

Le cellule del sangue

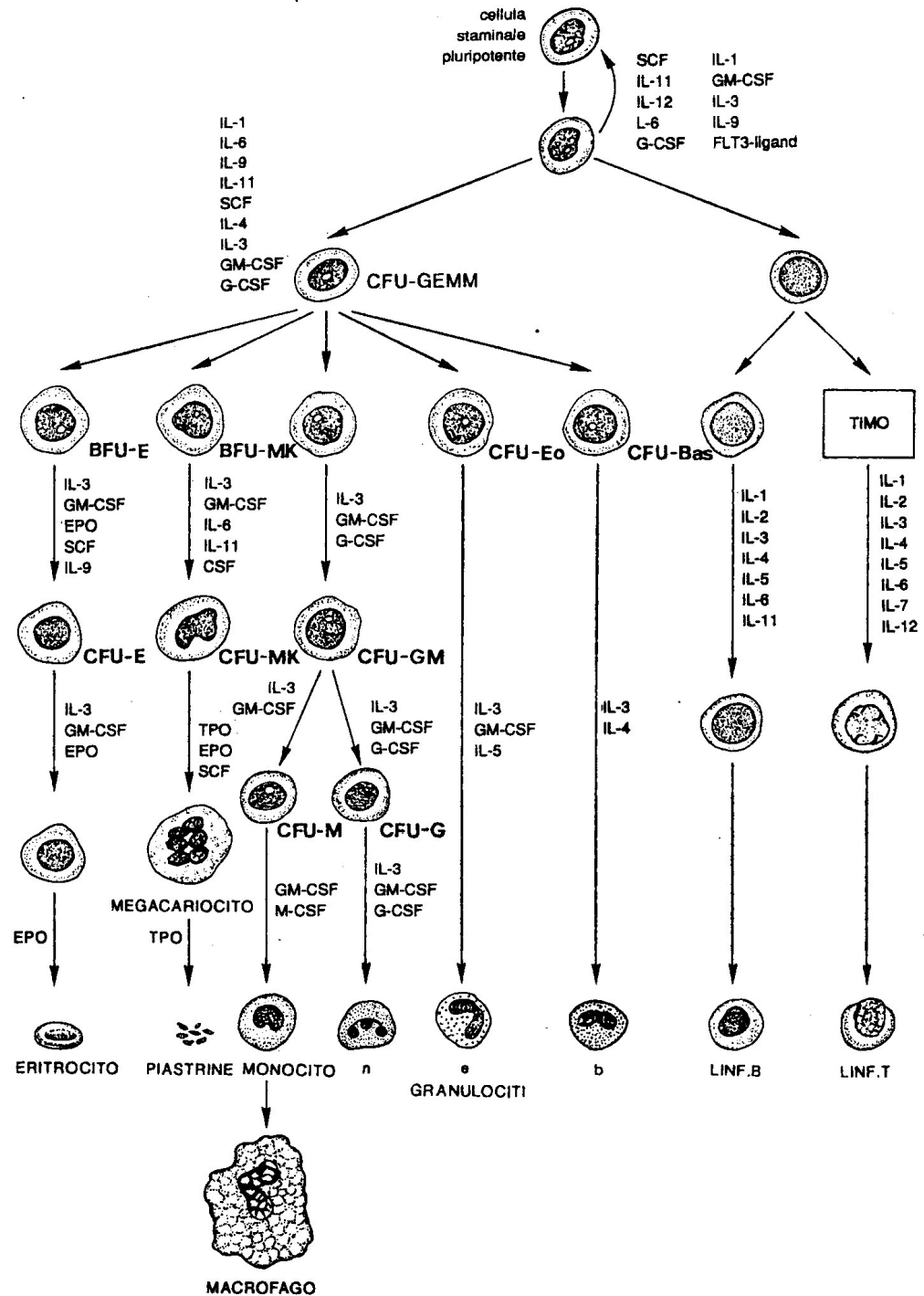
I GLOBULI ROSSI

I GLOBULI BIANCHI

- Polimorfonucleati (granulociti)
 - neutrofili
 - eosinofili
 - basofili
- Monociti
- Linfociti
 - linfociti B
 - linfociti T

LE PIASTRINE

Origine delle cellule del sangue



Argomenti in discussione

La classificazione delle neoplasie ematologiche.

Gli esami e i percorsi diagnostici e i problemi ad essi correlati.

Gli strumenti e i percorsi terapeutici e i problemi ad essi correlati.

Le malattie ematologiche più comuni

LE ANEMIE

Molte cause: perdita, emolisi, difetti genetici, carenze di ferro vitamine, ridotta produzione midollare tra cui le neoplasie ematologiche.

LE PIASTRINOPENIE

Da causa periferica particolarmente immunologica, ma anche ridotta produzione midollare tra cui le neoplasie ematologiche.

LE PANCITOPENIE

LE NEOPLASIE EMATOLOGICHE

Le neoplasie ematologiche

LE LEUCEMIE ACUTE

Linfoidi e non linfoidi

LE MALATTIE MIELOPROLIFERATIVE

- Le sindromi mieloproliferative croniche
- Le sindromi mielodisplastiche
- Le forme mielodisplastiche/mieloproliferative

LE MALATTIE LINFOPROLIFERATIVE

- Linfomi
- Leucemie linfatiche
- Mieloma

La classificazione morfologica delle leucemie acute

LEUCEMIE ACUTE LINFOIDI

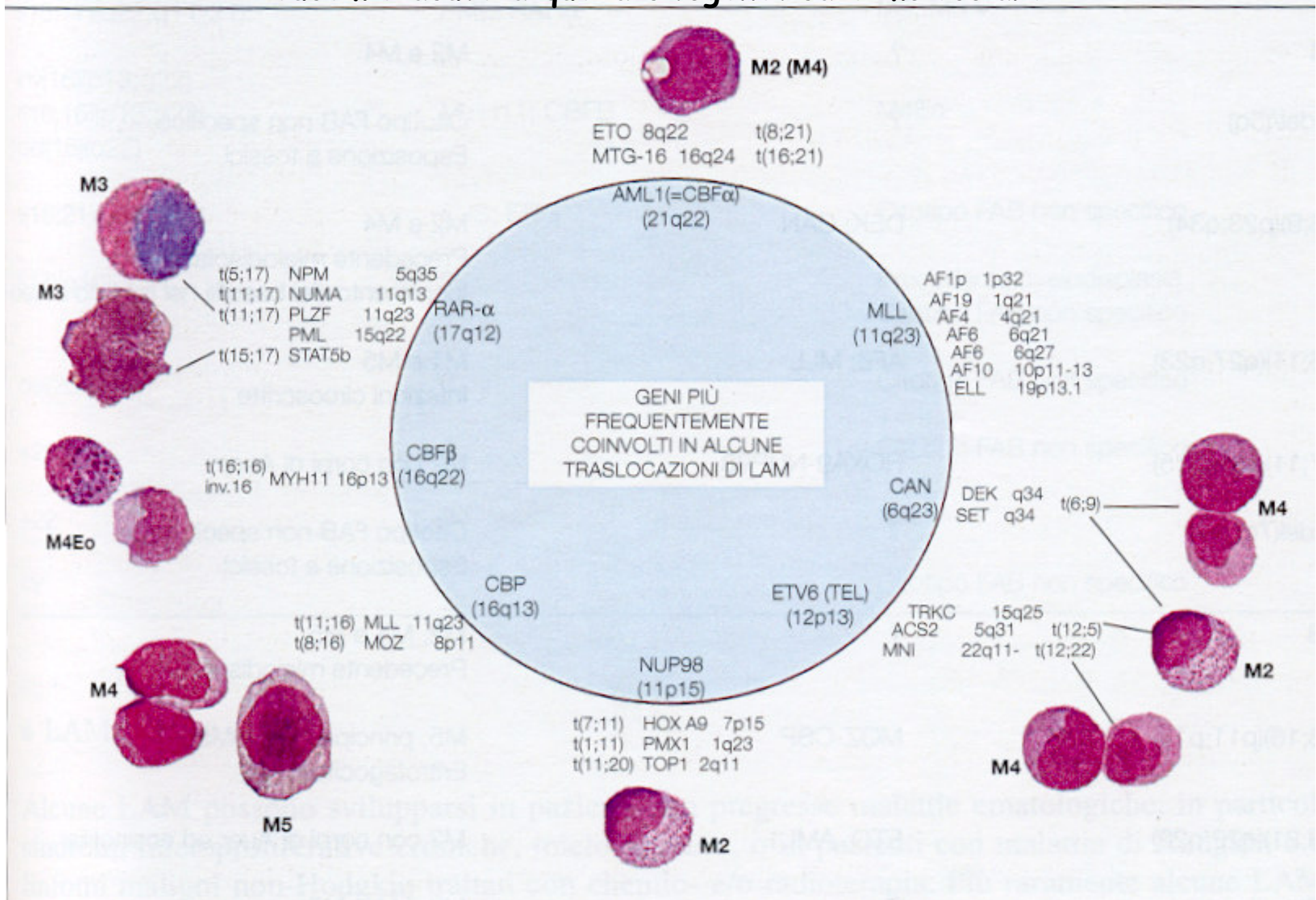
- L1
- L2
- L3 (Burkitt)

LEUCEMIE ACUTE NON LINFOIDI

- M0 (indifferenziata)
- M1 (mieloblastica)
- M2 (mieloblastica con maturazione)
- M3 (promielocitica)
- M4 (mielomonocitica)
- M5 (monoblastica)
- M6 (eritroleucemia)
- M7 (megacariocitica)

LEUCEMIE ACUTE BIFENOTIPICHE

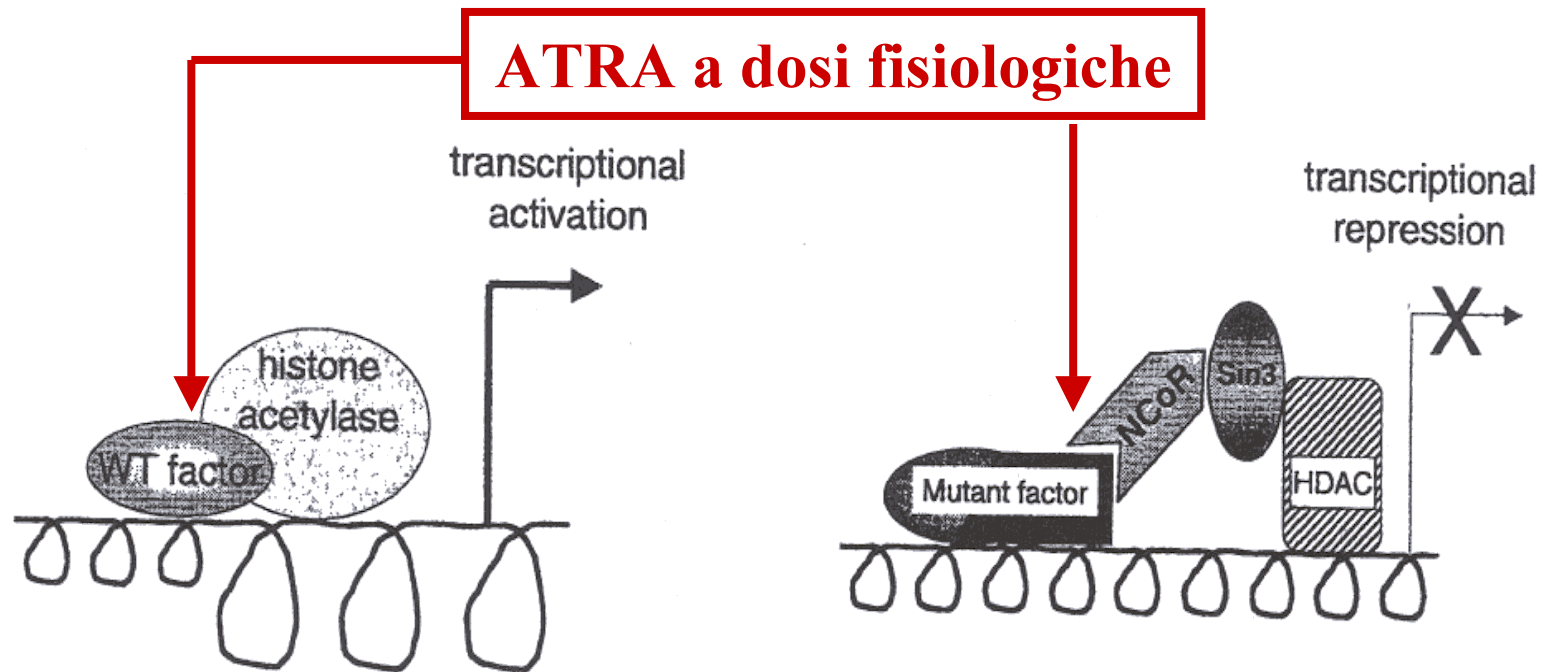
Dalla classificazione morfologica e fenotipica delle leucemie acute a quella citogenetica e molecolare



M3: un esempio di leucemia acuta con difetto molecolare noto e terapia molecolare possibile

M3 classica : t(15;17)(q21;q11) \Rightarrow gene di fusione PML1-RAR α

M3 variante: t(11;17)(q11;q11) \Rightarrow gene di fusione PLZF-RAR α



Classificazione delle malattie mieloproliferative croniche

LE FORME MIELOPROLIFERATIVE CLASSICHE

- Leucemia mieloide cronica
- Mielofibrosi idiopatica
- Trombocitemia essenziale
- Policitemia vera

LE FORME MIELODISPLASTICO-MIELOPROLIFERATIVE

- Leucemia mielomonocitica cronica
- Leucemia mieloide cronica atipica
- Leucemia mielomonocitica giovanile

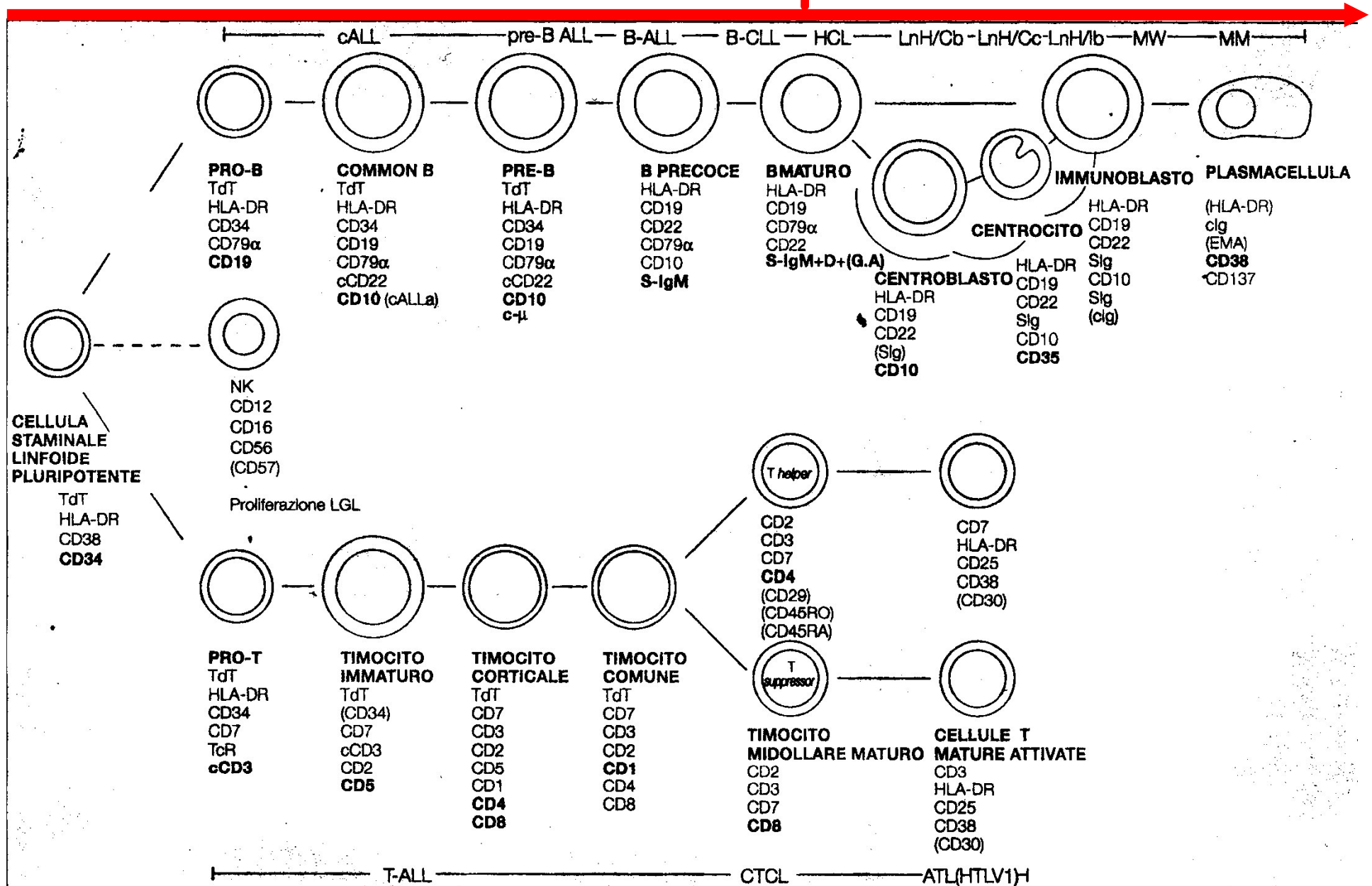
Le sindromi mielodisplastiche: gruppo eterogeneo di malattie accomunate da

- Citopenia mono o plurilineare non causata da aplasia midollare o da infiltrazione da parte di malattie linfocitarie o mieloproliferative.
- Tendenza alla trasformazione leucemica.
- Anomalie differenziative :
 - morfologica \Rightarrow displasia
 - funzionale \Rightarrow alterazioni funzionali
 - maturativa \Rightarrow emopoiesi inefficace

La classificazione WHO delle sindromi mielodisplastiche

- RA : anemia refrattaria
 - - con sideroblasti (RARS)
 - - senza sideroblasti
- RCMD: citopenia refrattaria con displasia multil.
- RAEB: anemia refrattaria con eccesso di blasti
- **Sindrome del 5q-**
- Sindrome mielodisplastica inclassificabile

Maturazione dei linfociti e classificazione delle malattie linfoproliferative



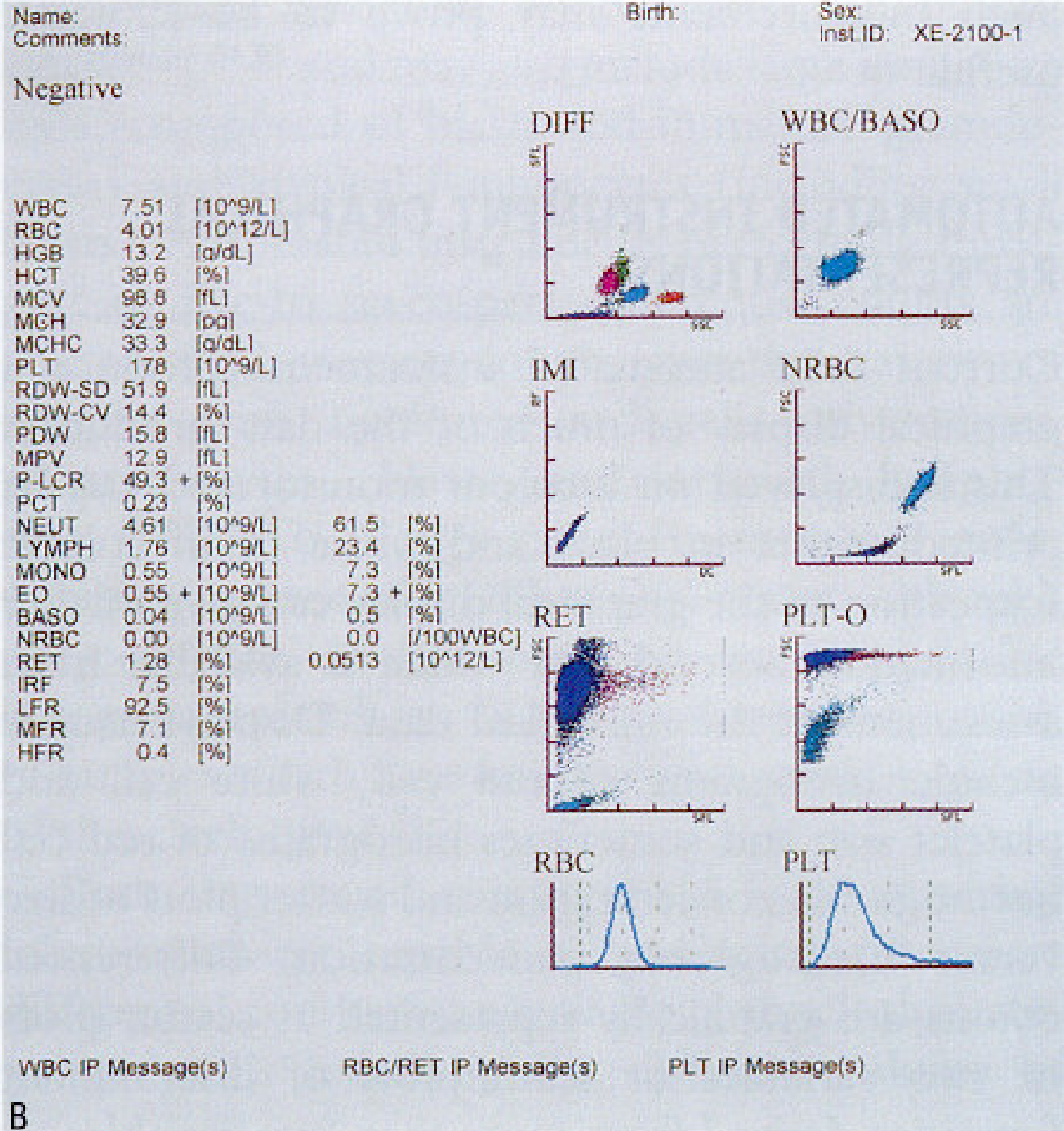
L'iter diagnostico delle neoplasie ematologiche: il sospetto diagnostico

- l'abituale aspecificità dei sintomi iniziali
 - astenia (anemia)
 - diatesi emorragica (piastrinopenia)
 - infezioni (neutropenia)
- in alcuni casi adenopatie o splenomegalia
- la possibile urgenza diagnostica per
 - attività proliferativa e rapidità evolutiva
 - gravità di sintomi correlati
 - emorragie
 - infezioni
 - fenomeni compressivo-infiltrativi

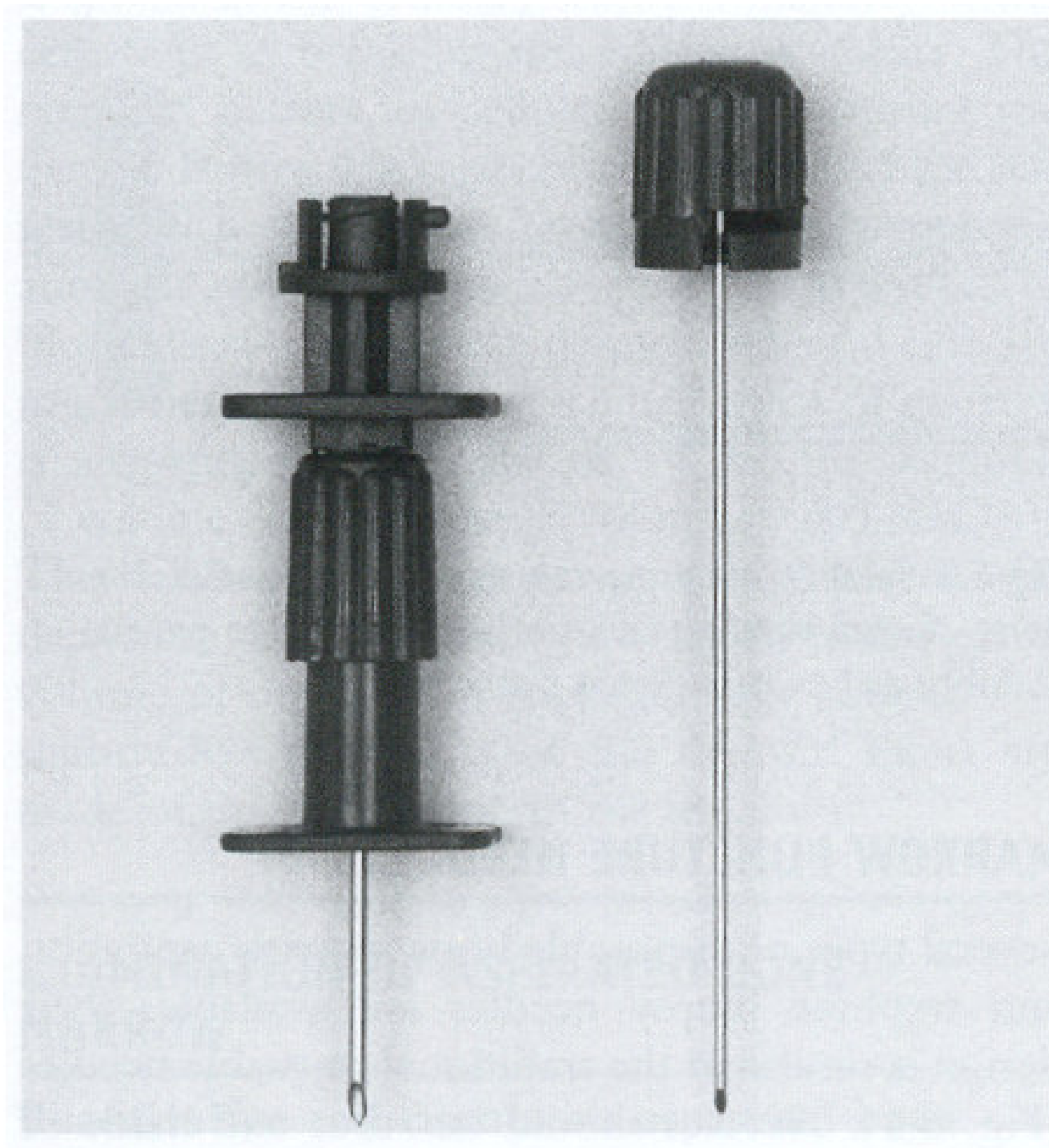
L'iter diagnostico delle neoplasie ematologiche: gli esami utili

- l'emocromo con formula
- l'aspirato midollare
- lo studio istologico della biopsia osteomidollare
- lo studio istologico della biopsia linfonodale
- lo studio citofluorimetrico dell'immunofenotipo
- lo studio delle anomalie citogenetiche (cariotipo e FISH)
- lo studio delle anomalie molecolari

Informazioni offerte dall'emocromo



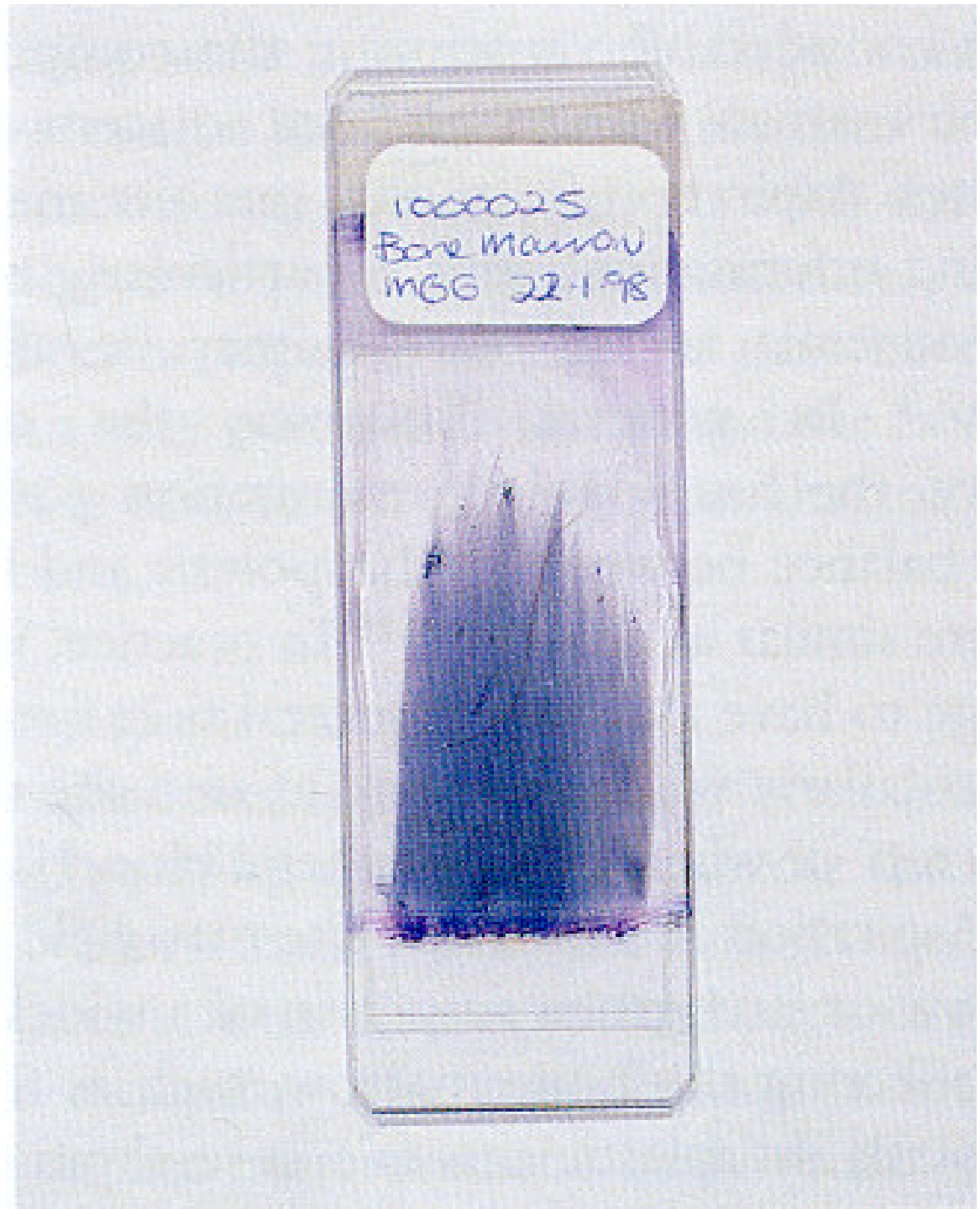
**Ago da
aspirato
midollare**



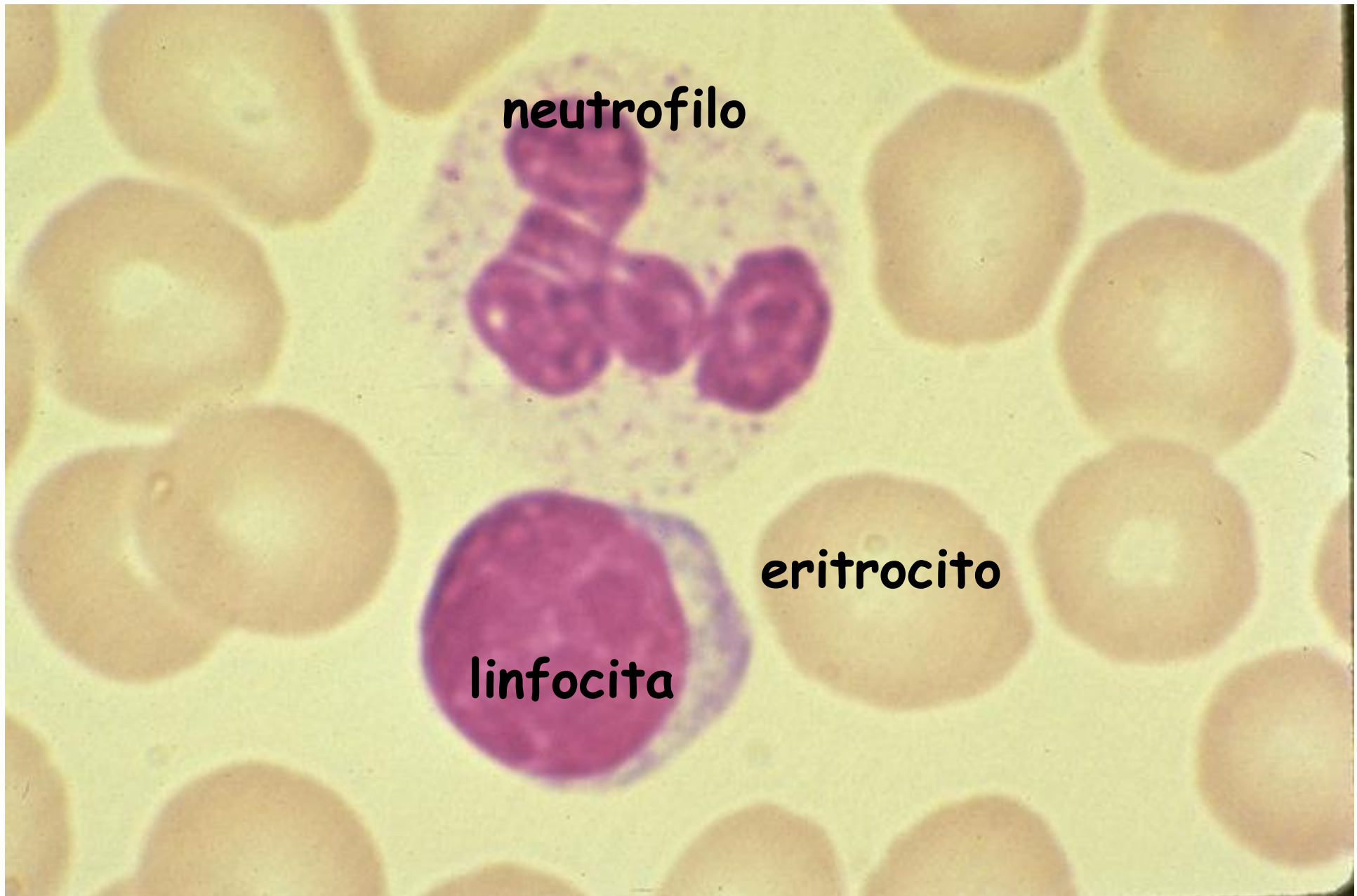
**Ago Jamshidi
da biopsia
osteomidollare**



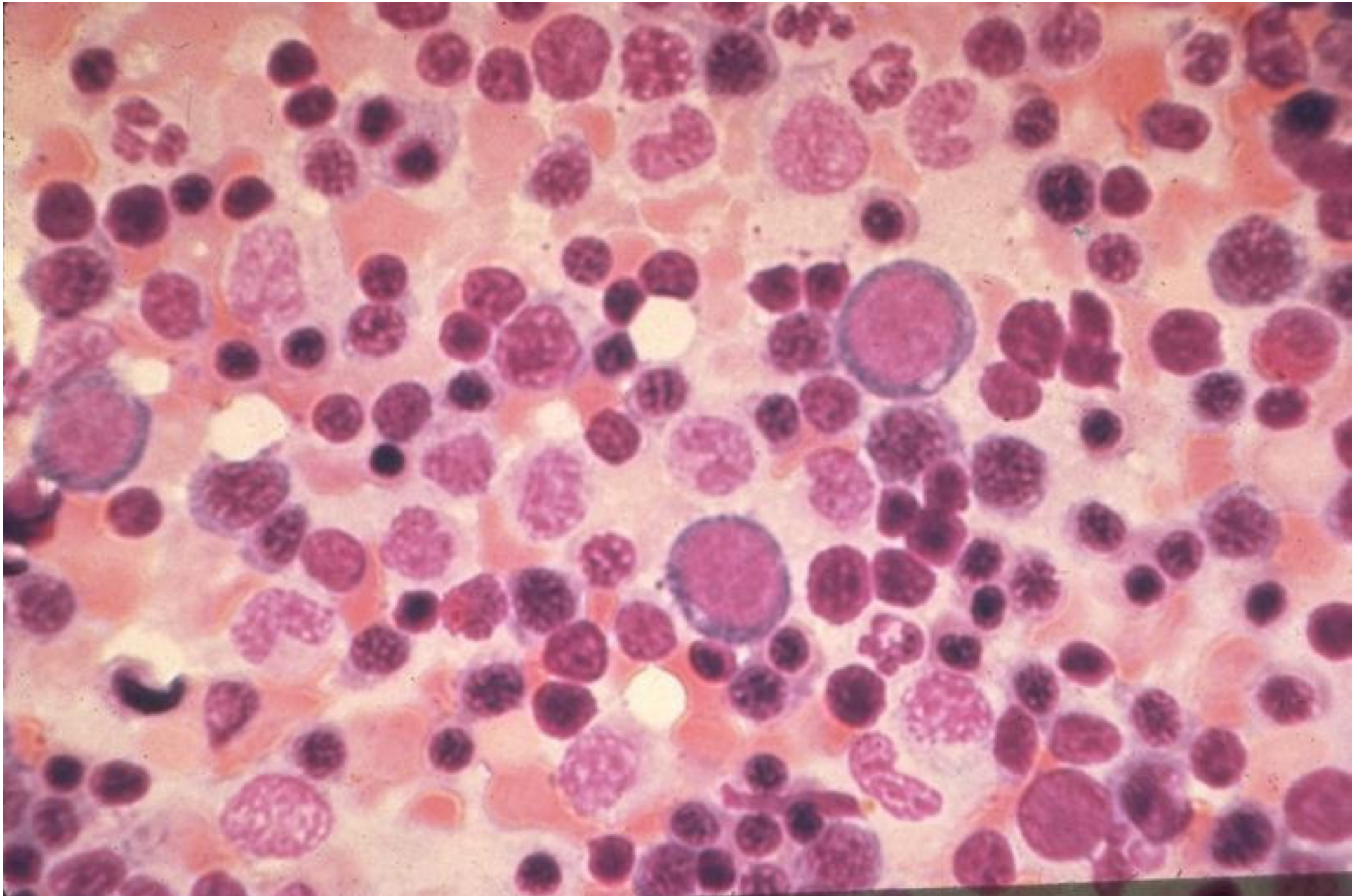
**Stiscio di
sangue midollare
colorato**



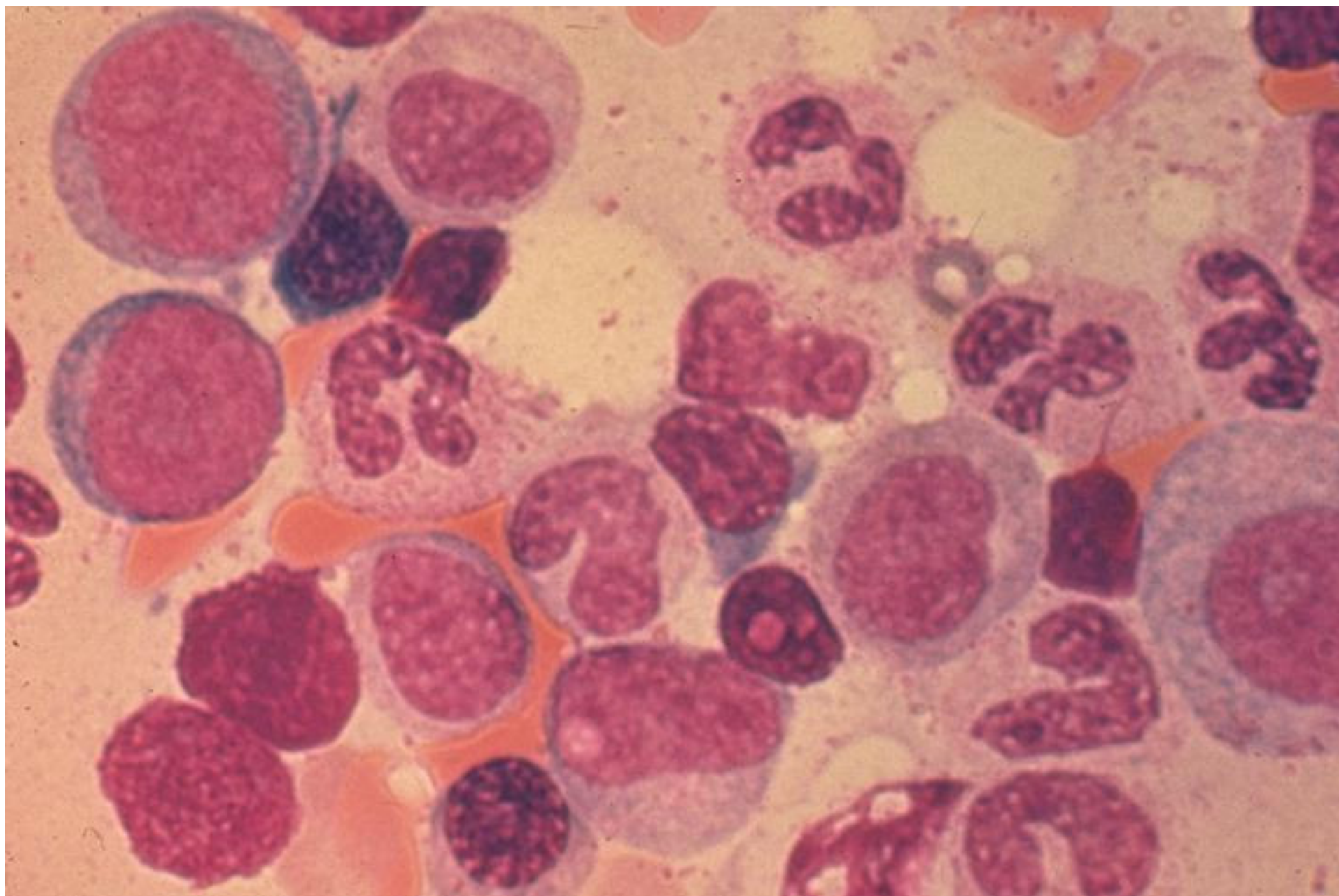
Esempio di striscio di sangue normale



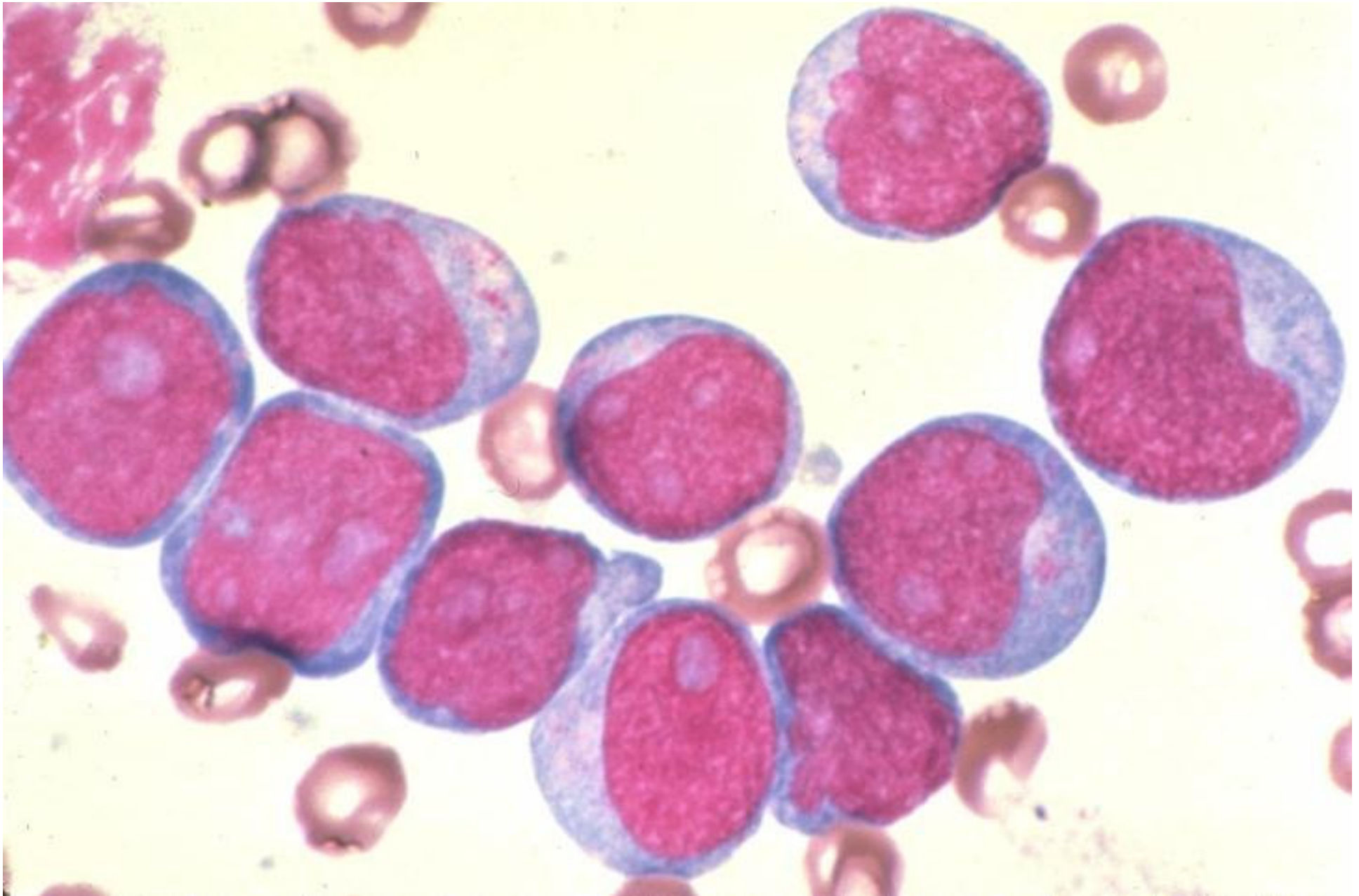
Esempio di striscio di sangue midollare



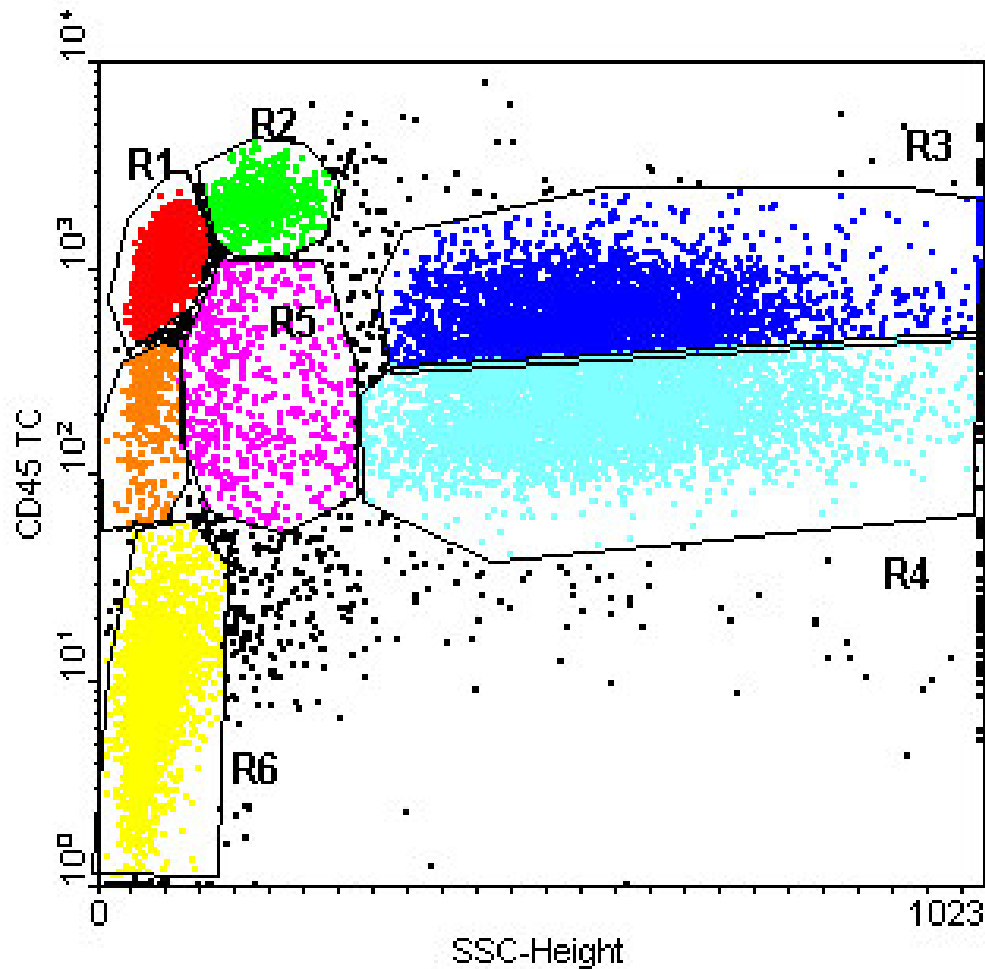
Esempio di striscio di sangue midollare



Esempio di striscio di leucemia acuta



L'indagine citofluorimetrica



R1 linfociti

R2 monociti

R3 cell. mieloidi mature

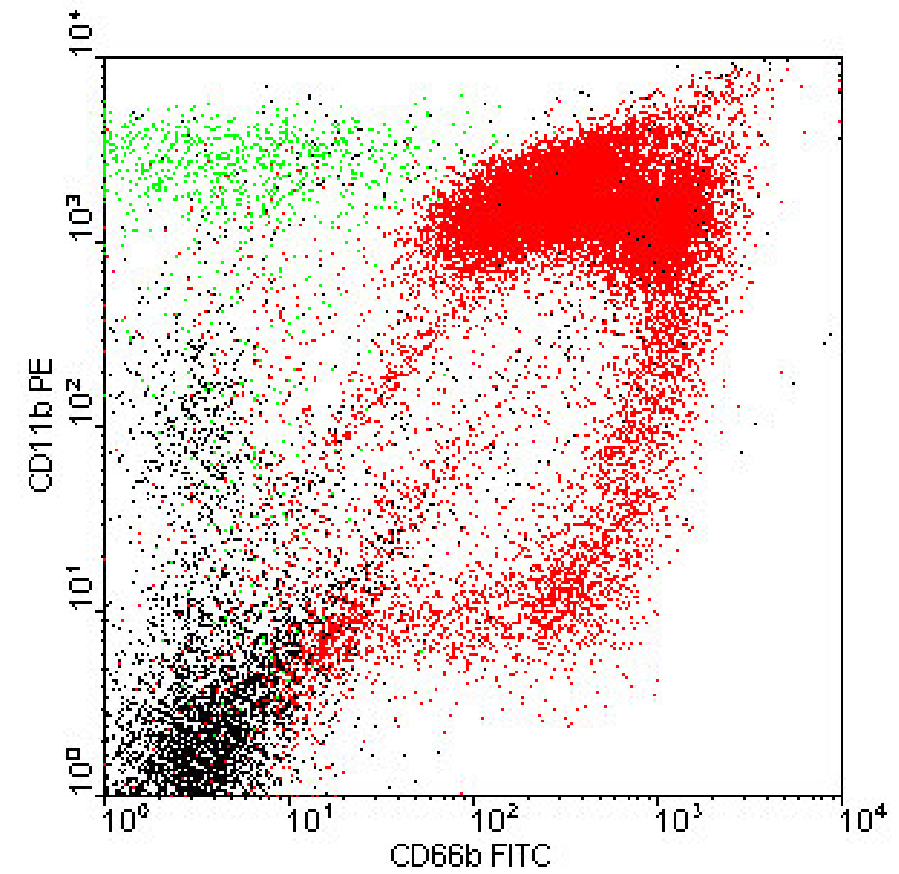
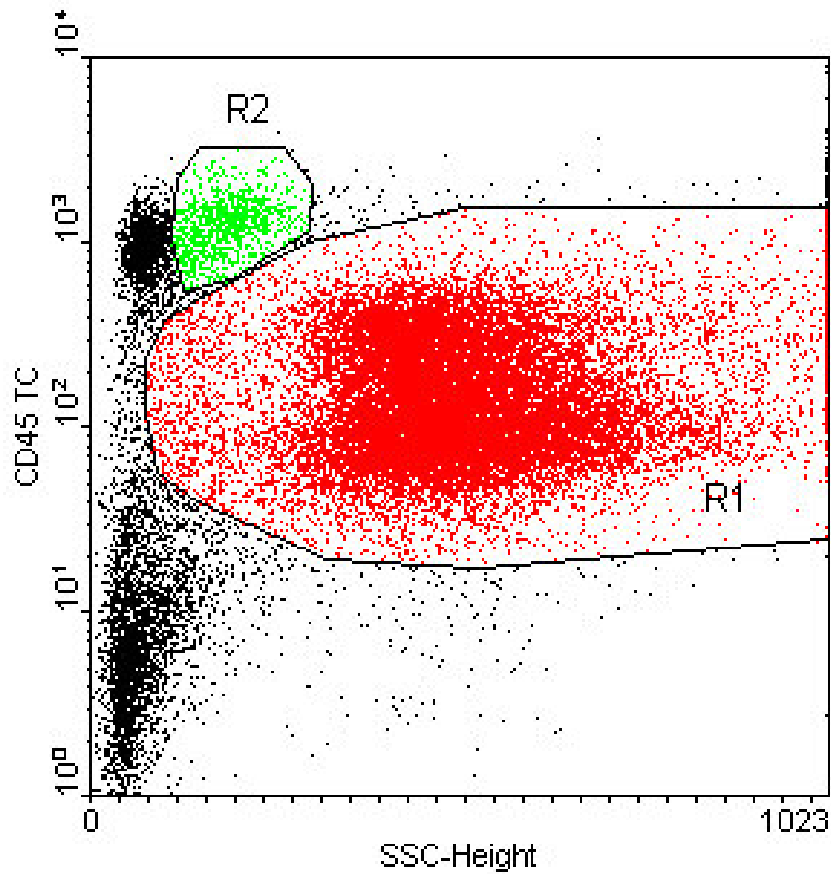
R4 cell. miel. immature

R5 precursori mieloidi

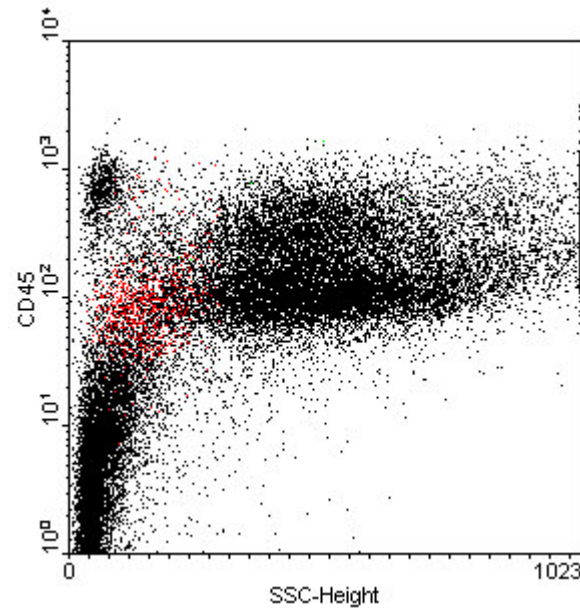
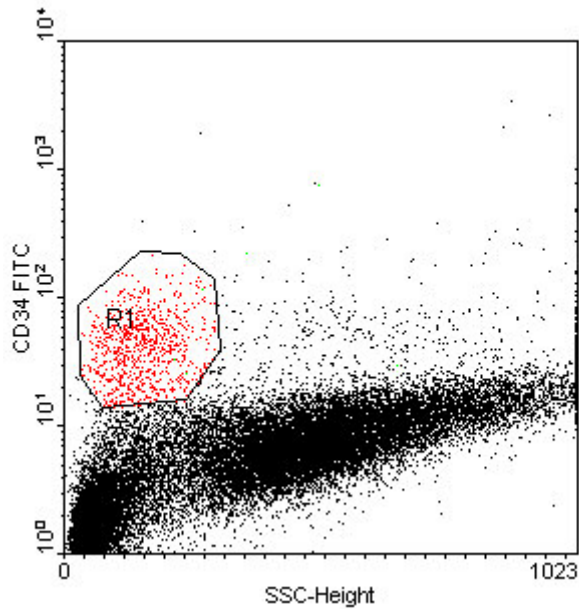
R6 eritroblasti

R7 linfoblasti

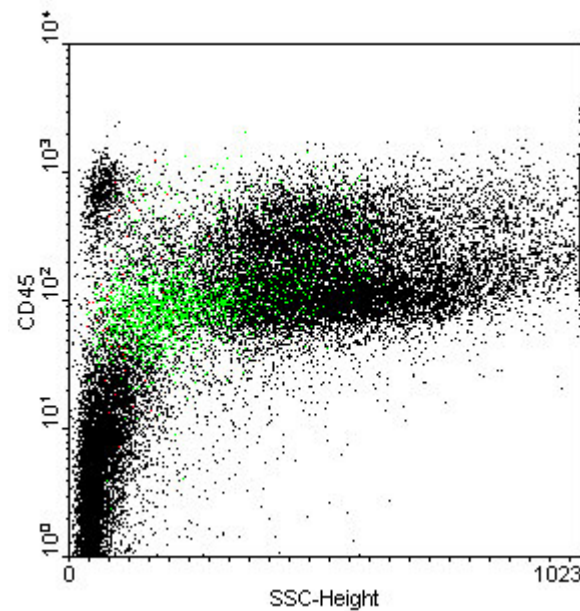
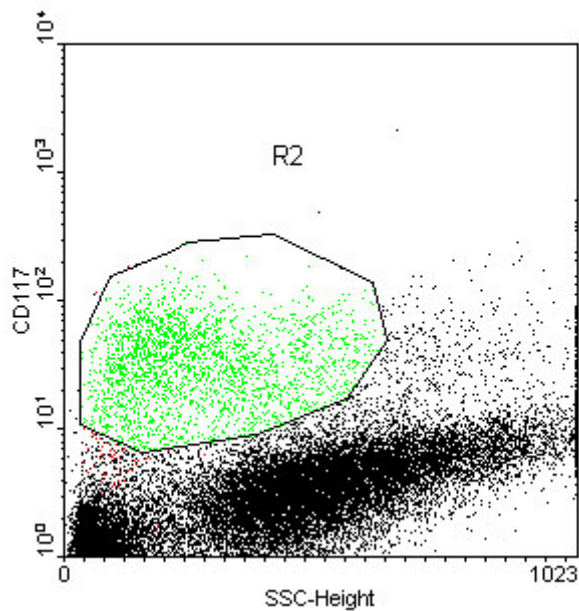
Valutazione citofluorimetrica della maturazione della popolazione mieloide CD66b/CD11b/CD45



Valut azione cit of luor imet rica della quot a blast ica

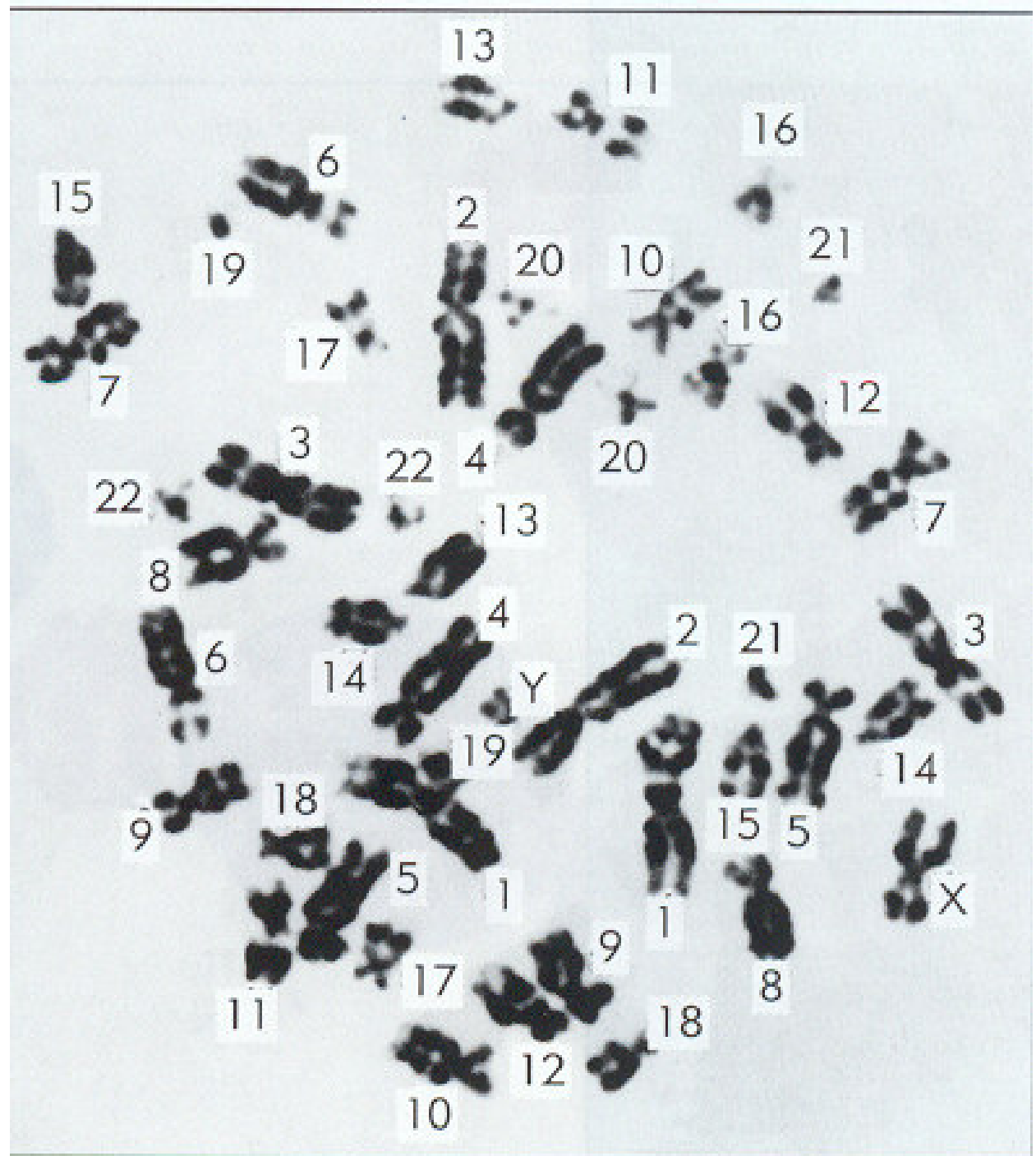


CD34=3.3%

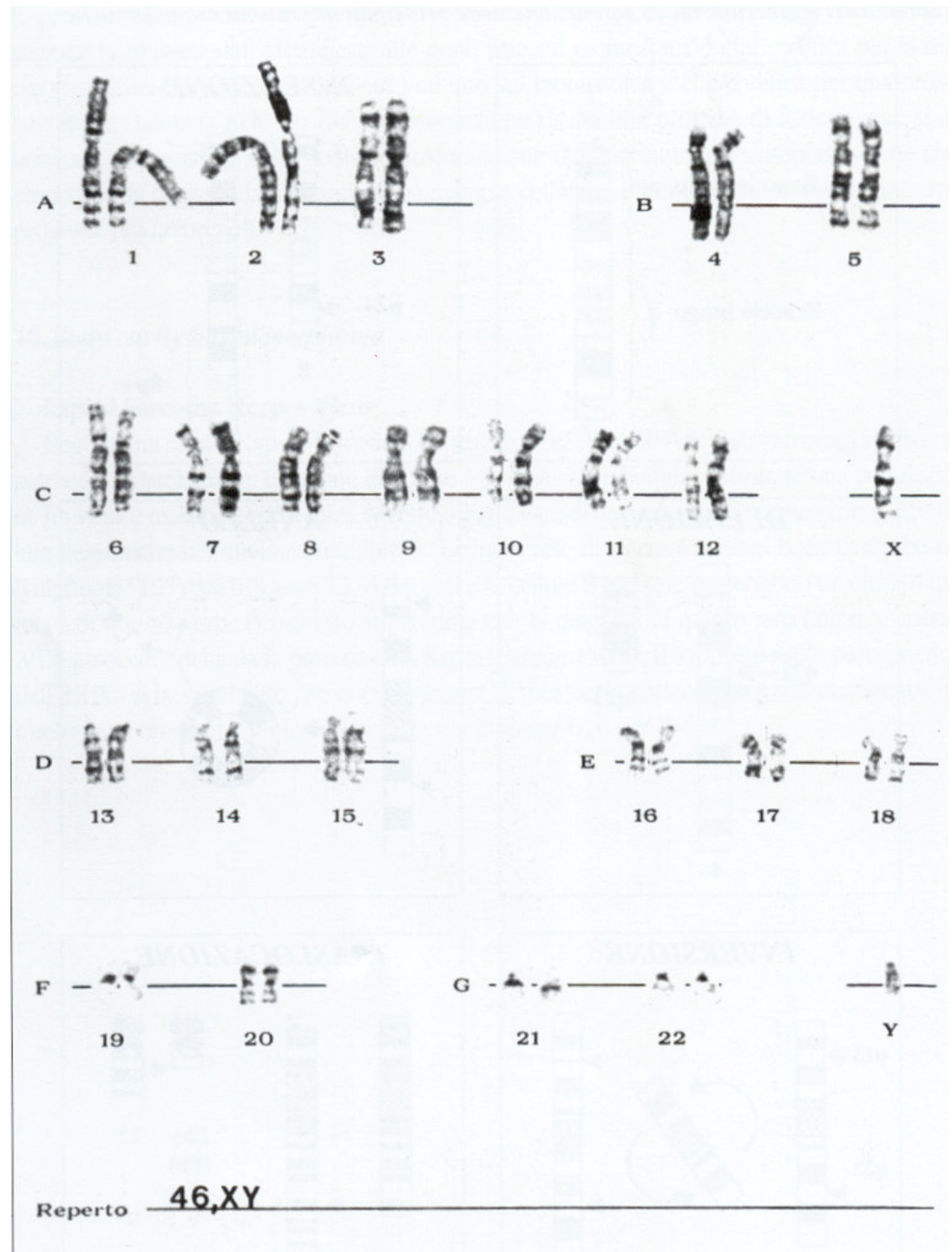


CD117= 4.7%

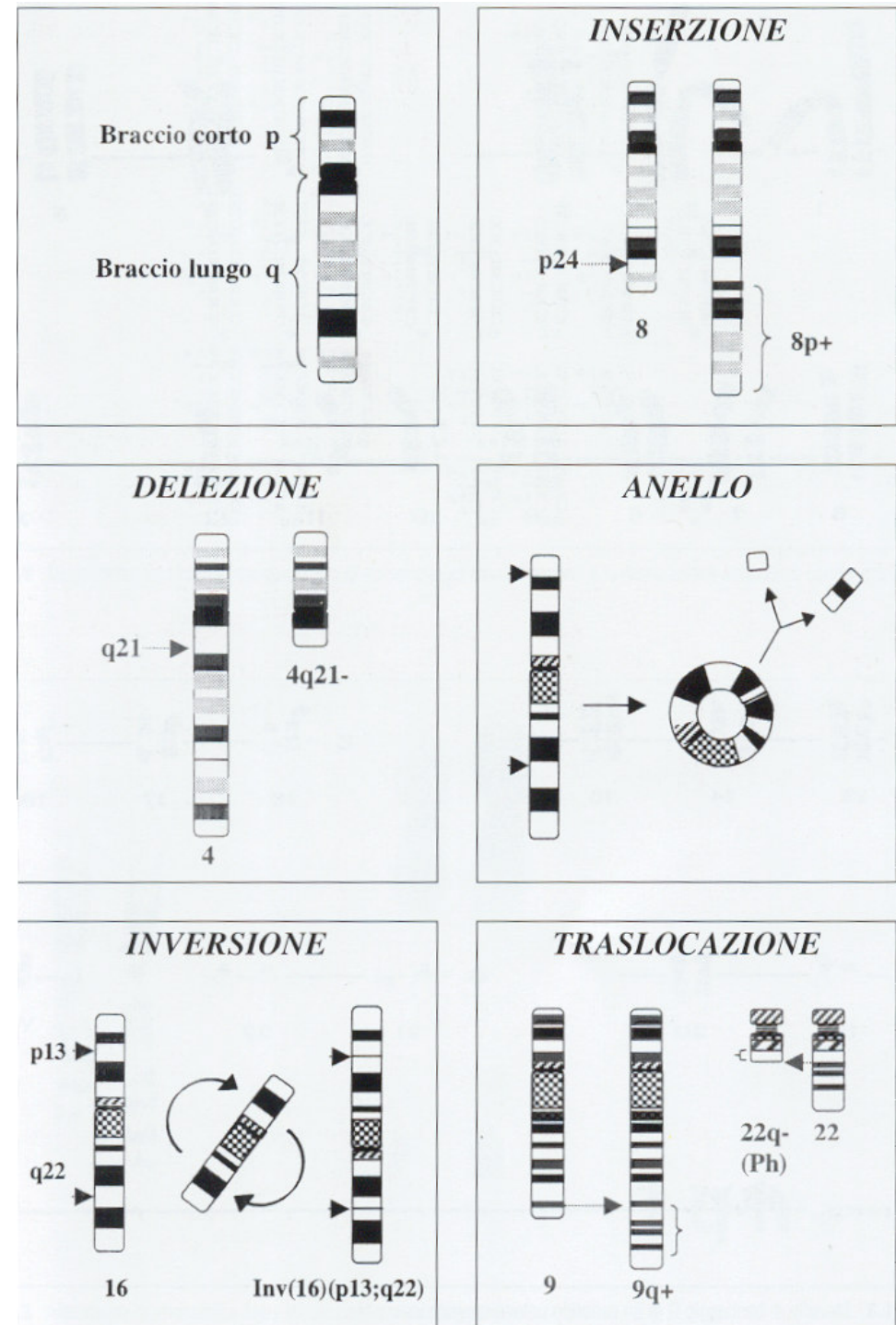
**Esempio
di mappa
cromosomica**



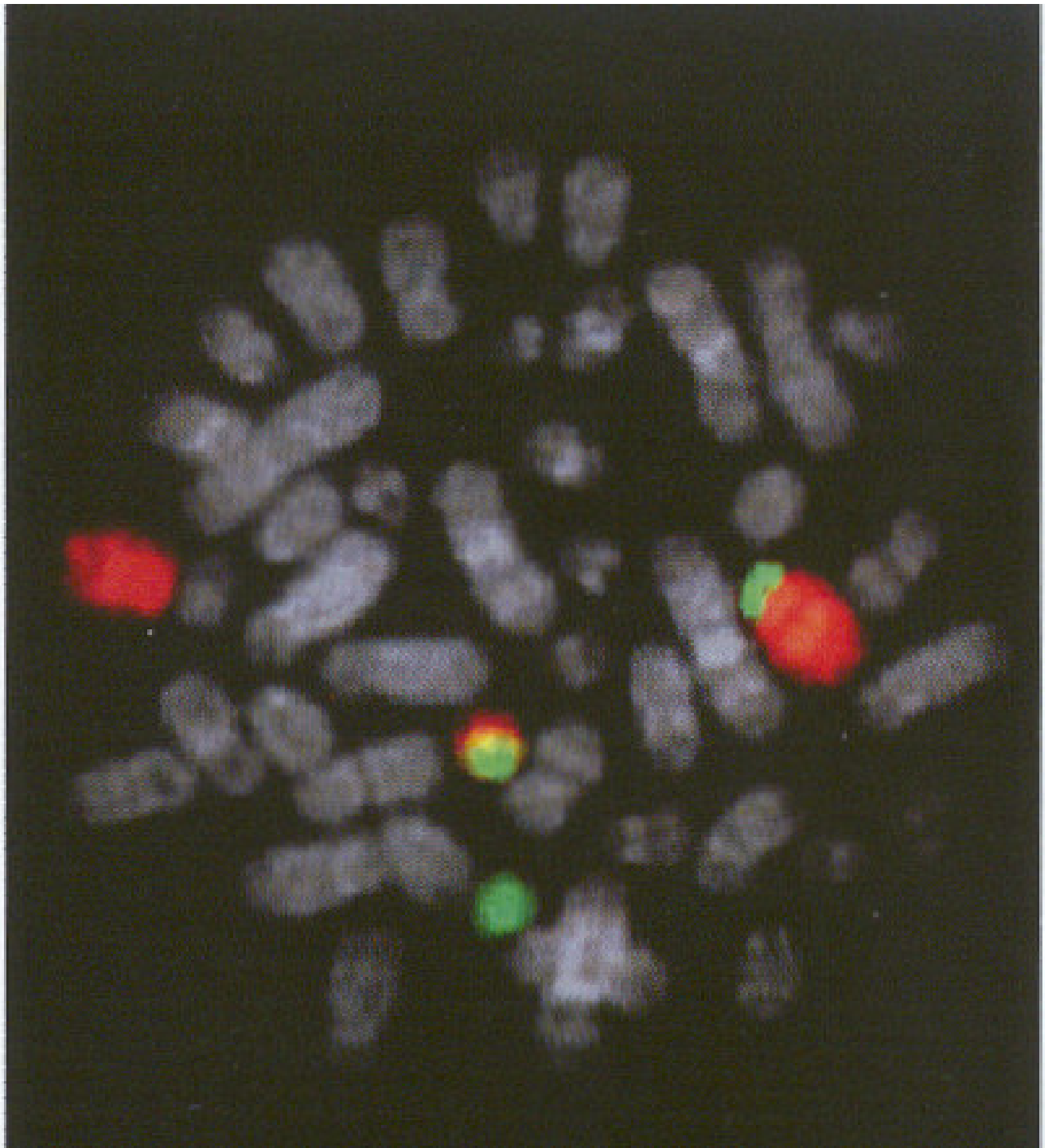
Esempio di mappa cromosomica



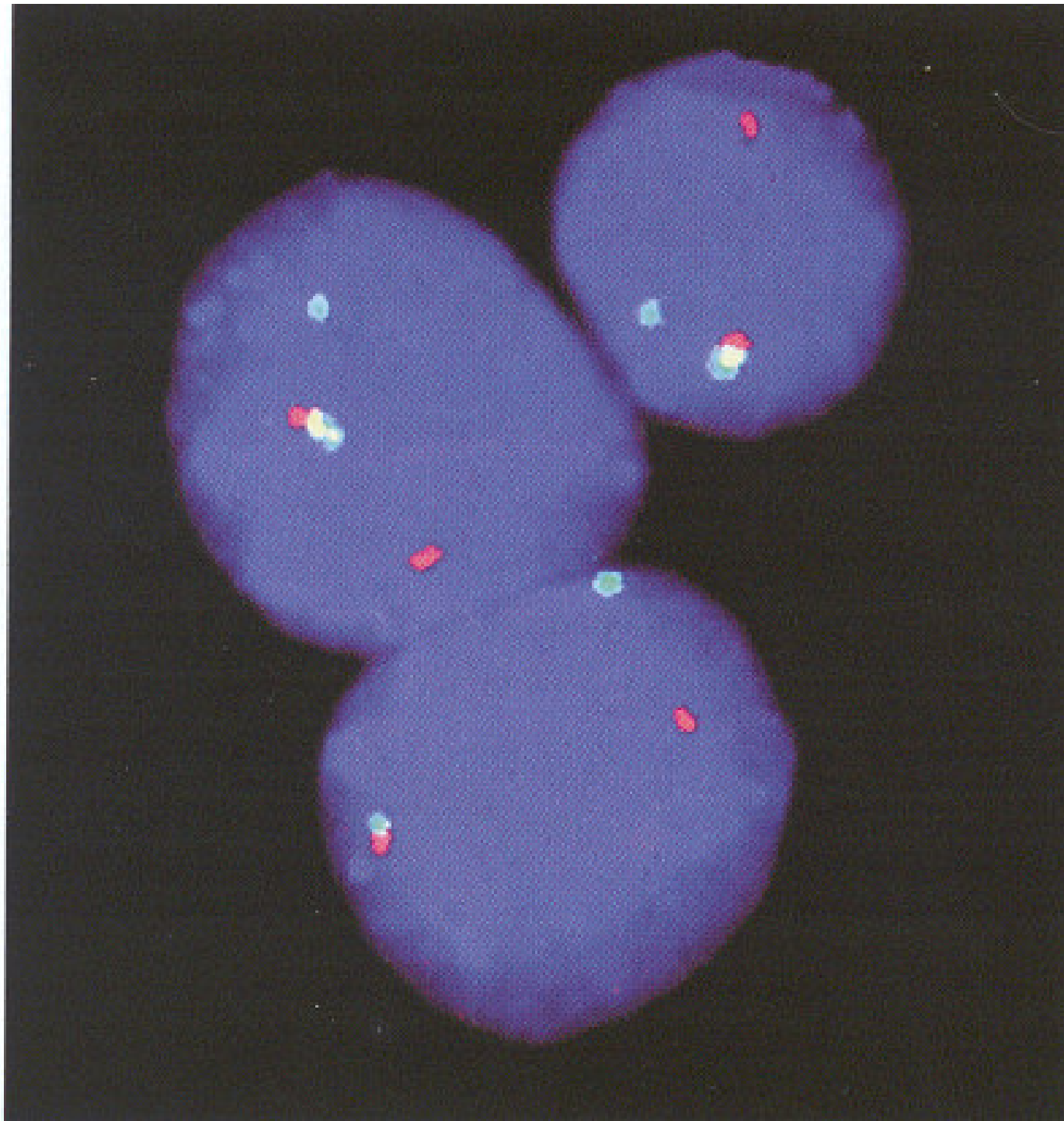
Meccanismi di insorgenza delle anomalie cromosomiche più facilmente implicate nella genesi delle neoplasie ematologiche



Esempio di
FISH



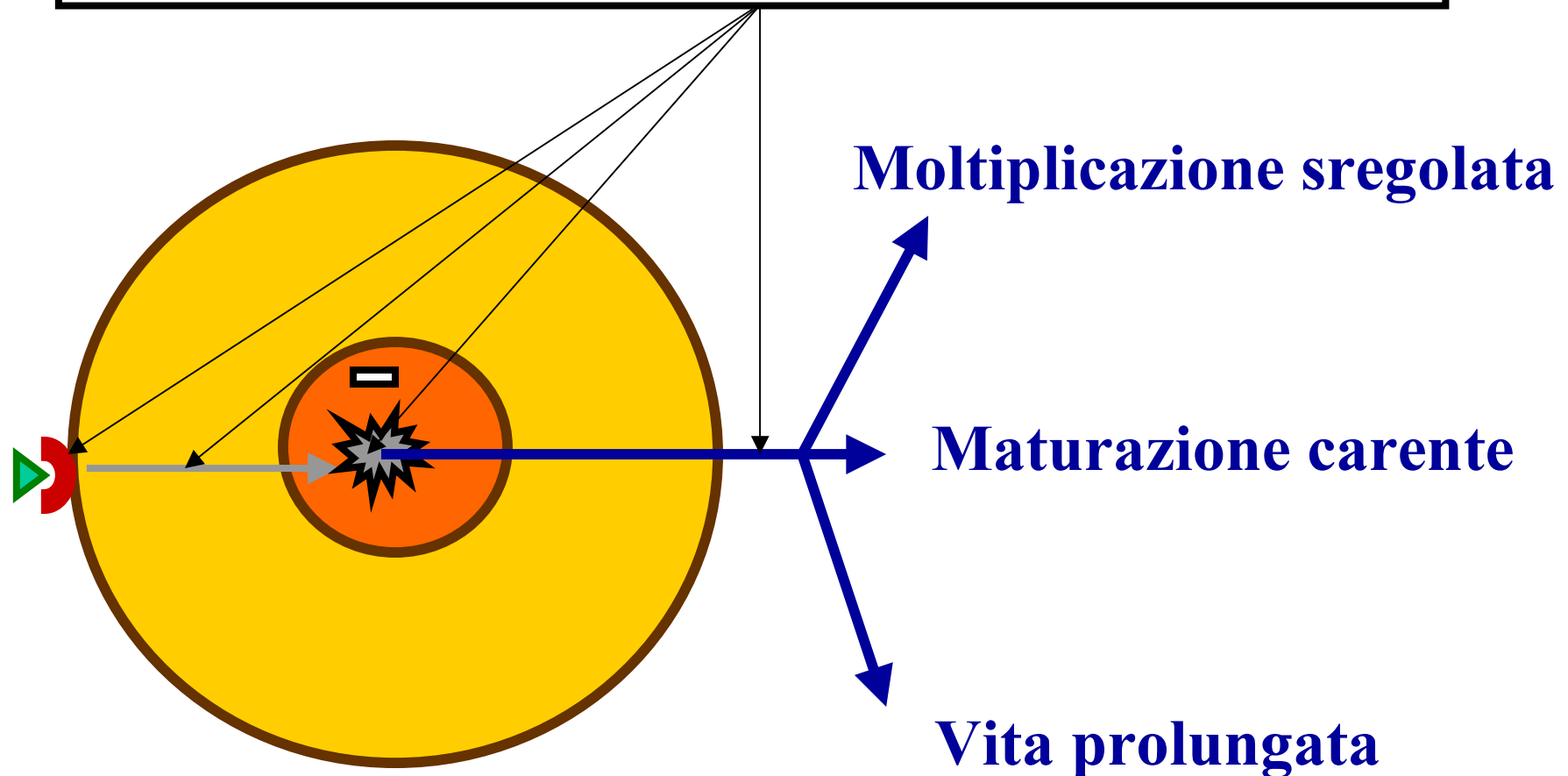
Esempio di
FISH



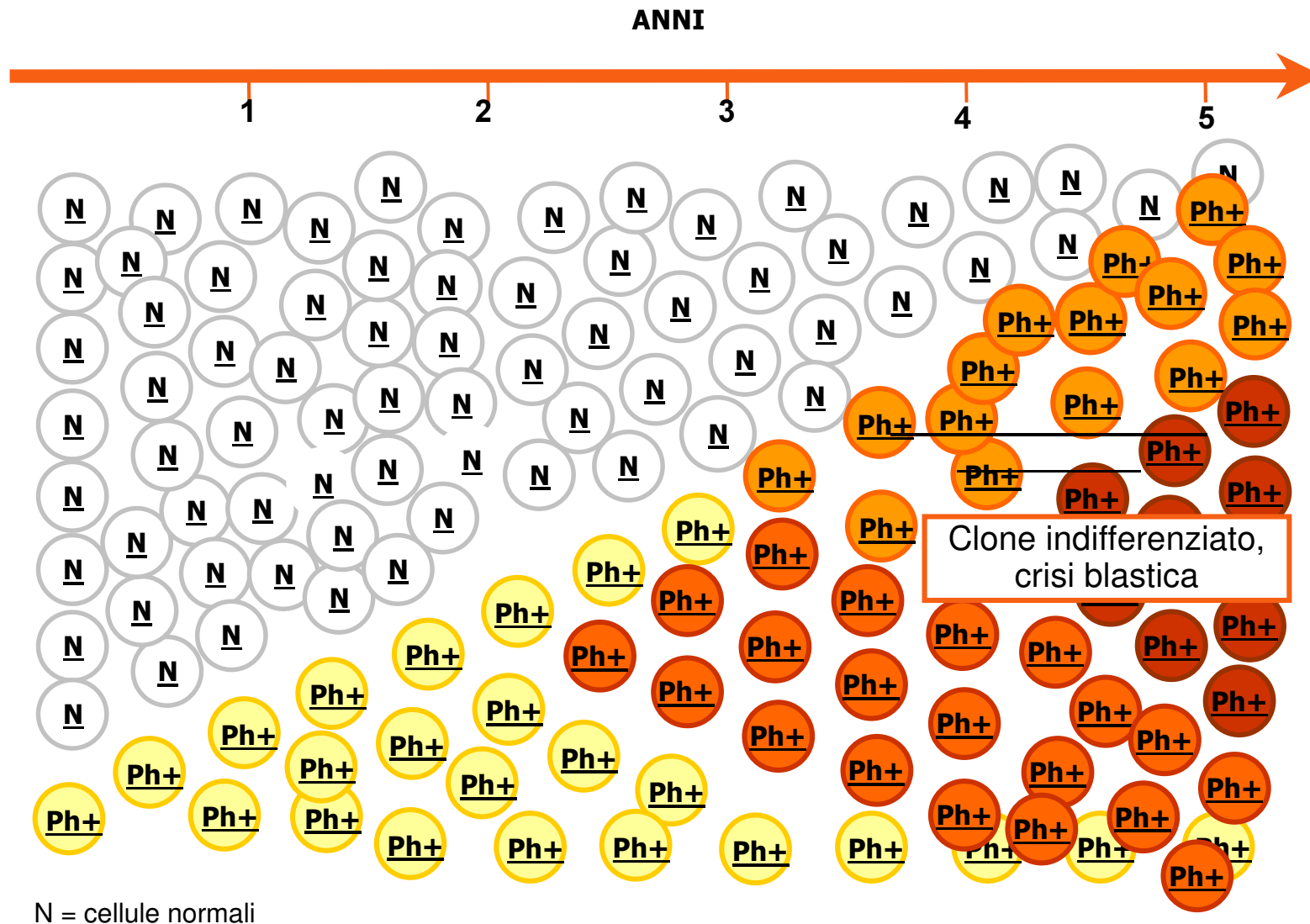
I fenomeni di duplicazione e maturazione sono regolati da molecole (“messaggi”) che richiedono un perfetto funzionamento cellulare.



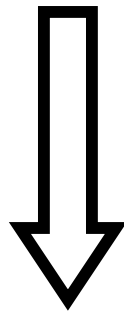
Nella cellula leucemica è avvenuta una mutazione genetica (E) che modifica la sua capacità di cogliere i segnali o di trasformarli in una funzione adeguata.



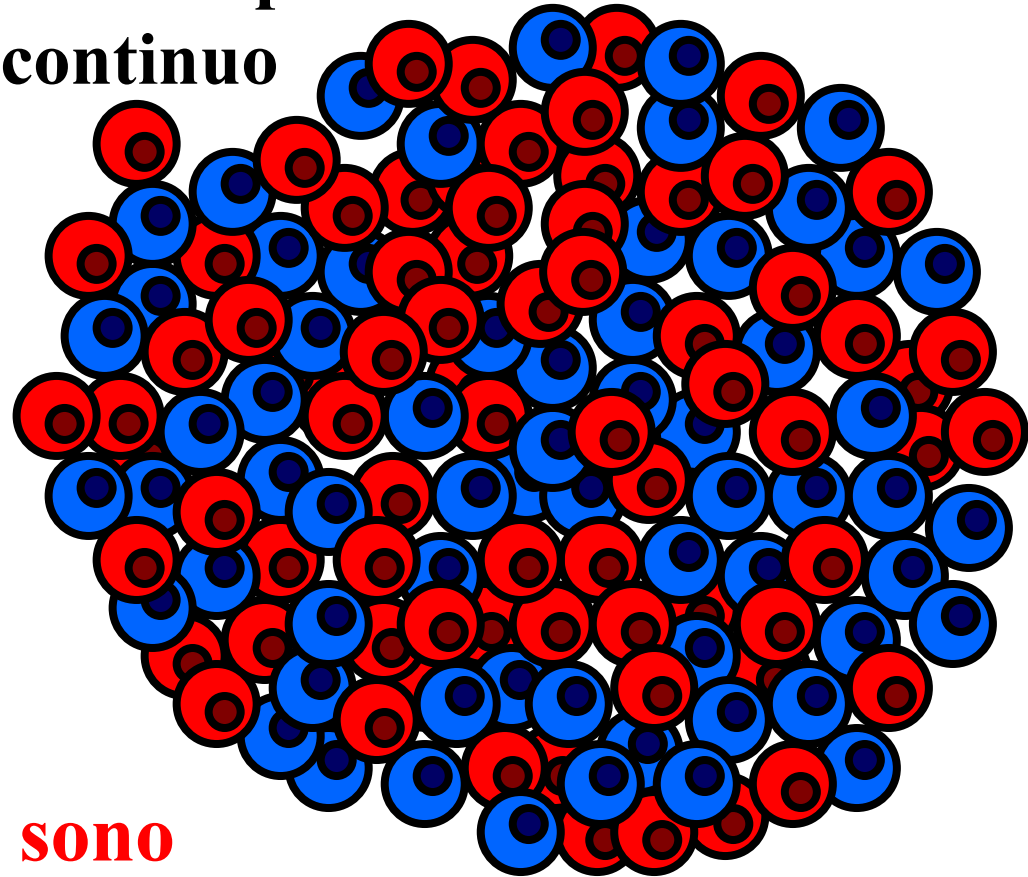
Esempio di evoluzione neoplastica : progressione della leucemia mieloide cronica



- Le cellule leucemiche si moltiplicano senza freni in modo continuo
- Non maturano
- Vivono più a lungo



**Le cellule leucemiche sono
avvantaggiate rispetto
a quelle sane.**



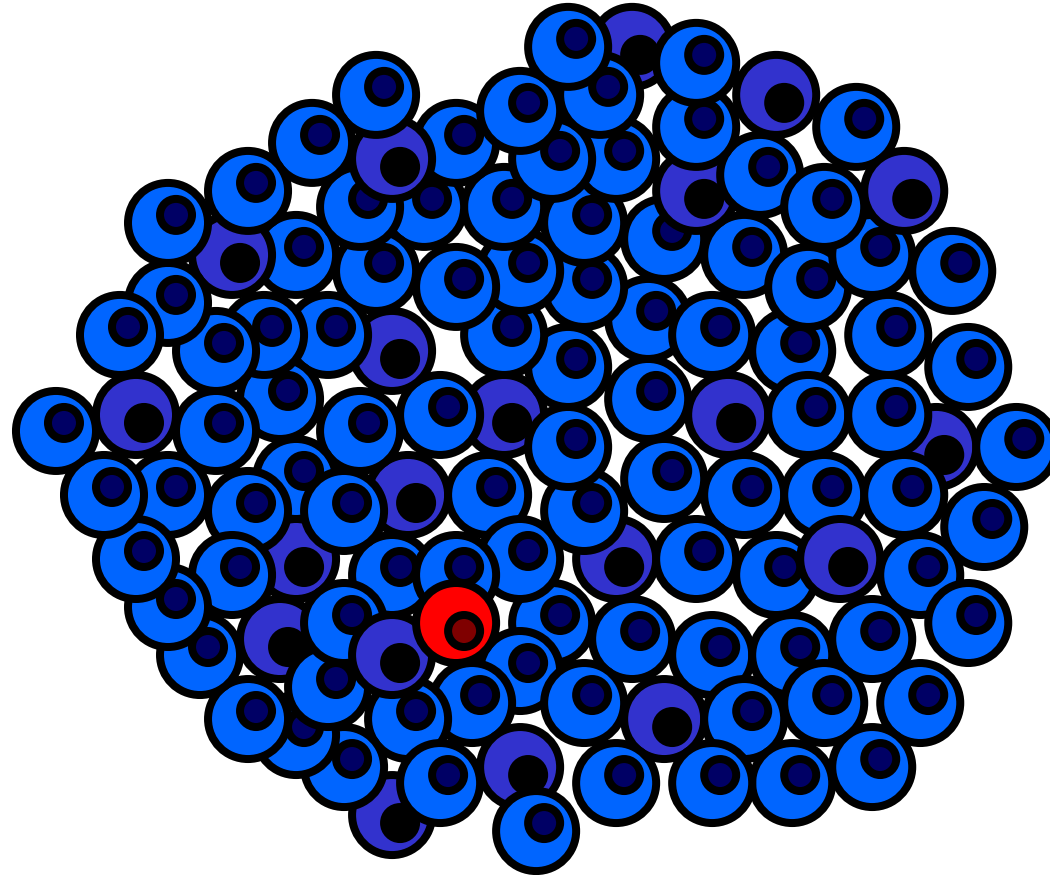
Cellule midollari sane



Cellule leucemiche

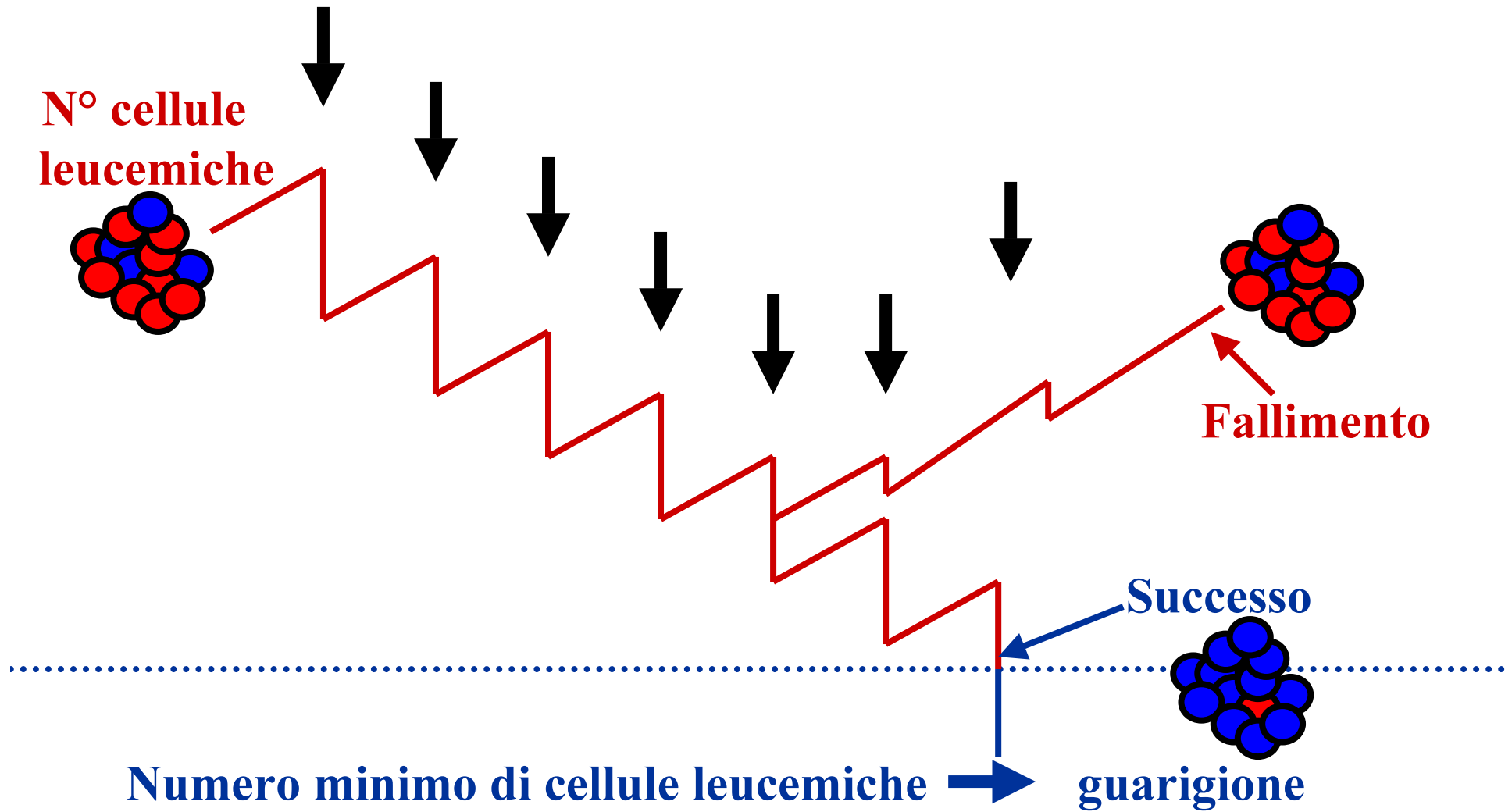
 **Cellule midollari sane**

 **Cellula leucemica**



Obiettivo del nostro intervento terapeutico

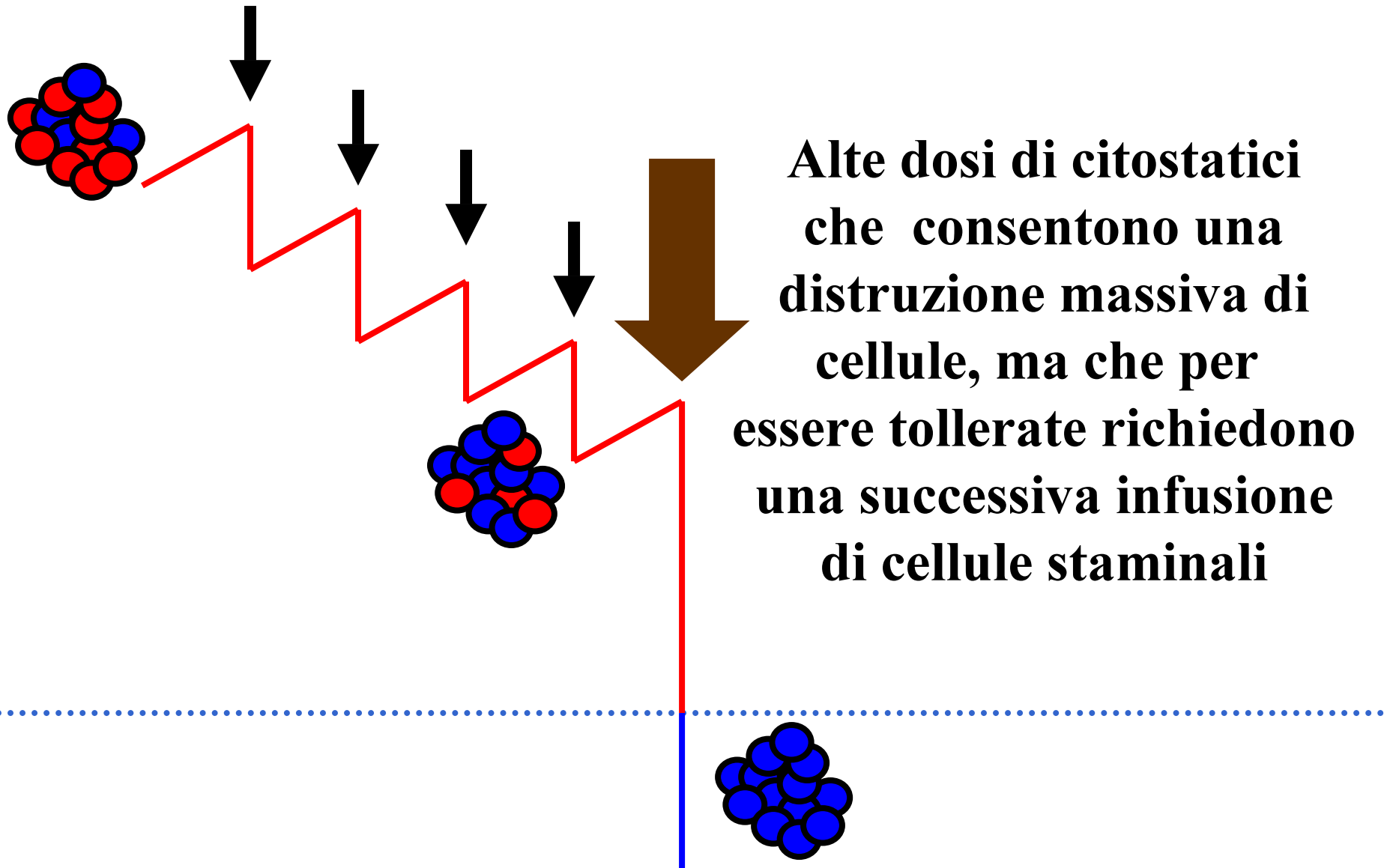
La chemioterapia citostatica convenzionale



Alcuni problemi particolari nella chemioterapia delle leucemie acute

- **Le condizioni di partenza :**
 - **Gravità iniziale (infezioni, emorragie ecc.)**
 - **La rapidità evolutiva (urgenza !)**
- **L'elevata chemiosensibilità:**
 - **Tumor lysis syndrome**
- **L'aplasia e i suoi rischi infettivi**
- **La non radicalità della sola chemioterapia**

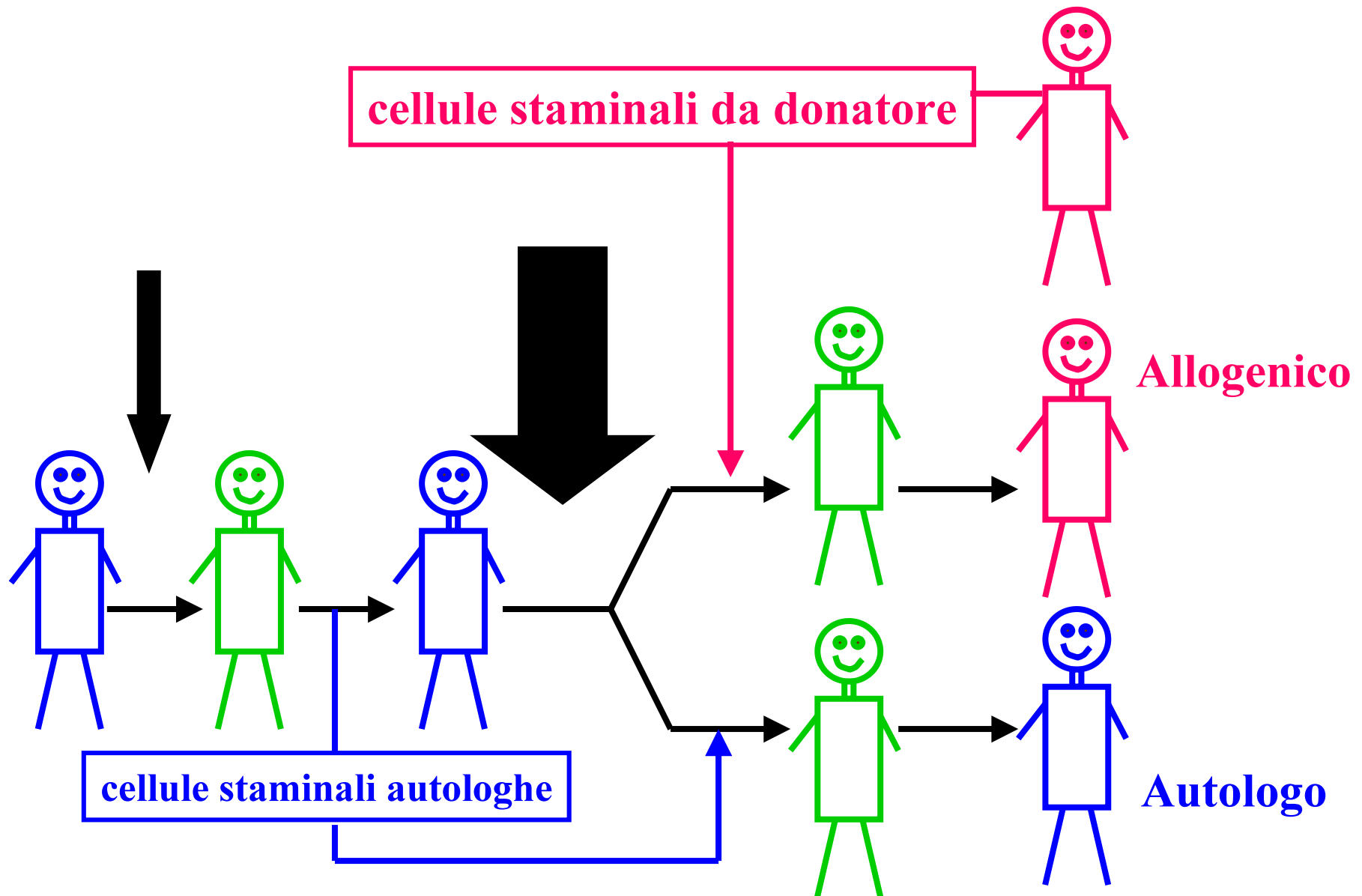
Le alte dosi con trapianto



Le sorgenti di cellule staminali

- **Sangue, midollo o cordone ombelicale ?**
- **Quale donatore ?**
 - **Se stesso (autotrapianto)**
 - **Un fratello HLA identico**
 - **Un consanguineo HLA non identico**
 - **Un donatore di registro HLA identico**
 - **Il sangue di cordone ombelicale**
 - **di un fratello**
 - **da banca dei cordoni**

Megaterapie con trapianto di cellule staminali



La reazione immunologica come elemento distintivo principale tra autologo e allogenico

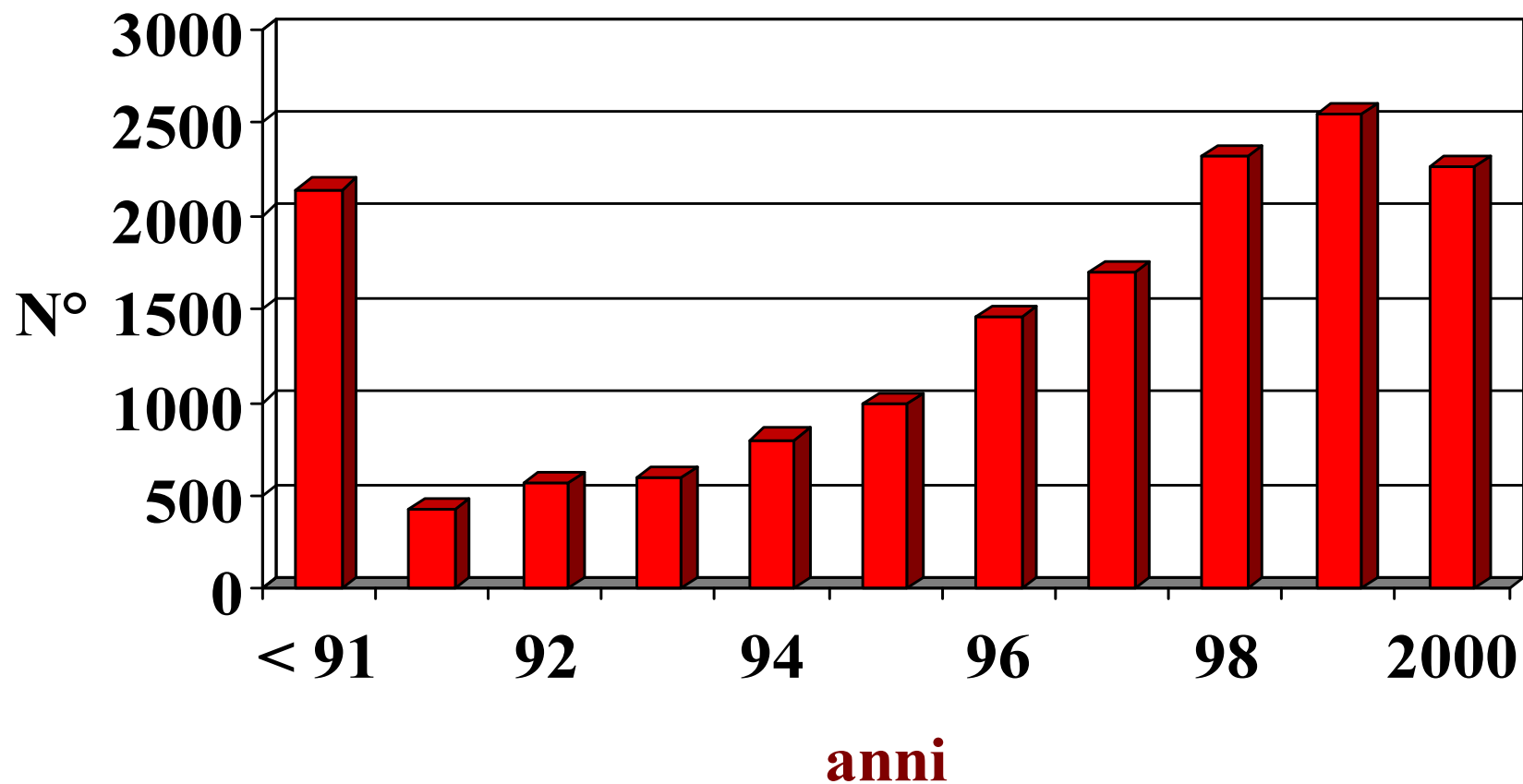
➤ ELEMENTO NEGATIVO

La graft versus host disease \Rightarrow GVHD

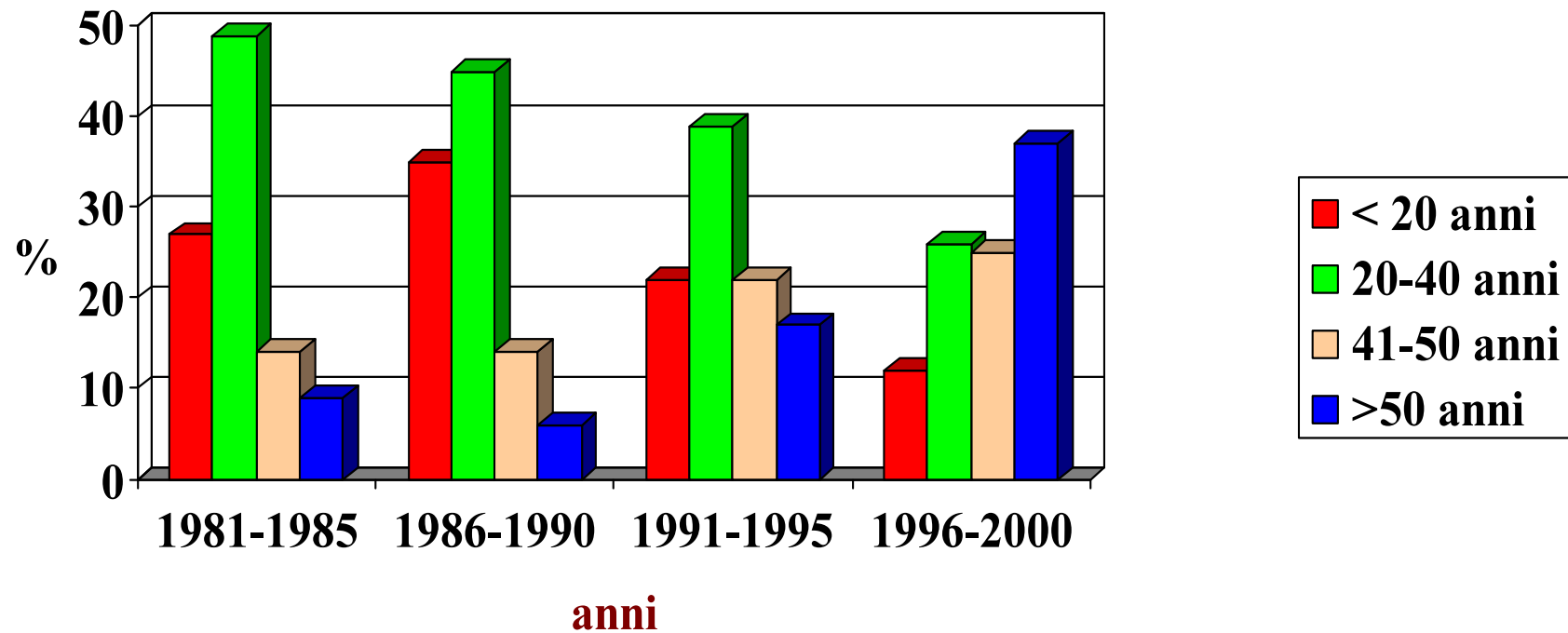
➤ ELEMENTO POSITIVO

La graft versus leukemia (tumor) \Rightarrow GVL

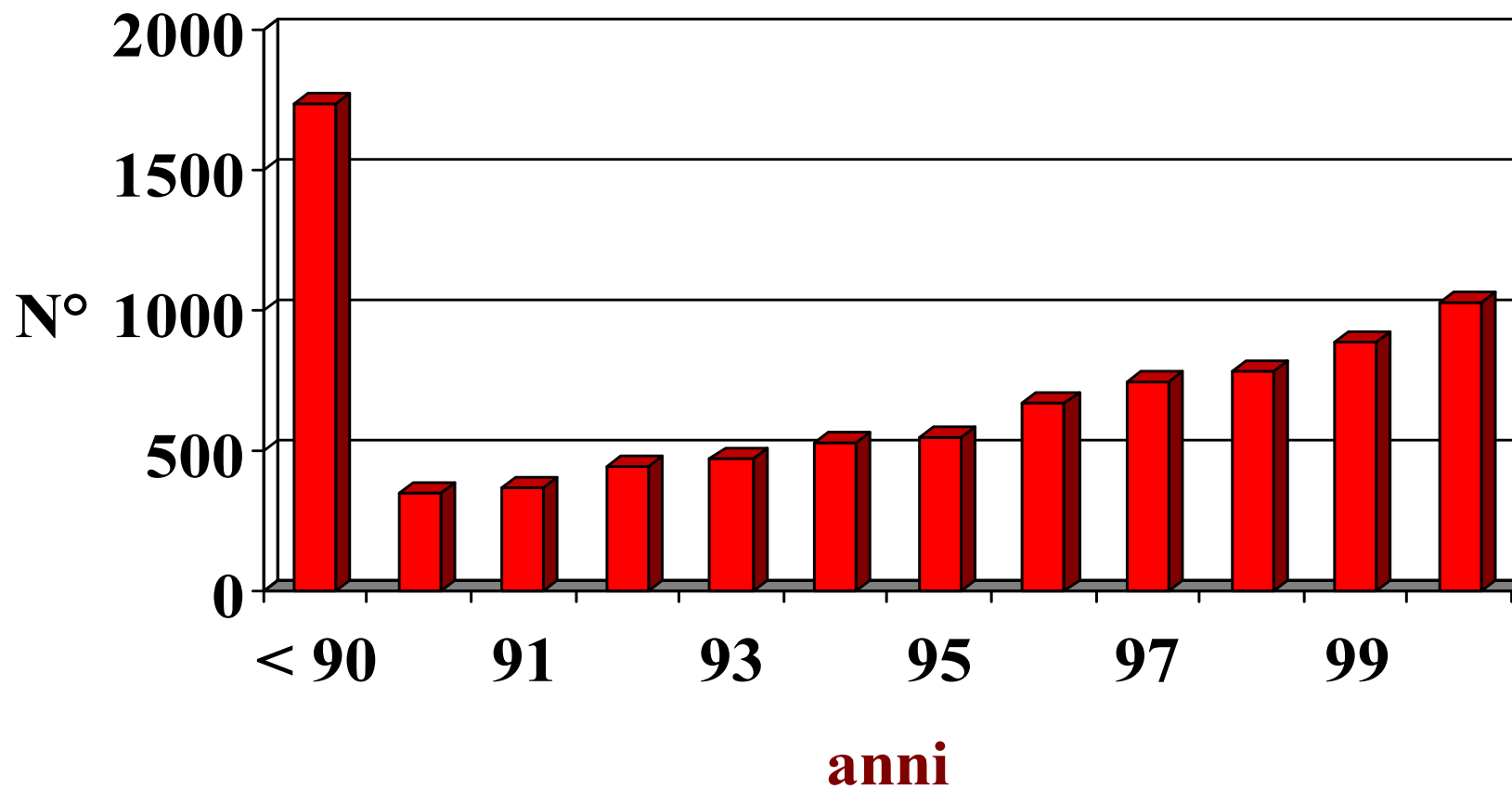
N° di trapianti autologhi in Italia (dati GITMO)



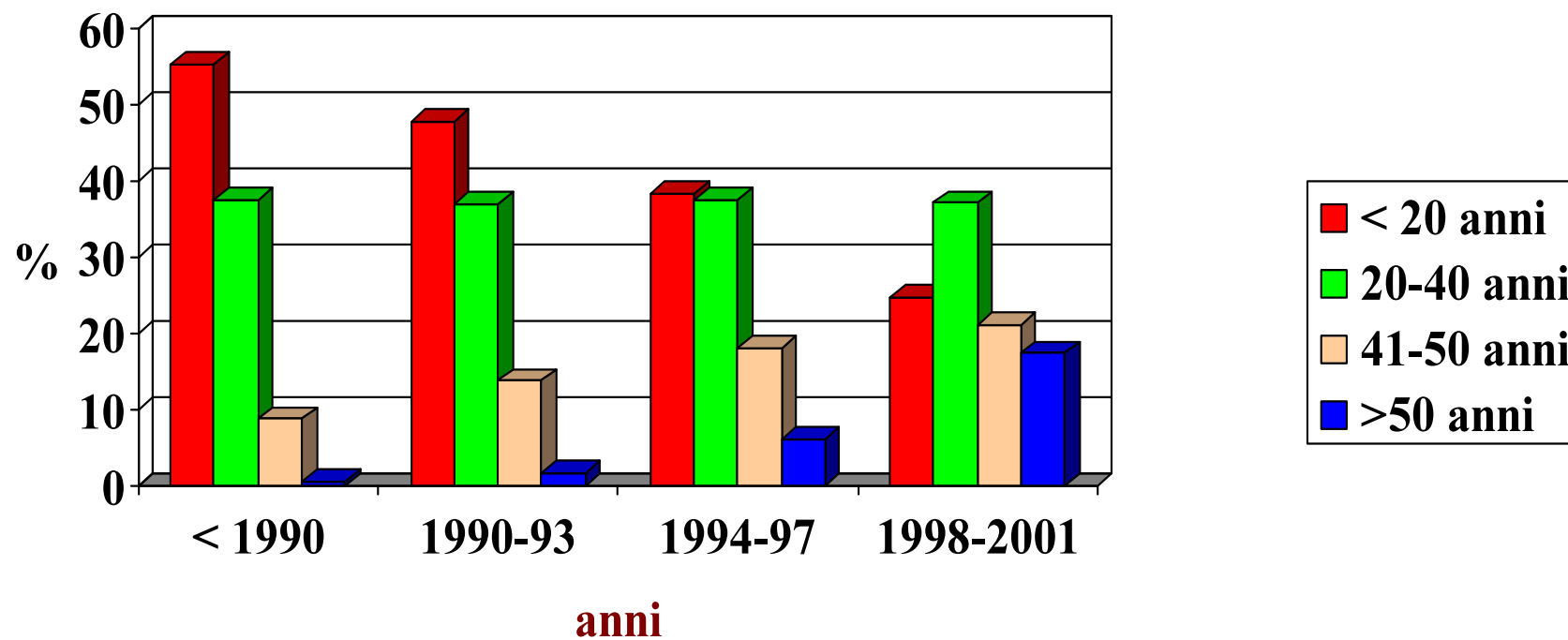
Trapianto autologo in Italia per fasce di età (dati GITMO)



N° di Trapianti allogenici in Italia (dati GITMO)



Trapianto allogenico in Italia per fasce di età (dati GITMO)



Una seconda distinzione valida per trapianti sia autologhi che allogenici

- **IL TRAPIANTO CONVENZIONALE
mieloablativo**
- **IL TRAPIANTO A INTENSITA' RIDOTTA
non mieloablativo (mini-trapianto)**

I problemi da affrontare nel trapiantato

- **La tossicità della terapia di condizionamento**
- **Il rischio infettivo nell'aplasia**
- **L'immunodepressione successiva e il rischio infettivo tardivo**
- **La GVHD acuta (allogeneico)**
- **La GVHD cronica (allogeneico)**
- **Gli eventi tardivi (tossicità o recidiva)**

Breve glossario - I

- **Cellule staminali**
- **Cellule CD34+**
- **Mobilizzazione**
- **Staminoaferesi**
- **Espianto di midollo**
- **Congelamento**
- **Scongelamento**
- **Purging**
- **Condizionamento**
- **TBI (total body irradiation)**
- **Aplasia**

Breve glossario - II

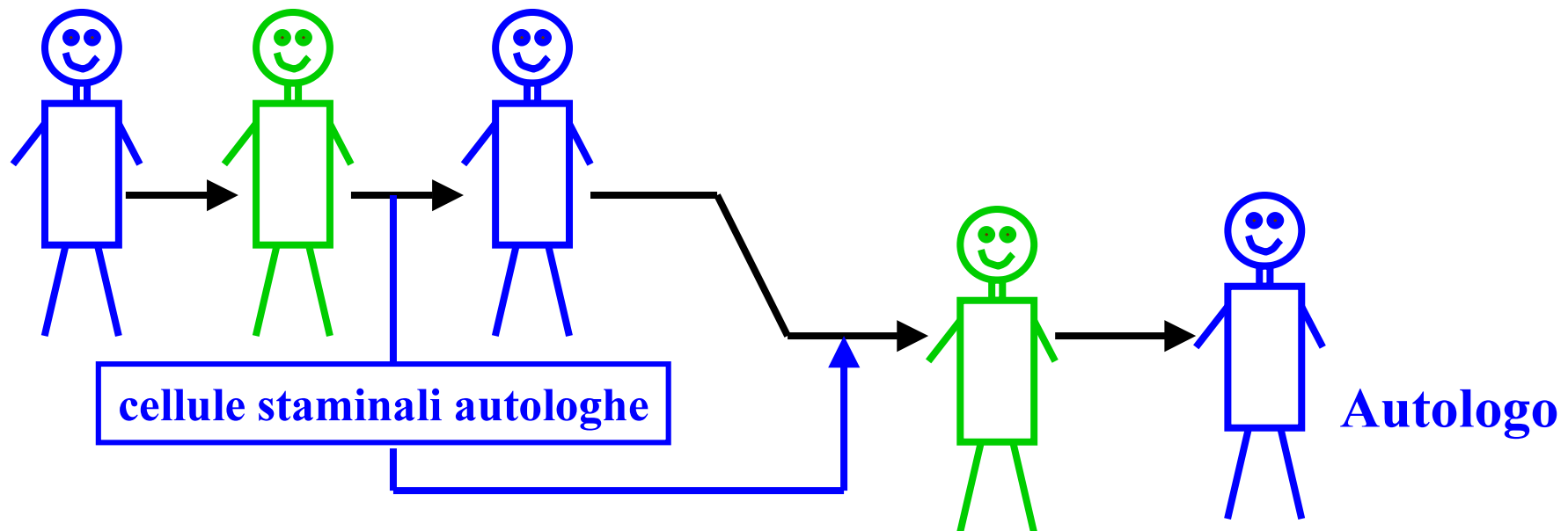
- **Trapianto mieloablativo**
- **Trapianto non mieloablativo (mini)**
- **Rigetto**
- **Chimerismo**
- **Graft versus host disease**
- **Graft versus leukemia (tumor)**
- **Terapia immunosoppressiva**
- **Malattia minima residua**
- **DLI (donor lymphocyte infusion)**

Il trapianto autologo di cellule staminali

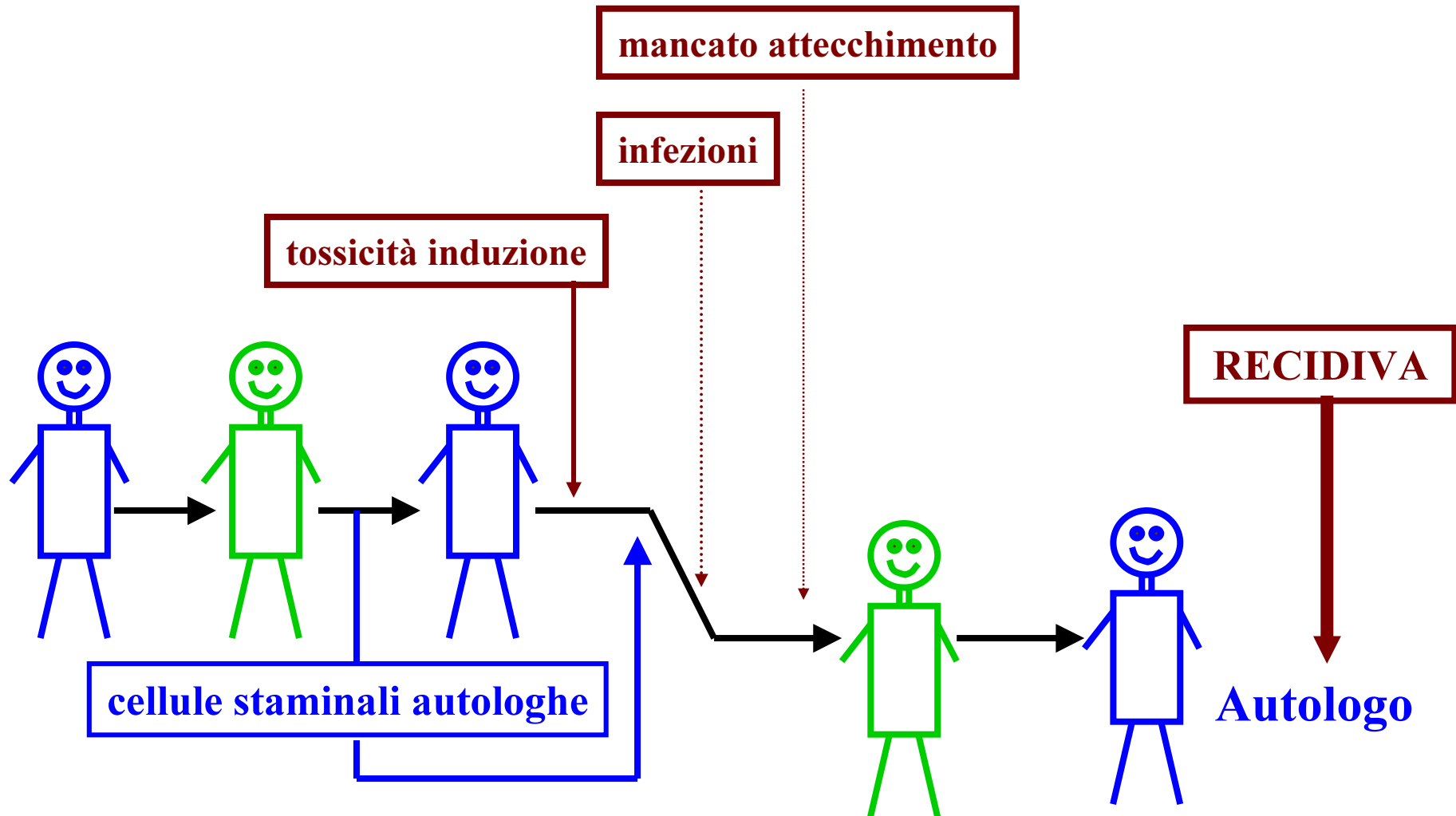
VANTAGGIO \implies scarsa tossicità (manca GHVD)

SVANTAGGI \implies minore efficacia perché:

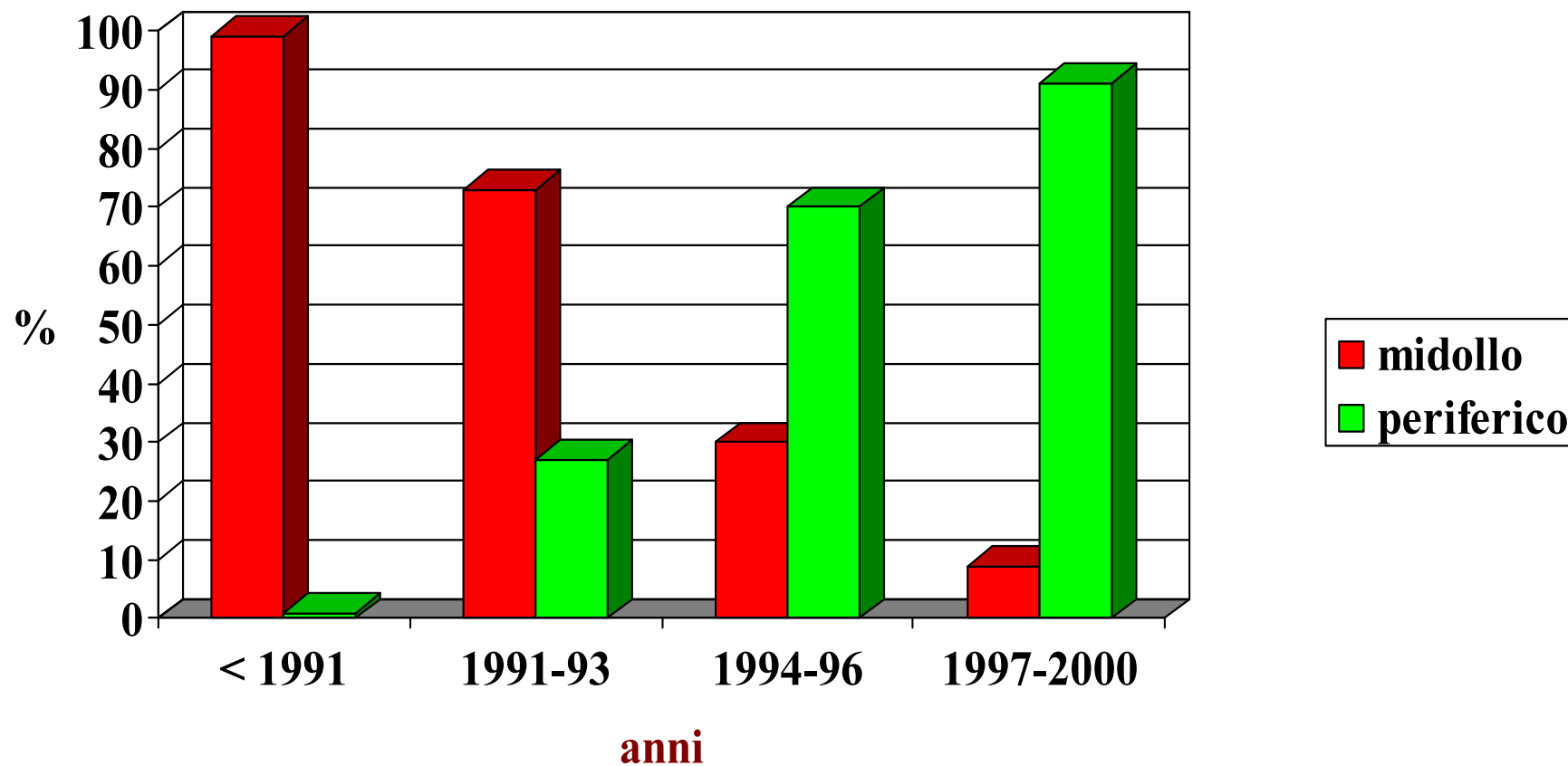
- a) possibile reinoculazione di cellule tumorali
- b) manca la GVL



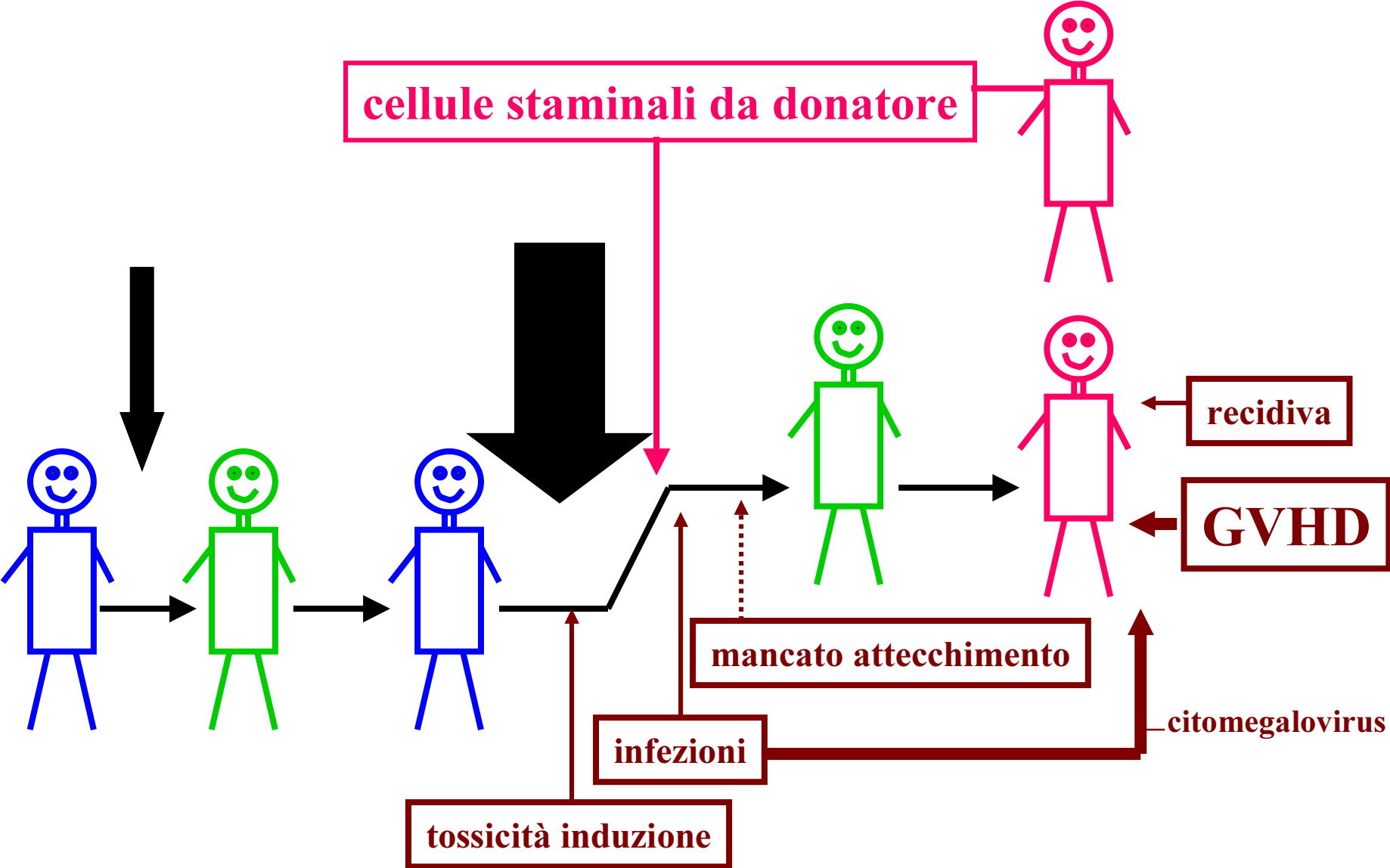
I problemi del trapianto autologo



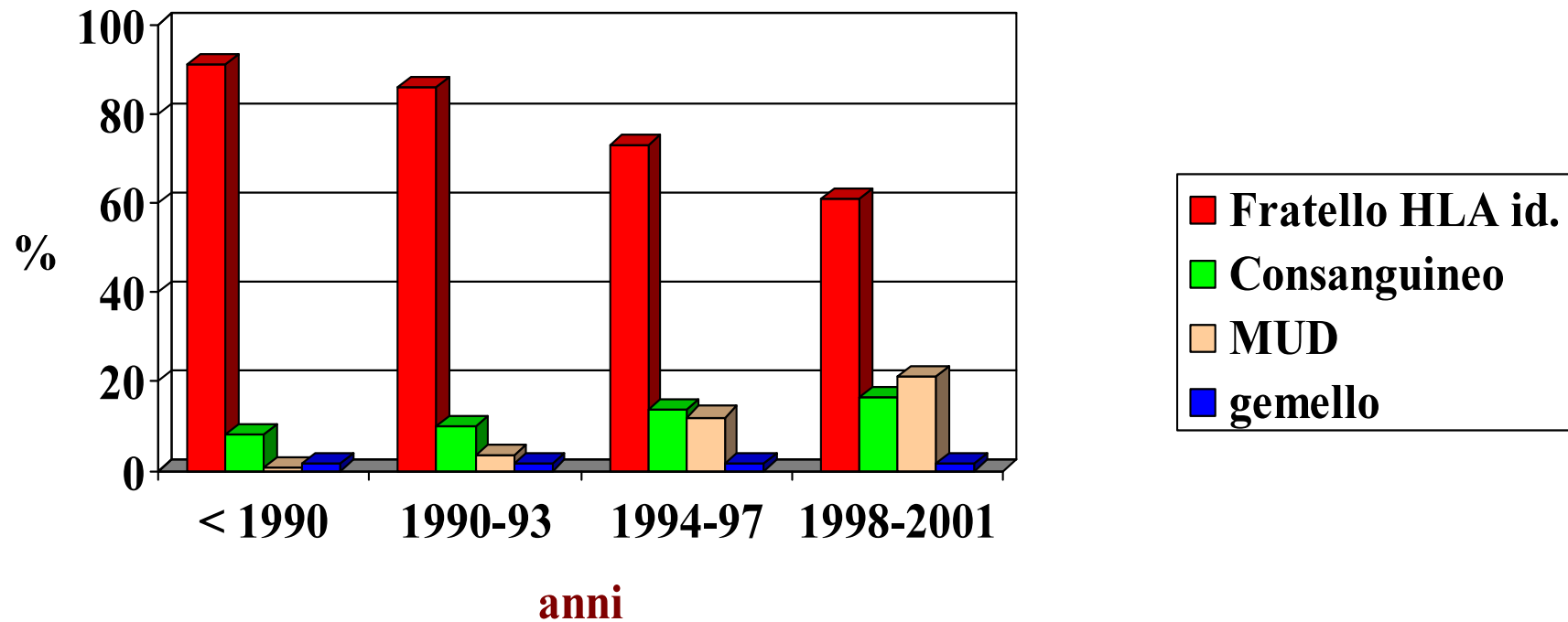
Trapianto autologo in Italia: origine delle cellule staminali (dati GITMO)



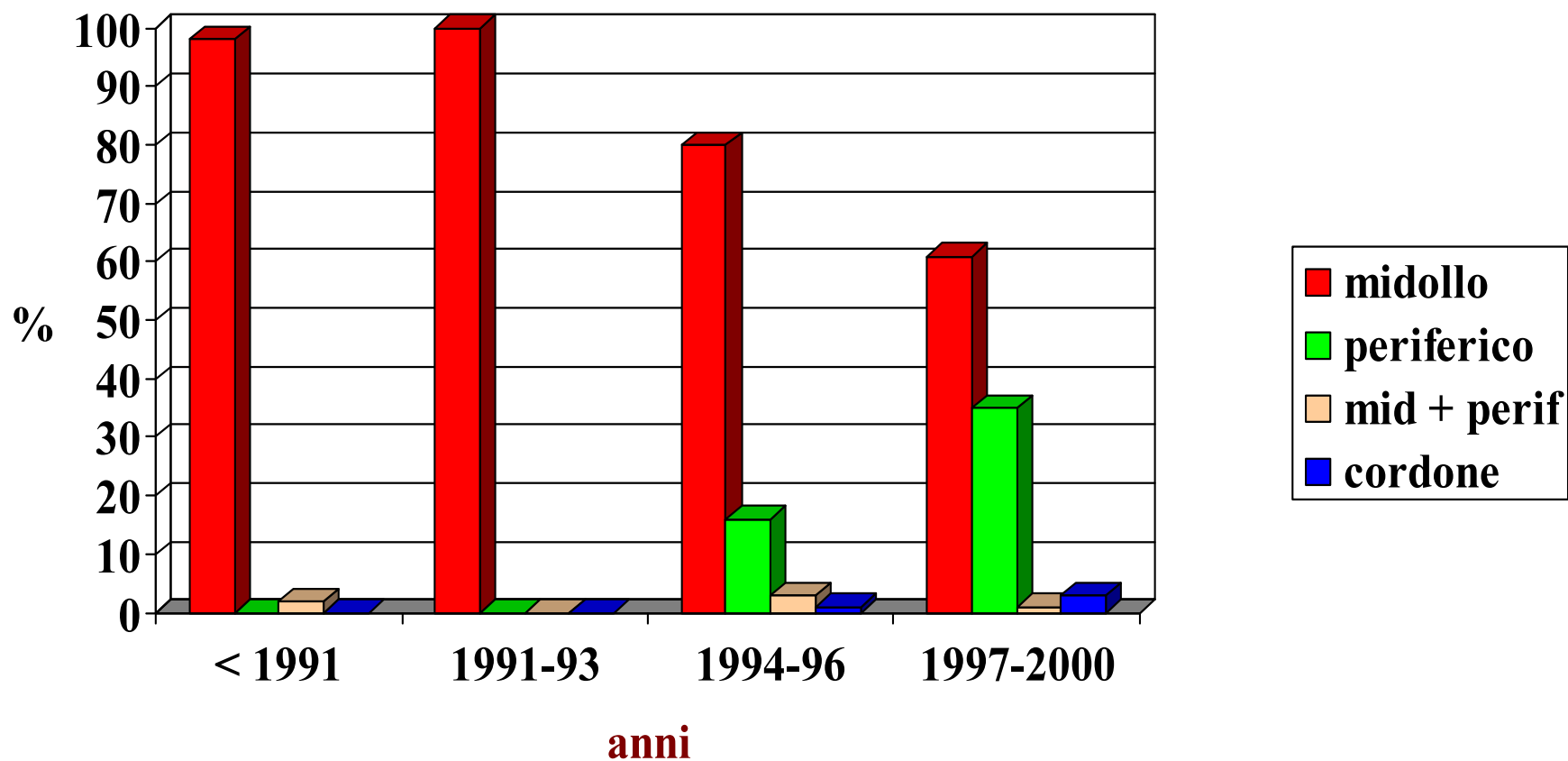
I problemi del trapianto allogenico



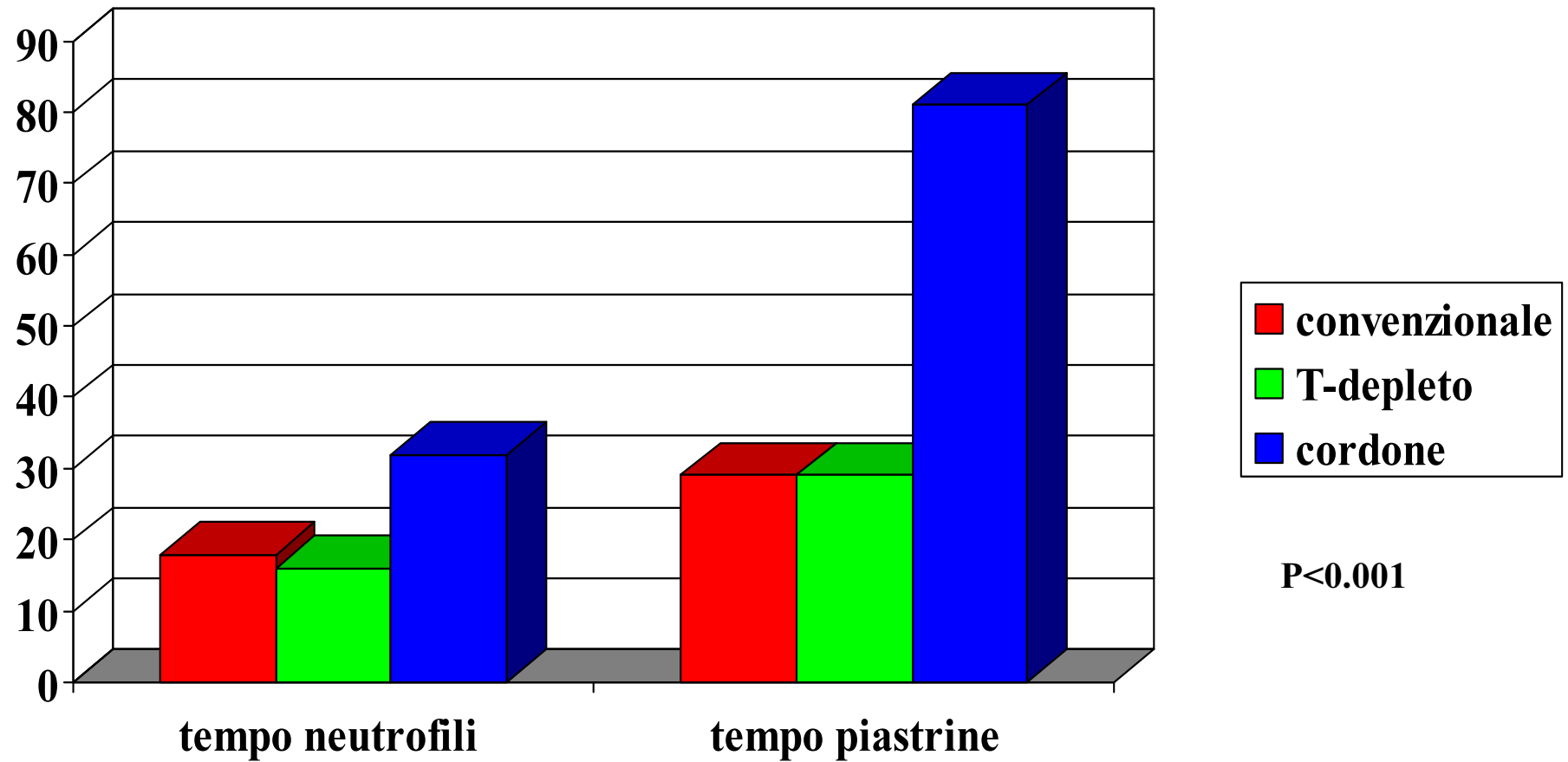
Trapianto allogenico in Italia: sviluppo del trapianto da non consanguineo (dati GITMO)



Trapianto allogenico in Italia: origine delle cellule staminali (dati GITMO)

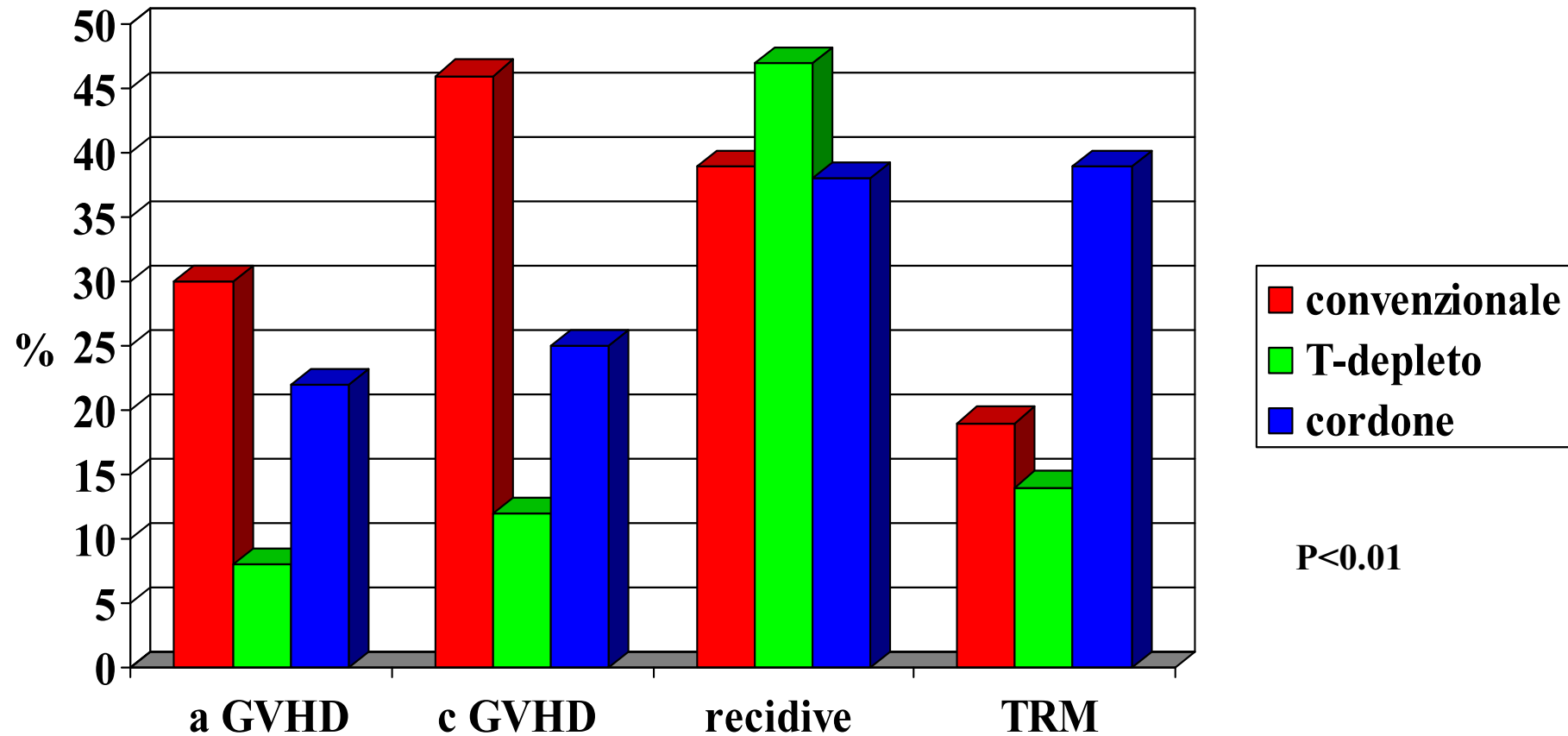


Paragone tra differenti tipi di trapianto allogenico da non familiare



(Da Rocha V et al Blood 97, 2962, 2001)

Paragone tra differenti tipi di trapianto allogenico da non familiare



(Da Rocha V et al Blood 97, 2962, 2001)

Trapianti da cordone ombelicale

I VANTAGGI

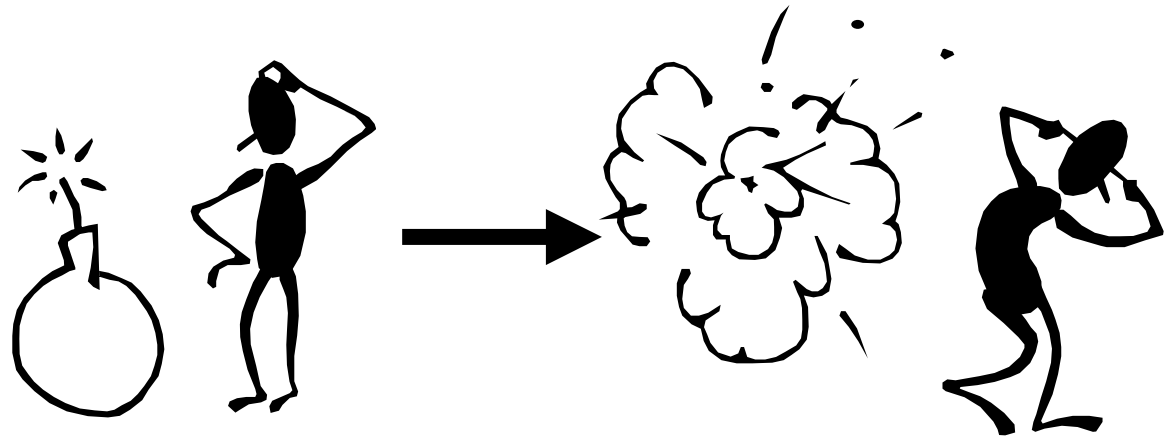
- **la disponibilità**
- **la ridotta GVHD**

GLI SVANTAGGI

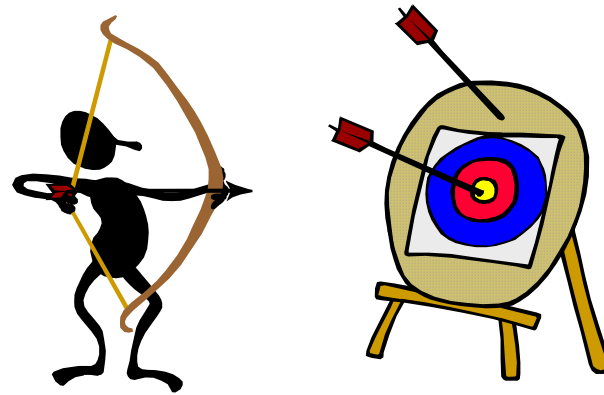
- **i rigetti**
- **il lento attecchimento**
- **il limite di peso ed età**
- **i costi**

Nuovi approcci nella terapia delle leucemie

Le megaterapie
citostatiche



Interventi selettivi



**Non necessariamente l'arma
più aggressiva è la migliore**

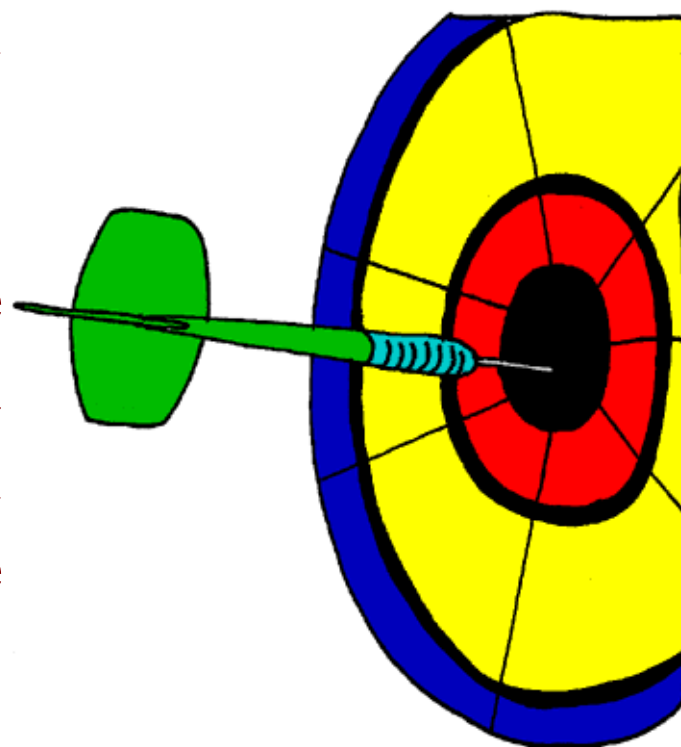
Situazione ideale per la terapia anti-leucemica

1. Distruzione selettiva delle sole cellule leucemiche con risparmio di quelle sane.

⇒ Terapie immunologiche.

2. Blocco del difetto molecolare tipico della cellula leucemica che inibisce la sua maturazione e morte programmata.

⇒ Terapie differenziative.

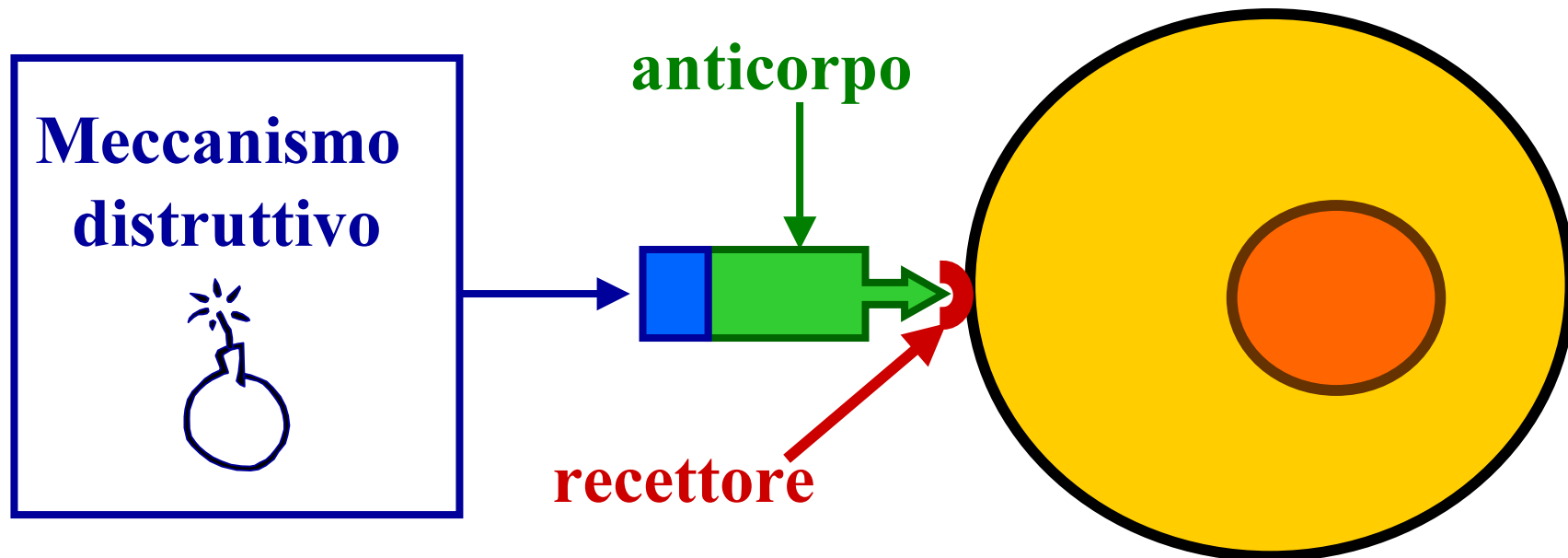


Strumento estremamente selettivo

Terapie con anticorpi

Presupposto: le cellule leucemiche esprimono antigeni tipici di quella linea cellulare.

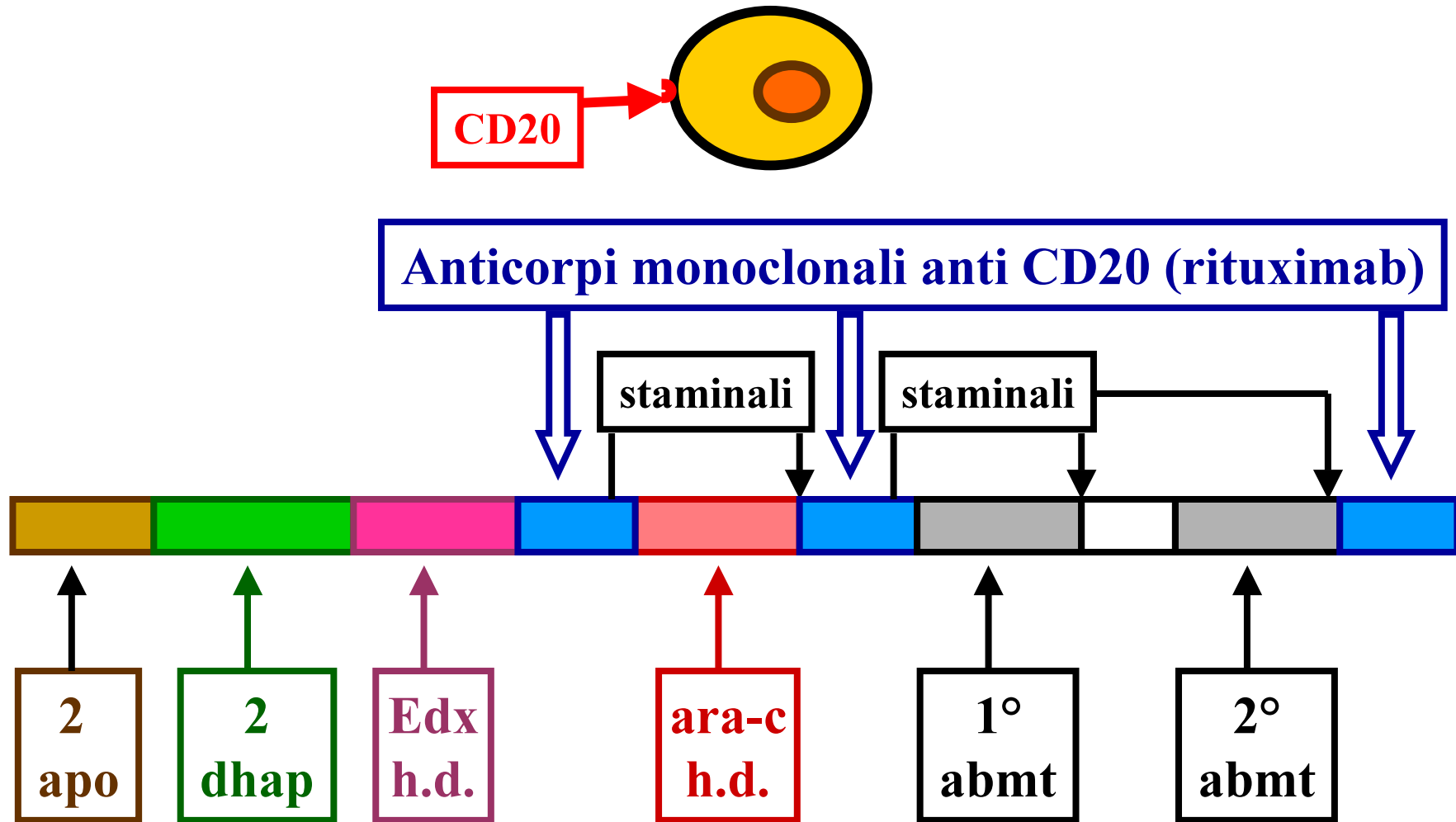
Obiettivo : utilizzo di anticorpi selettivi contro l'antigene specifico in questione.



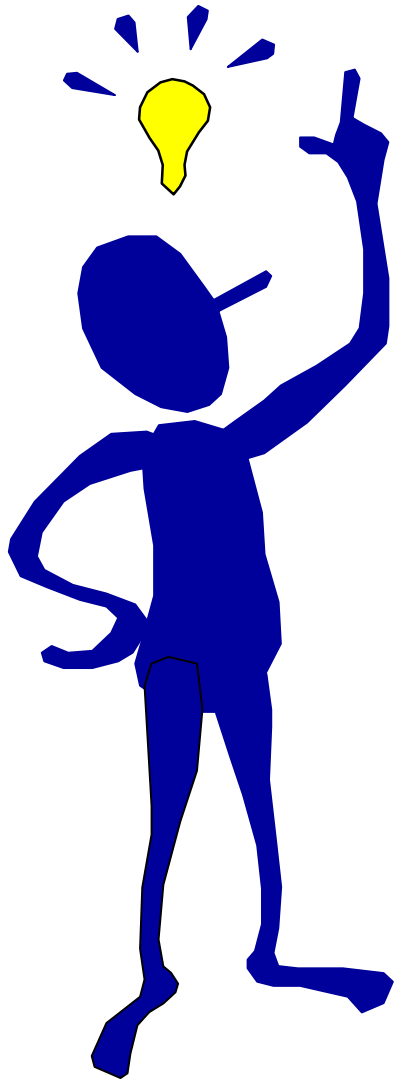
I principali problemi delle terapie con anticorpi monoclonali

- Le reazioni immediate
- La difficoltà a individuare antigeni selettivi
- La possibile tumor lysis syndrome
- La difficoltà a ottenere risultati eradicanti

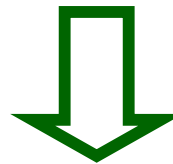
Terapie con anticorpi in alcuni tipi di linfomi che esprimono il CD20



Agenti differenziativi



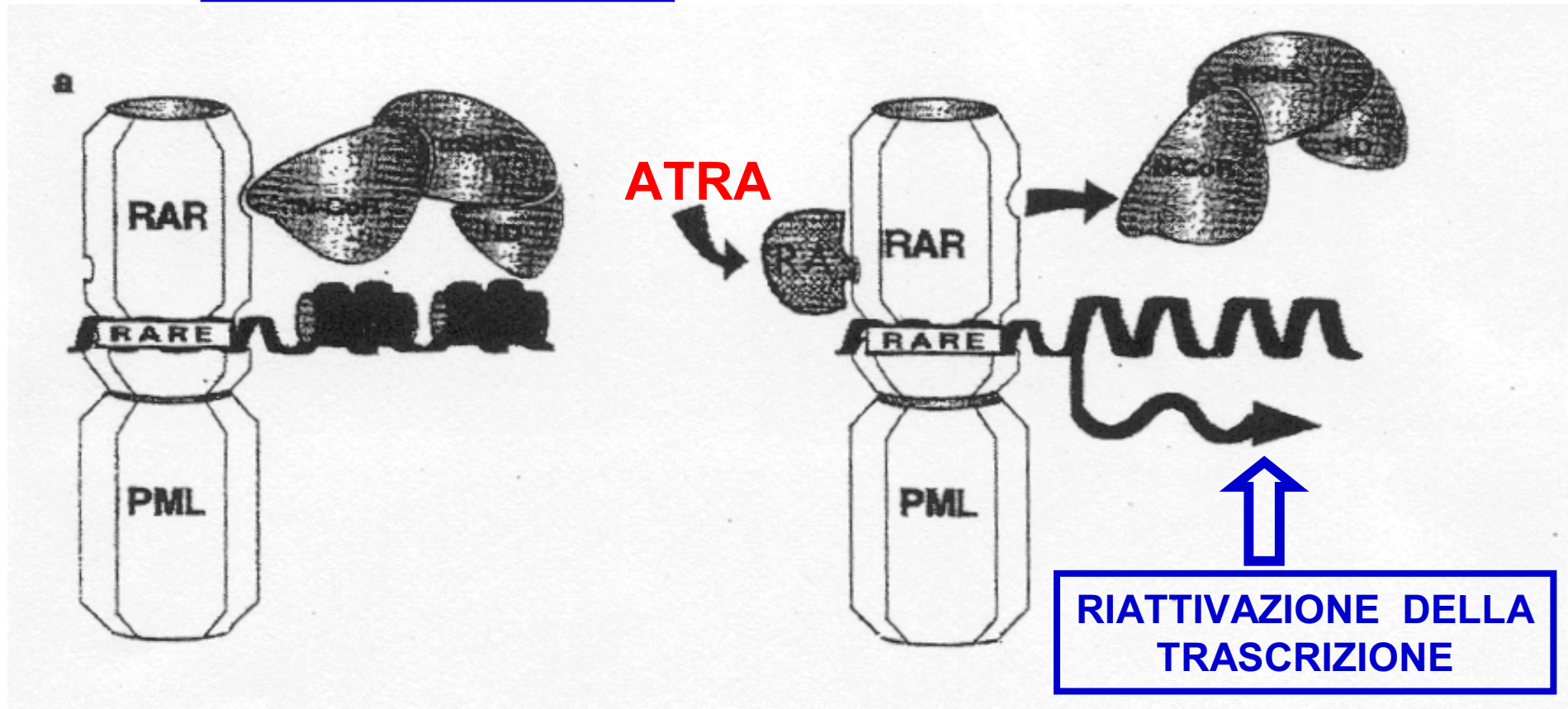
Molecole capaci di annullare l'effetto della mutazione leucemica che inibisce la normale maturazione delle cellule midollari



Le cellule non vivono "all'infinito" e vanno incontro al loro normale processo di maturazione e morte programmata

M3: un esempio di leucemia acuta con difetto molecolare noto e terapia molecolare possibile

REPRESSIONE DELLA TRASCRIZIONE



Utilizzo terapeutico di alte dosi di ATRA

Leucemia Mieloide Cronica (LMC)

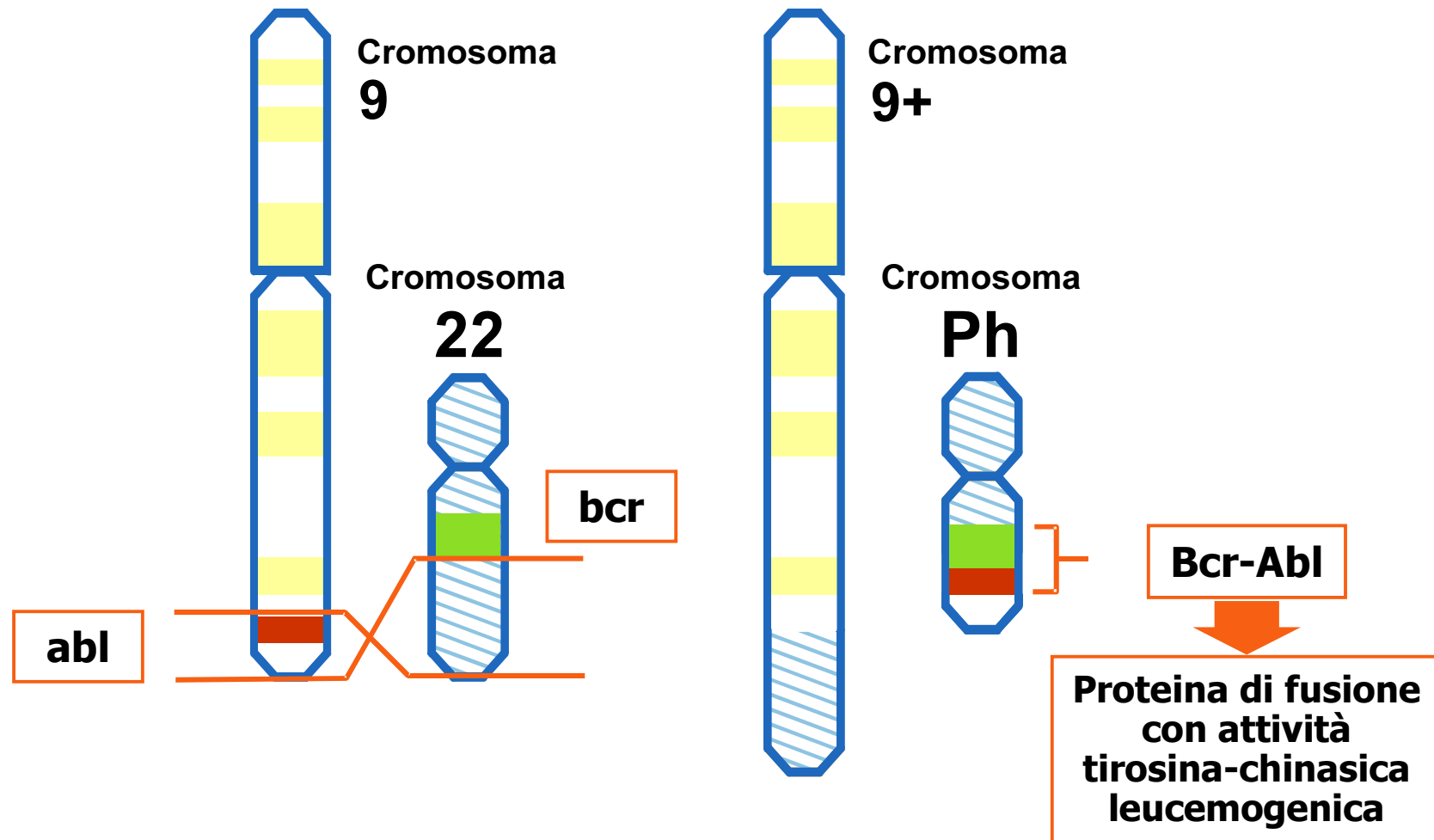
Il cromosoma Philadelphia:
l'anomalia citogenetica responsabile della malattia



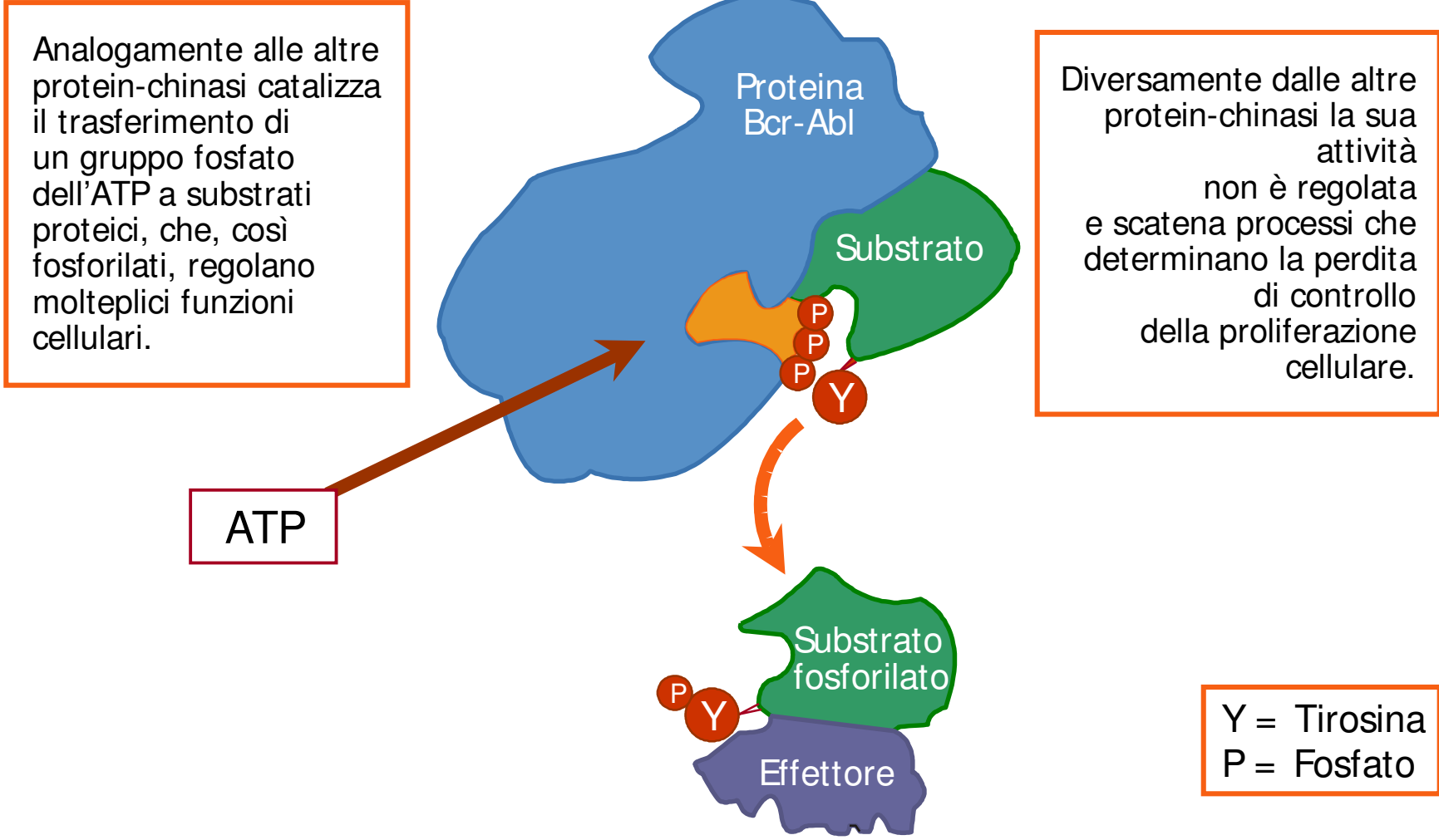
Dimostrabile nel 95% dei pazienti affetti da LMC

Formazione del cromosoma Philadelphia (Ph)

La traslocazione t (9;22)



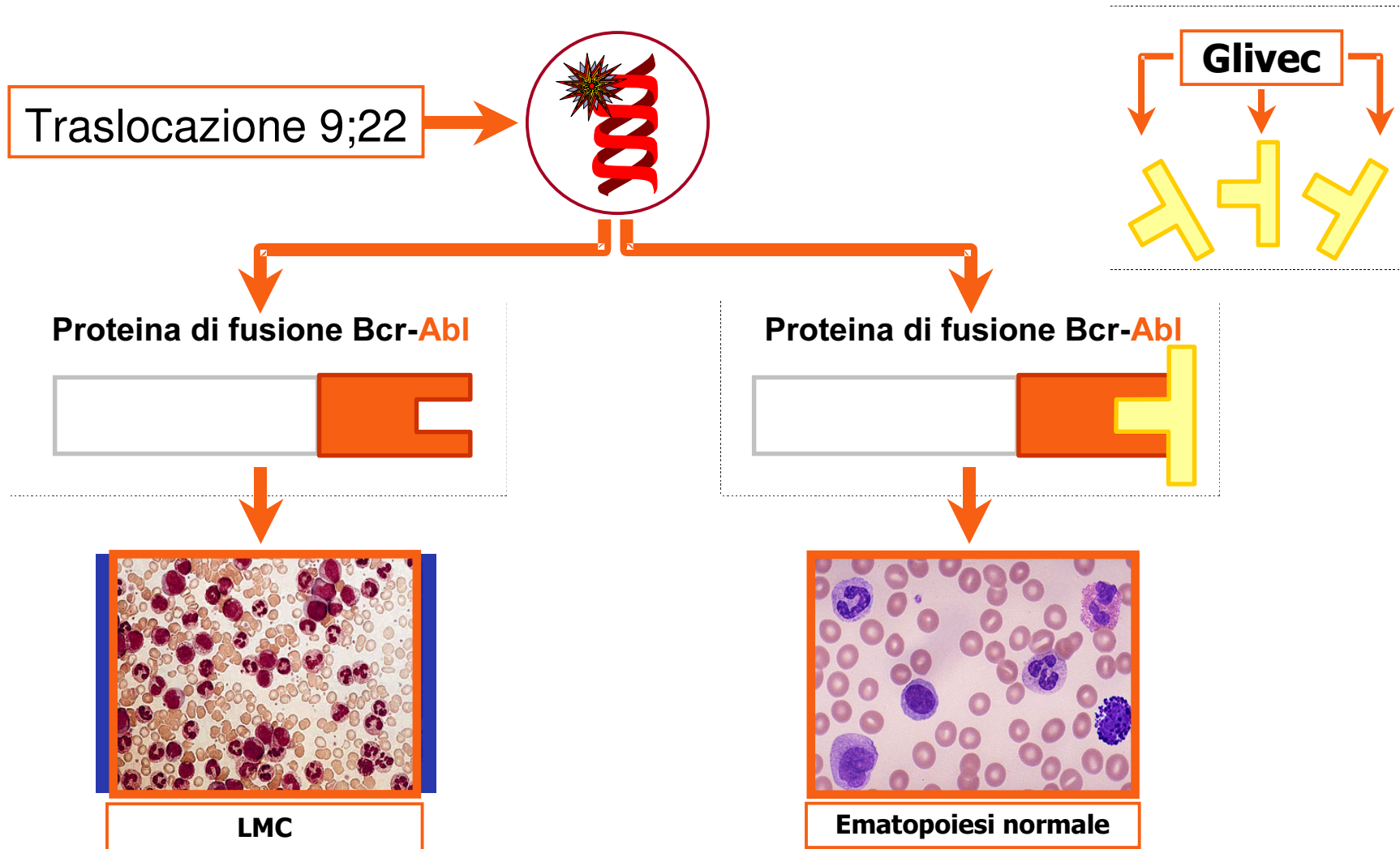
Bcr-Abl tirosina-chinasi: la proteina 'chimerica' che causa la trasformazione neoplastica



Goldman JM, Lancet 2000; 355:1031-1032

IMATINIB

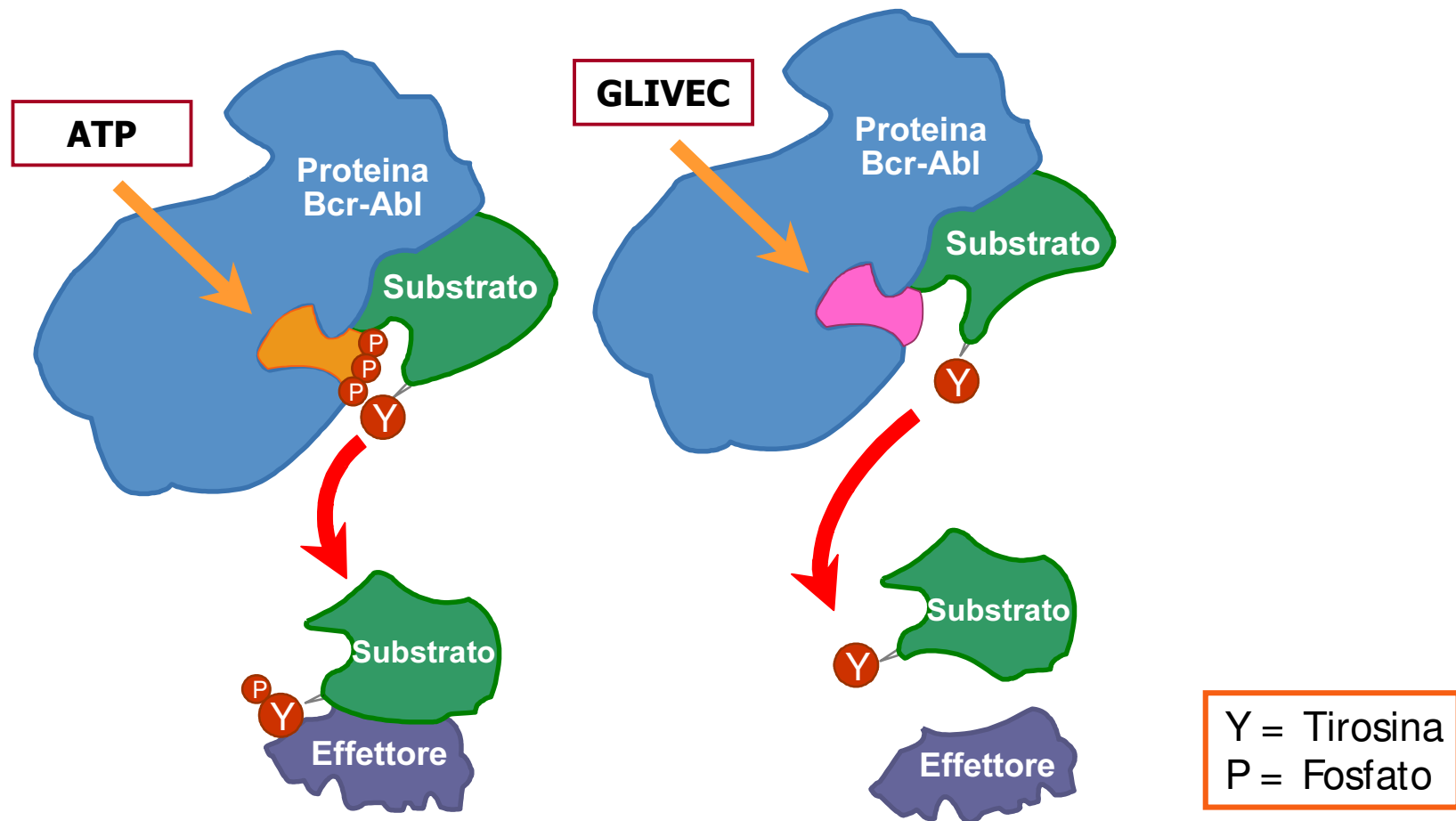
Meccanismo d'azione



IMATINIB

Inibitore selettivo della tirosina-chinasi Bcr-Abl

Meccanismo d'azione

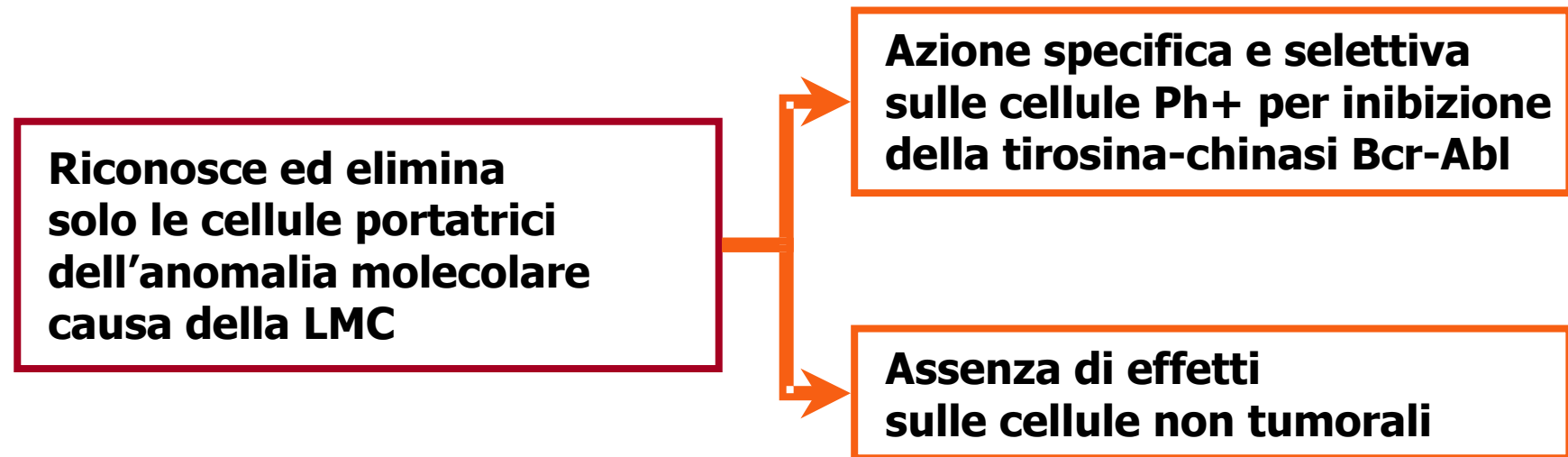


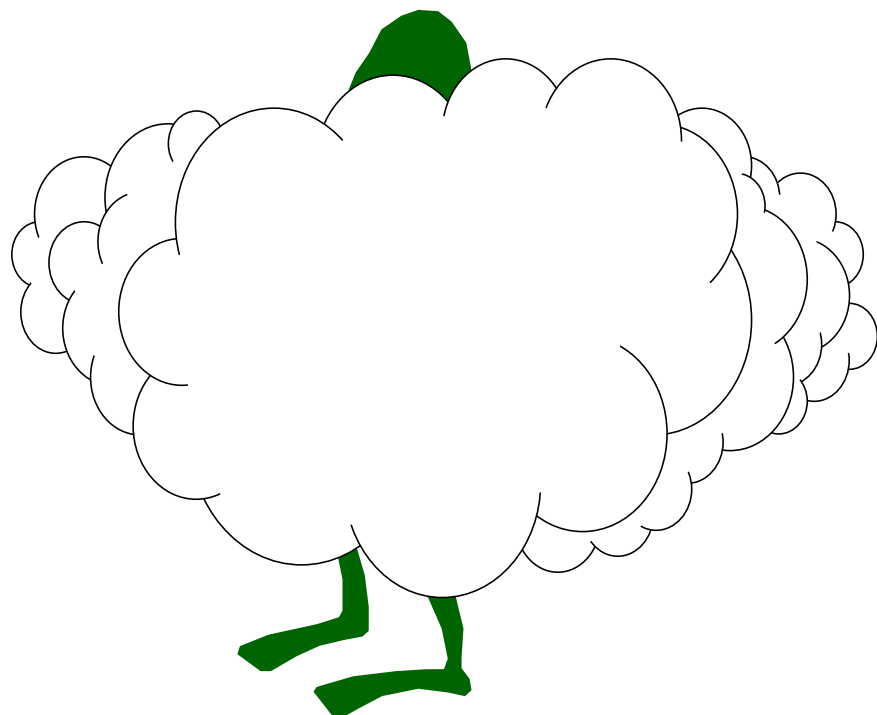
Goldman JM, Milo JV, NEJM 2001, 344:1084-1086

IMATINIB

On target therapy

Per la prima volta in terapia oncologica, un farmaco a bersaglio specifico sul meccanismo patogenetico di malattia





**Verso terapie sempre
meno generiche e confuse**