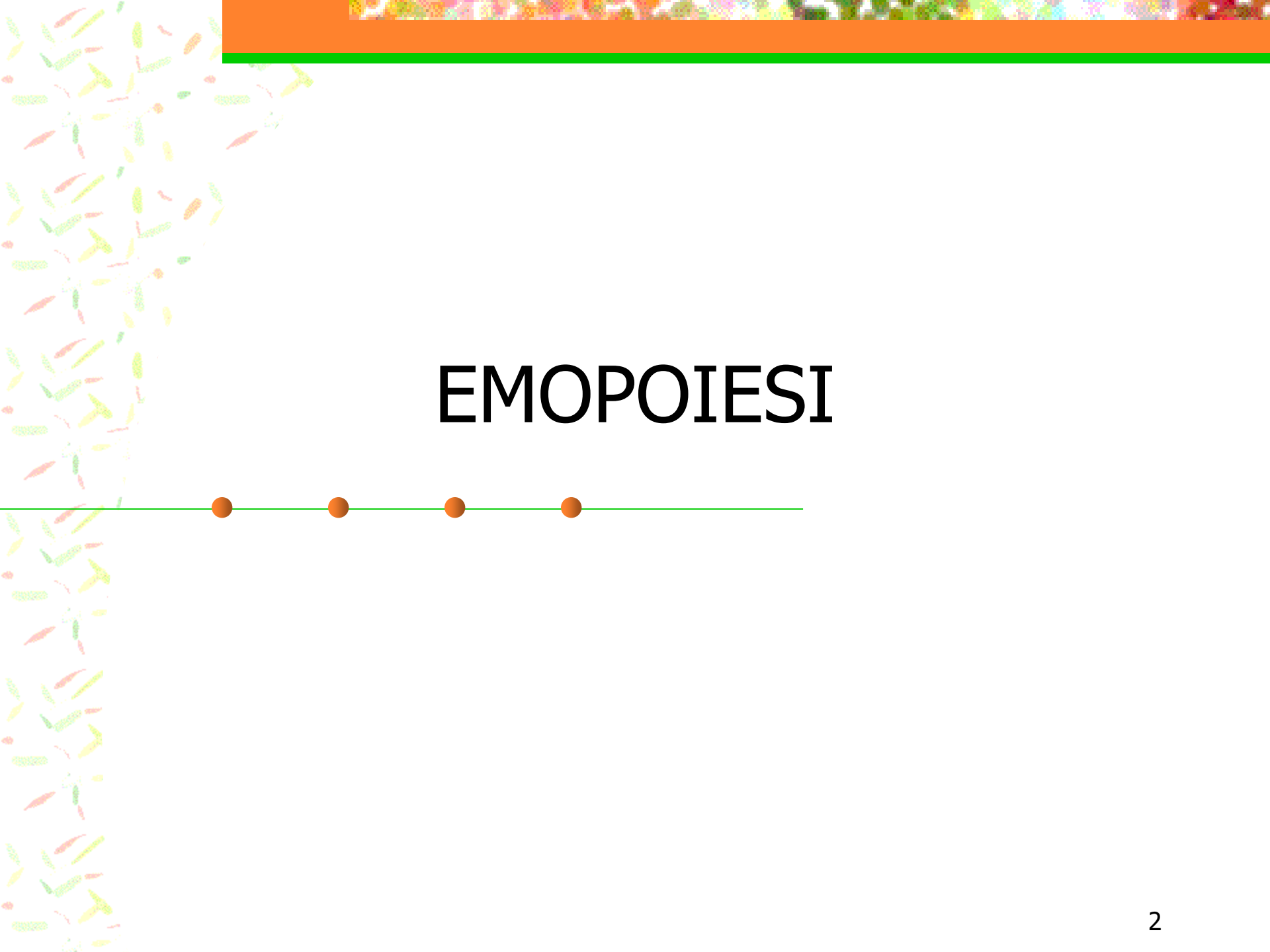




MALATTIE DEL SANGUE

Prof. Gian Matteo Rigolin

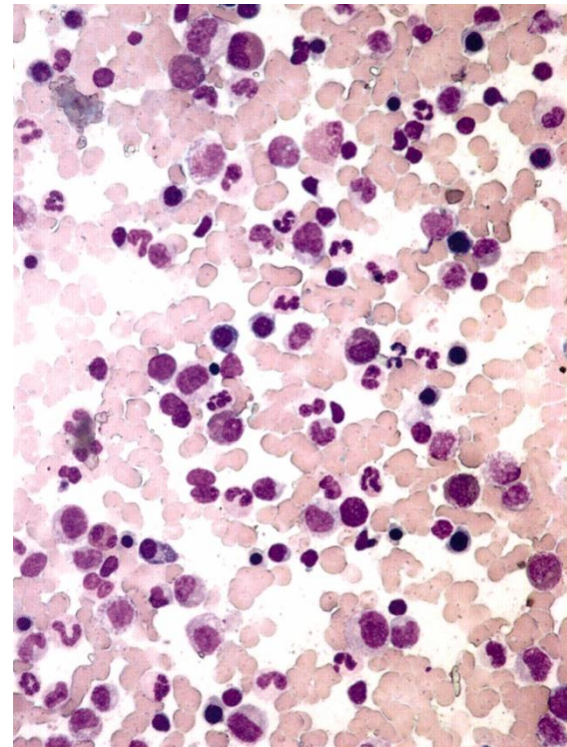


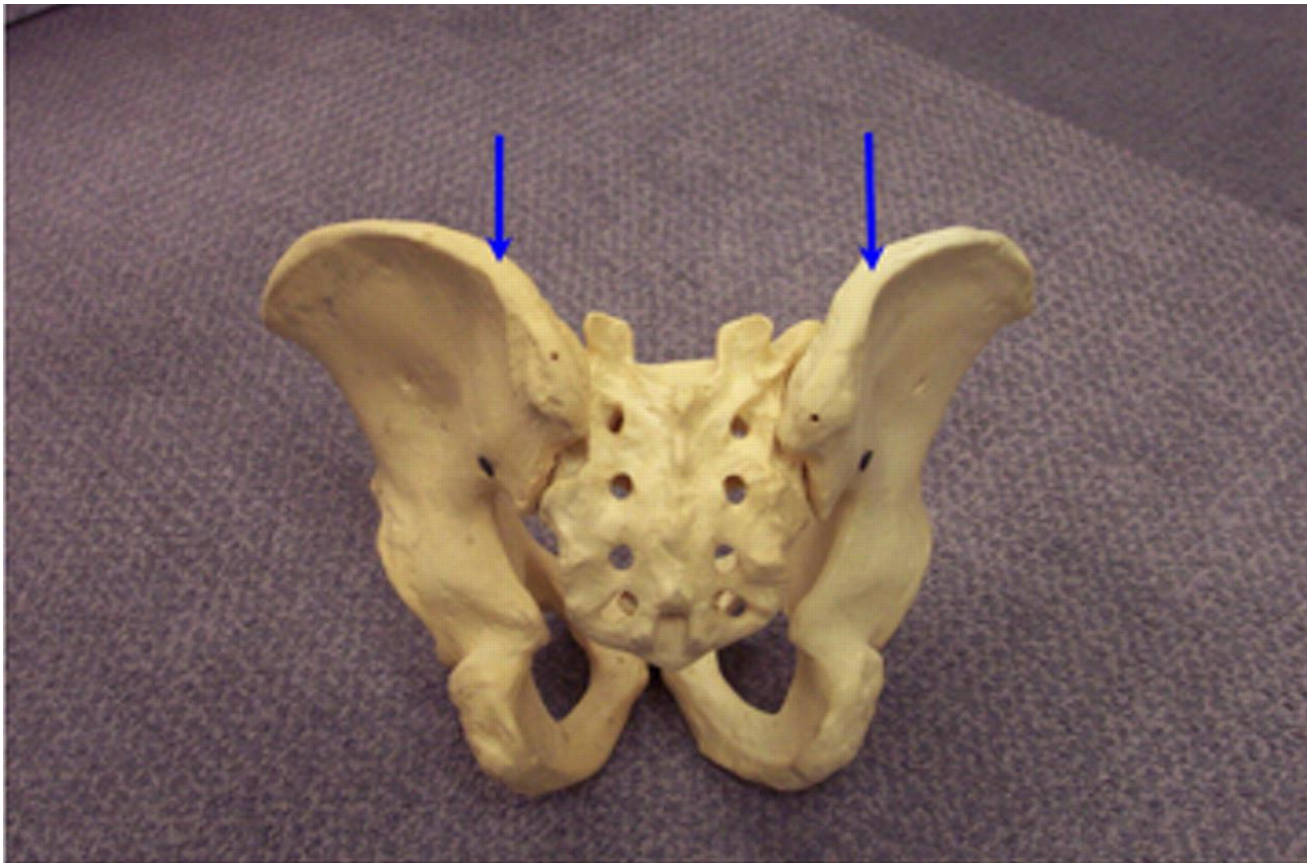
EMOPOIESI



EMOPOIESI

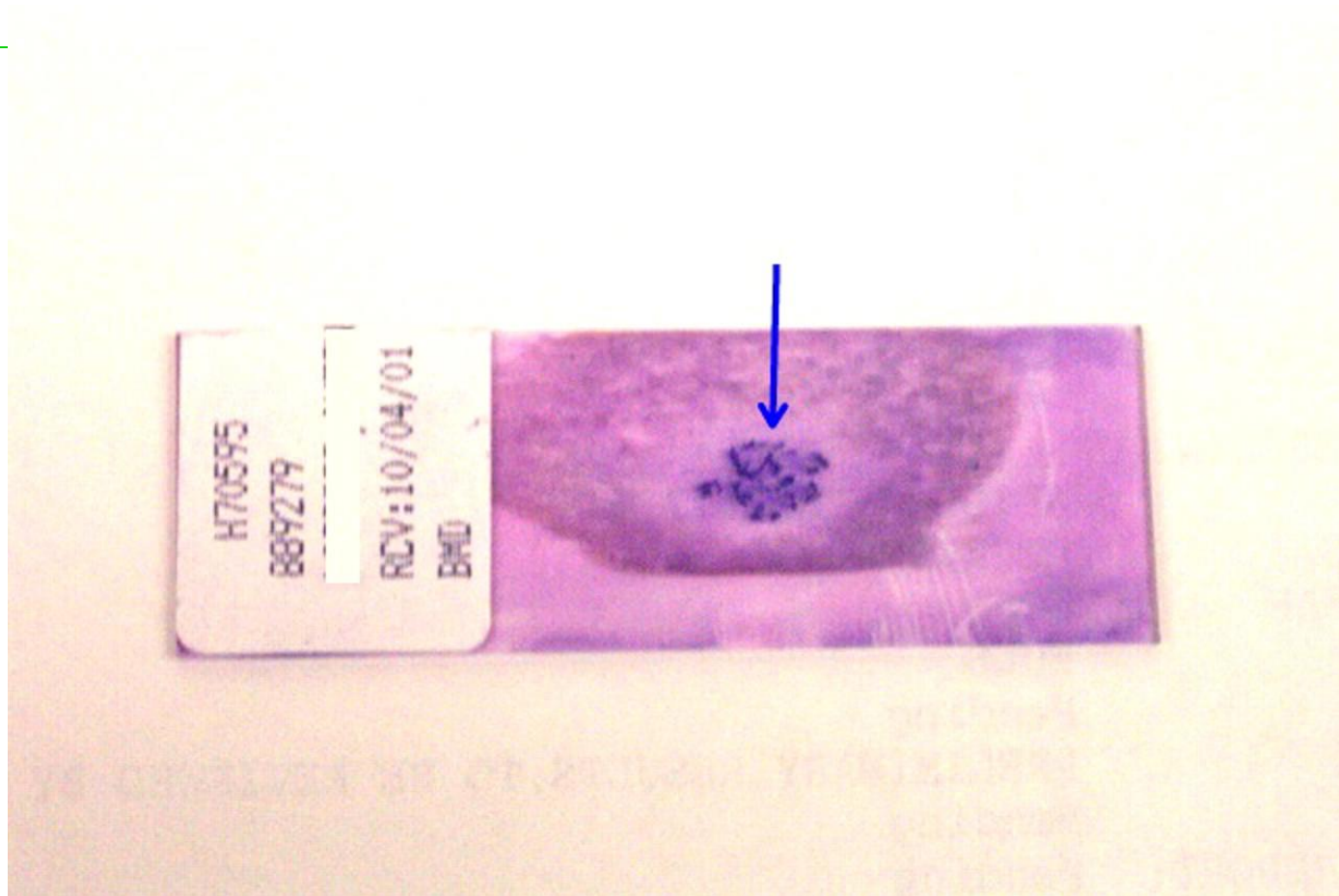
- Processo fisiologico di produzione delle cellule del sangue
- Il midollo osseo è il principale organo emopoietico
- Attività localizzata prevalentemente a livello vertebre, sterno, costole, ali iliache
- Il tessuto emopoietico costituisce il 4-6% del peso di un individuo





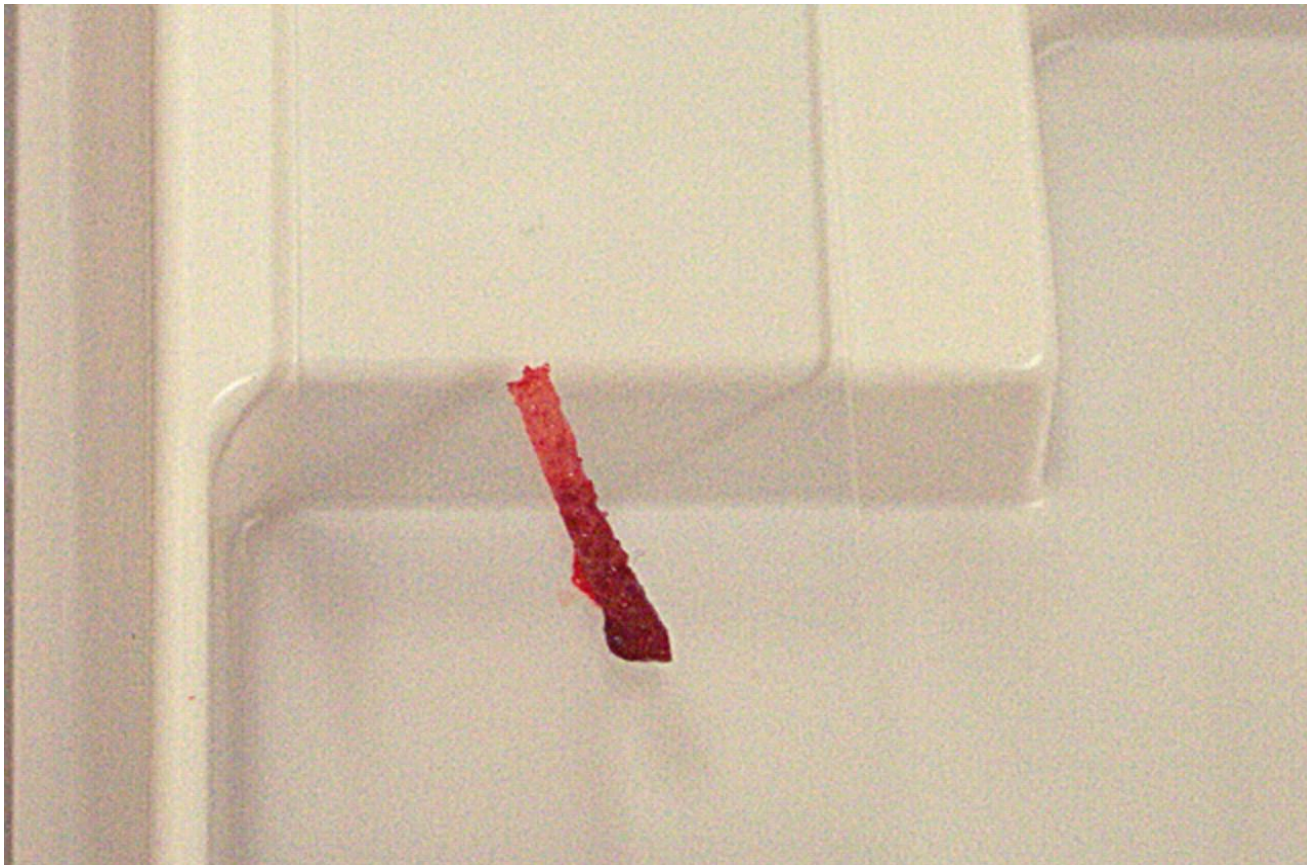
Biopsia midollare





Biopsia ossea

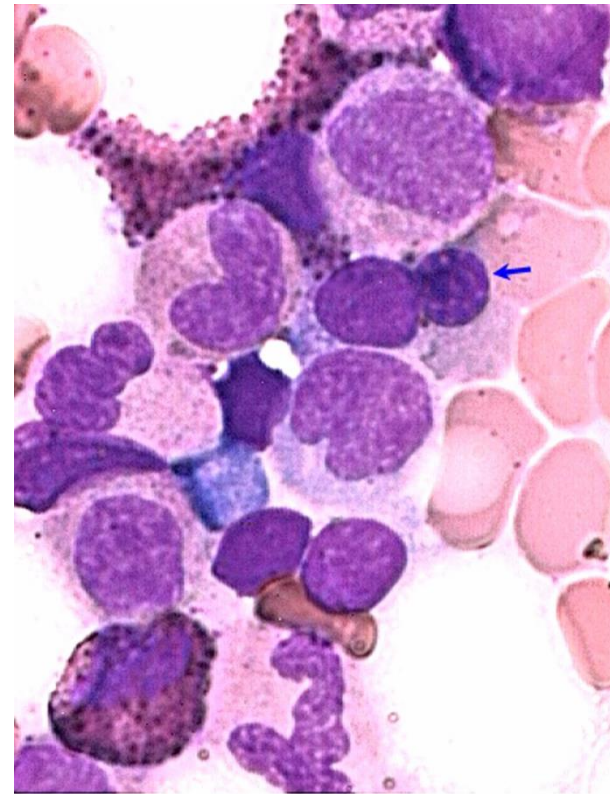
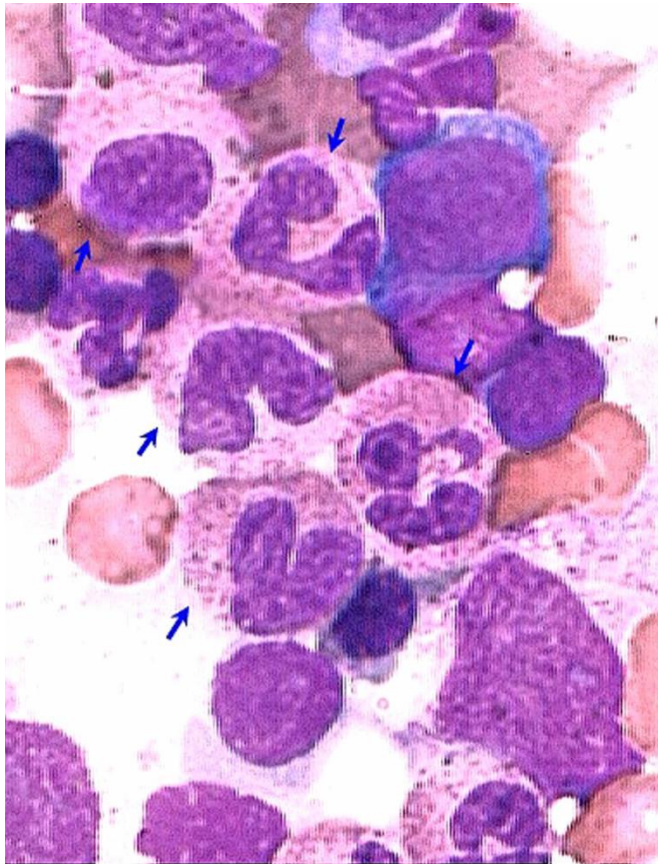




EMOPOIESI: filiere

- A livello midollare 3 sono le principali filiere emopoietiche
 - F. eritroide produce $3 \times 10^9/\text{Kg}$ di globuli rossi
 - F. mieloide produce $0.8 \times 10^9/\text{kg}$ globuli bianchi
 - F. megacariocitaria produce 1.5×10^9 piastrine

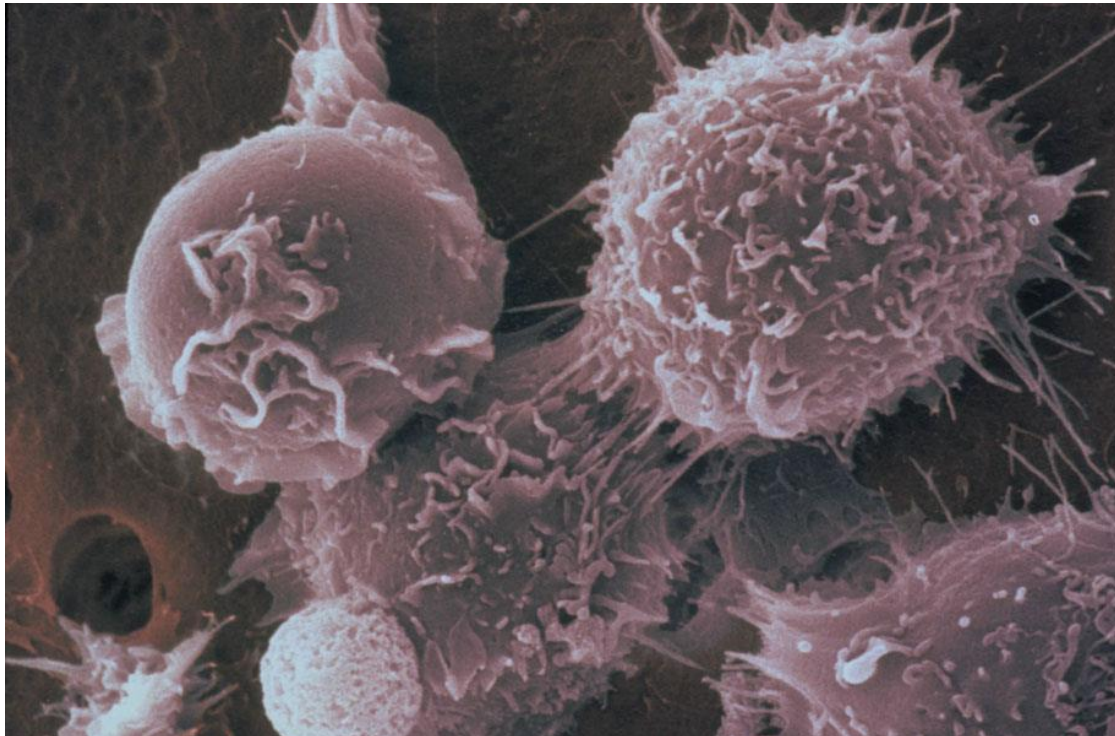
Midollo osseo normale



CELLULA STAMINALE

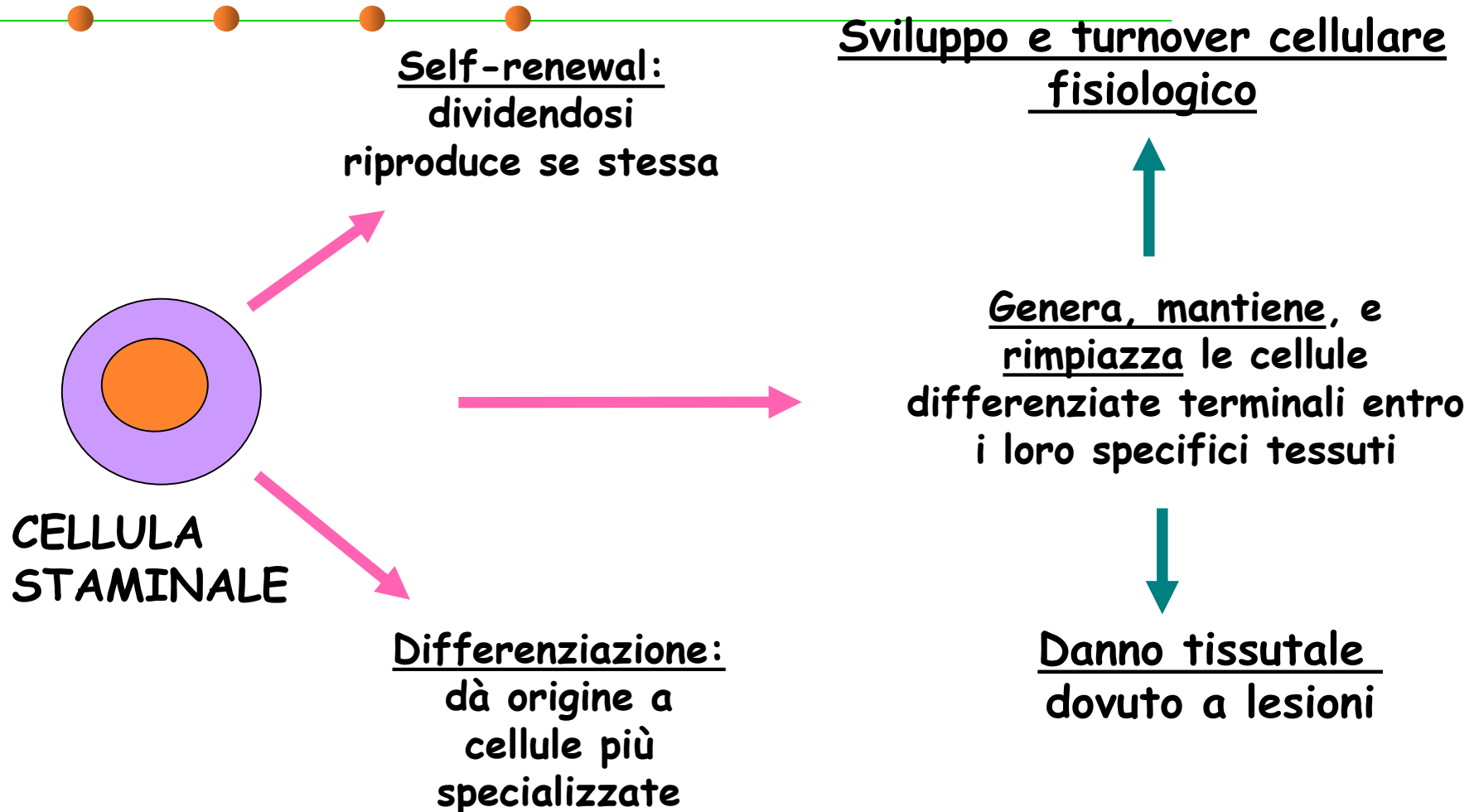
- Il midollo ha la capacità di rigenerare le cellule ematiche senescenti per opera delle cellule staminali
- La cellula staminale ha 2 caratteristiche:
 - Automantenimento
 - Capacità di differenziarsi
- Marcatore della cellula staminale: CD34

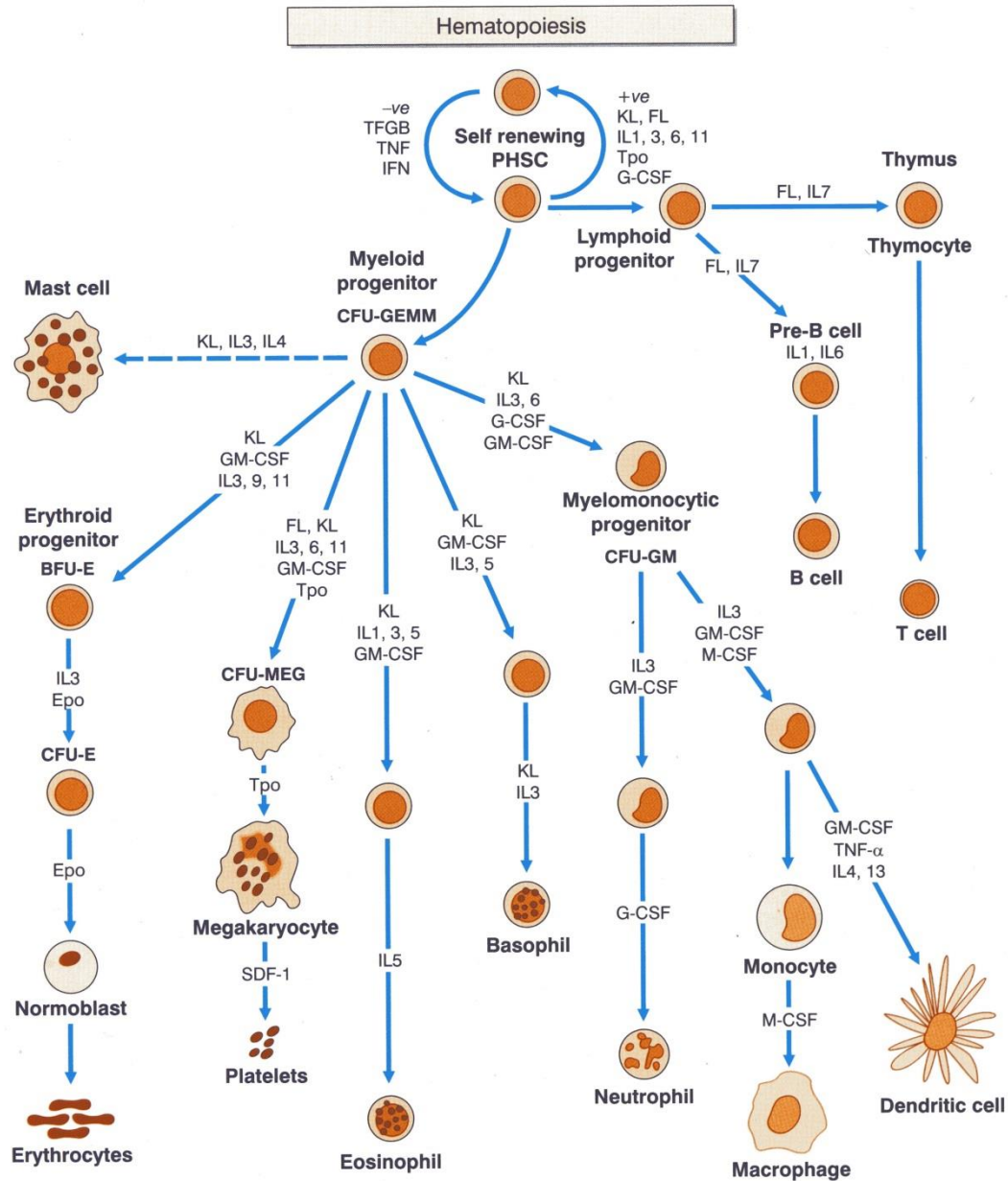
CELLULA STAMINALE



Anne McLaren Nature 414, 129-131:2001

CELLULA STAMINALE: definizione

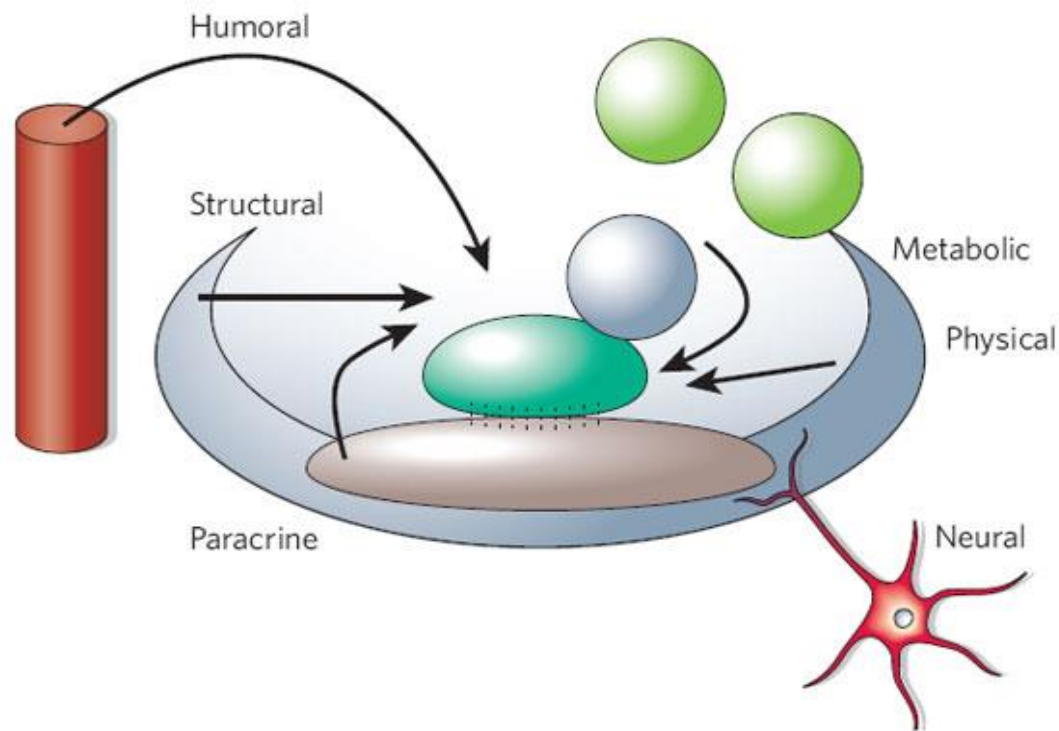




EMOPOIESI microambiente

- Il microambiente adatto per l'emopoiesi è costituito da:
 - Cellule staminali
 - Cellule stromali che producono i fattori di crescita
 - Matrice extracellulare nella quale le cellule staminali crescono e si dividono (molecole di adesione)

Nicchia emopoietica

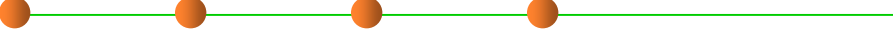


FATTORI DI CRESCITA

- Sono citochine, prodotte dalle cellule stromali ed immunitarie che regolano:
 - la differenziazione
 - la proliferazione delle cellule progenitrici
- Esempi:
 - Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)
 - Granulocyte-macrophage CSF (GM-CSF)
 - Eritropoietina (EPO)
 - Etc.: IL3, M-CSF, TPO



ERITROPOIESI



ERITROPOIESI

- Cellula staminale – precursori eritroidi – globuli rossi
- Scopo dell'eritropoiesi: formare GR contenenti emoglobina
- Fattore di crescita più importante: EPO secreta a livello renale
- Globulo rosso giovane: reticolocito (0.5-2% dei GR circolanti)

emocitometro



emocromo

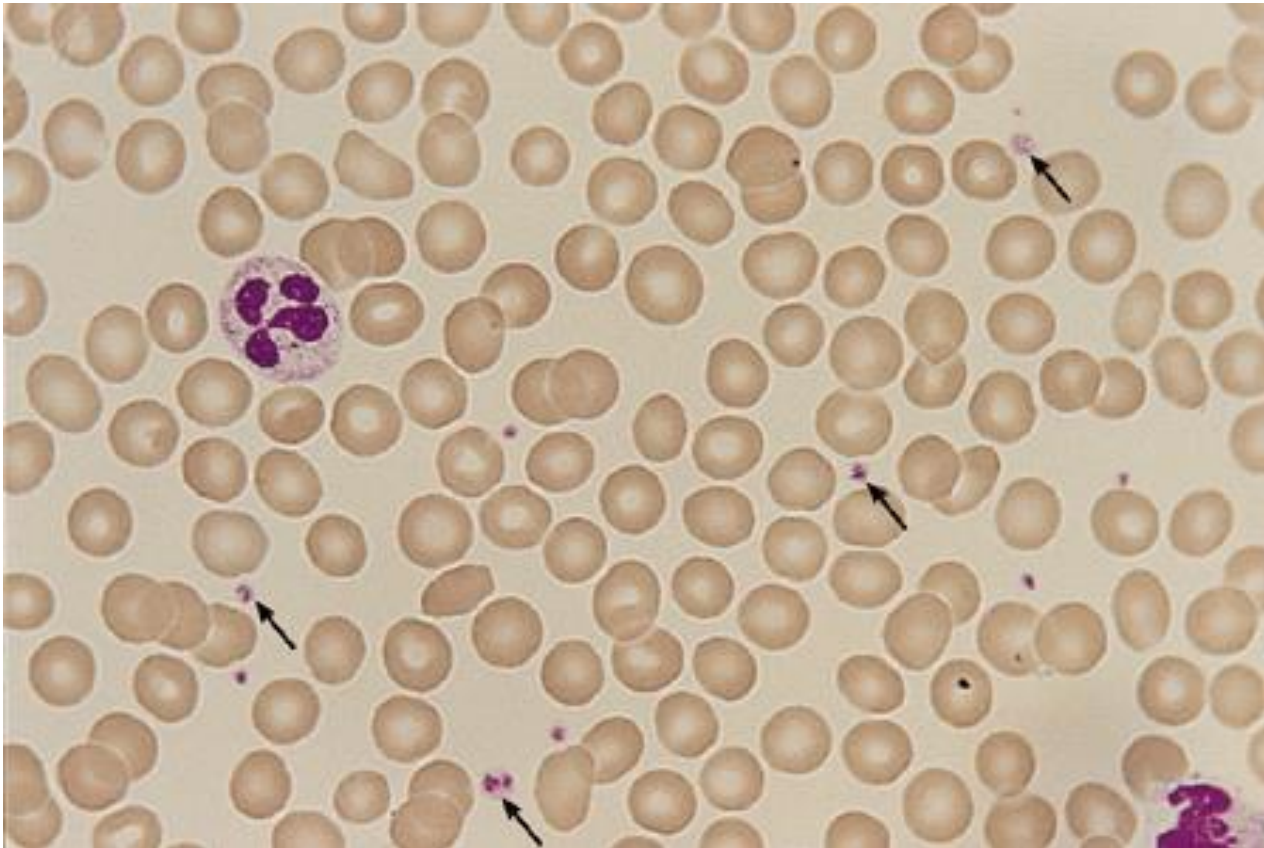
Emocromo

Globuli Bianchi	3.16	$\times 10^3/\mu\text{l}$	5.20 - 12.40
Globuli Rossi	2.97	$\times 10^6/\mu\text{L}$	4.20 - 6.10
Emoglobina	9.6	g/dl	12.0 - 17.0
Ematocrito	27.7	%	37.0 - 50.0
MCV	93.4	fl	80.0 - 99.0
MCH	32	pg	27 - 31
MCHC	34.7	g/dl	33.0 - 37.0
Piastrine	19	$\times 10^3/\mu\text{l}$	130 - 400
MPV	8.4	fl	7.2 - 11.1
Neutrofili %	77.2	%	40.0 - 74.0
Linfociti %	9.4	%	19.0 - 48.0
Monociti %	2.7	%	3.4 - 9.0
Eosinofili %	1.3	%	0.0 - 7.0
Basofili %	0.2	%	0.0 - 1.5
LUC %	9.3	%	0.0 - 4.0
Neutrofili	2.44	$\times 10^3/\mu\text{l}$	1.90 - 8.00
Linfociti	0.30	$\times 10^3/\mu\text{l}$	0.90 - 5.20
Monociti	0.08	$\times 10^3/\mu\text{l}$	0.16 - 1.00
Eosinofili	0.04	$\times 10^3/\mu\text{l}$	0.00 - 0.80
Basofili	0.01	$\times 10^3/\mu\text{l}$	0.00 - 0.20
LUC	0.29	$\times 10^3/\mu\text{l}$	0.00 - 0.40

microscopio



Striscio di sangue periferico



ERITROCITO

- Cellula anucleata a forma di disco biconcavo che trasporta mediante l'Hb l'ossigeno ai tessuti.
- Vita media 120 giorni.
- Indici eritrocitari:
 - MCV: volume corpuscolare medio ($HCT \times 10 / n^{\circ} GR$) v.n. 80-95 fL
 - MCH: contenuto emoglobinico ($Hb / n^{\circ} GR$) v.n. 27-33 pg
 - MCHC: concentrazione emoglobinica corpuscolare media ($Hb \times 100 / HCT$) v.n. 33-35 g/dL

Eritrociti o globuli rossi

- Morfologia degli eritrociti utile nell'inquadramento diagnostico di numerose malattie ematologiche
 - Macroцити
 - Microцити
 - Schistociti: frammenti eritrocitari (anemie microangiopatiche)
 - Dacriociti: cellule a lacrima o racchetta (mielofibrosi)
 - Sferociti: sferocitosi
 - Ellissociti: ellissocitosi
 - Codociti: cellule a bersaglio (talassemia)
 - Acantociti: cellule con spicule a disposizione irregolare
 - Echinociti: emazia con proiezioni corte e regolari

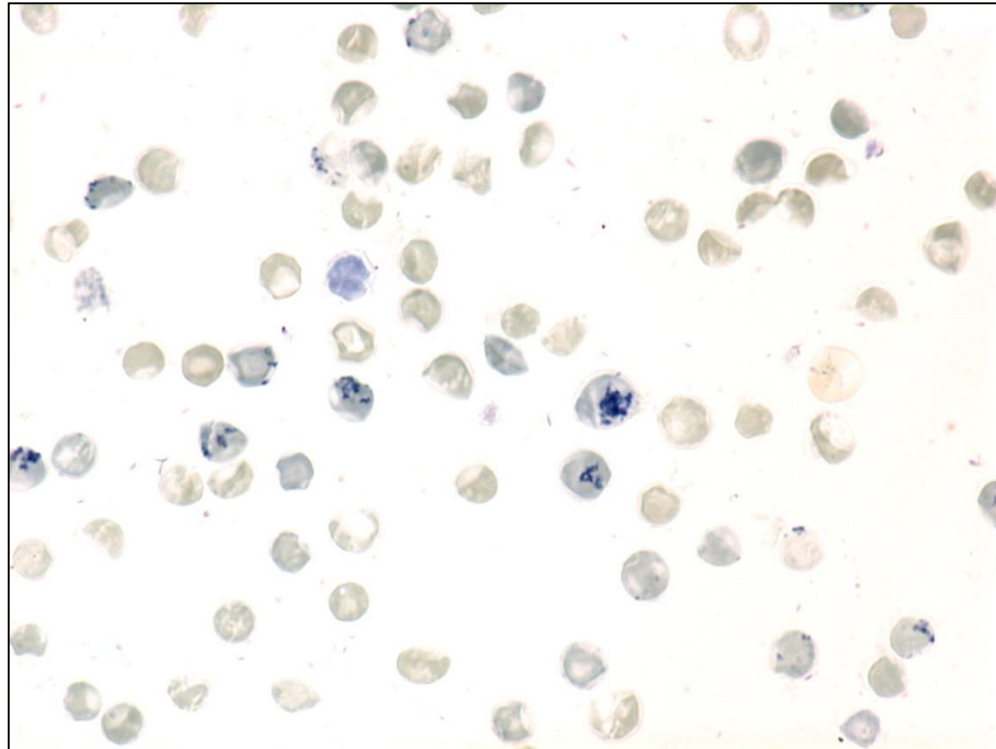
Volume corpuscolare medio: MCV

- MCV : v.n. 80-95 fl
 - $MCV = Hct \times 10 / n^{\circ} \text{ di GR } 10^6 \text{ ul}$
 - Utile nella classificazione delle anemie
 - Anemie microcitiche
 - Anemia sideropenica
 - Talassemia
 - Anemie macrocitiche
 - Deficit vitamina B12
 - Deficit di folati
 - Sindromi mielodisplastiche

Reticolociti (v.n. 0,8-2,5 % dei GR)

- Cellula priva di nucleo precursore del GR: GR giovane
 - Il valore dei reticulociti è influenzato dal grado di anemia e va corretto per l'Hct.
 - $\% \text{ corretta di reticulociti} = \% \text{ reticulociti} * \text{Hct del paziente} / \text{Hct normale}$
- Il conteggio dei reticulociti è indice dell'attività eritropoietica midollare
 - ridotti nelle anemie da ridotta produzione eritrocitaria
 - aumentati nelle anemie da ridotta sopravvivenza eritrocitaria

Using special stains such as methylene blue or brilliant cresyl blue, reticulocytes stain with dark blue granules whereas mature erythrocytes evenly stain pale blue



Maslak, P. ASH Image Bank 2005;2005:101299

Emoglobina

- Emoglobina (v.n. uomo 13-17 g/dL, donna 12-15 g/dL)
- Proteina tetramerica che lega l'ossigeno e lo cede ai tessuti.
- Costituita da due coppie di catene polipetidiche (alfa e beta) ciascuna collegata con un radicale di eme.
- In condizioni normali (elettroforesi dell'emoglobina):
 - 97% HbA: 2 catene alfa e 2 catene beta
 - 2-3% Hb A2: 2 catene alfa e 2 catene delta
 - <1% Hb F (Hb fetale): 2 catene alfa e 2 catene gamma.

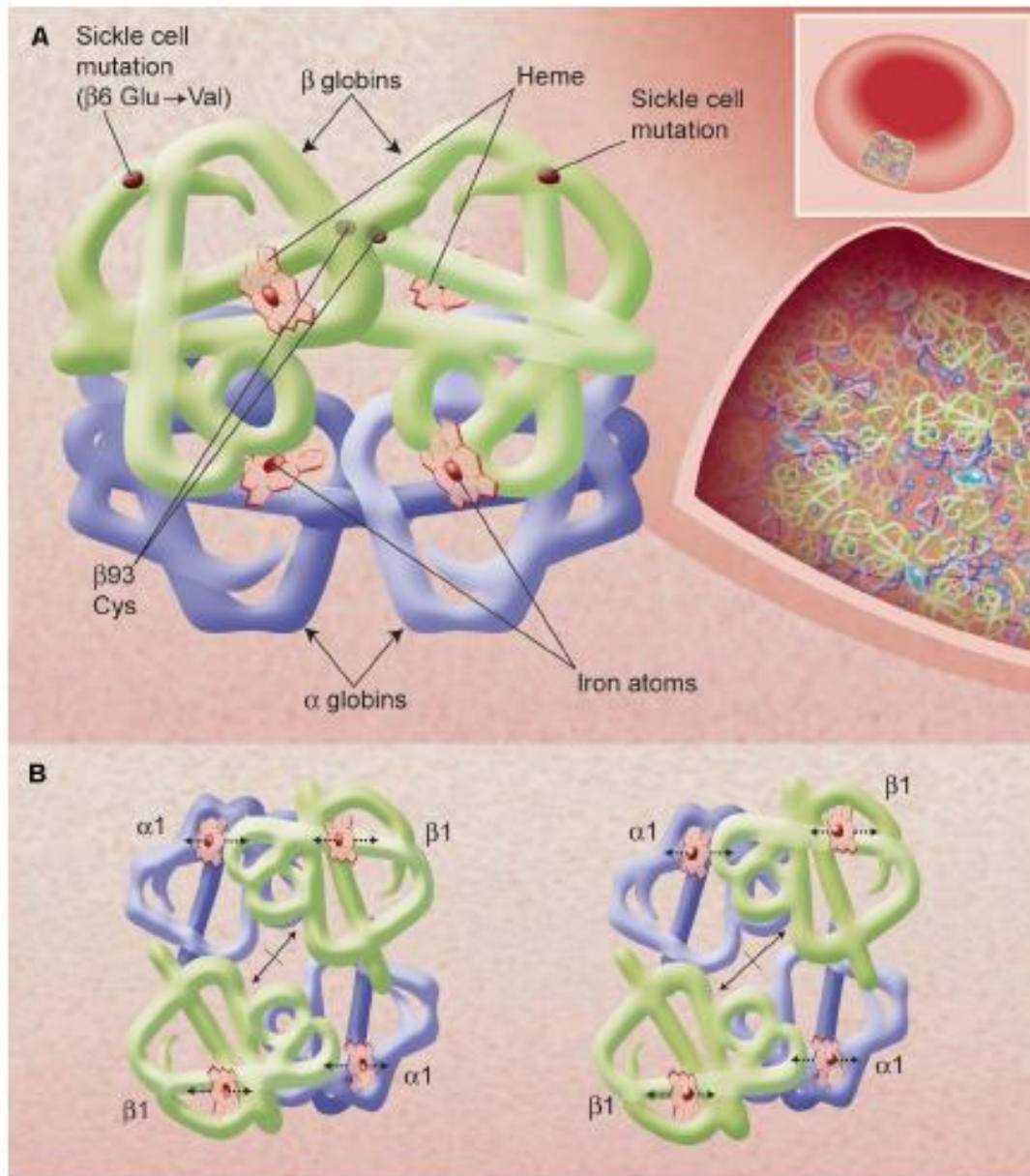
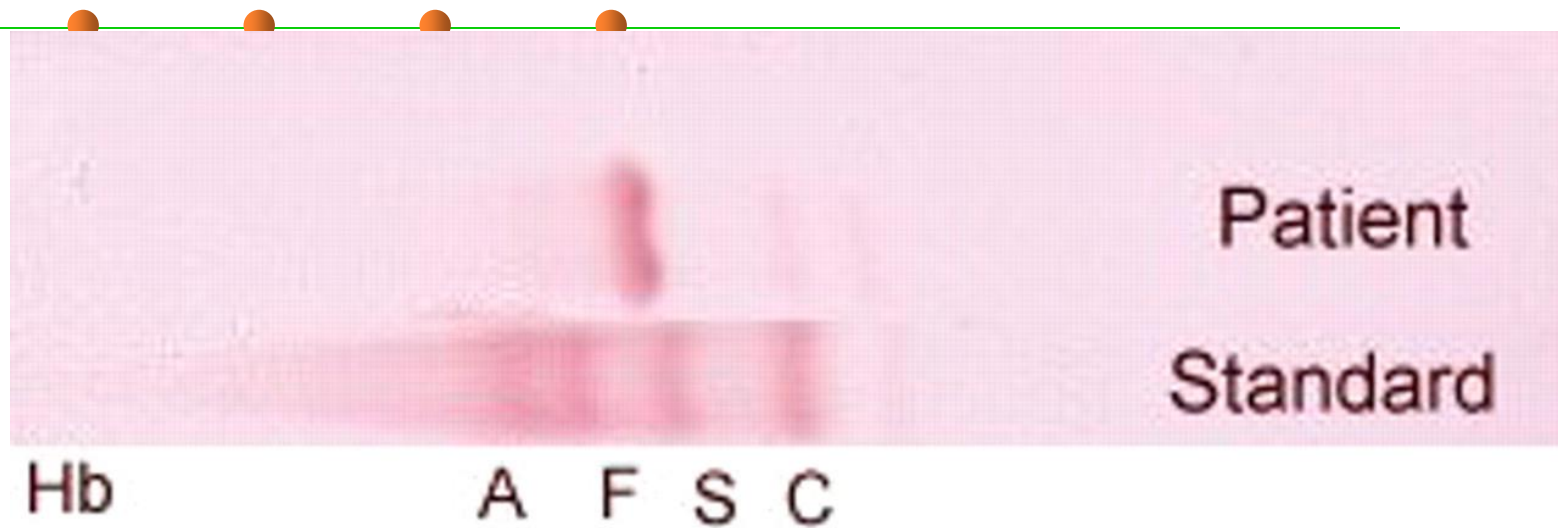
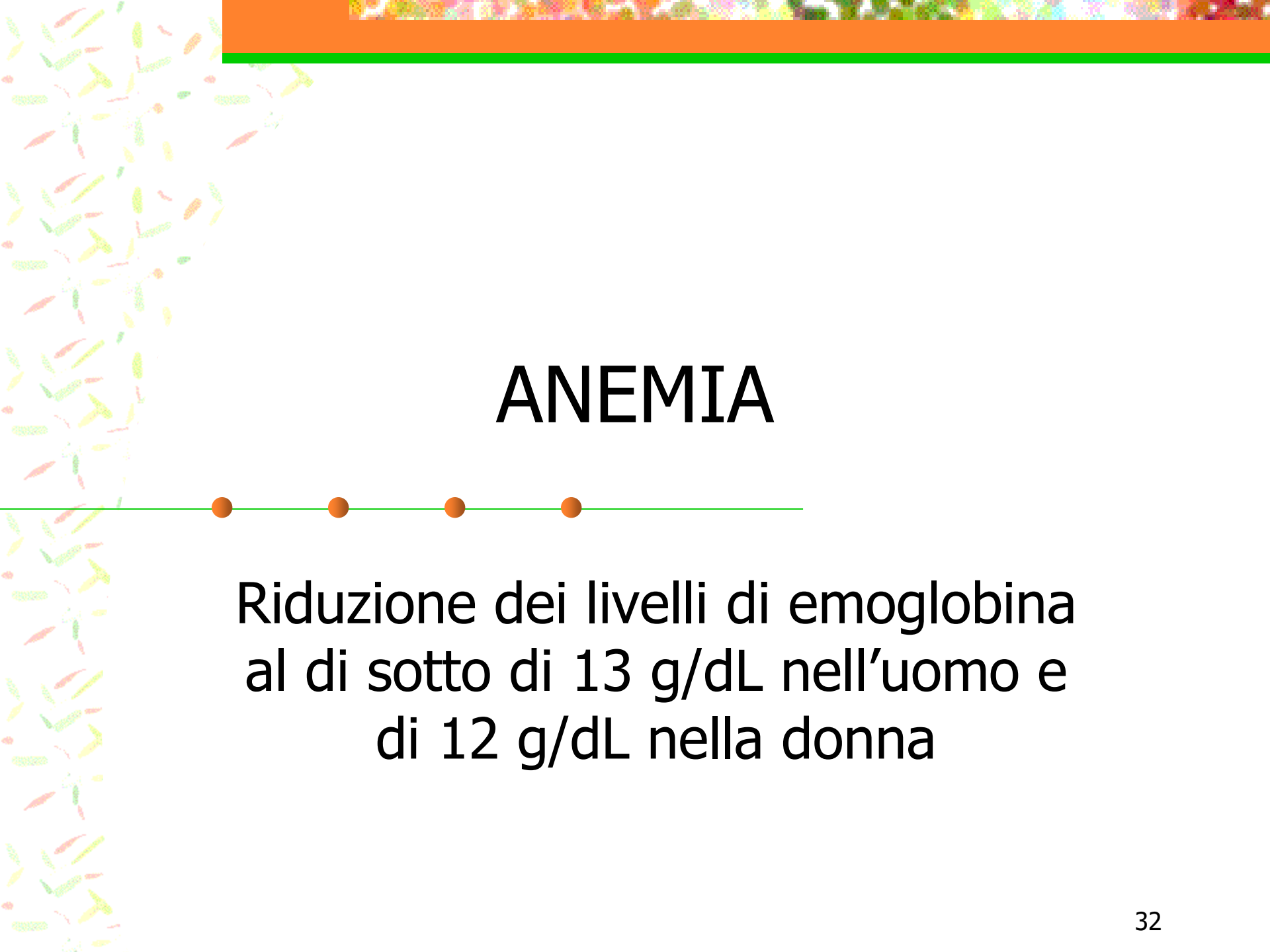


Figure 1. The X-ray determined structure of the hemoglobin molecule and a representation of its very high concentration in the erythrocyte. (A) The arrangement of the α -helices (shown as tubes) in each $\alpha\beta$ unit—one on the left and one, 180° rotated, on the right—is shown, as are the 4 heme groups with their iron atoms where gas molecules bind. The site of the sickle mutations on mutant β -chains as well as the $\beta 93$ conserved cysteine residues is also shown. Hemoglobin molecules in the red blood cell, shown in an inset on the right, are very tightly packed (at a concentration of approximately 34 g/dL) and have little access to solvent; this allows efficient oxygen transport by each cell but also affects the chemical behavior of the molecules, such as promoting sickle cell hemoglobin polymerization upon slight deoxygenation. (B) A representation of the quaternary structural changes in the hemoglobin tetramer, in a top-down view, in the transition from the oxy conformation (left) to the deoxy conformation (right). The iron atoms shift relative to the planes of the heme groups and a central cavity between the β -chains opens, facilitating 2,3 BPG binding. These diagrams are based on drawings of Irving M. Geis. Illustration by Alice Y. Chen.

Elettroforesi dell'emoglobina



Hemoglobin electrophoresis pH 8. The direction of electrophoresis is to the left. There are 2 lanes. The lower lane consists of the laboratory standard and contains a mixture of HbA, HbF, HbS, and HbC. The patient's sample is in the upper lane and consists mostly of HbS and a faint trace of HbF



ANEMIA

Riduzione dei livelli di emoglobina
al di sotto di 13 g/dL nell'uomo e
di 12 g/dL nella donna

Ematocrito

- Ematocrito (v.n. uomo 40-50%, donna 36-48%)
- Volume di eritrociti per 100 ml di sangue.
- È il rapporto tra il volume dei GR ed il volume totale del sangue.
 - Aumento:
 - Policitemia
 - Eritrocitosi
 - Emoconcentrazione
 - doping
 - Riduzione
 - Anemia
 - emodiluizione

ANEMIA: classificazione

1. Alterata/ridotta produzione di globuli rossi
 1. Da occupazione dello spazio midollare (metastasi ossee, localizzazioni linfomatose o mielomatose)
 2. Da alterata proliferazione e differenziazione delle cellule staminali (anemia aplastica, sindromi mielodisplastiche, insuff. renale cronica, disordini endocrini)
 3. Da alterata sintesi del DNA (carenza vit. B12 e folati)
 4. Da alterata sintesi dell'emoglobina (sideropenia, talassemia, anemia falciforme)

ANEMIA: classificazione

- 2. Alterata/aumentata distruzione di globuli rossi
 - a) Da iperemolisi (anemie emolitiche)
 - Da difetti intraglobulari (sferocitosi, carenze enzimatiche, emoglobinuria parossistica notturna)
 - Da difetti extraglobulari (da autoanticorpi, da agenti meccanici, chimici, microorganismi, ipersplenismo)
- 3. Da perdite ematiche acute, emorragia acuta

Eritropoietina (v.n. 25-75 mU/ml)

- Glicoproteina prodotta principalmente dal rene in rapporto al grado di ipossia tissutale.
- Stimola la proliferazione e sopravvivenza dei precursori eritroidi.
 - Aumento:
 - Anemia
 - Ipossia
 - Leucemie acute e sindromi mieodisplastiche
 - Eritrocitosi secondarie
 - Diminuizione
 - Insufficienza renale cronica
 - Anemia delle malattie croniche e disordini endocrini
 - Policitemia vera: eritrocitosi primitiva

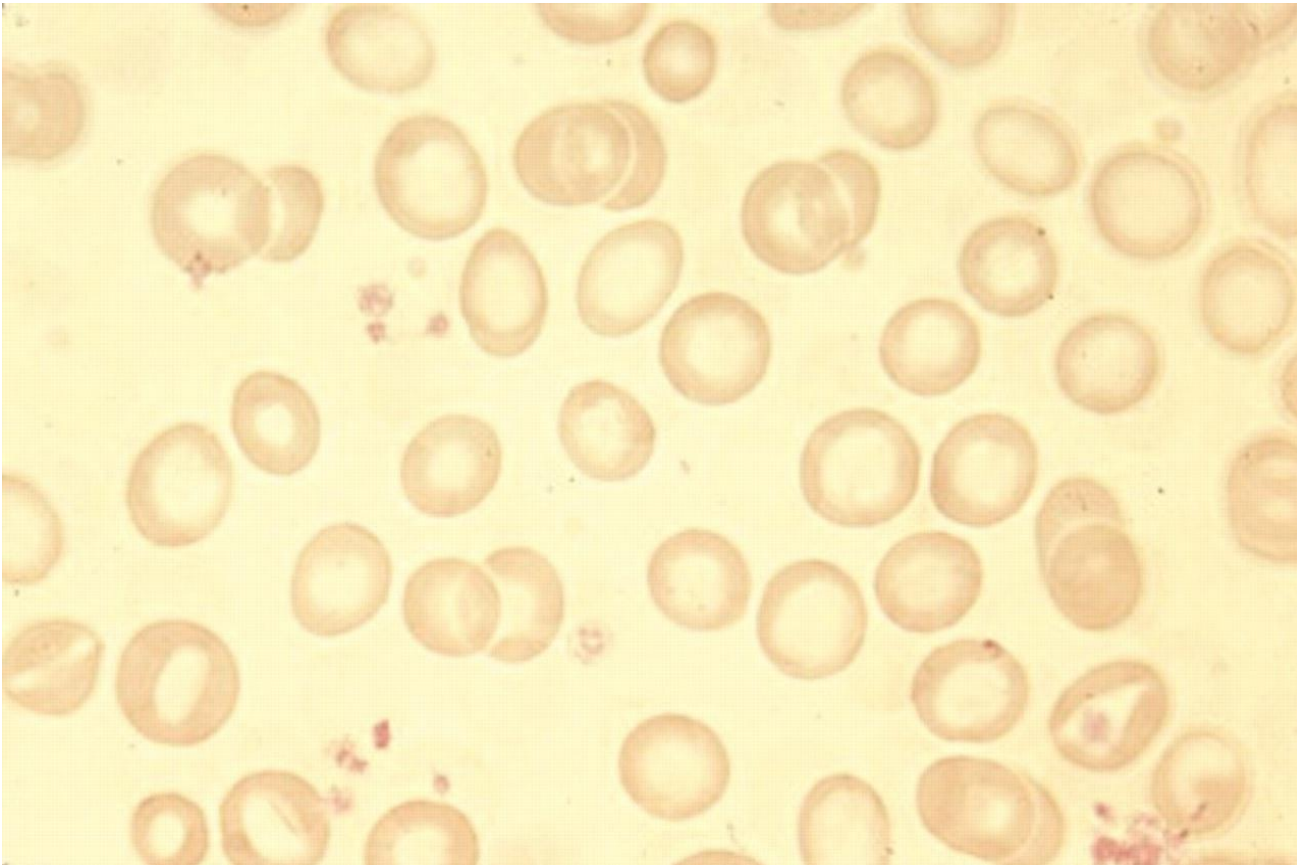
ANEMIA: classificazione funzionale

	reticolociti	EPO
Anemia ipoproliferativa	-	-/+
Eritropoiesi inefficace	-	+
Emolisi periferica	+	+

ANEMIA SIDEROPENICA (I)

- Anemia da difetto di produzione emoglobinica per carenza di ferro con conseguente ridotta formazione di eme ed Hb
- Cause:
 - **perdite croniche**: a livello del tubo gastroenterico (varici esofagee, ulcera peptica, diverticoli, neoplasie, emorroidi), flussi mestruali abbondanti, vie urinarie (neoplasie)
 - **Dietetiche**: dieta priva di carne rossa
 - **Ridotto assorbimento**: resezioni gastriche estese, patologie infiammatorie intestinali, celiachia

Anemia sideropenica



ANEMIA SIDEROPENICA (II)

■ Sintomi e segni:

- Anemia a lenta insorgenza e quindi in genere ben tollerata
- Pallore cutaneo e mucoso
- Astenia, affaticabilità per piccoli sforzi, dispnea da sforzo
- Fragilità ungueale, secchezza e fragilità dei capelli
- Assottigliamento della mucosa orale con bruciore, glossite e disfagia
- Picacismo: disturbo del comportamento alimentare caratterizzato dall'ingestione di sostanze non nutritive (terra, sabbia, carta, gesso, legno, cotone, etc.).

ANEMIA SIDEROPENICA (III)

■ Laboratorio

- Anemia ipocromica microcitica
- Reticolociti bassi
- Sideremia e ferritina ridotte

■ Terapia:

- Rimozione della causa
- Solfato ferroso per os (turbe digestive)
- Somministrazione endovenosa (saggio, infusione lenta, possibili reazioni fino allo shock)
- Crisi reticulocitaria in 5-7a giornata

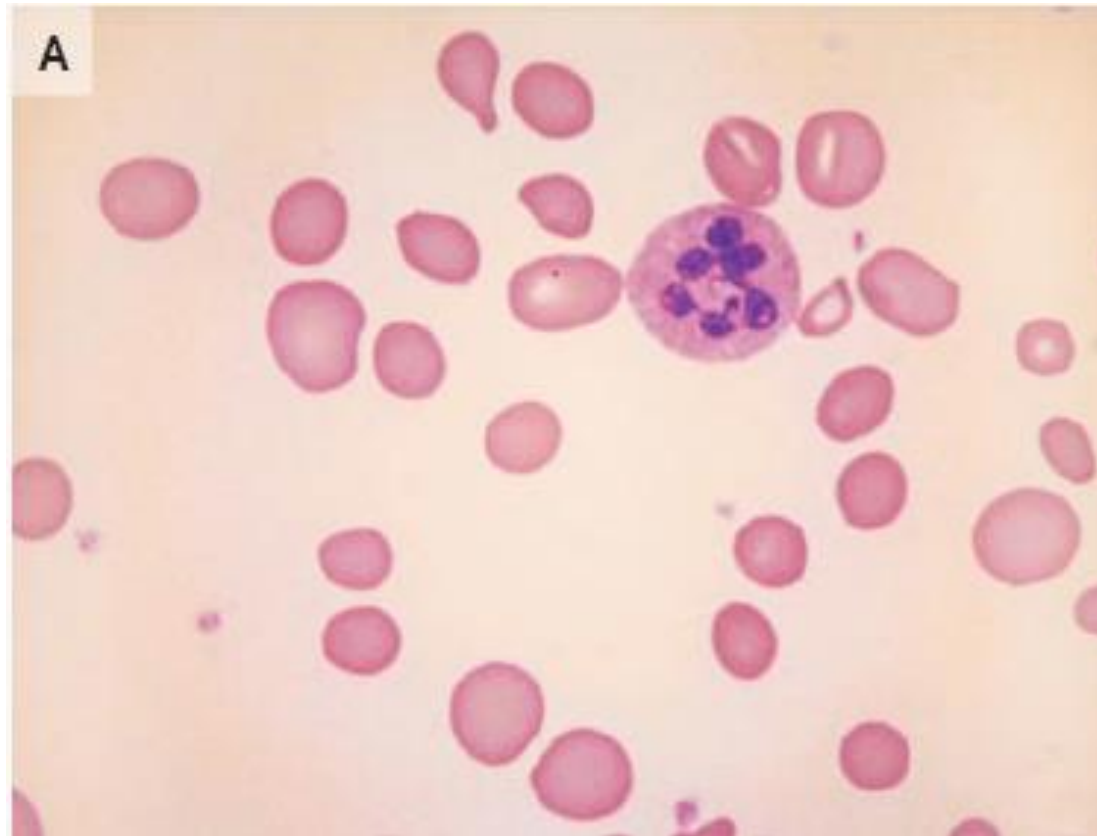
ANEMIA MEGALOBLASTICA (I)



■ Definizione

- Anemia con aumento del volume eritrocitario dovuta ad alterata sintesi del DNA per carenza di vit. B12 e/o folati

Anemia megaloblastica



ANEMIA MEGALOBLASTICA (II)

- Cause di carenza di acido folico
 - Ridotto assorbimento: nutrizionale, alcool, morbo celiaco, resezioni intestinali estese
 - Aumentate richieste: gravidanza, anemie emolitiche
 - Difettoso utilizzo: alcool, farmaci

- Cause di carenza di vitamina B12:
 - Dieta vegetariana
 - Malassorbimento: anemia perniziosa con atrofia gastrica (anticorpi anti cellule parietali gastriche, carenza fattore intrinseco), gastroresezione (carenza fattore intrinseco), morbo di Chron, estese resezioni ileali

ANEMIA MEGALOBLASTICA (III)

■ Sintomatologia:

- Anemia a lenta insorgenza
- Astenia, affaticabilità per piccoli sforzi, dispnea da sforzo
- Glossite
- Turbe digestive (atrofia gastrica)
- Turbe neurologiche nella carenza di vit. B12 (per atrofia dei cordoni laterali del midollo spinale)

ANEMIA MEGALOBLASTICA (IV)

■ Laboratorio:

- Anemia megaloblastica. MCV 120 fl
- Reticolociti diminuiti, neutrofili ipersegmentati
- Iperbilirubinemia
- aumento dell'LDH
- Bassi livelli di vit. B12 o di folati

■ Terapia:

- Vit. B12 per via parenterale in associazione a folati
- Acido folico per via orale o parenterale

ANEMIA DELLE MALATTIE CRONICHE (I)



■ Definizione:

- Anemia ipoarigenativa associata ad infezioni croniche, collagenopatie, neoplasie

■ Patogenesi:

- Deviazione del ferro ai depositi e produzione di citochine che sopprimono l'eritropoiesi

ANEMIA DELLE MALATTIE CRONICHE (II)

■ Laboratorio

- Anemia normocromica talora microcitica
- Reticolociti diminuiti
- Iposideremia
- Aumento ferritina

■ Terapia:

- Terapia della malattia di base.
- trasfusioni
- EPO

ANEMIA DELL'INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

- Anemia normocromica associata all'insufficienza renale cronica conseguente ad una ridotta produzione di EPO
- Spesso associate a sideropenia per perdite ematiche croniche
- Terapia: EPO s.c. (attenti al ferro!)

SINDROMI TALASSEMICHE

- Definizione:

- Gruppo di disordini ereditari nei quali si ha una abolizione o riduzione della sintesi di una o più catene globiniche con conseguente ridotta produzione di Hb

- Alpha e Beta talassemia

BETA TALASSEMIA MAJOR (I)

■ Definizione

- Anemia dovuta ad alla totale o parziale soppressione della sintesi delle catene beta-globiniche per situazione di omozigosi o doppia eterozigosi (morbo di Cooley)

■ Sintomatologia

- Pallore ed ittero fin dai primi mesi di vita
- Epatosplenomegalia, cardiomegalia
- Ritardato sviluppo corporeo e turbe endocrine
- Ulcere cutanee
- Alterazioni ossee: cranio a spazzola per allargamento della diploe delle ossa piatte

BETA TALASSEMIA MAJOR (II)

■ Laboratorio

- Anemia microcitica MCV 50 fl,
- anisopoichilocitosi dei GR,
- eritroblasti circolanti
- Iperbilirubinemia indiretta
- Alterata sintesi in vitro delle catene emoglobiniche

BETA TALASSEMIA MAJOR (II)

■ Decorso

- Malattia mortale se lasciata a sé in pochi mesi
- Se trasfusioni morte nella 5-6a decade
- Emocromatosi (accumulo di ferro) per trasfusioni

■ Terapia

- Regime ipertrasfusionale
- Terapia ferrochelante (per eliminare il ferro in eccesso)
- Trapianto allogenico di cellule staminali

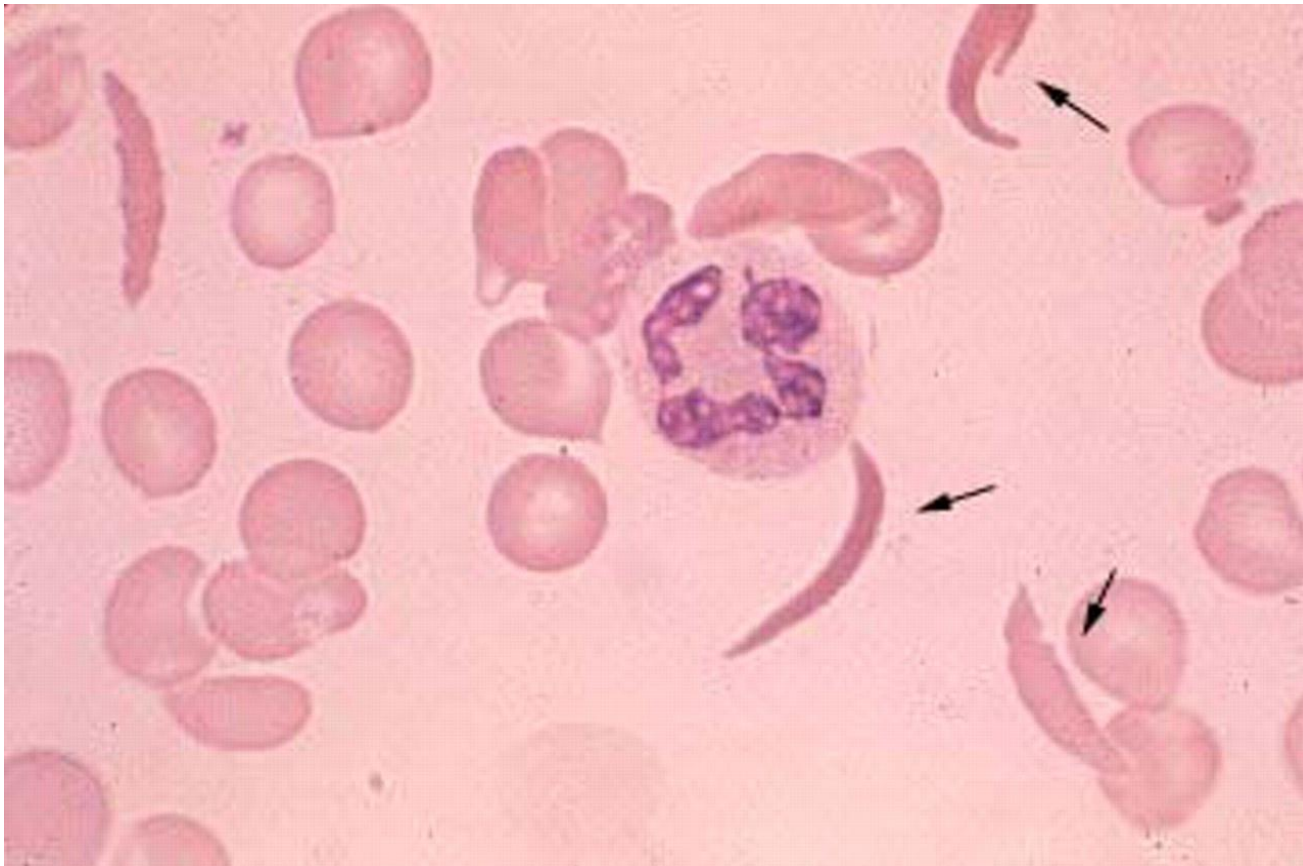
BETA TALASSEMIA MINOR

- Condizione asintomatica determinata da uno stato di eterozigosi
- Microcitosi compensata da aumento dei GR in assenza di anemia o con un calo modesto dell'Hb
- Elettroforesi dell'Hb: incremento della frazione HbA2

ANEMIA DREPANOCITICA (I)

- Sindrome emolitica cronica ad eredità autosomica recessiva dovuta alla sostituzione di un aminoacido (ac. glutamico con valina) in posizione 6 della catena beta-globinica (HbS)
- In condizioni di ipoossigenazione le emazie contenenti HbS falcizzano

Anemia a cellule falciformi



ANEMIA DREPANOCITICA (II)

■ Clinica

- Eterozigosici: asintomatici
- Omozigosici:
 - emolisi cronica (subittero, calcolosi bilirubinica, epatomegalia, ulcere malleolari, splenomegalia poi per infarti splenici asplenia funzionale, episodi infettivi,
 - Crisi emolitiche acute da falcizzazione massiva delle emazie (scatenate da infezioni, freddo), dolori intensi con necrosi asettiche ossee, accidenti cerebrovascolari, etc.

■ Laboratorio: elettroforesi Hb (HbS)

ANEMIA DREPANOCITICA (III)

■ Terapia

■ Crisi emolitiche

- Idratazione
- Terapia antidolorifica (morfina)
- Trasfusioni
- Ossigenoterapia

■ Cronica

- Idrossiurea
- ferrochelante

SFEROCITOSI EREDITARIA

■ Definizione

- Disordine emolitico cronico caratterizzato dalla presenza di emazie sferocitiche in conseguenza di un difetto dello scheletro di membrana dei GR

■ Clinica.

- Gravità variabile.
- Anemia emolitica cronica con subittero, splenomegalia, ulcere malleolari, crisi di deglobulizzazione, calcoli

■ Laboratorio

- Sferociti allo striscio di sangue periferico, reticolocitosi, iperbilirubinemia indiretta

■ Terapia: splenectomia

ANEMIA EMOLITICA DA CARENZA DI G6PD (I)

■ Definizione

- Condizione emolitica ereditaria (legata al sesso) determinata da un difetto della glucoso 6 fosfato deidrogenasi (G6PD). Incapacità a riparare il danno ossidativo.

■ Forme cliniche

- Congenita ad esordio precoce
- Congenita ad esordio giovanile
- Favismo

G6PD-deficiency

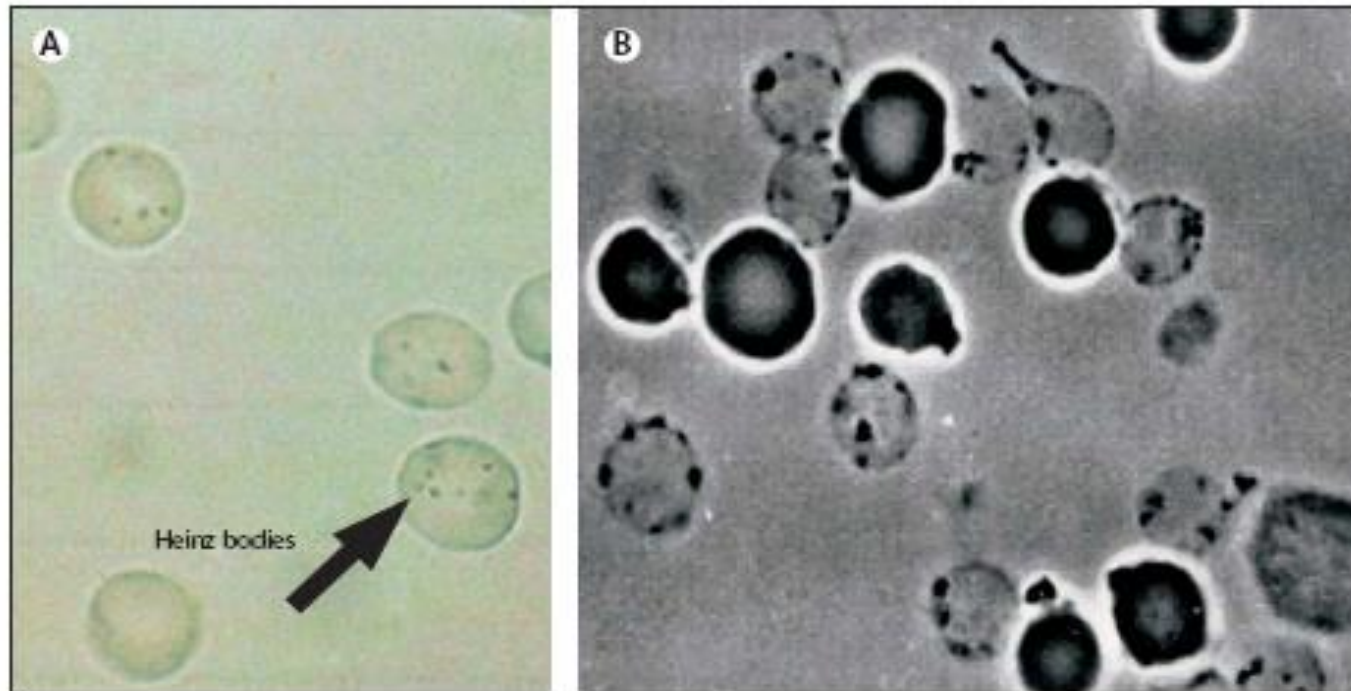


Figure 6: Blood film from a 24-year-old G6PD-deficient Italian man who had acute haemolytic anaemia after paracetamol ingestion
(A) Heinz bodies detected by supravital staining with methyl violet. (B) Heinz bodies visualised by electron microscopy.

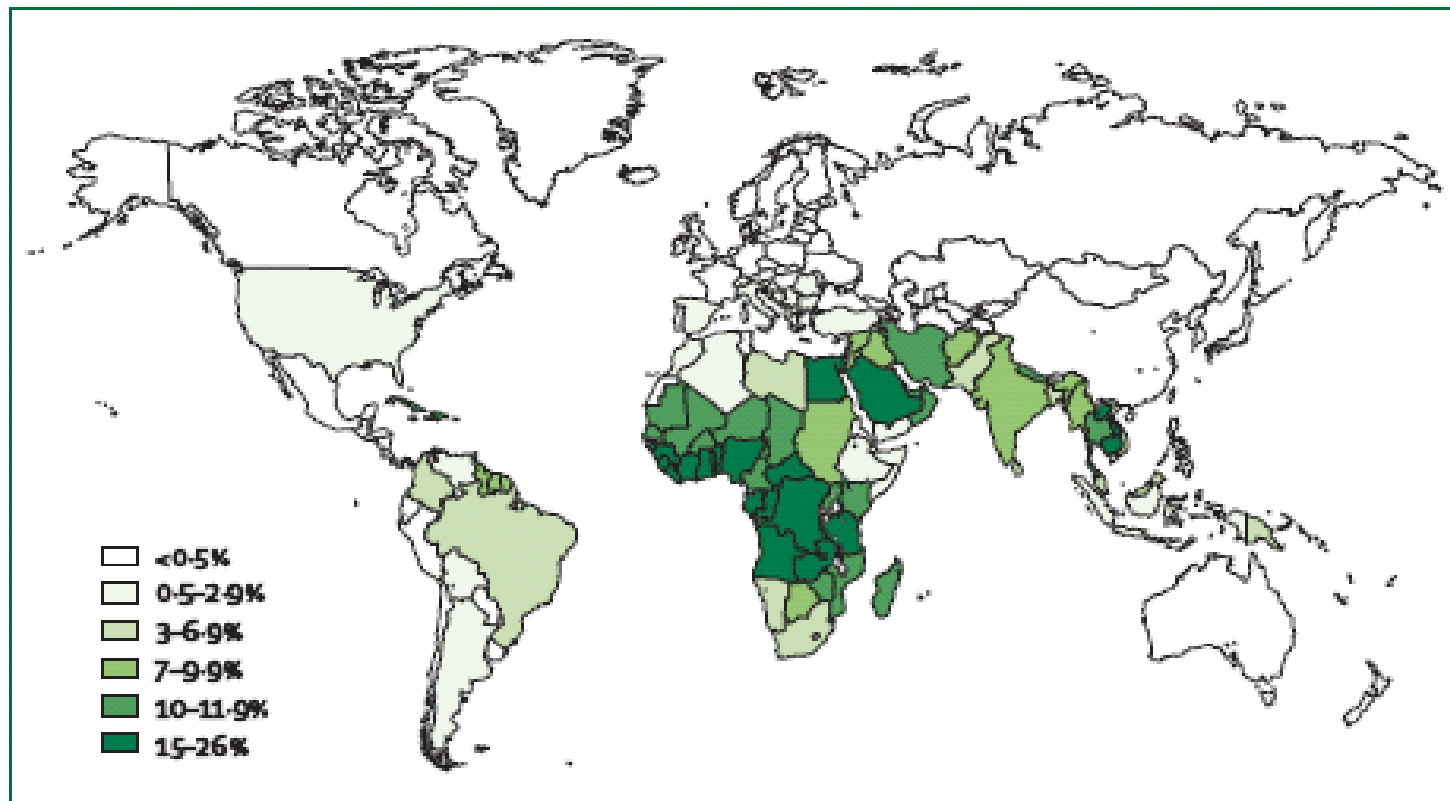


Figure 5: World map distribution of G6PD deficiency²³
Reprinted from reference 23 with permission.



Panel 2: Classes of G6PD deficiency²³

Class I

Severely deficient, associated with chronic non-spherocytic haemolytic anaemia

Class II

Severely deficient (1–10% residual activity), associated with acute haemolytic anaemia

Class III

Moderately deficient (10–60% residual activity)

Class IV

Normal activity (60–150%)

Class V

Increased activity (>150%)

	Definite association	Possible association	Doubtful association
Antimalarials	Primaquine Pamaquine	Chloroquine	Mepacrine Quinine
Sulfonamides	Sulfanilamide Sulfacetamide Sulfapyridine Sulfamethoxazole	Sulfadimidine Sulfasalazine Glibenclamide	Aldesulfone Sulfadiazine Sulfafurazole
Sulfones	Dapsone	..	..
Nitrofurantoin	Nitrofurantoin	..	..
Antipyretic or analgesic	Acetanilide	Aspirin	Paracetamol Phenacetin
Other drugs	Nalidixic acid Niridazole Methylthionium Phenazopyridine Co-trimoxazole	Ciprofloxacin Chloramphenicol Vitamin K analogues Ascorbic acid Mesalazine	Aminosalicylic acid Doxorubicin Probenecid Dimercaprol
Other chemicals	Naphthalene 2,4,6-trinitrotoluene	Acalypha indica extract	

Reprinted from ref 1 with permission.

Table 2: Drugs and chemicals associated with substantial haemolysis in patients with G6PD deficiency¹

Panel 3: Factors that affect individual susceptibility to, and severity of, drug-induced oxidative haemolysis

Inherited

Metabolic integrity of the erythrocyte

Precise nature of enzyme defect

Genetic differences in pharmacokinetics

Acquired

Age

Dose, absorption, metabolism, and excretion of drug

Presence of additional oxidative stress—eg, infection

Effect of drug or metabolite on enzyme activity

Pre-existing haemoglobin concentration

Age distribution of red-blood-cell population

ANEMIA EMOLITICA DA CARENZA DI G6PD (II)

■ Sintomatologia, laboratorio e diagnosi

- Emolisi cronica: anemia moderata, subittero, reticolocitosi, splenomegalia, calcolosi bilirubinica
- Crisi emolitica acuta: brividi febbre, vomito, dolore addominale, ittero emolitico,
- Determinazione dell'attività G6PD

■ Terapia

- Prevenzione delle crisi evitando l'esposizione a farmaci ossidanti, fave, piselli.
- In caso di crisi emolitica acuta promuovere la diuresi e trasfusioni

ANEMIE IMMUNOEMOLITICHE

■ CLASSIFICAZIONE

- Da alloanticorpi
 - Malattia emolitica del neonato
 - Reazione emolitica trasfusionale
- Da autoanticorpi
 - caldi
 - freddi
 - bitermici
- Da farmaci

REAZIONE EMOLITICA TRASFUSIONALE (I)

- Incidente diretto: emolisi acuta dei GR **trasfusi** in caso di incompatibilità AB0 tra donatore e ricevente (isoanticopri naturali IgM) o per incompatibilità di altri antigeni dei GR (Rh, Kell) in soggetti politrasfusi
- Incidente indiretto: emolisi acuta dei GR del **ricevente** di gruppo A, B, AB per la presenza di anticorpi immuni anti-A o anti-B nel siero dei donatori universali (pericolosi) di gruppo 0 per pregresse gravidanze od esposizione a sieri (anticorpi di tipo IgG incompleti)

REAZIONE EMOLITICA TRASFUSIONALE (II)

■ Patogenesi:

- Agglutinazione e lisi intravascolare degli eritrociti con
 - Ostruzione della microcircolazione
 - Liberazione di sostanze derivanti dall'attivazione del complemento ed istamino simili
 - Attivazione della coagulazione disseminata intravascolare
 - Emolisi con emoglobinemia
 - Emoglobinuria e tubulonefrosi (sofferenza renale)
 - ittero

REAZIONE EMOLITICA TRASFUSIONALE (III)

■ Sintomatologia

- Brividi, malessere, dolore lombare e toracico, nausea, ipotensione eshock

■ Terapia

- Sospensione della trasfusione
- Mantenimento della pressione arteriosa con dopamina, plasma expanders e liquidi
- Mantenere flusso urinario > 100 ml/ora (diuretici)
- Terapia eparinica in caso di CID associata a plasma fresco e/o piastrine
- Dialisi in caso di insufficienza renale acuta

MALATTIA EMOLITICA DEL NEONATO (I)

■ Definizione

- Sindrome da iperdistruzione eritrocitaria fetale conseguente alla sintesi di anticorpi IgG materni diretti contro l'antigene D del sistema Rh del feto.
- Classicamente la situazione si crea alla seconda gravidanza di un feto Rh+ in una madre Rh-

■ Patogenesi

- Sequestro splenico ed epatico delle emazie con iperplasia eritropoietica compensatoria ed epatosplenomegalia
- Ostruzione parziale del circolo epatico con insufficienza epatica fetale, ipoalbuminemia e deficit dei fattori coagulativi, ipossia progressiva, iperaldosteronismo e squilibri elettrolitici, anasarca, insufficienza cardiaca

MALATTIA EMOLITICA DEL NEONATO (II)

■ Quadri clinici

- Idrope fetale universale: morte del feto entro poche ore dalla nascita
- Preidrope: sopravvivenza di circa il 50% dei neonati con adeguato trattamento intensivistico
- Ittero grave del neonato: sopravvivenza del neonato senza sequele patologiche se trattato tempestivamente. Neonato pallido, cute succulenta e chiazze emorragiche. Rapida comparsa di ittero ingravescente. Sofferenza neurologica talora con sequele importanti (kernittero)

MALATTIA EMOLITICA DEL NEONATO (III)

■ Diagnosi

- Segni di emolisi
- Positività test di Coombs diretto sulle emazie del neonato
- Coombs indiretto positivo nella madre

■ Terapia

- Fototerapia
- Plasma exchange
- Exsanguinotrasfusione
- Preventiva: nella madre con immunoglobuline umane anti-Rh (D) che si legano alle emazie fetali passate nella circolazione materna

ANEMIE EMOLITICHE DA AUTOANTICORPI

- Produzione di autoanticorpi da parte di "cloni proibiti"
- Eziologia ignota nel 50% dei casi
- Fa parte del quadro clinico in:
 - Malattie linfoproliferative
 - Connettiviti
 - Neoplasie
 - Malattie infettive

ANEMIE EMOLITICHE DA AUTOANTICORPI

- Autoanticorpi caldi (incompleti):
 - IgG, in genere policlonali che legano le emazie tra 0-40 °C (optimum a 37°C)
 - Reagiscono con strutture del sistema Rh (e)
 - Non agglutinano le emazie (incompleti)
 - Non sono in grado di attivare il complemento e quindi hanno scarso potere emolitico

ANEMIE EMOLITICHE DA AUTOANTICORPI

- Anticorpi freddi (completi):
 - IgM, poli- o monoclonali, presenti nel siero ad alto titolo
 - Hanno potere agglutinante (completi)
 - Range termico 0-32 °C (massima attività a 4°C): crioagglutinine
 - Rivolti per lo più contro l'antigene I
 - Sono in grado di attivare il complemento
 - Emolisi intravascolare: anticorpo si legato in quantità adeguata tra 15-32°C, attivazione del complemento con massima attività a 40°C

ANEMIE EMOLITICHE DA AUTOANTICORPI

■ Anticorpi bitermici:

- IgG che si legano alle emazie tra 0-20 °C
- Sono in grado di fissare il complemento
- La cascata complementare si attiva a 37°C con lisi in circolo delle emazie
- Riconoscono antigeni eritrocitari del sistema P

ANEMIE EMOLITICHE DA AUTOANTICORPI

- Test di Coombs diretto:
 - Consente di svelare la presenza di anticorpi o frazioni del complemento sulla superficie delle emazie
- Test di Coombs indiretto:
 - Svela la presenza di anticorpi antieritrocitari incompleti nel siero del paziente
- Ricerca delle crioagglutinine:
 - Incubazione delle emazie a 4°C con il siero in esame

ANEMIE EMOLITICHE DA AUTOANTICORPI

■ Emolisi intravascolare:

- Avviene in presenza di elevati titoli di anticorpi bitermici o freddi capaci di attivare il complemento
- Distruzione delle emazie in circolo
- Emoglobinemia
- Emoglobinuria in caso di saturazione dell'aptoglobina

■ Emolisi extravascolare:

- Avviene in presenza di anticorpi completi agglutinanti e di anticorpi incompleti incapaci di attivare completamente la cascata complementare
- Le emazie sensibilizzate vengono eliminate dal sistema fagocitario

ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI A DECORSO ACUTO (I)

■ Definizione

- Anemia emolitica da anticorpi antieritrocitari idiopatica o secondaria a malattie virali (Mycoplasma, EBV), a somministrazione di farmaci, a neoplasie o connettiviti.
- Più frequentemente sostenuta da anticorpi caldi, raramente da anticorpi freddi

ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI A DECORSO ACUTO (II)

■ Sintomatologia:

- Febbre elevata, malessere, cefalea, dolore lombare, astenia grave, itero franco, emissione di urine color marsala (eventualmente emoglobinuria), feci ipercromiche
- Modesta epatosplenomegalia
- Cianosi delle parti distali se anticorpi freddi

ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI A DECORSO ACUTO (III)

■ Laboratorio

- Sangue periferico: sferociti, leucocitosi
- Ipersideremia, iperbilirubinemia indiretta
- Decremento dell'aptoglobina serica
- Test di Coombs diretto positivo
- Crioagglutinine in caso di anticorpi freddi

■ Terapia:

- Trasfusioni in caso di problemi clinici es. cardiovascolari
- Terapia con cortisonici, azatioprina, ciclofosfamide
- Splenectomia
- Terapia della malattia di base nelle forme secondarie

ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI A DECORSO CRONICO (I)

- Da autoanticorpi caldi
 - In corso di connettiviti, linfomi leucemia linfatica cronica, neoplasie, sarcoidosi, cirrosi epatica, idiopatica (rara)
 - Esordio subdolo, periodi di stasi alternati a riacutizzazioni più o meno gravi
 - Terapia come nella forma acuta

ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI A DECORSO CRONICO (II)

- Da autoanticorpi freddi
 - Forma frequentemente idiopatica, talora associata a disordini linfoproliferativi, o a epatopatie croniche
 - Autoagglutinazione delle emazie, cianosi delle parti distali fino alla necrosi ischemica, pallore, ittero, modesta epatosplenomegalia
 - Decorso cronico con acutizzazioni nei periodi freddi
 - Terapia scarsamente efficace (steroidi, immunosoppressori, trasfusioni)

ANEMIA EMORRAGICA ACUTA

- Definizione:

- Perdita acuta ematica in seguito a eventi traumatici, sanguinamenti importanti da mucose, rottura tubarica per gravidanza extrauterina o rottura di aneurisma dell'aorta

- Sintomi:

- Pallore, dispnea, sudorazione profonda, vertigini, amaurosi transitoria, polso piccolo e frequente

- Decorso:

- fatale se la perdita è superiore ad un litro e mezzo (adulto)

- Terapia:

- trasfusione di sangue intero, ripristino del volume con plasma expanders, dopamina, ferro nella fase non acuta

ERITROCITOSI (I)

- Definizione:

- Aumento stabile della massa eritrocitaria oltre i valori normali a livello del mare

- Classificazione:

- Primitive assolute (policitemia vera, familiare)
- Secondarie assolute:
 - Fisiologicamente appropriate (incremento EPO per ipossia tissutale)
 - Da iperproduzione primitiva di EPO
- Relative: da stress

ERITROCITOSI (II)

- Fisiologicamente appropriate (incremento EPO per ipossia tissutale)
 - Grandi altezze
 - Malattie polmonari croniche (enfisema, etc)
 - Ipoventilazione primitiva o dei grandi obesi (s. di Pickwick)
 - Alterazione dei vasi polmonari o anomalie cardiovascolari
 - Cardiopatie acquisite con scompenso cronico
 - Emoglobinopatie con aumentata affinità per O₂
 - Carbossiemoglobinemia (fumatori)
 - Diminuzione congenita di 2,3 DPG

ERITROCITOSI (III)

- Da iperproduzione di EPO
 - Cisti renali
 - Carcinoma renale
 - Adenoma corticosurrenale
 - Feocromocitoma
 - Emangioblastoma cerebellare
 - Carcinoma ovarico o polmonare

ERITROCITOSI (IV)

■ Diagnosi:

- Mutazione del gene JAK2
- Biopsia ossea
- Dosaggio EPO
- Saturazione di O₂
- Elettroforesi Hb
- Ricerca neoplasie occulte

■ Terapia:

- Rimozione causa
- Salasso al fine di ridurre l'ematocrito

EMOCROMATOSI (I)

- Definizione:

- Condizione patologica conseguente ad un eccessivo deposito di ferro tissutale

- Classificazione:

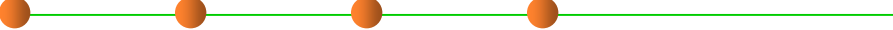
- Idiopatica: autosomica recessiva
- Secondaria: trasfusioni, eritropoiesi inefficace cronica

EMOCROMATOSI (II)

- Quadro clinico:
 - Esordio
 - 5-6a decade nelle forme ereditarie, variabile in quelle secondarie
 - Epatopatia con cirrosi,
 - Danno miocardico
 - Danno pancreatico e di tutte le ghiandole endocrine (diabete)
 - Pigmentazione cutanea,
 - Danno articolare
- Diagnosi
 - Sideremia, % saturazione transferrina e ferritina aumentate,
 - test genetici
- Terapia
 - Salassi fino alla deplezione delle riserve
 - Nelle forme secondarie ferrochelanti (Desferoxamina)



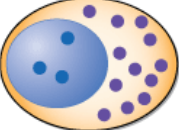
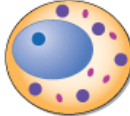
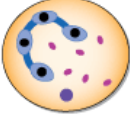
MIELOPOIESI



MIELOPOIESI

- Scopo: produzione di:
 - Neutrofili: protezione agenti infettivi
 - Eosinofili: attività citotossica contro gli elminti ed inibizione delle reazioni diipersensibilità
 - Basofili: reazioni diipersensibilità
 - Monociti: funzioni di difesa

Stages of neutrophil development

Cell	Stage	Surface Markers ^a	Characteristics
	MYELOBLAST	CD33, CD13, CD15	Prominent nucleoli
	PROMYELOCYTE	CD33, CD13, CD15	Large cell Primary granules appear
	MYELOCYTE	CD33, CD13, CD15, CD14, CD11b	Secondary granules appear
	METAMYELOCYTE	CD33, CD13, CD15, CD14, CD11b	Kidney bean-shaped nucleus
	BAND FORM	CD33, CD13, CD15, CD14, CD11b, CD10, CD16	Condensed, band-shaped nucleus
	NEUTROPHIL	CD33, CD13, CD15, CD14, CD11b, CD10, CD16	Condensed, multilobed nucleus

^aCD= Cluster Determinant; ● Nucleolus; ● Primary granule; ● Secondary granule.

Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

MIELOPOIESI

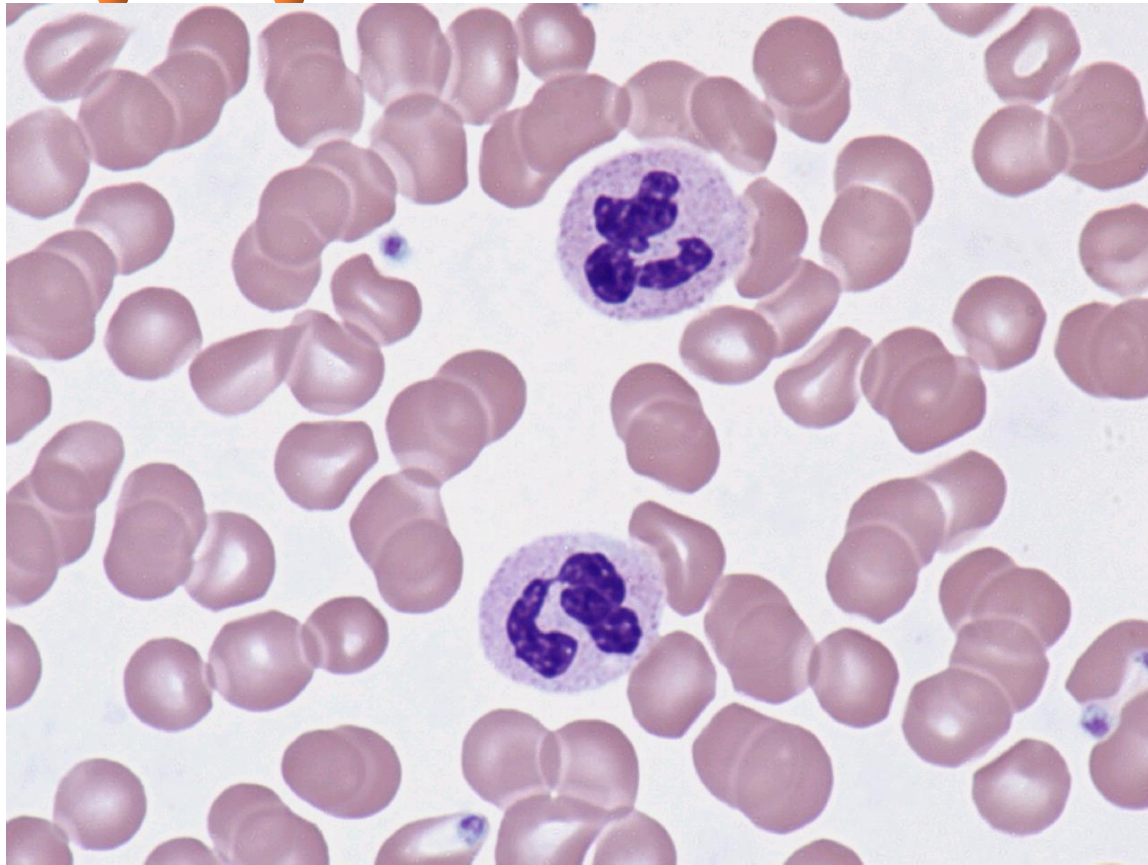
■ Fattori di crescita:

- G-CSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor)
- GM-CSF (Granulocyte Monocyte CSF)
- M-CSF (Monocyte CSF)
- IL3 (Interleukin 3)
- IL4
- IL5

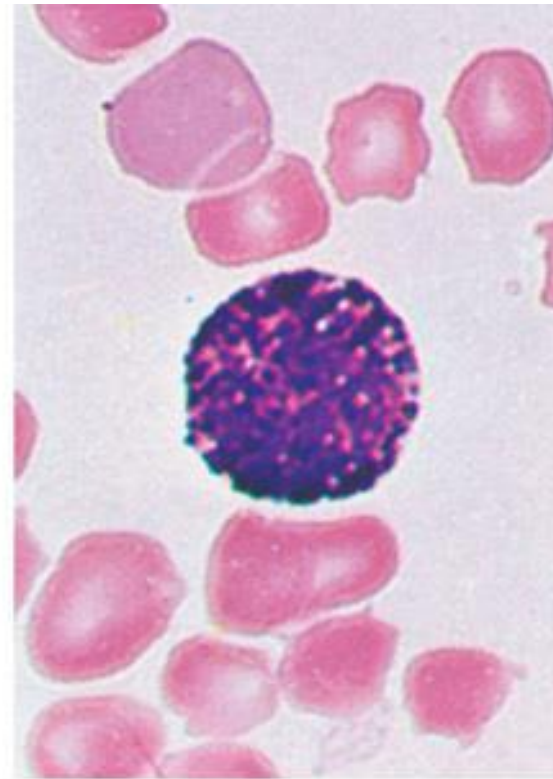
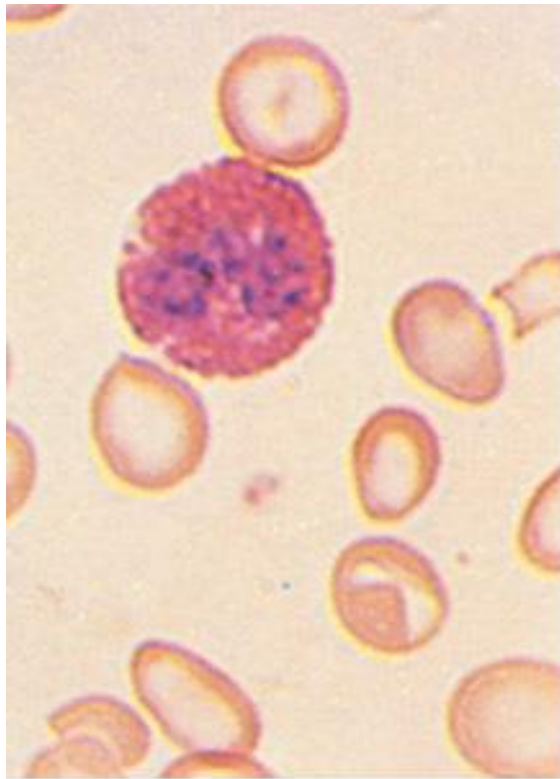
Leucociti o Globuli Bianchi

- Leucociti (v.n. $4000-11000 \times 10^3/\text{ml}$)
- Formula leucocitaria:
 - Neutrofili 40-75%
 - Linfociti 20-45%
 - Monociti 3-8%
 - Eosinofili 1-7%
 - Basofili 0-1%

neutrofili



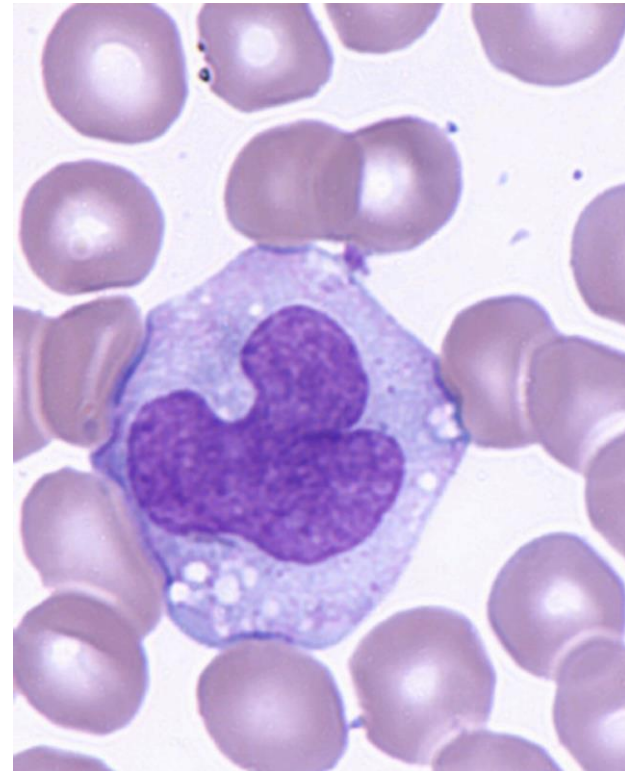
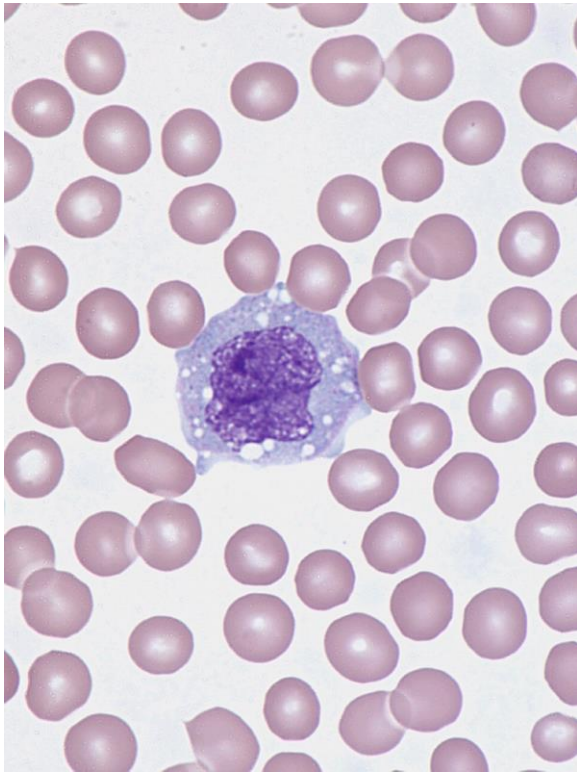
Eosinofilo e basofilo



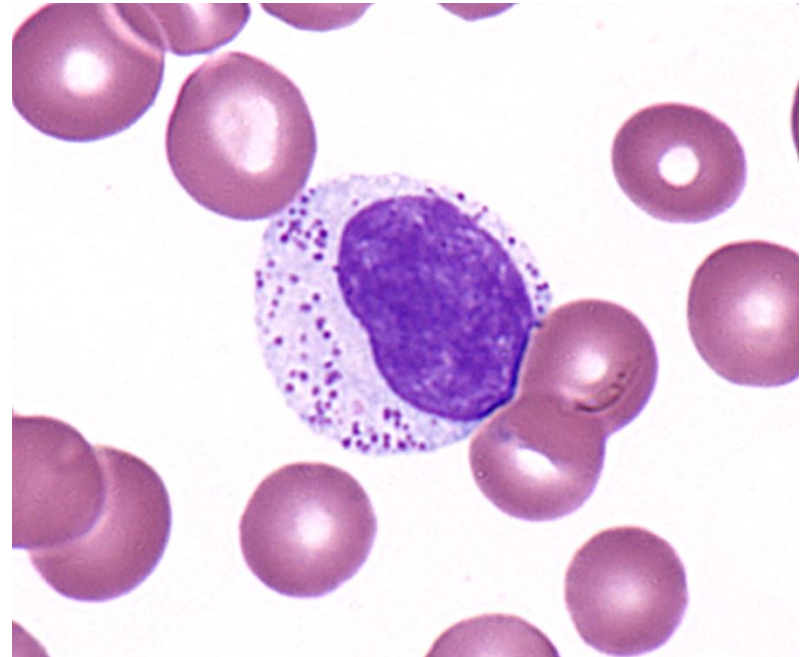
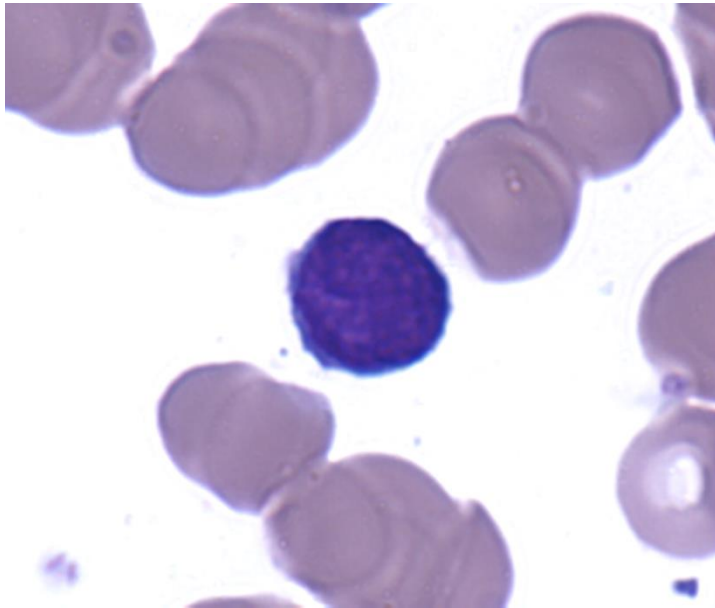
Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

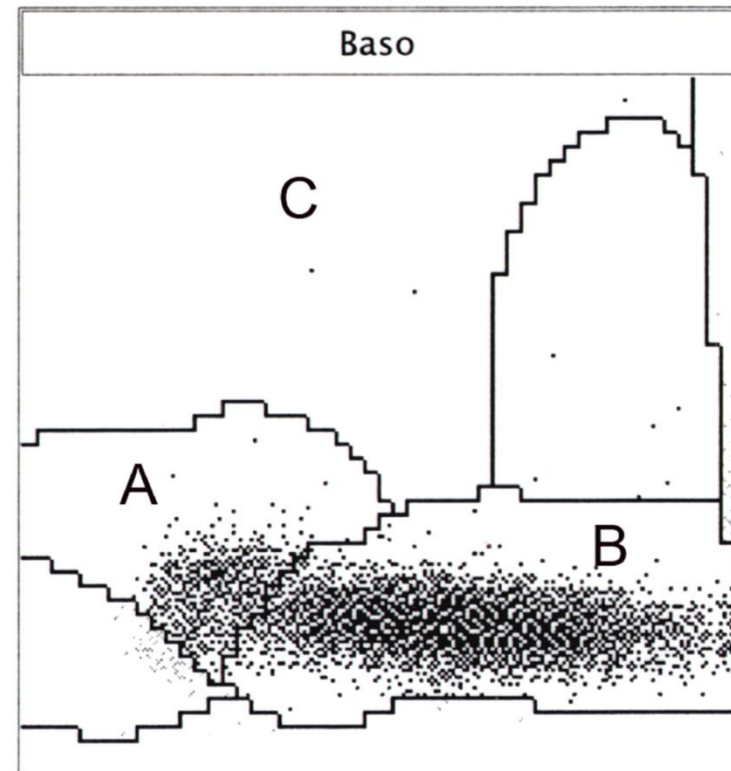
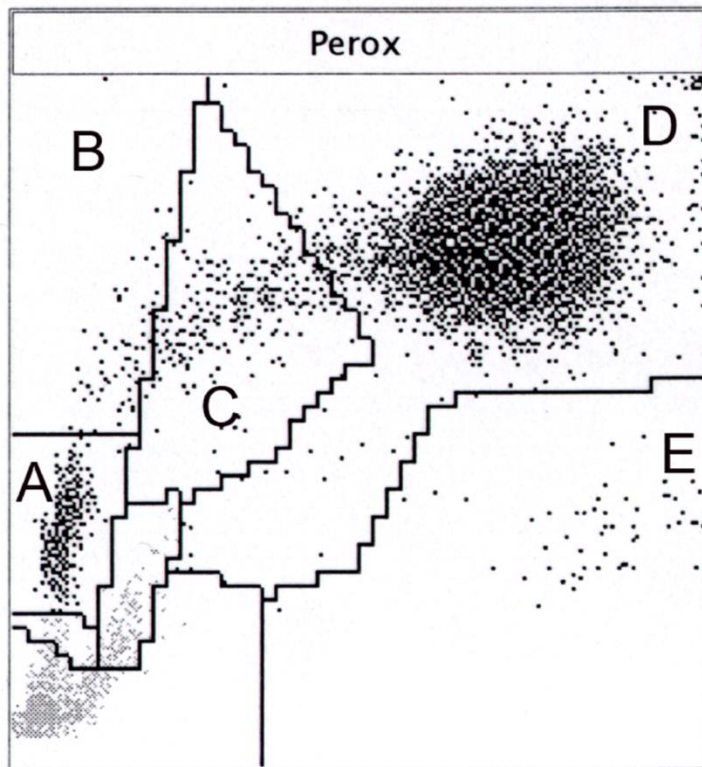
monociti



linfociti



Formula strumentale



LEUCOPENIA

- Riduzione dei leucociti sotto 4×10^9 L
 - Neutropenia
 - Linfocitopenia
 - Monocitopenia

LEUCOCITOSI

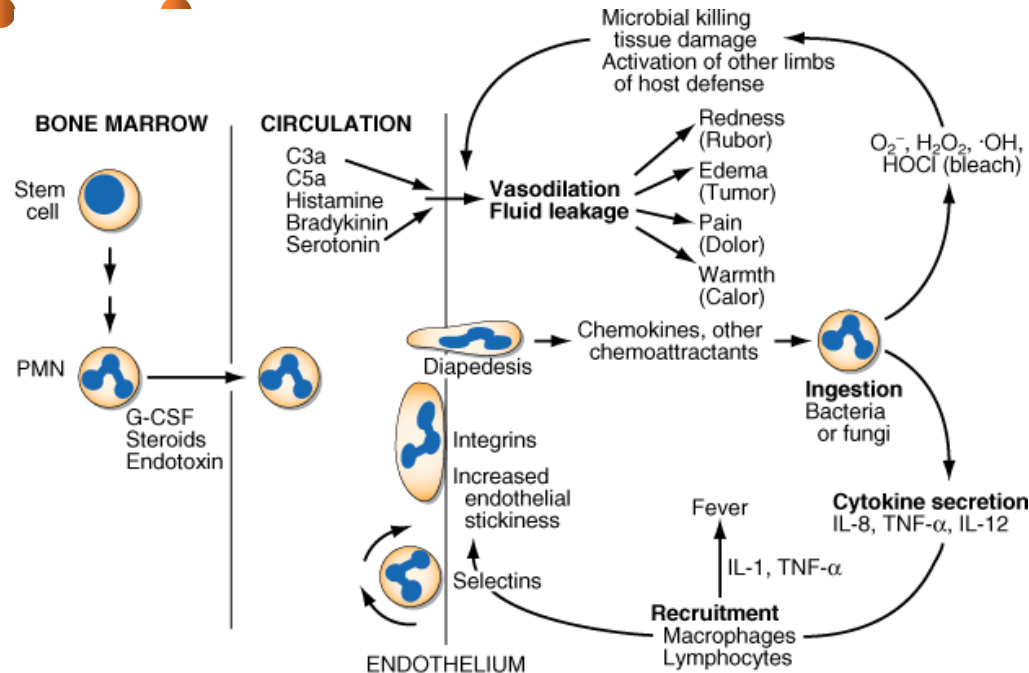
- Aumento dei leucociti oltre 10×10^9 L
- Può interessare i
 - Neutrofili: neutrofilia
 - Linfociti: linfocitosi
 - Monociti: monocitosi
 - Eosinofili: eosinofilia
 - Basofili: basofilia

Granulociti neutrofili

■ **I neutrofili proteggono l'organismo da agenti estranei soprattutto infettivi.**

- Presentano granulazioni citoplasmatiche:
 - granulazioni primarie od azzurrofile (10-20%): contengono enzimi con funzione microbicida (mieloperossidasi, lisozima, defensine, elastasi, catepsine, idrolasi acide, proteinasi 3, etc).
 - Granulazioni secondarie o specifiche (80-90%): contengono proteine per lo più coinvolte nei meccanismi di adesione cellulare lattoferrina, collagenasi, beta-2-microglobulina, gelatinasi, lisozima, vit.B12 binding protein, NGAL, etc.)
 - Granuli terziari: gelatinasi
 - Vescicole secretorie (fosfatasi alcalina leucocitaria),
 - Granuli di glicogeno

Schematic events in neutrophil production, recruitment, and inflammation.



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

The four cardinal signs of inflammation (rubor, tumor, calor, dolor) are indicated, as are the interactions of neutrophils with other cells and cytokines. PMN, polymorphonuclear leukocytes; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; IL, interleukin; TNF-alpha.

Granulociti neutrofili: chemiotassi

- La loro funzione di difesa si svolge attraverso:
 - **Chemiotassi**: attività migratoria esaltata da:
 - Prodotti derivati dall'attivazione del complemento (C5a, C3b e C5-6-7):
 - Prodotti derivati dall'attivazione della coagulazione: fibrinopeptide B, plasmina, callicreina
 - Prodotti di derivazione batterica
 - Prodotti derivanti dal collagene per azione della collagenasi
 - Prodotti liberati da monociti, linfociti e basofili

Granulociti neutrofili: fagocitosi

■ **Fagocitosi:**

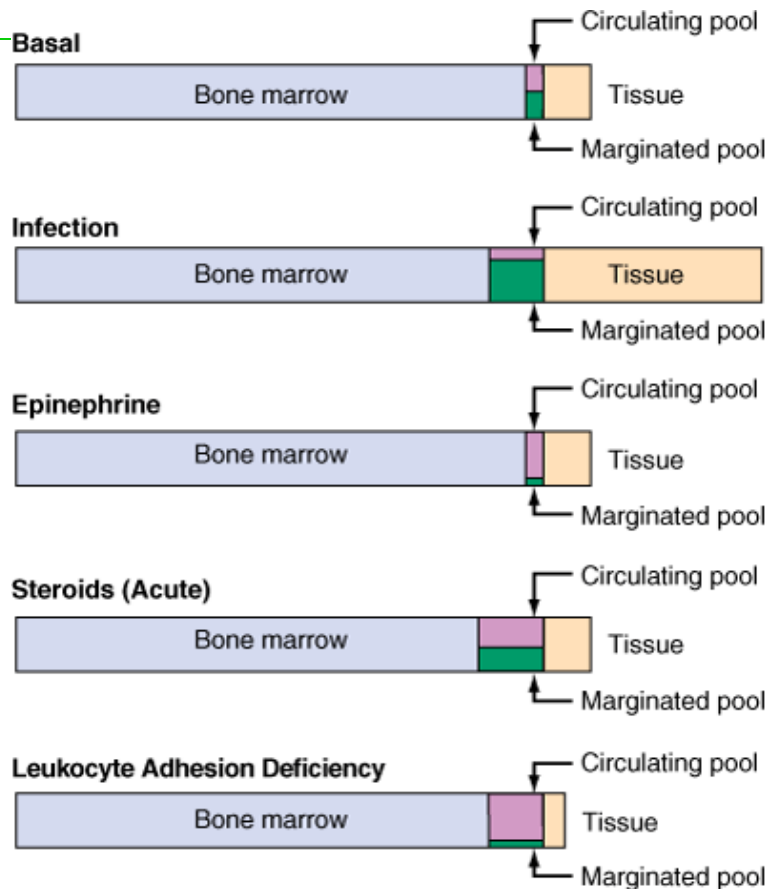
- riconoscimento delle particelle estranee se ricoperte da opsonine (C3b e C3b1, IgG1 e IgG3) grazie a specifici recettori
- La captazione dei batteri è inoltre influenzata da modificazioni della superficie batterica, dalla idrofobicità e dalla composizione chimica

Granulociti neutrofili: microbicidia

■ Attività microbicida:

- O₂ dipendente: generazione di molecole di O₂ e radicali ossidrilici (OH⁻) tossici per le cellule viventi
 - Superossidi
 - H₂O₂: generato dal sistema della NADPH-ossidasi che prima forma i superossidi e quindi l'H₂O₂ grazie alla superossido dismutasi
 - Mieloperossidasi: in presenza di H₂O₂ catalizza la iodinazione delle proteine della parete batterica
- O₂ indipendente:
 - proteine cationiche che impediscono ai batteri di replicarsi
 - Lattoferrina: che lega il ferro
 - Lisozima che danneggia la parete batterica

Schematic neutrophil distribution and kinetics between the different anatomic and functional pools.



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

NEUTROFILIA

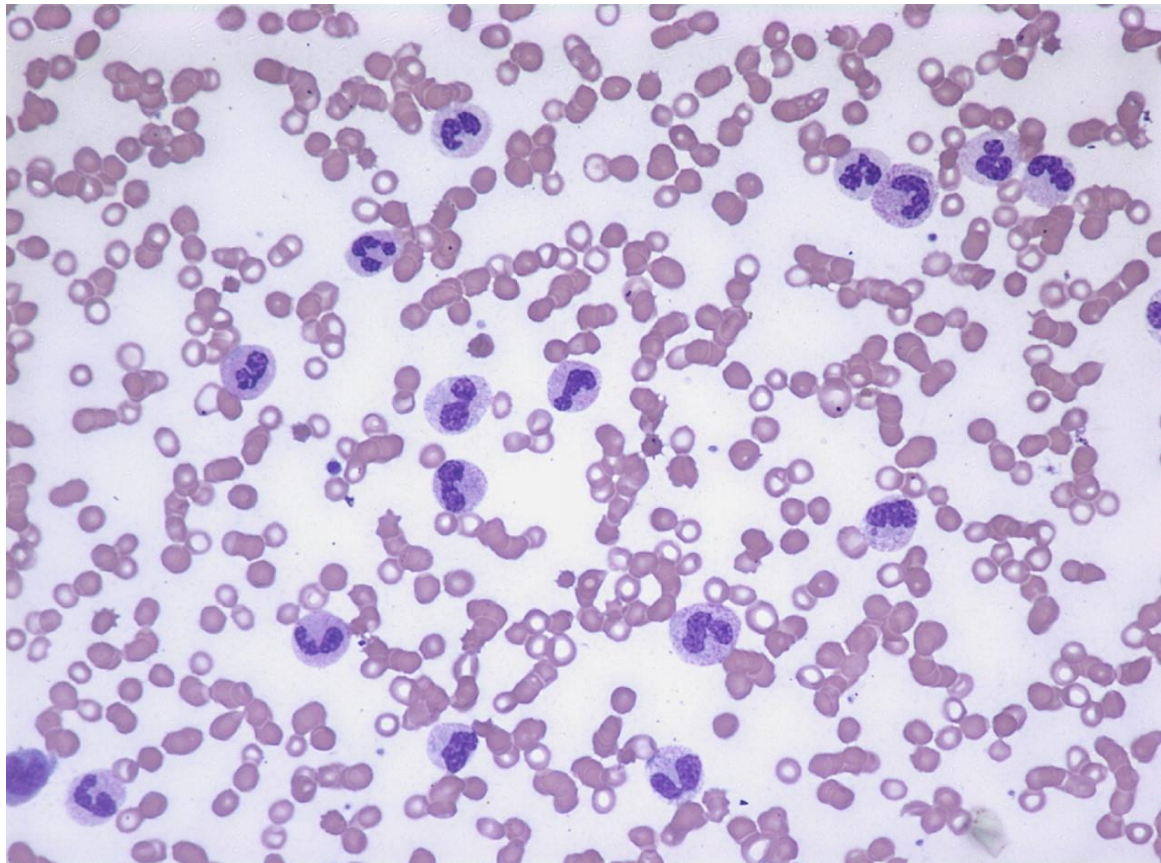
■ Primitive

- Ereditarie
- Idiopatica
- **Leucemia mieloide cronica e sindromi mieloproliferative**

■ Secondarie

- Infezioni acute, intossicazioni, neoplasie
- Stress, interventi chirurgici, attività fisica etc
- Farmaci: cortisonici, adrenalina, fattori di crescita, etc
- Gravidanza
- Stimolazione midollare: anemia emolitica, piastrinopenie
- Varie

neutrofilia



Reazione leucemoide

- Incremento di neutrofili e loro precursori nel sangue periferico
- In corso di:
 - Infezioni
 - stimolazioni midollari di varia natura:
 - fattori di crescita,
 - emorragie,
 - emolisi
 - Neoplasie
 - necrosi tissutale
 - Etc.

NEUTROPENIA (I)

- Difetti intrinseci:
 - forme ereditarie congenite
- **Acquisite:**
 - **Post infettiva**
 - Da farmaci: chemioterapia, ticlopidina, etc
 - Autoimmuni
 - Da ipersplenismo
 - Metaboliche e da deficit nutrizionali
 - **Neoplasie:** leucemie, disordini linfoproliferativi T gamma, anemia aplasia (EPN)

NEUTROPENIA (II)

- **Neutropenia – rischio di infezioni**
- Il rischio infettivo è maggiore
 - Quanto più basso è il numero di neutrofili
 - Quanto maggiore è la durata della neutropenia
- Particolare attenzione ai pazienti neutropenici
 - Se febbre terapia antibiotica ed antifungina
 - Emocolture: da periferico e da catetere venoso centrale
 - Urinocolture
 - Rx torace, TC ed esami strumentali del caso

Eosinofili

■ **Funzione:**

- Inibiscono le reazioni di ipersensibilità con la liberazione di amine-ossidasi che bloccano l'istamina
- Manifestano attività citotossica contro gli elminti (nelle parassitosi)

■ Possiedono attività chemotattica in risposta a prodotti batterici, a frazioni del complemento, a prodotti derivanti dalla degranolazione delle mastcellule ed all'istamina

■ Contengono

- granulazioni azzurre: nelle quali sono presenti perossidasi eosinofila, fosfatasi acida, arilsulfatasi ed altri enzimi
- granulazioni specifiche
- Presentano recettori per:
 - la porzione Fc delle IgG, IgM ed IgE
 - le frazioni del complemento C4, C3b, C3d
 - l'istamina

EOSINOFILIA: cause

- Malattie allergiche (asma, rinite allergica, orticaria, etc)
- Infezioni ed infestazioni (parassitosi intestinali, micosi, TBC, etc)
- Dermatiti (eczema, psoriasi, pitiriasi, etc)
- Malattie autoimmuni (artrite reumatoide, LES, s. di Sjogren, etc.)
- Neoplasie (linfoma di Hodgkin, leucemie, sindromi mielodisplastiche e mieloproliferative, neoplasie solide)
- Farmaci
- Sindrome ipereosinofila idiopatica
- Immunodeficienze

EOSINOFILIA: manifestazioni cliniche

- Manifestazioni cliniche che coinvolgono:
 - Cuore: pericardite, aritmie
 - Sistema nervoso: disturbi psichici, epilessia
 - Polmone: fibrosi, pleurite
 - Fegato e milza: epatosplenomegalia
 - Occhio: arterite retinica
 - App. gastroenterico: diarrea, ascite, pancreatite
 - Cute: orticaria, angioedema
 - Midollo osseo: eosinofilia, anemia, piastrinopenia

Monociti

- Intervengono principalmente nei meccanismi di difesa
- Capacità fagocitaria implicata
 - Nella difesa dai patogeni e da neoplasie
 - Nella regolazione di altre attività fisiologiche o patologiche quali
 - Coagulazione
 - aterosclerosi

MONOCITOSI: cause

- Primitive congenite

- **Secondarie**

- Infezioni croniche: TBC, endocardite, micosi, etc
- Autoimmuni: LES, artrite reumatoide, m. di Chron, etc.
- Incorso di tumori: linfomi e tumori solidi

- **Neoplastiche**

- Leucemie acute mielomocitica (M4) e monoblastica (M5)
- Leucemia mieloide e mielomonocitica cronica
- Leucemia mielomonocitica giovanile

Basofili

- Intervengono nelle reazioni di ipersensibilità
- Possono aumentare in corso di:
 - Leucemie acute e croniche
 - Endocrinopatie
 - Tubercolosi
 - Farmaci
 - Rettocolite ulcerosa
 - Splenectomia

Linfociti

- Svolgono un ruolo importante nella risposta immunitaria.
 - linfociti B (10-15%):
 - marcatori CD19-CD22
 - linfociti T (70-80%):
 - marcatori CD2-CD3:
 - rapporto CD4/CD8 (v.n. 1,3-2,5)
 - cellule NK (15%):
 - marcatore CD16

LINFOCITOSI

■ **Primitive neoplastiche**

- **Leucemia linfatica cronica**
- **Disordini linfoproliferativi** acuti o cronici
- Linfomi leucemizzati

■ **Secondarie non neoplastiche**

- **Infezioni virali:** mononucleosi, citomegalovirus, epatite, varicella, parotite, rosolia, herpes simplex e zoster, influenza,
- Infezioni batteriche: pertosse, tubercolosi, sifilide, brucellosi, rickettiosi
- Da farmaci

Classificazione WHO delle neoplasie mieloidi

- 
- 1. Leucemie mieloidi acute**
 - 2. Sindromi mielodisplastiche**
 - 3. Neoplasie mieloproliferative croniche**
 - 4. Neoplasie mielodisplastiche mieloproliferative**
 - 5. Neoplasie mieloidi e linfodi con eosinofli ed anomalie dei geni PDGFRA, PDGFRB, o FGFR1**

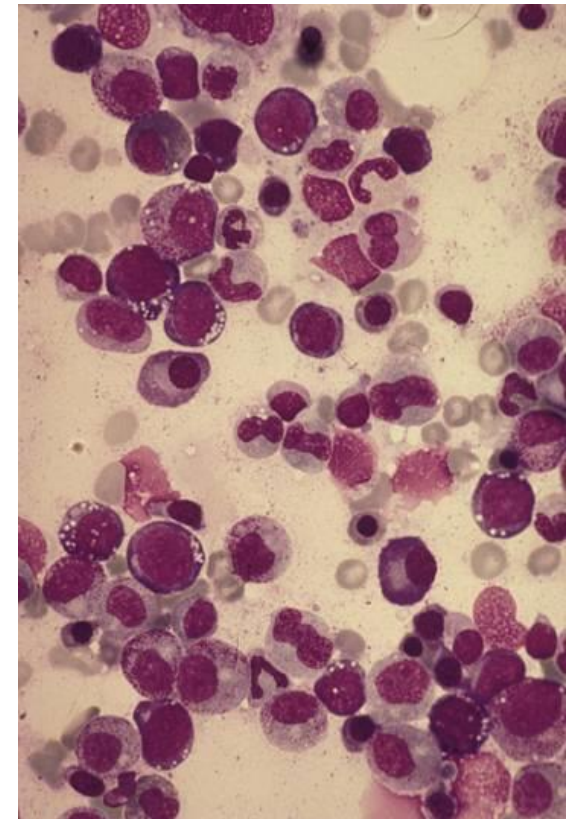
Mielodisplasie (MDS): definizione

Gruppo eterogeneo di disordini clonali della cellula staminale, contrassegnati da citopenia periferica e nella maggior parte dei casi da un midollo ipercellulato con evidenti alterazioni maturative (displasia).

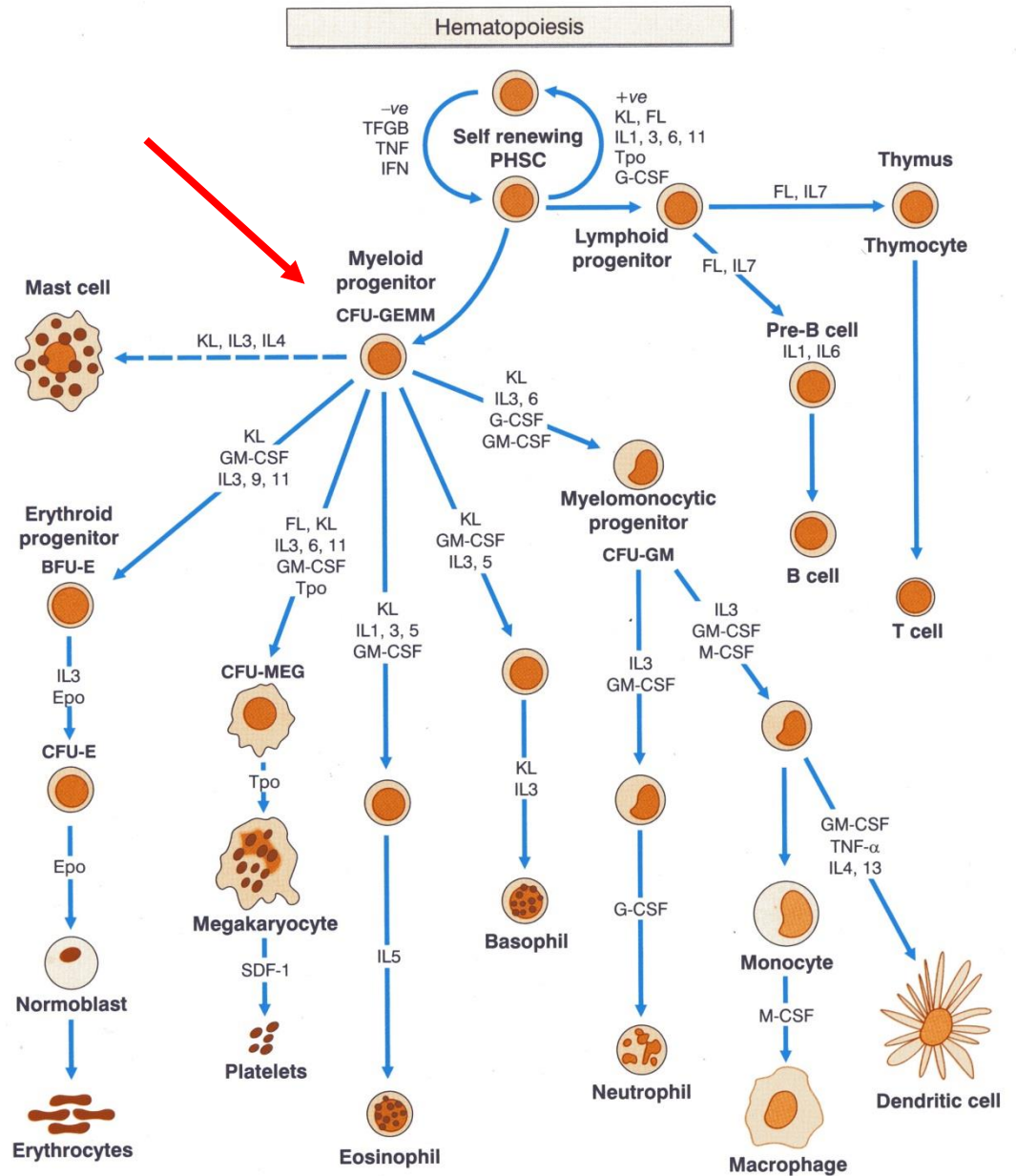
Le MDS presentano un aumentato rischio di evoluzione in LAM.

	MDS	AML	MPD
Differentiation	Impaired	Impaired	Normal ←←
Proliferation/survival	Impaired →→	Preserved	Increased

Arrows indicate where a second hit could result in progression to AML.

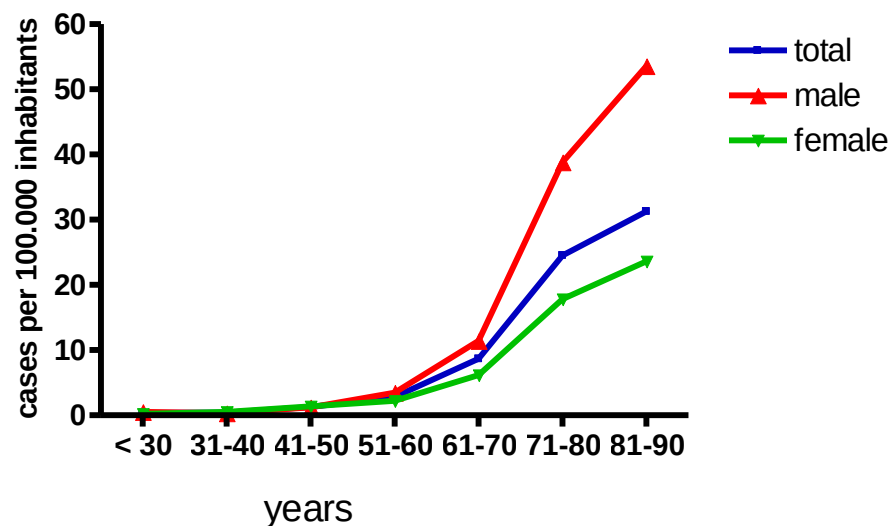


MDS: definizione



SINDROMI MIELODISPLASTICHE

- Forme primitive:
 - eziologia sconosciuta
- Forme secondarie:
 - esposizione a solventi
pesticidi,
 - chemioterapici,
 - sostanze tossiche
- Età generalmente anziana
- M > F



SINDROMI MIELODISPLASTICHE

- Sintomatologia:
 - Anemia – astenia, pallore, dispnea, etc.
 - Neutropenia – infezioni
 - Piastrinopenia – emorragie

- Evoluzione in leucemia acuta sptt nelle forme ad alto rischio
 - elevata percentuale di blasti midollari,
 - Anomalie cromosomiche sfavorevoli
 - numero di citopenie (0-1 vs 2-3 citopenie)

Mielodisplasia: diagnosi

- Emocromo
- Esame del midollo
 - Valutazione morfologica
 - % di blasti (cellule immature)
- Valutazione esame citogenetico per la ricerca di anomalie cromosomiche

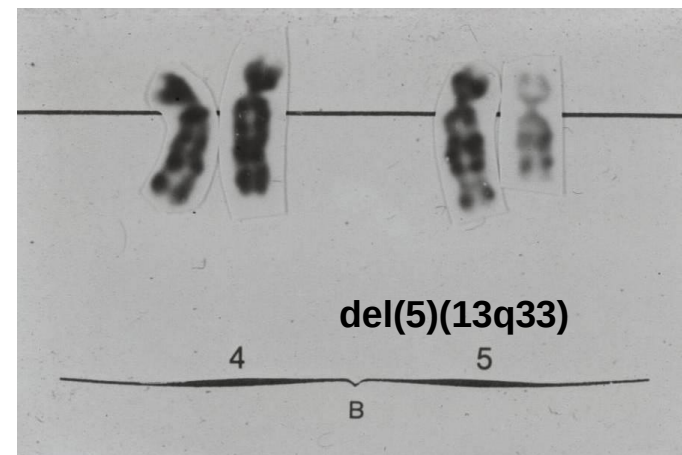
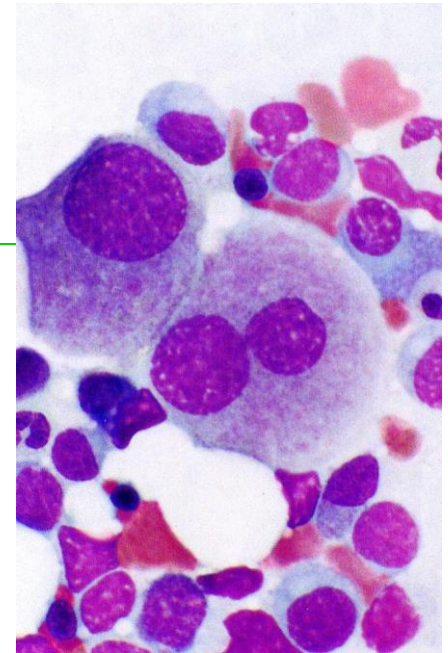
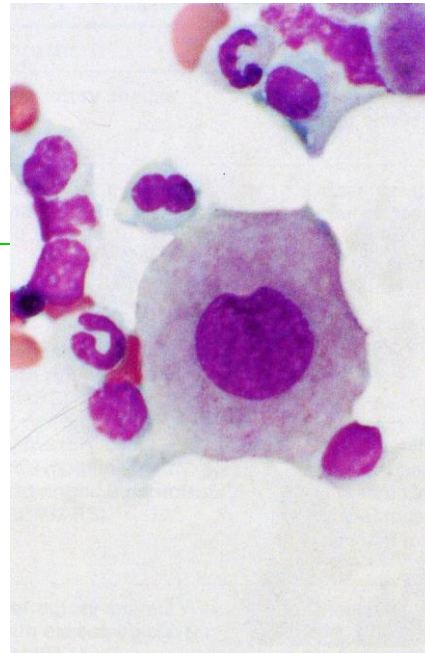
Sindrome da 5q-

■ Presentazione clinica

- Età avanzata
- Sesso femminile (F:M 7:3)
- Basso rischio di progressione in LAM
- Buona prognosi

■ Quadro ematologico

- Anemia macrocitica
- Modesta leucopenia
- Normale/elevato numero di piastrine
- ipoplasia eritroide midollare
- Megacariociti monolobati
- Delezione intestiziale braccio lungo del cromosoma 5 come singola anomalia
- Blasti < 5%



International prognostic Scoring System

Karyotype

- Good: normal, -Y, del(5q), del(20q)
- Intermediate: other abnormalities
- Poor: complex (≥ 3 abnorm) or chrom 7 abnorm

Cytopenias

- Hb < 10 g/dL
- absolute neutrophil count < 1500 μ l
- platelets < 100.000 μ l

Score	0	0.5	1.0	1.5	2.0
BM blasts	<5	5-10	-	11-20	20-30
Karyotype	good	intermediate	-	Poor	-
Cytopenias	0/1	2/3	-	-	-

	Low (0)	Int-1 (0.5-1.0)	Int-2 (1.5-2.0)	High (≥ 2.5)
Lifetime AML evolution	19%	30%	33%	45%
Median yrs to AML	9.4	3.3	1.1	0.2
Median survival yrs	5.7	3.5	1.2	0.4

SINDROMI MIELODISPLASTICHE

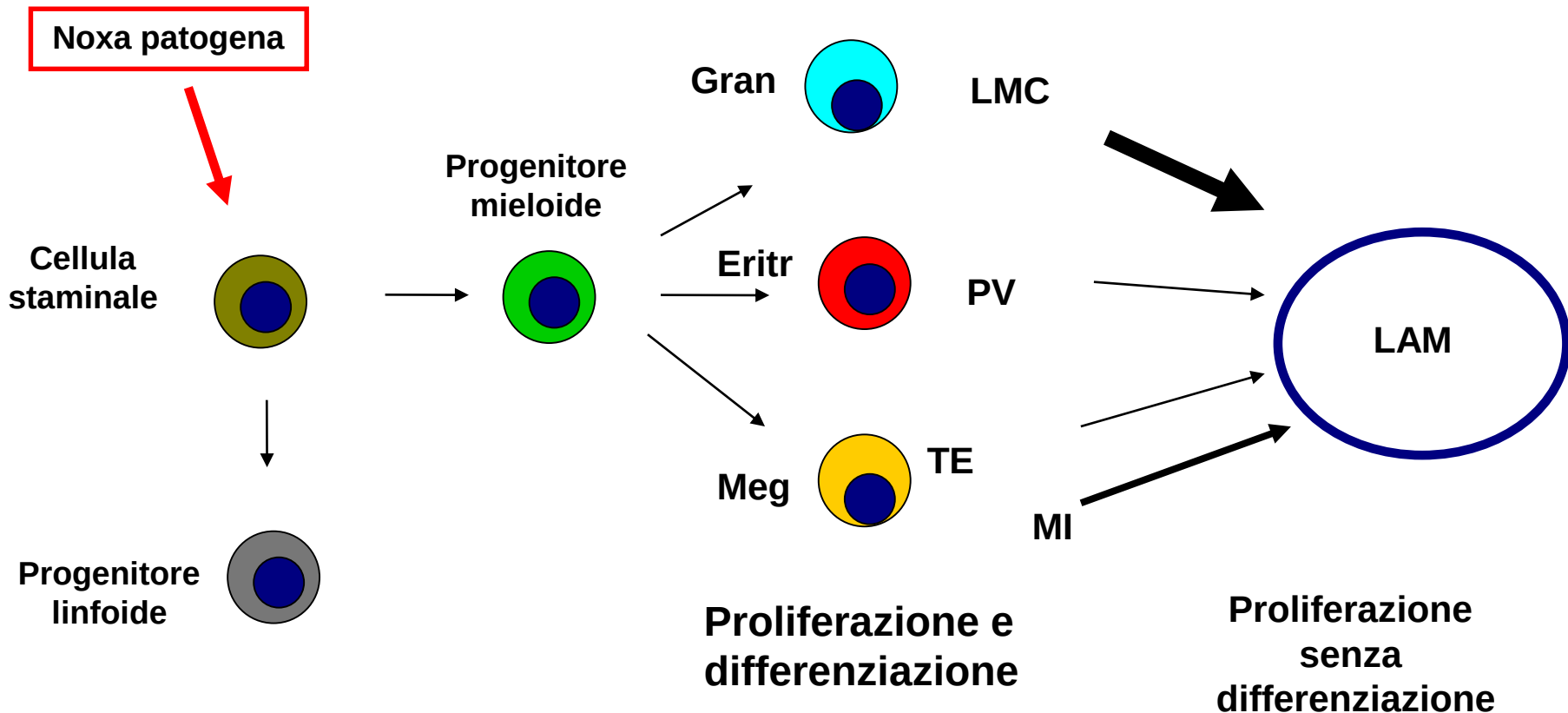
■ Terapia

- Supporto:
 - trasfusioni di GRC e Pst,
 - Antibiotici
 - Fattori di crescita: EPO, G-CSF
 - etc
- Chemioterapia,
- trapianto di midollo (nei giovani)
- Nuovi farmaci biologici
 - Lenalidomide (nella sindrome %q-)
 - Azacitidina (agenti ipometilanti)
 - Terapie immunosoppressive
 - etc

NEOPLASIE MIELOPROLIFERATIVE CRONICHE

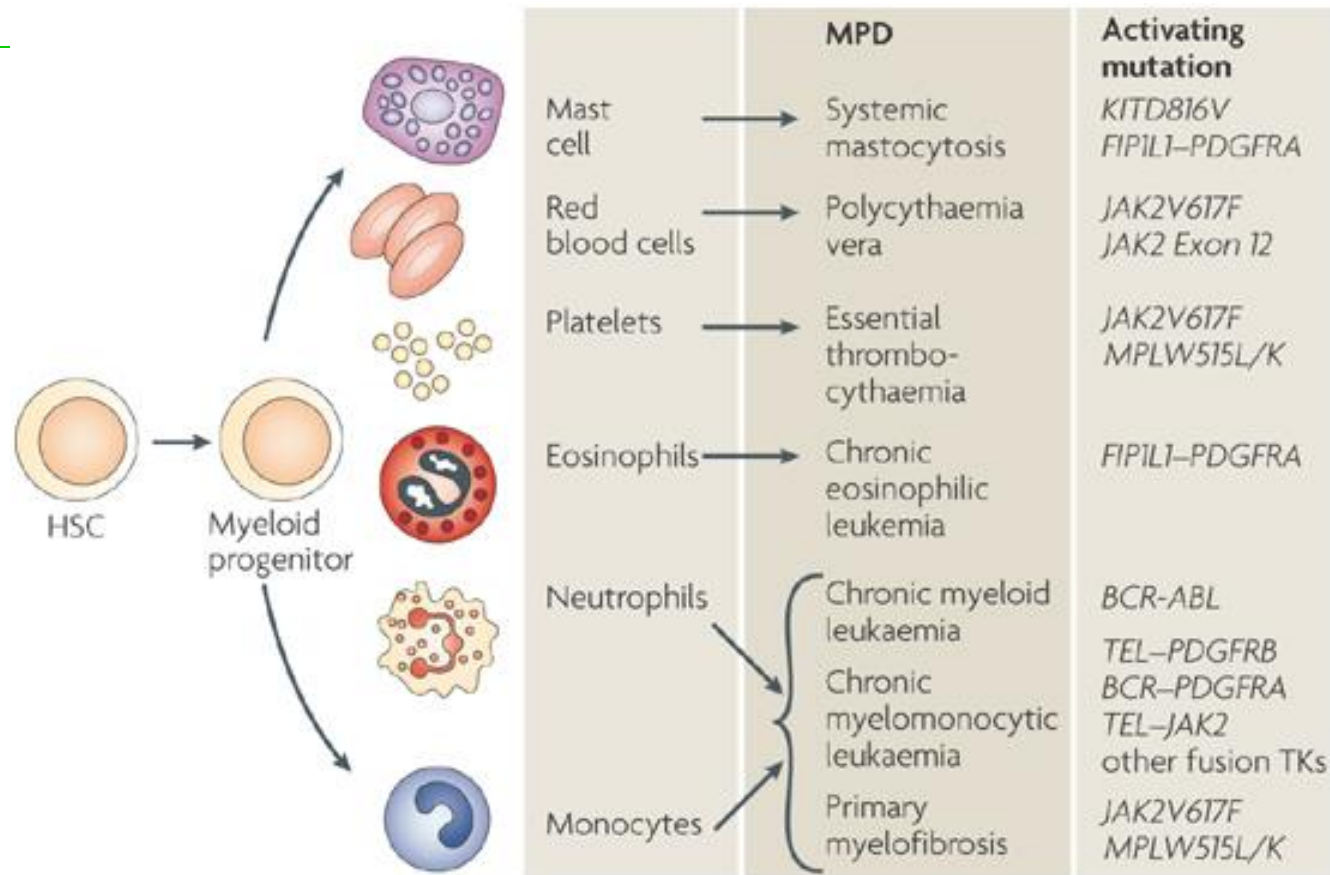
- Disordini clonali della cellula staminale pluripotente caratterizzati dalla proliferazione di uno o più progenitori emopoietici nel midollo osseo
- Classificazione
 - Policitemia vera
 - Leucemia mieloide cronica
 - Trombocitemia essenziale
 - Mielofibrosi idiopatica

SMP: definizione



Varietà di disordini clonali acquisiti della cellula staminale pluripotente, contrassegnati dalla proliferazione clonale di uno o più progenitori emopoietici nel midollo ed in sedi extramidollari

Classification and molecular pathogenesis of the MPD



Nature Reviews | Cancer

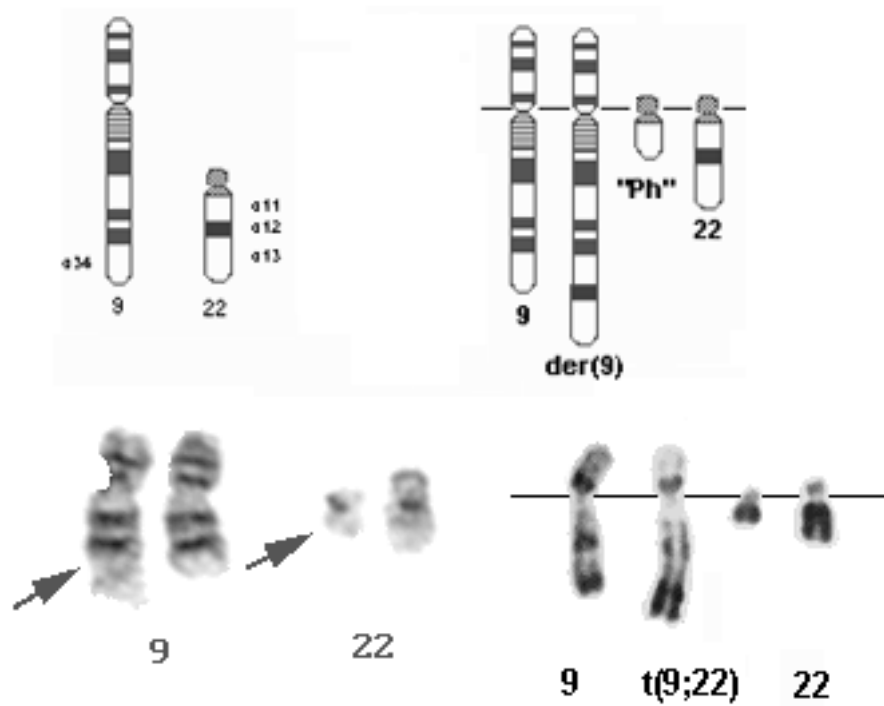
LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA (I)



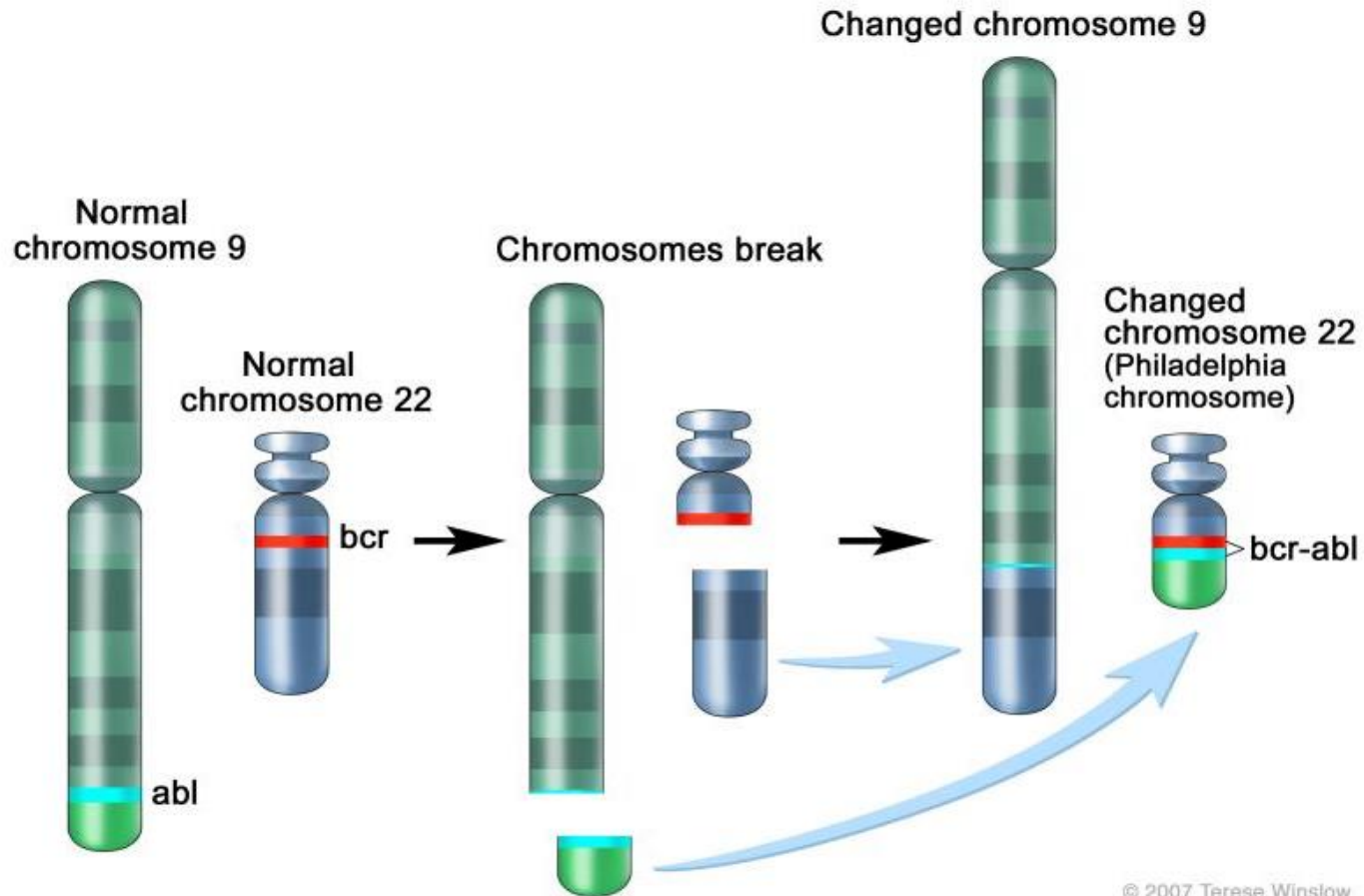
■ Definizione:

- Disordine mieloproliferativo cronico caratterizzato da una prevalente iperplasia della linea granulocitaria.
- Presenza del cromosoma Philadelphia (Ph)

t(9;22)

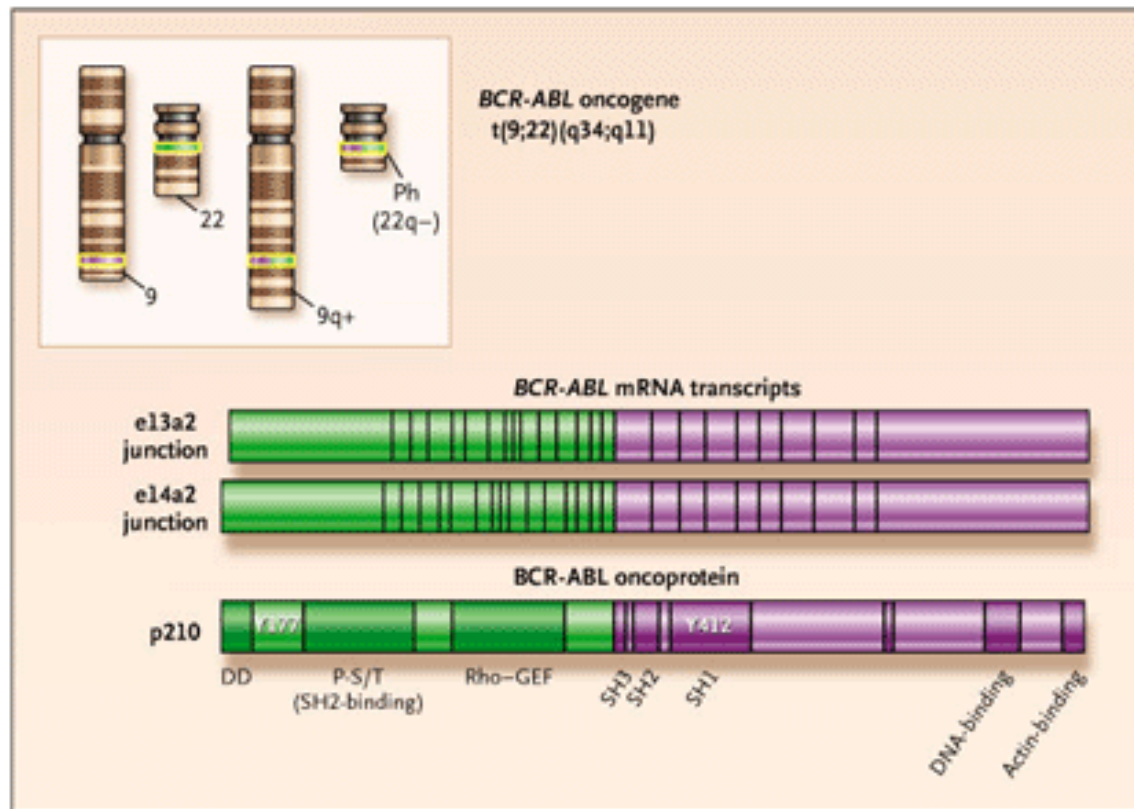


Schematic diagram of the translocation that creates the Philadelphia chromosome.



© 2007 Terese Winslow
U.S. Govt. has certain rights

The t(9;22) translocation and its products

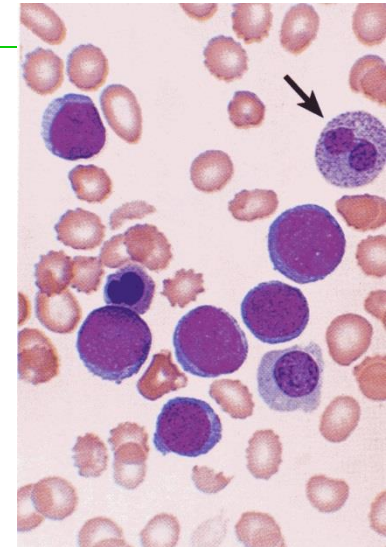
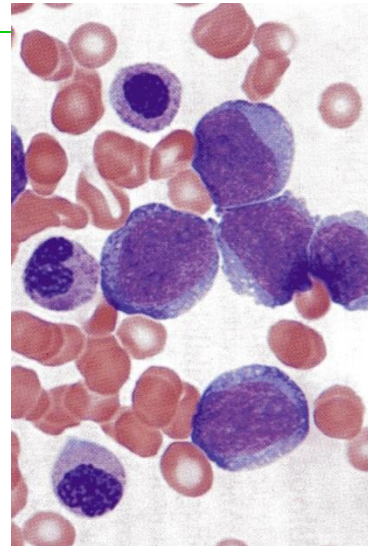
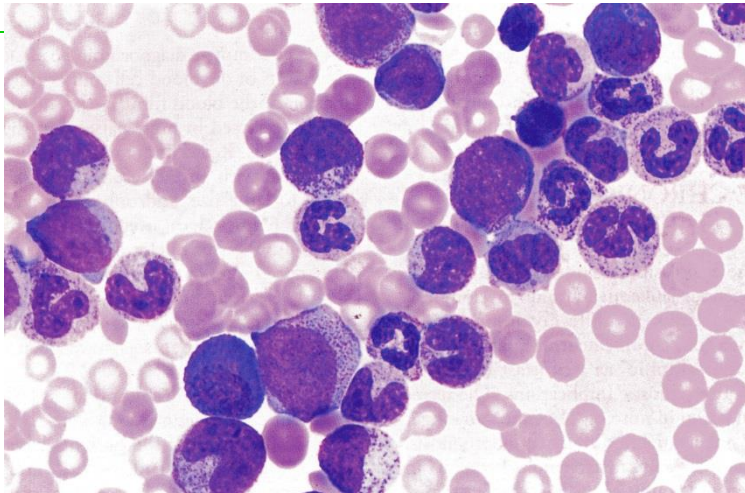


LMC: epidemiologia

- Rappresenta il 15-20% di tutte le leucemie
- Incidenza 1-1,5 casi/100.000 individui anno
- M>F
- Età: quinta decade di vita

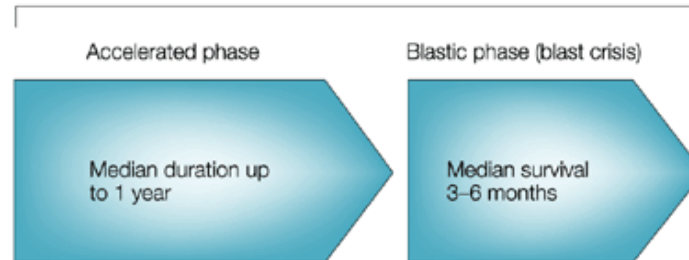
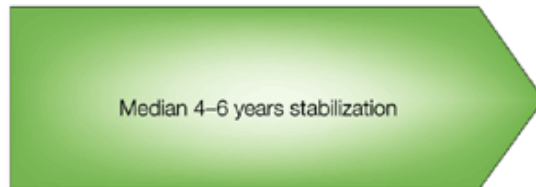


Decorso Clinico della LMC



Chronic phase

Advanced phases



LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

■ Evoluzione:

- Fase cronica:
 - asintomatica per lo più,
 - splenomegalia
- Fase accelerata:
 - febbre,
 - pallore,
 - emorragie,
 - tensione addominale
- Fase blastica: leucemia acuta

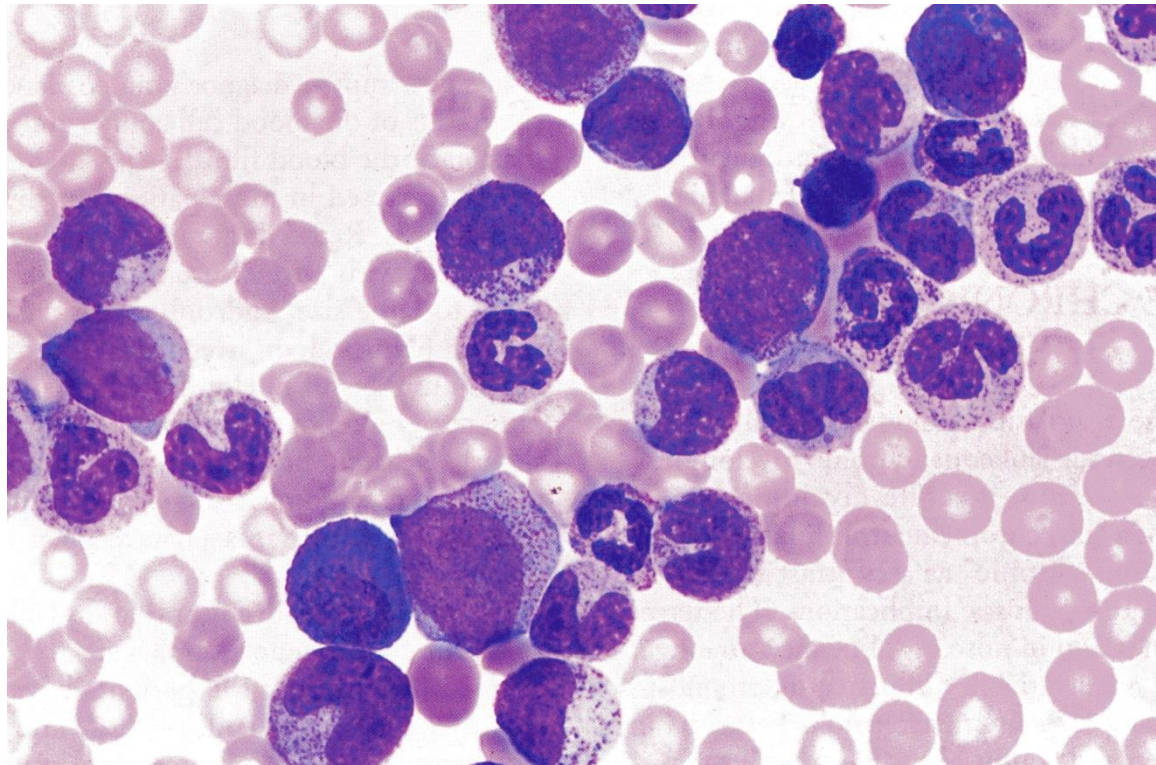
LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA (II)



■ Diagnosi

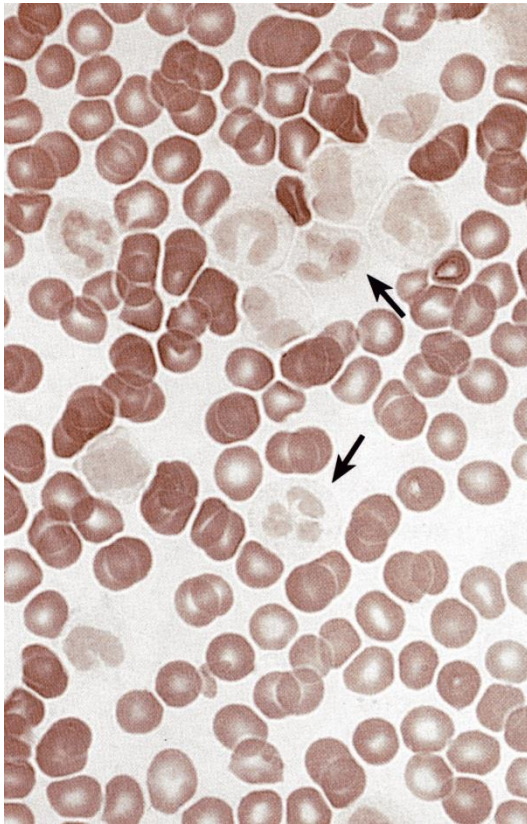
- Leucocitosi
- Splenomegalia
- Midollo ipercellulato
- Presenza del cromosoma Philadelphia

LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA: fase cronica

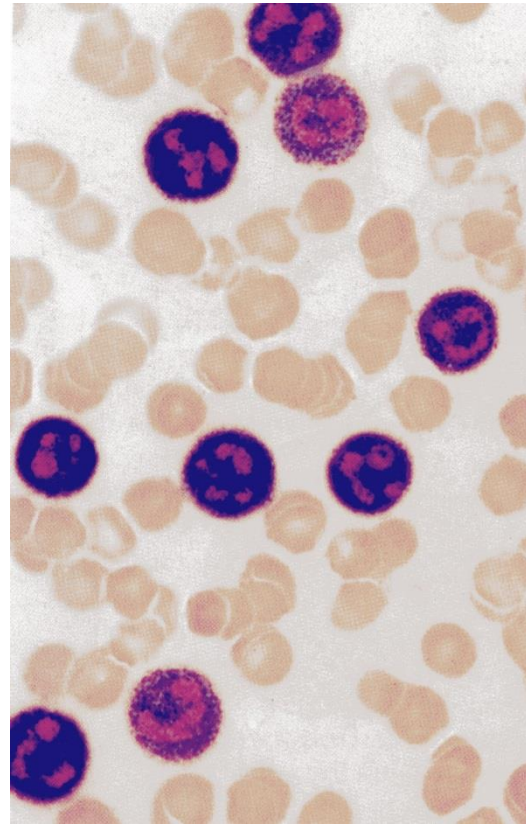


CML: fosfatasi alcalina leucocitaria

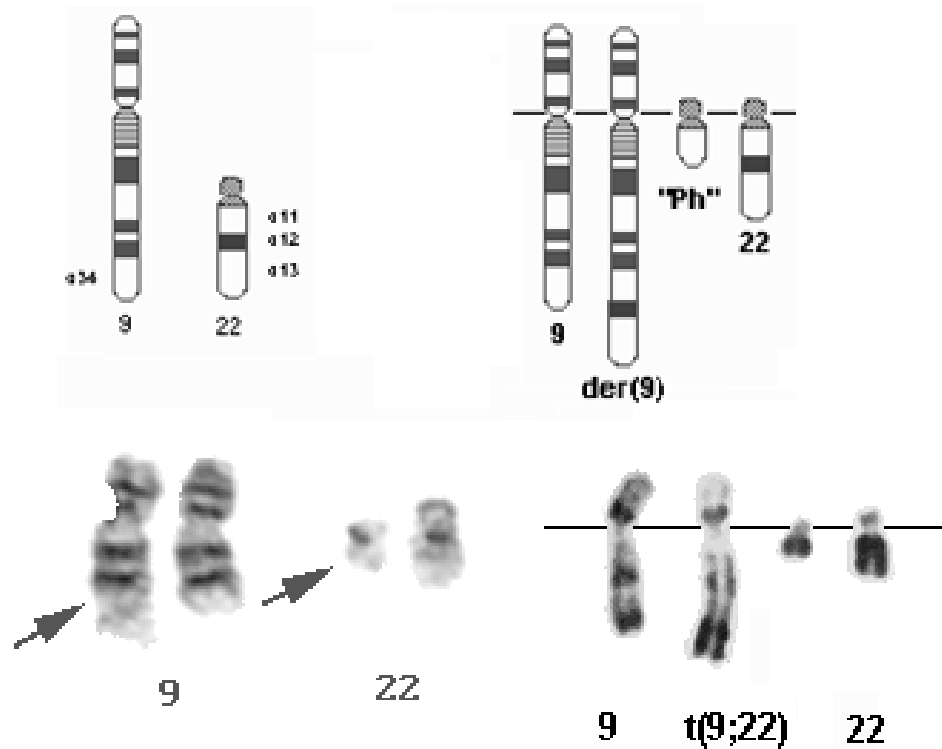
Leucemia
mieloide
cronica



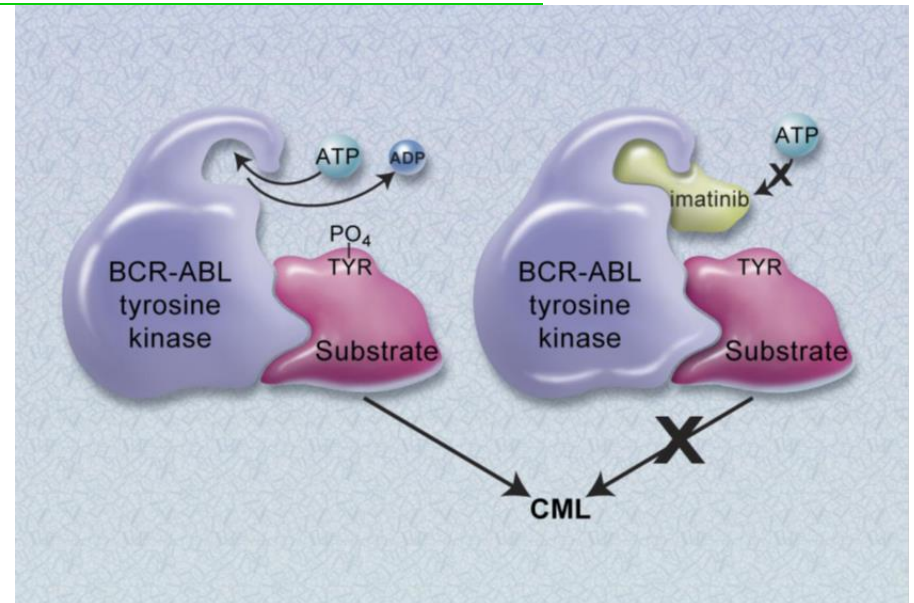
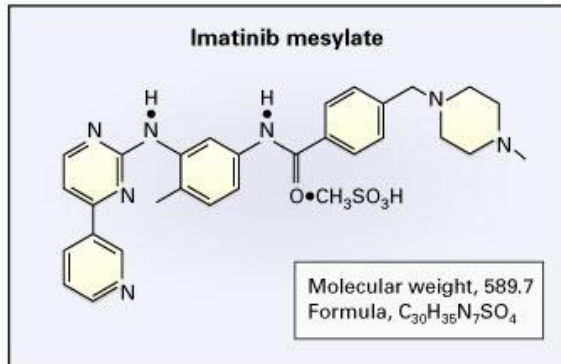
Policitemia
vera



t(9;22): citogenetica

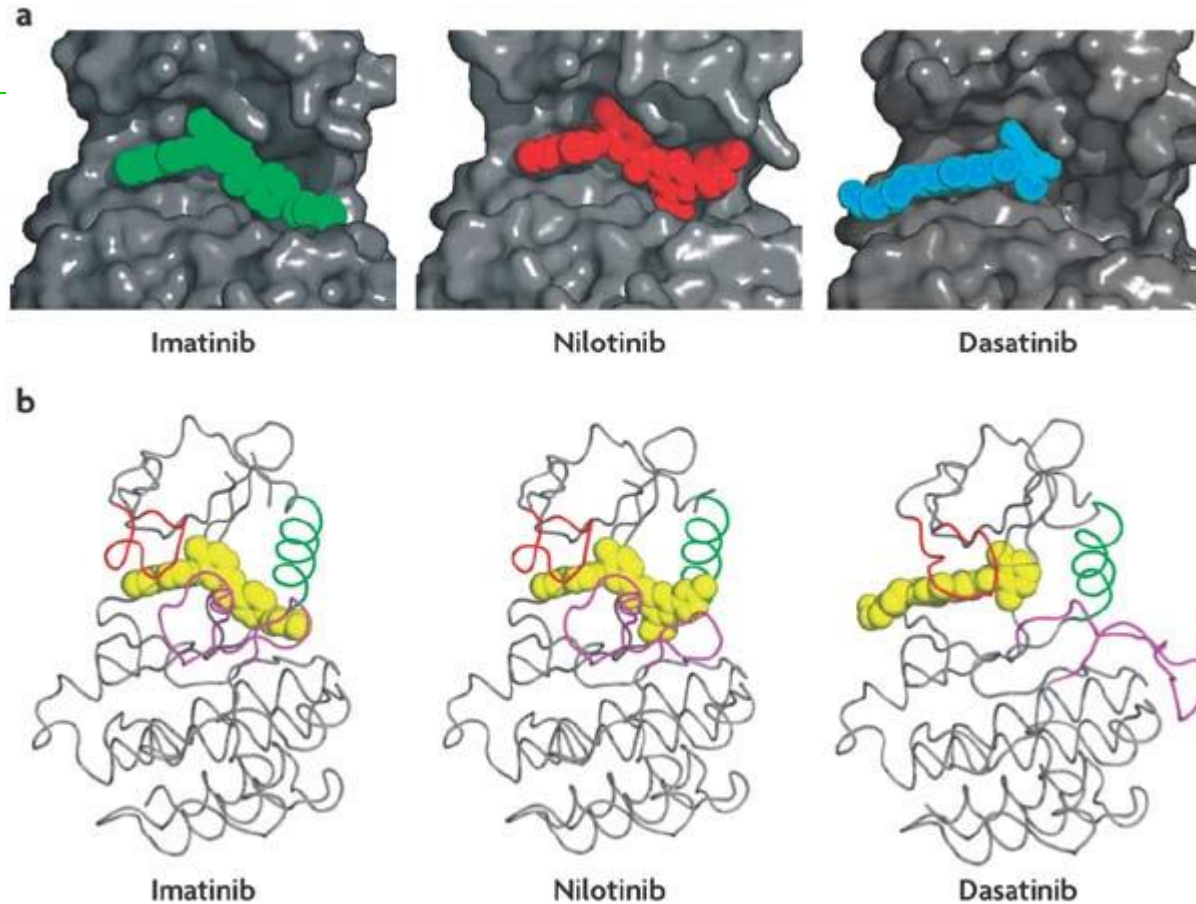


Imatinib Mesylate

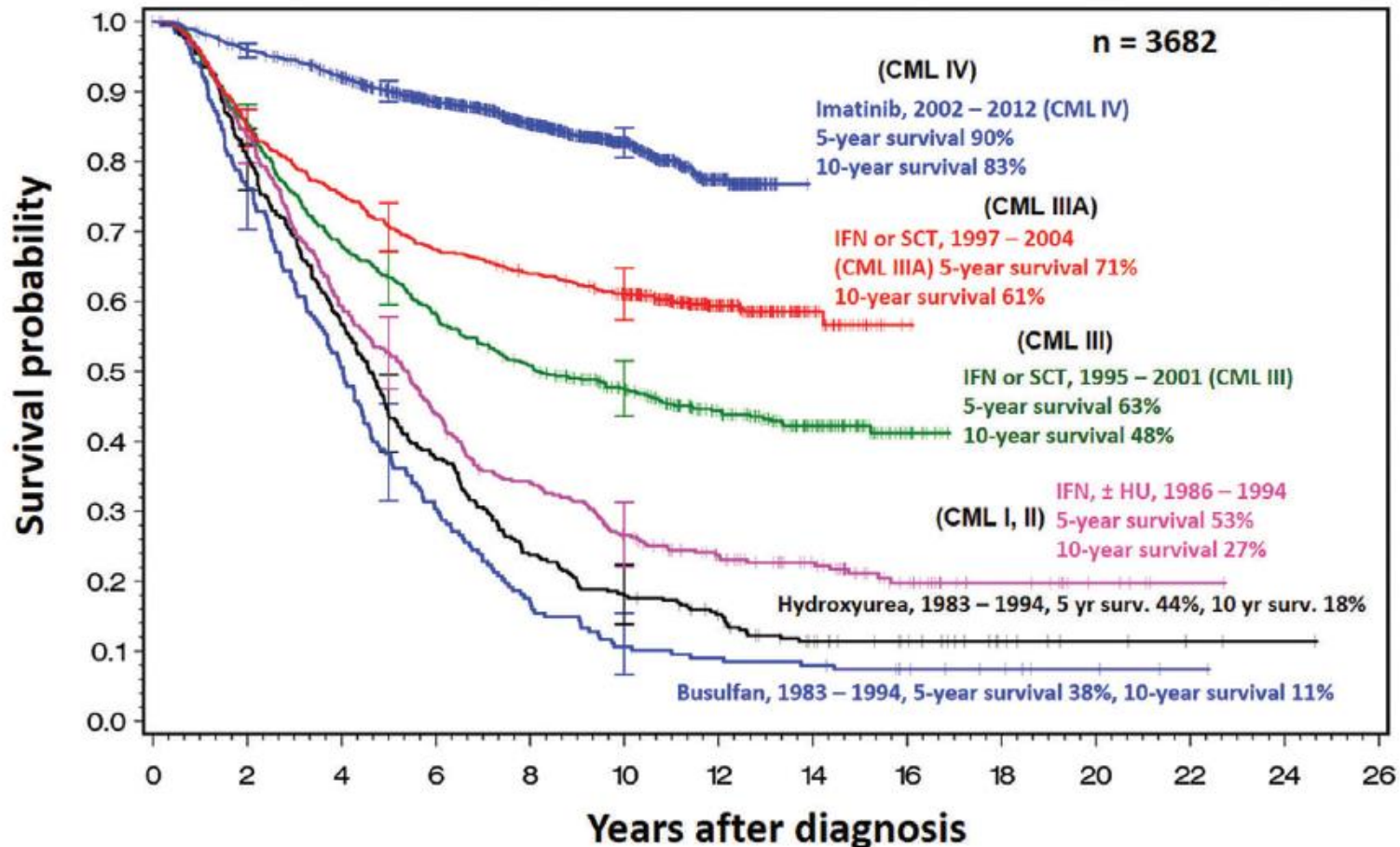


Druker BJ. Blood. 2008;112:4808-4817)

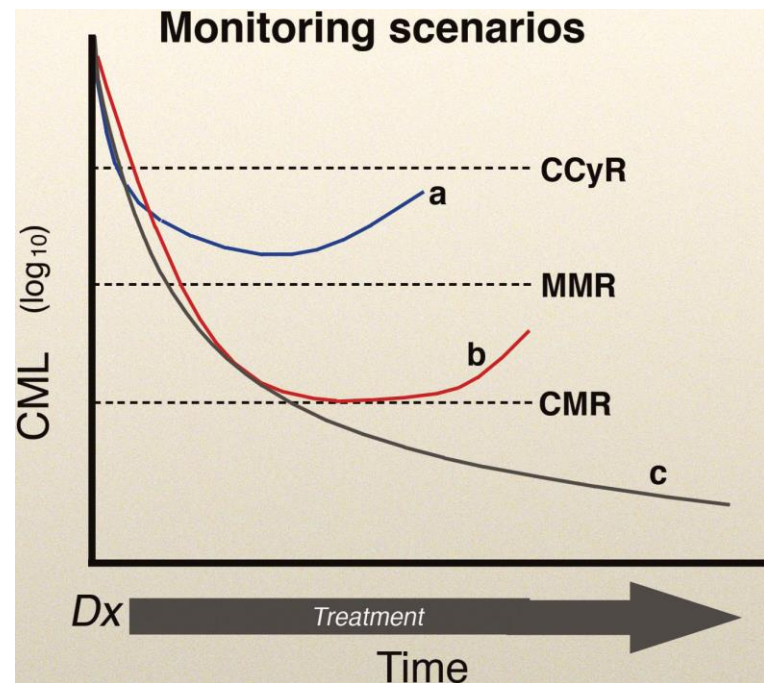
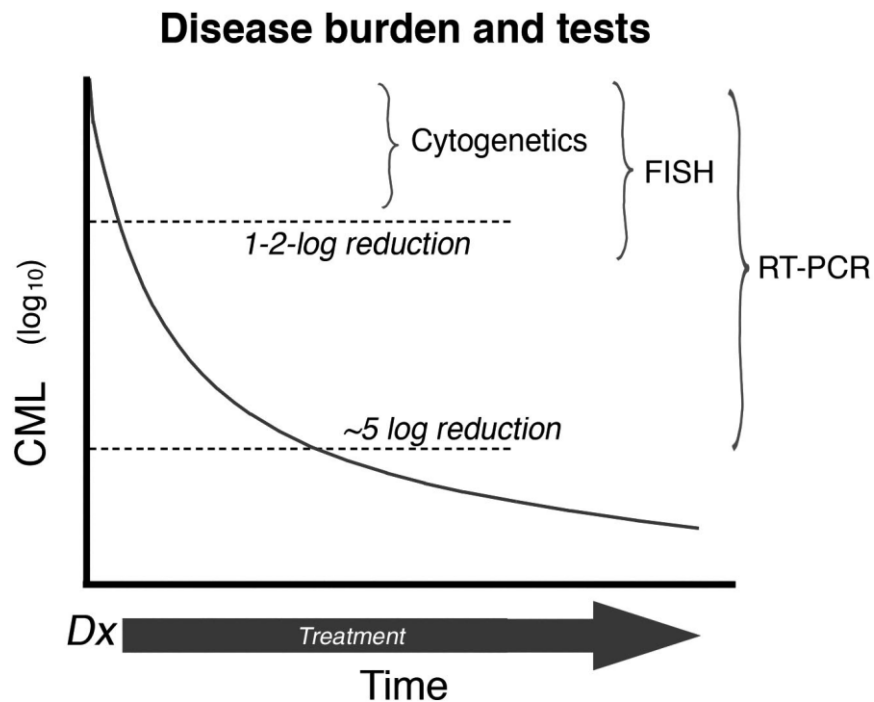
Second generation inhibitors of BCR-ABL for the treatment of imatinib-resistant CML



Survival with CML in five consecutive randomized studies of the German CML Study Group since 1983; update 2016.



Disease burden and tests.



Activity of imatinib mesylate and the second generation tyrosine kinase inhibitors nilotinib and dasatinib against a selection of *BCR-ABL1* mutants found in patients with CML

		Imatinib (nM)	Nilotinib (nM)	Dasatinib (nM)
	Native BCR-ABL1	260	13	0.8
P-loop	M244V	2000	38	1.3
	G250E	1350	48	1.8
	Q252H	1325	70	3.4
	Y253H	>6400	450	1.3
	Y253F	3475	125	1.4
	E255K	5200	200	5.6
	E255V	>6400	430	11
	V299L	540	NA	18
ATP binding site	F311L	480	23	1.3
	T315I	>6400	>2000	>200
	T315A	971	61	125
	F317L	1050	50	7.4
	F317V	350	NA	53
Catalytic domain	M351T	880	15	1.1
	E355G	2300	NA	1.8
	F359V	1825	175	2.2
	V379I	1630	51	0.8
	L387M	1000	49	2
A-loop	H396R	1750	41	1.3
	H396P	850	41	0.6

High sensitivity

Intermediate sensitivity

High insensitivity

Policitemia Vera (PV)



■ Definizione

- Malattia neoplastica derivata dall'espansione clonale della cellula staminale trasformata e caratterizzata soprattutto da incremento della massa eritrocitaria.

■ Epidemiologia

- Incidenza in Europa: 8-10 casi/1,000,000 per anno (2 in Giappone, 13 in Australia)

Policitemia Vera: clinica

- Età media 60 anni,

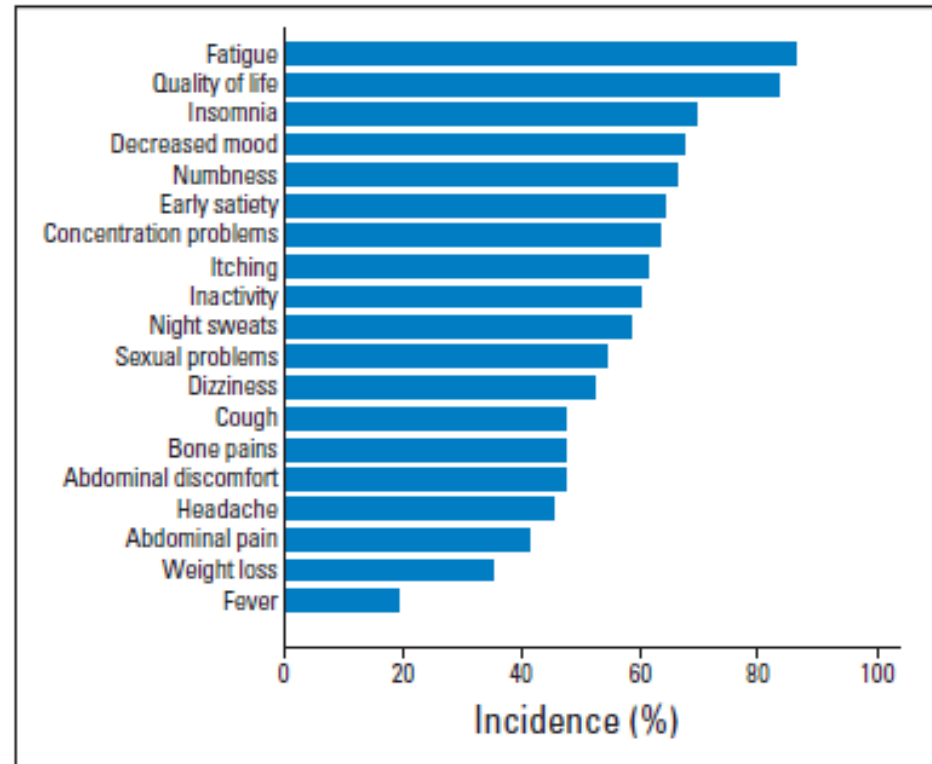
- M/F 2:1

- Esordio

- Asintomatico

- Sintomatico

- Cefalea, acufeni, vertigini, disturbi visivi, (scotomi, diplopia) da iperviscosità ematica
 - Episodi vascolari (trombotici e/o emorragici) di diversa gravità (40% dei casi causa di morte)
 - Prurito
 - Ipertensione
 - rubeosi



Policitemia Vera: decorso

**Fase
asintomatica**

**Leucemia
acuta**

**Fase
eritrocitica**

**Metaplasia
mieloide**

**Fase
spenta**

Eritrocitosi
Leucocitosi
Piastrinosi
Splenomegalia
Trombosi
Emorragie
Prurito

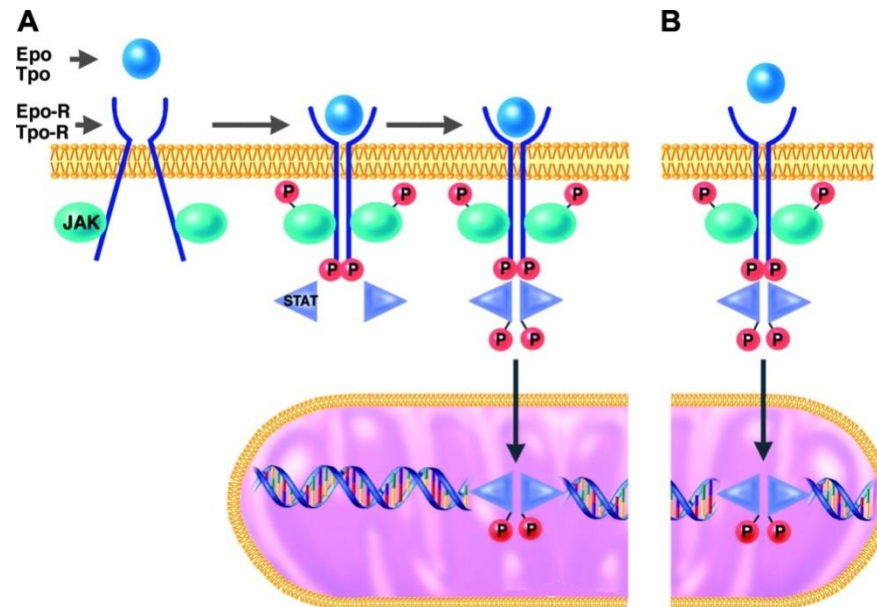
Parametri ematologici stabili
Nessuna terapia

Anemia
Leucocitosi
Piastrinosi o
piastrinopenia
Splenomegalia
Febbre
Calo ponderale

POLICITEMIA VERA

■ Patogenesi

- Proliferazione incontrollata della cellula staminale per mutazione del gene JAK2



POLICITEMIA VERA

■ Diagnosi:

■ Escludere eritrocitosi secondarie

- Determinazione della massa ematica, normale saturazione di O₂, splenomegalia, piastrinosi, leucocitosi, EPO diminuita
- Positività di JAK2 (95% dei casi)

■ Terapia

- Salassi
- Idrossiurea, interferone
- Antiaggreganti

Risk stratification in polycythemia vera based on thrombotic risk

Risk category	Age > 65 yrs or history of thrombosis	Cardiovascular risk factors*
Low	No	No
Intermediate	No	Yes
High	Yes	

***Hypertension, hypercholesterolemia, diabetes, smoking, congestive heart failure**

Trombocitemia essenziale



■ Definizione

- Disordine clonale mieloproliferativo cronico caratterizzato da trombocitosi (pst > 450.000 μ L) con iperplasia megacariocitaria nel midollo.

■ Incidenza

- 1-2.5 casi 100.000 individui anno
- Età: media 50 anni (range 40-70), M=F

TE: clinica

■ Esordio

- Asintomatico
- Manifestazioni trombotiche arteriose e venose (1/3 dei casi)
 - Distretti mesenterico, renale, portale, splenico
- Manifestazioni emorragiche cutanee e mucose
 - Ematemesi e melena
 - S. di von Willebrand acquisita (Plt > 1.000.000 μ L)
- Manifestazioni neurologiche
 - Cefalea, parestesie, instabilità microcircolo piedi e mani (eritromelalgia), eritema e dolore urente alle estremità
- Splenomegalia
- Aborti in gravidanza

TROMBOCITEMIA ESSENZIALE

■ Diagnosi

- Trombocitosi > 450.000 uL
- Iperplasia megacariocitaria midollare
- Escludere forme secondarie (vedi piastrinosi)
- JAK2 (circa 50% dei casi)

■ Terapia

- antiaggreganti
- Citoriduttiva: Idrossiurea, anagrelide

MIELOFIBROSI IDIOPATICA

- Definizione

- Malattia clonale mieloproliferativa con fibrosi midollare e splenomegalia. Evoluzione in leucemia acuta 10-15%.

- Sintomatologia

- Astenia, dispnea, tensione addominale (splenomegalia), dolori in ipocondrio sinistro (infarti splenici)

- Diagnosi

- Anemia, leucocitosi o leucopenia, piastrinosi o piastrinopenia

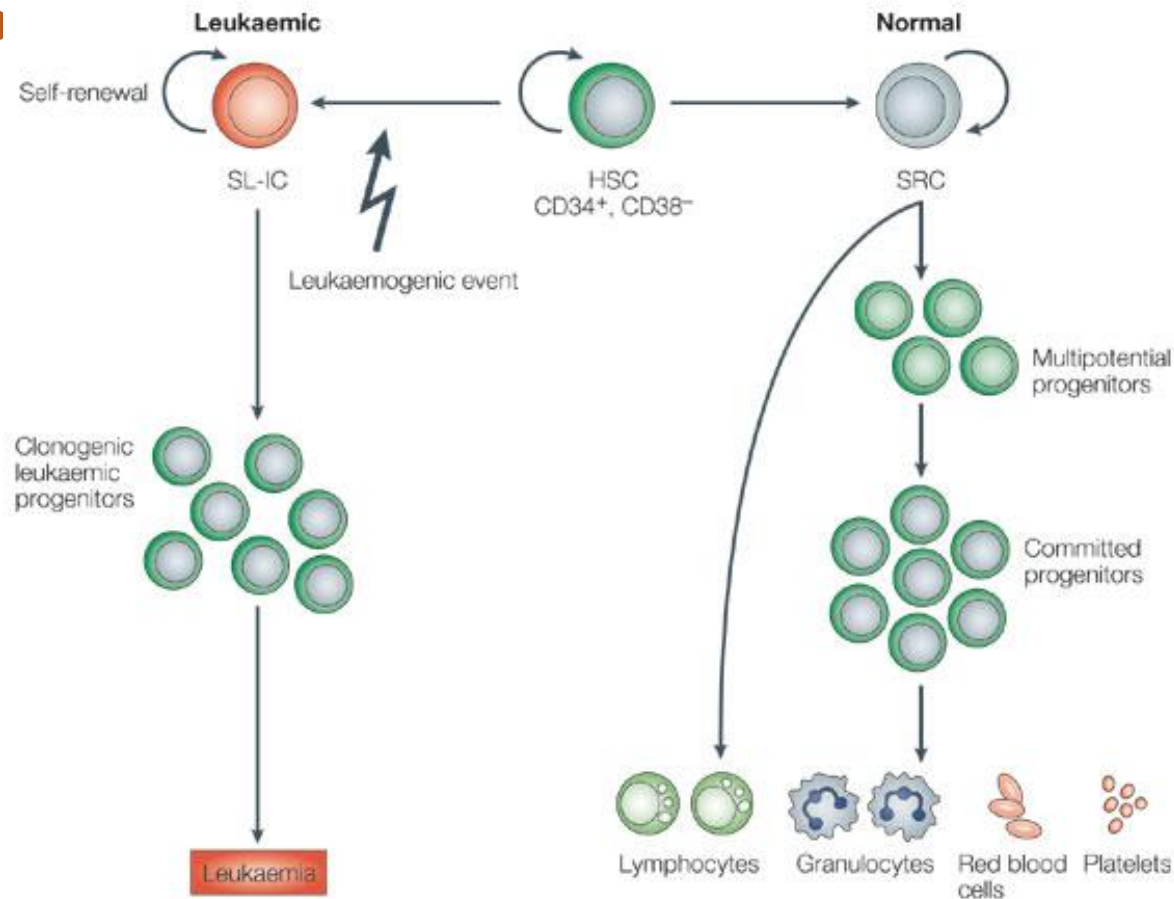
- Terapia

- Idrossiurea, splenectomia, trapianto, ruxolitinib

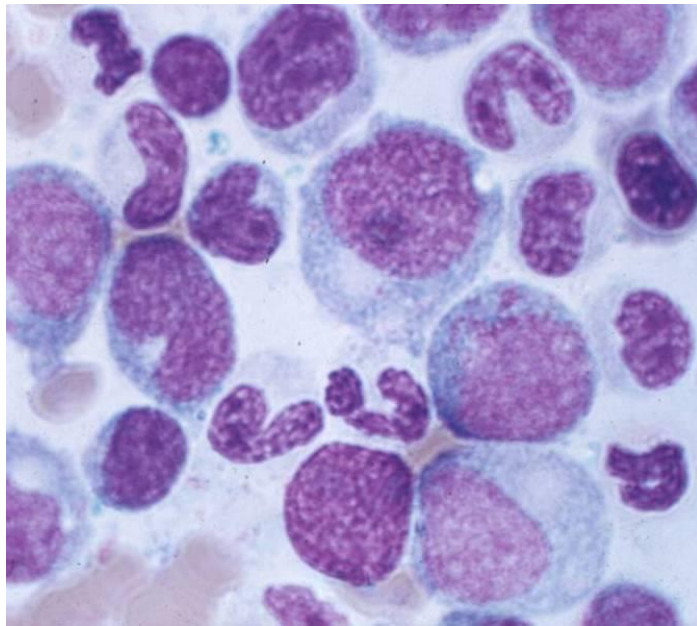
LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA

- Malattia neoplastica derivante da un blocco maturativo che interessa la cellula staminale emopoietica orientata in senso mieloide
- Proliferazione incontrollata delle cellule blastiche che occupano completamente il tessuto midollare sostituendosi alle normali filiere emopoietiche
- Sintomi legati all'insufficienza midollare che ne deriva: anemia, neutropenia, piastrinopenia

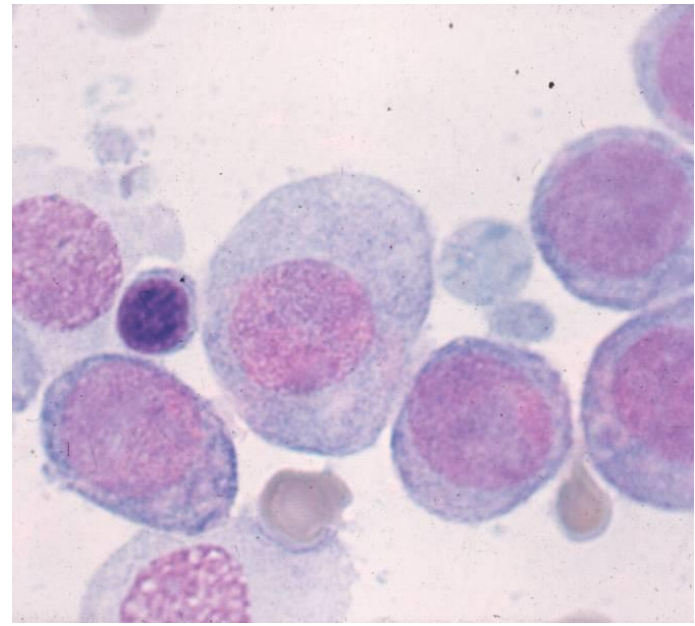
Leucemia mieloide acuta



Leucemia acuta mieloide



AML-M2



AML-M5

LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA

Acute myeloid leukemia (AML) and related neoplasms

AML with recurrent genetic abnormalities

AML with t(8;21)(q22;q22.1);*RUNX1-RUNX1T1*

AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22);*CBFB-MYH11*

APL with *PML-RARA*

AML with t(9;11)(p21.3;q23.3);*MLLT3-KMT2A*

AML with t(6;9)(p23;q34.1);*DEK-NUP214*

AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2, MECOM*

AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3);*RBM15-MKL1*

Provisional entity: AML with BCR-ABL1

AML with mutated *NPM1*

AML with biallelic mutations of *CEBPA*

Provisional entity: AML with mutated RUNX1

AML with myelodysplasia-related changes

Therapy-related myeloid neoplasms

AML, NOS

AML with minimal differentiation

AML without maturation

AML with maturation

Acute myelomonocytic leukemia

Acute monoblastic/monocytic leukemia

Pure erythroid leukemia

Acute megakaryoblastic leukemia

Acute basophilic leukemia

Acute panmyelosis with myelofibrosis

Myeloid sarcoma

Myeloid proliferations related to Down syndrome

Transient abnormal myelopoiesis (TAM)

Myeloid leukemia associated with Down syndrome

■ Classificazione basata su

- Morfologia delle cellule leucemiche
- Anomalie cromosomiche e molecolari

LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA

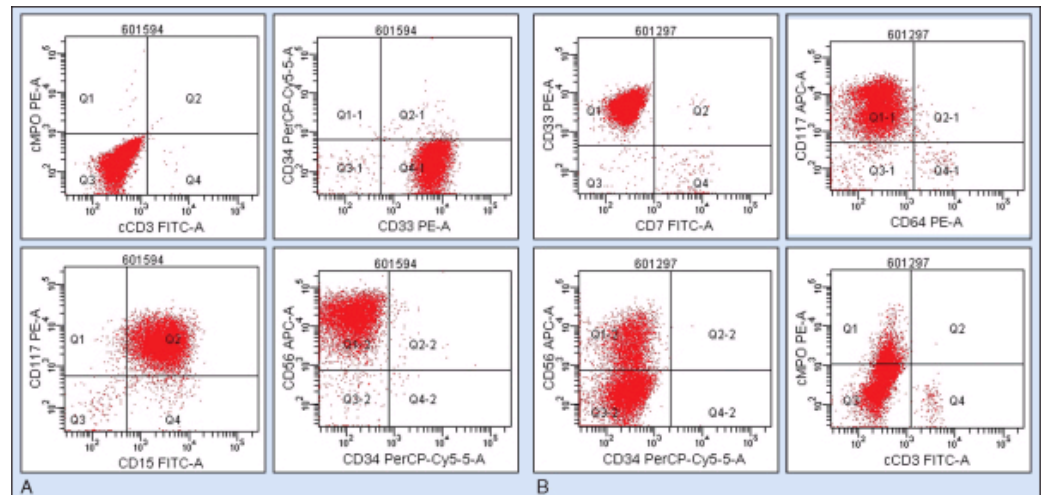
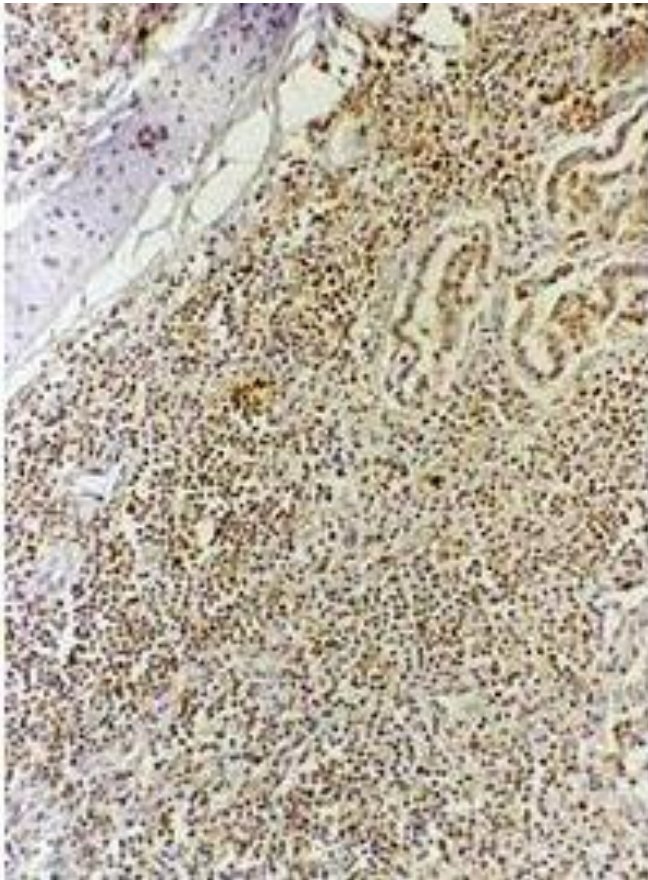
■ Sintomatologia

- Pallore, astenia, affaticabilità, dispnea (anemia)
- Infezioni (neutropenia)
- Emorragie (piastrinopenia)

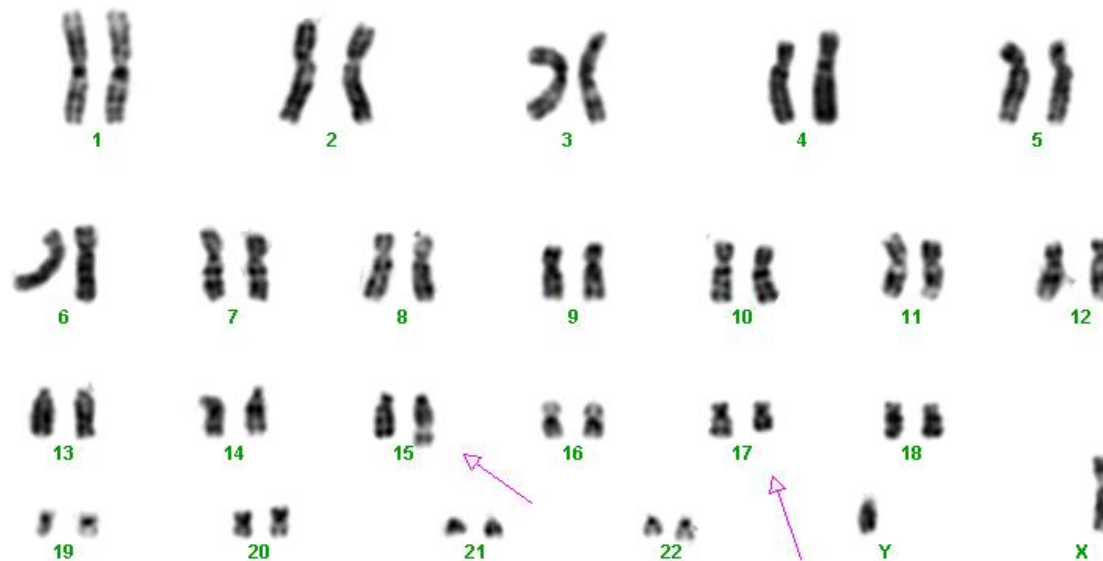
■ Diagnosi

- Emocromo,
- esame del midollo
 - Analisi citochimiche,
 - immunofenotipiche
 - citogenetiche (anomalie cromosomiche)
 - Alterazioni molecolari

Mieloperossidasi



t(15;17)



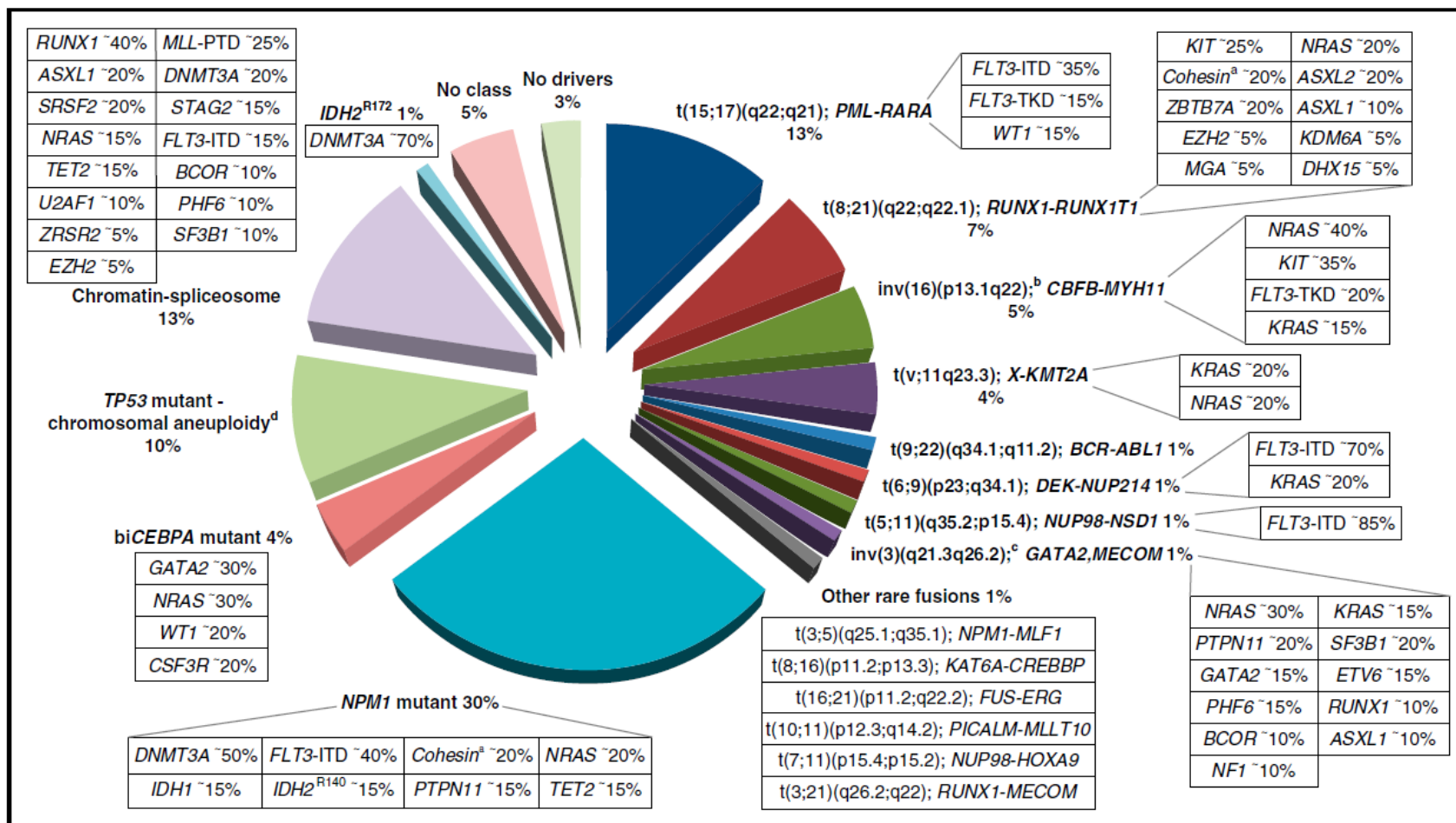


Figure 1. Molecular classes of AML and concurrent gene mutations in adult patients up to the age of ~65 years. Class definition is based on the study by Papaemmanuil et al.³⁷ For each AML class denoted in the pie chart, frequent co-occurring mutations are shown in the respective boxes. Data on the frequency of genetic lesions are compiled from the databases of the British Medical Research Council (MRC), the German-Austrian AML Study Group (AML SG), and from selected studies.^{37,87,88,299} ^a indicates cohesin genes including *RAD21* (~10%), *SMC1A* (~5%), and *SMC3* (~5%); ^b, *inv*(16)(p13.1q22) or *t*(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*; ^c, *inv*(3)(q21.3q26.2) or *t*(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2,MECOM*(*EVI1*); and ^d, *TP53* mutations are found in ~45%, and complex karyotypes in ~70% of this class. The structure of the pie chart is adapted from Grimwade et al,⁵⁰ generated by Adam Ivey (King's College London, London, United Kingdom).

Table 5. 2017 ELN risk stratification by genetics

Risk category*	Genetic abnormality
Favorable	t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Mutated <i>NPM1</i> without <i>FLT3</i>-ITD or with <i>FLT3</i>-ITD^{low}† Biallelic mutated <i>CEBPA</i>
Intermediate	Mutated <i>NPM1</i> and <i>FLT3</i>-ITD^{high}† Wild-type <i>NPM1</i> without <i>FLT3</i>-ITD or with <i>FLT3</i>-ITD^{low}† (without adverse-risk genetic lesions) t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i>‡ Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2,MECOM(EVI1)</i> −5 or del(5q); −7; −17/abn(17p) Complex karyotype,§ monosomal karyotypell Wild-type <i>NPM1</i> and <i>FLT3</i>-ITD^{high}† Mutated <i>RUNX1</i>¶ Mutated <i>ASXL1</i>¶ Mutated <i>TP53</i>#

LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA

- Terapia (varia in base al rischio)
 - Chemioterapia:
 - induzione, consolidamento
 - Acido retinoico e arsenico triossido (M3)
 - Trapianto autologo o allogenico
- Fattori prognostici
 - Citogenetica (M3 promielocitica buona prognosi)
 - Lesione molecolare
 - Età e LDH
 - Risposta precoce alla terapia

DISORDINI LINFOPROLIFERATIVI CRONICI

- Disordini neoplastici ad andamento cronico o subacuto caratterizzati dall'espansione di un clone linfocitario relativamente maturo
- In tempi recenti la disponibilità di metodi immunologici e di biologia molecolare ne ha permesso una classificazione sempre più precisa

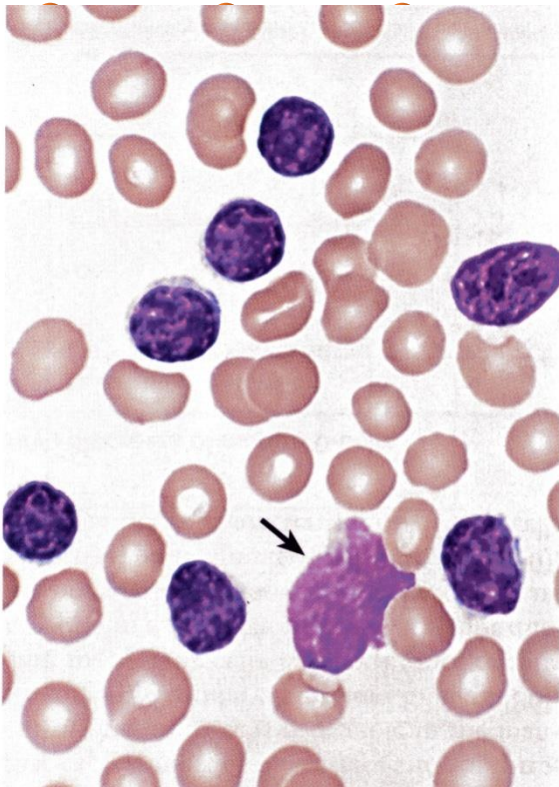
CLASSIFICAZIONE

- Proliferazioni a cellule B
 - Leucemia linfatica cronica
 - Leucemia prolinfocitica B
 - Leucemia a cellule capellute
 - Leucemia plasmacellulare
 - Linfomi leucemizzati
- Proliferazioni a cellule T
 - Leucemia prolinfocitica T
 - Leucemia a grandi linfociti granulari
 - Sindrome di Sezary
 - Linfomi leucemizzati

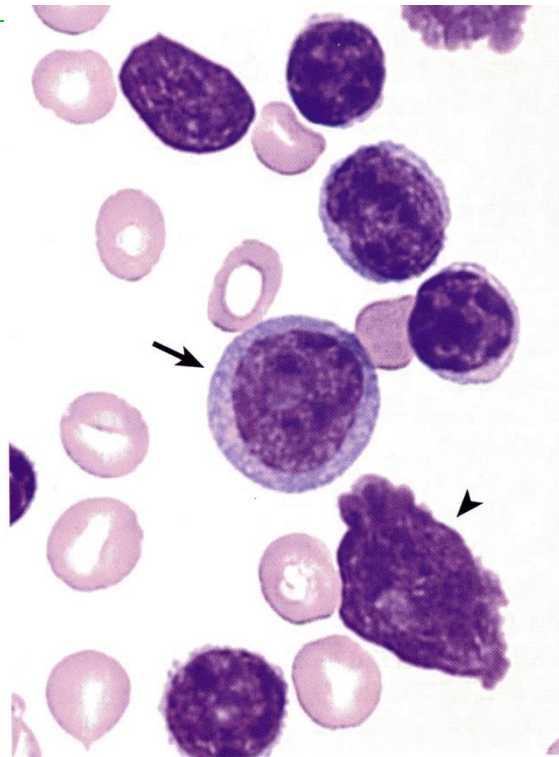
LEUCEMIA LINFATICA CRONICA

- Proliferazione neoplastica di piccoli linfociti maturi che si accumulano nel sangue periferico, nel midollo osseo, nella milza, nel fegato e nei linfonodi
- È la forma di leucemia più frequente nel mondo occidentale
- Colpisce soggetti in età avanzata (60-70 anni), rapporto M:F 2:1

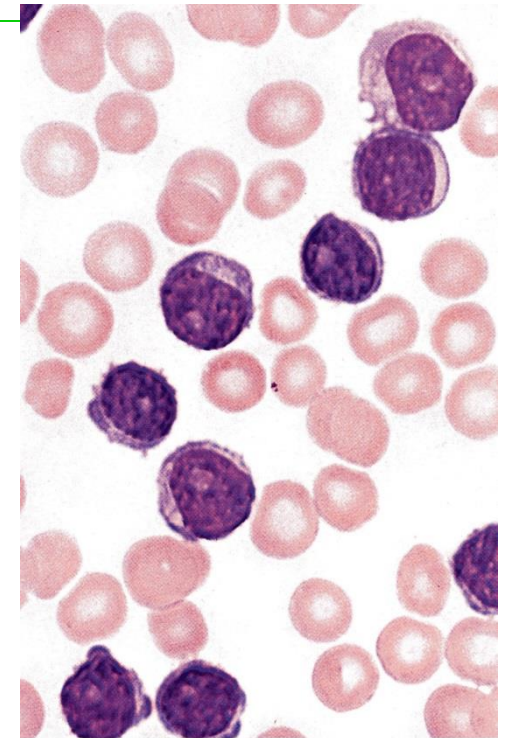
CLL: morfologia



Typical CLL



Atypical CLL



PLL

LEUCEMIA LINFATICA CRONICA

■ Sintomatologia

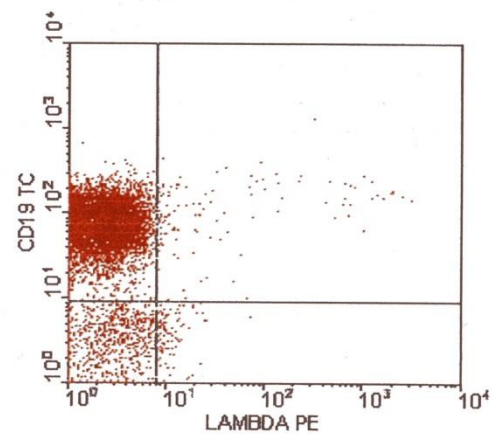
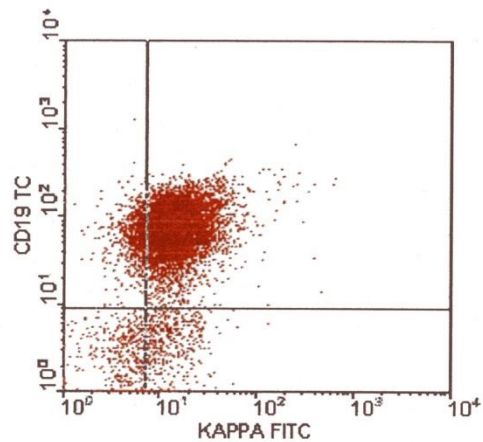
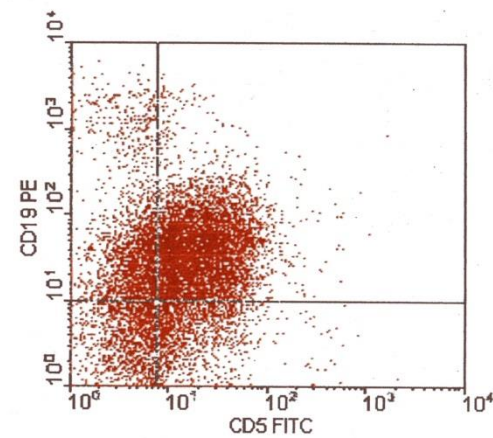
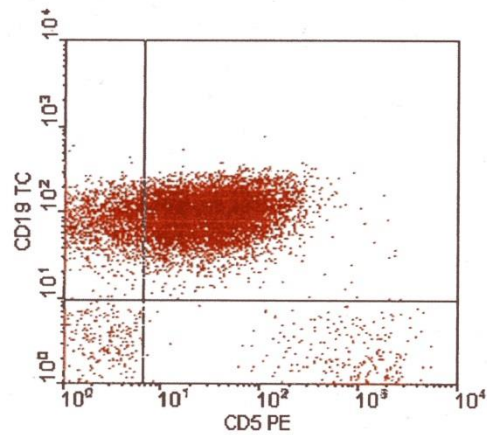
- Assente negli stadi iniziali
- Negli stadi avanzati:
 - Splenomegalia
 - Adenomegalie
 - Anemia ed emorragie per sostituzione midollare
 - Complicanze autoimmuni (anemia e/o piastrinopenia)
 - Complicanze neurologiche
 - Localizzazioni viscerali e cutanee
 - Febbre
 - Calo ponderale

LEUCEMIA LINFATICA CRONICA

■ diagnosi

- Linfocitosi clonale B cellulare
 - Immunofenotipo B: CD19+, CD5+, CD23+
- Anemia e/o piastrinopenia negli stadi avanzati per sostituzione midollare ma anche autoimmune
- Ipogammaglobulinemia o componente monoclonale
- Citogenetica e biologia molecolare per stabilire il rischio

Analisi citofluorimetrica



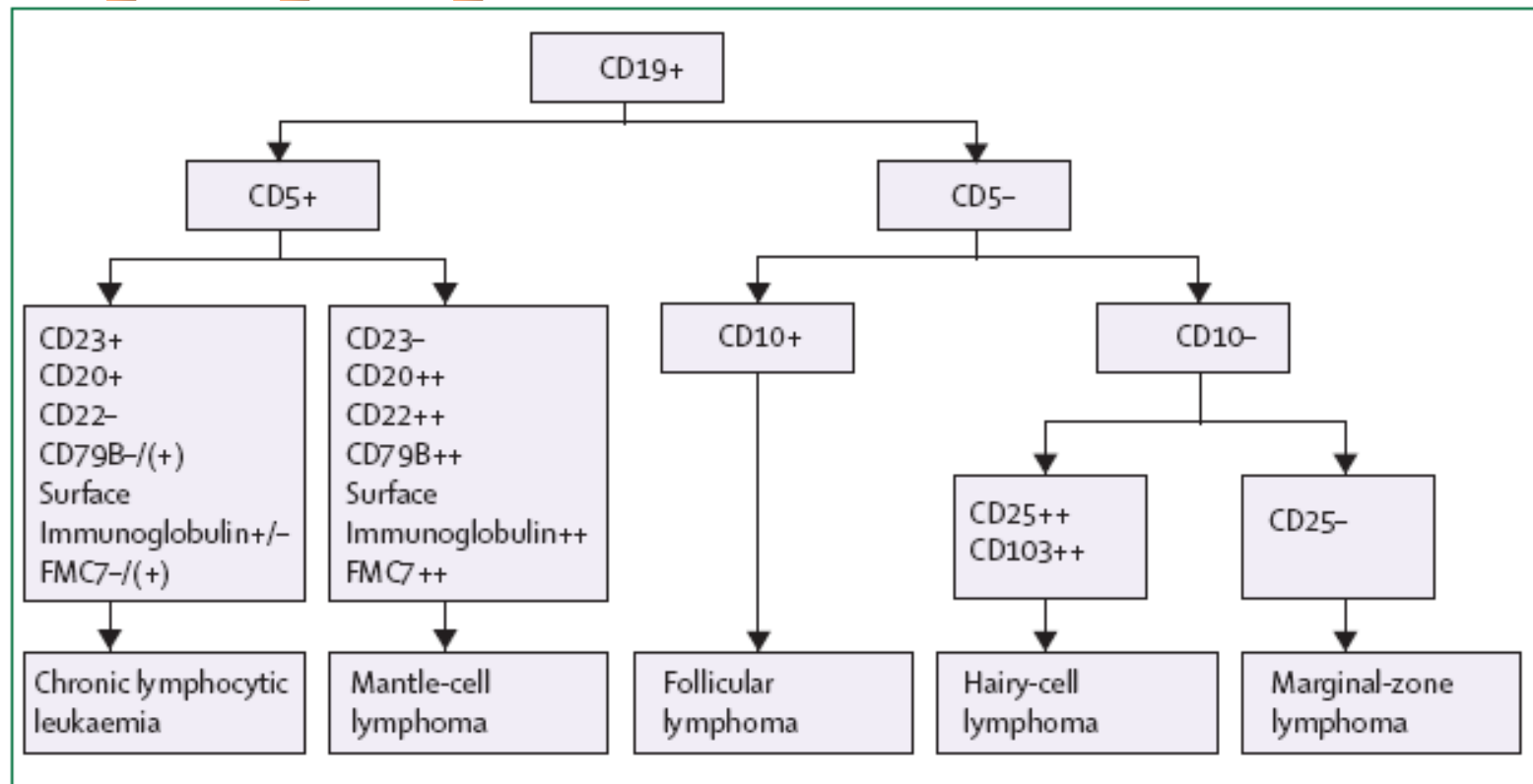


Figure: Differential diagnosis of CD19+ lymphocytosis

Scoring system

Marker	Score points	
	1	0
SmIg	Weak	Strong
CD5	Positive	Negative
CD23	Positive	Negative
FMC7	Negative	Positive
CD22 or CD79b	Weak	Strong

Scores in CLL are usually >3 ,
in other B-cell malignancies the scores are usually < 3

Stadiazione della LLC

Features		% of patients
Binet stage		
A	< 3 lymphoid areas#	60
B	> 3 lymphoid areas	30
C	Hb < 10.0 g/dL or Plt < 100 x 10⁹/L	10
Rai stage		
0°	Lymphocytosis only	30
I°	Lymphoadenopathy	25
II*	Hepato or splenomegaly +/- lymphoadenopathy	25
III^	Hb < 11.0 g/dL	10
IV^	Plt < 100 x 10⁹/L	10

the 5 lymphoid areas comprise unilateral and bilateral cervical, axillary and inguinal lymphadenopathies, hepatomegaly and splenomegaly

° risk group at low level

* risk group at intermediate level

^ risk group at high level

Sopravvivenza in base allo stadio

Table 1 Rai and Binet staging systems

	Risk group	Criteria	Median survival (months)
<i>Rai stage</i> ^{1,2}			
0	Low	Lymphocytosis ^a	>150
I	Intermediate	Lymphocytosis + lymphadenopathy	101
II	Intermediate	Lymphocytosis + splenomegaly or hepatomegaly	71
III	High	Lymphocytosis + anemia ^b	19
IV	High	Lymphocytosis + thrombocytopenia ^c	19
<i>Binet stage</i> ⁴			
A	Low	<3 nodal sites ^d involved	Not reached
B	Intermediate	≥3 nodal sites involved	84
C	High	Anemia ^e and/or thrombocytopenia ^c	24

^a Absolute lymphocyte count in whole blood >5000/mm³.

^b Hemoglobin <110 g/l, with or without enlargement of lymph nodes, spleen or liver.

^c Platelets <100 × 10⁹/l, with or without anemia or enlargement of lymph nodes, spleen or liver.

^d Five possible nodal sites: axillary, cervical, inguinal, spleen and liver.

^e Hemoglobin <100 g/l, with or without enlargement of lymph nodes, spleen or liver.

Marcatori citogenetici

Table 2 Most common cytogenetic markers in CLL

Chromosomal aberration	Frequency (%) ^a	Median overall survival (months) ^b	Median treatment free survival (months) ^b	Gene involved	Particularity
Deletion 17p13	~10	32	9	p53	Resistance to chemotherapy
Deletion 11q22–23	15–20	79	13	ATM (?)	Extensive lymphadenopathy
Trisomy 12	15–30	114	33	Unknown	—
Deletion 13q14	40–60	133	92	miR15a and miR16-1 (?)	Better prognosis than normal karyotype

^a Based on Refs. [18,90,94–98]

^b Based on Ref. [18]

LEUCEMIA LINFATICA CRONICA

■ Decorso

- La sopravvivenza varia da pochi mesi a decenni
- Morte dovuta a:
 - Età avanzata 60-70%
 - Complicanze infettive 20%
 - Sindrome di Richter o evoluzione prolinfocitica 10%
 - Seconda neoplasia 5%

Indicazioni al trattamento

- Stadío avanzato
- Malattia rapidamente progressiva
- Aumento dei linfociti con tempo di raddoppiamento inferiore ai 6 mesi
- anemia o piastrinopenia da infiltrazione midollare o fenomeni autoimmune che non rispondono agli steroidi

TERAPIA

- Stadio iniziale nessuna terapia
- Fasi avanzate
 - Immuno chemioterapia
 - Fludarabina + ciclofosfamide + Rituximab
 - Bendamustina + Rituximab
 - Clorambucile e rituximab/obinutuzumab
 - Nuovi farmaci biologici
 - Idelalisib, ibrutinib, venetoclax
 - Trapianto di cellule staminali (in casi molto selezionati)

LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA (I)

- È un disordine clonale neoplastico originante da progenitori linfoidei nel midollo, nel timo e nei linfonodi.
- 80% dei casi sono forme B, 20% forme T
- Rappresenta l'80% delle leucemie nel bambino ed il 20% delle leucemie dell'adulto
- Classificazione basata su criteri morfologici, immunofenotipici relativi al livello di differenziazione e citogenetici (impatto prognostico)

LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA (II)

■ Sintomatologia:

- Astenia, pallore, dolori ossei
- Epatosplenomegalia, adenopatie, talora impegno mediastinico
- Interessamento meningeo (7-10% all'esordio)

■ Esami di laboratorio

- Anemia, leucocitosi, piastrinopenia,
- iperuricemia, ipercalcemia

■ Diagnosi:

- emocromo, biopsia midollare, immunofenotipo, analisi citogenetica e biologia molecolare

classificazione

Box. Recommended Immunophenotyping Panel for Diagnostic Assessment of Acute Lymphoblastic Leukemia at Presentation^a

T-Cell

CD1a, CD2, cytoplasmic CD3,^b surface CD3,^b CD4, CD5, CD7, CD8

B-Cell

CD10, CD19,^b CD20, surface CD22, cytoplasmic CD22, cytoplasmic CD79a, cytoplasmic IgM, Pax5^c

Other

CD34, CD38, HLA-DR, terminal deoxynucleotidyl transferase

^a Surface vs cytoplasmic expression is typically done using flow cytometry analysis.

^b Lineage-specific markers. Other markers within each of the T-cell and B-cell categories are considered lineage-associated markers.

^c Pax5 assessment is usually done using immunohistochemical analysis.

Table 1. Cytogenetic and Molecular Abnormalities in Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)

Cytogenetics	Involved Genes	Frequency in Adults, %
Diploid		22
Hyperdiploid		
>51 chromosomes		2-15
Hypodiploid		
<44 chromosomes		5-10
Philadelphia chromosome positive		
t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR-ABL1</i>	15-25
Others		
del(9)(q21-22)	<i>p15, p16</i>	6-30
t(4;11); t(9;11); t(11;19); t(3;11)	<i>MLL</i>	5-10
del(11)(q22-23)	<i>ATM</i>	25-30 ^a
t(12;21)(p12;q22)	<i>TEL-AML1(ETV6-RUNX1)</i>	<1 ^b
t(1;19)	<i>E2A(TCF3)-PBX1</i>	<5
t(17;19)	<i>E2A(TCF3)-HLF</i>	<5
t(1;14)(p32;q11)	<i>TAL1</i>	10-15
t(7;9)(q34;q32)	<i>TAL2</i>	<1
t(10;14)(q24;q11)	<i>HOX11</i>	5-10
t(5;14)(q35;q32)	<i>HOX11L2</i>	1
t(1;14)(p32;q11)	<i>TCR</i>	20-25 ^c
del(13)(q14)	<i>miR15/miR16</i>	<5
t(8;14); t(8;22); t(2;8)	<i>C-MYC</i>	5
+8	Unknown	10-12
del(7p)	Unknown	5-10
del(5q)	Unknown	<2
del(6q); t(6;12)	Unknown	5

Table 1. WHO classification of acute lymphoblastic leukemia^a

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma, not otherwise specified

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma, with recurrent genetic abnormalities

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with hypodiploidy

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with hyperdiploidy

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34;q11.2)[*BCR-ABL1*]

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(v;11q23)[*MLL* rearranged]

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(12;21)(p13;q22)[*ETV6-RUNX1*]

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3)[*TCF3-PBX1*]

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(5;14)(q31;q32)[*IL3-IGH*]

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21)^b

B-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma with translocations involving tyrosine kinases or cytokine receptors ('*BCR-ABL1*–like ALL')^{b,14}

T-cell lymphoblastic leukemia/lymphomas

Early T-cell precursor lymphoblastic leukemia^b

Abbreviations: ALL, acute lymphoblastic leukemia; WHO, World Health Organization. ^aOn the basis of The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia.²³ ^bProvisional entity.

LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA (III)

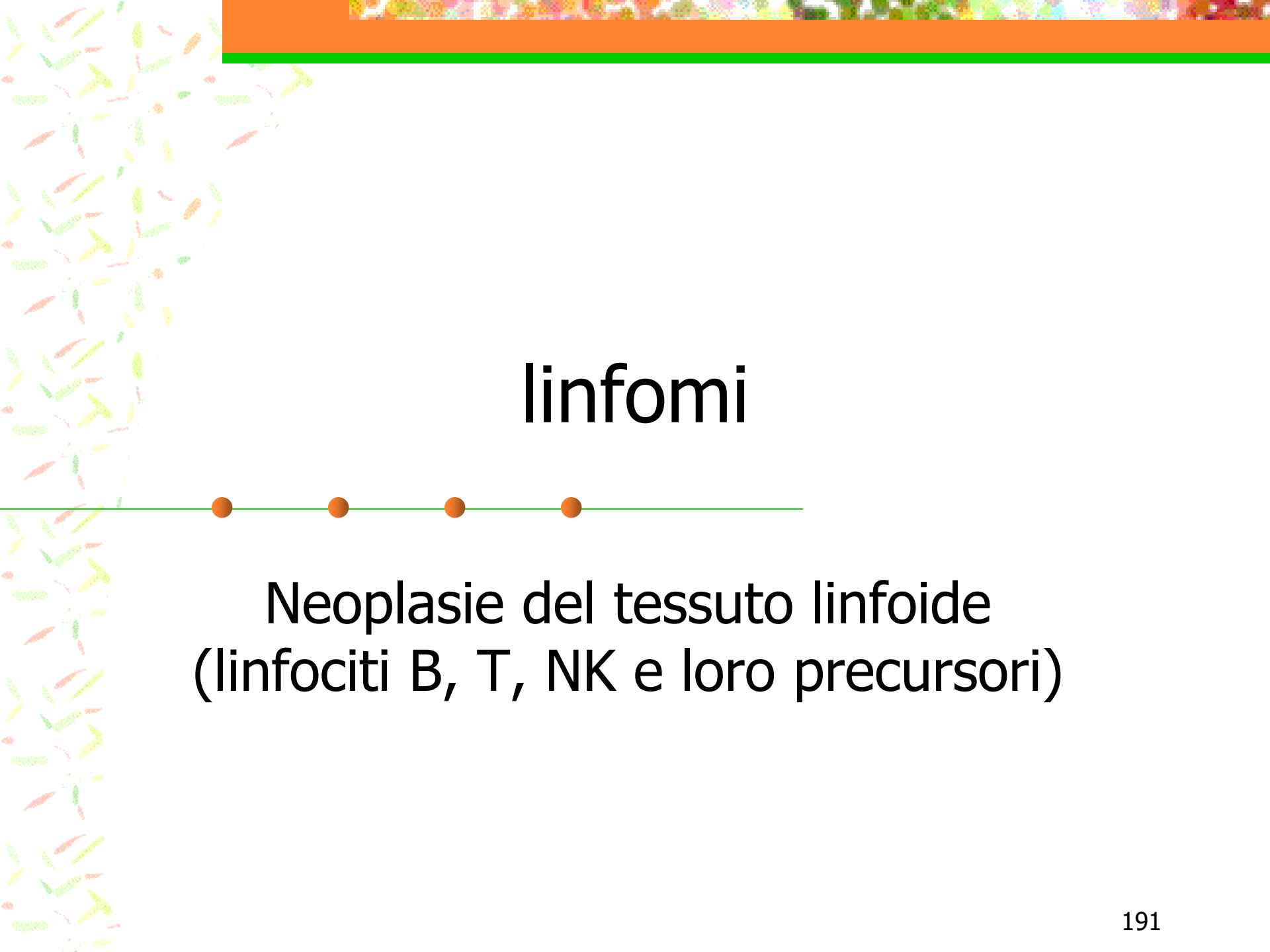
■ Terapia

■ Chemioterapia:

- Induzione, consolidamento, mantenimento
- Rachicentesi medicate come profilassi o trattamento
- Trapianto allogenico

■ Fattori prognostici sfavorevoli

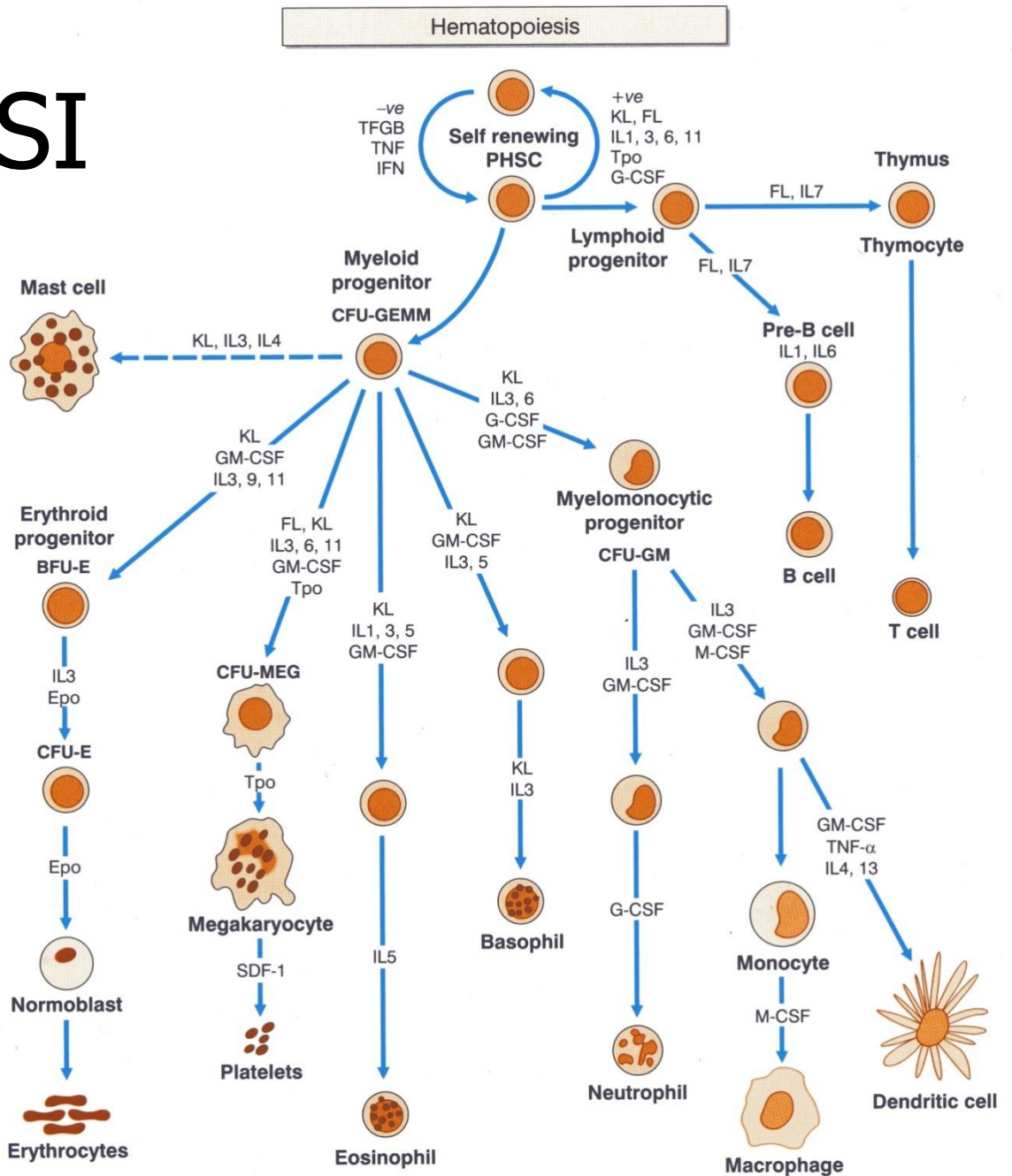
- Età
- N° di globuli bianchi
- Forme T e L3
- Citogenetica
- Biologia molecolare



linfomi

Neoplasie del tessuto linfoide
(linfociti B, T, NK e loro precursori)

EMOPOIESIS



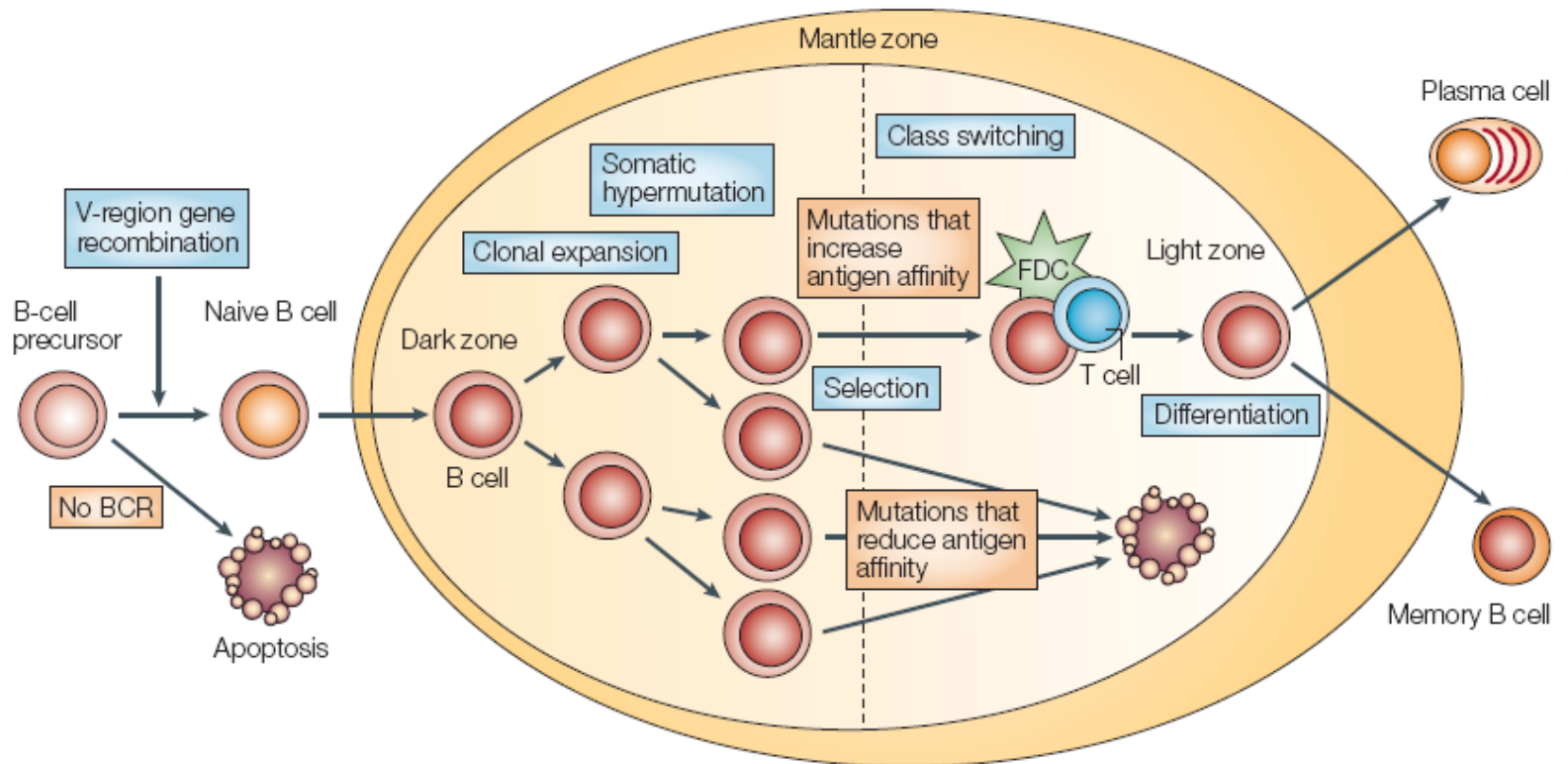


Figure 2 | **B-cell differentiation in the germinal-centre reaction.** Mature (naive) antigen-activated B cells that receive signals known as ‘T-cell help’ are driven into primary B-cell follicles in secondary lymphoid organs such as lymph nodes, where they establish germinal centres (GCs; lightest yellow region)¹⁰³. The naive IgM⁺IgD⁺ B cells that constitute the primary B-cell follicle are replaced by the proliferating GC B cells and displaced to the outside of the follicle, where they form a mantle zone around the GC. In the GC, a dark zone and a light zone can be distinguished (left and right sides, respectively). The dark zone mainly consists of proliferating GC B cells, whereas the GC B cells in the light zone are resting¹⁰³. In proliferating GC B cells, the process of somatic hypermutation is activated, which leads to the introduction of mutations at a high rate into the rearranged Ig variable (V)-region genes of the B cells¹⁰². Most mutations are disadvantageous for the cells— such as those that lead to reduced affinity of the BCR for antigen and cause cells to undergo apoptosis. A few GC B cells will acquire mutations in the BCR that increase their affinity for antigen, and these cells will be positively selected. The selection process presumably takes mainly place in the light zone, where the GC B cells are in close contact with CD4⁺ T cells and follicular dendritic cells (FDCs). A fraction of these GC B cells undergo class-switch recombination¹⁰⁴. Finally, GC B cells differentiate into memory B cells or plasma cells and leave the GC microenvironment.

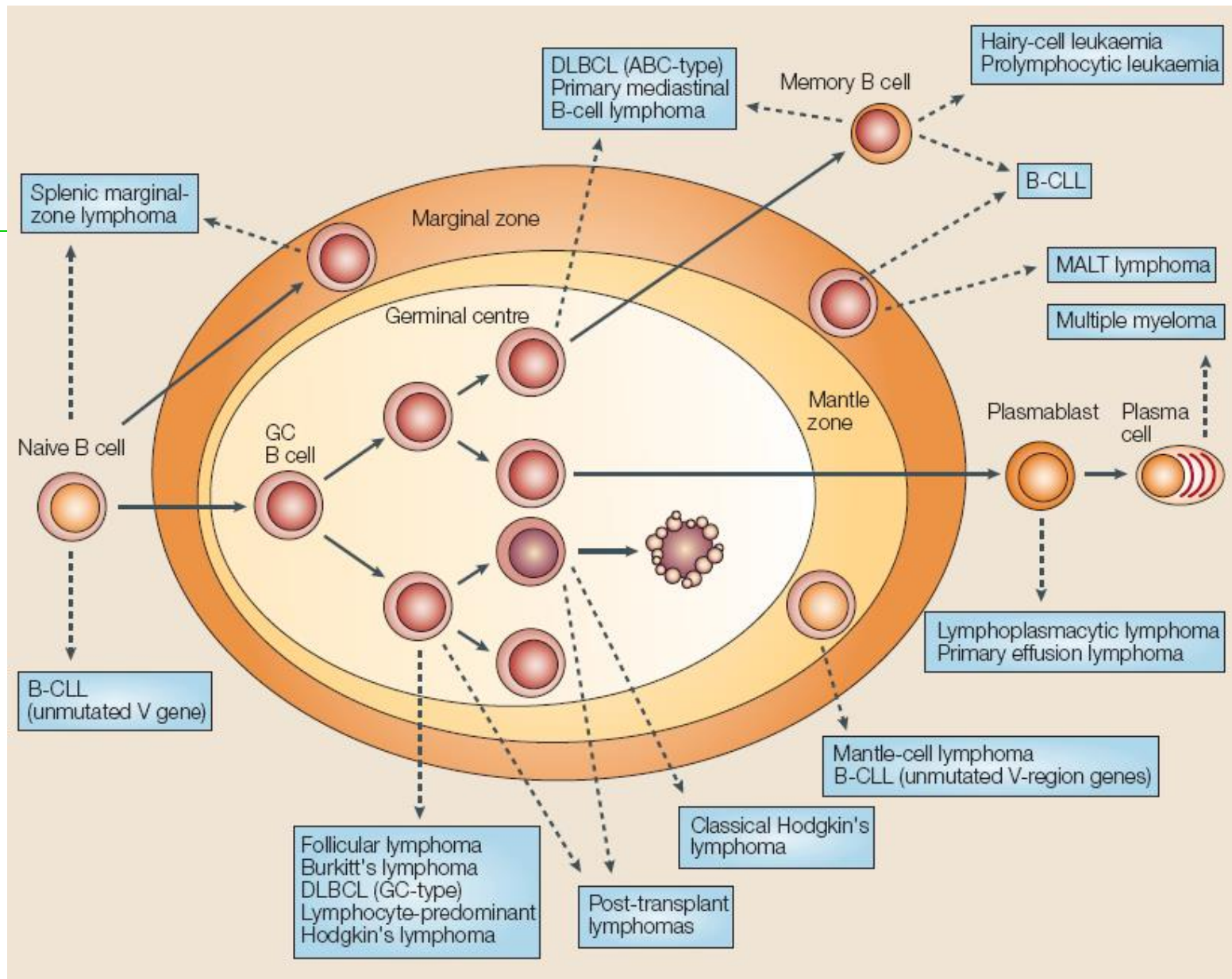


Figure 2. Diagrammatic representation of B-cell differentiation and relationship to major B-cell neoplasms. B-cell neoplasms correspond to stages of B-cell maturation, even though the precise cell counterparts are not known in all instances. Precursor B cells that mature in the bone marrow may undergo apoptosis or develop into mature naive B cells that, following exposure to antigen and blast transformation, may develop into short-lived plasma cells or enter the germinal center (GC), where somatic hypermutation and heavy chain class-switching occur. Centroblasts, the transformed cells of the GC, either undergo apoptosis or develop into centrocytes. Post-GC cells include both long-lived plasma cells and memory/marginal zone B cells. Most B cells are activated within the GC, but T cell-independent activation can take place outside of the GC and also probably leads to memory-type B cells. Monocytoid B cells, many of which lack somatic hypermutation, are not illustrated. AG indicates antigen; and FDC, follicular dendritic cell. Red bar represents immunoglobulin heavy chain gene (*IGH*) rearrangement; blue bar, immunoglobulin light chain gene (*IGL*) rearrangement; and black insertions in the red and blue bars indicate somatic hypermutation.

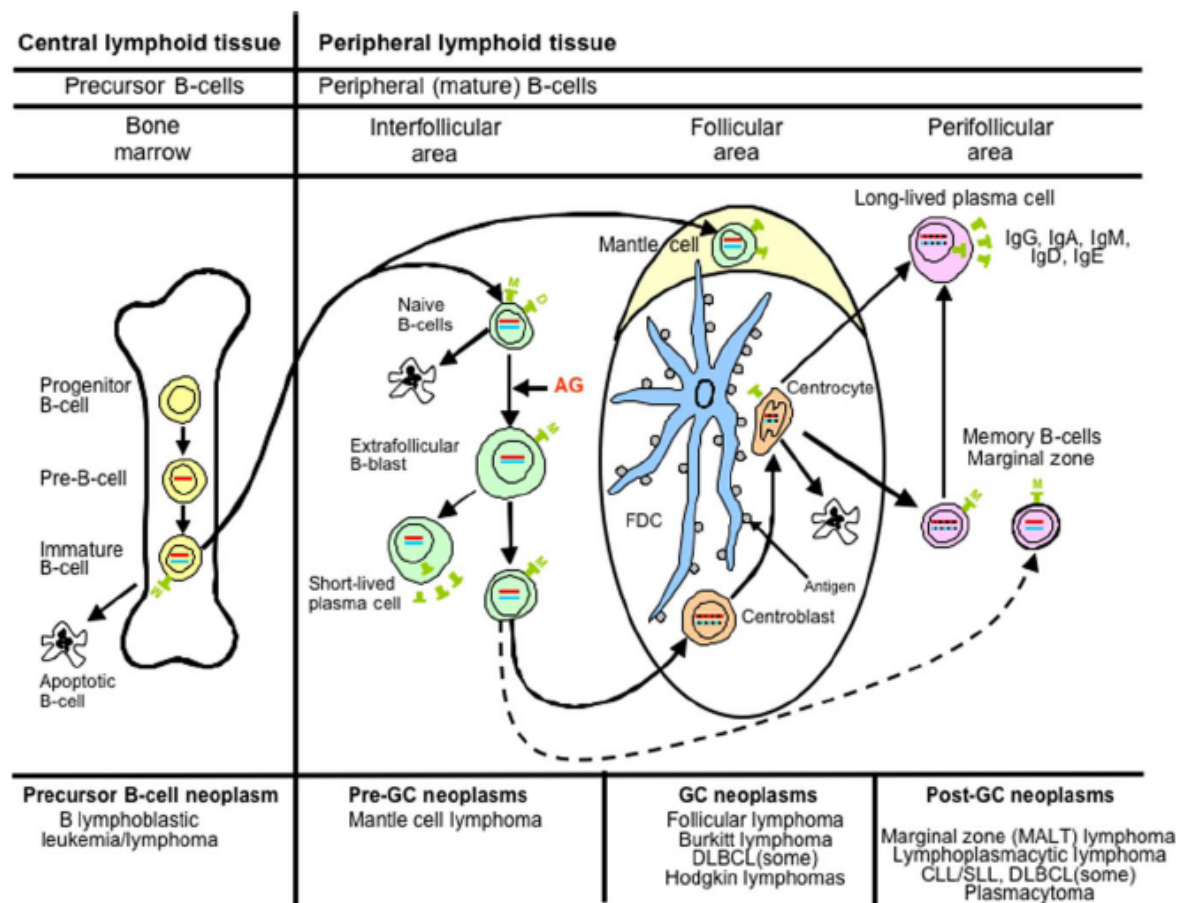


Table 1. 2016 WHO classification of mature lymphoid, histiocytic, and dendritic neoplasms

Mature B-cell neoplasms
Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma
Monoclonal B-cell lymphocytosis*
B-cell prolymphocytic leukemia
Splenic marginal zone lymphoma
Hairy cell leukemia
<i>Splenic B-cell lymphoma/leukemia, unclassifiable</i>
<i>Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma</i>
<i>Hairy cell leukemia-variant</i>
Lymphoplasmacytic lymphoma
Waldenström macroglobulinemia
Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), IgM*
μ heavy-chain disease
γ heavy-chain disease
α heavy-chain disease
Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), IgG/A*
Plasma cell myeloma
Solitary plasmacytoma of bone
Extramedullary plasmacytoma
Monoclonal immunoglobulin deposition diseases*
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)
Nodal marginal zone lymphoma
<i>Pediatric nodal marginal zone lymphoma</i>
Follicular lymphoma
In situ follicular neoplasia*
Duodenal-type follicular lymphoma*
Pediatric-type follicular lymphoma*
<i>Large B-cell lymphoma with IRF4 rearrangement*</i>
Primary cutaneous follicle center lymphoma
Mantle cell lymphoma
In situ mantle cell neoplasia*
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS
Germinal center B-cell type*
Activated B-cell type*
T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma
Primary DLBCL of the central nervous system (CNS)
Primary cutaneous DLBCL, leg type
EBV ⁺ DLBCL, NOS*
<i>EBV⁺ mucocutaneous ulcer*</i>
DLBCL associated with chronic inflammation
Lymphomatoid granulomatosis
Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma
Intravascular large B-cell lymphoma
ALK ⁺ large B-cell lymphoma
Plasmablastic lymphoma
Primary effusion lymphoma
<i>HHV8⁺ DLBCL, NOS*</i>
Burkitt lymphoma
<i>Burkitt-like lymphoma with 11q aberration*</i>
High-grade B-cell lymphoma, with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements*
High-grade B-cell lymphoma, NOS*
B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and classical Hodgkin lymphoma
Mature T and NK neoplasms
T-cell prolymphocytic leukemia
T-cell large granular lymphocytic leukemia
Chronic lymphoproliferative disorder of NK cells
Aggressive NK-cell leukemia
Systemic EBV ⁺ T-cell lymphoma of childhood*
Hydroa vacciniforme-like lymphoproliferative disorder*
Adult T-cell leukemia/lymphoma
Extranodal NK-/T-cell lymphoma, nasal type
Enteropathy-associated T-cell lymphoma

Table 1. (continued)

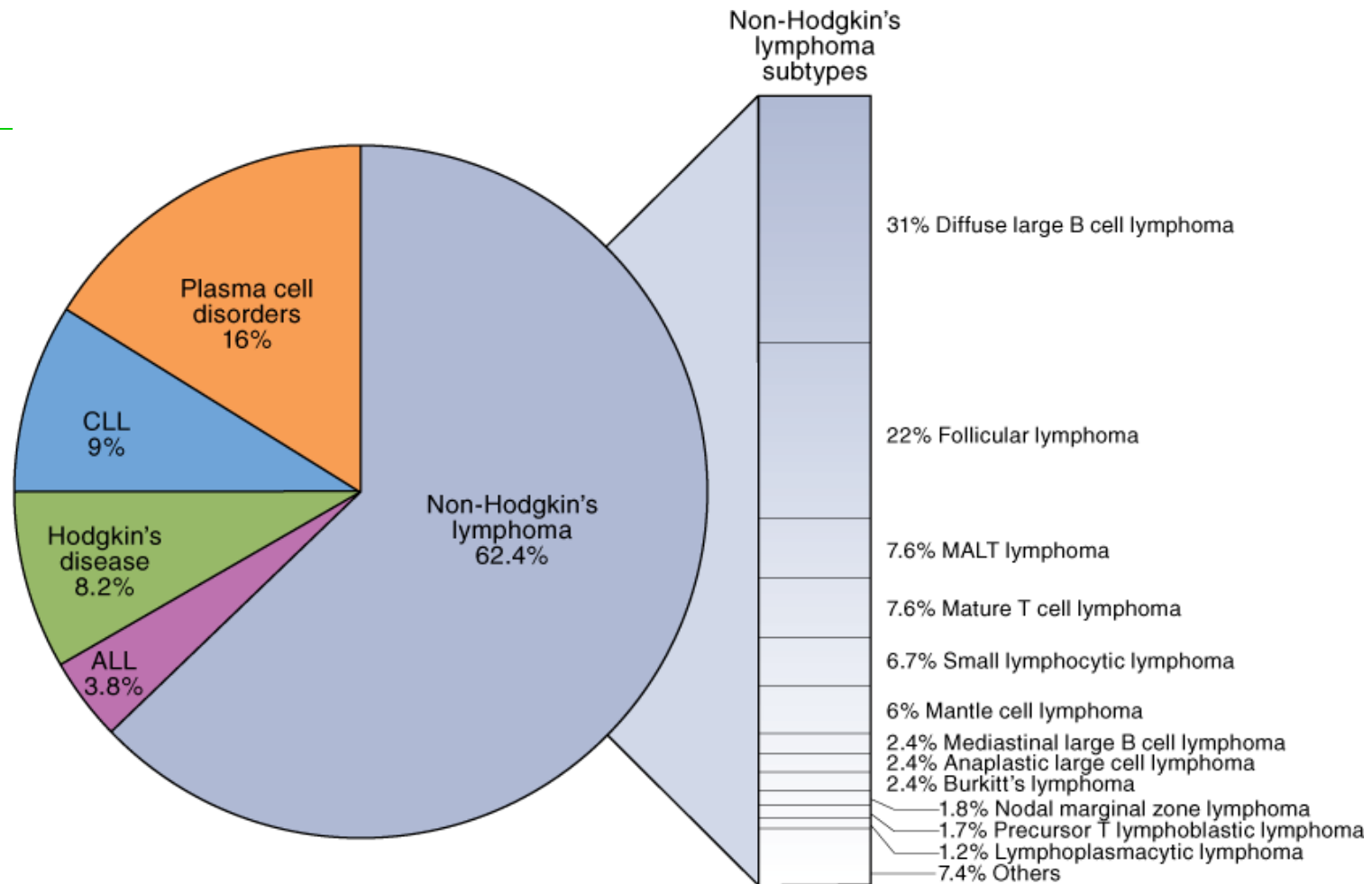
Monomorphic epitheliotropic intestinal T-cell lymphoma*
<i>Indolent T-cell lymphoproliferative disorder of the GI tract*</i>
Hepatosplenic T-cell lymphoma
Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma
Mycosis fungoides
Sézary syndrome
Primary cutaneous CD30 ⁺ T-cell lymphoproliferative disorders
Lymphomatoid papulosis
Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma
Primary cutaneous $\gamma\delta$ T-cell lymphoma
<i>Primary cutaneous CD8⁺ aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma</i>
<i>Primary cutaneous acral CD8⁺ T-cell lymphoma*</i>
<i>Primary cutaneous CD4⁺ small/medium T-cell lymphoproliferative disorder*</i>
Peripheral T-cell lymphoma, NOS
Angioimmunoblastic T-cell lymphoma
<i>Follicular T-cell lymphoma*</i>
<i>Nodal peripheral T-cell lymphoma with TFH phenotype*</i>
Anaplastic large-cell lymphoma, ALK ⁺
Anaplastic large-cell lymphoma, ALK ⁺ *
<i>Breast implant-associated anaplastic large-cell lymphoma*</i>
Hodgkin lymphoma
Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma
Classical Hodgkin lymphoma
Nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma
Lymphocyte-rich classical Hodgkin lymphoma
Mixed cellularity classical Hodgkin lymphoma
Lymphocyte-depleted classical Hodgkin lymphoma
Posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLD)
Plasmacytic hyperplasia PTLD
Infectious mononucleosis PTLD
Florid follicular hyperplasia PTLD*
Polymorphic PTLD
Monomorphic PTLD (B- and T-/NK-cell types)
Classical Hodgkin lymphoma PTLD
Histiocytic and dendritic cell neoplasms
Histiocytic sarcoma
Langerhans cell histiocytosis
Langerhans cell sarcoma
Indeterminate dendritic cell tumor
Interdigitating dendritic cell sarcoma
Follicular dendritic cell sarcoma
Fibroblastic reticular cell tumor
Disseminated juvenile xanthogranuloma
Erdheim-Chester disease*

Provisional entities are listed in italics.

*Changes from the 2008 classification.

small population, but in others associated with a lymphocytosis.⁴ Whereas in 2008 it was unknown whether MBL was a precursor of CLL, we now know that MBL precedes virtually all cases of **CLL/small lymphocytic lymphoma (SLL)**.⁵ The updated WHO will retain the current criteria for MBL, but will emphasize that “low-count” MBL, defined as a PB CLL count of $<0.5 \times 10^9/L$, must be distinguished from “high-count” MBL because low count MBL has significant differences from CLL, an extremely limited, if any, chance of progression, and, until new evidence is provided, does not require routine follow-up outside of standard medical care.^{6,7} In contrast, high-count MBL requires routine/yearly follow-up, and has very similar phenotypic and genetic/molecular features as Rai stage 0 CLL, although immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV)-mutated cases are more frequent in MBL.⁸ Also impacting our diagnostic criteria, the revision will eliminate the option to diagnose CLL with $<5 \times 10^9/L$ PB CLL cells in the absence of extramedullary

Frequenza relativa delle varie neoplasie linfoidi



Source: Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Edition: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

MORBO DI HODGKIN (I)

- Linfoma maligno caratterizzato dalla proliferazione nei linfonodi ma talora anche in sedi extralinfonodali di elementi neoplastici (cellule di Reed-Sternberg e cellule di Hodgkin) associate ad una componente cellulare reattiva
- Cellule neoplastiche di derivazione B cellulare
- Nella patogenesi è implicato l'Epstein Barr virus

Hodgkin

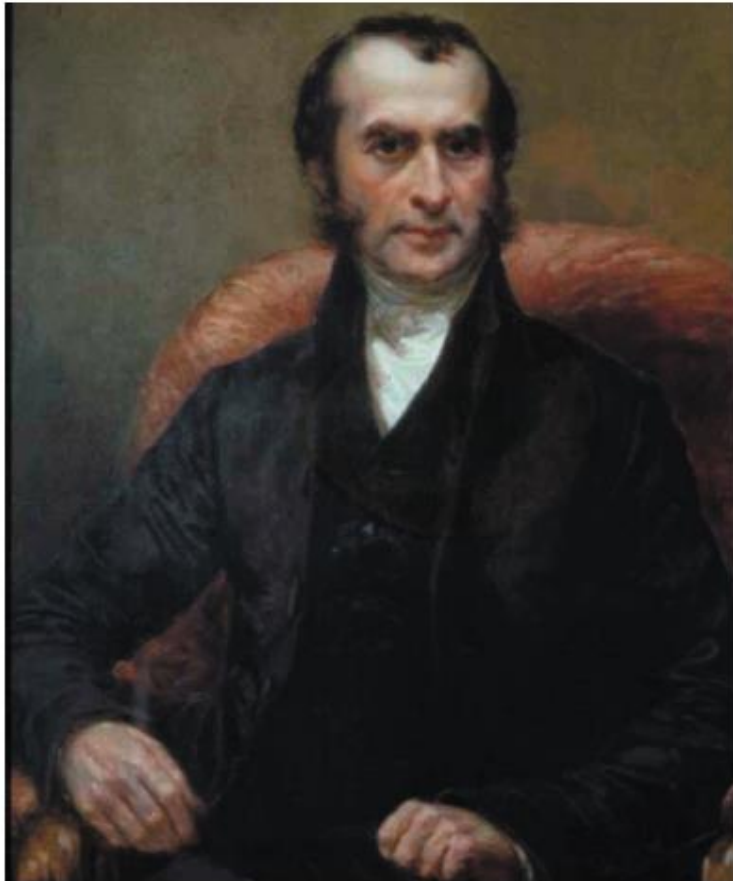


Figure 1. Thomas Hodgkin, 1798–1866.

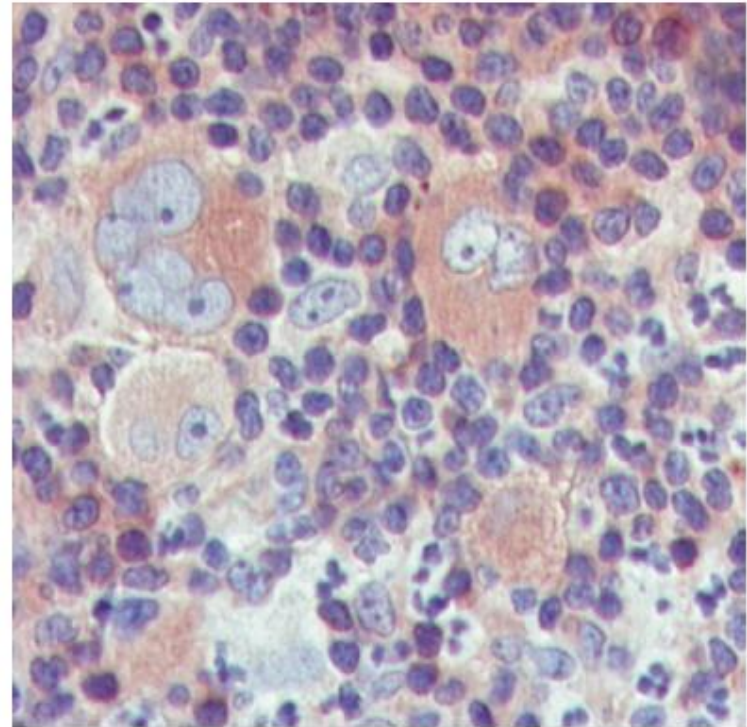


Figure 1. Typical morphology of a lymph-node affected by Hodgkin's lymphoma. The use of a specific antibody to stain for Hodgkin and Reed-Sternberg cells shows them to be surrounded by a characteristic infiltrate of rosetting T-cells, granulocytes, and histiocytes.

MORBO DI HODGKIN (II)

■ Aspetti clinici

- Febbre non infettiva, sudorazione notturna, calo ponderale (sintomi B)
- Interessamento linfonodale superficiale e profondo
- Esordio clinico prevalente a livello laterocervicale nel 70% dei casi, ascellare nel 20% ed inguinale nel 10%.
- Diffusione per contiguità linfatica
- Epatosplenomegalia
- Coinvolgimento di organi extralinfatici per infiltrazione diretta per via ematogena (polmone, tratto gastroenterico, rene, cute, SNC, midollo osseo)

MORBO DI HODGKIN (III)

- Diagnosi: biopsia linfonodale
- Stadiazione Ann Arbor 1971:
 - Stadio I: singola stazione linfonodale o extralinfonodale
 - Stadio II: due o più stazioni linfonodali e una sede extralinfonodale dallo stesso lato del diaframma
 - Stadio III: più stazioni linfonodali e una sede extralinfonodale da entrambe i lati del diaframma
 - Stadio IV: interessamento diffuso o disseminato di una o più sedi extralinfonodali
 - Stadio B se presenti calo ponderale $> 10\%$ negli ultimi 6 mesi, febbre $> 38^{\circ}\text{C}$, sudorazione notturna

MORBO DI HODGKIN (IV)

■ Terapia:

- Diversificata a seconda dello stadio
 - Radioterapia
 - Chemioterapia +/- radioterapia
 - Trapianto autologo nelle recidive
 - Immunoterapia: anticorpi monoclonali
 - anti CD20: Rituximab
 - Anti CD30 brentuximab

LINFOMI NON HODGKIN (I)

- Gruppo eterogeneo di neoplasie maligne di derivazione linfocitaria il cui quadro clinico è caratterizzato da un elettivo coinvolgimento dell'apparato linfoghiandolare.
- In alcuni casi sono però coinvolte anche sedi extralinfonodali (SNC, apparato gastroenterico, polmone, etc)
- Eziologia:
 - Infezioni: virus Epstein-Barr, HTLV-1, epatite C, Herpes virus 6 e 8, Helicobacter Pylori
 - Radiazioni ionizzanti, solventi pesticidi
 - Immunodeficienze congenite o acquisite (AIDS), malattie autoimmunitarie
 - familiarità

LINFOMI NON HODGKIN (II)

- Classificazione assai complessa
 - Suddivisione in forme B e T ed in base alla fase dell'iter differenziativo in cui è situato l'elemento linfocitario coinvolto
 - Basso, intermedio ed alto grado di malignità
 - Classificazione biologica in base alle anomalie cromosomiche e lesioni molecolari

LINFOMI NON HODGKIN (III)

■ Sintomatologia

- Adenomegalie superficiali e profonde (80%) sopra e sottodiaframmatiche, interessamento anello del Waldeyer o di tessuti linfoidei mucosa associati (20-30%)
- Localizzazione midollare > 20% e leucemizzazione nel 10%
- Epatosplenomegalia
- Sedi extralinfonodali: SNC, stomaco, intestino, orbita, testicolo, polmoni, mammella
- Sintomi sistemici B
- Quadri clinici variabili in rapporto alla sede di insorgenza: itteri, versamenti sierosi, edemi arti sup ed inf, sindromi neurologiche, sindrome mediastinica, trombosi, disturbi del visus, etc.

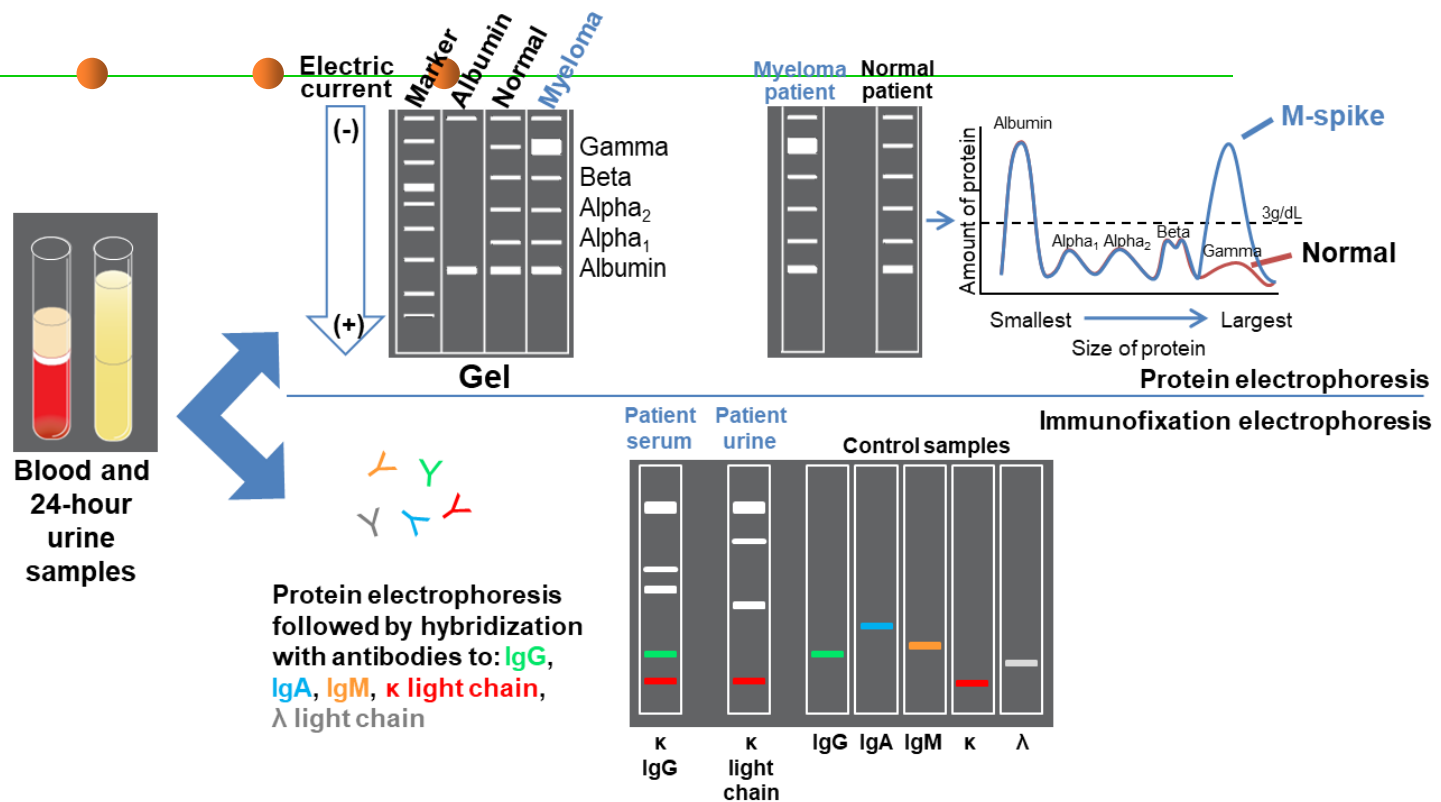
LINFOMI NON HODGKIN (IV)

- Diagnosi: biopsia linfonodale o sede extranodale
- Stadiazione:
 - Stadiazione di Ann Arbor
 - Ai fini stadiativi utili: ecografie, TC, biopsie ossee o di organi coinvolti, esami di laboratorio (LDH, beta-2-micro, VES)
- Terapia
 - Chemioterapia +/- radioterapia
 - Immunoterapia: anticorpi monoclonali (Rituximab: anti CD20)
 - Trapianto autologo e allogenico
 - Chirurgia nelle sedi extralinfonodali
- Prognosi
 - Stadio,
 - Citogenetica, biologia molecolare ed istotipo

GAMMAPATIE MONOCLONALI

- Disordini linfoproliferativi caratterizzati dalla produzione di più o meno elevate quantità di catene immunoglobuliniche di tipo monoclonale che determinano una alterazione del profilo elettroforetico delle proteine sieriche e/o urinarie

Gammapatia monoclonale: elettroforesi proteica e immunofissazione



Mayo Clinic. Test ID: PEL: Electrophoresis, Protein, Serum. Available at: www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/80085. Accessed March 2016; Lab Tests Online. Protein Electrophoresis, Immunofixation Electrophoresis. Available at: <https://labtestsonline.org/understanding/analytes/electrophoresis/tab/test>. Accessed March 2016.

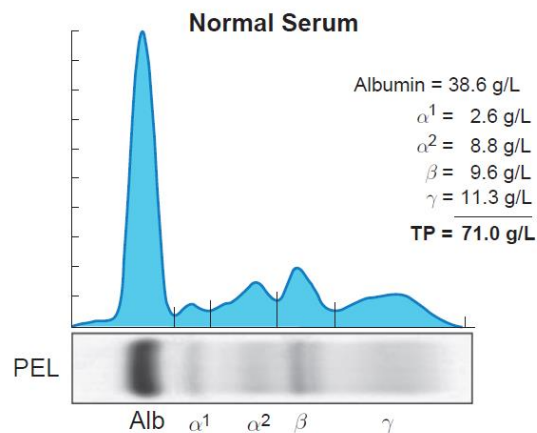


FIGURE 95.3. Images of a normal serum electrophoresis, showing the five protein components.

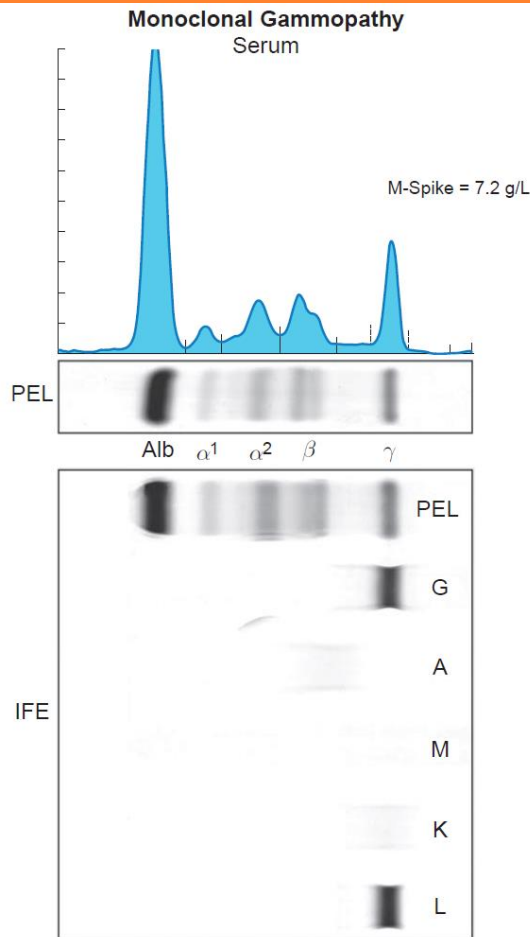


FIGURE 95.4. Images of a serum protein electrophoresis and immunofixation depicting a monoclonal protein.

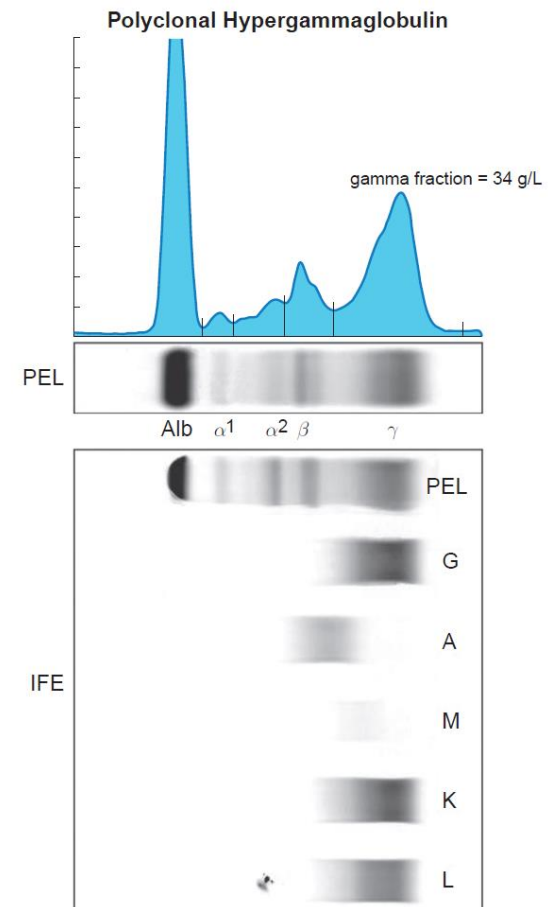


FIGURE 95.5. Images of a serum protein electrophoresis depicting a polyclonal gammopathy.

Elettroforesi delle proteine seriche distingue:

albumina	3.6-4.9 g/dl	55-64%
alfa 1 globuline	0.2-0.4 g/dl	4-7%
alfa 2 globuline	0.4-0.8 g/dl	7-9%
beta globuline	0.6-1.0 g/dl	9-13%
gamma globuline	0.9-1.4 g/dl	13-21%
A/G	1.2-1.7	

GAMMAPATIE MONOCLONALI

- Gammapatia monoclonale di incerto significato (MGUS)
- Neoplasie costituite da cellule producenti immunoglobuline
 - **Mieloma multiplo**
 - Macroglobulinemia di Waldenstrom
 - Malattia delle catene pesanti
 - Amiloidosi primitiva
- Neoplasie del sistema linfatico
 - Linfomi non Hodgkin
 - Leucemia linfatica cronica

GAMMAPATIE MONOCLONALI

- Tumori non appartenenti al sistema linfatico
 - Carcinoma del colon, prostata, stomaco, mammella
- Malattie autoimmuni
 - LES, sindrome di Sjogren
 - Crioglobulinemie
 - Crioagglutininemia
- Malattie miscellanee
 - Cirrosi epatica
 - Infezioni croniche, malattie parassitarie
 - Policitemia vera
 - Etc.

MIELOMA MULTIPLO (I)

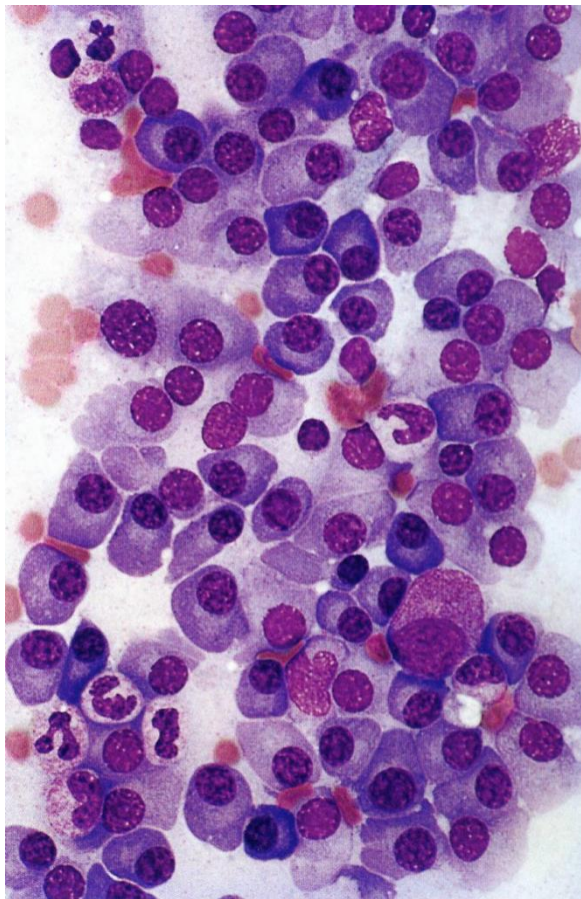
■ Definizione

- Neoplasia ad elettiva localizzazione midollare caratterizzata dalla proliferazione di un singolo clone di plasmacellule producenti elevate quantità di immunoglobuline monoclonali (componente M) rilevabili all'elettroforesi delle proteine seriche.

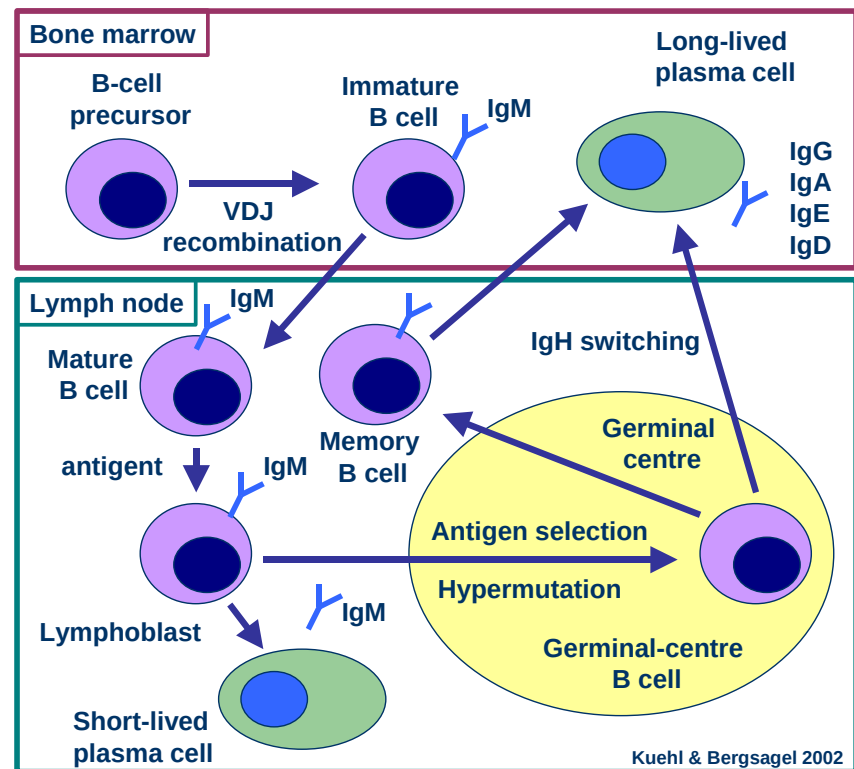
■ Eziologia ed epidemiologia

- Nesso causale con radiazioni ionizzanti, sostanze chimiche, ripetute stimolazioni antigeniche, agenti virali
- Predisposizione familiare. 2-4 casi/anno ogni 100.000 persone. Età anziana, incidenza simile nei due sessi

Mieloma multiplo



B-cell development and tumorigenesis



MIELOMA MULTIPLO (II)

- Quadro clinico

- Sintomi correlati all'instaurarsi di 2 situazioni:
 - Infiltrazione plasmacellulare di organi e tessuti
 - Abnorme produzione di immunoglobuline monoclonali

MIELOMA MULTIPLO (III)

■ Quadro clinico

- Anemia, leucopenia e piastrinopenia (da sostituzione midollare)
- Dolori ossei (lesioni ossee litiche, fratture patologiche)
- Sindrome ipercalcemica (per le lesioni ossee)
- Infezioni batteriche e virali erpetiche (carenza di Ig normali, deficit funzione monocitaria, neutropenia)
- Insuff. renale cronica/acuta (proteinuria di Bence Jones)
- Sindrome da iperviscosità: sintomi neurologici dovuti al rallentato scorrimento nel sangue con parestesie, cefalea, sonnolenza, atassia, disturbi della vigilanza, coma.
- Manifestazioni neurologiche (Sindrome da iperviscosità, fratture vertebrali con compressione midollare, neuropatie periferiche da componente monoclonale)
- Amiloidosi: deposizione di catene leggere nei tessuti: rene, cuore, Sistema nervoso periferico, lingua (macroglossia), etc

MIELOMA MULTIPLO (IV)

■ Laboratorio

- Picco monoclonale all'elettroforesi delle proteine con soppressione Ig non monoclonali
- IgG 70%, IgA 20%, micromolecolare 5%, IgD 1%
- Anemia, piastrinopenia, neutropenia
- Infiltrazione midollare di plasmacellule
- Aumento VES, PCR, beta-2-microglobulina, viscosità plasmatica
- Ipercalcemia, aumento azotemia e creatinina
- Alterazioni cromosomiche

MIELOMA MULTIPLO (V)

- Diagnosi stadiazione e prognosi
 - Diagnosi: biopsia midollare
 - Stadiazione: con albumina, beta-2-microglobulina, LDH e alterazioni cromosomiche (3 stadi)

TABLE 3. Revised International Staging System for Myeloma

Stage	Frequency (% of Patients)	5-Year Survival Rate (%)
Stage I	28	82
ISS stage I (serum albumin > 3.5, serum beta-2-microglobulin < 3.5) and		
No high-risk cytogenetics		
Normal LDH		
Stage II	62	62
Neither stage I or III		
Stage III	10	40
ISS stage III (serum beta-2-microglobulin > 5.5) and		
High-risk cytogenetics [t(4;14), t(14;16), or del(17p)] or elevated LDH		

Abbreviations: LDH, lactate dehydrogenase; ISS, International Staging System.
Derived from Palumbo et al.³³

MIELOMA MULTIPLO (VI)

- Terapia (varie combinazioni a 2 , 3 e 4 farmaci)
 - Immunomodulanti:
 - Talidomide, lenalidomide, pomalidomide
 - Inibitori del proteasoma
 - Bortezomib, carfilzomib, ixazomib
 - Anticorpi monoclonali
 - Daratumomab, elotuzumab
 - Chemioterapici
 - Melphalan, ciclofosfamide, bendamustina
 - steroidi
 - Trapianto autologo
 - Radioterapia
 - Supporto: trasfusioni, EPO, antibiotici
 - Crisi ipercalcemica: steroidi, idratazione, diuretici, difosfonati.

MORBO DI WALDENSTROM (I)

- Definizione

- Proliferazione neoplastica di elementi linfocitari B che si accumulano nel midollo osseo e negli organi linfatici e producono enormi quantità di immunoglobuline monoclonali di tipo IgM

- Eziologia sconosciuta

- Età anziana, $M > F$

MORBO DI WALDENSTROM (II)

■ Sintomi

- Astenia, calo ponderale, iperpiressia
- Sindrome da iperviscosità: alterazioni del visus, sonnolenza, parestesie, scompenso cardiaco
- Neuropatie
- Sindromi emorragiche

MORBO DI WALDENSTROM (III)

■ Laboratorio

- Aumento IgM con picco monoclonale
- Aumento della VES
- Iperviscosità plasmatica, crioagglutinine
- Anemia (anche emolitica), piastrinopenia, neutropenia
- Midollo: infiltrazione linfoplasmacellulare

■ Terapia

- Chemioterapia
- Plasmaferesi

AMILOIDOSI

■ Definizione

- Gruppo eterogeneo di patologie sistemiche o localizzate contraddistinte dall'accumulo di materiale proteico fibrillare denominato amiloide

■ Classificazione

- **Amiloidosi AL (frammenti catene leggere delle Ig)**
- Amiloidosi AA (proteina A)
- Amiloidosi localizzata
- Amiloidosi familiare

AMILOIDOSI AL

- Costituita da parte variabile della catena leggera Ig.
- Amiloidosi primaria associata al mieloma multiplo
- M>F, età > 60 anni
- Quadro clinico-laboratoristico
 - Epatomegalia, macroglossia, splenomegalia, emorragie mucocutanee, neuropatia periferica, insufficienza cardiaca congestizia, insufficienza renale, sindrome del tunnel carpale
 - Componente M serica od urinaria
 - Plasmocitosi midollare
- Terapia
 - Chemioterapia, trapianto di cellule staminali

Neoplasie ematologiche

	Disordini mielodi	Disordini linfoidei
	Sindromi mielodisplastiche	
	Leucemia mieloide acuta	Leucemia linfoide acuta
	Neoplasie mieloproliferative croniche (LMC, PV, TE)	Disordini linfoproliferativi cronici (LLC)
		Linfomi
		Gammopatie monoclonali (MM, MGUS)