

Massimo Bernardi
Fabio Ciceri

Leucemie acute e mielodisplasie

8

Leucemie acute

Definizione

Le leucemie acute sono un gruppo eterogeneo di disordini clonali delle cellule staminali emopoietiche conseguenti a un danno genetico che provoca la perdita della capacità di differenziare normalmente (arresto maturativo) e di rispondere ai fattori di regolazione della proliferazione (crescita incontrollata). La progressiva crescita delle cellule leucemiche (definite blasti a denotarne l'imaturità) induce infiltrazioni d'organo e una perdita della normale funzione del midollo osseo, con conseguenti neutropenia, anemia e piastrinopenia, e il corrispettivo clinico di gravi infezioni e sindrome emorragica.

La classificazione attuale delle leucemie acute si basa principalmente sulla natura della cellula staminale interessata dalla trasformazione neoplastica, dunque sull'identificazione dei marcatori morfologici, immunofenotipici lineaspecifici mieloidi o linfoidi, citogenetici e molecolari che denotano le diverse filiere emopoietiche. In questo modo, e sulla base della linea cellulare interessata, si considerano in termini generali due gruppi di leucemie acute, le leucemie acute mieloidi (LAM) e le leucemie acute linfoblastiche (LAL).

Epidemiologia, eziologia e fattori di rischio

Le LAM hanno una prevalenza di 3,8 casi/100.000 persone, raggiungendo 17,9 casi/100.000 nella popolazione con età > 65 anni. L'età mediana alla presentazione è di 70 anni, con un rapporto M:F di 3:2.

I principali fattori di rischio della LAM riconosciuti sono l'esposizione a radiazioni ionizzanti, a benzene e a chemioterapia citotossica. Il fumo di sigaretta è la più comune fonte di esposizione a benzene e corrisponde a un rischio di 1,2-2,3 di incidenza di LAM. Il 10-15% dei casi di LAM si riscontra in soggetti che hanno ricevuto chemioterapia (*therapy-related*); la probabilità di sviluppare una LAM a seguito di chemioterapia è del 3-5%. Vi sono due tipi di LAM secondarie a chemioterapia; la più comune si riscontra 10-15 anni dopo la terapia con agenti alchilanti ed è caratterizzata da monosomie o delezioni del braccio lungo dei cromosomi 5 e 7 (-5, -7 LAM). Il secondo tipo compare 1-5 anni dopo il trattamento e correla con l'esposizione a etoposide e antracicline (doxorubicina, mitoxantrone), agenti che interagiscono con la DNA topoisomerasi II. Le anomalie citogenetiche indotte riguardano il braccio

lungo del cromosoma 11 (11q), traslocazioni bilanciate tra cromosoma 15 e 17, t(15;17), caratteristiche della leucemia acuta promielocitica, e t(8;21).

L'incidenza delle LAL è di 1-3 casi/100.000 abitanti/anno. La distribuzione in base all'età mostra due distinte fasi di incidenza: nella prima infanzia (l'80% dei pazienti con LAL ha un'età inferiore ai 15 anni) e nell'età avanzata.

Patogenesi

Il numero di soggetti esposti ai noti fattori leucemogenici è sicuramente in eccesso rispetto a quello di soggetti che sviluppano la leucemia. Lo sviluppo di LAM dopo esposizione a benzene può, per esempio, riflettere polimorfismi genetici negli enzimi che detossificano il benzene e altri tossici carcinogeni, quali la NAD(P)H chinone ossido reductasi-I o enzimi membri della famiglia della citocromo p450.

I blasti della LAM si sviluppano a partire da due tipi di danno genetico. Il primo risulta dall'attivazione costitutiva di recettori di superficie cellulare, quali RAS, o recettori di tirosin-chinasi come FLT3 e c-KIT, la quale induce una sopravvivenza cellulare e un vantaggio proliferativo con espansione clonale. Il secondo tipo di lesione, esemplificata dall'iperespressione di geni *HOX* e di geni di fusione tipo t(8;21) o *inv16*, comporta un blocco differenziativo. La LAM si sviluppa quando entrambi i tipi di lesione genetica sono presenti nella stessa cellula (*two-hit model*). Anche fattori epigenetici quali l'ipermetilazione sono descritti nella patogenesi della LAM e sono oggetto di terapie mirate a indurre, tramite l'ipometilazione, il ripristino dell'espressione di oncogeni soppressori.

Sebbene la frequenza di specifici sottotipi genetici sia differente nei bambini e negli adulti, nella patogenesi della LAL sono presenti meccanismi di induzione generali simili nelle due fasce di età. Sono presenti espressioni aberranti di proto-oncogeni, traslocazioni cromosomiche con prodotti di fusione che generano chinasi costitutivamente attive, alterazioni di fattori trascrizionali, un'iperdiploidia con un numero di cromosomi superiore a 50. Queste alterazioni genetiche contribuiscono alla trasformazione leucemica mediante l'alterazione di meccanismi fondamentali, i quali governano la proliferazione cellulare e provocano blocco della differenziazione e resistenza ai segnali che normalmente inducono apoptosi.

Classificazione

La classificazione delle leucemie acute in uso è quella promossa dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) nella seconda versione, 2008 (Tabb. 51.1 e 51.2).

La classificazione delle leucemie acute si basa sui seguenti criteri fondamentali:

- morfologici;
- immunofenotipici;
- citogenetici;
- molecolari.

Tabella 51.1 Leucemia acuta mieloide (LAM) e neoplasie mieloidi correlate

Leucemia acuta mieloide (LAM) con ricorrenti anomalie genetiche

- LAM con t(8;21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1*
- LAM con inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
- LAM promielocitica con t(15;17)(q22;q12); *PML-RARA*
- LAM con t(9;11)(p22;q23); *MLLT3-MLL*
- LAM con t(6;9)(p23;q34); *DEK-NUP214*
- LAM con inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2); *RNP1-EVI1*
- LAM megacarioblastica con t(1;22)(p13;q13); *RBM15-MKL1*
- Entità provvisoria: LAM con *NPM1* mutato
- Entità provvisoria: LAM con *CEBPA* mutato

Leucemia acuta mieloide (LAM) con displasia

Neoplasie mieloidi correlate alla terapia

Leucemia acuta mieloide (LAM) non altrimenti classificata

- LAM minimamente differenziata
- LAM senza maturazione
- LAM con maturazione
- Leucemia mielomonocitica acuta
- Leucemia monocitica/monoblastica
- Leucemia eritroide acuta
 - Leucemia eritroide pura
 - Eritroleucemia, eritroide/mieloide
- Leucemia megacarioblastica acuta
- Leucemia basofila acuta
- Panmielosi acuta con mielofibrosi

Sarcoma mieloide

Proliferazione mieloide correlata alla sindrome di Down

- Mielopoiesi anormale transitoria
- Leucemia mieloide associata a sindrome di Down

Neoplasia blastica plasmocitoida a cellule dendritiche

RUNX1 = Runt-related transcription factor 1;
RUNX1T1 = Runt-related transcription factor 1 translocated to 1;
CBFB = Core-Binding Factor, subunità β;
MYH11 = Myosin, heavy chain 11, smooth muscle;
PML-RARA = ProMyelocytic Leukemia Retinoic Acid Receptor α;
MLL = Myeloid/Lymphoid or mixed-lineage Leukemia;
MLLT3 = Myeloid/Lymphoid or mixed-lineage Leukemia Translocated to 3;
DEK = oncogene *DEK*; *NUP214* = Nucleoporin 214 kDa;
RNP1 = RNA binding region; *EVI1* = Ecotropic Viral Integration site 1;
RBM15 = RNA binding motif protein 15;
MKL1 = MegaKaryoblastic Leukemia (translocation) 1;
NPM1 = Nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23);
CEBPA = CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) α.

Tabella 51.2 Neoplasie a precursori linfoidi

leucemia acuta linfoblastica (B-LAL)/linfoma linfoblastico B (B-LBL) non altrimenti classificate

Leucemia acuta linfoblastica (B-LAL)/linfoma linfoblastico B (B-LBL) con ricorrenti anomalie genetiche

- B-LAL/LBL con t(9;22)(q34;q11.2); *BCR-ABL1*
- B-LAL/LBL con t(v;11q23); riarrangiamento *MLL*
- B-LAL/LBL con t(12;21)(p13;q22); *TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)*
- B-LAL/LBL con iperdiploidia
- B-LAL/LBL con ipodiploidia (LAL ipodiploide)
- B-LAL/LBL con t(5;14)(q31;q32); *IL3-IGH*
- B-LAL/LBL con t(1;19)(q23;p13.3); *E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)*

Leucemia acuta linfoblastica (T-LAL)/linfoma linfoblastico T (T-LBL)

BCR-ABL1 = Breakpoint Cluster Region-Abelson murine Leukemia viral oncogene homolog 1 (cromosoma Philadelphia);
MLL = Myeloid/Lymphoid or mixed-lineage Leukemia;
TEL-AML1 (ETV6-RUNX1) = *TEL* oncogene (ETS variant gene 6)-acute myeloid leukemia 1 (runt-related transcription factor 1);
IL3-IGH = Interleukin 3-ImmunoGlobulin Heavy locus;
E2A-PBX1 (TCF3-PBX1) = E2A immunoglobulin enhancer binding factors E12/E47 (Transcription factor 3)-Pre B cell leukemia homeobox 1.

L'acquisizione delle informazioni rilevanti ai fini di una classificazione richiede l'applicazione di procedure appropriate e standardizzate eseguite presso laboratori specialistici.

Classificazione morfologica

La definizione morfologica di LAM è la presenza di blasti ≥ 20% tra le cellule midollari non eritroidi dopo conta di almeno 500 cellule midollari.

La classificazione puramente morfologica più utilizzata nel passato è la FAB (French-American-British), che prende in considerazione le caratteristiche morfologiche e citochimiche delle cellule. La classificazione FAB si basa sulla visione al microscopio ottico di un campione di aspirato midollare, strisciato e colorato. La definizione citologica resa possibile da un aspirato midollare è infatti più accurata nei dettagli morfologici rispetto a quanto realizzato all'ematossilina-eosina di un preparato istologico da biopsia ossea. Tuttavia, la colorazione standard con il metodo May-Grünwald-Giemsa spesso non è sufficiente a identificare il tipo di cellula. In passato si è fatto ricorso alle colorazioni citochimiche, che evidenziano la presenza di enzimi specifici delle varie linee cellulari. Il tipo di enzima evidenziato e la sua distribuzione nel citoplasma aiutano a caratterizzare le cellule con una migliore approssimazione rispetto alla sola colorazione citologica. I sottotipi riconosciuti dalla classificazione FAB sono:

- *FAB M0, minimamente differenziata*, con mieloperossidasi (MPO) negativa in citochimica e positività > 20% di antigeni mieloidi al citofluorimetro (CD13, CD33, mieloperossidasi intracitoplasmatica);
- *FAB M1, senza maturazione*, con popolazione leucemica non eritroide > 90% caratterizzata da blasti MPO+;

- *FAB M2, con maturazione*, quando il 20-89% delle cellule non eritroidi è costituito da blasti MPO+, cellule monocitoidi < 20% e cellule in maturazione mieloide > 10%;
- *FAB M3, promielocitica*, con promielociti patologici > 20% delle cellule non eritroidi;
- *FAB M4, mielomonocitica*, quando il 20-80% è costituito da blasti di derivazione monocitaria a vari stadi di maturazione;
- *FAB M4eo, mielomonocitica con eosinofilia*, con eosinofili > 5% con vari gradi di atipie;
- *FAB M5a/b, monoblastica*, con blasti di linea monocitaria > 80%;
- *FAB M6, eritroleucemia*, con eritroblasti > 50%;
- *FAB M7, megacarioblastica*, con blasti di linea megacarioblastica.

La classificazione FAB non è incorporata nella classificazione OMS, ma è riconosciuta tuttora come di riferimento per gli aspetti morfologici integrati nella OMS.

Classificazione immunofenotipica

La citofluorimetria a flusso su sangue intero e l'immunocitochimica su preparati istologici di biopsia ossea impiegano anticorpi monoclonali contro antigeni o recettori di superficie e citoplasmatici, consentendo la determinazione del tipo cellulare (linea e stadio maturativo). La classificazione immunofenotipica in uso in Europa è la EGIL (European Group for the Immunological characterization of Leukemias), che stabilisce criteri minimi di antigeni espressi dalle cellule leucemiche per la definizione di leucemia acuta mieloide, linfoide e bifenotipica. La lista di questi antigeni rappresenta il "pannello minimo" appropriato per la diagnosi immunofenotipica da parte di un laboratorio specialistico di citofluorimetria.

Gli antigeni espressi dalle cellule leucemiche non sempre rispecchiano la controparte normale; si può avere la coespressione anomala di antigeni mieloidi (per esempio, CD33) su blasti linfoidi o di antigeni di linea linfoide (per esempio, CD7, CD2, CD4, CD56) su blasti mieloidi, la coespressione asincrona di antigeni precoci (CD34, CD117) con antigeni di fase maturativa (per esempio, CD14) e infine l'iperespressione di antigeni (per esempio, CD34, CD33). Il riconoscimento di tali espressioni aberranti (LAIP, Leukemia-associated Aberrant Immunophenotype) alla diagnosi consente l'identificazione citofluorimetrica dei blasti leucemici nella fase di follow-up in corso di trattamento, contribuendo alla definizione di stato di remissione completa con un livello di sensibilità utile a una valutazione di malattia minima residua. Gli antigeni immaturi HLA-DR, CD34 e TdT (l'enzima desossiribonucleotidil-transferasi terminale) non sono linea-specifici, in quanto espressi anche da blasti sia mieloidi sia linfoidi; pertanto, nelle forme immature di leucemia, è la coespressione tra CD34 e un marcatore di linea (per esempio, CD19 nel caso di cellule B e CD33 nel caso di cellule mieloidi) che consente una classificazione di linea. Lo stato maturativo successivo lungo la linea B-linfocitaria, stato pre-pre-B, è caratterizzato dall'espressione di CD10, CD19, CD22 citoplasmatico (cCD22) e dal riarrangiamento dei geni delle catene pesanti delle immunoglobuline. Il CD10, o CALLA (Common Acute Lymphoid Leukaemia Antigen), è espresso nel 90% delle B-LAL, nel 20% delle T-LAL (dove

ha un valore prognostico negativo), nel 5% delle LAM e nel 40% dei linfomi linfoblastici, oltre che in numerosi tessuti non emopoietici. I precursori T, protimociti (e relative leucemie), esprimono TdT, cCD3 e CD7.

Per quanto riguarda i marcatori mieloidi, il grado di maturazione è in genere segnalato dalla perdita degli Ag di immaturità, come il CD34 o l'HLA-DR, più che dall'espressione di Ag particolari. L'orientamento emopoietico viene definito solo in base ad Ag linea-specifici, come gli Ag eritrocitari e megacariocitari per la diagnosi di M6 (eritroleucemia) e M7 (leucemia megacariocitica).

I marcatori non specifici sono presenti nelle forme molto immature sia linfoidi sia mieloidi. Il CD34, un marcatore dei progenitori staminali linfoidi e mieloidi, è espresso in più del 50% delle LAM, soprattutto quelle più indifferenziate, e nel 75% delle B-LAL. L'Ag tissutale DR, normalmente espresso su linfociti B, monociti e linfociti T attivati, è positivo in quasi tutte le forme di LAM, eccetto quelle più mature (M3, talvolta M2 con un alto grado di maturazione) e nella T-LAL.

Infine, nel 10-20% dei casi di LAL vengono descritti marcatori di linee cellulari mieloidi, principalmente CD13 e CD33, che hanno un valore prognostico negativo. Gran parte dei blasti leucemici mieloidi esprime il CD4 e in una percentuale variabile tra il 5 e il 40% si ha la coespressione di marcatori linfoidi (CD19, CD7, CD2, TdT). Quando Ag aberranti sono espressi sulla stessa cellula si parla di leucemie bifenotipiche; sono definite leucemie miste quelle con cloni cellulari misti (B + T, mieloide+linfoide). Nelle forme indifferenziate è impossibile determinare l'orientamento cellulare in base sia alla classificazione morfologica sia a quella immunofenotipica. In questi casi possono essere di ausilio la citogenetica e lo studio del riarrangiamento dei geni delle Ig e del TCR.

Tuttavia, è stato descritto anche un certo numero di riarrangiamenti aberranti. Attualmente le forme inclassificabili sono tra l'1 e il 5%.

Criteri citogenetici

Con tecniche appropriate, in più del 90% delle leucemie acute sono documentabili anomalie clonali del cariotipo rappresentate da alterazioni strutturali (traslocazioni, delezioni, inversioni), alterazioni numeriche in eccesso o in difetto (trisomie, monosomie) e da aneuploidia (aploidia, iperdiploidia). L'importanza di queste alterazioni è innanzitutto nosologica; alcuni tipi di leucemia acuta sono legati a cariotipi particolari, linfoide o mieloide (Tabb. 51.3 e 51.4). Il valore clinico dell'analisi citogenetica risiede nell'individuazione di sottotipi di leucemia a differente prognosi (Tab. 51.5; si veda Tab. 51.4). L'indagine citogenetica è utile inoltre per la valutazione della malattia minima residua e per lo studio del chimerismo cellulare nei trapianti allogenici.

Criteri molecolari

La crescente comprensione dei meccanismi molecolari di leucemogenesi ha introdotto criteri classificativi molecolari, con la definizione di precise entità genotipiche. Le alterazioni più frequenti sono state pertanto incluse nella classificazione OMS come entità distinte (si vedano Tabb. 51.1 e 51.2). Studi su ampie casistiche con profili di espressione genica hanno permesso di correlare l'espressione di migliaia di geni con dati fenotipici e clinici di risposta alla

Tabella 51.3 Alterazioni cromosomiche comuni nella LAM

	Geni	Morfologia associata	Incidenza¹ (%)
Traslocazioni/inversioni			
t(8;21)(q22;q22)	<i>RUNX1; RUNX1T1</i>	M2 con corpi di Auer	6
inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22)	<i>CBFB; MYH11</i>	M4Eo	7
t(15;17)(q22;q12)	<i>PML-RARA</i>	M3/M3V	7
t(9;11)(p22;q23)	<i>MLL; AF9</i>	M5	2
t(6;11)(q27;q23)	<i>MLL; AF6</i>	M4 e M5	~1
inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2)	<i>EV11; RPN1</i>	M1, M4; M6, M7?	~1
t(6;9)(p23;q34)	<i>DEK; NUP214</i>	M2, M4	~1
Sbilanciamenti cromosomici			
+8	–	M2, M4 e M5	9
–7/7q–	–	Nessuna preferenza FAB	7
–5/5q–	–	Nessuna preferenza FAB	7
–17/17p–	<i>TP53</i>	Nessuna preferenza FAB	5
–20/20q–	–	Nessuna preferenza FAB	3
9q–	–	Nessuna preferenza FAB	3
+22	–	M4, M4Eo	3
+21	–	Nessuna preferenza FAB	2
+13	–	M0, M1	2
+11	<i>MLL1</i> ²	M1, M2	2
Cariotipo complesso ³			10
Cariotipo normale			44

RUNX1 = Runt-related transcription factor 1;
RUNX1T1 = Runt-related transcription factor 1 translocated to 1;
CBFB = Core-Binding Factor, subunità β;
MYH11 = Myosin, heavy chain 11, smooth muscle;
PML-RARA = ProMyelocytic Leukemia Retinoic Acid Receptor α;
MLL = Myeloid/Lymphoid or mixed-lineage Leukemia;
AF9 (MLL3) = Myeloid/Lymphoid or mixed-lineage Leukemia Translocated to 3;
AF6 (MLL4) = Myeloid/Lymphoid or mixed-lineage Leukemia Translocated to 4;
EV11 = Ecotropic Viral Integration site 1;
RPN1 = RNA binding region;
DEK = *DEK* oncogene;
NUP214 = Nucleoporin 214 kDa;
TP53 = Tumor Protein 53.

¹Determinata tra 1311 pazienti con LAM *de novo* arruolati nello studio 8461 della Cancer and Leukemia Group B.

²Duplicazione parziale in tandem di *MLL1*.

³Tre o più aberrazioni cromosomiche in assenza di t(8;21), inv(16)/t(16;16), t(15;17) o t(9;11).

terapia, consentendo l'identificazione di specifiche *signature* con valore prognostico. La distribuzione di specifiche entità genetiche varia con l'età nella LAL (Fig. 51.1); in particolare nell'adulto sono più frequenti le alterazioni associate a cattiva prognosi (BCR-ABL, riarrangiamenti MLL). La caratterizzazione molecolare di LAM a cariotipo normale consente l'identificazione di genotipi a migliore prognosi (Fig. 51.2). Il valore prognostico di alcune entità genetiche nella LAM e nella LAL ha assunto un rilievo primario nella pianificazione terapeutica. Le metodiche molecolari di diagnosi consentono inoltre il monitoraggio di minime quantità di cellule leucemiche residue midollari in corso di trattamento; lo studio della malattia minima residua (MRD, Minimal Residual Disease) rappresenta lo strumento più affidabile di monitoraggio della risposta terapeutica e permette la modulazione dell'intensità del trattamento in ragione dello stato di malattia nel singolo paziente (terapia *patient-adapted*).

L'identificazione di target molecolari è infine alla base dello sviluppo di terapie molecolari mirate (*targeted therapy*); per leucemie con mutazioni di *BCR-ABL*, *c-kyt*, *FLT3*, *PML-RARA* sono disponibili farmaci specifici che interferiscono con il meccanismo molecolare alla base della trasformazione leucemica.

Fisiopatologia e manifestazioni cliniche

Il quadro clinico della leucemia acuta è caratterizzato dall'insufficienza midollare secondaria all'infiltrazione leucemica e all'arresto maturativo, dalla tendenza alla diffusione in organi o sistemi e da sintomi generali caratteristici di tutte le neoplasie.

L'*insufficienza midollare* è causa di anemia, neutropenia e piastrinopenia con sintomi e segni clinici corrispondenti, in particolare astenia, pallore, infezioni, emorragie

Tabella 51.4 Alterazioni cromosomiche comuni nella LAL e loro valore prognostico

	Geni	Prognosi
Traslocazioni/inversioni		
t(9;22)	<i>BCR-ABL</i>	Altissimo rischio
t(4;11)	<i>AF4-MLL</i>	Altissimo rischio
t(1;19)	<i>E2A-PBX</i>	Buona prognosi
t(12;21)	<i>TEL-AML1</i>	Buona prognosi
t(8;14)	<i>MLL</i>	Altissimo rischio
Sbilanciamenti cromosomici		
+8		Altissimo rischio
-7		Altissimo rischio
del6q		
Iperploidia (> 50 cromosomi)		Buona prognosi
Ipodiploidia con 30-39 cromosomi		Altissimo rischio
Triploidia con 60-78 cromosomi		Altissimo rischio
Cariotipo complesso con > 5 anomalie scorrelate		Altissimo rischio

BCR-ABL1 = Breakpoint Cluster Region-Abelson murine Leukemia viral oncogene homolog 1 (cromosoma Philadelphia);
AF4 = ALL1 fused gene from chromosome 4;
MLL = Myeloid/Lymphoid or mixed-lineage Leukemia;
E2A-PBX = E2A immunoglobulin enhancer binding factors E12/E47-Pre B cell leukemia homeobox;
TEL-AML1 = *TEL* oncogene-Acute Myeloid Leukemia 1.

Tabella 51.5 Gruppi di rischio citogenetico nella LAM

	Caratteristiche del cariotipo
Favorevole	
Confermato	t(8;21); inv(16)/t(16;16); t(15;17)
Intermedio	
Confermato	Nessuna (cariotipo normale); -Y
Probabile	del(7q) ¹ ; del(9q) ¹ ; t(9;11) ² ; del(11q) ² ; +8 isolato ³ ; +11; +13; +21; del(20q) ⁴
Sfavorevole	
Confermato	Cariotipo complesso; inv(3)/t(3;3); -7
Probabile	t(6;9) ⁵ ; t(6;11) ⁶ ; t(11;19)(q23;p13.3) ⁶ ; -5; del(5q) ⁷

¹Classificata come sfavorevole SWOG/ECOG.
²Potrebbe essere inclusa nella categoria "anomalie 11q" e classificata come sfavorevole secondo SWOG/ECOG.
³Classificata come sfavorevole in base alla sopravvivenza secondo CALGB.
⁴Potrebbe essere inclusa nella categoria "anomalie 20q" e classificata come secondo SWOG/ECOG.
⁵Classificata come intermedia poiché è considerata come "altra anomalia strutturale" secondo MRC66, e come intermedia anche da CALGB (ma soltanto rispetto alla probabilità di avere come risultato la remissione completa).
⁶Dovrebbe essere inclusa nella categoria "anomalie 11p23" e classificata come intermedia da MRC66 e CALGB (ma soltanto rispetto alla probabilità di avere come risultato la remissione completa).
⁷Classificata come intermedia rispetto alla probabilità di avere come risultato la remissione completa e la sopravvivenza secondo CALGB, se non è parte di un cariotipo complesso.

cutanee e mucose (emorragie congiuntivali, epistassi, gengivorragia, ematuria, melena).

L'*infiltrazione d'organo* è prevalente nella LAL e nella LAM con componente monocitaria. Le manifestazioni più comuni sono l'epatosplenomegalia e le linfadenopatie, l'infiltrazione meningeale e testicolare. Si possono avere quindi quadri di insufficienza respiratoria, segni neurologici sia centrali sia periferici, tra cui frequente è la paralisi del VII nervo cranico. La LAM può presentarsi con segni di infiltrazione cutanea e mucosa; caratteristica è l'ipertrofia gengivale nella M4 (mielomonocitica) e cutanea nella M5 (monocitica). Il calo del visus può manifestarsi per infiltrazione diretta leucemica della retina, per emorragie retiniche o per leucostasi.

Le *complicanze metaboliche, coagulative e microcircolatorie* sono comuni. Sono presenti i sintomi da ipercatabolismo come febbre, astenia, anoressia, perdita di peso, sudorazioni, dolori ossei da espansione midollare. Una diatesi emorragica è molto comune ed è dovuta sia alla piastrinopenia sia a una coagulopatia da consumo (CID, coagulazione intravascolare disseminata) determinata dal rilascio di fattori protrombotici da parte dei blasti leucemici. La CID è particolarmente costante e grave nella forma promielocitica di LAM (M3), data la grande quanti-

tà di granuli (ricchi di fattori protrombotici) presenti nel citoplasma dei promielociti leucemici. L'iperuricemia è costante; l'insufficienza renale è possibile per il concorso di eventi microemorragici, acidosi metabolica e iperuricemia. Nei casi di iperleucocitosi (blastosi > 100.000/μL), sono frequenti sintomi riferibili a un rallentamento del microcircolo, quali calo del visus, cefalea, rallentamento psicomotorio, disturbi uditivi.

Esami di laboratorio

Gli esami ematochimici rivelano la presenza di anemia e piastrinopenia, salvo nei casi di diagnosi particolarmente precoce. Vi è in genere leucocitosi, ma non è rara la presentazione con leucopenia; in tali casi si può avere un quadro "aleucemico", con rari blasti in circolo. Lo striscio di sangue periferico mette in evidenza un numero variabile di blasti e scarsi granulociti neutrofili maturi (iato leucemico). Vi possono essere segni di diseritropoiesi con alterazioni morfologiche dei globuli rossi ed eritroblasti circolanti. L'aspirato midollare mostra una quota di blasti midollari ≥ 20% della quota non eritroide; la serie granulopoietica normale residua, quella eritroide e quella megacariocitaria sono generalmente ridotte e di-

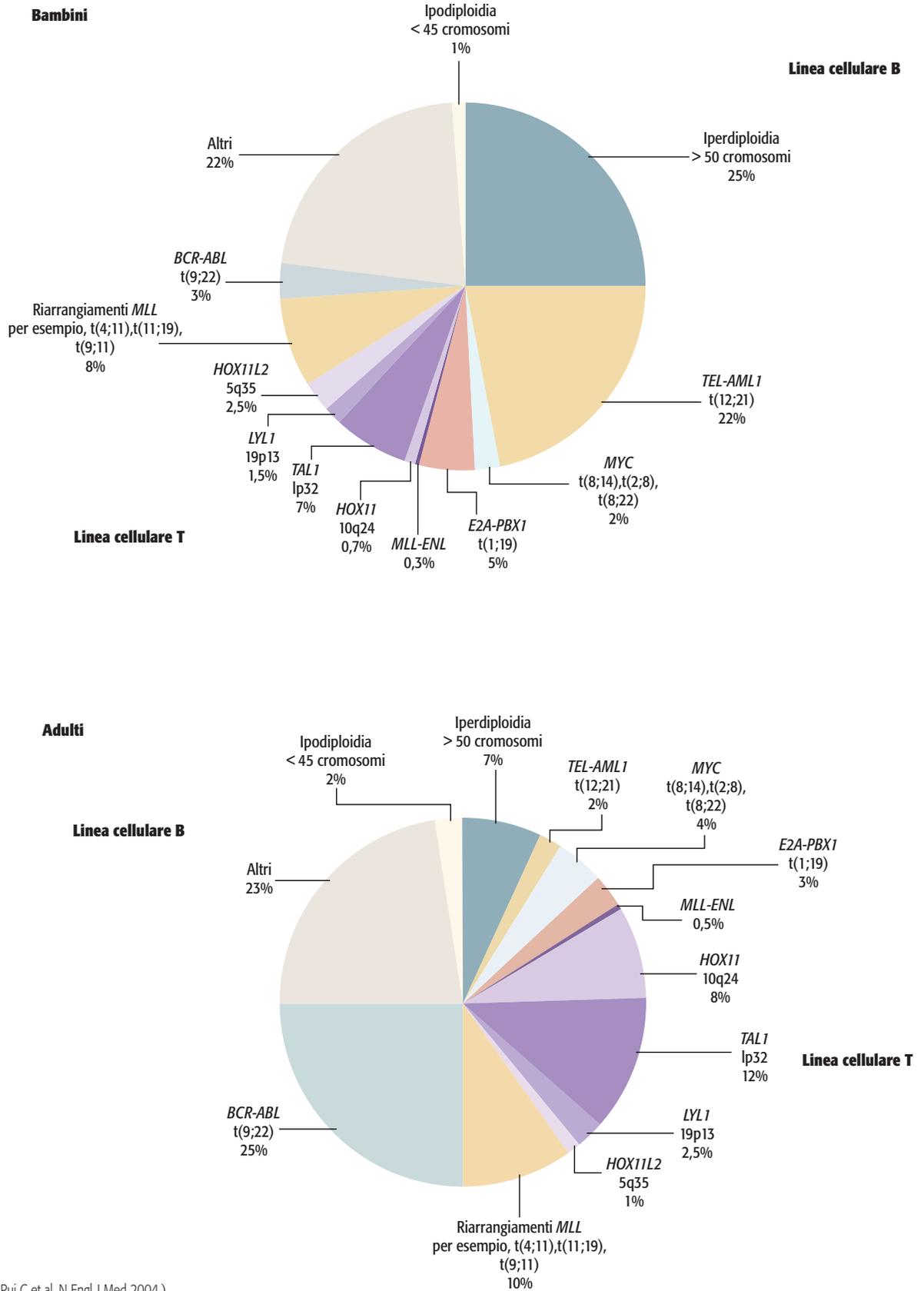
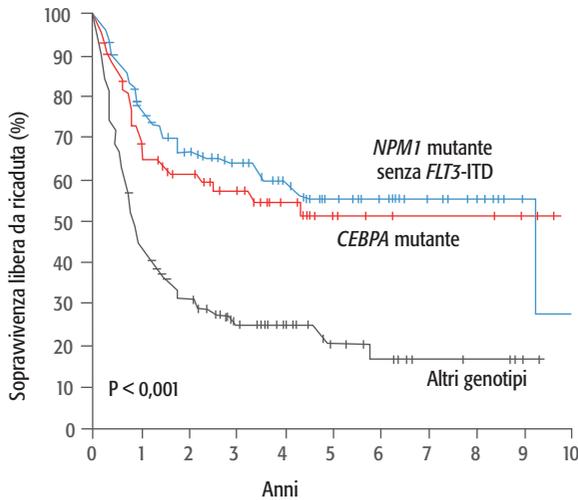


Figura 51.1
 Frequenza di specifiche entità genetiche nella LAL del bambino e dell'adulto.

(Da: Pui C et al. N Engl J Med 2004.)

smielopoietiche. Le colorazioni citochimiche e le indagini immunofenotipiche permettono una caratterizzazione dei blasti leucemici. In caso di CID si avranno le alterazioni caratteristiche (diminuzione del fibrinogeno, aumento dei prodotti di degradazione del fibrinogeno, prolungamento

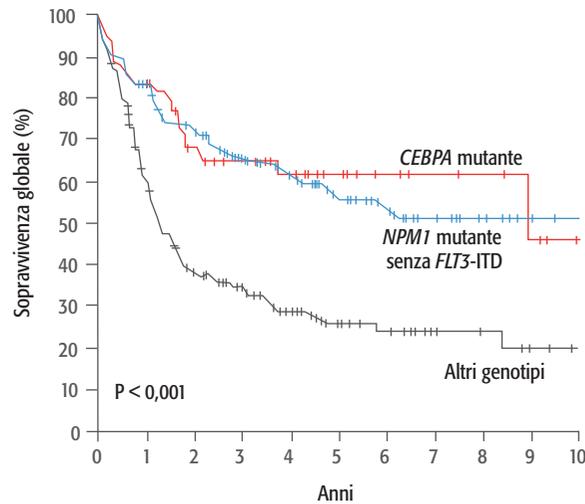
del PT e del PTT, schistocitosi). Un aumento delle LDH è costante. L'esame del liquor, che deve essere eseguito in tutti i casi di LAL o nei pazienti con segni e sintomi neurologici, potrà rivelare la presenza di blasti agli esami morfologico e immunofenotipico.



N. a rischio

Altri genotipi	212	90	60	38	27	14	9	5	4	2	0
<i>NPM1</i> mutante senza <i>FLT3-ITD</i>	136	102	83	64	50	34	24	13	8	3	1
<i>CEBPA</i> mutante	62	40	32	26	17	11	6	4	4	3	0

(Da: Schlenk R et al. N Engl J Med 2008;358:1909-18.)



N. a rischio

Altri genotipi	266	153	90	68	39	22	15	9	7	4	0
<i>NPM1</i> mutante senza <i>FLT3-ITD</i>	150	123	101	75	56	38	25	14	10	4	2
<i>CEBPA</i> mutante	67	54	39	30	19	13	8	6	5	3	0

Figura 51.2

Identificazione di genotipi a migliore prognosi nella LAM a cariotipo normale.

Terapia



Una definizione diagnostica precisa in accordo ai criteri classificativi FAB, OMS ed EGIL è essenziale per una corretta impostazione terapeutica. Nel sospetto clinico di leucemia acuta, il paziente deve pertanto essere riferito a un centro clinico coadiuvato da un laboratorio specialistico, in cui siano disponibili gli esami morfologico, immunofenotipico, citogenetico e molecolare secondo gli standard opportuni.

Attualmente oltre il 95% dei pazienti con LAL in età pediatrica ottiene una remissione completa e più dell'85% è vivo e senza segni di malattia a 5 anni dalla diagnosi, mentre la sopravvivenza globale negli adulti è nettamente inferiore. La maggior parte degli studi dimostra che il 60-70% dei pazienti con LAM di età < 60 anni va in remissione completa dopo appropriata terapia, ma che il 40-70% di questi recidiva nei primi 18-24 mesi.

La terapia a scopo curativo della leucemia acuta si divide in più fasi:

- la *fase di induzione* ha lo scopo di indurre la remissione completa midollare, definita come una quota di blasti midollari < 5%, neutrofili $\geq 1,5 \times 10^9/L$ e piastrine $\geq 100 \times 10^9/L$. I farmaci più utilizzati nella LAL sono il prednisone, la vincristina, l'asparaginasi e le antracicline; nella LAM la citarabina e un'antraciclina. A questi farmaci si possono aggiungere le terapie mirate; per esempio, in caso di presenza di *BCR-ABL* gli inibitori delle tirosin-chinasi (imatinib, dasatinib ecc). Nella fase di induzione vengono corrette le complicanze metaboliche, coagulative e infettive, che tuttavia rendono conto a tutt'oggi di una significativa mortalità precoce (10% circa in LAM e LAL);

- la *fase di consolidamento postremissionale* è indispensabile per prolungare il periodo di remissione completa e prevede almeno due cicli di polichemioterapia con uno o più farmaci non utilizzati nella prima fase o gli stessi farmaci a dosi più alte: citarabina a dosi medio-alte, ciclofosfamide, etoposide, antracicline. Tutti i casi di LAL ricevono chemioterapia intrarachide e radioterapia sull'encefalo per la terapia o la profilassi delle localizzazioni meningei;
- una *fase di mantenimento* nelle LAL che non vengono sottoposte a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche (CSE), della durata di 18-24 mesi, che prevede cicli mensili di reinduzione (vincristina, citarabina), somministrazione giornaliera di analoghi delle purine (6-mercaptopurina) e settimanali di methotrexate.

Il *trapianto allogenico di CSE* è indicato nelle forme di leucemia a prognosi sfavorevole. L'identificazione di entità genetiche e cliniche con scarsa probabilità di guarigione con la sola chemioterapia è pertanto di particolare rilievo per la definizione del percorso terapeutico di un paziente con leucemia acuta. Alla definizione di "alto rischio" o di "prognosi sfavorevole" concorrono elementi pertinenti a tutti i criteri classificativi descritti, cui si aggiungono criteri clinici quali l'iperleucocitosi, la presenza di infiltrazione d'organo, la mancata risposta alla terapia di induzione. L'utilizzo dello studio della malattia minima residua (MRD, Minimal Residual Disease) in corso di trattamento permette una valutazione accurata della reale chemiosensibilità della leucemia nel singolo paziente. La persistenza di MRD nel corso della fase di consolidamento identifica una malattia difficilmente eradicabile con la sola chemioterapia

e pone pertanto un'indicazione all'immunoterapia adottiva del trapianto allogenico di CSE.

Nella *leucemia promielocitica* la prognosi è molto buona (sopravvivenza globale > 80%) con l'uso dell'acido tutto-transretinoico (ATRA, All-Trans-Retinoic Acid), che, grazie alle sue proprietà differenzianti sui promielociti leucemici, ha ridotto significativamente le

complicanze precoci in corso di induzione correlate alla coagulopatia. L'ATRA viene utilizzato in associazione alla chemioterapia allo scopo di prevenire, in corso di differenziazione e maturazione massiva dei blasti promielocitici in cellule mature, un'iperleucocitosi con infiltrati polmonari e pseudo-tumor cerebrali (sindrome da ATRA).

Sindromi mielodisplastiche

Definizione

Le sindromi mielodisplastiche (SMD) sono un gruppo eterogeneo di malattie neoplastiche che derivano da alterazioni clonali acquisite della cellula staminale midollare ematopoietica. Esse sono caratterizzate da emopoiesi inefficace con conseguente presenza di una o più citopenie nel sangue periferico, atipie morfologiche e funzionali di una o più linee cellulari mieloidi, rischio variabile di trasformazione in leucemia acuta.

Le prime segnalazioni di pazienti con caratteristiche compatibili con SMD risalgono alla prima metà del secolo scorso; negli anni Cinquanta e Sessanta furono poi descritti casi di leucemia acuta preceduti da anemia macrocrocica accompagnata o meno da leuco-piastrinopenia, con segni e sintomi determinati dall'anemia stessa, da infezioni ricorrenti e da sanguinamenti spontanei; per queste forme, che presentavano criteri diagnostici riconducibili alle SMD, venne introdotta la definizione di "preleucemia". Negli anni Settanta ci si rese conto che in realtà la maggior parte dei casi così descritti non andava incontro a evoluzione leucemica, ma più frequentemente a eventi fatali secondari alla citopenia multilineare, quali prevalentemente infezioni ed emorragie. La definizione di "preleucemia" cadde allora in disuso e fu sostituita dal termine "mielodisplasia" o "sindrome mielodisplastica", mettendo così in risalto le caratteristiche alterazioni morfologiche midollari, che sono alla base delle moderne classificazioni delle SMD (FAB, OMS).

Epidemiologia

Le SMD prevalgono nell'anziano, ma possono interessare pazienti di ogni età, anche pediatrica. L'incidenza è di circa 3-5 casi/100.000 soggetti/anno e aumenta progressivamente con l'età; l'incidenza nella popolazione con più di 60-70 anni è infatti pari a circa 15-50 casi/100.000 soggetti/anno. In effetti l'età mediana alla diagnosi è di circa 70 anni e solo il 10% dei casi viene diagnosticato prima dei 60 anni. Esiste inoltre una prevalenza nel sesso maschile, con un rapporto M:F di 1,5:2,1. Occorre comunque ricordare che le diagnosi di SMD potrebbero essere sottostimate, in quanto i pazienti anziani con anemia e/o modesta citopenia bi-trilineare spesso non vengono sottoposti a indagini approfondite, anche perché considerati soggetti potenzialmente non idonei a ricevere trattamenti farmacologici. Dal punto di vista epidemiologico è possibile distinguere due tipi principali di SMD, le *SMD de novo* e le *SMD secondarie*; queste ultime dipendono da esposizione precedente

del paziente a radio-chemioterapia per il trattamento di altri tumori. Tale distinzione è stata messa in risalto dall'ultima classificazione OMS (2008).

Classificazione

Nel corso degli ultimi tre decenni gruppi di esperti hanno stabilito vari criteri diagnostici per le SMD, sulla base dei quali sono state redatte e universalmente approvate le due classificazioni attualmente in uso, la classificazione FAB (French-American-British) e la classificazione OMS.

- **Classificazione FAB:** completata nel 1982 è una classificazione morfologica e si basa sulla quota di blasti nell'aspirato midollare e nel sangue periferico (Tab. 51.6). Vengono riconosciute cinque categorie di SMD, sempre con blasti inferiori al 30% della cellularità non eritroide; secondo la FAB, se la percentuale di blasti è $\geq 30\%$ la diagnosi è di leucemia mieloide acuta (LAM). Sebbene potenzialmente imprecisa, in quanto basata sulla valutazione soggettiva al microscopio ottico, quindi con le variabili legate alla preparazione del vetrino e alla capacità ed esperienza dell'operatore, questa classificazione ha permesso per la prima volta di raggruppare le SMD, estremamente eterogenee, in categorie contenenti forme con prognosi simile; è insito inoltre nella classificazione FAB il concetto di progressione della malattia da una categoria con percentuale di blasti inferiore a una superiore, fino alla possibile trasformazione in LAM.
- **Classificazione OMS:** è la naturale evoluzione della precedente, in quanto aggiunge criteri diagnostici e prognostici che derivano dall'esperienza clinica e dall'analisi statistica delle casistiche raccolte negli ultimi due decenni. Si basa sia sulla valutazione morfologica midollare e del sangue periferico, sia sull'analisi citogenetica (Tab. 51.7) Una novità importante della classificazione OMS è la riduzione al 20% della soglia di blasti midollari o nel sangue periferico per definire la trasformazione leucemica; vengono poi separate le forme con displasia di una singola linea cellulare mieloide da quelle con coinvolgimento di più linee e viene riconosciuta un'entità genetica a sé stante caratterizzata da una specifica alterazione cromosomica, la sindrome mielodisplastica con delezione 5q isolata, con implicazioni prognostiche e terapeutiche ben distinte dalle altre SMD. Infine, in questa classificazione non trova posto la leucemia

Tabella 51.6 Classificazione FAB delle SMD

Categoria FAB	Caratteristiche SP	Caratteristiche MO
Anemia refrattaria (AR)	Anemia Blasti < 1% Monociti < $1 \times 10^9/L$	Blasti < 5% Sideroblasti ad anello < 15%
Anemia refrattaria con sideroblasti ad anello (ARSA)	Anemia Blasti < 1% Monociti < $1 \times 10^9/L$	Blasti < 5% Sideroblasti ad anello $\geq 15\%$
Anemia refrattaria con eccesso di blasti (AREB)	Citopenia bi-trilineare Blasti < 5% Monociti < $1 \times 10^9/L$	Blasti 5-19%
Anemia refrattaria con eccesso di blasti in trasformazione (AREB-T)	Citopenia bi-trilineare Blasti > 5% Monociti < $1 \times 10^9/L$	Blasti 20-29% Corpi di Auer \pm
Leucemia mielomonocitica cronica (LMMC)	Citopenia bi-trilineare Blasti < 5% Monociti $\geq 1 \times 10^9/L$	Blasti < 30%

SP=sangue periferico; MO=midollo osseo.

mielomonocitica cronica (LMMC), inserita più correttamente nel gruppo delle “sindromi mieloproliferative-mielodisplastiche”, proprio per le sue caratteristiche intermedie tra i due tipi di disordine.

In entrambe le classificazioni convenzionalmente l'anemia è definita per valori di Hb < 10g/dL, la neutropenia per valori di N assoluti < 1800/ μ L, la piastrinopenia per valori di Plt assolute < 100.000/ μ L. Valori superiori non escludono la diagnosi di SMD quando sono presenti altre caratteristiche morfologiche e/o citogenetiche tipiche.

Eziologia e patogenesi

Si distinguono forme *de novo*, a eziopatogenesi prevalentemente sconosciuta, verosimilmente idiopatica, e forme *secondarie*, associate a precedente esposizione a specifici fattori leucemogeni (chemioterapici, radiazioni). È possibile che la patogenesi di una parte delle forme *de novo* sia correlata all'esposizione a fattori ambientali e/o professionali; tra questi fattori si ricordano gli idrocarburi aromatici policiclici (per esempio, il benzene), i metalli pesanti, le vernici, alcune sostanze chimiche di origine organica, pesticidi e fumo di sigaretta. Negli ultimi anni è emersa una crescente incidenza di SMD *secondarie* in pazienti sottoposti in precedenza a radioterapia, a chemioterapia con agenti alchilanti o con inibitori delle topoisomerasi, a terapie immunosoppressive utilizzate nel trattamento di patologie autoimmuni e soprattutto a trattamenti con chemioterapia ad alte dosi, di utilizzo comune per il trattamento dei linfomi e del mieloma multiplo; queste forme sono altrimenti definite come SMD “correlate a terapia” (*therapy-related*). Con meccanismi diversi gli agenti chemioterapici e le radiazioni ionizzanti inducono a morte le cellule tumorali per interazioni dirette con il DNA, ma con lo stesso meccanismo possono anche determinare nella cellula

staminale ematopoietica, particolarmente suscettibile per il suo elevato turnover, mutazioni silenziose e trasmissibili alla progenie.

In alcuni pazienti vi può essere una predisposizione genetica allo sviluppo delle SMD; è stato documentato un aumentato rischio in individui portatori di anomalie del gene della glutatione-transferasi, con conseguente ridotta capacità di detossificazione nei confronti di sostanze cancerogene, in pazienti affetti da anemia di Fanconi, da discheratosi congenita, da sindrome di Schwachman-Diamond o di Blackfan-Diamond.

Fisiopatologia

Le SMD sono caratterizzate da un equilibrio instabile tra proliferazione cellulare e apoptosi. Nelle fasi iniziali della malattia prevale generalmente l'attività apoptotica, responsabile della citopenia periferica, mentre l'attività proliferativa prende il sopravvento quando la SMD progredisce verso la trasformazione leucemica.

Nella cellula staminale emopoietica si verifica un accumulo progressivo di mutazioni e alterazioni del patrimonio genetico che causa un difetto maturativo intrinseco della cellula staminale stessa e, di conseguenza, provoca la caratteristica iniziale prevalente delle SMD, ovvero l'emoipoiesi inefficace. È stato inoltre dimostrato che alcune forme di SMD possono essere determinate da fenomeni estrinseci mielotossici su base autoimmunitaria, mediati da linfociti T o da alterato equilibrio delle citochine del microambiente midollare.

Non è in realtà ancora chiaro se SMD e LAM siano patologie distinte o fasi di uno stesso disordine; sicuramente le SMD sono forme preleucemiche, in quanto caratterizzate anche nelle fasi iniziali da un'alterazione clonale e quindi neoplastica, anche se l'evoluzione in LAM è l'evento terminale in meno della metà dei casi (circa il 40% di tutte le SMD). Da notare che le LAM evolute da SMD hanno prognosi più sfavorevole rispetto alle LAM

Tabella 51.7 Classificazione OMS 2008 delle SMD

Categoria OMS	Caratteristiche SP	Caratteristiche MO
Citopenia refrattaria con displasia unilineare (CRDU) • Anemia refrattaria (AR) • Neutropenia refrattaria (NR) • Trombocitopenia refrattaria (TR)	Blasti < 1% Monociti < $1 \times 10^9/L$ • Anemia • Neutropenia • Piastrinopenia	Displasia eritroide isolata Granulociti/megacariociti displastici < 10% Blasti < 5% Sideroblasti ad anello < 15%
Anemia refrattaria con sideroblasti ad anello (ARSA)	Anemia Blasti < 1% Monociti < $1 \times 10^9/L$	Displasia eritroide isolata Granulociti/megacariociti displastici < 10% Blasti < 5% Sideroblasti ad anello $\geq 15\%$
Citopenia refrattaria con displasia multilineare (CRDM)	Citopenia bi-trilineare Blasti < 1% Assenza di corpi di Auer Monociti < $1 \times 10^9/L$	Displasia in $\geq 10\%$ delle cellule di 2-3 linee cellulari mieloidi Blasti < 5% Assenza di corpi di Auer Sideroblasti ad anello $\geq 15\%$
Citopenia refrattaria con displasia multilineare e sideroblasti ad anello (CRDM-SA)	Citopenia bi-trilineare Blasti < 1% Assenza di corpi di Auer Monociti < $1 \times 10^9/L$	Displasia in $\geq 10\%$ delle cellule di 2-3 linee cellulari mieloidi Blasti < 5% Assenza di corpi di Auer Sideroblasti ad anello < 15%
Anemia refrattaria con eccesso di blasti – 1 (AREB-1)	Citopenia bi-trilineare Blasti < 5% Assenza di corpi di Auer Monociti < $1 \times 10^9/L$	Displasia mono-bi-trilineare Blasti 5-9% Assenza di corpi di Auer
Anemia refrattaria con eccesso di blasti – 2 (AREB-2)	Citopenia bi-trilineare Blasti 5-19% Corpi di Auer \pm Monociti < $1 \times 10^9/L$	Displasia mono-bi-trilineare Blasti 10-19% Corpi di Auer \pm
Sindrome mielodisplastica non classificabile	Citopenia bi-trilineare Blasti < 1% Assenza di corpi di Auer	Displasia granulocitaria o megacariocitaria isolata Blasti < 5% Assenza di corpi di Auer
Sindrome mielodisplastica con delezione 5q isolata	Anemia Blasti < 5% Piastrine normali o incrementate	Megacariociti normali o incrementati, con nuclei ipolobulati Blasti < 5% Assenza di corpi di Auer Delezione 5q isolata

SP=sangue periferico, MO=midollo osseo.

de novo, in quanto presentano più frequentemente una resistenza intrinseca ai chemioterapici e una maggiore incidenza di recidive dopo iniziale risposta al trattamento. Anche in assenza di evoluzione leucemica, la maggior parte delle SMD ha evoluzione fatale per il paziente a causa principalmente dei frequenti e ripetuti eventi infettivi, dovuti alla neutropenia assoluta; meno comuni sono gli eventi emorragici maggiori, dovuti alla piastrinopenia.

Diagnosi

La diagnosi di SMD si basa sulla valutazione completa del midollo osseo. Le linee guida internazionali, redatte dall'International Consensus Working Group, stabiliscono i criteri

diagnostici minimi per porre diagnosi di SMD, facendo riferimento alla più recente classificazione OMS (2008):

- presenza di citopenia stabile da almeno 6 mesi, da solo 2 mesi se presenti anche alterazioni citogenetiche tipiche e/o displasia multilineare;
- esclusione di cause note di displasia midollare e/o di citopenia periferica (si veda *Eziologia e patogenesi*);
- presenza di almeno uno dei seguenti criteri:
 - displasia in almeno il 10% della cellularità di una o più linee mieloidi midollari;
 - blasti midollari pari al 5-19% delle cellule nucleate midollari o del sangue periferico;
 - alterazioni citogenetiche tipiche delle SMD (per esempio, 5q-, 20q-, +8, -7, 7q-).

Possono inoltre essere presenti anomalie, che contribuiscono a confermare la diagnosi di SMD, a carico della biopsia osteomidollare, dell'immunofenotipo e della biologia molecolare su mieloaspirato.

Esame morfologico citologico

Nel suo complesso la cellularità midollare è frequentemente aumentata, talvolta normale, e solo in una minoranza di casi è diminuita (SMD ipocellulari). La serie eritroide, generalmente iperplastica, può mostrare alterazioni citoplasmatiche (punteggiature basofile, difetti di emoglobinnizzazione o vacuoli) e nucleari (segmentazione, frammentazione, nuclei multipli, ponti internucleari). La serie granulocitaria può presentare mielociti ipogranulati, a volte del tutto privi di punteggiature citoplasmatiche, al punto tale da renderne difficile l'identificazione, con arresto maturativo a livello degli elementi intermedi (promielociti e mielociti); possono coesistere metamielociti giganti o con nucleo ad anello. I megacariociti possono essere ipogranulati e ipolobati, con vari difetti di maturazione, tendenza alla frammentazione nucleare e a volte ridotte dimensioni (micro-megacariociti). In tutte le serie è generalmente osservabile asincronia maturativa nucleo-citoplasmatica. La definizione morfologica dei blasti al microscopio ottico si avvale sia delle colorazioni classiche (May-Grünwald/Giemsa) sia dell'analisi citochimica (positività alla reazione con mieloperossidasi e Sudan nero per i blasti mieloidi, colorazione di Pearls per i depositi di ferro).

Citofluorimetria a flusso

La tipizzazione dei blasti midollari mediante tecnica di citofluorimetria evidenzia abitualmente un pattern di tipo mieloide (espressione di CD13, CD14, CD38, CD33, HLA DR, variabile espressione di CD34, più rara quella della mieloperossidasi).

Possono coesistere sulla superficie cellulare marcatori di maturità come CD10, CD11b, CD15 e CD16, più frequentemente associati alle forme displastiche non aggressive a prognosi migliore, sebbene non esistano a questo proposito dati statisticamente significativi. Rara è l'espressione degli antigeni della linea linfoide (TdT, CD19, CD20, CD5). Il CD56, marcatore delle cellule *natural killer*, è espresso in oltre il 20% dei casi. È possibile infine identificare i blasti appartenenti alle linee differenziative eritroide (marcatore antiglicoforina A) e megariocitaria (CD41, CD61).

Citogenetica

La valutazione del cariotipo nelle SMD è fondamentale per poter definire la classe di rischio prognostico. Circa la metà delle SMD presenta anomalie del cariotipo (Tab. 51.8). Sono state descritte alterazioni cariotipiche comuni alle SMD e alle LAM, come le alterazioni dei cromosomi 3 e 11, altre più frequentemente condivise con patologie mieloproliferative, come la perdita di un cromosoma 7, 20q-, t(5;12). Altre aberrazioni sembrano invece quasi esclusive delle SMD, come le duplicazioni del braccio lungo del cromosoma 1 e la trisomia 8. È stato dimostrato che le delezioni del cromosoma 5 appaiono quasi sempre all'inizio del percorso mutagenico e mai alla fine,

mentre altre, come la trisomia del cromosoma 8, possono essere sia precoci sia tardive; infine sono sempre tardivi gli isocromosomi (presenza di un cromatidio in più legato a un cromosoma mediante lo stesso centromero), i cromosomi aberranti, le poliploidie. Nelle forme in trasformazione o già trasformate, nonché in cloni resistenti alla chemioterapia, sono frequenti cariotipi complessi con cromosomi soprannumerari, cromosomi ad anello, isocromosomi, marcatori non più riconoscibili con il normale bandeggio.

Biologia molecolare

Le tecniche di biologia molecolare basate sulla PCR permettono di identificare trascritti di geni di fusione noti. Non sono stati ancora identificati marcatori molecolari specifici per le SMD che vengono utilizzati nella routine clinica. Sono in corso studi che valutano la correlazione tra prognosi e decorso clinico e l'analisi quantitativa mediante PCR (RQ-PCR) dell'espressione del gene *WT1* (*Wilms Tumor gene 1*) nel sangue midollare e periferico.

Biopsia osteomidollare

L'esame istologico del midollo osseo può mettere in evidenza alterazioni displastiche, soprattutto a carico dei megacariociti, anomalie di espressione dei marcatori di immaturità cellulare mediante immunoistochimica (per esempio, CD34), presenza di aumentata fibrosi, anomala distribuzione dei precursori mieloidi. Ai fini della classificazione morfologica, la conta dei blasti in biopsia ossea è realizzata tramite la conta di elementi CD34+ all'analisi immunoistochimica. Pertanto, non sempre la percentuale di blasti rilevata morfologicamente all'aspirato midollare coincide con la conta in biopsia ossea; in questi casi si considera, ai fini della classificazione, la percentuale più alta.

Manifestazioni cliniche ed esami di laboratorio

Le SMD si possono presentare con un ampio spettro di caratteristiche cliniche, oltre che morfologiche e citogenetiche come precedentemente descritto. Il quadro di asincronia tra proliferazione e differenziazione a livello midollare determina una o più citopenie periferiche, che tendono a instaurarsi lentamente e che possono subire anche oscillazioni significative intorno a una linea di tendenza di progressiva ingravescenza. Nella maggior parte dei casi alla diagnosi e nel decorso della SMD sono presenti i sintomi classici di un'anemizzazione cronica: pallore mucocutaneo, astenia, dispnea, angina ed eventuali lipotimie da sforzo, anoressia e nausea, disturbi della termoregolazione. L'anemia è in genere macrocitica, con aniso-poichilocitosi e valori di Hb < 10-11 mg/dL, punteggiature basofile citoplasmatiche e residui nucleari (corpi di Howell-Jolly); frequente è il riscontro di eritroblasti ortocromatici.

Circa il 60% dei pazienti si presenta alla diagnosi con formula invertita all'emocromo e neutropenia assoluta ($N < 1800/\mu\text{L}$); i neutrofili possono essere ipogranulati, con distribuzione disomogenea dei granuli citoplasmatici, presentare anomalie nucleari e alterazioni qualitative per cui non sono in grado di rispondere correttamente agli

Tabella 51.8 Anomalie citogenetiche midollari nelle SMD

Anomalia	Alterazioni genetiche	Correlazione clinica
Delezioni		
Delezione del braccio lungo del cromosoma 5 (5q-)	Non definite (possibile interessamento dei geni di IL3, IL4, IL5, M-CSF, GM-CSF e MCSF-R, <i>IRF1</i> , <i>PURA</i>)	20% circa dei casi Se isolata, buona prognosi
Delezione del braccio lungo del cromosoma 7 (7q-)	Non definite (due siti di rottura, a livello dei geni <i>PIK3CG</i> e di <i>NF1</i>)	2-10% dei casi Prognosi negativa
Delezione del braccio lungo del cromosoma 20 (20q-)	Non definite	3-4% dei casi Prognosi negativa
Delezione del braccio lungo del cromosoma 17 (17q-)	Perdita di p53	6% dei casi Prognosi sfavorevole per rapida evoluzione e scarsa chemiosensibilità
Traslocazioni		
t (5;12)	Fusione tra il recettore di PDGF e regolatore della trascrizione TEL	Borderline tra SMD e sindrome mieloproliferativa
Traslocazioni bilanciate del cromosoma 11	Chimerismo del gene della nucleoporina <i>NUP98</i> o del gene <i>AML</i>	Trombocitopenia familiare isolata
Traslocazioni coinvolgenti il cromosoma 3 t (6;9)	Gene <i>EV1</i> Fusione tra <i>NUP214</i> e il proto-oncogene <i>DEK</i>	Trombocitosi
t (5;11)	Fusione tra il gene <i>MLL</i> e l'oncosoppressore <i>GRAF</i>	
Trisomie		
Trisomia del cromosoma 8	Non definite	10% circa dei casi Nessun valore prognostico
Monosomie		
Monosomia del cromosoma Y	Non definite	10% dei casi, prognosi favorevole
Perdita totale dei cromosomi 5 e 7	Non definite	10-15% dei casi, prognosi negativa

stimoli citochinici e di svolgere le funzioni battericide e di fagocitosi. Ne consegue che questi soggetti possono presentare frequenti infezioni, prevalentemente micotiche e batteriche, localizzate e/o sistemiche.

La trombocitopenia (Plt < 100.000/ μ L) in circa il 5% dei pazienti è la sola citopenia rilevabile alla diagnosi; i pazienti possono presentare sanguinamenti spontanei e/o per traumi lievi, mucosi (cavo orale, tratto gastroenterico, vie urinarie), cutanei (ecchimosi, petecchie, soffiusioni emorragiche), meno frequentemente nei tessuti/organ parenchimatosi profondi (per esempio, sistema nervoso centrale) e nelle cavità sierose (per esempio, emotorace). Infine, in circa il 10% dei pazienti sono evidenti segni/sintomi determinati da fenomeni di autoimmunità (per esempio, lupus, mialgie, tendiniti ecc.).

Il corretto completamento delle indagini diagnostiche di laboratorio comprende anche il conteggio dei reticolociti (che risultano con valori inferiori alla norma), il dosaggio dell'eritropoietina plasmatica (che risulta elevata), l'assetto del ferro (sideremia, transferrina, ferritina, saturazione della transferrina) per una valutazione pretrasfusionale, dosaggio di folati e vitamina B₁₂ plasmatici per escludere citopenie carenziali, sierologia HIV.

Decorso e prognosi

Il decorso clinico delle SMD è variabile e la prognosi è dipendente da fattori di rischio citogenetico (Tab. 51.9) e clinico, nell'insieme raccolti in un sistema prognostico, l'International Prognostic Score System (IPSS), proposto nel 1997 e validato in ampie casistiche internazionali (Tabb. 51.10 e 51.11). Più recenti sistemi prognostici sono stati proposti, con l'inclusione dei criteri OMS di diagnosi (WPSS) e con l'adozione di criteri tempo-dipendenti, che

Tabella 51.9 Rischio citogenetico

Favorevole	Intermedio	Alto
Normale	Trisomia del cromosoma 8	Anomalie del cromosoma 7
Delezione 5q	Altre anomalie	Cariotipo complesso (≥ 3 anomalie)
Delezione 20q -Y		

Tabella 51.10 Classificazione prognostica delle SMD secondo l'IPSS

Variabili prognostiche	SCORE VALUE				
	0	0,5	1	1,5	2
Blasti midollari (%)	<5	5-10	-	11-20	21-30
Cariotipo	Buono	Intermedio	Cattivo		
Citopenie	0/1	2/3			

Tabella 51.11 Sopravvivenza media nelle SMD secondo l'IPSS

Rischio	Score	Sopravvivenza (anni)
Basso	0	5,7
Intermedio-1 (INT-1)	0,5-1	3,5
Intermedio-2 (INT-2)	1,5-2	1,2
Alto	> 2,5	0,4

tuttavia non hanno ancora ricevuto un'adeguata validazione e che pertanto non sono ancora adottati altrettanto estensivamente.

L'IPSS assegna un punteggio di gravità alla percentuale di blasti midollari, al cariotipo e al numero di linee cellulari con citopenia periferica; il punteggio finale si associa a una prognosi di sopravvivenza globale variabile da pochi mesi (*high risk*) a molti anni (*low risk*).

Terapia



L'ampia eterogeneità clinica delle SMD si riflette in una complessità di approccio terapeutico, in cui l'intensità del trattamento è modulato in rapporto alla gravità della condizione e della relativa prognosi. L'IPSS rappresenta lo strumento fondamentale di valutazione del paziente con SMD per stabilire l'appropriata terapia. Accanto all'IPSS, per completezza si eseguono inoltre la biopsia ossea per documentare eventuale fibrosi midollare, il dosaggio dell'eritropoietina sierica (valori > 500 UI/mL predicono una scarsa probabilità di risposta ad analoghi dell'eritropoietina), la valutazione dello stato del ferro e della storia trasfusionale e, infine, una tipizzazione HLA del paziente e della fratria ai fini di riconoscere l'eventuale presenza di un donatore familiare HLA-compatibile.

Le seguenti opzioni terapeutiche sono disponibili.

- *Wait and watch*. Pazienti asintomatici con IPSS low e INT-1, con citopenia non severa (neutrofili

> 1×10^9 /IL piastrine > 50×10^9 /L, emoglobina > 10g/dL), blasti midollari < 5% e cariotipo non ad alto rischio. Una rivalutazione midollare deve essere ripetuta su base annuale in assenza di peggioramento della citopenia.

- *Fattori di crescita*. Pazienti con Hb < 10g/dL ed eritropoietina sierica < 500 mUI/mL sono candidati a ricevere terapia con analoghi dell'eritropoietina (ESA, Erythropoiesis Stimulating Agent). L'utilizzo di G-CSF e di analoghi della trombopoietina è possibile rispettivamente in pazienti con neutropenia e trombocitopenia severa.
- *Terapia trasfusionale*. Il supporto trasfusionale di globuli rossi concentrati e derivati piastrinici risponde ai criteri standard di trasfusioni profilattiche.
- *Terapia ferrochelante*. È raccomandata in pazienti con IPSS low/INT-1 che ricevono un regolare supporto trasfusionale. La terapia ferrochelante deve essere intrapresa in pazienti che hanno ricevuto almeno 20 unità di globuli rossi concentrati.
- *Terapia epigenetica*. Le modificazioni epigenetiche rivestono un ruolo di cooperazione con le alterazioni genetiche nella patogenesi delle SMD. La potenziale reversibilità degli eventi epigenetici di rimodellamento della cromatina li ha resi potenziali target di terapie. Gli agenti ipometilanti 5-azacitidina e decitabina sono indicati in pazienti con IPSS INT-2 o high non candidati a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche e in pazienti con IPSS INT-1 o low in presenza di blastosi midollare > 5%, di citopenia severa o di cariotipo ad alto rischio.
- *Terapia immunosoppressiva*. L'uso di siero antilinfocitario (ATG) in associazione a ciclosporina è indicato in pazienti con meno di 60 anni con SMD ipocellulari con cariotipo normale in ragione della componente autoimmune presente nelle forme ipocellulari nella genesi della pancitopenia. I pazienti con HLA-DRB1-15 hanno le migliori probabilità di risposta terapeutica.
- *Terapia con analoghi della talidomide*. La lenalidomide è indicata in pazienti con SMD associata a 5q- per la sua proprietà anticlonale riscontrata in questa particolare entità citogenetica.
- *Chemioterapia aplastizzante acute leukemia-like*. È indicata come terapia di induzione in pazienti con blasti midollari > 10% ed età inferiore a 65 anni. Gli schemi in maggiore uso includono antimetaboliti (citarabina) in associazione ad antracciline (idarubicina) e analoghi purinici (fludarabina).
- *Trapianto allogenico di CSE*. È l'unico trattamento curativo nelle SMD. Tutti i pazienti di età inferiore a 65 anni dovrebbero essere valutati per la presenza di un donatore familiare. La ricerca di donatori compatibili non familiari nel registro internazionale di donatori di midollo (World Donor Marrow Registry) è indicata nei pazienti con assenza di comorbilità e con IPSS INT-2 o high.

Bibliografia

- Bassan R, Spinelli O, Oldani E et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of MRD in adult ALL. *Blood* 2009 Apr 30;113(18):4153–62.
- Bene MC, Castoldi G, Knapp W et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. (EGIL Classification). *Leukemia* 1995 Oct;9(10):1783–6.
- Cheson BD, Bennett JM, Kopeccky KJ et al. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukaemia. *J Clin Oncol* 2003 Dec 15;21(24):4642–9.
- Consensual European immunophenotyping panels for leukaemia – www.leukemia-net.org.
- Estey E, Dohner H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet* 2006 Nov 25;368(9550):1894–907.
- Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2006 Jan 12;354(2):166–78.
- Schlenk R, Döhner K, Krauter J et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2008 May 1;58(18):1909–18.
- WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Geneva IARC Press; 2008.