Approccio all'anemia ipoproliferativa

c. Anemia ipercromica macrocitica:

Importante valutare se si tratti di cellule grandi perché giovani o se anomale

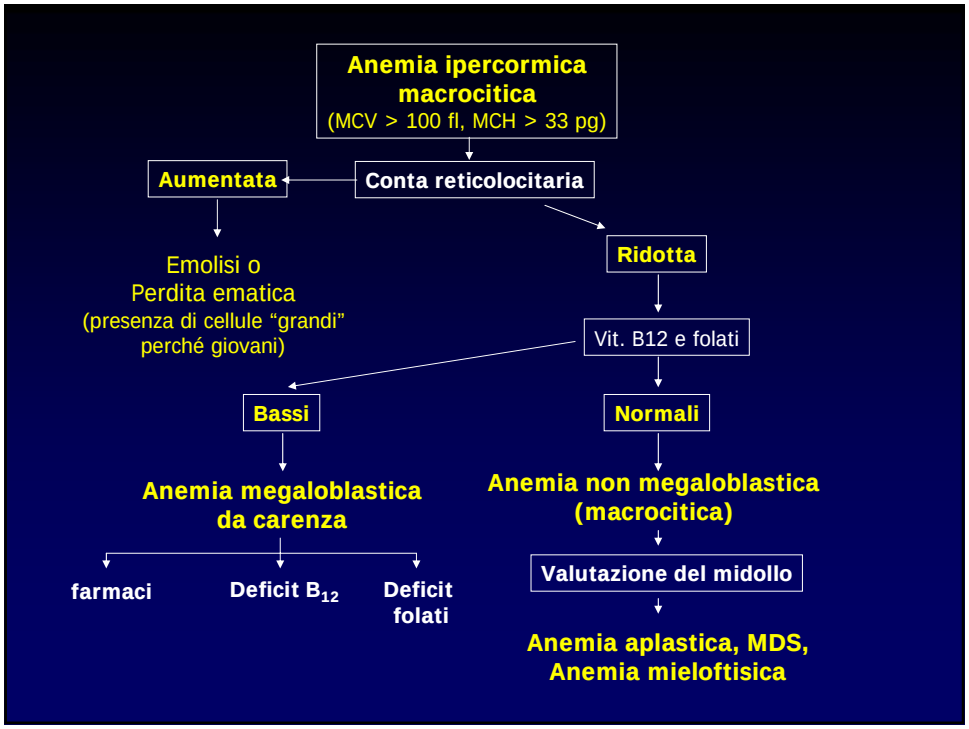
- Anomalie nella sintesi DNA e deficit maturativi (fondamentale la conta reticolocitaria per distinguere una anemia megaloblastica da una non megaloblastica)

Approccio all'anemia ipoproliferativa

- ↑ reticolociti indica anemia emolitica, e quindi la presenza di emazie macrocitiche indicano elementi giovani e non anomalia del progenitore

- bassi reticolociti indicano o anemia da riduzione Vit. B_{12} e folati o alterazioni midollari (anemia aplastica, da mieloftisi)

2. Farmaci che agiscono sul DNA come antagonisti della Vit. B12 e folati (idrossiurea, AZT etc)



Anemia macrocitica con reticolociti bassi:

Diagnosi differenziale:

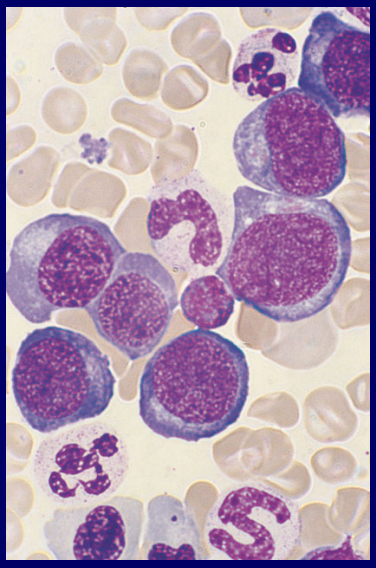
- A. da carenza di Vit. B12
- A. da carenza di folati
- Sdr. Mielodisplastiche
- Ipotiroidismo
- A. da farmaci
- Insuff. Epatica

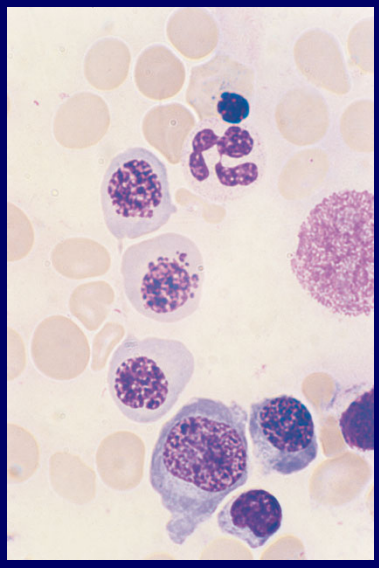
Esami ematochimici:

- Dosaggio Vit. B12 e Folati

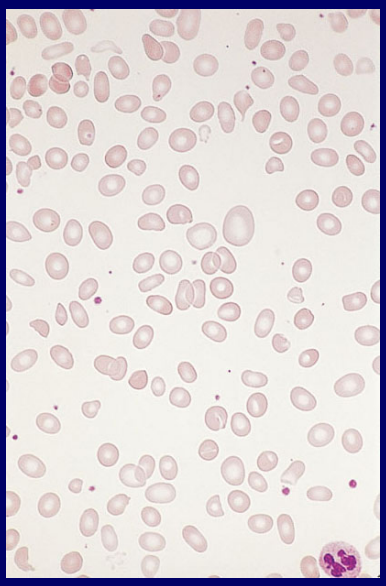
Aspirato midollare

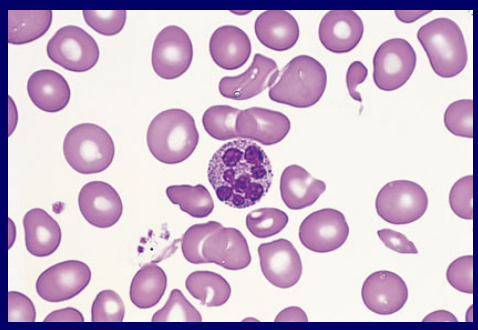
MEGALOBLASTOSI MIDOLLARE





MACROCITOSI ERITROCITARIA





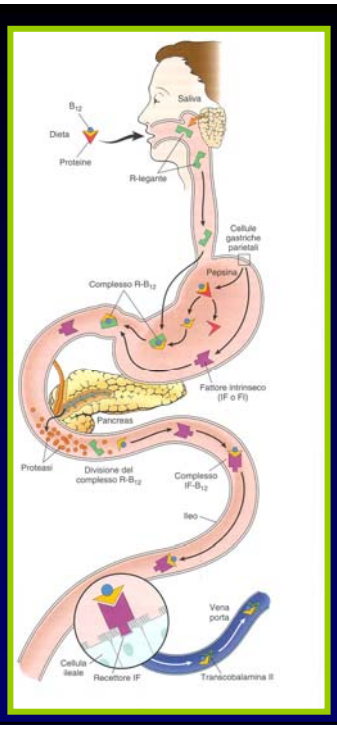
ANEMIE MEGALOBLASTICHE DA DEFICIT DI VIT B12

- La Vitamina B12 è presente nel cibo (prevalentemente di origine animale quali carni, latte, uova) nelle forme coenzimaticamente attive:

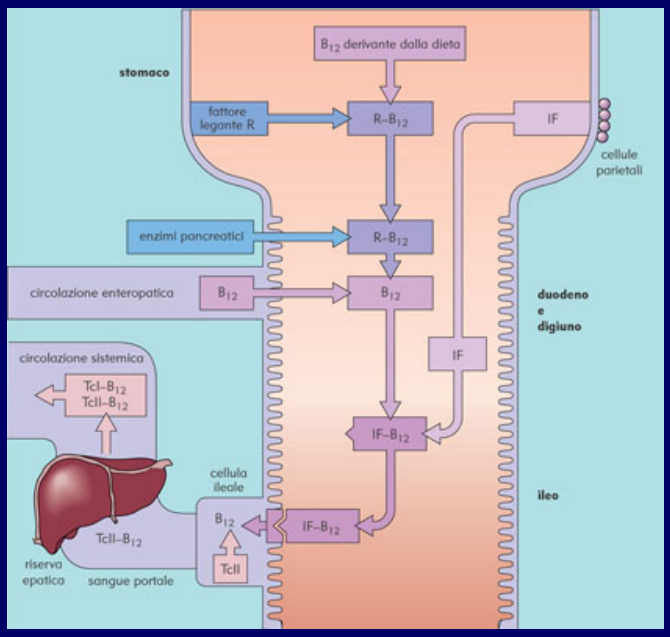
  – Metil-cobalamina:
  Coenzima della METIONINA SINTETASI

  – Adenosil-cobalamina:
  L metilmalonil-CoA ⇨ Succinil CoA

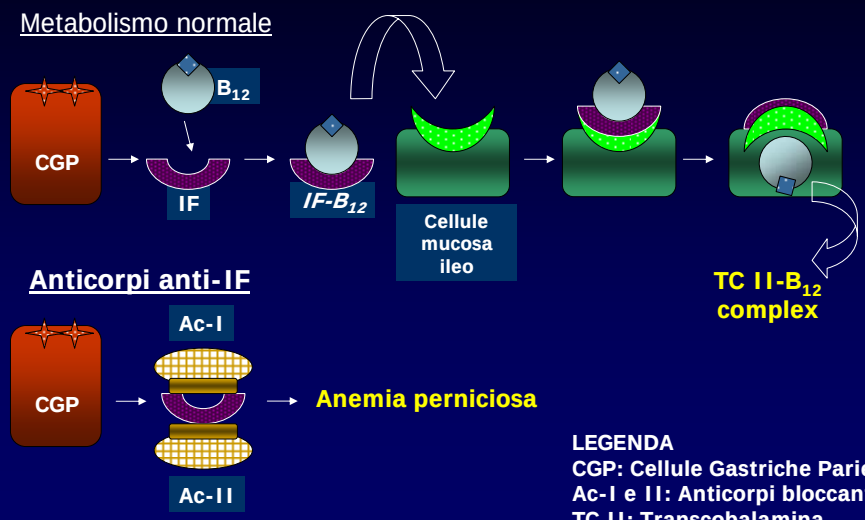
PATOGENESI DELL'ANEMIA PERNICIOSA



ASSORBIMENTO DELLA VITAMINA B12



Complesso Fattore Intrinseco-Vit. B_{12} (*IF-B_{12}*) lume intestinale (ileo terminale)



LEGENDA
CGP: Cellule Gastriche Parietali
Ac-I e II: Anticorpi bloccanti IF
TC II: Transcobalamina

ANEMIE MEGALOBLASTICHE DA DEFICIT DI VIT B12

- METIL-COBALAMINA:

Co-enzima della METIONINA SINTETASI

METILOMOCISTEINA + **N5 TETRAIDROFOLATO** → METIONINA + **TETRAIDROFOLATO (FH4)**

- FH4: Co-enzima della TIMIDILATOSINTETASI

URIDINA → TIMIDINA

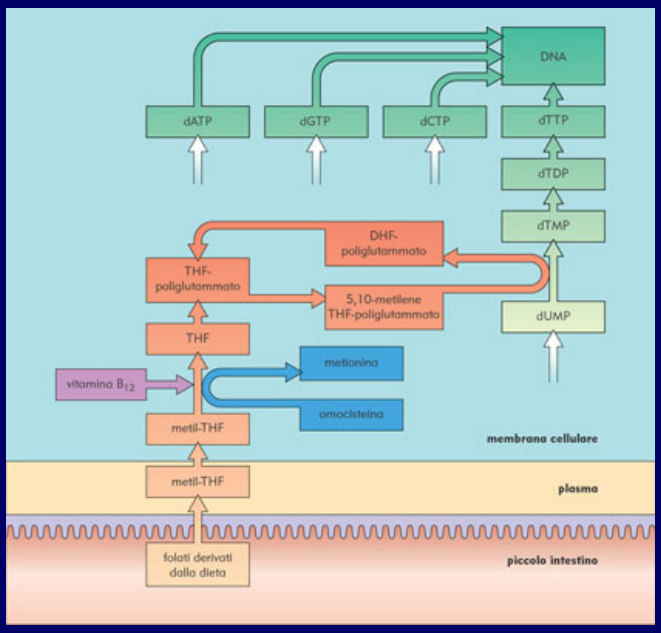
FH4 INTERVIENE NELLA SINTESI DELLE PURINE E DI METIONINA*

*La metionina è un componente per la sintesi della colina, dei fosfolipidi e della proteina basica della mielina

ANEMIE MEGALOBLASTICHE DA DEFICIT DI ACIDO FOLICO E FOLATI

- L'acido folico e i folati sono presenti nei vegetali e nelle carni sotto forma di:
  - Acido pteroilmonoglutammico: assorbito direttamente nel duodeno e digiuno prossimale
  - Poliglutammati: convertiti intraluminalmente in acido folico (FH4)
- I folati animali (monoglutammati) sono meglio assorbiti di quelli vegetali (per lo più poliglutammati)

VIT B12 E FOLATI NELLA SINTESI DEL DNA



METABOLISMO DELLA VITAMINA B12 E DEI FOLATI

	VIT B12	AC. FOLICO
ALIMENTI •Vegetali •Animali	 - + + +	 + + + +
FABBISOGNO/DIE	2.5 µg	50-500 µg
ASSORBIMENTO	**ileo**	**Duodeno/digiuno prossimale**
LEGAMI PROTEICI	Transcobalamina I/II	Albumina/α2 macroglobulina
CONC.SIERICA	200-900 ng/ml	6-20 µg/L
CONC. ERITROCITI	-	160-640 µg/L
DEPOSITI	2-5 mg	5-20 mg

Anemia megaloblastica

- **Anemia macrocitica**
- **Anemia perniciosa**
- **Morbo di Addison- Biermer**
- **Morbo di Biermer**
- **macrocitosi, megaloblastosi**

DEFINIZIONE

- Carenza di Vitamina B12 (o cobalamina) e/o di acido folico, con comparsa di megaloblasti o macrociti (globuli rossi con volume> 100 fl, con valori massimi fino a 140).

Anemia megaloblastica (macrocitica, iporigenerativa)

MCV aumentato, MCH e MCHC normali
Cause più frequenti sono proprio la carenza di Vit. B12 e di Folati

Sintesi DNA alterata (non in sdr. Mielodisplastiche, epatopatie che presentano precursori normali)

Dissociazione Nucleo/Citoplasma (Megaloblastosi)

Esistono forme legate ad anomalie congenite di assorbimento di Vit. B12 (deficit TCII...)

Anemia megaloblastica

- Se eziologia ignota:

- Con Hb ridotta: anemia megaloblastica o macrocitica

- Con Hb normale: megaloblastosi o macrocitosi

- Se da carenza di cobalamina secondaria a deficit gastrico di Fattore Intrinseco: Anemia perniciosa

Epidemiologia

- **Il deficit di cobalamina colpisce negli USA l'1% della popolazione ed il 10% sopra i 70 anni. E' la forma più frequente.**
- **La prevalenza del deficit di folati non è ben conosciuta. E' meno frequente della precedente. E' molto elevata negli etilisti e nei trattati con chemioterapia.**

Vit. B12 (cobalamina)

La cobalamina non esiste nel mondo vegetale, ma solo animale per cui i vegetariani puri non l'assumono (è sintetizzata nel colon da alcuni microrganismi, ma in forma non assorbibile).

- Il fabbisogno giornaliero è di 5 μg .
- Viene assorbita nell'ultima porzione dell'ileo, dopo essersi legata al fattore intrinseco, glicopeptide secreto dalle cellule parietali dello stomaco.

Deficit di Vit. B12

- I **vegetariani puri**, i **gastroresecati** ed i soggetti con **gastrite atrofica**, **sindrome da malassorbimento** sono candidati a sviluppare deficit di cobalamina.
- Il deficit insorge solo dopo 10-15 anni perché viene temporaneamente supplito dall'aumento del riassorbimento della cobalamina, fisiologicamente escreta dalla bile.
- Un difetto di assorbimento è inoltre presente in soggetti affetti da **pancreatite cronica** non trattati con estratti di pancreas e nei soggetti sottoposti ad asportazione degli ultimi 100 cm di ileo, sede anatomica dell'assorbimento.

Deficit di Vit. B12

- Deficit di cobalamina possono esservi quando essa è sottratta all'assorbimento perché utilizzata da abbondante **flora batterica intestinale** (sindrome dell'ansa cieca) o da **parassiti** (Difillobotrium latum, teniasi).
- Il deficit di cobalamina induce un deficit intracellulare di folati e ciò spiega perché le anormalità ematologiche sono identiche a quelle da deficit di folati e sono reversibili con la loro somministrazione, mentre il deficit di folati non è reversibile con la somministrazione di sola cobalamina.
- I disturbi neuropsichiatrici sembrano essere dovuti a un difetto di sintesi della mielina e non sono presenti nel deficit di folati.

CAUSE DI ANEMIA MEGALOBLASTICA

DEFICIT DI VITAMINA B12

- Insufficiente apporto: dieta strettamente vegetale
- Carenza di FI:
  - anemia perniciosa (Ab anti FI nel 60% casi, anti cell parietali stomaco nel 90% casi)
  - gastrectomia totale/subtotale
  - gastrite atrofica del moncone
- Malassorbimento intestinale:
  - diverticolosi del tenue
  - ansa cieca
  - parassitosi intestinale
  - sprue tropicale
  - ileite, fistole ileo-coliche, resezione ileale (M. di Crohn)

acido folico

- I vegetali verdi sono particolarmente ricchi
- Il fabbisogno giornaliero è di 100 μg (400 in gravidanza)
- Le cellule necessitano di cobalamina per la sua utilizzazione (trasformazione in tetraidrofolato)
- E' anche escreto dalla bile
- L'acido folico è implicato nella sintesi del DNA, RNA e delle proteine ed il suo deficit incide in cellule che si riproducono rapidamente come quelle del midollo osseo.

Deficit di acido folico

- La causa più comune del deficit di folati è la riduzione dell'assunzione con una dieta povera soprattutto di vegetali.
- I segni clinici compaiono dopo circa 4 mesi, ma può avvenire anche:

  - per riduzione dell'assorbimento per alterazioni digiunali, come nel **morbo celiaco** (**sprue celiaca**) e nell'**etilismo**

  - per alterata utilizzazione come durante terapia con sostanze quali l'**etanolo** o farmaci inibitori dell'ac. folico (**metotrexate, trimetoprim**)

  - aumento delle richieste come nell'**infanzia,** in **gravidanza,** nell'**ipertiroidismo,** nell'**anemia emolitica,** nelle **malattie neoplastiche.**

  - aumentata perdita durante **emodialis**i.

CAUSE DI ANEMIA MEGALOBLASTICA

DEFICIT DI ACIDO FOLICO

- Insufficiente apporto : ipoalimentazione, diete, alcolismo
- Malassorbimento intestinale:
  - resezione digiunale
  - enteropatia da glutine
  - sprue tropicale
  - dermatite erpetiforme
  - linfomi intestinali
- Aumentato consumo:
  - gravidanza, allattamento, nati prematuri
  - Neoplasie
  - aumentato turnover midollare (iperplasia dell' eritrone)
  - malattie infiammatorie croniche
- Perdita eccessiva:
  - Dialisi

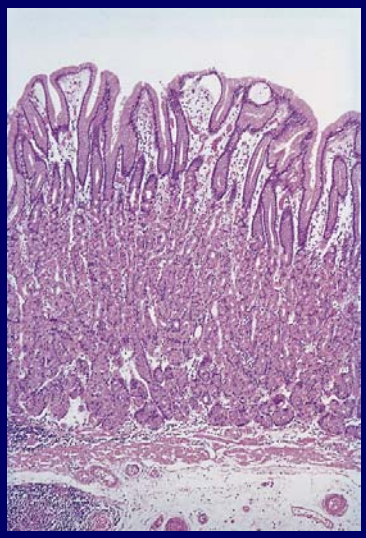
ANEMIE MEGALOBLASTICHE DA DEFICIT DI VIT B12

CLASSIFICAZIONE ETIOPATOGENETICA

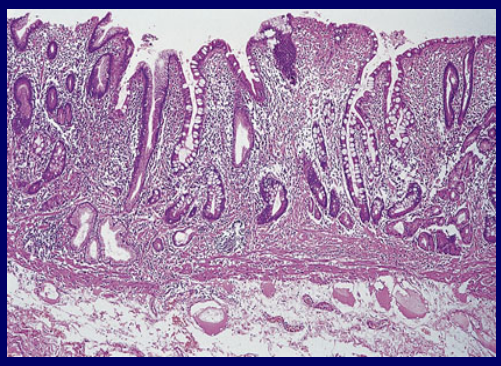
- PERNICIOSA
  - Predisposizione genetica
  - Autoimmune (Ab anti FI ± mucosa gastrica)
- PERNICIOSIFORMI
  - Acquisite
  - Non autoimmuni

QUADRI CLINICO-LABORATORISTICI SIMILI

ANEMIE MEGALOBLASTICHE DA DEFICIT DI VIT B12



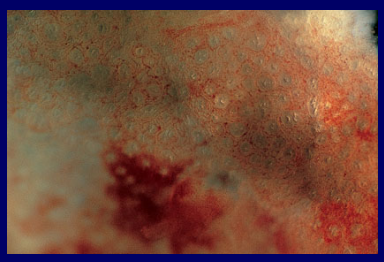
Sezione di stomaco normale



Sezione di stomaco in anemia perniciosa: atrofia dei villi, perdita ghiandole e cellule parietali, infiltrazione della lamina propria da parte di PC

ANEMIE MEGALOBLASTICHE DA DEFICIT DI FOLATI

Biopsie digiunali normali



Biopsie digiunali in pz con morbo celiaco

Sintomatologia

E' assente o scarsa nelle prime fasi ed è quasi spesso un reperto occasionale mediante l'esecuzione di un emocromo.

- **Sintomi gastro-intestinali: glossite atrofica, (lingua liscia ed arrossata, con bruciore), stomatite, malassorbimento, perdita di peso.**
- I sintomi da anemia iniziano quando l'ematocrito scende al di sotto del 20%.

Sintomi neuro-psichici

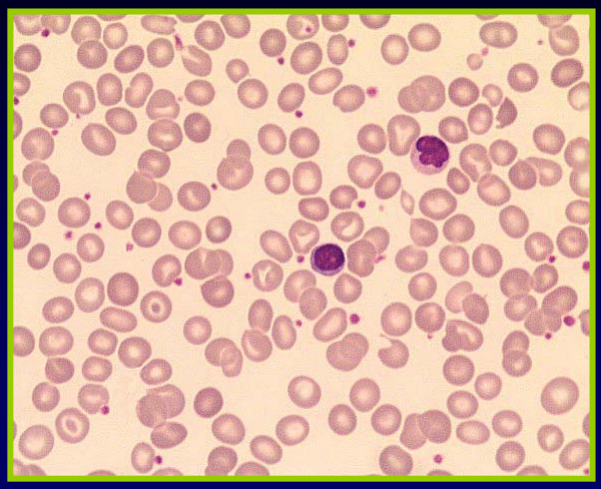
- Sintomi **neurologici** sono dovuti a demielinizzazione dei cordoni midollari posteriori (parestesie agli arti inferiori, alterato senso di posizione, ridotta pallestesia, andatura anormale che può progredire verso una atassia spastica) e della via piramidale (paresi spastica segni piramidali fino alla tetraparesi).
- Fra i sintomi **psichici** vi è depressione, allucinazioni, alterazioni della personalità, suicidio.
- I sintomi neuropsichiatrici possono essere perfino presenti in soggetti senza alterazioni ematologiche, e la diagnosi viene posta con il dosaggio della cobalamina.

Esami di Laboratorio

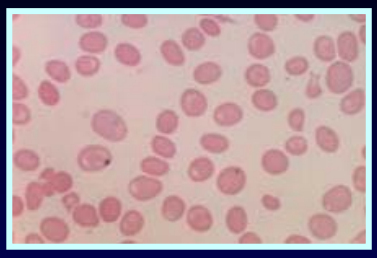
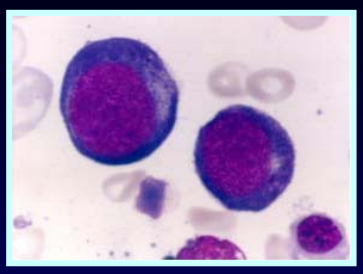
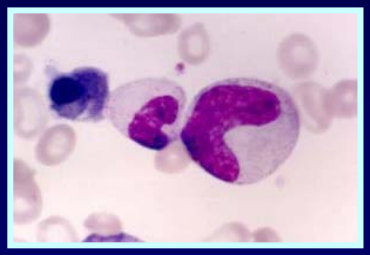
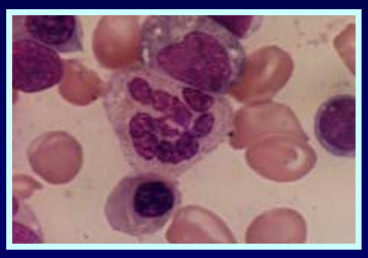
- Aumento del volume globulare >100 fl
- Incostante presenza di anemia, neutropenia (con neutrofili ipersegmentati), piastrinopenia
- Riduzione dei reticolociti
- Alterazioni tipiche delle anemie emolitiche (valori elevati di LDH, sideremia e bilirubina indiretta per eritropoiesi inefficace intramidollare)
- Dosaggio plasmatico ridotto della cobalamina (valori normali 200-900 pg/ml) e dei folati (valori normali 2,5-20 ng/ml)
- Ricerca autoanticorpi (anti cellule parietali dello stomaco, anti-F.I., altre associazioni...)

In caso di contemporanea presenza di ridotti livelli sia di cobalamina che di folati, è necessario considerare un malassorbimento.

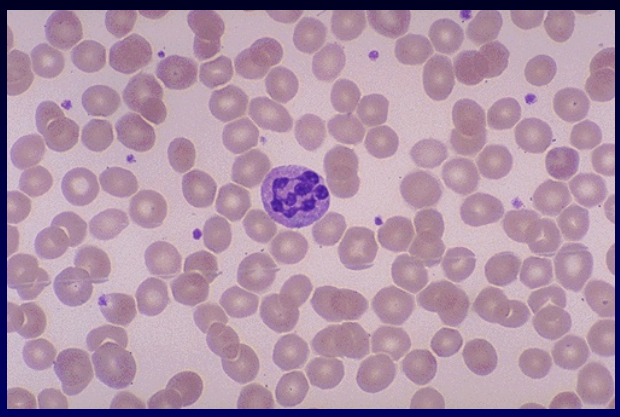
Anemia megaloblastica



Anemia megaloblastica

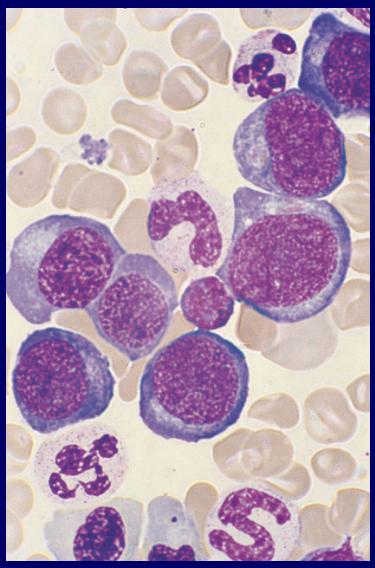
Anemia megaloblastica

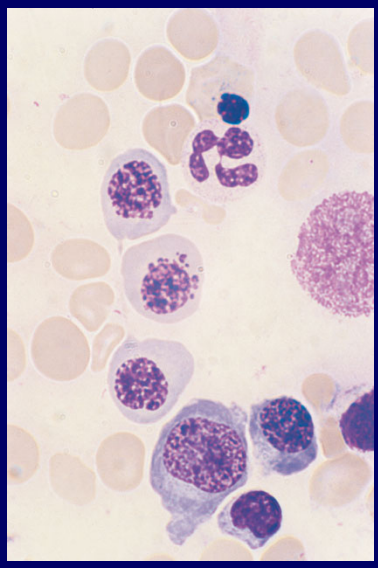


Neutrofilo ipersegmentato con 6-8 lobuli (anziché 4).
Presenza emazie grandi

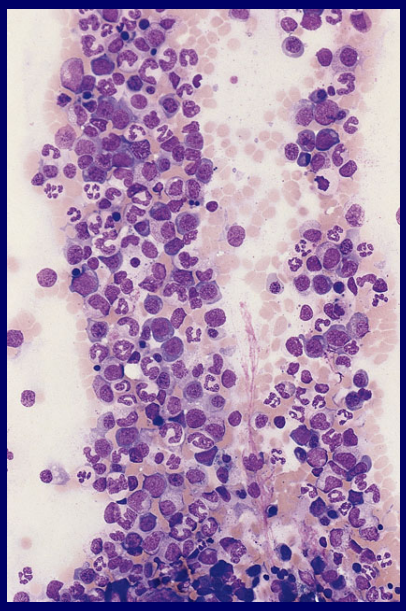
Megaloblasti (midollo)

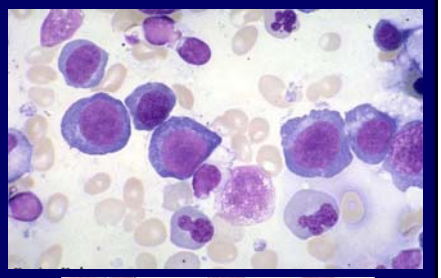
MEGALOBLASTOSI MIDOLLARE

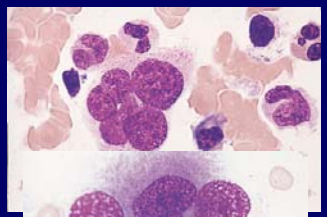


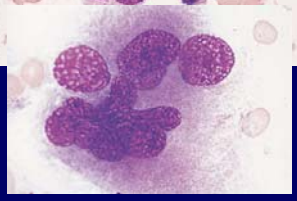


ANEMIE MEGALOBLASTICHE DA DEFICIT DI VIT B12 E FOLATI

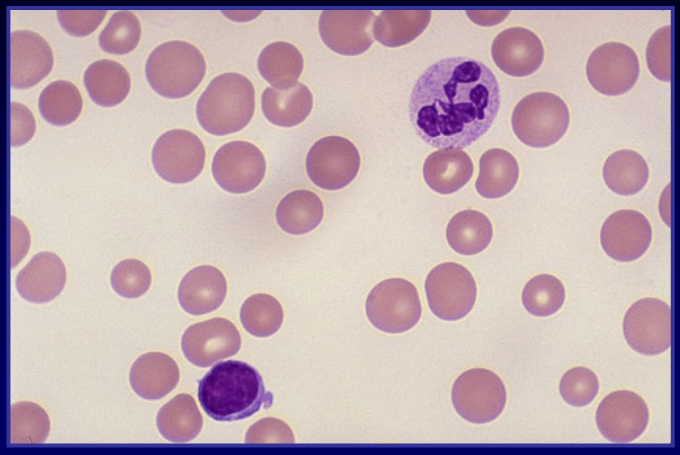






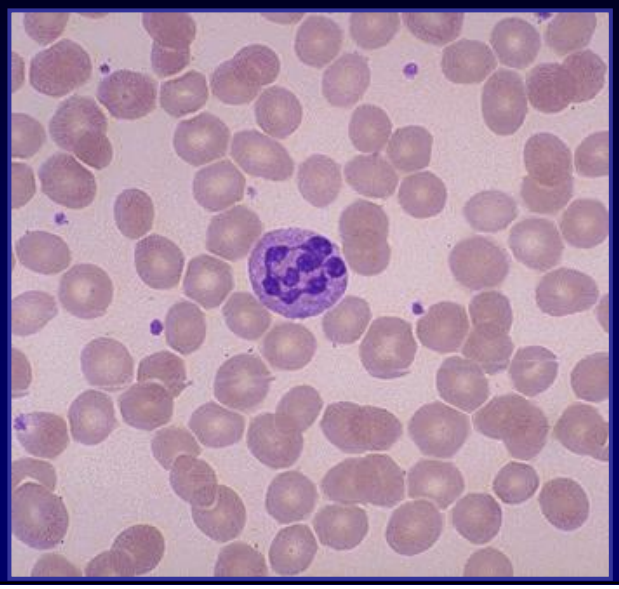


Anemia perniciosa

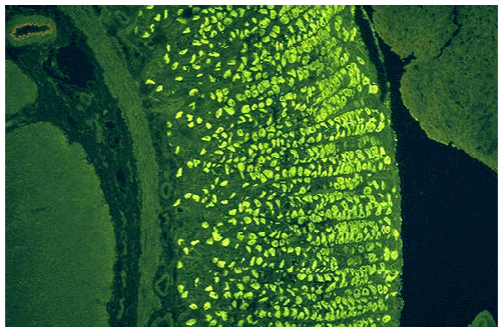


Presenza di macro-ovalociti

Striscio periferico di una anemia macrocitica carenziale:



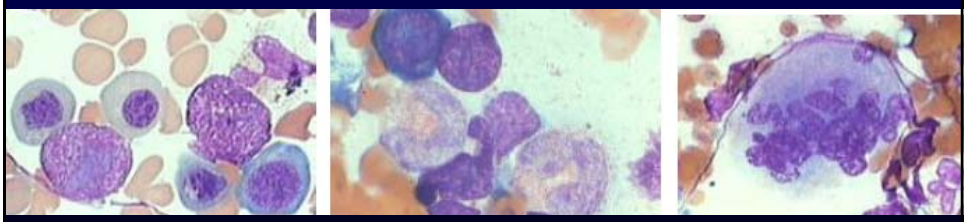
gastrite atrofica da autoanticorpi anti-cellula parietale



Patologie autoimmuni associate: tireopatie – vitiligo – diabete – Addison - ipoparatiroidismo

Aspirato midollare

- Midollo osseo ipercellulare con elevato numero di megaloblasti che sostituiscono i normoblasti (Midollo blu)

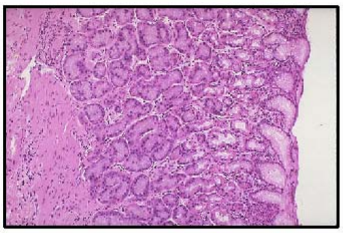


EGDscopia

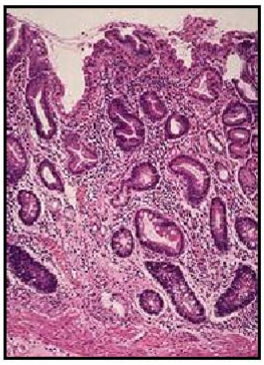
fondo

duodeno

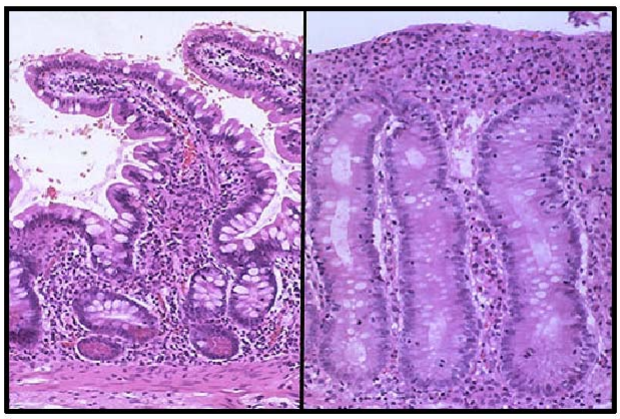
mucosa gastrica normale



mucosa gastrica atrofica



epitelio intestino tenue normale (ileo)



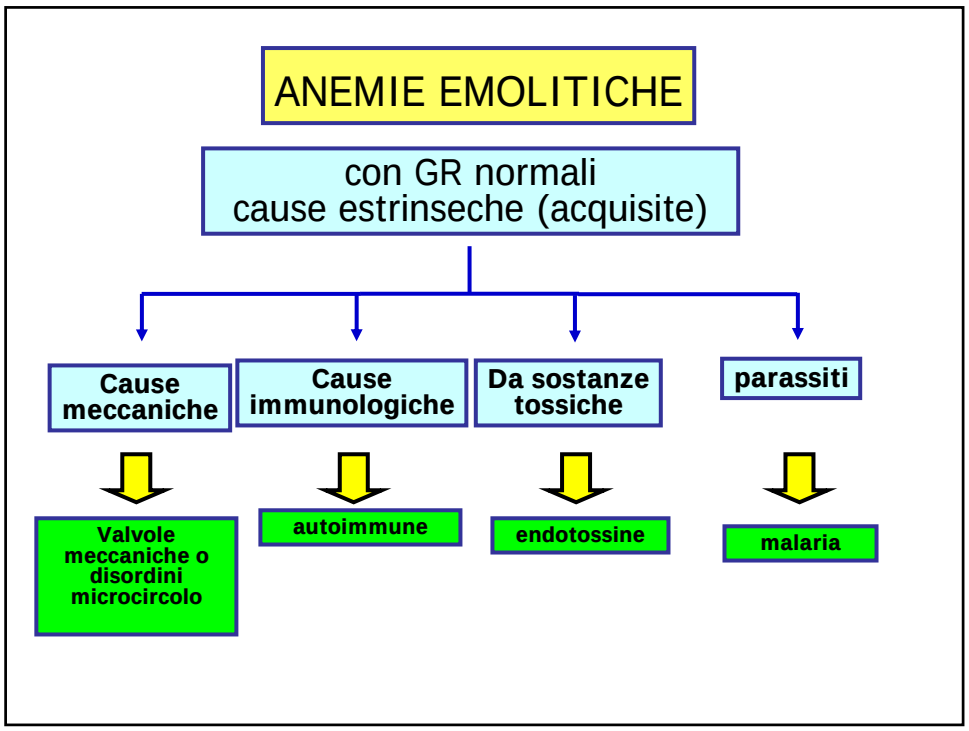
Terapia

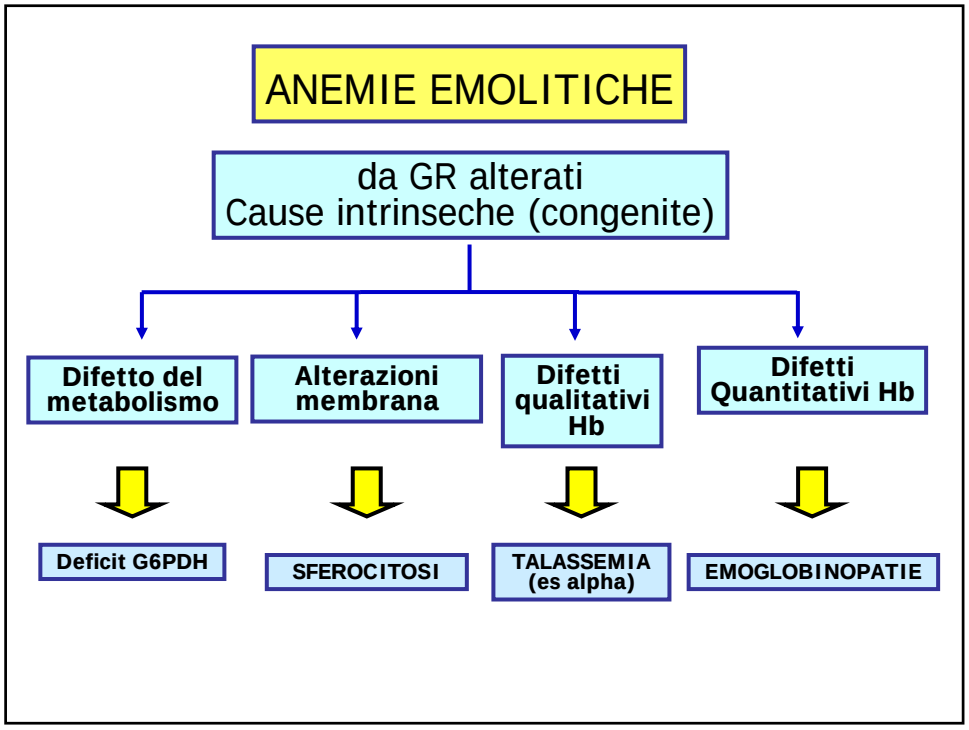
- **Deficit di cobalamina.** La via i.m. (iniezioni settimanali di 1000 mcg i.m. per 8 settimane e poi mensili) è preferita per la sicurezza dell'assorbimento. Non vi sono dimostrazioni di benefici maggiori con regimi più intensi.
- Nei soggetti vegetariani puri: 10 mcg al dì per via orale.
- **Deficit di folati.** Si utilizzano dosi di 1-2 mg/die. Se si tratta con solo folato un deficit di cobalamina si rischio un peggioramento dei sintomi neuropsichici!
- Vita natural durante o fino a rimozione della causa.
- La normalizzazione ematologia può produrre iposideremia: dosaggio durante la terapia.

Prognosi

- Le alterazioni ematologiche sono prontamente regredibili dopo terapia con cobalamina e/o folati: la reticolocitosi comincia al 5° giorno di trattamento, neutrofili e piastrine si normalizzano al 10° giorno. In mancanza di normalizzazione è necessario sospettare un ipotiroidismo o un deficit di ferro.
- In caso di sintomi neuropsichici da deficit di cobalamina la regressione è meno prevedibile. Un miglioramento può osservarsi in giorni o in mesi.
- In caso di anemia perniciosa è necessario indagare la presenza di una forma autoimmune (anticorpi anti-mucosa gastrica, anticorpi anti-F.I.) ed altre immunopatie (anticorpi anti-tiroide...)
- Vi è inoltre un aumento del rischio di carcinoma gastrico, per cui è consigliabile una gastroscopia annuale.

anemia
- sanguinamento (acuto/cronico)
- iporigenerativa
  - progenitori eritroidi (anemia aplastica, CDA, PRCA)
  - sintesi Hb (carenza Fe, talassemia)
  - sintesi di DNA (carenza B12, ac folico)
  - anemia da disordine cronico
  - infiltrazione midollare (mieloftisi)
  - anemia sideroblastica
- aumentata distruzione (emolitica)
  - difetto intrinseco
    - difetti di membrana
    - difetti enzimatici
    - porfirie
    - emoglobinopatie
    - PNH
  - difetto estrinseco
    - AEA
    - agenti fisici o chimici
    - infezioni
    - farmaci
    - ipersplenismo


ANEMIE EMOLITICHE
con GR normali
cause estrinseche (acquisite)
Cause meccaniche
Cause immunologiche
Da sostanze tossiche
parassiti
Valvole meccaniche o disordini microcircolo
autoimmune
endotossine
malaria


ANEMIE EMOLITICHE
da GR alterati
Cause intrinseche (congenite)
Difetto del metabolismo
Alterazioni membrana
Difetti qualitativi Hb
Difetti Quantitativi Hb
Deficit G6PDH
SFEROCITOSI
TALASSEMIA (es alpha)
EMOGLOBINOPATIE

L'ERITROCITO VIVE 120 GIORNI

INVECCHIANDO PERDE CAPACITA' DI GENERARE ENERGIA E QUINDI DI CONTENERE E RIPARARE I DANNI DA STRESS OSSIDATIVO E DI MANTENERE I LIPIDI DI MEMBRANA. NON E' IN GRADO DI RINNOVARE LE PROTEINE DELLA MEMBRANA E DEL CITOSCHELETRO.

L'ERITROCITO VECCHIO DIVENTA RIGIDO, PERDE PLASTICITA' E DEFORMABILITA' E VIENE CATTURATO DAI MACROFAGI: EMOLISI FISIOLOGICA, EXTRAVASCOLARE.

DOVE AVVIENE L'EMOLISI?

OVUNQUE CI SIANO MACROFAGI.

FISIOLOGICAMENTE SOPRATTUTTO NEL MIDOLLO EMOPOIETICO (IL GLOBULO ROSSO NASCE E MUORE NEL MIDOLLO).

IN CONDIZIONI PATOLOGICHE (ERITROCITI MAL FATTI, DANNEGGIATI, RIVESTITI DA ANTICORPI) LA SEDE PRINCIPALE DELL'EMOLISI DIVENTA LA MILZA, PER LA PARTICOLARE STRUTTURA DELLA POLPA ROSSA.

TOGLIERE LA MILZA NON ALLUNGA LA VITA DEGLI ERITROCITI NORMALI, MA PUO' ALLUNGARE LA VITA DI ERITROCITI ANORMALI.

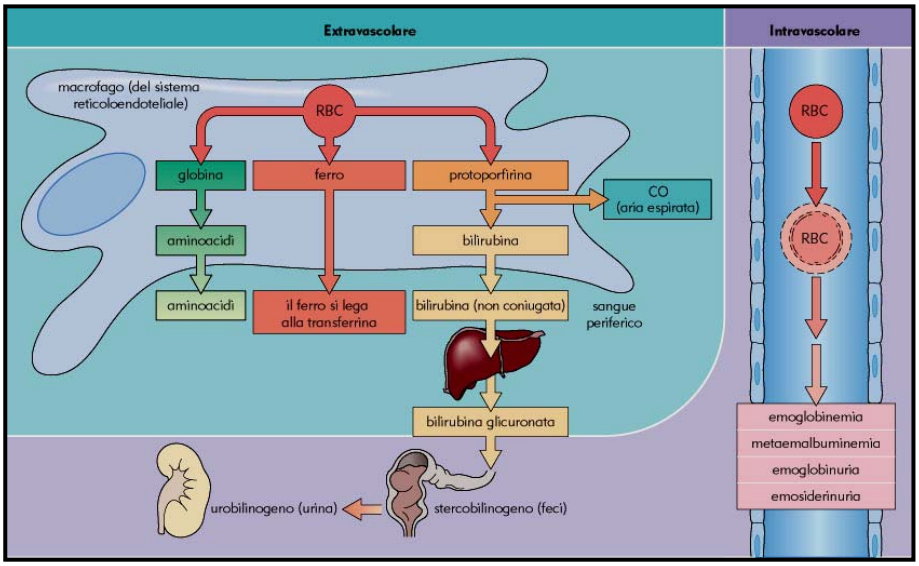
EMOLISI EXTRAVASCOLARE (FISIOLOGICA E PATOLOGICA)

L'ERITROCITO "VECCHIO" O "MALATO" VIENE SEQUESTRATO DAI MACROFAGI.

EMOLISI INTRAVASCOLARE

L'ERITROCITO COLPITO DA UN AGENTE EMOLIZZANTE (PER ES. CON ATTIVAZIONE COMPLETA DELLA CASCATA COMPLEMENTARE) SI "ROMPE" IN CIRCOLO, LIBERANDO EMOGLOBINA (SIERO ROSA, URINE ROSSE → NERE)

emolisi intravascolare ed extravascolare



Approccio all'anemia iperproliferativa

Anemia emolitica:

1. Emolisi extravascolare (presenza di splenomegalia):
   - Coombs positivo: presenza di autoanticorpi caldi farmaci, LES, LLC, LNH, LH) o freddi (infezioni, mononucleosi, LNH)
   - Coombs negativo: sferocitosi, anemia falciforme, cellule spurie (epatopatia)

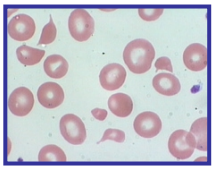
2. Emolisi intravascolare (emo-globinemia e -globinuria)
   - Assenza di aptoglobina
   - EPN (Emglobinuria Parossistica Notturna)
   - Valvole cardiache meccaniche
   - Coagulopatia
   - Ipertensione grave
   - Cause immunologiche

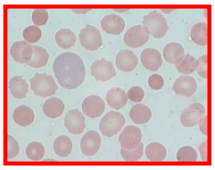
Anemia emolitica:

aumentata distruzione a livello periferico dei RBC per:

- ***emolisi intravascolare***
- ***emolisi extravascolare***

	INTRAVASCOLARE	EXTRAVASCOLARE
striscio periferico	**schistociti**	**sferociti**
aptoglobina	**assente/bassa**	**normale/lieve riduzione**
emoglobina urine	**++**	**assente**
emosiderina urine	**++**	**assente**
Coombs diretto	**negativo**	**positivo**
LDH	**aumentata**	**aumentata**
bilirubina indiretta	**aumentata**	**aumentata**





L'EMOLISI: DALL'EMOGLOBINA ALLA BILIRUBINA

1. L'ERITROCITO VECCHIO O MALATO VIENE FAGOCITATO DAI MACROFAGI.
2. IL FERRO VIENE STACCATO DALL'EME E RIUTILIZZATO (L'EPCIDINA REGOLA LA CAPACITA' DEI MACROFAGI DI RIMETTERE IN CIRCOLAZIONE IL FERRO).
3. IL NUCLEO TETRAPIRROLICO DELL'EME VIENE APERTO E SI FORMA LA BILIRUBINA (PIGMENTO DI COLORE GIALLO-VERDE).

4. LA BILIRUBINA, CHE E' LIPOSOLUBILE MA NON IDROSOLUBILE, CIRCOLA NEL SANGUE LEGATA ALL' ALBUMINA.
5. IL COMPLESSO ALBUMINA-BILIRUBINA VIENE RICONOSCIUTO SUL POLO VASCOLARE DEGLI EPATOCITI. LA BILIRUBINA VIENE INTERNALIZZATA.
6. NELL'EPATOCITO LA BILIRUBINA VIENE "DIGLICURONATA", CIOE' CONIUGATA DUE VOLTE CON ACIDO GLICURONICO, E DIVENTA IDROSOLUBILE.
7. LA BILIRUBINA DIGLICURONATA VIENE ESCRETA SUL POLO BILIARE DELL'EPATOCITA.

8. CANALICOLI BILIARI, DUTTULI BILIARI, DOTTI BILIARI, COLEDOCO (PANCREAS-WIRSUNG), DUODENO.

9. NELL'INTESTINO LA BILIRUBINA SI TRASFORMA IN BILINOGENO E BILINE CHE VENGONO IN GRAN PARTE ELIMINATI CON LE FECI (DONDE IL COLORE SCURO DELLE FECI) E IN PARTE RIASSORBITI. SE IN DUODENO NON ARRIVA BILIRUBINA LE FECI SONO CHIARE, IPOCOLICHE.

10. UNA PICCOLA QUANTITA' DI BILIRUBINA DIRETTA, DI BILINOGENI E DI BILINE VIENE RIASSORBITA, E DAL SANGUE PASSA NELLE URINE (DONDE IL COLORITO VARIABILE DELLE URINE, TANTO PIU' "SCURE" QUANTO MAGGIORE E' IL LORO CONTENUTO DI UROBILINOGENO).

11. EMOLISI PATOLOGICA = PIU' BILIRUBINA = MAGGIOR LAVORO PER GLI EPATOCITI = MAGGIORE ELIMINAZIONE DI BILIRUBINA, BILINOGENI, BILINE = MAGGIOR QUANTITA' DI UROBILINOGENO NELLE URINE (URINE "FLAMMEE").

12. SE LA QUANTITA' DI BILIRUBINA PRODOTTA DALL'EMOLISI ECCEDE LE CAPACITA' DEL FEGATO, LA CONCENTRAZIONE DELLA BILIRUBINA NON CONIUGATA (INDIRETTA) NEL SANGUE AUMENTA: COLORAZIONE GIALLA CUTE, MUCOSE, CONGIUNTIVE = ITTERO.

13. SE LA PROTEINA CHE TRASPORTA LA BILIRUBINA NEGLI EPATOCITI E' DIFETTIVA = IPERBILIRUBINEMIA NON CONIUGATA = GILBERT.

14. SE GLI EPATOCITI SONO DANNEGGIATI, AUMENTANO SIA LA BILIRUBINA NON CONIUGATA CHE QUELLA CONIUGATA (EPATITE).

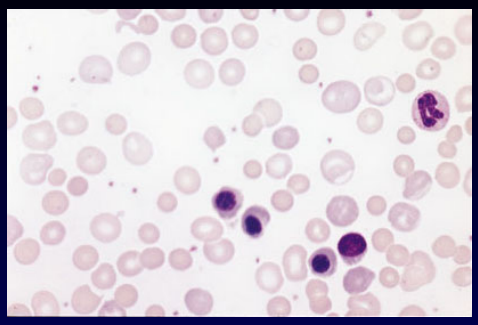
15. SE L'ESCREZIONE DELLA BILIRUBINA DAL POLO BILIARE DEGLI EPATOCITI E' CONTRASTATA (FARMACI) O SE LE VIE BILIARI SONO "CHIUSE" (INFEZIONI, CALCOLI, TUMORI), AUMENTA LA BILIRUBINA CONIUGATA.

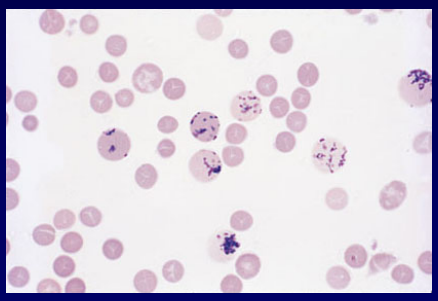
EMOLISI PATOLOGICA - CLINICA

- ITTERO
- URINE IPERCROMICHE
- FECI IPERCROMICHE
- SPLENOMEGALIA
- LITIASI BILIARE

EMOLISI PATOLOGICA - LABORATORIO

- APTOGLOBINA
- BILIRUBINA NON CONIUGATA (INDIRETTA)
- LATTICO DEIDROGENASI (LDH)
- RETICOLOCITOSI (INDICE DI COMPENSO, NON DI EMOLISI)





DISTINZIONE FRA MALATTIA EMOLITICA E ANEMIA EMOLITICA

- SE L'EMOLISI E' COMPENSATA, SI HANNO SEGNI CLINICI E DI LABORATORIO DI EMOLISI, SENZA ANEMIA (MALATTIA EMOLITICA).
- SE L'EMOLISI NON E' COMPENSATA, SI HA ANEMIA EMOLITICA.

CLASSIFICAZIONE DELLE ANEMIE EMOLITICHE

1. CAUSE INTRINSECHE: L'ERITROCITO E' DIFETTOSO.
2. CAUSE ESTRINSECHE: L'ERITROCITO E' NORMALE, MA VIENE "AGGREDITO" DALL'ESTERNO.
3. CAUSE MISTE: L'ERITROCITO E' DIFETTOSO, MA VIENE RIMOSSO (EMOLIZZATO) SOLO IN PRESENZA DI PARTICOLARI CAUSE ESTRINSECHE, CHE NON DANNEGGEREBBERO UN ERITROCITO NORMALE.

CLASSIFICAZIONE DELLE ANEMIE EMOLITICHE

1. ALTERAZIONI DELLA MEMBRANA O DEL CITOSCHELETRO.
2. ALTERAZIONI DELL'EMOGLOBINA.
3. ALTERAZIONI DEGLI ENZIMI (METABOLICHE)
4. ANTICORPI ANTI-ERITROCITI
5. CAUSE MECCANICHE

CLASSIFICAZIONE DELLE ANEMIE EMOLITICHE

- ALTERAZIONI MEMBRANA-CITOSCHELETRO	- SFEROCITOSI, ELLISSOCITOSI - EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA
- ALTERAZIONI DELL'Hb	- Hb INSTABILI - Hb PATOLOGICHE (S, C)
- ALTERAZIONI METABOLICHE (ENZIMI ERITROCITARI)	- GLUCOSIO-6-FOSFATO DEIDROGENASI (G6PDH) - PIRUVATO-KINASI
-ANTICORPI ANTI-ERITROCITI	- ANEMIE EMOLITICHE IMMUNI (AUTO E ALLO)
- CAUSE MECCANICHE	- ANEMIE EMOLITICHE MICROANGIOPATICHE - PROTESI VALVOLARI-VASCOLARI

DIFETTI MEMBRANA ERITROCITA

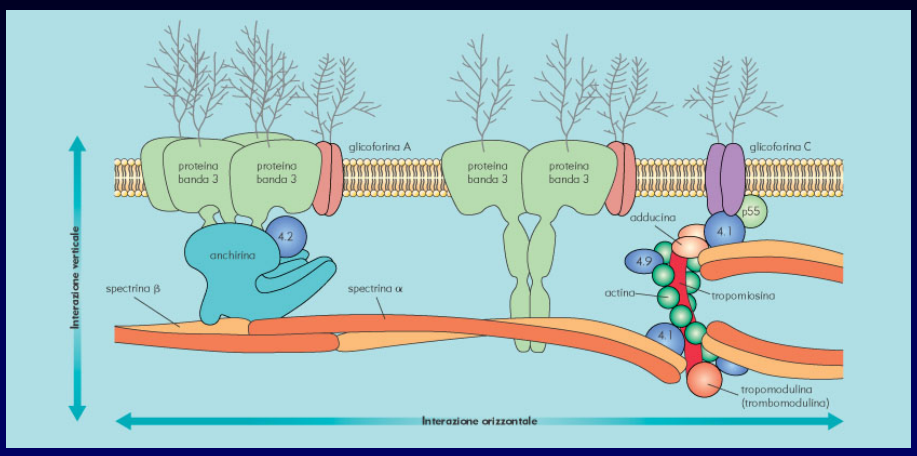
- **Deficit di proteine del citoscheletro sottostante la membrana:**
anchirina, spectrina, proteina 4.1, proteina 4.2

o della membrana stessa:
banda 3.

- **Sferocitosi**
- **Ellissocitosi**
- **Ovalocitosi**
- **Stomatocitosi**

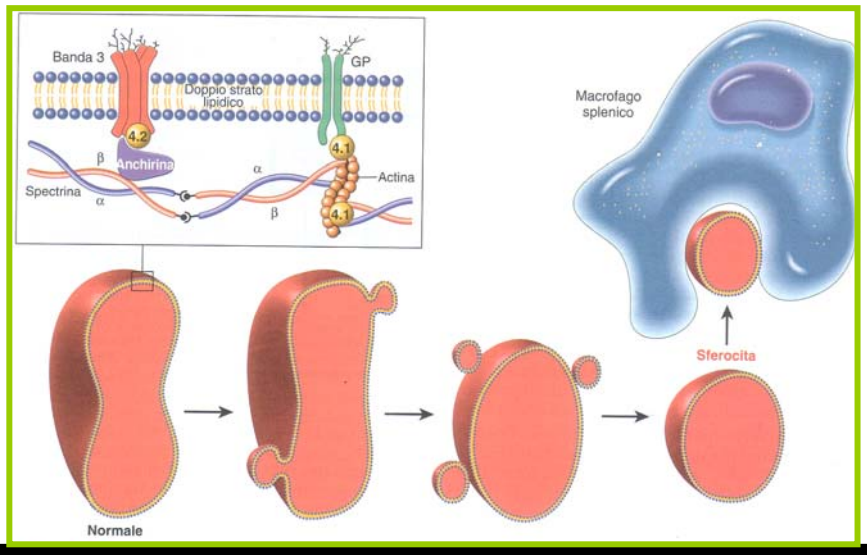
SFEROCITOSI EREDITARIA

- **Più frequente difetto di membrana**
- **Autosomica dominante nel 75% dei casi**
- **Nel 25% casi autosomica recessiva o dominante a penetranza incompleta o neomutazione**
- **Deficit anchirina o spectrina o banda 3 o proteina 4.2**

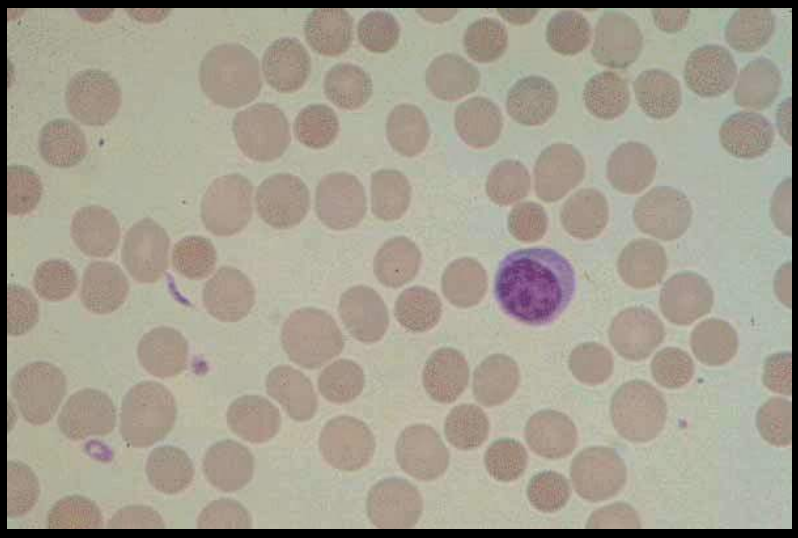


Sferocitosi ereditaria, ellissocitosi ereditaria, ovalocitosi	
Sferocitosi ereditaria	**Ellissocitosi ereditaria**
Deficit di anchirina (>50%) Sostituzione aminoacidica Cambiamento di struttura e mutazioni nonsenso Difetti di splicing Delezioni geniche Traslocazioni bilanciate ***Deficit di spectrina*** Difetti della catena a (raro) Difetti della catena b (non comune) ***Anormalità (5%) della pallidina (proteina 4.2)*** ***Deficit della banda 3 (20%)***	***Anormalità di spectrina*** Difetti della catena a (80%) Difetti della catena b (5%) ***Deficit di proteina 4.1*** *(15%)* ***Ovalocitosi del Sud-Est dell'Asia*** **Difetto della banda 3** (delezione di 9 aminoacidi alla giunzione dei domini citoplasmatico e transmembrana)

Patogenesi della sferocitosi



sferocitosi



SFEROCITOSI EREDITARIA

- Deficit di proteine determina perdita di coesione citoscheletro con strato lipidico soprastante
- Perdita lipidi, riduzione superficie e assunzione di forma sferica
- Eritrociti sferici trattenuti nei capillari splenici.
- Emolisi cronica.
- Sopravvivenza eritrocitaria variamente ridotta.

SFEROCITOSI EREDITARIA

QUADRO CLINICO – EMATOLOGICO

- Anemia di gravità variabile: da casi asintomatici (Hb ~ 11 g/dl) a casi gravi con dipendenza trasfusionale.
- Reticolocitosi spiccata.
- Segni di emolisi: iperbilirubinemia indiretta, ↑ LDH e urobilinogeno, ↓ aptoglobina.
- Splenomegalia e calcolosi biliare.
- Raramente "crisi aplastiche": per deficit folati o infezione da parvovirus blocco temporaneo dell' eritropoiesi con grave anemizzazione.

SFEROCITOSI EREDITARIA

DIAGNOSI

- Segni di anemia emolitica iperrigenerativa normo-microcitica.

- Morfologia eritrocitaria.

- Ipersensibilità eritrocitaria alla lisi osmotica.

- Analisi proteine di membrana

SFEROCITOSI EREDITARIA

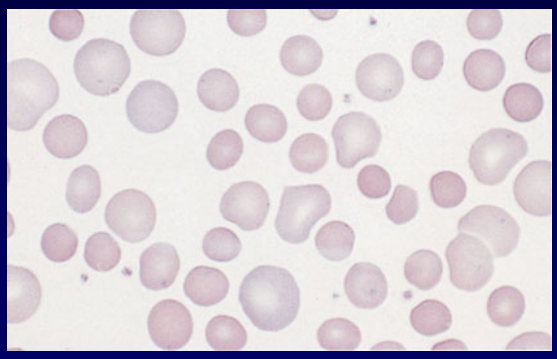
TERAPIA

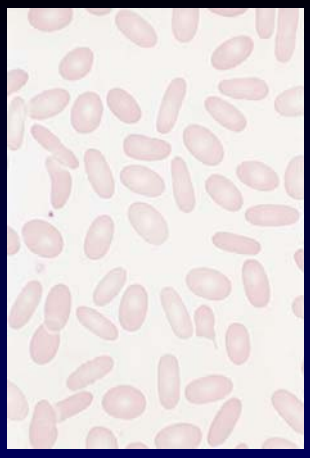
SPLENECTOMIA: migliora nettamente la sopravvivenza eritrocitaria.

Praticata dopo i 20 anni se anemia moderata (aumenta rischio di sepsi da meningococco, pneumococco, hemophilus, soprattutto in età infantile).

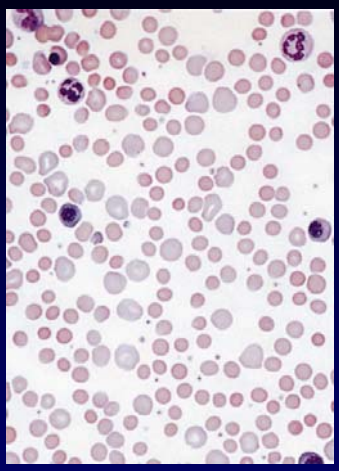
Splenectomia nell' infanzia solo se anemia grave, previa vaccinazione contro i suddetti batteri.

sferocitosi

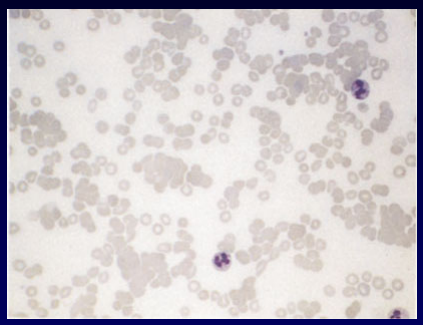




ellissocitosi



EBOC, macrociti e sferocitosi



Autoagglutinazione delle emazie

EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA

- ANEMIA EMOLITICA CRONICA, ACQUISITA
- DIFETTO GENE PigA – "DIFETTO DI ANCORA" (FOSFATIL INOSITOLO)
- DIFETTO DI ANCORAGGIO ALLA MEMBRANA ERITROCITARIA DI ALCUNE PROTEINE CHE "PROTEGGONO" DALLA LISI COMPLEMENTARE (CD55, CD59)
- EMOLISI PREVALENTEMENTE INTRAVASCOLARE
- URINE NERE
- COMPLICANZE TROMBOTICHE
- LABORATORIO: CD55, CD59 SU ERITROCITI E LEUCOCITI, TEST DELL'EMOLISI ACIDA (TEST DI HAM)
- TERAPIA: SUPPORTO E ?

Emoglobinuria Parossistica Notturna (EPN/PNH)

Malattia acquisita monoclonale determinante 3 differenti popolazioni di cellule staminali (PNH-I, PNH-II e PNH-III). Il tipo PNH-I rappresenta la CS normale

Il clone anomalo si espande sostituendosi alla normale ematopoiesi, ma non ha tendenze a trasformazione oncologica

Essa è caratterizzata da anemia emolitica acquisita determinata da un difetto intrinseco delle emazie

Manifestazioni cliniche della PNH

1. Emolisi intravascolare cronica
2. Emoglobinuria (prevalente la notte per alterazioni del PH fisiologico dovuto alla ipoventilazione ed alterazioni del metabolismo del NO)
3. Trombosi venose (raramente arteriose)
4. Disfagia, dolori addominali, letargia
5. Associazione con l'anemia aplastica

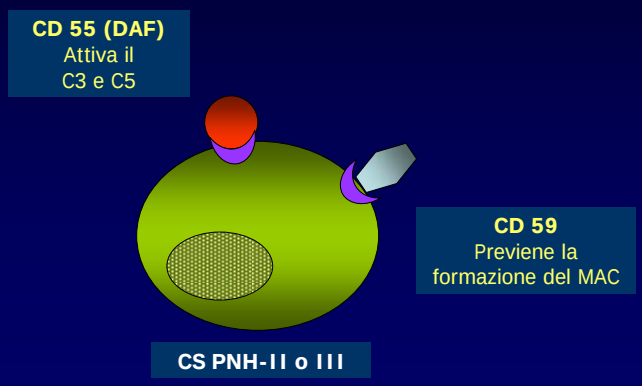
Deficit delle Glicoproteine di ancoraggio (GPI)

Antigeni localizzati sulle membrane cellulari caratterizzate da una struttura di glusosil-fosfatidil-inositolo (GPI)

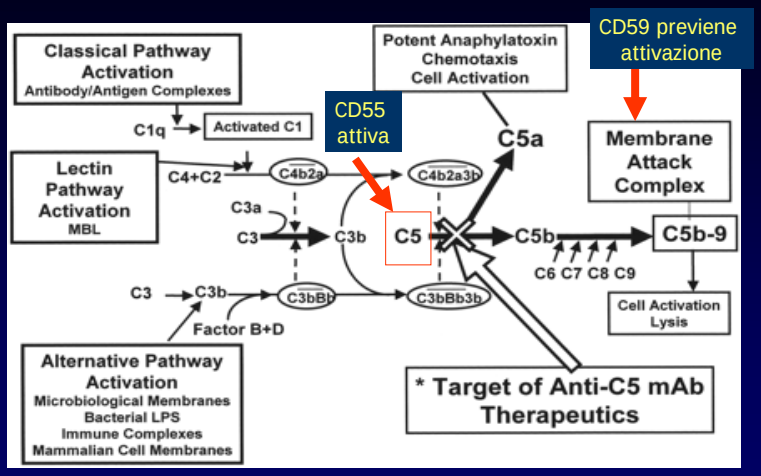
Nella PNH si ha la mutazione di un singolo gene alterando la sintesi di GPI e determinante il fenotipo PNH

L'emolisi dipende da una eccessiva attivazione del complemento per alterazione del controllo tra GPI e complemento

GPI-linked antigen

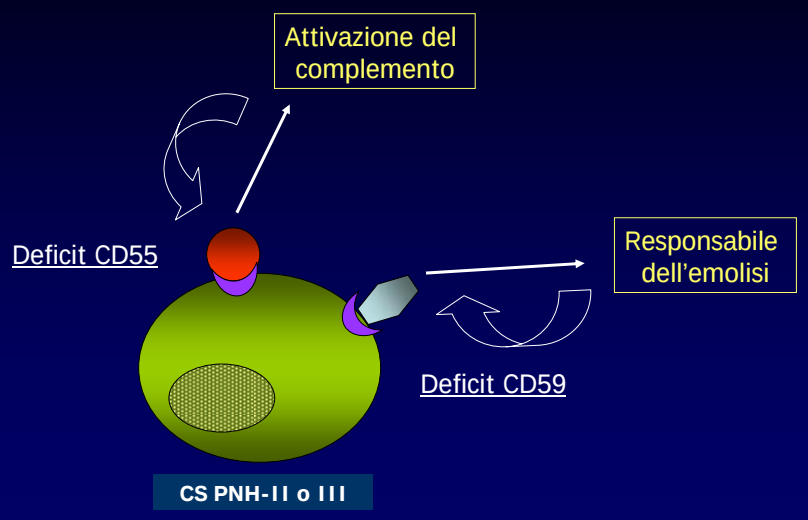


The complement cascade



Inherited deficiencies prior to C5 result in recurrent pyogenic infections and autoimmune disorders, whereas deficiencies after C5 have remarkably little effect except for an increased risk of infection by encapsulated organisms

GPI-linked antigen



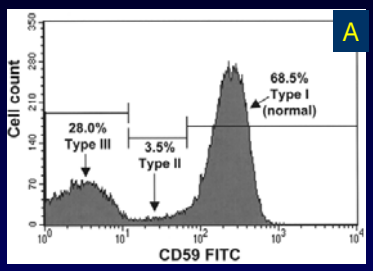
Fisiopatologia della PNH

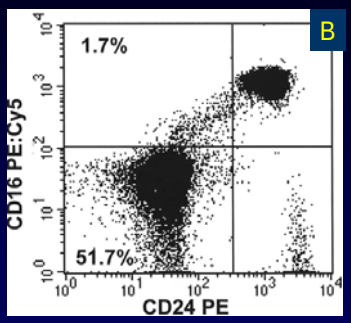
La comparsa della PNH richiede due condizioni:

1. Lo sviluppo di un clone senza GPI (GPI-deficient) che si sviluppa in una cellula staminale multipotente

2. Un secondo evento che incoraggia l'espansione di tale clone a scapito della ematopiesi normale (che comunque in parte rimane). Tale meccanismo non è chiaro ma sembra essere in relazione all'associazione PNH/AA

Flow cytometry to diagnose paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and to quantitate the clone

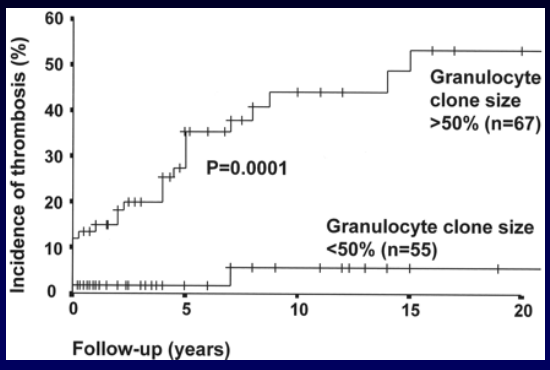




A. Demonstrates a population comprising 28% of the red cells that are completely deficient in CD59 (and other glycosylphosphatidylinositol (GPI)–linked antigens) and a second abnormal population of partially deficient red cells comprising 3.5% of the total.

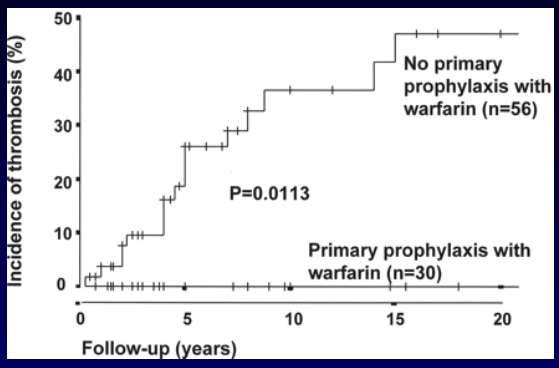
B. Demonstrates the lack of more than one GPI-linked antigen (CD16 and CD24) from the same patient's granulocytes.

Effect of glycosylphosphatidylinositol (GPI)-deficient granulocyte clone size on incidence of venous thrombosis



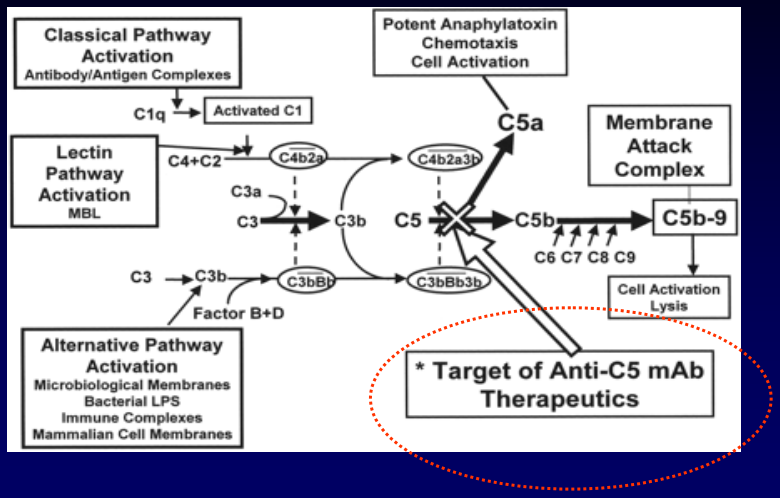
When primary prophylaxis patients are excluded, the 10 year cumulative incidence rate of thrombosis in patients with PNH granulocyte clone size of >50% is 44%, compared with a thrombosis rate of 5.8% in those with clone size of <50% ($P < 0.01$)

Effect of warfarin prophylaxis on venous thrombosis in patients with PNH granulocyte clone sizes of > 50%



The 10-year cumulative incidence rate of venous thrombosis in patients with PNH granulocyte clones of >50%, not presenting with thrombosis and not taking warfarin is 36.5%. In comparison, the current thrombosis rate is 0% in patients taking primary prophylaxis (*P* = 0.01)

The complement cascade and Eculizumab



DEFICIT GLUCOSIO-6-FOSFATO-DEIDROGENASI

GLUCOSIO-6-FOSFATO → G-6-PDH → 6-FOSFOGLUCONATO

NADP+ → NADPH

GSSG → GLUTATIONE REDUTTASI + NADPH → GSH

H_2O_2 → GLUTATIONE PEROSSIDASI + GSH → H_2O_2

G-6-PDH E' NECESSARIA PER RIGENERARE IL GLUTATIONE RIDOTTO CHE E' UNA COMPONENTE NECESSARIA DEL SISTEMA DI PROTEZIONE DALLO STRESS OSSIDATIVO (PROTEZIONE DEI GRUPPI SULFIDRILICI-SH DELL'Hb E DELLE PROTEINE DELLA MEMBRANA E DEL CITOSCHELETRO)

DEFICIT GLUCOSIO-6-FOSFATO-DEIDROGENASI (G-6-PDH)

IL GENE E' SUL CROMOSOMA X

MASCHI EMIZIGOTI

FEMMINE ETEROZIGOTI O OMOZIGOTI

PIU' DI 300 MUTAZIONI - G-6-PDH A- (AFRICA-AMERICHE)

- G-6-PDH MEDITERRANEA

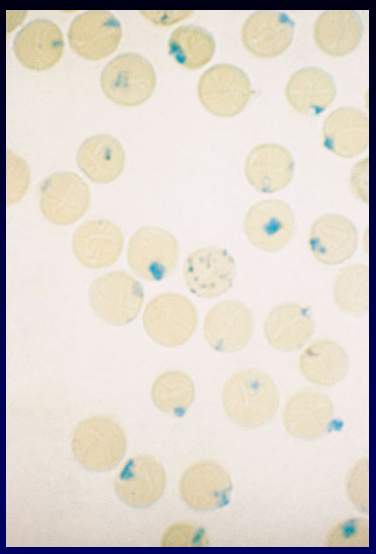
DEFICIT GLUCOSIO-6-FOSFATO-DEIDROGENASI (G-6-PDH)

MALATTIA EMOLITICA CRONICA, CON CRISI EMOLITICHE PROVOCATE DALL'ESPOSIZIONE AD AGENTI OSSIDANTI

- FARMACI (PRIMACHINA)
- FAVISMO

L'Hb PRECIPITA – SI FORMANO I CORPI DI HEINZ – GLI ERITROCITI DIVENTANO "RIGIDI" E SONO SEQUESTRATI DAI MACROFAGI.

Deficit di G6PD	
Farmaci che possono causare anemia emolitica in soggetti con deficit di G6PD	**Farmaci che possono essere somministrati a soggetti con deficit di G6PD e senza NSHA**
Antimalarici Pirimetamina con sulfadossina (Fansidar) Pirimetamina con dapsone (Maloprim) Primachina ?Clorochina **Sulfonamidi** Sulfametossazolo, Altri sulfonamidi **Sulfoni** Dapsone, Tiazolosulfone **Altri composti antibatterici** Nitrofurantoina, Acido nalidixico **Antielmintici** Beta-naftolo **Miscellanea** ?Vitamina K, Naftalene (palline antitarma) Blu di metilene Doxorubicina, rasburicasi	Acido ascorbico Aspirina Colchicina Isoniazide Menadiolo Fenitoina Probenecid Procainamide Pirimetamina Chinidina Chinino Trimetoprima
? - C'è qualche dubbio su questi composti	



Deficit 6-GPDH: corpi di Heinz

DEFICIT PIRUVATO CHINASI

- DIFETTO PIRUVATO CHINASI *
- DIFETTIVA PRODUZIONE DI ATP
- ANEMIA EMOLITICA CRONICA
- LABORATORIO: DOSAGGIO ENZIMA
- TERAPIA: SPLENECTOMIA

* ULTIMA "TAPPA" DELLA GLICOLISI ANAEROBICA (EMBDEN-MEYERHOF)

FOSFOENOLPIRUVATO → LATTATO

ADP → ATP

ANTICORPI ANTI ERITROCITARI

ANTICORPI NATURALI	AGGLUTININE ANTI-A E ANTI-B RESPONSABILI REAZIONI TRASFUSIONALI IN CASO DI INCOMPATIBILITA' (ERRORE)
(ISO) ANTICORPI ACQUISITI	CON GRAVIDANZE, EMOTRASFUSIONI. SONO ANTICORPI DIRETTI CONTRO ANTIGENI DI GRUPPO. POSSONO ESSERE RESPONSABILI DI REAZIONI TRASFUSIONALI ("PROVA CROCIATA")
AUTOANTICORPI	ANTICORPI GRUPPO-SPECIFICI (ANTI-Rh, ANTI-i, ANTI-I PRODOTTI DALL'ORGANISMO CONTRO I SUOI STESSI ERITROCITI (MALATTIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI)

EMOLISINE, AGGLUTININE, ANTICORPI COMPLETI E INCOMPLETI, ANTICORPI CALDI, FREDDI E BIFASICI

MALATTIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI (MEA)

LA DIAGNOSI

- ANEMIA, ITTERO, URINE IPERCROMICHE, FECI IPERCROMICHE
- (SPLENOMEGALIA)
- ANEMIA DI GRADO VARIABILE, CON RETICOLOCITOSI
- APTOGLOBINA, BILIRUBINA, LDH
- TEST DI COOMBS

IL TEST DI COOMBS

DIRETTO – ERITROCITI PAZIENTE + SIERO DI COOMBS.

SE GLI ERITROCITI SONO "COPERTI" DA ANTICORPI (Ig), IL SIERO DI COOMBS LI FA' AGGLUTINARE – RIVELA ANTICORPI ADESI AGLI ERITROCITI

INDIRETTO – ERITROCITI NORMALI + SIERO PAZIENTE + SIERO DI COOMBS.

SE IL SIERO DEL PAZIENTE CONTIENE ANTICORPI ANTI-ERITROCITI, QUESTI SI AGGLUTINANO. RIVELA ANTICORPI NEL SIERO.

IL "SIERO DI COOMBS" CONTIENE ANTICORPI ANTI-Ig E ANTI-C.

MEA

ANTICORPI "CALDI" (SI FISSANO SUGLI ERITROCITI A +37° C) E "INCOMPLETI" (NON DETERMINANO EMOLISI INTRAVASCOLARE) - CLASSE IgG-

- MEA IDIOPATICHE*
- MEA ASSOCIATE / SECONDARIE - ALTRE MALATTIE AUTOIMMUNI (LES)
  - SINDROMI LINFOPROLIFERATIVE E LINFOMI

* TERAPIA: CORTICOSTEROIDI, FARMACI IMMUNOSOPPRESSORI

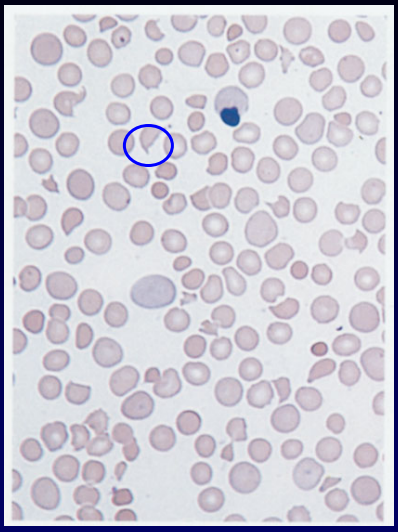
MEA

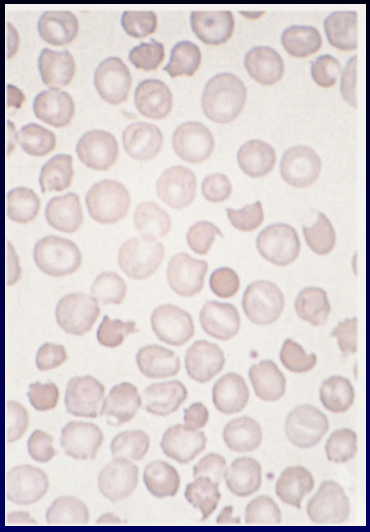
ANTICORPI "FREDDI" O "BIFASICI" – "INCOMPLETI" (EMOLISI EXTRAVASCOLARE) O "COMPLETI" (EMOLISI INTRAVASCOLARE) – USUALMENTE IgM

- POLICLONALI – MEA ASSOCIATE A INFEZIONI
- MONOCLONALI – MALATTIA DA AGGLUTINE "FREDDE"
- EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA A FRIGORE (IgG ANTI-P)

MALATTIE EMOLITICHE

- IL COLORE DELLA CUTE E DELLE MUCOSE (PALLORE E ITTERO)
- IL COLORE DELLE URINE (IPERCROMIA)
- IL COLORE DELLE FECI (IPERCROMICHE)
- APTOGLOBINA, BILIRUBINA, LDH
- RETICOLOCITI
- DIAGNOSI DIFFERENZIALE CON LE MALATTIE EPATO-BILIARI





Anisopoichilocitosi, schistociti