



Analisi citogenetica nella leucemia linfatica cronica: Fattore prognostico importante!

E. Minelli, D. Mazzola, R. Lucchini, M. Uhr

Generalità

La leucemia linfatica cronica (LLC) è una sindrome linfoproliferativa caratterizzata da una infiltrazione di linfociti monomorfi, di taglia piccola con nuclei per lo più rotondi, cromatina addensata tipicamente a zolle e scarso citoplasma. Frammisto a queste cellule si trova anche qualche prolinfocita e paraimunoblasto. La LLC rappresenta ca il 6-7% dei linfomi Non-Hodgkin in USA e Europa; la maggioranza dei pazienti sono >60 anni, un terzo dei pazienti ha meno di 60 anni e il 10-15% meno di 50 anni. Malgrado i progressi terapeutici la LLC rimane una malattia incurabile con le terapie standard, per cui si ha la tendenza a considerare terapie più aggressive, in particolare per i pazienti ad alto rischio.

Diventa quindi, essenziale ai fini terapeutici identificare questa popolazione ad alto rischio. Oltre ai fattori prognostici classici (stadio, grado d'infiltrazione midollare, leucocytes doubling-time, beta 2 MG), abbiamo a disposizione potenti strumenti di laboratorio, divenuti ormai irrinunciabili per i fini diagnostici e prognostici quali: la citogenetica classica, la FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) e le indagini molecolari.

Ruolo della citogenetica nelle LLC

L'analisi citogenetica condotta su sangue periferico o su midollo, soprattutto se effettuata con l'ausilio di attivatori policlonali B-cellulari (LPS, TPA, PWM, EBV, anti CD40 e altri), consente di individuare anomalie cromosomiche in circa il 40-50% dei casi.

L'anomalia cromosomica più frequente nelle LLC è la trisomia del cromosoma 12 che si rileva nel 15-20% dei casi. Questa anomalia è spesso associata alla presenza di linfociti atipici, ad un aumentato numero di prolinfociti e denota un decorso piuttosto aggressivo della malattia.

Altre anomalie cromosomiche che possono individuarsi sono: un marker 14q+ con punto di rottura alla banda q32 (ad esempio t(11;14) (q13;q32) o t(2;14) (p13;q32), trisomia 3, 6q- (punto di rottura principalmente alla banda q21)). In circa il 10% dei casi di LLC, l'indagine citogenetica mette in evidenza un cariotipo complesso anch'esso indice prognostico negativo.

FISH nelle LLC

Un ulteriore fattore prognostico, che sta diventando sempre più indispensabile, è l'analisi citogenetica molecolare, in particolare la tecnica FISH in interfase (vedi tabella 1) per la ricerca delle delezioni 13q, 11q e 17p; i pazienti con del(13q) hanno una sopravvivenza mediana di 133 mesi, mentre i pazienti con del(11q), spesso associati con linfadenopatia, di 79 mesi e quelli con del(17p), con spiccata resistenza alle monoterapie classiche, di 32 mesi.

Tabella 1: Incidenza delle aberrazioni genomiche nei due studi multicentrici del German CLL Study Group (GCLLSG).

Aberrazioni	CLL1	CLL3
del(13q)	62%	51%
del(13q) (delezione singola)	44%	31%
del(11q)	11%	25%
Trisomia 12	10%	12%
del(17p)	6%	3%
Cariotipo normale	22%	19%

CLL 1: GCLLSG per LLC stadio Binet A; CLL3: GCLLSG per LLC stadio Binet B e C.

Indagini molecolari nelle LLC

A livello prognostico lo stato di mutazione del gene IgVH, che in parte viene rispecchiato dall'espressione del marker CD38 (<30% mutato vs >30% non mutato), che però sembra avere anche un significato prognostico indipendente, si sta affermando come uno degli indici con la più alta capacità discriminante tra LLC ad alto e basso rischio. Pazienti con CD38+ e con IgVH non-mutato (LLC pre-germinali) hanno una prognosi peggiore indipendentemente dallo stadio della malattia.

Tuttavia a causa della complessità dell'analisi IgVH, solo pochi laboratori sono in grado di offrire questo

tipo d'analisi; per questo motivo sono stati presi in considerazione altri metodi capaci di discriminare le due forme di LLC (pre/post-germinale). L'espressione del CD38 è stata usata in questo senso: i pazienti con IgVH non mutato tendono ad esprimere il CD38, mentre in quelli con IgVH mutato il CD38 viene espresso solo parzialmente (CD38 <30%). Diversi studi hanno però mostrato che l'espressione del CD38 non è sempre corrispondente al grado di mutazione IgVH, per cui altri surrogati sono attualmente in esame; in particolare mediante l'uso dei chips si è notato che il gene Zap-70 è sovra-espresso nei pazienti con LLC di tipo non mutato e quindi la determinazione dell'espressione di Zap-70 mediante PCR o citomeri di flusso potrebbe ovviare alle difficoltà analitiche del IgVH.

In tabella 2 vengono illustrati i risultati ottenuti da un recente studio su 211 casi di LLC, che mettono in relazione le alterazioni genomiche con lo stato mutazionale del gene IgVH, da cui si può notare che le LLC con alterazioni citogenetiche di prognosi severa (del(17p) e del(11q)) correlano con lo stato di mutazione IgVH di tipo non-mutato.

Tabella 2: Correlazione dello stato di mutazione IgVH con anomalie genomiche in 211 pazienti con LLC⁽¹⁾.

Cariotipo	IgVH mutato N=88	IgVH non-mutato N=123	P-value
Anomalo	78%	83%	n.s
Normale	22%	27%	n.s
del(13q)	63%	46%	=0.017
del(13q) (singola)	49%	21%	<0.001
+12	13%	17%	n.s
del(11q)	2%	29%	<0.001
del(17p)	2%	13%	<0.01

Per concludere, tutti gli esperti sono attualmente concordi sul fatto che la ricerca dello stato di mutazione IgVH o surrogato e di alterazioni citogenetiche, costituiscano oggi uno strumento essenziale per un più efficiente management del paziente.

Informazioni pratiche

Prelievo	Sangue (3-5 ml) e/o midollo (2-3 ml) in Na-Eparina spedito a RT.
Metodi d'analisi	Coltura cellulare e analisi cromosomica.
Costo	Cariotipo completo: Fr. 850.- / FISH: Fr. 300.-

In breve

L'analisi citogenetica classica o mediante FISH permette di identificare circa l'80% delle anomalie presenti nella LLC. Inoltre le anomalie citogenetiche del(13q), del(11q), del(17p) e stato mutazionale del gene IgVH descritte, risultano essere dei fattori prognostici estremamente importanti per stabilire la strategia terapeutica, in particolare nei pazienti che possono profittare di un trattamento terapeutico aggressivo con intenti curativi.

Per ulteriori informazioni rivolgersi: Dr.ssa D. Mazzola, Dr E. Minelli e R. Lucchini reparto di citogenetica e biologia molecolare Laboratorio LAS- Breganzona, tel 091 969 73 44, dmazzola@unilabs.ch.

Bibliografia

- ⁽¹⁾ Kröber A *et al.* Blood 2000; 96, Suppl. 1.
- Damle RN *et al.* Blood 1999; 94: 1840-47.
- Dohner H *et al.* NEJM 2000; 343: 1910-16.
- Hamblin TJ *et al.* Blood 1999; 94: 1848-54.
- Kröber A *et al.* Blood 2002; 100: 1410-16.
- Stilgenbauer S *et al.* Leukemia 2002; 16: 1002.
- Wiestner A *et al.* Blood; first Edt paper, prepublished online Feb 20, 2003.

Dr med. Mario Uhr. Specialista FMH e FAMH in Ematologia. Responsabile reparto Emato-oncologia, LAS / Unilabs, Breganzona.

Dott. Sc. Nat. Renzo Lucchini, Responsabile Biologia Molecolare, LAS / Unilabs, Breganzona.

Dr.ssa Daniela Mazzola, Specialista in Citogenetica, Responsabile Citogenetica, LAS / Unilabs, Breganzona.

Dott. Elio Minelli, Specialista in Citogenetica, Consulente, LAS / Unilabs, Breganzona.

Stampa parziale o integrale delle "Informazioni scientifiche" sono permesse solo con l'obbligo della citazione delle fonti bibliografiche © Unilabs. Editore: Unilabs, 12, place Cornavin - Case postale 2259 - CH-1211 Genève 1.