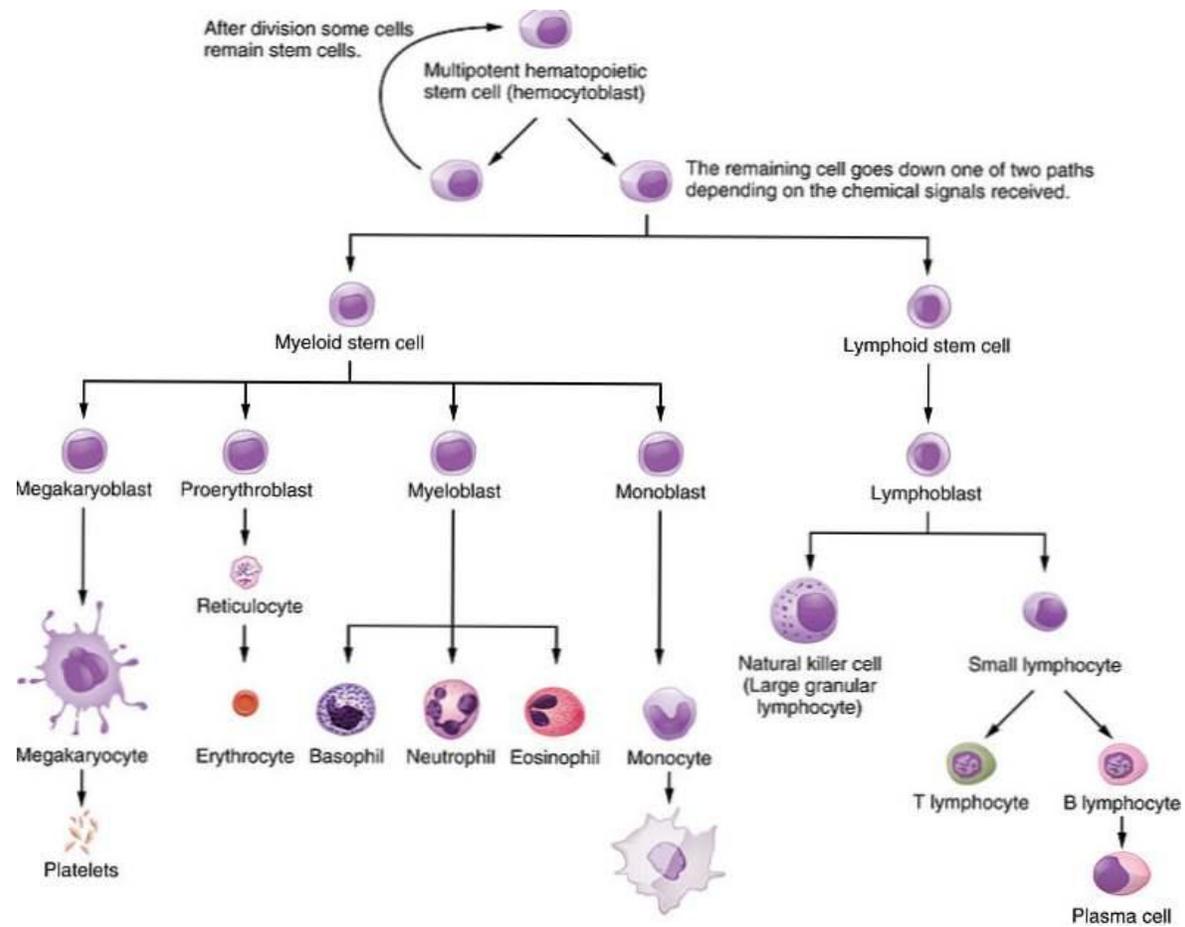


Tecniche per lo studio dell'ematopoiesi normale e patologica

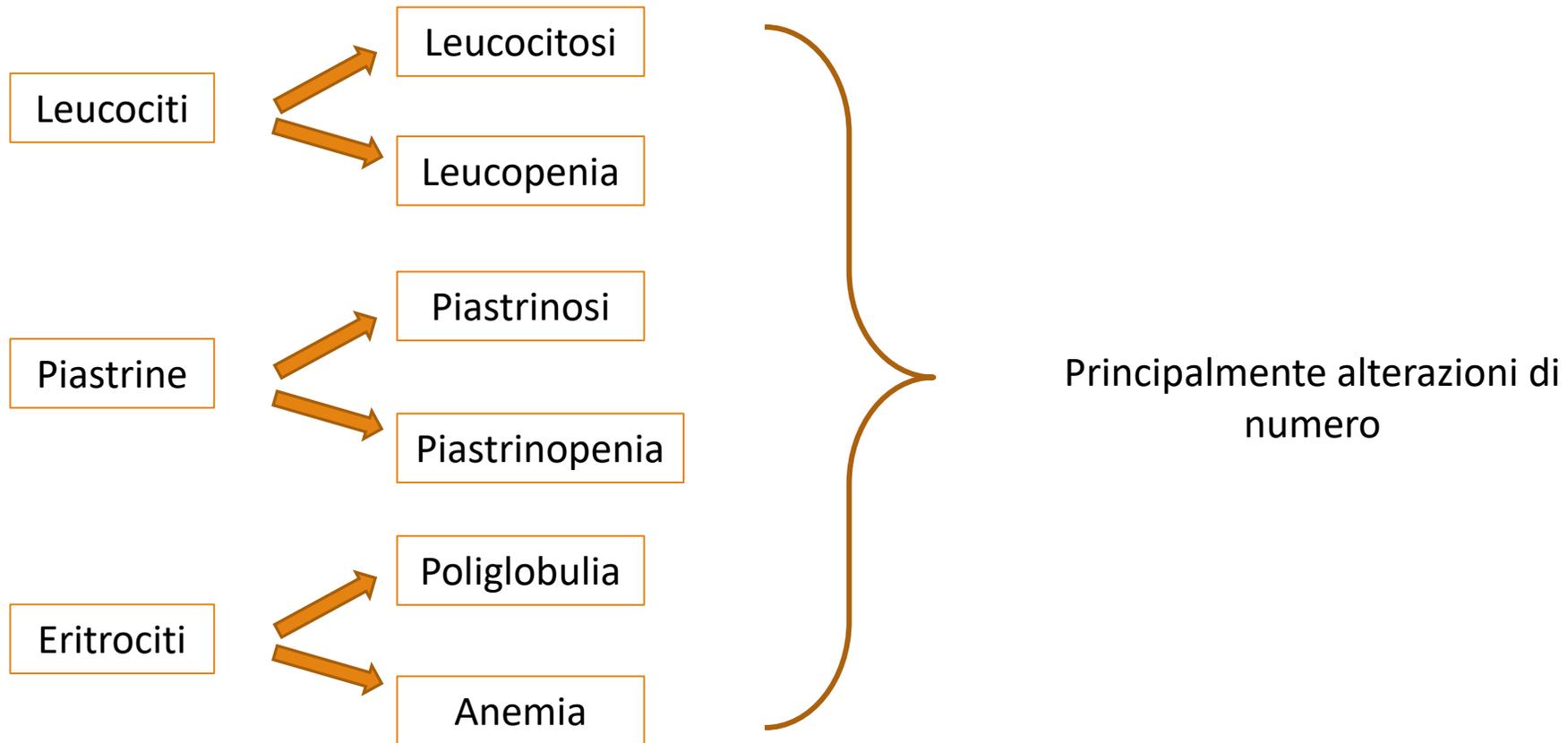
DR.SSA SIMONA BERNARDI

SIMONA.BERNARDI@UNIBS.IT

Ematopoiesi normale



Alterazioni non neoplastiche



Esame emocromocitometrico

- **GB – Globuli Bianchi:** numero di globuli bianchi per mm^3 (o microlitro, μL), valori normali: range 4000 – 10000
- **GR – Globuli Rossi:** numero di globuli rossi per mm^3 (o microlitro, μL), valori normali: range 4,5 - 5 milioni nel sesso maschile; 4 - 4,5 nel sesso femminile
- **Hb – Emoglobina:** quantità di emoglobina nel sangue, espressa in grammi per decilitro (dL) o per litro (L), valori normali: range 13 - 18 g/dL negli uomini, 12 - 16 g/d nelle donne
- **HCT – Ematocrito:** volume occupato dalla parte corpuscolare (le cellule) separata dal plasma, espresso in percentuale, valori normali: range 40 - 48 negli uomini, 36 - 47 nelle donne;
- **MCV – Volume Corpuscolare Medio:** volume medio dei globuli rossi circolanti, espressione del rapporto tra ematocrito e conta dei globuli rossi; valori normali: range 80 – 100 femtolitri (fL)
- **MCH – Contenuto Cellulare Medio di emoglobina:** quantità media di emoglobina presente in ogni globulo rosso, esprime il rapporto tra Hb e conta dei globuli rossi; valori normali: range 25 - 35 picogrammi (pg)
- **MCHC – Concentrazione Cellulare Media di Emoglobina:** concentrazione media di emoglobina in un dL di globuli rossi, riflette i rapporti tra MCV e MCH; valori normali: range 31 - 37 g/dL
- **RDW – Ampiezza della Distribuzione Eritrocitaria:** ampiezza della distribuzione del volume dei globuli rossi intorno al loro valore medio; è espresso in percentuale, valori normali: range 11,5 - 14,5%
- **PLT – Piastrine:** numero di piastrine presenti nel campione, per mm^3 ; valori normali: range 150000 - 400000
- **MPV – Volume Piastrinico Medio:** indica il volume medio delle singole piastrine

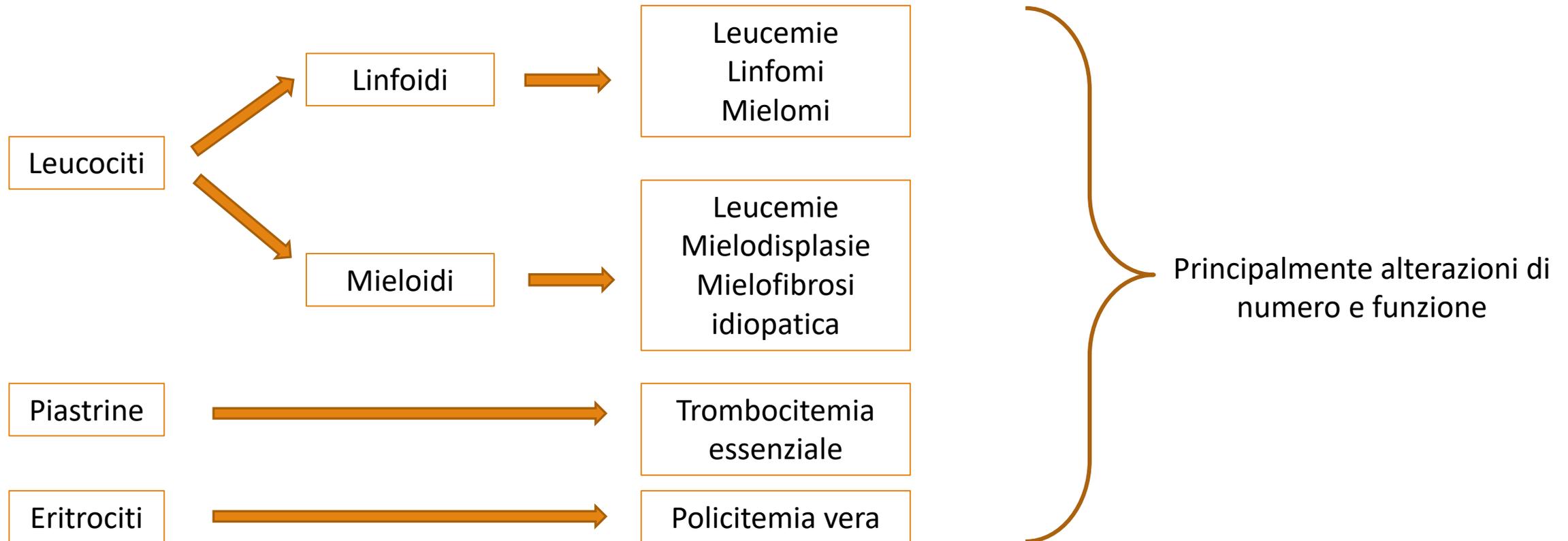
Esame emocromocitometrico con formula

Formula Leucocitaria: quantità relative, espresse in percentuale, delle varie tipologie di globuli bianchi presenti nel campione: i granulociti neutrofili sono normalmente la popolazione prevalente (tra il 40 e il 70%), seguiti da linfociti (tra il 20 e il 40%), monociti (3-8%), eosinofili (circa il 3%) e basofili (meno dell'1%).

Spesso è indicato anche il valore assoluto delle popolazioni cellulari, per distinguere reali alterazioni quantitative dei vari tipi di cellule (variazioni assolute) dalle variazioni relative, che risentono dell'influenza di tutte le altre tipologie di globuli bianchi:

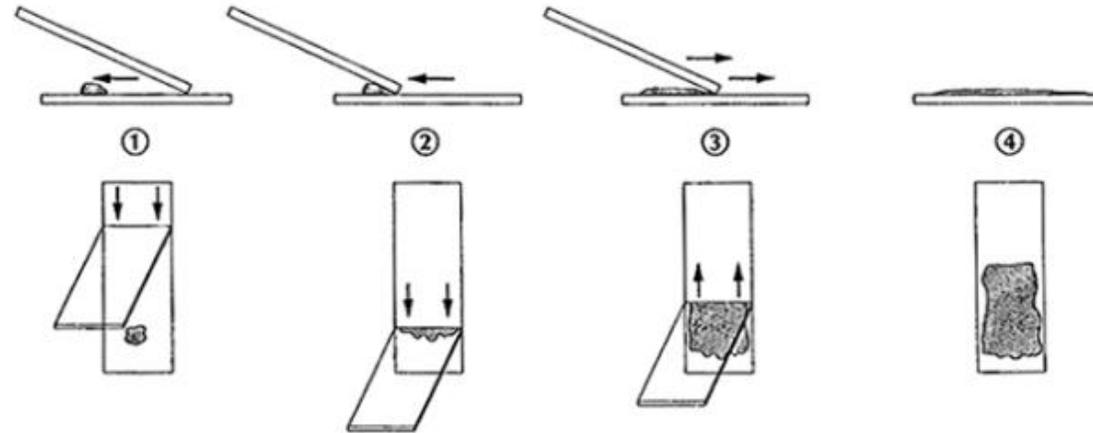
normalmente, i neutrofili sono presenti in quantità comprese tra 2500 e 7500 per mm^3 , i linfociti tra 1300 e 4000 per mm^3 , i monociti tra 150 e 900 per mm^3 , gli eosinofili tra 50 e 500 per mm^3 e i basofili tra 10 e 150 per mm^3 .

Alterazioni neoplastiche



Esame morfologico del sangue periferico

STRISCIO: ESECUZIONE CORRETTA DELLO STRISCIO DI SANGUE PERIFERICO



1. Depositare una goccia di sangue su un vetrino di supporto e appoggiare un secondo vetrino inclinato a 40° circa
2. Far aderire il bordo del secondo vetrino alla goccia di sangue e far diffondere il fluido lungo il fronte
3. Tirare il secondo vetrino in direzione opposta con un movimento uniforme e non a scatti
4. Staccare il secondo vetrino e procedere con l'analisi

Esame morfologico del sangue periferico

COLORAZIONE: May-Grunwald-Giemsa (Blu di Metilene /Eosina+Azur II/Eosina)

May-Grunwald: Eosina (colorazione rosa-rosso) e Blu di Metilene (colorazione blu-viola)

Giemsa: Eosina (colorazione rosa-rosso) e Azur II (colorazione azzurro-grigio)

Colorazione 1°: May-Grunwald su tutta la superficie per 2'

aggiunta di H₂O (1:2) per 2'e poi scolo

Colorazione 2°: Giemsa 1:10 con H₂O per 10'.

lavare con H₂O e lasciare asciugare

Esame morfologico del sangue periferico

COLORAZIONE: May-Grunwal-Giemsa (Blu di Metilene/Eosina-Azur II/Eosina)

NUCLEO: blu violetto

CITOPLASMA: roseo (eosinofilo)

blu (basofilo)

grigiastro (policromatofilo)

GRANULAZIONI: rosa chiaro (neutrofile)

rosso arancio (eosinofile)

viola scuro (basofile)

rosso vivo (azzurrofile)

Esame morfologico del sangue periferico

COLORAZIONE: May-Grunwal-Giemsa

ERITROCITI: rosso chiaro/grigio

NEUTROFILI: nucleo blu/viola

BASOFILI: granuli blu intenso/viola scuro e nucleo coperto

EOSINOFILI: granuli rossi e nucleo coperto

LINFOCITI: nucleo molto grande e blu

MONOCITI: sono le cellule più grandi e hanno il nucleo blu

Esame morfologico del sangue periferico

ANALISI MICROSCOPICA: Microscopio ottico

PICCOLO INGRANDIMENTO: adeguatezza del preparato

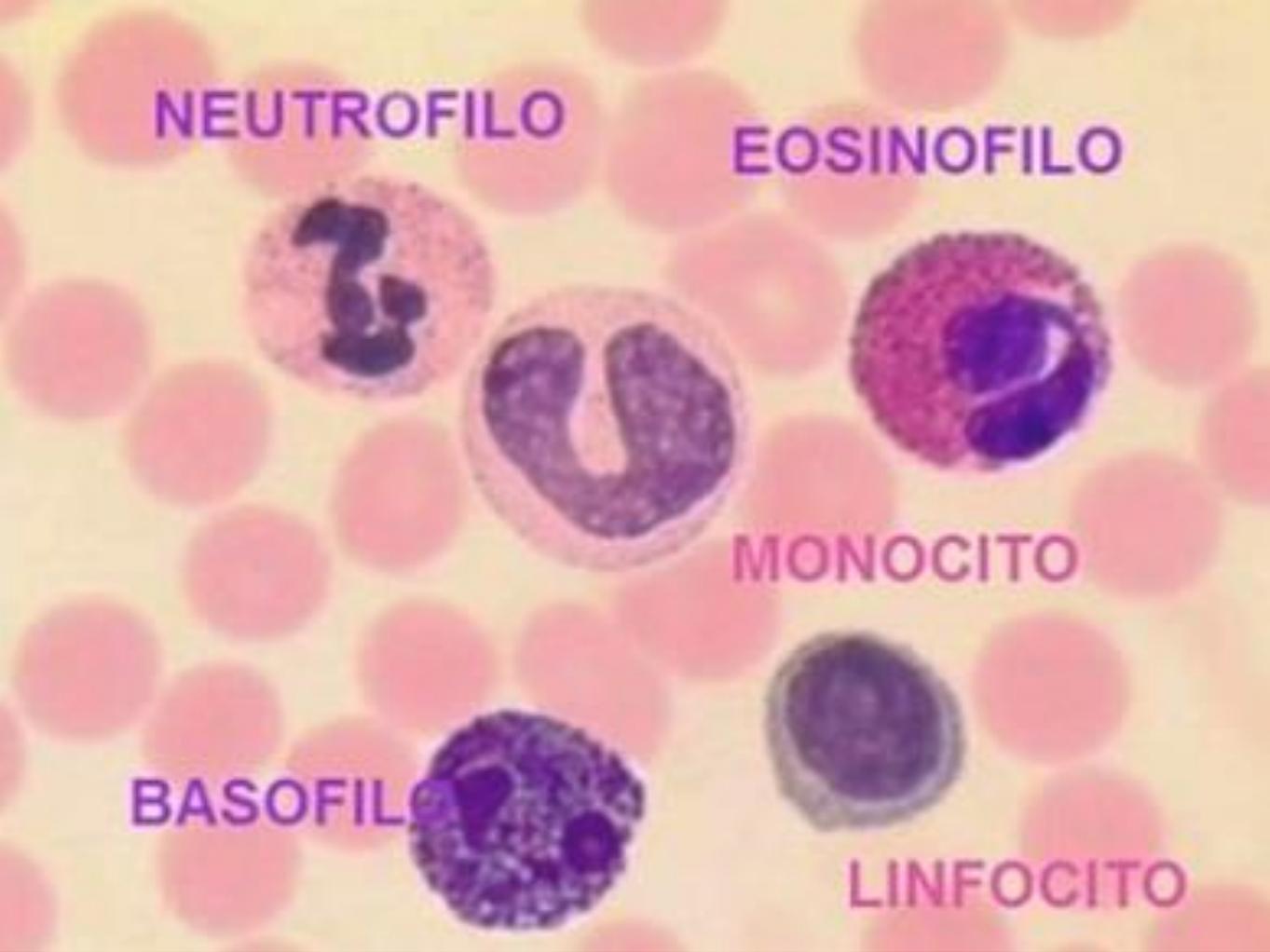
identifico area di analisi

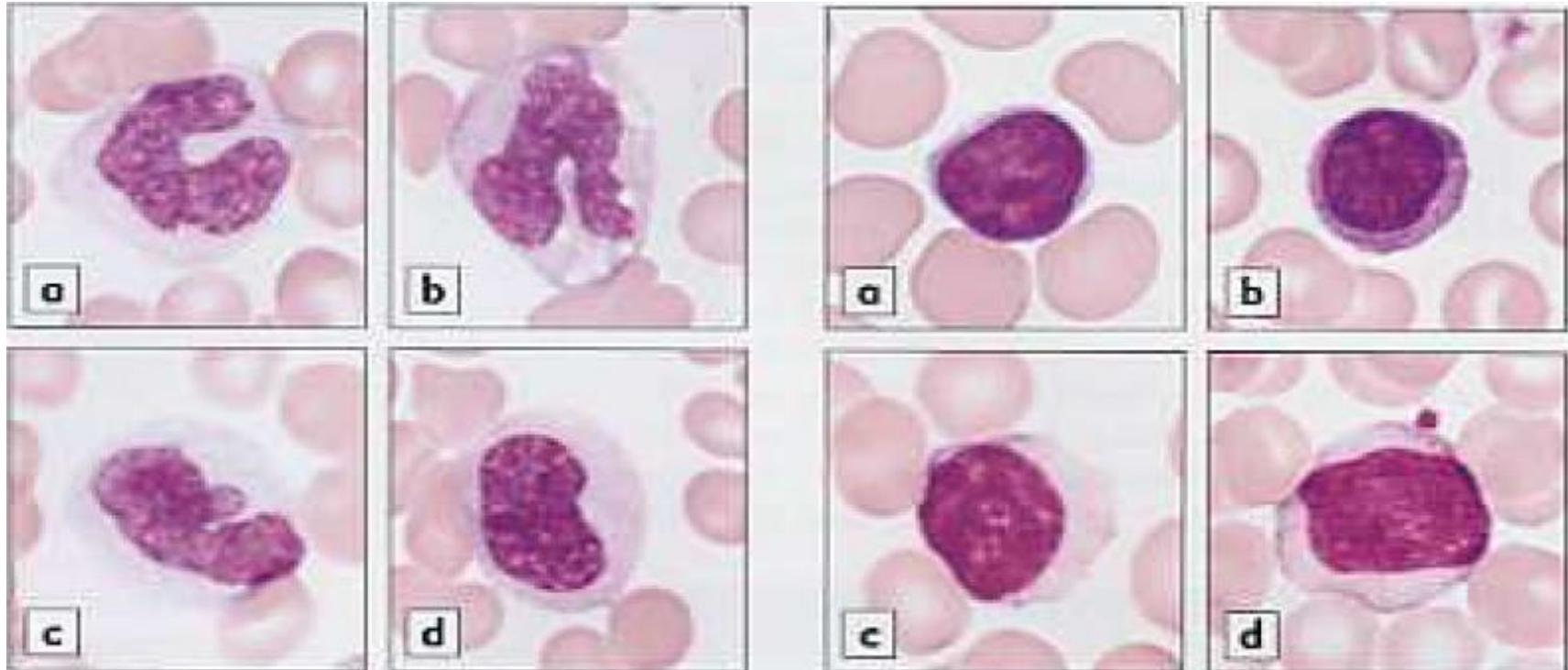
MEDIO INGRANDIMENTO: analisi morfologica dei leucociti

analisi morfologica degli eritrociti

MAGGIORE INGRANDIMENTO: dettagli citologici quali

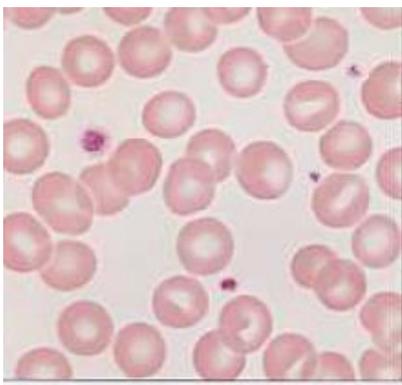
- citoplasma
- nucleo
- granulazioni





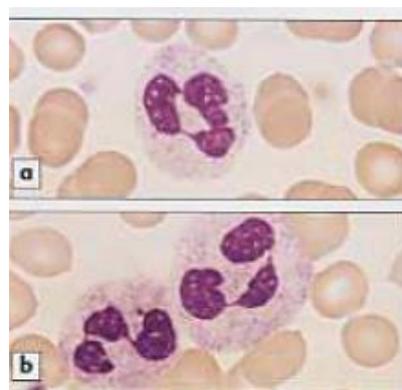
MONOCITI: Il nucleo può essere convoluto con un pattern cromatinico buono. Il citoplasma ha di solito una colorazione grigiastra con effetto vetro e granuli azurofilici. Quando infiltrano i tessuti diventano macrofagi e fagocitano cellule senescenti e detriti.

LINFOCITI: sono normalmente dai 7-12um nei sani. Oltre i 20um se ho infezioni. Il citoplasma è azzurro chiaro e molto ridotto rispetto al nucleo. Quest'ultimo è centrale, tondeggiante e un pattern cromatinico amorfo.

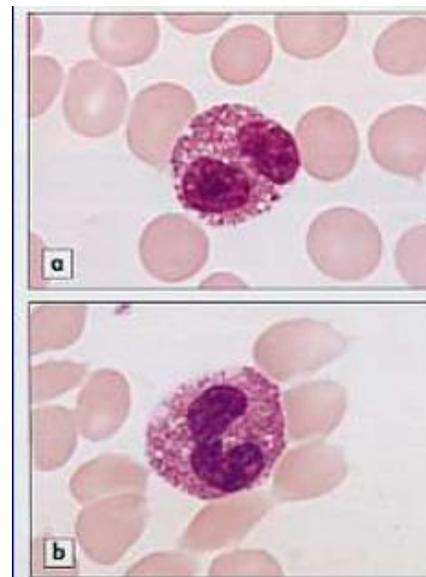


ERITROCITI:
mediamente 8um
con area centrale
ipocromatica.

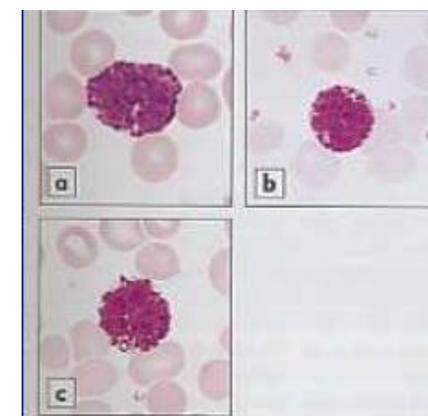
PIASTRINE:
mediamente 1-3um,
staining rosso-viola
evidente. Si può
distinguere una zona
granulare. Vivono
mediamente 8-12
giorni.



NEUTROFILI: nella
forma matura hanno
il nucleo lobato
separato da filamenti
(polimorfonucleati).
Arrivano fino a 5
lobi. Generalmente
vi si apprezzano i
corpi di Barr.
Rappresentano il 60-
70% dei globuli
bianchi e fagocitano
batteri e funghi.



EOSINOFILI:
normalmente sono il
2-4% e presentano
due segmenti nucleari.
Nel citoplasma, le
granulazioni eosinofile
che possono coprire il
nucleo. Reazione
immuno-allergica,
infiammazione e
reazione contro
elminti.



BASOFILI: I granuli
basofili spesso
nascondono il nucleo,
impedendone l'analisi
dei dettagli o delle
strutture. Nei sani
sono in numero
limitato (<1%).
Rilasciando istamina
ed eparina, inducono
le modificazioni
vascolari necessarie al
processo
infiammatorio.

Esame morfologico del sangue midollare

AGO ASPIRATO MIDOLLARE

LEUCOCITOSI/LEUCOPENIA con o senza ANEMIA E PIASTRINOPENIA (LA, MDS, aplasia)

STADIAZIONE O ESORDIO DI MALATTIA LINFOPROLIFERATIVA (cHL)

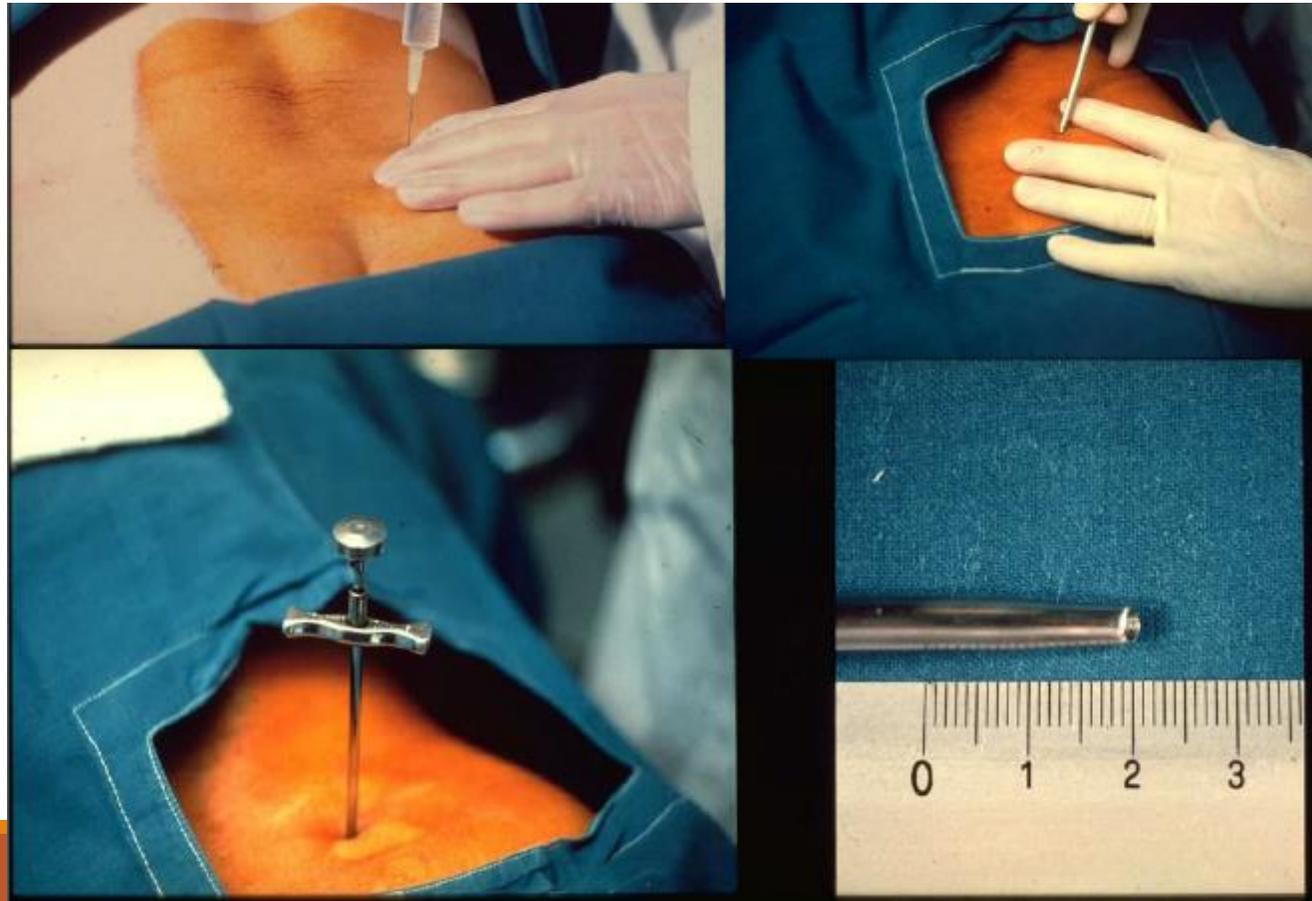
ANEMIA MACROCITICA O NORMOCITICA

ALTERAZIONI DELLE Ig (componente monoclonale)

ALCUNE INFEZIONI (malaria)

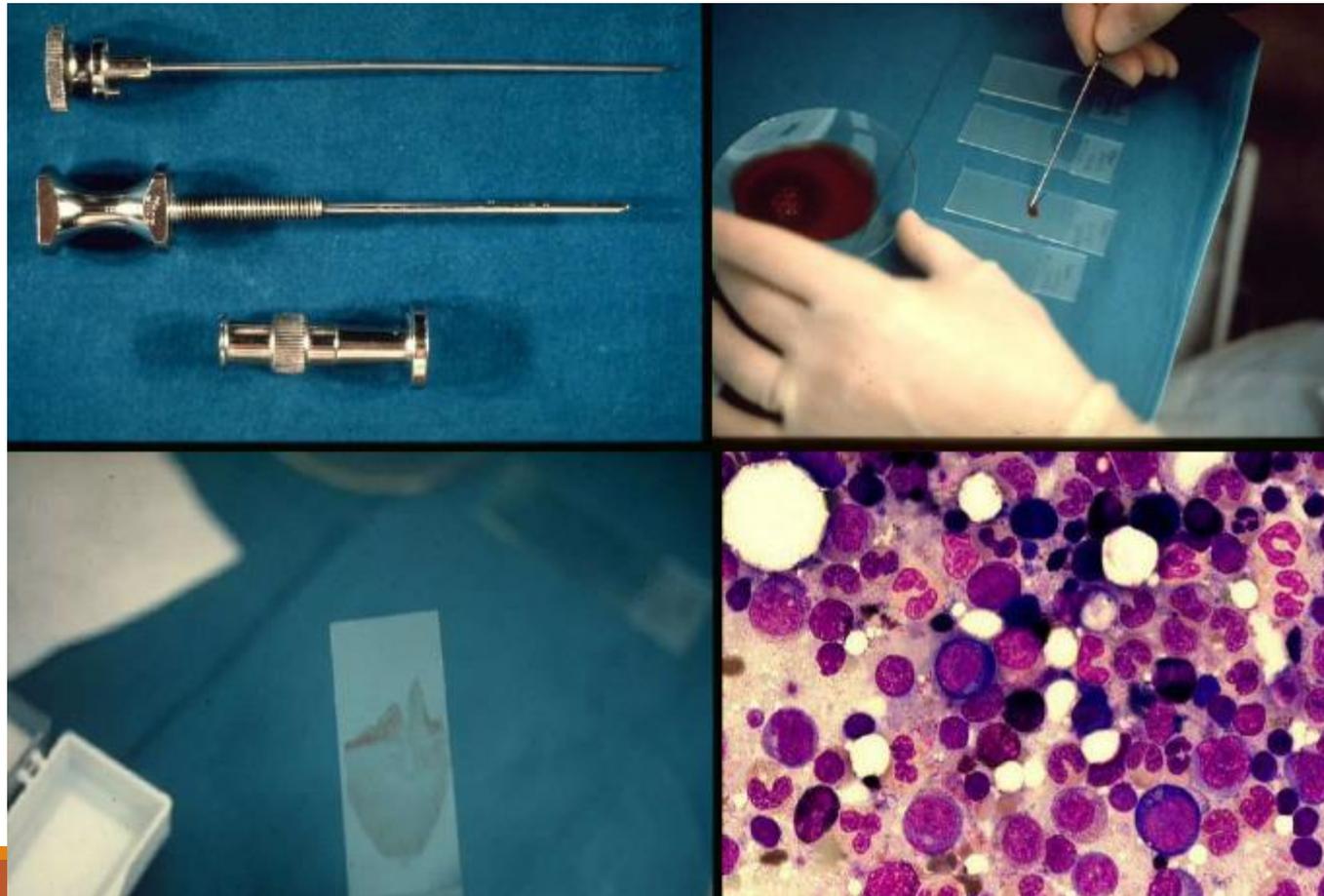
Esame morfologico del sangue midollare

AGO ASPIRATO MIDOLLARE



Esame morfologico del sangue midollare

AGO ASPIRATO MIDOLLARE



Esame morfologico del sangue midollare

BIOPSIA OSSEA (densità cellulare, rapporto cellule/stroma, infiltrato di cellule estranee)

PANCITOPENIA

PUNCTIO SICCA

STADIAZIONE O ESORDIO DI MALATTIA LINFOPROLIFERATIVA (cHL)*

SINDROMI MIELO O LINFOPROLIFERATIVE CRONICHE

ALTERAZIONI DELLE Ig (componente monoclonale)*

SOSPETTA INFILTRAZIONE DA NEOPLASIE SOLIDE

Esame morfologico del sangue midollare

BIOPSIA OSSEA

- Dolorosa
- Sala operatoria e DH
- Ago e mandrino di dimensioni maggiori
- Prevede l'incisione della cute
- Il mandrino interno consente il prelievo di un cilindro di tessuto.



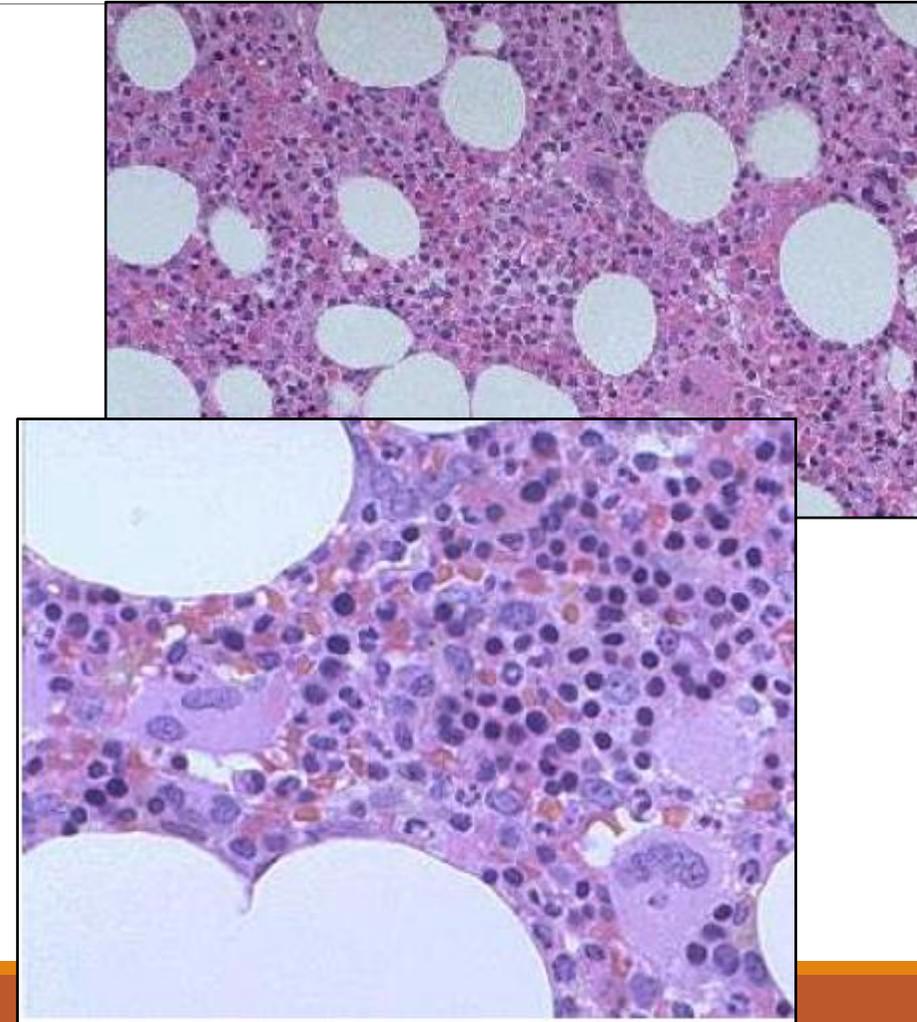
Esame morfologico del sangue midollare

MIDOLLO OSSEO NORMALE: istologia

A medio ingrandimento si apprezzano isolotti di eritroblasti, precursori della granulopoiesi e megacarioblasti.

Cellularità media del 50%.

Presenza di adipociti frapposti alle cellule della mielopoiesi

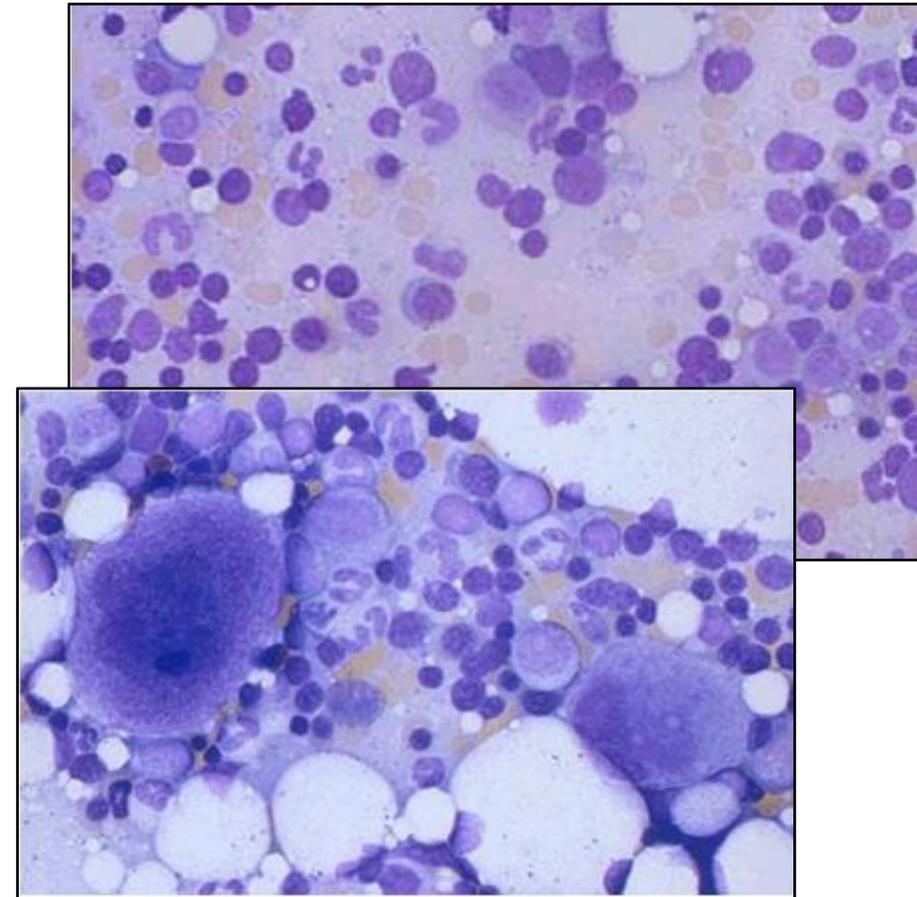


Esame morfologico del sangue midollare

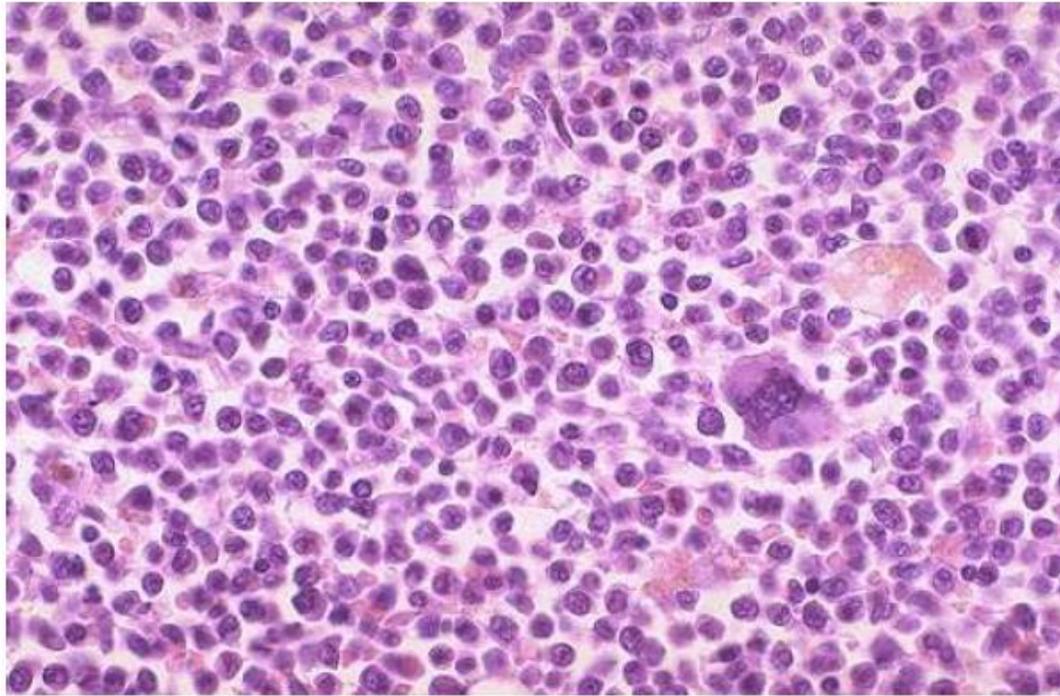
MIDOLLO OSSEO NORMALE: citologia

A medio ingrandimento si apprezzano isolotti di eritroblasti, precursori della granulopoiesi e megacarioblasti.

Quadro polimorfico con cellule variabili in morfologia e dimensioni.



Esame morfologico Leucemia Acuta Mieloide



Midollo osseo a forte ingrandimento, in un caso di leucemia acuta mieloide.

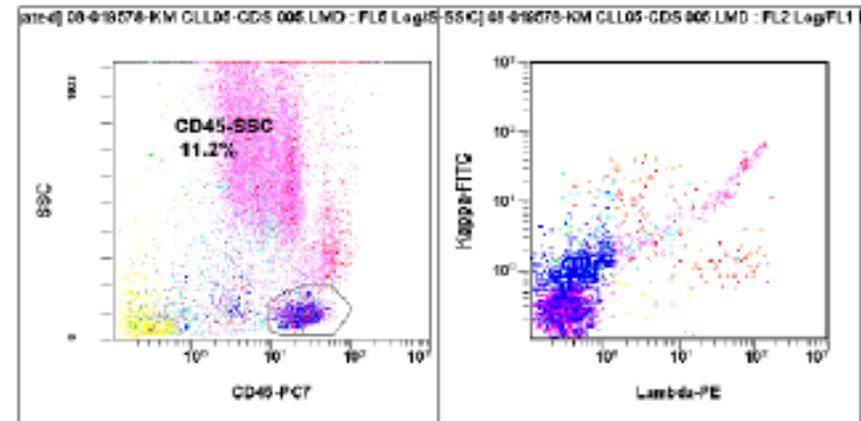
La popolazione cellulare è monomorfa, costituita quasi esclusivamente da cellule leucemiche.

Si osserva un megacariocito

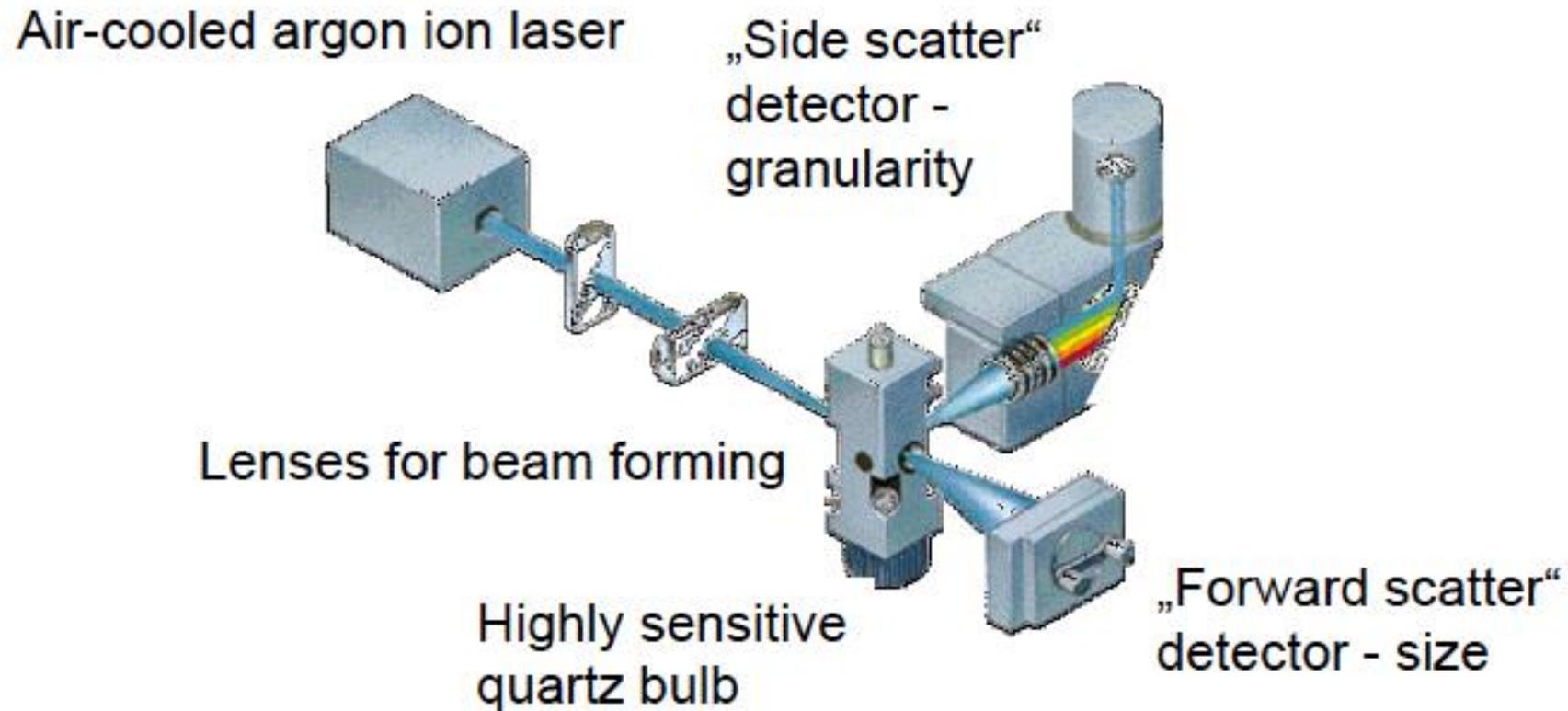
Analisi Immunofenotipica

INDICAZIONI

- SINTOMI CLINICI
- CITOPENIA
- LEUCOCITOSI
- PRESENZA DI CELLULE ATIPICHE/BLASTI
- PATOLOGIE DELLE PLASMACELLE
- ORGANOMEGALIA O MASSE TISSUTALI
- MONITORAGGIO DELL'MRD

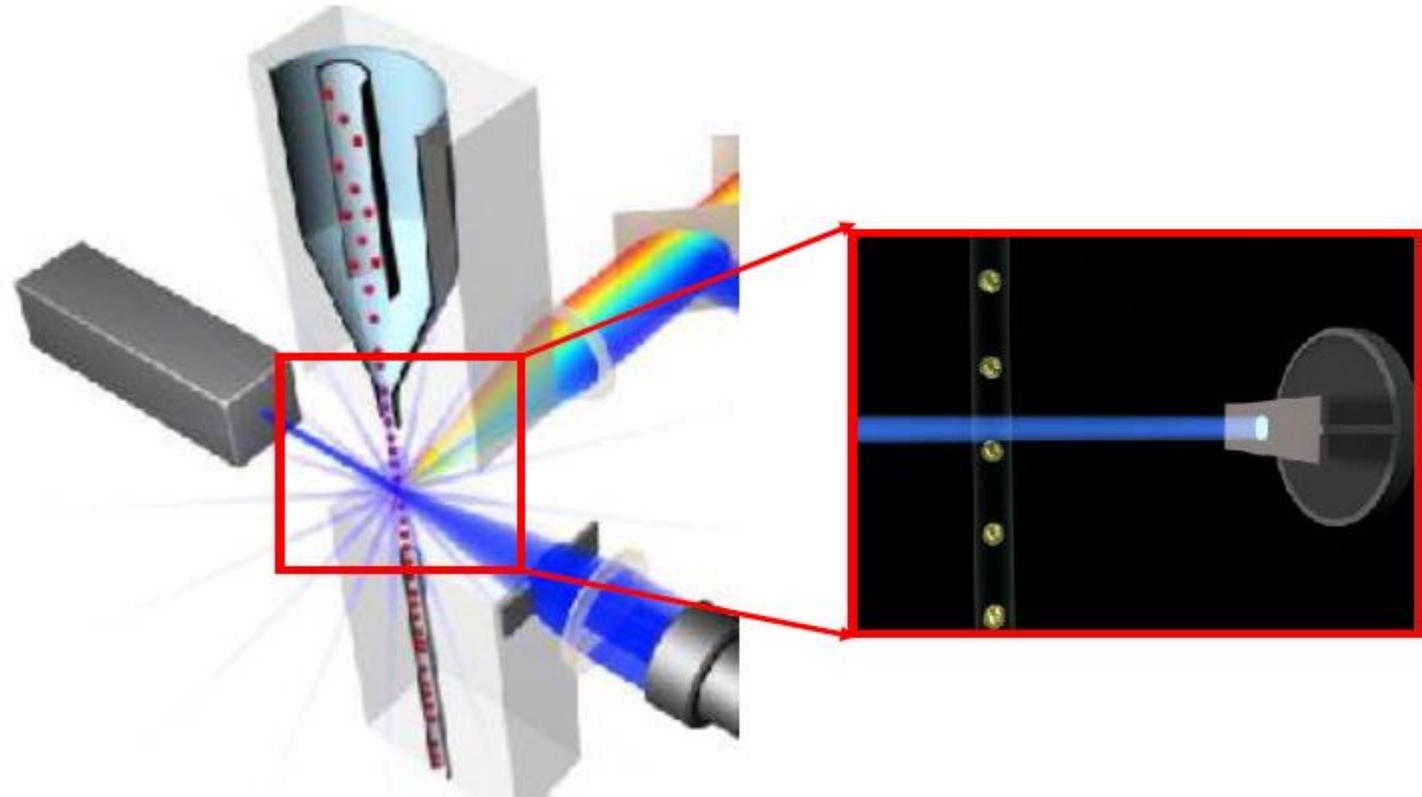


Citofluorimetro

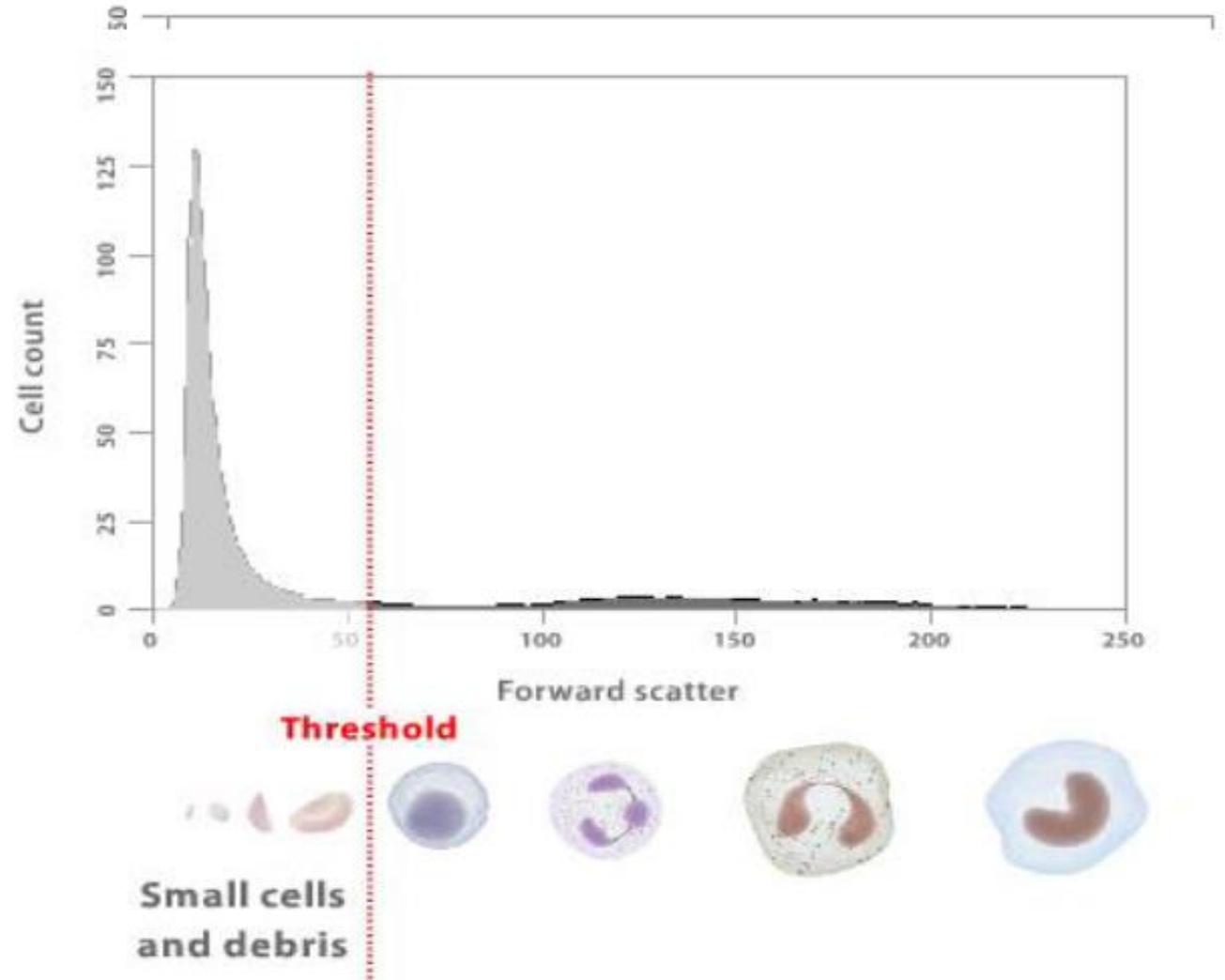


Citofluorimetro

Focusing idrodinamico

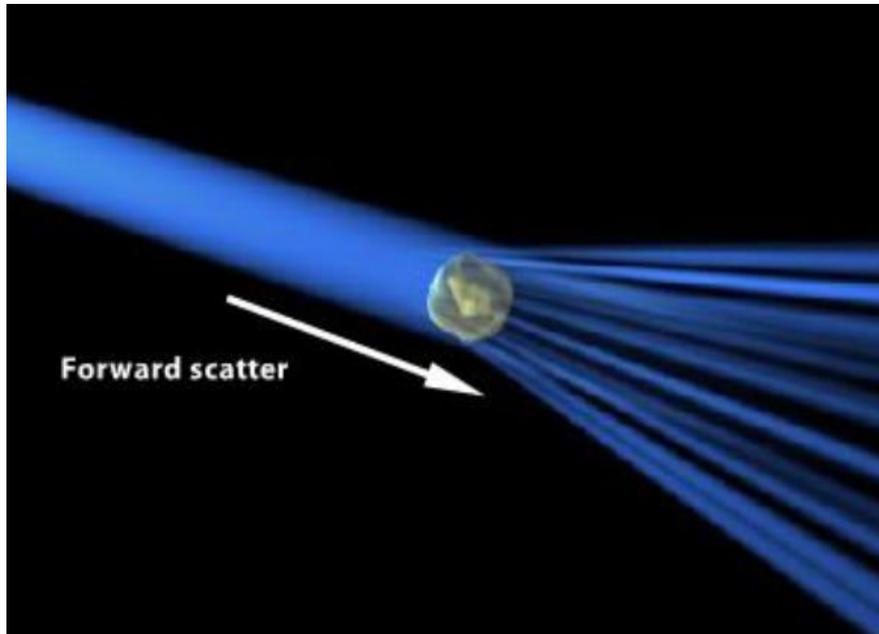


Citofluorimetro

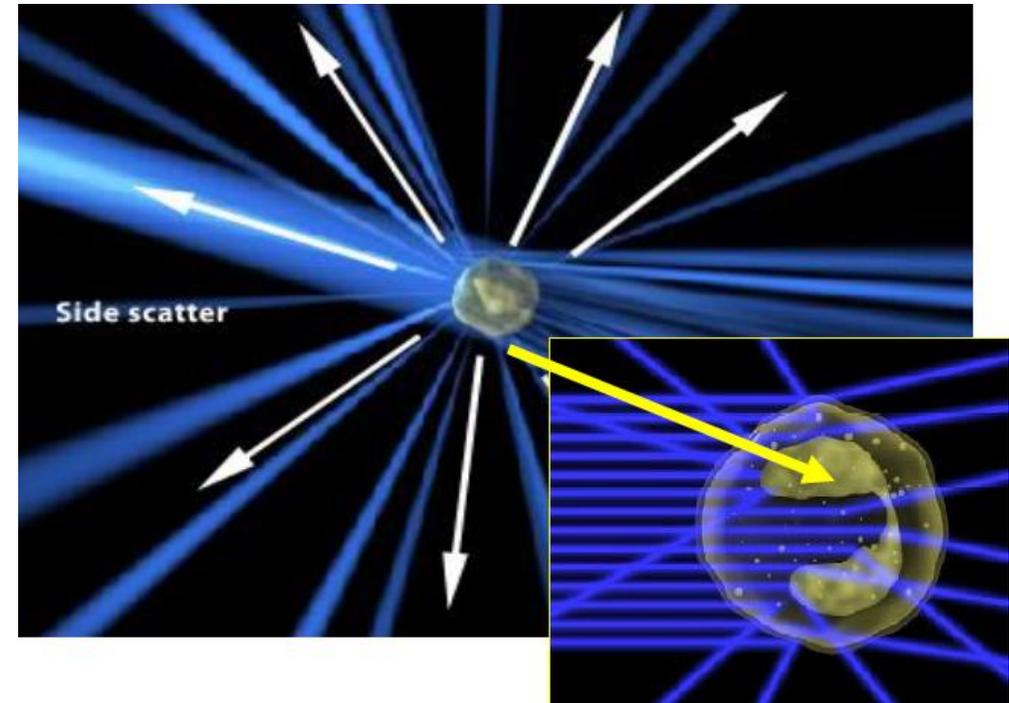


Citofluorimetro

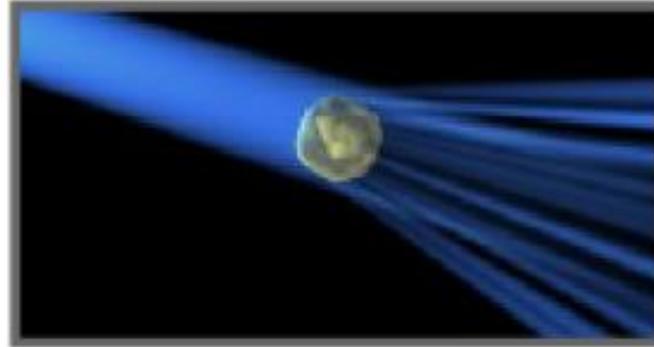
DIMENSIONE



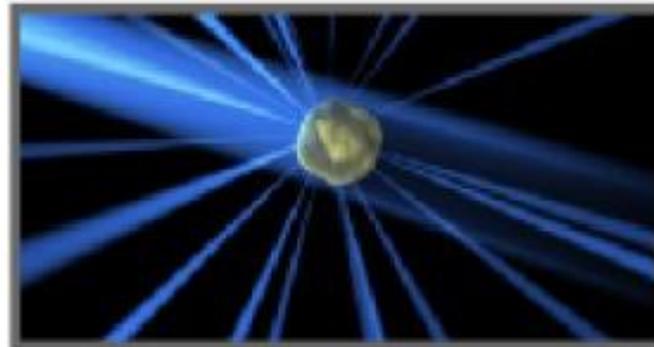
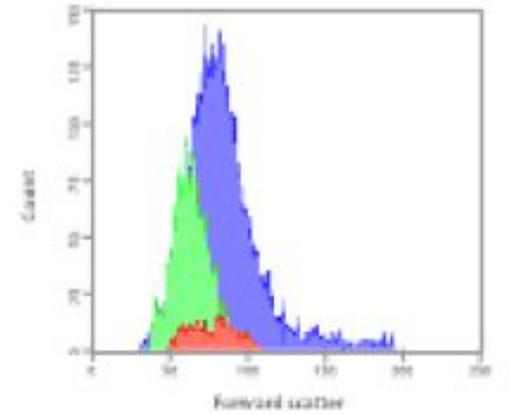
COMPLESSITA'



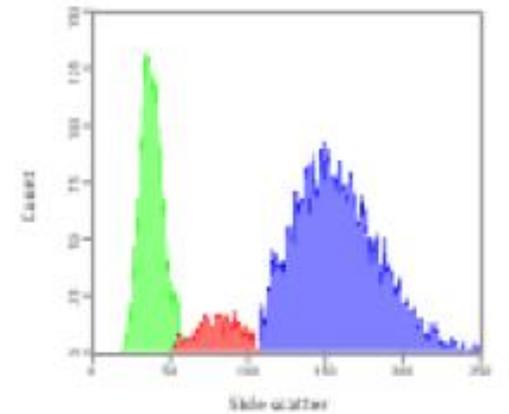
Citofluorimetro



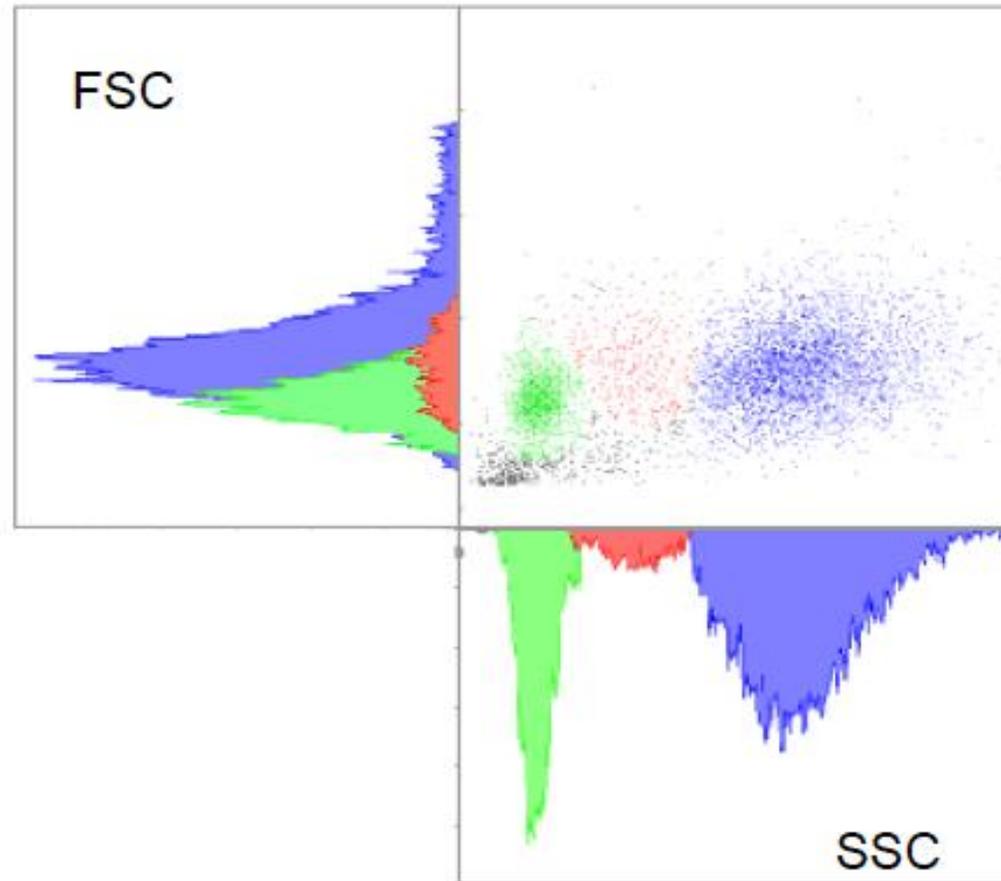
Forward scatter



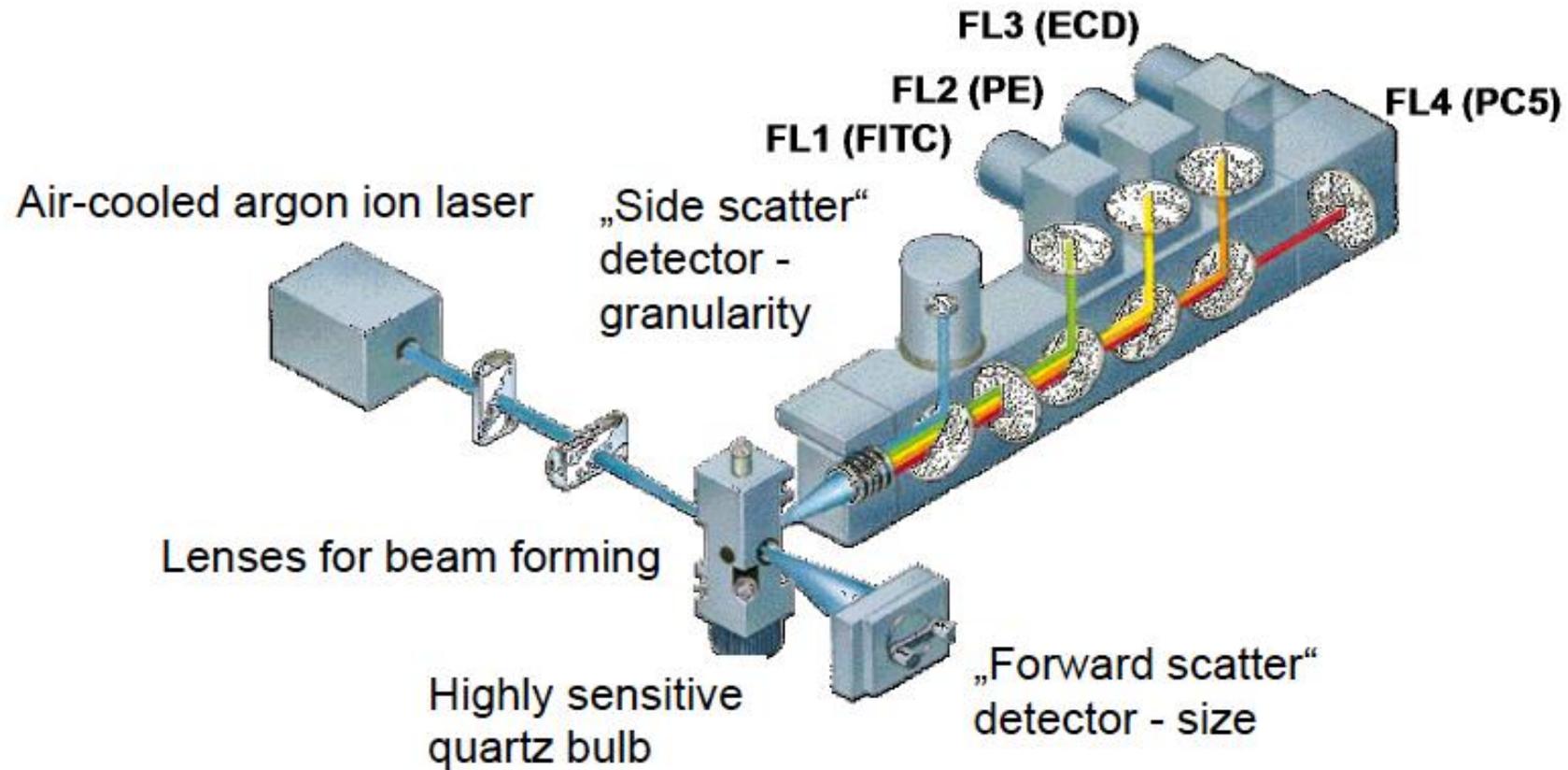
Side scatter



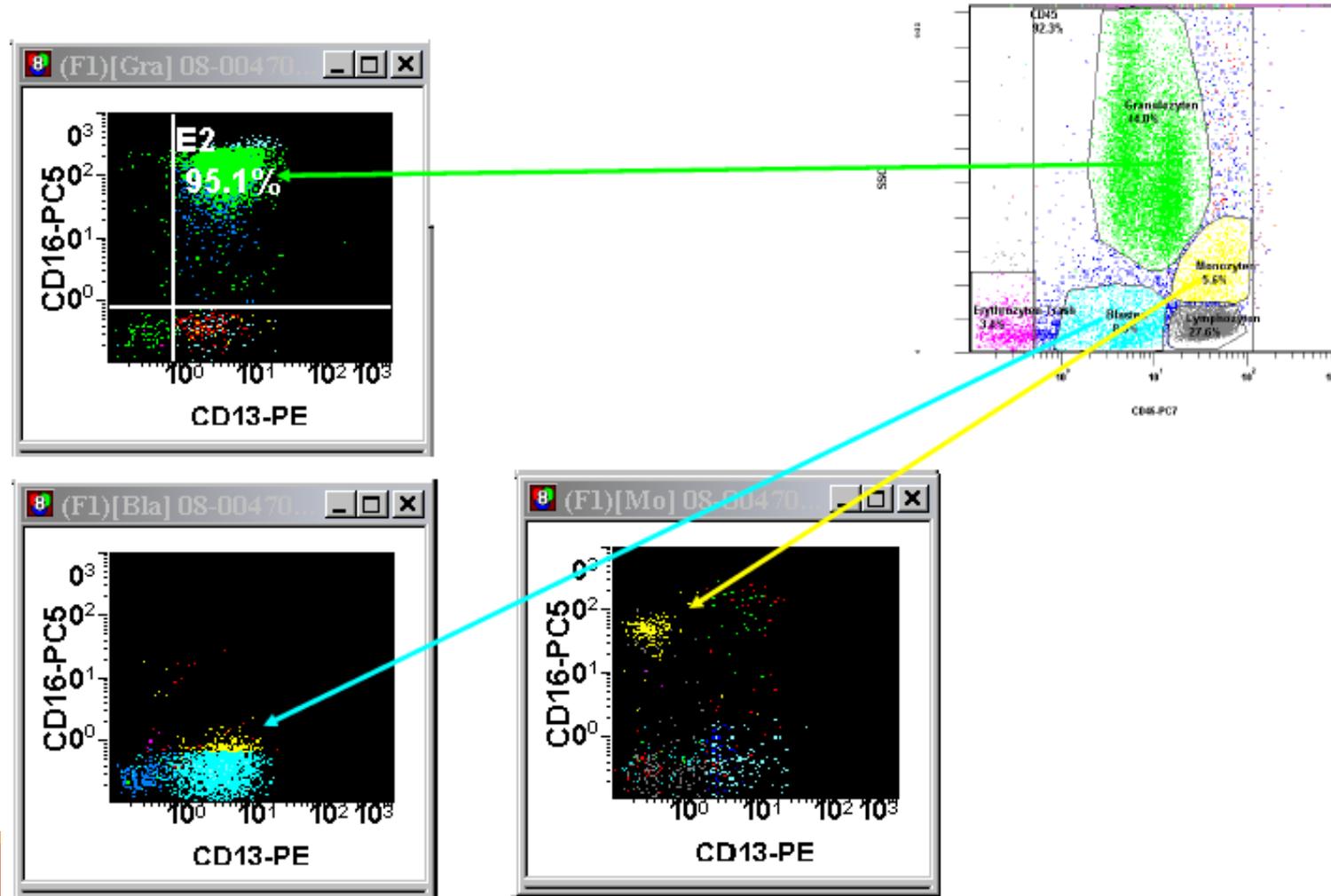
Citofluorimetro: citogramma



Citofluorimetro: i colori



Citofluorimetro: il gating



Immunofenotipi normali

STEM CELL:

CD34+
CD33+/-

BLASTO MIELOIDE:

CD13+
CD33+
CD34+

LINFOCITI B:

CD79a+
CD20+
CD22+
CD19+
sIgM+

GRANULOCITI:

CD13+
CD33+/-
CD66c+ CD66b+
CD11c+ CD11b+ CD11a+
CD16+
CD15+

MONOCITI:

CD13+
CD33+
CD36+
CD11b+
CD14+
CD64+

Immunofenotipi tipici: LAIP

HAIRY CELL LEUKEMIA:

SSC FORTE

CD103+

CD11c+

CD25+

CLL (90% dei casi):

CD5+

CD23+

FMC7-

sIgM(+)

aCD22(+) o CD79b(+)

LINFOMA FOLLICOLARE:

CD10+ DEBOLE

CD19+ DEBOLE

DLBCL:

CD10+

LIGHT CHAIN (Kappa/Lambda)

MIELOMA:

CD45-

CD38+-

CD138+

CD56+

CD19-CD20+

NEXT GENERATION SEQUENCING

	Whole Genome	Enrichment	Small Genome/ Plasmid	Amplicon
Description	Basic sequencing of a genome, typically aligns to a reference sequence, can be <i>De Novo</i> sequencing, genotyping, etc.	Studies targeting the exome or planning to enrich genomic DNA for large areas of the genome	Methods optimized for handling small genomes like bacterial genomes, similar to Whole Genome methods	Either starting with PCR amplicons or using the Illumina Design Studio software to design custom amplicon probes, typically covers a smaller area of the genome than enrichment methods

Tecniche di Next Generation Sequencing

**Si basano sul principio del sequenziamento di
'cluster' clonali**

Il processo, che inizia con una singola molecola target, prevede la creazione di target clonali durante uno step intermedio di amplificazione.
Copie multiple e identiche sono infatti necessarie per avere un alto rapporto segnale-rumore



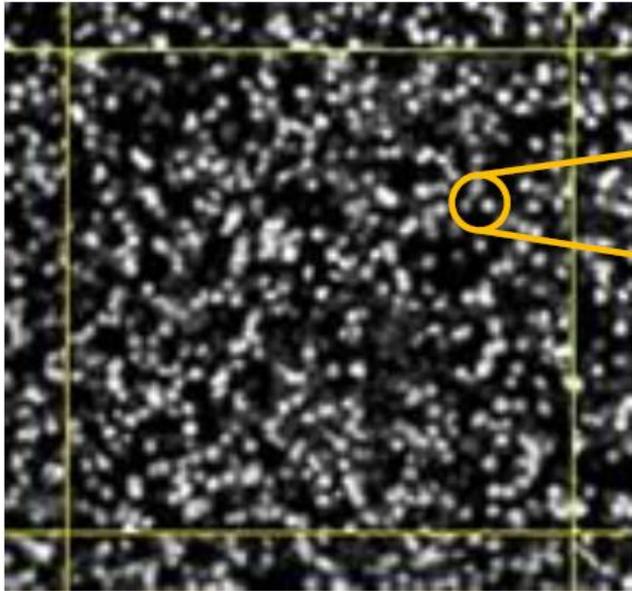
**Sequenziamento
mediante sintesi (SBS)**
Chimica con
terminatori
SOLEXA
(ILLUMINA)



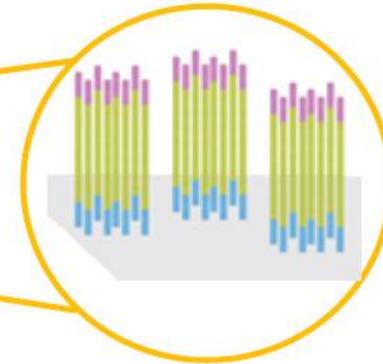
**Sequenziamento
mediante ligazione (SBL)**
SOLiD
(ION TORRENT/PGM)

BASE DEL SEQUENCING

Clusters are bright spots on an image

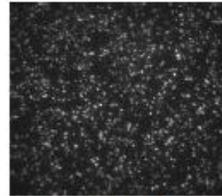


Each cluster represents thousands of copies of the same DNA strand in a 1–2 micron spot



ANALISI BIOINFORMATICA

.FASTQ



```
TTGTTTGGTTAGGATCGATCGTTGATG  
GGGCTGAGGCTAGTTTCGATTTACGATCGA  
AGCTTGGGCTAGTTTCGATTTACGATCGA  
GATGAGGCTGAGGCTAGTTTCGATTTACGAT  
GGCTTGGGCTAGTTTCGATTTACGATCGA  
AGGCTAGTTTCGATTTACGATCGATCGTTG  
GGATCGATCGTTGATCGTTGGGTTAGTGC  
TTTCGATTTAGGATCGATCGTTGATCGTC  
TTGATTTAGGATCGATCGTTGATCGTC  
AGCTAGTTTCGATTTACGATCGATCGTTG  
TTTCGATTTAGGATCGATCGTTGATCGTC  
TTTACGATCGATCGTTGATCGTTGGGTTAG  
GATCGATCGTTGATCGTTGGGTTAGTGC  
TTTCGATTTAGGATCGATCGTTGATCGTC  
TTGATTTAGGATCGATCGTTGATCGTC  
AGGATTTTCGATTTAGGATCGATCGTTG  
TTGATTTAGGATCGATCGTTGATCGTC
```

Images, Intensities and Base Calls

.BAM

.VCF

```
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA  
!TAAGGCTAGGTTTCATGCTA
```

Alignments, Variant Detection



Annotation, Filtering, Reports

Es. ANNOVAR

- Interrogazione dei database
- Interpretazione delle varianti
- Prioritizzazione



ANNOTATION ANALYSIS: ANNOVAR

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	Chr	Start	End	Ref	Alt	Func.refGene	Gene.refGene	GeneDetail.refGene	ExonicFunc.refGene	AAChange.refGene	Xref.refGene	ExAC_Freq
2	1	948921	948921	T	C	UTR5	ISG15	NM_005101:c.-33T>C	.	.	Immunodeficiency	0.941
3	1	1404001	1404001	G	T	UTR3	ATAD3C	NM_001039211:c.*91G>T	.	.	.	0.054
4	1	5935162	5935162	A	T	splicing	NPHP4	NM_001291594:exon17:c.1282-2T>A	.	.	Nephronophthi	0.825
5	1	162736463	162736463	C	T	intronic	DDR2	.	.	.	Spondylometap	.
6	1	84875173	84875173	C	T	intronic	DNASE2B
7	1	13211293	13211294	TC	-	intergenic	PRAMEF36P;F	dist=11566;dist=116902
8	1	11403596	11403596	-	AT	intergenic	UBIAD1;PTCH	dist=55105;dist=135699
9	1	105492231	105492231	A	ATAAA	intergenic	LOC10012913	dist=872538;dist=640085
10	1	67705958	67705958	G	A	exonic	IL23R	.	nonsynonymous SNV	IL23R:NM_144701:exon9:c.G1142A:p.R381Q	.	0.041
11	2	234183368	234183368	A	G	exonic	ATG16L1	.	nonsynonymous SNV	ATG16L1:NM_198890:exon5:c.A409G:p.T137A;ATG16L1:NM_0	.	0.457
12	16	50745926	50745926	C	T	exonic	NOD2	.	nonsynonymous SNV	NOD2:NM_001293557:exon3:c.C2023T:p.R675W;NOD2:NM_0	Blau syndrome, A	0.023
13	16	50756540	50756540	G	C	exonic	NOD2	.	nonsynonymous SNV	NOD2:NM_001293557:exon7:c.G2641C:p.G881R;NOD2:NM_0	Blau syndrome, A	0.009917
14	16	50763778	50763778	-	C	exonic	NOD2	.	frameshift insertion	NOD2:NM_001293557:exon10:c.2936dupC:p.L980Pfs*2;NOD2	Blau syndrome, A	0.013
15	13	20763686	20763686	G	-	exonic	GJB2	.	frameshift deletion	GJB2:NM_004004:exon2:c.35delG:p.G12Vfs*2	Bart-Pumphrey s	0.006038
16	13	20797176	21105944	0	-	exonic	CRYL1;GJB6	.	frameshift deletion	GJB6:NM_001110220:wholegene;GJB6:NM_001110221:whole	.	.
17	8	8887543	8887543	A	T	exonic	ERI1	.	stoploss	ERI1:NM_153332:exon7:c.A1049T:p.X350L	.	.
18	8	8887539	8887539	A	T	exonic	ERI1	.	stopgain	ERI1:NM_153332:exon7:c.A1045T:p.K349X	.	.
19	8	8887536	8887537	AG	GATT	exonic	ERI1	.	frameshift substitutic	ERI1:NM_153332:exon7:c.1042_1043GATT:p.R348Dfs*2	.	.
20	8	8887540	8887540	G	GGAA	exonic	ERI1	.	nonframeshift substit	ERI1:NM_153332:exon7:c.1046delinsGGAA:p.R348_K349insR	.	.
21	5	1295288	1295288	G	A	upstream	TERT	dist=126
22	chr14	95602958	95602958	A	C	splicing	DICER1	NM_001271282:exon1:UTR5	.	.	Goiter, multinodi	.



POSITION AND
SEQUENCE
ALTERATION



EFFECTS ON THE
PROTEIN

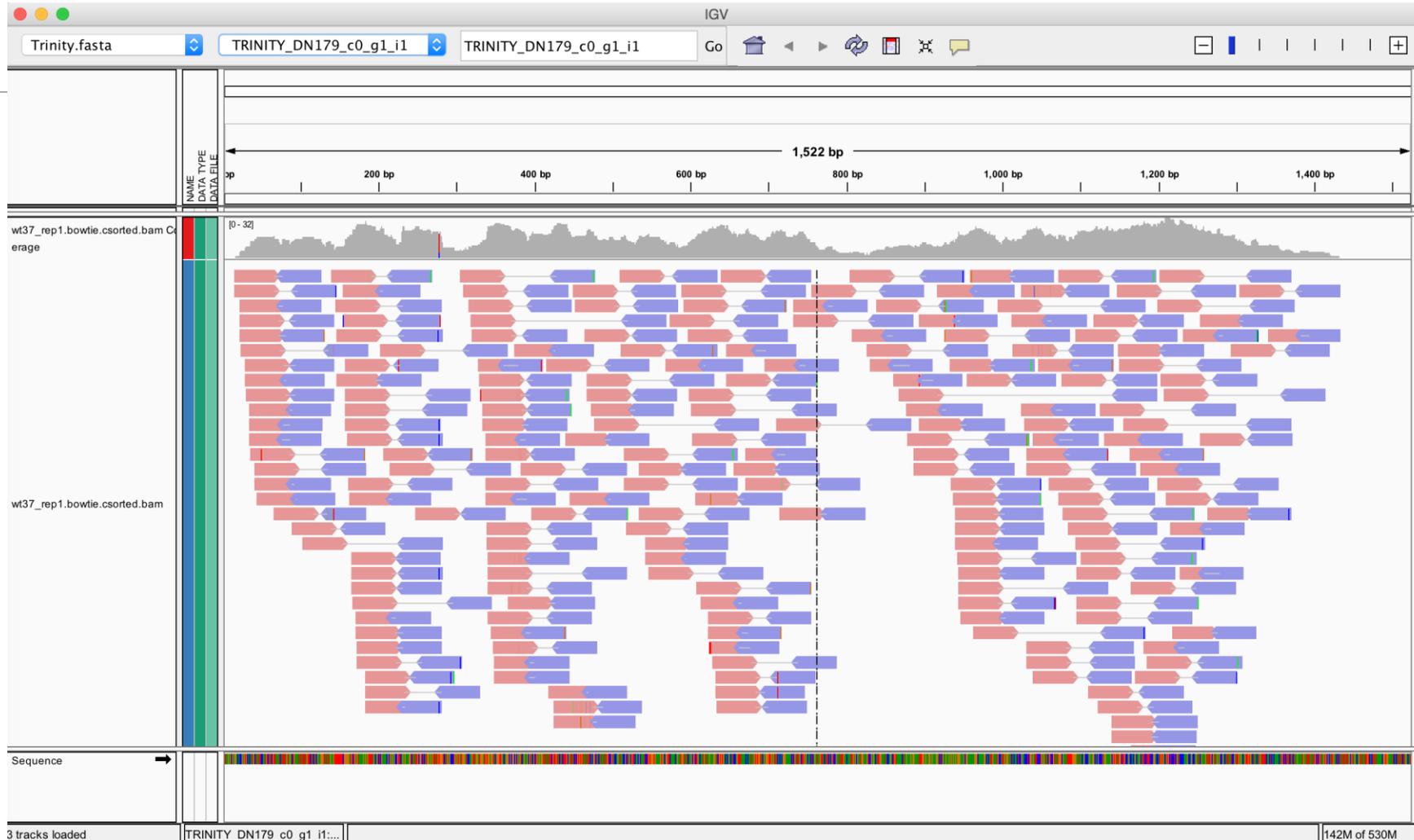


ALTERATION OF
ISOFORMS



DATABASE AND
PREDICTION
SOFTWARES

SECONDARY ANALYSIS: IGV



ARTIFICIAL INTELLIGENCE

Sophia DDM

DASHBOARD WORKSPACE SG10000001 / #2-0336 Requests

Sophia Genetics SA

analysis #26027 SG10000001 / MID S1 -- request: #2-0336 21/01/13 illumina_MR_BRCA_CNV Jurgi Camblong

BRCA 2 genes 1

REPORTED 1 BRCA1 BRCA MASTR™ Dx germline

OVERVIEW SCREENING GENES SNPs-INDELS CNVs WARNINGS

Static Filters

Retained 24

A: Most Likely Patho... 2

B: Potentially Patho... 1

C: VUS (Unknown ... 3 6

D: Likely Benign 3 15

Low Confidence 3 12

Flagged 11

Custom Filters

Variant List - sorted by: PRED_CAT + PATHOGENICITY_CLASS > GENE

P...	Pat.	id	type	cod. cons.	gene	refSeqid	c.DNA	Protein	VF%	refSeq	altSeq	depth	SC
C	5	29	SNP	intronic	BRCA1	NM_007294	c.4485-63C>G		49.87			770	
C	5	27	SNP	intronic	BRCA1	NM_007294	c.4987-68A>G		53.63			716	
C	4	2	SNP	missense	BRCA1	NM_007294	c.2077G>A	p.Asp693Asn	51.43	GAC	AAC	525	
C	2	33	SNP	5'UTR	BRCA2	NM_000059	c.-26G>A		50.0			1020	
C	1	25	SNP	intronic	BRCA1	NM_007294	c.5152+66G>A		51.94			258	
C	1	18	INDEL	intronic	BRCA2	NM_000059	c.6841+80_...		51.14			1095	
C		36	SNP	5'UTR	BRCA1	NM_007294	c.-134T>C		55.74			540	
C		26	SNP	intronic	BRCA1	NM_007294	c.5075-53C>T		55.41			231	
C		32	INDEL	intronic	BRCA1	NM_007294	c.548-58delT		51.32			793	
C		31	SNP	intronic	BRCA1	NM_007294	c.4087-141A...		46.97			264	
C		28	SNP	intronic	BRCA1	NM_007294	c.4987-92A>G		53.63			716	

OVERVIEW DETAILS COMMENTS VIEWER SIMILAR PATIENTS WARNINGS

reads 716 DEPTH 231 min 6491 max

frequencies 4/11 RUN 24% ACCOUNT 53.4% COMMUNITY

flagging 13

transcript NM_007294 cDNA c.4987-68A>G refseq T->C

rs8176234

SNP 17-16 Intronic

SNP BRCA1

ExAC ClinVar COSMIC IGV NCBI ALAMUT

PolyPhen2 na MutationTaster na

SIFT na ESP5400 0.0

cg88 0.26

G1000 0.35

ExAC 0.0

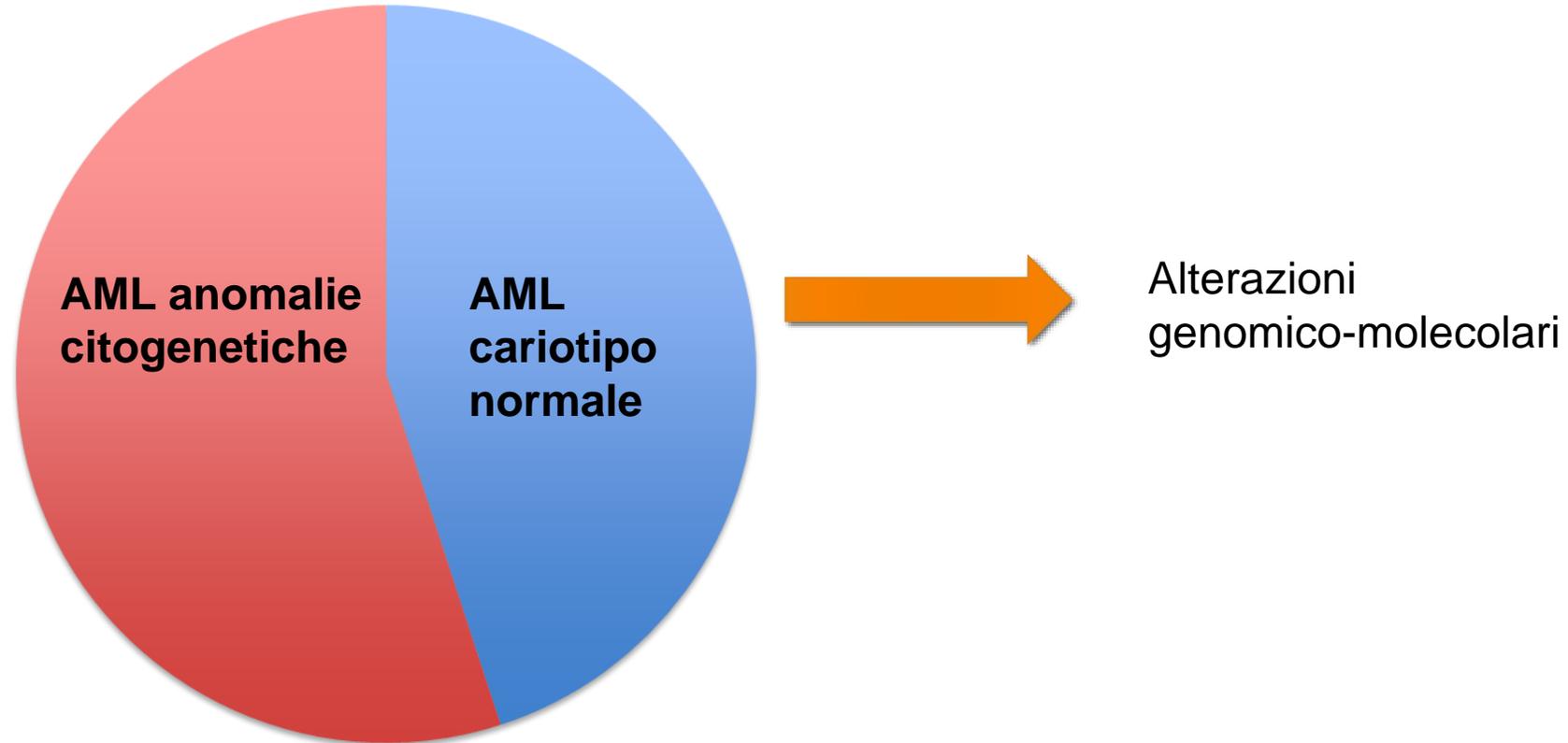
Values are scaled so that the most pathogenic scores are plotted towards the external circle. ESP5400 & G1000 empty values are considered as 0.0

Sophia Genetics SA 05-1-2016 02:21:31 A, O 3.5.0.5-r7411

AN EXAMPLE OF APPLICATION IN ONCO-HEMATOLOGY

GENOMIC CHARACTERIZATION OF AML

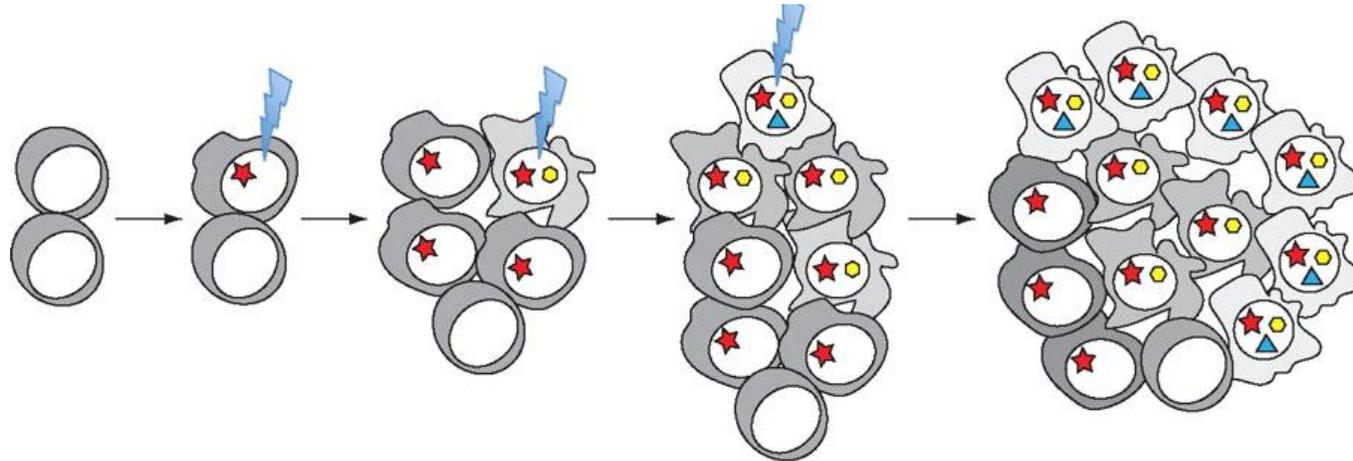
GENOMIC COMPLEXITY OF AML



GENETIC MUTATIONS OF AML

Mutazioni Driver: portano alla formazione di un clone mutato a cui conferiscono un vantaggio selettivo. Possono essere:

- Fondanti o inizianti: danno inizio al clone tumorale (mutazioni di NPM1, DNMT3A, IDH1, IDH2, CEBPA, RUNX1, FLT3)
- Subclonali: mutazioni che avvengono in una cellula già clonale e danno origine a un secondo clone che porta sia la mutazione fondante che quella acquisita (FLT3-drug resistance)



GENOMIC COMPLEXITY OF AML



CONVENTIONAL DIAGNOSYS OF AML

Attualmente le mutazioni geniche sono studiate con metodiche convenzionali: es. Sanger

Limite di
sensibilità della
metodica Sanger:
circa 20%



STUDY DESIGN



- trasduzione del segnale
- regolatori epigenetici e trascrizionali
- splicing
- attività polimerasica
- metabolismo
- altro

TET2
DNMT3A
ASXL1
RUNX1
EZH2
BCOR
ETV6
CEBPalpha
GATA2

SF3B1
SRSF2
U2AF1
ZRSR2

ANKRD46
NRAS
KRAS
FLT3
CBL
SRP72
DDX41

TERT
TERC

NPM1
TP53
IDH1
IDH2

THE DIAGNOSTIC TOOLS

DISEASE	GENES
AML	<i>ASXL1, BRAF, CEBPA, DNMT3A, EZH2, FLT3, IDH1, IDH2, KIT, KRAS, NPM1, NRAS, RUNX1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, WT1</i>
MDS	<i>ASXL1, BRAF, CBL, CEBPA, CSF3R, DNMT3A, EZH2, FLT3, HRAS, IDH1, IDH2, KRAS, MPL, NPM1, NRAS, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1, WT1, ZRSR2</i>
MPN	<i>CALR, JAK2, MPL, SETBP1</i>
JMML	<i>CBL, KRAS, NRAS, PTPN11, RUNX1, SETBP1, ZRSR2</i>
ALL	<i>ABL1, BRAF, FLT3, HRAS, JAK2, KRAS, NRAS, PTPN11</i>

AN EXAMPLE OF RESPONSE



ASST DEGLI SPEDALI CIVILI DI BRESCIA
DIPARTIMENTO DI DIAGNOSTICA DI
LABORATORIO
SMEL 369 - U.O. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche
Università degli Studi di Brescia



Referente Organizzativo: Dr. Duilio Brugnoli

Analisi di mutazioni somatiche tramite Next Generation Sequencing

Cognome e nome:	[REDACTED]	Data di Nascita:	[REDACTED]
Sesso:	M	Data Prelievo:	13/04/2022
Provenienza del Campione:	D.H. Ematologia		
Medico Richiedente:	D'Adda Mariella		
Numero Identificativo Campione:	04135361	Materiale Biologico:	DNA genomico estratto da sangue midollare

Sospetto diagnostico:	Neoplasia Mieloproliferativa Cronica (MPN)
Esame richiesto:	Pannello Myeloid Solution - Sophia Genetics

Risultato Analisi						
Gene	Variante	Conseguenza a livello proteico	Trascritto di riferimento	Sede della variante	Profondità di lettura	Frequenza (%)
JAK2	Puntiforme c.1849G>T	Missense p.(Val617Phe)	NM_004972	Esone 14	2232	23
U2AF1	Puntiforme c.101C>A	Missense p.(Ser34Tyr)	NM_006758	Esone 2	2222	12

Mutazione	Interpretazione	Letteratura di riferimento
JAK2 p.(Val617Phe)	Mutazione con potenziale significato prognostico in LAM	Aynardi J et al, Br J Haematol. 2018 Jul;182(1):78-85
U2AF1 p.(Ser34Tyr)	Mutazione con potenziale significato prognostico in MPN	Tefferi et al, Leukemia. 2018 Oct;32(10):2274-2278; Tefferi et al, Blood Adv. 2016 Nov 29; 1(1): 21-30; Tefferi et al, Br J Haematol. 2020 Apr;189(2):291-302

Data	17/05/2022
------	------------

Validato da:

Dott. Diego Bertoli (specializzando)

Dott.ssa Silvana Archetti

ASST degli SPEDALI CIVILI DI BRESCIA
DIPARTIMENTO DI DIAGNOSTICA DI
LABORATORIO
U.O. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche
Dott.ssa Silvana Archetti
C.F. RCH SVN 56B55 H256H