

*Διαγνωστική προσπέλαση  
λεμφοκυττάρωσης  
ΧΜΛ (Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία)  
Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων*

*Λάζαρης Βασίλειος*

*Αιματολόγος*

*Μάρτιος 2022*

# Διαγνωστική προσέγγιση και διαφορική διάγνωση λεμφοκυττάρωσης

---

## □ Τι είναι η λεμφοκυττάρωση;

Η αύξηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων στην γενική αίματος (λεμφοκύτταρα > 4000 /mm<sup>3</sup> )

## □ Ποιες είναι οι αιτίες της λεμφοκυττάρωσης;

Είναι πολλές χωρίζονται σε 2 μεγάλες κατηγορίες :

- Πρωτοπαθείς (λεμφουπερπλαστικά νοσήματα)
- Δευτεροπαθείς ή αντιδραστικές λεμφοκυτταρώσεις

## □ Ποια χαρακτηριστικά βοηθούν στην διαφορική διάγνωση της λεμφοκυττάρωσης;

- Η ηλικία του ασθενούς κατά την διάγνωση
- Ιατρικό ιστορικό ασθενούς
- Προσεκτική παρατήρηση του επιχρίσματος και των λεμφοκυττάρων

# Διαγνωστική προσέγγιση και διαφορική διάγνωση λεμφοκυττάρωσης

---

□ Ποια μορφολογικά χαρακτηριστικά συνηγορούν υπέρ της αντιδραστικής λεμφοκυττάρωσης;

- Ποικιλομορφία στο μέγεθος και το σχήμα των λεμφοκυττάρων

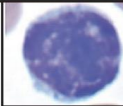
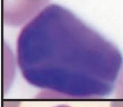
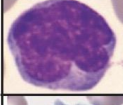

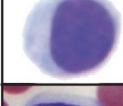
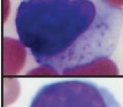
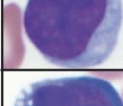

□ Αίτια αντιδραστικής λεμφοκυττάρωσης

- ❖ 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 →		<b>Sézary syndrome</b> 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>

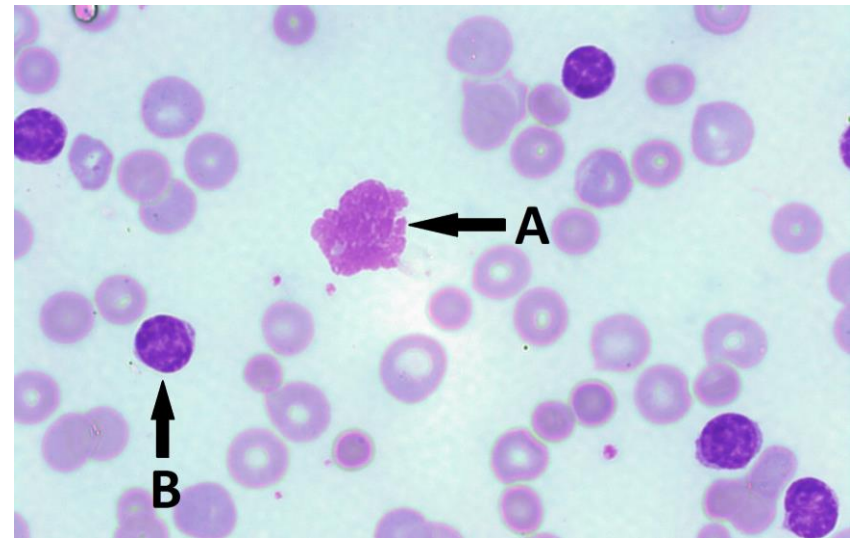
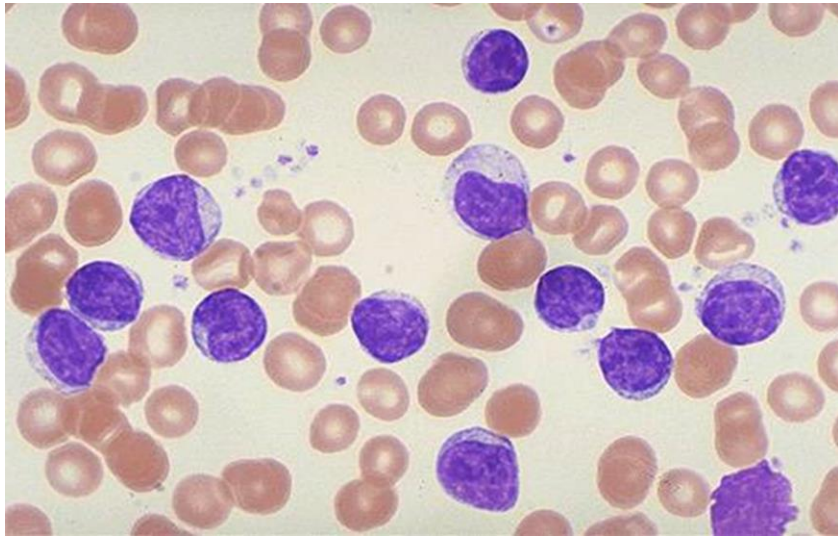
# ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ...

---

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

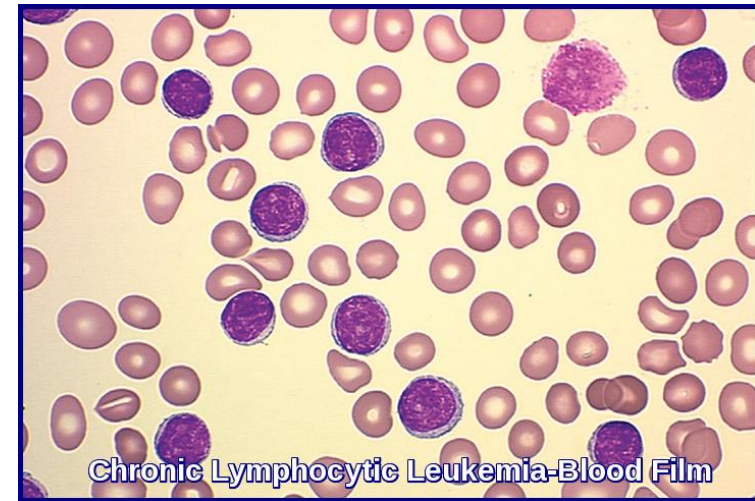
# Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία

---



# 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)



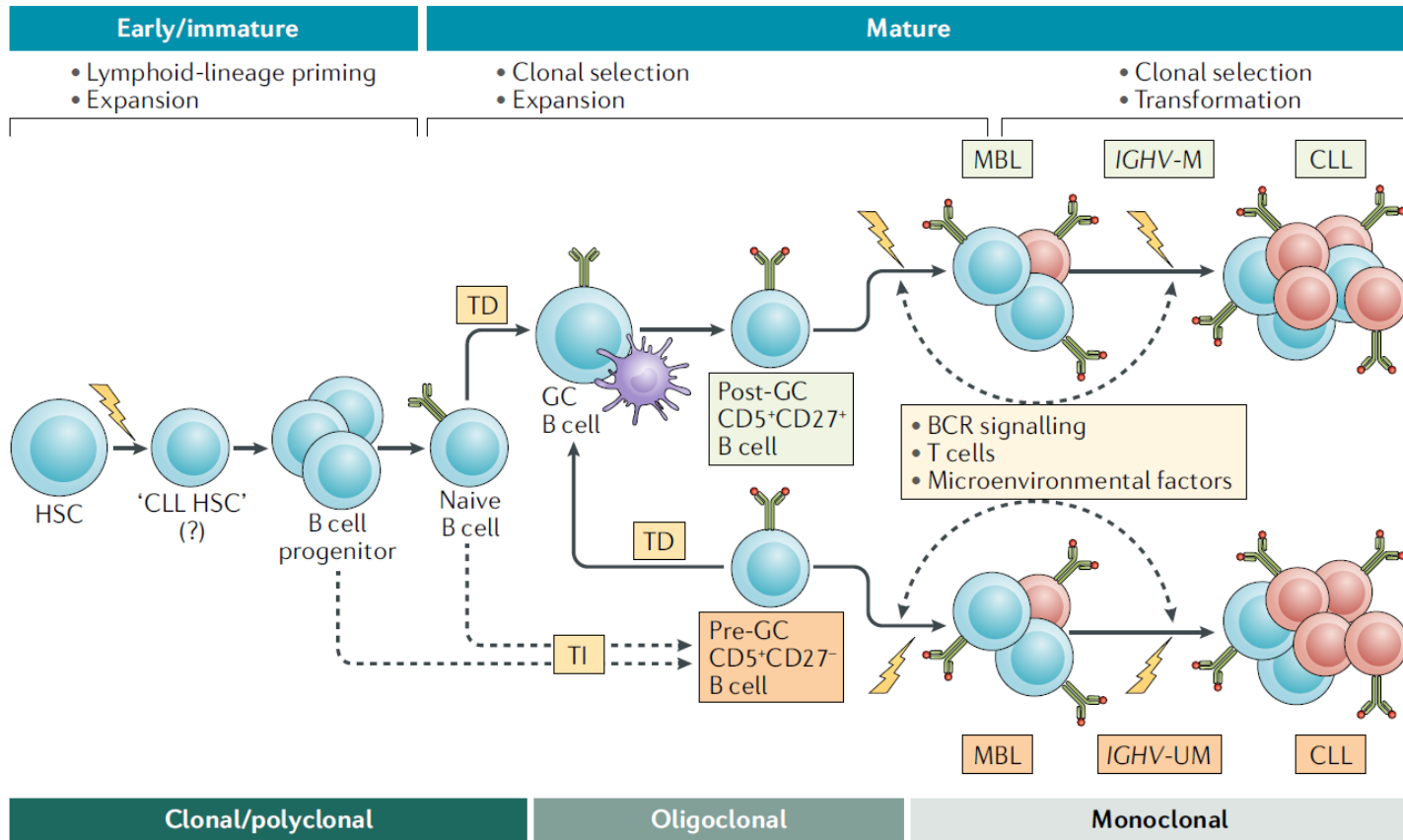
# ΧΛΛ άλλες οντότητες

---

- Άλλες οντότητες που είναι γενετικά όμοιες με ΧΛΛ και δεν πληρούν τον ορισμό της ΧΛΛ
  - SLL ( λέμφωμα από μικρά λεμφοκύτταρα) -> λεμφαδενοπάθεια, και <5000/μl β-λεμφοκύτταρα. Η διάγνωση στηρίζεται σε βιοψία λεμφαδένα
  - MBL (μονοκλωνική β- λεμφοκυττάρωση)-> <5000/μl μονοκλωνικά β-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
  - Πνευμονία
  - Λοίμωξη από τον ιό του απλού έρπητα
  - Λοίμωξη από τον ιό του έρπητα ζωστήρα
- Αίσθημα βάρους στον σπλήνα, σπληνομεγαλία
- Αίσθημά κόπωσης
- Αιμορραγικές εκδηλώσεις -> **σπάνια κατά την διάγνωση**

# Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία

## Φυσική εξέταση

---

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

# Εργαστηριακά ευρήματα

---

- Λεμφοκυττάρωση
- Αναιμία
- Θρομβοπενία
- Υπογαμμασφαιριναιμία
- Ύπαρξη αυτοαντισωμάτων έναντι των ευθρών 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
<b>Σύνολο</b>	<b>ΧΛΛ=</b>	<b>4-5</b>	<b>Άλλο =</b>	<b>0-3</b>

# 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 Mclver-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 Trnety, 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>

# Χρωσωμικές ανωμαλίες στην ΧΛΛ

## ■ Συχνές χρωσωματικές ανωμαλίες με προγνωστική σημασία

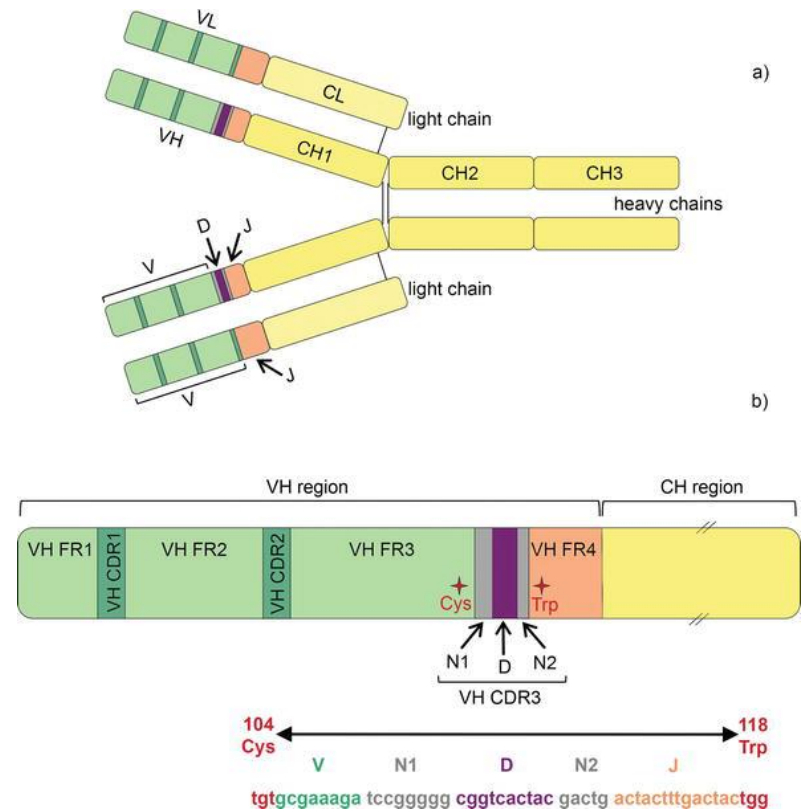
- del-17p
- del-11q
- Τρισωμία 12
- del-13q

## ■ Ο σύνθετος καρυότυπος $\geq 3$ ανωμαλίες σχετίζεται με κακή πρόγνωση



# 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**



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 <b>≥ 3 περιοχές</b> ψηλαφητών λεμφαδένων (+/- ήπαρ / σπλήν)
C	3-4	Ως άνω + <b>αναιμία ή/και θρομβοπενία</b>

# 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  $\leq 6$  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

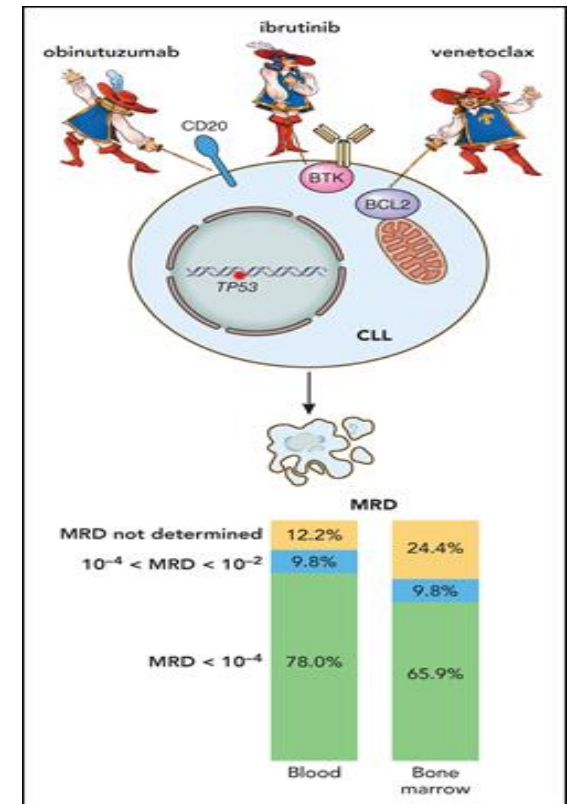
# Θεραπευτικές επιλογές στη ΧΛΛ

## ■ Χημειοανοσοθεραπεία

- Χρήση κλασικών χημειοθεραπευτικών όπως οι αλκυλιούντες παραγόντες (χλωραμβουκίλη, μπενταμουστίνη, κυκλοφωσφαμίδη) και τα ανάλογα πουρίνης ( φλουνταραμπίνη) με μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον των B-λεμφοκυττάρων που στοχεύουν επιτόπους του CD20 (Rituximab, & Obinutuzumab)

## ■ Στοχευμένες θεραπείες

- Αναστολέας της τυροσινικής κινάσης του Bruton -> ibrutinib
- Αναστολέας της κινάσης PI3K $\delta$  -> idelalisib
- Αναστολέας bcl-2 -> venetoclax
- Οι παραπάνω αναστολείς μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε συνδυασμό με anti-CD20

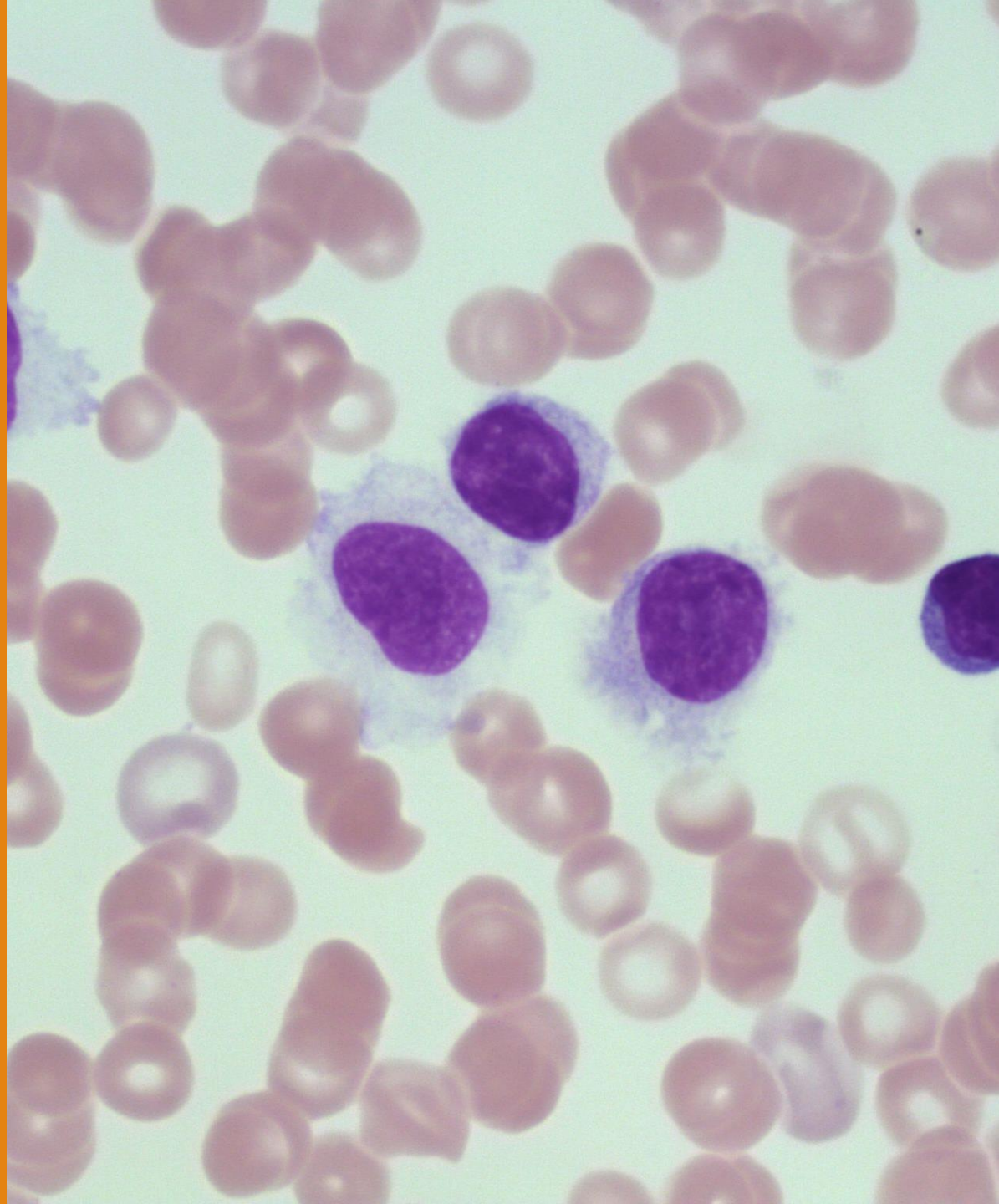


# Επιπλοκές ΧΛΛ

---

- **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**

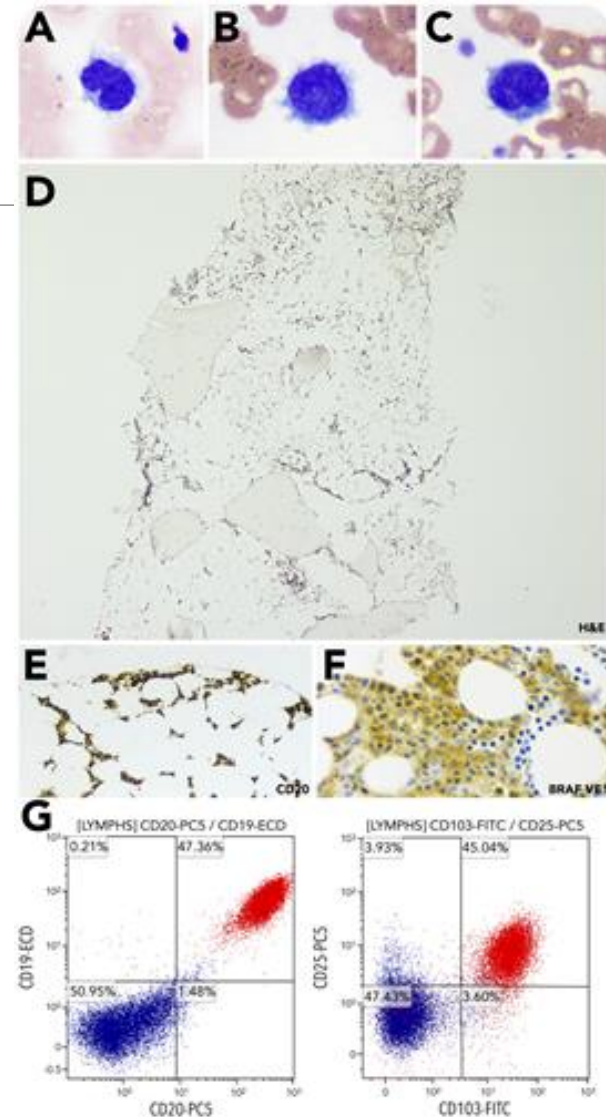
Λευχαιμία εκ  
τριχωτών  
κυττάρων





# Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων (Hairy cell Leukemia - HCL)

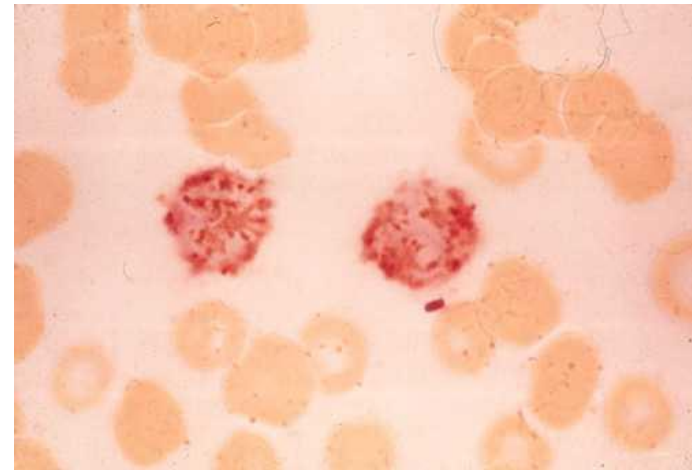
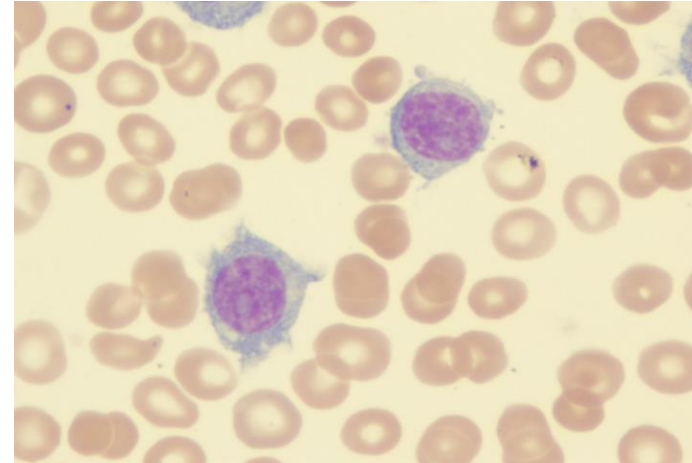
- Σπάνιο β-λέμφωμα με λευχαιμική εικόνα
- Μέση ηλικία: 63 έτη, άνδρες/γυναίκες: 5/1
- Η νόσος αυτή έχει πολύ καλή πρόγνωση και διάμεση επιβίωση > 10 έτη
- Κλινική εικόνα
  - Εκσημασμένη σπληνομεγαλία
  - Απουσία λεμφαδενοπάθειας
  - Συχνές Λοιμώξεις





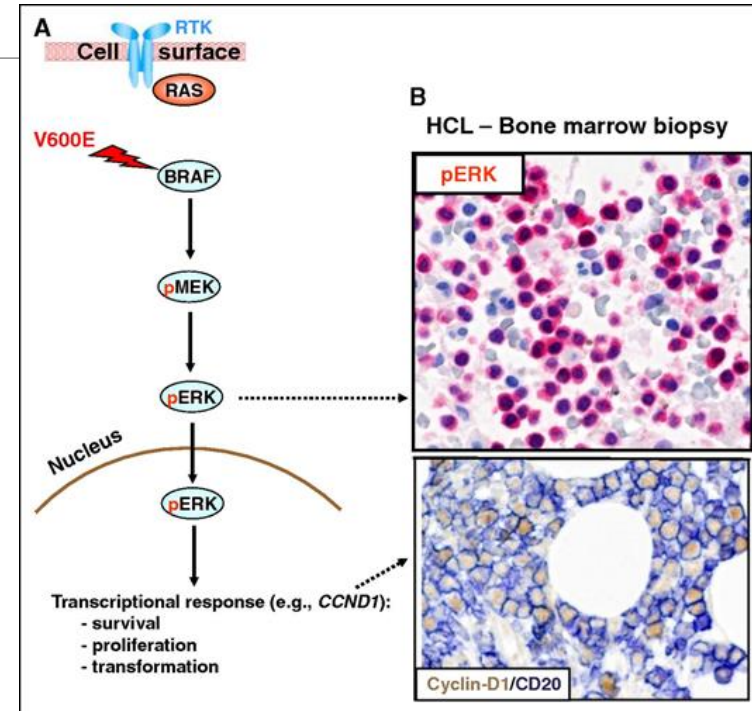
# Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων

- 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)



# 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 αδενίνη 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
- Το **moxetumomab pasudotox** έχει λάβει έγκριση από το FDA το 2018 και αναμένεται και από το ευρωπαϊκό οργανισμό φαρμάκων
- 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