

Efficacia collaborativa tra il Laboratorio Analisi e la Divisione di Ematologia del G.O.M. di Reggio Calabria per un corretto Approccio Diagnostico

L'utilità dell'esame emocromocitometrico e di analizzatori di nuova generazione combinato con l'esame citofluorimetrico e con la valutazione clinica in una diagnosi di LAL T.

Modafferi B. ¹, Latella V. ¹, Oliva B. ¹, Garreffa C. ¹, Alati C. ², Martino B. ³, Laganà C. ⁴

¹ *Laboratorio Analisi G.O.M. Reggio Calabria*

² *Divisione Ematologia G.O.M. Reggio Calabria*

³ *Direttore Divisione Ematologia G.O.M. Reggio Calabria*

⁴ *Direttore Laboratorio Analisi G.O.M. Reggio Calabria*

CASO CLINICO

Presentiamo il caso di un uomo di 38 anni arrivato in consulenza con i seguenti dati anamnestici: il paziente riferisce una recente visita dermatologica per evidenti lesioni cutanee, il clinico prescrive terapia cortisonica e richiede un successivo esame emocromocitometrico dove rileva un dato di 27.000 WBC consigliando una consulenza ematologica.

Per tale riscontro viene eseguito un emocromo di controllo presso il laboratorio di ematologia del G.O.M. "Bianchi-Melacrino-Morelli" di Reggio Calabria con i seguenti risultati, rappresentati numericamente nella

tabella seguente e graficamente in figura 1a, 1b, 1c:

GB	25.470 μ /L
PLT	213.000 μ /L
HGB	16.1 gr / dl
MCV	76.5 fl.
formula leucocitaria	
<i>Neut</i>	34 %
<i>Linf</i>	50 %
<i>Mono</i>	15 %
<i>Eosi</i>	1 %
<i>Baso</i>	0 %

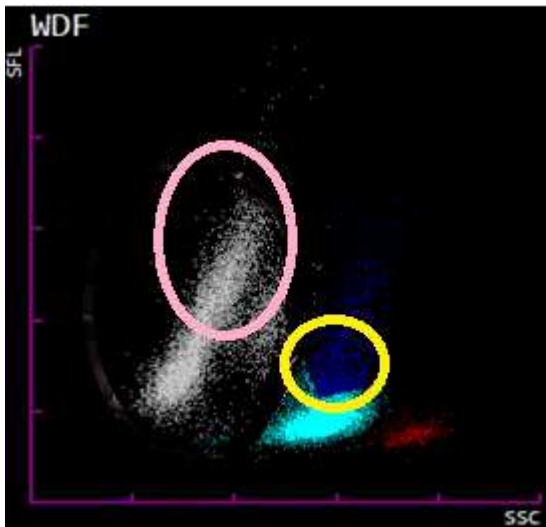


Figura 1a

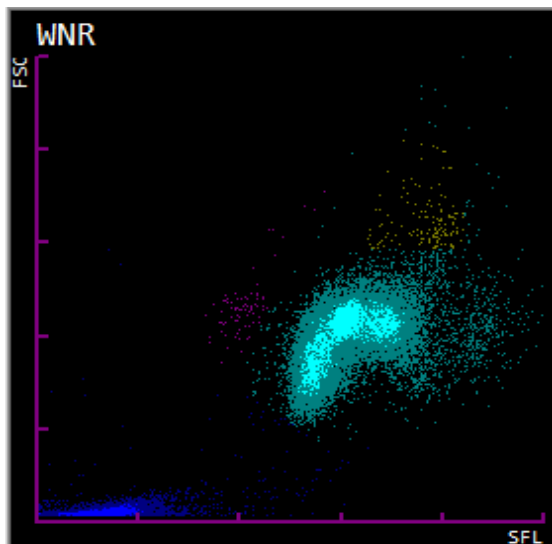


Figura 1b

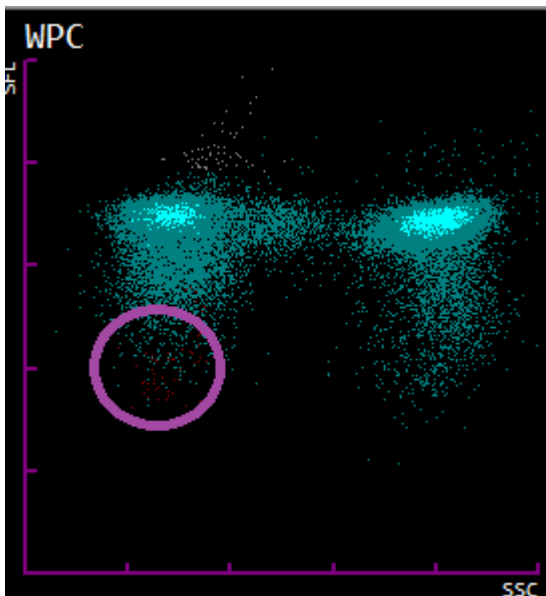





Figura 1c

Figura 1abc Le figure 1a 1b e 1c mostrano i cluster leucocitari sugli scattergram WDF (white differentiation), WNR (white nuclear red) e WPC (white progenitor cell). È ben visibile un cluster anomalo sullo scattergram WDF . Sono presenti linfociti patologici ed è inoltre possibile evidenziare i risultati della terapia cortisonica per la presenza di granulociti immaturi evidenziabili nel cuneo rilevabile a ridosso del cluster neutrofilo . Nel diagramma WPC è possibile osservare la presenza di cellule (colorate in rosso) , che occupano la posizione solitamente riservata a cellule immature (blasti?).

Si esegue immediatamente un esame morfologico che come mostra la **figura 2** pone in evidenza un quadro piuttosto suggestivo di patologia leucemica, deducibile dalla presenza di blasti. Il paziente viene sottoposto ad ulteriori esami dai quali emerge la presenza di una massa mediastinica, e negatività ad esami virologici.

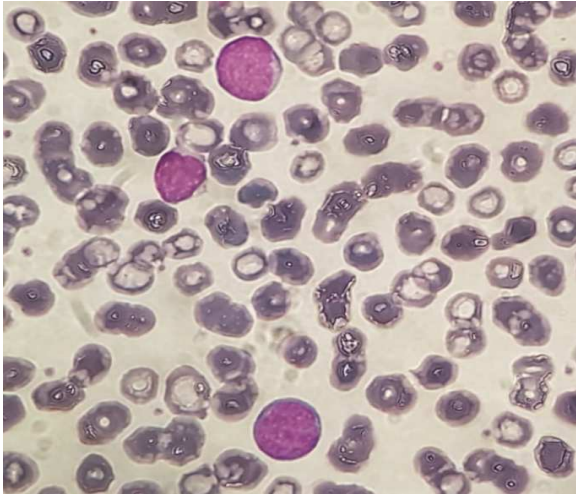


Figura 2. La figura mostra un dettaglio dell'esame morfologico eseguito su sangue periferico del paziente in esame. E' evidente anisocitosi e la presenza di linfoblasti caratterizzati da nucleoli ben visibili sul nucleo della cellula. (Modafferi B., Latella V.)

Viene eseguito lo studio morfologico dell'aspirato midollare dal quale emerge: 90% di elementi blastici linfoidi: cellule di grosse dimensioni con elevato rapporto nucleo/citoplasmatico, sottile rima citoplasmatica basofila priva di granulazioni, nucleo a cromatina dispersa con singolo nucleolo; come è possibile osservare in **figura 3.**

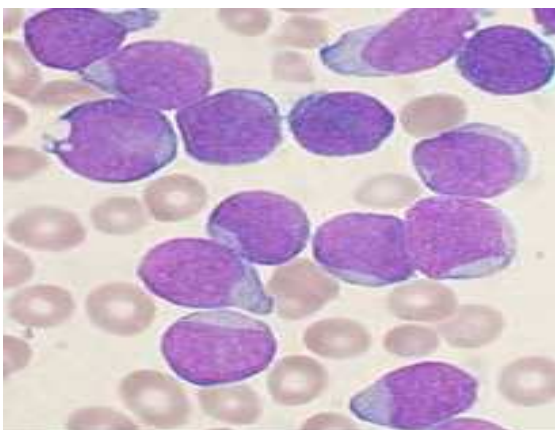
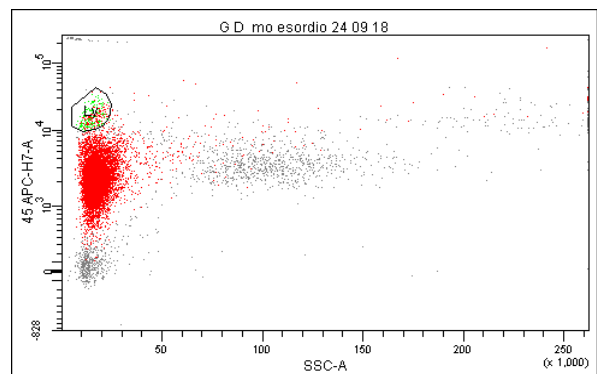


Figura 3 Striscio ottenuto da aspirato di midollo osseo. (Martino B., Alati C.)

Si procede quindi con la valutazione citofluorimetrica che come evidenziabile in **figura 4** descrive quanto segue: aspirato midollare ipercellulare (791.000 per microlitro), presenza di una popolazione blastica linfoide pari all' 82 % della cellularita' globale caratterizzata da espressione alta di CD7, CD5 e CD1a, insieme con livelli medi di espressione di CD8 e livelli bassi di espressione di CD10, CD99, con espressione parziale di CD4, CD34, CD2, sCD3, cCD3. Quota linfoide residua normale pari al 2%. Quadro immunofenotipico compatibile con Leucemia Linfoblastica T.



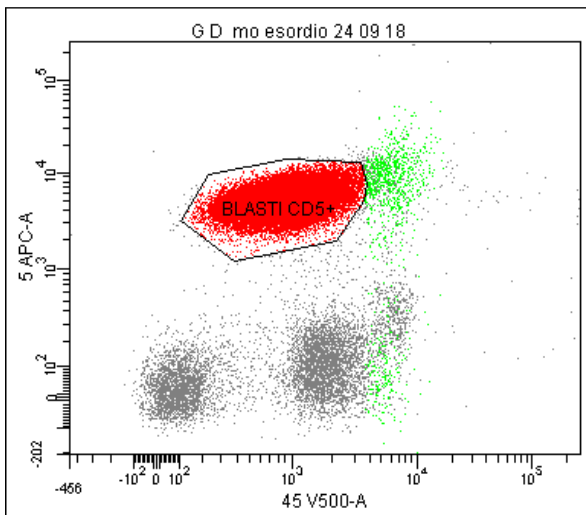
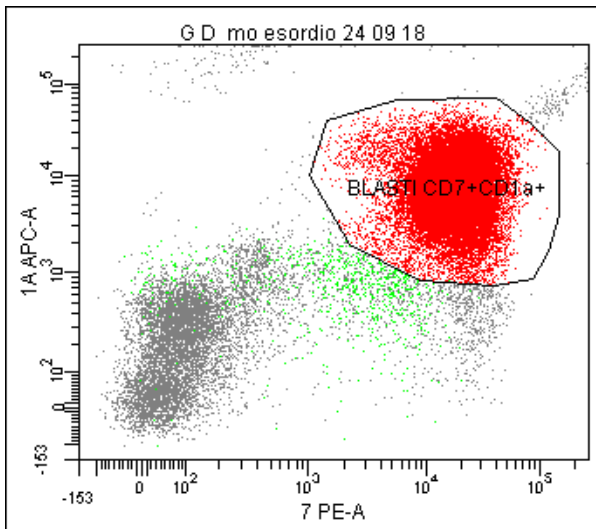


Figura 4. *Esame citofluorimetrico da prelievo di midollo osseo.* (Oliva B., Garreffa C.)

Il paziente, ricoverato presso l'U.O.C di Ematologia della nostra Azienda, viene celermente sottoposto alle necessarie cure. Tra le indagini diagnostiche effettuate: TAC TB con mdc che ha dimostrato massa bulky mediastinica di 19 cm e localizzazione renale, confermate all'esame PET. Il paziente ha intrapreso prefase con metilprednisone e

ciclofosfamide e polichemioterapia di induzione con vincristina, idarubicina, oncaspar, desametasone e rachicentesi medicata in profilassi meningea. Ha quindi ottenuto la remissione completa morfologica e citofluorimetrica con regressione delle lesioni renali e persistenza di piccolo residuo mediastinico. Al momento sta proseguendo il programma terapeutico con chemioterapia di consolidamento ed è stato avviato lo studio HLA dei familiari.

DISCUSSIONE

La leucemia linfoblastica acuta (LLA) è un tumore del sangue che prende origine dai linfociti ed è caratterizzata da un accumulo di queste cellule nel sangue, nel midollo osseo e in altri organi. Il termine "acuta" indica che la malattia progredisce piuttosto velocemente. I linfociti sono cellule del sistema immunitario che sorvegliano l'organismo e attivano le difese nei confronti dei microorganismi o delle cellule tumorali. Si distinguono in B o T in base al tipo di risposta che sono in grado di attivare. Nella LLA un linfocita B o T immaturo va incontro a una trasformazione tumorale: i processi di maturazione che portano al linfocita "adulto" si bloccano e la cellula comincia a riprodursi più velocemente invadendo il sangue e raggiungendo anche i linfonodi, la milza, il fegato e il sistema nervoso centrale. La LLA è una malattia relativamente rara: in Italia si registrano circa

1,6 casi ogni 100.000 maschi e 1,2 casi ogni 100.000 femmine, cioè circa 450 nuovi casi ogni anno tra gli uomini e 320 tra le donne. La LLA è però il tumore più frequente in età pediatrica: rappresenta l'80 per cento delle leucemie e circa il 25 per cento di tutti i tumori diagnosticati tra 0 e 14 anni. L'incidenza raggiunge il picco tra i 2 e i 5 anni e poi cala con l'aumentare dell'età (il 50 per cento di tutti i casi viene diagnosticato entro i 37 anni). Sono pochi i fattori di rischio noti per la LLA. Tra quelli ambientali si possono citare l'esposizione a radiazioni (anche per cure mediche come la radioterapia) e a certe sostanze chimiche come il benzene, un componente naturale del petrolio, contenuto anche in alcuni pesticidi e nel fumo di sigaretta. Tra i fattori non modificabili, l'età pediatrica e il sesso maschile aumentano il rischio. Non ci sono invece prove che la malattia sia trasmissibile per via ereditaria, anche se in alcune famiglie c'è un rischio aumentato di LLA. Anche alcune sindromi ereditarie legate ad anomalie genetiche (sindromi di Down, di Klinefelter e di Bloom, anemia di Fanconi, atassia-teleangiectasia, neurofibromatosi) sono associate a una predisposizione per lo sviluppo di LLA.

Le diverse forme e stadi di LLA sono classificati in base alle caratteristiche cellulari e molecolari dei linfociti malati, allo scopo di stabilire al meglio la diagnosi, la prognosi e il percorso terapeutico. Oggi si usa una classificazione, rivista dall'Organizzazione

mondiale della sanità (OMS) nel 2008, che tiene conto sia del tipo di linfocita di origine (B o T), sia del grado di maturazione delle cellule leucemiche:

LAL B: prende origine da linfociti B ;

LAL T: prende origine da linfociti T. La chemioterapia rappresenta uno dei principali trattamenti per la LLA: il tipo di farmaco e le dosi sono definiti caso per caso dopo aver attentamente valutato molti fattori. Nei bambini, per esempio, si utilizzano spesso regimi più intensivi, ma in generale il percorso chemioterapico può essere suddiviso in quattro fasi della durata totale di circa due anni:

- **Induzione:** per eliminare le cellule tumorali da sangue e midollo osseo con lo scopo di raggiungere la remissione completa. Questa fase dura 1 mese o poco più.
- **Consolidamento:** per rafforzare i risultati ottenuti nella fase di induzione. In questa fase, che dura pochi mesi, si utilizza una chemioterapia ad alte dosi.
- **Re-induzione:** si basa sugli stessi farmaci dell'induzione, usati secondo schemi diversi.
- **Mantenimento:** questa fase dura poco più di un anno e sfrutta farmaci come 6-mercaptopurina e metotressato.

Nei casi più difficili (bambini, pazienti ad alto rischio, pazienti che non rispondono alla chemioterapia di induzione o pazienti che vanno incontro a recidiva poco dopo il trattamento) è possibile effettuare anche

un trapianto di cellule staminali emopoietiche. Il trapianto permette di sostituire le cellule malate del midollo (che vengono distrutte con radiazioni o chemioterapia a dosi molto elevate) con cellule sane che daranno poi origine a cellule del sangue del tutto normali. In genere nella LLA si predilige il trapianto allogenico (da donatore diverso dal paziente) di cellule staminali che devono provenire da un familiare compatibile o da un donatore non consanguineo ad alta affinità.

Negli ultimi anni anche i cosiddetti farmaci "intelligenti" (mirati a un bersaglio molecolare) hanno dato risultati promettenti nel trattamento della LLA. In particolare, i farmaci della classe degli inibitori delle tirosin-chinasi (imatinib, nilotinib, dasatinib, ponatinib) si sono dimostrati efficaci contro la malattia caratterizzata dal cromosoma Philadelphia, nato dalla fusione anomala di parti dei cromosomi 9 e 22 e tipica dell'età più avanzata. Questa anomalia cromosomica dà origine a un gene chiamato BCR-ABL che rappresenta il bersaglio specifico contro il quale agiscono imatinib e i farmaci della sua stessa famiglia.

CONCLUSIONI

Discutendo il caso in esame appare di tutta evidenza l'imprescindibile, fondamentale corretta interpretazione dell'esame emocromocitometrico. L'utilizzo di analizzatori di nuova generazione consente ad un esperto laboratorista di collaborare con i clinici nella formulazione di una diagnosi specifica anche piuttosto complessa e/o di natura ematologica. Gli strumenti di nuova generazione, in uso presso il nostro laboratorio, sono dotati di canali di lettura in fluorescenza che generano grafici dove le cellule vengono disposte lungo un sistema di assi cartesiani in base alla maturità e relativa granulosità ed alla fluorescenza. Valutando i risultati del paziente in esame, si può osservare come le più avanzate ed innovative tecnologie di analisi ad oggi disponibili in campo ematologico, garantiscano un continuo progredire della ricerca e dello sviluppo garantendo così la scelta dei metodi più idonei in grado di assicurare analisi accurate ed informazioni utili nella diagnostica ematologica.

BIBLIOGRAFIA

- ° Atlante di ematologia clinica. H. Begemann - G. Papa.