

Impiego della citofluorimetria multiparametrica nella valutazione della risposta alla terapia in pazienti con macroglobulinemia di Waldenström

Martina Rousseau¹, Giovanni Carulli¹, Eugenio M. Ciancia², Nadia Cecconi¹, Paola Sammuri¹, Cristiana Domenichini², Mario Petrin¹

¹U.O. Ematologia Universitaria e ²U.O. Anatomia Patologica 2, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa

Caro Editore,

la macroglobulinemia di Waldenström (MW) è definita come un linfoma linfoplasmocitoide associato alla produzione di un'immunoglobulina pentamerica monoclonale IgM e da un'infiltrazione midollare >10% da parte di una popolazione di piccoli linfociti, che possono avere differenziazione plasmocitoide (1, 2). È una malattia rara ed eterogenea, con incidenza totale di 3,8 persone per milione per anno. È più frequente negli uomini rispetto alle donne, con un rapporto di 2:1, e nelle persone di razza caucasica rispetto a quelle di pelle nera. La sua incidenza aumenta con l'età (3). Le manifestazioni cliniche della malattia sono epatomegalia (20%), splenomegalia (15%) e linfadenomegalie (15%), mentre il sintomo più frequente è la spossatezza, correlata a un'anemia normocromica normocitica (4). La presenza di un'IgM monoclonale rende ragione di manifestazioni quali sindrome da iperviscosità, neuropatia periferica, anemia emolitica e vasculiti da immunocomplessi. Molti pazienti sono asintomatici alla diagnosi.

Per la diagnosi, il monitoraggio e la valutazione della risposta alla terapia nella MW sono necessari l'esecuzione di biopsia osteomidollare, di agoaspirato midollare e della valutazione del quadro elettroforetico sieroproteico. La diagnosi differenziale nei confronti delle altre patologie nelle quali si ha la produzione di IgM monoclonali si basa essenzialmente sulle caratteristiche istologiche, immunoistochimiche e immunofenotipiche (1, 2). Le tecniche citofluorimetriche forniscono un valido supporto diagnostico alle tecniche immunoistochimiche. Mediante citofluorimetria multiparametrica (CMP) è possibile osservare che i linfociti B mostrano elevata espressione di CD19 e CD20, espressione di CD25 e CD27, restrizione per IgM monotipiche di superficie, debole espressione di CD22 e assenza di CD23, CD5, CD10, CD11c e CD103 in quasi tutti i casi. La popolazione plasmacellulare, facilmente identificabile per la caratteristica co-espressione degli antigeni CD138 e CD38, mostra quasi sempre un fenotipo simile a quello normale (CD20+, CD19+, CD45+, CD27+, CD56-) e restrizione per una delle catene leggere delle immunoglobuline, in accordo con l'isotipo plasmatico. Questi aspetti immunofenotipici sono molto diversi da quelli osservabili nel mieloma multiplo, compresi i pochi casi di mieloma a IgM (5, 6). Se la biopsia osteomidollare rappresenta l'esame "gold standard" nella diagnosi di MW (2, 7), le indagini citofluorimetriche possono apportare informazioni utili nella diagnosi differenziale e nella valutazione della risposta alla terapia.

Nella nostra esperienza sono stati valutati, previo rilascio di consenso informato, 14 pazienti [10 maschi, età media (intervallo): 63 anni (50-74)] con diagnosi di MW e trattati secondo le attuali indicazioni (8) con ottenimento di risposta variabile. 12 pazienti mostravano isotipo IgM κ e due isotipo IgM λ . Gli schemi terapeutici impiegati includevano rituximab-bendamustina, rituximab-cladribina, rituximab-bortezomib-desametasone, rituximab-ciclofosfamide e rituximab-lenalidomide. 8 pazienti sono stati sottoposti a una linea di terapia, 4 a due linee e due pazienti a 3 linee di terapia. Abbiamo valutato il "pattern" citofluorimetrico prima e dopo trattamento con riferimento sia alla popolazione linfocitica sia a quella plasmacellulare, confrontando i reperti istologici ottenuti dalle biopsie osteomidollari e i campioni ottenuti dal mieloaspirato. I campioni di sangue midollare erano marcati con anticorpi monoclonali coniugati con fluorocromi specifici per i seguenti antigeni: CD3, CD4, CD8, CD5, CD16, CD56, CD19, CD20, CD27, CD10, CD38, CD45 e CD138. La risposta alla terapia è stata valutata seguendo le indicazioni dell'"International Workshop on Waldenström Macroglobulinemia" (IWWM) (10), raccogliendo, oltre agli esami midollari, i dati riguardanti gli esami ematochimici e strumentali, tra cui ecografia e tomografia computerizzata, per la valutazione della malattia nodale ed extra-nodale.

Applicando il test statistico di Wilcoxon per campioni indipendenti, i nostri risultati hanno mostrato:

- una riduzione significativa dell'infiltrazione linfoplasmocellulare al mieloaspirato, con una percentuale della

Corrispondenza a: Giovanni Carulli, U.O. Ematologia Universitaria, AOUP Ospedale Santa Chiara, Via Roma 67, 56125 Pisa. Tel. 050992731, Fax 050993378, E-mail g.carulli@ao-pisa.toscana.it

Ricevuto: 06.02.2016

Revisionato: 26.05.2016

Accettato: 13.06.2016

Publicato on-line: 29.07.2016

DOI: 10.19186/BC_2016.022

- popolazione composta da elementi linfoplasmocitoidi e plasmacellulari che passava da valori mediani del 21% (intervallo, 13-81) prima della terapia a valori mediani del 16% (intervallo, 11-71) dopo la terapia;
- una riduzione apparente, ma non significativa dell'infiltrazione linfoplasmocellulare all'esame bioptico, con una percentuale della popolazione composta da elementi linfoplasmocitoidi e plasmacellulari che passava da valori mediani del 35% (intervallo, 10-90) prima della terapia a valori mediani del 15% (intervallo, 4-80) dopo la terapia;
 - una riduzione significativa della concentrazione sierica di IgM, che passava da valori mediani di 2,5 g/L (intervallo, 0,71-5,32) prima della terapia a valori mediani di 0,81 g/L (intervallo, 0,07-4,27) dopo la terapia.

Per quanto concerne la risposta clinica al trattamento valutata secondo i criteri IWWM, in due pazienti veniva raggiunta una remissione completa, in 4 una remissione parziale, in 3 una risposta minore e nei restanti 5 pazienti una condizione di stabilità.

Il "pattern" di risposta citofluorimetrica post-terapia ha mostrato una percentuale mediana di linfociti totali pari a 10% (2-70), di linfociti B pari a 1% (0-49) e di plasmacellule pari a 0,5% (0-2). I risultati hanno messo in evidenza che dei due pazienti con risposta completa, uno mostrava policlonalità sia dei linfociti che delle plasmacellule e l'altro persistenza di plasmacellule clonali, con popolazione policlonale di linfociti B. Nel gruppo di pazienti con risposta parziale, in un caso si è osservata persistenza di sola popolazione clonale plasmacellulare, mentre nei rimanenti 3 pazienti sono risultati clonali sia i linfociti che le plasmacellule. Risultati simili sono stati registrati nel gruppo con risposta minore, con un caso di persistenza di sola popolazione plasmacellulare clonale e due casi con simultanea presenza di linfociti e plasmacellule clonali. L'ultimo gruppo di pazienti ha mostrato persistenza di popolazione plasmacellulare clonale in un caso e di entrambe le popolazioni neoplastiche clonali nei rimanenti 4 casi. Pertanto, con la sola eccezione della normalizzazione dei parametri immunofenotipici in un caso, si sono ottenuti due distinti "pattern" di risposta immunofenotipica: persistenza di una popolazione plasmacellulare clonale in 4 pazienti e persistenza di entrambe le popolazioni clonali nei rimanenti 9 pazienti.

Sebbene il "gold-standard" per la valutazione della risposta al trattamento nella MW rimanga l'esame istologico su biopsia osteomidollare, i nostri risultati dimostrano il ruolo della CMP nella valutazione quantitativa e qualitativa della popolazione neoplastica residua in corso di MW in trattamento.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Gertz MA. Waldenström macroglobulinemia: 2015 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2015;90:347-54.
2. Owen RG, Pratt G, Auer RL, et al; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the diagnosis and management of Waldenström macroglobulinaemia. *Br J Haematol* 2014;165:316-33.
3. Wang H, Chen Y, Li F, et al. Temporal and geographic variations of Waldenström's macroglobulinemia incidence: a large population-based study. *Cancer* 2012;118:3793-800.
4. Björkholm M, Johansson E, Pappmivhael D, et al. Patterns of clinical preparations, treatment and outcome in patients with Waldenström's macroglobulinemia: a two-institution study. *Semin Oncol* 2003;30:226-30.
5. Paiva B, Montes MC, García-Sanz R, et al. Multiparameter flow cytometry for the identification of the Waldenström's clone in IgM-MGUS and Waldenström's macroglobulinemia: new criteria for differential diagnosis and risk stratification. *Leukemia* 2014;28:166-73.
6. Morice WG, Chen D, Kurtin PJ, et al. Novel immunophenotypic features of marrow lymphoplasmacytic lymphoma and correlation with Waldenström's macroglobulinemia. *Mod Pathol* 2009;22:807-16.
7. Varettoni M, Arcaini L, Rattotti S, et al. Bone marrow assessment in asymptomatic immunoglobulin M monoclonal gammopathies. *Br J Haematol* 2015;168:301-2.
8. Dimopoulos MA, Kastritis E, Owen RG, et al. Treatment recommendations for patients with Waldenström macroglobulinemia (WM) and related disorders: IWWM-7 consensus. *Blood* 2014;124:1404-11.
9. Carulli G, Ciancia EM, Azzarà A, et al. Simultaneous presentation of Waldenström macroglobulinemia and multiple myeloma: multidisciplinary diagnosis, treatment and 30-month follow-up. *J Clin Exp Hematol* 2013;53:29-36.
10. Kastritis E, Kyrtsolis MC, Hadjiharissi E, et al. Validation of the International Prognostic Scoring System (IPSS) for Waldenström's macroglobulinemia (WM) and the importance of serum lactate dehydrogenase (LDH). *Leuk Res* 2010;34:1340-3.
11. Hivert B, Tamburini J, Vekhoff A, et al. Prognostic value of the International Scoring System and response in patients with advanced Waldenström macroglobulinemia. *Haematologica* 2011;96:785-8.
12. Treon SP. How I treat Waldenström Macroglobulinemia. *Blood* 2009;114:2375-85.