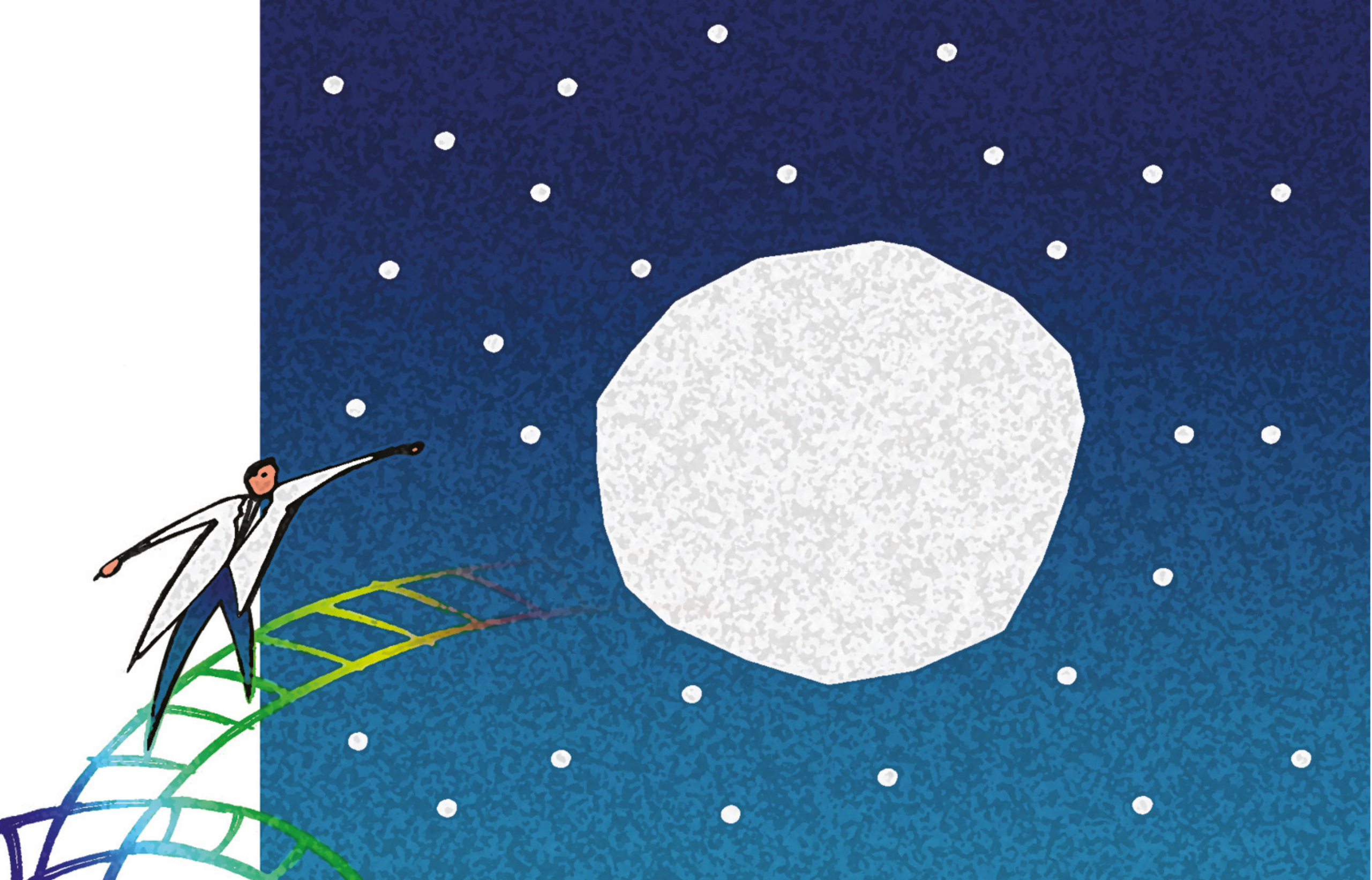




The young side of **LYMPHOMA**

gli under 40 a confronto

Verona, Centro Congressi Camera di Commercio
26-27 settembre 2025

Approccio istopatologico alla diagnostica differenziale
dei linfomi indolenti su biopsia osteomidollare

Dr.ssa Valentina Sangiorgio

Ematologia U. AOU Città della Salute e della Scienza, Torino.



No disclosures

La Valutazione Midollare nei Linfomi a Cellule B

- *Staging*: soprattutto linfomi «nodali» (FL, DLBCL, MCL, ecc..)
- *Rivalutazione*: paziente con diagnosi nota di NHL ma variazioni del quadro clinico:
 - persistenza di infiltrazione midollare da NHL
 - tossicità farmacologica: ipoplasia/aplasia midollare iatrogena
 - neoplasia mieloide secondaria (MDS, AML ecc...)
- *Diagnosi*: soprattutto linfomi «NON-nodali» con prevalente malattia circolante e/o splenomegalia

WHAT: quali patologie

- *CLL* e patologie correlate (es. trasformazione prolinfocitica B)
- *NHL con prevalente malattia circolante e/o splenomegalia:*
 - HCL classica
 - HCL variante (ICC 2022)/ Linfoma Splenico a Cellule B Con Nucleoli Prominenti (WHO 2022)
 - Linfoma della Zona Marginale Splenico
 - Diffuse Red Pulp B Cell Lymphoma
 - Linfoma Mantellare (soprattutto MCL leucemico, non-nodale)
 - Linfoma Linfoplasmacitico/ Macroglobulinemia di Waldenstrom

HOW: Aspirato Midollare

- CITOFLUSSIMETRIA: profilo di espressione antigenica di una popolazione B/plasmacellulare

PRO

- Risultato rapido (ore)
- Valutazione precisa di status monotipico versus politipico della popolazione B/plasmacellulare (espressione di Ig di superficie/citoplasmatiche)
- Valutazione di antigeni non disponibili in immunoistochimica
- Valutazione precisa della coespressione di antigeni su una medesima popolazione cellulare (es. CD20/CD5)

CONTRO

- «Solo» antigeni di superficie
- Pannello di antigeni più limitato rispetto a IHC su BOM
- No info morfologiche utili alla diagnosi (es. pattern di infiltrazione midollare)
- Sottostima % infiltrazione (es. emodiluizione, fibrosi)
- Sottostima eventuale popolazione plasmacellulare
- No info sulla cellularità midollare/emopoiesi residua
- Spesso referto non conclusivo: ex «popolazione monotipica B CD5 positiva/negativa»

HOW: Aspirato Midollare

- **BIOLOGIA MOLECOLARE:**
 - *MYD88, CXCR4*
 - *BRAF, MAP2K1*
 - *(pannello linfoide NGS)*
- **CITOGENETICA:**
 - FISH per t(11;14), 17p
 - cariotipo: non standard in NHL
- **VALUTAZIONE DI FATTORI PROGNOSTICI:**
 - status IGHV
 - 17p
 - *TP53*

HOW: Biopsia Osteomidollare

- **MORFOLOGIA:**
 - descrizione di cellularità midollare ed eventuali alterazioni stromali
 - accurata quantificazione della % di infiltrazione midollare
 - valutazione istologica del pattern crescita/ infiltrazione midollare utile per diagnosi differenziale
 - ri(valutazione) morfologia popolazione linfocitaria B di interesse
 - migliore quantificazione di eventuale popolazione plasmacellulare
- **IMMUNOFENOTIPO (immunoistochimica):**
 - valuta antigeni di superficie: simile a citoflussimetria
 - valutazione di antigeni citoplasmatici/nucleari utili per la «diagnosi definitiva»: es. Ciclina D1, SOX11, BRAF ecc...

IMMUNOFENOTIPO (flow cytometry +/- IHC): some insight

MARKERS	INTERPRETAZIONE
CD19, CD20, CD79a, PAX5*	Stabiliscono lineage B
Catene leggere Kappa/ Lambda	Valutazione più precisa FC versus IHC; surface or cytoplasmic expression Status «monotipico» o «doppio negativo»
Bcl2*	Positivo nella maggior parte di NHL-B; poco utile per diagnosi differenziale di NHL B indolenti
CD10	Espressione bimodale: B cell precursors ->-> Germinal Center B cells
Bcl6*	Indica origine da centro germinativo Espressione debole in non-GC NHL: es. CLL
CD5	Marker «pan-T»; utile per screening NHL «CD5 positivi» versus «CD5 negativi» ~ 100% MCL e CLL Potenzialmente positivo in tutti NHL indolenti (es. MZL, SMZL) Positivo in alcuni NHL non-indolenti, non MCL (es. CD5 positive DLBCL)

* Valutabile solo con immunoistochimica su biopsia osteomidollare

IMMUNOFENOTIPO (flow cytometry +/- IHC): some insight

MARKERS	INTERPRETAZIONE
CD23	Utile per identificare CLL insieme a CD5 (versus MCL e MZL) Talora positivo in NHL indolenti (es. MZL) e aggressivi (es. PMBCL)
BRAF V600E*	Marker mutazione specifico -> surrogato di biologia molecolare in HCL Altre patologie BRAF V600E positive: Langerhans cell histiocytosis
Ciclina D1*	~ 100% MCL Altre patologie positive: MM con t(11;14), HCL, LCH, CLL (debole nei centri di proliferazione)
SOX11 *	~ 100% MCL nodali Negativo nel MCL leucemico, non-nodale Utile per identificare MCL Ciclina D1 negativo
CD11c, CD25, CD103, CD123, Annessina 1*, BRAF*	«Pannello HCL» Antigeni variabilmente espressi e NON specifici di HCL

* Valutabile solo con immunoistochimica su biopsia osteomidollare

Casi Clinici

CASO 1: l'importanza della diagnostica integrata

Uomo, 78 aa

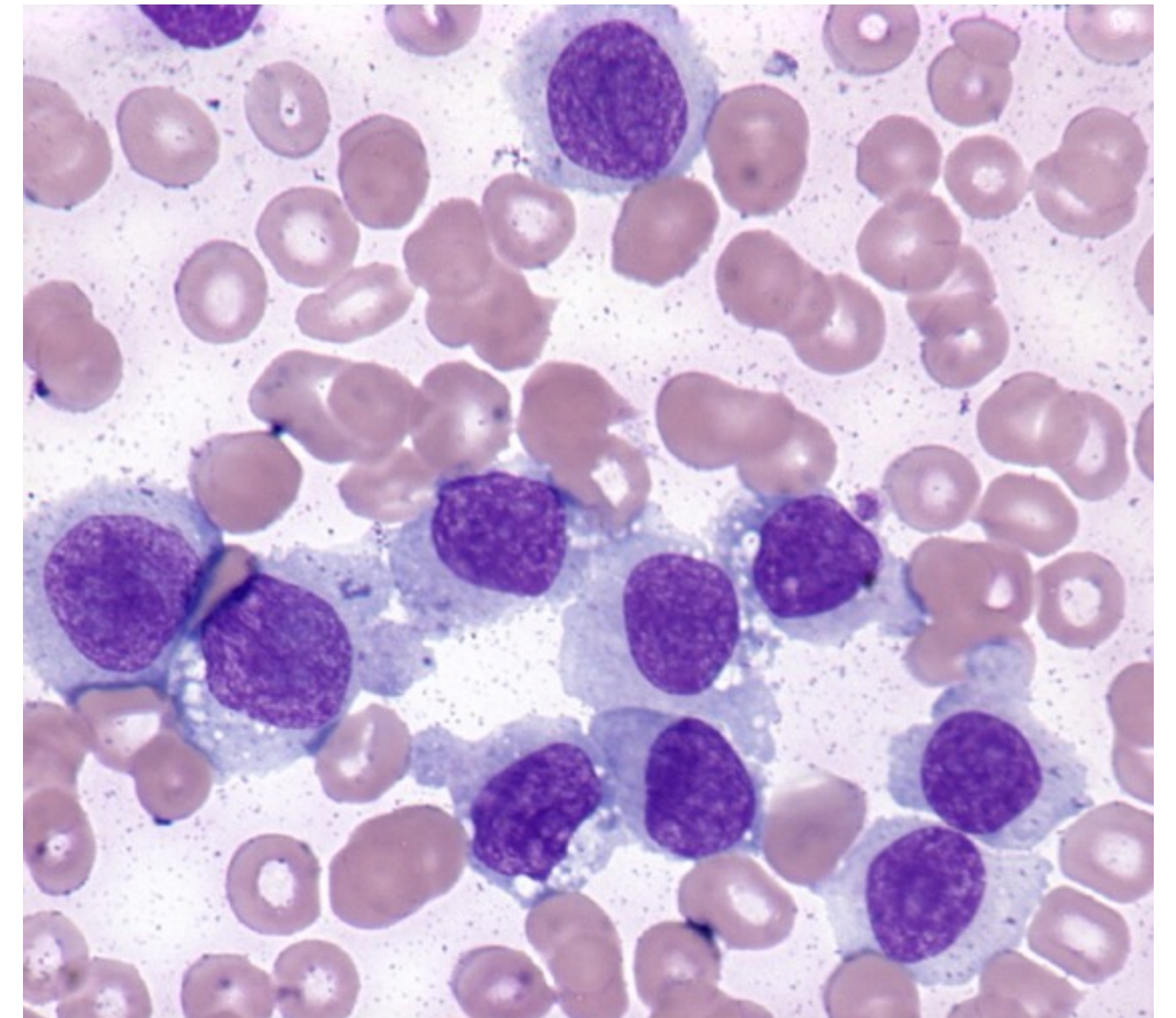
Da mesi astenia ingravescente con edemi declivi, calo ponderale, sudorazioni profuse -> accede in PS

EE: Gb 85000/mmc, M 67% (formula strumentale), Hb 8.4 g/dl, PLT 60000/mmc; LDH 760 U/L.

EO: milza palpabile infossa iliaca sinistra

TAC t/b: milza 30 cm; non altre adenopatie significative

Formula microscopica (SP): elementi «monocitari» sono linfociti atipici, taluni con aspetto prolinfocitico



CASO 1: l'importanza della diagnostica integrata

Fenotipo su AM: popolazione B di medie dimensioni, CD5 debole/eterogeneo, CD23 parziale, CD10/CD43/CD200/CD25/CD103/CD123 -, ristretta Ig Kappa. «Quadro compatibile con linfoma B non Hodgkin»

BOM: cellularità 90%. Infiltrazione sinusoidale (50% della cellularità) di elementi linfoidi di media taglia con citoplasma ampio, nuclei tondeggianti con nucleoli molto prominenti. Fenotipo popolazione linfoide: CD20+, CD5-, CD23-, CD25-, CD103-, CD123-, Ciclina D1-, SOX11-, BRAF-, Annesina 1-.

Diagnosi finale: HCL variante (ICC 2022)/ linfoma splenico a cellule B con nucleoli prominenti (WHO 2022)

Indagini aggiuntive: alla FISH 80% dei nuclei mostra del(17p) -> significato prognostico

CASO 2: l'importanza delle informazioni cliniche ... omesse

Uomo, 70 aa

Per astenia ingravescente, esegue emocromo di controllo.

EE: Gb 7700/mmc, N 3500/mmc, L 2720/mmc, Hb 9.2 g/dl, MCV 97 fl, PLT 130.000/mmc; LDH 190 U/L.

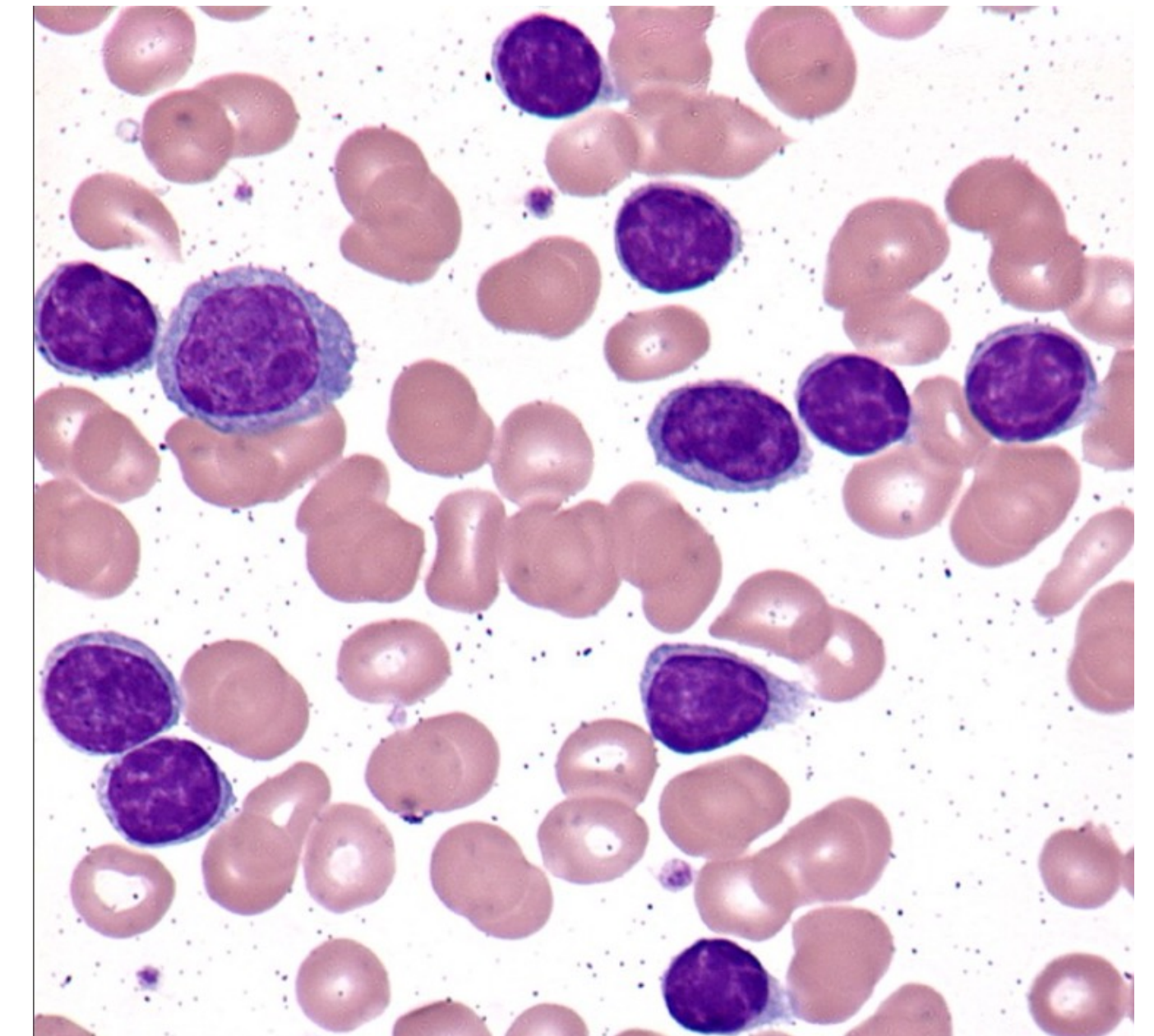
EO: non epato-splenomegalia; non adenopatie superficiali

Striscio SP: piccoli linfociti maturi alcuni plasmacitoidi; occasionali proliferanti

Fenotipo su SP: popolazione B esprimente Ig monoclonali di superficie kappa

a fenotipo positivo per CD20 (intenso), CD5, CD23.

«Quadro suggestivo per CLL/SLL».



CASO 2: l'importanza delle informazioni cliniche ... omesse

Fenotipo su AM: popolazione B di piccola taglia ristretta Ig kappa di superficie, CD20/CD5/CD23+. Concomita popolazione plasmacellulare (0.6%) ristretta Ig kappa. «Linfoma B con differenziazione plasmacellulare».

BOM: cellularità 60%. Infiltrazione interstiziale (40% della cellularità) di linfociti di piccola-media taglia a fenotipo CD20+, CD5+, CD23+, Ciclina D1-. Concomita popolazione plasmacellule (15%) con restrizione clonale IGM kappa. Diagnosi istologica: linfoma a cellule B mature indolente con differenziazione plasmacellulare.

Informazioni aggiuntive: presenza di CM tipo IgM nota da >10 anni, attualmente in incremento 2900 mg/dl.

Biologia molecolare: riscontro di *MYD88* L265P -> significato diagnostico

Diagnosi finale: linfoma linfoplasmatico

Conclusioni

- La valutazione midollare è cruciale nella diagnosi/diagnosi differenziale di NHL-B indolenti, soprattutto se malattia non nodale ma prevalente linfocitosi e/o splenomegalia
- E' SEMPRE una diagnostica integrata
- Necessario conoscere pro e contro degli strumenti diagnostici: flow, istologia, biologia molecolare, ecc..
- Sarebbe meglio avere sempre tutte le informazioni cliniche del caso!!!