

# Midollo osseo

## 1. Introduzione

Le biopsie del midollo osseo, di solito dalla cresta iliaca posteriore superiore, vengono eseguite in caso di stadiazione del linfoma, discrasie plasmacellulari, tra cui accertamento dei gradienti M, citopenie, anemie, citolisi, leucemie blastiche, così come nel contesto di indagini in casi di splenomegalia non chiara, sospette infezioni croniche e febbre di origine non chiara, nella terapia e nel follow-up delle neoplasie ematologiche e dopo trapianti di midollo osseo o cellule staminali, nella stadiazione di neoplasie solide, soprattutto infantili (ad esempio neuroblastoma), nonché in alcuni altri casi clinici (Bain, 2001; Campbell et al., 2003; Cotelingam, 2003; Diebold et al., 2000; Fend, 2013; Foucar et al., 2010; Weinzierl et al., 2013).

## 2. Informazioni cliniche

Le seguenti informazioni cliniche sono essenziali per una diagnosi istopatologica integrativa delle biopsie del midollo osseo:

- Diagnosi clinica (sospetta)
- Motivo della biopsia (ad es. stadiazione del linfoma, accertamento di una leucocitosi, pancitopenia ecc.);
- Emocromo attuale con differenziale;
- Informazioni su neoplasie note (ematologiche), compresa la chemio/radio/immunoterapia eseguita;
- Informazioni su altre malattie sistemiche (ad es. infiammazioni granulomatose, malattie autoimmuni, malattie da accumulo ecc.);
- Informazioni sulla terapia attuale o precedente, in particolare sulla terapia mielotossica/mielosoppressiva (ad es. azatioprina, arsenico ecc.), sull'esposizione a fattori di crescita ematopoietici (eritropoietina, G- o GM-CSF, agonisti del recettore della trombopoietina, interferone ecc.);
- Informazioni su precedenti trapianti di cellule staminali (del midollo osseo) autologhe/singeneiche o allogeniche o su trapianti di organi;
- Informazioni sulle malattie virali acute/croniche (EBV, HBV, HCV, HHV8, Parvo-B19, ecc.) o su eventuali altre infezioni;
- Informazioni sulla presenza di organomegalie;
- Qualsiasi altro risultato/informazione rilevante (ad es. risultati di citologia aspirativa, analisi di flusso/FACS, citogenetica ecc.).

## 3. Macroscopia

- Numero,
- Lunghezza,
- Diametro dell'agoaspirato del midollo osseo e di eventuali coaguli di sangue.

Una lunghezza  $\geq 20$  mm per gli adulti e  $\geq 5$  mm per i bambini è generalmente considerata adeguata a fini diagnostici (Campbell et al., 2003; Foucar et al., 2010; Reid and Roald, 1996).

- Le parti di cartilagine possono essere rimosse durante la lavorazione macroscopica prima della decalcificazione.

#### 4. Lavorazione del tessuto

- Fissaggio di routine in soluzione di formalina tamponata al 10% da minimo 24 a massimo 72 ore.
- Decalcificazione con acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) generalmente al 14% da 8 a massimo 48 ore
  - si può accelerare utilizzando attrezzature di laboratorio
  - rimuovere eventuali residui di soluzione decalcificante prima di un ulteriore drenaggio per evitare danni permanenti alle macromolecole (in particolare al DNA)

#### 5. Colorazioni

Almeno 5 vetrini per la valutazione ottica convenzionale, colorati con/secondo (Stuart-Smith et al., 2005):

- Ematossilina ed eosina [1° e 5° percentile per aumentare la probabilità di individuare lesioni focali (Brynes et al., 1978)].
  - PAS (2° percentile),
  - Giemsa (3° percentile), percentile),
  - Gömöri (4° percentile).
- 5.1. Colorazione **PAS**:
- 5.1.1. miglioramento dell'analisi quantitativa e qualitativa della mielopoiesi e megacariopoiesi e della rilevazione delle forme megacariocitarie patologiche (nane o CML-tipiche),
  - 5.1.2. Rilevamento di inclusioni di Russel e Dutcher nelle plasmacellule e cellule plasmacitoidi,
  - 5.1.3. Caratterizzazione di possibili inclusioni negli istiociti,
  - 5.1.4. Rilevamento ad es. di microrganismi micotici (Diebold et al., 2000).
- 5.2. Per standardizzare la classificazione della mielofibrosi (Thiele et al., 2005; vedi sotto), l'impregnazione argentica secondo **Gömöri** dovrebbe essere preferita ad altre tecniche di impregnazione argentica (ad es. Gordon-Sweet). Poiché nelle impregnazioni argentiche secondo **Gömöri** effettuate a macchina non è possibile rilevare le fibre collagene, in questo caso è necessario eseguire una colorazione tricromica di Masson (Kvasnicka et al., 2016).
- 5.3. Qualsiasi colorazione speciale come il rosso Congo, Grocott, Gram, Ziehl-Neelsen, D-PAS, von Kossa ecc. può essere facilmente eseguita sulle biopsie standardizzate, a seconda del problema.

## 6. Informazioni diagnostiche (referto)

Il referto dovrebbe essere formalmente suddiviso in:

- Descrizione macroscopica-microscopica
- Diagnosi
- Commento
- Parte con possibili domande ai colleghi clinici di riferimento.

### 6.1 Descrizione microscopica:

#### 6.1.1 Valutabilità della biopsia:

1. Rappresentativa / non rappresentativa
2. Numero e localizzazione (sottocorticale profonda) degli spazi midollari

#### 6.1.2 Dichiarazione sulla cellularità

1. Ematopoiesi: rapporto midollo giallo in %
2. Dati correlati all'età (ematopoiesi in % normale = 100 anni; ad es. cellularità normale del midollo osseo in pazienti di 80 anni 20%)

#### 6.1.3 Serie di maturazione ematopoietiche

1. Megacariopoiesi
  - i. Quantità
  - ii. Distribuzione
  - iii. Atipie (del nucleo)
2. Eritropoiesi
  - i. Quantità
  - ii. Distribuzione
  - iii. Qualità (ad es. macroblastico, sincronizzato ecc.)
3. Mielopoiesi
  - i. Quantità
  - ii. Distribuzione
  - iii. Maturità/qualità
4. Eritropoiesi: indice di mielopoiesi (norma 1:2-4) aumentato-calato normalmente

#### 6.1.4 Cellule immature (blasti)

1. Quantità
2. Localizzazione anormale (ALIP)
3. Caratteristiche citologiche (ad es. positività PAS, metacromasia)

#### 6.1.5 Linfociti e plasmacellule

1. Quantità
2. Modelli di infiltrazione (ad es. intrasinusoidale, paratrabecolare, nodulare, diffusa)
3. Caratteristiche citologiche

#### 6.1.6 Cellule istiocitarie

1. Quantità
2. Proprietà specifiche (ad es. formazione di granulomi, carattere blu marino, cellule di Gaucher, emperipoiesi o emofagocitosi ecc.)
3. Inclusioni anormali (ad es. Leishmanie, funghi ecc.)

#### 6.1.7 Elementi non midollari: neoplastici o reattivi, eventualmente infettivi

#### 6.1.8 Contenuto di fibre di reticolina con indicazioni del livello di mielofibrosi (Thiele et al., 2005)

#### 6.1.9 Sostanza ossea: qualità/quantità, segni di cambiamento, osteosclerosi ecc.

### 6.2 Diagnosi:

- Breve
- Precisa

- Orientamento su termini e formulazioni delle attuali classificazioni dell'OMS (Swerdlow et al., 2017)
- Se necessario, elencare le 2-3 diagnosi differenziali che vengono messe in discussione:

ad es. “Neoplasia mieloproliferativa senza mielofibrosi, diagnosi differenziale di forma precoce di mielofibrosi primaria contro trombocitemia essenziale”.

- Nelle diagnosi descrittive, menzionare almeno la cellularità, la composizione e la maturazione dell'ematopoiesi:

ad es. “Midollo osseo ematopoietico ipocellulare, a maturazione trilineare, non specificamente modificato in modo reattivo”.

### 6.3 Commento:

- Possibili correlazioni clinico-patologiche
- Valore dei risultati nel contesto della presentazione complessiva
- Commenti su possibili discrepanze tra le indagini complementari sugli aspirati e sulle agobiopsie midollari (Dirnhofer et al., 2007)
- Raccomandazioni del patologo che ha redatto il referto:

ad es. riferimento a risultati precedenti o raccomandazione a eseguire ulteriori indagini.

## 7. Ulteriori studi molecolari

Se necessario, sulle biopsie del midollo osseo fissate con formalina e decalcificate con EDTA è possibile eseguire ulteriori indagini patologiche molecolari (immunoistochimica, ibridazione *in situ*, indagini basate sulla reazione a catena della polimerasi, NGS). Per quanto riguarda queste ulteriori indagini, si rimanda alla letteratura in materia (Bartels et al., 2016; Fend et al., 2005; Fend et al., 2008; Kremer et al., 2005; Torlakovich et al., 2015).

## Riferimenti

- Bain BJ. Bone marrow trephine biopsy. *J Clin Pathol.* 2001;54:737-42.
- Bartels S, Schipper E, Hasemeier B, Kreipe H, Lehmann U. Routine clinical mutation profiling using next generation sequencing and a customized gene panel improves diagnostic precision in myeloid neoplasms. *Oncotarget.* 2016;7:30084-93.
- Brynes RK, McKenna RW, Sundberg RD. Bone marrow aspiration and trephine biopsy. An approach to a thorough study. *Am J Clin Pathol.* 1978;70:753-9.
- Campbell JK, Matthews JP, Seymour JF, Wolf MM, Juneja SK; Australasian Leukaemia Lymphoma Group. Optimum trephine length in the assessment of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma. *Ann Oncol.* 2003;14:273-6.
- Cotelingam JD. Bone marrow biopsy: interpretive guidelines for the surgical pathologist. *Adv Anat Pathol.* 2003;10:8-26.
- Diebold J, Molina T, Camilleri-Broët S, Le Tourneau A, Audouin J. Bone marrow manifestations of infections and systemic diseases observed in bone marrow trephine biopsy review. *Histopathology.* 2000;37:199-211.
- Dirnhofer S, Went P, Tichelli A. Diagnostic problems in follow-up bone marrow biopsies of patients treated for acute and chronic leukaemias and MDS. *Pathobiology.* 2007;74:115-20.
- Fend F (Hrsg.). Knochenmarkdiagnostik. *Der Pathologe.* 2013;33:479-552.

- Fend F, Bock O, Kremer M, Specht K, Quintanilla-Martinez L. Ancillary techniques in bone marrow pathology: molecular diagnostics on bone marrow trephine biopsies. *Virchows Arch.* 2005;447:909-19.
- Fend F, Tzankov A, Bink K, Seidl S, Quintanilla-Martinez L, Kremer M, Dirnhofer S. Modern techniques for the diagnostic evaluation of the trephine bone marrow biopsy: Methodological aspects and applications. *Prog Histochem Cytochem* 2008;42:203-52.
- Foucar K, Reichard K, Czuchlewski D. Bone marrow pathology. 3° edizione . Chicago, ASCP Press; 2010.
- Kremer M, Quintanilla-Martínez L, Nährig J, von Schilling C, Fend F. Immunohistochemistry in bone marrow pathology: a useful adjunct for morphologic diagnosis. *Virchows Arch.* 2005;447:920-37.
- Kvasnicka HM, Beham-Schmid C, Bob R, Dirnhofer S, Hussein K, et al. Problems and pitfalls in grading of bone marrow fibrosis, collagen deposition and osteosclerosis – a consensus-based study. *Histopathology.* 2016;68:905-15.
- Reid MM, Roald B. Adequacy of bone marrow trephine biopsy specimens in children. *J Clin Pathol.* 1996;49:226-9.
- Stuart-Smith SE, Hughes DA, Bain BJ. Are routine iron stains on bone marrow trephine biopsy specimens necessary? *J Clin Pathol.* 2005;58:269-72.
- Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, van der Walt J, Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica.* 2005;90:1128-32.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. (eds.). WHO Classification of Tumours of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon. IARC Press, 2017.
- Torlakovic EE, Brynes RK, Hyjek E, Lee SH, Kreipe H, Kremer M, McKenna R, Sadahira Y, Tzankov A, Reis M, Porwit A; International Council for Standardization in Haematology. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow immunohistochemistry. *Int J Lab Hematol.* 2015;37:431-49.
- Weinzierl EP, Arber DA. The differential diagnosis and bone marrow evaluation of new-onset pancytopenia. *Am J Clin Pathol.* 2013;139:9-29.

---

Autori:

A. Tzankov, S. Dirnhofer  
Ottobre 2018