

Introduzione

Il programma Blood Films for Morphology è strutturato con esercizi educazionali diretti alla valutazione e certificazione della performance del morfologo che esegue indagini in microscopia ematologica.

Per ognuno degli otto esercizi annuali è richiesto il riconoscimento degli aspetti morfologici più significativi con l'intento di ottenere una informazione clinicamente utile.

Le elaborazioni dei risultati contengono una sintesi delle caratteristiche dei casi clinici proposti, riportando cumulativamente le osservazioni dei partecipanti.

A report pubblicato, UK NEQAS invita i partecipanti a riguardare i due vetrini per un'ulteriore analisi retrospettiva.

I due esercizi 2307BF1 e 2307BF2 sono stati inviati a 565 partecipanti di cui 542 (95%) hanno risposto.

Risultati 2307BF1 – 536 partecipanti hanno dichiarato il preparato come soddisfacente

Ordine	Caratteristica morfologica	Partecipanti che hanno scelto la caratteristica
1	Linfocitosi	99%
2	Trombocitopenia	98%
3	Rouleaux	49%
4	Linfociti atipici/sospetti per neoplasia	32%
5	Linfociti atipici/sospetti per attivazione	23%

Discussione – *sintesi del commento eseguito dal Dr. Chris McNamara*

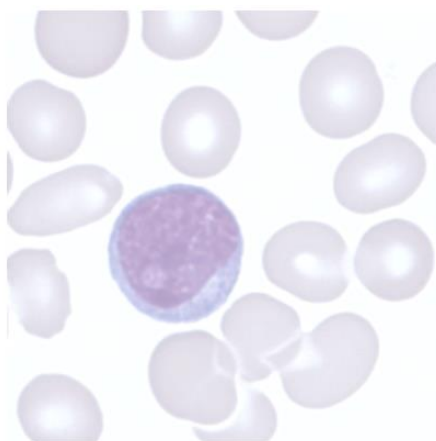


Figure 1

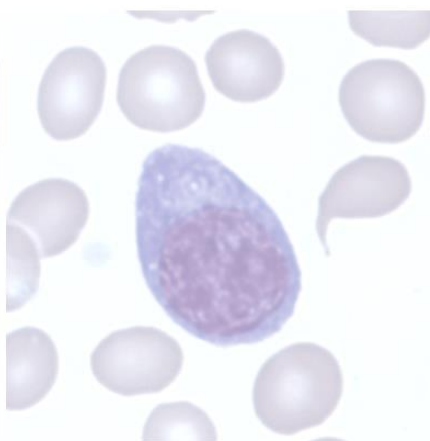


Figure 2

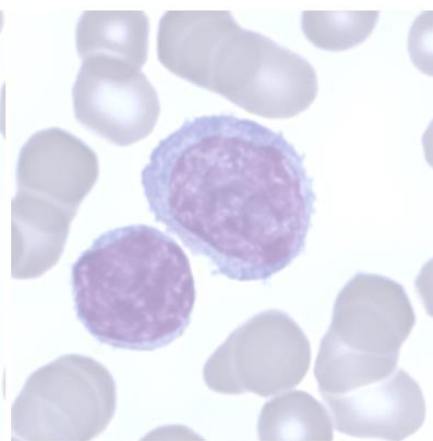


Figure 3

Questo striscio proviene da un paziente di 79 anni con una storia consolidata di leucemia linfocitica cronica (LLC). Non erano disponibili altre informazioni, ad esempio se quest'uomo fosse in terapia ed in salute. La stragrande maggioranza (93%) dei partecipanti ha evidenziato la linfocitosi, un requisito per la diagnosi di CLL, e nella maggior parte dei casi i partecipanti hanno suggerito proprio questa diagnosi. Il riscontro accidentale di una lieve linfocitosi è un evento molto comune in soggetti per i quali viene richiesto un emocromo completo; molte persone affette da LLC restano asintomatiche per lunghi periodi di tempo prima che si sviluppino sintomi evidenti.

Una minoranza di intervistati ha suggerito diagnosi di altre patologie linfoproliferative, ad esempio linfoma mantellare (MCL) ed hairy cell leukemia (HCL). Da notare, in alcuni linfociti, le occasionali piccole proiezioni villose (figura 3). La differenziazione tra CLL ed hairy cell leukemia può solitamente essere fatta utilizzando la morfologia, ad esempio nell'HCL il nucleo è spesso dentellato o a forma di rene e la maggior parte dei linfociti presenta numerose proiezioni citoplasmatiche. Quando invece sono presenti esclusivamente alcune cellule con

piccole proiezioni citoplasmatiche, queste possono essere associate ad alterazioni post-analitiche dovute alla preparazione del campione. Per una discussione sulla diagnosi differenziale tra CLL e MCL, si rimanda al caso successivo (2307BF2). Tuttavia, l'integrazione dei risultati morfologici con la citometria a flusso aumenta l'accuratezza della diagnosi. L'immunofenotipo qui riportato è tipico della CLL. L'iperespressione di CD200 è ampiamente riportata nella LLC ma non nel linfoma mantellare, ciò favorisce la discriminazione tra queste due neoplasie a cellule B CD5-positive. Anche gli studi molecolari potrebbero essere utili, ma richiedono molto più tempo rispetto all'analisi citofluorimetrica.

Il 46% degli intervistati ha riferito la presenza di rouleaux, che consistono nella disposizione dei globuli rossi adiacenti l'uno all'altro in modo tale da assomigliare ad una pila di monete. Tra le cause di rouleaux nelle persone affette da CLL va considerata una paraproteina atipica monoclonale ("gammopatia monoclonale"), presente in una minoranza di pazienti. Altre cause includono infezioni e infiammazione o qualsiasi altra condizione associata alla presenza nel plasma di proteine ad alto peso molecolare.

Molti partecipanti hanno spiegato la presenza dei rouleaux ipotizzando una infezione concomitante. Come già precisato, è importante ricordare che i pazienti affetti da CLL presentano normalmente un lungo decorso della malattia, spesso di diversi decenni, e sono a rischio di sviluppare altri processi patologici come infezioni che possono spiegare questo tipo di alterazioni.

Alcuni partecipanti, in base alle caratteristiche morfologiche presenti sullo striscio, hanno ipotizzato una diagnosi di mieloma. Sebbene i rouleaux siano comunemente presenti nel mieloma, le anomalie di questo vetrino sono riferibili a linfociti e non a plasmacellule. Non erano disponibili ulteriori informazioni su questo paziente, con particolare riferimento alla eventuale presenza di una paraproteina nel siero.

La trombocitopenia è stata segnalata dal 77% dei partecipanti. Si tratta di un riscontro comune nella CLL e può essere associata ad uno o più dei seguenti motivi: ridotta produzione di piastrine nel midollo osseo, dovuta alla sostituzione della emopoiesi normale da parte della CLL, distruzione immunomediata delle piastrine (come conseguenza della disregolazione immunitaria secondaria a CLL) e, infine, sequestro splenico in soggetti affetti da splenomegalia per infiltrazione della milza da parte della malattia.

In sintesi, la maggior parte dei partecipanti ha segnalato correttamente la lieve linfocitosi e la trombocitopenia, e molti di essi hanno suggerito la diagnosi corretta di CLL indicando il percorso che il loro laboratorio avrebbe seguito per arrivare a questa diagnosi. Nello striscio di sangue di un paziente con CLL è possibile rilevare una serie di altre atipie morfologiche che è utile conoscere, in quanto i campioni di questi pazienti si riscontrano comunemente nei laboratori di ematologia.

Risultati 2307BF2 – 539 partecipanti hanno dichiarato il preparato come soddisfacente

Ordine	Caratteristica morfologica	Partecipanti che hanno scelto la caratteristica
1	Eritroblasti	93%
2	Blasti	81%
3	Trombocitopenia	74%
4	Ombre nucleari	60%
5	Vacuolazione citoplasmatica	32%

Discussione - sintesi del commento eseguito dal Dr. Chris McNamara

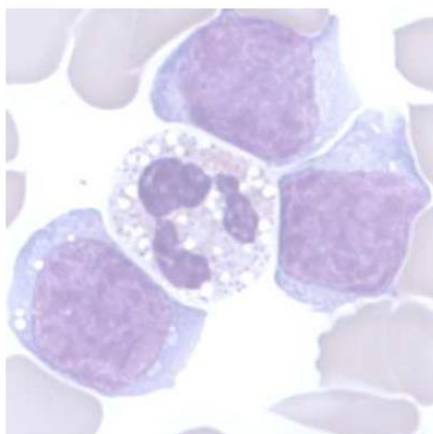


Figure 4

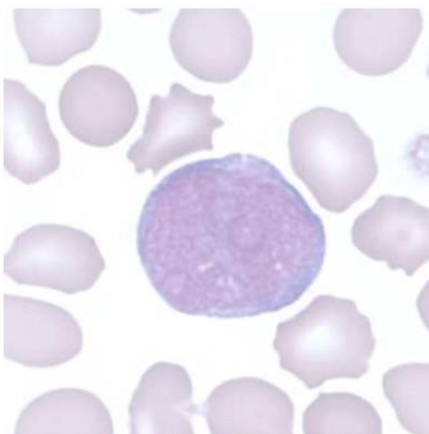


Figure 5

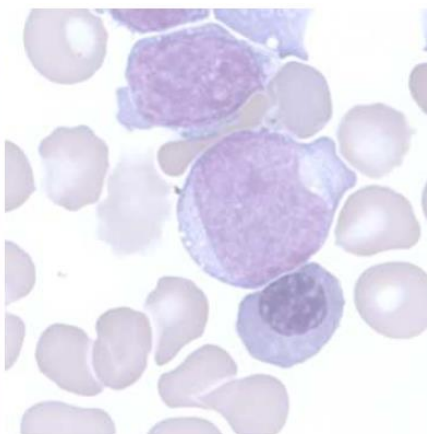


Figure 6

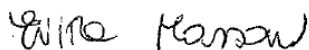
Questo striscio proviene da una donna di 79 anni con una storia consolidata di linfoma mantellare (MCL). Non erano disponibili altre informazioni, ad esempio se la paziente avesse mai ricevuto terapie e se fosse in salute al momento del prelievo. Il coinvolgimento del sangue periferico da parte del MCL è molto comune. La maggioranza (81%) dei partecipanti ha riportato la presenza di cellule mononucleate atipiche di grandi dimensioni ed il 60% ha evidenziato le ombre nucleari. Il 92% ha riferito la presenza di eritroblasti e/o leucoeritroblastosi. In assenza di notizie cliniche, i partecipanti hanno proposto varie possibili spiegazioni. Un punto importante da considerare nell'affrontare questo caso è che il MCL comprende una serie di varianti morfologiche, alcune delle quali hanno significato clinico, ed è importante che il laboratorio sappia riconoscerle. L'aspetto del MCL nel sangue può ricordare la più frequentemente riscontrata leucemia linfatica cronica (CLL, vedi anche il caso 2307BF1), la leucemia prolinfocitica e persino la leucemia linfoblastica acuta. Tutte queste ipotesi sono state formulate da diversi partecipanti. Sebbene fossero visibili occasionali piccoli linfociti con cromatina matura e nucleoli mal distinguibili, la presenza di cellule immature, altamente pleomorfe come quelle evidenziate nelle figure 4, 5 e 6, insieme al quadro leucoeritroblastico, rendono molto improbabile la diagnosi di CLL non complicata.

La chiave per differenziare tra le altre possibili diagnosi è la correlazione clinica (che in questo caso sarebbe stata riconducibile ad un quadro di MCL) seguita dalla tipizzazione dei linfociti mediante immunofenotipizzazione e studi molecolari. Il fenotipo sopra riportato è tipico del MCL e consente di differenziarlo dalla CLL; da notare la brillante espressione di immunoglobuline di superficie e l'assenza di espressione sia di CD23 che di CD200. L'ibridazione fluorescente *in situ* (FISH) ha mostrato la traslocazione archetipica del MCL che si ritiene sia l'evento iniziale principale in questa condizione. Questa traslocazione coinvolge un promotore dell'immunoglobulina ed un gene che codifica per la proteina chiamata ciclina D1. Quest'ultima è in grado di aggirare la soppressione del ciclo cellulare da parte di altre proteine, con conseguente proliferazione cellulare incontrollata. È interessante notare che questo episodio di ricaduta non è stato associato ad alcuna alterazione del gene TP53. Le alterazioni a carico di questo gene sono state infatti recentemente riconosciute come altamente prognostiche nel setting del MCL recidivante.

Gli aspetti morfologici di questo caso sono tipici della variante blastoide o pleomorfa del MCL, con un decorso clinico più aggressivo. Si noti che i soggetti con una diagnosi di MCL possono presentare la forma classica di MCL e recidivare con la forma blastoide e viceversa.

Le cause della piastrinopenia (riportate dal 72% dei partecipanti) in questo contesto sono variegata e comprendono: ridotta produzione di piastrine dovuta alla sostituzione del midollo da parte del MCL, distruzione immunomediata delle piastrine dovuta a disregolazione immunitaria causata dal MCL, sequestro delle piastrine in splenomegalia. Il grado di piastrinopenia può anche non essere correlato al MCL, ad esempio nel caso di infezioni, infiammazione, farmaci. La presenza di caratteristiche "tossiche" nello striscio (ad esempio la vacuolizzazione citoplasmatica, riportata dal 32% dei partecipanti, in un neutrofilo raffigurato nella figura 4) ha fatto emergere il sospetto di un concomitante processo infettivo o infiammatorio. Qualcuno ha evidenziato la presenza di pseudoplastrine, in questo caso rappresentate da frammenti delle cellule leucemiche, che per le loro dimensioni possono essere erroneamente conteggiate come piastrine. Il conteggio effettivo delle piastrine potrebbe essere inferiore a quello stimato dall'analizzatore di laboratorio, a meno che non venga utilizzato un metodo immunologico per contarle. Se questa funzione non è disponibile, allora sarebbe prudente che i laboratori calcolassero il rapporto tra piastrine e globuli bianchi per stimare la reale conta piastrinica.

In sintesi, questo striscio di sangue rappresenta una recidiva di MCL noto e le caratteristiche morfologiche presenti sono altamente indicative della variante blastoide o pleomorfa. I partecipanti hanno complessivamente riportato correttamente queste alterazioni, ma l'esercizio dimostra bene la necessità di integrare la morfologia con altre metodologie per una diagnosi rapida e accurata.



Dott.ssa Evita Massari
Referente UK NEQAS for General Haematology