

Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (ΜΔΣ)

Ευγενία Βερίγου
Πανεπιστήμιο Πατρών

Γ' Μέρος Βασικής Εκπαίδευσης στην Κυτταρομετρία
Κυτταρομετρία Ροής και Αιματολογία

- ΜΔΣ- κλινική Δχ κ Πχ κατηγοριοποίηση και η σημασία της
- Προτεινόμενα αντιγονικά πάνελ για τον εντοπισμό δυσπλασίας
- Βασικά βήματα ανάλυσης προγονικών κυττάρων
- Βασικά βήματα ανάλυσης ώριμων κυττάρων και η σημασία των άτυπων αντιγονικών εκφράσεων (aberrant antigen expression patterns)
- Αλληλοεπικαλυπτόμενες κλινικές οντότητες (MPN/MDS, AA, ICUS, CIN, PNH..)
- Διαγνωστικά και προγνωστικά κυτταρομετρικά σκορ (και οι τεχνικές δυσκολίες)
- Μελλοντικοί στόχοι

ΜΔΣ

- Κλωνικότητα
- Ετερογένεια
- Διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα
(ΔΔχ: λοιμώξεις, αυτοάνοσα, απλαστική αναιμία, MPN+ίνωση, age-related, ITP, PNH, ...)
- Υποκατηγοριοποίηση
 - Διαγνωστική (FAB, WHO)
 - Προγνωστική (WPSS, IPSS, IPSS-R)

WHO 2008

Classification of MDS

Table 2. WHO classification and criteria for the myelodysplastic syndromes

Disease	Blood findings	Bone marrow findings
Refractory anemia (RA)	Anemia No or rare blasts	Erythroid dysplasia <i>only</i> < 5% blasts < 15% ringed sideroblasts
Refractory anemia with ringed sideroblasts (RARS)	Anemia No blasts	Erythroid dysplasia <i>only</i> ≥ 15% ringed sideroblasts < 5% blasts
Refractory cytopenia with multilineage dysplasia (RCMD)	Cytopenias (bicytopenia or pancytopenia) No or rare blasts No Auer rods < 1 × 10 ⁹ /L monocytes	Dysplasia in ≥ 10% of cells in 2 or more myeloid cell lines < 5% blasts in marrow No Auer rods < 15% ringed sideroblasts
Refractory cytopenia with multilineage dysplasia and ringed sideroblasts (RCMD-RS)	Cytopenias (bicytopenia or pancytopenia) No or rare blasts No Auer rods < 1 × 10 ⁹ /L monocytes	Dysplasia in ≥ 10% of cells in 2 or more myeloid cell lines ≥ 15% ringed sideroblasts < 5% blasts No Auer rods
Refractory anemia with excess blasts-1 (RAEB-1)	Cytopenias < 5% blasts No Auer rods < 1 × 10 ⁹ /L monocytes	Unilineage or multilineage dysplasia 5% to 9% blasts No Auer rods
Refractory anemia with excess blasts-2 (RAEB-2)	Cytopenias 5% to 19% blasts Auer rods ± < 1 × 10 ⁹ /L monocytes	Unilineage or multilineage dysplasia 10% to 19% blasts Auer rods ±
Myelodysplastic syndrome, unclassified (MDS-U)	Cytopenias No or rare blasts No Auer rods	Unilineage dysplasia in granulocytes or megakaryocytes < 5% blasts No Auer rods
MDS associated with isolated del(5q)	Anemia < 5% blasts Platelets normal or increased	Normal to increased megakaryocytes with hypolobated nuclei < 5% blasts No Auer rods Isolated del(5q)

WHO 2008

- Τα ανοσοφαινοτυπικά ευρήματα αποτελούν συμπληρωματικό διαγνωστικό κριτήριο, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όπου η μορφολογία και η ανάλυση του καρυοτύπου δεν παγιώνουν την διάγνωση (>3 ατυπίες έκφρασης αναγνωρίζονται ως ενδεικτικές ΜΔΣ)

“Results from quantitative assessments may be of particular value when bm smears are of suboptimal quality or missing, or monocytic cells are extremely immature (CMML versus AML). Qualitative features may help in reaching the conclusion the patient is suffering from a clonal myeloid disorder [29–32]. In fact, although no marker-abnormality and no abnormal marker profile is specific for MDS, such changes may help in discriminating a normal/reactive bm from a clonal myeloid malignancy (e.g. ICUS versus low risk MDS/RA)”

Valent P. Et al., Leukemia Research 2007, vol 31, 6, p 727-736, ISSN 0145-2126

IPSS, IPSS-R, WPSS

IPSS score *Greenberg P, et al. Blood. 1997;89:2079-2088.*

Prognostic Variable	Score Value				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
BM blasts (%)	<5	5-10	—	11-20	21-30
Karyotype*	Good	Intermediate	Poor		
Cytopenias	0/1	2/3			

Scores for risk groups are as follows: Low, 0; INT-1, 0.5-1.0; INT-2, 1.5-2.0; and High, ≥ 2.5 .

* Good, normal, -Y, del(5q), del(20q); Poor, complex (≥ 3 abnormalities) or chromosome 7 anomalies; Intermediate, other abnormalities.



IPSS-R score

IPSS-R Cytogenetic risk groups*,**

Cytogenetic prognostic subgroups	Cytogenetic abnormalities
Very good	-Y, del(11q)
Good	Normal, del(5q), del(12p), del(20q), double including del(5q)
Intermediate	del(7q), +8, +19, i(17q), any other single or double independent clones
Poor	-7, inv(3)/t(3q)/del(3q), double including -7/del(7q), Complex: 3 abnormalities
Very poor	Complex: >3 abnormalities

IPSS-R Prognostic Score Values*

Prognostic variable	0	0.5	1	1.5	2	3	4
Cytogenetics	Very Good		Good		Intermediate	Poor	Very Poor
BM Blast %	≤ 2		>2- <5%		5-10%	>10%	
Hemoglobin	≥ 10		8-<10	<8			
Platelets	≥ 100	50- <100	<50				
ANC	≥ 0.8	<0.8					

IPSS-R Prognostic Risk Categories/Scores*

RISK CATEGORY	RISK SCORE
Very Low	≤ 1.5
Low	>1.5 - 3
Intermediate	>3 - 4.5
High	>4.5 - 6
Very High	>6

IPSS-R: Prognostic Risk Category Clinical Outcomes*

	No. pts	Very Low	Low	Intermediate	High	Very High
Patients (%)	7012	19%	38%	20%	13%	10%
Survival***		8.8	5.3	3.0	1.6	0.8
AML/25%***,^		NR	10.8	3.2	1.4	0.7

***Medians, years ^Median time to 25% AML evolution

*Greenberg, Tuechler, Schanz et al, Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) for Myelodysplastic Syndrome, Blood 120: 2454, 2012.

**Schanz J et al, J Clin Oncology 2012; 30:820

WPSS score *Malcovati L, et al. JCO, 2007:3503-3510*

Variable	0	1	2	3
WHO category	RA, RARS, 5q-	RCMD, RCMD-RS	RAEB-1	RAEB-2
Karyotype*	Good	Intermediate	Poor	—
Transfusion requirement†	No	Regular	—	—

NOTE. Risk groups were as follows: very low (score = 0), low (score = 1), intermediate (score = 2), high (score = 3 to 4), and very high (score = 5 to 6).
Abbreviations: MDS, myelodysplastic syndrome; RA, refractory anemia; RARS, refractory anemia with ringed sideroblasts; 5q-, myelodysplastic syndrome with isolated del(5q) and marrow blasts less than 5%; RCMD, refractory cytopenia with multilineage dysplasia; RCMD-RS, refractory cytopenia with multilineage dysplasia and ringed sideroblasts; RAEB-1, refractory anemia with excess of blasts-1; RAEB-2, refractory anemia with excess of blasts-2.

*Karyotype was as follows: good: normal, -Y, del(5q), del(20q); poor: complex ($\geq$ three abnormalities), chromosome 7 anomalies; and intermediate: other abnormalities.

†RBC transfusion dependency was defined as having at least one RBC transfusion every 8 weeks over a period of 4 months.

- ΜΔΣ- κλινική Δχ κ Πχ κατηγοριοποίηση και η σημασία της
- Προτεινόμενα αντιγονικά πάνελ για τον εντοπισμό δυσπλασίας
- Βασικά βήματα ανάλυσης προγονικών κυττάρων
- Βασικά βήματα ανάλυσης ώριμων κυττάρων και η σημασία των άτυπων αντιγονικών εκφράσεων (aberrant antigen expression patterns)
- Αλληλοεπικαλυπτόμενες κλινικές οντότητες (MPN/MDS, AA, ICUS, CIN, PNH..)
- Διαγνωστικά και προγνωστικά κυτταρομετρικά σκορ (και οι τεχνικές δυσκολίες)
- Μελλοντικοί στόχοι

Προετοιμασία δειγμάτων μυελού

European LeukemiaNet recommendations 2009

- Αντιπηκτικό : Ηπαρίνη (εναλλακτικά EDTA)
- Θερμοκρασία δωματίου
- Χρόνος επεξεργασίας δείγματος <24 ώρες
- Λύση ερυθροκυττάρων: χλωριούχο αμμώνιο πριν ή μετά την σήμανση
- Μονιμοποίηση: Παραφορμαλδεΰδη (0.5%)
- Για την ανάλυση
 - Εξαίρεση διπλετών
 - Ορισμός περιοχής άωρων κυττάρων: προγονικά/προβαθμίδες (progenitors) έναντι βλαστών (blasts)
 - Άκκοκα ή υποκοκκιωμένα ουδετερόφιλα: αλληλοεπικάλυψη με μονοκύτταρα και προγονικά, εκτίμηση του πλάγιου σκεδασμού (SSC), επιβεβαίωση με σύνολα δεικτών
 - GPI-anchored αντιγόνα (π.χ. CD14, CD16, CD24): αλλαγή έκφρασης επί παρουσίας PNH κλώνου

Ανοσοφαινότυπος και Δυσπλασία

- **ΔΕΝ** υπάρχει **ΕΝΑΣ** δείκτης ειδικός-ενδεικτικός για δυσπλασία
- **ΔΕΝ** υπάρχει **ΜΙΑ** ανάλυση για την ανάδειξη δυσπλασίας και κλωνικότητας
- Σύνολο αντιγόνων προς εξέταση και σχέσεων αντιγονικής έκφρασης, **ετερογένεια ευρημάτων**, όχι πάντα ενιαία “ανοσοφαινοτυπική ταυτότητα” κλωνικού πληθυσμού

“MDS are abnormal proliferations of hematopoietic stem cells that RETAIN THEIR CAPACITY TO DIFFERENTIATE but do so IN AN INEFFICIENT MANNER..”, L Malcovati et al., Flow Cytometry Evaluation of Erythroid and Myeloid Dysplasia in Patients with Myelodysplastic Syndromes, Leukemia 2005

Table 1. Recommended minimal requirements to assess dysplasia by flow cytometry

<i>Bone marrow subset</i>	<i>Recommended analyses</i>	<i>Aberrancy</i>
Immature myeloid and monocytic progenitors	Percentage of cells in nucleated cell fraction ^a Expression of CD45 Expression of CD34 Expression of CD117 Expression of HLA-DR Expression of CD13 and CD33 Asynchronous expression of CD11b, CD15 Expression of CD5, CD7, CD19, CD56 ^b	Increased percentage Lack of/decreased/increased Lack of/decreased/increased Homogenous under/overexpression Lack of/increased expression Lack of/decreased/increased Presence of mature markers Presence of lineage infidelity markers
Maturing neutrophils	Percentage of cells as ratio to lymphocytes SSC as ratio vs SSC of lymphocytes Relationship of CD13 and CD11b Relationship of CD13 and CD16 Relationship of CD15 and CD10	Decreased Decreased Altered pattern ^c Altered pattern ^c Altered pattern ^c ; for example, lack of CD10 on mature neutrophils
Monocytes	Percentage of cells Distribution of maturation stages Relationship of HLA-DR and CD11b Relationship of CD36 and CD14 Expression of CD13 and CD33 Expression of CD56 ^b	Decreased/increased Shift towards immature Altered pattern ^c Altered pattern ^c (Homogenous) under/overexpression Presence of lineage infidelity marker
Progenitor B cells	Enumeration as fraction of total CD34+ based on CD45/CD34/SSC in combination with CD10 or CD19	Decreased or absent
Erythroid compartment ^d	Percentage of nucleated erythroid cells Relationship CD71 and CD235a Expression of CD71 Expression of CD36 Percentage of CD117-positive precursors	Increased Altered pattern ^c Decreased Decreased Increased

^aDiscrepancies in counts between several definitions indicate aberrancies. ^bTo be used with caution, as CD56 can be upregulated upon activation, be aware of normal cut-off values (also in stressed marrow). ^cAltered patterns can include altered distribution of maturation stages and/or altered expression levels of indicated antigens. ^dUnder evaluation. Examples of several flow cytometric aberrancies in myelodysplastic syndrome can be found on the European LeukemiaNet website: www.leukemia-net.org.

Αντιγονικοί δείκτες για εκτίμηση δυσπλασίας

Table 3. Proposed core markers in the analysis of dysplasia by flow cytometry

General core markers	Erythroid	Progenitors	Maturing neutrophils	Monocytes
CD45	CD45	CD45	CD45	CD45
-	CD71	-	-	-
-	CD235a	-	-	-
CD34	-	CD34	CD34	CD34
CD117	CD117	CD117	CD117	CD117
HLA-DR	-	HLA-DR	HLA-DR	HLA-DR
CD11b	-	CD11b	CD11b	CD11b
CD13	-	CD13	CD13	CD13
CD16	-	-	CD16	CD16
CD33	-	-	CD33	CD33
CD14	-	-	CD14	CD14
-	CD36	-	-	CD36
-	-	-	CD64	CD64
CD7	-	CD7	-	-
CD56	-	CD56	CD56	CD56
CD19	-	CD19	-	-
-	-	CD5	-	-
-	-	-	-	CD2
-	-	CD15	CD15	-
-	-	-	CD10	-

Abbreviation: MDS, myelodysplastic syndrome. CD2 and CD25 can be added to analyze aberrant mast cells. In about 1-3% of all patients with MDS, a co-existing systemic mastocytosis (SM) is found.⁶¹ The diagnosis then changes to SM-MDS as per the WHO criteria. Aberrant mast cells in SM are CD117^{bright} and aberrantly express CD2 and/or CD25.

- Back-bone marker: CD45
- Ορισμός ποσοστού περιοχών επί “εμπύρηνων” (εξαίρεση ώριμων ερυθρών και αιμοπεταλίων- χρήση Draq5,Draq7) ή επί “εκτός ερυθρών” (εξαίρεση CD45neg- προσοχή στα CD45neg προγονικά κύτταρα)

- ΜΔΣ- κλινική Δχ κ Πχ κατηγοριοποίηση και η σημασία της
- Προτεινόμενα αντιγονικά πάνελ για τον εντοπισμό δυσπλασίας
- Βασικά βήματα ανάλυσης προγονικών κυττάρων
- Βασικά βήματα ανάλυσης ώριμων κυττάρων και η σημασία των άτυπων αντιγονικών εκφράσεων (aberrant antigen expression patterns)
- Αλληλοεπικαλυπτόμενες κλινικές οντότητες (MPN/MDS, AA, ICUS, CIN, PNH..)
- Διαγνωστικά και προγνωστικά κυτταρομετρικά σκορ (και οι τεχνικές δυσκολίες)
- Μελλοντικοί στόχοι

Table 1. Recommended minimal requirements to assess dysplasia by flow cytometry

<i>Bone marrow subset</i>	<i>Recommended analyses</i>	<i>Aberrancy</i>
Immature myeloid and monocytic progenitors	Percentage of cells in nucleated cell fraction ^a Expression of CD45 Expression of CD34 Expression of CD117 Expression of HLA-DR Expression of CD13 and CD33 Asynchronous expression of CD11b, CD15 Expression of CD5, CD7, CD19, CD56 ^b	Increased percentage Lack of/decreased/increased Lack of/decreased/increased Homogenous under/overexpression Lack of/increased expression Lack of/decreased/increased Presence of mature markers Presence of lineage infidelity markers
Maturing neutrophils	Percentage of cells as ratio to lymphocytes SSC as ratio vs SSC of lymphocytes Relationship of CD13 and CD11b Relationship of CD13 and CD16 Relationship of CD15 and CD10	Decreased Decreased Altered pattern ^c Altered pattern ^c Altered pattern ^c ; for example, lack of CD10 on mature neutrophils
Monocytes	Percentage of cells Distribution of maturation stages Relationship of HLA-DR and CD11b Relationship of CD36 and CD14 Expression of CD13 and CD33 Expression of CD56 ^b	Decreased/increased Shift towards immature Altered pattern ^c Altered pattern ^c (Homogenous) under/overexpression Presence of lineage infidelity marker
Progenitor B cells	Enumeration as fraction of total CD34+ based on CD45/CD34/SSC in combination with CD10 or CD19	Decreased or absent
Erythroid compartment ^d	Percentage of nucleated erythroid cells Relationship CD71 and CD235a Expression of CD71 Expression of CD36 Percentage of CD117-positive precursors	Increased Altered pattern ^c Decreased Decreased Increased

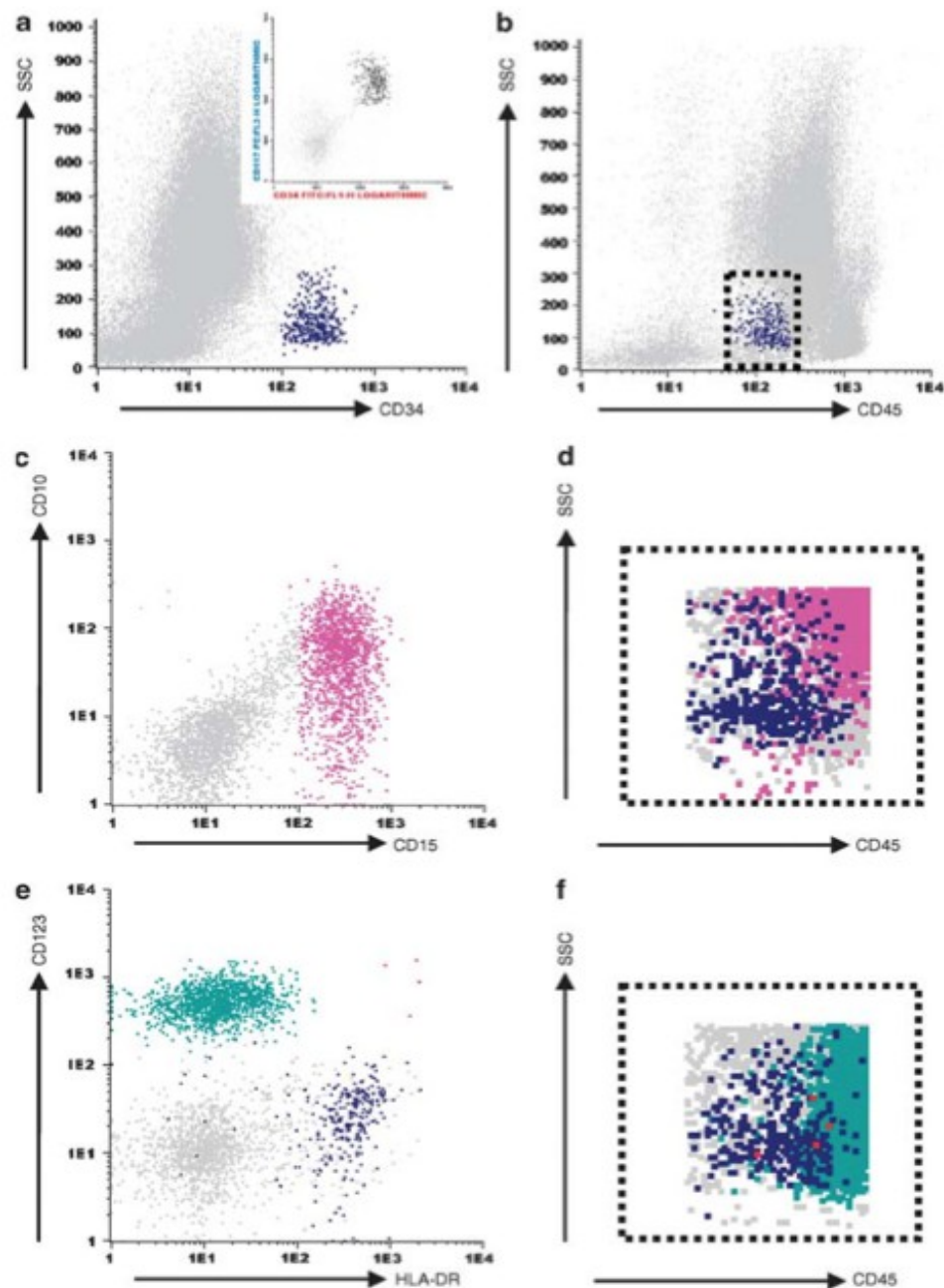
^aDiscrepancies in counts between several definitions indicate aberrancies. ^bTo be used with caution, as CD56 can be upregulated upon activation, be aware of normal cut-off values (also in stressed marrow). ^cAltered patterns can include altered distribution of maturation stages and/or altered expression levels of indicated antigens. ^dUnder evaluation. Examples of several flow cytometric aberrancies in myelodysplastic syndrome can be found on the European LeukemiaNet website: www.leukemia-net.org.

Εντοπισμός και καθορισμός ποσοστού προγονικών κυττάρων

- 1) Ορισμός παραθύρου προγονικών κυττάρων
- 2) Εξαίρεση βασεόφιλων, πλασματοκυττάρων- δένδριτικών και άκοκκων κοκκιοκυττάρων
- 3) Διάκριση κυτταρικής ταυτότητας προγονικών κυττάρων
 - *Μυελική σειρά*
 - *Μονοκυτταρική σειρά*
 - *Προβαθμίδες Β λεμφοκυττάρου (αιματογόνια I και II)*

Αξιοπιστία μέτρησης???

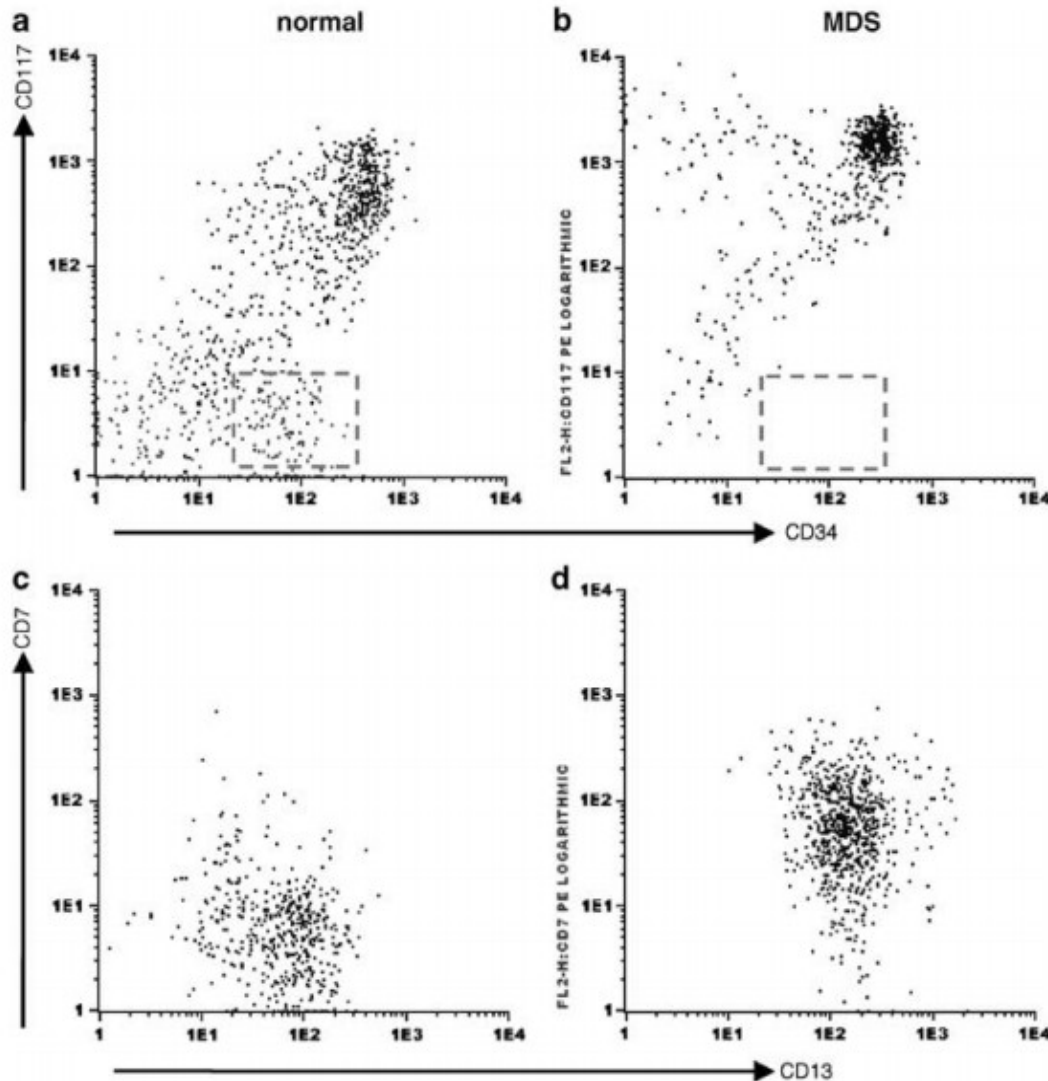
Ανάλυση (παράδειγμα 1)



- (a) Καθορισμός CD34+ κυττάρων (μπλέ) και (b) εντοπισμός των κυττάρων στο στικτόγραμμα SSC/CD45
- (c) καθορισμός ώριμων κοκκιοκυττάρων(ροζ) και (d) αλληλοεπικάλυψη με προγονικά
- (e) καθορισμός βασεόφιλων (πράσινο) και δενδριτικών (κόκκινο) και (f) αλληλοεπικάλυψη με προγονικά

"Standardization of FC in myelodysplastic Syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group", TM Westers et al., Leukemia 2012

Φαινότυπος Προγονικών κυττάρων



- CD45^{dim}/SSC^{low/int}/CD19^{neg}
- CD34/HLA-DR/CD117
- Maturity markers: CD15, CD10, CD11b, CD24
- Ατυπίες φαινότυπου μυελικών προγονικών κυττάρων: Υπο-/Υπερ- έκφραση, ασύγχρονη έκφραση, λεμφοκυτταρικοί δείκτες

“Standardization of FC in myelodysplastic Syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group”, TM Westers et al., Leukemia 2012

- ΜΔΣ- κλινική Δχ κ Πχ κατηγοριοποίηση και η σημασία της
- Προτεινόμενα αντιγονικά πάνελ για τον εντοπισμό δυσπλασίας
- Βασικά βήματα ανάλυσης προγονικών κυττάρων
- Βασικά βήματα ανάλυσης ώριμων κυττάρων και η σημασία των άτυπων αντιγονικών εκφράσεων (aberrant antigen expression patterns)
- Αλληλοεπικαλυπτόμενες κλινικές οντότητες (MPN/MDS, AA, ICUS, CIN, PNH..)
- Διαγνωστικά και προγνωστικά κυτταρομετρικά σκορ (και οι τεχνικές δυσκολίες)
- Μελλοντικοί στόχοι

Φυσιολογική Ωρίμανση και Διαφοροποίηση

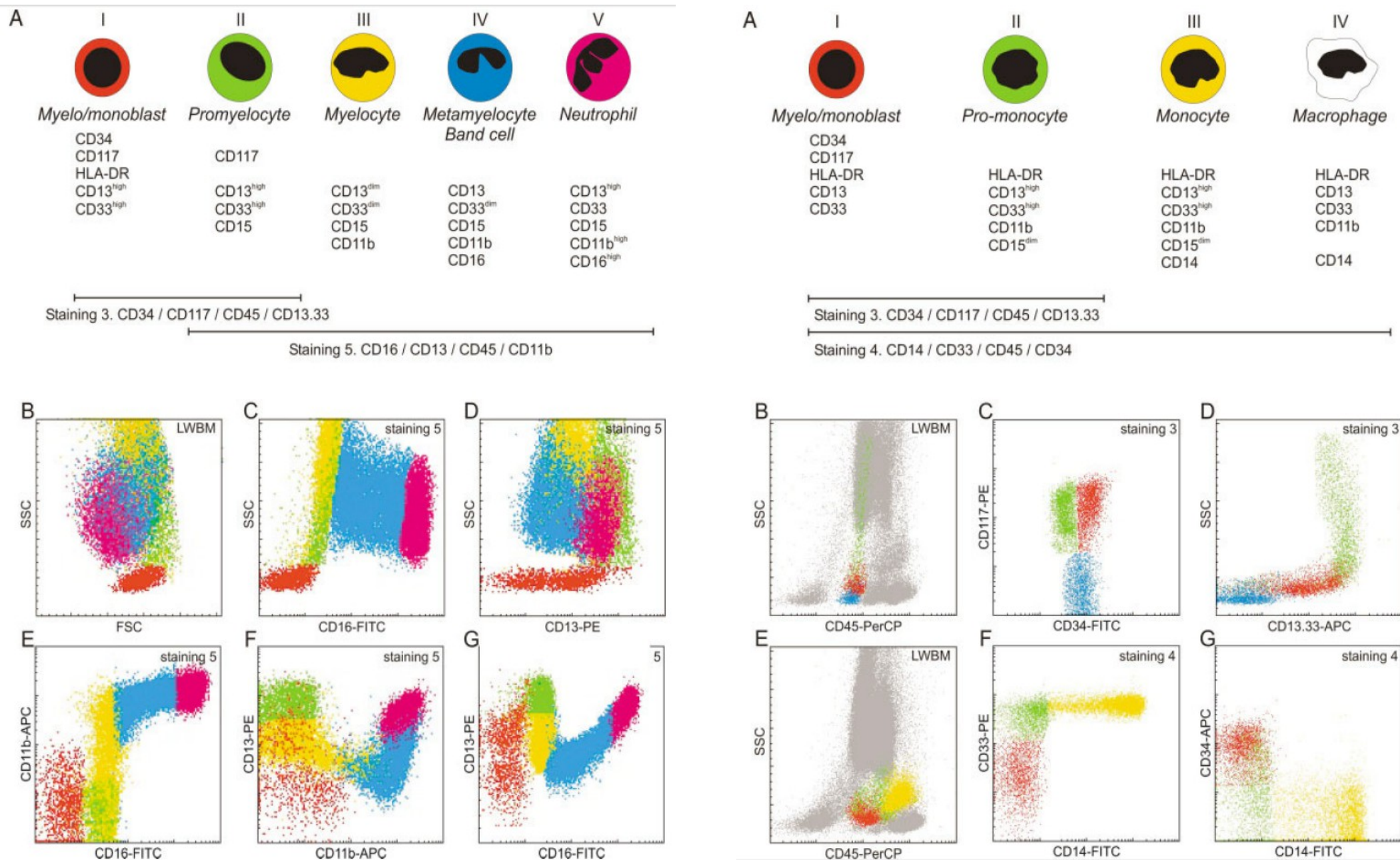
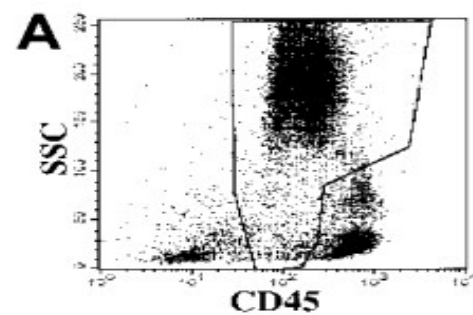
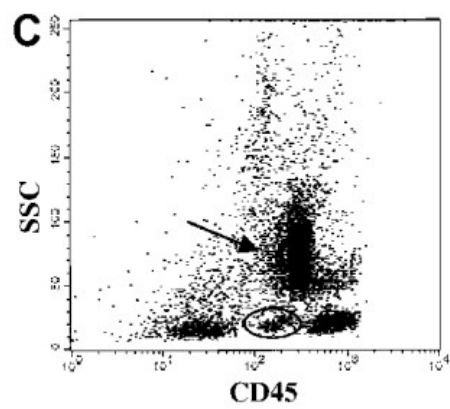
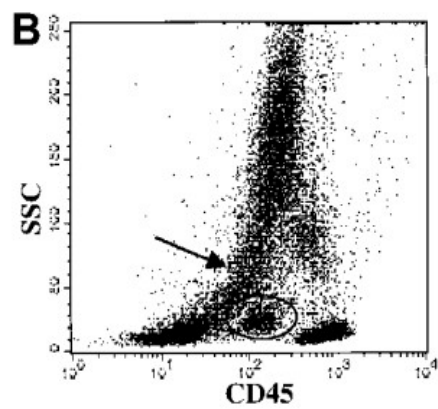
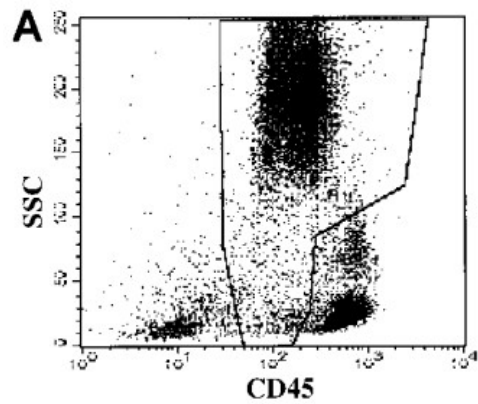


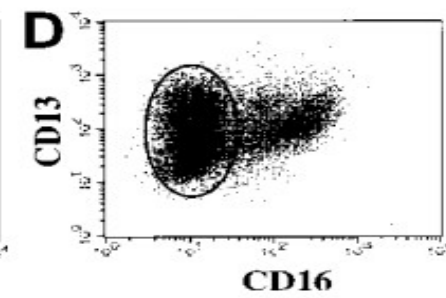
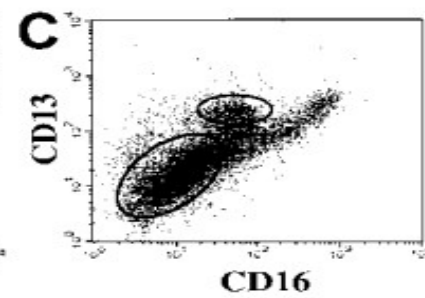
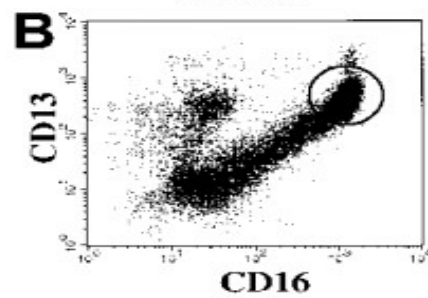
Table 1. Recommended minimal requirements to assess dysplasia by flow cytometry

<i>Bone marrow subset</i>	<i>Recommended analyses</i>	<i>Aberrancy</i>
Immature myeloid and monocytic progenitors	Percentage of cells in nucleated cell fraction ^a Expression of CD45 Expression of CD34 Expression of CD117 Expression of HLA-DR Expression of CD13 and CD33 Asynchronous expression of CD11b, CD15 Expression of CD5, CD7, CD19, CD56 ^b	Increased percentage Lack of/decreased/increased Lack of/decreased/increased Homogenous under/overexpression Lack of/increased expression Lack of/decreased/increased Presence of mature markers Presence of lineage infidelity markers
Maturing neutrophils	Percentage of cells as ratio to lymphocytes SSC as ratio vs SSC of lymphocytes Relationship of CD13 and CD11b Relationship of CD13 and CD16 Relationship of CD15 and CD10	Decreased Decreased Altered pattern ^c Altered pattern ^c Altered pattern ^c ; for example, lack of CD10 on mature neutrophils
Monocytes	Percentage of cells Distribution of maturation stages Relationship of HLA-DR and CD11b Relationship of CD36 and CD14 Expression of CD13 and CD33 Expression of CD56 ^b	Decreased/increased Shift towards immature Altered pattern ^c Altered pattern ^c (Homogenous) under/overexpression Presence of lineage infidelity marker
Progenitor B cells	Enumeration as fraction of total CD34+ based on CD45/CD34/SSC in combination with CD10 or CD19	Decreased or absent
Erythroid compartment ^d	Percentage of nucleated erythroid cells Relationship CD71 and CD235a Expression of CD71 Expression of CD36 Percentage of CD117-positive precursors	Increased Altered pattern ^c Decreased Decreased Increased

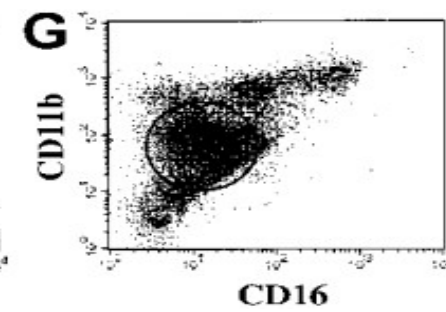
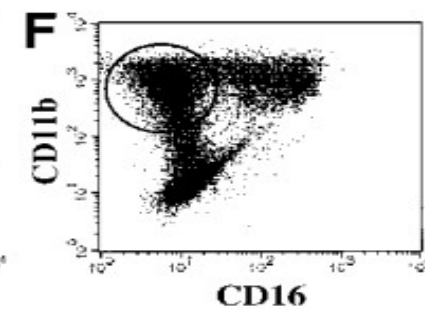
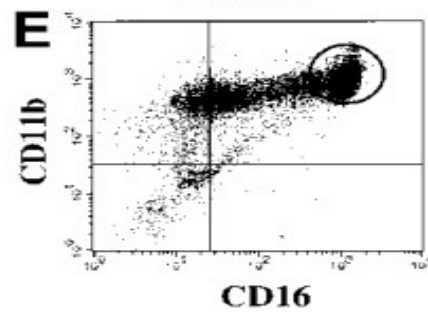
^aDiscrepancies in counts between several definitions indicate aberrancies. ^bTo be used with caution, as CD56 can be upregulated upon activation, be aware of normal cut-off values (also in stressed marrow). ^cAltered patterns can include altered distribution of maturation stages and/or altered expression levels of indicated antigens. ^dUnder evaluation. Examples of several flow cytometric aberrancies in myelodysplastic syndrome can be found on the European LeukemiaNet website: www.leukemia-net.org.

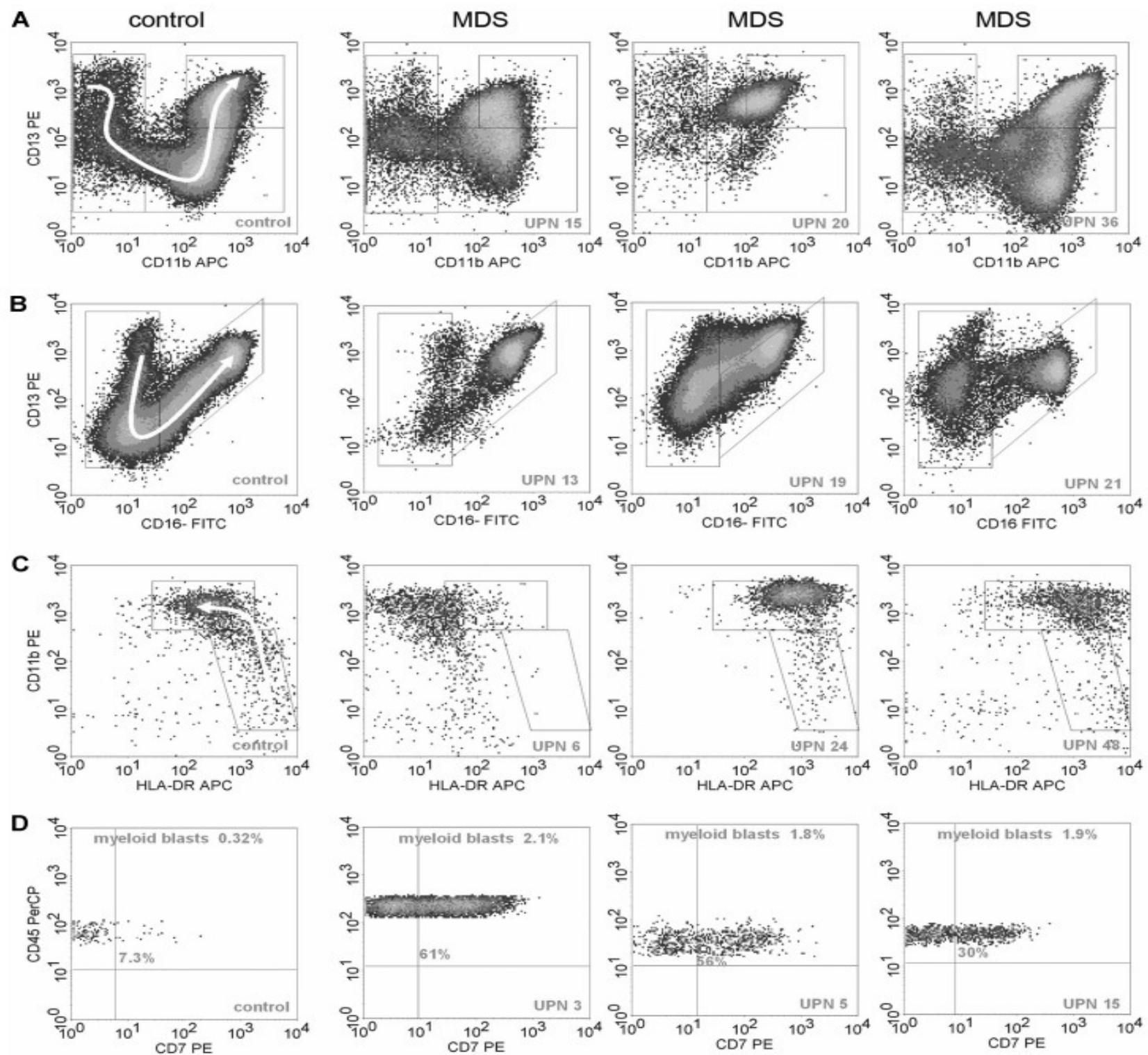


Normal

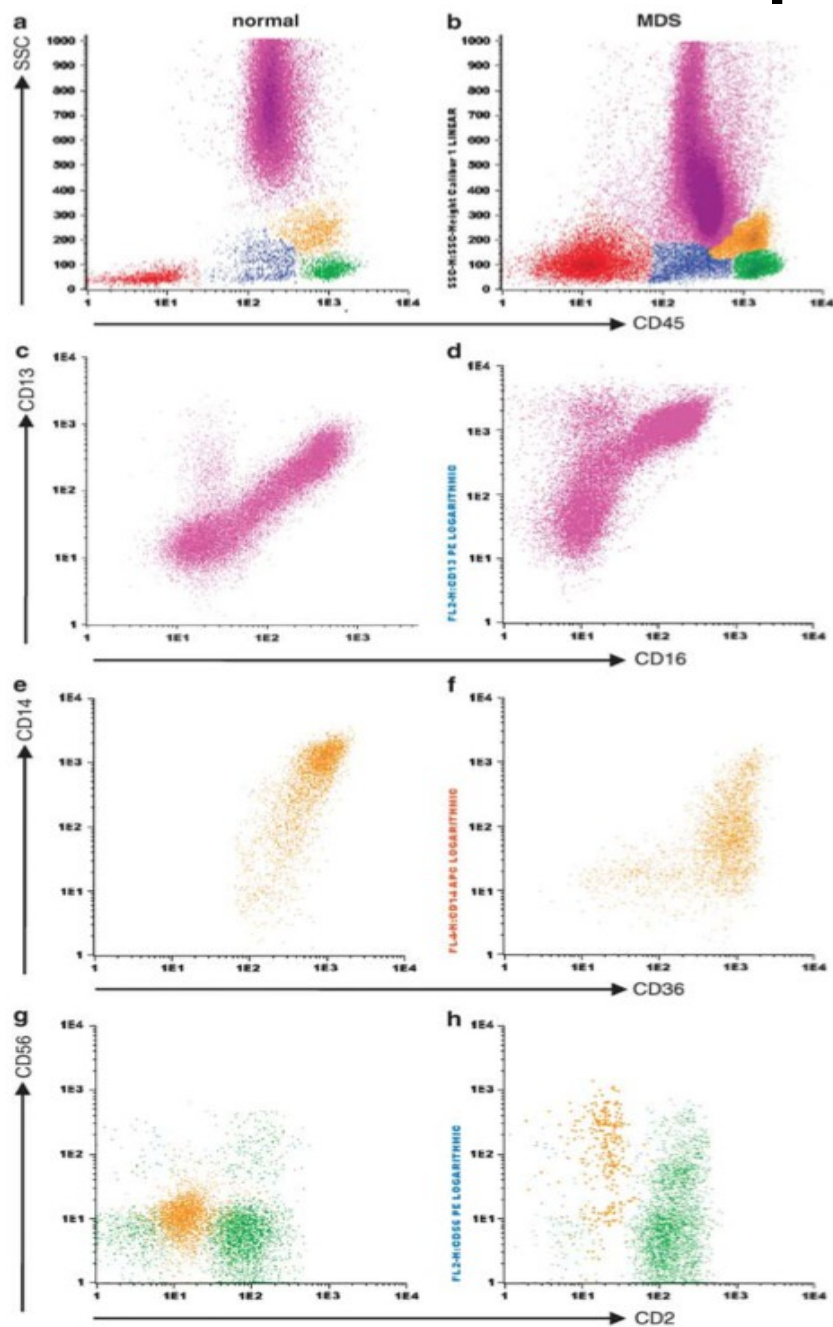


Normal





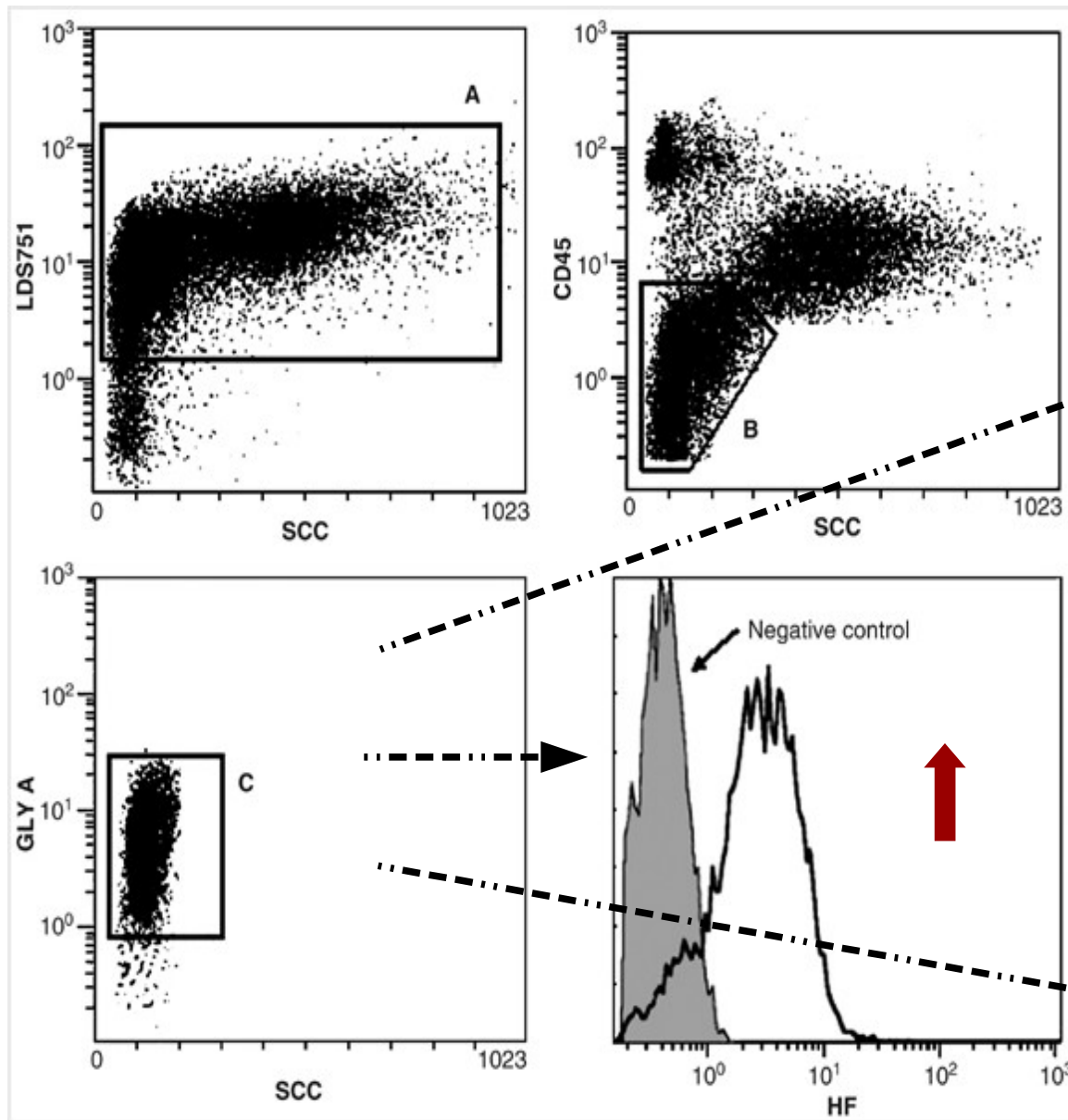
Ανάλυση (παράδειγμα 2)



- Σύγκριση μοτίβων αντιγονικής έκφρασης σε φυσιολογικό μυελό (αριστερά) και ΜΔΣ (δεξιά).
- Οι πληθυσμοί που ελέγχονται είναι
 - Ώριμα Κοκκιοκύτταρα (ροζ)
 - Ώριμα μονοκύτταρα (πορτοκαλί)
 - Ώριμα λεμφοκύτταρα (πράσινο)

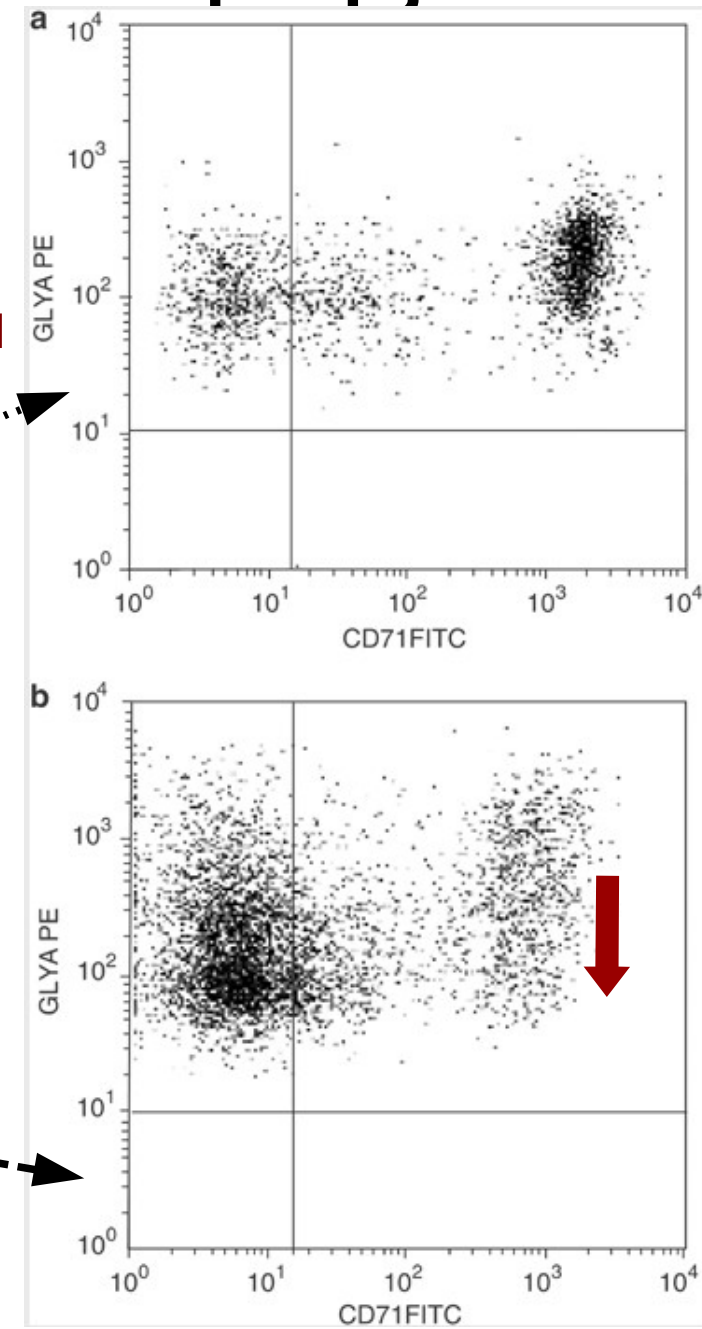
“Standardization of FC in myelodysplastic Syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group”, TM Westers et al., Leukemia 2012

Εκτίμηση δυσερυθροποίησης



normal

MDS

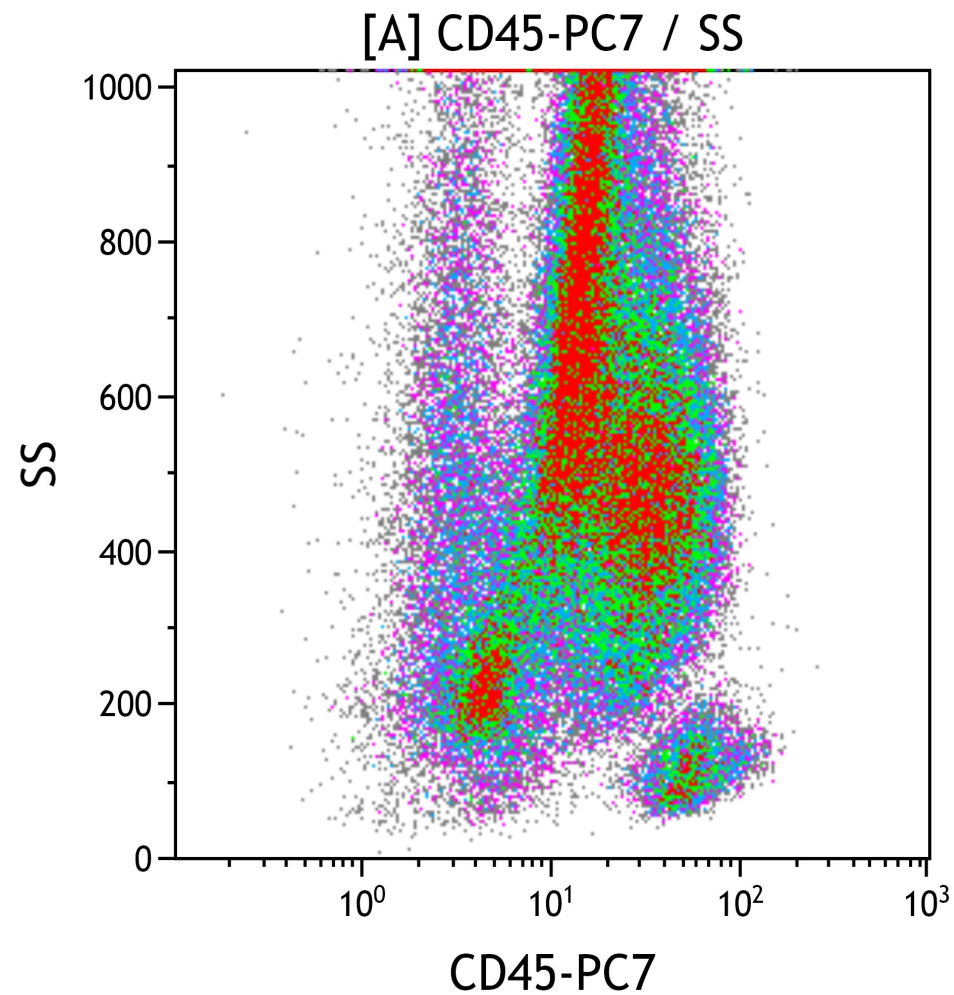
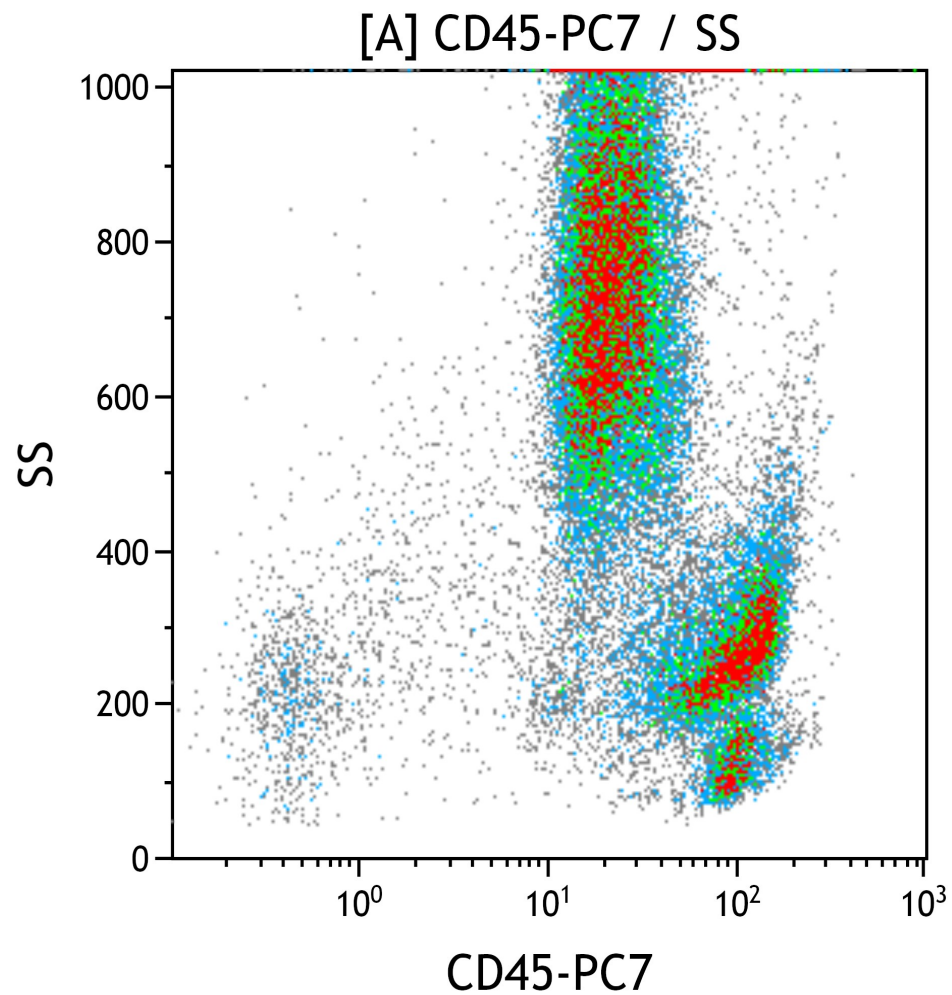


Διαγνωστικές Δυσκολίες

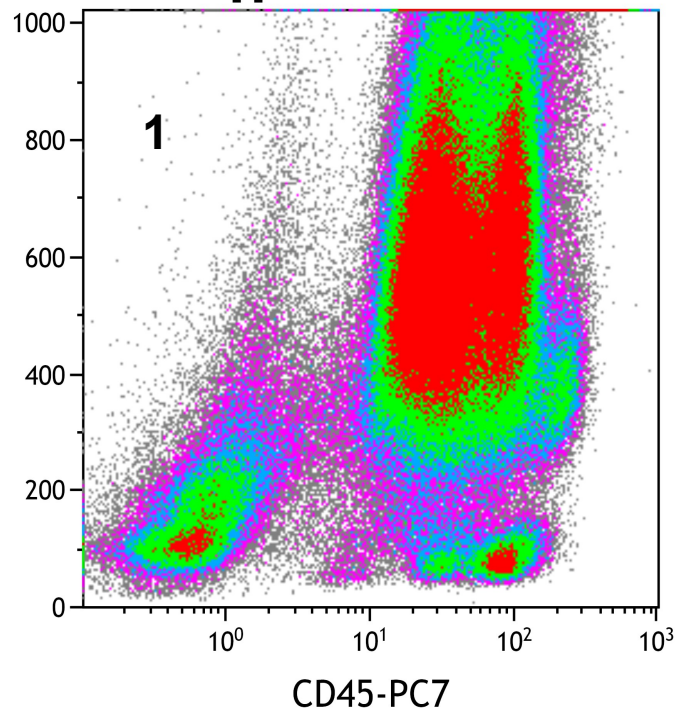
- Απόπτωση SSC/FSC, SSC/CD45, CD11b/CD16
- Μεικτός μυελομονοκυτταρικός φαινότυπος
CD33 αυξάνεται/CD10 μειώνεται- τότε ανώριμα κοκκιοκύτταρα και τότε μικτός μυελομονοκυτταρικός???
CD45, CD4(!), CD64, CD14, CD56
- 2ο παθές ΜΔΣ vs αντιδραστικός μυελός/Ηωσινοφιλία/ψευδοΜΔΣ
SSC/CD45, CD16/CD11b, προσοχή στα μπλοκ διαφοροποίησης χωρίς δυσπλασία - τα μοτίβα αντιγονικής έκφρασης αλλάζουν λόγω απουσίας(/παρουσίας) ώριμου κυτταρικού πληθυσμού-
αξιολόγηση αιμοφαγοκυτταρικού στοιχείου, ιστορικού ασθενή, στοιχείων γενικής αίματος και ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ διέργεσης!

- ΜΔΣ- κλινική Δχ κ Πχ κατηγοριοποίηση και η σημασία της
- Προτεινόμενα αντιγονικά πάνελ για τον εντοπισμό δυσπλασίας
- Βασικά βήματα ανάλυσης προγονικών κυττάρων
- Βασικά βήματα ανάλυσης ώριμων κυττάρων και η σημασία των άτυπων αντιγονικών εκφράσεων (aberrant antigen expression patterns)
- Αλληλοεπικαλυπτόμενες κλινικές οντότητες (MPN/MDS, *AA, ICUS, CIN, PNH..*)
- Διαγνωστικά και προγνωστικά κυτταρομετρικά σκορ (και οι τεχνικές δυσκολίες)
- Μελλοντικοί στόχοι

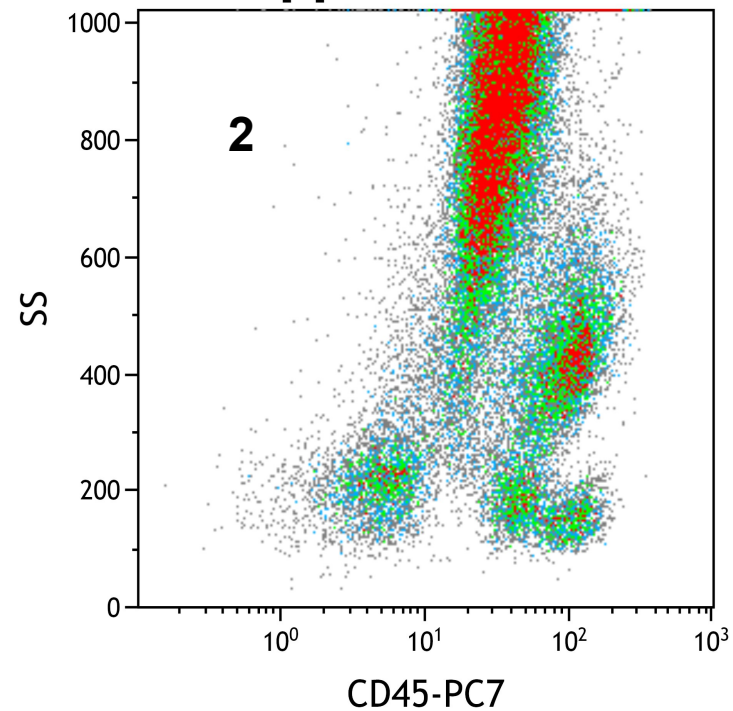
Χρόνια Μυελομονοκυτταρική Λευχαιμία



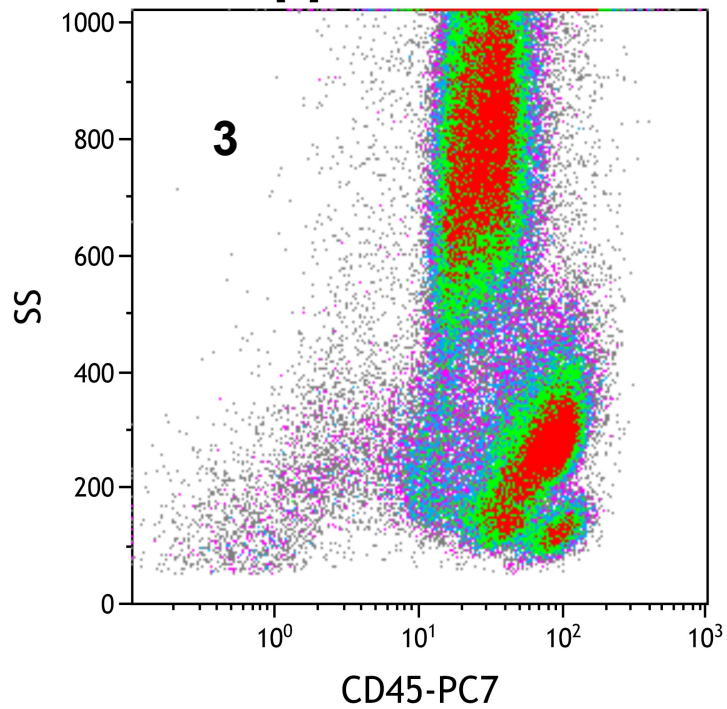
[I] CD45-PC7 / SS



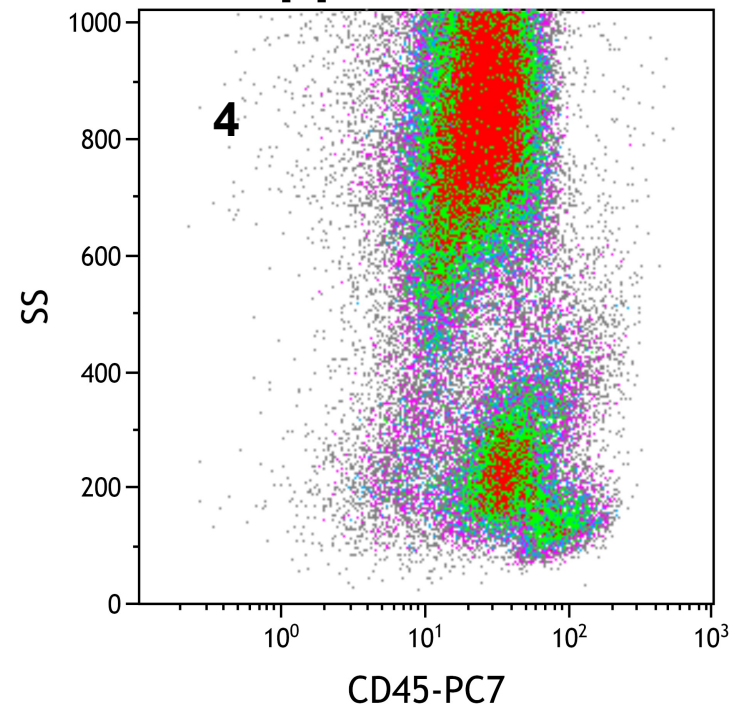
[A] CD45-PC7 / SS



[A] CD45-PC7 / SS



[H] CD45-PC7 / SS



Ποιό plot
διαφέρει
από τα
υπόλοιπα?

- ΜΔΣ- κλινική Δχ κ Πχ κατηγοριοποίηση και η σημασία της
- Προτεινόμενα αντιγονικά πάνελ για τον εντοπισμό δυσπλασίας
- Βασικά βήματα ανάλυσης προγονικών κυττάρων
- Βασικά βήματα ανάλυσης ώριμων κυττάρων και η σημασία των άτυπων αντιγονικών εκφράσεων (aberrant antigen expression patterns)
- Αλληλοεπικαλυπτόμενες κλινικές οντότητες (MPN/MDS, AA, ICUS, CIN, PNH..)
- Διαγνωστικά και προγνωστικά κυτταρομετρικά σκορ (και οι τεχνικές δυσκολίες)
- Μελλοντικοί στόχοι

Table 4. Summary of scoring models for flow cytometric evaluation of dysplasia

Year	Reference	Diagnosis/ prognosis	Cohort MDS/ path. control/ normal	Subpopulations analyzed	Lineages analyzed	Parameters	Specificity	Sensitivity	Concordance with ELN recommendations
2001	Stetler-Stevenson <i>et al.</i> ²²	D	45/25/4	ImmatMy/ matMy/Mo/ ery/MK	3	> 15	100	88	+++
2005	Kussick <i>et al.</i> ⁶²	D	69/46/0	ImmatMy/ matMy/Mo	1	> 15	88	89	+++
2005	Malcovati <i>et al.</i> ⁹	D	103/27/19	ImmatMy/ matMy/Mo/ery	2	7	100	87	++
2005	Cherian <i>et al.</i> ³⁵	D	26/20/16	MatMy (blood)	1	> 15	90	73	++
2006	Della Porta <i>et al.</i> ⁵⁶	D	104/69/19	Ery	1	6	98.5	> 95	+
2006	Ogata <i>et al.</i> ⁵²	D	27/76/14	ImmatMy/B	1+1	13	100	41	++
2008	Stachurski <i>et al.</i> ²⁴	D	180/37/0	ImmatMy/ matMy/Mo	1	> 15	97	84	+++
2008	Satoh <i>et al.</i> ⁶³	D	27/90/0	ImmatMy/B	1+1	3	83	78	+
2008	Matarraz <i>et al.</i> ²⁵	D	50/29	ImmatMy/ matMy/B	1+1	> 15	100	100	+++
2009	Goardon <i>et al.</i> ³⁰	D	100/70/5	ImmatMy	1	1	92	95	—
2009	Ogata <i>et al.</i> ³³	D	134/106/0 multicenter	ImmatMy/ matMy/B	1+1	4	92–98	44–71	++
2009	Truong <i>et al.</i> ⁶⁴	D	12/61/0	ImmatMy/ matMy/Mo	1	> 15	94	75	+++
2011	Della Porta <i>et al.</i> (model according to reference 33)	D	416/380/0 multicenter	ImmatMy/ matMy/B	1+1	4	93	72	+
2003	Wells <i>et al.</i> ⁴	D/P	115/104/25	ImmatMy/ matMy/Mo	1	> 15	93	70	+++
2007	Lorand-Metze <i>et al.</i> ³⁶	D/P	31/11/11	ImmatMy/ matMy/Mo/ery	2	5	~ 87	NE	++
2010	Matarraz <i>et al.</i> ²⁸	D/P	56/20/20	ImmatMy/ matMy/Mo/ ery/B	2+1	> 15	100	100	+++
2010	Kern <i>et al.</i> ⁶⁵	D/P	459/266/11	ImmatMy/ matMy/Mo/ery	2	> 15	95	70	+++
2011	Chu <i>et al.</i> ⁵⁹ (model according to reference 4)	D/P	56/27/0	ImmatMy/ matMy/Mo	1	> 15	100	75	+++
1987	Clark <i>et al.</i> ⁶⁰	P	33/4/16	MatMy/Mo (blood)	1	3	NE	NE	+
2004	Arroyo ⁸	P	77/0/0	ImmatMy/ matMy/Mo	1	7	NE	NE	++
2011	Falco <i>et al.</i> ⁶⁶	P	424/0/0	ImmatMy/ matMy/Mo/ery	2	4	NE	NE	+

Abbreviations: D, diagnosis; ELN, European LeukemiaNet; P, prognosis; path. control, pathologic control; immatMy, immature myeloid progenitor cells; matMy, maturing neutrophils; MDS, myelodysplastic syndrome; Mo, monocytes; Ery, erythroid cells; MK, megakaryocytes; NE, not evaluable. All analyses are performed in bone marrow samples unless indicated otherwise. Analysis of B-cell progenitors is indicated as (+1); concordance of analyzed markers with current ELN recommendations is expressed as: (–) no, (+) 1–5, (++) 5–10 and (+++) > 10 markers.

Τεχνικές Δυσκολίες

- Πρόσμιξη με αίμα (!!!)- εμπειρική εκτίμηση, μορφολογική επιβεβαίωση
- Πολυχρωματικά πάνελ + Πολύπλοκη ανάλυση, **αυξάνουν**:
 - την δυσκολία του compensation
 - την ανάγκη για αυστηρό έλεγχο λειτουργίας του μηχανήματος
 - το κόστος και τον χρόνο που δαπανούνται
 - την υποκειμενικότητα της ερμηνείαςκαι **μειώνουν**
 - την αναπαραγωγιμότητα των αποτελεσμάτων

- ΜΔΣ- κλινική Δχ κ Πχ κατηγοριοποίηση και η σημασία της
- Προτεινόμενα αντιγονικά πάνελ για τον εντοπισμό δυσπλασίας
- Βασικά βήματα ανάλυσης προγονικών κυττάρων
- Βασικά βήματα ανάλυσης ώριμων κυττάρων και η σημασία των άτυπων αντιγονικών εκφράσεων (aberrant antigen expression patterns)
- Αλληλοεπικαλυπτόμενες κλινικές οντότητες (MPN/MDS, AA, ICUS, CIN, PNH..)
- Διαγνωστικά και προγνωστικά κυτταρομετρικά σκορ (και οι τεχνικές δυσκολίες)
- Μελλοντικοί στόχοι

Κυτταρομετρία Ροής και ΜΔΣ

- Από τις κατευθυντήριες οδηγίες στις υλοποιήσεις αλγορίθμων ερμηνείας δεδομένων
- Από την πολυπαραμετρική ανάλυση στα πάνελ ελαχίστων αντιγόνων
- Από τον συμπληρωματικό ρόλο στο αξιόπιστο διαγνωστικό εργαλείο

Μέχρι τότε...3 τελείες για το τέλος

- Ποσοστό προγονικών κυττάρων: σωστή εκτίμηση
- Η σημασία των κλινικών στοιχείων και η συνεκτίμηση με την μορφολογία: Διάκριση αντιδραστικού- δυσπλαστικού μυελού
- Δεν ξεχνώ την ετερογένεια του νοσήματος: τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα ΔΕΝ είναι ΜΙΑ ενιαία κλινική οντότητα