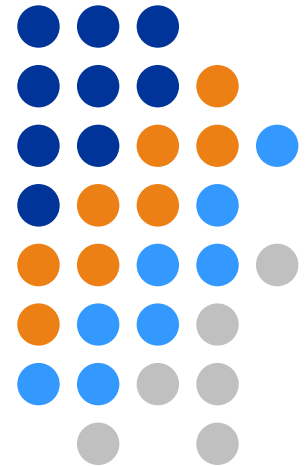


# Diagnostische score van flowcytometrie in MDS

Marisa Westers

*Afdeling Hematologie, VU Medisch Centrum, Amsterdam*



# Flowcytometrie bij MDS



- MDS is een maligniteit
- diagnose MDS heeft verstrekkende en levenslange consequenties voor de patiënt
- wees daarom zeer terughoudend bij de diagnose
  
- diagnose is gebaseerd op
  - Morfologie (biopt en aspiraats)
  - Cytogenetica en moleculaire diagnostiek
  - Flowcytometrie (in ontwikkeling en validatiefase)
  
- Technieken zijn aanvullend aan elkaar
  
- Uitsluitend FCM bij MDS rapporteren indien daar veel ervaring mee is (vooral met niet-MDS controles)

# Richtlijnen van de MDS werkgroep

## *Analyse van cellijnen*



- Myeloïde reeks (onrijp en rijp)
- Monocytair

Voorlopig niet, dan wel zeker niet:

- Erythropoïese (in validatiefase)
- Megakaryopoïese (niet uitvoerbaar)

# Rapportage aan de kliniek

- Verhoogde percentages onrijpe cellen
- Aberranties
- Rijpingspatronen





# Analyse van myelopoïese

## *voorlopercellen, granulocyten en monocyten*

- percentage myeloïde voorlopers: conform AML
- aberrante expressies: conform AML
  
- aan- of afwezigheid van dysgranulopoïese
  - mate van dysplasie niet aangeven, alleen  $> 2$  afwijkingen;  
of
  - verlaagde SSC : dysgranulopoïese
  
- aan- of afwezigheid van dysmonocytopoïese
  - indien duidelijk afwijkend,  $> 2$  afwijkingen  
of
  - aanwezigheid van aberrante expressie van CD56



# Rapportage mogelijkheden

- A  
FCM analyse laat **geen** aanwijzingen zien voor MDS
- B  
FCM analyse laat aanwijzingen zien voor dysmyelopoïese
- C  
Resultaat van de FCM analyse zou kunnen passen bij MDS

# Advies aan de kliniek



- Altijd vermelden: dat flowcytometrie slechts één techniek is die in relatie tot de andere parameters beoordeeld moet worden
  - Mate van penie
  - Cytologie en (immuun) histologie
  - Cytogenetica
- Specifiek vermelden dat MDS niet kan worden uitgesloten of bevestigd aangezien dyserythropoïese en dysmegakaryopoïese niet kan worden gedetecteerd

# Mogelijkheden



- A of B: dan vermelden dat dyserythropoïese en dysmegakaryopoïese nog niet met FCM kunnen worden gedetecteerd
- Bij discrepanties tussen verschillende technieken: herhaling van het onderzoek vragen na 6 maanden
- Geen duidelijke conclusie: herhaling van het onderzoek vragen na 6 maanden

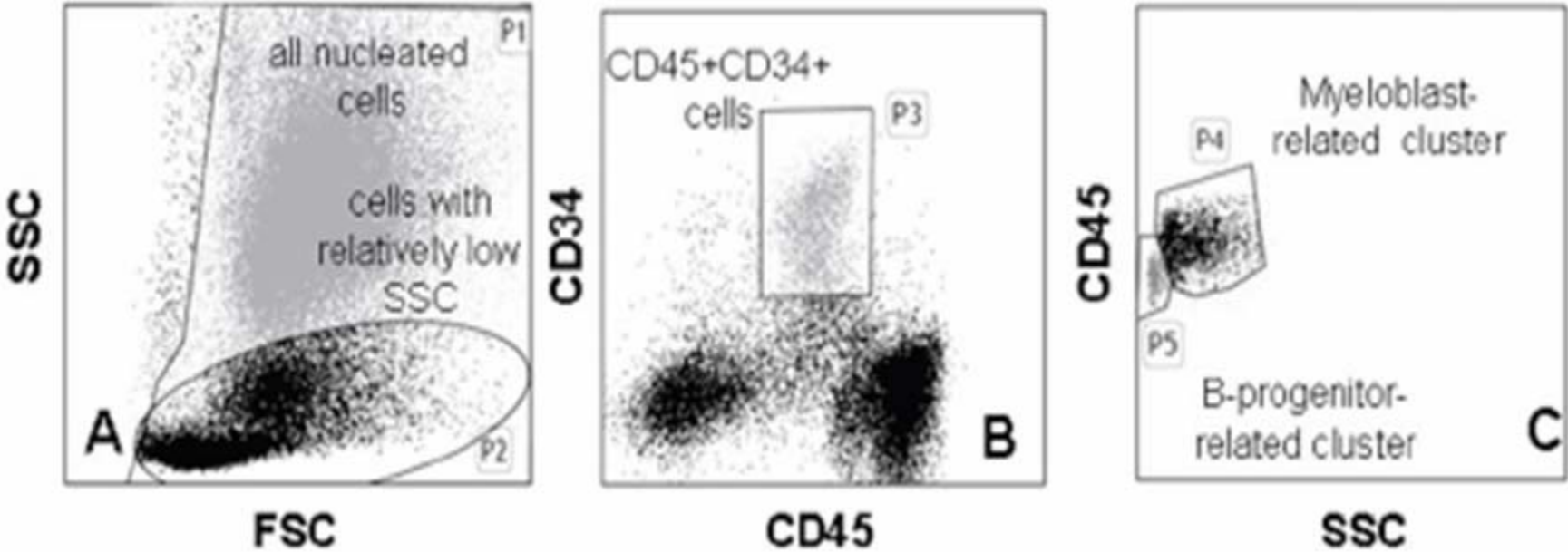


# Implementatie van een diagnostische flowscore



- CD34/CD45 kleuring
  - evt. aangevuld met CD19 als B-celmerker
- 4 parameters:
  - % CD34+ myeloïde voorlopers binnen kernhoudende cellen
  - % CD34+ B-lymfatische voorlopers binnen CD34+ fractie
  - CD45 expressie van CD34+ myeloïde voorlopers t.o.v. lymfocyten
  - SSC van granulocyten t.o.v. lymfocyten

# Gatingstrategie



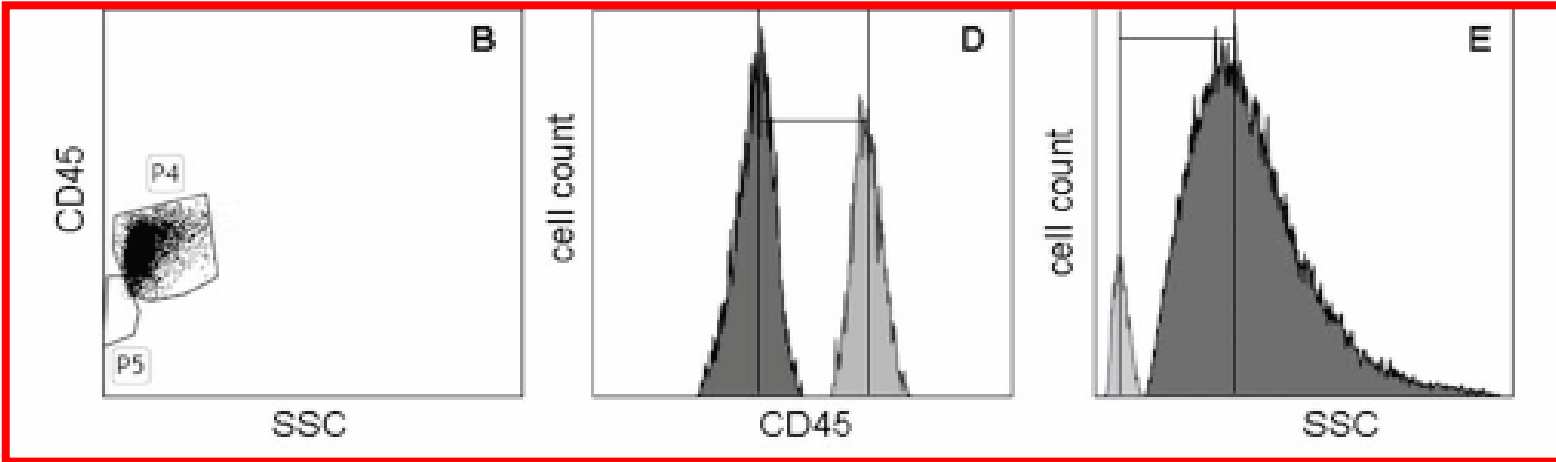
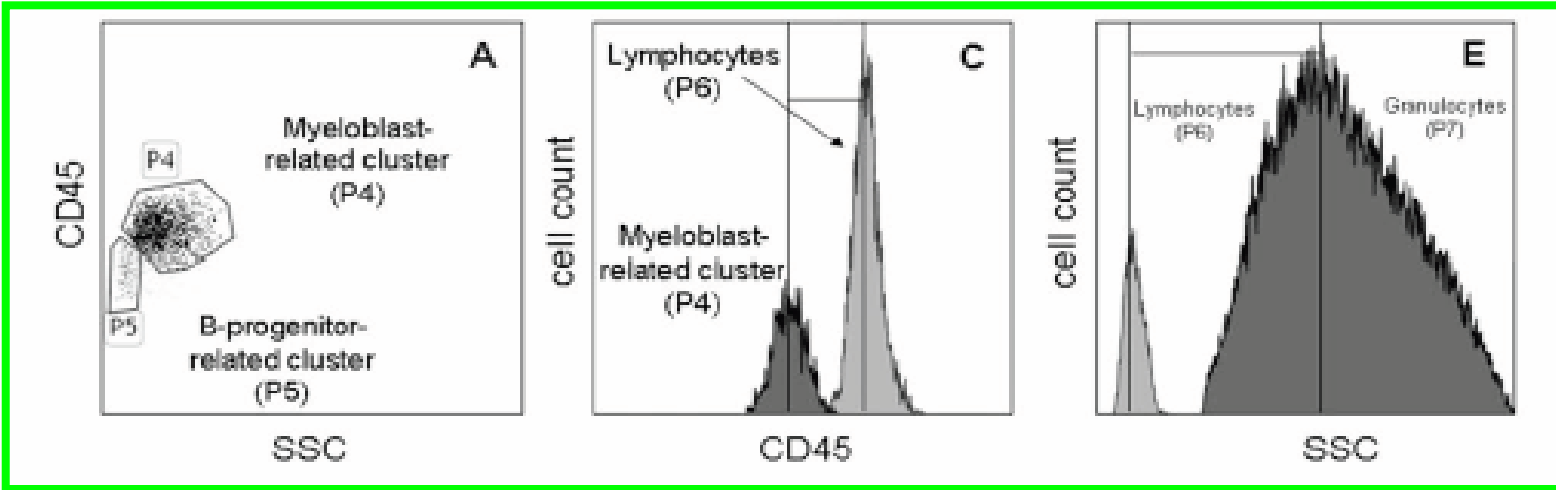
# Interne referentiepopulatie



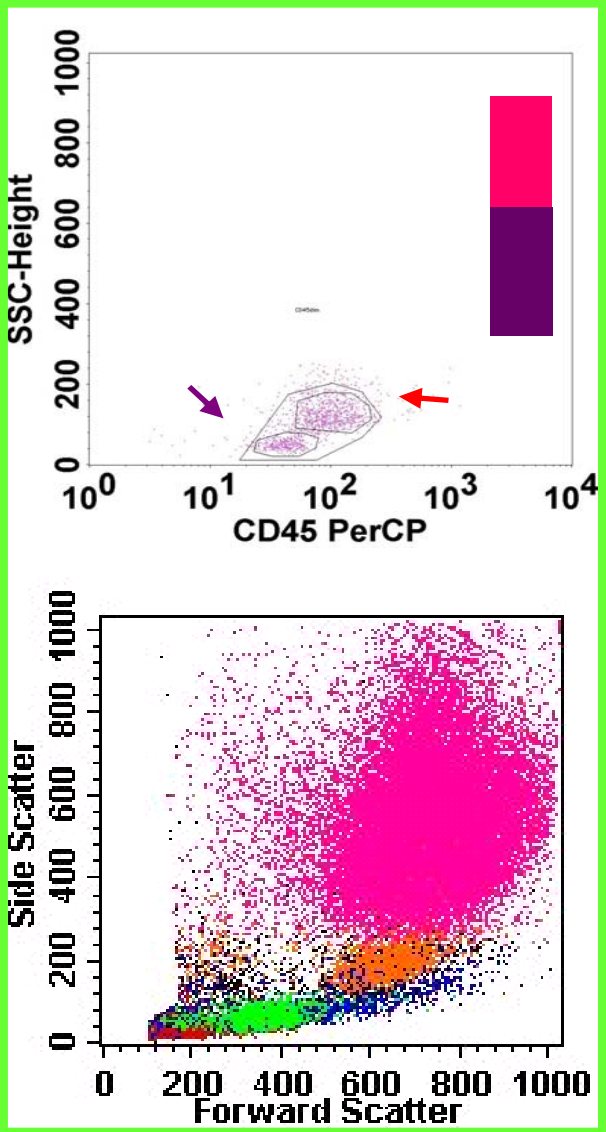
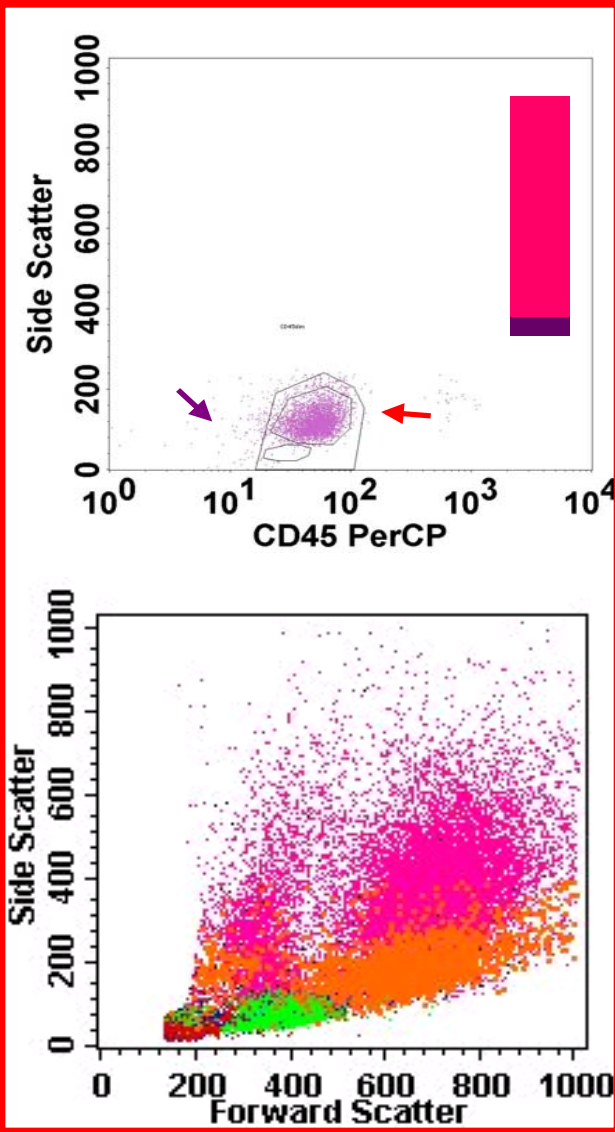
Myeloblast-related cluster size  
B-progenitor-related cluster size

Lymphocytes to Myeloblasts  
CD45 ratio

Granulocytes to Lymphocytes  
SSC ratio



# Voorbeeld



# Resultaten



- Normaalwaarden:

- %CD34+ myeloid <2% (ROC curve)
- %CD34 B-celvoorlopers >5% (ROC-curve)
- CD45 Ly/My 4-7,5 (mean  $\pm$ 2 SD)
- SSC gran/ly >6 (ROC curve)

- Voor elke afwijking 1 punt

Indien  **$\geq 2$  punten** ...  
waarschijnlijk MDS met

sensitiviteit 70%  
specificiteit 92%



# Valkuilen van deze numerieke score

- verschillende “normaalwaarden” in verschillende centra, vooral CD45 en SSC (fluorochroom, instrument, instrument set-up)

*control patients*

<i>Centre</i>	<i>Patients (n)</i>	<i>Myeloblast-related cluster size (%)</i>	<i>B-progenitor-related cluster size (%)</i>	<i>Ly/Mbl CD45 ratio</i>	<i>Gra/Ly SSC ratio</i>
1	34	1,05 (0,2-2,8)	9,5 (0-44,5)	6,45 (3,5-9,62)	7.9 (6,4-15,8)
2	36	0,87 (0,5-2,57)	6,9 (0-44,8)	6,6 (3,77-8,72)	8,35 (5,06-19,6)
3	34	1,09 (0,01-3,11)	8,9 (0-54,1)	6,83 (5,17-11,2)	7,58 (4,4-12,7)
4	83	0,8 (0,04-1,8)	12,3 (0,1-47,1)	5,02 (1,7-7,9)	7,7 (4,7-13,21)
5	33	0.9 (0,4-2)	13,57 (1,3-33,8)	6,79 (4,01-8,11)	7,67 (5,48-12,33)
6	37	1,07 (0,26-2,91)	9,54 (0-36,8)	6,24 (4,55-10,68)	8,29 (5,71-15,96)
<i>Total</i>	<i>257</i>	<i>0,9 (0,01-3,11)</i>	<i>10,7 (0-54,1)</i>	<i>6,1 (1,7-11,2)</i>	<i>7,98 (4,40-15,96)</i>

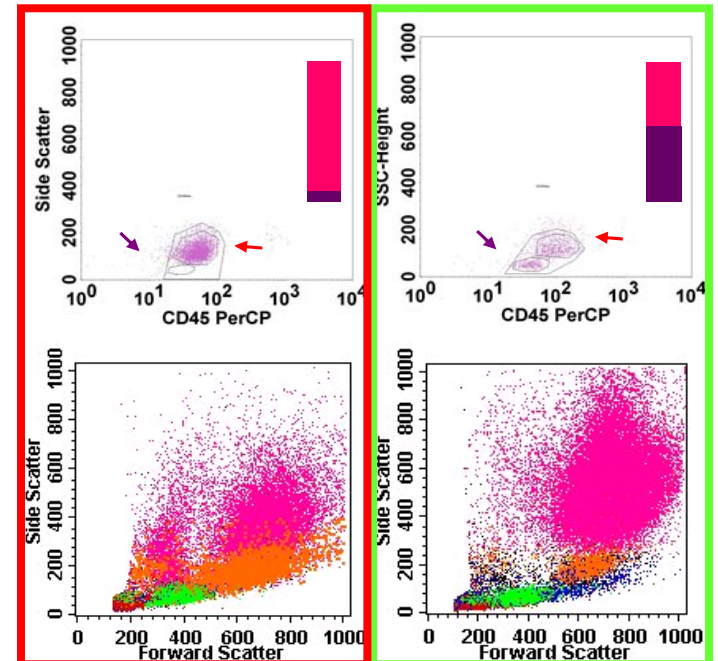


# Valkuilen van deze numerieke score

- selectie van kernhoudende cellen zonder kernkleuring  
(debris, trombo's en rode bloed cellen)
- onduidelijke scheiding van subpopulaties (hypogranulatie)
- CD34-negatieve blasten
- bloedbijmenging bij afname  
(o.a. bij fibrose)

Activiteit van de werkgroep:

Validatie van de score in MDS en controles  
(normaalwaarden en toepassing)



# Richtlijnen van de MDS werkgroep



- Analyseer de myeloïde reeks
- Pas de A-, B- en C- score toe
  
- Indien de numerieke score in het eigen centrum is gevalideerd, kan deze aanvullend zijn bij het toekennen van de A-, B- en C- score

Activiteit van de werkgroep:

- Validatie van de numerieke score i.c.m. de A-, B- en C- score in MDS en controles (vergelijking andere diagnostische parameters en uiteindelijke diagnose)