

### INTRODUZIONE

La macroglobulinemia di Waldenström (WM) è una rara malattia linfoproliferativa dei linfociti B maturi, caratterizzata dalla presenza rilevabile nel siero di immunoglobulina monoclonale M (IgM) nel sangue e associata all'infiltrazione del midollo osseo da parte di piccoli linfociti, plasmociti e cellule linfoplasmocitiche. Poiché la dimostrazione dell'infiltrazione del midollo osseo da parte delle cellule della WM rappresenta un elemento necessario della diagnosi di WM, è importante conoscere il midollo osseo stesso, come viene interessato dalla WM e quali esami del midollo osseo vengono utilizzati per effettuare la diagnosi.

Per una comprensione più basilare del midollo osseo e della macroglobulinemia di Waldenström, visitare <https://iwmf.com/publications/> e scorrere verso il basso fino alla pubblicazione **A Basic Guide to Understanding Your Bone Marrow and Waldenström's Macroglobulinemia** (Una guida basilare alla comprensione del midollo osseo e della macroglobulinemia di Waldenström).

### ELEMENTI DEL MIDOLLO OSSEO

Negli adulti, le cellule che circolano nel flusso ematico hanno origine nel midollo osseo. Si tratta di un materiale soffice e spugnoso all'interno delle ossa, sotto la porzione esterna dura di queste ultime, nota come osso compatto o corticale. Gran parte del midollo osseo negli esseri umani si trova nelle ossa di bacino, sterno e vertebre (colonna vertebrale). Poiché le cellule e le immunoglobuline che circolano nel flusso ematico hanno origine nel midollo osseo, questa è la sede dove hanno normalmente inizio le indagini relative ai problemi ematologici (correlati al sangue). Nel midollo osseo, è possibile trovare tutte le cellule ematiche immature o cellule precursori.

All'interno del midollo osseo, si trovano le cellule staminali, le cellule con il potenziale di svilupparsi in una serie di tipi cellulari differenti. A seconda della loro tipologia, le cellule staminali possono trasformarsi in cellule ematiche mature, vasi sanguigni, tessuto adiposo, cartilagine o altre strutture. Le cellule staminali emopoietiche possono essere suddivise in mieloidi e linfoidi. In ultima istanza, diverranno globuli rossi, piastrine e globuli bianchi circolanti.

Le cellule staminali mieloidi possono maturare in precursori eritroidi (globuli rossi immaturi) e, infine, in eritrociti (globuli rossi maturi). I globuli rossi sani contengono una proteina nota come emoglobina, responsabile della ritenzione dell'ossigeno all'interno della cellula ematica e del successivo rilascio in diversi tessuti mentre il globulo rosso circola nell'organismo. Il valore di laboratorio dell'emoglobina viene spesso utilizzato in qualità di marcatore surrogato per la quantità effettiva di globuli rossi in circolazione nel corpo.

Le cellule staminali mieloidi possono anche evolversi in megacariociti, le cellule più grandi all'interno del midollo osseo. Piccoli frammenti di megacariociti si separano dalla cellula e vengono immessi nella

circolazione sotto forma di trombociti, altrimenti noti come piastrine. Queste ultime svolgono un ruolo importante nella formazione dei coaguli ematici e nella prevenzione di emorragie.

Esistono molti tipi di leucociti (globuli bianchi) e tutti rivestono un ruolo nella funzionalità del sistema immunitario. I globuli bianchi si formano da cellule staminali sia mieloidi sia linfoidi. Le cellule staminali mieloidi possono evolversi in eosinofili, basofili, monociti e neutrofili, che svolgono ruoli importanti nella protezione dalle infezioni. Le cellule staminali linfoidi si sviluppano in cellule che costituiscono anch'esse una parte centrale

del sistema immunitario, tra cui linfociti B, linfociti T, plasmociti e cellule natural killer. I linfociti B sono precursori dei plasmociti e il normale percorso del loro sviluppo in tali plasmociti è interessato dalla WM. In caso di WM, di norma si verifica una mutazione durante tale percorso e si sviluppa una popolazione clonale di cellule (formate dalla divisione mitotica di una singola cellula somatica). Pertanto, il clone anomalo della WM può contenere una qualsiasi delle cellule di questo percorso, inclusi linfociti B, cellule linfoplasmocitiche (cellule dotate di caratteristiche dei linfociti B e dei plasmociti) e plasmociti.

I plasmociti producono anticorpi (noti anche come immunoglobuline), immessi poi nella circolazione. Ogni anticorpo si compone di quattro proteine: una coppia di proteine di grandi dimensioni, definite catene pesanti, e una coppia di proteine di piccole dimensioni, note come catene leggere. Esistono numerose varianti di catene pesanti e due categorie di catene leggere, note come kappa e lambda. In circostanze normali, ogni cellula che produce anticorpi seleziona una catena leggera kappa o lambda e tutti gli anticorpi prodotti da quella specifica cellula utilizzano tale catena leggera kappa o lambda. Di norma, è presente una varietà di plasmociti differenti, alcuni che producono anticorpi con catena leggera kappa, altri con catena leggera lambda. Di conseguenza, il sangue contiene generalmente un mix di anticorpi con catene pesanti e leggere diverse. Esistono anche classi di anticorpi differenti. Nella WM, la classe predominante è detta IgM. Le IgM si compongono di cinque anticorpi identici, tutti collegati in cerchio a formare un unico grande complesso molecolare.

Le cellule nel midollo osseo non sono disposte a caso. Se uno scienziato osservasse da vicino il midollo osseo con un microscopio, noterebbe il cosiddetto "microambiente". Si tratta di cellule e strutture disposte in modo tale da consentire la trasmissione di segnali tra le cellule del midollo osseo. Il microambiente riveste un ruolo importante nella crescita di cellule sia sane sia maligne. Attualmente, sono in corso numerose ricerche per comprendere meglio il ruolo del microambiente nello sviluppo e nella crescita delle cellule maligne, nonché il suo effetto sulle risposte al trattamento.

Una domanda circa la WM è perché le relative cellule maligne risiedano, in via preferenziale, nel midollo osseo e non siano altrettanto presenti in altre aree del corpo. Indizi in tal senso potrebbero celarsi proprio nel microambiente del midollo osseo. Le interazioni tra le cellule della WM e altre cellule e strutture dell'ambiente del midollo osseo potrebbero rendere quest'ultimo un sito più ospitale per la crescita delle cellule della WM. Un meccanismo in base al quale le cellule della WM risiedono nel

midollo osseo è una proteina presente sulla loro superficie, la CXCR4, che interagisce con i segnali all'interno del microambiente del midollo osseo. Le mutazioni della CXCR4 ne causano l'accumulo sulla superficie delle cellule della WM, agevolando potenzialmente la loro ritenzione e crescita nel midollo osseo. Probabilmente, sono presenti anche altri segnali che aiutano le cellule della WM a rimanere e crescere nel midollo osseo e il modo in cui interferire con tali segnali è un'area attivamente oggetto di indagine scientifica.

Un'altra domanda è perché la popolazione di cellule della WM, nonostante la mutazione MYD88 e altre alterazioni che consentono loro di crescere e sopravvivere meglio rispetto alle cellule normali, si espanda così lentamente (o non si espanda affatto) nei pazienti asintomatici (osservazione periodica) e persino in alcuni pazienti sintomatici. La risposta a tale domanda è oggetto di studio, ma un elemento fondamentale potrebbe risiedere nelle cellule immunitarie all'interno del microambiente del midollo osseo. Tali cellule immunitarie svolgono probabilmente un ruolo importante nel controllo della crescita delle cellule della WM. I ricercatori stanno provando a comprendere meglio la risposta immunitaria dell'organismo alle cellule della WM, nella speranza di utilizzare farmaci specifici per migliorarne alcuni aspetti critici.

### **BIOPSIA E ASPIRATO DEL MIDOLLO OSSEO**

È possibile eseguire la biopsia e l'aspirato del midollo osseo per molte ragioni, tra cui l'indagine delle cause di citopenia (conte cellulari ridotte) o la valutazione della presenza di una malignità ematologica. Quando è necessaria un'indagine approfondita del midollo osseo, si prelevano di norma due campioni: un aspirato del midollo osseo e una biopsia del nucleo del midollo osseo. L'aspirato è un campione liquido del midollo osseo, mentre la biopsia del nucleo è una parte solida del midollo stesso.

Di norma, i campioni di midollo osseo vengono prelevati mentre il paziente giace su un lato o in posizione prona. La procedura può avvenire in diversi luoghi, ad esempio una clinica, un centro di radiologia interventistica o una sala operatoria. Durante la biopsia e l'aspirato del midollo osseo, viene utilizzato un anestetico locale (un farmaco che provoca la perdita della sensibilità) simile a quello degli interventi dentistici. Inoltre, a seconda delle preferenze del paziente o del medico, è possibile ricorrere alla sedazione cosciente per favorire il comfort del paziente. Non si tratta di una prassi standard in molti istituti e, nella maggior parte dei casi, è possibile eseguire facilmente la procedura con il solo impiego di un anestetico locale. Dopo la somministrazione dell'anestetico locale, il medico si avvale di un ago cavo e una siringa per prelevare i campioni di midollo osseo. Di norma, si utilizza un ago diverso per ogni campione, benché sia possibile ottenere entrambi i campioni dalla sede anestetizzata inizialmente su pelle e osso. Una volta completata la biopsia del midollo osseo, si esercita pressione sul sito della biopsia per prevenire sanguinamenti, per poi applicare una benda. Generalmente, i pazienti possono riprendere la propria routine lo stesso giorno in cui viene effettuata la biopsia, benché possa manifestarsi un dolore temporaneo a livello del sito.

---

### INTERPRETAZIONE DELLE ANALISI DEL MIDOLLO OSSEO NELLA MACROGLOBULINEMIA DI WALDENSTRÖM

A seconda del motivo per cui è stata eseguita la biopsia, è possibile sottoporre i campioni di midollo osseo a diversi esami. Molti dei seguenti esami vengono comunemente condotti nei pazienti con WM e, di seguito, sono descritti i risultati caratteristici della WM.

#### BIOPSIA DEL NUCLEO DEL MIDOLLO OSSEO

La biopsia del nucleo del midollo osseo serve generalmente a valutare la struttura del midollo osseo, la cellularità, il grado di maturazione delle cellule e la proporzione di tipi cellulari differenti.

##### Cellularità

La cellularità (il numero di cellule presenti nel midollo osseo) varia in funzione dell'età. Il numero di cellule nel midollo osseo diminuisce con l'età, mentre aumenta la quantità di tessuto adiposo. In generale, la quantità di tessuto adiposo nel midollo osseo dovrebbe risultare simile all'età del paziente (ossia, in un paziente di 70 anni il tessuto adiposo dovrebbe rappresentare tra il 60 e l'80% del midollo osseo). Spesso, la prima valutazione effettuata da un patologo durante l'esame del midollo osseo prevede l'analisi della cellularità per stabilire se la quantità sia in correlazione con l'età del paziente. Esistono alcune condizioni, ad esempio leucemia e linfoma, in cui il tessuto adiposo viene sostituito da cellule maligne e, in tal caso, il numero di cellule risulta maggiore. In caso di WM, è normale che i pazienti presentino un midollo ipercellulare (ossia, un midollo con più cellule del previsto in base all'età del paziente) a causa della popolazione dello stesso da parte delle cellule maligne della WM.

##### Identificazione cellulare

I patologi sono in grado di identificare facilmente i tipi cellulari presenti nella biopsia del nucleo osservando la forma, le dimensioni e la struttura delle cellule. I patologi studiano la biopsia per stabilire se vi sia un eccesso o una riduzione sostanziale del numero di cellule sane. Alcune colorazioni speciali, definite immunoistochimiche, possono contribuire all'identificazione di ciascun tipo cellulare. Spesso, nella WM, è presente un eccesso di plasmociti, linfociti o cellule linfoplasmocitiche nel midollo osseo. Tali cellule anomale, o quelle di altre malignità, sono spesso raggruppate in cluster piuttosto che distribuite uniformemente in tutto il midollo osseo. Di norma, il numero di cellule anomale nella WM corrisponde alla percentuale di infiltrazione del midollo osseo da parte delle cellule linfoplasmocitiche, ossia la quantità di cellule maligne generalmente menzionata durante la discussione dei risultati con i pazienti.

In caso di sospetto di WM, una volta individuato un eccesso di plasmociti, linfociti e/o cellule linfoplasmocitiche, i patologi possono stabilire se si tratti di cellule monoclonali (correlate alle cellule

maligne) analizzando se tutte le cellule esprimono la medesima catena leggera degli anticorpi tramite un'ibridizzazione *in situ* (vedere la sezione **Elementi del midollo osseo** sopra per una descrizione delle catene leggere degli anticorpi). L'ibridizzazione *in situ* è una tecnica di laboratorio che consente a un patologo di valutare l'mRNA (materiale genetico) di una cellula per stabilire quale catena leggera produrrà.

Una popolazione normale di molte cellule presenta un mix di cellule che utilizzano catene leggere kappa e lambda. In caso di WM, il clone maligno esprime in modo uniforme una catena leggera kappa o lambda, determinando una quantità insolitamente elevata di quella particolare catena leggera. Il patologo può stabilire una correlazione tra il clone delle cellule nel midollo osseo e il tipo di catena leggera riscontrato negli esami ematici, nello specifico esami quali l'immunofissazione sierica (SIFE) o l'esame delle catene leggere libere (FLC).

### **ASPIRATO DEL MIDOLLO OSSEO**

L'aspirato del midollo osseo consiste nel campione liquido generalmente utilizzato per valutare la quantità di ogni tipo cellulare e la morfologia cellulare (stato/forma). Nella maggior parte dei casi, risulta necessario anche per ottenere analisi genetiche dettagliate.

#### **Striscio di aspirato**

Lo striscio di aspirato consiste in un sottile strato cellulare prelevato dalla porzione liquida del midollo osseo che un patologo può esaminare per analizzare le singole cellule. Idealmente, l'aspirato del midollo osseo contiene spicole (piccoli frammenti di osso), che indicano che il campione è adeguato ed è stato prelevato dalla sede corretta all'interno del midollo osseo. Lo striscio di aspirato risulta importante nella valutazione di numerose patologie del midollo osseo, ad esempio la mielodisplasia (una malattia del midollo osseo che può anche causare la riduzione della produzione di cellule o la produzione di cellule di forma anomala).

#### **Citometria a flusso**

Anche la citometria a flusso viene eseguita sull'aspirato del midollo osseo e permette di identificare tipi cellulari specifici (ossia, plasmociti o linfociti B) in base ai marcatori riscontrati sulla superficie esterna delle cellule. L'identificazione di tipi cellulari specifici mediante la citometria a flusso è nota come immunofenotipizzazione. Grazie a questo esame, un patologo può individuare la presenza di una o più popolazioni cellulari (clonali) anomale. È importante notare che non tutte le cellule sopravvivono alla procedura necessaria per tale esame. Ciò vale soprattutto per i plasmociti, dunque la percentuale di cellule anomale rilevata nell'ambito dell'esame potrebbe essere inferiore a quella emersa dalla biopsia del nucleo.

### Esame del cariotipo e FISH

L'esame del cariotipo è una procedura eseguita per valutare accuratamente le dimensioni complessive, la forma e il numero di cromosomi. I cromosomi sono strutture all'interno del nucleo delle cellule, tra cui quelle del midollo osseo, che contengono il DNA (il materiale genetico del corpo umano). Un cariotipo può fornire un'idea generale di qualsiasi aggiunta o delezione dei cromosomi, nonché di qualsiasi traslocazione (scambio di materiale tra cromosomi diversi). L'analisi approfondita dei cromosomi può comprendere anche l'ibridazione *in situ* fluorescente (FISH), in grado di rilevare alterazioni cromosomiche specifiche potenzialmente correlate ad altre patologie del midollo osseo, quali il mieloma multiplo o il linfoma follicolare. Benché, di norma, non si utilizzino tali informazioni per definire il trattamento o confermare la diagnosi di WM, esistono alcune mutazioni riscontrate in questi esami che si manifestano spesso nella WM, ad esempio la mutazione TP53 e la delezione 6q.

### Analisi mutazionale

Una volta prelevato l'aspirato, una parte del campione deve essere sottoposta anche a ulteriori esami per valutare la presenza di mutazioni genetiche specifiche normalmente associate alla WM. Occorre eseguire analisi approfondite in relazione alle mutazioni MYD88 e della CXCR4 nell'ambito di un controllo iniziale completo per la WM. È possibile eseguire tali esami tramite numerose procedure differenti, tra cui sequenziamento massivo parallelo, reazione a catena della polimerasi (PCR) o sequenziamento Sanger. Sapere se è presente una mutazione MYD88 o della CXCR4 è importante per la scelta delle opzioni di trattamento.

La diagnosi di WM richiede la presenza di un linfoma linfoplasmocitico nel midollo osseo. Una biopsia e un'aspirazione del midollo osseo che includano immunofenotipizzazione e analisi genetiche contribuiscono a stabilire la diagnosi di WM distinguendola dal mieloma multiplo di tipo IgM e da altre malattie che comportano la secrezione di IgM, quali il linfoma della zona marginale e la leucemia linfatica cronica.

### RINGRAZIAMENTI

IWMF riconosce il prezioso contributo alle proprie conoscenze pubblicate in materia di WM da parte dell'International Workshops on Waldenstrom's Macroglobulinemia (IWWM) e della National Comprehensive Cancer Network (NCCN®). IWMF ringrazia la dott.ssa Shayna Sarosiek del Dana-Farber Cancer Institute per il suo contributo alla redazione e alla revisione della presente scheda informativa.

### COS'È L'IWMF

L'IWMF (International Waldenstrom's Macroglobulinemia Foundation, Fondazione internazionale per la lotta alla macroglobulinemia di Waldenström) è un'organizzazione non-profit 501(c)(3) fondata da pazienti e gestita da volontari con un'importante visione, "Un mondo senza WM", e la missione di "sostenere e informare chiunque si trovi ad affrontare la WM mentre continuano i progressi della ricerca per pervenire a una cura".

Maggiori informazioni sulla macroglobulinemia di Waldenström, sui servizi e sul supporto offerti dall'IWMF e dalle organizzazioni a essa affiliate sono disponibili sul sito [www.iwmf.com](http://www.iwmf.com).

L'attività dell'IWMF si avvale di donazioni per portare avanti la sua missione, per questo il vostro aiuto è sempre molto apprezzato. La sede delle attività della Fondazione si trova presso 6144 Clark Center, Ave., Sarasota, FL 34238. È possibile contattare telefonicamente i nostri uffici al numero +1 941-927-4963, tramite fax al numero +1 941-927-4467 o via e-mail all'indirizzo [info@iwmf.com](mailto:info@iwmf.com).

Le informazioni qui contenute sono fornite esclusivamente a fini informativi e non sono da intendersi come sostitutive di un consulto medico professionale. I pazienti dovrebbero usare i dati forniti in combinazione con il consulto e la supervisione di un medico specializzato esperto nel trattamento della WM. Invitiamo caldamente i pazienti a non utilizzare le informazioni qui contenute senza prima aver consultato uno specialista.

Copyright© The International Waldenstrom's Macroglobulinemia Foundation,

giugno 2022

*La realizzazione della presente scheda informativa è stata resa possibile da Pharmacyclics, una Società AbbVie e Janssen Biotech, Inc.*

