzione del livello del metabolita.

e la risposta immunitaria, che sono coerenti con i nostri risultati. Ad esempio, uno studio di *Chene altri*(2015) hanno evidenziato il ruolo della glicolisi alterata nelle cellule della leucemia mieloide acuta (LMA) [50]. Allo stesso modo, il nostro studio ha osservato livelli aumentati di monosaccaridi, suggerendo un'attività glicolitica alterata nei pazienti con leucemia. La regolazione dei processi glicolitici nei blasti LMA e nelle cellule staminali leucemiche (LSC) coinvolge molteplici meccanismi molecolari [51]. Questa riprogrammazione metabolica è orchestrata attraverso l'espressione e l'attività migliorate di enzimi glicolitici chiave, regolati da vari fattori tra cui il fattore 1 alfa inducibile dall'ipossia (HIF1α) [52], la via di segnalazione PI3K/mTOR [53] e modifiche epigenetiche mediate dalla traslocazione dieci-undici 3 (TET3) attraverso la 5-idrossimetilcitosina (5hmC) [54].

Vieira e altri. (2024) hanno dimostrato che le linee cellulari AML resistenti ad Ara-C mostrano adattamenti metabolici distinti, con le cellule Ara-R KG-1 che mostrano un fenotipo glicolitico migliorato e una maggiore sensibilità agli inibitori metabolici, mentre le cellule Ara-R MOLM13 hanno mantenuto il metabolismo del glucosio basale, suggerendo che il targeting di queste alterazioni metaboliche potrebbe fornire

nuove strategie terapeutiche per i pazienti affetti da LMA chemioresistente [55].

Studi hanno dimostrato l'importanza del metabolismo del triptofano nella regolazione delle risposte immunitarie nella LAM [56, 57]. In linea con questi risultati, la nostra osservazione di livelli aumentati di 5-metossindolacetato, un derivato del triptofano, potrebbe indicare un'alterazione della regolazione immunitaria nei pazienti con leucemia. Questa osservazione è in linea con l'attuale comprensione del ruolo cruciale del metabolismo del triptofano nella progressione del cancro. Come *Yane altri*(2024) descrivono che il metabolismo del triptofano avviene attraverso tre vie principali: la via della chinurenina, la via della serotonina e la via dell'indolo. La disregolazione di queste vie può creare un microambiente tumorale immunosoppressivo. La via della chinurenina è particolarmente significativa, poiché produce metaboliti immunosoppressivi che interagiscono con il recettore degli idrocarburi arilici (AHR) per promuovere la crescita tumorale e l'evasione immunitaria [58]. I nostri risultati di metaboliti del triptofano alterati nei pazienti leucemici potrebbero riflettere questi meccanismi più ampi di modulazione immunitaria attraverso il metabolismo del triptofano.

Abbiamo osservato livelli aumentati di metaboliti coinvolti nella via del pentoso fosfato, come il deritrosio 4-fosfato e il sedoeptulosio 1-fosfato, che sono in linea con precedenti risultati nella leucemia [59]. La via del pentoso fosfato è fondamentale per la sintesi dei nucleotidi e l'omeostasi redox, e la sua disregolazione può contribuire alla sopravvivenza e alla proliferazione delle cellule leucemiche [60, 61]. Abbiamo osservato livelli aumentati di metaboliti coinvolti nella via del pentoso fosfato, come il D-eritrosio 4-fosfato e il sedoeptulosio 1-fosfato, che sono in linea con precedenti risultati nella leucemia [59]. La via del pentoso fosfato è fondamentale per la sintesi dei nucleotidi e l'omeostasi redox, e la sua disregolazione può contribuire alla sopravvivenza e alla proliferazione delle cellule leucemiche [60].

L'1-(sn-glicero-3-fosfo)-1D-mio-inositolo svolge un ruolo cruciale nella composizione della membrana cellulare e funge da precursore per la sintesi del fosfatidilinositolo 3,4,5-trisfosfato (PIP3) [62]. PIP3 funziona come una molecola di segnalazione chiave che attiva il percorso PI3K/Akt/mTOR, che è stato implicato nella patogenesi della leucemia e nella resistenza ai farmaci [63]. Il nostro studio ha rivelato livelli alterati di 1-(sn-glicero-3-fosfo)-1D-mio-inositolo sia nei campioni LO che ASL, con concentrazioni relativamente più elevate osservate nei campioni LO. Una recente ricerca di Gue *altri* (2024) ha ulteriormente chiarito il significato del pathway PI3K nella LAM, evidenziando in particolare il ruolo di PI3Ky nelle cellule staminali leucemiche (LSC) (64). I loro risultati hanno dimostrato che PI3Ky è altamente arricchito nelle LSC ed essenziale per il loro auto-rinnovamento, pur rimanendo superfluo per le cellule staminali emopoietiche normali. Il meccanismo coinvolge la segnalazione PI3Ky-AKT che promuove l'accumulo nucleare del fattore eritroide 2 correlato al fattore nucleare 2 (NRF2), che successivamente induce la 6-fosfogluconato deidrogenasi (PGD) e il pathway del pentoso fosfato, mantenendo la staminalità delle LSC. La dipendenza selettiva delle LSC da PI3Ky suggerisce che il targeting di questo pathway potrebbe fornire una promettente strategia terapeutica per il trattamento della LAM senza compromettere la normale emopoiesi [64-66].

L'uroporfirinogeno I o l'uroporfirinogeno III, alterati nei campioni di LO e ASL, sono metaboliti coinvolti nella biosintesi della porfirina [67]. Uno studio ha scoperto che le cellule leucemiche del topo derivate da cellule progenitrici emopoietiche con sovraespressione del cDNA di MYCN (note come MYCN-HPC) richiedevano la biosintesi dell'eme/porfirina per il completo auto-rinnovamento e la trasformazione in cellule tumorali [68]. La disregolazione della biosintesi dell'eme può avere un impatto sulla differenziazione cellulare, sulla proliferazione e sulla resistenza ai farmaci [69, 70]. L'uroporfirinogeno I o l'uroporfirinogeno III, alterati nei campioni di LO e ASL, sono metaboliti coinvolti nella biosintesi della porfirina [67]. Uno studio ha scoperto che le cellule leucemiche del topo derivate da cellule progenitrici emopoietiche con sovraespressione del cDNA di MYCN (note come MYCN-HPC) richiedevano la biosintesi dell'eme/porfirina per il completo auto-rinnovamento e la trasformazione in cellule tumorali [68]. La disregolazione della biosintesi dell'eme può avere un impatto cellulare

differenziazione, proliferazione e resistenza ai farmaci [69, 70].

Yamauchi *altri*. hanno identificato alterazioni nei percorsi responsabili della sintesi e del recupero delle purine nella LMA, evidenziando il loro potenziale ruolo nel soddisfare la crescente domanda di nucleotidi delle cellule in rapida divisione [71]. La diminuzione osservata nei livelli di acido tetraidrofolico, un metabolita chiave coinvolto nella sintesi di purine e pirimidine, nei campioni di ASL può suggerire un'interazione complessa tra la risposta immunitaria indotta dal vaccino a mRNA e questi percorsi metabolici. Questi risultati potrebbero avere implicazioni per comprendere come la risposta immunitaria ai vaccini influenzi il metabolismo, in particolare negli individui con leucemia, e aprire nuove strade per la ricerca sull'immunometabolismo della risposta vaccinale.

Diversi metaboliti sono risultati significativamente ridotti nel gruppo LO rispetto al gruppo di controllo. La riduzione della fosforilcolina potrebbe indicare un metabolismo lipidico alterato, probabilmente dovuto alla leucemia. Questo risultato è coerente con studi precedenti che dimostrano alterazioni del metabolismo dei lipidi e degli aminoacidi nei pazienti con leucemia [72-74]. Uno studio ha riportato che i livelli di LP-CAT1 erano significativamente ridotti nei campioni di midollo osseo di pazienti con LMA rispetto ai controlli sani.

Le proprietà uniche dei vaccini a mRNA possono contribuire alle differenze metabolomiche osservate tra i casi di leucemia in individui vaccinati e non vaccinati. Vari fattori, tra cui genetica, stile di vita, ambiente e risposta immunitaria, probabilmente influenzano queste differenze. Poiché i vaccini a mRNA prendono di mira la proteina spike virale e stimolano una risposta immunitaria, vale la pena esplorare se le alterazioni metaboliche siano direttamente correlate al vaccino o riflettano effetti indiretti sulla risposta immunitaria all'interno del microambiente del midollo osseo. È importante sottolineare che i vaccini a mRNA sono stati cruciali nella protezione contro il COVID-19 e questo studio mira ad approfondire la nostra comprensione dei loro effetti in situazioni specifiche. La nostra ricerca non stabilisce un legame diretto tra i vaccini a mRNA e lo sviluppo della leucemia; solleva invece nuove domande su come il vaccino possa influenzare l'ambiente metabolico del midollo osseo, il che potrebbe avere implicazioni per l'insorgenza o la progressione della leucemia.

La nostra analisi del pathway, che presenta i cambiamenti nella glicolisi, nella via dei pentoso fosfati, nel metabolismo del triptofano, nel metabolismo dei lipidi e nella biosintesi dell'eme, sottolinea la complessa riprogrammazione metabolica nella leucemia. Il nostro studio ha osservato un aumento dell'attività glicolitica e una sovraregolazione della via dei pentoso fosfati, suggerendo che le cellule leucemiche adattano il loro metabolismo per supportare una rapida proliferazione e gestire lo stress ossidativo. Le alterazioni nel metabolismo del triptofano e dei lipidi evidenziano ulteriormente l'intricata relazione tra metabolismo e regolazione immunitaria nella leucemia, potenzialmente influenzata dalla vaccinazione a mRNA. I risultati riguardanti la via PI3K/Akt/mTOR e le vie di biosintesi dell'eme forniscono anche una comprensione più approfondita dei meccanismi che possono

stimolano la patogenesi della leucemia e la resistenza ai farmaci, suggerendo possibili bersagli per futuri interventi terapeutici.

Nel complesso, questi risultati sottolineano l'importanza di studiare l'impatto metabolico dei vaccini a mRNA nel contesto della leucemia e suggeriscono che sono necessari ulteriori studi mirati per chiarire i meccanismi precisi alla base di questi cambiamenti metabolici.

LIMITAZIONI DELLO STUDIO

Nell'interpretazione dei nostri risultati è necessario considerare diverse importanti limitazioni. In primo luogo, la dimensione relativamente ridotta del campione ($n=16$), in particolare il numero limitato di soggetti nel gruppo LO ($n=2$), ha limitato la nostra capacità di trarre conclusioni statisticamente solide. In secondo luogo, l'approccio metabolomico non mirato basato su LC-QTOF-MS ha fornito solo identificazioni di metaboliti presunti (Livello 3), rendendo necessaria la convalida tramite studi mirati. In terzo luogo, il disegno trasversale dello studio impedisce di stabilire relazioni causali tra vaccinazione e alterazioni metaboliche. Inoltre, le variazioni temporali tra vaccinazione e insorgenza della leucemia (15-63 giorni) potrebbero aver influenzato i profili metabolici. In quarto luogo, potenziali variabili confondenti, tra cui età, sesso, comorbidità e sottotipi di leucemia, non potevano essere completamente controllate. In quinto luogo, l'utilizzo di un'unica piattaforma analitica potrebbe aver limitato il rilevamento di determinate classi di metaboliti, mentre l'attenzione ai metaboliti in fase liquida ha potenzialmente escluso informazioni rilevanti sui componenti cellulari.

Queste limitazioni evidenziano la natura preliminare dei nostri risultati e sottolineano la necessità di studi longitudinali su larga scala con approcci metabolomici mirati per convalidare le nostre osservazioni e comprendere meglio il significato biologico delle differenze metaboliche osservate nei pazienti con leucemia con e senza precedente vaccinazione mRNA COVID-19.

CONCLUSIONE

Questo studio presenta un'analisi metabolomica LC-QTOF-MS non mirata, che rivela differenze nel profilo metabolico tra tre gruppi: pazienti leucemici con precedente vaccinazione COVID-19 con mRNA BNT162b2, pazienti leucemici non vaccinati e controlli sani non vaccinati. I modelli di clustering PLS-DA osservati suggeriscono potenziali variazioni metaboliche tra questi gruppi. Tuttavia, diverse importanti limitazioni devono essere riconosciute nell'interpretazione dei nostri risultati. La ridotta dimensione del campione ha limitato la robustezza statistica delle nostre conclusioni. Inoltre, l'approccio metabolomico non mirato basato su LC-QTOF-MS ha fornito solo identificazioni di metaboliti presunti, che richiedono ulteriore convalida attraverso studi mirati. Il disegno dello studio trasversale non stabilisce relazioni causali tra vaccinazione e cambiamenti metabolici. Nonostante queste limitazioni, i nostri risultati forniscono dati preliminari che potrebbero ispirare la ricerca futura su come i vaccini a mRNA interagiscono con il metabolismo del midollo osseo nel

contesto della leucemia. Sono necessari ulteriori studi con coorti più ampie, identificazioni di metaboliti convalidate e analisi dettagliate dei pathway per determinare la rilevanza biologica di queste osservazioni. È importante sottolineare che questo studio non suggerisce alcun nesso causale tra la vaccinazione a mRNA e lo sviluppo o la progressione della leucemia. I vaccini a mRNA hanno svolto un ruolo cruciale nella salute pubblica globale riducendo significativamente gli esiti gravi di COVID-19 e salvando milioni di vite. Comprendere i loro effetti in diversi contesti clinici è essenziale per ottimizzare l'assistenza ai pazienti. I nostri risultati gettano le basi per future indagini su queste complesse interazioni, contribuendo in definitiva a una comprensione più completa della sicurezza dei vaccini e delle dinamiche metaboliche della leucemia.

CONTRIBUTI DEGLI AUTORI

Gli autori confermano il loro contributo al documento come segue:

Concezione e progettazione dello studio: MC, UYM,
raccolta dati ICH: OK
analisi e interpretazione dei risultati: bozza del
manoscritto BBF: BE

Tutti gli autori hanno esaminato i risultati e approvato la versione finale del manoscritto.

APPROVAZIONE ETICA E CONSENSO ALLA PARTECIPAZIONE

L'approvazione etica è stata ottenuta dal Comitato etico istituzionale dell'Università di Hacettepe (codice protocollo SBA 24/030 del 9 gennaio 2024).

DIRITTI UMANI E ANIMALI

Tutte le procedure eseguite negli studi che hanno coinvolto partecipanti umani sono state eseguite nel rispetto degli standard etici del comitato istituzionale e/o di ricerca e della Dichiarazione di Helsinki del 1975, come rivista nel 2013.

CONSENSO PER LA PUBBLICAZIONE

Per questo studio retrospettivo è stato rinunciato il consenso informato a causa dell'uso esclusivo di dati dei pazienti resi anonimi, che non hanno comportato alcun potenziale danno o impatto sull'assistenza ai pazienti.

DISPONIBILITÀ DEI DATI E DEL MATERIALE

I set di dati generati e analizzati durante il presente studio sono disponibili presso l'autore corrispondente su richiesta ragionevole. I file di dati grezzi di spettrometria di massa, i dati metabolomici elaborati e i metadati pertinenti sono archiviati in un repository sicuro per garantire l'integrità e l'accessibilità dei dati. I ricercatori interessati ad accedere ai dati per ulteriori analisi o validazioni sono invitati a contattare l'autore corrispondente, fornendo una breve descrizione dell'uso previsto dei dati. La condivisione dei dati è soggetta al rispetto degli standard etici e degli accordi sull'utilizzo dei dati.

STANDARD DI REPORTING

Sono state seguite le linee guida STROBE.

FINANZIAMENTO

Nessuno.

CONFLITTO DI INTERESSI

L'autore/gli autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interessi, finanziario o di altro tipo.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano il Laboratorio di ricerca HUNIKAL/Facoltà di Farmacia dell'Università di Hacettepe per aver fornito l'accesso alla strumentazione LC-QTOF-MS e il supporto tecnico durante l'analisi metabolomica.

RIFERIMENTI

- [1] Yamashita M, Dellorusso PV, Olson OC, Passequé E. Comportamento disregolato delle cellule staminali emopoietiche nella leucemogenesi mieloide. *Nat Rev Cancer* 2020; 20(7): 365-82. <http://dx.doi.org/10.1038/s41568-020-0260-3> PMID: 32415283
- [2] Soltani M, Zhao Y, Xia Z, Ganjalikhani Hakemi M, Bazhin AV. L'importanza delle vie metaboliche cellulari nella patogenesi e nei trattamenti selettivi delle neoplasie ematologiche. *Front Oncol* 2021; 11: 767026. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2021.767026> PMID: 34868994 Xu B, Hu R, Liang Z, *e altri* Regolazione metabolica del microambiente del midollo osseo nella leucemia. *Blood Rev* 2021; 48: 100786. <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2020.100786> PMID: 33353770
- [4] Zhang Z, Huang J, Zhang Z, *e altri* Applicazione dell'omica nella diagnosi, prognosi e trattamento della leucemia mieloide acuta. *Biomark Res* 2024; 12(1): 60. <http://dx.doi.org/10.1186/s40364-024-00600-1> PMID: 38858750
- [5] Nemkov T, D'Alessandro A, Reis JA. Basi metaboliche della patologia e del trattamento della leucemia. *Cancer Rep* 2019; 2(2): e1139. <http://dx.doi.org/10.1002/cnr2.1139> PMID: 32721091 Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomica: oltre i biomarcatori e verso i meccanismi. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016; 17(7): 451-9. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm.2016.25> PMID: 26979502 Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Metabolomica: l'apogeo della trilogia omica. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13(4): 263-9. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3314> PMID: 22436749
- [8] Halicki P, Cieśluk K, Piszcz J. Analisi del profilo metabolico nelle neoplasie ematologiche. *Acta Haematol Pol* 2024; 55(1): 22-33. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm.2016.25> PMID: 26979502 Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Metabolomica: l'apogeo della trilogia omica. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13(4): 263-9. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3314> PMID: 22436749
- [9] Zhang A, Sun H, Xu H, Qiu S, Wang X. Metabolomica cellulare. *OMICS* 2013; 17(10): 495-501. <http://dx.doi.org/10.1089/omi.2012.0090> PMID: 23988149
- [10] Abdi G, Jain M, Bhardwaj R, Thakkar K, Dewangan I, Dhariwal R. Analisi dell'eterogeneità cellulare: metabolomica a singola cellula per smascherare le variazioni nascoste. In: Singh V, A cura di *Advances in Metabolomics*. Singapore: Springer 2024; pp. 49-89. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-97-7459-3_4
- [11] Vo DK, Trinh KTL. Biomarcatori emergenti nella metabolomica: progressi nella diagnosi di precisione della salute e delle malattie. *Int J Mol Sci* 2024; 25(23): 13190. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms252313190> PMID: 39684900
- [12] Letertre MPM, Giraudeau P, de Tullio P. Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare nella metabolomica clinica e nella medicina personalizzata: sfide e prospettive attuali. *Front Mol Biosci* 2021; 8: 698337. <http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2021.698337> PMID: 34616770
- [13] Filippi MD, Ghaffari S. Mitocondri nel mantenimento delle cellule staminali emopoietiche: nuove prospettive e opportunità. *Blood* 2019; 133(18): 1943-52. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2018-10-808873> PMID: 30808633
- [14] Maynard RS, Hellmich C, Bowles KM, Rushworth SA. La leucemia mieloide acuta determina cambiamenti metabolici nella nicchia del midollo osseo. *Front Oncol* 2022; 12: 924567. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2022.924567> PMID: 35847950
- [15] Di Martino L, Tosello V, Peroni E, Piovani E. Approfondimenti sulla riprogrammazione metabolica e il suo potenziale terapeutico nella leucemia acuta. *Int J Mol Sci* 2021; 22(16): 8738. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22168738> PMID: 34445444
- [16] Zhai SL, Sun MF, Zhang JF, Zheng C, Liao M. Spillover infezione da coronavirus animali comuni all'uomo. *Lancet Microbe* 2022; 3(11): e808. [http://dx.doi.org/10.1016/S2666-5247\(22\)00198-7](http://dx.doi.org/10.1016/S2666-5247(22)00198-7) PMID: 35878623
- [17] Cui X, Wang Y, Zhai J, Xue M, Zheng C, Yu L. Traiettorie future del SARS-CoV-2: continuo scambio tra esseri umani e animali. *Virus Res* 2023; 328: 199075. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2023.199075> PMID: 36805410
- [18] Zhai SL, Li CL, Sun MF, Zhang JF, Zheng C, Liao M. Naturali infezioni da SARS-CoV-2 aumentate negli animali: come dovrebbero interagire gli esseri umani con gli animali? *J Med Virol* 2022; 94(8): 3503-5. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.27772> PMID: 35415911
- [19] Zhang X, Yuan H, Yang Z, *e altri* SARS-coV-2: una revisione aggiornata che ne evidenzia l'evoluzione e i trattamenti. *Vaccines* 2022; 10(12): 2145. <http://dx.doi.org/10.3390/vaccines10122145> PMID: 36560555
- [20] Araf Y, Akter F, Tang Y, *e altri* Variante Omicron di SARS-CoV-2: genomica, trasmissibilità e risposte agli attuali vaccini COVID-19. *J Med Virol* 2022; 94(5): 1825-32. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.27588> PMID: 35023191
- [21] Farheen S, Araf Y, Tang YD, Zheng C. L'enigma Deltacron: la sua origine e potenziali rischi per la salute. *J Med Virol* 2022; 94(11): 5096-102. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.27990> PMID: 35815524
- [22] Prapty CNBS, Rahmat R, Araf Y, *e altri* Co-infezione da SARS-CoV-2 e virus dengue: epidemiologia, patogenesi, diagnosi, trattamento e gestione. *Rev Med Virol* 2023; 33(1): e2340. <http://dx.doi.org/10.1002/rmv.2340> PMID: 35238422
- [23] Chakraborty C, Bhattacharya M, Alshammari A, Alharbi M, Albekairi TH, Zheng C. Esplorazione del panorama delle interazioni strutturali e molecolari del complesso nirmatrelvir e Mpro: lo studio potrebbe aiutare a progettare antivirali più potenti contro SARS-CoV-2 e altri virus. *J Infect Public Health* 2023; 16(12): 1961-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2023.09.020> PMID: 37883855
- [24] Mariano G, Farthing RJ, Lale-Farjat SLM, Bergeron JRC. Caratterizzazione strutturale del SARS-CoV-2: dove siamo, e dove dobbiamo essere. *Front Mol Biosci* 2020; 7: 605236. <http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2020.605236> PMID: 33392262
- [25] Salamanna F, Maglio M, Landini MP, Fini M. Corpo Localizzazione di ACE-2: Sulle tracce della serratura del SARS-CoV-2. *Front Med* 2020; 7: 594495. <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2020.594495> PMID: 33344479
- [26] Hasöksüz M, Kiliç S, Saraç F. Coronavirus e SARS-COV-2. *Turk J Med Sci* 2020; 50(SI-1): 549-56. <http://dx.doi.org/10.3906/sag-2004-127> PMID: 32293832
- [27] South AM, Diz DI, Chappell MC. COVID-19, ACE2 e conseguenze cardiovascolari. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2020; 318(5): H1084-90. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00217.2020> PMID: 32228252
- [28] Park MD. Macrofagi: un cavallo di Troia nel COVID-19? *Nat Rev Immunol* 2020; 20(6): 351.

- <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0317-2> PMID: 32303696
- [29] Hassani B, Attar Z, Firouzabadi N. Le vie di segnalazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS) e il cancro: Nemici *contro* alleati. *Cancer Cell Int* 2023; 23(1): 254. <http://dx.doi.org/10.1186/s12935-023-03080-9> PMID: 37891636
- [30] Haznedaroğlu IC, Tuncer S, Gürsoy M. Un sistema reninangiotensina locale nel midollo osseo. Ipotesi mediche 1996; 46(6): 507-10. [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-9877\(96\)90122-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-9877(96)90122-X) PMID: 8803932
- [31] Singh N, subunità Bharara Singh A. S2 di SARS-nCoV-2 interagisce con la proteina soppressore del tumore p53 e BRCA: *Unin silicostudio*. *Transl Oncol* 2020; 13(10): 100814. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100814> PMID: 32619819
- [32] Ma-Lauer Y, Carbajo-Lozoya J, Hein MY, *e altri* p53 giù-regola la replicazione del coronavirus SARS ed è preso di mira dal dominio unico SARS e PL_{professionista} *tramite* E3 ubiquitina ligasi RCHY1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113(35): E5192-201. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1603435113> PMID: 27519799
- [33] Alpalhão M, Ferreira JA, Filipe P. SARS-CoV-2 persistente Infezione e rischio di cancro. *Med Hypotheses* 2020; 143: 109882. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109882> PMID: 32485314
- [34] Wilson B, Geetha KM. Nanoparticelle lipidiche nello sviluppo di vaccini a mRNA per COVID-19. *J Drug Deliv Sci Technol* 2022; 74: 103553. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103553> PMID: 35783677
- [35] Lee Y, Jeong M, Park J, Jung H, Lee H. Immunogenicità di nanoparticelle lipidiche e il loro impatto sull'efficacia dei vaccini a mRNA e delle terapie. *Exp Mol Med* 2023; 55(10): 2085-96. <http://dx.doi.org/10.1038/s12276-023-01086-x> PMID: 37779140
- [36] Li C, Lee A, Grigoryan L, *e altri* Meccanismi dell'immunità innata e adattativa al vaccino Pfizer-BioNTech BNT162b2. *Nat Immunol* 2022; 23(4): 543-55. <http://dx.doi.org/10.1038/s41590-022-01163-9> PMID: 35288714
- [37] Choi JY, Lee Y, Park NG, Kim MS, Rhie SJ. Segnali di sicurezza seri e caratteristiche predittive a seguito di vaccini mRNA COVID-19 utilizzando il sistema di segnalazione degli eventi avversi dei vaccini. *Pharmaceutics* 2024; 17(3): 356. <http://dx.doi.org/10.3390/ph17030356> PMID: 38543142
- [38] Seyed Alinaghi S, Karimi A, Pashaei Z, *e altri* Sicurezza ed eventi avversi correlati ai vaccini mRNA contro il COVID-19: una revisione sistematica. *Arch Acad Emerg Med* 2022; 10(1): e41. PMID: 35765616
- [39] Trougakos IP, Terpos E, Alexopoulos H, *e altri* Effetti avversi dei vaccini a mRNA contro il COVID-19: l'ipotesi spike. *Tendenze Mol Med* 2022; 28(7): 542-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2022.04.007> PMID: 35537987
- [40] Mingot- Castellano ME, Butta N, Canaro M, *e altri* Naccini COVID-19 e malattie ematologiche autoimmuni. *Vaccines* 2022; 10(6): 961. <http://dx.doi.org/10.3390/vaccines10060961> PMID: 35746569
- [41] Landete E, Gómez-Fernández I, González-Gascón-y-Marín I, *e altri* Linfonodi addominali e cervicali ipermetabolici che mimano la recidiva del linfoma di Hodgkin alla PET/TC con FDG dopo vaccino COVID-19 a vettore adenovirus. *Hum Vaccin Immunother* 2024; 17(12): 5129-32. <http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2021.2008215> PMID: 34920695
- [42] Çinar OE, Erdoğan B, Karadeniz M, *e altri* Commenta su Zamfire *altri* Neoplasie ematologiche diagnosticate nel contesto della campagna di vaccinazione mRNA contro il COVID-19: segnalazione di due casi. *Medicina* 2022; 58(11): 1575. <http://dx.doi.org/10.3390/medicina58111575> PMID: 36363532
- [43] Erdogdu B. Eventi avversi emopoietici associati al vaccino COVID-19 mRNA BNT162b2. *UHOD Uluslar Hematol Onkol Derg* 2022; 32(1): 65-7. <http://dx.doi.org/10.4999/uhod.226097>
- [44] Ndeupen S, Qin Z, Jacobsen S, Bouteau A, Estanbouli H, Igyártó BZ. La componente nanoparticellare lipidica della piattaforma mRNA-LNP utilizzata negli studi preclinici sui vaccini è altamente infiammatoria. *iScience* 2021; 24(12): 103479. <http://dx.doi.org/10.1016/j.isci.2021.103479> PMID: 34841223
- [45] Smith CA, Want EJ, O'Maille G, Abagyan R, Siuzdak G. XCMS: Elaborazione dei dati di spettrometria di massa per la profilazione dei metaboliti mediante allineamento, corrispondenza e identificazione dei picchi non lineari. *Anal Chem* 2006; 78(3): 779-87. <http://dx.doi.org/10.1021/ac051437y> PMID: 16448051
- [46] Pang Z, Zhou G, Ewald J, *e altri* Utilizzo di MetaboAnalyst 5.0 per l'elaborazione di spettri LC-HRMS, l'integrazione multi-omica e l'aggiustamento delle covariate dei dati metabolomici globali. *Nat Protoc* 2022; 17(8): 1735-61. <http://dx.doi.org/10.1038/s41596-022-00710-w> PMID: 35715522
- [47] Kaplan O, Çelebier M. Valutazione di recenti strategie di elaborazione dati su metabolomica non mirata basata su Q-TOF LC/MS. *Mass Spectrom Lett* 2020; 11(1): 1-5.
- [48] Schraw JM, Woodhouse JP, Bernhardt MB, *e altri* Confronto dei metabolomi del sangue, del midollo osseo e del liquido cerebrospinale in bambini con leucemia linfoblastica acuta a cellule B. *Sci Rep* 2021; 11(1): 19613. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-99147-6> PMID: 34608220
- [49] O'Brien C, Jones CL. Svelare il metabolismo dei lipidi per la terapia della leucemia mieloide acuta. *Curr Opin Hematol* 2025; 32(2): 77-86. <http://dx.doi.org/10.1097/MOH.0000000000000853> PMID: 39585293
- [50] Chen WL, Wang JH, Zhao AH, *e altri* Una firma distintiva del metabolismo del glucosio nella leucemia mieloide acuta con valore prognostico. *Blood* 2014; 124(10): 1645-54. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2014-02-554204> PMID: 25006128
- [51] Ye H, Adane B, Khan N, Alexeev E, Nusbacher N, Minhajuddin M. Soversione del metabolismo sistemico del glucosio come meccanismo per supportare la crescita delle cellule leucemiche. *Cellula cancerosa* 2018; 34(4): 659-73.
- [52] Thomas LW, Ashcroft M. Esplorazione dell'interfaccia molecolare tra la segnalazione dei fattori inducibili dall'ipossia e i mitocondri. *Cell Mol Life Sci* 2019; 76(9): 1759-77. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-019-03039-y> PMID: 30767037
- [53] Chen S, Tao Y, Wang Q, *e altri* Attivazione di AKT/mTOR indotta dal glucosio accelera la glicolisi e promuove la sopravvivenza cellulare nella leucemia mieloide acuta. *Leuk Res* 2023; 128: 107059. <http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2023.107059> PMID: 36989577
- [54] Lagadinou ED, Sach A, Callahan K, *e altri* Inibizione di BCL-2 agisce sulla fosforilazione ossidativa e sradica selettivamente le cellule staminali leucemiche umane quiescenti. *Cell Stem Cell* 2013; 12(3): 329-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2012.12.013> PMID: 23333149
- [55] Pereira-Vieira J, Weber DD, Silva S, *e altri* Metabolismo del glucosio come potenziale bersaglio terapeutico nella leucemia mieloide acuta resistente alla citarabina. *Pharmaceutics* 2024; 16(4): 442. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics16040442> PMID: 38675105
- [56] Wu KK, Cheng HH, Chang TC. Metaboliti 5-metossindolici dell'L-triptofano: controllo dell'espressione di COX-2, infiammazione e tumorigenesi. *J Biomed Sci* 2014; 21(1): 17. <http://dx.doi.org/10.1186/1423-0127-21-17> PMID: 24589238
- [57] Stockard B, Garrett T, Guingab-Cagmat J, Meshinchi S, Lamba J. Caratteristiche metaboliche distinte che differenziano FLT3-ITD LMA da leucemia mieloide acuta infantile FLT3-WT. *Sci Rep* 2018; 8(1): 5534. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-23863-9> PMID: 29615816

- [58] Yan J, Chen D, Ye Z, *e altri* Meccanismi molecolari e significato terapeutico del metabolismo e della segnalazione del triptofano nel cancro. *Mol Cancer* 2024; 23(1): 241. <http://dx.doi.org/10.1186/s12943-024-02164-y> PMID: 39472902
- [59] Stuan L, Sabatier M, Sarry JE. Sfruttamento delle vulnerabilità metaboliche per la terapia personalizzata nella leucemia mieloide acuta. *BMC Biol* 2019; 17(1): 57. <http://dx.doi.org/10.1186/s12915-019-0670-4> PMID: 31319822
- [60] Chen Y, Xu Q, Ji D, *e altri* L'inibizione della via del pentoso fosfato sopprime la leucemia mieloide acuta. *Tumore Biol* 2016; 37(5): 6027-34. <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-015-4428-5> PMID: 26596840
- [61] Beielstein AC, Izquierdo E, Blakemore S, *e altri* I macrofagi vengono attivati verso la clearance delle cellule linfomatose fagocitiche mediante l'inibizione della via del pentoso fosfato. *Cell Rep Med* 2024; 5(12): 101830. <http://dx.doi.org/10.1016/j.xcrm.2024.101830> PMID: 39603243
- [62] Posor Y, Jang W, Haucke V. Fosfoinositidi come organizzatori di membrana. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2022; 23(12): 797-816. <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-022-00490-x> PMID: 35589852
- [63] Park S, Chapuis N, Tamburini J, Bardet V, Cornillet-Lefebvre P, Willems L. Ruolo delle vie di segnalazione PI3K/AKT e mTOR nella leucemia mieloide acuta. *Haematologica* 2009; 95(5): 819-28. <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2009.013797> PMID: 19951971
- [64] Gu H, Chen C, Hou ZS, *e altri* PI3Ky mantiene l'auto-Rinnovamento delle cellule staminali della leucemia mieloide acuta mediante la regolazione della via del pentoso fosfato. *Blood* 2024; 143(19): 1965-79. <http://dx.doi.org/10.1182/blood.2023022202> PMID: 38271660
- [65] Nepstad I, Hatfield KJ, Grønningsæter IS, Reikvam H. Il percorso di segnalazione PI3K-Akt-mTOR nelle cellule della leucemia mieloide acuta (LMA) umana. *Int J Mol Sci* 2020; 21(8): 2907. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21082907> PMID: 32326335
- [66] Zhang H, Zhong L, Wang M, *e altri* p110CUX1 promuove la progressione della leucemia mieloide acuta *tramite* regolazione del piridossale
- Espressione della fosfatasi e attivazione della via di segnalazione PI3K/AKT/mTOR. *Mol Carcinog* 2024; 63(11): 2063-77. <http://dx.doi.org/10.1002/mc.23793> PMID: 38994801
- [67] Senge MO, Sergeeva NN, Hale KJ. Punti salienti classici nella sintesi totale e nella biosintesi delle porfirine e dei porfirinoidi. *Chem Soc Rev* 2021; 50(7): 4730-89. <http://dx.doi.org/10.1039/C7CS00719A> PMID: 33623938
- [68] Fukuda Y, Wang Y, Lian S, *e altri* Biosintesi dell'eme sovraregolata, una vulnerabilità sfruttabile nella leucemogenesi indotta da MYCN. *JCI Insight* 2017; 2(15): e92409. <http://dx.doi.org/10.1172/jci.insight.92409> PMID: 28768907
- [69] Lin KH, Xie A, Rutter JC, Ahn Yr, Lloyd-Cowden JM, Nichols AG. La dissezione sistematica dell'interfaccia metabolico-apoptotica nella leucemia mieloide acuta rivela che la biosintesi dell'eme è un regolatore di sensibilità ai farmaci. *Cell Metab* 2019; 29(5): 1217-1231.e7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2019.01.011> PMID: 30773463
- [70] de Beauchamp L, Himonas E, Helgason GV. Metabolismo mitocondriale come potenziale bersaglio terapeutico nella leucemia mieloide. *Leucemia* 2022; 36(1): 1-12. <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-021-01416-w> PMID: 34561557
- [71] Yamauchi T, Miyawaki K, Semba Y, *e altri* Targeting Dipendenza specifica della leucemia dalla via di sintesi de novo delle purine. *Leucemia* 2022; 36(2): 383-93. <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-021-01369-0> PMID: 34344987
- [72] Wojcicki AV, Kasowski MM, Sakamoto KM, Lacayo N. Metabolomica nella leucemia mieloide acuta. *Mol Genet Metab* 2020; 130(4): 230-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2020.05.005> PMID: 32457018
- [73] Arévalo C, Rojas L, Santamaria M, *e altri* Analisi metabolomiche e lipidomiche non mirate rivelano una disregolazione lipidica nel plasma dei pazienti con leucemia acuta. *Fronte Mol Biosci* 2023; 10: 1235160. <http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2023.1235160> PMID: 38028534
- [74] Li D, Liang J, Yang W, *e altri* Una caratteristica distintiva del metabolismo lipidico della leucemia mieloide acuta con valore prognostico. *Front Oncol* 2022; 12: 876981. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2022.876981> PMID: 35957912

DISCLAIMER: The above article has been published, as is, ahead-of-print, to provide early visibility but is not the final version. Major publication processes like copyediting, proofing, typesetting and further review are still to be done and may lead to changes in the final published version, if it is eventually published. All legal disclaimers that apply to the final published article also apply to this ahead-of-print version.