

Leucemie

Casi clinici



UNIVERSITY
OF BRESCIA



Chair of Hematology
Unit of Blood Disease and
Bone Marrow Transplantation

*Unit of Blood Diseases and Bone Marrow Transplantation
Program of Cell Therapies and Research in Hematology
University of Brescia & ASST Spedali Civili of Brescia*

Sistema Socio Sanitario



Regione
Lombardia

ASST Spedali Civili

Caso Clinico : R.M., 60 anni

Paziente di 60 anni che viene ricoverato per quadro di febbre (TC 38.5°C), dispnea, astenia, dolori ossei e petecchie agli arti inferiori, insorte da alcuni giorni.

In anamnesi :

Ipertensione arteriosa

Fumatore 5 sigarette al giorno da 30 anni, non beve alcolici;

Dieta normovariata, svolge regolare attività fisica

Non interventi chirurgici

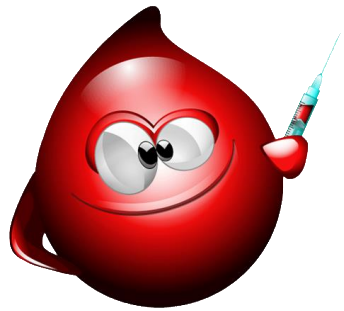
Esame obiettivo

Al cavo orale si evidenzia ipertrofia gengivale; cuore-torace non reperti significativi; addome fegato e milza apprezzabili a 4 e 5 cm dall'arcata costale, rispettivamente. Non edemi declivi, petecchie bilaterali agli arti inferiori.



Esami in visione

Esame	Risultato	Valori riferimento
Globuli bianchi	47500	4.000-10.000/mmc
Neutrofili	7%, 450	40-74%; 1500-7000/mmc
Linfociti	9%	20-45%
Monociti	78%	3,4-9%
Globuli rossi	3,07	X10 ⁶ /mmc
Emoglobina	7,5	12-16 g/dL
MCV	84	82-99 fL
MCH	30.5	27-31 pg
MCHC	24,1	32-36%
Piastrine	24000	150-400.000/mmc
AST	54	18-39 U/L
ALT	72	10-35 U/L
INR	1.4	0,8-1,13
aPTT	45	24-38 secondi
Fibrinogeno	102	180-350 mg/dL
Bilirubina	1.5	<1,20mg/dL
B. indiretta	0.2	
Creatinina	0.5	0,60-1,00 mg/dl
LDH	650	135-225 UI/L

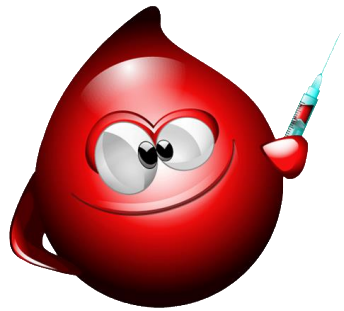


Domanda...

Cosa risalta nell'emocromo?

- Leucocitosi
- Neutropenia severa
- Anemia normocitica severa
- Piastrinopenia severa

<i>Esame</i>	<i>Risultato</i>	<i>Valori riferimento</i>
Globuli bianchi	47500	4.000-10.000/mmc
Neutrofili	7%, 450	40-74%; 1500-7000/mmc
Linfociti	9%	20-45%
Monociti	78%	3,4-9%
Globuli rossi	3,07	X10 ⁶ /mmc
Emoglobina	7,5	12-16 g/dL
MCV	84	82-99 fL
MCH	30.5	27-31 pg
MCHC	24,1	32-36%
Piastrine	24000	150-400.000/mmc
AST	54	18-39 U/L
ALT	72	10-35 U/L
INR	1.4	0,8-1,13
aPTT	45	24-38 secondi
Fibrinogeno	102	180-350 mg/dL
Bilirubina	1.5	<1,20mg/dL
B. indiretta	0.2	
Creatinina	0.5	0,60-1,00 mg/dl
LDH	650	135-225 UI/L

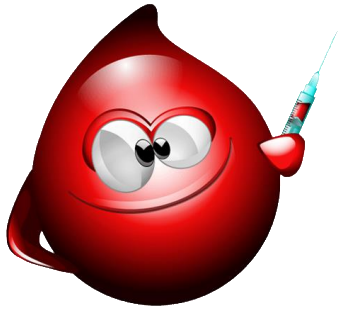


Domanda...

Notate altro negli esami?

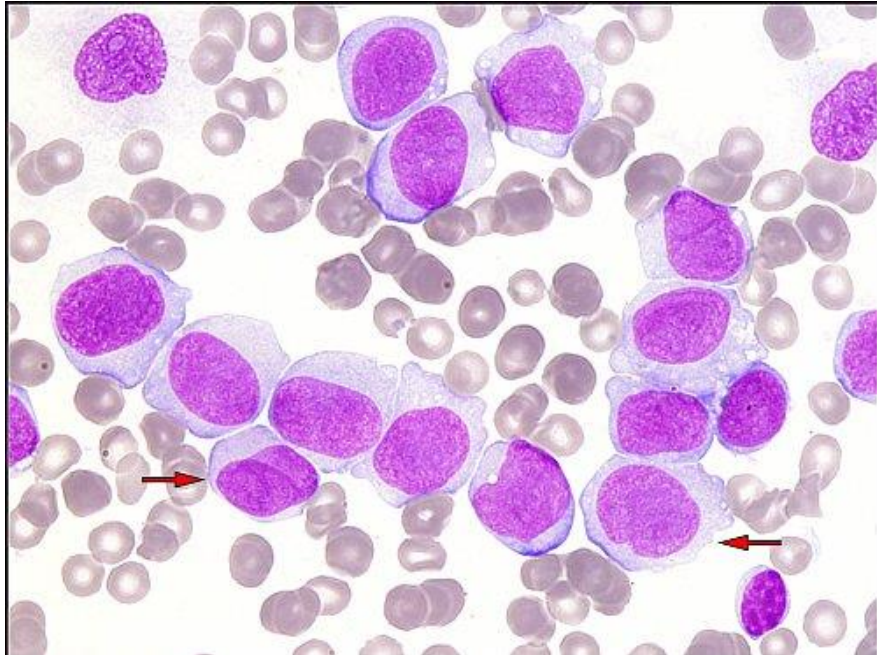
- Alterazione parametri coagulativi
- Elevato LDH
- Rialzo bilirubina e transaminasi

<i>Esame</i>	<i>Risultato</i>	<i>Valori riferimento</i>
Globuli bianchi	47500	4.000-10.000/mmc
Neutrofili	7%, 450	40-74%; 1500-7000/mmc
Linfociti	9%	20-45%
Monociti	78%	3,4-9%
Globuli rossi	3,07	X10 ⁶ /mmc
Emoglobina	7,5	12-16 g/dL
MCV	84	82-99 fL
MCH	30.5	27-31 pg
MCHC	24,1	32-36%
Piastrine	24000	150-400.000/mmc
AST	54	18-39 U/L
ALT	72	10-35 U/L
INR	1.4	0,8-1,13
aPTT	45	24-38 secondi
Fibrinogeno	102	180-350 mg/dL
Bilirubina	1.5	<1,20mg/dL
B. indiretta	0.2	
Creatinina	0.5	0,60-1,00 mg/dl
LDH	650	135-225 UI/L



Quali esami eseguireste?

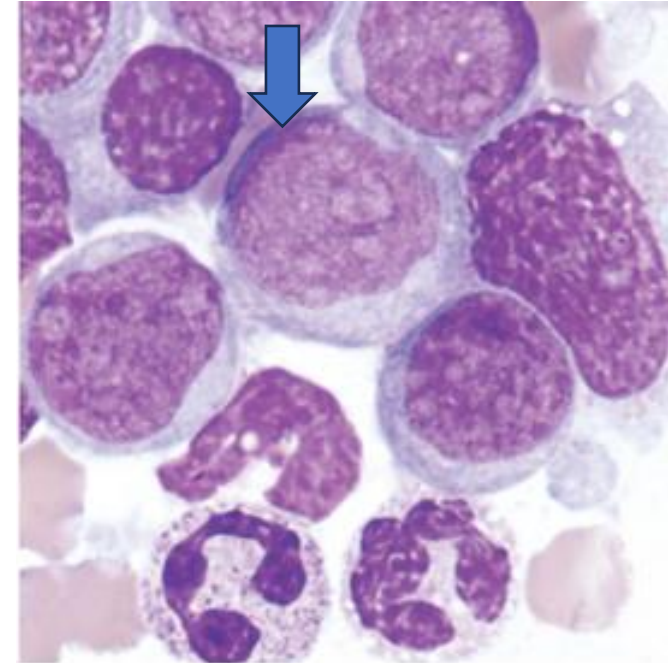
Striscio su sangue periferico



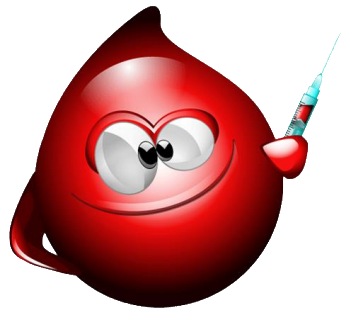
Domanda...

Cellule di medio-grandi dimensioni pari al 75% della cellularità osservata:

- Ampio citoplasma, spesso con vacuolizzazioni
- Scarse granulazioni
- Nucleo rotondo o indentato
- Cromatina finemente dispersa
- Uno o più nucleoli visibili



D

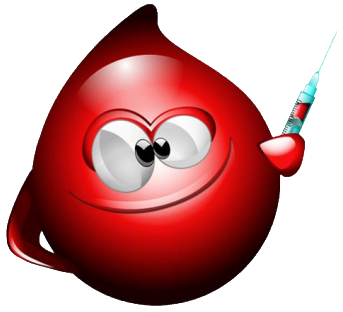


Domanda...

E' possibile porre un sospetto clinico?

Leucemia acuta

Sono necessari altri esami?



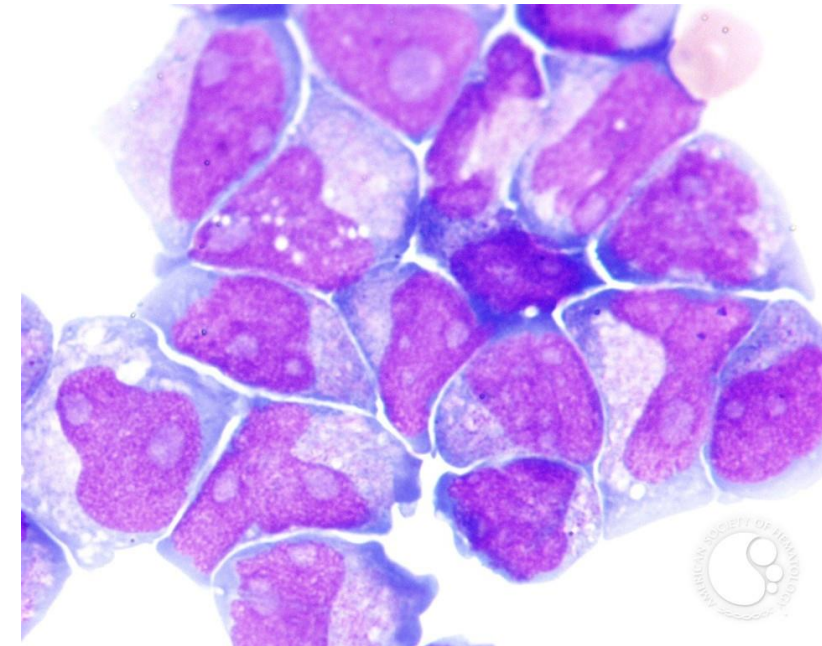
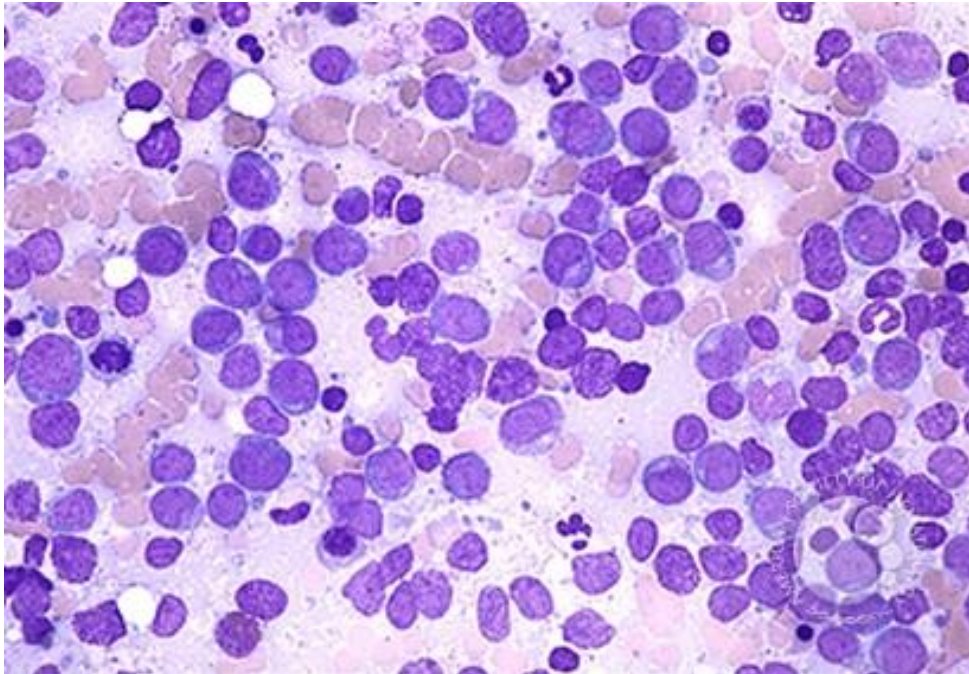
Domanda...

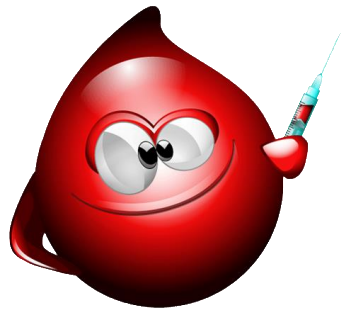
Quali altri esami eseguireste?

Agoaspirato midollare con striscio per esame citomorfologico

Cellularità aumentata, elementi di medio-grandi dimensioni pari al 85% della cellularità:

- Ampio citoplasma, spesso con vacuolizzazioni
- Scarse granulazioni
- Nucleo rotondo o indentato
- Cromatina finemente dispersa
- Uno o più nucleoli visibili

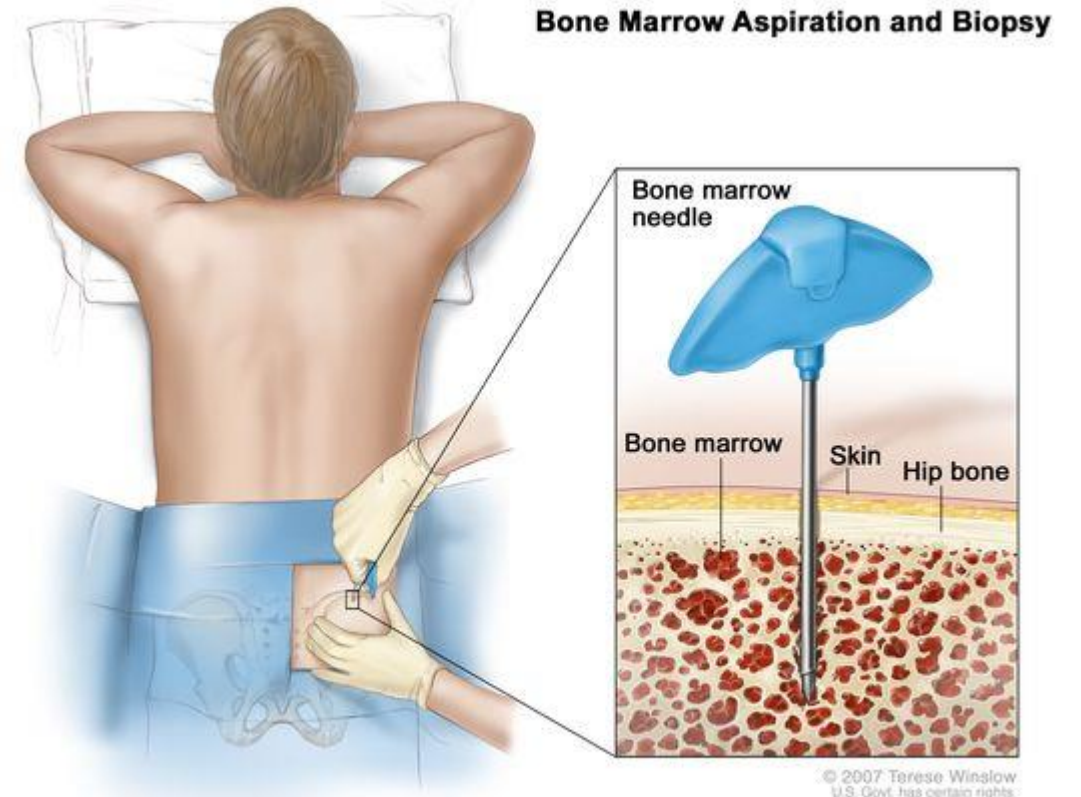


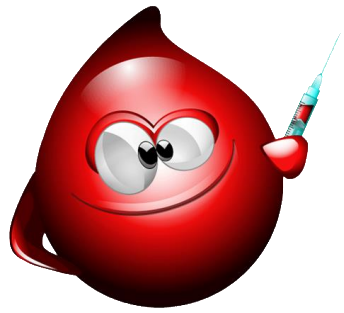


Domanda...

...e la biopsia osteomidollare (BOM) per esame istologico?

- Da eseguire in caso di impossibilità ad aspirare il sangue midollare «punctio sicca» (dry tap)
- Informativa in caso di quadro morfologico su sangue midollare non dirimente





Domanda...

Il quadro morfologico su sangue periferico e midollare può porre un sospetto clinico?

Leucemia mieloide acuta

Blasti su sangue periferico e midollare >20%

Classificazione FAB –leucemia mieloide acuta

FAB classification of acute myeloblastic leukaemia

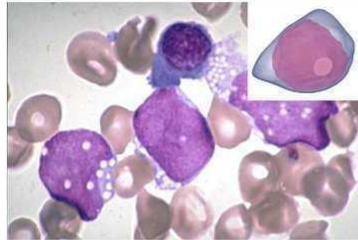


Photo courtesy of: Acute myeloid leukemia pathophysiology, 2012

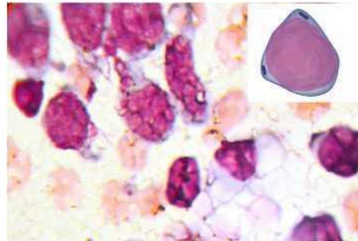
M0 Acute myeloblastic leukaemia with minimal differentiation

Morphology:

Can resemble LLA-L2 blasts. Medium-sized blasts, rounded nucleus, fine chromatin, basophilic non-granular cytoplasm, prominent nucleoli.

Immunophenotype

- CD13 +
- CD33 +
- CD11b +
- CD11c +
- CD14 +
- CD15 +



M1 Acute myeloblastic leukaemia without maturation

Morphology:

Medium-sized blasts with high nucleocytoplasm (n:c) ratio, rounded nuclei with immature, dispersed chromatin with one or more prominent nucleoli. Blasts can show fine azurophilic granulation or isolated Auer rods in the cytoplasm in 5% to 10% of cases

Immunophenotype

- MPO +
- CD13 +
- CD33 +
- CD117+
- CD34 +/-



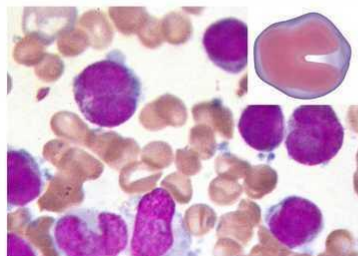
M2 Acute myeloblastic leukaemia with maturation

Morphology:

Small to medium-sized blasts with high nucleocytoplasm (n:c) ratio and rounded nuclei sometimes located in a corner of the cytoplasm. The nucleus shows dispersed, immature chromatin with one or more nucleoli. The cytoplasm is basophilic and can contain traces of primary azurophilic granulation or isolated Auer rods.

Immunophenotype

- MPO +
- CD34 +/-
- CD13 +
- CD15 +
- HLA-DR +/-
- Sudan black +
- CD117 +/-



M3 Promyelocytic leukaemia

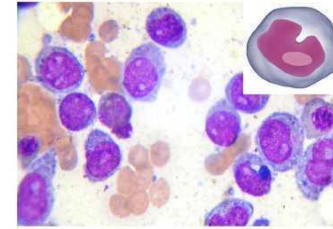
Morphology:

Abundant, intensely azurophilic granulation. The nucleus is usually monocytic in appearance (reniform) and is either irregular or bilobed with a deep cleft. Scarcely basophilic cytoplasm due to the proliferation of azurophilic granulation. Some atypical promyelocytes also contain elongated or splinter-shaped crystalline cytoplasmic inclusions specific to this type of leukaemia. These usually form clumps, but differ from Auer rods in that they show a tubular substructure on electronic microscopy.

Immunophenotype

- CD13 +
- CD33 +
- HLA-DR -
- CD34 -

FAB classification of acute myeloblastic leukaemia



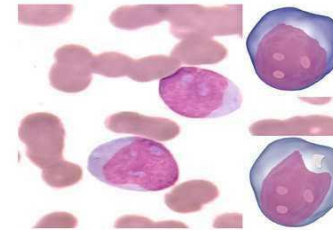
M4 Acute myelomonocytic leukaemia

Morphology:

Large blasts, moderate nucleocytoplasm (n:c) ratio and variable basophilia. The nucleus may be rounded, kidney-shaped or irregular. Nucleoli are usually prominent.

Immunophenotype

- CD13 +
- CD15 +
- CD33 +
- CD11b +
- CD11c +
- CD14 +
- CD64 +
- CD4 +



M5 Acute monocytic leukaemia

M5a acute monoblastic leukaemia:

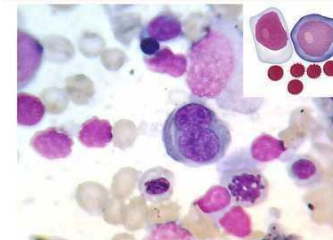
Large blasts with rounded nucleus and dispersed, immature chromatin (1-3 nucleoli) and moderately large and intensely basophilic cytoplasm. The cytoplasm may show some Auer rods and/or prolongations and granulations.

M5b acute monocytic leukaemia

Promonocytes have a rounded or kidney-shaped nucleus with a less basophilic cytoplasm that is more highly granulated than monoblasts and contains some vacuoles. A findings of erythrophagocytosis together with monocytic blasts suggests a t(8;16) translocation.

Immunophenotype

- CD14 +
- CD68 +
- CD4 +
- CD11c +
- HLA-DR +
- CD64 +



M6 Acute erythroid leukaemia

M6a erythroid leukaemia with proliferation of mixed blasts: Over 50% erythroid precursors and around 30% myeloblasts. Morphology of erythrocytes in peripheral blood is greatly changed, with schistocytes, "pincered" or mushroom-shaped cells, and spiculated echinocyte and acanthocyte cells.

M6b pure erythroid leukaemia:

Erythroblasts make up 80% of bone marrow cells, with less than 3% myeloid cells. Erythrocytes in peripheral blood consist of macrocytes, basophilic stippling, Howell-Jolly bodies or Cabot rings.

Immunophenotype

- CD13 +
- CD33 +
- CD15 +
- Glycophorin A +
- Glycophorin C +



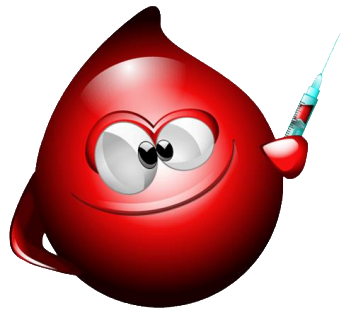
M7 Acute megakaryocytic leukaemia

Morphology:

Highly immature, polymorphic blasts. The nucleus is eccentric with dispersed, reticulated chromatin and 1-3 prominent nucleoli. The cytoplasm is non-granular, basophilic, and very similar in appearance to platelets, with pseudopods or granulations. Micromegakaryocytes and fragments of megakarioblasts are seen in peripheral blood (giant platelets, some highly degranulated).

Immunophenotype

- CD41 +
- CD61 +
- CD42 +
- CD13 +
- CD33 +
- CD34 +



Domanda...

Quale altro esame eseguireste su sangue midollare (e periferico) ?

Immunofenotipo

Popolazione di elementi CD34+, CD117+, CD13+, CD33+, HLA-, CD38+, CD123+, CD56+/-, CD14- pari al 36% della cellularità del campione

Quadro immunofenotipico coerente con leucemia mieloide acuta

- La citometria a flusso consente la caratterizzazione di differenti antigeni su una singola cellula anche in caso di bassa densità di espressione. Lo studio immunofenotipico deve integrare l'esame morfologico.
- Ruolo nel determinare la malattia minima residua (MRD) post terapia

L'immunofenotipo delle LAM

M0, M1, M2, M4

MPO7+, CD13+, CD33+, CD117+, CD34+, HLADR+

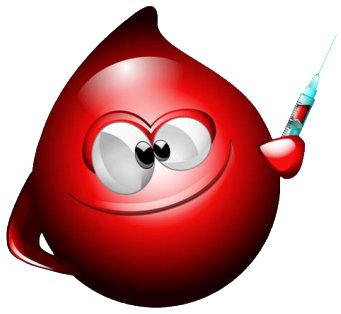
M3 **MPO7+, CD13+, CD33+, CD117+, CD34+/-, HLADR-**

M5 **MPO7+, CD13+, CD33+, CD117+, CD34-, HLADR+, CD14+**

M6 **MPO7+, CD13+, CD33+, CD117+, CD34-, HLADR+, CD71+, glicoforina+**

M7 **MPO7+, CD13+, CD33+, CD117+, CD34-, HLADR+, CD41+**

Diagnosis of AML	
Diagnosis of AML	
Precursor marker	CD34, CD117, HLA-DR
Myeloid markers	Cytoplasmic MPO, CD33, CD13
Myeloid maturation markers	CD11b, CD15, CD64, CD65
Monocytic markers	CD14, CD36, CD64, CD4, CD38, CD11c
Megakaryocytic markers	CD41 (glycoprotein IIb/IIIa), CD61 (glycoprotein IIIa), CD36
Erythroid markers	CD235a (glycophorin A), CD71, CD36



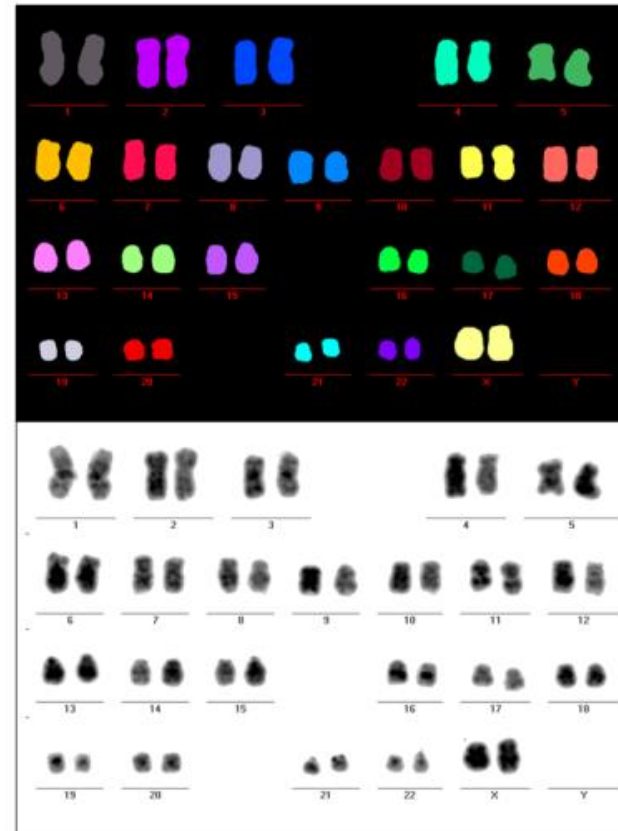
Domanda...

Quali altri esami di completamento eseguireste su sangue midollare?

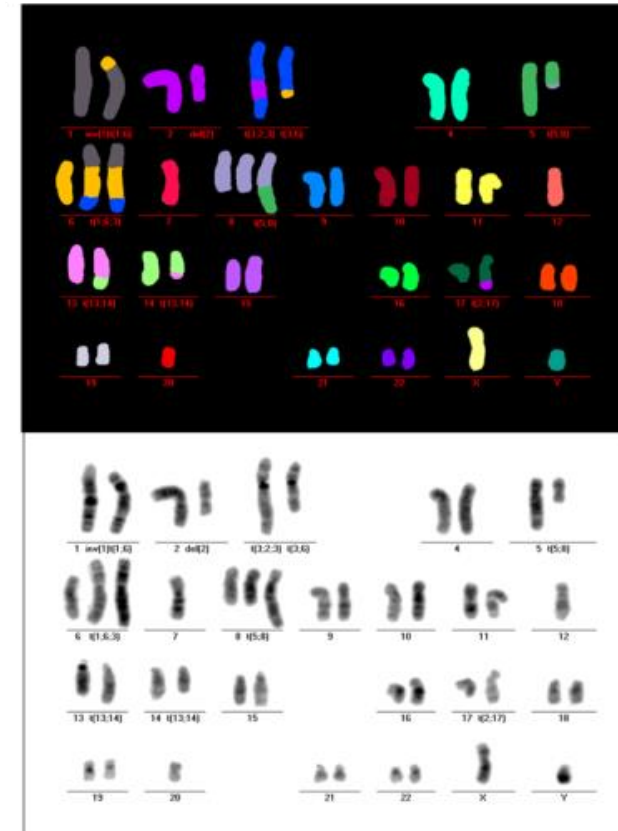
Citogenetica con studio del cariotipo

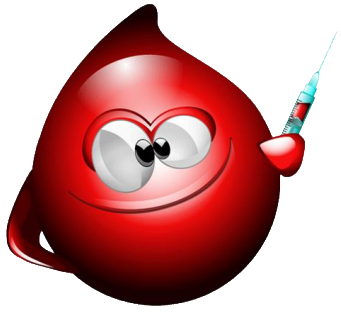
Cariotipo complesso
(>3 aberrazioni cromosomiche)

Normal kayotype



Complex kayotype



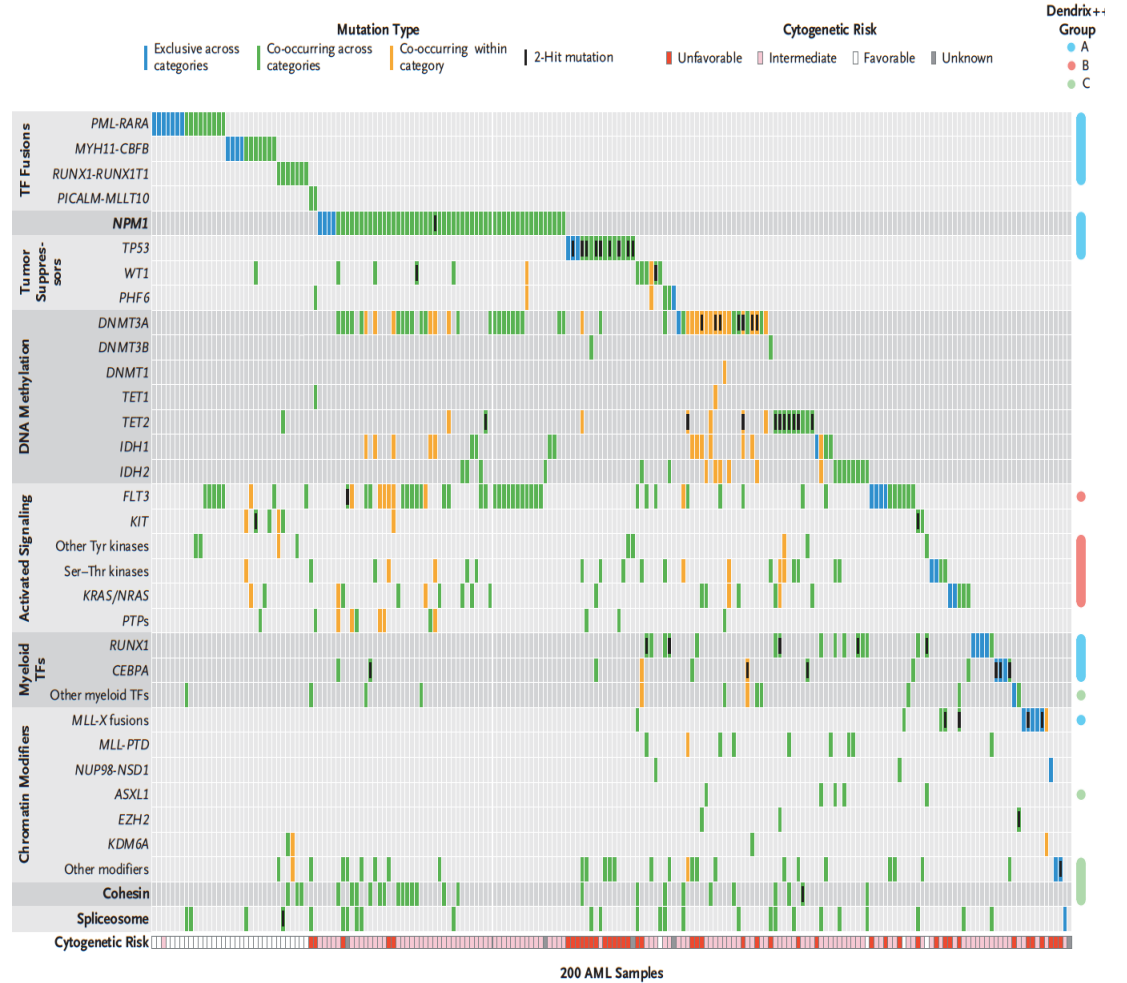


Domanda...

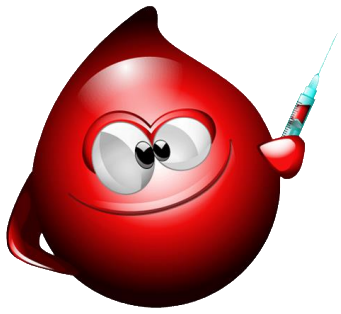
Quali altri esami eseguireste su sangue midollare?

Biologia molecolare

Mutazione di NPM-1 e FLT3-ITD



Cancer Genome Atlas Research Network. NEJM 2013; 368 (22): 2059

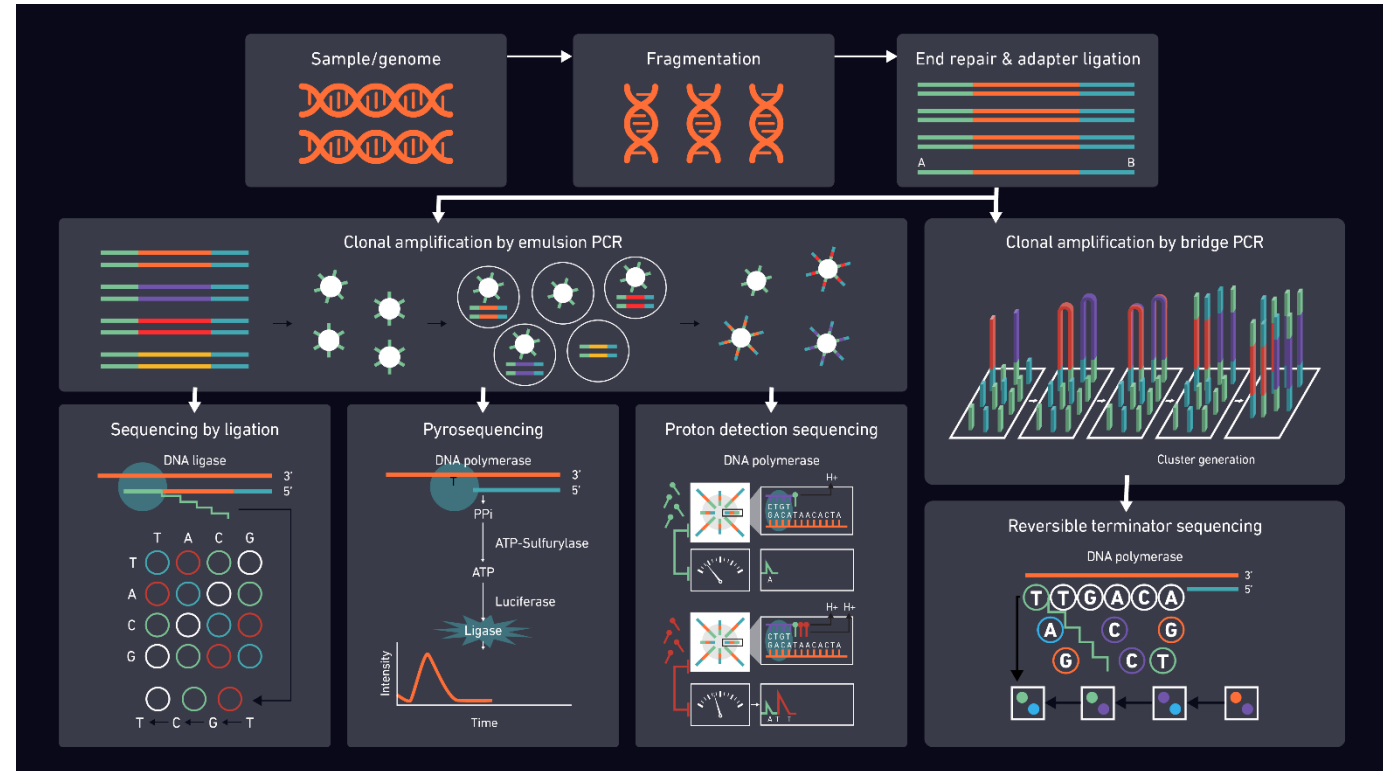


Domanda...

Quali altri esami eseguireste su sangue midollare?

NGS-Next Generation Sequencing

Mutazione di ASXL1, RUNX-1 e TP53



Ruolo degli studi citogenetico-molecolari

- Il 55-60% delle cellule leucemiche mostra anomalie cromosomiche acquisite
- Specifiche anomalie citogenetiche hanno importanza diagnostica, prognostica e terapeutica
- Alcuni marcatori molecolari possono definire più accuratamente la prognosi di pazienti con LAM con cariotipo normale
- Il trattamento può essere definito anche in base ai suddetti marcatori
- alcune anomalie molecolari sono rilevabili quantitativamente e risultano utili per il monitoraggio dinamico della malattia minima residua (MRD)
- Alcune anomalie molecolari possono essere potenziali bersagli di terapie target

La diagnosi di LAM prevede un approccio integrato della morfologia, dell'immunofenotipo e dell'analisi citogenetico-molecolare.

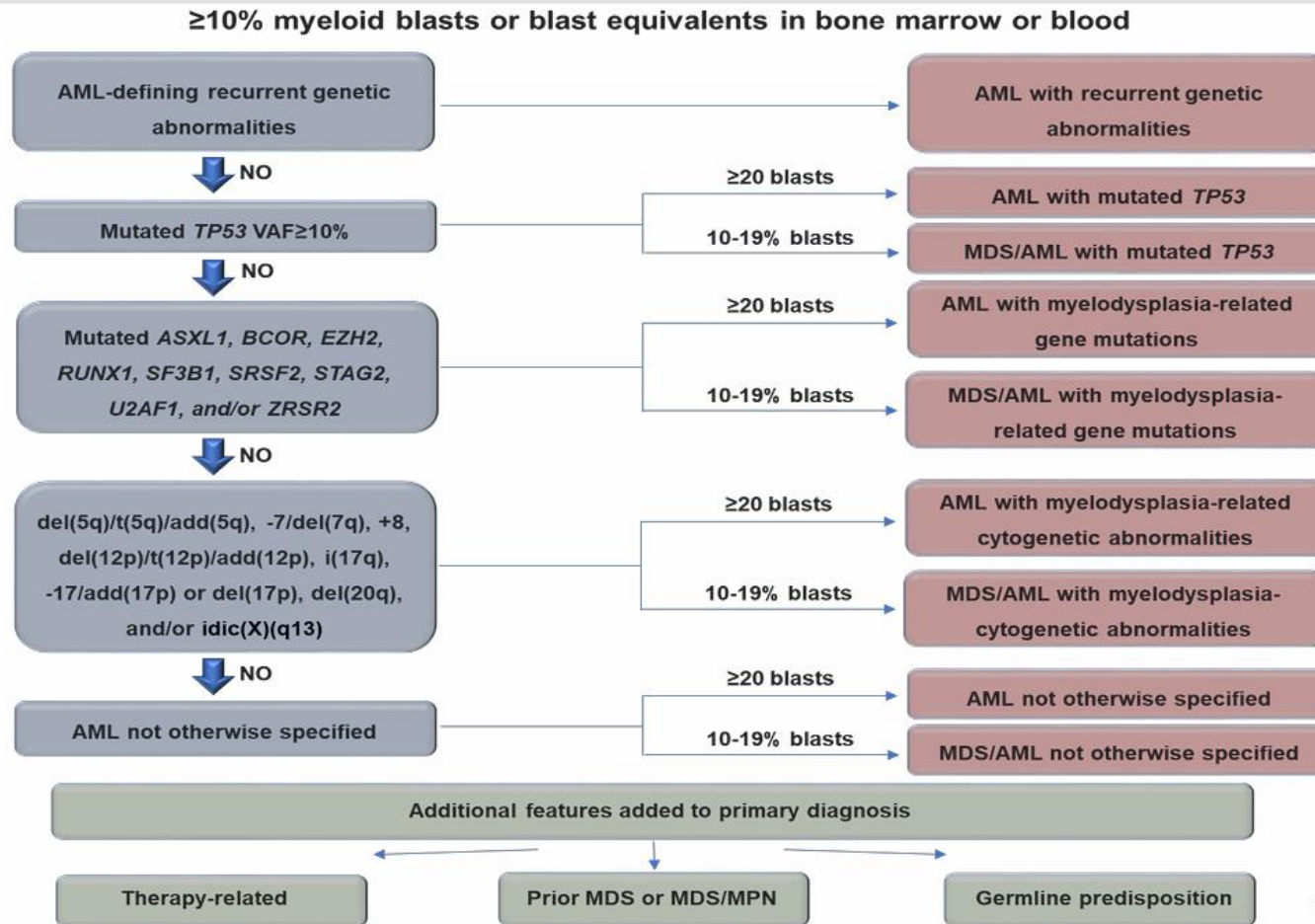
I nuovi sistemi classificativi

- Secondo i criteri storici del gruppo cooperativo FAB (French-American-British), la classificazione delle LAM era esclusivamente basata sulla morfologia e sul grado di maturazione (Bennett JM et al, 1985).
- I criteri classificativi secondo WHO del 2016 e poi del 2022 incorporano ed integrano la morfologia, la citogenetica e la biologia molecolare nel tentativo di elaborare una classificazione che sia universalmente applicabile (Vardiman JW et al, 2009; Arber DA et al, 2016; Khoury JD et al, 2022).
- Recentemente é stata inoltre pubblicata, una nuova International Consensus Classification (ICC) delle malattie mieloproliferative e leucemie acute che integra, anch'essa, aspetti morfologici e citogenetici-molecolari (Arber et al, 2022)

Acute myeloid leukaemia with defining genetic abnormalities
Acute promyelocytic leukaemia with <i>PML::RARA</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>RUNX1::RUNX1T1</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>CBFB::MYH11</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>DEK::NUP214</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>RBM15::MRTFA</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>BCR::ABL1</i> fusion
Acute myeloid leukaemia with <i>KMT2A</i> rearrangement
Acute myeloid leukaemia with <i>MECOM</i> rearrangement
Acute myeloid leukaemia with <i>NUP98</i> rearrangement
Acute myeloid leukaemia with <i>NPM1</i> mutation
Acute myeloid leukaemia with <i>CEBPA</i> mutation
Acute myeloid leukaemia, myelodysplasia-related
Acute myeloid leukaemia with other defined genetic alterations
Acute myeloid leukaemia, defined by differentiation
Acute myeloid leukaemia with minimal differentiation
Acute myeloid leukaemia without maturation
Acute myeloid leukaemia with maturation
Acute basophilic leukaemia
Acute myelomonocytic leukaemia
Acute monocytic leukaemia
Acute erythroid leukaemia
Acute megakaryoblastic leukaemia

I nuovi sistemi classificativi

2022 AML ICC



Modified from Arber et al, Blood 2022

La stratificazione del rischio

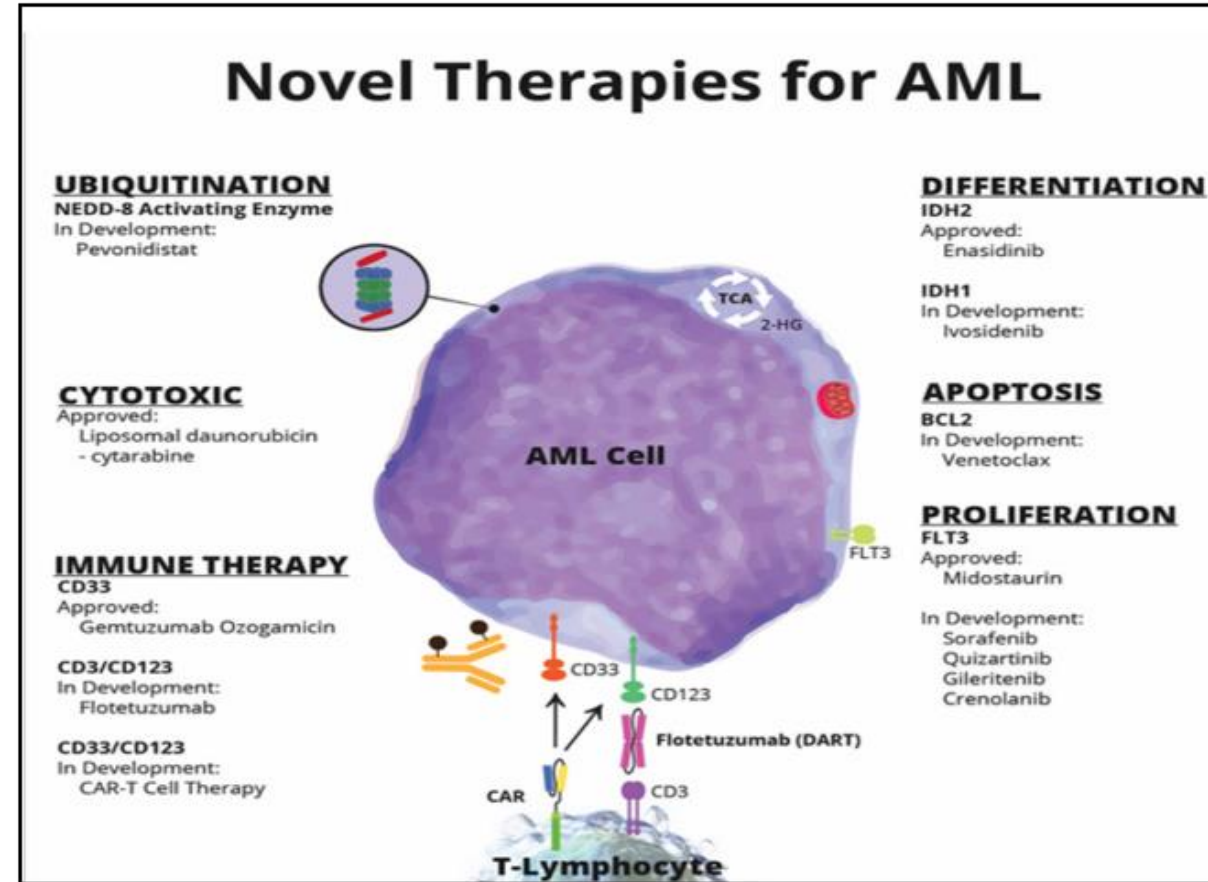
- L'integrazione dei marcatori genetico-molecolari in definite categorie di rischio è attualmente utilizzata anche per impostare il programma terapeutico del paziente
- Le forme a rischio citogenetico-molecolare favorevole o basso hanno una probabilità di guarigione nel 50-60% dei casi senza necessità di trapianto allogenico
- Le forme ad alto rischio sono associate a prognosi sfavorevole sia per inferiore possibilità di ottenimento della remissione completa (RC) che per elevata probabilità di recidiva senza trapianto
- Le forme intermedie possono essere candidate a trapianto sulla base della valutazione clinica (es. esordio con iperleucocitosi, segni di malattia clinicamente aggressiva)

Risk category	Genetic abnormality
Favorable	<ul style="list-style-type: none"> t(8;21)(q22;q22.1)/<i>RUNX1::RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/<i>CBFB::MYH11</i> Mutated <i>NPM1</i> without <i>FLT3-ITD</i> bZIP in-frame mutated <i>CEBPA</i>
Intermediate	<ul style="list-style-type: none"> Mutated <i>NPM1</i> with <i>FLT3-ITD</i> Wild-type <i>NPM1</i> with <i>FLT3-ITD</i> t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3::KMT2A</i> Cytogenetic and/or molecular abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	<ul style="list-style-type: none"> t(6;9)(p23.3;q34.1)/<i>DEK::NUP214</i> t(v;11q23.3)/<i>KMT2A</i> rearranged t(9;22)(q34.1;q11.2)/<i>BCR::ABL1</i> t(8;16)(p11;p13)/<i>KAT6A::CREBBP</i> inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/<i>GATA2, MECOM(EVI1)</i> t(3q26.2;v)/<i>MECOM(EVI1)</i>-rearranged -5 or del(5q); -7; -17/abnormalities (17p) Complex karyotype, monosomal karyotype Mutated <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, and/or ZRSR2</i> Mutated <i>TP53</i>

Classificazione secondo European Leukemia Net (ELN) 2022

Terapia

- La terapia della LAM, per molti anni, è stata attuabile solo in pazienti in buone condizioni generali e ha incluso pochi farmaci chemioterapici (sostanzialmente antracicline e citarabina).
- Oggi la terapia della LAM è molto più complessa ed è sostanzialmente guidata dai seguenti parametri: **rischio citogenetico-molecolare** alla diagnosi, espressione di alcuni **target terapeutici** nelle cellule leucemiche, **fitness del paziente** (condizionata pesantemente da comorbidità ed età) e **valutazione della malattia minima residua (MRD)**
- Il primo snodo decisionale, nell'algoritmo terapeutico di una LAM, resta oggi la valutazione della fitness (paziente FIT o UNFIT) per una chemioterapia intensiva.
- In attesa della caratterizzazione citogenetico-molecolare è possibile iniziare terapia citoriduttiva con idrossiurea per controllare la leucocitosi



- **Trasfusione di emazie, piastrine, plasma, terapia antibiotica, profilassi antinfettiva**

Terapia – paziente “fit”

➤ **Fase di Induzione** della remissione, tramite una combinazione di antraciclina (generalmente daunorubicina o idarubicina) per via endovenosa per 3 giorni associata ad una infusione continua di citarabina per 7 giorni consecutivi (c.d. Schema 3+7).

➤ Negli ultimi 5-8 anni, nuovi farmaci sono entrati nella pratica clinica:

Midostaurina per i pazienti FLT3-ITD e TKD mutati, in associazione allo schema 3+7,

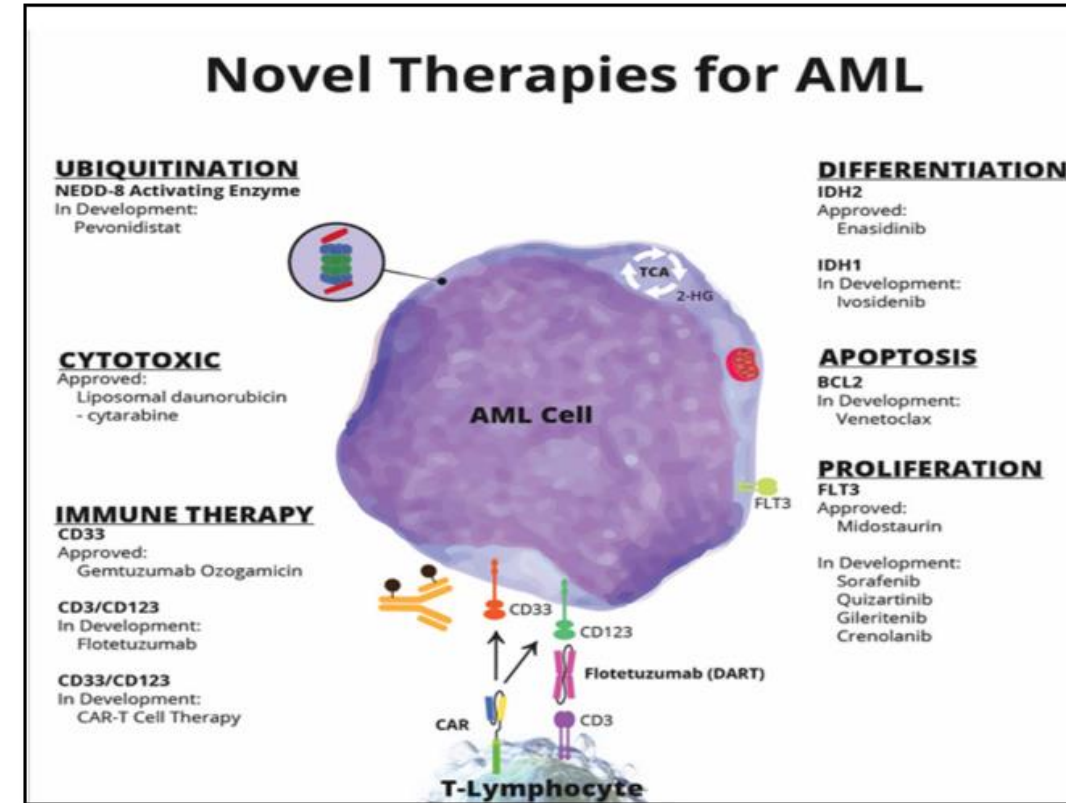
Gemtuzumab ozogamicin (anti CD33) per i pazienti con rischio citogenetico molecolare basso o intermedio

CPX-351 nella LAM therapy-related e per le forme secondarie a MDS (formulazione liposomiale con citarabina e daunorubicina in rapporto 5:1)

➤ **Fase di consolidamento** (con 2-3 cicli di chemioterapia)

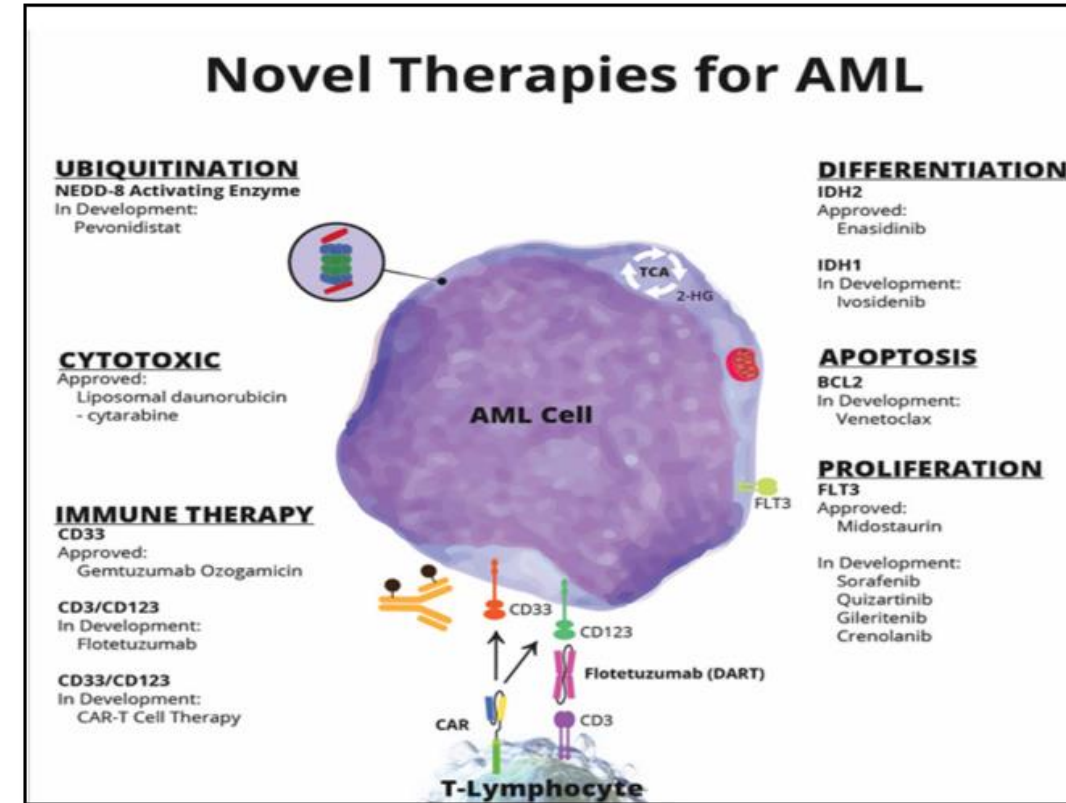
➤ **Fase di mantenimento** o di consolidamento con trapianto

➤ L'allo-SCT è indicato nelle LAM ad alto rischio citogenetico-molecolare e in molti casi inclusi nella categoria a rischio intermedio.



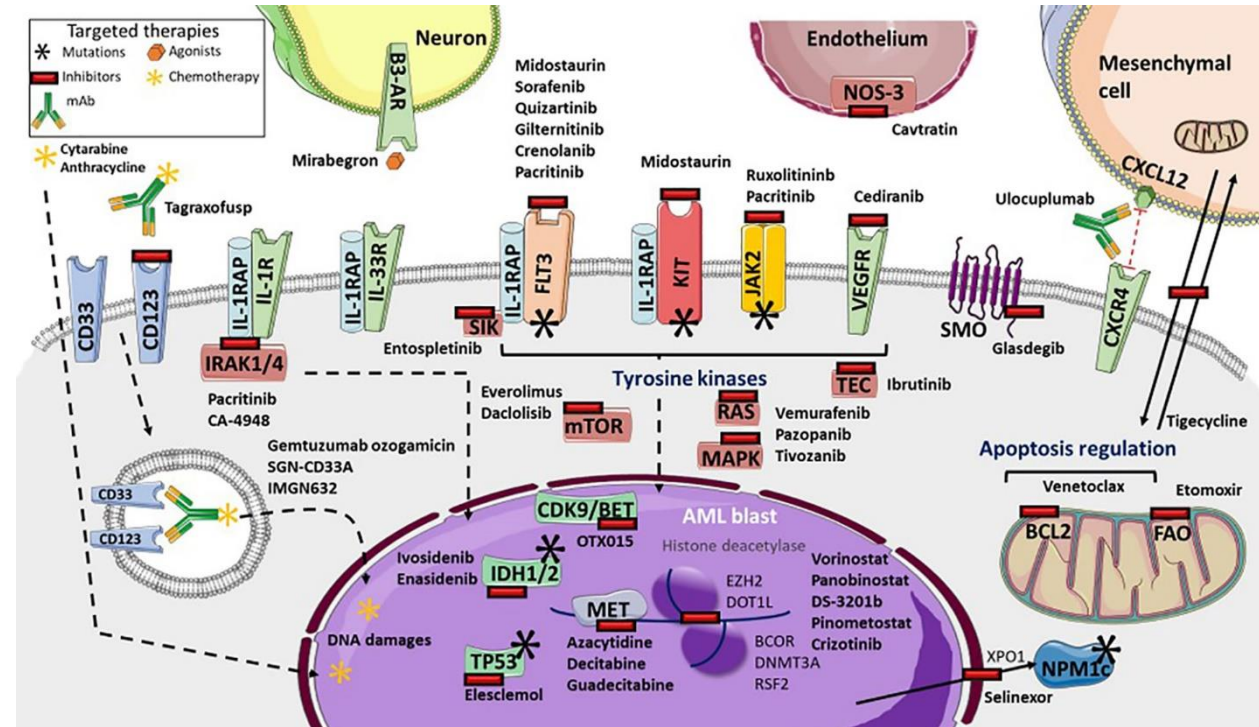
Terapia – paziente “ unfit”

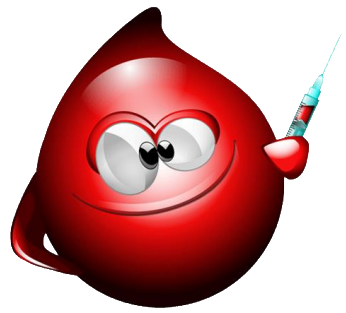
- Agenti ipometilanti (**azacitidina o decitabina**) in associazione a **venetoclax orale** (inibitore di Bcl-2); somministrazione del ciclo ogni 28 giorni (posologia di 75 mg/m² sc per 7 giorni per azacitidina e di 20 mg/m² iv per 5 giorni per decitabina)
- Agenti ipometilanti da soli in pazienti fragili
- In futuro disponibili ipometilanti+ inibitori di IDH1-2
- Altri inibitori (es. FLT-3)
- Best supportive care nei pazienti più fragili (idrossiurea, citarabina sottocute, supporto trasfusionale, controllo dei sintomi)



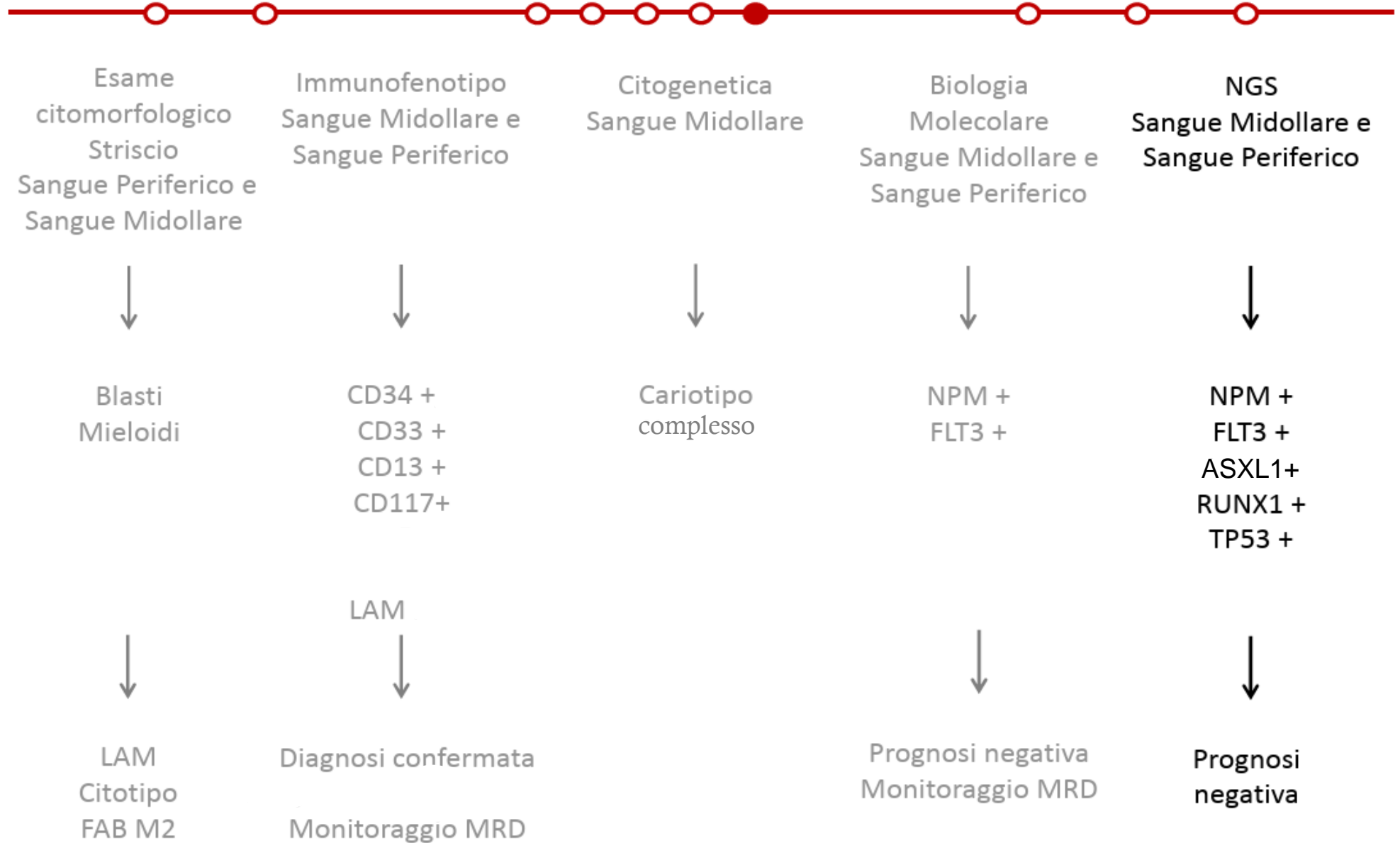
Terapia – recidivati/refrattari

- La prognosi dei pazienti con LAM recidivata o refrattaria è estremamente severa e ad oggi, meno del 20% di questi pazienti sono vivi a 5 anni
- L'obiettivo della terapia di salvataggio (se possibile per età e comorbidità) è di portare il paziente ad un allo-SCT che rappresenta l'unica opzione con intento curativo in questi casi.
- Se la recidiva non è precoce (almeno 12-18 mesi dalla precedente RC) può essere ripetuto un ciclo di polichemioterapia intensiva a base di antracicline e citarabina
- L'obiettivo è di ottenere una seconda RC morfologica con o senza presenza di MRD, in modo da portare il paziente ad allo-SCT con la minore quantità di malattia possibile
- Attualmente, per i casi recidivati FLT3-positivi è approvato il farmaco inibitore gilteritinib
- Ove possibile i pazienti vanno inclusi in protocolli sperimentali con nuovi farmaci.





Il nostro paziente...



Terapia



Leucemia mieloide acuta a cariotipo complesso, NPM-1, FLT-3 ITD, ASXL1, RUNX1 e TP53 mutata



Prognosi Severa



Induzione

Consolidamento

Intensificazione

Allo-SCT

