

**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ - Γ΄ ΜΕΡΟΣ
«Η ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ ΣΤΗΝ
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ»**

**Β ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (Β ΟΛΛ)
ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ (MRD)**

ΓΡΗΓΟΡΙΟΥ ΕΙΡΗΝΗ
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ
Γ.Ν.Α. «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ»
ΤΜΗΜΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ – ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ

- Οι σύγχρονες θεραπείες για την αντιμετώπιση της Β ΟΛΛ σε ενήλικες και παιδιά πέτυχαν υψηλά ποσοστά πλήρους υφέσεως
- Όμως, **σημαντικός αριθμός κυρίως ενήλικων ασθενών υποτροπιάζουν**
- **Minimal Residual Disease (MRD)**: ελάχιστα βλαστικά κύτταρα τα οποία παραμένουν μετά τη θεραπεία και δεν μπορούν να προσδιοριστούν με τη μορφολογική εκτίμηση του μυελού

- Γιατί ενδιαφέρει ο υπολογισμός της MRD?
- ✓ Αξιολόγηση του θεραπευτικού αποτελέσματος μετά από συνδυασμένη χημειοθεραπεία ή μετά από μεταμόσχευση
- ✓ Αναγνώριση ασθενών που κινδυνεύουν από υποτροπή του νοσήματος

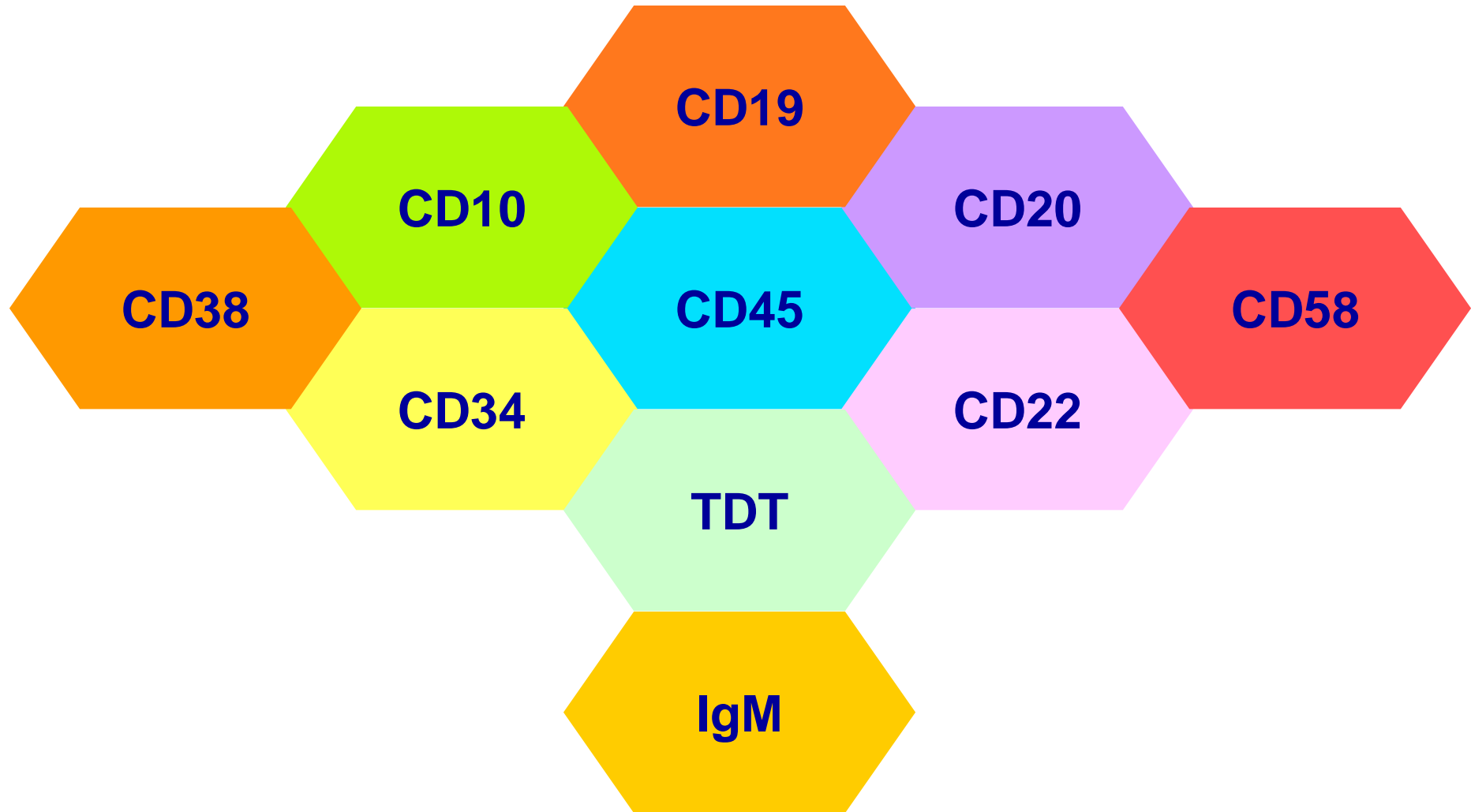
- Η ανίχνευση της MRD στη Β-ΟΛΛ εμφανίζει δυσκολίες
 - ✓ μορφολογική ομοιότητα
 - ✓ ανοσοφαινοτυπική ομοιότητα με τα φυσιολογικά πρόδρομα κύτταρα της Β σειράς (αιματογόνια)
 - ✓ αύξηση του πληθυσμού των αιματογονίων σε περιόδους αναγέννησης του μυελού

- Για τον προσδιορισμό της MRD στη Β ΟΛΛ με κυτταρομετρία ροής απαραίτητη είναι η γνώση της ανοσοφαινοτυπική ταυτότητας

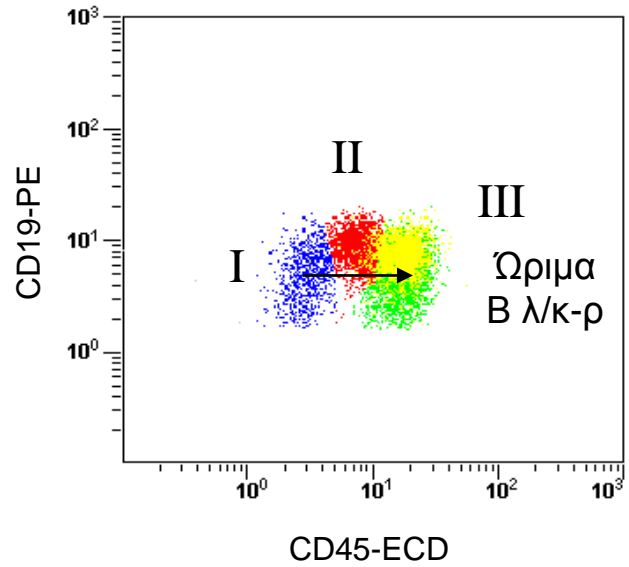
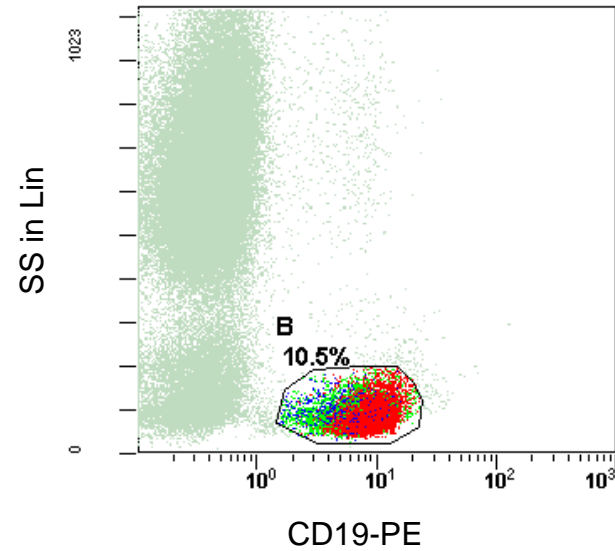
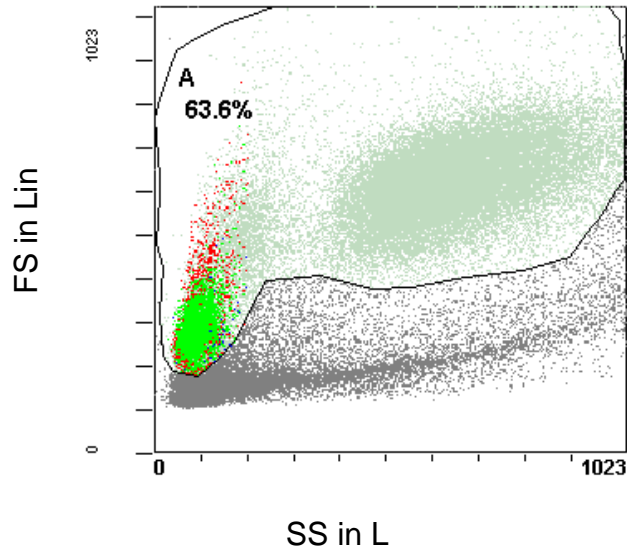
1) των φυσιολογικών πρόδρομων Β λεμφοκυττάρων

2) των βλαστικών κυττάρων της Β ΟΛΛ

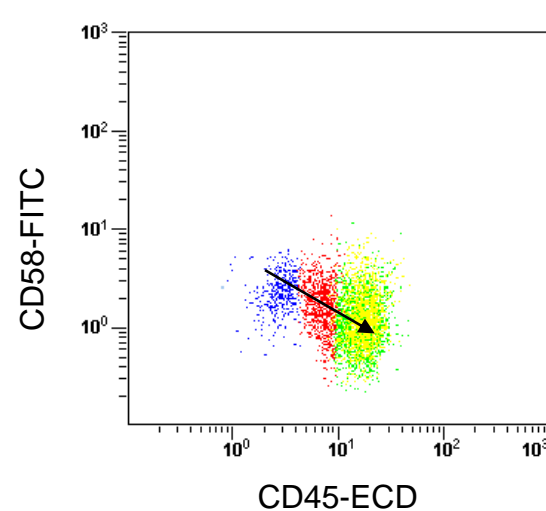
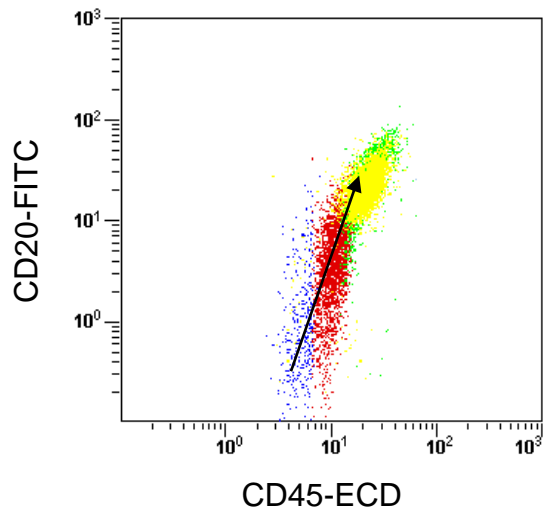
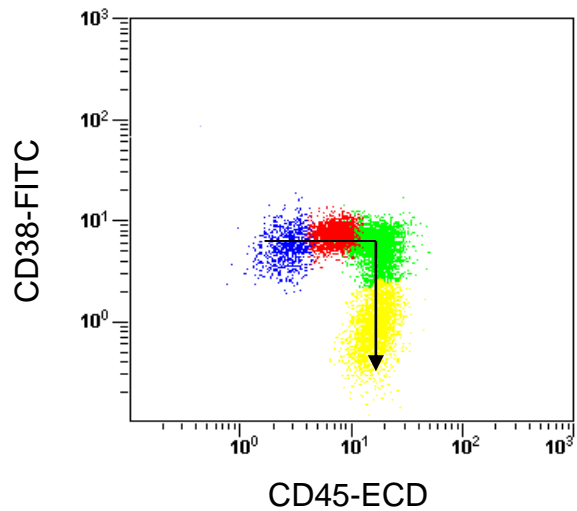
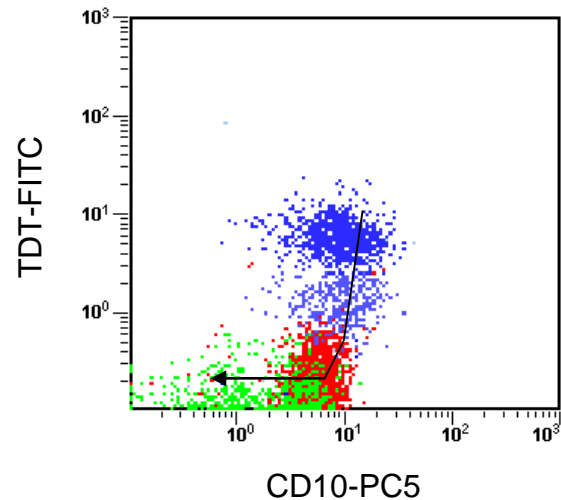
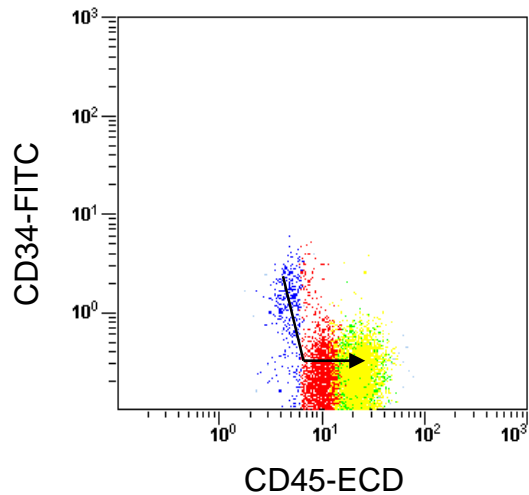
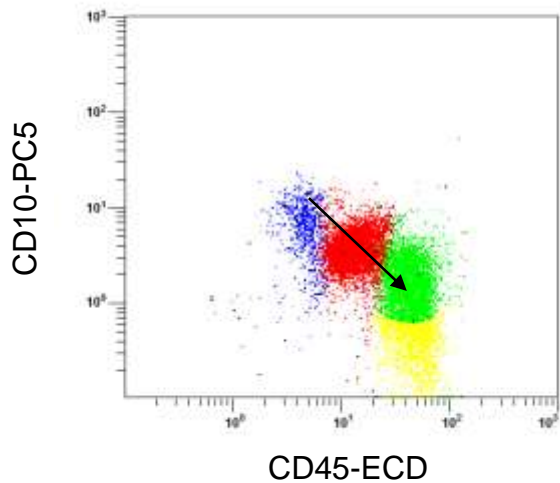
Ποιοι δείκτες χρειάζονται για την ταυτοποίηση της Β λεμφικής σειράς ?

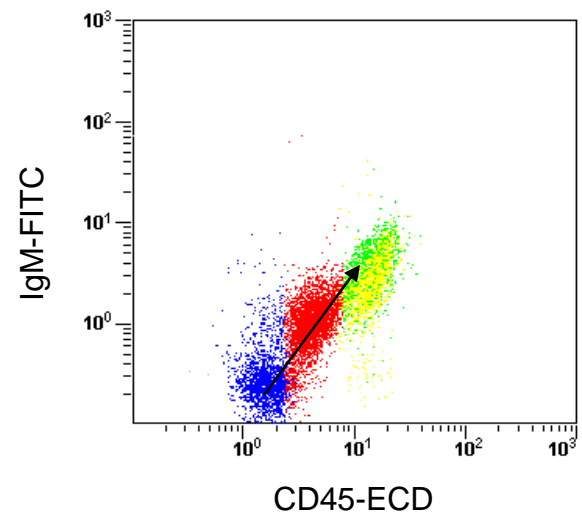
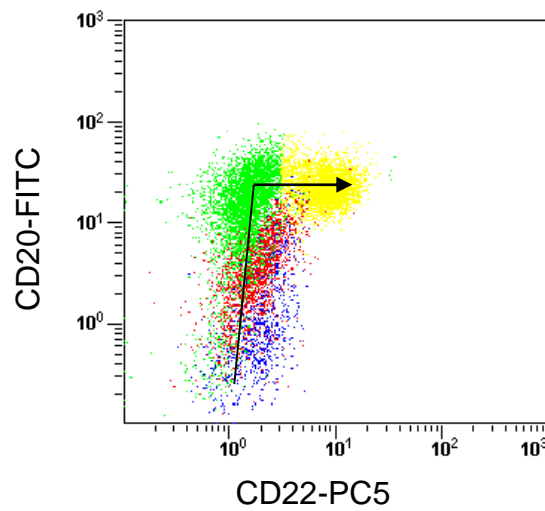
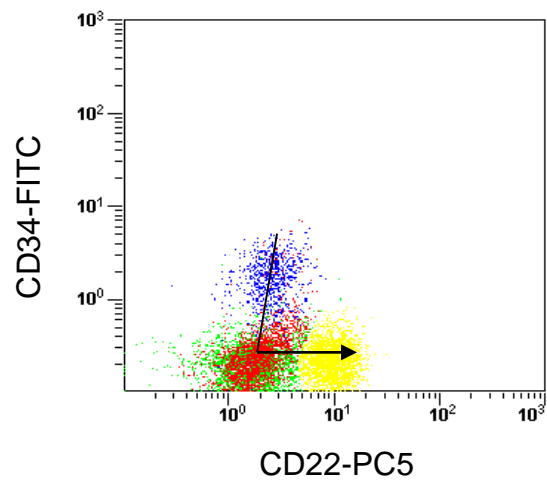
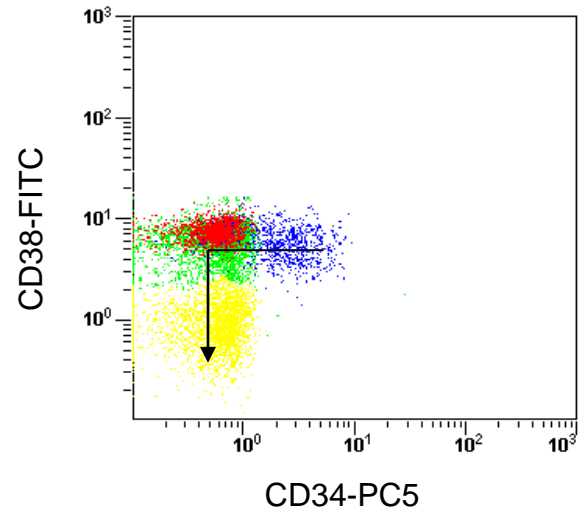
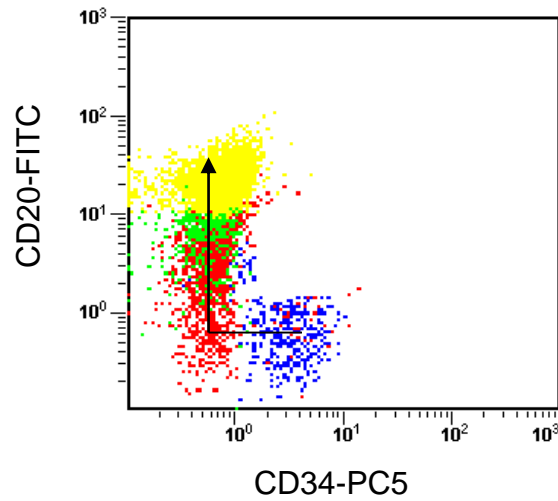
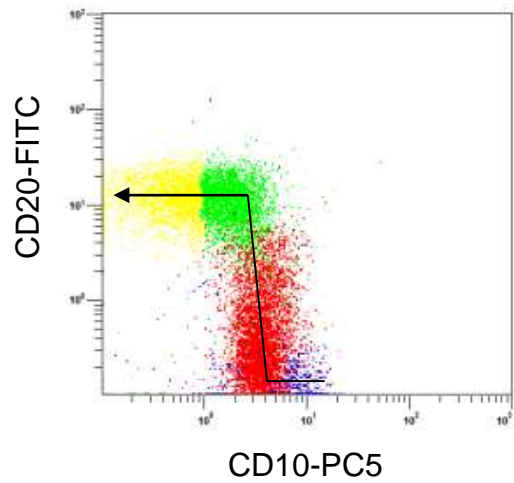


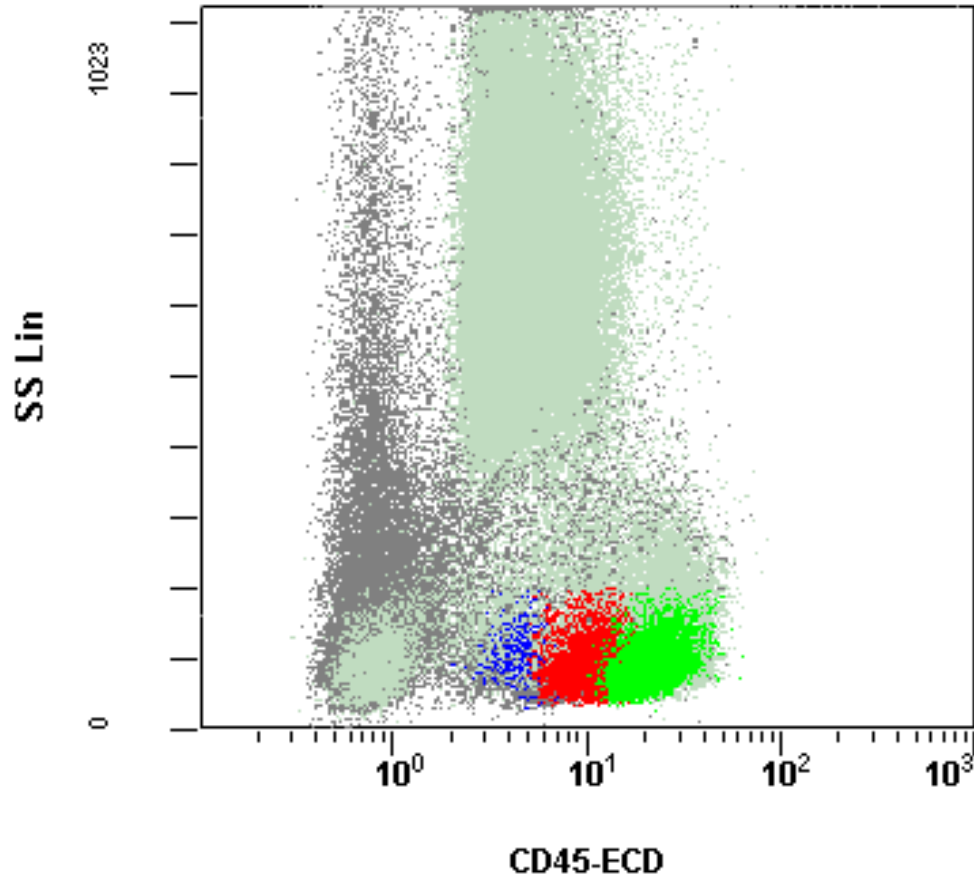
Φυσιολογική ανάπτυξη B λεμφοκυττάρων στο μυελό



[A AND B] FL3 Log/FL1 Log - ADC

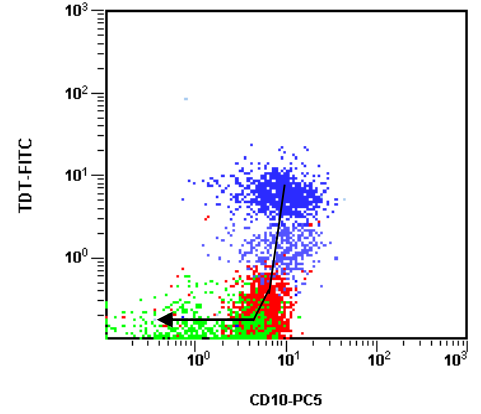
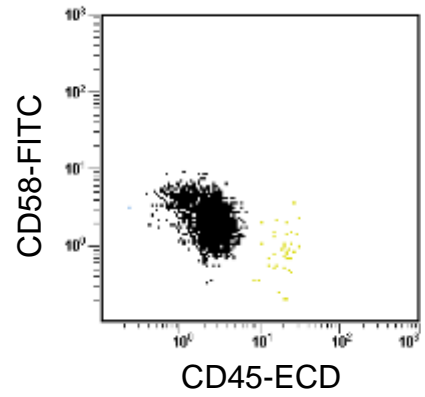
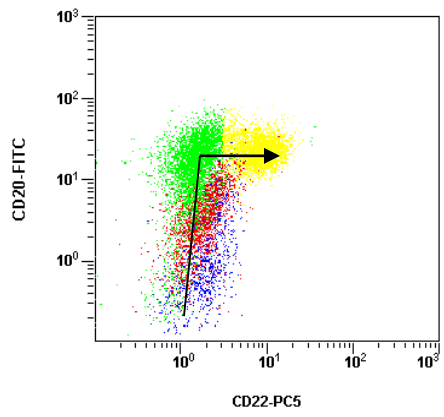
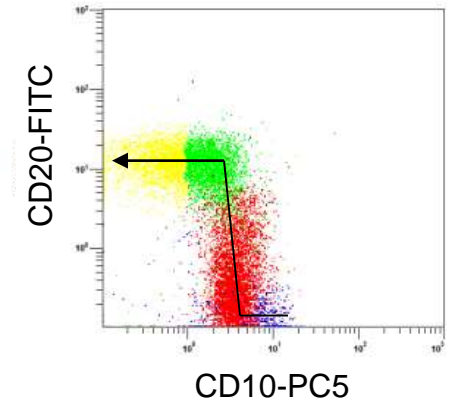
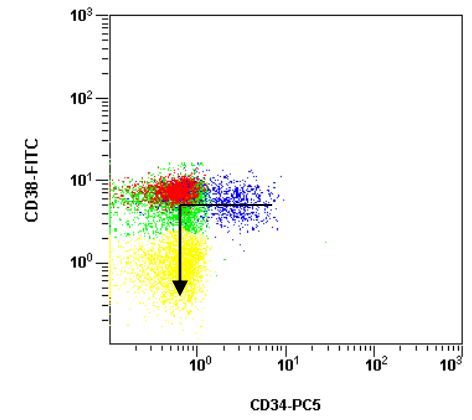
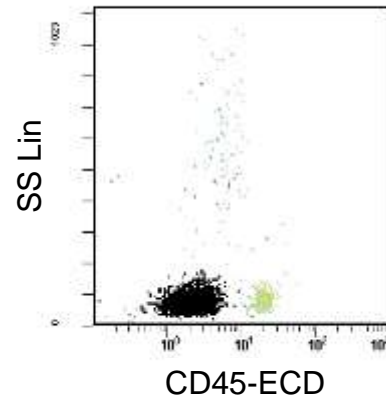
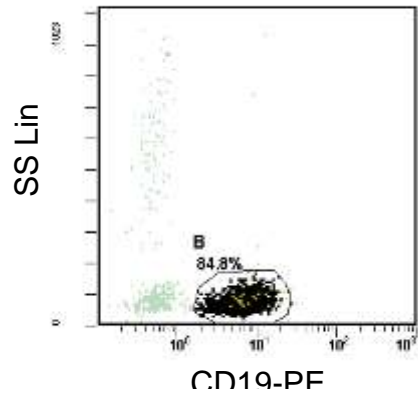
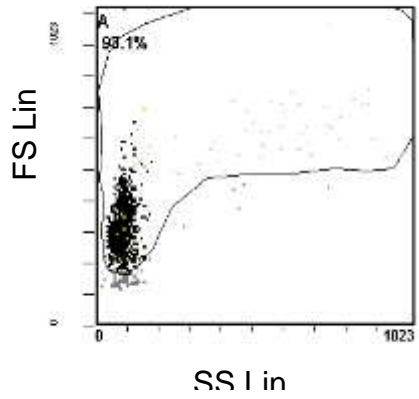




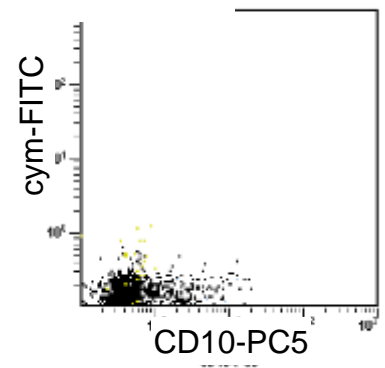


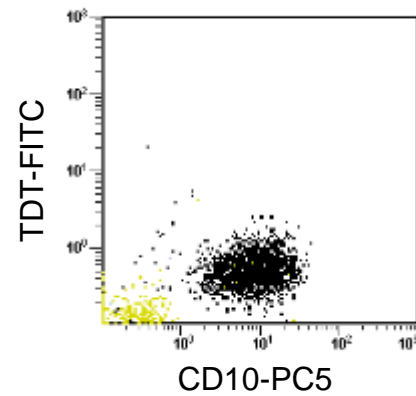
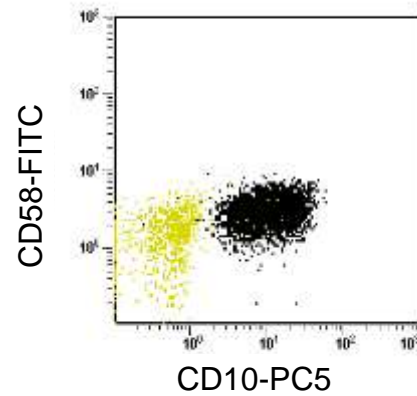
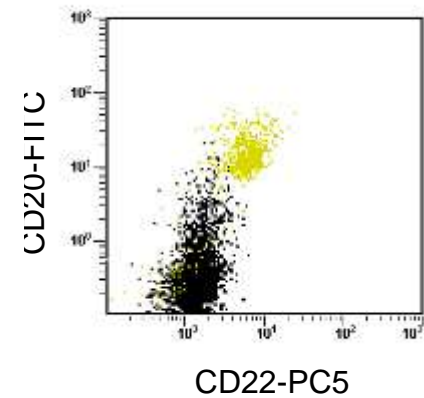
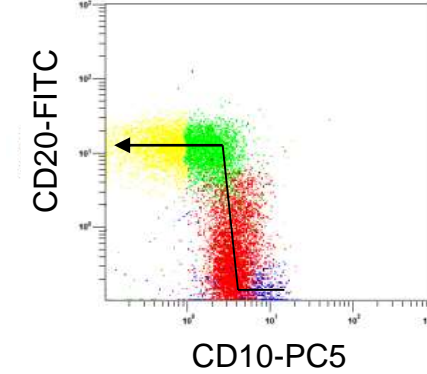
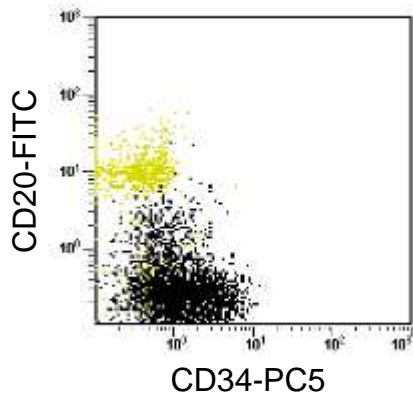
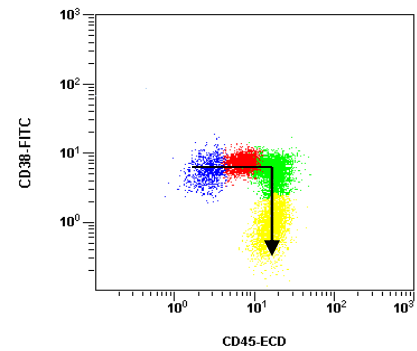
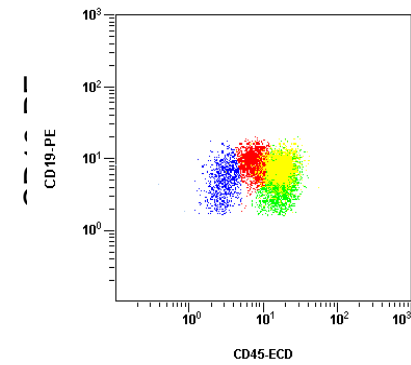
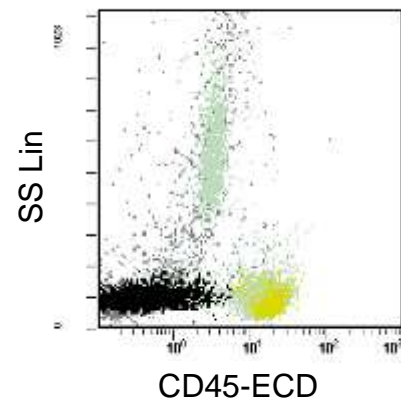
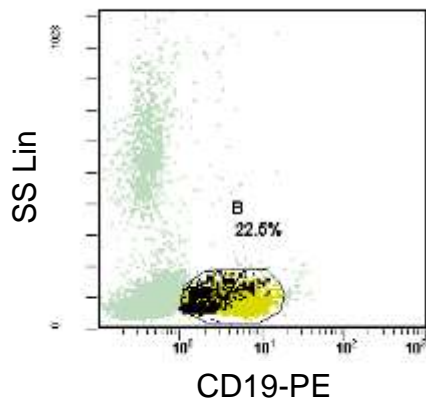
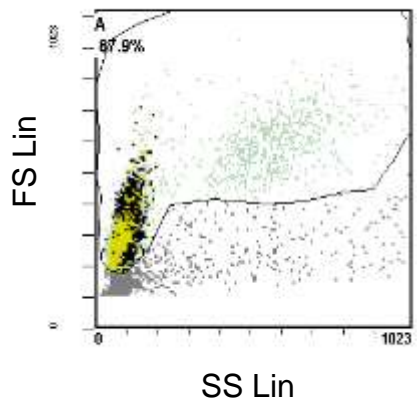
Σε κάθε στάδιο ωρίμασης
τα φυσιολογικά πρόδρομα B λεμφοκύτταρα εκφράζουν:
CD10, CD19, CD22, CD38

- Διαδοχική μετάβαση από το ένα στάδιο ωρίμασης στο επόμενο, χωρίς κενά
- Συνέκφραση πρώιμων και ωριμότερων δεικτών δεν παρατηρείται σε κανένα στάδιο
- Τα σκεδαστικά και ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά των αιματογονίων παίζουν ρόλο «συντεταγμένων» και καθορίζουν την «τοπογραφία» των κυττάρων στο στικτόγραμμα

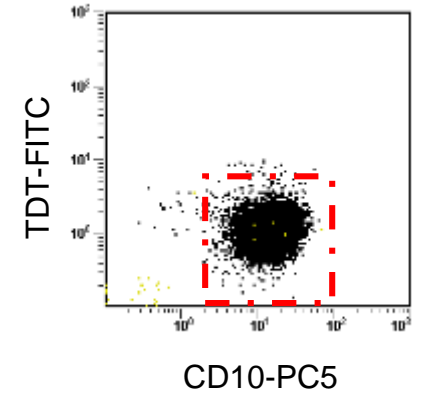
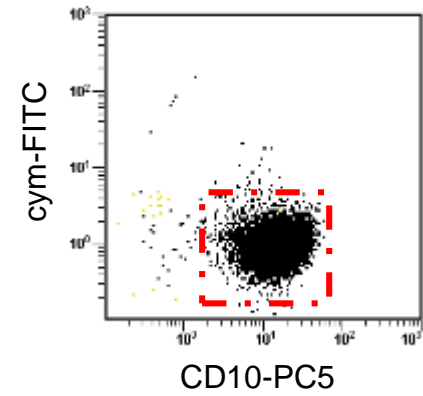
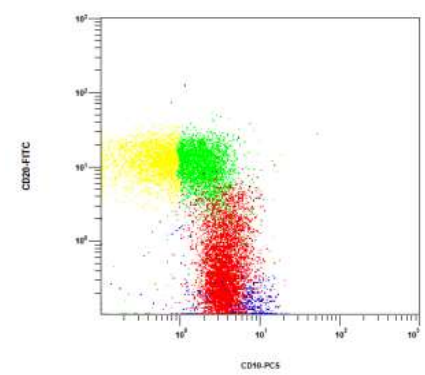
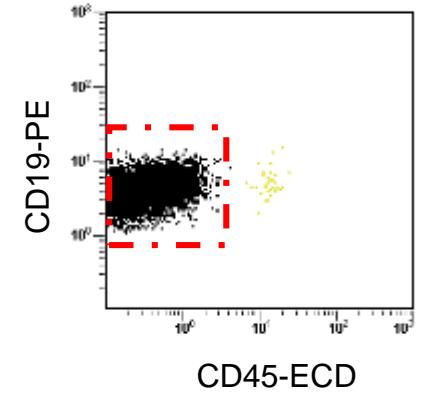
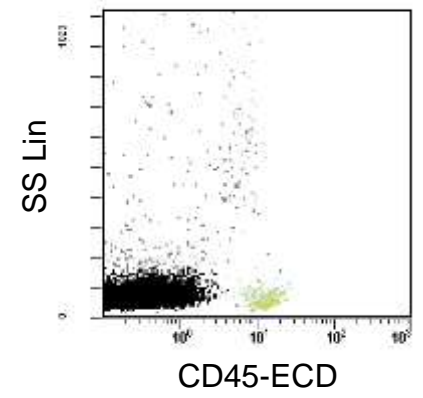
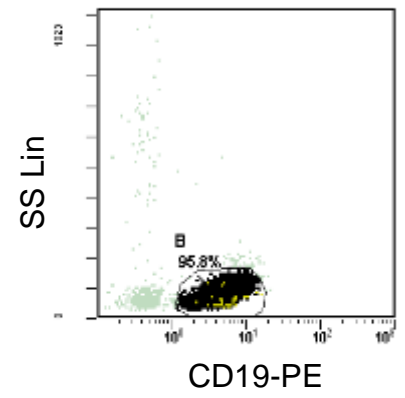
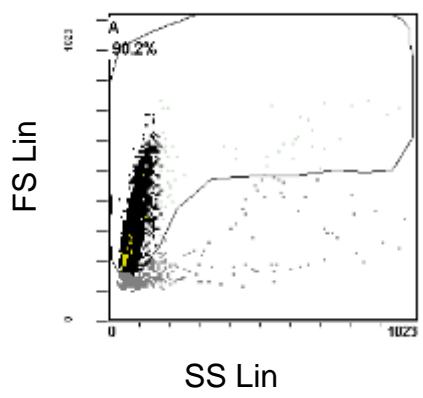


pro B ALL

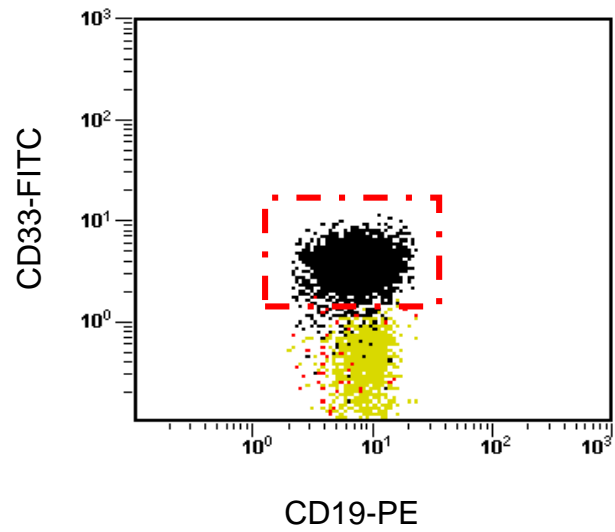
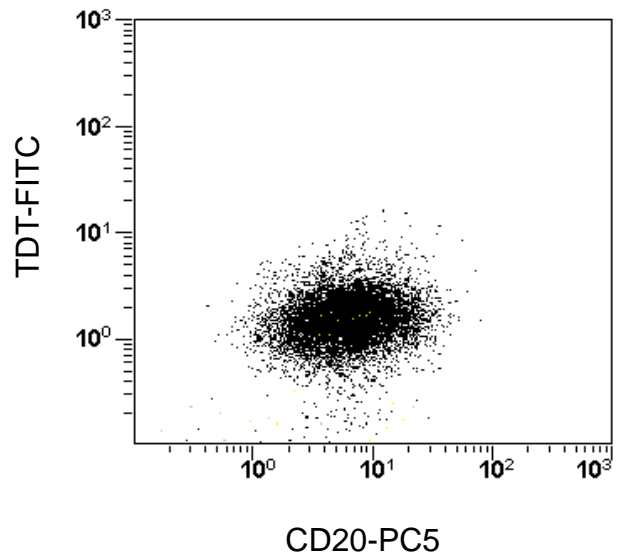




common B ALL



pre B ALL



- Αναγνώριση βλαστικών κυττάρων:
- ✓ διαταραχή της φυσιολογικής πορείας ωρίμασης
- ✓ ανοσοφαινοτυπικές αποκλίσεις σε σχέση με τα αιματογόνια

LAIP (Leukemia Associated ImmunoPhenotype)

- ✓ Διαταραχή έκφρασης αντιγόνου: απουσία, υπο-, υπερέκφραση
- ✓ ασύγχρονη συνέκφραση αντιγόνων
- ✓ παρουσία αντιγόνου/ων άλλης κυτταρικής σειράς (cross lineage)

- **Συχνότητα:** > 90% των περιπτώσεων Β ΟΛΛ, συχνά περισσότερα από ένα LAIP
- **Ευαισθησία**
 - ✓ 10^{-3} - 10^{-4} 3πλος - 4πλος φθορισμός
 - ✓ 10^{-4} - 10^{-5} >6 χρώματα
 - ✓ τον αριθμό των κυττάρων που μπορούν να μελετηθούν δοκιμασίες αραίωσης: 1 κ/ρ στόχος στα 10^6 📌 $\geq 10^7$
ρεαλιστική προσέγγιση 1 κ/ρ στα 10^4 ή στα 10^5
 - ✓ το ποσοστό των βλαστών που εκφράζουν το συγκεκριμένο LAIP

- Σταθερότητα ανοσοφαινότυπου ?
- Σύνηθες φαινόμενο η αλλαγή του ανοσοφαινότυπου κατά την παρακολούθηση ή την υποτροπή (40-70%)
- Απώλεια/ελάττωση έντασης CD10, CD20, HLA-DR, TDT, εμφάνιση ή απώλεια μυελικού δείκτη

- Πως αντιμετωπίζεται η πιθανότητα αλλαγής ανοσοφαινοτύπου ?
- ✓ Για την αποφυγή λαθών κατά την εκτίμηση της MRD, συνιστώνται:
 - Χρήση πολλών δεικτών και ποικιλία συνδυασμών
 - Όχι «στεγανές» οριοθετήσεις μόνο για τις ανοσοφαινοτυπικές αποκλίσεις της διάγνωσης
 - Καλή γνώση της ανοσοφαινοτυπικής ταυτότητας των φυσιολογικών πρόδρομων B λεμφοκυττάρων

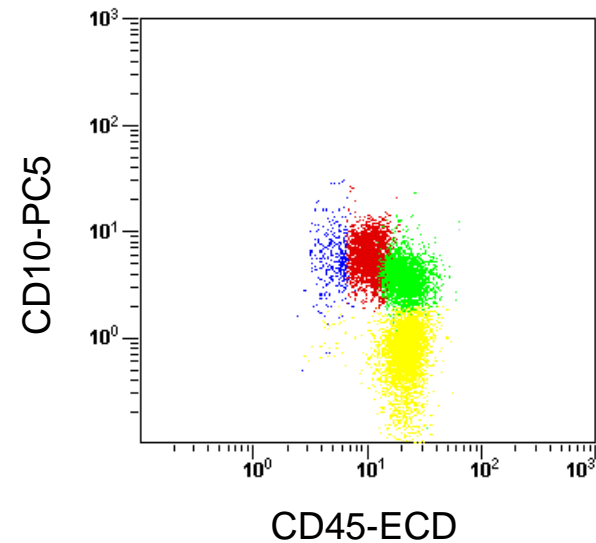
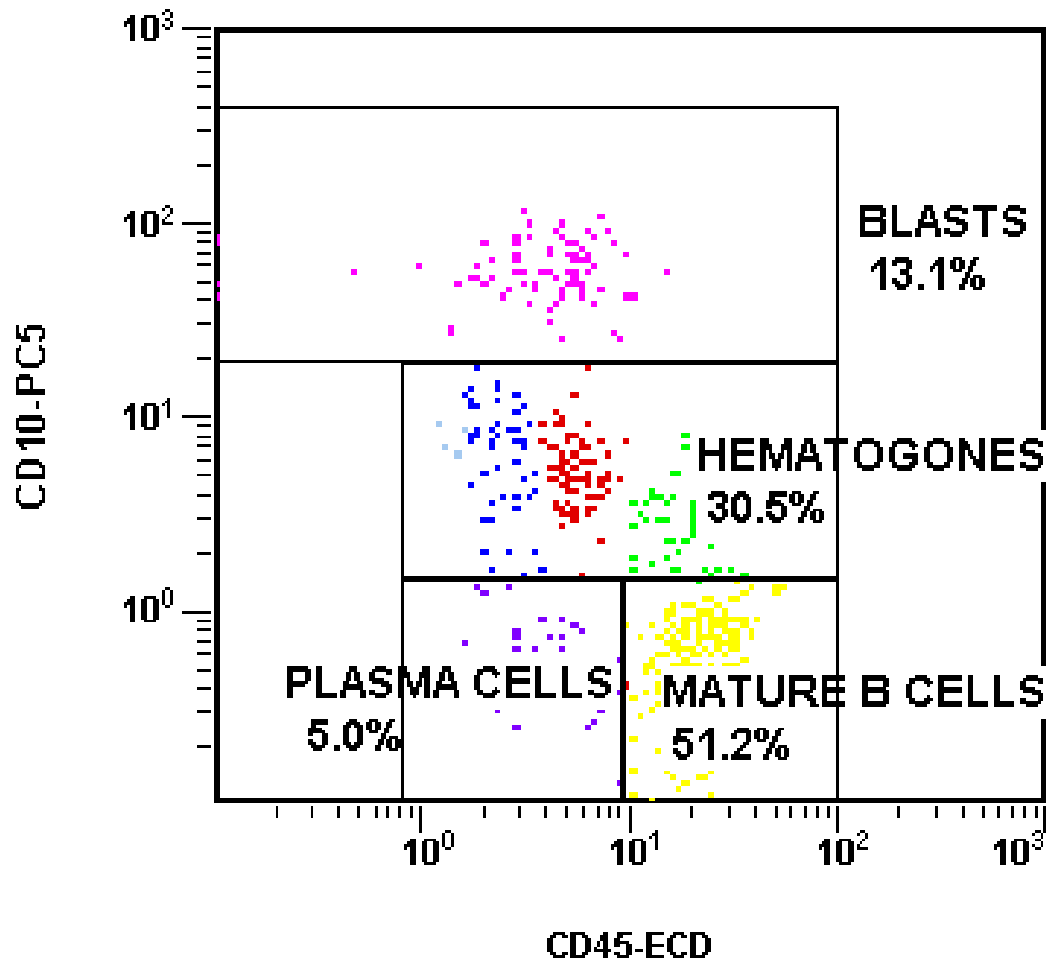
- Πόσα κύτταρα ορίζουν την MRD ?
- ❖ EuroFlow: απαραίτητα τουλάχιστον 100 βλαστικά κύτταρα για τον ποσοτικό προσδιορισμό (ως το άθροισμα των συμβάντων, αν η εξέταση περιλαμβάνει διάφορα σωληνάρια)
- ❖ I-BFM-ALL-Flow-MRD δίκτυο: τουλάχιστον 30 βλαστικά κύτταρα ανά σωληνάριο και με την επιβεβαίωση του αποτελέσματος από ανεξάρτητο δεύτερο σωληνάριο
- ❖ Εν κατακλείδι, ο απαραίτητος αριθμός παραμένει αδιευκρίνιστος

Ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά και κυτταρογενετικές ανωμαλίες

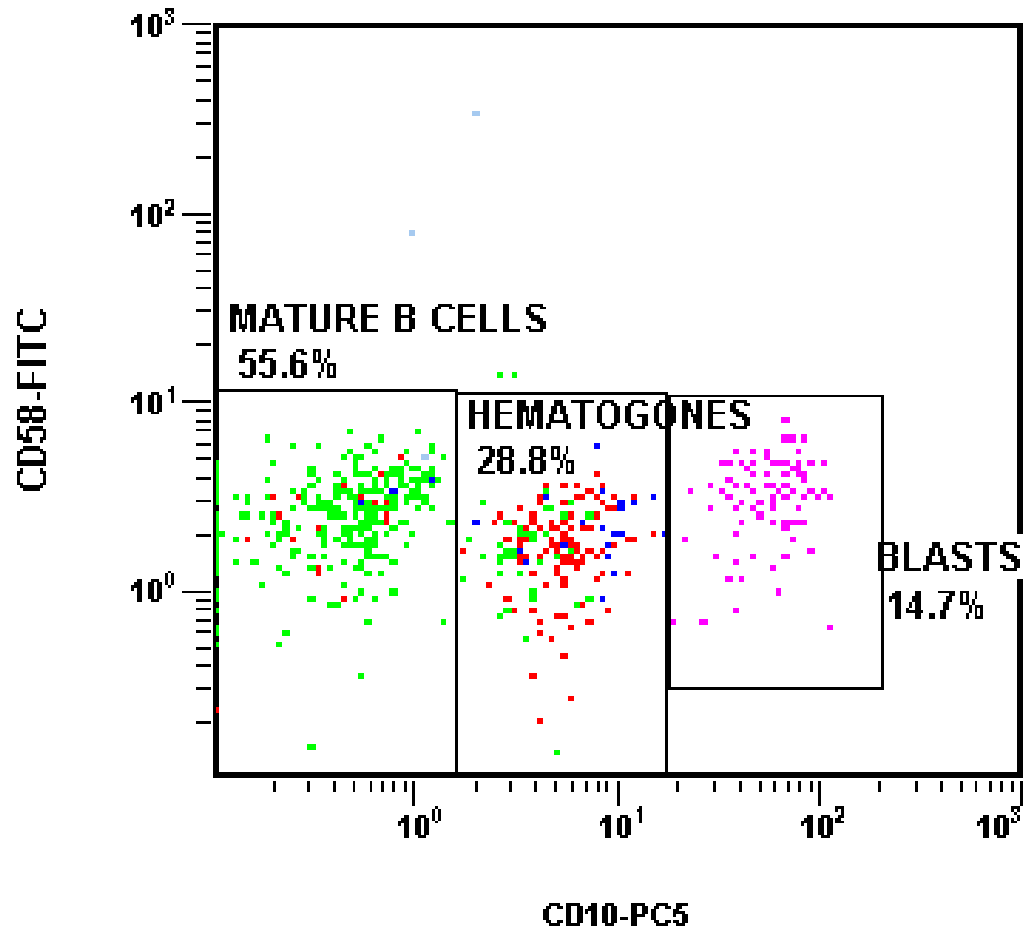
- Τα ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά των βλαστών είναι ενδεικτικά κυτταρογενετικών ανωμαλιών, δεν τις αποδεικνύουν

Κυτταρογενετική διαταραχή	Ανοσοφαινότυπος
t (9;22);bcr-abl	CD10 (+), TdT (+), CD13 (+), CD33 (+)
del 11q23 MLL	CD10 (-), CD24 (-), CD15 (+)
t (12;21)(p13;q22);TEL-AML1	CD10 (+), CD34 (+), CD20 (-), CD13 (+)
υπερδιπλοειδία	CD10 (+), CD45 (-)
υποδιπλοειδία	CD10 (+)
t (1;19)(q23;p13.3);E2A-PBX1	cytμ (+), CD10(+), CD9 (++) , CD34(-)

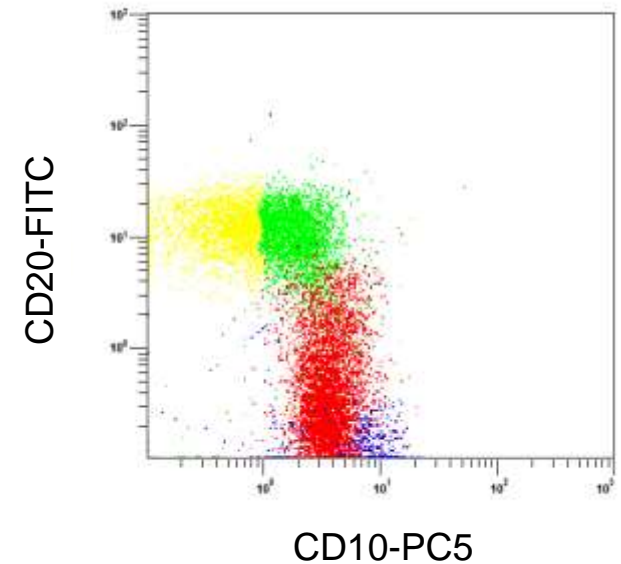
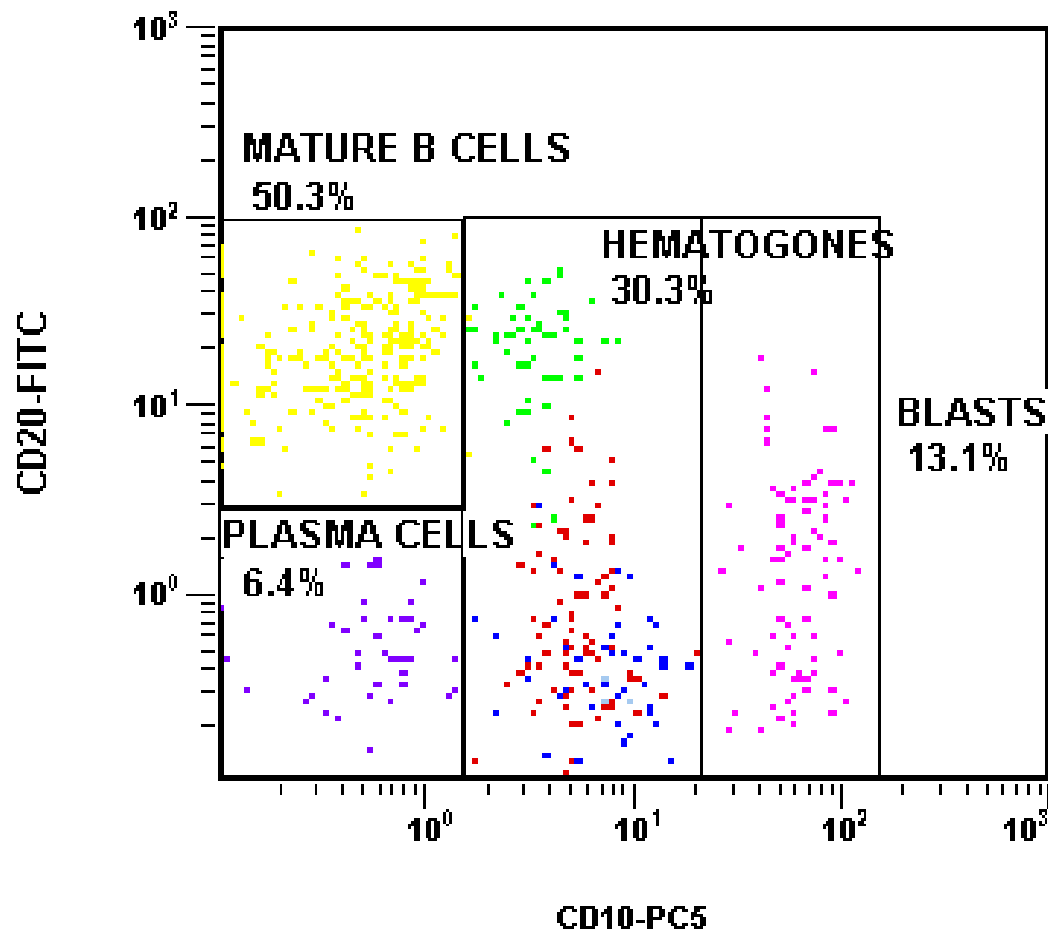
ΣΥΝΥΠΑΡΞΗ MRD ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΓΟΝΙΩΝ

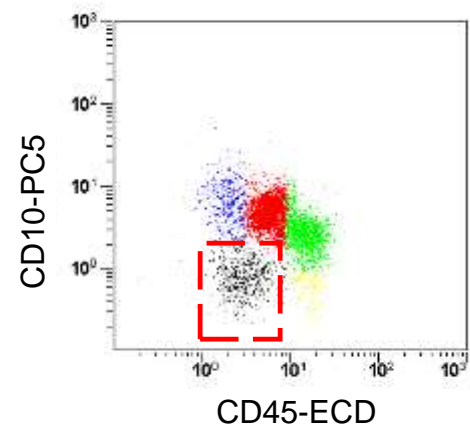
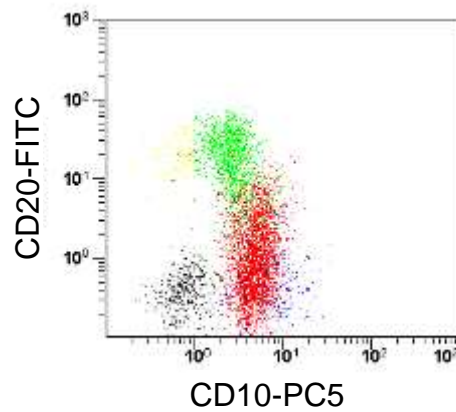
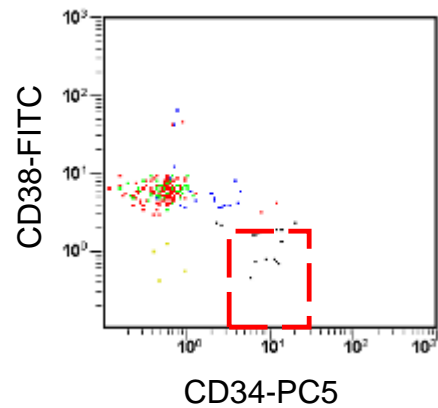
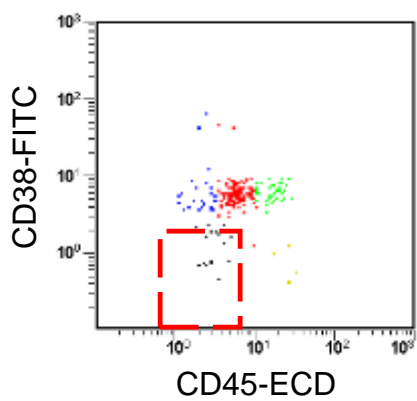
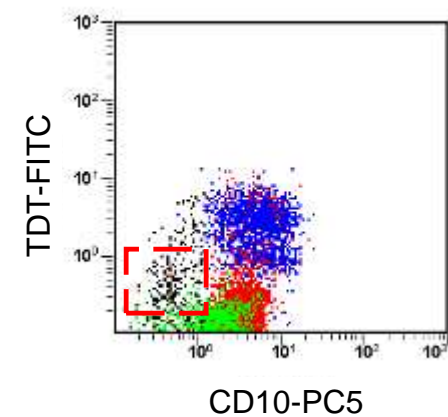
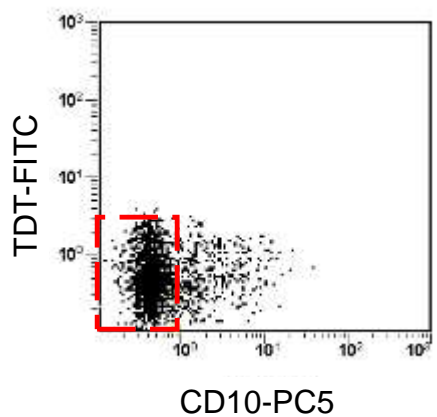
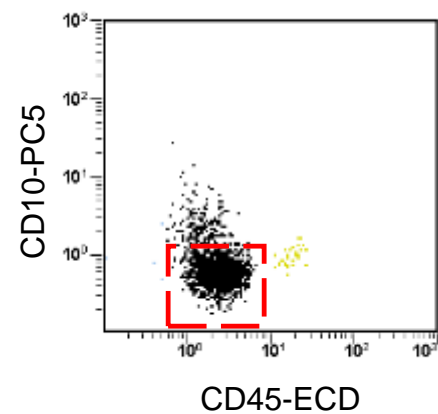
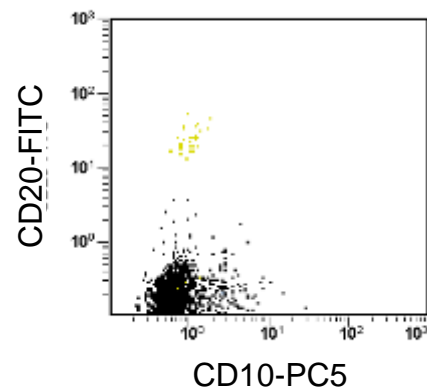
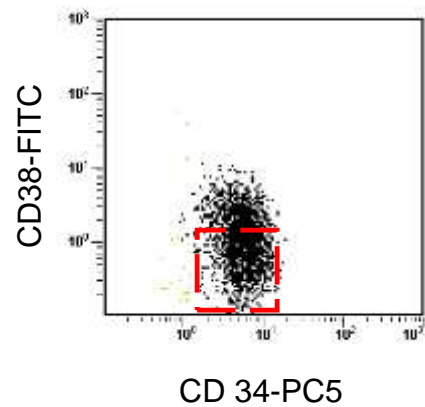
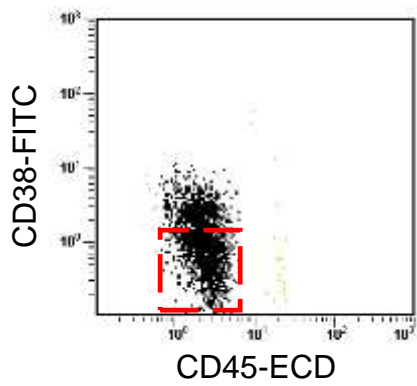


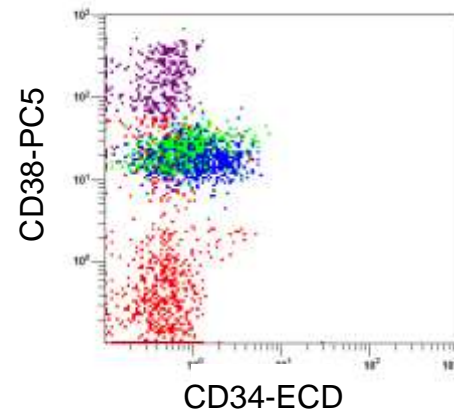
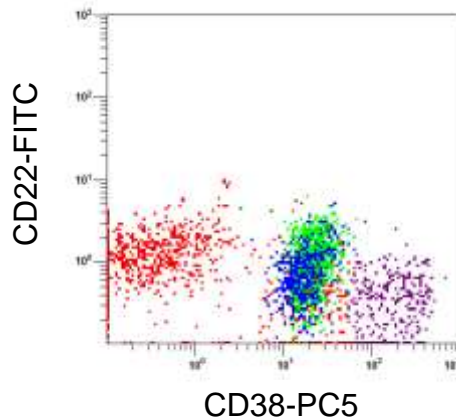
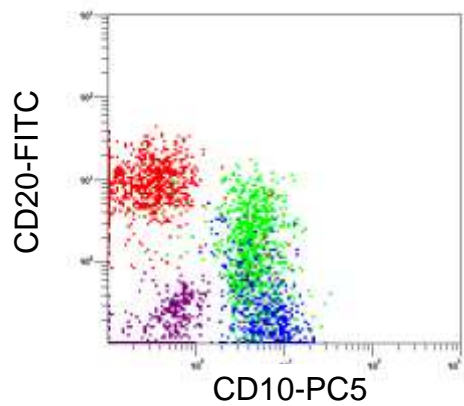
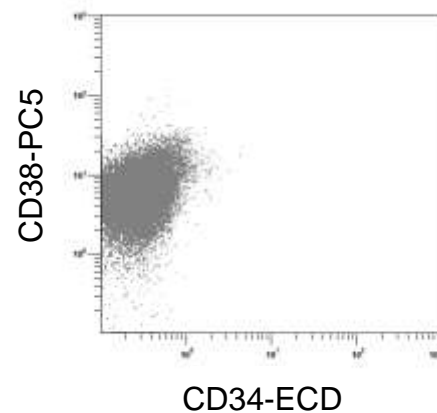
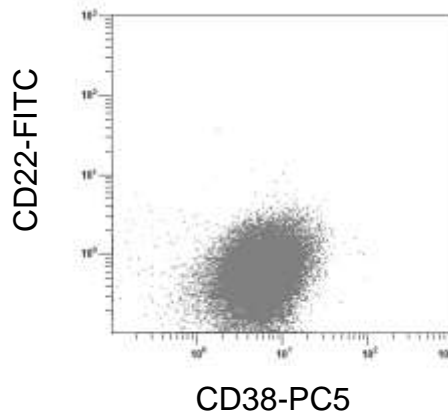
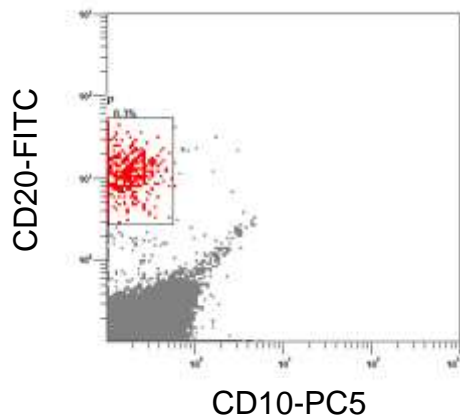
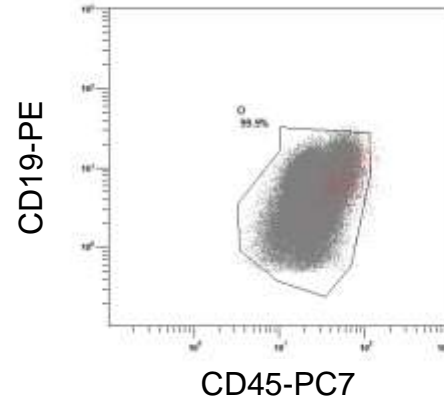
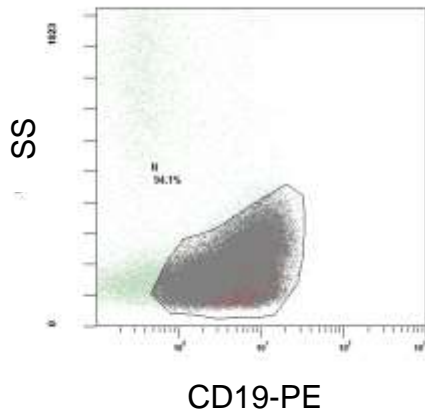
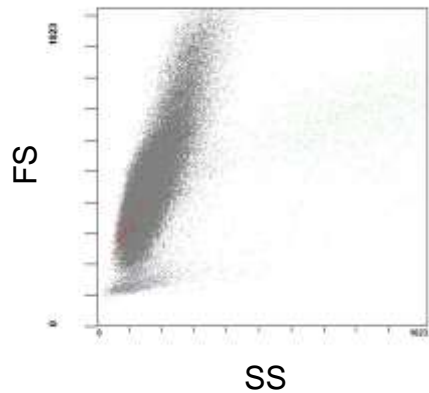
ΣΥΝΥΠΑΡΞΗ MRD ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΓΟΝΙΩΝ



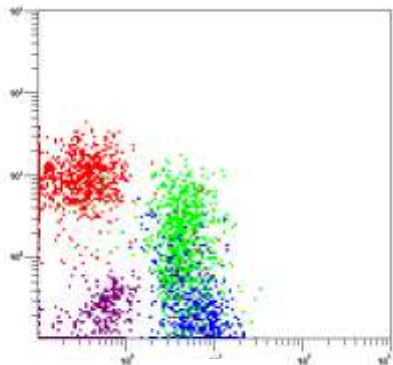
ΣΥΝΥΠΑΡΞΗ MRD ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΓΟΝΙΩΝ





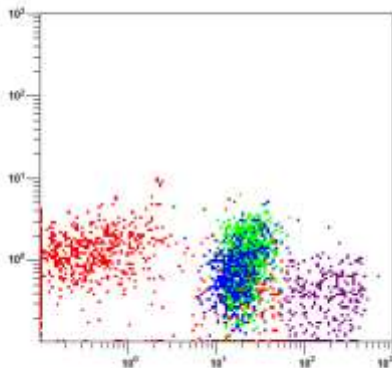


CD20-FITC



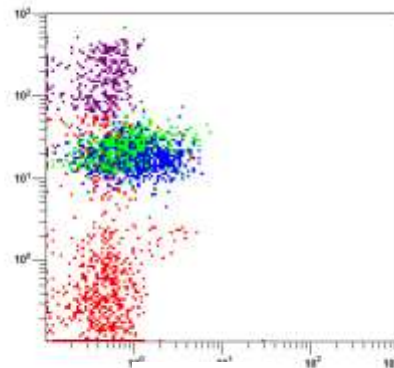
CD10-PC5

CD22-FITC



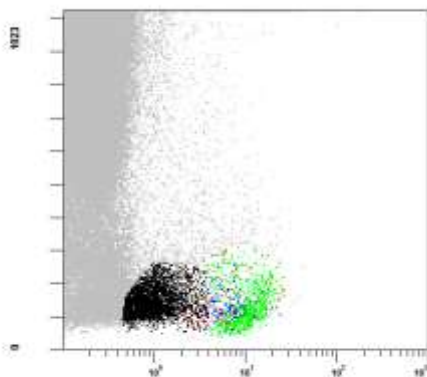
CD38-PC5

CD38-PC5



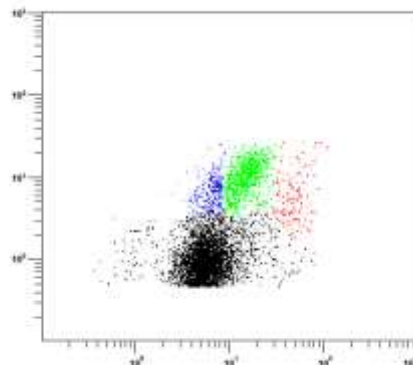
CD34-ECD

SS



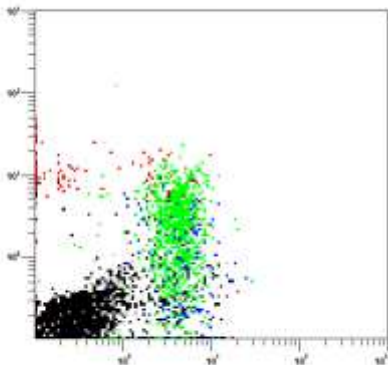
CD19-PE

CD19-PE



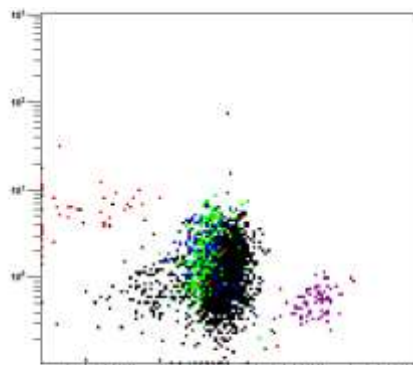
CD45-PC7

CD20-FITC



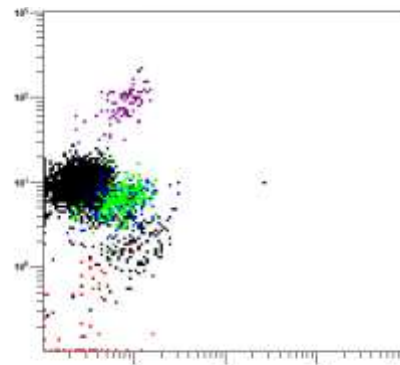
CD10-PC5

CD22-PC5

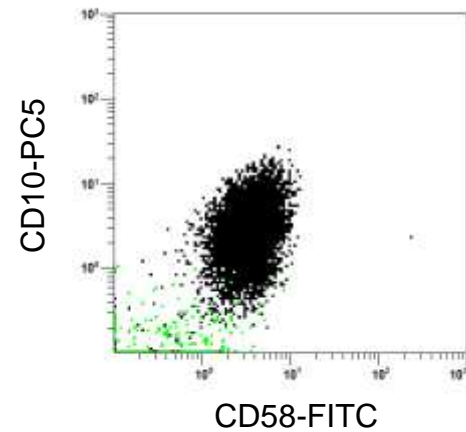
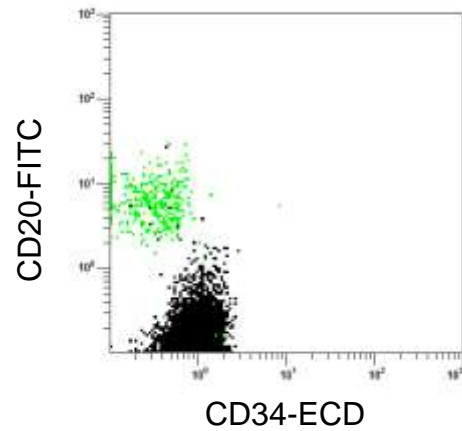
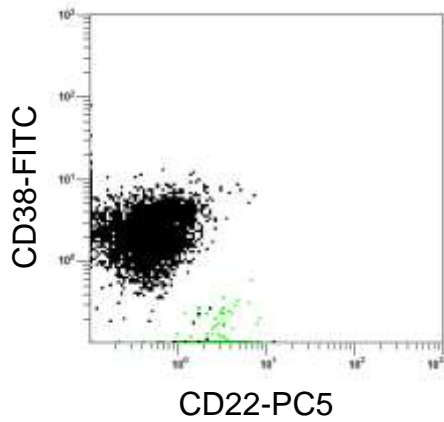
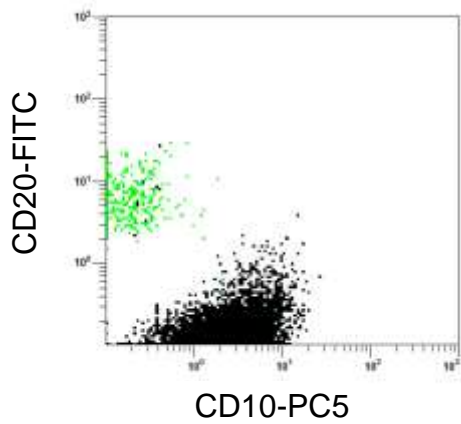
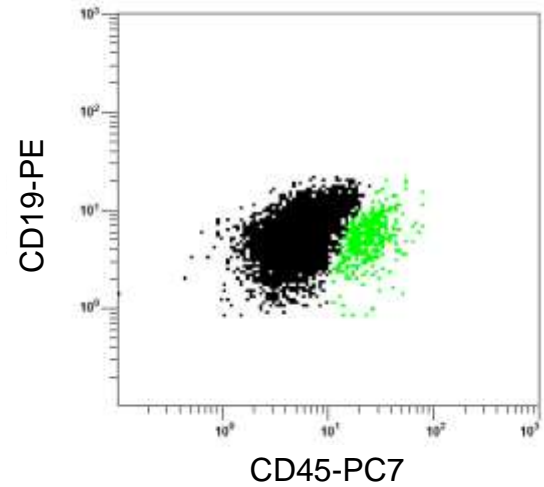
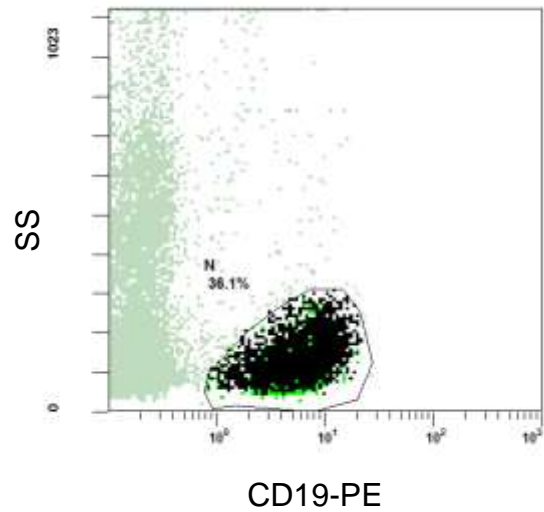
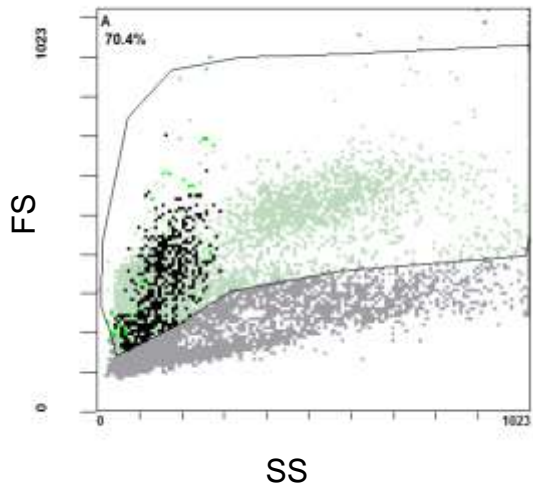


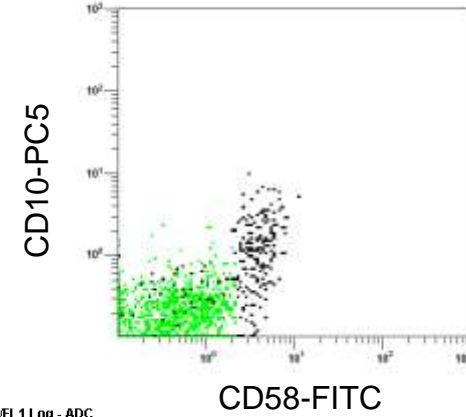
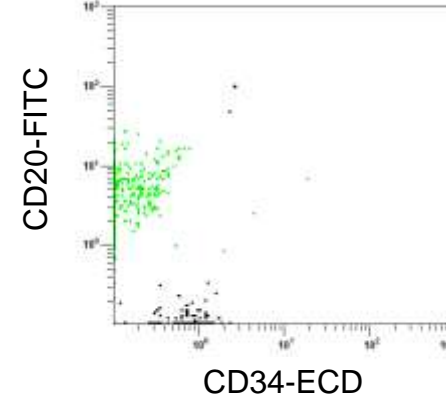
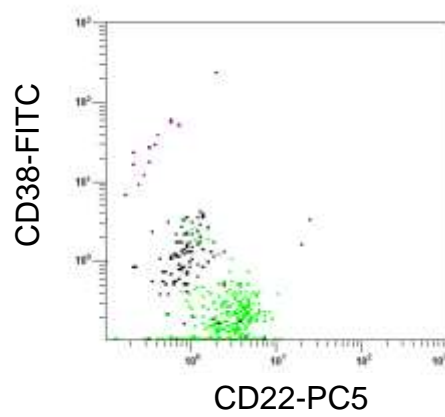
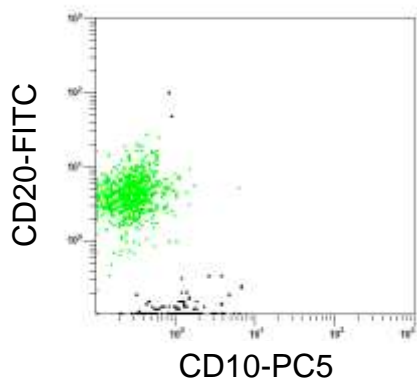
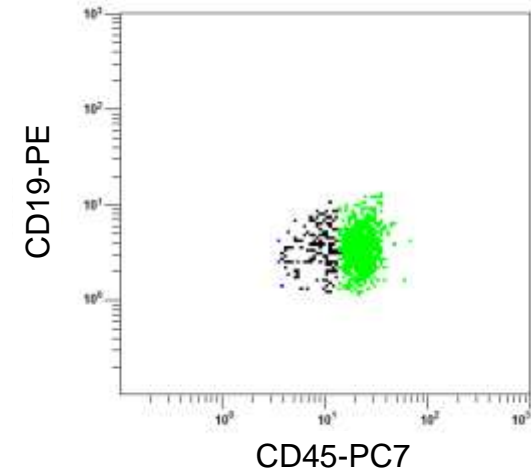
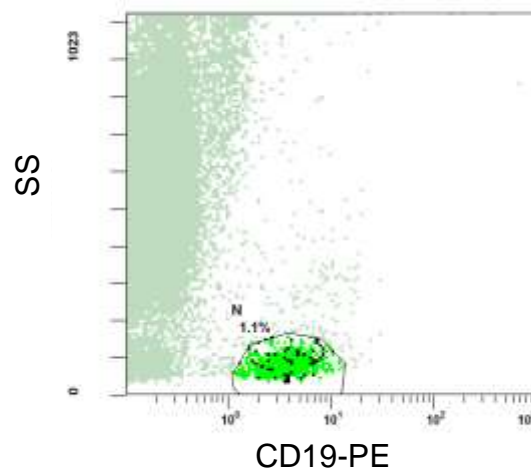
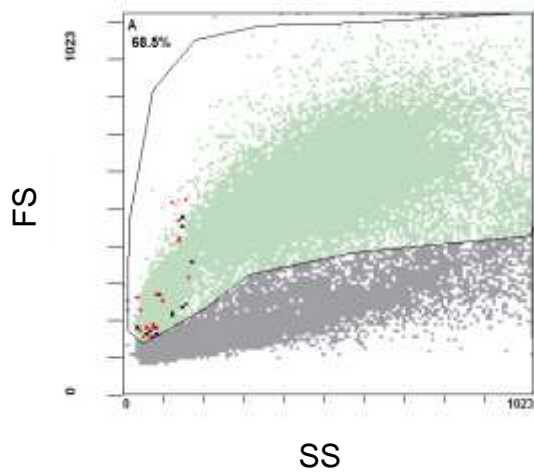
CD38-FITC

CD38-FITC

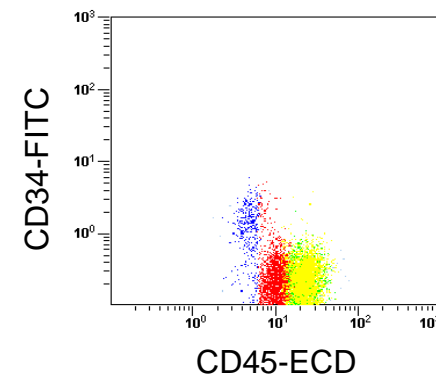
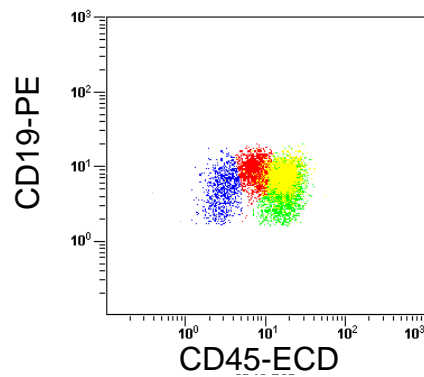


CD34-ECD





[A AND B] FL3 Log/FL1 Log - ADC



ΣΥΝΕΠΩΣ,

- Η ανίχνευση της MRD στη Β ΟΛΛ είναι εφικτή με την κυτταρομετρία ροής
- ✓ βασίζεται στην παρουσία LAIP
- ✓ εξασφαλίζεται με τη χρήση πολλών δεικτών σε διαφορετικούς συνδυασμούς και με
- ✓ δεδομένη τη γνώση της ανοσοφαινοτυπικής ταυτότητας των φυσιολογικών πρόδρομων Β λεμφοκυττάρων
- Η μέθοδος είναι ταχεία, αξιόπιστη και το κόστος ελεγχόμενο