

Protocol de diagnostic și tratament în sindroamele mielodisplazice

Cuprins

I. Definiții și prescurtări.....	5
II. Etiologie	6
III. Manifestări clinice.....	7
IV. Investigații paraclinice.....	8
V. Clasificarea SMD.....	12

I. Definiții și prescurtări

Definiții

Sindromul mielodisplazic (SMD) reprezintă un grup heterogen de boli hematologice clonale, dobândite, caracterizate prin defect în maturarea progenitorilor mieloizi, instabilitate genetică, hematopoieză ineficientă, citopenii persistente periferice și risc crescut de transformare în leucemie acută mieloblastică. Hematopoieza ineficientă determină citopenii periferice. Evoluția poate fi indolentă, de câțiva ani, sau poate progresa rapid în leucemie acută, în funcție de subtipul de SMD.

Defectele cantitative și calitative ale hematopoiezei determină anemie, hemoragii amenințatoare de viață și infecții.

Prescurtări

AR = anemie refractară

ARSI = anemie refractară cu sideroblaști inelari

CRP = proteina C reactivă

EB = exces de blaști

EPO = eritropoietină

G-CSF= factor stimulator al coloniilor granulocitare

Hb = hemoglobină

HPN = hemoglobinurie paroxistică nocturnă

IPSS = sistemul de scor prognostic

LMMC = leucemie mielo-monocitară cronică

R-IPSS = sistemul de scor prognostic revizuit

M-IPSS = sistemul de scor prognostic molecular

SMD = sindrom mielodisplazic

SMD/NMP = sindrom mielodisplazic/neoplasme mieloproliferative

WPSS = sistemul de scor prognostic bazat pe clasificarea OMS

II. Etiologie

Sunt descrise forme primare și forme secundare.

Formele secundare apar după expunerea la diverși factori de mediu, au supraviețuire mediană sub 12 luni, progresie rapidă spre LAM și răspuns nefavorabil la chimioterapie.

Expunerea la diverși factori de mediu a fost asociată cu risc crescut de a dezvolta SMD:

- expunere profesională la benzen, solvenți organici, produse de petrol, pesticide, uleiuri minerale, substanțe organice halogenate, radiații ionizante (supraviețuitori ai bombei atomice, expunere profesională, radioterapie)
- alcool
- fumat
- vopsea de păr
- tratament citostatic (agenți alchilanți, inhibitori de topoizomereză II, anticorpi monoclonali – anti-CD20 conjugați cu iod 131)

Anemia aplastică și hemoglobinuria paroxistică nocturnă se pot complica pe parcursul evoluției cu SMD.

Există risc crescut de a dezvolta SMD la pacienții cu sindrom de insuficiență medulară ereditară:

- anemia Fanconi
- neutropenia congenitală severă
- sindromul Shwachman-Diamond
- anemia Diamond-Blackfan
- diskeratoza congenitală
- trombocitopenia familială cu predispoziție la leucemie acută mieloblastică
- neurofibromatoza tipul I
- sindromul Down

III. Manifestări clinice

Manifestările clinice legate de citopenii

- Simptome cauzate de anemie: astenie fizică, fatigabilitate, paloare, dispnee, tahicardie.
- Simptome cauzate de neutropenii sau de modificări calitative ale neutrofilelor: infecții, febră, frisoane.
- Sindrom hemoragipar cauzat de trombocitopenii sau defecte calitative ale trombocitelor: purpură, echimoze, epistaxis, gingivoragii, meno-metroragii.

Manifestări autoimune în cadrul unui proces paraneoplazic: poliartrită seronegativă, vasculită cutanată, neuropatie periferică, ulcerații mucoase sau cutanate, irită, pericardită, pleurezie, boală inflamatorie intestinală, aplazie eritroidă pură, anemie hemolitică autoimună, fenomene Raynaud, piodermită gangrenosum, sindrom Sjögren, glomerulonefrită. Aceste manifestări autoimune răspund la tratamentul corticosteroid.

Sindromul Sweet sau dermatita neutrofilică: leziuni papulare dureroase pe față, gât și extremități, adenopatii, splenomegalie sau hepatomegalie – precedă evoluția spre LAM și răspund la tratamentul corticosteroid.

IV. Investigații paraclinice

Suspiciunea de SMD apare atunci când în sângele periferic sunt prezente 1 sau mai multe citopenii, modificări displazice pe frotiul de sângele periferic, prezența blaștilor.

Citopenie:

- Hemoglobina (Hb) sub 10 g/dL
- Număr absolut de neutrofile (NAN) sub $1,8 \times 10^9/L$
- Trombocite (Tr) sub $100 \times 10^9/L$

Hemograma completă și examenul de măduvă sunt obligatorii în diagnosticul de SMD.

Hemogramă completă

- cu reticulocite, formulă leucocitară și frotiul de sânge periferic

Mielogramă

- colorația May Grünwald Giemsa sau echivalentul său, colorația Perls
- citochimie
- se efectuează la diagnostic și se repetă de câte ori se suspicionează progresia bolii
- se apreciază celularitatea medulară, procentul de blaști pe 500 de celule, se numără cel puțin 25 de megacariocite și cel puțin 100 de eritroblaști
- pentru displazie semnificativă trebuie să existe cel puțin 10% din celulele liniei respective cu modificări displazice, se apreciază numărul de displazii, prezența corpilor Auer în mieloblaști

Biopsie osoasă

- colorația hematoxilină-eozină (HE), colorația pentru peroxidază (corpi Auer, deficit de peroxidază), colorația Perls pentru depozitele de fier, colorația Gomori pentru fibroză medulară, localizarea anormală a precursorilor imaturi (ALIP)
- imunohistochimie (IHC) pentru CD34, CD 117, markeri pentru blaști și eritropoieză imatură – este utilă în special când aspiratul nu este concludent din cauza fibrozei medulare

Sânge periferic	Modificări displazice
Eritrocite	Anizocitoză, poichilocitoză, dimorfism eritrocitar, megalocite, hipocromie, punctații bazofile, eritroblaști, picături, ovalocite, schizocite
Granulocite	Celule pseudo-Pelger, granulocite hipo-agranulare, hipolobulate deviere la stânga
Trombocite	Trombocite gigante, anizocitoză trombocitară
Mielogramă	
Celularitate	Hiper celularitate, rar hipocelularitate
Eritropoieză	Modificări megaloblastoide, eritroblaști multinucleari, punți nucleare, cu forme bizare, cu vacuole, asincronism de maturare nucleocitoplasmatică, mitoze atipice, sideroblastoză, SI, precursori PAS+
Granulopoieză	Deviere la stânga, creșterea numărului de blaști, +/- corpi Auer, hipogranularitate, celule pseudo-Pelger, anomalii nucleare (hipernuclearitate, condensare anormală a cromatinei), deficit de mieloperoxidază, creștere și morfologie anormală a monocitelor
Megacariopoieză	Micro-megacariocite, megacariocite mononucleare, hipersegmentare, multinuclearitate cu nuclei multipli izolați

Alte teste de laborator necesare

- dozarea de acid folic (folat eritrocitar) și B12 (acidul metilmalonic seric)
- sideremie, feritină serică, capacitatea totală de legare a fierului
- excluderea talasemiei și a hemoglobinopatiilor
- biochimie: LDH, bilirubină, transaminaze, fosfatază alcalină, albumină, acid uric, creatinină, ionogramă
- electroforeza proteinelor serice și dozări de imunoglobuline, β 2-microglobulină
- CRP
- teste tiroidiene (TSH), anticorpi antinucleari
- testul Coombs și haptoglobină
- nivelul eritropoietinei serice (anterior administrării de masă eritrocitară)
- tipizarea antigenelor de histocompatibilitate HLA (*human leucocyte antigen*), HLA-DR15 în SMD hipoplazic
- screening pentru HPN: test Ham și sucroză și flowcitometrie (absența antigenului asociat poli-inositol, datorită absenței genei PIG-A, absența CD55 și CD 59 pe eritrocite și CD 11b pe monocite)
- teste virale: anticorpi anti-HIV, teste Parvovirus B19 (SMD hipoplazic), teste CMV, EBV, hepatită VHB, VHC
- mutația JAK2 V617F la pacienții cu ARSI cu trombocitoză (dă informații adiționale, dar nu influențează prognosticul și tratamentul)
- evaluarea deficitului de cupru la pacienții cu malabsorbție gastrointestinală, malnutriție severă, chirurgia de by-pass gastric
- documentarea istoricului de transfuzii

Examenul citogenetic

Examenul citogenetic din măduvă – la diagnostic.

Sunt analizate cel puțin 20 metafaze.

Clona anormală: cel puțin 2 metafaze cu aceleași anomalii sau cel puțin 3 metafaze cu pierderea aceleiași cromozom.

Anomalii cromozomiale recurente considerate ca prezumtive pentru diagnosticul de SMD la pacienții cu citopenie persistentă cu semnificație nedeterminată:

Anomalii neechilibrate	Anomalii echilibrate
-7 sau del(7q)	t(11;16)(q23;p13.3)
-5 sau del(5q)	t(3;21)(q26.2;q22.1)
i(17q) sau t(17p)	t(1;3)(p36.3;q21.1)
-13 sau del(13q)	t(2;11)(p21;q23)
del(11q)	inv(3)(q21q26.2)
del(12p) sau t(12p)	t(6;9)(p23;q34)
del(9q)	
idic(X)(q13)	
cariotip complex	

Testul FISH

Testul FISH (hibridizarea *in situ* cu fluorescență), sonde pentru anumite anomalii citogenetice: **5q31**, **cen7**, **7q31**, **cen8**, **TP53**, **20q**, **cenY**. Este indicat când examenul citogenetic este normal sau nu poate fi efectuat (mielofibroză, hipoplazie), numărul de metafaze este mic. Completează examenul citogenetic convențional, dar nu îl substituie.

Biologie moleculară, secvențiere de gene (*Next-generation sequencing*, NGS)

Mutații în 5 gene sunt asociate cu prognostic nefavorabil independent de IPSS sau R-IPSS: **TP53**, **EZH2**, **RUNX1**, **ASXL1**, **ETV6**.

Pacienții care au scor IPSS int-1 și prezintă mutații în una dintre aceste gene trebuie să treacă în categoria următoare de risc prognostic, respectiv IPSS int-2.

Gene implicate în patologia SMD

Funcția genelor	Gene	Frecvența mutațiilor
Factori remodelatori ai cromatinei și reglatori epigenetici	TET2	15–25%
	ASXL1	10–20%
	DNMT3a	10%
	IDH1/2	5–10%
Factori de <i>splicing</i> pre-ARNm	SF3B1	15–30%
	SRSF2	10–15%
	U2AF1	5–10%
Factori transcripționali	RUNX1	10–15%
	TP53	5–10%
Molecule implicate în <i>splicing</i>	N RAS/K RAS	10%

Implicații terapeutice ale mutațiilor somatice

- terapii țintite: inhibitori orali de **IDH1/IDH2**, mutații în **SFE3B1** tratamentul cu luspatercept
- allotransplantul de celule stem în mutații somatice în **TP53** și **cariotip complex**
- del5q asociată cu mutații în **TP53** nu răspund la lenalidomidă
- mutațiile somatice apreciază răspunsul posttransplant de celule stem: mutații în **TP53** sunt asociate cu recădere și deces posttransplant, apar mai frecvent la persoane tinere sub 40 ani și nu sunt influențate de regimul de condiționare
- mutații în **RAS** și **JAK2** au evoluție nefavorabilă și necesită terapii noi

Imunofenotiparea din măduvă, teste pentru HPN

Imunofenotiparea din măduvă, teste pentru HPN – absența antigenului asociat poli-inositol din cauza absenței genei **PIG-A**, absența **CD55** și **CD 59** pe eritrocite și **CD 11b** pe monocite.

Cut-off-ul pentru procentul de blaști în măduvă prin flowcitometrie este considerat crescut când este peste 3% (față de 5% prin morfologie).

Markeri propuși pentru imunofenotiparea în SMD

Compartimentul	Obligatorii	Opțional
Compartimentul eritroid	CD 71/CD235a/ CD117	CD105, CD34/ CD117, CD36
Compartimentul progenitorilor mieloidi	CD34 în combinație cu CD117/CD11b/HLA-DR/CD15 Markeri de infidelitate de linie: CD 5, CD7/CD13, CD19, CD56	CD123, TdT
Compartimentul mieloid matur	CD11b/CD13/CD16, CD11b/CD117/HLA-DR/CD10 CD34 în combinație cu CD5, CD7, CD15, CD19, CD56, CD33/CD14	CD65, CD123
Compartimentul monocitar	CD11 b/HLA-DR, CD34 în combinație cu CD5, CD7, CD19, CD56, CD64/CD14, CD33/CD14, CD33/CD36	CD64/CD36

Alte investigații

- Coagulare: TQ, INR, APTT, fibrinogen, D-Di
- Imagistică: ecografie abdominală, radiografie pulmonară, computer tomograf – la indicație
- ECG, ecografie cardiacă

Examene interdisciplinare

- Consult cardiologic

V. Clasificarea SMD

Clasificarea FAB (French-American-British), 1982

Subtipul FAB	% blaști în sângele periferic	% blaști în măduvă
Anemia refractară (AR)	< 1%	< 5%
Anemia refractară cu sideroblaști inelari (ARSI)	< 1%	< 5%, > 15% SI
Anemia refractară cu exces de blaști (AREB)	< 5%	5–20%
Anemia refractară cu exces de blaști în transformare (AREB-t)	≥ 5%	21–30% sau corpi Auer
Leucemia mielo-monocitară cronică (LMMC)	< 5% > 1 x 10 ⁹ /l monocite	5–20% blaști și 5% monocite imature sau 20% monocite imature și 5% blaști

Clasificarea SMD OMS 2016

Subtipul OMS	Sânge periferic	Măduvă
SMD cu o singură displazie	Una sau două citopenii	Displazie uniliniară $\geq 10\%$ din celulele unei linii, $< 5\%$ blaști
SMD cu sideroblaști inelari (SMD-SI)	Anemie, fără blaști	$\geq 15\%$ sideroblaști inelari sau $\geq 5\%$ sideroblaști inelari dacă este prezentă mutația SF3B1
SMD cu displazie multiliniară	Citopenie/citopenii, $< 1 \times 10^9/L$ monocite	Displazie în $\geq 10\%$ din celulele ≥ 2 linii, $< 15\%$ și/sau $< 5\%$ și dacă este prezentă mutația SF3B1, $< 5\%$ blaști
SMD cu exces de blaști-1 (SMD-EB-1)	Citopenie/citopenii, $\leq 2-4\%$ blaști, $< 1 \times 10^9/L$ monocite	Displazie una sau mai multe linii, 5–9% blaști, fără corpi Auer
SMD cu exces de blaști-2 (SMD-EB-2)	Citopenie/citopenii, 5–19% blaști, $< 1 \times 10^9/L$ monocite	Displazie una sau mai multe linii, 10–19% blaști, +/- corpi Auer
SMD neclasificabil	Citopenii, +/- 1% blaști la cel puțin 2 determinări	Displazie uniliniară sau fără displazii, dar anomalii citogenetice caracteristice SMD, $< 5\%$ blaști
SMD del(5q) izolată	Anemie, Tr. normale sau crescute	Displazie uniliniară eritroidă, del(5q) izolată, $< 5\%$ blaști, +/- altă anomalie cu excepția -7/del(7q)
Citopenia refractară a copilăriei (entitate OMS provizorie)	Citopenii, $< 2\%$ blaști	Displazie 1–3 linii, $< 5\%$ blaști

Clasificarea OMS 2022

	Blaști	Examen citogenetic	Mutații
SMD cu anomalii genetice definite			
SMD cu blaști scăzuți și del5q izolată (SMD-5q)	< 5% MO și < 2% SP	del5q sigură sau asociată cu o altă anomalie, alta decât -7 sau del 7q	
SMD cu blaști scăzuți și mutații în SF3B1 (SMD-SF3B1)		absența del 5q, -7, cariotip complex	SF3B1 (sau $\geq 15\%$ SI)
SMD cu inactivare bialelică TP53 (SMD-biTP53)	< 20% MO și SP	de obicei complex	2 sau mai multe mutații TP53 sau 1 mutație cu pierderea heterozigotității TP53
SMD definit morfologic			
SMD cu blaști scăzuți (SMD-LB)	< 5% MO și < 2% SP		
SMD hipoplazic (SMD-h)	celularitate sub 25%, ajustată vârstei		
SMD cu blaști crescuți (SMD-EB)			
SMD-EB1	5–9% MO sau 2–4% SP		
SMD-EB2	10–19% MO sau 5–19% SP sau corpi Auer		
SMD cu fibroză (SMD-f)	5–19% MO 2–19% SP		

Clasificarea OMS 2022 versus 2016

OMS 2022	OMS 2016	Blaști
SMD cu anomalii genetice definite		
SMD cu blaști scăzuți și del5q izolată (SMD-5q)	SMD-del5q	< 5% MO și < 2% SP
SMD cu blaști scăzuți și mutații în SF3B1 (SMD-SF3B1)	SMD-SI	
SMD cu inactivare bialelică TP53 (SMD-biTP53)		< 20% MO și SP
SMD definit morfologic		
SMD cu blaști scăzuți (SMD-LB)	SMD – o singură displazie SMD – displazie multiliniară	< 5% MO, 2–4% SP
SMD hipoplazic (SMD-h)		< 5%MO
SMD cu blaști crescuți (SMD-IB)		
SMD-IB1 SMD-IB2	SMD-EB1 SMD-EB2	5–9% MO sau 2–4% SP 10–19% MO sau 5–19% SP sau corpi Auer
SMD cu fibroză (SMD-f)		5–19% blaști în MO, 2–19% SP
LAM	LAM	OMS ≥ 20% BM ICC ≥ 20% BM sau ≥ 10% BM cu anomalii moleculare definite

International Consensus Classification SMD și SMD/LAM 2022

	Linii displazice	Citopenii	Citoze*	Blaști MO SP	Examen citogenetic	Mutații
SMD cu mutații SF3B1 (SMD-SF3B1)	≥ 1	≥ 1	0	< 5% < 2%	Oricare, excepție del(5q), -7/del(7q), anom3q26.2 sau complex	SF3B1 (≥ 10% VAF), fără TP53 multi-hit sau RUNX1
SMD-del(5q)	≥ 1	≥ 1	Tr↑	< 5% < 2%	del(5q), +/- altă anomalie, fără -7/del(7q)	Oricare, excepție TP53 multi-hit
SMD, NOS fără displazie	0	≥ 1	0	< 5% < 2%	-7/del(7q) sau complex	Oricare, excepție TP53 multi-hit sau SF3B1 (≥ 10% VAF)
SMD, NOS cu o displazie	1	≥ 1	0	< 5% < 2%	Oricare, fără criteriile SMD-del(5q)	Oricare, excepție TP53 multi-hit, fără criterii SMD-SFEB1
SMD, NOS cu displazie multiliniară	≥ 2	≥ 1	0	< 5% < 2%	Oricare, fără criteriile SMD-del(5q)	Oricare, excepție TP53 multi-hit, fără criterii SMD-SFEB1
SMD cu exces de blaști (SMD-EB)	≥1	≥1	0	5–19% MO 2–9% SP	Oricare	Oricare, cu excepția TP53 multi-hit
SMD/LAM	≥1	≥1	0	10–19% MO sau SP	Oricare, excepție cele care definesc LAM	Oricare, excepție NPM1, bZIP CEBPA sau TP53

* Citoze: L ≥ 13.000/mm³, Mo ≥ 500/mm³ și 10% din L, Tr ≥ 450.000/mm³ în MDSdel(5q) sau SMD cu inv3 sau t(3;3)

Mutații care exclud diagnosticul de SMD: *RUNX1::RUNX1T1*, asociate cu t(8;21)(q22;q22); *CBFB::MYH11*, asociate cu inv(16)(p13.1q22); *PML::RARA*, asociate cu t(15;17)(q22;q21.1), și *NPM1*.

Neoplasme mieloidă cu mutații în TP53

Tip	Citopenie	Blaști	Genetică
SMD cu mutații TP53	Oricare	0–9% MO, SP	
SMD/LAM cu mutații TP53	Oricare	10–19% MO, SP	Orice mutație somatică TP53 (VAF > 10%)
AML cu mutații TP53	Nu este necesară	≥ 20% MO/SP sau criterii pentru leucemia eritroidă pură	Orice mutație somatică TP53 (VAF > 10%)

Clasificarea OMS 2016 a neoplasmelor mielodisplazice/mieloproliferative (SMD/NMP)

Subtipul OMS	Sânge periferic	Măduvă	Mutații frecvente
Leucemia mielo-monocitară cronică (LMMC)-0	> 1 x 10 ⁹ /L Monocite < 2% blaști ≥ 10% monocite	Displazie ≥ 1 linie hematopoietică, < 5% blaști	TET2, SRSF2, ASXL1, RUNX1, NRAS, CBL
LMMC-1	> 1 x 10 ⁹ /L Monocite 2–4% blaști ≥ 10% monocite	Displazie ≥ 1 linie hematopoietică, 5–9% blaști	TET2, SRSF2, ASXL1, RUNX1, NRAS, CBL
LMMC-2	> 1 x 10 ⁹ /L monocite 5–19% blaști sau corpi Auer ≥ 10% monocite	Displazie ≥ 1 linie hematopoietică, 10–19% blaști sau corpi Auer	TET2, SRSF2, ASXL1, RUNX1, NRAS, CBL
Leucemia mieloidă cronică atipică (LMCa) BCR-ABL negativă	L > 13 x 10 ⁹ /L Precursori neutrofilici ≥ 10% < 20% blaști disgranulopoieză	Hipercelulară < 20% blaști	SETBP1, ETNK1

