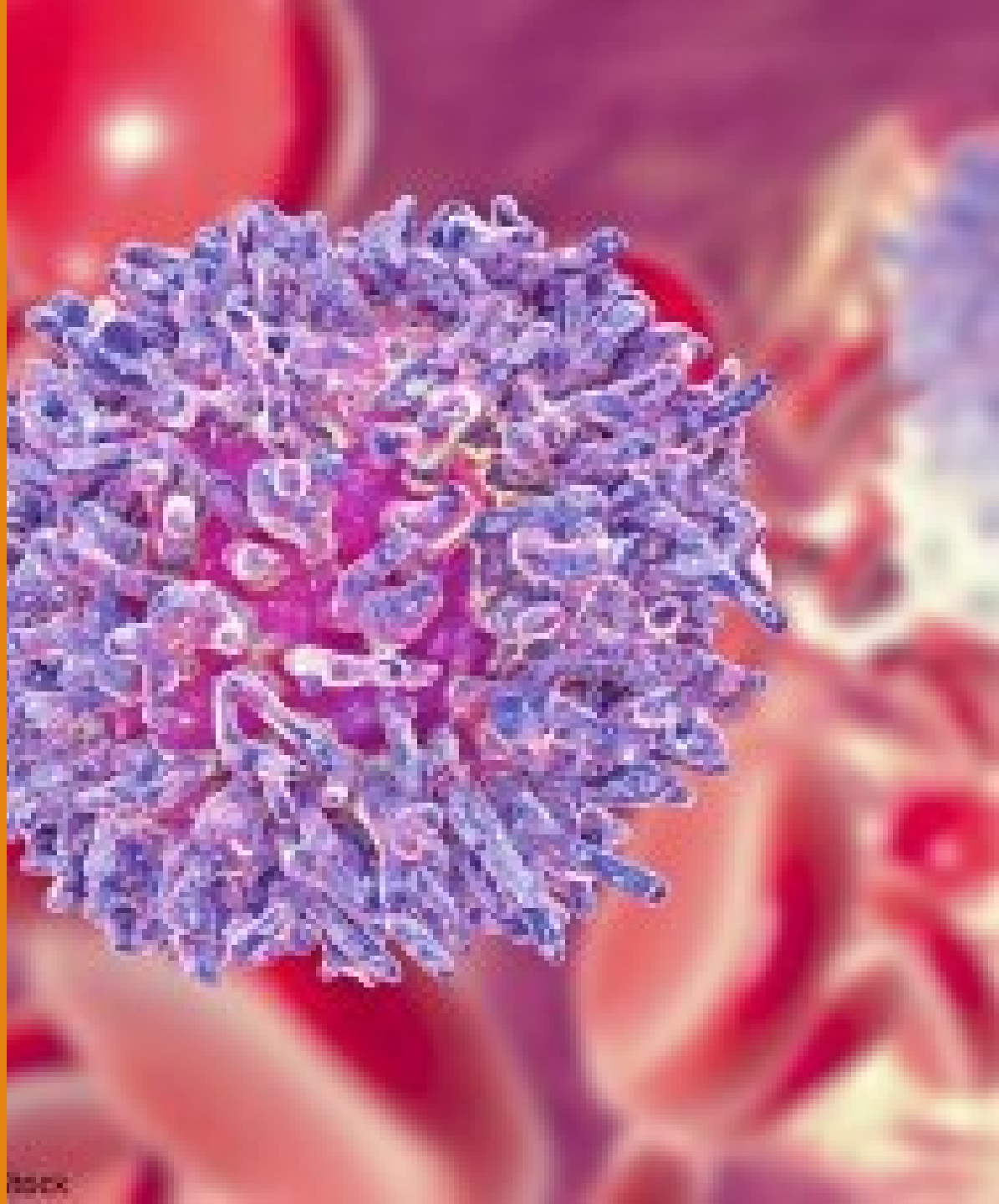


Διαγνωστική
προσπέλαση
λεμφοκυττάρωσης

ΧΜΛ (Χρόνια
Λεμφοκυτταρική
Λευχαιμία)

Λευχαιμία εκ
τριχωτών κυττάρων



Διαγνωστική προσέγγιση και διαφορική διάγνωση λεμφοκυττάρωσης

□ Τι είναι η λεμφοκυττάρωση;

Η αύξηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων στην γενική αίματος
λεμφοκύτταρα $> 4000 /\text{mm}^3$

□ Ποιες είναι οι αιτίες της λεμφοκυττάρωσης;

Είναι πολλές χωρίζονται σε 2 μεγάλες κατηγορίες :

- Πρωτοπαθείς (λεμφουπερπλαστικά νοσήματα)
- Δευτεροπαθείς ή αντιδραστικές λεμφοκυτταρώσεις

δευτεροπαθείς ή
αντιδραστικές σε λοιμώξεις και
ανοσολογικές διαταραχές

□ Ποια χαρακτηριστικά βοηθούν στην διαφορική διάγνωση της λεμφοκυττάρωσης;

- Η ηλικία του ασθενούς κατά την διάγνωση
- Ιατρικό ιστορικό ασθενούς και φυσική εξέταση
- Προσεκτική παρατήρηση του επιχρίσματος και των λεμφοκυττάρων
- Ανοσοφαινότυπος περιφερικού αίματος

Διερεύνηση Λεμφοκυττάρωσης

➤ Ιστορικό

(κάπνισμα, χρόνιες λοιμώξεις, χρόνιες φλεγμονώδεις νόσοι)

➤ Η κλινική εικόνα

(λοίμωξη, ύπαρξη διογκωμένων λεμφαδένων, ήπατος, σπληνός).

➤ Η βαρύτητα της λεμφοκυττάρωσης

(Όταν ο αριθμός είναι $>50.000/\mu\text{l}$: πιθανότερη διάγνωση -> χρόνια λεμφογενής λευχαιμία).

➤ Η μορφολογία των λεμφοκυττάρων στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος.

Λεμφοκύτταρα με άφθονο βασεόφιλο πρωτόπλασμα: **Σύνδρομο μονοπυρήνωσης** (λοιμώδης μονοπυρήνωση, τοξοπλάσμωση, ιογενής ηπατίτιδα, λοίμωξη από κυτταρομεγαλοϊό κλπ)

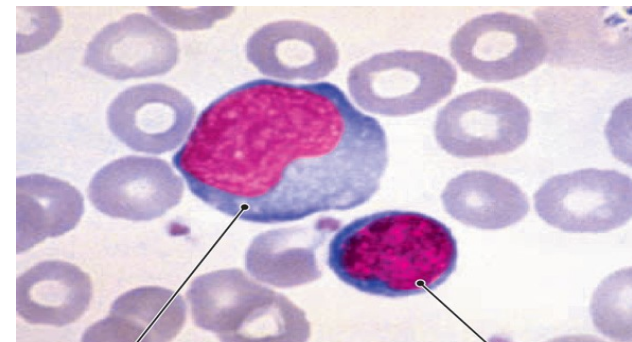
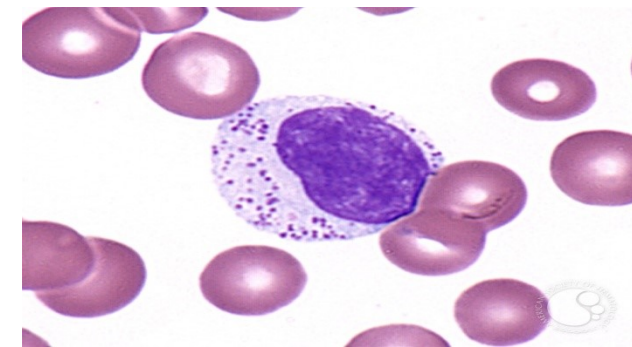
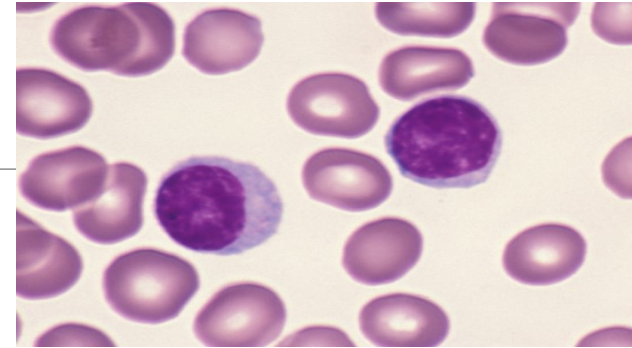
➤ Ανοσοφαινότυπος (θέτει τη διάγνωση)

Λεμφοκυττάρωση

Στο φυσιολογικό επίχρισμα και στις αντιδραστικές λεμφοκυτταρώσεις αναγνωρίζεται **ποικιλομορφία λεμφοκυττάρων** και η πλειοψηφία τους (80%) είναι μικρά.

Μεγάλα λεμφοκύτταρα (LGL) είναι ο κύριος τύπος που έχει **NK δραστηριότητα**.

Αντιδραστικά ή διεγερμένα λεμφοκύτταρα (αναγνωρίζονται σε **ιώσεις**, ιδιαίτερα στα παιδιά, σε **ανοσολογικές αντιδράσεις**, σε αντιδράσεις **υπερευαισθησίας** και σε **αυτοάνοσες διαταραχές**).



Large "atypical" lymphocyte

Normal lymphocyte

Διαγνωστική προσέγγιση και διαφορική διάγνωση λεμφοκυττάρωσης

- Ποια μορφολογικά χαρακτηριστικά συνηγορούν υπέρ της αντιδραστικής λεμφοκυττάρωσης;
 - Ποικιλομορφία στο μέγεθος και το σχήμα των λεμφοκυττάρων
- Αίτια αντιδραστικής λεμφοκυττάρωσης
 - ❖ Ιογενείς λοιμώξεις
 - ❖ Βακτηριακές λοιμώξεις
 - ❖ Παρασιτικές λοιμώξεις
 - ❖ Υπερευαισθησία σε φάρμακα
 - ❖ Κάπνισμα
 - ❖ Εμβόλια
 - ❖ Στρες
 - ❖ Ενδοκρινολογικές παθήσεις
 - ❖ Αυτοάνοσα νοσήματα

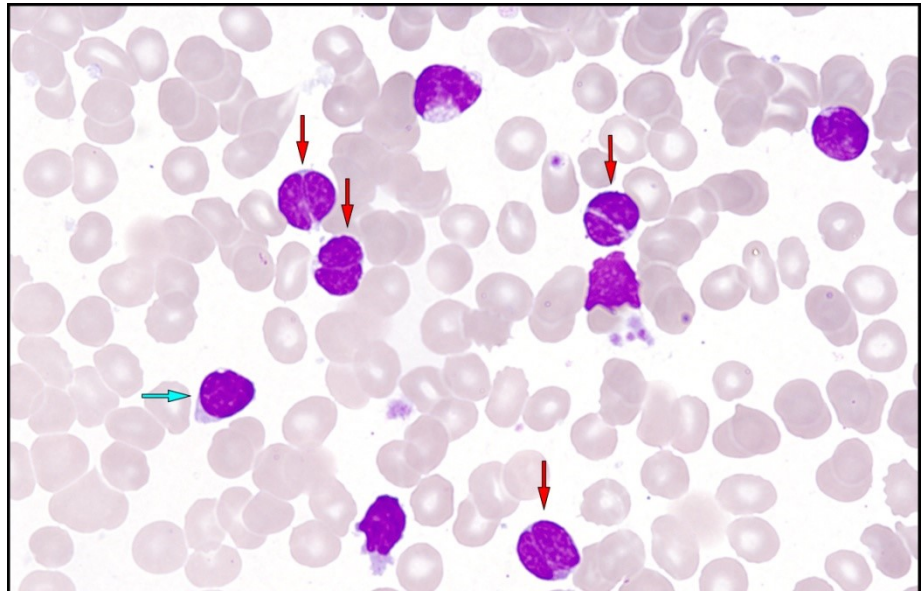
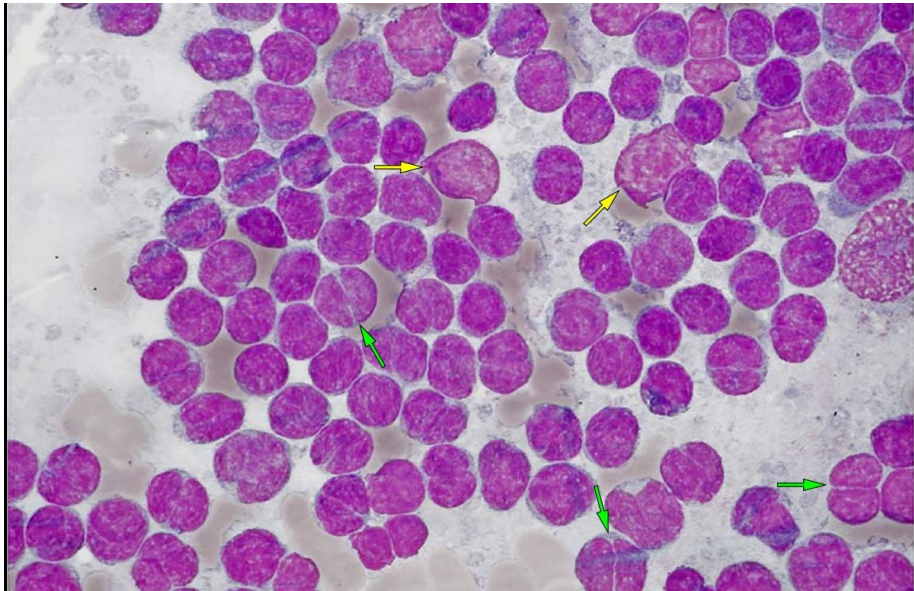
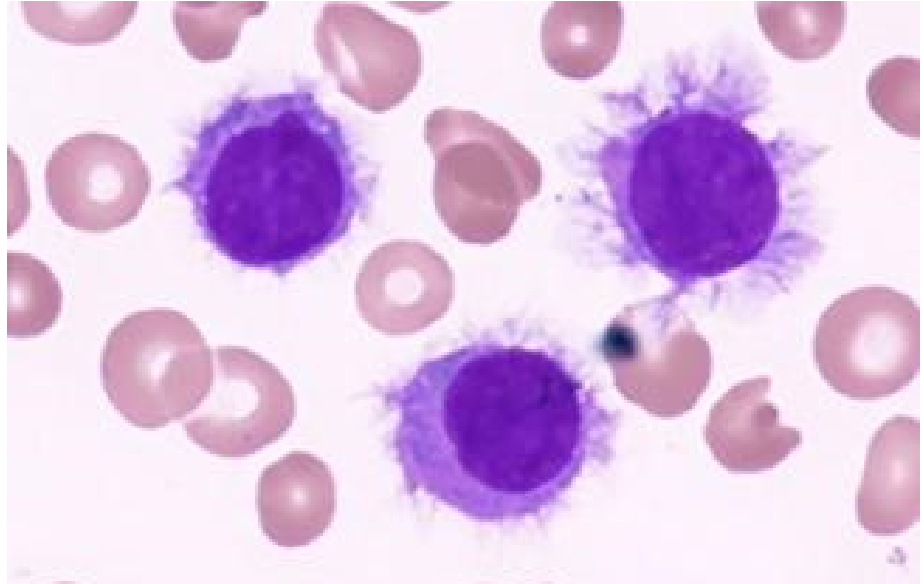
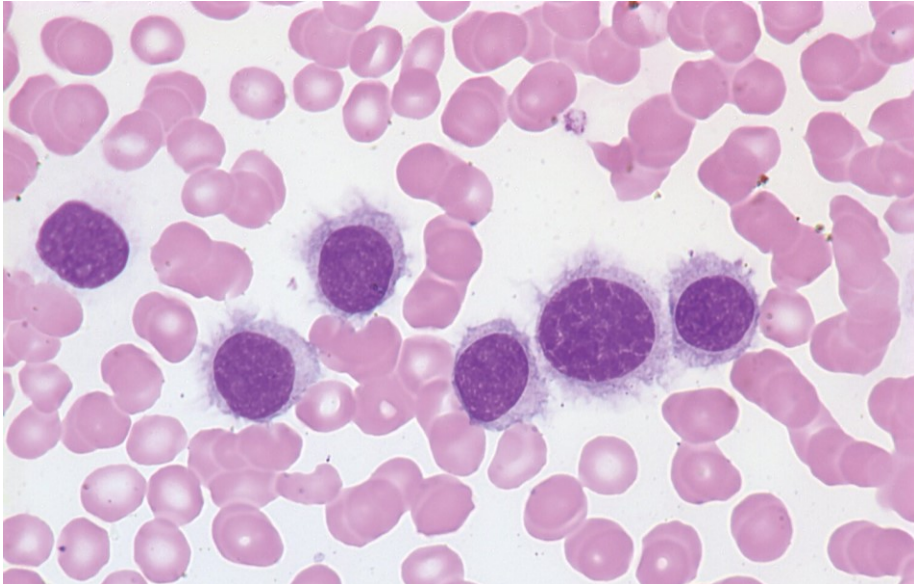
Διαγνωστική προσέγγιση και διαφορική διάγνωση λεμφοκυττάρωσης

❑ Ποια είναι τα λεμφοπερπλαστικά νοσήματα που συχνότερα προκαλούν λεμφοκυττάρωση;

- ❖ Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία
- ❖ Λέμφωμα οριακής ζώνης (σπληνικό)
- ❖ Λέμφωμα μανδύα
- ❖ Λεμφοζιδιακό λέμφωμα
- ❖ Λέμφωμα Burkitt
- ❖ Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων

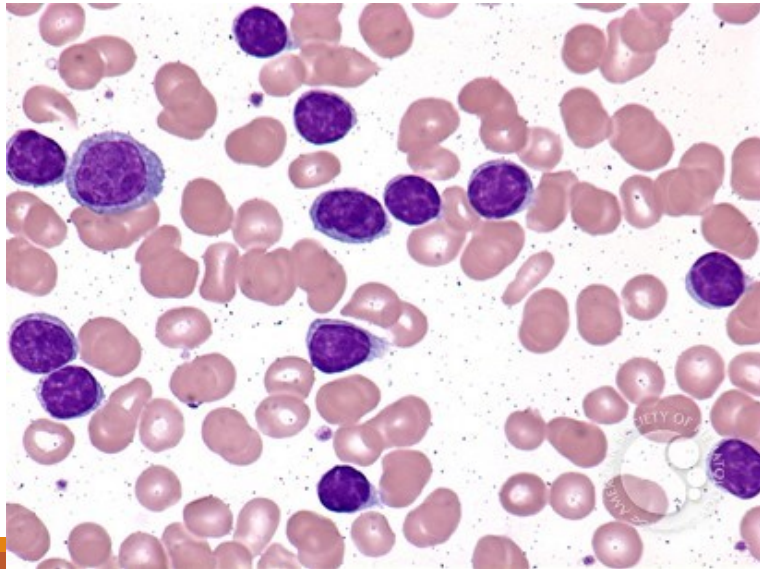
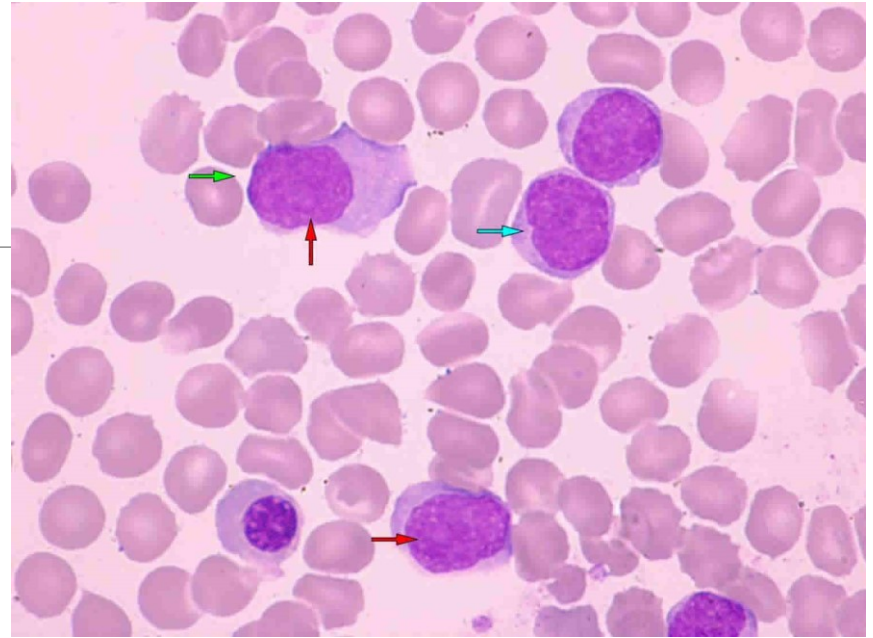
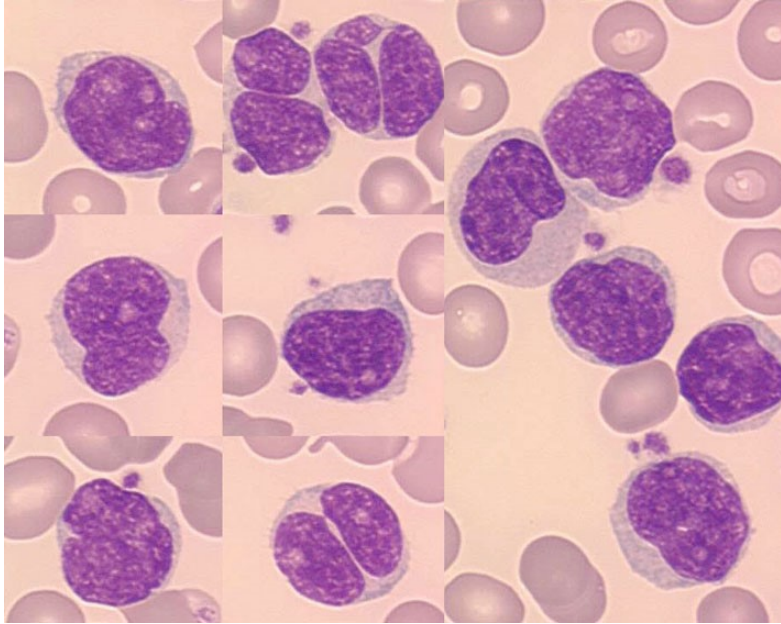
| Figure 2 | | DIFFERENTIAL DIAGNOSIS | | ANCILLARY TESTS |
|----------------------------|--|--|--------------------------------|---|
| Small, round nuclei → | | CLL MBL | MCL T-PLL | Flow cytometry CLL FISH panel FISH <i>CCND1/IGH</i> |
| Folded or cleaved nuclei → | | FL MCL Atypical CLL | T-cell lymphomas Pertussis* | Flow cytometry FISH <i>CCND1/IGH</i> , <i>BCL2</i> Tissue biopsy |
| Convoluted nuclei → | | Sézary syndrome Adult T-cell leukemia | | Flow cytometry T-cell clonality |
| Villous cytoplasm → | | HCL SMZL HCLV | T-PLL LPL | Flow cytometry <i>BRAF</i> |
| Plasmacytoid → | | LPL Plasma cell myeloma Plasma cell leukemia | | Flow cytometry SPEP/UPEP <i>MYD88 L265P</i> Myeloma FISH panel |
| Granules → | | T-LGL NK cell leukemia | | Flow cytometry T-cell clonality KIR profile |
| Prominent nucleoli → | | T-PLL B-PLL HCLV MCL | | Flow cytometry Cytogenetics |
| Large cells → | | Burkitt Leukemia DLBCL MCL ALCL | | Flow cytometry FISH <i>MYC</i> <i>CCND1/IGH</i> <i>ALK</i> |

Hairy cell leukemia

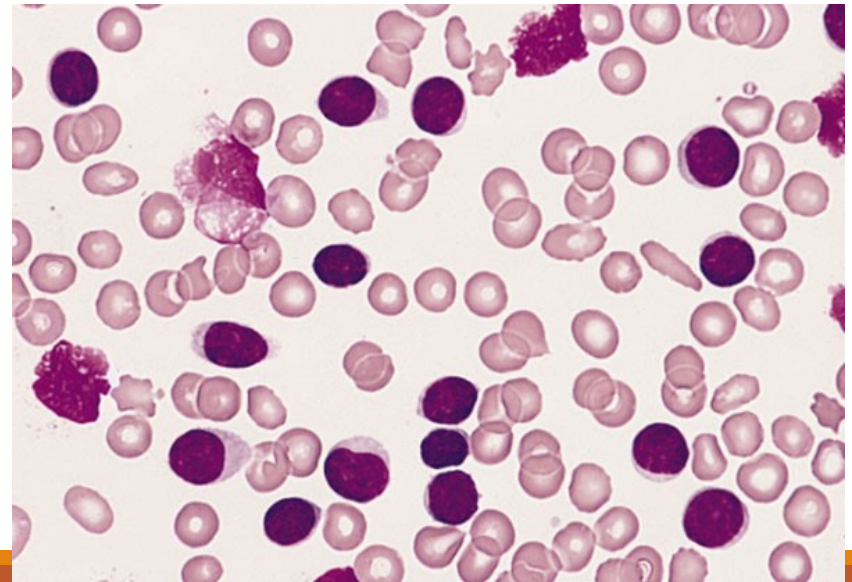


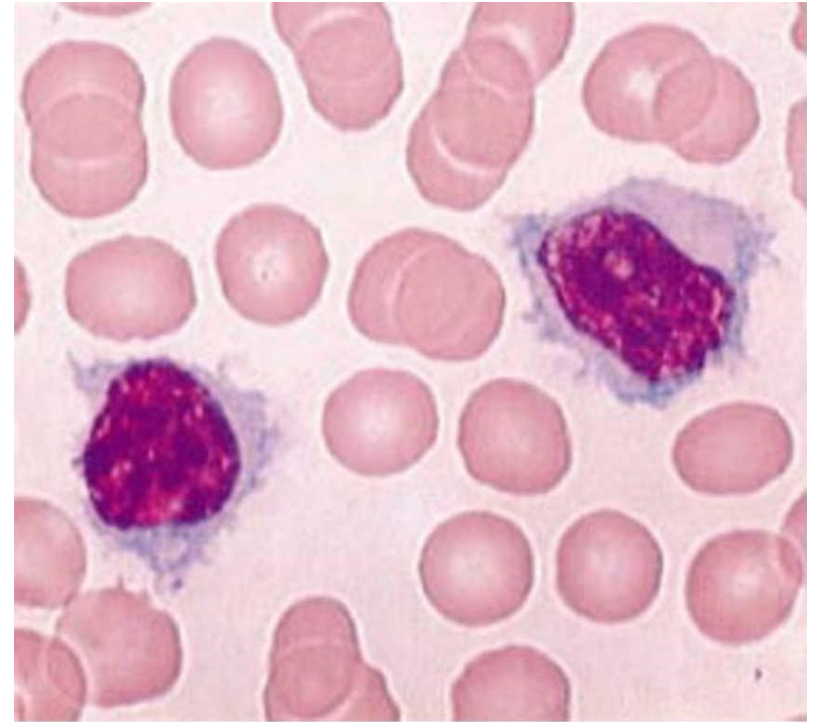
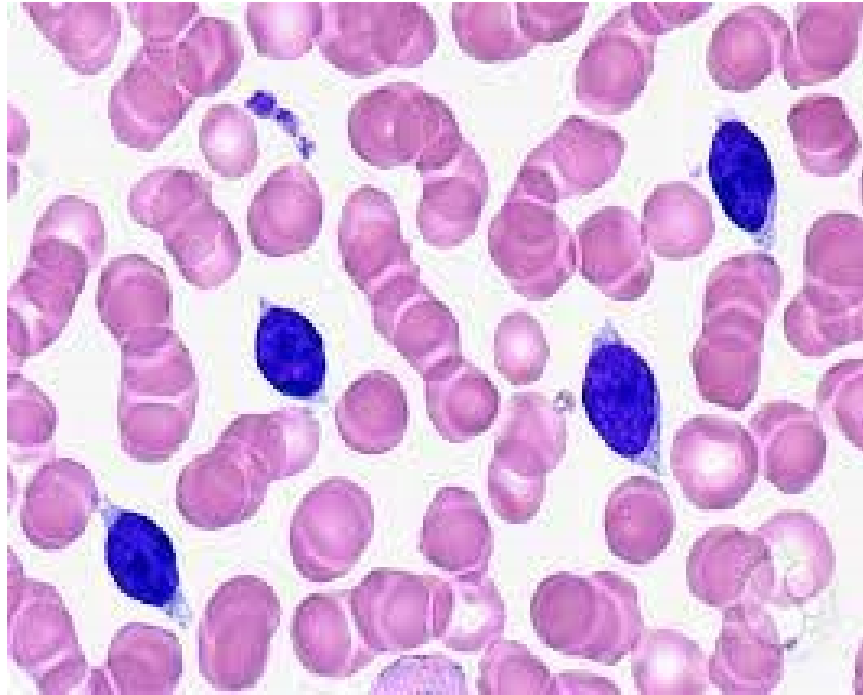
Follicular lymphoma

Mantle cell lymphoma



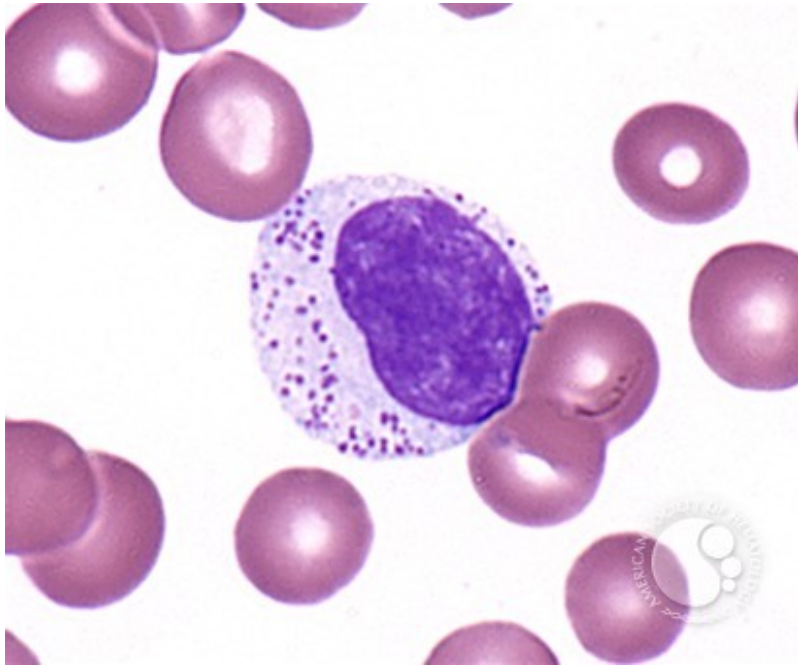
CLL



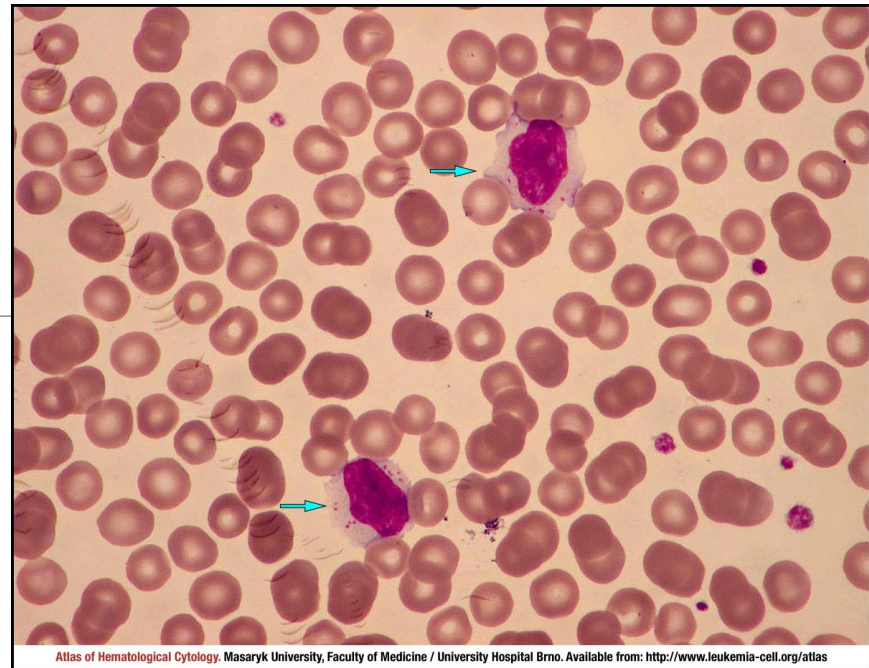


Rev Bras Hematol Hemoter. 2017;39:146-54

Splenic marginal zone lymphoma

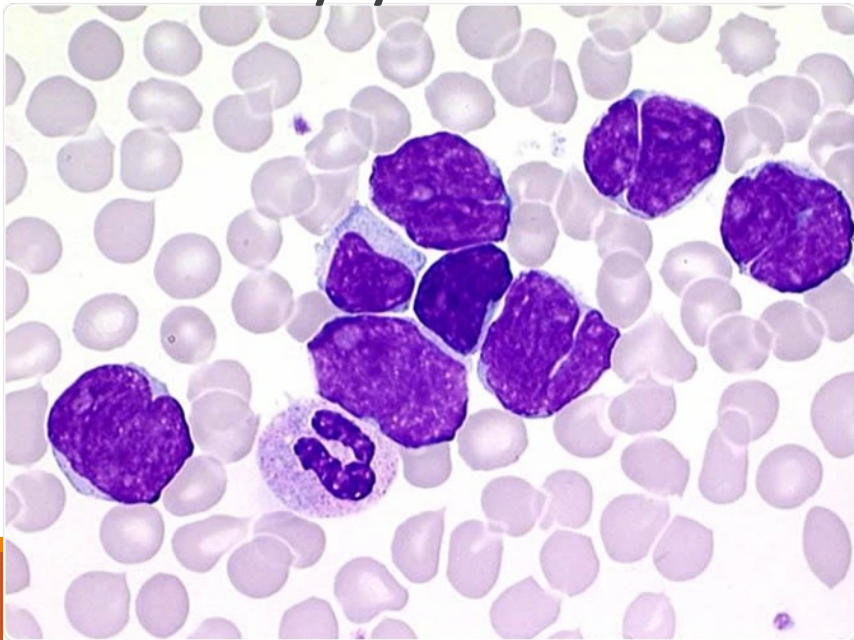


T-LGL

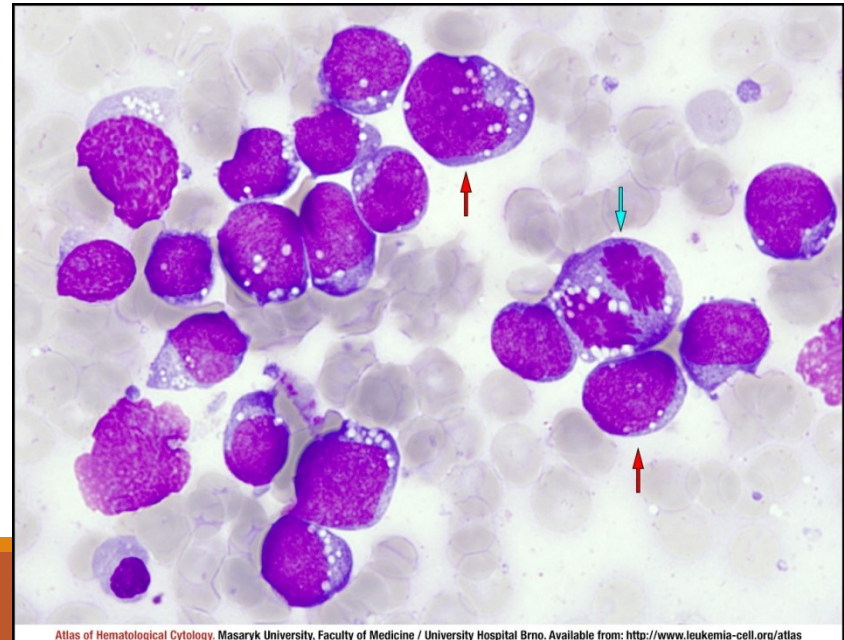


Atlas of Hematological Cytology. Masaryk University, Faculty of Medicine / University Hospital Brno. Available from: <http://www.leukemia-cell.org/atlas>

Sezary syndrome



Burkitt lymphoma/leukemia

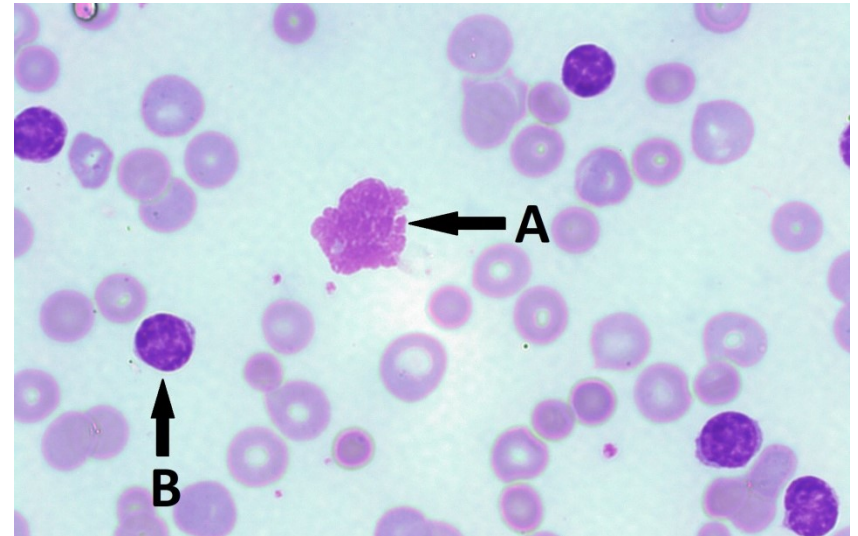
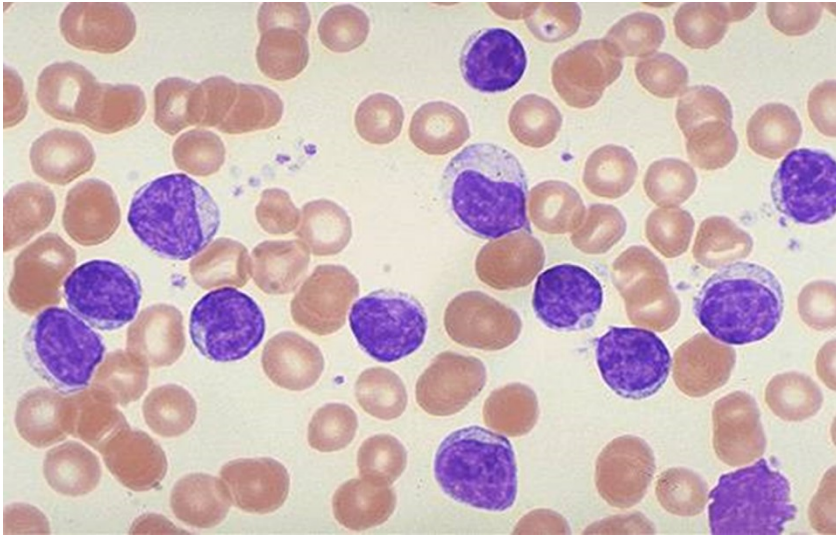


Atlas of Hematological Cytology. Masaryk University, Faculty of Medicine / University Hospital Brno. Available from: <http://www.leukemia-cell.org/atlas>

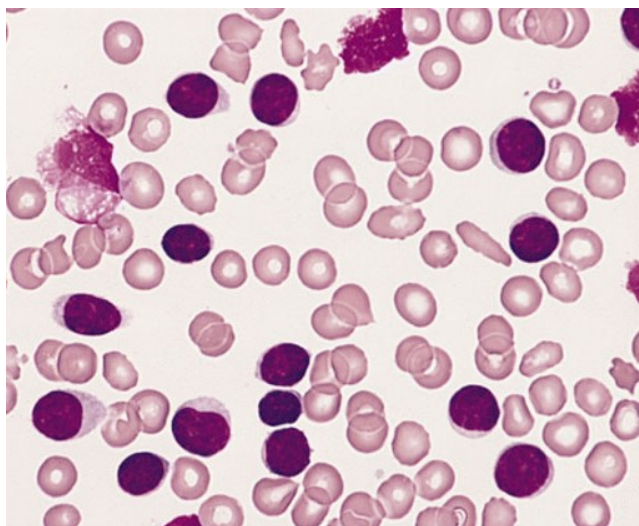
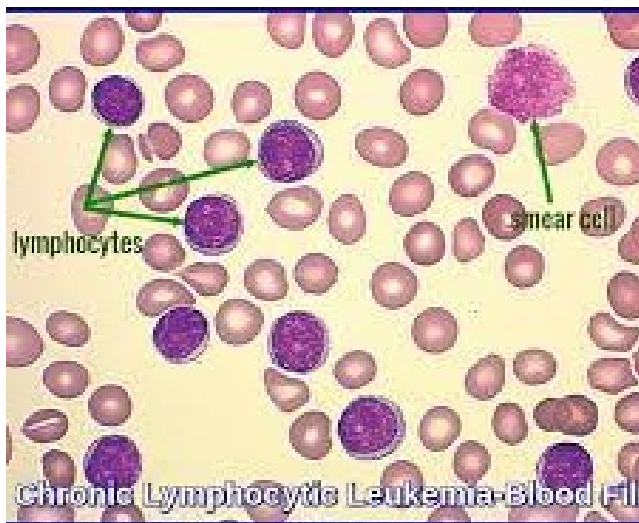
ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ...

- ✓ Επίχρισμα περιφερικού αίματος / μορφολογία λεμφοκυττάρων
- ✓ Υπαρξη συστηματικών νοσημάτων
- ✓ Φυσική εξέταση για
 - ✓ Λεμφαδενοπάθεια
 - ✓ Ηπατοσπληνομεγαλία
 - ✓ Σημεία λοίμωξης
- ✓ Κυτταρομετρία ροής
- ✓ Βιοψία μυελού
- ✓ Βιοψία λεμφαδένα

Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία



ΧΛΛ: Ορισμός – Διαγνωστικά κριτήρια

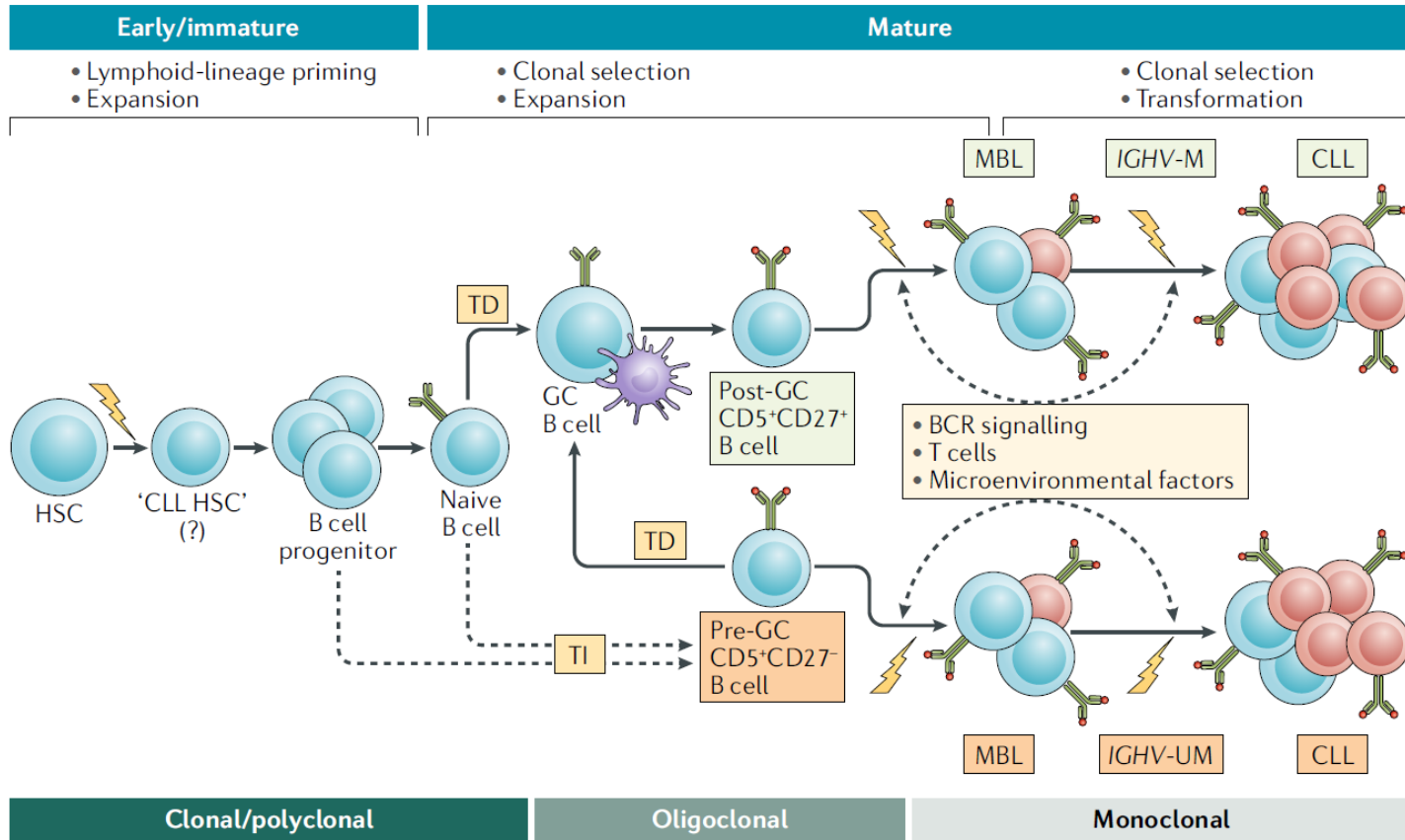


- Απόλυτη λεμφοκυττάρωση > 5000/μl μονοκλωνικά Β-λεμφοκύτταρα για τουλάχιστον 3 μήνες (IWCLL-2018)
- Η διάγνωση στηρίζεται στον ανοσοφαινότυπο περιφερικού αίματος
- Ποια είναι τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των λεμφοκυττάρων της νόσου;
 - Λεμφοκύτταρα με **ώριμη ομοιόμορφη** μορφολογία, μικρά κυρίως κύτταρα
 - Ο **πυρήνας** των κυττάρων έχει **πυκνή χρωματίνη** με τραχιά εμφάνιση (soccer ball)
 - Παρουσία (συνήθως) **λεμφοκυτταρικών πυρηνικών σκιών (smudge cells)**

ΧΛΛ άλλες οντότητες

- Άλλες οντότητες που είναι γενετικά όμοιες με ΧΛΛ και δεν πληρούν τον ορισμό της ΧΛΛ
 - SLL (λέμφωμα από μικρά λεμφοκύτταρα) -> **λεμφαδενοπάθεια**, και <5000/μl B-λεμφοκύτταρα. Η διάγνωση στηρίζεται σε **βιοψία λεμφαδένα**
 - MBL (μονοκλωνική B- λεμφοκυττάρωση)-> <5000/μl μονοκλωνικά B-λεμφοκύτταρα, απουσία λεμφαδενοπάθειας, οργανομεγαλίας ή κυτταροπενιών. **1% κατ'έτος μετατροπή σε CLL**

Παθογένεια ΧΛΛ



Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία

Ιστορικό

- Ασυμπτωματικός ασθενής (πιο συχνά)
 - – τυχαία διαπίστωση λεμφοκυττάρωσης
 - – τυχαία διαπίστωση λεμφαδενοπάθειας
- «B» συμπτώματα (απώλεια βάρους, πυρετός, κνησμός, εφιδρώσεις) = **πάρα πολύ σπάνια, σχεδόν ποτέ**
- Εμφάνιση με κάποια λοίμωξη / Συχνές λοιμώξεις / υπογαμμασφαιριναιμία
 - Πνευμονία
 - Λοίμωξη από τον ιό του απλού έρπητα
 - Λοίμωξη από τον ιό του έρπητα ζωστήρα
- Αίσθημα βάρους στον σπλήνα, σπληνομεγαλία
- Αίσθημα κόπωσης
- Αιμορραγικές εκδηλώσεις -> **σπάνια κατά την διάγνωση**

Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία

Φυσική εξέταση

- Λεμφαδενοπάθεια (γενικευμένη ή εντοπισμένη)
- Σπληνομεγαλία
- Ηπατομεγαλία
- Ωχρότητα
- Πετέχειες

Εργαστηριακά ευρήματα

- Λεμφοκυττάρωση
- Αναιμία
- Θρομβοπενία
- Υπογαμμασφαιριναιμία
- Ύπαρξη αυτοαντισωμάτων έναντι των ερυθρών του ασθενούς (δοκιμασία άμεσης Coombs θετική)
- Αυξημένη LDH

Ανοσοφαινοτυπική διάγνωση ΧΛΛ (Matutes score)

| Δείκτης | ΧΛΛ | Score | Άλλες Β-Αρχής Νεοπλασίες | score |
|---------------|-------------|------------|--------------------------|------------|
| smlg | Ασθενής | 1 | Έντονο | 0 |
| CD5 | + | 1 | Αρνητικό | 0 |
| CD23 | + | 1 | Αρνητικό | 0 |
| CD79b | Ασθενής | 1 | Έντονο | 0 |
| FMC7 | Αρνητικό | 1 | Θετικό | 0 |
| Σύνολο | ΧΛΛ= | 4-5 | Άλλο = | 0-3 |

Ανοσοφαινοτυπική διάγνωση ΧΛΛ (συστάσεις ERIC & ESCCA)

| Inclusion in Diagnostic Panel | Antigen | Expression (% pos vs. control) † | Control Population in normal peripheral blood | | Minimum Relative fluorescence intensity (preferred) |
|-------------------------------|------------|----------------------------------|---|-------------------|---|
| | | | Positive | Negative | |
| Required | CD19 | Positive (>95%) | CD20+ B-cells | CD3+ T-cells | >20* |
| | CD5 | Positive (>20%) | CD3+ T-cells | CD16/56+ NK-cells | >14 (>18) |
| | CD23 | Positive (>20%) | Naive B-cells | Memory B-cells | >5* |
| | CD20 | Weak | CD19+ B-cells | CD3+ T-cells | >5 (>20) |
| | Igκ Igλ | Weak & restricted | CD20+ B-cells | CD3+ T-cells | >10* |
| Recommended | CD43 | Positive (>20%) | CD3+ T-cells | CD20+ B-cells | >7 (>50) |
| | CD79b | Weak | CD20+ B-cells | CD3+ T-cells | >11 (>30) |
| | CD81 | Weak | CD3+ T-cells | Granulocytes | >5 (>8) |
| | CD22 | Weak | CD20+ B-cells | CD3+ T-cells | >10* |
| | CD200 | Positive (>20%) | CD19+ B-cells | CD3+ T-cells | >5 |
| | CD10 | Negative (<20%) | Granulocytes | Memory B-cells | >10* |

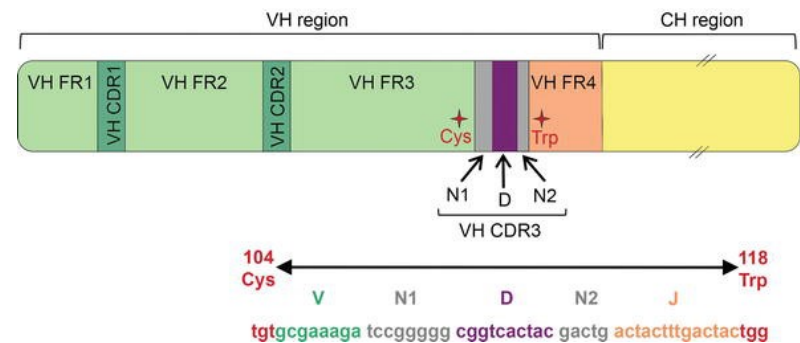
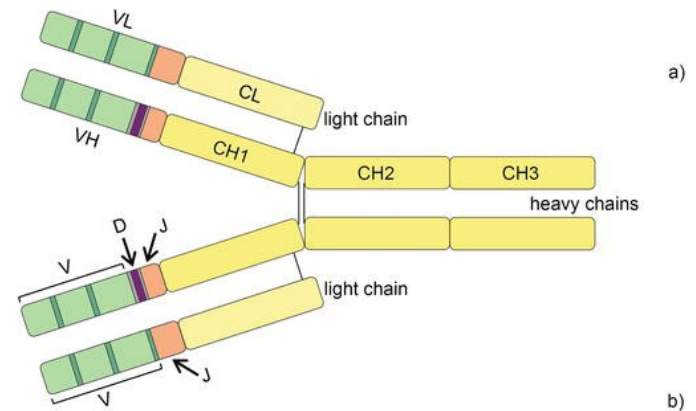
Andy C Rawstron, Karl-Anton Kreuzer, Asha Soosapilla, Martin Spacek, Peter Gambell, Neil McIver-brown, Katherina Psarra, Maria Arro, Raffaella Milani, Javier de la Serna, M. Teresa Cedena, Ozren Jaksic, Josep F. Nomdedeu, Carol Moreno, Gian Matteo Rigolin, Antonio Cuneo, Preben Johansen, Hans Erik Johnsen, Richard Rosenquist, Carsten Utoft Niemann, Wolfgang Kern, David A Westerman, Marek Trnny, Stephen P. Mulligan, Peter Hillmen, David G Oscier, Michael Hallek, Paolo Ghia, Emili Montserrat; Reproducible Diagnosis of Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) By Flow Cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation Project. *Blood* 2015; 126 (23): 4146. doi: <https://doi.org/10.1182/blood.V126.23.4146.4146>

Άλλοι προγνωστικοί δείκτες στην ΧΛΛ

- Απώλεια των βραχέων σκελών του χρ. 17 (**del-17p**) και μεταλλάξεις του γονιδίου **p53**
- Σωματικές **υπερμεταλλάξεις** της **IgVH** περιοχής
- Έκφραση **ZAP-70** και **CD38**
- **Κλινικό στάδιο**

Κακής πρόγνωσης:

- **del-17p**
- **del-11q**
- μεταλλάξεις του γονιδίου **p53**
- **Αμετάλλακτες βαριές αλυσίδες ανοσοσφαιρινών**



Teodora Karan-Djurasevic and Sonja Pavlovic (July 12th 2017). Somatic Hypermutational Status and Gene Repertoire of Immunoglobulin Rearrangements in Chronic Lymphocytic Leukemia, Lymphocyte Updates - Cancer, Autoimmunity and Infection, Gheorghita Isvoranu, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.69110.

Κλινική Σταδιοποίηση ΧΛΛ - Σύστημα Rai (modified)

| Επίπεδο κινδύνου | Στάδιο | Κλινικά ευρήματα στην διάγνωση |
|------------------|--------|---|
| Χαμηλό | 0 | Λεμφοκυττάρωση |
| Ενδιάμεσο | I | + λεμφαδενοπάθεια |
| | II | + σπληνομεγαλία ή ηπατομεγαλία |
| Υψηλό | III | + αναιμία (Hb <11 g/dl) |
| | IV | + θρομβοπενία Αιμοπετάλια < 100000/ μl |

Σταδιοποίηση ΧΛΛ- σύστημα Binet

| Στάδιο | Αντίστοιχο στάδιο κατά Rai | Κλινικά ευρήματα στην διάγνωση |
|--------|----------------------------|--|
| A | 0-2 | Λεμφοκυττάρωση (αίμα + μυελό), < 3 θέσεις ψηλαφητών λεμφαδένων |
| B | 1-2 | Λεμφοκυττάρωση και ≥ 3 περιοχές ψηλαφητών λεμφαδένων (+/- ήπαρ / σπλήν) |
| C | 3-4 | Ως άνω + αναιμία ή/και θρομβοπενία |

Ενδείξεις έναρξης θεραπείας στην ΧΛΛ

- Στη χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία η διάγνωση δεν συνεπάγεται άμεση έναρξη θεραπείας!
- Δεν χρειάζονται θεραπεία ασθενείς χαμηλού κλινικού σταδίου
- Κάποιοι ασθενείς ενδιάμεσου κλινικού σταδίου που δεν εμφανίζουν συμπτωματική νόσο επωφελούνται από την παρακολούθηση
- Οι ενδείξεις έναρξης θεραπείας συνοψίζονται ως εξής
 - Κόπωση, πυρετός, εφιδρώσεις, απώλεια βάρους
 - Προοδευτικά επιδεινούμενη αναιμία ή θρομβοπενία
 - Προοδευτική αύξηση του μεγέθους λεμφαδένων (+/- συνοδά σημεία απόφραξης) & Πίεση παρακείμενων σπλάγχχνων από λεμφαδενικές μάζες
 - Προοδευτική αύξηση του μεγέθους ήπατος, σπληνός
 - Ταχύς χρόνος διπλασιασμού λεμφοκυττάρων (σε ≤ 6 μήνες)
 - Εξωλεμφαδενική συμμετοχή (συμπτωματική ή με λειτουργικό πρόβλημα)
 - Εμφάνιση αυτοάνοσων εκδηλώσεων: Αιμολυτική αναιμία ή θρομβοπενία

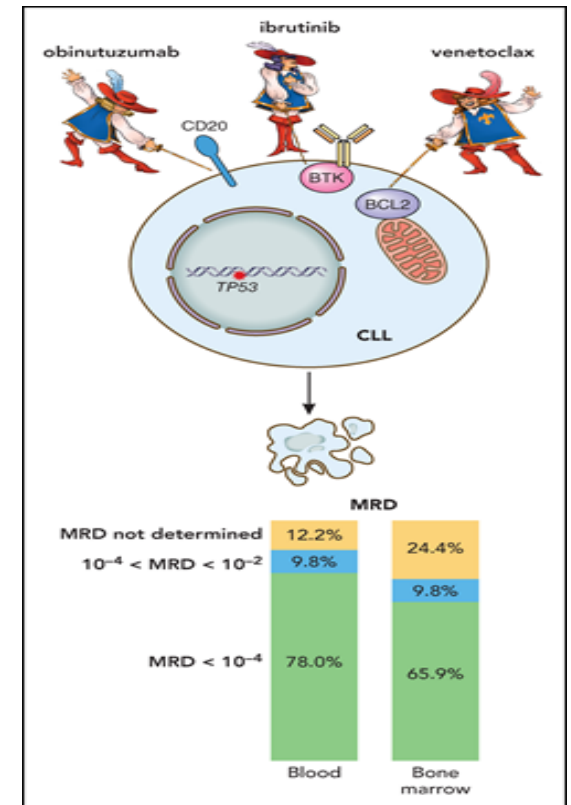
Θεραπευτικές επιλογές στη ΧΛΛ

- Η θεραπευτική αλλάζει ανάλογα την κατάσταση ικανότητας και την ηλικία του ασθενούς
- Επίσης από τους μοριακούς δείκτες
 - Την απώλεια των βραχέων σκελών του χρ. 17 (**del-17p**) και μεταλλάξεις του γονιδίου **p53**
 - Τις σωματικές **υπερμεταλλάξεις της IgVH περιοχής**
- **Δύο θεραπευτικές στρατηγικές**
 - Χημειοανοσοθεραπεία
 - Στοχευμένες θεραπείες με την χρήση μικρών φαρμακευτικών μορίων

Θεραπευτικές επιλογές στη ΧΛΛ

Χημειοανοσοθεραπεία:

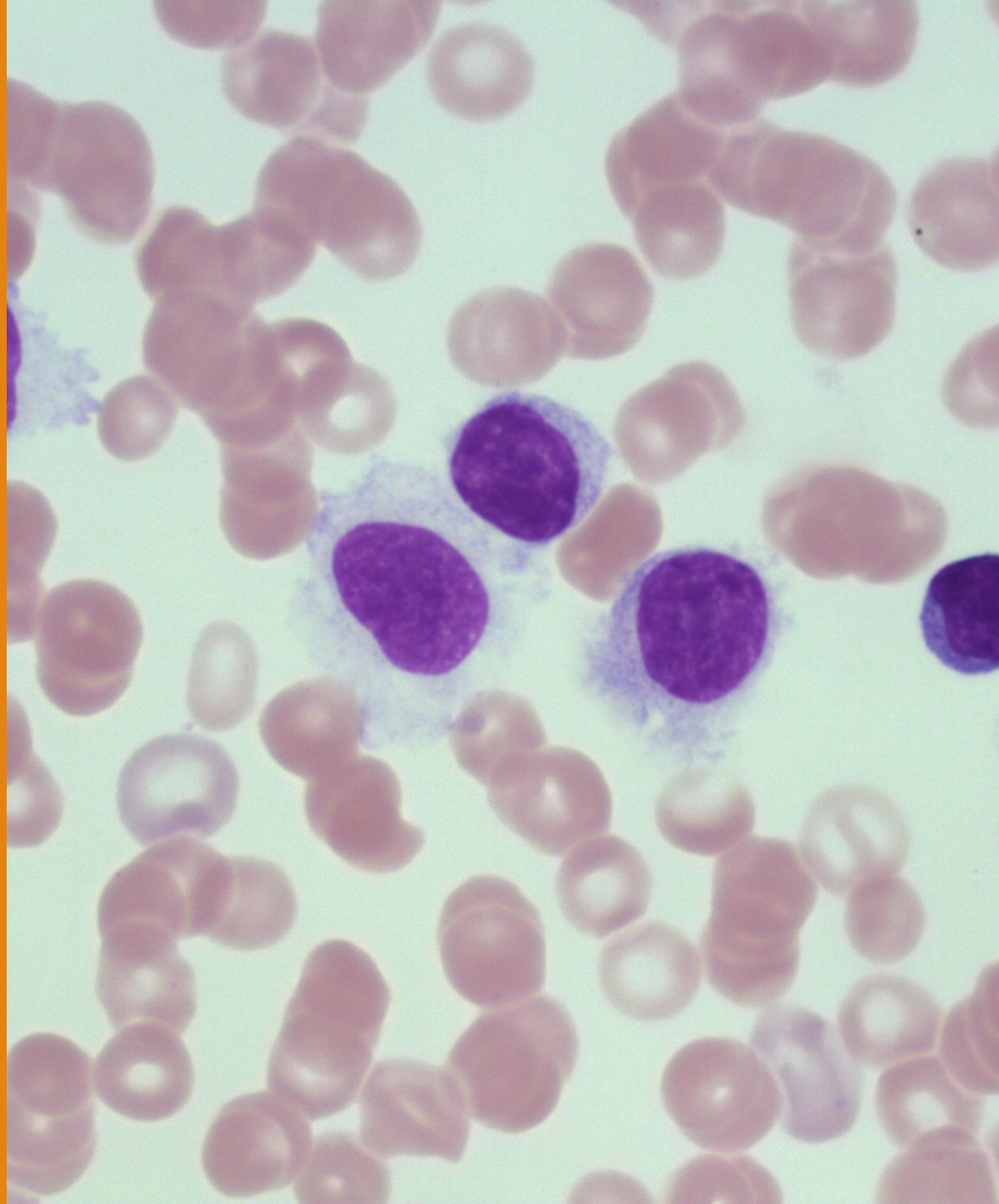
- αλκυλιούντες παραγόντες (χλωραμβουκίλη, μπενταμουστίνη, κυκλοφωσφαμίδη)
- ανάλογα πουρίνης (φλουνταραμπίνη)
- με μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον των Β-λεμφοκυττάρων που στοχεύουν επιτόπους του CD20 (Rituximab, & Obinutuzumab)
- Στοχευμένες θεραπείες
 - Αναστολέας της τυροσινικής κινάσης του Bruton -> ibrutinib, acalrutinib
 - Αναστολέας της κινάσης PI3K δ -> idelalisib
 - Αναστολέας bcl-2 -> venetoclax
 - Οι παραπάνω αναστολείς μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε συνδυασμό με anti-CD20



Επιπλοκές ΧΛΛ

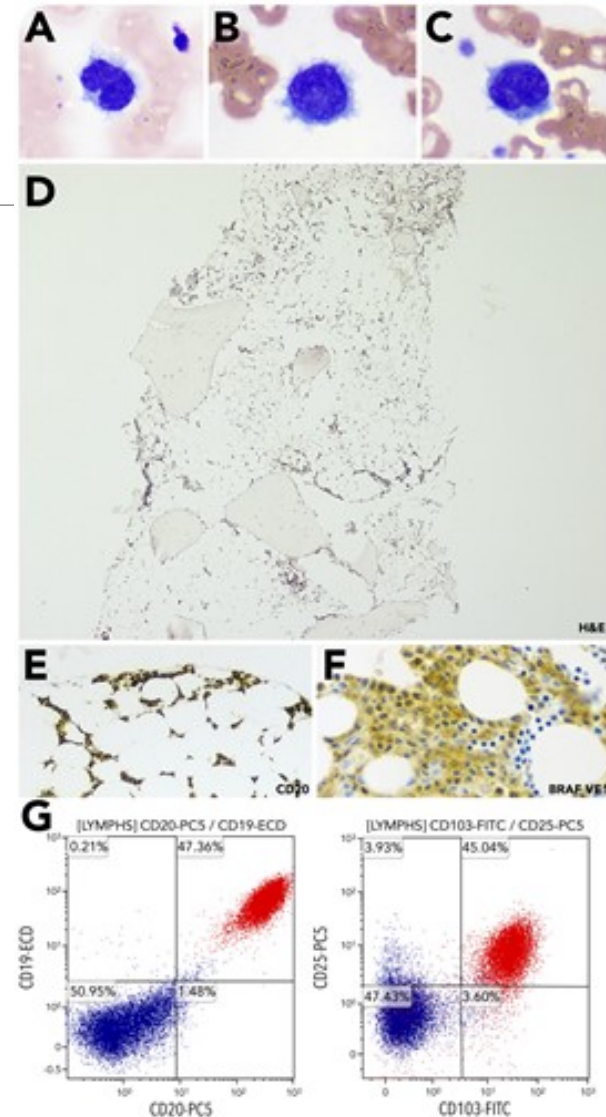
- **Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία**
 - Αναιμία, αυξημένη εμ. χολερυθρίνη, αυξημένη LDH, μειωμένη απτοσφαιρίνη, θετική άμεση Coombs
 - Θεραπεία με κορτικοστεροειδή
- **Ανοσολογικής αρχής θρομβοπενία**
 - Χαμηλά αιμοπετάλια, αιμορραγικές εκδηλώσεις
 - Θεραπεία με κορτικοστεροειδή
- **Υπογαμμασφαιριναιμία (IgG < 500mg/dl)**
 - Μπορεί να συνοδεύεται από λοιμώξεις
 - Μπορεί να χρειάζεται θεραπεία υποκατάστασης με ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη
- **Σύνδρομο Richter**
 - Μετατροπή της ΧΛΛ σε επιθετικό β-λέμφωμα
 - Δύσκολη η αντιμετώπιση
 - Αντιμετωπίζεται με ως DLBCL με ανοσοχημειοθεραπεία R-CHOP
- **Αυξημένος κίνδυνος σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό για ανάπτυξη κακοήθειας**

Λευχαιμία εκ
τριχωτών
κυττάρων



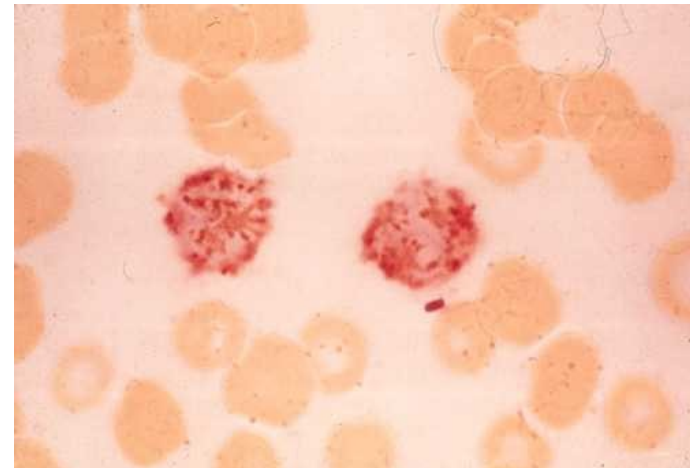
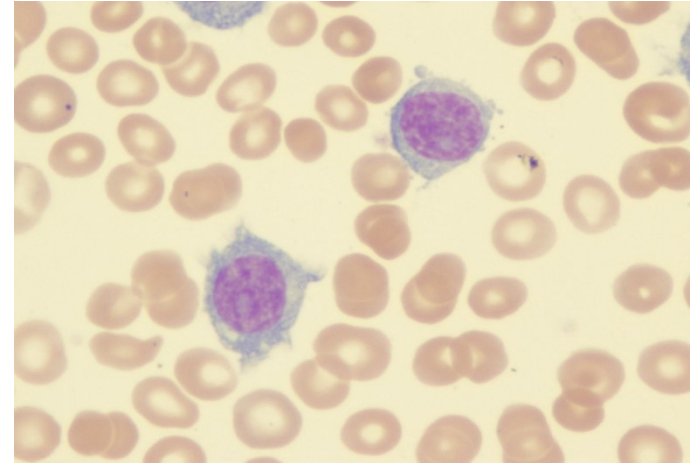
Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων (Hairy cell Leukemia - HCL)

- Σπάνιο Β-λέμφωμα με λευχαιμική εικόνα
 - Μέση ηλικία: 63 έτη, άνδρες/γυναίκες: 5/1
 - Η νόσος αυτή έχει πολύ καλή πρόγνωση και διάμεση επιβίωση > 10 έτη
- Κλινική εικόνα
- Εκσημασμένη σπληνομεγαλία
 - Απουσία λεμφαδενοπάθειας
 - Συχνές Λοιμώξεις

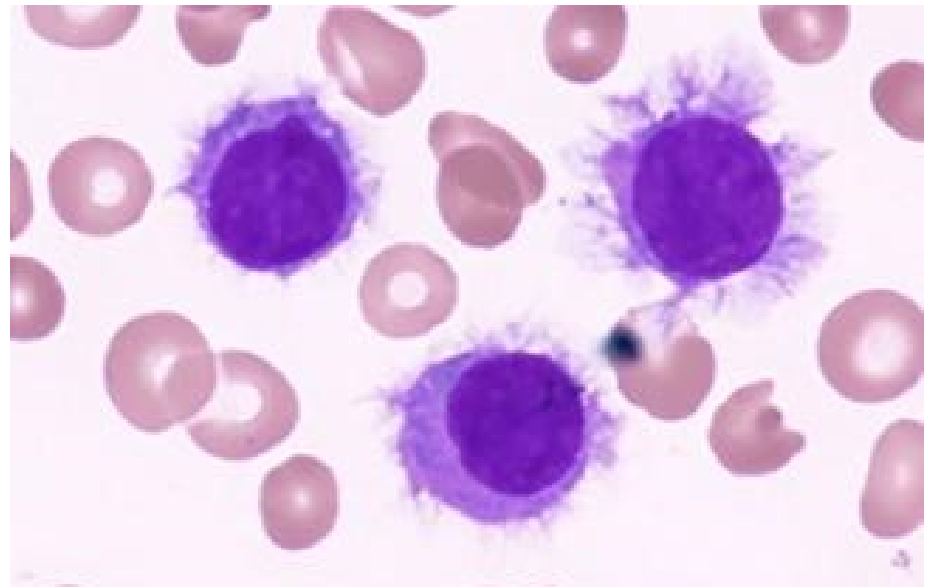
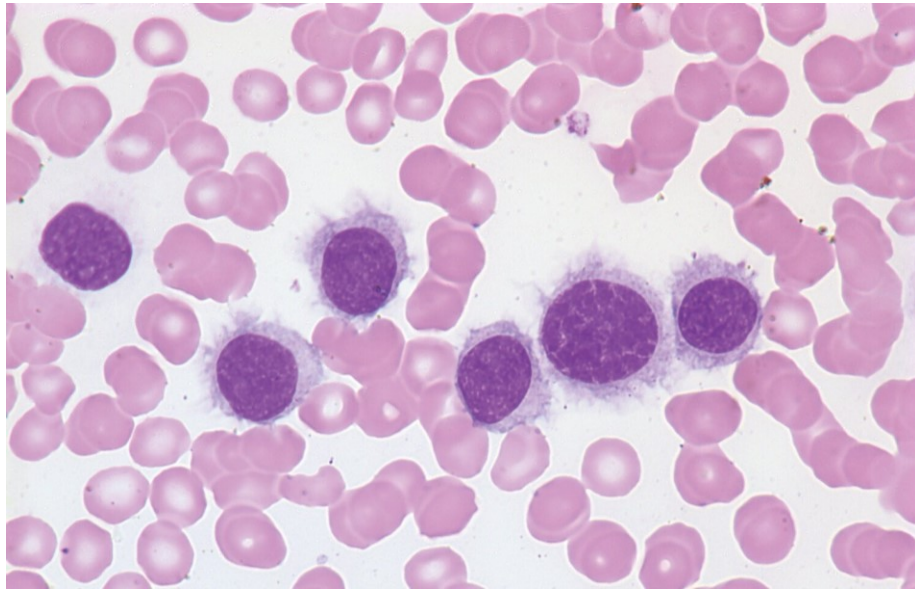


Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων

- Γενική αίματος
 - Πανκυτταροπενία,
 - είτε μόνο σοβαρή ουδετεροπενία, +/- θρομβοπενία
 - Τα χαρακτηριστικά παθολογικά/ τριχωτά λεμφοκύτταρα (ενδέχεται να είναι λίγα)
 - Συνήθως απουσιάζουν τα μονοκύτταρα
- Δυσχερής / αδύνατη αναρρόφηση μυελού (dry tap)
- Χαρακτηριστική εικόνα στην βιοψία (fried eggs appearance)
- Τα παθολογικά λεμφοκύτταρα έχουν χαρακτηριστικό ανοσοφαινότυπο
 - **CD103++**, CD22+, **CD11c+**, CD25+, CD123+, FMC7+, CD19+, CD20+, CD79a+, CD79b-, s-IgG, IgM, IgD, IgA
- Τα τριχωτά κύτταρα συνήθως διηθούν: **μυελό**, **σπλήνα** (ερυθρό πολφό), ήπαρ (κολποειδή), δέρμα
- Τα κύτταρα είναι θετικά για την χρώση με **Οξίνη φωσφατάση**, ανθεκτική στο Τρυγικό (TRAP staining)

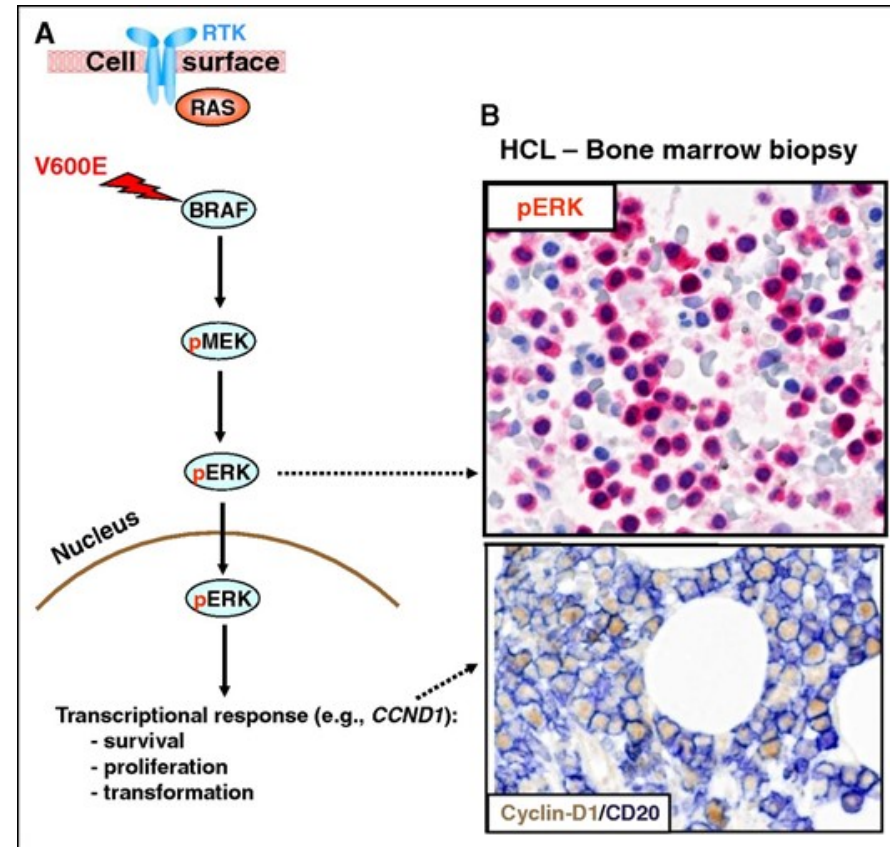


Hairy cell leukemia



Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων

- Το μεγαλύτερο ποσοστό (>70%) των HCL φέρει μετάλλαξη στο πρωτο-ογκογονίδιο **BRAF** και έγινε γνωστό μόλις το 2011
- **BRAF V600E** σημειακή μετάλλαξη (αντικατάσταση θυμίνης με αδερίνη στην θέση 1799 του εξονίου 15) που οδηγεί στην αλλαγή του αμινοξέος στην θέση 600 από βαλίνη (V) σε γλουταμινικό οξύ(E)
- Αυτό οδηγεί στην ενεργοποίηση του μονοπατιού σηματοδότησης **RAS-RAF-MEK-ERK**



Λευχαιμία εκ τριχωτών Κυττάρων: Θεραπεία

- **Θεραπείες εκλογής- πρώτης γραμμής:**
 - Ανάλογα πουρινών (Cladribine, Pentostatin)
- Σε υποτροπή μπορεί να χρησιμοποιηθεί το rituximab σε συνδυασμό με ανάλογο πουρίνης
- Σε ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα νόσο μπορούν να χρησιμοποιηθούν αναστολείς του BRAF (vemurafenib, dabrafenib)
- Παλαιότερες θεραπείες (Σπληνεκτομή, Interferon) έχουν πλέον θέση μόνο σε λίγους ασθενείς στην υποτροπή

.....*The end!*