



UNIVERSITÀ
DI PAVIA

FACOLTA' DI INGEGNERIA
DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA INDUSTRIALE E DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA

DIAGNOSI E PROGnosi DELLE NEOPLASIE MIELOPROLIFERATIVE
MEDIANTE MODELLI DI INTELLIGENZA ARTIFICIALE

Relazione discussa in sede di esame finale
dal candidato Andrea Mozzi

Docente tutore: Prof. Arianna Dagliati

A.A. 2024/2025

Indice

Introduzione.....	3
1 – Neoplasie Mieloproliferative.....	5
1.1 – Policitemia Vera	5
1.2 – Trombocitemia Essenziale	6
1.3 – Mielofibrosi.....	7
1.4 – Leucemia Mieloide Acuta	7
2 – Analisi statistica	9
3 – Classificazione e Prognosi personalizzata.....	23
4 – Modelli IA applicati alle MPN	29
4.1 – Modelli con Dati Clinici	30
4.2 – Modelli con Dati Sperimentali generati in laboratorio	31
4.3 – Modelli di AI interattiva con il paziente	33
5 – Modello DL per la diagnosi delle MPN.....	35
6 – Prognosi a seguito di HCT.....	39
Conclusioni.....	44
Bibliografia.....	46

Introduzione

Le neoplasie mieloproliferative (MPN) sono un gruppo eterogeneo di malattie del sangue causate da mutazioni genetiche del midollo osseo. La caratteristica principale che le accomuna è la proliferazione eccessiva e incontrollata di cellule staminali mieloidi che porta a un conseguente aumento del numero di eritrociti (globuli rossi), leucociti (globuli bianchi) e trombociti (piastrine).

Questo gruppo di patologie può essere classificato in due gruppi principali: le neoplasie mieloproliferative Philadelphia positive (MPN Ph-pos) e quelle negative (MPN Ph-neg). Ciò che caratterizza la distinzione tra i due è la presenza o assenza del riarrangiamento cromosomico tra il cromosoma 9 e il cromosoma 22. La traslocazione, se presente, porta alla formazione del gene di fusione BCR-ABL1: il cromosoma 22 è dunque modificato e prende il nome di Philadelphia. La leucemia mieloide cronica è l'esempio per eccellenza di neoplasia mieloproliferativa Philadelphia positiva; le MPN Ph-neg più rilevanti, invece, sono la policitemia vera, la trombocitemia essenziale e la mielofibrosi.

Le MPN Ph-pos sono delle patologie che non presentano particolari avversità nella diagnosi proprio grazie al gene BCR-ABL1: è sufficiente, infatti, evidenziarne la presenza con un semplice esame FISH (test genetico che permette di individuare specifiche sequenze di DNA sui cromosomi attraverso l'uso di sonde fluorescenti). Al contrario, le MPN Ph-neg presentano enormi difficoltà, sia per quanto riguarda la diagnosi che per la prognosi. Questo accade perché molti parametri ematici possono essere secondari a condizioni reattive (es. carenze di ferro, infiammazioni) o comuni ad altre MPN. L'unico esame che riesce a fugare quasi del tutto ogni dubbio è la biopsia osteomidollare (BOM): la raccolta di un campione di midollo osseo rappresenta però una metodica invasiva e dispendiosa, sia in termini economici che temporali.

L'obiettivo è dunque quello di proporre un approccio completamente differente: a partire dai dati strutturati e non strutturati contenuti nelle cartelle cliniche dei pazienti, si impiegano modelli di intelligenza artificiale sia per giungere ad una diagnosi accurata, sia per predirne lo sviluppo.

Lo scopo di questa tesi è duplice. Da un lato viene presentata la revisione della letteratura che riguarda l'applicazione di modelli di machine learning per la diagnosi e la prognosi delle neoplasie mieloproliferative. Dall'altro, è stato condotto uno

studio su un dataset fornito dall'IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia che contiene i dati di pazienti affetti da MPN. Il dataset è stato sottoposto ad un lavoro preliminare necessario per poterlo impiegare in un'analisi di statistica descrittiva. Questa ha avuto lo scopo di fornire un quadro iniziale nell'ambito di un progetto più ampio condotto dal Laboratorio di Informatica Medica dell'Università di Pavia, ossia lo sviluppo di un modello di intelligenza artificiale per la diagnosi e la predizione dell'evoluzione delle neoplasie mieloproliferative.

1 – Neoplasie Mieloproliferative

Come anticipato le MPN si suddividono nel gruppo delle Philadelphia positive e negative.

La leucemia mieloide cronica (LMC) è una neoplasia mieloproliferativa Philadelphia positiva in quanto presenta il gene BCR-ABL1. Questo codifica una tirosin-chinasi attiva che porta ad una proliferazione incontrollata delle cellule staminali ematopoietiche, inibisce l'apoptosi e altera l'adesione delle cellule staminali all'ambiente midollare. In questa tesi, questa patologia non verrà trattata poiché non presenta le stesse difficoltà diagnostiche e prognostiche tipiche delle Ph-neg. Al contrario, le prossime tre malattie, ossia la policitemia vera, la trombocitemia essenziale e la mielofibrosi, saranno le protagoniste.

1.1 – Policitemia Vera

La policitemia vera (PV) è una MPN Philadelphia negativa cronica, caratterizzata da una proliferazione incontrollata della cellula staminale emopoietica; questo porta a un conseguente aumento della massa eritrocitaria, e spesso anche di quella leucocitaria e delle piastrine. È una malattia acquisita che insorge a seguito di ipossia o produzione anomala di eritropoietina (ormone che stimola la produzione di globuli rossi nel midollo osseo). Si manifesta tipicamente intorno ai 60 anni senza particolari differenze tra i sessi. L'incidenza della patologia è di circa 1-3 casi ogni 100.000 persone all'anno.

Nella maggior parte dei casi, circa il 95%, deriva dalla mutazione attivante V617F del gene JAK2 (esone 14), mentre nel restante 5% deriva dalla mutazione a carico dell'esone 12 (sempre del JAK2). Questo gene codifica una proteina coinvolta nella produzione delle cellule ematiche e nella loro crescita. La sua mutazione porta quindi a una proliferazione incontrollata che non dipende più dai normali stimoli causando così un aumento anomalo delle cellule mieloidi.

Il quadro clinico non è ben definito: alcuni pazienti sono asintomatici e la diagnosi avviene per puro caso a seguito di analisi del sangue che evidenziano valori elevati di ematocrito ed emoglobina; altri soggetti invece presentano sintomi legati all'aumentata viscosità del sangue (es. cefalea, acufeni, parestesie alle estremità e prurito acquagenico). La patologia può portare anche ad eventi vascolari acuti, di

natura sia trombotica che emorragica. Può capitare che all'esame obiettivo si riporti splenomegalia.

La diagnosi, definita in base a criteri internazionali (WHO), prevede tre criteri maggiori: eritrocitosi caratterizzata da valori di emoglobina superiori a 16.5 g/dl per gli uomini e 16 g/dl per le donne, oppure ematocrito che supera rispettivamente il 49% e il 48%; ipercellularità del midollo; mutazione del gene JAK2, sia all'esone 14 sia all'esone 12. Un criterio minore è invece il basso livello di eritropoietina (ormone fondamentale per la regolazione della produzione di globuli rossi).

Le complicanze principali che la riguardano sono di tipo vascolare, come la trombosi, e soprattutto di tipo evolutivo: la PV può progredire in mielofibrosi secondaria o in leucemia mieloide acuta. All'aumentare dell'età del paziente cresce la probabilità che si verifichino questi eventi.

L'aspettativa di vita è di circa 15-20 anni dall'esordio della malattia.

1.2 – Trombocitemia Essenziale

La trombocitemia essenziale (TE) è una MPN Ph-neg caratterizzata da una severa trombocitosi causata dalla proliferazione incontrollata dei megacariociti (cellule del midollo osseo che frantumandosi formano le piastrine) nel midollo osseo. È una patologia rara (0.6-2.5 casi ogni 100.000 abitanti all'anno), più frequente nelle donne, che insorge solitamente tra i 50 e i 60 anni.

A differenza della PV, la trombocitemia non è associata solamente alla mutazione del gene JAK2 (solo esone 14, 50-60% dei casi), ma anche a mutazioni di CALR e di MPL, rispettivamente nel 20-25% e nel 5-10% dei casi. Esiste un ulteriore 10% di casi che non presenta alcuna di queste mutazioni: vengono definiti tripli negativi.

La diagnosi, sempre considerati i criteri WHO, richiede: alta concentrazione di piastrine ($> 450\ 000\ \text{mm}^{-3}$ per più di 2 mesi), proliferazione megacariocitaria con fibrosi midollare, presenza di mutazione driver JAK2, CALR o MPL; inoltre, bisogna escludere altre cause di piastrinosi e di neoplasie mieloproliferative.

Le complicanze sono le stesse della PV ma con un tasso di incidenza minore.

La sopravvivenza media è più di 20 anni, anche 30 per i pazienti di età inferiore ai 60 anni.

1.3 – Mielofibrosi

La mielofibrosi (MF) è una neoplasia mieloproliferativa Philadelphia negativa che prevede un'eccessiva proliferazione clonale di megacariociti e una progressiva fibrosi del midollo osseo (malattia ematica in cui del tessuto fibroso sostituisce le cellule ematopoietiche del midollo osseo) con conseguente emopoiesi extramidollare (produzione di cellule del sangue al di fuori dell'ambiente midollare). Insorge più raramente delle altre MPN (0.5-1.5 casi ogni 100.000 abitanti all'anno) e solitamente si manifesta intorno ai 60-70 anni, sia da sola (mielofibrosi primaria) che come evoluzione di PV o TE (mielofibrosi secondaria).

I geni mutati che sono comunemente associati alla MF sono JAK2 (50-60% dei casi), CALR (20-30% dei casi) e MPL (5-10% dei casi). Il restante 10% dei soggetti ha il cosiddetto genotipo triplo-negativo, ossia non presenta alcuna delle tre mutazioni.

Oltre all'emopoiesi extramidollare, il quadro clinico presenta alcuni sintomi sistemici: febbre, sudorazioni notturne, anemia, splenomegalia ed epatomegalia (il tessuto emopoietico, a causa della fibrosi del midollo, tende a spostarsi verso la milza o il fegato). L'emocromo invece è variabile: nelle fasi iniziali prevale la leucocitosi e la trombocitosi; in seguito, la fibrosi midollare causa pancitopenia, ovvero la diminuzione di tutte le cellule del sangue. Quindi, al contrario, prevalgono la leucopenia e la piastrinopenia.

L'evoluzione più frequente della MF è la leucemia mieloide acuta: questo evento avviene più rapidamente rispetto alle altre MPN e riduce l'aspettativa di vita. La classificazione prognostica può essere effettuata attraverso il punteggio IPSS (International Prognostic Scoring System): tiene conto di età, emoglobina, leucociti, blasti e sintomi sistemici. A seconda del punteggio che si ottiene, il paziente viene classificato in base al rischio: basso, intermedio-1, intermedio-2 e alto rischio. Il sottogruppo con maggior aspettativa di vita raggiunge i 10 anni; mentre i pazienti ad alto rischio possono sperare in poco più di due anni.

1.4 – Leucemia Mieloide Acuta

La leucemia mieloide acuta (LMA) non è considerata una MPN; nonostante ciò, si manifesta spesso come evoluzione di una di esse. È un tumore del sangue che si caratterizza per la crescita incontrollata di cellule immature, i cosiddetti blasti, che

non si differenziano correttamente in eritrociti, leucociti e trombociti. È considerata acuta per la sua rapida progressione in caso di mancato trattamento.

L'incidenza è di circa 5 persone all'anno su 100.000 abitanti e solitamente insorge intorno ai 70 anni.

Sono maggiormente a rischio i fumatori, coloro che sono frequentemente esposti a certe sostanze chimiche (es. benzene e suoi derivati) e i pazienti oncologici sottoposti a trattamenti chemioterapici o radiologici. I fattori di rischio non modificabili invece sono: l'essere maschio, avere più di 60 anni e soffrire di alcune malattie genetiche (es. anemia di Fanconi, sindrome di Bloom, atassia teleangiectasia...), anomalie cromosomiche (es. sindrome di Down) e certe malattie del sangue (es. le tre MPN precedentemente trattate).

La diagnosi inizia con l'emocromo, che può mostrare leucocitosi, talvolta leucopenia, anemia e piastrinopenia. Attraverso l'analisi degli strisci di sangue periferico si ricercano i blasti. Nei casi in cui la LMA è ancora agli esordi, le cellule non hanno ancora lasciato il midollo osseo, motivo per cui è opportuno effettuare anche l'analisi degli strisci di sangue midollare. La conferma arriva però grazie all'aspirato midollare: i blasti devono rappresentare più del 20% della popolazione delle cellule midollari.

Altri esami, come FISH e PCR, sono invece utili per identificare le mutazioni più frequenti, ossia NPM1, FLT3 e KMT2A.

La leucemia mieloide acuta si suddivide in 8 sottotipi, secondo la classificazione FAB, che si stratificano in base al grado e al tipo di differenziazione a cui vanno incontro i blasti.

2 – Analisi statistica

Le analisi presentate sono basate su un dataset, raccolto presso il reparto di ematologia del Policlinico San Matteo di Pavia, che include una vasta quantità di dati clinici relativi a pazienti affetti da neoplasie mieloproliferative. Questo dataset è stato inviato al laboratorio di informatica biomedica dell'Università di Pavia con lo scopo di addestrare un modello di intelligenza artificiale in grado di diagnosticare le malattie in questione e di predirne le evoluzioni.

Il dataset appare come un foglio Excel in cui ogni riga si riferisce al record di un paziente. Il codice UPN funge da chiave per potersi ricondurre a tutti i rilevamenti dello stesso paziente. La prima parte del record si riferisce all'anagrafica (es. data di nascita, data della diagnosi, sesso, CAP, diagnosi iniziale, professione, etc.); la seconda parte invece raccoglie i dati clinici e mutazionali che sono stati registrati a ogni rilevazione.

Il mio lavoro è consistito nel predisporre questo dataset sulla base delle richieste degli ematologi. Utilizzando MATLAB, ho raggruppato tutti i record di ogni paziente in una sola tupla informativa: per la parte dell'anagrafica ho recuperato la prima occorrenza di ogni paziente; per la parte successiva ho considerato i parametri clinici registrati all'esordio della malattia così che non fossero condizionati dalle terapie; per le mutazioni genetiche, dal momento che queste non possono negativizzarsi, ho cercato il primo esito disponibile tra i record del paziente.

Ho inoltre corretto dei semplici errori di data, probabilmente causati da un problema di esportazione in file Excel: alcuni anni di date erano successive rispetto al valore vero di 100 o 200 anni. Ho cercato quali date all'interno del dataset fossero successive al 2025 e ho sottratto ripetutamente 100 fino al rientro in un intervallo plausibile.

Ho inoltre imputato alcune cause di decesso per pazienti deceduti che non erano state riportate come "Non nota": questo mi è servito successivamente per un'analisi statistica più completa.

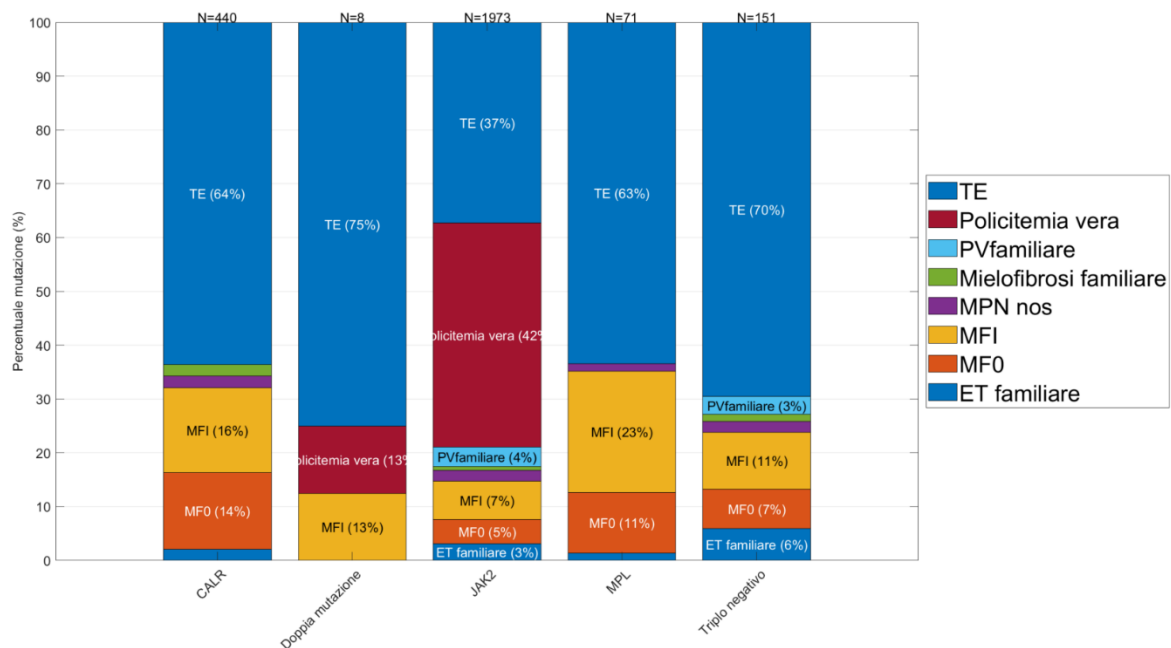
L'ultimo step che ha riguardato la preparazione del dataset è stata l'aggiunta di un'etichetta, quindi di un attributo nella tabella, utile alla stratificazione dei pazienti. Ho classificato i soggetti in base alle mutazioni che presentavano: JAK2 (sia V617F sia esone 12), CALR, MPL, triplo negativo, doppia mutazione e no tag. Quest'ultimo gruppo riguarda i pazienti che non hanno effettuato tutti i test per le mutazioni, ma

quelli eseguiti sono risultati negativi: non sarebbe stato corretto classificarli come tripli negativi. I dati relativi alla maggior parte di questi pazienti sono stati raccolti quando ancora non si eseguivano test mutazionali: abbiamo deciso di eliminarli dal database.

Una volta preparato il dataset, ho eseguito un'analisi di statistica descrittiva, cominciata su MATLAB, concentrandomi sulla stratificazione appena effettuata e analizzando mediante grafici le relazioni tra le mutazioni genetiche e il fenotipo.

In totale i pazienti presenti nel database sono 2643. Le diagnosi inizialmente maggiormente presenti sono la trombocitemia essenziale (1171), la policitemia vera (823) e la mielofibrosi (413). Ho analizzato la loro distribuzione, sia per diagnosi iniziale, sia per mutazione driver.

Figura 1 – Barplot stacked delle diagnosi iniziali stratificato per mutazione driver



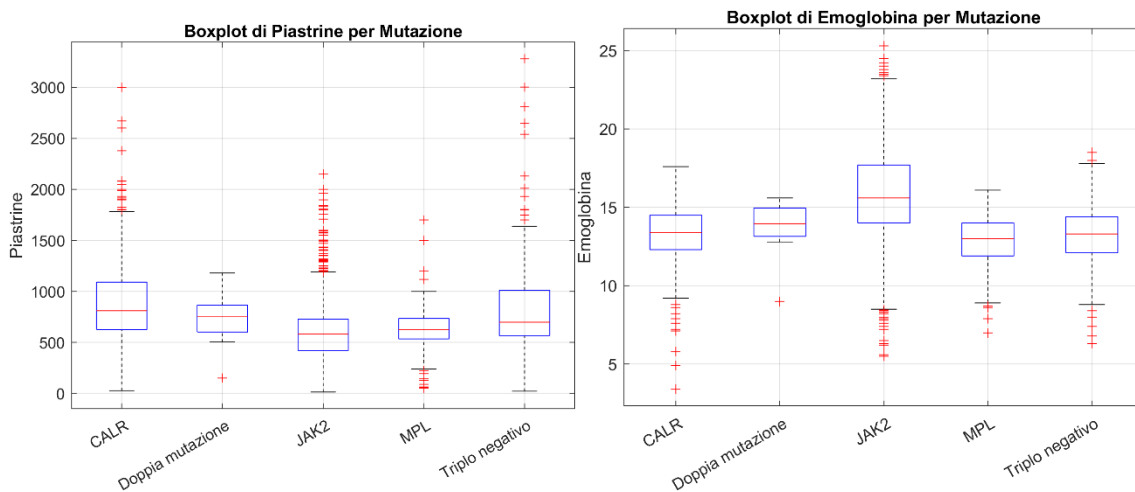
Come si evince dalla Figura 1, considerando le mutazioni driver, si nota come quella più comune sia nettamente la JAK2, seguita da CALR. La mutazione MPL invece è presente in 71 soggetti (2.7% dei casi), addirittura meno dei tripli negativi, che rappresentano invece il 5.7% del totale, ovvero 151 pazienti. I soggetti più rari sono quelli che possiedono la doppia mutazione: sono sempre caratterizzati da

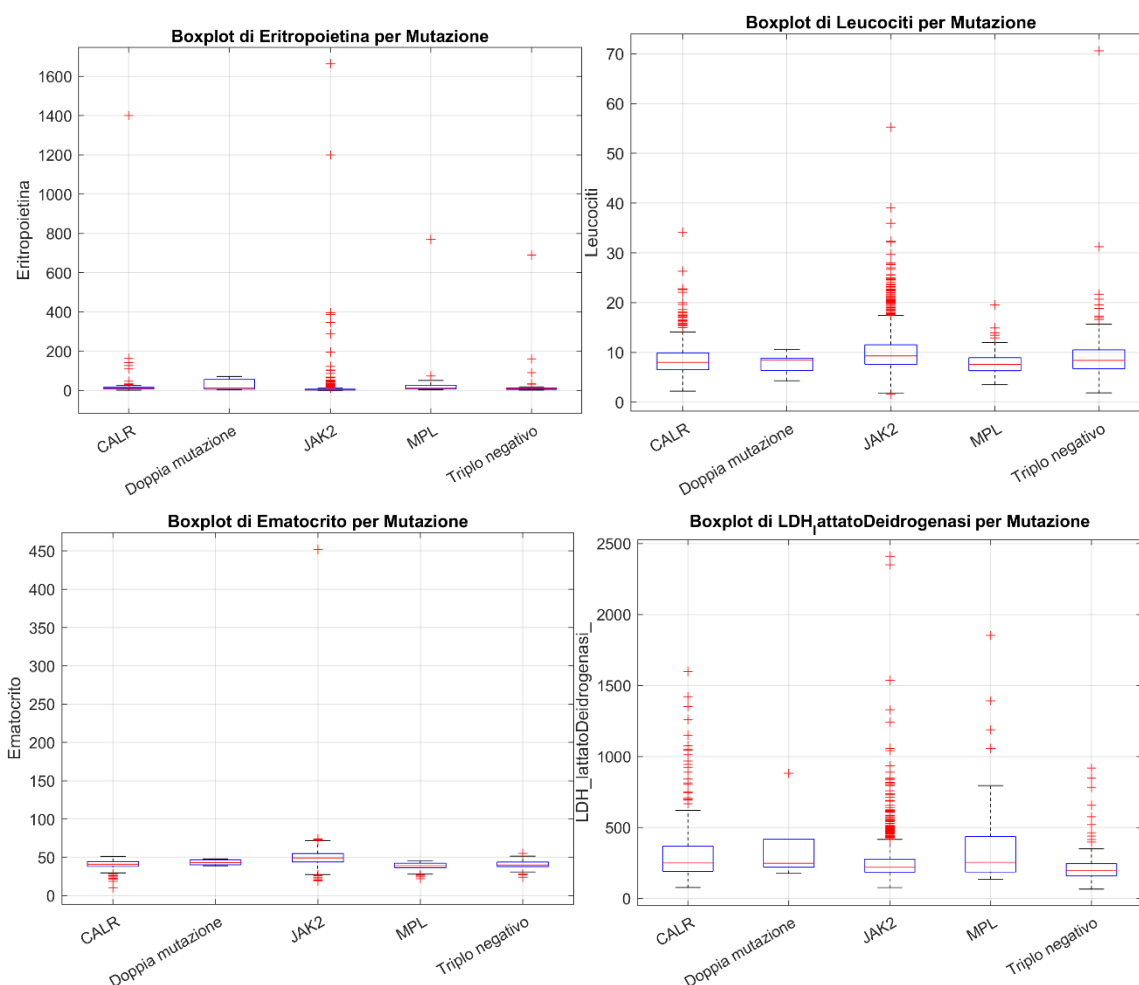
un'alterazione genica in JAK2; l'altra mutazione può verificarsi in MPL o CALR, non ci sono altre combinazioni nel dataset.

Nel tentativo di cercare dei range plausibili delle variabili cliniche per mutazione driver, ho graficato i boxplot (Figura 2) dei valori dell'ematocrito, delle piastrine, dei globuli bianchi, della L-lattato deidrogenasi, dell'eritropoietina e dell'emoglobina. La quantità di outliers per ogni vettore di dati è sempre stata molto elevata, rendendo difficile trarre conclusioni certe. Inoltre, i grafici sembrano sempre molto simili tra loro, a parte quelli che riguardano le mutazioni con poche occorrenze nel dataset e che quindi potrebbero non essere rappresentative di una vera e propria distribuzione di popolazione.

La mutazione driver che presenta più outliers è quella relativa al gene JAK2. Probabilmente questo è dovuto al fatto che è presente in tutti i tipi di MPN e che quindi più sottogruppi sono presenti nello stesso vettore di dati. Invece i soggetti con mutazioni in CALR e MPL presentano meno outliers; infatti, sono caratteristici soltanto della mielofibrosi e della trombocitemia essenziale, due patologie molto simili tra loro, soprattutto se le si considera all'esordio.

Figura 2 – Boxplot dei valori dei parametri clinici stratificati per mutazione driver





Per effettuare un'indagine ancora più precisa, attraverso un codice Python, ho calcolato la Table1 (Figura 3) delle variabili cliniche del dataset stratificato per mutazione. Anche se non presenti in tabella, ho effettuato i test di Kruskal-Wallis per verificare se le distribuzioni dei gruppi fossero significativamente diverse tra loro. I p-value ottenuti sono sempre stati inferiori a 0.001, tranne nel caso dell'eritropoietina che comunque aveva un p-value di circa 0.02.

Figura 3 – Table1 delle variabili cliniche stratificando per mutazione

	Overall								
	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	2609	9,70	4,19	8,90	7,20	11,10	3,90	1,60	70,58
Emoglobina	2608	15,08	2,87	14,80	13,20	17,00	3,80	3,40	25,30
Ematocrito	1861	47,98	12,81	47,00	41,90	53,80	11,90	10,40	452,00
Piastri	2613	658,90	346,03	614,00	457,00	800,00	343,00	13,00	3279,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	1512	275,04	187,41	224,75	184,00	289,80	105,80	65,52	2410,00
Eritropoietina	1158	14,18	82,30	4,33	2,32	8,79	6,47	0,00	1663,00

	JAK2								
	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	1947	10,04	4,11	9,29	7,60	11,52	3,92	1,60	55,30
Emoglobina	1946	15,73	2,84	15,60	14,00	17,70	3,70	5,50	25,30
Ematocrito	1486	49,89	13,39	49,20	43,93	55,00	11,08	19,00	452,00
Piastrine	1948	594,67	270,77	582,00	420,00	728,25	308,25	13,00	2148,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	1113	260,75	159,74	223,00	185,72	278,24	92,52	76,67	2410,00
Eritropoietina	955	10,80	70,70	3,60	2,00	6,61	4,61	0,00	1663,00

	CALR								
	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	435	8,55	3,51	7,99	6,50	9,85	3,35	2,20	34,12
Emoglobina	435	13,28	1,86	13,40	12,30	14,50	2,20	3,40	17,60
Ematocrito	250	40,72	5,57	40,90	38,10	44,60	6,50	10,40	51,20
Piastrine	436	882,48	430,58	811,00	626,00	1091,00	465,00	27,00	3000,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	252	331,13	243,04	249,46	192,02	367,16	175,15	77,50	1600,00
Eritropoietina	116	28,94	130,65	11,25	8,10	16,23	8,13	1,25	1400,00

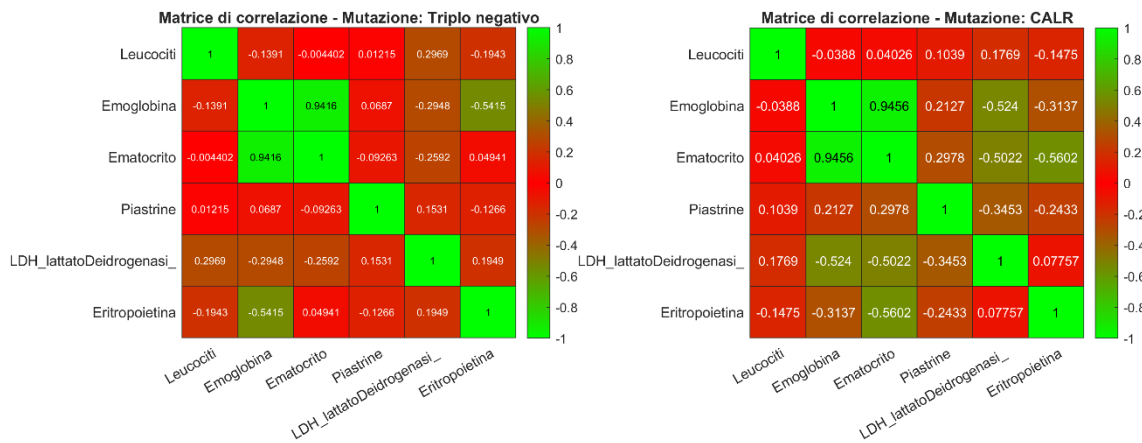
	MPL								
	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	70	8,06	2,89	7,57	6,31	8,91	2,60	3,51	19,50
Emoglobina	70	12,65	2,02	13,00	11,90	13,98	2,08	7,00	16,10
Ematocrito	39	38,15	6,02	39,10	36,50	42,35	5,85	22,00	45,00
Piastrine	71	623,56	297,01	627,00	534,50	734,50	200,00	52,80	1700,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	44	392,83	360,59	254,61	188,96	426,20	237,24	136,98	1853,00
Eritropoietina	24	50,29	154,26	11,50	6,79	27,15	20,36	3,93	770,00

	Triplo negativo								
	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	149	9,60	6,39	8,37	6,70	10,50	3,80	1,86	70,58
Emoglobina	149	13,19	2,15	13,30	12,10	14,40	2,30	6,30	18,50
Ematocrito	80	40,37	5,60	40,00	37,88	43,83	5,95	24,10	55,00
Piastrine	150	856,67	559,96	698,00	566,50	1008,50	442,00	22,00	3279,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	98	235,94	147,76	195,11	159,70	245,82	86,12	65,52	918,04
Eritropoietina	60	24,24	90,19	8,28	5,28	11,55	6,27	1,70	689,00

	Doppia mutazione								
	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	8	7,77	2,00	8,43	6,68	8,83	2,14	4,30	10,60
Emoglobina	8	13,59	2,06	13,95	13,33	14,88	1,55	9,00	15,60
Ematocrito	6	43,38	3,75	43,40	40,48	46,33	5,85	38,90	47,80
Piastrine	8	720,38	300,05	750,50	651,00	849,25	198,25	149,00	1180,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	5	360,73	292,72	248,00	235,28	263,37	28,09	176,00	881,00
Eritropoietina	3	28,92	36,74	11,80	7,84	41,45	33,62	3,87	71,10

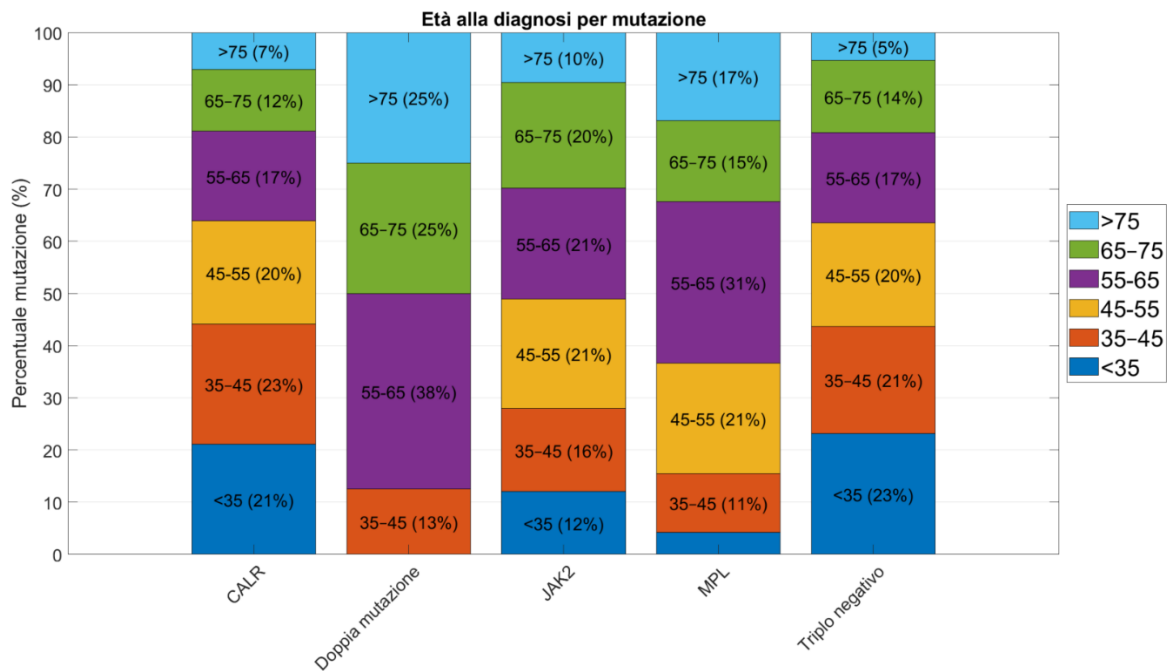
In seguito, per cercare correlazioni tra le variabili cliniche, ho calcolato, separando per mutazione driver, le matrici di correlazione. Non ho riscontrato alcuna relazione tra i parametri se non quella più banale tra l'emoglobina e i globuli rossi che era ben visibile in ogni matrice. Due esempi sono visibili in Figura 4.

Figura 4 – Matrici di correlazione di variabili cliniche per pazienti tripli negativi e con mutazione CALR



Mi sono chiesto quale fosse il legame tra l'età a cui avviene la diagnosi e il tipo di mutazione genetica posseduta dal paziente. Così ho calcolato l'attributo come differenza tra data della diagnosi e data di nascita e l'ho plottato come grafico a barre stratificando i gruppi in base alla mutazione (Figura 5).

Figura 5 – Barplot stacked relativo all'età alla diagnosi dei pazienti raggruppati per mutazione

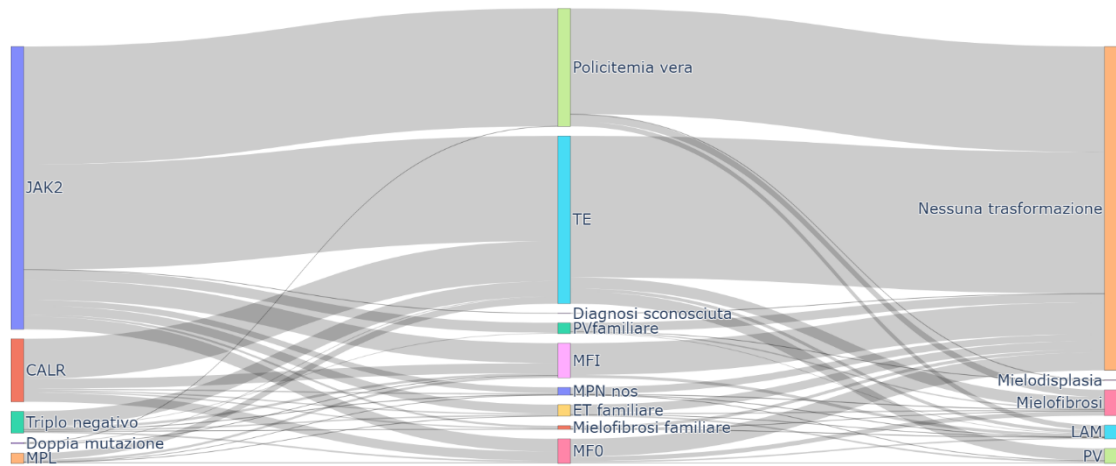


Dal grafico si deduce che ai pazienti che presentano CALR, spesso la diagnosi viene effettuata prima nel corso della vita; in generale non vi sono particolari differenze tra i gruppi mutazionali principali, ossia JAK2, CALR e MPL.

A questo punto ho abbandonato MATLAB e mi sono cimentato su un codice Python per poter graficare dei Sankey plot. Questi strumenti grafici possono essere molto utili per osservare come i pazienti fluiscono tra le varie categorie. Il primo che ho

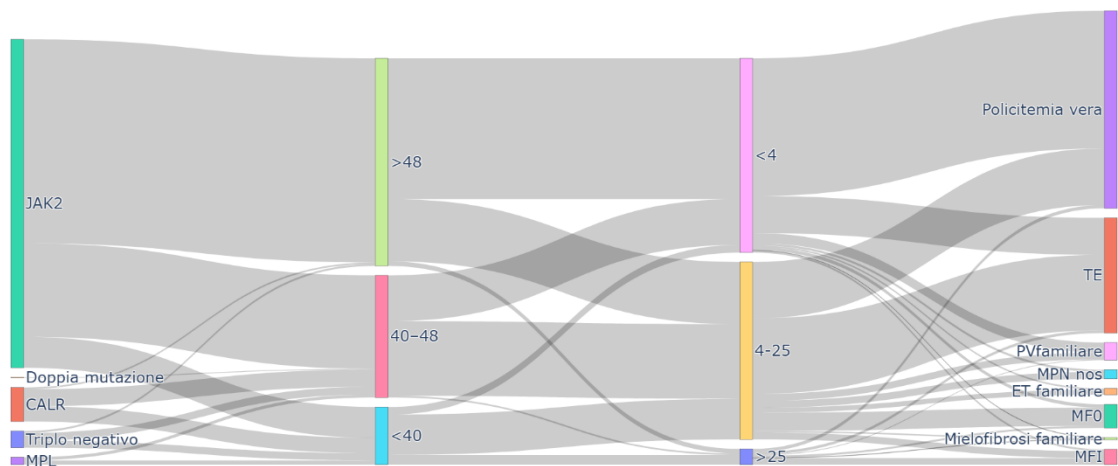
effettuato è stato quello che lega la sorgente delle mutazioni driver con il target delle trasformazioni, attraversando il nodo centrale delle diagnosi iniziali, come si può vedere in Figura 6.

Figura 6 – Sankey plot: Mutazione - Diagnosi iniziale - Tipo di trasformazione



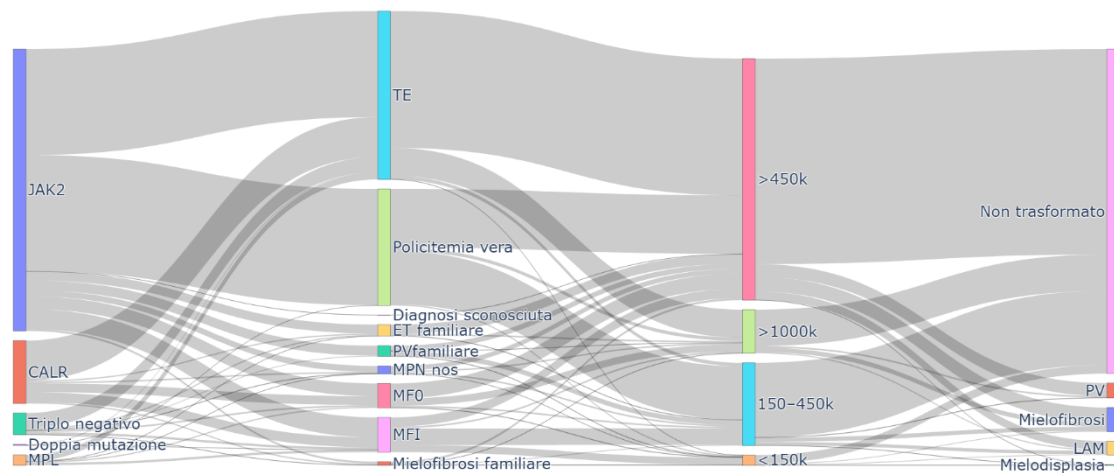
In seguito, ho graficato i flussi di dati che dalle mutazioni, passando per l’ematocrito, giungono all’eritropoietina e alle diagnosi iniziali (Figura 7). Il rationale di questo grafico è stato il fenotipo della policitemia vera (JAK2): l’ematocrito è alto, mentre l’eritropoietina è bassa.

Figura 7 - Sankey plot: Mutazione – Ematocrito (%) – Eritropoietina (mU/mL) – Diagnosi iniziale



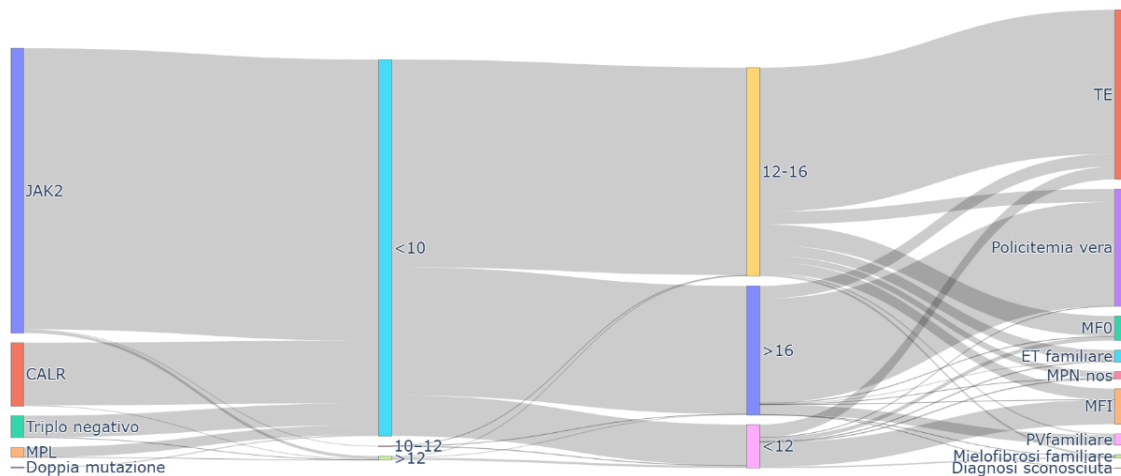
Dallo scorso capitolo è appurato che la trombocitemia essenziale è caratterizzata da un aumento dei trombociti e, nel caso di aumento di LDH, aumenta pure la fibrosi. Così ho eseguito un Sankey plot che collega le mutazioni con le diagnosi iniziali, i livelli di trombociti e i tipi di trasformazione (Figura 8).

Figura 8 - Sankey plot: Mutazione – Diagnosi iniziale – Piastrine (piastrine/mcL) – Tipo di trasformazione



L'ultimo Sankey plot che ho effettuato in questa parte è stato pensato rispetto alla mielofibrosi: ho cercato il flusso che lega le mutazioni, le dimensioni della milza (grandi per la splenomegalia), l'emoglobina (bassa per la citopenia) e la diagnosi iniziale (Figura 9).

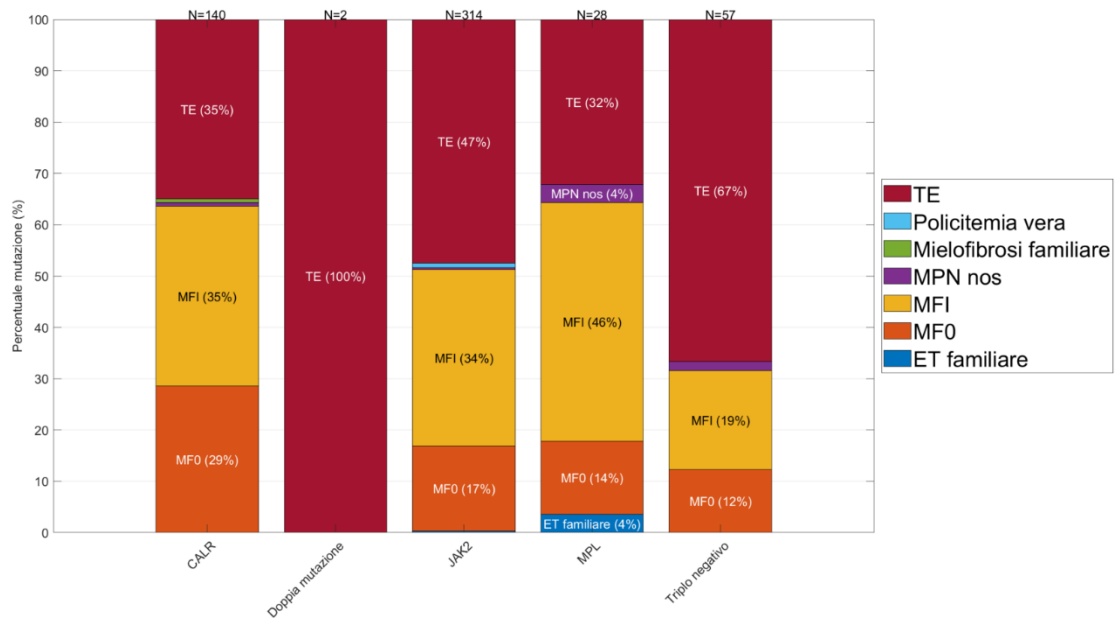
Figura 9 – Sankey plot: Mutazione – Milza (cm) – Emoglobina (g/dl) – Diagnosi iniziale



In seguito, ho rieseguito nuovamente l'analisi statistica sul database, ma questa volta concentrandomi soltanto sui pazienti sui quali è stato effettuato l'NGS per ricercare ulteriori mutazioni. L'NGS (Next Generation Sequencing) è un metodo di sequenziamento del DNA di ultima generazione che permette di analizzare simultaneamente milioni di frammenti, molto più rapido quindi dei metodi tradizionali. I pazienti del dataset su cui è stato eseguito l'NGS sono 541, molti non presentano alcuna mutazione aggiuntiva, altri ne presentano addirittura più di una. Le mutazioni aggiuntive considerate nel dataset sono 59. In Figura 10 si può

osservare come le diagnosi iniziali sono distribuite per questi soggetti stratificati per mutazione driver.

Figura 10 - Barplot stacked delle diagnosi iniziali stratificando per mutazione driver



Di seguito sono riportate le tabelle che mostrano i conteggi delle mutazioni aggiuntive rilevate con tecnica NGS, stratificate sia per mutazione driver (Figura 11) che per diagnosi iniziale (Figura 12). Per ogni gruppo ho considerato i 9 geni più ricorrenti, il numero di pazienti che non ne presentava nessuna e “Altre mutazioni”. Quest’ultimo insieme raggruppa le mutazioni aggiuntive con meno ricorrenze.

Figura 11 - Conteggi delle mutazioni NGS stratificate per mutazione driver

Overall		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
Nessuna mutazione NGS	254	46,95
ASXL1	88	16,27
TET2	64	11,83
DNMT3A	40	7,39
SRSF2	33	6,10
EZH2	25	4,62
U2AF1	24	4,44
JAK2	22	4,07
SF3B1	21	3,88
CBL	20	3,70
Altre mutazioni	194	35,86

JAK2		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
Nessuna mutazione NGS	130	41,40
ASXL1	57	18,15
TET2	46	14,65
DNMT3A	27	8,60
SRSF2	22	7,01
U2AF1	22	7,01
JAK2	18	5,73
SF3B1	17	5,41
CBL	14	4,46
EZH2	11	3,50
Altre mutazioni	126	40,13

MPL		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
SRSF2	9	32,14
Nessuna mutazione NGS	6	21,43
MPL	6	21,43
ASXL1	3	10,71
DNMT3A	2	7,14
NF1	2	7,14
SF3B1	2	7,14
RUNX1	2	7,14
IDH2	2	7,14
TET2	1	3,57
Altre mutazioni	12	42,86

CALR		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
Nessuna mutazione NGS	80	57,14
ASXL1	26	18,57
TET2	15	10,71
EZH2	10	7,14
DNMT3A	6	4,29
KMT2A	5	3,57
NRAS	4	2,86
CBL	3	2,14
NF1	2	1,43
ATM	2	1,43
Altre mutazioni	23	16,43

TRIPLO NEGATIVO		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
Nessuna mutazione NGS	37	64,91
MPL	6	10,53
DNMT3A	5	8,77
CBL	3	5,26
EZH2	3	5,26
ASXL1	2	3,51
TET2	2	3,51
SRSF2	2	3,51
SH2B3	2	3,51
CHEK2	1	1,75
Altre mutazioni	6	10,53

DOPPIA MUTAZIONE		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
Nessuna mutazione NGS	1	50,00
JAK2	1	50,00
MPL	1	50,00

Figura 12 - Conteggi delle mutazioni NGS stratificate per diagnosi iniziale

MFI		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
ASXL1	65	35,91
Nessuna mutazione NGS	33	18,23
TET2	25	13,81
SRSF2	23	12,71
EZH2	22	12,15
U2AF1	22	12,15
CBL	11	6,08
KMT2A	11	6,08
DNMT3A	10	5,52
SF3B1	10	5,52
Altre mutazioni	104	57,46

MFO		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
Nessuna mutazione NGS	58	56,31
ASXL1	12	11,65
TET2	11	10,68
DNMT3A	8	7,77
SRSF2	7	6,80
SF3B1	7	6,80
CBL	5	4,85
JAK2	5	4,85
EZH2	2	1,94
TP53	2	1,94
Altre mutazioni	18	17,48

ET familiare		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
DNMT3A	1	50
Nessuna mutazione NGS	1	50

Trombocitemia essenziale		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
Nessuna mutazione NGS	160	64,78
TET2	26	10,53
DNMT3A	19	7,69
ASXL1	11	4,45
NF1	10	4,05
JAK2	6	2,43
CBL	4	1,62
SF3B1	4	1,62
TP53	4	1,62
KMT2A	4	1,62
Altre mutazioni	40	16,19

Policitemia vera		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
JAK2	3	100
TET2	2	66,67
DNMT3A	1	33,33
FLT3	1	33,33

MPN nos		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
DNMT3A	1	25
Nessuna mutazione NGS	1	25
JAK2	1	25

Mielofibrosi familiare		
Mutazione	Conteggio	Percentuale
Nessuna mutazione NGS	1	100

Anche per quest'analisi riporto le Table1 dei parametri clinici, in Figura 13.

Figura 13 - Table1 delle variabili cliniche stratificata per mutazione driver

Variabile	Overall								
	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	537	9,64	4,54	8,59	6,90	11,25	4,35	1,60	35,97
Emoglobina	537	12,89	2,38	13,20	11,70	14,60	2,90	3,40	22,10
Ematocrito	349	39,88	6,45	40,60	36,80	44,20	7,40	10,40	63,00
Piastrine	537	643,76	377,20	619,00	441,00	807,00	366,00	22,00	3279,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	423	329,69	248,47	251,80	189,72	370,88	181,16	76,67	2410,00
Eritropoietina	273	34,89	144,05	8,24	4,46	14,00	9,54	0,00	1663,00

JAK2									
Variabile	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	311	10,22	4,70	9,28	7,57	12,00	4,44	1,60	35,97
Emoglobina	311	13,09	2,54	13,80	11,90	14,90	3,00	5,50	22,10
Ematocrito	203	40,93	6,62	42,30	37,70	45,00	7,30	19,00	63,00
Piastrine	311	590,44	319,17	590,00	379,00	759,00	380,00	32,00	1963,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	250	313,58	243,59	255,97	191,23	345,48	154,26	76,67	2410,00
Eritropoietina	167	35,50	165,77	6,11	3,57	10,55	6,99	0,00	1663,00

CALR									
Variabile	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	139	8,66	4,13	7,90	6,25	9,78	3,53	2,20	34,12
Emoglobina	139	12,67	2,11	12,90	11,70	14,00	2,30	3,40	16,60
Ematocrito	89	38,65	5,98	39,50	35,60	42,00	6,40	10,40	51,20
Piastrine	139	730,33	356,19	740,00	524,00	910,00	386,00	46,00	2083,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	102	378,20	244,30	292,28	210,19	449,92	239,73	77,50	1353,00
Eritropoietina	55	23,36	33,27	12,50	8,85	22,40	13,55	1,25	165,00

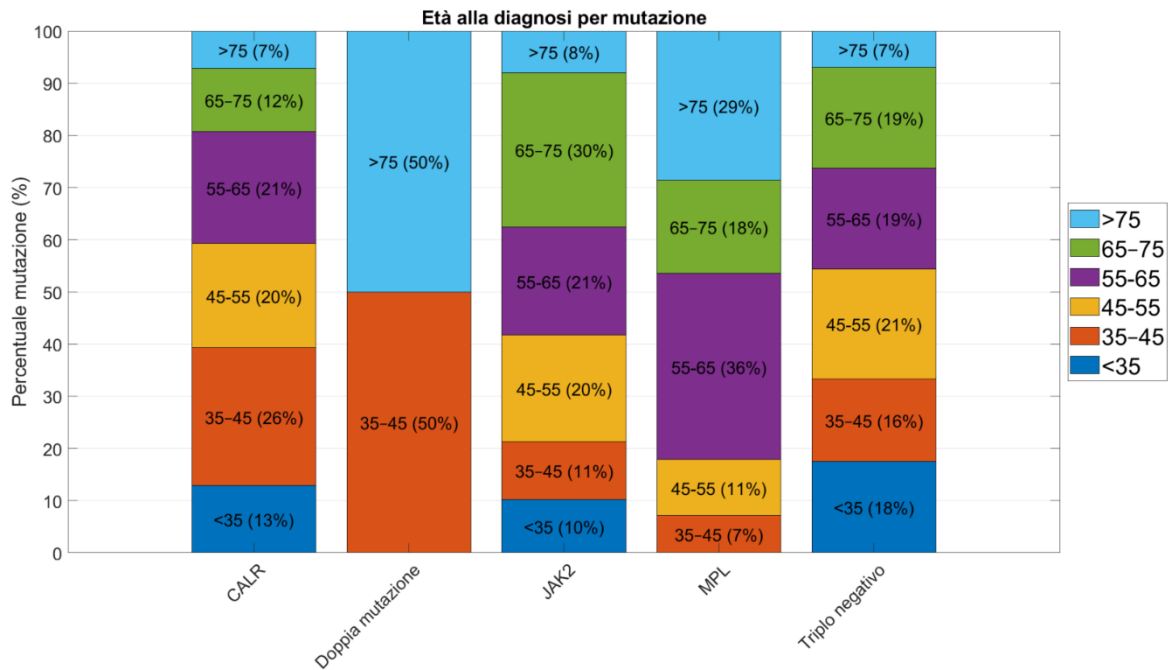
MPL									
Variabile	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	28	8,63	3,62	7,72	6,72	10,15	3,44	3,51	19,50
Emoglobina	28	11,74	2,31	12,35	10,00	13,23	3,23	7,00	15,60
Ematocrito	21	35,82	7,13	39,00	29,00	41,20	12,20	22,00	45,00
Piastrine	28	485,10	290,83	558,00	235,50	694,25	458,75	52,80	1117,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	23	460,57	353,77	294,76	209,00	570,99	361,99	136,98	1392,00
Eritropoietina	17	63,68	182,57	13,70	8,32	27,60	19,28	3,93	770,00

Tripla negativo									
Variabile	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	57	9,51	4,64	8,37	7,13	10,40	3,27	1,86	31,22
Emoglobina	57	12,84	2,02	13,20	12,00	14,20	2,20	6,80	15,90
Ematocrito	34	39,25	4,63	39,85	37,83	42,48	4,65	28,00	46,70
Piastrine	57	802,09	609,43	631,00	561,00	914,00	353,00	22,00	3279,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	47	247,83	179,11	195,00	159,49	242,10	82,61	80,80	918,04
Eritropoietina	33	36,84	120,84	8,63	5,77	12,30	6,53	1,94	689,00

Doppia mutazione									
Variabile	N	Mean	SD	Median	Q1	Q3	IQR	Min	Max
Leucociti	2	6,36	0,93	6,36	6,03	6,68	0,66	5,70	7,01
Emoglobina	2	13,95	0,21	13,95	13,88	14,03	0,15	13,80	14,10
Ematocrito	2	40,65	0,49	40,65	40,48	40,83	0,35	40,30	41,00
Piastrine	2	628,50	176,07	628,50	566,25	690,75	124,50	504,00	753,00
LDH_lattatoDeidrogenasi_	1	248,00		248,00	248,00	248,00	0,00	248,00	248,00
Eritropoietina	1	11,80		11,80	11,80	11,80	0,00	11,80	11,80

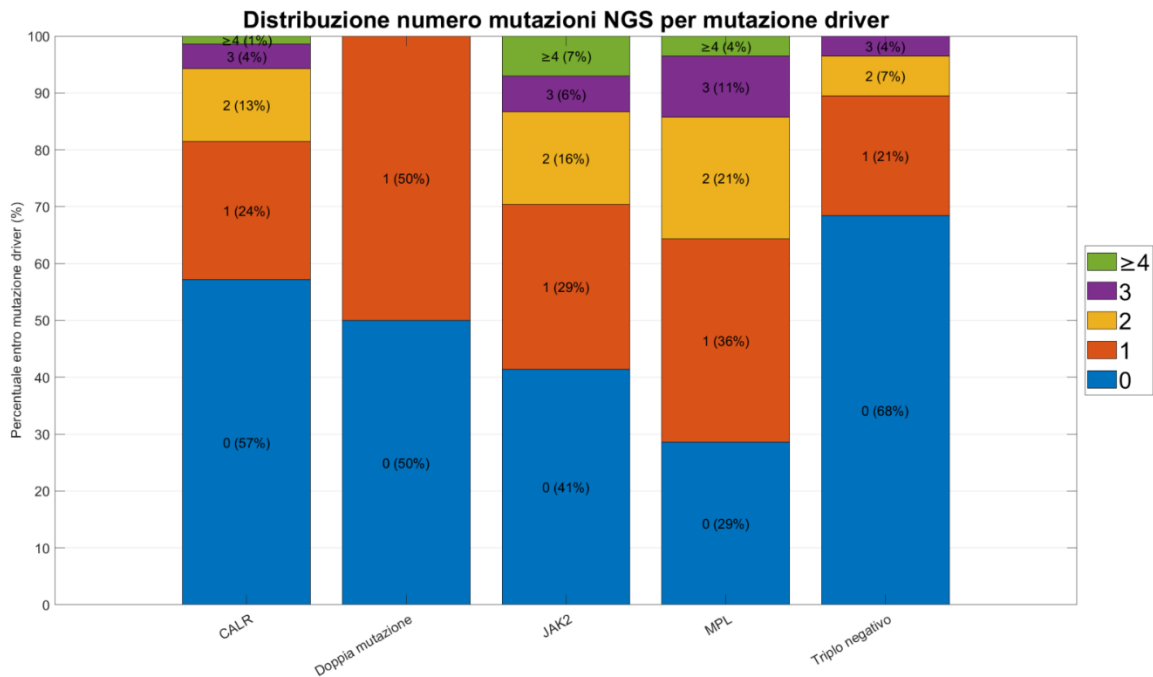
Successivamente sono andato a graficare due barplot stacked, stratificando sempre per mutazione driver, rispetto all'età del paziente alla diagnosi (Figura 14) e al numero di mutazioni aggiuntive rilevate con metodo NGS (Figura 15).

Figura 14 - Barplot stacked dell'età alla diagnosi stratificato per mutazione driver



Il grafico delle età è simile a quello effettuato sul dataset completo.

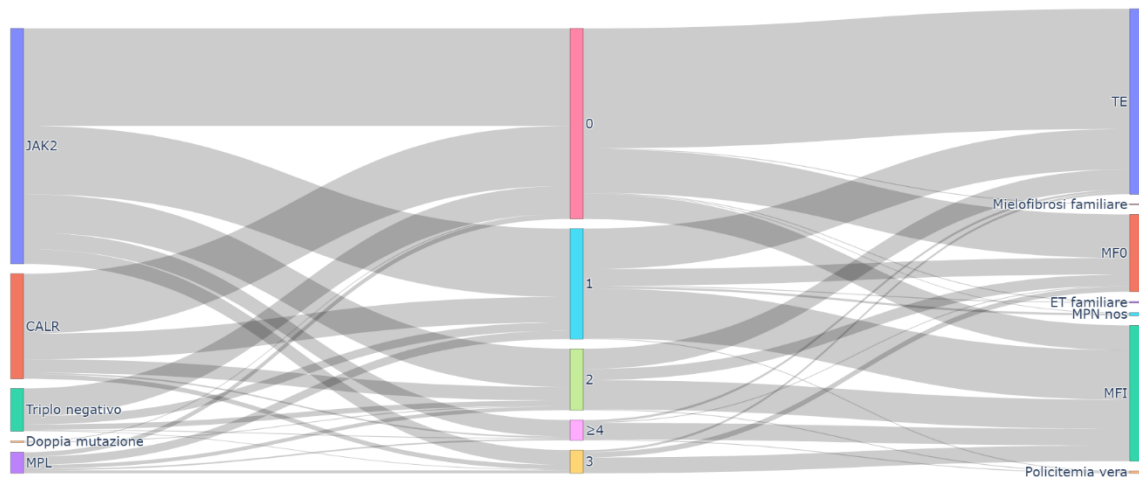
Figura 15 - Barplot stacked del numero di mutazioni NGS stratificato per mutazione driver



Questo barplot dimostra, anche se per poco, che la mutazione MPL è quella più propensa a verificarsi insieme ad altre aggiuntive. Segue JAK2, e infine CALR.

Come ultima analisi grafica di statistica descrittiva ho effettuato un Sankey plot che lega la mutazione driver con il numero di mutazioni aggiuntive rilevate e la diagnosi iniziale (Figura 16).

Figura 16 – Sankey plot: Mutazione – Numero di mutazioni NGS – Diagnosi iniziale



Da quest'ultimo grafico non si deduce nulla di particolarmente interessante, se non che il numero di mutazioni aggiuntive rilevate non influisce sulla diagnosi iniziale; a sua volta non dipende dalla mutazione driver.

Nei capitoli successivi viene trattata la revisione della letteratura in merito all'applicazione di modelli statistici e di intelligenza artificiale alla diagnosi e alla prognosi delle neoplasie mieloproliferative.

3 – Classificazione e Prognosi personalizzata

Le neoplasie mieloproliferative sono un gruppo eterogeneo di patologie accomunate da caratteristiche cliniche e molecolari complesse. La loro classificazione attuale si basa su criteri diagnostici definiti dall'Organizzazione Mondiale della Sanità e dall'International Consensus Classification. Questi sistemi di stratificazione presentano dei limiti dal momento che non considerano che spesso i quadri clinici di queste malattie sono sovrapposti. Ad esempio, se si considera la mutazione JAK2 V617F, questa può essere presente in pazienti che ricevono diagnosi diverse di MPN in base al livello di soglia dell'ematocrito. Insomma, il confine tra queste patologie è clinicamente sfumato e instabile.

In questo capitolo viene presentato il lavoro di Grinfeld et al. che si propone di superare i limiti delle classificazioni cliniche tradizionali attraverso un approccio basato sull'integrazione di dati genomici e clinici. Gli obiettivi principali dello studio sono: il sequenziamento di un'ampia gamma di geni legati ai tumori mieloidi; lo sviluppo di una nuova classificazione molecolare delle neoplasie mieloproliferative in funzione delle mutazioni ricorrenti e dei pattern genomici; la costruzione di modelli prognostici capaci di predire in modo personalizzato il rischio di evoluzione in mielofibrosi, trasformazione leucemica e mortalità; la validazione di tali modelli in una coorte esterna indipendente, così da dimostrarne la validità e l'applicabilità nella pratica clinica.

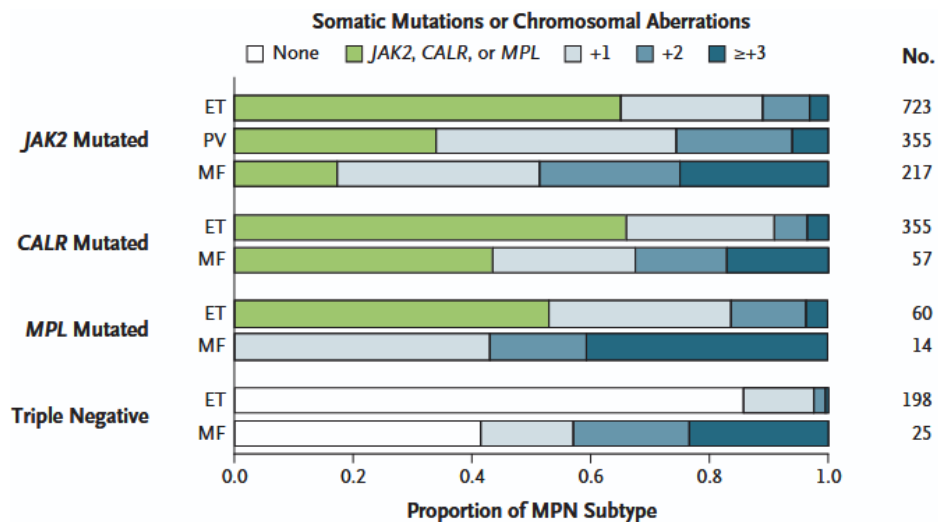
L'idea di base del gruppo di ricerca sta nel considerare le neoplasie mieloproliferative come manifestazioni fenotipiche di sottogruppi molecolari: i parametri clinici da soli potrebbero non essere in grado di fornire una diagnosi corretta; un sistema di classificazione basato anche sulla biologia molecolare è più accurato e può essere utile nel migliorare la stratificazione diagnostica e prognostica.

La popolazione oggetto dello studio era composta da 2035 pazienti, campionati dai centri specialistici di Addenbrooke's Hospital e Guy's and St Thomas' Hospital nel Regno Unito e dall'Ospedale Careggi dell'Università di Firenze in Italia. I soggetti comprendevano individui con diagnosi di policitemia vera (356), trombocitemia essenziale (1321), mielofibrosi (309) e altre forme meno comuni di MPN (49). Per ogni paziente la diagnosi è stata data da una squadra di ematologi seguendo i criteri

del British Committee for Standards in Haematology per i pazienti britannici e i criteri WHO per quelli italiani. Il tempo mediano tra la diagnosi e il prelievo per l'analisi genetica è stato di 49 giorni. Questo dettaglio è importante poiché indica che il campione è stato prelevato in una fase ancora precoce della malattia: la terapia e i vari trattamenti di cura non avevano ancora influito in modo significativo sulle cellule tumorali. Inoltre, sono stati arruolati altri 515 pazienti dall'ospedale fiorentino per poter effettuare validazione esterna.

L'analisi genetica è cominciata con il sequenziamento di 69 geni: in totale 33 geni presentavano mutazioni driver in almeno 5 pazienti. Nel 90% dei casi queste erano rappresentate da mutazioni in JAK2, CALR e MPL (Figura 17); inoltre, nel 45% dei casi, costituivano l'unica anomalia genetica.

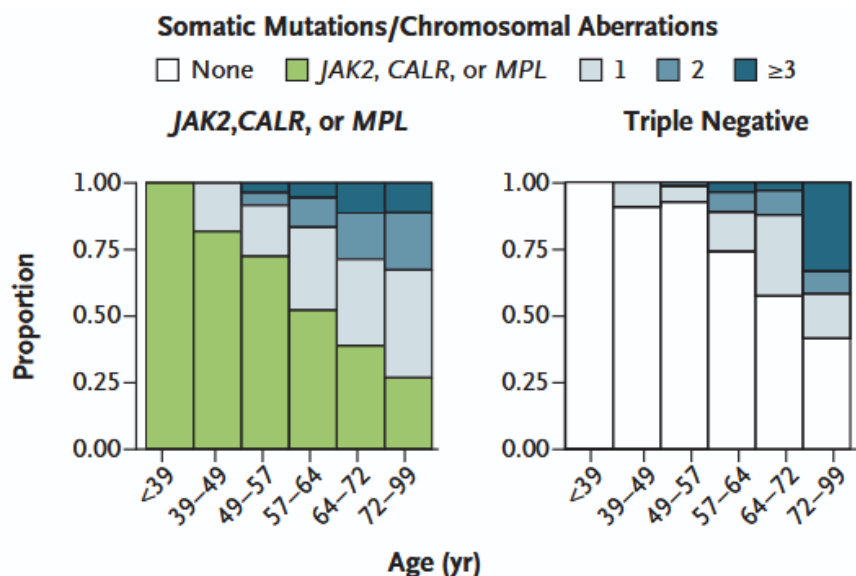
Figura 17 – Grafico estratto dall'articolo di Grinfeld et al.



Un fenomeno ricorrente, specialmente nei casi di policitemia vera con mutazione driver in JAK2, era la perdita di eterozigosi, ovvero la scomparsa di uno dei due alleli del gene: la cellula esprime soltanto la copia rimasta.

Un'ulteriore osservazione riguarda la relazione tra il numero di mutazioni e lo stadio della malattia: solitamente i pazienti con mielofibrosi avevano una quantità di mutazioni maggiore rispetto a quelli affetti da policitemia vera e trombocitemia essenziale. Le alterazioni genetiche aumentavano inoltre con il progredire dell'età, come si può facilmente notare in Figura 18.

Figura 18 - Grafico estratto dall'articolo di Grinfeld et al.



Noto ciò, gli autori hanno sviluppato un sistema di classificazione delle neoplasie mieloproliferative che si compone di otto sottogruppi genomici: i pazienti possono essere stratificati in funzione della presenza o assenza di particolari anomalie genetiche. Questa stratificazione è stata effettuata attraverso un algoritmo di clustering bayesiano.

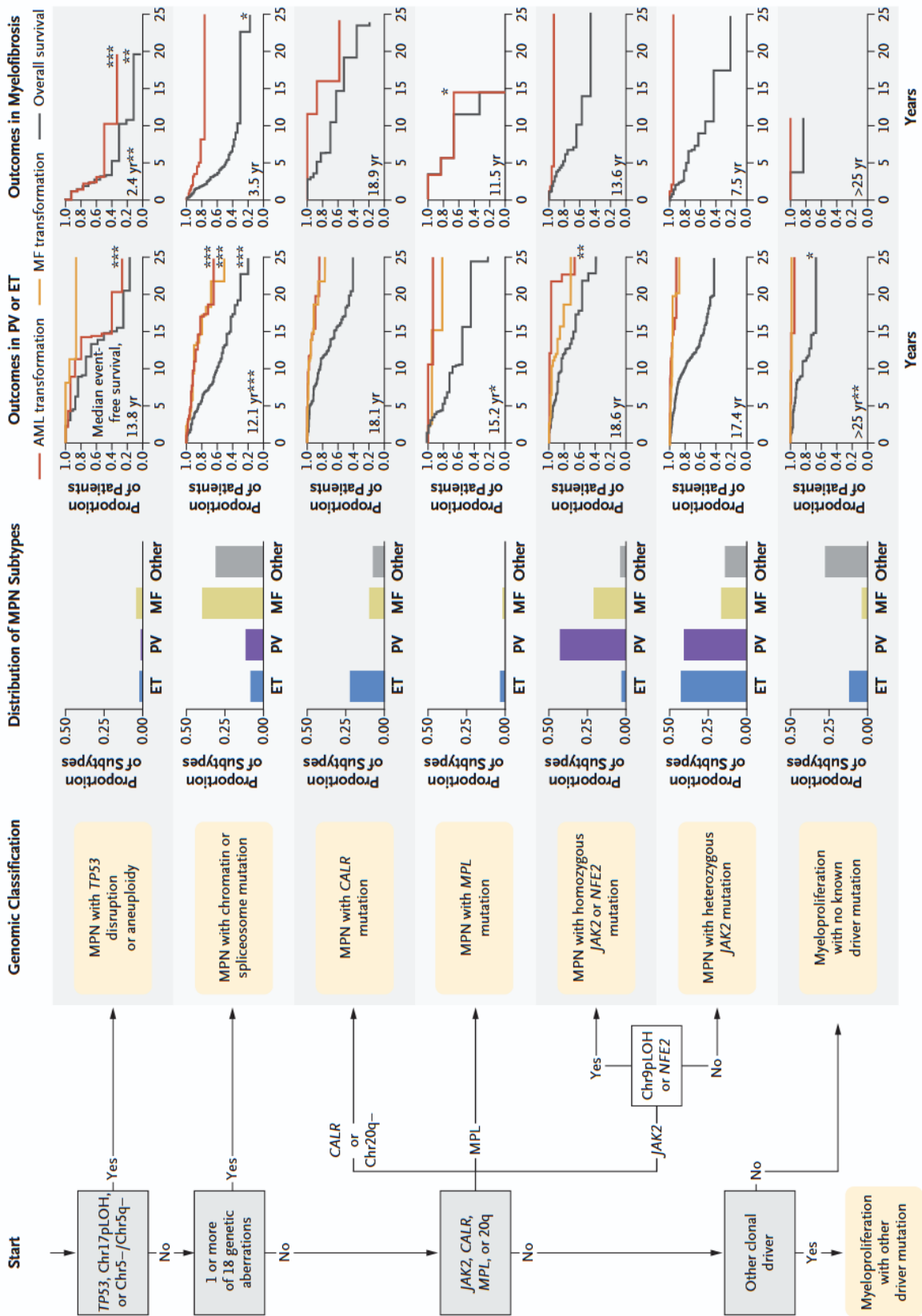
Il primo sottogruppo è quello che presenta mutazioni di TP53 o aneuploidia (alcune cellule hanno un numero diverso di cromosomi rispetto a quelle standard) ed è quello che presenta la prognosi peggiore con un'elevata probabilità di trasformazione leucemica e morte precoce.

Il secondo sottogruppo è rappresentato dalle MPN con una o più mutazioni dei 18 geni che regolano la cromatina o lo spliceosoma.

I pazienti che non rientrano in questi due primi gruppi sono stati classificati rispetto alle mutazioni driver: il terzo sottogruppo riguarda la mutazione CALR e il quarto quella MPL. Per i pazienti con alterazioni in JAK2 ci sono 2 sottogruppi distinti: il primo è rappresentato da una mutazione omozigote di JAK2 o del gene NFE2, il secondo considera quella eterozigote.

Un settimo sottogruppo (1.8% dei casi) presenta delle mutazioni driver conosciute ma differenti da quelle precedentemente presentate, ad esempio TET2 e DNMT3A. L'ultimo sottogruppo (9.4% dei casi) include quei pazienti a cui non è stata identificata alcuna mutazione driver. In Figura 19 si può avere un'idea più chiara della stratificazione e dei rischi associati ai relativi sottogruppi.

Figura 19 - Grafico estratto dall'articolo di Grinfeld et al.



Oltre alla classificazione delle MPN, lo studio di Grinfeld et al. si è posto il problema di sviluppare modelli prognostici personalizzati per i singoli pazienti basati

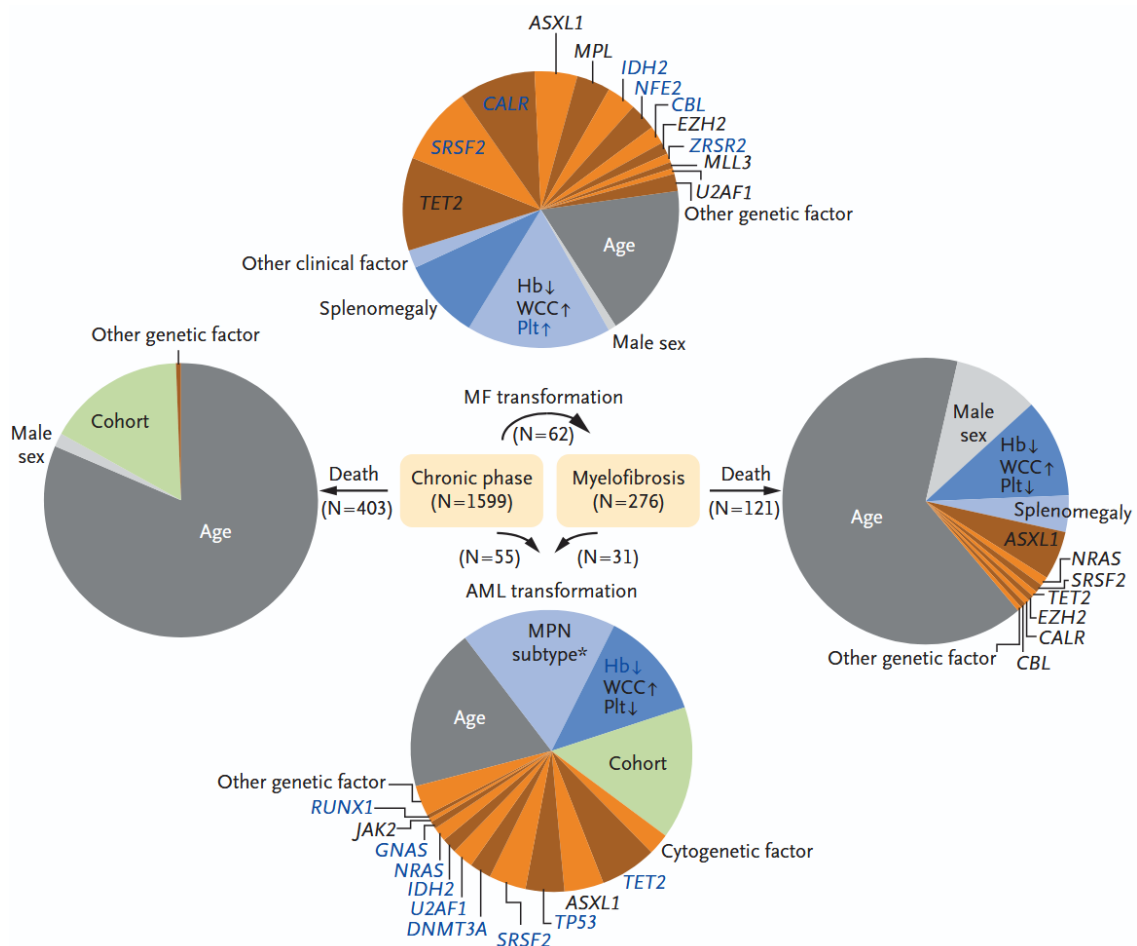
sull'utilizzo di 63 variabili sia cliniche che genomiche. L'obiettivo è la stima della probabilità di evoluzione della malattia, ossia verso mielofibrosi, leucemia mieloide acuta o morte precoce.

Il modello sviluppato è stato di tipo statistico multistato a effetti casuali di Cox a rischi proporzionali. Rispetto al modello classico di Cox, questo considera che i fattori di rischio sono a loro volta influenzati da fattori aleatori.

Tra le variabili considerate ci sono età, sesso, emoglobina, leucociti, trombociti, presenza di splenomegalia e l'intera gamma mutazionale, sia i geni driver che le mutazioni ad alto rischio come TP53.

Tra i risultati più interessanti c'è sicuramente il fatto che il fattore di rischio maggiore per la morte è l'età, mentre ciò che più influenza la trasformazione mielofibrotica o leucemica sono le mutazioni genetiche (Figura 20).

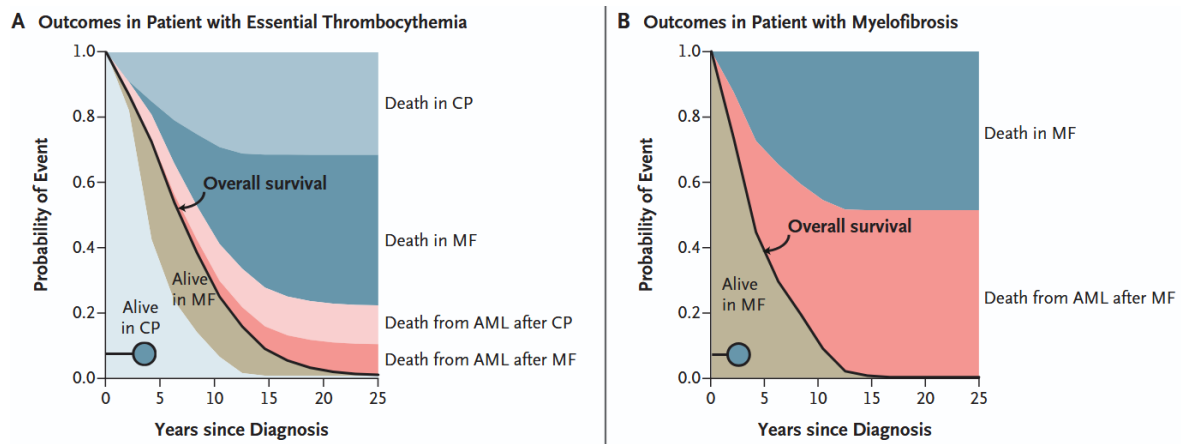
Figura 20 - Grafico estratto dall'articolo di Grinfeld et al.



Ciò che rende unico questo modello è la sua abilità di generare previsioni personalizzate per i singoli pazienti, dando in output curve di sopravvivenza predette

e probabilità temporali di transizione tra stadi di malattia. In Figura 21 si possono vedere degli esempi.

Figura 21 - Grafico estratto dall'articolo di Grinfeld et al.



Inoltre, questo modello ha completamente superato i tradizionali sistemi di prognosi, IPSS e DIPSS, per quanto riguarda la significatività statistica.

Può essere applicato nel momento in cui si deve scegliere il piano terapeutico di un paziente: i soggetti per cui è prevista una prognosi peggiore sono perfetti per terapie sperimentali, mentre per coloro che sono a basso rischio, le terapie conservative sono le più efficaci.

Questo studio, oltre ad avere ottenuto ottimi risultati, rappresenta un'applicazione di successo di modelli di statistical learning avanzati nell'ambito delle neoplasie mieloproliferative.

Nei capitoli successivi verranno trattati invece modelli di machine learning, in certi casi di deep learning.

4 – Revisione dei Modelli IA applicati alle MPN

Negli ultimi decenni l'intelligenza artificiale (AI) è diventata sempre più centrale nell'ambito biomedico grazie al suo importante ruolo diagnostico, prognostico e terapeutico. Le neoplasie mieloproliferative, essendo caratterizzate da un'elevata eterogeneità clinica e molecolare, rappresentano un contesto ideale per l'applicazione di metodologie di AI: la complessità dei dati clinici e biologici richiede infatti strumenti capaci di individuare relazioni e pattern che solitamente possono sfuggire all'analisi statistica tradizionale e alla semplice lettura dei risultati degli esami clinici da parte del medico.

I modelli applicati sono molteplici e comprendono modelli di machine learning supervisionato e modelli più complessi di deep learning. La scelta del modello dipende non solo dall'obiettivo dello studio, ma soprattutto dai tipi di dati disponibili. Le architetture AI più diffuse sono Random Forest e XGBoost per dati discreti, Reti Neurali Convoluzionali (CNN) per dati di imaging, Reti Generative Avversarie (GAN) per la generazione di immagini e infine Modelli Linguistici di Grandi Dimensioni (LLM) per dati di testo (es. ChatGPT, Gemini, MedPaLM).

Solitamente i dati di ricerca sono suddivisi in gruppi utilizzati esclusivamente per la parte di addestramento e per quella di validazione. Nella fase di training il modello valuta i dati con lo scopo di dare in output una previsione di un certo evento. In modo iterativo, la previsione viene progressivamente resa sempre più accurata grazie ad un metodo definito di correzione.

Una volta definito il modello, idealmente, la procedura migliore da effettuare sarebbe la validazione esterna, ossia valutare la sua generalizzabilità su una coorte di dati provenienti da istituti esterni. Questo non avviene sempre, solitamente si utilizzano dei dati tenuti di riserva provenienti dalla stessa coorte di quelli di training.

Comunemente, il modello viene valutato sulla base di alcune cifre di merito come l'area sotto la curva, la sensibilità (capacità di classificare correttamente un individuo malato come positivo), la specificità (capacità di classificare correttamente un individuo sano come negativo) e l'accuratezza (capacità di classificare correttamente un individuo nel suo stato di salute corretto).

In questo capitolo introdurrò diversi esempi di applicazioni di modelli di intelligenza artificiale rispetto alle malattie MPN tra il 2000 e il 2023. In ogni sottocapitolo introdurrò un approccio differente in base al tipo di dato considerato: dati clinici, dati sperimentali di laboratorio e dati generati dall'interazione tra AI e paziente.

4.1 – Modelli basati su Dati Clinici

Dal momento che spesso ai medici viene chiesta una valutazione soggettiva dei pazienti affetti da MPN, discrepanze sistematiche nella diagnosi e nella cura di essi rappresentano chiaramente un evento ricorrente: i ricercatori di AI hanno tentato di giungere a strumenti decisionali oggettivi.

Alcuni di questi si basano sulle immagini digitalizzate della biopsia del midollo osseo (BMB). I campioni di BMB vengono colorati con ematossilina ed eosina (H&E) o reticolina per valutarne la morfologia.

Sirikunwattana et al. (2020) hanno sviluppato un modello AI multistadio che predice la specie di MPN automaticamente dai BMB. Il metodo si compone di due modelli AI separati: il primo si occupa di identificare i megacariociti dall'immagine completa, il secondo associa la morfologia dei megacariociti al sottotipo di MPN da immagini isolate di essi. Il doppio modello ha raggiunto ottimi risultati predittivi con uno score di AUROC di 0.95.

Su un approccio differente, ma sempre basato sull'analisi istologica, Ryou et al. (2023) hanno progettato invece un sistema di punteggio, Continuous Indexing of Fibrosis (CIF), che mira a differenziare le due MPN con caratteristiche cliniche molto simili, ovvero mielofibrosi primaria e trombocitemia essenziale. Questo score di fibrosi all'interno delle immagini di BMB è semiquantitativo: attraverso un modello AI CNN sono riusciti a descrivere l'eterogeneità della fibrosi per la classificazione come prePMF o TE. Il modello ha raggiunto un AUROC di 0.94 nella validazione interna, mentre di 0.77 in quella esterna.

Mentre i primi due lavori si sono focalizzati sulle biopsie midollari, Kimura et al. (2021) hanno adottato un approccio differente, integrando parametri ematologici e morfologie cellulari da strisci di sangue periferico. Hanno sviluppato un modello XGBoost (basato sull'algoritmo del gradient boosting, combina iterativamente alberi decisionali deboli per creare un modello forte) per ottenere risultati diagnostici

rispetto alla differenziazione tra PV, ET e PMF. Il modello ha raggiunto livelli di sensibilità e specificità maggiori del 90%.

Un ulteriore fronte di ricerca riguarda la valutazione della splenomegalia, sintomo che notoriamente caratterizza le neoplasie mieloproliferative dovuto all'emopoiesi extramidollare. Solitamente può essere valutata tramite la palpazione dell'addome oppure attraverso tecniche di imaging biomedico, come TAC, ecografia, PET e risonanza magnetica.

Yang et al. (2020) si sono cimentati nell'identificazione e nella quantificazione della splenomegalia nei pazienti con PMF utilizzando un modello CNN per delineare automaticamente il tessuto splenico nella TAC addominale. È stato calcolato R^2 come cifra di merito e il suo valore è stato di 0.98.

Spostandosi dall'imaging alla valutazione del rischio trombotico, Verstovsek et al. (2023) hanno sviluppato un algoritmo di machine learning di Random Survival Forest per la previsione del rischio di trombosi su un database di pazienti con policitemia vera in trattamento con idrossiurea. Questa analisi ha evidenziato nuovi fattori di rischio oltre alla distribuzione dei globuli rossi, ossia le concentrazioni di linfociti e neutrofili. Il modello ha ottenuto un punteggio dell'AUROC superiore a 0.8 rispetto alle previsioni di eventi trombotici nell'arco dei successivi 6-18 mesi.

La Random Survival Forest è un approccio che è stato sfruttato anche da Mosquera-Orgueira et al. (2023) con l'obiettivo di creare uno score (Artificial Intelligence Prognostic Scoring System for Myelofibrosis) che fosse attendibile per la previsione della sopravvivenza globale (OS) e la sopravvivenza libera da leucemia (LFS) nei pazienti con mielofibrosi. Il modello si è basato su 8 variabili cliniche e ha ottenuto prestazioni superiori agli standard score impiegati in questo campo (IPSS e MYSEC-PM).

4.2 – Modelli basati su Dati Sperimentali

Diversi modelli di intelligenza artificiale hanno evidenziato come alcuni tipi di dati sperimentali, non comunemente utilizzati nella pratica clinica dai medici, possano essere importanti per scopi diagnostici.

Come prima prova di ciò, Woerner et al. (2022) hanno sequenziato il DNA del sangue e del midollo osseo di pazienti con MPN, LMA e sindromi mielodisplastiche.

L'obiettivo è stato quello di trovare specifiche sequenze batteriche, fungine e virali. È stato creato un classificatore di tipo Random Forest per la previsione delle patologie nel momento in cui i ricercatori si sono accorti che i batteri differivano nei diversi tipi di malattie mieloidi. L'AUROC raggiunto in questo lavoro è stato di 0.79.

Accanto agli studi sul microbioma, altre ricerche si sono invece concentrate sull'analisi delle proteine circolanti. Guleken et al. (2023) hanno studiato le proteine del sangue periferico dei pazienti attraverso spettroscopia per l'identificazione di pazienti affetti da trombocitemia essenziale e mielofibrosi primaria. Sono state analizzate le interazioni molecolari mediante spettroscopia Raman e spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier così da poter sviluppare modelli AI in grado di prevedere il tipo di MPN. L'accuratezza predittiva ottenuta in questo lavoro supera il 90%.

Oltre alle analisi proteiche, è stato esplorato anche l'ambito trascrittomico: in questo contesto Shen et al. (2021) hanno sviluppato un modello AI, utilizzando la regressione LASSO, che aveva capacità predittive rispetto alla progressione delle neoplasie mieloproliferative. I dati impiegati derivano da firme trascrittomiche (RNA) delle piastrine. Il modello è stato addestrato su 3000 campioni di trascritti di RNA piastrinico raggiungendo un AUROC di 0.96.

Se questi modelli hanno evidenziato il potenziale dei dati sperimentali, dal punto di vista terapeutico la situazione rimane più complessa. I piani terapeutici attuali per il trattamento delle MPN si basano prevalentemente sull'inibizione del gene JAK2: i farmaci più comuni sono ruxolitinib, fedratinib, pacritinib e momelotinib. In realtà non esistono vere e proprie terapie mirate per le neoplasie mieloproliferative e, per di più, la presenza delle mutazioni JAK2, CALR e MPL non influenza la scelta terapeutica.

In questo scenario, Wildschut et al. (2023) hanno identificato 3 sottogruppi di MPN suscettibili a inibitori del Bromodomain and Extra-Terminal motif (BET) o dell'istone deacetilasi (HDAC), ovvero farmaci che interferiscono con la replicazione del DNA e farmaci che inibiscono la risposta a proteine non correttamente ripiegate. Per fare ciò, hanno impiegato un modello AI CNN di immagini immunofluorescenti di cellule mononucleate del sangue periferico.

Per identificare nuove molecole in grado di agire come inibitori di JAK2, si possono usare database molecolari disponibili pubblicamente e algoritmi di machine learning: questo permette di fare una scelta iniziale dei candidati che hanno più probabilità di avere successo nelle fasi di sviluppo del farmaco. Ogni molecola può essere vista come un'impronta digitale che racchiude le sue caratteristiche chimiche, quali la distanza tra atomi, l'orientamento dei legami e la presenza di particolari sottostrutture. Queste informazioni vengono utilizzate come input di training per modelli AI che predicono l'attività della molecola contro JAK2, misurata in IC50, ossia concentrazione plasmatica per giungere al 50% dell'effetto desiderato.

Gli studi principali su questo argomento sono stati condotti da Yang et al. (2019) e da Belenahalli Shekarappa et al. (2023). Il primo ha usato un modello XGBoost e si è concentrato maggiormente su molecole simili a quelle di pirrolopirimidina. Ben 13 candidati sono stati trovati, di cui 2 particolarmente potenti e selettivi verso l'inibizione di JAK2.

Il secondo studio è stato svolto utilizzando un modello di Random Forest come metodo di screening virtuale. Sono stati trovati 9 candidati, di cui uno, il pacritinib, è un inibitore di JAK2 già approvato, confermando quindi la potenza dei risultati.

4.3 – Modelli basati su interazione con il paziente

Recentemente l'intelligenza artificiale è stata impiegata a diretto contatto con il paziente: basti pensare ai chatbot basati su LLM che sono in grado di rispondere a quesiti clinici senza che un coinvolgimento del medico sia necessario.

Lo studio di Fu et al. (2020) ha sviluppato un workflow di Natural Language Processing (NLP) per estrarre le date delle diagnosi dalle cartelle cliniche. I risultati sono stati buoni, con un recall dell'83%, battendo pure metodi AI più complessi come Random Forest.

Parallelamente, la compagnia farmaceutica Incyte ha sperimentato un'applicazione dell'intelligenza artificiale generativa con il progetto "Unseen Journey": immagini generate da modelli AI hanno rappresentato l'esperienza soggettiva dei pazienti affetti da neoplasie mieloproliferative. Questi ultimi due esempi non rivestono particolare rilevanza clinica, ma sicuramente danno un'idea della potenza di questi strumenti.

In ambito medico, i modelli di machine learning si classificano in base al loro scopo in diagnostici, prognostici e terapeutici. Nel prossimo capitolo verrà approfondito un modello di deep learning a fini diagnostici, mentre nel sesto sarà discusso uno studio relativo ad un modello di tipo prognostico e terapeutico.

5 – Modello Diagnostico

In questo capitolo viene riportato lo studio di Wang et al. (2024) che riguarda lo sviluppo e la validazione di un modello di deep learning con capacità diagnostica.

L'idea consiste nella progettazione di un modello di fusione (Fusion Model) che combina un'architettura di deep learning per la valutazione delle immagini di midollo osseo e una regressione logistica multivariata, a metà strada tra statistical learning e machine learning, per il modello clinico (Clinical Model).

Per questo studio sono stati reclutati 1051 pazienti ricoverati in sette diversi ospedali in Cina tra marzo 2012 e settembre 2021. Tra questi, 196 erano affetti da policitemia vera, 225 da trombocitemia essenziale, 214 da mielofibrosi primaria, 184 erano allo stadio precedente della mielofibrosi (prePMF) e infine 232 erano non-MPN, ma comunque caratterizzati da patologie ematiche o relative al midollo osseo. Cinque ematologi esperti sono stati chiamati in causa per effettuare una diagnosi basata sui criteri dell'Organizzazione Mondiale della Sanità. Inoltre, i pazienti sono stati sottoposti a biopsia ossea: i loro campioni sono stati colorati con ematossilina ed eosina.

Dalle loro cartelle cliniche, invece, sono stati ricavati i parametri clinici e di laboratorio.

Lo sviluppo del modello di deep learning si è basato sull'utilizzo di diversi algoritmi e architetture AI. All'inizio è stato usato l'algoritmo di Vahadane per minimizzare la variabilità di colore tra i campioni diversi. In seguito, è stato sfruttato Grad-CAM, una tecnica di visualizzazione per le reti neurali convoluzionali (CNN), che restituisce in output una mappa di calore che evidenzia le regioni più rilevanti, ossia quelle contenenti l'informazione da estrarre dall'immagine.

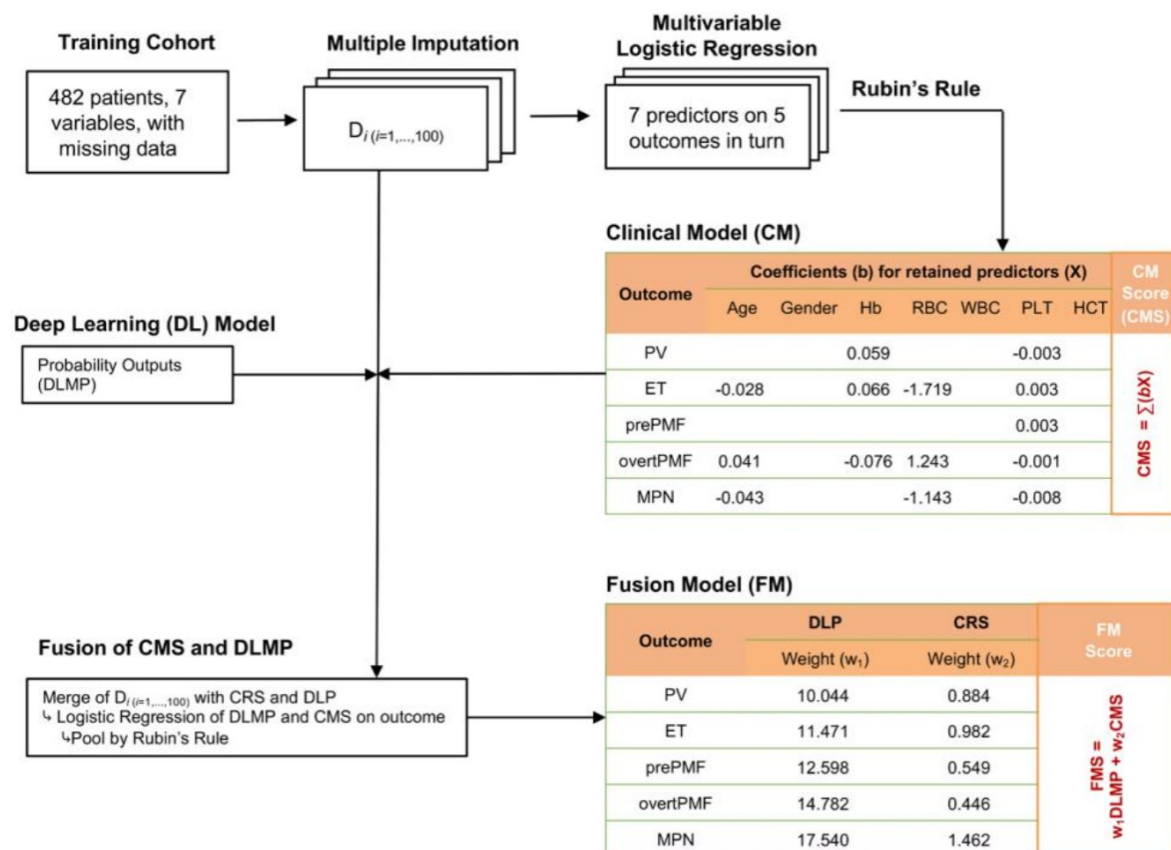
A questo punto il flusso di lavoro è stato diviso in quattro step: SimCLR è un algoritmo di self-supervised contrastive learning che, a partire da immagini non etichettate di BOP, le trasforma (rotazioni, ritagli, distorsioni, etc.) e impara a riconoscere che viste modificate dello stesso campione sono simili, invece quelle di campioni diversi non lo sono, riuscendo così a riconoscere dei pattern; un Multiple Instance Learning (MIL) sceglie le patch che contengono le informazioni importanti e le aggrega; SoftMax converte i valori che ottiene dal livello precedente in probabilità normalizzate di appartenere a una delle 5 classi (4 MPN e 1 non-MPN);

infine, una funzione di costo, la Focal Loss, bilancia le classi sbilanciate andando a penalizzare maggiormente gli errori sulle classi più frequenti e viceversa, migliorando così la generalizzabilità del modello. Ciò che è stato ottenuto alla fine è il cosiddetto DL Model Score (DLMS), quindi il punteggio del modello.

A questo punto si sono concentrati sul modello clinico. I parametri clinici considerati sono stati quelli che erano maggiormente presenti nelle cartelle cliniche: l'età, il sesso, i leucociti, l'emoglobina, gli eritrociti, l'ematocrito e i trombociti. È stato costruito un modello di regressione logistica multivariata: le variabili cliniche che sono state mantenute nel modello sono solo quelle con p-value inferiore a 0.05, ovvero età, emoglobina, eritrociti e trombociti. Il punteggio di questo modello, ossia il CMS (Clinical Model Score) si ottiene dalla somma dei prodotti dei coefficienti di regressione trovati e i relativi regressori.

A questo punto hanno ottenuto un punteggio finale, detto Fusion Model Score (FMS), dato dalla somma dei due precedenti score. In Figura 22 è mostrato un riassunto grafico del processo svolto.

Figura 22 - Immagine estratta dall'articolo di Wang et al.

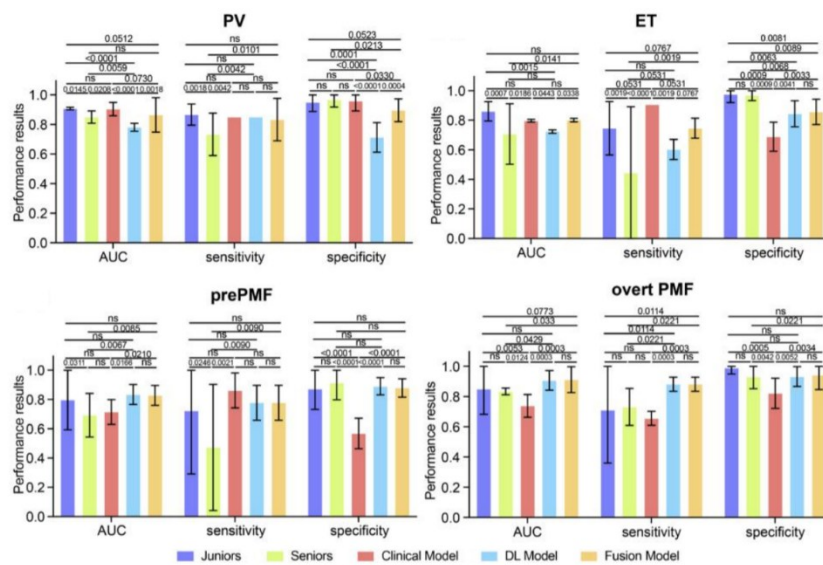


Il modello è stato quindi validato in coorti esterne e i risultati sono stati valutati sulla base dell'AUC delle curve ROC; è stata in aggiunta calcolata la sensibilità, la specificità e l'accuratezza.

Per ogni classe diagnostica, i risultati migliori sono stati ottenuti con il Fusion Model. Solo il Deep Learning Model è stato capace di replicare le sue performance, ma solo per i casi di prePMF e mielofibrosi conclamata.

Per indagare ancora più a fondo sulla sua capacità diagnostica, il modello è stato messo a confronto con le diagnosi di sei ematologi, tre junior e tre senior. Ovviamente il primo punto a favore dei modelli diagnostici è stata la velocità di elaborazione. Complessivamente, in termini di prestazioni diagnostiche, il modello di fusione è comparabile agli ematologi senior e sempre superiore agli junior (Figura 23).

Figura 23 - Immagine estratta dall'articolo di Wang et al.



Questo studio presenta però dei limiti: non sono stati inclusi campioni di midollo osseo colorato con reticolina; non sono stati inclusi campioni di pazienti con fibrosi midollare o con neoplasie mielodisplastiche (MDS); la validazione esterna non è avvenuta in coorti che includevano pazienti provenienti da altre regioni geografiche; in alcuni casi la diagnosi sarebbe potuta essere più di una ma è stato scelto di restringere il range di sottogruppi.

Per considerare anche l'incertezza della diagnosi complessiva di MPN, in futuro il gruppo di ricerca adotterà un approccio bayesiano per ottimizzare ulteriormente l'identificazione della classe patologica.

Conclusa la trattazione su questo lavoro di progettazione di un modello di deep learning a scopo diagnostico, segue nel prossimo capitolo la costruzione di un'architettura AI a scopo prognostico (con l'intenzione di estenderlo anche a scopo terapeutico).

6 – Modello Prognostico

Il trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche è l'unica soluzione che al momento si considera curativa per i pazienti affetti da mielofibrosi. Nonostante ciò, a causa dell'alto grado di mortalità associato a questo trattamento, è richiesta un'analisi di rischi e benefici molto accurata per poter selezionare al meglio i pazienti più adatti e il momento migliore per effettuare la procedura su di essi.

Il gruppo di ricerca di Boluda et al. (2024) ha svolto uno studio incentrato proprio su questo problema e che ha trovato soluzione in un modello di machine learning.

L'obiettivo dello studio è stato quello di costruire un modello prognostico per predire la sopravvivenza globale (Overall Survival, OS) nei pazienti affetti da mielofibrosi sottoposti al trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche. Oltre a ciò, anche il progression-free survival (PFS), ovvero il lasso di tempo in cui le condizioni del soggetto malato non peggiorano, è stato oggetto di stima.

I dati a disposizione provengono da un database dell'European Society for Blood and Marrow Transplantation. Contiene i record di 5183 pazienti con mielofibrosi (sia primaria che secondaria) sottoposti al trapianto tra il 2005 e il 2020 provenienti da 288 diversi centri. Il dataset è stato ovviamente suddiviso in una coorte di training, di cui facevano parte il 75% dei dati, e una di validazione, che conteneva invece il restante 25%. Sono state prese in considerazione 52 variabili cliniche, scelte considerando la loro rilevanza prognostica già evidenziata in studi precedenti.

L'idea è stata quella di sviluppare diversi modelli di machine learning per trovare quale fosse più efficace al compito e metterlo a confronto con una più semplice regressione di Cox addestrata sugli stessi dati e il modello CIBMTR, ossia lo standard del settore che si basa su tre variabili: età, emoglobina al trapianto e tipo di donatore.

Da una parte, dunque, il gruppo di lavoro ha utilizzato un modello multivariato di regressione di Cox includendo le variabili cliniche che presentavano una frequenza non minore del 50% rispetto al totale. L'output è stato uno score prognostico che si basa sulla somma dei punteggi di rischio delle variabili più significative. Ad ognuna di queste, infatti, è stata assegnata una valutazione di 0, 1 o 2 a seconda che il suo

hazard ratio (probabilità che un evento accada all'interno di un gruppo esposto a un fattore di rischio rispetto a un gruppo di controllo) sia minore di 1.25, compreso tra 1.25 e 1.5 o superiore di 1.5. In base al valore totale del punteggio il paziente è stato assegnato a uno dei 4 gruppi di rischio.

Dall'altra parte, invece, hanno sviluppato un modello Random Survival Forest impiegando 1000 alberi. Per la cross validazione è stato campionato al 63% senza reinserimento la stessa coorte di training; successivamente è avvenuta la validazione sulla coorte di test.

Per migliorare la performance sono stati anche esplorati i cosiddetti iperparametri. Questi non sono i valori che vengono appresi dal modello, ovvero i parametri (es. i coefficienti della regressione), ma sono scelti a priori e servono a regolarne la struttura. Sono importanti per bilanciare la complessità e la generalizzabilità del modello, così da evitare underfitting (modello troppo semplice) e overfitting (modello troppo complesso che non generalizza ed è fatto su misura sui dati usati per l'addestramento). Ciò che hanno fatto è stato quindi fare delle prove andando a cambiare i valori di "mtry", ossia il numero di variabili scelte ad ogni split, e "node size", ovvero il numero minimo di campioni per i nodi terminali. Sono stati scelti poi quelli che producevano il modello più accurato e stabile.

Delle 52 variabili cliniche iniziali, quelle che non sono state scartate, considerate quindi significative per la previsione, sono state l'età, l'indice di comorbidità, il Karnofsky Performance Status (una scala di 100 valori che misura l'abilità del paziente a svolgere le semplici azioni quotidiane), la percentuale di blasti nel sangue, il livello di emoglobina, la conta di leucociti e di trombociti, il gruppo sanguigno del donatore, la potenza della terapia chemioterapica usata prima del trapianto e infine la strategia terapeutica adottata per evitare che i linfociti T del donatore attacchino i tessuti del ricevente (profilassi della GVHD).

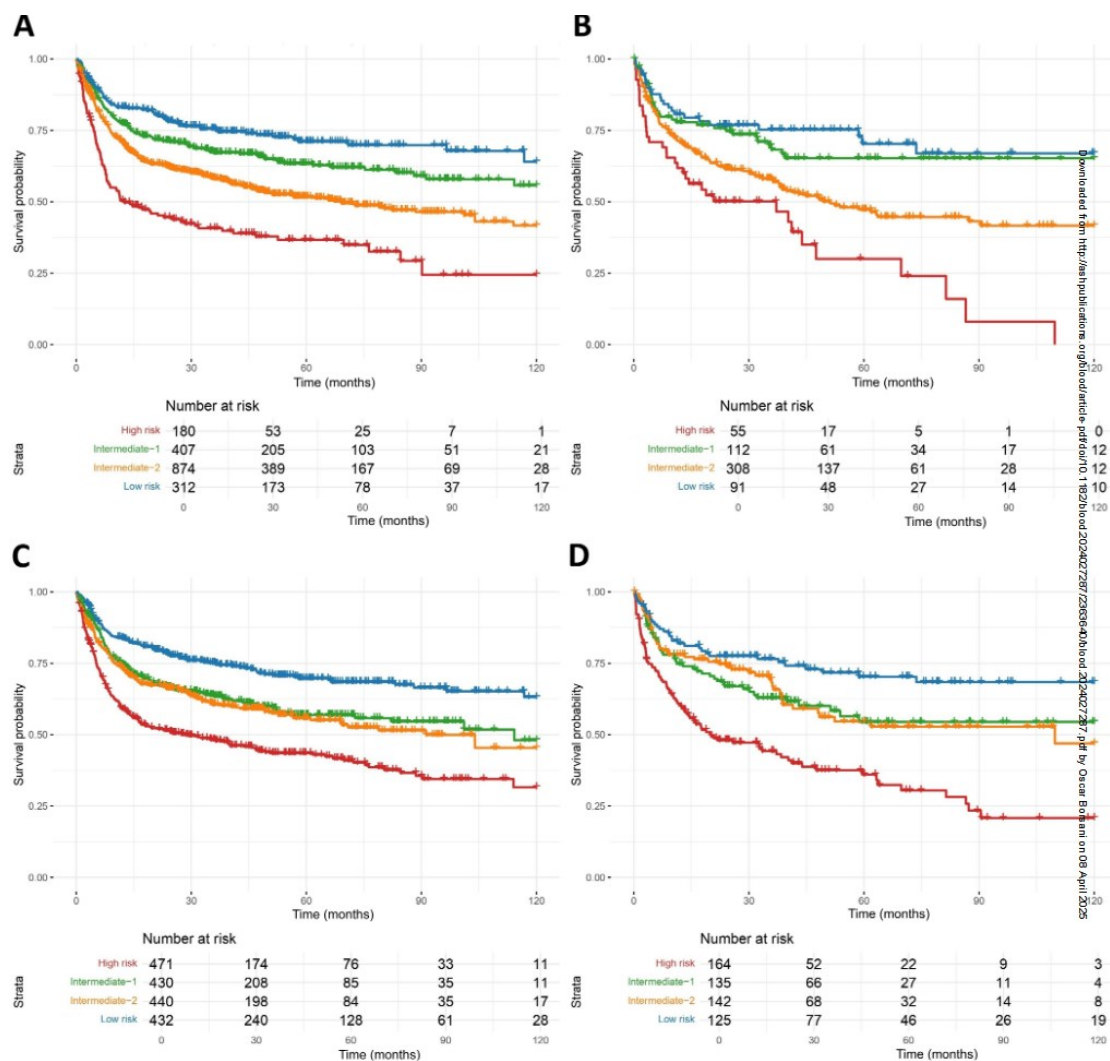
A questo punto, non restava che confrontare il modello RSF con la regressione di Cox e il CIBMTR. Le metriche di valutazione sono state la valutazione del c-index (misura di accuratezza predittiva che valuta quanto bene un modello riesce a discriminare l'ordine degli eventi come morte, trasformazione della malattia, etc.) e l'area sotto la curva ROC tempo dipendente.

In entrambi i casi, il modello RSF ha ottenuto risultati migliori, dimostrando una capacità di stratificazione del rischio più accurata e generalizzabile. Questo si nota soprattutto per la classificazione del gruppo intermedio.

Un'ulteriore cifra di merito impiegata è stata l'Akaike Information Criterion (AIC), che tiene conto sia del fitting che della complessità del modello. Anche in questo caso il modello di machine learning ha avuto la meglio sugli altri due.

Nella Figura 24 si possono vedere illustrate le curve di Kaplan-Meier che mostrano la sopravvivenza globale post trapianto nella stratificazione nei quattro gruppi di rischio. Le immagini A (training) e B (test) riguardano l'Overall Survival del modello di Cox; al contrario, le immagini C e D si riferiscono al modello di machine learning RSF.

Figura 24 - Grafico estratto dall'articolo di Boluda et al.



In seguito, il confronto è stato arricchito dall'applicazione di altri modelli di machine learning al dataset: l'Oblique Random Survival Forest (ORSF), il modello a gradiente XGBoost adattato alla sopravvivenza e DeepSurv, un'architettura AI di deep learning pensata per studi di sopravvivenza. Nonostante questi tre modelli abbiano dimostrato ottime performance, nessuno è riuscito a superare in capacità discriminativa l'RSF.

Si può quindi affermare che questo modello di machine learning basato sulla Random Survival Forest possa essere applicato come strumento clinico vista la sua accuratezza e la possibilità che offre di essere operativo per il singolo paziente, quindi ottimo per la pratica clinica personalizzata. Proprio in merito a questo ultimo punto, il gruppo di ricerca ha addirittura sviluppato un'applicazione web interattiva accessibile a tutti che permette di ottenere una propria stima personalizzata della sopravvivenza a seguito di trapianto allogenico.

Vi era anche l'intenzione di valutarne l'utilizzo a scopo prescrittivo, ma i limiti del modello si evidenziano proprio rispetto alla sua capacità terapeutica. Per verificare ciò, i ricercatori hanno analizzato l'impatto predittivo del tipo di donatore, dell'intensità del regime terapeutico antecedente al trapianto e la profilassi della GVHD. I risultati ottenuti non sono stati però quelli sperati dal momento che nessuna delle opzioni considerate è stata statisticamente significativa.

Un'ultima considerazione da fare rispetto alle problematiche di questo studio riguarda il dataset. Quest'ultimo, infatti, presenta una grande variabilità dovuta ai diversi centri dai quali sono stati presi i record dei pazienti. Sono dunque introdotti fattori di confondimento ignoti che sono impossibili da controllare e soprattutto non rappresentabili esplicitamente dal modello.

Oltre a ciò, diverse variabili clinicamente rilevanti non sono state prese in considerazione vista la loro scarsa presenza nel database. Tra queste spiccano soprattutto quelle di tipo molecolare e genomico. Ad esempio, come è stato ampiamente discusso nei capitoli precedenti, sarebbe stato importante considerare anche l'entità della mutazione driver e il grado di fibrosi del midollo osseo.

Nonostante questi limiti, lo studio di Boluda et al. ha dimostrato come algoritmi di apprendimento automatico possano essere di fatto già impiegati nella pratica clinica

odierna. Inoltre, se si riuscisse a superare i problemi precedentemente evidenziati, questi modelli potrebbero acquisire un'importanza tale da trasformare profondamente l'approccio clinico a questo genere di malattie.

Conclusioni

Il lavoro svolto in questa tesi aveva un duplice scopo. Da un lato è stata compiuta una revisione della letteratura riguardante l'applicazione di modelli di machine learning nell'ambito delle neoplasie mieloproliferative e della loro diagnosi, prognosi e terapia. D'altra parte, è stata condotta un'analisi descrittiva su un ricco database di pazienti affetti da MPN raccolto da un gruppo di ricerca di ematologi del Policlinico San Matteo di Pavia. È stato un lavoro preliminare di uno studio più esteso che si pone l'obiettivo di sviluppare un modello diagnostico per le neoplasie mieloproliferative.

L'analisi svolta sul dataset ha permesso di delineare una prima caratterizzazione della popolazione di studio: sono state evidenziate le distribuzioni delle mutazioni driver, delle diagnosi e dei parametri clinici. Sebbene si sia trattato di un lavoro di statistica descrittiva, ha permesso di preparare il dataset a elaborazioni più avanzate.

Parallelamente, la revisione della letteratura ha evidenziato come diversi tipi di modelli di machine learning siano in grado di trattare dati eterogenei (es. dati clinici, di laboratorio, immagini, etc.) e di predire diversi eventi (es. morte, trasformazione leucemica o mielofibrotica, sopravvivenza, etc.). I modelli trattati hanno ecceduto le aspettative dimostrando sempre performance migliori rispetto agli strumenti tradizionali. È chiaro, dunque, come l'intelligenza artificiale rappresenti il futuro, se non ancora meglio il presente.

Ovviamente, essendo ancora modelli in fase di sviluppo, sono sorti diversi limiti e criticità. Spesso negli articoli analizzati gli autori evidenziavano limiti relativi ai dati utilizzati: i dataset non erano del tutto completi e non erano presenti coorti per la validazione esterna. Di conseguenza, uno dei problemi principali legati a questi modelli è la mancanza di generalizzabilità, poiché non sempre è stata adeguatamente dimostrata.

Le prospettive future sono molteplici. A partire dal dataset fornito dal San Matteo, sarà possibile costruire modelli di machine learning in grado di migliorare la diagnosi delle neoplasie mieloproliferative, predirne le eventuali evoluzioni, stimare la

sopravvivenza e la risposta terapeutica, e infine, supportare i clinici nel prendere le decisioni.

Oltre al valore scientifico, bisogna considerare anche l'importanza sociale: questo genere di strumenti predittivi sarà utile nell'ottimizzazione della gestione clinica e nella riduzione dei costi e dei tempi legati alla diagnosi. La qualità della vita dei pazienti sarà l'aspetto che trarrà i maggiori benefici dall'implementazione di questi modelli; più in generale, l'intero sistema sanitario potrà raccoglierne i frutti a tutti i livelli.

In conclusione, la tesi presentata rappresenta soltanto il punto di partenza di uno studio molto più ampio: dalla revisione della letteratura, alla pulizia e all'analisi dei dati, fino alla prospettiva di modelli predittivi avanzati. Con uno sguardo al futuro, la fusione tra competenze biomediche e modelli di intelligenza artificiale rappresenta non solo una prospettiva promettente, ma soprattutto una necessità clinica per affrontare problemi complessi, come quello rappresentato dalle neoplasie mieloproliferative.

Bibliografia

1.

Grinfeld J, Nangalia J, Baxter EJ, Wedge DC, Angelopoulos N, Cantrill R, et al. Classification and Personalized Prognosis in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med*. 11 ottobre 2018;379(15):1416–30.

2.

Srisuwananukorn A, Krull JE, Ma Q, Zhang P, Pearson AT, Hoffman R. Applications of artificial intelligence to myeloproliferative neoplasms: a narrative review. *Expert Rev Hematol*. ottobre 2024;17(10):669–77.

3.

Ryou H, Sirinukunwattana K, Aberdeen A, Grindstaff G, Stolz BJ, Byrne H, et al. Continuous Indexing of Fibrosis (CIF): improving the assessment and classification of MPN patients. *Leukemia*. febbraio 2023;37(2):348–58.

4.

Mosquera-Orgueira A, Pérez-Encinas M, Hernández-Sánchez A, González-Martínez T, Arellano-Rodrigo E, Martínez-Elicegui J, et al. Machine Learning Improves Risk Stratification in Myelofibrosis: An Analysis of the Spanish Registry of Myelofibrosis. *HemaSphere*. gennaio 2023;7(1):e818.

5.

Woerner J, Huang Y, Hutter S, Gurnari C, Sánchez JMH, Wang J, et al. Circulating microbial content in myeloid malignancy patients is associated with disease subtypes and patient outcomes. *Nat Commun*. 24 febbraio 2022;13(1):1038.

6.

Guleken Z, Ceylan Z, Aday A, Bayrak AG, Hindilerden İY, Nalçacı M, et al. Detection of primary myelofibrosis in blood serum via Raman spectroscopy assisted by machine learning approaches; correlation with clinical diagnosis. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 1 settembre 2023;53:102706.

7.

Guleken Z, Ceylan Z, Aday A, Bayrak AG, Hindilerden İY, Nalçacı M, et al. Application of Fourier Transform InfraRed spectroscopy of machine learning with Support Vector Machine and principal components analysis to detect biochemical changes in dried serum of patients with primary myelofibrosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1 ottobre 2023;1867(10):130438.

8.

Shen Z, Du W, Perkins C, Fechter L, Natu V, Maecker H, et al. Platelet transcriptome identifies progressive markers and potential therapeutic targets in chronic myeloproliferative neoplasms. *Cell Reports Medicine*. 19 ottobre 2021;2(10):100425.

9.

Yang M, Tao B, Chen C, Jia W, Sun S, Zhang T, et al. Machine Learning Models Based on Molecular Fingerprints and an Extreme Gradient Boosting Method Lead to the Discovery of JAK2 Inhibitors. *J Chem Inf Model*. 23 dicembre 2019;59(12):5002–12.

10.

Belenahalli Shekarappa S, Kandagalla S, Lee J. Development of machine learning models based on molecular fingerprints for selection of small molecule inhibitors against JAK2 protein. *Journal of Computational Chemistry*. 2023;44(16):1493–504.

11.

Wang R, Shi Z, Zhang Y, Wei L, Duan M, Xiao M, et al. Development and validation of a deep learning model for morphological assessment of myeloproliferative neoplasms using clinical data and digital pathology. *Br J Haematol*. febbraio 2025;206(2):596–606.

12.

Prediction of Poor Survival after Hematopoietic Cell Transplantation in Myelofibrosis Using Machine Learning Techniques | Blood | American Society of Hematology [Internet]. [citato 16 settembre 2025]. Disponibile su: <https://ashpublications.org/blood/article/144/Supplement%201/3558/529509/Prediction-of-Poor-Survival-after-Hematopoietic>