

Come non perdere le tracce della diagnostica emolinfopatologica

Francesco Merli
Ematologia
ASMN-IRCCS
Reggio Emilia

in collaborazione con:



*Corso di aggiornamento
annuale per operatori
dei registri tumori*

I tumori epato-pancreatici e delle vie urinarie, la comunicazione del rischio, i nuovi flussi informativi e l'aggiornamento dei dati.

8-10 ottobre 2014

Modena

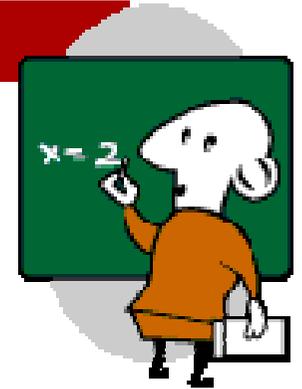
sede da definire



Malattie oncoematologiche

- Gruppo di neoplasie che originano dalle cellule mature del sangue e del sistema immunitario o dai loro precursori:
 - **Linfociti** → Linfomi, Leucemie Linfoblastiche
 - **Plasmacellule** → Mielomi
 - **Polimorfonucleati, G.Rossi, Piastrine** → Leucemie Mieloidi, Mielodisplasie, Sindromi Mieloproliferative.
-

Diagnosi delle malattie oncoematologiche



Biopsia Linfonodale?

Esami di Laboratorio?

Emocromo?

BOM?

Biologia Molecolare?

Immunofenotipo?

Citogenetica?

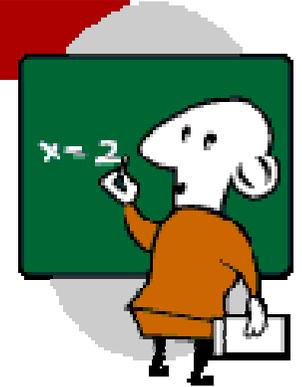
FISH?

Citofluorimetria?

Immunofissazione?

Immunoistochimica?

Malattie oncoematologiche



Dal Caos...

Malattie ad elevato grado di eterogeneità

- Biologia
- Presentazione
- Andamento clinico

.....All'ordine

Utilizzo di sistemi classificativi moderni

Approccio standardizzato al paziente

LINFOMI

- LINFOMI **NON HODGKIN**
 - LINFOMA **di HODGKIN**
-



COSA SONO I LINFOMI

- Neoplasie maligne che originano dai linfociti maturi
 - Presentazione caratteristica con ingrossamento dei linfonodi
 - Possibile interessamento di tutti gli organi extranodali
 - Per definizione si tratta di malattie sistemiche
-

COSA SONO I LINFOMI: Istotipi

I linfomi maligni comprendono

Linfomi non-Hodgkin (LNH)

Linfomi di Hodgkin (LH)

LNH: a seconda dell'andamento clinico esistono forme

Aggressive

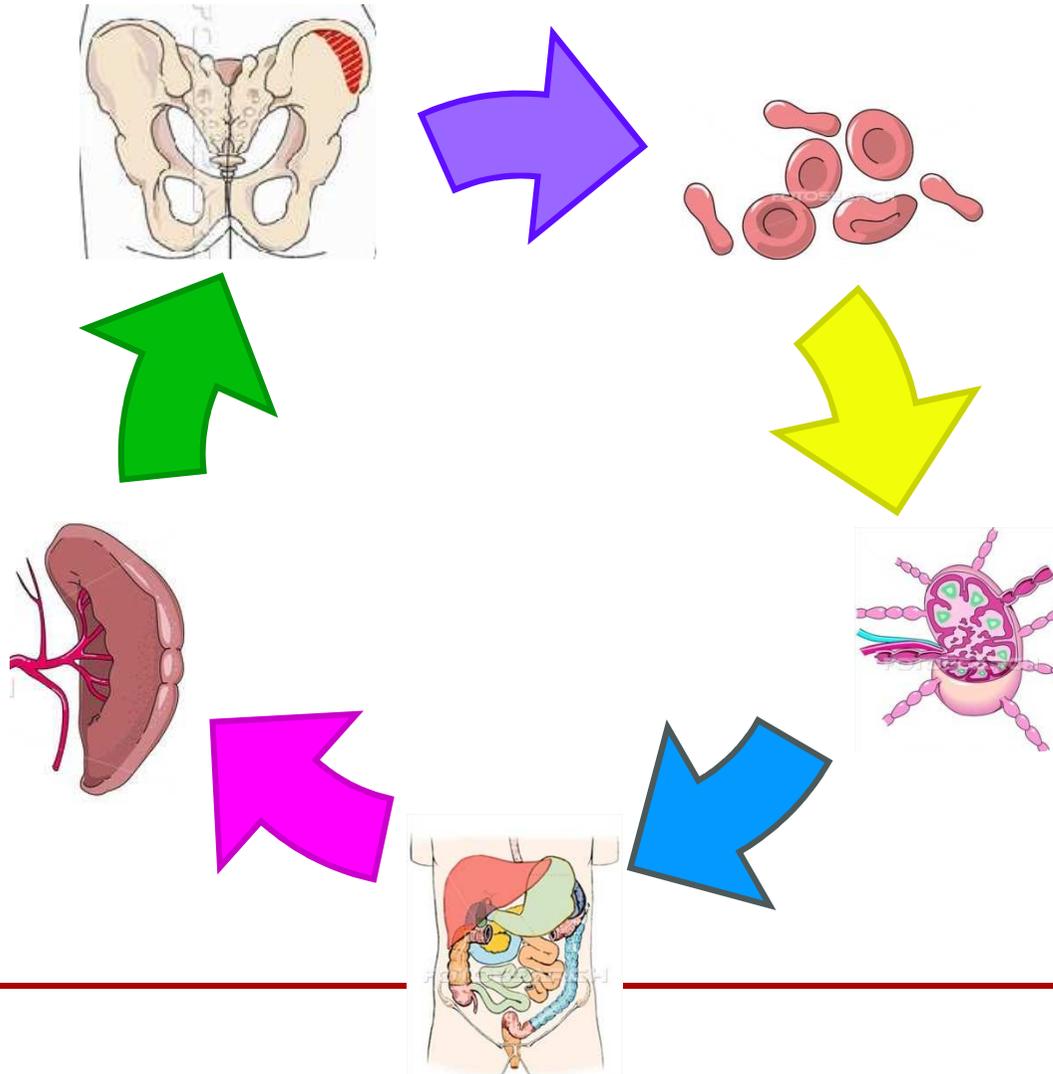
Indolenti

LNH: seconda della cellula di origine si distinguono

forme B

forme T

Linfomi: Gli organi coinvolti



Variabilità clinica. Aspetti pratici

- Approccio diagnostico variabile e adattabile
 - Diagnostica Istologica su LN
 - Diagnostica Istologica su organo EN
 - Diagnostica Istologica su BOM
 - Diagnostica su sospensione cellulare (SM e PB, versamenti, liquor, etc.)
 - Necessità di utilizzare modalità e fonti diagnostiche integrate
 - Stadiazione accurata = migliore cura
 - Adattamento dell'intensità dei trattamenti
 - Identificazione di potenziali rischi
-



Integrazione delle modalità e delle fonti diagnostiche - 1

- **Esame Istologico (Anatomia Patologica)**
 - Linfo nodo, organo EN, BOM,
 - **Esame Immunocitomorfológico (Lab Emocitopatol)**
 - Sangue periferico o midollare, sospensioni cellulari da liquidi o versamenti
-



Integrazione delle modalità e delle fonti diagnostiche - 2

- **Esami di biologia molecolare (Lab Biol. Mol.)**
 - Biopsia diagnostica, sangue periferico o midollare, sospensioni cellulari da liquidi o versamenti
 - **Esami di citogenetica (Lab. Citogenetica)**
 - Biopsia diagnostica, sangue periferico o midollare, sospensioni cellulari da liquidi o versamenti
-

WHO classification

ICD-O-3 (based on WHO classification)

| | |
|-----------|---|
| 9828/9735 | Precursor B-lymphoblastic lymphoma/leukemia |
| 9823/9670 | CLL/Small lymphocytic lymphoma |
| 9671 | Lymphoplasmacytic Lymphoma/Immunocytoma |
| 9699 | Marginal zone B-Cell NHL |
| 9940 | Hairy cell leukemia |
| 9690-9693 | Follicular lymphoma |
| 9673 | Mantle cell lymphoma |
| 9680-9686 | Diffuse large B-cell lymphoma |
| 9687 | Burkitt lymphoma |
| 9829/9737 | Precursor T-lymphoblastic lymphoma/leukemia |
| 9700 | Mycosis fungoides |
| 9702 | Peripheral T-cell lymphomas, unspecified |
| 9705 | Angioimmunoblastic T-cell lymphoma |
| 9714 | Anaplastic large cell lymphoma |
| 9717 | Enteropathy-type T-cell lymphoma |

Clinical group

| |
|-------------------------|
| Precursor B |
| Indolent non follicular |
| Indolent follicular |
| Aggressive |
| Precursor T |
| Indolent non follicular |
| Aggressive |

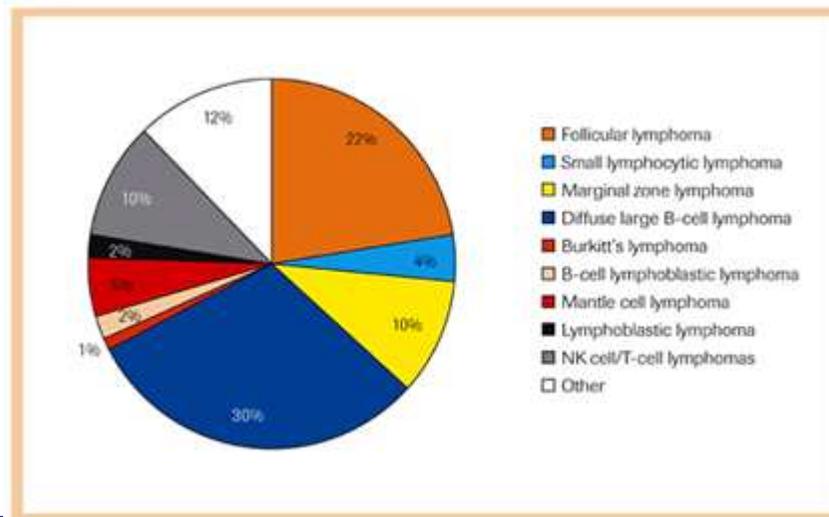
Distribuzione dei Linfomi secondo la WHO

Linfomi Non Hodgkin

| | % |
|-------------------------------------|-----------|
| • Diffuso a Grandi Cellule B | 30 |
| • Follicolari | 22 |
| • Marginal-zone | 8 |
| • Mantellare | 5 |
| • Burkitt | 3 |
| • PTCL unspecified | 7 |
| • Anaplastico | 3 |
| • Primitivo del mediastino | |
| • Linfoblastico precursori T | |
| • Altri | 12 |

Linfomi Hodgkin

| | % |
|----------------------------|---------------|
| • Sclerosi nodulare | 75-80% |
| • Cellularità mista | } 20-25% |
| • Ricco in linfociti | |
| • Deplezione linfocitaria | |



Pathology: a more uniform NHL diagnosis

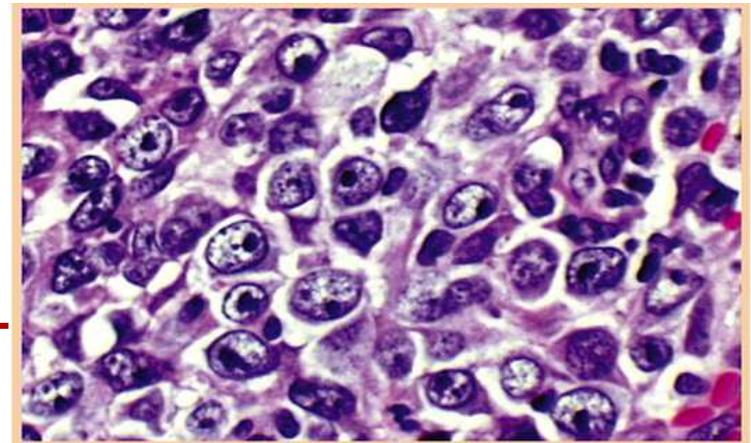
**REAL/ WHO
classification
system blends**

- Histopathology
- Immunophenotype
 - B versus T cell of origin
 - identify rare tumours
 - mantle cell, CD30 positive NHL, etc...
- Cytogenetics/FISH
 - identify characteristic translocations
 - c-myc translocations of Burkitt's NHL
 - t(14:18) in follicular NHL
 - t(11:14) in mantle cell NHL
 - ...

Diagnosi

- può essere effettuata su:
 - **biopsia linfonodale**
 - **biopsia tissutale (organo extranodale)**
 - **biopsia ossea**
- è un processo complesso che deve integrare discipline diverse (anatomo patologo, biologo molecolare, immunoistochimico, citogenetista, citofluorimetrista)

- **Istologia**
- **Immunoistochimica**
- **Biologia molecolare**
- **FISH**



BIOPSIA

(LINFONODALE/ORGANO EXTRANODALE/BOM)

E' l'unico esame che consente la diagnosi certa di linfoma e la definizione dell'istotipo

- esame morfologico
- valutazione immunoistochimica mediante specifici anticorpi che consentono di definire con certezza l'istotipo e la linea linfocitaria del linfoma (B o T)
- valutazione di Ki67 ---> indica la velocità di replicazione cellulare (aggressività del linfoma)

LNH caso clinico

Richiesta del: **23/06/2014**

ESAME ISTOLOGICO

14/22081

NOTIZIE CLINICHE

Biopsia escissionale di voluminosa neoformazione addomianle linfonodale TC-PET captante.

Biopsia

DESCRIZIONE MACROSCOPICA

Pervengono a fresco alcuni frammenti irregolari di tessuto grigio giallastro di complessivi cm 3x0.5x0.4.

Si esegue prelievo per Tissue Bank.

Il materiale residuo viene prelevato in toto in 1 inclusione.

Linfonodale

DESCRIZIONE MICROSCOPICA

Frammenti disgregati di tessuto linfonodale con artefatti da schiacciamento, con struttura diffusamente sovvertita da parte di una popolazione neoplastica linfoide a crescita prevalentemente nodulare, costituita da elementi ad abito centrocitico e da alcuni centroblasti,. Alla caratterizzazione immunoistochimica le cellule neoplastiche hanno mostrato il seguente immunofenotipo: CD20+; CD10+; bcl6+; bcl2+; CD5-; CD3-; con meshwork di cellule follicolari dendritiche CD21+. L'indice di proliferazione cellulare, valutato mediante Ki67/MIB1, è risultato pari al 20% circa, nelle aree maggiormente proliferanti.

DIAGNOSI ISTOLOGICA

Linfoma di derivazione dai linfociti B periferici, follicolare grado 1/2 (secondo WHO 2008), con pattern di crescita di tipo follicolare



Stadiazione

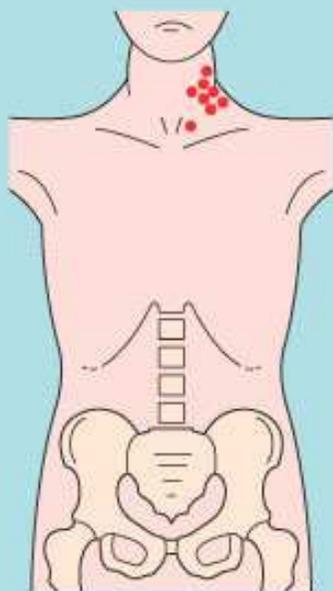
- Modalità di stadiazione basata su:
 - Numero e posizione dei linfonodi
 - Numero e modalità di interessamento dei tessuti extranodali
 - Interessamento del midollo osseo
-

Accuratezza della stadiazione

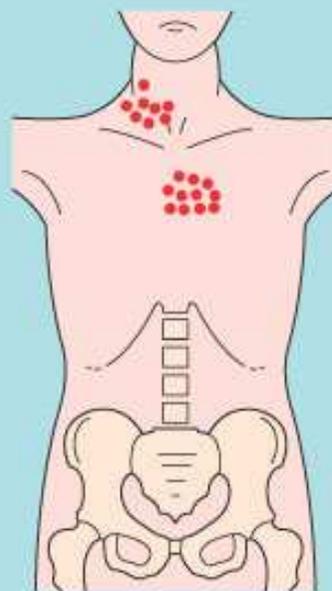
- No TNM
 - Codifica basata su valutazione visiva:
 - TAC collo, torace, addome con mdc
 - Biopsia ossea
 - Migliore sistema disponibile per i linfomi:
 - Utile per la malattia nodale (LH)
 - Scarsa utilità per malattia avanzata (L. Indolenti), extranodale
 - Sistemi alternativi per CLL e MM
-

Accuratezza della Stadiazione

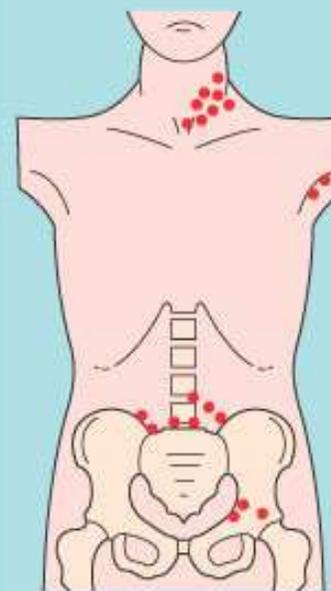
(ESAMI STRUMENTALI: TAC – PET – RM –RX)



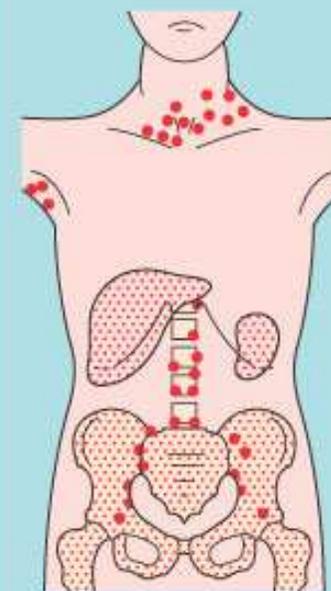
Stadio I:
coinvolgimento
di un singolo linfonodo
o un singolo sito
extralinfatico (I_E)



Stadio II:
coinvolgimento di due o
più linfonodi sullo stesso
lato del diaframma;
può includere
una localizzazione
extralinfatica sullo
stesso lato
del diaframma (II_E)



Stadio III:
coinvolgimento
di regioni
linfonodali su entrambi
i lati del diaframma;
può includere
la milza (III_S) o
la malattia extranodale
(III_E).



Stadio IV:
diffusa malattia
extranodale (fegato,
midollo osseo,
polmone, cute)

NB: se vi è una perdita di peso inspiegabile > 10% del peso abituale nei sei mesi precedenti e/o febbre > 38 °C e sudorazione notturna, la classificazione è B, se assente tale sintomatologia sistemica, A.

Stadiazione (sintomi sistemici)

Sintomi Sistemici:

1. Febbre
2. Sudorazione notturna
3. Calo ponderale
4. (prurito)

A: assenza di sintomi

B: presenza di sintomi

BULKY: linfonodo o agglomerato di linfonodi il cui diametro massimo supera i 10 cm (7 cm secondo Velasquez).

Una massa mediastinica viene definita bulky se ad una radiografia del torace il suo diametro trasverso massimo è $>$ ad $1/3$ del diametro trasverso del torace



Per fare diagnosi di Linfoma.....

- **Biopsia**
Linfonodale/Org.Extranod.
- **BOM**
- **Citofluorimetria su SP/AM**
- **Biologia molecolare**

LE LEUCEMIE

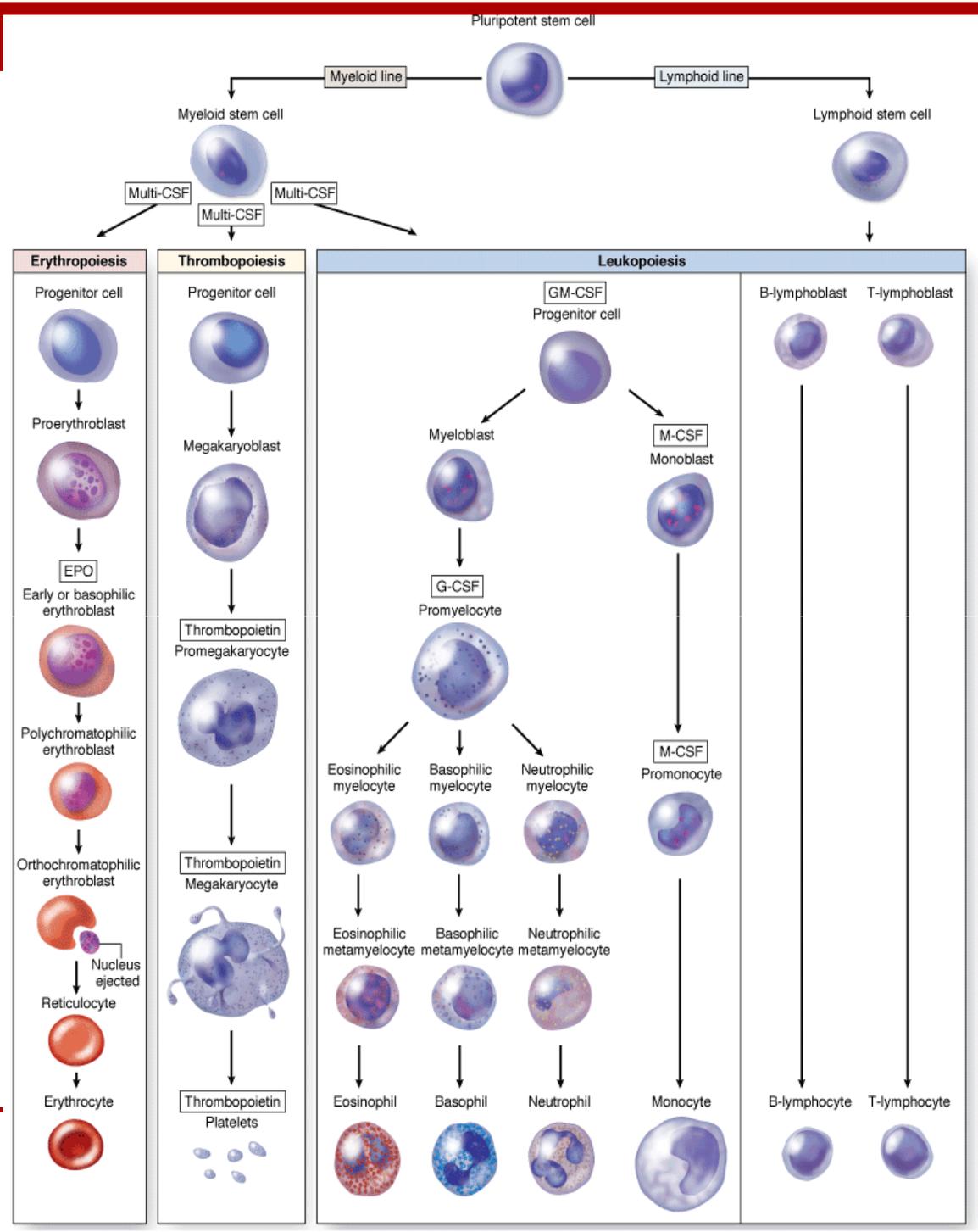
- LEUCEMIE **ACUTE MIELOIDI**
 - LEUCEMIE **ACUTE LINFOIDI**

 - LEUCEMIA **MIELOIDE CRONICA**
 - LEUCEMIA **LINFATICA CRONICA**
-



Leucemie: *definizione*

1. Tumori maligni del sistema emolinfopoietico
 2. Coinvolgono cellule staminali
 3. Derivano da alterazioni geniche
-



Leucemie Acute

Sopravvivenza spontanea misurabile
in mesi

Mieloidi

3,5 casi/100.000/anno

Linfoidi

1,5 casi/100.000/anno

Leucemie Croniche

Sopravvivenza spontanea misurabile
in anni

Mieloidi

1,5 casi/100.000/anno

Linfoidi

4 casi/100.000/anno

LEUCEMIE ACUTE

Patogenesi dei quadri clinico-patologici

Proliferazione di blasti

Sintomi e segni da infiltrazione tumorale di tessuti e organi:

linfonodi, milza, fegato, SNC,
mucose, cute

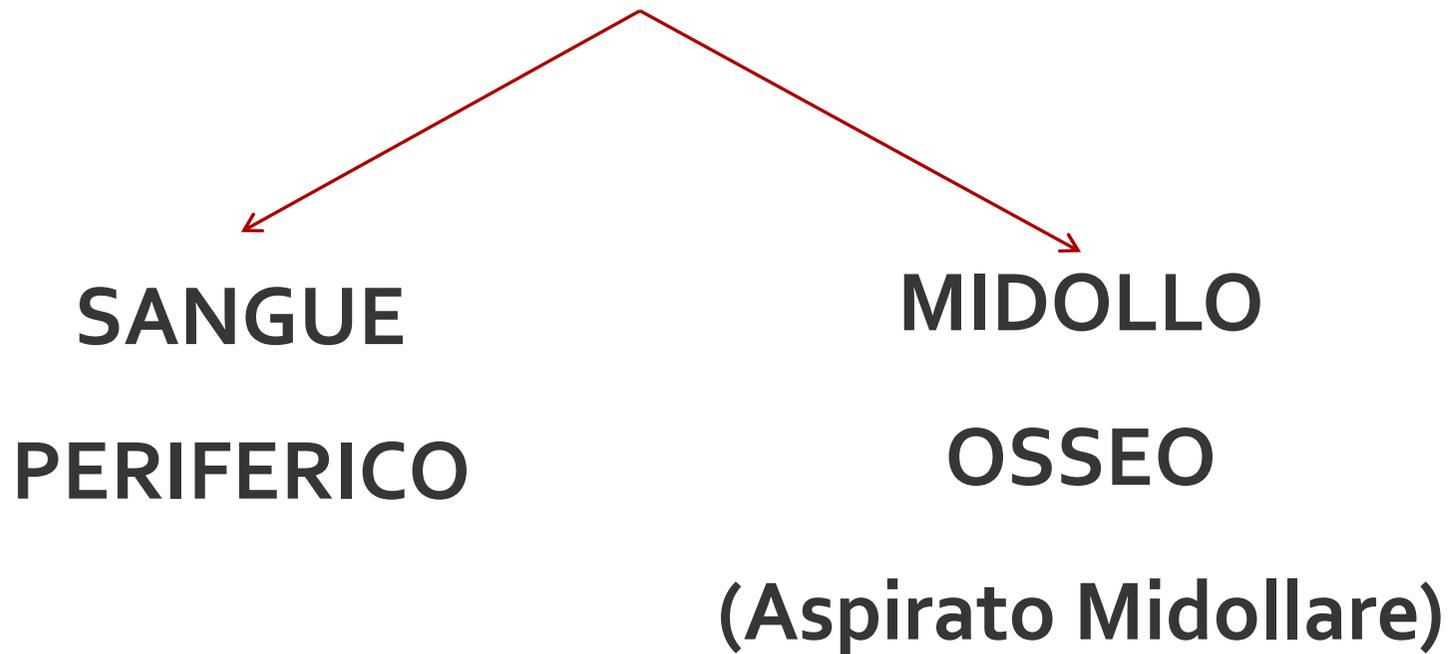
Sintomi e segni da insufficienza midollare:

anemia, neutropenia,
piastrinopenia

Leucemia Acuta Mielodie

Come fare la diagnosi:

LABORATORIO



Sinonimi: Leucemia acuta non linfoide / Sindrome mieloproliferativa acuta

❑ Sangue Periferico

- ❑ NUMERO leucociti nel SP ($>10.000/\mu\text{L}$)
 - ❑ TIPO leucociti circolanti (Formula Leucocitaria): BLASTI MIELOIDI
(rari $<10\%$, più spesso predominanti 50-100%)
 - ❑ la morfologia dei blasti *può* già indicare il tipo di leucemia, ma per la diagnosi è necessario esame del midollo
 - ❑ Livello di Hb ridotto in misura variabile
 - ❑ Spesso piastrinopenia
-

Emocromo

Emocromo

| | | | | |
|--|-----|--------|-------------|----------------|
| Leucociti | *** | 119,80 | x1000/mmc | [4,00 - 10,00] |
| Eritrociti | | 4,34 | milioni/mmc | [4,30 - 5,50] |
| Emoglobina | * | 12,4 | g/dl | [12,5 - 15,5] |
| Ematocrito | | 37,4 | % | [36,0 - 46,0] |
| Volume corpuscolare medio | | 86,0 | fl | [80,0 - 95,0] |
| Contenuto emoglobinico medio | | 28,6 | pg | [26,0 - 32,0] |
| Concentrazione emogl. corpuscolare media | | 33,3 | g/dl | [32,5 - 36,0] |
| RDW | * | 14,3 | % | [11,5 - 14,1] |
| Piastrine | *** | 53 | x1.000/mmc | [150 - 450] |

Formula leucocitaria

| | Valori assoluti | | Valori % | |
|-------------|-----------------|------------------|----------|--------------------|
| Neutrofilii | 19,16 | ***[1,60 - 7,50] | 16,00 | * [40,00 - 75,00] |
| Linfociti | 10,78 | ***[0,80 - 4,50] | 9,00 | * [20,00 - 45,00] |
| Monociti | 35,94 | ***[0,08 - 1,00] | 30,00 | *** [2,00 - 10,00] |
| Eosinofili | 1,19 | ***[0,04 - 0,60] | 1,00 | [1,00 - 6,00] |
| Basofili | 0,00 | [0,00 - 0,15] | 0,00 | [0,00 - 1,50] |

Altri elementi

| | | | | |
|--------|-----|----|---|---------|
| Blasti | *** | 44 | % | [0 - 0] |
|--------|-----|----|---|---------|

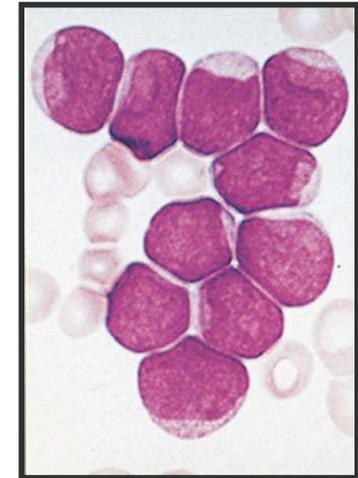
LAM: Come fare la diagnosi: LABORATORIO

❑ Aspirato Midollare

- ❑ Se aspirato midollare povero di cellule: BIOPSIA OSTEOMIDOLLARE (BOM)
- ❑ Cellularità aumentata, scomparsa del tessuto adiposo
- ❑ Infiltrato superiore al 30% (fino alla completa sostituzione da parte di cellule blastiche)
- ❑ BLASTI LEUCEMICI con FENOTIPO MIELOIDE (citofluorimetria)
- ❑ CLASSIFICAZIONE FAB (morfologica)

diversi sottotipi di LAM in base alla linea differenziativa della della popolazione leucemica ed alla completa o parziale soppressione della capacità maturativa del clone neoplastico.

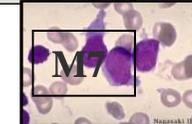
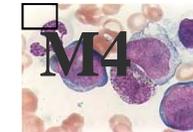
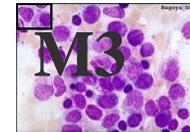
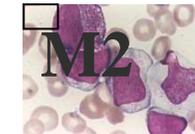
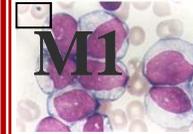
Revisione della FAB (OMS-2008): integrazione del fenotipo morfologico con la presenza di alterazioni citogenetiche e/o molecolari



Morfologia delle cellule blastiche al Microscopio Ottico con colorazione May-Grunwald-Giemsa

LAM: Come fare la diagnosi: LABORATORIO

- M0 Mieloblastica senza maturazione
- M1 Mieloblastica con minima maturazione mieloide
- M2 Mieloblastica con distinta maturazione mieloide
- M3 Promielocitica
- M4 Mielomonoblastica
- M5 Monoblastica
- M6 Eritroblastica
- M7 Megacarioblastica



SINTESI DELLA CLASSIFICAZIONE FAB DELLE LEUCEMIE ACUTE MIELOIDI

| Linea differenziativa delle cellule leucemiche | Frequenza (%) | Morfologia | Citochimica | Immunofenotipo di membrana |
|--|---------------|--|--|----------------------------|
| M1 MIELOBLASTICA senza maturazione | 18 | Blasti (tipo I e II) > 90% | Perossidasi o Sudan B (> 3% blasti positivi) | CD13, CD33 MPO7, (CD14) |
| M2 MIELOBLASTICA con maturazione | 35 | Blasti (tipo I e II) < 90% PMC, MC, MMC e PMN > 10% cellule monocitarie < 20% | Perossidasi o Sudan B (> 20% blasti positivi) | CD13, CD33, MPO7 |
| M3 PROMIELOCITICA TIPICA | 9 | Blasti ipergranulati tipo PMC, con numerosi bastocelli di Auer | | CD13, CD33, MPO7 |
| MICROGRANULARE | 1 | Blasti con nuclei fogliacei bi- o multilobati, con fini granuli. Rari blasti ipergranulati | Perossidasi o Sudan B | CD13, CD33, MPO7 |
| M4 MIELOMONOBLASTICA | 20 | Blasti (tipo I e II) e altre cellule granulocitarie più mature < 80% | Perossidasi o Sudan B Nasde NaF parzialmente resistenti, Anae | CD13, CD33, CD14 |
| M5 MONOBLASTICA | | | | |
| M5a-senza maturazione | 7 | Monoblasti > 80% | Nasde NaF-sensibili Anae | CD14, CD13, CD33 |
| M5b-con maturazione | 6 | Monoblasti, promonociti e monociti > 80% | Nasde NaF-sensibili Anae | CD14, CD13, CD33 |
| M6 ERITROBLASTICA | 3 | Eritroblasti > 50% e blasti (tipo I e II) > 30% delle cellule non eritroidi | Pas (eritroblasti) Perossidasi o Sudan B | CD42 |
| M7 MEGACARIOBLASTICA | 1 | Blasti (tipo I e tipo linfoide) > 30%, marcate mielofibrosi | Perossidasi piastrinica | CD41 |

I blasti tipo I e tipo II sono caratterizzati rispettivamente da assenza e presenza di granulazioni citoplasmatiche. Per la citochimica e per l'immunofenotipo di membrana sono elencati solo gli elementi più comuni e più utili per la diagnosi.

Citogenetica e Biologia Molecolare

- Negli ultimi anni crescente importanza nella caratterizzazione e nella prognosi delle LAM
- Associazioni tra quadri citomorfologici ed aspetti citogenetici
- Alterazioni citogenetiche numeriche e/o strutturali
- Anomalie singole o in associazione
- Frequenza alla diagnosi tra il 60 e il 90%
- Nuova classificazione (OMS/WHO)
 - LAM con anomalie genetiche ricorrenti
 - LAM con displasia multilineare
 - LAM correlate a precedente chemioterapia
 - LAM undefined

Anomalie citogenetiche ricorrenti:

t(8;21)(q22;q22)

t(15,17)(q22;q11-q12)

inv(16)(p13q22)

alterazioni 11q23

Table 2. WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia

Acute myeloid leukemia and related neoplasms

Acute myeloid leukemia with recurrent genetic abnormalities

- AML with t(8:21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1*
- AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
- APL with t(15;17)(q22;q12); *PML-RARA*
- AML with t(9;11)(p22;q23); *MLL T3-MLL*
- AML with t(6;9)(p23;q34); *DEK-NUP214*
- AML with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); *RPN1-EVI1*
- AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13); *RBM15-MKL1*
- Provisional entity: AML with mutated NPM1
- Provisional entity: AML with mutated CEBPA

Acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes

Therapy-related myeloid neoplasms

Acute myeloid leukemia, not otherwise specified

- AML with minimal differentiation
- AML without maturation
- AML with maturation
- Acute myelomonocytic leukemia
- Acute monoblastic/monocytic leukemia
- Acute erythroid leukemia
 - Pure erythroid leukemia
 - Erythroleukemia, erythroid/myeloid
- Acute megakaryoblastic leukemia
- Acute basophilic leukemia
- Acute panmyelosis with myelofibrosis

Myeloid sarcoma

Myeloid proliferations related to Down syndrome

- Transient abnormal myelopoiesis
- Myeloid leukemia associated with Down syndrome

Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm

Classificazione WHO (2008)

The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes
James W. Vardiman,¹ Jürgen Thiele,² Daniel A. Arber,³ Richard D. Brunning,⁴ Michael J. Borowitz,⁵ Anna Porwit,⁶ Nancy Lee Harris,⁷ Michelle M. Le Beau,⁸ Eva Hellström-Lindberg,⁹ Aysalew Tefert,¹⁰ and Clara D. Bloomfield¹¹

Blasti nel sangue e/o nel midollo $\geq 20\%$



Per fare diagnosi di LAM.....

- **Emocromo**
- **Aspirato Midollare (o BOM)**
- **Citofluorimetria su SP/AM**
- **Biologia molecolare**
- **Citogenetica**

LAM: CASO CLINICO

Aspirato Midollare: Mielogramma

EMATOLOGIA

Mielogramma

PREPARATO NUMERO

S 850

Descrizione del preparato

Materiale citogeno discretamente abbondante, frustoli parenchimatosi, fibrina, sangue. Massiccia sostituzione della matrice midollare da parte diblasti, valutabili circa 92% ANC.

Serie Eritrocitogena

Circa 1% ANC.

Serie Mielogena

Circa 4% ANC la serie granulocitica maturante, blasti circa 92% ANC, di medie dimensioni, N/C elevato, cromatina dispersa, citoplasma con fini granulazioni azurofile, talvolta con singoli corpi di Auer,

Serie Trombocitogena

Ipoplasica.

Cellule Linfoidi

Linfociti circa 2% ANC.

Plasmacellule

Circa 1% ANC.

Giudizio

Quadro citomorfologico midollare compatibile con leucemia acuta senza maturazione.

LAM: CASO CLINICO

Aspirato Midollare: Indagini Molecolari

EMATOLOGIA - Indagini molecolari

PCR quantitativo gene WT1

Materiale:

Sangue midollare

Valutazione quantitativa:

12446.8

Risultato della PCR quantitativa del gene WT1 rispetto a 10^4 copie del gene di controllo Abl.

PCR QUANTITATIVA GENE NPM1-A-B-D

Materiale:

Sangue midollare

PCR quantitativa del gene NPM1-A

942,000 %

Risultato della PCR quantitativa del gene NPM1-A rispetto al gene di controllo abl per 100.

PCR quantitativa del gene NPM1-B

< 10 copie di NPM1-B

Sensibilita' del metodo: 10 copie NPM1-B

Risultato della PCR quantitativa del gene NPM1-B rispetto al gene di controllo abl per 100.

PCR quantitativa del gene NPM1-D

9.3

Risultato della PCR quantitativa del gene NPM1-D rispetto al gene di controllo abl per 100.

RICERCA MUTAZIONI FLT3

Materiale:

Sangue midollare

Mutazione FLT3 ITD

Assente

Mutazione FLT3 TKD

Assente

RICERCA TRASCritto AML1-ETO

Materiale:

Sangue midollare

Trascritto AML1-ETO t (8;21)

Negativa

E' stata eseguita l'estrazione di RNA e l'analisi mediante tecniche di Nested-PCR e rivelazione su gel di agarosio.

LAM: CASO CLINICO

Aspirato Midollare: Tipizzazione Linfocitaria

Tipizzazione Linfocitaria

IMMUNOFENOTIPO SU SANGUE MIDOLLARE

| | | |
|---|------|---|
| ad alta fluorescenza/basso SSC (pop. linfoide) | 2,0 | % |
| a debole fluorescenza/alto SSC (p granulocitaria) | 2,0 | % |
| a debole fluorescenza/basso SSC (blasti) | 94,0 | % |
| altre componenti CD 45- (cellule nucleate eritroidi, detriti, stromi, piastrine) | 2,0 | % |

POPOLAZIONE ESAMINATA

L'analisi del mielogramma citometrico ottenuto in base alla valutazione della intensità di fluorescenza del CD 45 e della complessità cellulare (CD45/SSC), permette di identificare le seguenti popolazioni.

Blasti, corrispondenti al 94% della popolazione midollare totale.

DESCRIZIONE CELLULE DI ACCOMPAGNAMENTO

Residua una popolazione di linfociti maturi, corrispondenti al 2% con il seguente fenotipo:
CD3+=52, CD3/4=48, CD3/8=4, CD20+=21, CD10+=2, CD19+=23.

TECNICA UTILIZZATA

Immunofluorescenza a 5 colori

GATE:

CD 45/SSC

INDICAZIONE

Leucemia acuta

| Tempo | Prima osservazione | |
|--------|--------------------|---|
| CD 4 | Negativo | % |
| CD 8 | Negativo | % |
| CD 3 | Negativo | % |
| CD 19 | Negativo | % |
| CD 2 | Negativo | % |
| CD 20 | Negativo | % |
| CD 5 | Negativo | % |
| HLA-DR | Negativo | % |
| CD 34 | Negativo | % |
| CD 117 | Positivo | % |
| CD 10 | Negativo | % |
| CD 14 | Negativo | % |
| CD 45 | Positivo | % |

| | | |
|-------|----------|---|
| CD 13 | Negativo | % |
| CD 33 | Positivo | % |
| CD 7 | Negativo | % |
| CD 61 | Negativo | % |

Giudizio:

Immunofenotipo compatibile con Leucemia mieloide acuta senza maturazione.

Leucemie Acute Linfoblastiche (LAL)

- Frequenza maggiore nei bambini: sono il tumore in assoluto più frequente in età pediatrica
 - 80% B-Linfocitarie (20% Ph+) 20% T-Linfocitarie
 - Linfadenomegalie (superficiali, mediastiniche)
 - Splenomegalia
 - Sistema nervoso centrale
-

❑ **Sangue Periferico**

- ❑ NUMERO leucociti nel SP (da 10.000/ μ L a oltre 10.000/ μ L) nei 2/3 dei casi, negli altri normale o ridotto
 - ❑ Hb ridotta nei 3/4 dei casi
 - ❑ Piastrine ridotte nei 4/5 dei casi
 - ❑ BLASTI CIRCOLANTI
-

CRITERI MORFOLOGICI (FAB)

- L1. Linfoblasti piccoli, morfologicamente omogenei (bambini)**
- L2. Linfoblasti morfologicamente eterogenei (adulti)**
- L3. Linfoblasti Iperbasofili e Vacuolati (rara, meno del 5%)**

Possibili anche quadri morfologici misti

LAL: Come fare la diagnosi: LABORATORIO

Categorie Immunofenotipiche

1. LAL della LINEA B

categoria **B1** (PRO B)

categoria **B2** (PRE B comuni)

categoria **B3** (PRE B)

categoria **B4** (B matura)

- LAL della LINEA T

categoria **T1** (protimociti)

categoria **T2** (timociti corticali)

categoria **T3** (timociti midollari)

| | B1 | B2 | B3 | B4 | T1 | T2 | T3 |
|--------|-----|-----|-----|----|-----|-----|----|
| CD19 | ± | + | + | + | - | - | - |
| CD22 | (+) | (+) | (+) | ± | - | - | - |
| CD10 | - | + | + | + | - | - | - |
| CD24 | - | + | + | + | - | - | - |
| CiγM | - | - | + | + | - | - | - |
| SmIg | - | - | - | + | - | - | - |
| HLA-DR | + | + | ± | + | - | - | + |
| TdT | + | + | ± | - | + | + | + |
| CD7 | - | - | - | - | (+) | (+) | + |
| CD3 | - | - | - | - | ± | + | + |
| CD5 | - | - | - | - | - | + | + |
| CD2 | - | - | - | - | ± | + | - |
| CD1 | - | - | - | - | - | + | ± |
| CD4 | - | - | - | - | - | + | ± |
| CD8 | - | - | - | - | - | + | ± |

CiγM = catene pesanti μ intracitoplasmatiche; SmIg = Immunoglobuline di membrana; TdT = desossinucleotidiltransferasi terminale; (+) la positività può essere intracitoplasmatica; (±) può essere positivo o negativo.

Le forme B-linfocitarie si distinguono in pre-B comuni (B2), pre-B (B3) e B-mature (B4).

Le forme T-linfocitarie si distinguono in T1 (protimociti), T2 (timociti corticali) e T3 (timociti midollari).

Si ricordi tuttavia che le classificazioni di questo tipo danno la possibilità di creare un numero variabile e anche molto grande di categorie immunofenotipiche, che non devono mai essere intese rigidamente (nella stessa leucemia possono coesistere immunofenotipi diversi, anche ibridi, linfoide e mieloidi insieme).



Per fare diagnosi di LAL.....

- **Emocromo**
- **Aspirato Midollare (o BOM)**
- **Citofluorimetria su SP/AM**
- **Biologia molecolare**
- **Citogenetica**

LAL: CASO CLINICO

Emocromo

EMATOLOGIA

EMOCROMO

| | | | | |
|--|-----|-------|------------------|-----------------|
| Leucociti | *** | 27,96 | x1.000/ μ l | [4,00 - 10,00] |
| Eritrociti | *** | 2,55 | milioni/ μ l | [4,50 - 6,00] |
| Emoglobina | * | 8,1 | g/dl | [14,0 - 17,5] |
| Ematocrito | *** | 24,2 | % | [40,0 - 52,0] |
| Volume corpuscolare medio | | 94,8 | fl | [80,0 - 95,0] |
| Contenuto emoglobinico medio | | 31,7 | pg | [26,0 - 32,0] |
| Concentrazione emogl. corpuscolare media | | 33,5 | g/dl | [32,5 - 36,0] |
| Distribuzione del volume eritrocitario | *** | 19,0 | % | [11,5 - 14,1] |
| Piastrine | *** | 120 | x1.000/ μ l | [150,0 - 450,0] |

Formula al microscopio

| | | Valori % | | | Valori assoluti | |
|---------------|-----|----------|-----------------|-----|-----------------|---------------|
| Neutrofili | * | 32,00 | [40,00 - 75,00] | * | 8,94 | [1,60 - 7,50] |
| Linfociti | * | 10,00 | [20,00 - 45,00] | | 2,79 | [0,80 - 4,00] |
| Monociti | *** | 1,00 | [2,00 - 10,00] | | 0,27 | [0,08 - 1,00] |
| Eosinofili | *** | 0,00 | [1,00 - 6,00] | *** | 0,00 | [0,04 - 0,60] |
| Basofili | *** | 2,00 | [0,00 - 1,50] | *** | 0,55 | [0,00 - 0,15] |
| Metamielociti | | *** | 3,0 | | | [0 - 0] |
| Linfoblasti | * | 52,0 | % | | | [0,0 - 0,0] |

Aspirato Midollare: Mielogramma

Mielogramma

PREPARATO NUMERO

T 401

Descrizione del preparato

Materiale citogeno abbondante, frustoli parenchimatosi ad elevata cellularità, sangue midollare, fibrina, scarsa componente adiposa. Sostituzione della matrice midollare da parte di una popolazione di blasti, valutabile circa 70% ANC.

Serie Eritrocitogena

Circa 7% ANC, maturante.

Serie Mielogena

Circa 18% ANC, maturante.

Serie Trombocitogena

Discretamente rappresentata.

Cellule Linfoidi

Linfociti circa 5% ANC. Circa 70% ANC la quota di Linfoblasti, costituiti da elementi di taglia medio-grande, citoplasma basofilo, contorno nucleare irregolare, cromatina finemente dispersa, nucleoli evidenti.

Giudizio

Quadro citomorfologico midollare compatibile con Leucemia Linfoblastica acuta.

Aspirato Midollare: Indagini Molecolari

EMATOLOGIA - Indagini molecolari

RICERCA TRASCritto BCR ABL(LMC)

Materiale:

Trascritto BCR-ABL t (9;22)

Sangue midollare

lieve positività

e1-a2 = 190 bp per p190

COMMENTO : banda molto flebile.

LAL: CASO CLINICO

Aspirato Midollare: Tipizzazione Linfocitaria

Tipizzazione Linfocitaria

IMMUNOFENOTIPO SU SANGUE MIDOLLARE

| | | |
|---|------|---|
| ad alta fluorescenza/basso SSC (pop. linfoide) | 4,0 | % |
| a debole fluorescenza/alto SSC (p granulocitaria) | 14,0 | % |
| a debole fluorescenza/basso SSC (blasti) | 50,0 | % |
| altre componenti CD 45- (cellule nucleate eritroidi, detriti, stromi, piastrine) | 29,0 | % |

POPOLAZIONE ESAMINATA

Blasti, corrispondenti al 50% della popolazione midollare totale.

DESCRIZIONE CELLULE DI ACCOMPAGNAMENTO

Linfociti maturi, corrispondenti al 4% della popolazione totale mostrano il seguente immunofenotipo: CD3=54%; CD3/4=29%; CD3/8=25%.

TECNICA UTILIZZATA

Immunofluorescenza a 5 colori

GATE:

CD 45/SSC

INDICAZIONE

Sospetta LA

| Tempo | Prima osservazione | |
|---------------|--------------------|---|
| CD 3+ / CD 4+ | Negativo | % |
| CD 3 | Negativo | % |
| CD 19 | Positivo | % |
| CD 2 | Negativo | % |
| CD 20 | Negativo | % |
| CD 5 | Negativo | % |
| HLA-DR | Positivo | % |
| CD 34 | Positivo | % |
| CD 117 | Negativo | % |
| CD 10 | Positivo | % |
| CD 14 | Negativo | % |
| CD 45 | Positivo | % |
| CD 13 | Negativo | % |
| CD 33 | Negativo | % |
| CD 7 | Negativo | % |
| CD 61 | Negativo | % |

Giudizio:

Immunofenotipo compatibile con leucemia acuta linfoblastica
CALLA

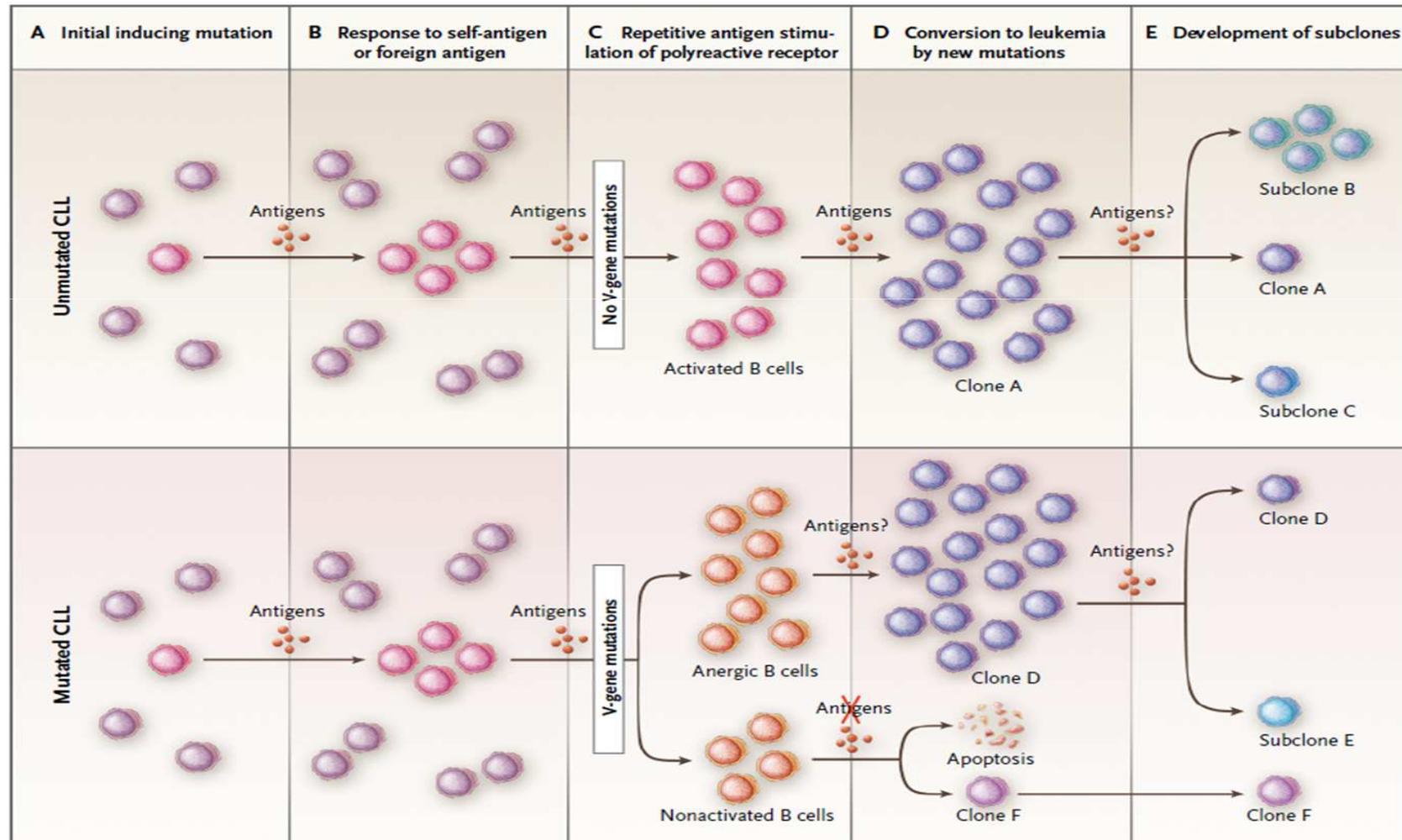
LEUCEMIE CRONICHE

Leucemia Linfática Crônica (LLC)



Patogenesi

- Proliferazione clonale e accumulo di cellule B mature CD5+ nel sangue, midollo osseo, linfonodi e milza



Diagnosi

Diagnosi di CLL:

- 1) $\geq 5.000/\mu\text{L}$ linfociti B nel sangue periferico
- 2) per almeno 3 mesi
- 3) clonalità confermata da studio immunofenotipico



CD5+, CD19+, CD20+, CD23+

- livelli CD20, CD79b e Ig di superficie < rispetto cell. B normali
- restrizione monoclonale nella espressione delle catene leggere delle Ig

Diagnosi

La diagnosi di CLL si effettua su:

SANGUE PERIFERICO

Indagini da effettuare:

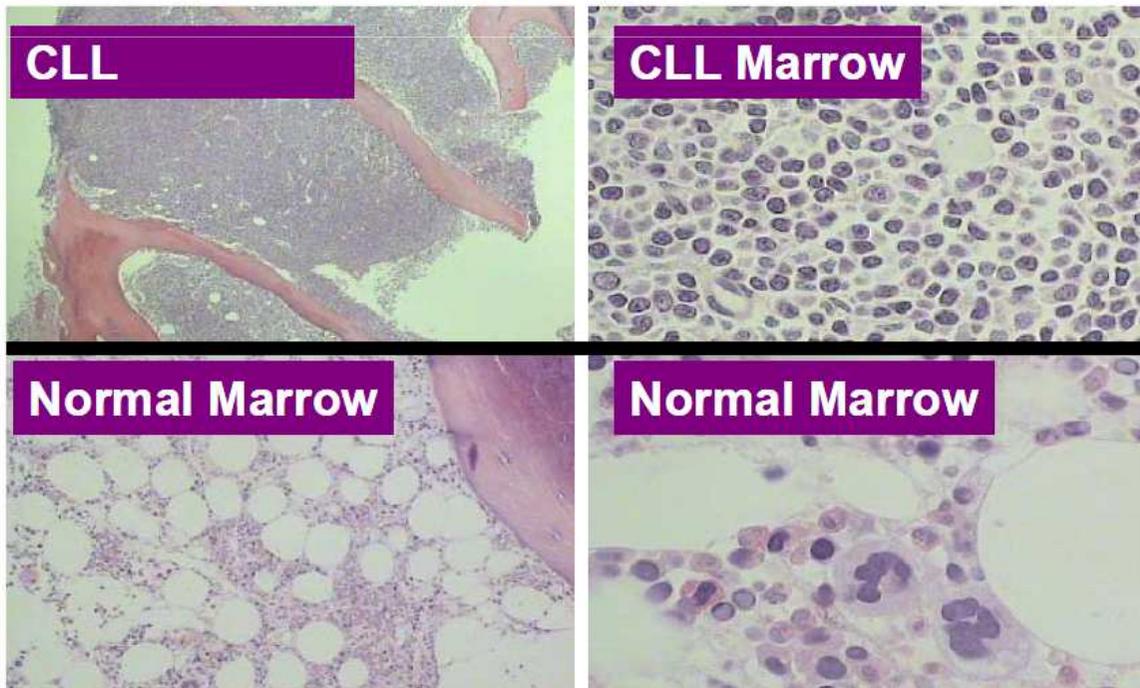
Conta Linfocitaria – Striscio di SP – Immunofenotipo

Diagnosi- Altri test

BOM

- Nella LLC più del 30% delle cellule nell'aspirato midollare sono linfoidi
- **Non è necessaria per effettuare la diagnosi di LLC**

Bone Marrow in CLL



Diagnosi- Altri Test

- Non sono necessari per effettuare diagnosi di LLC
- Utili per definire la prognosi e/o la valutazione del tumor burden
 - **CITOGENETICA**
 - **STATO MUTAZIONALE IgV_H**
 - **MARCATORI SOLUBILI**
 - **INFILTRAZIONE MIDOLLARE**
- Generalmente non raccomandati nella routine clinica (ad eccezione della citogenetica) al fine della scelta terapeutica
- Spesso richiesti se paziente in protocollo
- Alcuni parametri sono utili per stabilire la prognosi individuale ma l'indicazione al trattamento si basa sullo stadio clinico della malattia e sullo stato di attività della malattia

Diagnosi- Altri test - CITOGENETICA

- Lesioni citogenetiche identificate nell'80% dei casi
- Alcune delezioni cromosomiali sono correlate alla prognosi (studi clinici prospettici)
- Utilizzo della citogenetica al fine terapeutico solo all'interno di studi clinici
- Altri difetti genetici possono essere acquisiti successivamente alla diagnosi
- Metodica: **FISH**

Diagnosi- Altri test - CITOGENETICA

- **del(13q14.1)**
 - più frequente, **55%** dei casi
- **del(11q)**
 - nel **25%** dei casi cht-naive in stadio avanzato
 - nel **10%** dei casi cht-naive in stadio precoce
- **del(6q)**
- **Trisomia cromosoma 12**
 - nel **10-20%** dei casi
- **del(17p)**
 - nel **5-8%** dei casi cht-naive
- **mutazioni somatiche**
 - geni: NOTCH1, MYD88, TP53, ATM, SF3B1, FBXW7, POT1, CHD2

Diagnosi - Altri test

Stato Mutazionale gene IgVh

- Cellule LLC possono avere mutazioni somatiche della regione variabile del gene che codifica per le catene pesanti delle Ig (gene IgV_H)
- Outcome dei pazienti con gene IgV_H **non mutato** è inferiore a quello dei pazienti con gene IgV_H mutato (Damle RN et al, Blood 1999; Hamblin TJ et al, Blood 1999)
- Espressione del gene VH3.21 è un marker prognostico sfavorevole indipendente dallo stato mutazionale di IgV_H (Thorselius M et al, Blood 2006)

ZAP-70 - CD38

- Espressione di ZAP70 e CD38 correlano con l'espressione di IgVH non mutato (markers prognostici sfavorevoli), anche se non in senso assoluto

Metodi di Stadiazione: Rai e Binet

Metodo di Rai

Metodo di Binet

Stadiazione CLINICA:
richiedono esecuzione di visita clinica
ed esami ematici standard

NON richiedono esami strumentali:
(TAC, ECO, RM)

**Individuano delle categorie
di rischio prognostico**

Entrambi utilizzati sia nella pratica clinica che
nei protocolli sperimentali

Stadiazione di Rai modificata

| Stadio | Stadio Modificato | Caratteristiche | Sopravvivenza mediana (anni) |
|--------|--------------------|------------------------------------|------------------------------|
| 0 | Rischio Basso | Linfocitosi | >10 |
| I | Rischio Intermedio | Linfoadenomegalie Splenomegalia | 7-9 |
| II | | | |
| III | Rischio Alto | Hb < 10 Piastrine < 100.000 | 2-5 |
| IV | | | |

Stadiazione di Binet

| Stadio | Emocromo (Hb, Piastrine) | Numero sedi coinvolte* | Sopravvivenza mediana (anni) |
|--------|--|------------------------|------------------------------|
| A | Hb \geq 10 g/dL Piastrine \geq 100x10 ⁹ /L | 1-2 | > 10 |
| B | Hb \geq 10 g/dL Piastrine \geq 100x10 ⁹ /L | 3-5 | 7 |
| C | Hb < 10 g/dL e/o Piastrine < 100x10 ⁹ /L | qualsiasi | 5 |

*Si considerano

1= linfonodi collo

2= linfonodi ascellari (se coinvolti bilateralmente il numero delle sedi coinvolte è 1)

3=linfonodi inguinali (se coinvolti bilateralmente il numero delle sedi coinvolte è 1)

4=milza palpabile

5=fegato palpabile

Presentazione Clinica

Presentazione clinica più frequente:

- LINFOCITOSI ASINTOMATICA e/o
- LINFOADENOPATIE e/o
- SPLENOMEGALIA e/o
- ANEMIA e/o
- PIASTRINOPENIA



Per fare diagnosi di LLC.....

- **Emocromo**
- **Citofluorimetria su SP/AM**
- **Aspirato Midollare (o BOM)**
- **Biologia molecolare**
- **Citogenetica**



Leucemia Mieloide Cronica (LMC)

Malattie mieloproliferative croniche

- Leucemia mieloide cronica: iperproduzione di granulociti +/- piastrine
- Mielofibrosi con metaplasia mieloide: iperproduzione di granulociti +/- piastrine (fase iniziale)
- Policitemia vera: iperproduzione di eritrociti, piastrine, granulociti
- Trombocitemia essenziale: iperproduzione di piastrine

Tipiche dell'età adulta: età mediana 55 – 65 anni

Myeloproliferative disorders

CHRONIC
MYELOGENOUS
LEUKEMIA
(CML)

IDIOPATIC
MYELOFIBROSIS
(IMMM)

POLICITEMIA
VERA (PV)

ESSENTIAL
THROBOCYTEMA
(TE)

DISEASE SEVERITY

GENETIC INSTABILITY

L.M.C. - QUADRI CLINICO-PATOLOGICI

- **ASINTOMATICA NEL 50% DEI CASI
(DIAGNOSI "CASUALE")**
- **SPLENOMEGALIA**
- **ANEMIA MODERATA**
- **FEBBRICOLA E ALTRI SINTOMI GENERALI**
- **ESAME EMOCROMOCITOMETRICO E
MORFOLOGICO DEL SANGUE PERIFERICO**

L. M. C.

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO E MORFOLOGICO DEL SANGUE PERIFERICO

- **Hb: NORMALE O LIEVEMENTE RIDOTTA, RARAMENTE MOLTO RIDOTTA**
- **PIASTRINE: RARAMENTE RIDOTTE, SPESSO NORMALI, PIU' SPESSO AUMENTATE**
- **LEUCOCITI: SEMPRE AUMENTATI DA 20.000 A 500.000**
- **FORMULA: METAMIELOCITI, MIELOCITI, PROMIELOCITI, MIELOBLASTI**

L. M. C.

DIAGNOSI CITOGENETICA

- **IL CROMOSOMA DI PHILADELPHIA
(Ph) t (9; 22)**

DIAGNOSI MOLECOLARE

- **IL TRASCritto DEL GENE DI
FUSIONE BCR-ABL**

L. M. C.

| | FASE CRONICA ESORDIO | FASE CRONICA REMISSIONE | FASE ACCELERATA | FASE BLASTICA |
|---|-------------------------------------|--|----------------------------|--------------------------|
| Hb g/dl | 8 - 15 | 12 - 15 | < 12 | < 8 |
| PIASTRINE x 10⁹/L | 100-1000 | 200 | 50 - 1000 | < 50 |
| LEUCOCITI x 10⁹/L | 20 - 500 | < 10 | > 10 | > 50 |
| MIELOBLASTI | < 10% | 0 | 10 - 20% | > 20% |



Per fare diagnosi di LMC.....

- **Biologia molecolare su Aspirato Midollare o Sangue Periferico**
- **Citogenetica su AM**

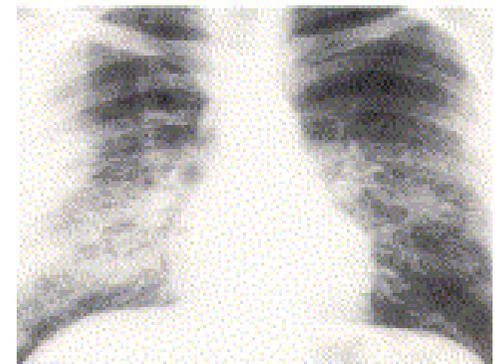
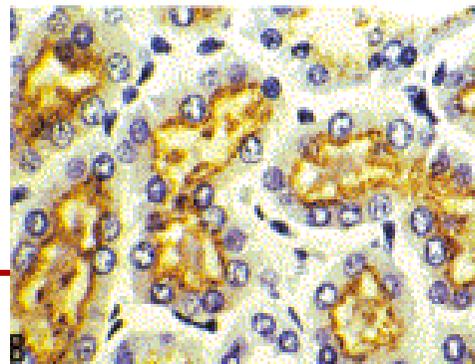
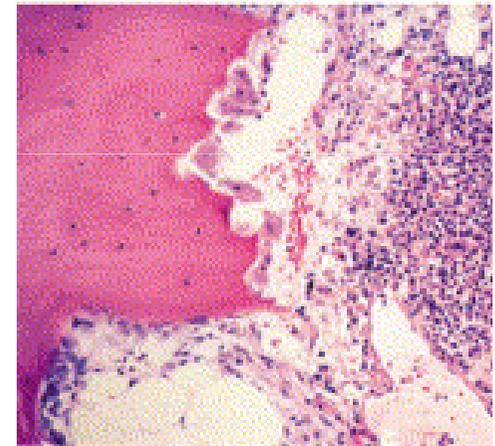
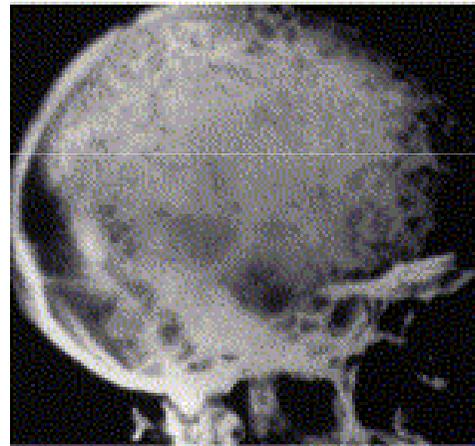
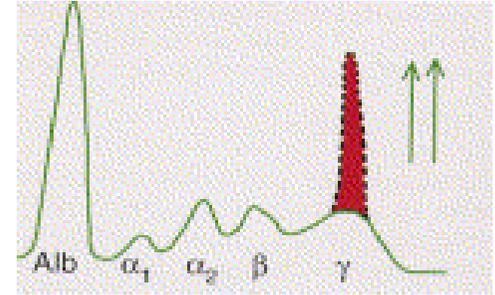
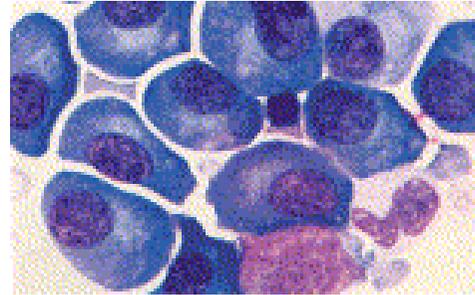
MIELOMA MULTIPLO

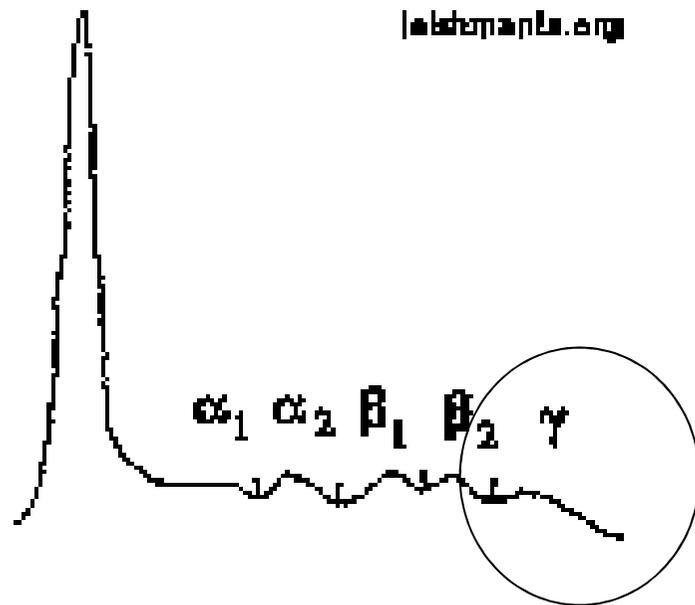
Mieloma Multiplo

Malattia tumorale a elettiva localizzazione del midollo osseo, dovuta alla proliferazione di un singolo clone plasmacellulare, che produce, nel 90% dei casi una elevata quantità di una immunoglobulina monoclonale (> IgG e IgA), documentabile nella maggioranza dei casi all'esame elettroforetico delle proteine sieriche

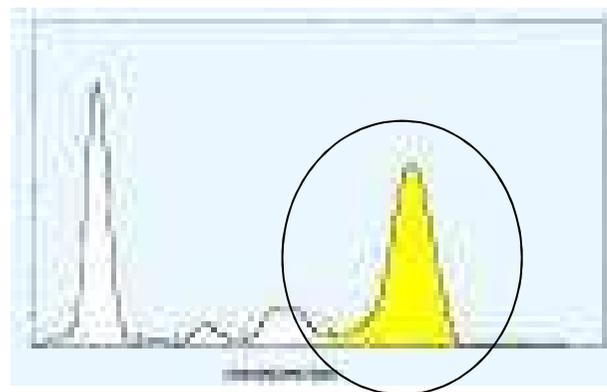
Mieloma Multiplo: clinica

- Interessamento scheletrico
- Insufficienza renale
- Insufficienza midollare
- Infezioni
- Sintomi neurologici
- Sindrome da iperviscosità
- Amiloidosi





**Elettroforesi
delle proteine
sieriche
normale**



**Mieloma (picco
monoclonale in
zona gamma)**

Varianti cliniche

- Mieloma multiplo
 - Mieloma non secernente
 - Mieloma micromolecolare (catene leggere κ/λ)
 - Mieloma non secernente non produttore
 - Plasmocitoma solitario dell'osso o plasmocitomi a sede extra-midollare
 - Leucemia plasmacellulare
-

Stadiazione

1. Esami di laboratorio

- Emocromo (anemia, piastrinopenia)
- Elettroforesi sieroproteine con Immunofissazione
- Dosaggio Ig siero e urine
- Dosaggio catene leggere κ/λ siero e urine (proteinuria di Bence Jones)
- Funzionalità renale
- Calcemia
- PCR
- Beta 2 microglobulina

2. Esami strumentali

- Rx scheletro in toto

3. Biopsia osteomidollare (BOM)



Elettroforesi

L'elettroforesi proteica è una tecnica che permette di evidenziare l'omogeneità molecolare delle immunoglobuline e di rilevare quindi la presenza di una Componente Monoclonale.

Immunofissazione

Tecnica immunologica per la rivelazione e la tipizzazione delle Componenti Monoclonali nel siero o nell'urina

Mieloma Multiplo

- **PC > 10%**
- **CM sierica o urinaria (eccetto per non secernente)**
- **Danno d'organo**

Calcemia
Renal insufficiency
Anaemia
Bone lesions



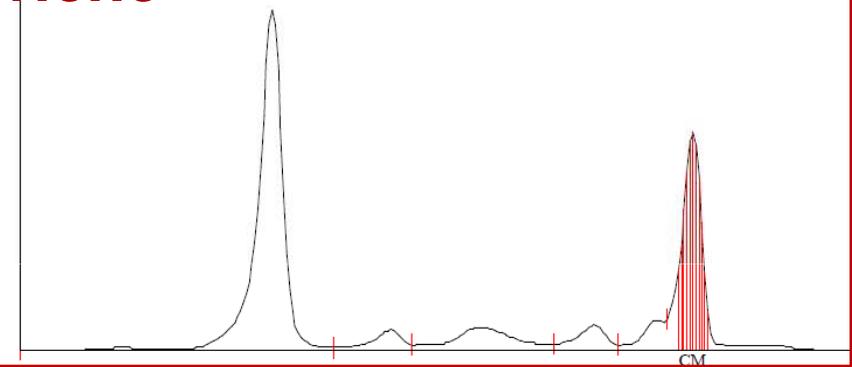
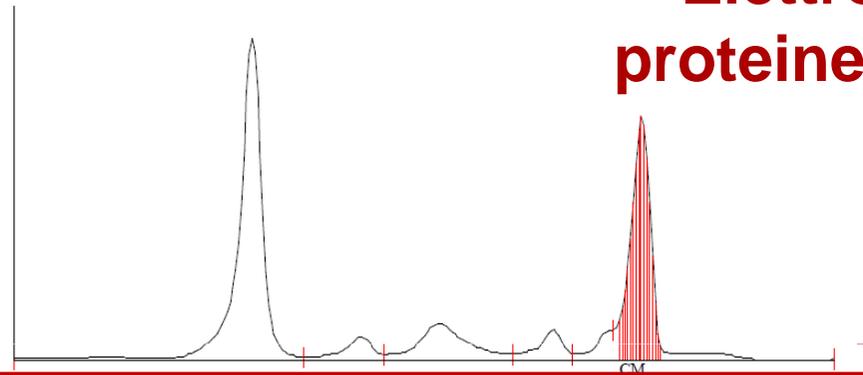
CRAB

- Calcemia $> 11,5$ mg/dl
 - Creatininemia > 2 mg/dl
 - Emoglobina < 10 g/dl o riduzione > 2 g rispetto al valore normale
 - Lesioni litiche, severa osteopenia, fratture patologiche
-

| Elettroforesi proteica con grafico | Valori % | Valori g/dl |
|------------------------------------|---|----------------------|
| Albumina | * 45,7 [55,8 - 66,1] | * 3,29 [4,02 - 4,76] |
| Alfa 1 | 4,1 [2,9 - 4,9] | 0,29 [0,21 - 0,35] |
| Alfa 2 | 10,8 [7,1 - 11,8] | 0,77 [0,51 - 0,85] |
| Beta 1 | * 4,5 [4,7 - 7,2] | * 0,32 [0,34 - 0,52] |
| Beta 2 | 3,4 [3,2 - 6,5] | 0,24 [0,23 - 0,47] |
| Gamma | * 31,5 [11,1 - 18,8] | * 2,26 [0,80 - 1,35] |
| Rapporto A/G | * 0,84 [1,10 - 2,40] | |
| Commento: | PICCO IN ZONA GAMMA-GLOBULINE. LETTURA DIRETTA DELLA C.M. PER VIA SPETTROFOTOMETRICA. | |
| Componente monoclonale (CM1) | *** 28,3 [0,0 - 0,0] | * 2,04 [0,00 - 0,00] |

| Elettroforesi proteica con grafico | Valori % | Valori g/dl |
|------------------------------------|--|----------------------|
| Albumina | * 50,1 [55,8 - 66,1] | * 3,75 [4,02 - 4,76] |
| Alfa 1 | 3,9 [2,9 - 4,9] | 0,29 [0,21 - 0,35] |
| Alfa 2 | 8,9 [7,1 - 11,8] | 0,66 [0,51 - 0,85] |
| Beta 1 | * 4,6 [4,7 - 7,2] | * 0,34 [0,34 - 0,52] |
| Beta 2 | 4,5 [3,2 - 6,5] | 0,33 [0,23 - 0,47] |
| Gamma | * 28,0 [11,1 - 18,8] | * 2,10 [0,80 - 1,35] |
| Rapporto A/G | * 1,00 [1,10 - 2,40] | |
| Commento: | Componente Monoclonale (C.M.) in zona gamma-globuline. | |
| Componente monoclonale (CM1) | *** 23,3 [0,0 - 0,0] | * 1,75 [0,00 - 0,00] |

Elettroforesi proteine sieriche



Immunofissazione su siero

Immunofissazione su siero

Anti totale
Giudizio

Positivo

IgGL-Presenza di una Lieve Frazione Monoclonale riferibile ad una immunoglobulina IgG montante catene leggere di tipo Lambda

Catene Kappa e Lambda (siero)

| | | | |
|------------------------------|--------|------|----------------|
| Catene Kappa Libere | * 0,06 | mg/L | [3,30 - 19,40] |
| Catene Lambda Libere | * 1,50 | mg/L | [5,71 - 26,30] |
| Rapporto catene Kappa/Lambda | * 0,04 | | [0,26 - 1,65] |

EMATOLOGIA

Mielogramma

Mielogramma

PREPARATO NUMERO

Descrizione del preparato

Aspirato Midollare: Mielogramma

P 923

Materiale citogeno molto abbondante, frustoli a cellularita' elevata, ridotta componente adiposa, sangue. Massiccia sostituzione della matrice midollare da parte di plasmacellule patologiche valutabili circa 90% ANC. Ipoplasiche le restanti serie citogene.

DIAGNOSI ISTOLOGICA

Biopsia: adeguata.

Trabecole ossee: regolari.

Cellularità: 50%

Eritropoiesi: ben rappresentata, maturante.

Mielopoiesi: ben rappresentata, maturante.

Megacariocitopoiesi: regolare.

Infiltrato: massivo, nodulare, costituito da plasmacellule mature CD138+, che esprimono le catene leggere k e che costituiscono circa il 40% della cellularità totale. Presenza di rari linfociti a fenotipo T (CD3 +) e a fenotipo B (CD20 +) in regolari rapporti.

Reticolo: diffusamente infittito

Depositi di emosiderina: assenti.

BOM

CONCLUSIONI

Localizzazione midollare di mieloma plasmacellulare ben differenziato, stadio 2 anatomopatologico secondo Bartl.

Stadiazione Durie e Salmon

Stadio I

Tutti i seguenti:

- Hb > 10 g/dl
- Calcemia < 10.5 mg/dl
- Rx scheletro: ndr o 1 lesione
- IgG < 5.0 g/dl
- IgA < 3.0 g/dl
- CM urinaria < 4 g/24 h

Stadio II

Criteri nè per I nè per III stadio

Stadio III

Almeno uno dei seguenti:

- Hb < 8.5 g/dl
- Calcemia >12 mg/dl
- > 3 lesioni osteolitiche
- IgG > 7.0 g/dl
- IgA > 5.0 g/dl
- CM urinaria > 12g/24 h

A. creatinina < 2 mg/dl

B. creatinina \geq 2 mg/dl

Diagnosi differenziale tra MM e MGUS

| | MM | MGUS |
|--|-------------------------|------------------------------|
| Infiltrazione plasmacellulare midollare | > 10% | < 10% |
| Paraproteina sierica | | IgG < 2 g/dl IgA < 1 g/dl |
| Proteinuria di Bence Jones | > 50% casi | rara |
| Lesioni osteolitiche | Spesso presenti | Assenti |
| Sintomi | Frequenti | Assenti |
| Anemia | Frequente | Assente |
| Ipercalcemia | Può essere presente | Assente |
| Alterazioni della funzionalità renale | Possono essere presenti | Assenti |



Per fare diagnosi di Mieloma Multiplo.....

- **BOM**
- **Aspirato Midollare**

SINDROMI MIELODISPLASTICHE

LE SINDROMI MIELODISPLASTICHE (SMD) (ANEMIE REFRATTERIE)

DISORDINI ACQUISITI CLONALI DELLE CELLULE
STAMINALI EMOPOIETICHE CARATTERIZZATI DA:

- EMOPOIESI INEFFICACE
(MIDOLLO IPERCELLULARE)
- ANEMIA e/o NEUTROPENIA e/o PIASTRINOPENIA
- EVOLUZIONE IN LEUCEMIA ACUTA (L.A.
SECONDARIE)
- FREQUENZA CRESCENTE CON L'ETA'

COME SI STUDIANO LE SMD

- ESAME EMOCROMOCITOMETRICO E MORFOLOGICO DEL SANGUE (Hb, CONTA GLOBULI ROSSI, RETICOLOCITI, LEUCOCITI E PIASTRINE, FORMULA LEUCOCITARIA)
- ASPIRATO MIDOLLARE / BIOPSIA OSSEA (CELLULARITA', DISERITROPOIESI, DISGRANULOPOIESI, DISPLASIA MKC, PERCENTUALE DI BLASTI, SIDEROBLASTI AD ANELLO)
- "IMMUNOFENOTIPO": CELLULE CD34+, FENOTIPI ABERRANTI
- CITOGENETICA: CARIOTIPO: BANDEGGIO E FISH (FLUORESCENCE-IN-SITU-HYBRIDIZATION)

SINDROMI MIELODISPLASTICHE

LE PRINCIPALI ANOMALIE CROMOSOMICHE

- 5 o del (5q) - Identifica una particolare SMD
(quando è un'anomalia isolata)
 - 7 o del (7q) - Significato prognostico negativo,
sia isolata che associata ad altre
anomalie
 - +8 - Significato incerto
-

SINDROMI MIELODISPLASTICHE

LA “NUOVA” CLASSIFICAZIONE WHO (WORD HEALTH ORGANIZATION)

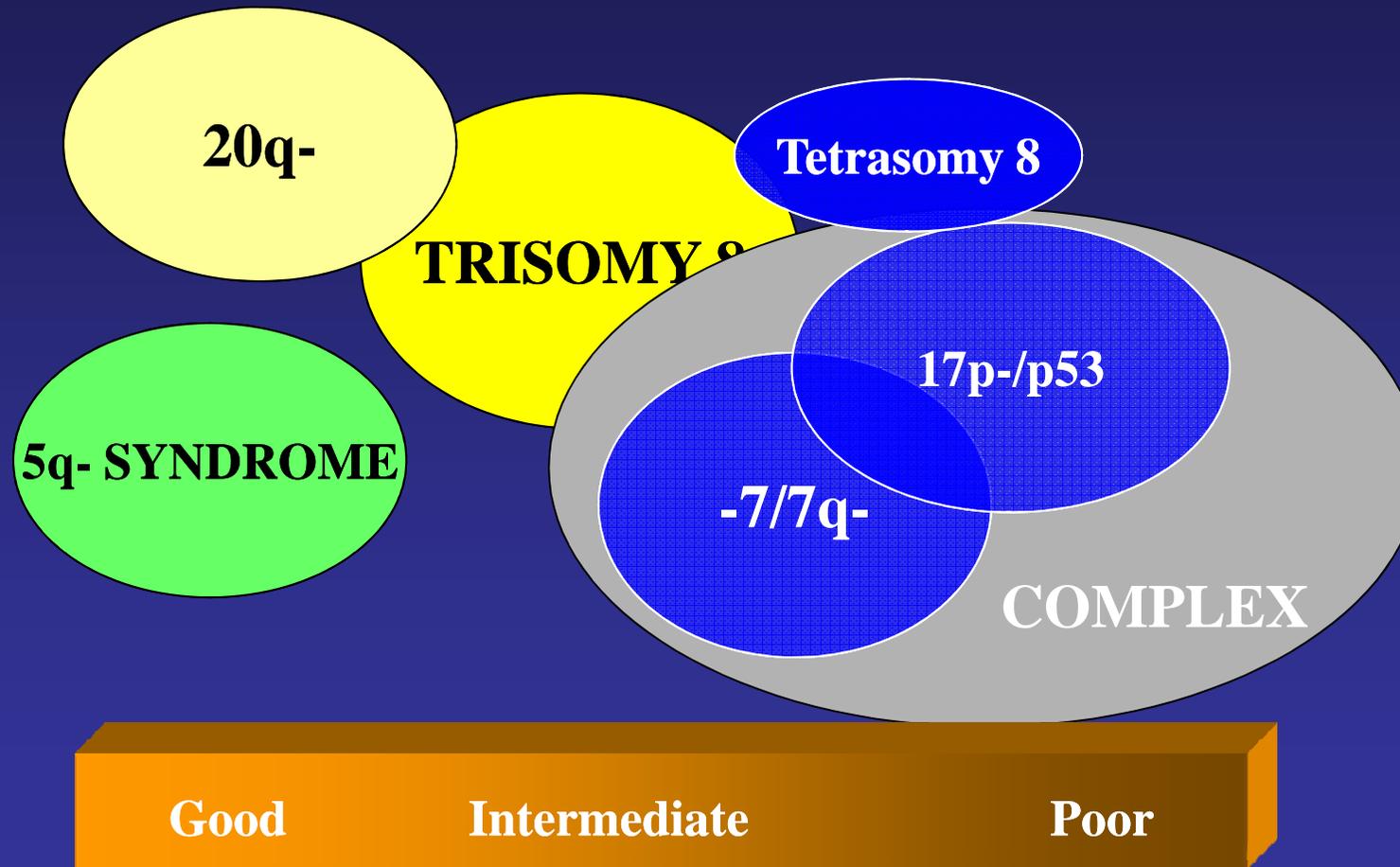
1. CITOPENIA REFRATTARIA CON ANEMIA O NEUTROPENIA, O DISPLASIA UNILINEARE PIASTRINOPENIA
2. ANEMIA REFRATTARIA CON SIDEROBLASTI AD ANELLO ANEMIA, SIDEROBLASTI AD ANELLO
3. CITOPENIA REFRATTARIA CON ANEMIA e/o NEUTROPENIA e/o DISPLASIA MULTILINEARE PIASTRINOPENIA (almeno due citopenie)
4. ANEMIA REFRATTARIA CON ECCESSO DI BLASTI – I CITOPENIA UNI o MULTILINEARE, CON BLASTI MIDOLLARI 5-9%
5. ANEMIA REFRATTARIA CON ECCESSO DI BLASTI – II CITOPENIA UNI o MULTILINEARE, CON BLASTI MIDOLLARI 10-19%
6. SMD CON Del (5q) ISOLATA ANEMIA, del(5q)

LA CLASSIFICAZIONE E' BASATA SUL TIPO E SUL NUMERO DI CITOPENIE E SULLA PERCENTUALE DEI BLASTI NEL MIDOLLO

INTERNATIONAL PROGNOSTIC SCORING SYSTEM (IPSS – GREENBERG 1997)

- NUMERO DI CITOPENIE (ANEMIA, NEUTROPENIA, PIASTRINOPENIA)
- ALTERAZIONI CITOGENETICHE
 - CARIOTIPO “FAVOREVOLE”: NORMALE, -y, 5q-, 20q-
 - CARIOTIPO “SFAVOREVOLE”: COMPLESSO, -7
- PERCENTUALE DI BLASTI NEL MIDOLLO

Alterazioni citogenetiche specifiche nelle SMD



| IPSS | score |
|--|---------------------------------|
| Percentuale blasti midollo: <5% 5-10% 11-19% 20-30% | 0 0.5 1.5 2.0 |
| Citopenia: 0-1 2-3 | 0 0.5 |
| Cariotipo: favorevole (-y; 5q-; 20q-; normale) tutti gli altri sfavorevole (anomalie cr.7; anomalie complesse) | 0 0.5 1 |
| Grado di rischio | Score totale |
| Basso Intermedio-basso Intermedio-alto Alto | 0 0.5-1.0 1.5-2.0 >2.5 |



Per fare diagnosi di SMD.....

- **Emocromo (sospetto in caso di pancitopenia)**
- **Aspirato Midollare (BOM)**
- **Citogenetica**