

# Η κυτταρομετρία ροής στα Β λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα

Ελένη Καψάλη

Επίκουρη Καθηγήτρια Αιματολογίας

## Κατάταξη λεμφικών νεοπλασμάτων

- Τα νεοπλάσματα των Β, Τ, ΝΚ λεμφοκυττάρων είναι όγκοι από ανώριμα και ώριμα Β,Τ, ΝΚ λεμφοκύτταρα που αναπτύσσονται σε διάφορα στάδια της διαφοροποίησης
- Τα λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα των ώριμων Β λεμφοκυττάρων αντιστοιχούν στα ώριμα Β λεμφοκύτταρα που έχουν διαφοροποιηθεί σε naïve Β λεμφοκύτταρα ή σε απογόνους τους

## Κατάταξη WHO (2008)-B CLPD (chronic lymphoproliferative disorders)

- Κατάταξη των νοσημάτων βασιζόμενη στο φυσιολογικό αντίστοιχο ώστε τα B λεμφοϋπερπλαστικά να διακρίνονται με βάση την αντίδραση στο βλαστικό κέντρο καθώς και άλλες διαδικασίες ωρίμανσης και ενεργοποίησης.
- Δεν έχουν διαπιστωθεί όμως σε όλες τις περιπτώσεις τα αντίστοιχα φυσιολογικά κύτταρα
- Η σωστή κατάταξη απαιτεί την συγκέντρωση πληροφοριών που προκύπτουν από την μορφολογία, τον ανοσοφαινότυπο, την κλινική εικόνα και την κυτταρογενετική
- Η ακριβής και αναπαραγώγιμη κατάταξη των B λεμφοϋπερπλαστικών νοσημάτων έχει πλέον ιδιαίτερη κλινική σημασία

**Table 1. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues**

<b>Mature B-cell neoplasms</b>
Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma
B-cell prolymphocytic leukemia
Splenic marginal zone lymphoma
Hairy cell leukemia
Splenic lymphoma/leukemia, unclassifiable*
Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma*
Hairy cell leukemia variant*
Lymphoplasmacytic lymphoma
Waldenström macroglobulinemia
Heavy chain diseases
$\alpha$ Heavy chain disease
$\gamma$ Heavy chain disease
$\mu$ Heavy chain disease
Plasma cell myeloma
Solitary plasmacytoma of bone
Extraosseous plasmacytoma
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)
Nodal marginal zone lymphoma
Pediatric nodal marginal zone lymphoma*
Follicular lymphoma

Primary cutaneous follicle centre lymphoma

Mantle cell lymphoma

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS

T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma

Primary DLBCL of the CNS

Primary cutaneous DLBCL, leg type

EBV-positive DLBCL of the elderly\*

DLBCL associated with chronic inflammation

Lymphomatoid granulomatosis

Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma

Intravascular large B-cell lymphoma

ALK-positive large B-cell lymphoma

Plasmablastic lymphoma

Large B-cell lymphoma arising in HHV8-associated multicentric Castleman disease

Primary effusion lymphoma

Burkitt lymphoma

B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma

B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classical Hodgkin lymphoma

## Ανοσοφαινότυπος

- Ο ανοσοφαινότυπος είναι ουσιώδης στην διάγνωση- κατάταξη και παρακολούθηση λευχαιμιών και λεμφωμάτων
- Συνδυασμός με παθολογοανατομία και κυτταρογενετική
- Η μέχρι τώρα προσέγγιση εμφανίζει όμως κάποιες δυσκολίες



## ORIGINAL ARTICLE

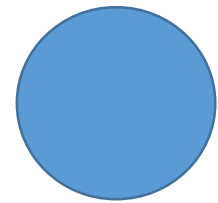
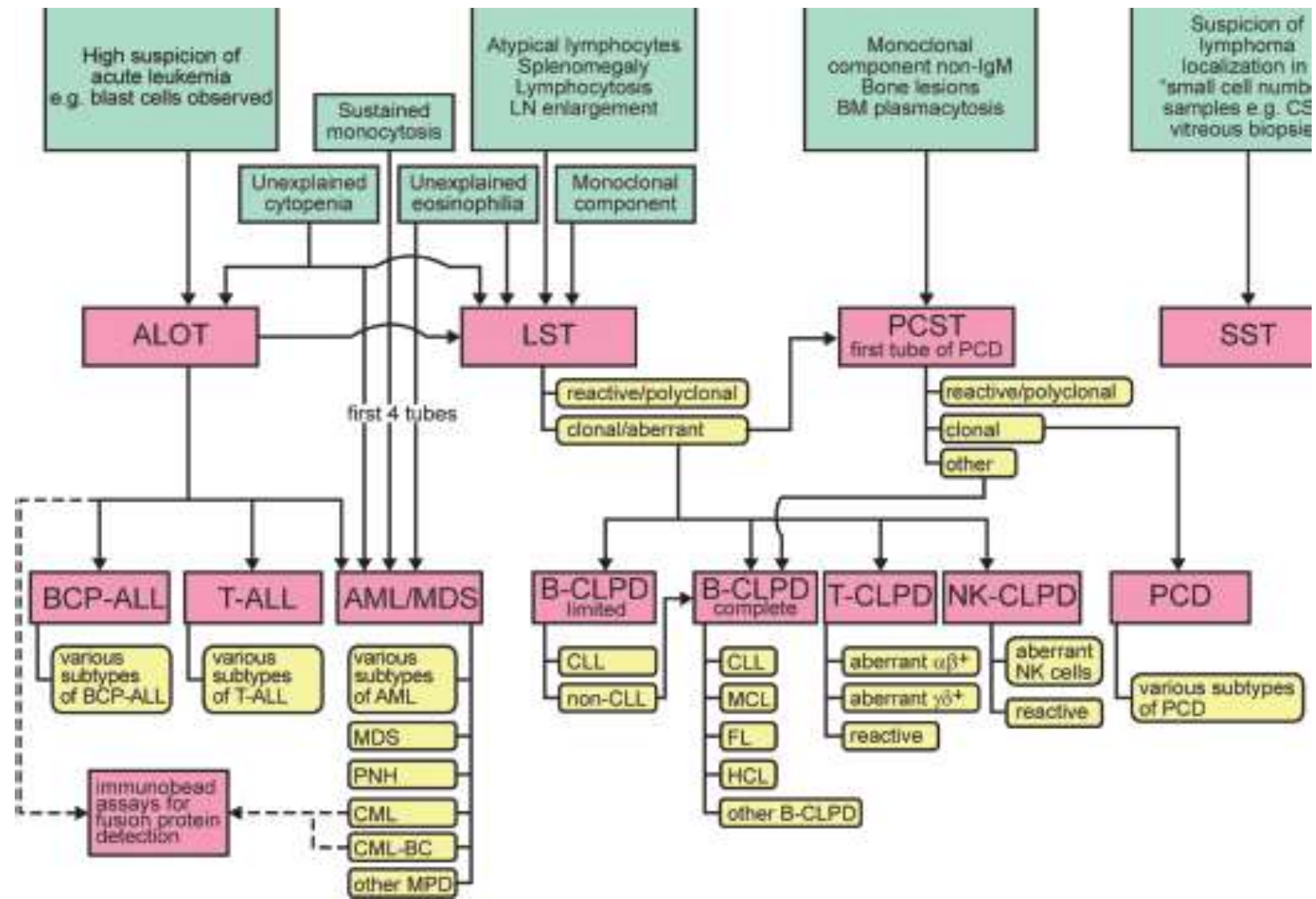
# EuroFlow antibody panels for standardized *n*-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes

JJM van Dongen<sup>1</sup>, L Lhermitte<sup>2</sup>, S Böttcher<sup>3</sup>, J Almeida<sup>4</sup>, VHJ van der Velden<sup>1</sup>, J Flores-Montero<sup>4</sup>, A Rawstron<sup>5</sup>, V Asnafi<sup>2</sup>, Q Lécresse<sup>4</sup>, P Lucio<sup>6</sup>, E Mejstrikova<sup>7</sup>, T Szczepański<sup>8</sup>, T Kalina<sup>7</sup>, R de Tute<sup>5</sup>, M Brüggemann<sup>3</sup>, L Sedek<sup>8</sup>, M Cullen<sup>5</sup>, AW Langerak<sup>1</sup>, A Mendonça<sup>6</sup>, E Macintyre<sup>2</sup>, M Martin-Ayuso<sup>9</sup>, O Hrusak<sup>7</sup>, MB Vidriales<sup>10</sup> and A Orfao<sup>4</sup> on behalf of the EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708)

# EuroFlow Consortium

- Συστηματική αξιολόγηση της συμβολής του ανοσοφαινότυπου στην διάγνωση και κατάταξη των B CLPD
- Σκοπός η δημιουργία μιας πλήρως στανταρισμένης και αναπαραγώγιμης ανοσοφαινοτυπικής διάγνωσης
- Με βάση την κατάταξη της WHO 2008
- B-CLPD panel : εφαρμόζεται όταν ανιχνεύεται ένας κλωνικός πληθυσμός B λεμφοκυττάρων με την εφαρμογή του LST (Lymphoid Screening Tube)





## Lymphoid Screening Tube

- Η διάγνωση των B-CLPD βασίζεται στην ανίχνευση λεμφοκυττάρων με ανοσοφαινότυπο έκτοπο και κλωνικό
- Τα παθολογικά αυτά λεμφοκύτταρα θα συσσωρευθούν στο περιφερικό αίμα, θα διηθήσουν τον μυελό των οστών και θα προκαλέσουν διόγκωση άλλων ιστών (λεμφαδενοπάθεια, σπληνομεγαλία) προκαλώντας και λειτουργική ανεπάρκεια των παραπάνω οργάνων
- Διάκριση από φυσιολογικά και αντιδραστικά λεμφοκύτταρα
- Η κυτταρομετρία ροής αποτελεί σημαντικό εργαλείο στην διάγνωση των CLPD

# Lymphoid screening tube

- Προς το παρόν κάθε εργαστήριο χρησιμοποιεί διαφορετικό πρωτόκολλο screening και διαφορετικό panel αντισωμάτων
- EuroFlow group: σχεδίασε και αξιολόγησε έναν συνδυασμό 8 χρωμάτων με 12 δείκτες αντισωμάτων με σκοπό την ανίχνευση πληθυσμών B, T, NK λεμφοκυττάρων με έκτοπο ανοσοφαινότυπο στο περιφερικό αίμα, μυελό των οστών, λεμφαδένες και σε άλλους ιστούς που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό screening για CLPD

## Lymphoid screening tube

- Επιλογή αντισωμάτων με σκοπό την λεπτομερή ανάλυση των βασικών υποκατηγοριών των λεμφοκυττάρων με αντιδραστήρια που ταυτόχρονα θα καθορίζουν έκτοπους και κλωνικούς φαινότυπους
- CD 45: διαχωρισμός ώριμων από ανώριμα λεμφοκύτταρα
- CD3: διαχωρισμός T λεμφοκυττάρων
- CD19, CD20: διαχωρισμός B λεμφοκυττάρων
- CD45hi, CD19+, CD20hi : ώριμα B λεμφοκύτταρα
- CD45lo, CD19+, CD20-/lo: προγονικά B λεμφοκύτταρα

# Lymphoid screening tube

- NK: ώριμα λεμφοκύτταρα ( CD45hi, SSClo) απουσία CD19+ SmCD3, CD56+
- Επιπλέον δείκτες για υποπληθυσμούς
- SmIgκ, SmIgλ
- CD4,CD8,CD56
- CD56, CD8
- Επιπλέον δείκτες προστέθηκαν στη συνέχεια (CD38)
- Δημιουργήθηκαν 7 εκδοχές LST
- Αξιολόγηση σε σημαντικό αριθμό δειγμάτων ( φυσιολογικά, αντιδραστικά, νεοπλασματικά)

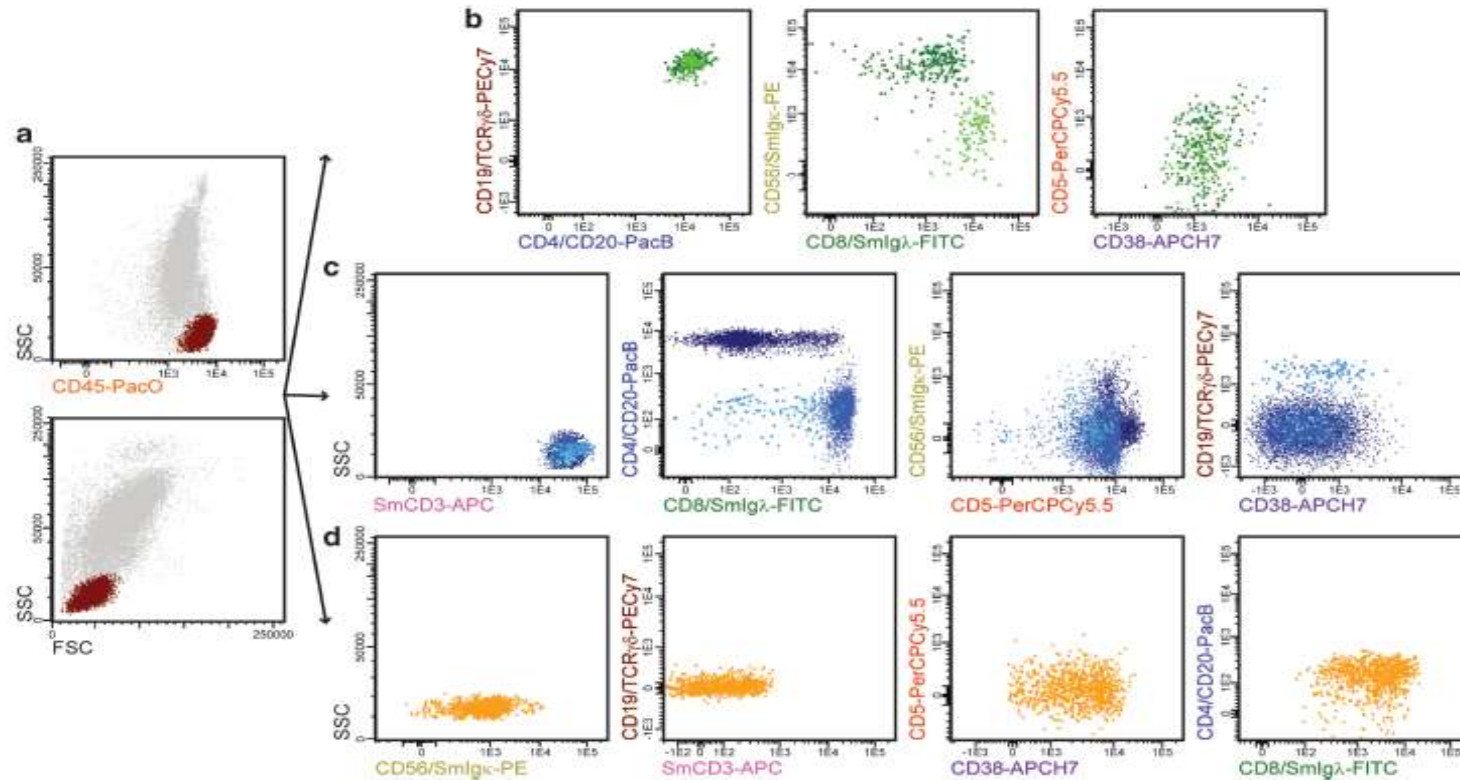


**Table 4.** Utility of LST markers for identification of lymphoid cells in patients with CLPD

<i>Marker</i>	<i>Main normal population(s) identified<sup>a</sup></i>	<i>Positive diagnosis</i>	<i>Population subsetting</i>	<i>Diagnostic subclassification</i>	<i>Potential minimal disease value</i>	<i>Prognostic relevance</i>
CD45	Mature lymphocytes and B-cell precursors	X	X			
CD19	B-cells, T- and NK-cells by exclusion	X		X	X	
CD20	B-cells, T- and NK-cells by exclusion	X	X	X	X	
Smlgλ and κ	Smlg <sup>+</sup> B-cells	X	X		X	
CD38	Plasma cells and B-cell precursors	X	X	X	X	X
SmCD3	T-cells, B- and NK-cells by exclusion	X		X	X	
CD4	CD4 <sup>+</sup> T-cells	X	X	X	X	
CD8	CD8 <sup>hi</sup> T-cells and CD8 <sup>lo</sup> NK-cells	X	X	X	X	
CD56	NK-cells	X	X		X	
TCRγδ	TCRγδ <sup>+</sup> T-cells	X	X		X	
CD5	T-cells	X		X	X	

Abbreviations: CLPD, chronic lymphoproliferative disorders; LST, lymphoid screening tube; Sm, surface membrane. <sup>a</sup>Some markers may be aberrantly expressed in other abnormal lymphoid populations.

# Ανοσοφαινοτυπικό profil λεμφοκυτταρικών πληθυσμών στο περιφερικό αίμα με βάση το Lymphocyte Screening Tube( B, T, NK)



## ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ

- Ολικά λεμφοκύτταρα : 23.9% (11-42.2%)
- T : 19.1% (8.2- 36%)
- CD4 T : 10.1%( 4.1- 18%)
- CD8 T: 7.3% (2.3- 12.7%)
- B : 2.2% (0.4-5%)  
κ/λ : 1.5 (1.1- 2.2)
- NK : 2.6% (1.3- 5.7%)
- Πλασματοκύτταρα : 0.06% (0.01- 0.45%)



**Table 3.** Design of LST in seven consecutive rounds<sup>a</sup>

Version (no. of cases) <sup>b</sup>	Fluorochromes and markers							
	<i>PacB</i>	<i>AmCyan</i>	<i>FITC</i>	<i>PE</i>	<i>PerCPCy5.5</i>	<i>PECy7</i>	<i>APC</i>	<i>APCCy7</i>
1 (n = 9)	CD45	CD19	Smlgλ	Smlgκ	CD8	CD56	CD4 and CD20	SmCD3
	<i>PacB</i>	<i>AmCyan</i>	<i>FITC</i>	<i>PE</i>	<i>PerCPCy5.5</i>	<i>PECy7</i>	<i>APC</i>	<i>AF700</i>
2 (n = 29)	SmCD3	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD19	CD4	CD20	CD38
3 (n = 97)	CD20	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD4	CD19	SmCD3	CD38
4 (n = 26)	<i>PacB</i>	<i>AmCyan</i>	<i>FITC</i>	<i>PE</i>	<i>PerCPCy5.5</i>	<i>PECy7</i>	<i>APC</i>	<i>APCH7</i>
	CD20	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD4	CD19	SmCD3	CD38
5 (n = 19)	CD20	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD4	CD19 and TCRγδ	SmCD3	CD38
6 <sup>c,d</sup> (n = 12)	<i>PacB</i>	<i>PacO</i>	<i>FITC</i>	<i>PE</i>	<i>PerCPCy5.5</i>	<i>PECy7</i>	<i>APC</i>	<i>APCH7</i>
	CD4 and CD20	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD5	CD19 and TCRγδ	CD10	SmCD3
7 (Final) (n = 271)	CD4 and CD20	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD5	CD19 and TCRγδ	SmCD3	CD38

# Αξιολόγηση LST, version 7

- Αξιολόγηση σε όλα τα κέντρα EuroFlow
- 271 δείγματα (175 PB, 75BM, 14LN, 5LN FNA, 1ασκιτικό, 1 πλευριτικό)
- 228/271 δείγματα (84%) ανιχνεύθηκε έκτοπος ανοσοφαινότυπος
- Ενδιάμεση διήθηση 31%( 0.04- 98%)
- 100% ταυτόσημα αποτελέσματα σε σχέση με τις διαδικασίες ρουτίνας
- Ευαισθησία ως 0.1% για την ανίχνευση μικρών πληθυσμών
- Πλήρης ανοσοφαινοτυπική εκτίμηση
- Δείκτες που αναγνωρίζουν και ποσοτικοποιούν τους πληθυσμούς
- Λεπτομερής κατάταξη σε υποκατηγορίες
- Ανίχνευση πιο συχνών έκτοπων συνδυασμών
- Οδηγεί στην σωστή επιλογή του συμπληρωματικού panel για τον πλήρη χαρακτηρισμό του παθολογικού πληθυσμού

## EuroFlow B-CLPD panel

- Αρχικά αξιολόγηση της σχετικής συνεισφοράς των CD19, CD20, CD22, CD37 στην ανίχνευση νεοπλασματικών B λεμφοκυττάρων
- Δύο κέντρα αξιολόγησης, συνδυασμός 6 χρωμάτων
- Βασικό panel (48 B-CLPD: 18 CLL, 4DLBCL, 7 FL, 4MCL, 2ML, 14 unclassified)
- Τα B κύτταρα περιλαμβάνονται τα κύτταρα που εκφράζουν τουλάχιστον 1 από τους 4 δείκτες (CD19, CD20, CD22, CD37) πάνω το όριο αυτοφθορισμού
- Κακοήθης κλώνος, υποπληθυσμός B λεμφοκυττάρων που εμφανίζει είτε έκφραση μιας μόνο ελαφράς αλυσίδας ανοσοσφαιρινών, είτε απουσία έκφρασης
- CLL::Chronic Lymphocytic Leukemia, DLBC: diffuse large B cell lymphoma, FL: follicular lymphoma, MCL: mantle cell lymphoma, ML:marginal lymphoma

## EuroFlow B-CLPD panel

- Κανένα από τα αντισώματα που μελετήθηκαν δεν ήταν από μόνο του επαρκές να αναγνωρίσει τα κακοήθη B κύτταρα σε κάθε ασθενή
- Μειωμένα επίπεδα έκφρασης CD20 πιο συχνά στην ΧΛΛ, υποέκφραση CD19 σε FL, DLBC.
- Πιο αποτελεσματικός συνδυασμός CD20, CD19 (11% μη ανιχνεύσιμα κύτταρα ανά περίπτωση)
- Πιο αποτελεσματικό για την ανίχνευση επιπλέον κυττάρων CD22
- 2ο βασικό panel : B-CLPD (4CLL, 1 DLBC, 3FL, 1MZL, 1unclassified)
- Εκτίμηση CD20-PacB αντί του CD20-APCCy7 αντιδραστηρίου
- Η αλλαγή αυτή βελτίωσε επιπλέον την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού CD20,CD19 με μέγιστη μη ανίχνευση λεμφωματικών κυττάρων στο 2%

## EuroFlow B-CLPD

- 3<sup>ος</sup> βασικός δείκτης: CD45-PacO
- Διάκριση λευκών από προγονικά ερυθρά και από μη αιμοποιητικά κύτταρα
- Διάκριση της πλειοψηφίας των λευκοκυττάρων
- Ο συνδυασμός CD20 –PacB + CD19-PECy7 είναι απαραίτητος αλλά και αρκετός για την ανίχνευση όλων των B κλωνικών κυττάρων

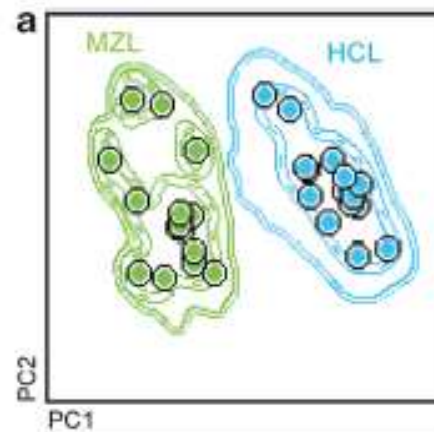
**Table 15.** Design of the B-CPLD panel in seven consecutive testing rounds<sup>a</sup>

Version (no. of cases) <sup>b</sup>	Tube	Fluorochromes and markers							
		PacB	PacO	FITC	PE	PECy5	PECy7	APC	APCCy7
BB 1 (n = 49)	1			Smlgκ	CD37	Smlgλ	CD19	CD22	CD20
BB 2 (n = 10)	1	CD20		Smlgκ	CD37	Smlgλ	CD19	CD22	
		PacB	PacO	FITC	PE	PerCPCy5.5	PECy7	APC	AF700
1 (n = 63)	1	CD20	CD45	Smlgκ	Smlgλ	CD5	CD19	SmlgM	CD22
	2	CD20	CD45	CD103	CD10	CD5	CD19	CD43	CD22
	3	CD20	CD45	CD81	CD79b	CD5	CD19	CD23	CD22
	4	CD20	CD45	CD31	CD63	CD5	CD19	CD185 (CXCR5)	CD22
	5	CD20	CD45	CD24	CD305(LAIR1)	CD5	CD19	CD11a	CD22
	6	CD20	CD45	CD38	CD25	CD138	CD19	CD11c	CD22
		PacB	PacO	FITC	PE	PerCPCy5.5	PECy7	APC	APCH7
2 (n = 43)	1	CD20	CD45	Smlgλ	Smlgκ	CD22	CD19	CD23	CD81
	2	CD20	CD45	CD103	CD25	CD11c	CD19	SmlgM	CD24
	3	CD20	CD45	CD31	CD305(LAIR1)	CD5	CD19	CD43	CD185 (CXCR5)
3 (n = 37)	4	CD20	CD45	CyBcl2	CD10	CD79b	CD19	CD38	CD49d
	1	CD20	CD45	Smlgλ	Smlgκ	CD22	CD19	CD23	CD81
	2	CD20	CD45	CD103	CD25	CD11c	CD19	SmlgM	
	3	CD20	CD45	CD31	CD305(LAIR1)	CD5	CD19	CD43	
	4	CD20	CD45	CyBcl2	CD10	CD79b	CD19	CD38	CD49d
4 (n = 31)	5	CD20	CD45	CD24	CD95		CD19	CD200	
	1	CD20	CD45	Smlgλ	Smlgκ	CD22	CD19	CD23	CD81
	2	CD20	CD45	CD103	CD25	CD11c	CD19	SmlgM	CD43
	3	CD20	CD45	CD31	CD305(LAIR1)	CD5	CD19	CD43	CD24
	4	CD20	CD45	CyBcl2	CD10	CD79b	CD19	CD38	CD49d
	5	CD20	CD45	CD24	CD95		CD19	CD200	CD31
5 (Final) (n = 151)	6	CD20	CD45				CD19	CD185 (CXCR5)	CD103
	1 = LST	CD20	CD45	CD8 and Smlgλ	CD56 and Smlgκ	CD5	CD19 and TCRγδ	SmlgM	CD38
	2	CD20	CD45	CD23	CD10	CD79b	CD19	CD200	CD43
	3	CD20	CD45	CD31	CD305(LAIR1)	CD11c	CD19	SmlgM	CD81
	4	CD20	CD45	CD103	CD95	CD22	CD19	CD185 (CXCR5)	CD49d
5	CD20	CD45	CD62L	CD39	HLADR	CD19	CD27		

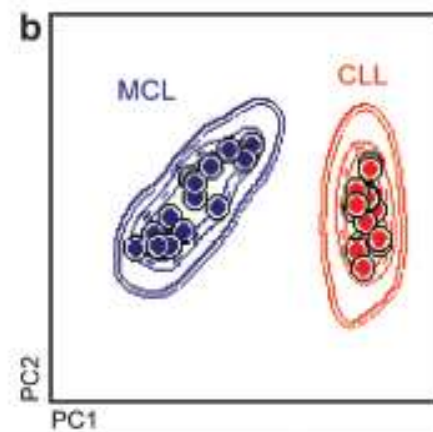
## Euroflow B-CLPD panel- version 5

- Εκτιμήθηκε σε 151 ασθενείς σε 6 EuroFlow
- Υπάρχουν τα αναμενόμενα αποτελέσματα αλλά ακόμη δεν έχουν τεκμηριωθεί σε πολλές δημοσιευμένες μελέτες
- 8 B-CLPD : BL, CLL, DLBCL, FL, HCL, LPL, MCL, MZL
- Δυσκολία διάκρισης μεταξύ DLBCL και FL καθώς μεταξύ MZL και LPL
- Σαφής διαχωρισμός μεταξύ MZL- HCL, μεταξύ MCL-CLL και μεταξύ FL-CLL

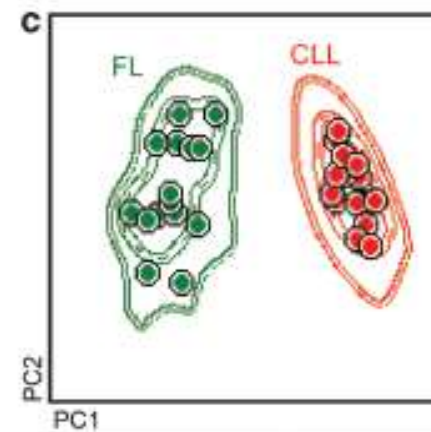
# Διαφορική διάγνωση B-CLPD βασισμένη στο EuroFlow



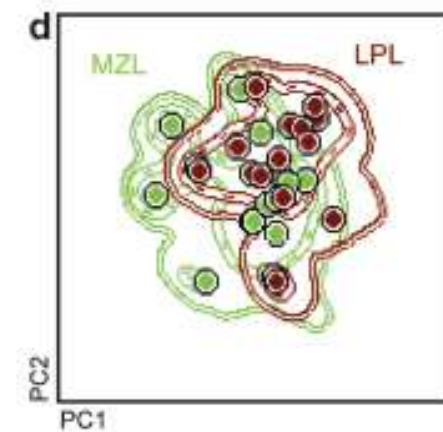
GD305(LAIR1)	12%
CD11c	11%
CD103	8%
CD200	8%
CD22	7%



CD79b	15%
CD200	14%
SmlgM	13%
CD23	9%
CD20	9%



CD79b	10%
CD200	9%
CD43	8%
CD23	7%
CD31	7%



No separation  
between MZL and LPL



## EuroFlow B-CLPD markers

- 10 πιο σημαντικά αντισώματα για δ/δ
- CD20, CD45, CD19, CD5, CD38, CD23, CD10, CD79b, CD200, CD34
- Διαφορική διάγνωση CLL από υπόλοιπα λεμφοϋπερπλαστικά

## Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία

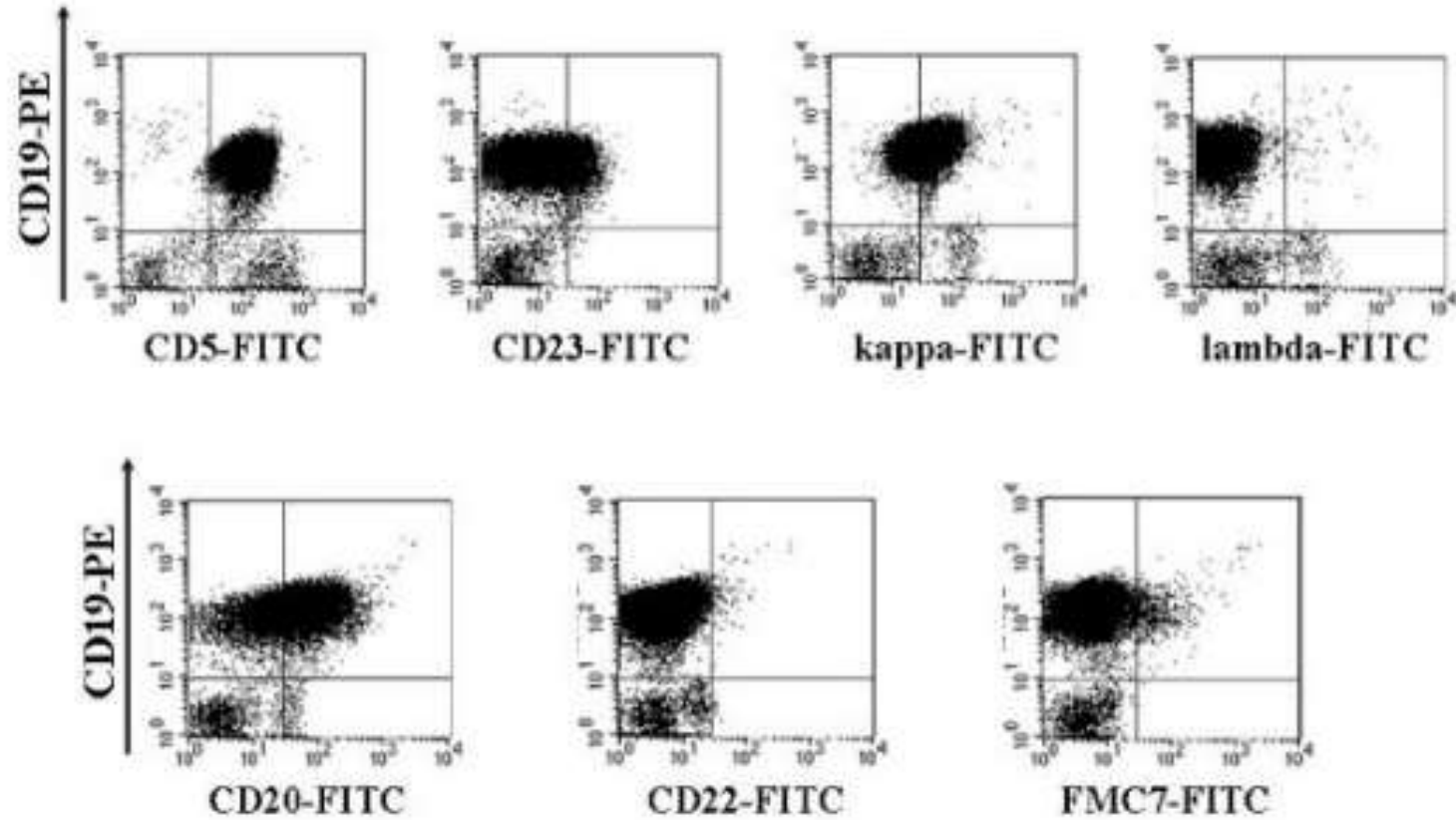
- Πιο συχνή λευχαιμία στον Δυτικό κόσμο
- 7% NHL
- Μικρά , ομοιόμορφα λεμφοκύτταρα ,  $> 5 \times 10^9/L$  στο περιφερικό αίμα, διηθούν μυελό οστών, λεμφαδενες, σπλήνα, ήπαρ
- Χαρακτηριστικός ανοσοφαινότυπος
- Η διάγνωση μπορεί να βασισθεί στην κυτταρομετρία ροής

## Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία

- The immunological profile of B- cell disorders and proposal of scoring system for the diagnosis of CLL. Matutes E et al. Leukemia 1994 Oct; 8(10): 1640-5
- Scoring system: 4-5 τυπική ΧΛΛ, 0-1NHL
- CD23 +(1), CD5+(1), FMC7- (1), CD79b-(1), Smlg -(1)
- CD38, zap 70 : ανίχνευση με ανοσοφαινότυπο, προγνωστική σημασία, συσχέτιση με ταχύτερη εξέλιξη του νοσήματος

# Ανοσοφαινότυπος ΧΛΛ

(Strum I et al. J Med Case Reports, 2008; 2:275)



**Table 2. Immunophenotypic and genetic features of other B-cell lymphomas that may be confused with CLL**

Neoplasm	Slg	clg	CD5	CD10	CD23	CD43	Cyclin D1	Bcl-6 protein*	Genetic abnormality (%)	IgVH genes
CLL	+	-/+	+	-	+	+	-	-	del13q (50); del 11q (20); trisomy 12 (20); del 17p (10)	50% unmutated
LPL	+	+	-	-	-	-/+	-	-	t(9;14)- <i>PAX5R</i>	Mutated
MCL	+	-	+	-	-	+	+	-	t(11;14)- <i>BCL1R</i>	Unmutated (rarely mutated)
FL	+	-	-	+	-/+	-	-	+	t(14;18)- <i>BCL2R</i>	Mutated, ongoing
Extranodal and nodal MZL	+	-/+	-	-	-/+	-/+	-	-	trisomy 3; t(11;18)- <i>API2/MLT</i> ; t(1;14)- <i>BCL10R</i>	Mutated, ongoing
Splenic MZL	+	-/+	-	-	-	-	-	-	del 7q21-32 (40)	50% mutated

LPL indicates lymphoplasmacytic lymphoma; MCL, mantle cell lymphoma; FL, follicle center lymphoma; MZL, marginal zone lymphoma; +, more than 90% positive; -/+, less than 50% positive; and -, less than 10% positive.

\*Residual GC may be + in MZL, MCL.

## Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων

- Νεόπλασμα από μικρά Β λεμφοκύτταρα, με οβάλ πυρήνα και άφθονο κυτταρόπλασμα με προσεκβολές σαν τρίχες
- Περιφερικό αίμα, μυελός οστών, σπλήνας
- 2% NHL
- CD20, CD22, CD11
- CD103, CD25, CD123, Annexin A1 (πιο ειδικός δείκτης)
- CD72, FMC7,
- Cyclin D (weak)
- CD10-, CD5-
- Οριστική διάγνωση με βιοψία

## Λέμφωμα από κύτταρα μανδύα

- 5-10% NHL
- Μικρά ως μεσαία λεμφοκύτταρα με ανώμαλο πυρήνα
- Χαρακτηριστική κυτταρογενετική βλάβη t(11,14), cyclin D1
- Συνήθως στάδιο IV- μικρή επιβίωση
- CD5+, smIg +, FMC7+, CD43+
- CD10-, CD23-, BCL6-, CD200-
- BCL2+
- Οριστική διάγνωση με βιοψία

## Προλεμφοκυτταρική λευχαιμία

- Νεόπλασμα Β προλεμφοκυττάρων που ανιχνεύονται στο περιφερικό αίμα, μυελό των οστών και τον σπλήνα
- Προλεμφοκύτταρα >55% στο περιφερικό αίμα
- 1% B-CLPD
- IgM+/-
- CD19,CD20, CD22, CD79a, CD79b(+)  
CD5 σε 20-30%, CD23(+) σε 10-20%
- ZAP-70, CD38+ χωρίς να σχετίζονται με μεταλλάξεις ανοσοφαιρινών



## Συμπέρασμα

- Κυτταρομετρία ροής- σημαντικός ρόλος στην διάγνωση των Β-λεμφοϋπερπλαστικών
- Ανάλυση μεγάλου αριθμού κυττάρων, ταυτόχρονη έκφραση πολλών αντιγόνων στα ίδια κύτταρα
- Υπάρχουν πλέον σημαντικές πληροφορίες για τον ανοσοφαινοτυπο των Β λεμφοϋπερπλαστικών νοσημάτων
- EuroFlow παρέχει πολλά στοιχεία και σαφείς οδηγίες για την διάγνωση- δεν υπάρχει όμως η δυνατότητα ακόμη να εφαρμοσθούν ευρέως

# Βιβλιογραφία

- Campo E, Swerdlow S, et al. The WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*, 2011;117(19): 5019-5032
- JM van Dongen et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* (2012)26, 1908-1975
- Gribben J. How I treat CLL up front. *Blood* 2010;115(2):187-197
- Matutes E et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994(10):1640-5
- Strum I. et al. Successful long-term monotherapy with rituximab in a patient with chronic lymphocytic leukemia of the B-cell lineage: a case report. *J Med Case Reports*. 2008; 2:275
- Γ. Πάγκαλης και συν. Ανοσοφαινοτυπική μελέτη Β-χρονίων λεμφοϋπερπλαστικών νόσων από την πλευρά του κλινικού. 6<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Κυτταρομετρίας 2010.