

Leucemie: principi generali e fisiopatologia

Paolo Avanzini

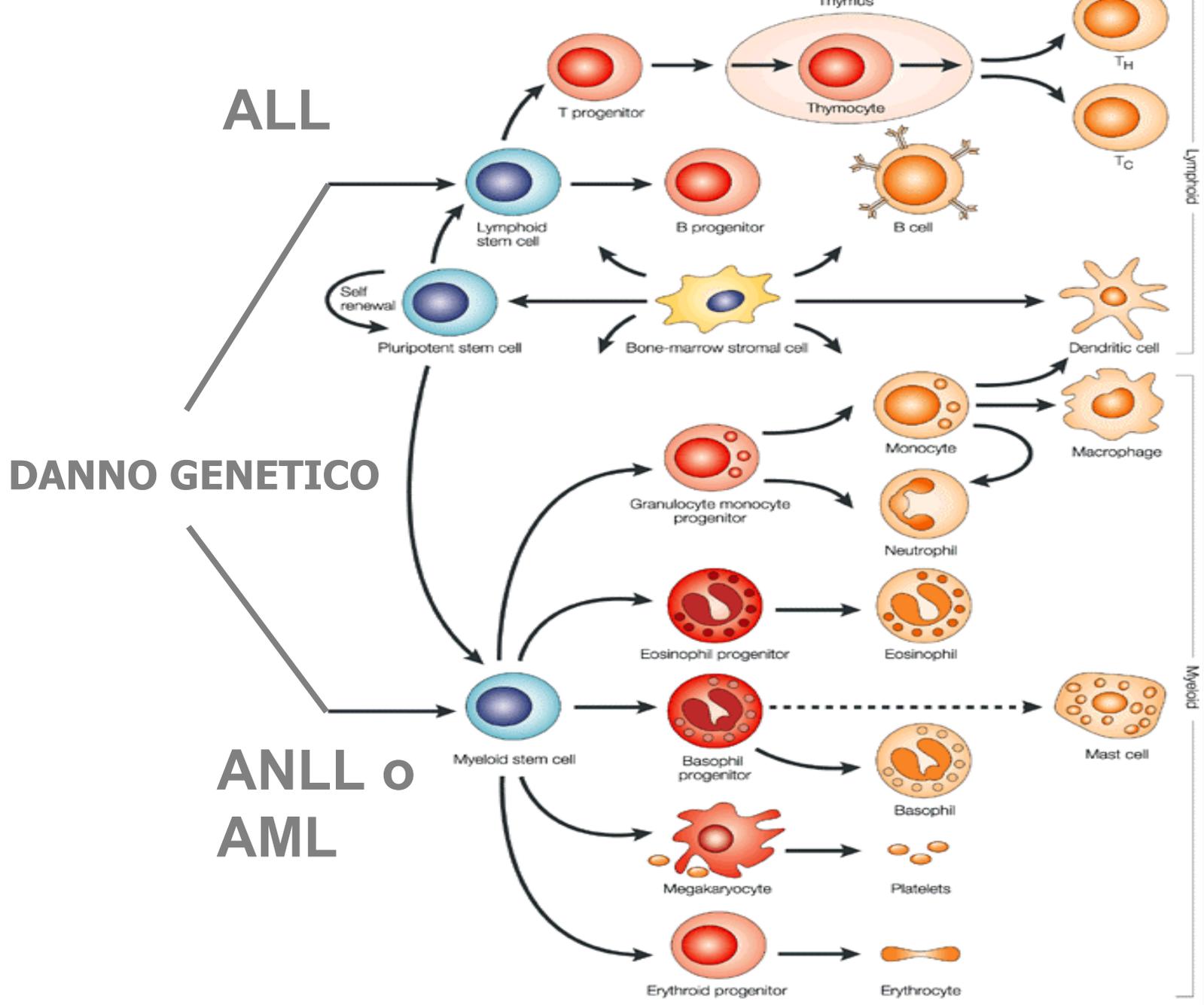
Schema

- Definizione
- Incidenza
- Classificazione
- Alcune descrizioni
- Fisiopatologia
- Alcuni casi particolari

LEUCEMIE: COSA SONO

Gruppo eterogeneo di malattie che hanno in comune:

- La natura clonale (neoplastica)
- L'origine nella cellula staminale emopoietica con alterata proliferazione e differenziazione di varie linee cellulari



LEUCEMIA

- Descritta da Virchow nel 1847
- Soggetti con:
 - splenomegalia
 - modificazioni del colore e della consistenza del sangue
- Si pensò che il sangue contenesse materiale purulento

**Leucemia mieloide
ACUTA:**

**sangue periferico
di una donna di 22
anni che mostra un
grande aumento
del buffy coat (Hb
6.1 g/dL; GB 532 x
10⁹/L, Plt 6 x
10⁹/L)**



LEUCEMIA: INCIDENZA

- Italia 2.1 % (8.100 casi/anno) (AIRTUM 1998-2002)
 - Uomini 16.9
 - Donne 12.9
- Europa 2.5 % (81.000 casi) (IARC 2006)
- Stati Uniti 3.0 % (44.270 casi) (Cancer Statistics, 2008 - stima)

EZIOPATOGENESI

Generalmente sconosciuta. Cause ritenute in grado di favorire una trasformazione leucemica sono:

- Radiazioni ionizzanti
- Sostanze chimiche (Benzene, pesticidi)
- Precedenti chemio o radioterapia
- Virus
- Coloranti
- Fumo

LEUCEMIE

- Una prima grossolana suddivisione delle leucemia comprende:
 - Forme **ACUTE**
 - Forme **CRONICHE**
- La maggior parte delle leucemie mostra alterazioni cromosomiche e/o mutazioni genetiche che alterano la normale funzione o espressione genica e contribuiscono al processo di leucemogenesi.

LEUCEMIE

- Sia per le forme acute che per quelle croniche è possibile distinguere le leucemie mieloidi da quelle linfoidei; avremo pertanto:
 - leucemia mieloide acuta **27%**
 - leucemia mieloide cronica **15%**
 - leucemia linfatica acuta **9%**
 - leucemia linfatica cronica **34%**
- Queste forme sono diverse per quanto riguarda l'eziologia, la biologia, il decorso clinico e la prognosi

CLASSIFICAZIONE WHO

Linea MIELOIDE

- M. mieloproliferative (7)
- M. mieloproliferative/mielodisplastiche (3)
- M. mielodisplastiche (5)
- Leucemie acute mieloidi (12)
- Leucemie bifenotipiche

Classificazione leucemie (WHO)

1. LMA CON TRASLOCAZIONI CITOGENETICHE RICORRENTI

- LMA con t(8;21)(q22;22), AML1(CBF α)/ETO
- Leucemia Promielocitica Acuta [LMA con t(15;17)(q22;q11-12) e varianti PML/RAR α]
- LMA con ipereosinofilia midollare [inv(16)(p13;q22) o t(16;16)(p13;q11), CBF β /MYH11X]
- LMA con anomalie 11q23

2. LMA CON DISPLASIA MULTILINEARE

- Secondaria a sindrome mielodisplastica o sindromi mielodisplastiche/malattie mieloproliferative
- De novo

3. LMA E SINDROMI MIELODISPLASTICHE SECONDARIE A CHEMIOTERAPIA

- Secondaria ad agenti alchilanti
- Secondaria a epipodofillotossine
- Altri tipi

4. LMA NON ALTRIMENTI CLASSIFICATA

- LMA con differenziazione minima
- LMA senza maturazione
- LMA con maturazione
- Leucemia mielomonocitica acuta
- Leucemia monocitica acuta
- Leucemia eritroide acuta
- Leucemia megacariocitica acuta
- Leucemia basofila acuta
- Panmielosi acuta con mielofibrosi
- Sarcoma mieloide (granulocitico)



M0	Indifferenziata
M1	Senza maturazione
M2	Con maturazione
M3	Promielocitica
M4	Mielomonocitica
M5	Monoblastica
M6	Eritroblastica
M7	Megacarioblastica

CLASSIFICAZIONE WHO

Linea LINFOIDE

- Neoplasie della linea B
 - A cellule immature (**LAL B**)
 - A cellule mature (12)
- Neoplasie della linea T/NK
 - A cellule immature (**LAL T**)
 - A cellule mature (13)
- Linfoma di Hodgkin

Difficoltà nella identificazione

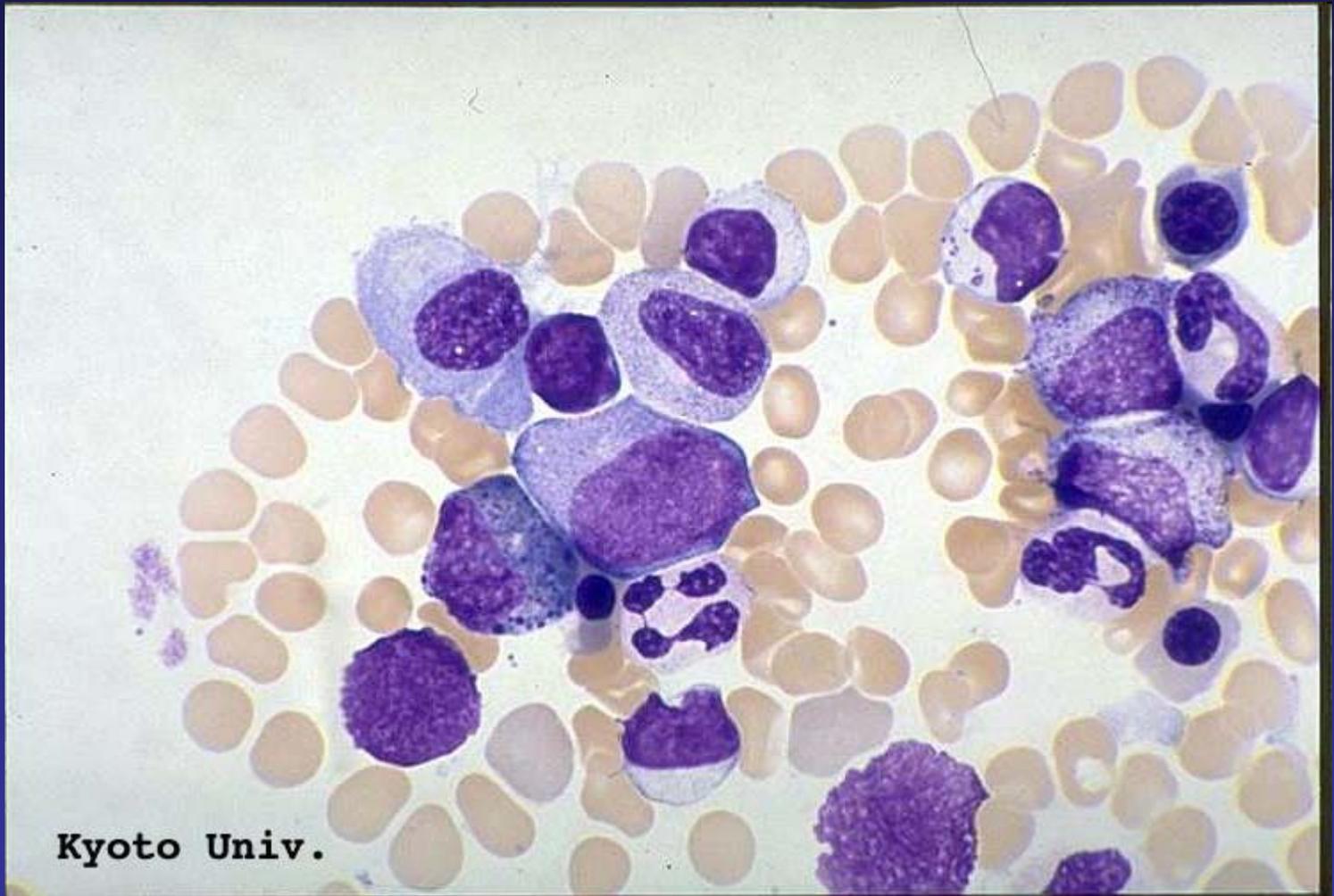
- Il sistema di classificazione (con ICD10 c'è un deciso miglioramento rispetto a ICD 9 CM)
- Evoluzione (l'esordio è in un modo, poi avviene una trasformazione in un'altra malattia – Es. MPD, MDS)
- Complessità intrinseca

Caso clinico

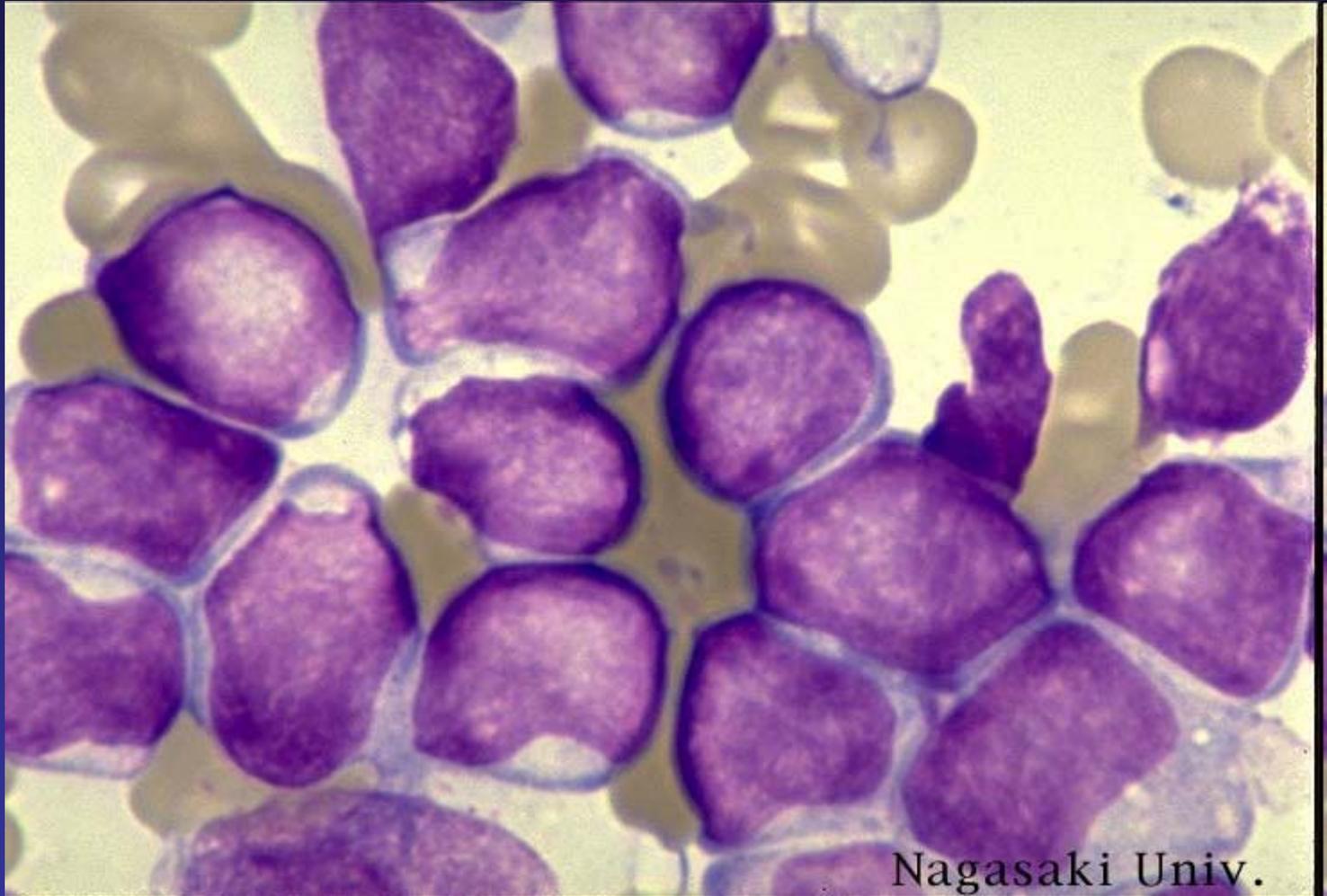
- Maschio, anni 85
- Da due mesi è svogliato, ha poco appetito, è calato di peso, non ha febbre.
- Hb 10.2, GB 31.000, Piastrine 77.000
- Formula: N 19, L 72, non cellule immature
- Diagnosi (con citofluorimetria): Linfoma mantellare leucemizzato.

LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA

- Origine: Cellula staminale emopoietica
- Alterata proliferazione e differenziazione delle linee cellulari derivanti
- Forme:
 - De novo (nessun precedente anamnestico)
 - Secondarie (precedente MDS, chemioterapia)
- Epidemiologia:
 - 3.5 casi/100.000/anno
 - La frequenza aumenta dopo i 50 anni

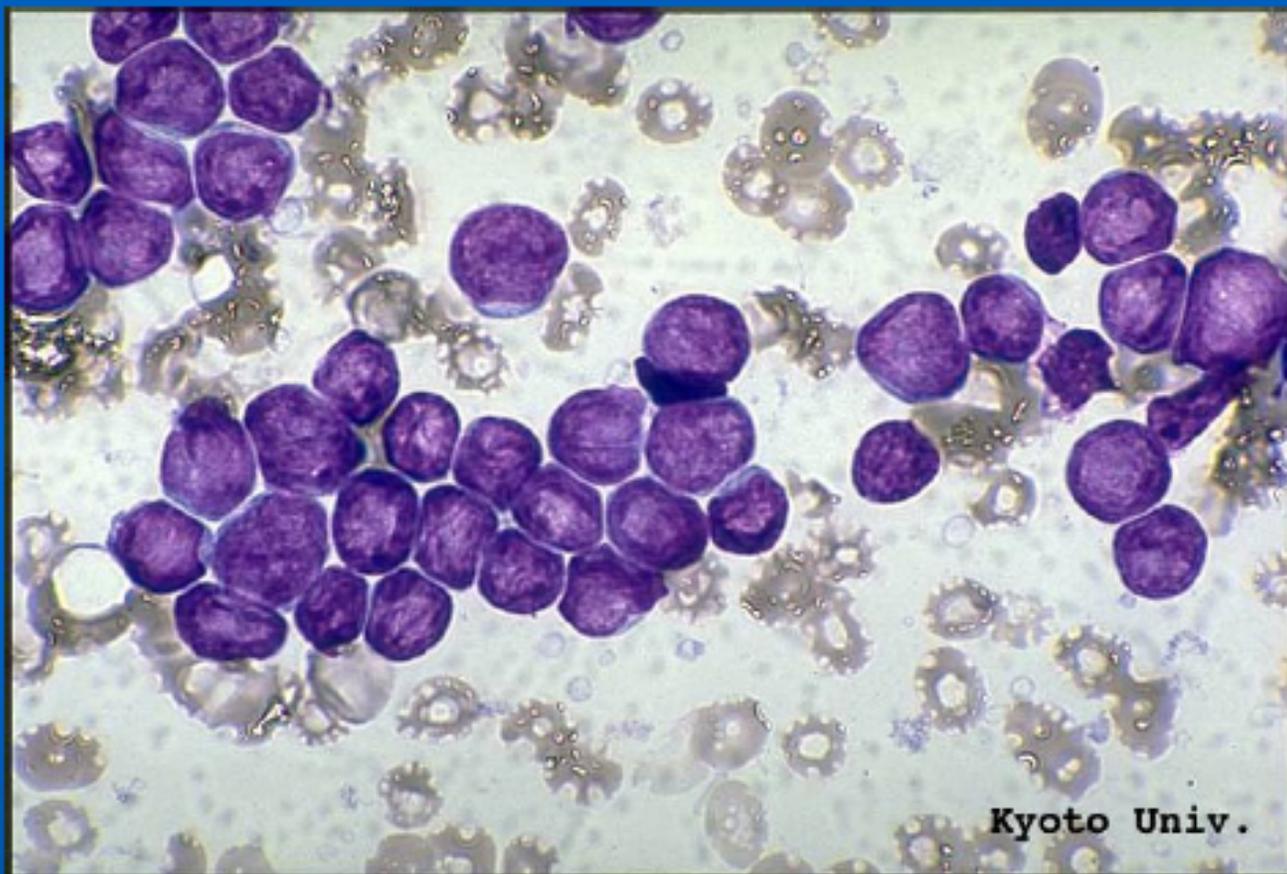


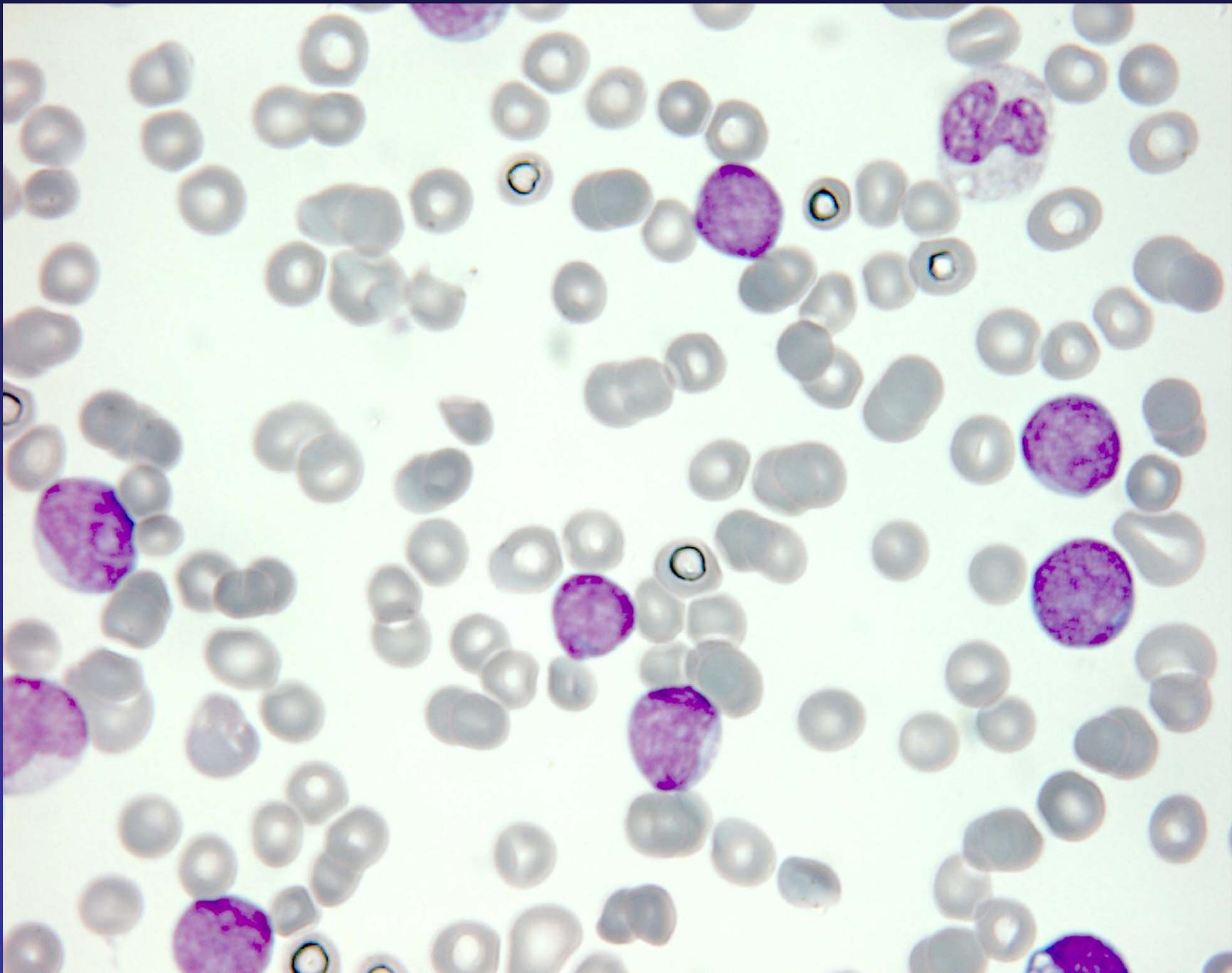
Kyoto Univ.



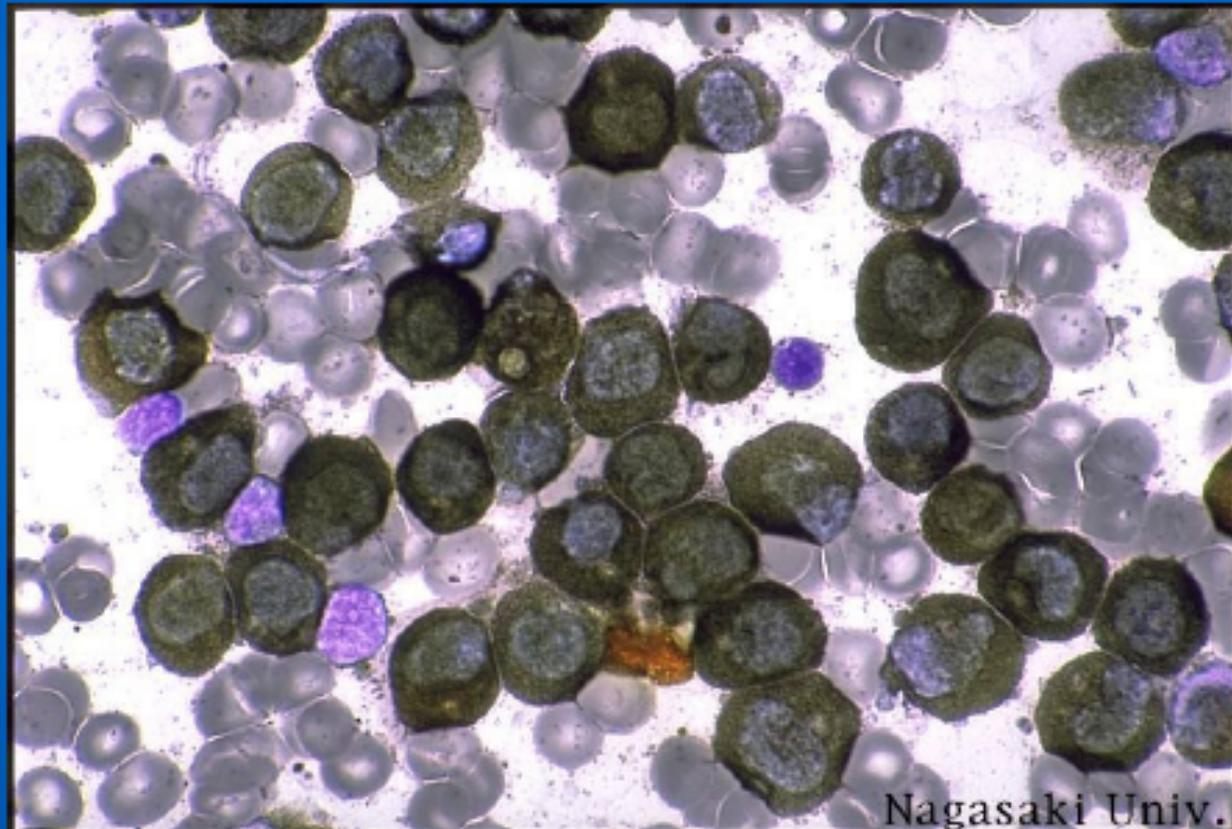
Nagasaki Univ.

Morfologia ... leucemia acuta mieloide





Citochimica. Perossidasi (LAM)



LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA II

- Eziologia sconosciuta
- Concorso di vari fattori, cruciale il ruolo delle alterazioni genetiche
- Alterazioni citogenetiche ricorrenti: blocco della differenziazione cellulare
- Mutazioni puntiformi: influenzano la proliferazione dei blasti leucemici

LEUCEMIA ACUTA LINFOBLASTICA

DEFINIZIONE



Disordine proliferativo clonale neoplastico che origina da precursori linfoidei a livello midollare, timico, linfonodale.

ORIGINE



**Linea linfocitaria
B**



**Linea
linfocitaria T**

LEUCEMIA ACUTA LINFOBLASTICA

INCIDENZA



1,5 casi/100.000 abitanti/anno

Sotto i 15 anni è la neoplasia più frequente

⇒ 80%

bambini

giovani < 15 anni

⇒ 20%

adulti

EZIOLOGIA



sconosciuta

↑ **RISCHIO**

S. di Fanconi

S. di Bloom

Atassia teleangiectasica

soggetti esposti a:

- sostanze chimiche

- citostatici

VIRUS

virus HTLV-1 : leucemia/linfoma a cellule T dell'adulto

virus di Epstein-Barr : linfoma di Burkitt

LEUCEMIA ACUTA LINFOBLASTICA

CLASSIFICAZIONE FAB



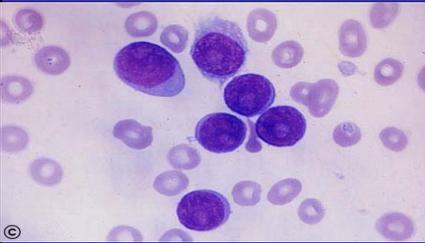
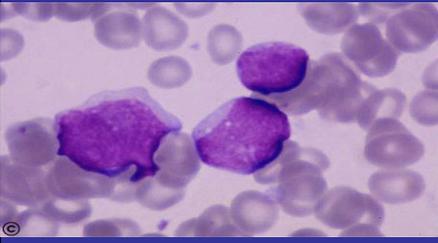
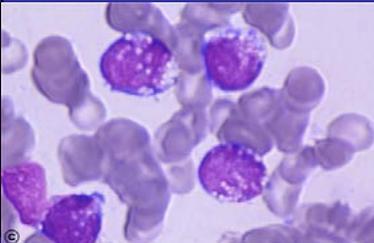
L1



L2



L3

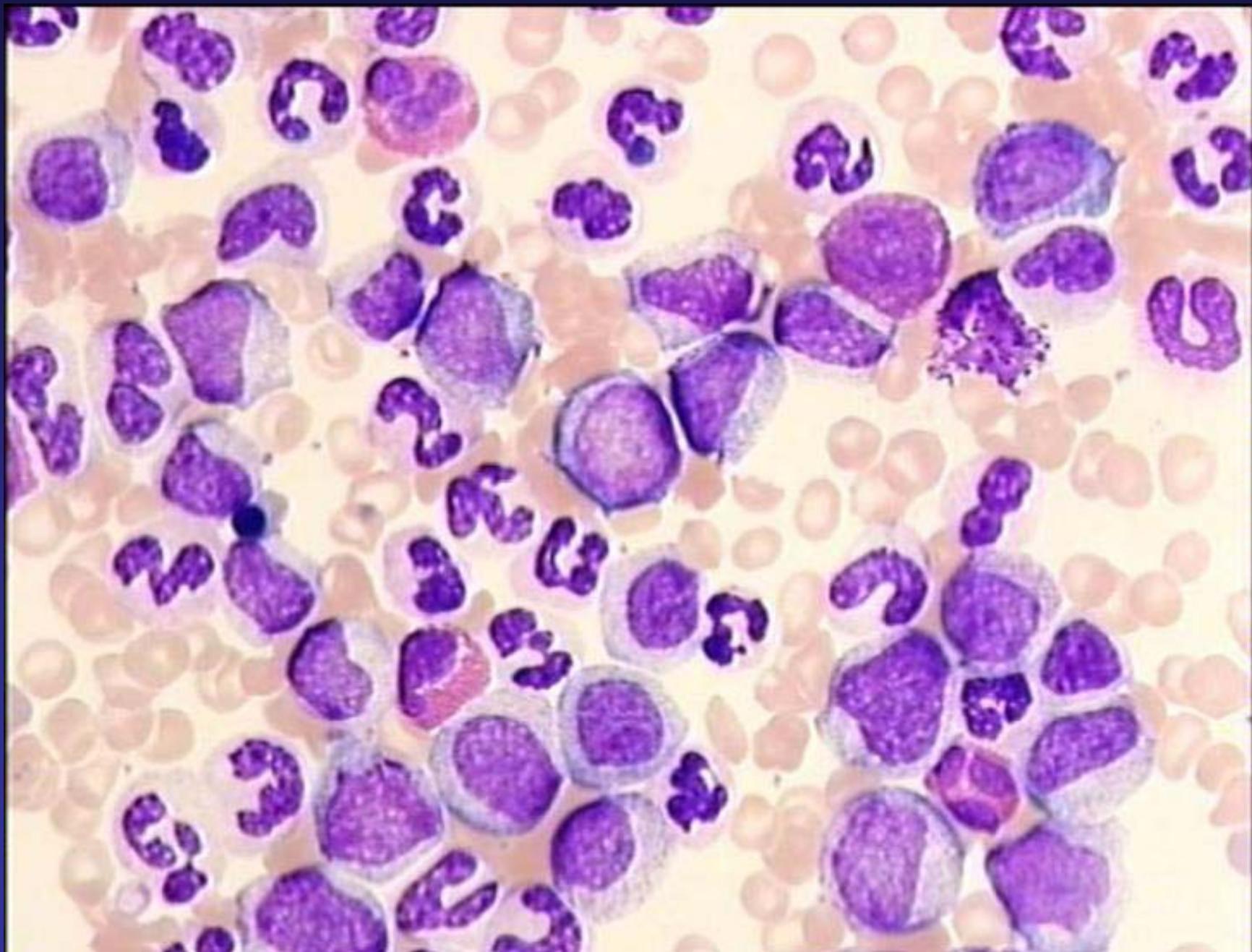
	L1	L2	L3
			
Dimensione cellulare	predominano le piccole cellule	grande ed eterogenea	grande ed omogenea
Cromatina	sempre omogenea	variabile, eterogenea	finemente stipata ed omogenea
Forma del nucleo	regolare	irregolare, spesso indentato	regolare, da ovale a rotondo
Nucleoli	non visibili o piccoli	spesso presenti: uno o più; grandi	prominenti uno o più
Quantità di citoplasma	scarsa	variabile, spesso moderata	moderatamente abbondante
Basofilia del citoplasma	leggera o moderata	variabile, in alcuni casi molto forte	molto forte
Vacuolizzazione del citoplasma	variabile	variabile	spesso prominente

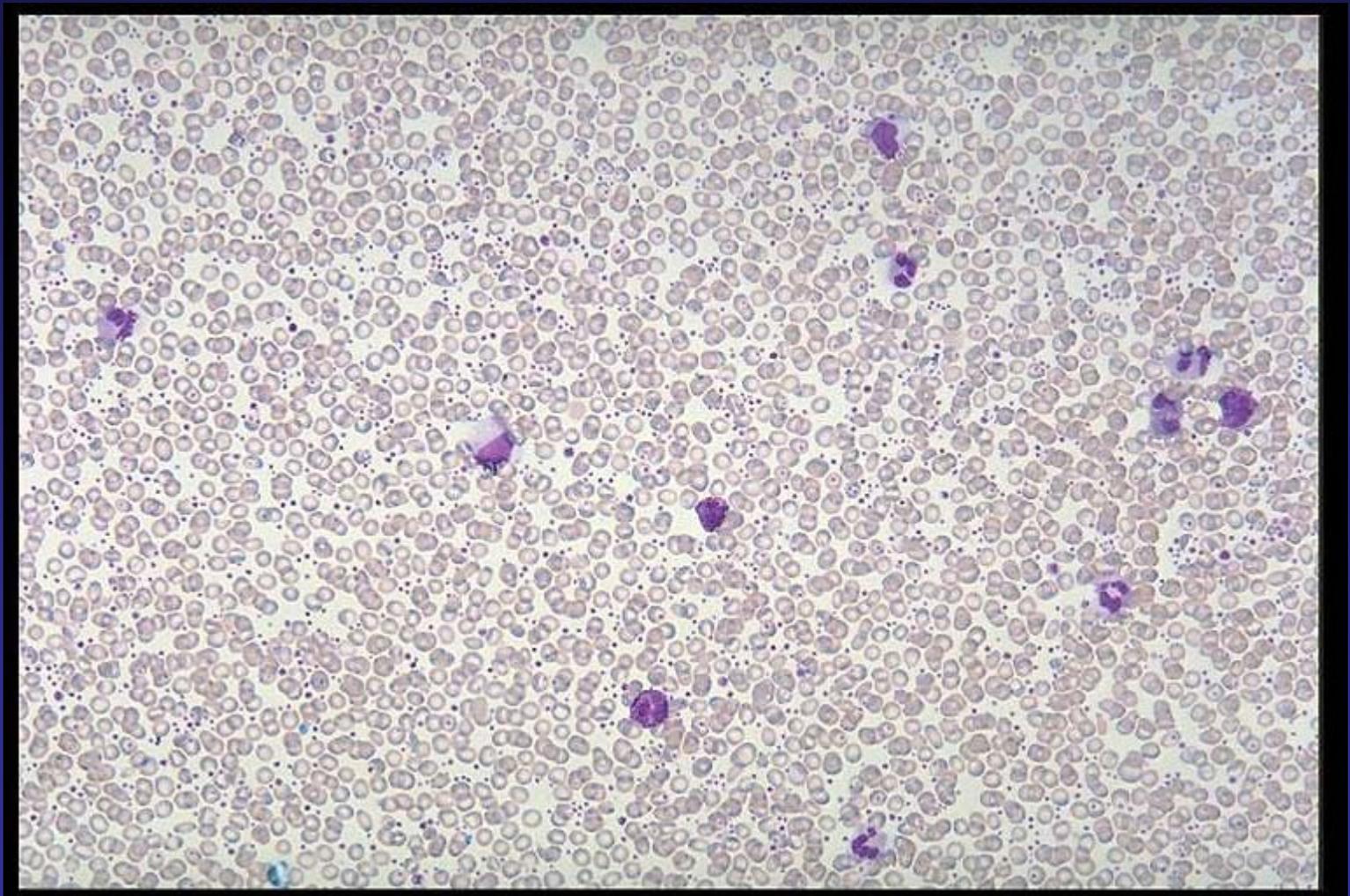
LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA II

- Sul piano della fisiopatologia va segnalata la presenza di aberrazioni cromosomiche clonali nel 90% dei pazienti, con differenze significative tra le forme infantili e quelle dell'adulto, con particolare riferimento al cromosoma Ph (t9:22)

LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

- Definizione: trasformazione neoplastica, della cellula staminale pluripotente, contrassegnata da un'alterazione citogenetica e molecolare (presenza del cromosoma Philadelphia-gene di fusione BCR-ABL). Il decorso clinico distingue una fase iniziale (fase cronica), una fase accelerata e la crisi blastica.
- Epidemiologia: rappresenta fra il 15 e il 20% di tutti i casi di leucemia e ha un'incidenza di 1-1,5 casi per 100.000 individui per anno. E' più frequente nel sesso maschile e l'incidenza maggiore si osserva nel quarto e quinto decennio di vita (range 25-60 anni). Rari sono i casi descritti sotto i 15 anni.





LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA II

- Eziologia: sconosciuta. L'esposizione a radiazioni ionizzanti aumenta significativamente il rischio di sviluppare questa malattia, mentre non sono state riportate correlazioni tra impiego di sostanze chimiche, farmaci citostatici, fattori ambientali e insorgenza di LMC.
- Fisiopatologia: in seguito alla traslocazione 9,22 si ha la formazione di un cromosoma 22 più corto (Philadelphia) e di un gene di fusione ibrido BCR-ABL (sul cr. 22) che codifica per una proteina anomala (p210) con aumentata attività tirosin-chinasica, e conseguente disregolazione della proliferazione cellulare.

LEUCEMIA LINFATICA CRONICA

Definizione

Disordine linfoproliferativo cronico acquisito, di natura monoclonale, caratterizzato dall'espansione di piccoli linfociti maturi che si accumulano nel sangue periferico, nel midollo osseo, nella milza, nel fegato e, occasionalmente, in altre sedi linfatiche o extralinfatiche

EZIOLOGIA



Sconosciuta. Scarsa
incidenza dei comuni
fattori leucemogeni.

EPIDEMIOLOGIA



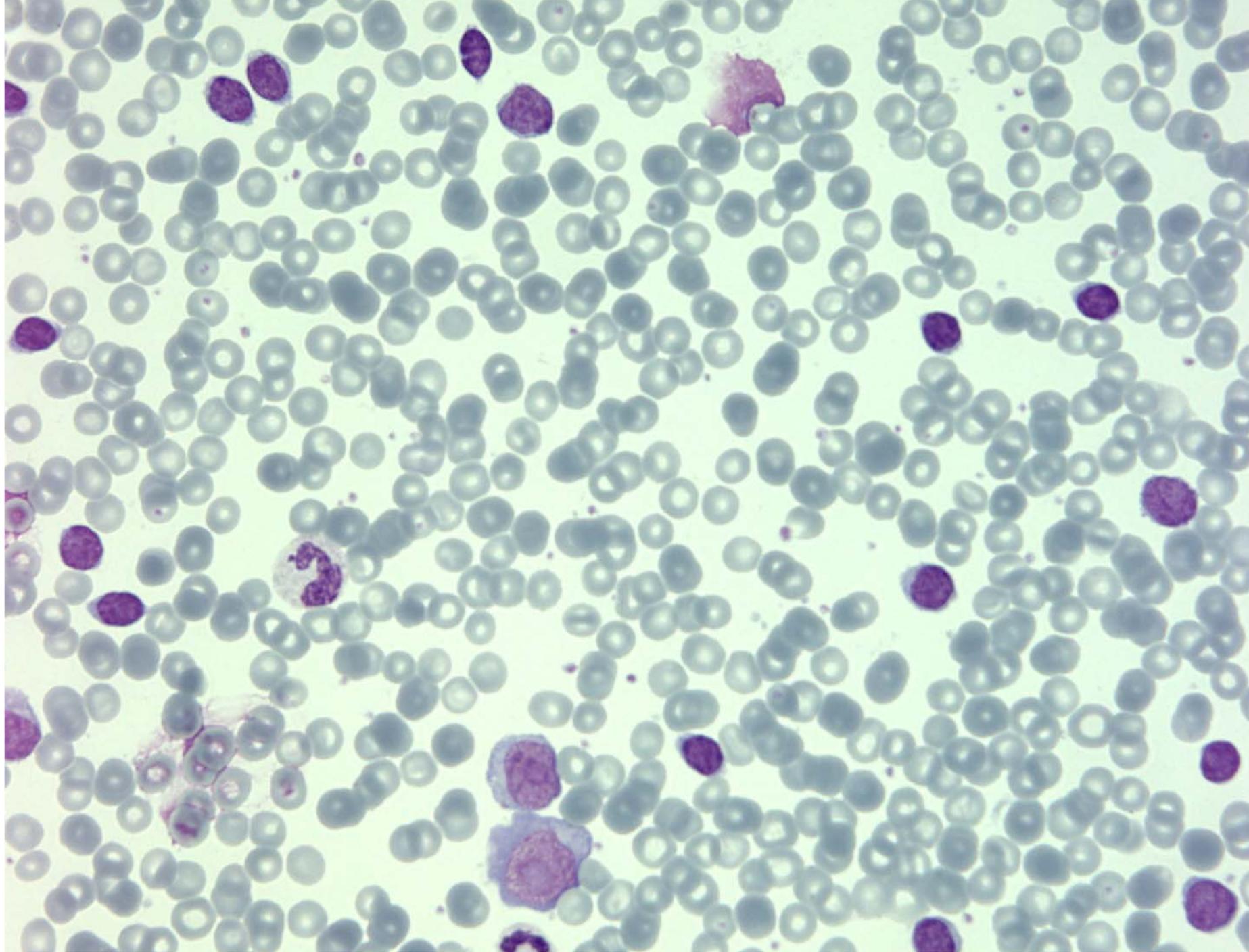
Predisposizione familiare

5 casi/100.000 individui/anno

↑ Incidenza paesi occidentali industrializzati

Soggetti di età compresa tra 50-70 anni

Rapporto M/F 2:1



FISIOPATOLOGIA



L'evento leucemogeno colpisce i B-LINFOCITI in uno stadio di precoce maturazione, quando esprimono Immunoglobuline di superficie a bassa densità di tipo IgM e/o IgD (riarrangiamento clonale del gene per la sintesi delle Ig)

IMMUNOFENOTIPO

95% dei casi: tipo B

5% : tipo T-linfocitario

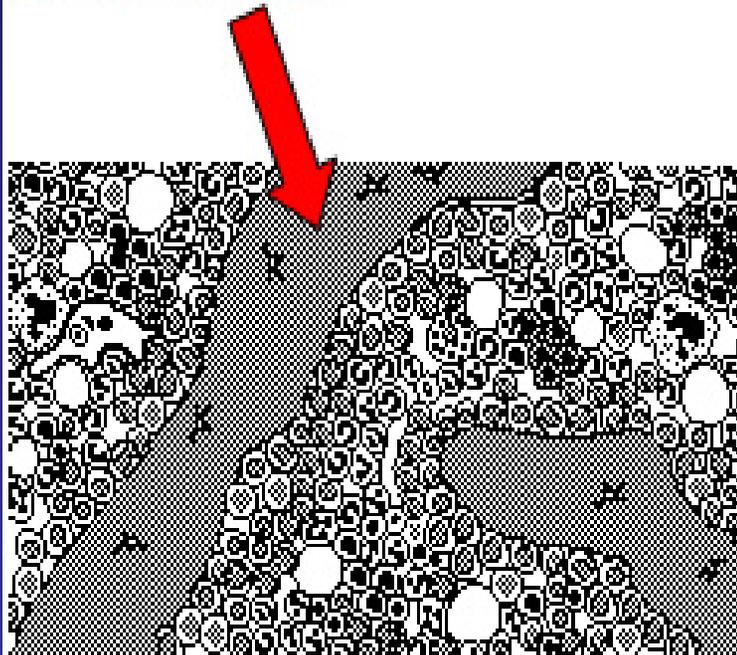
CINETICA

- attività proliferativa molto bassa
- produzione giornaliera di linfociti aumentata di 10 volte
- il 90% dei linfociti permane in circolo per oltre 1 anno
- lo scambio di linfociti del sangue periferico con gli organi secondari e primari è parzialmente alterato

LEUCEMIA LINFATICA CRONICA II

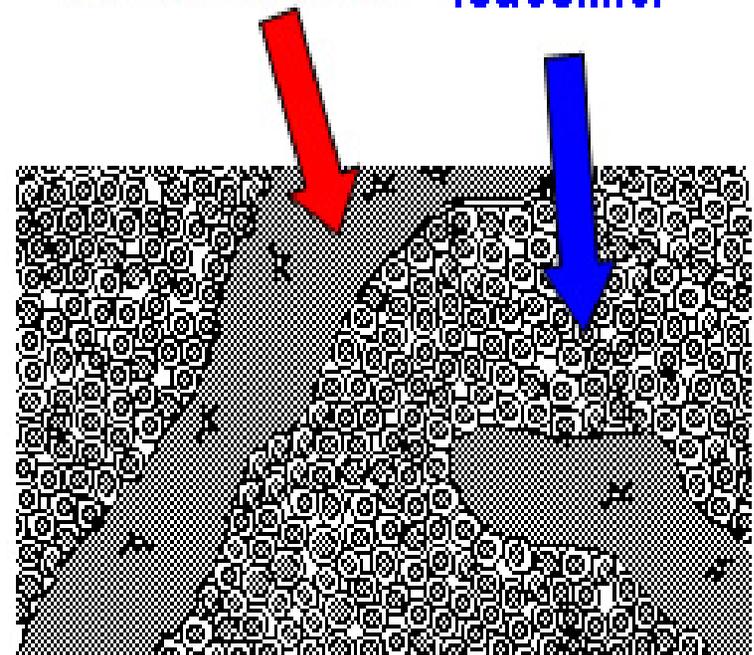
- Fisiopatologia: le cellule della LLC derivano dalla zona mantellare dei follicoli secondari (sono CD5+) e, come tali, sono in grado di produrre anticorpi polireattivi che riconoscono numerosi autoantigeni e questo spiega l'associazione di questa patologia con manifestazioni autoimmuni. I linfociti della LLC sono inoltre caratterizzati da assente o difettosa apoptosi: questo fatto, unitamente alla particolare dipendenza dal microambiente di queste cellule, consente l'accumulo delle cellule patologiche in vari distretti dell'organismo per effetto di una prolungata sopravvivenza.

Lamelle ossee

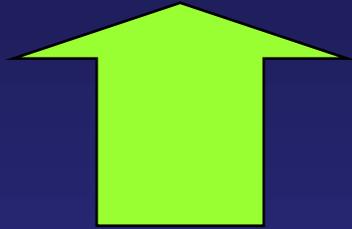


Lamelle ossee

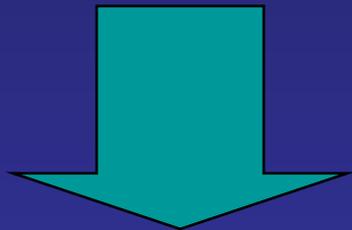
Linfociti
leucemici



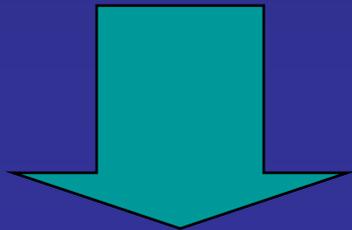
MOLECULAR PATHS TO CANCER



PROLIFERATION



APOPTOSIS



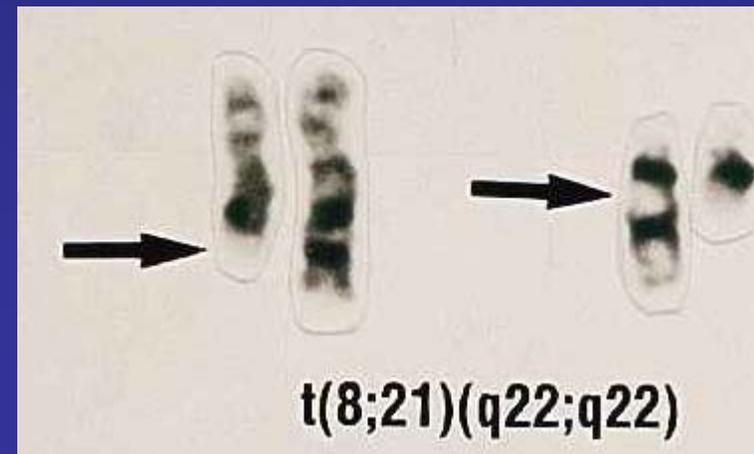
DIFFERENTIATION

Il difetto genetico della HSC

- Alterazioni citogenetiche sono presenti nel 50-60% dei casi
- Traslocazioni 40
- Aneuploidie 10
- Cariotipi complessi 10
- Delezioni 4

Traslocazioni citogenetiche ricorrenti

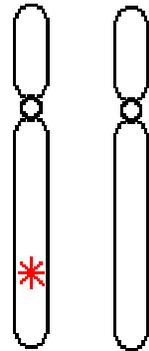
- Rappresentano il 15-20% delle LAM
- Sono alterazioni del “core binding factor”, complesso proteico essenziale per l’ematopoiesi, che normalmente attiva una istone acetiltransferasi e la trascrizione di fattori di differenziamento
- Il complesso, se mutato, attiva una istone deacetilasi e quindi si ha blocco trascrizionale e blocco differenziativo
- Hanno prognosi favorevole



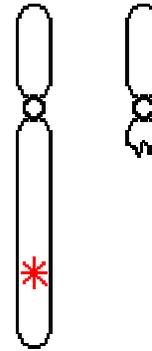
Il difetto genetico

- Bersaglio: la cellula staminale e non i progenitori emopoietici
- Sono necessarie almeno due tipi di mutazioni
 - La prima coinvolge geni implicati nella transduzione del segnale (FLT3, RAS, KIT)
 - La seconda riguarda geni che codificano per fattori di trascrizione (RUNX1, WT1, ecc)

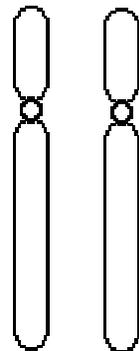
Knudsen's "two hit" hypothesis



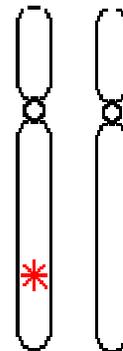
individual with inherited mutation in a tumour suppressor gene



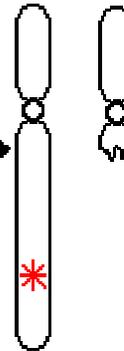
frequent occurrence of second event such as a gross chromosomal change, (in this case a deletion)



normal individual

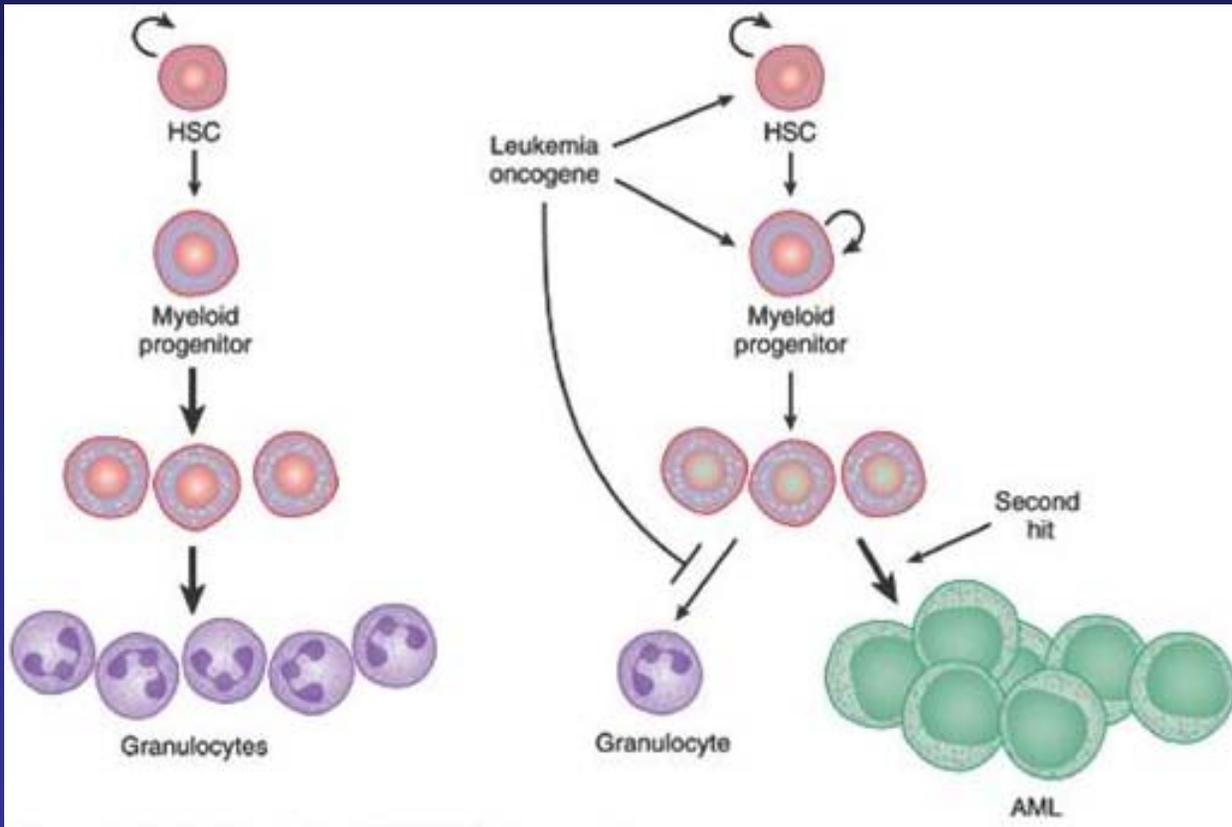


very rare first event



frequent second event

Leucemie acute



Le leucemie derivano da alterazioni molecolari presenti a livello di un precursore ematopoietico

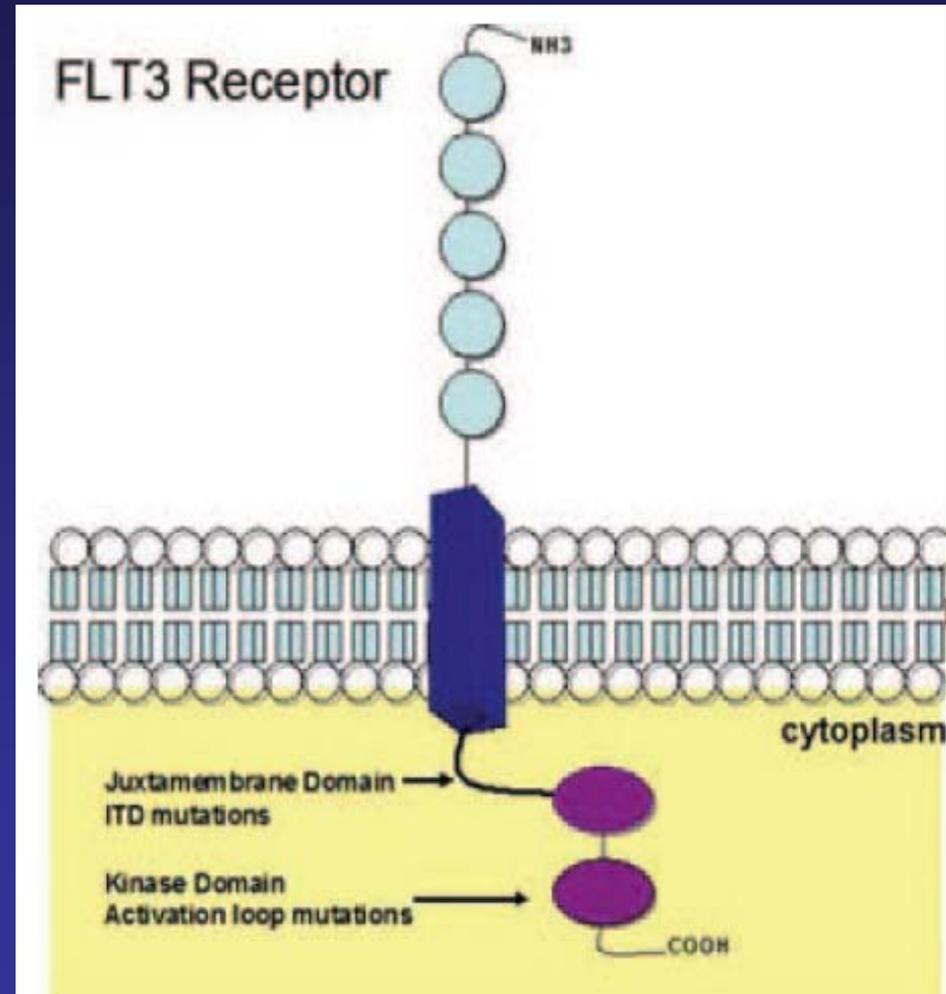
Difetto genetico

Pazienti con cariotipo normale possono esprimere alterazioni di tipo molecolare

- Internal tandem duplication (FLT3)
- Geni iperespressi (WT 1)
- Duplicazione di paia di basi (NPM1)
- Mutazioni puntiformi (KIT)

FLT3

- Recettore tirosin-chinasi presente sulla superficie dei progenitori ematopoietici
- Fondamentale per sopravvivenza e differenziazione delle cellule



FLT3: livelli di espressione

- I livelli di espressione di FLT3 correlano con la conta dei blasti nel midollo
- Sono più alti in LAM5, e più bassi in LAM3

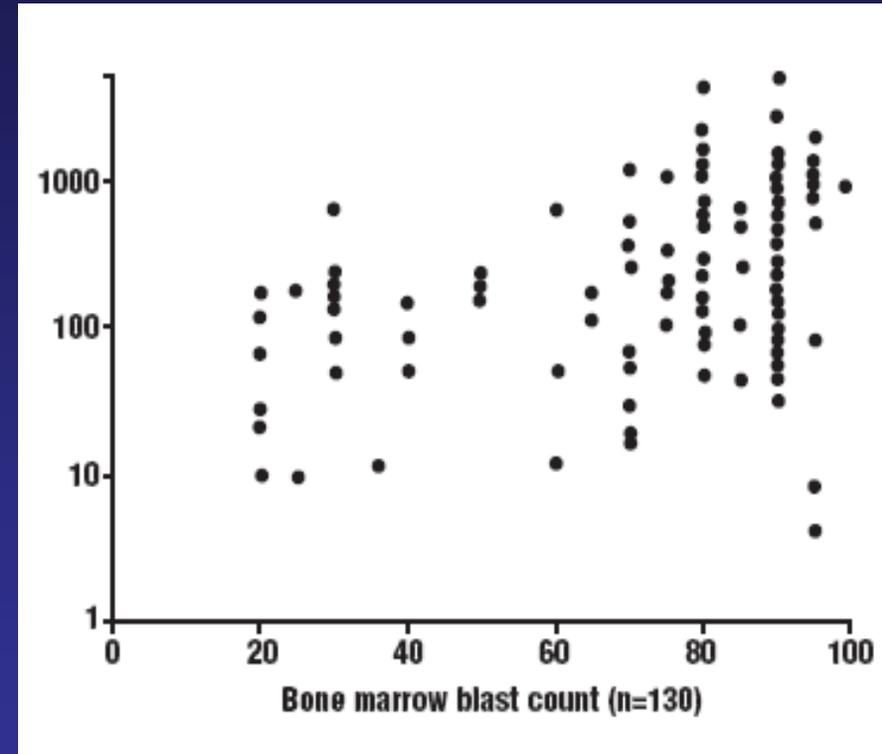
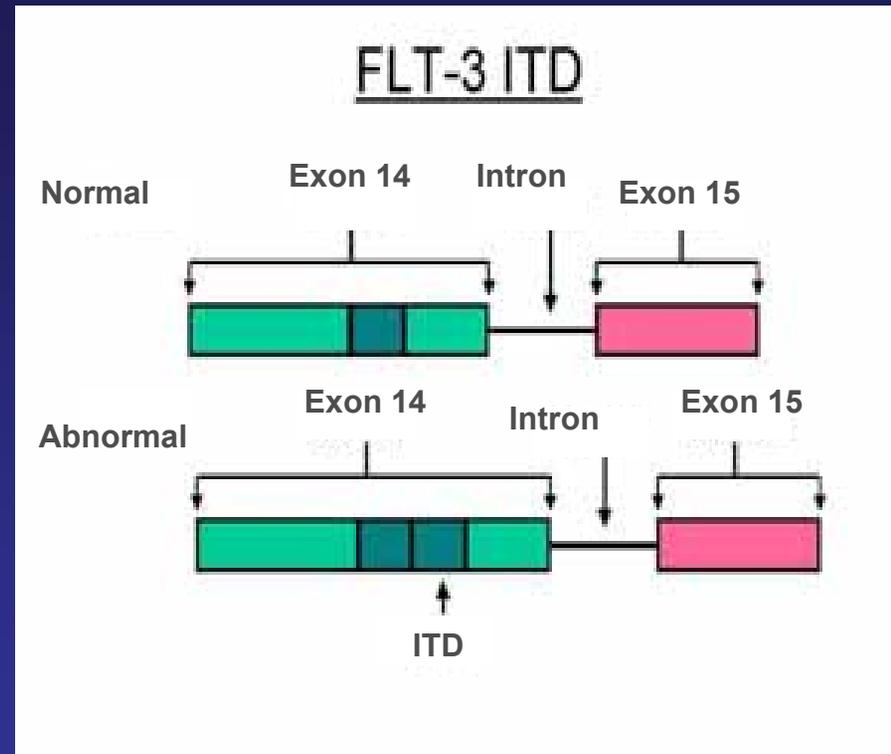


Figure 1. Expression level of the FLT3 transcript according to the percentage of bone marrow blasts. The plot indicates the linear regression. FLT3 expression levels increase with the number of bone marrow blasts ($r=0.422$; $p<0.001$).

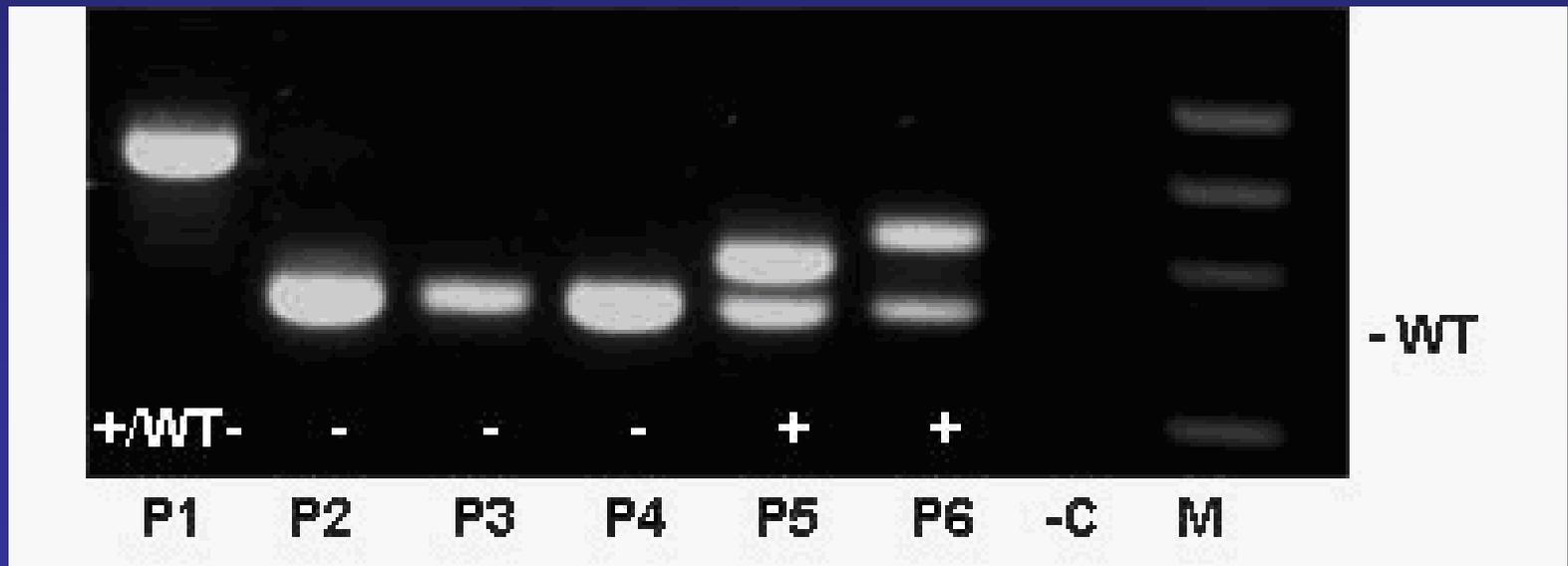
Genetica di FLT3

- Nel 30% dei casi di LAM si osserva mutazione di FLT3 ITD, associata a leucocitosi ed alto numero di blasti.
- Tale mutazione consiste in una ripetizione da 3 a 400 nucleotidi nel dominio iuxtamembrana di FLT3



Rilevamento FLT3-ITD

- Estrazione di DNA
- Amplificazione con primers specifici sugli esoni 14 e 15
- Corsa elettroforetica su gel 2% agarosio
- Visualizzazione agli UV



Ruolo del microambiente

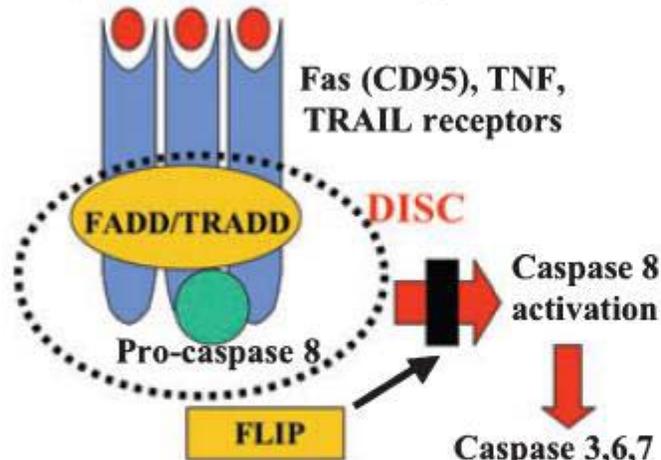
- Le cellule stromali prevengono l'apoptosi spontanea e indotta
- Mediante la produzione di proteine anti-apoptotiche possono attenuare la morte cellulare indotta da chemioterapia
- La produzione di fattori angiogenetici (VEGF) può favorire il self renewal della HSC leucemica e le abnormi localizzazioni di precursori immaturi

Apoptosi

- L'attivazione di nucleasi effettrici in senso pro-apoptotico è in grado di favorire l'espansione leucemica
- Alcuni difetti genetici (trisomia 8, monosomia 7) sono in grado di determinare la differente suscettibilità cellulare all'apoptosi

Extrinsic pathway

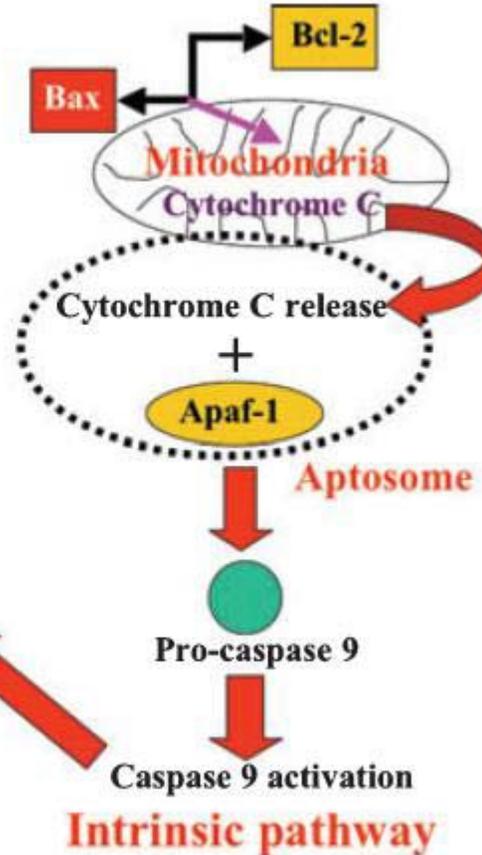
Fas (CD95), TNF, TRAIL ligands



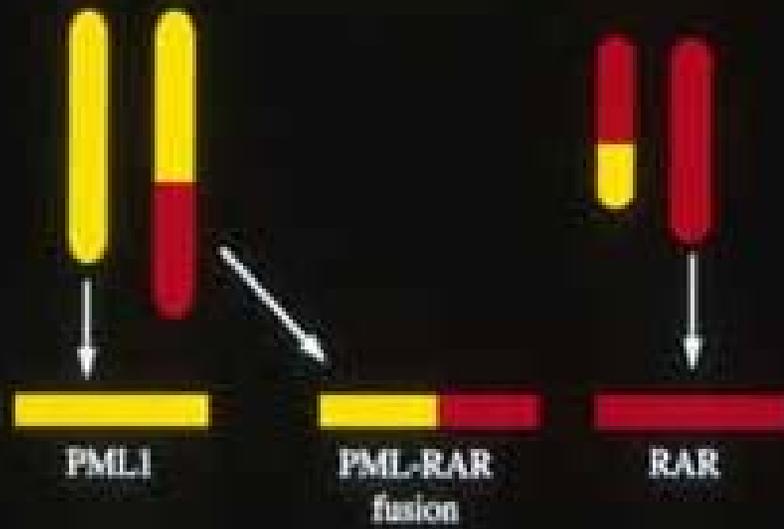
Nuclear collapse
and apoptosis

Caspase 3,6,7
activation

DEDD



t(15;17)

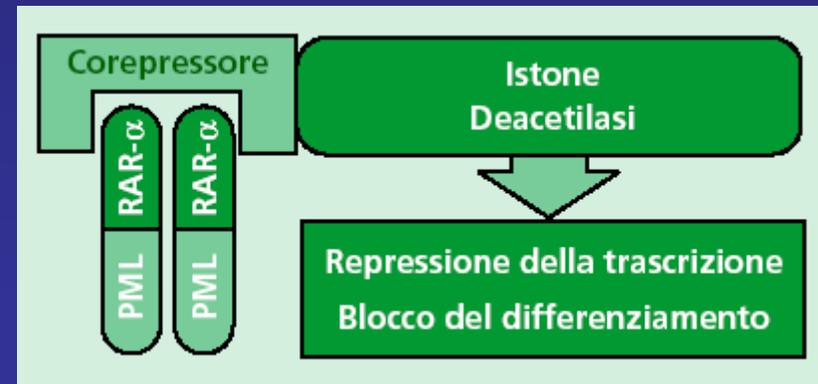
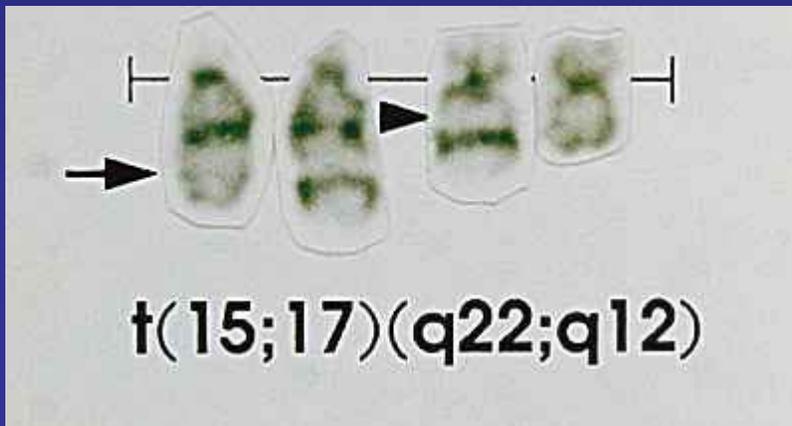


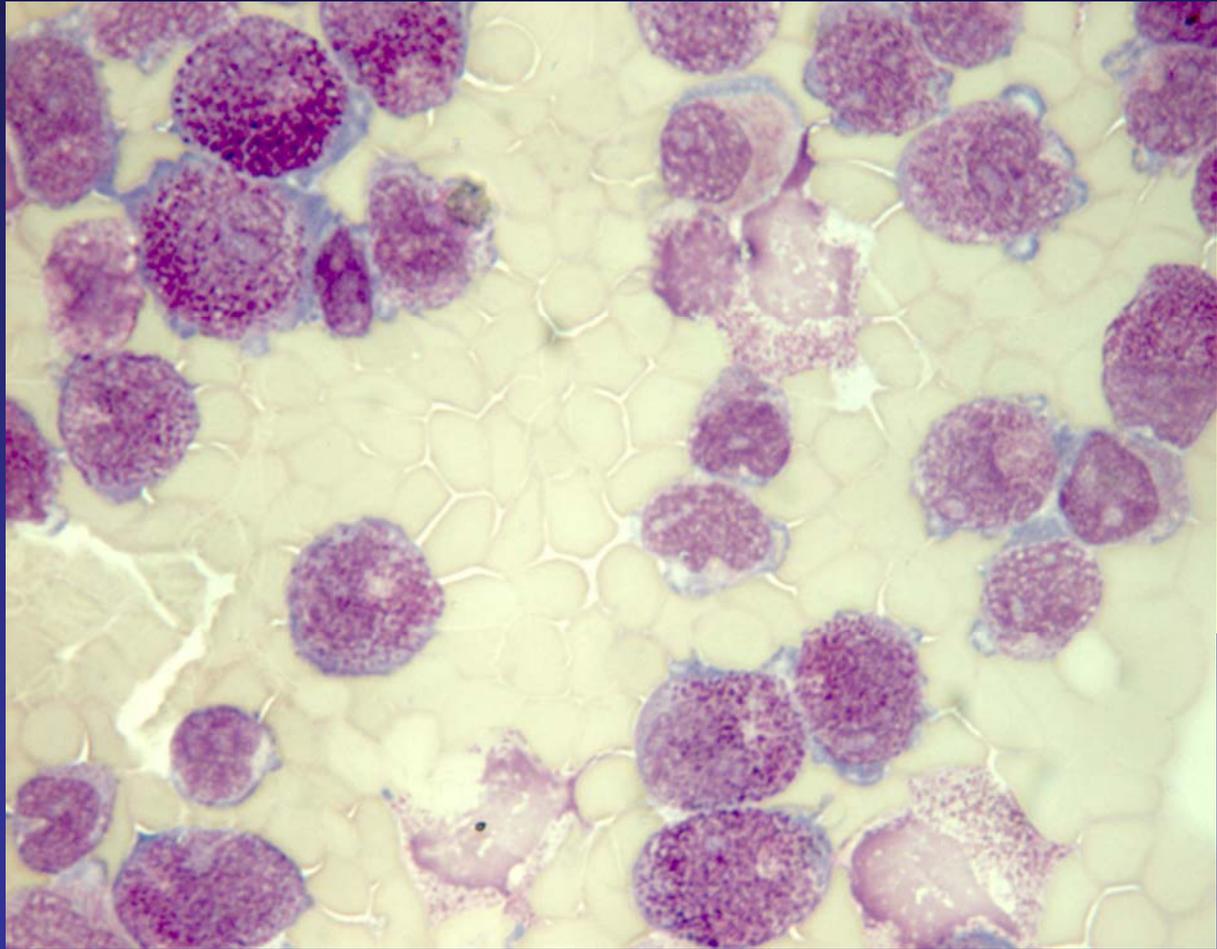
LEUCEMIA ACUTA PROMIELOCITICA

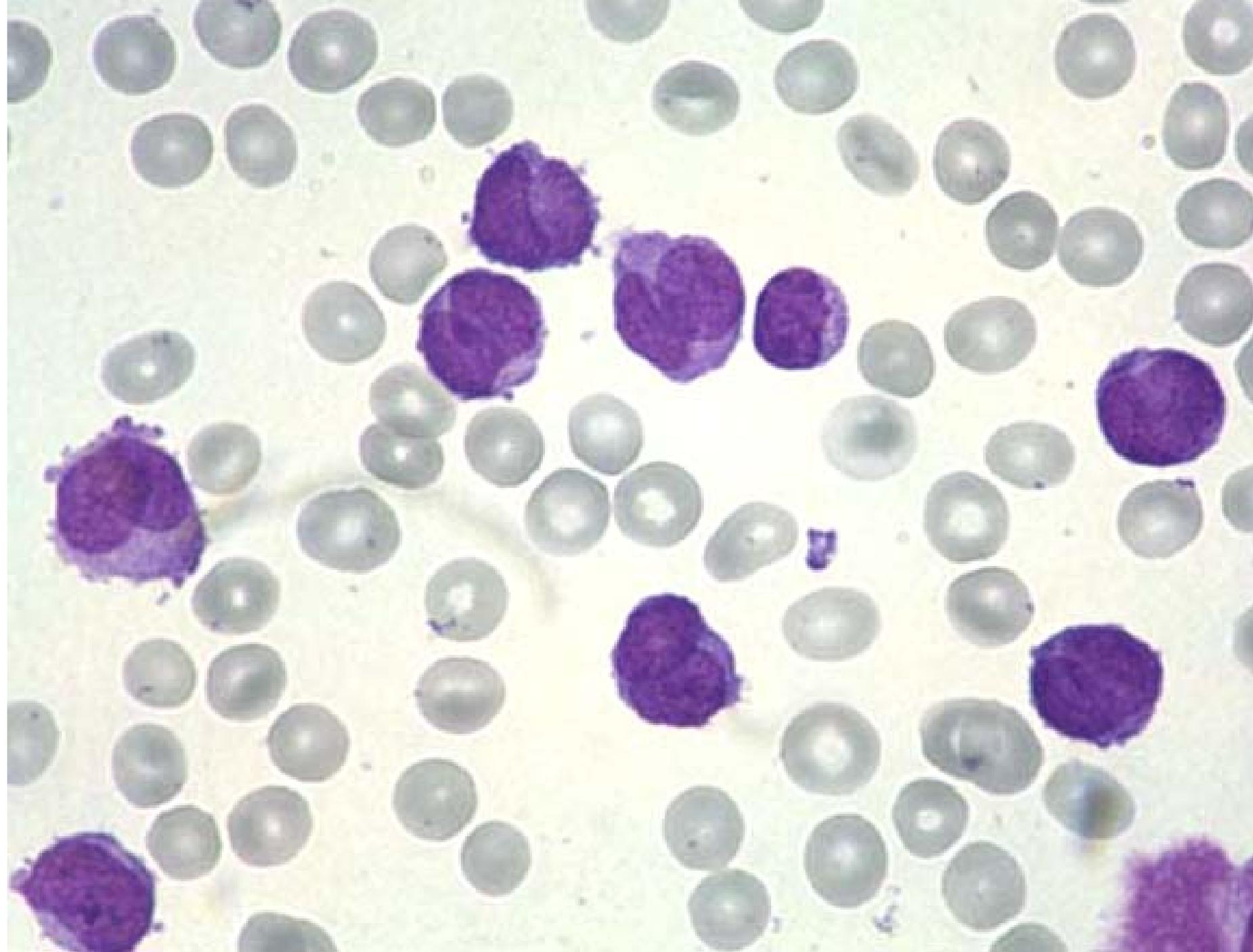
5% delle leucemie acute mieloidi; nel 98% dei pazienti è presente t (15;17)

⇒ gene chimerico **PML/RAR α** = sequenza che codifica per il recettore alfa dell'acido retinoico (**RAR α**) (cromosoma 17) + sequenza codificante una unità trascrizionale definita **PML** (cromosoma 15)

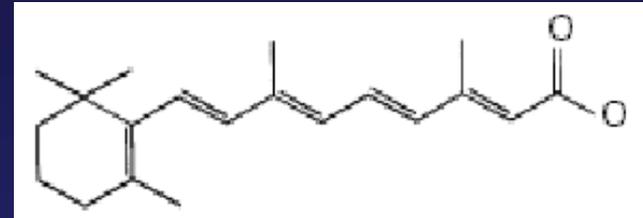
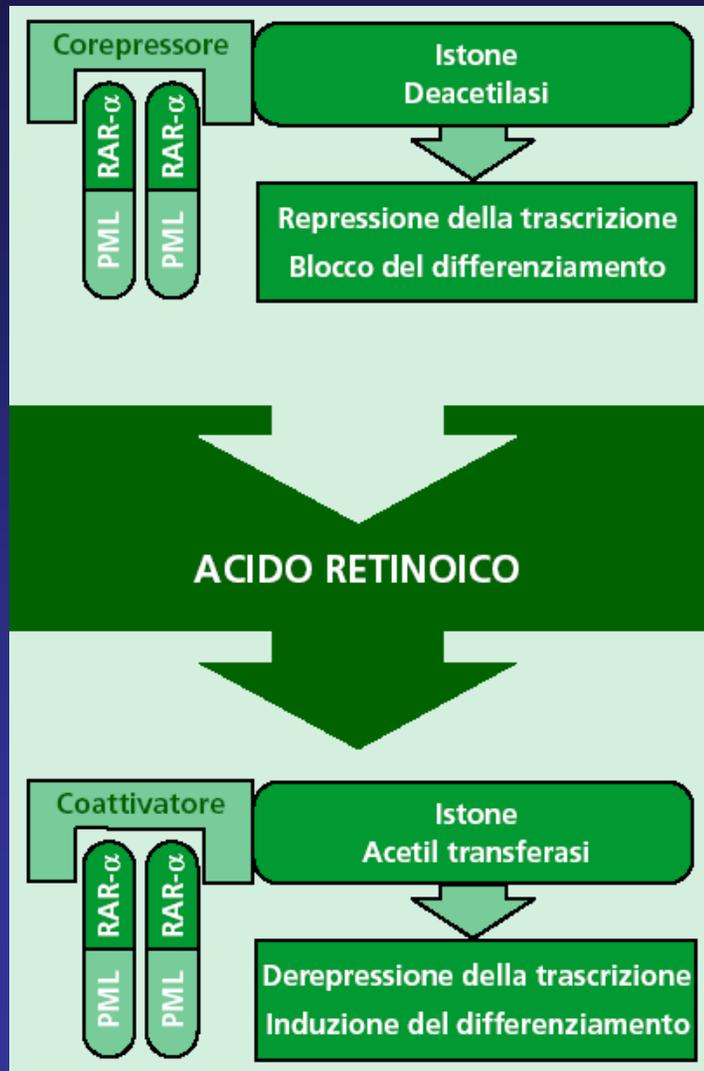
⇒ il gene codifica per **PML/RAR** un recettore dell'acido retinoico anomalo che inibisce la differenziazione dei promielociti tramite repressione trascrizionale (proteina di fusione → corepressore → istone deacetilasi)



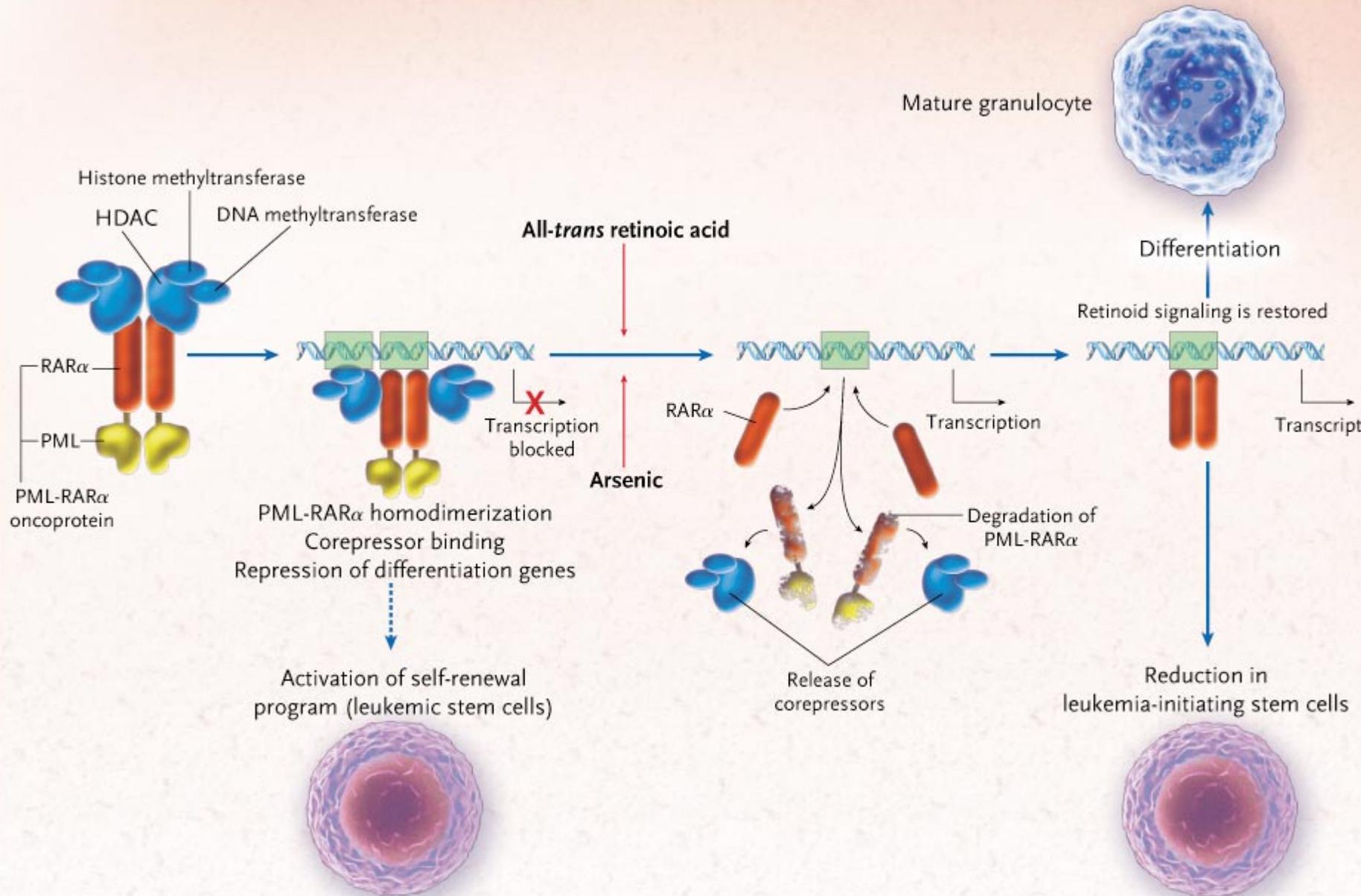


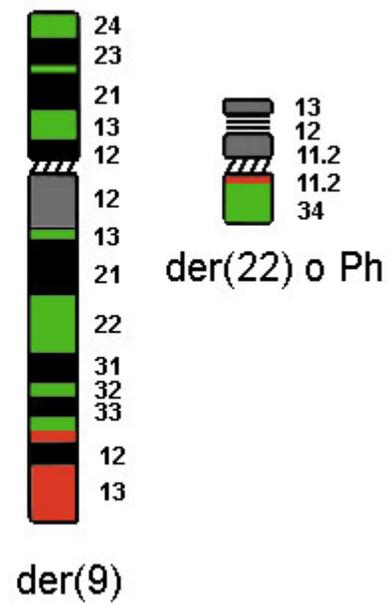
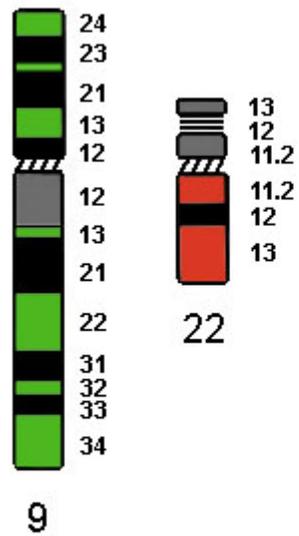


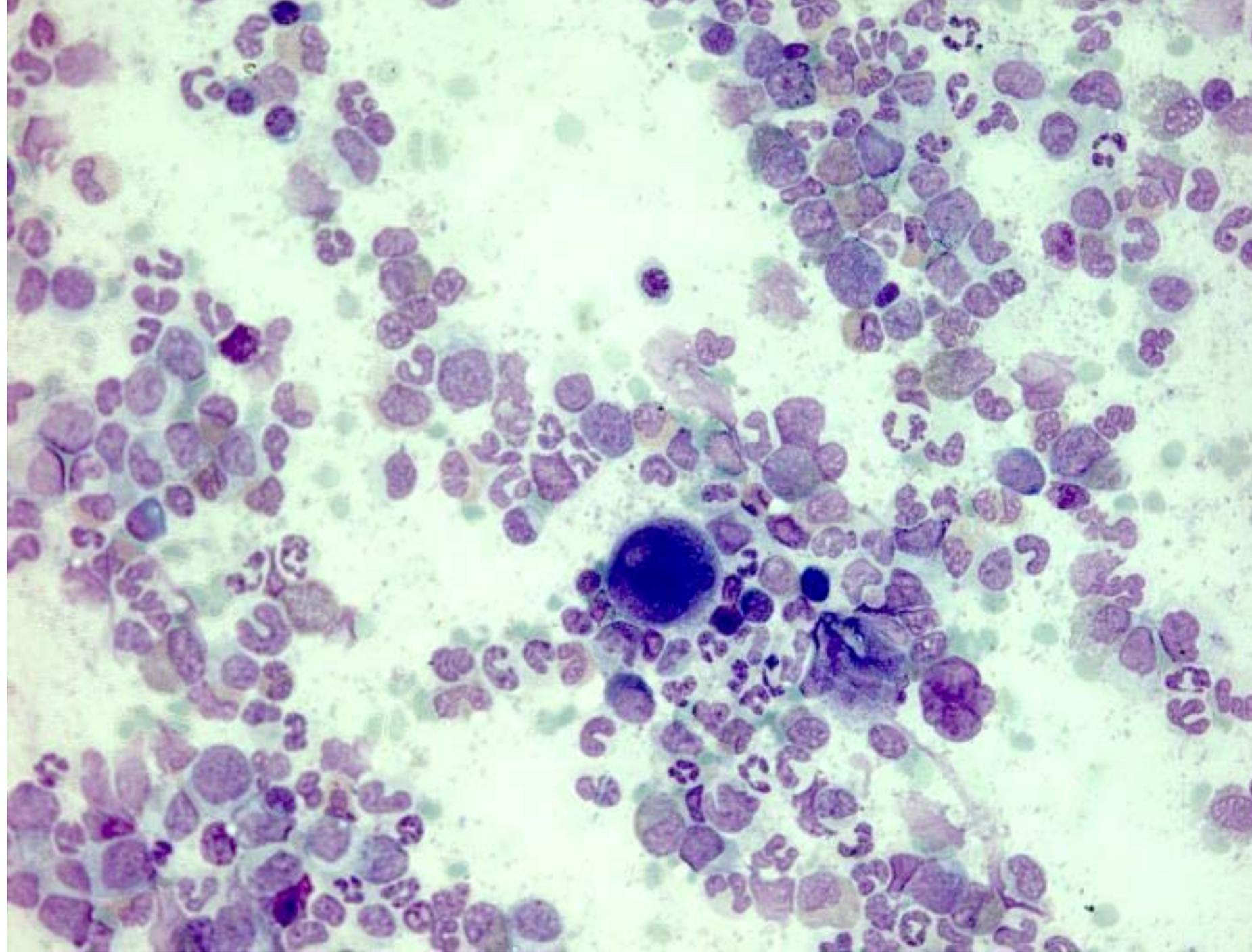
LEUCEMIA ACUTA PROMIELOCITICA

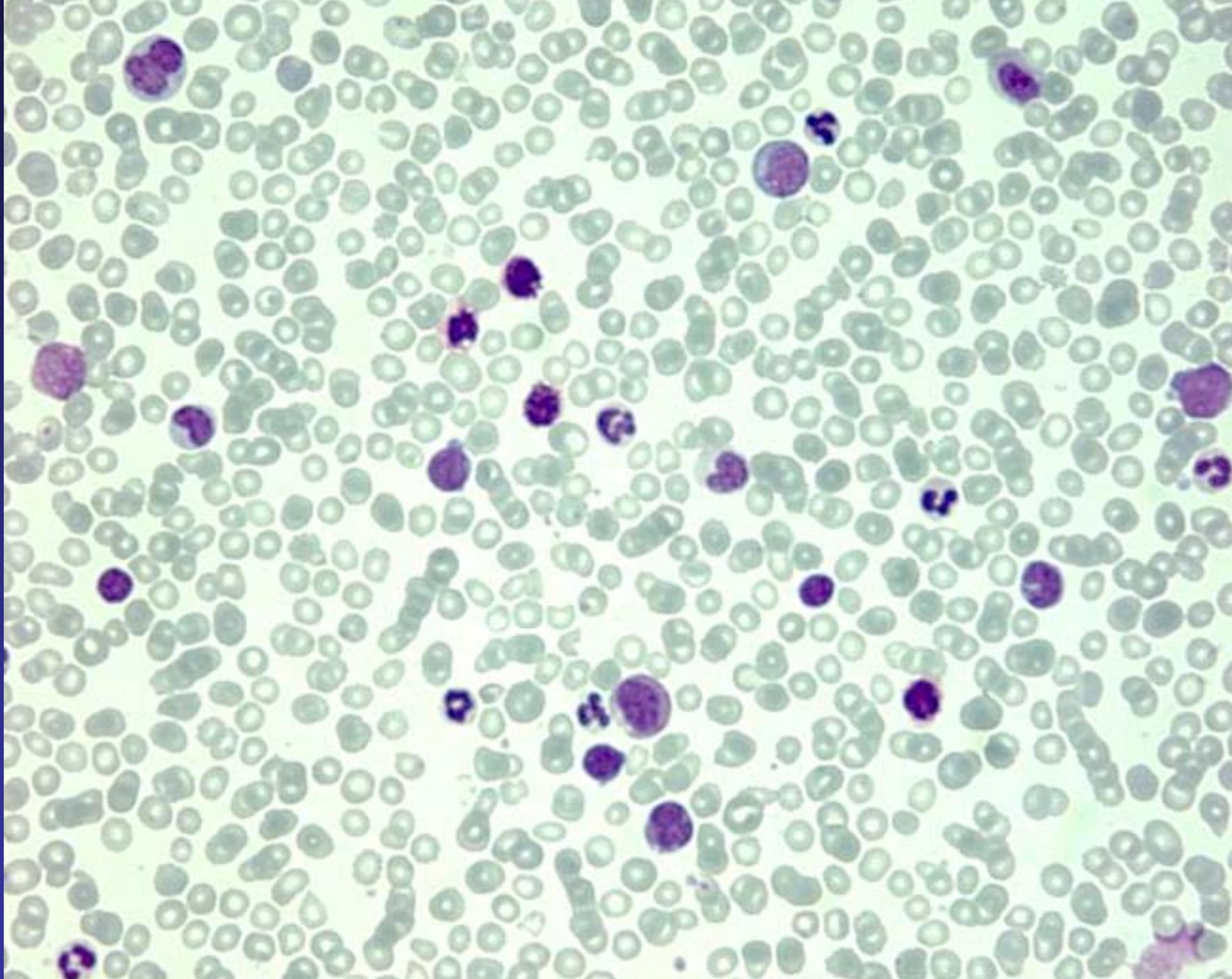


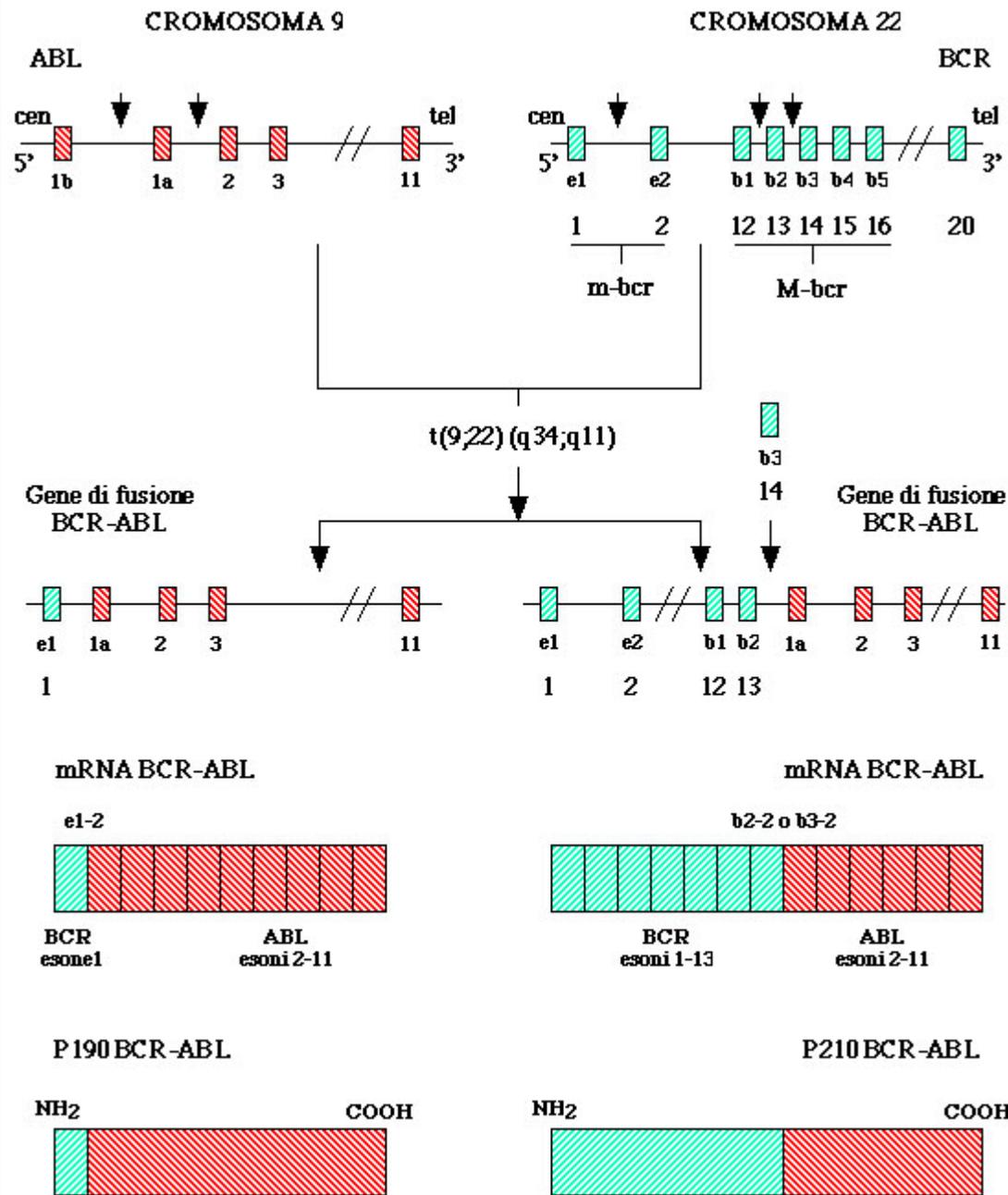
L'acido tutto trans-retinoico (**ATRA**) compete con i corepressori dissociandoli dalla proteina PML/RAR che diventa un attivatore con attivazione dei geni dipendenti dall'acido retinoico ⇒ maturazione delle cellule leucemiche.





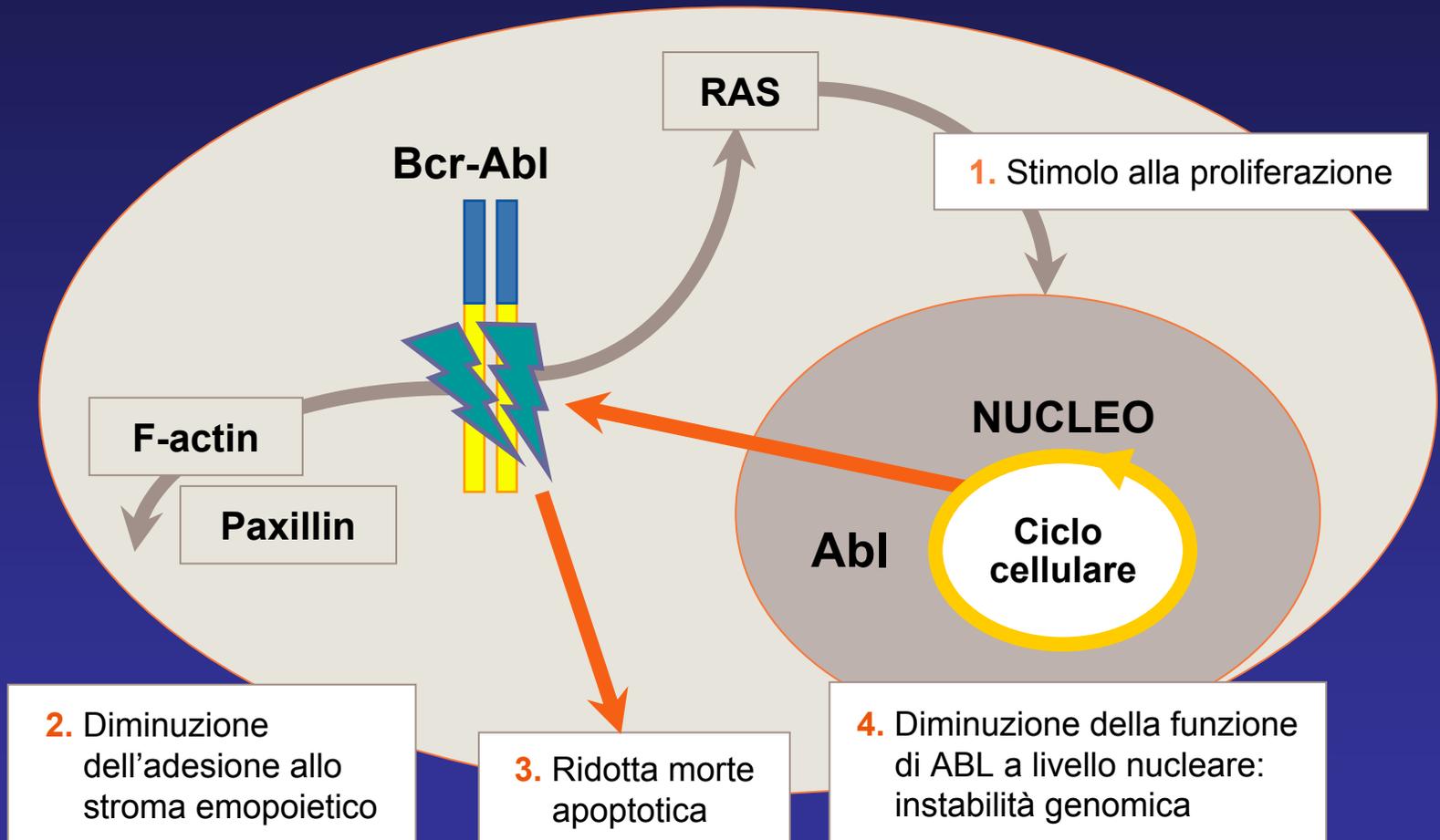






Principali effetti di Bcr-Abl nel progenitore emopoietico

Leucemia Mieloide Cronica ■■■



LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

PATOGENESI

-La tirosino-chinasi BCR/ABL fosforila diversi substrati, riproducendo gli effetti di una stimolazione continua con fattori di crescita

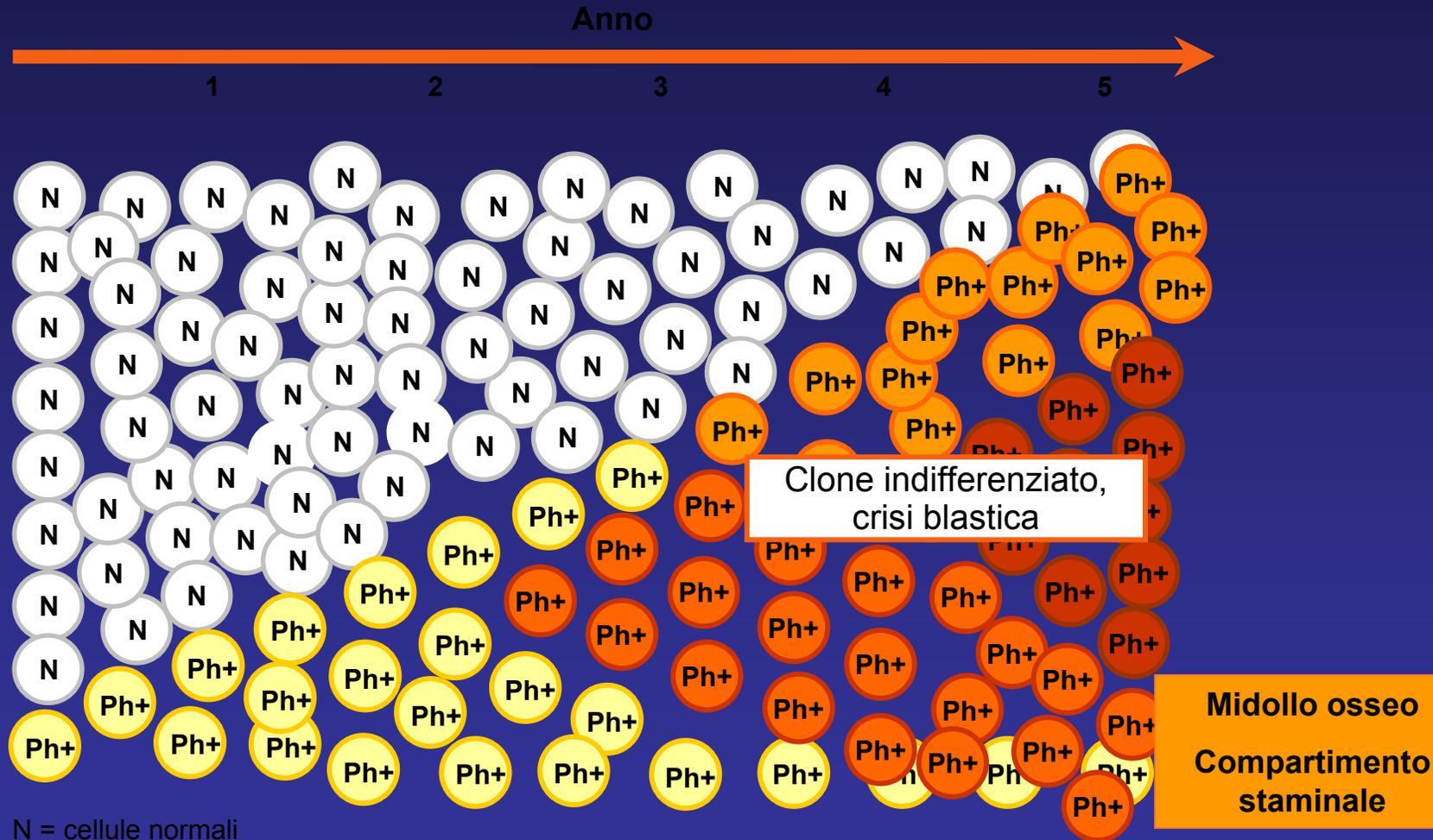


-vantaggio proliferativo della cellula staminale mutata e della sua progenie e instabilità genetica che predispone a ulteriori mutazioni.

-L' acquisizione di ulteriori mutazioni porta all' evoluzione a leucemia acuta.

Progressione della Leucemia Mieloide Cronica

Leucemia Mieloide Cronica



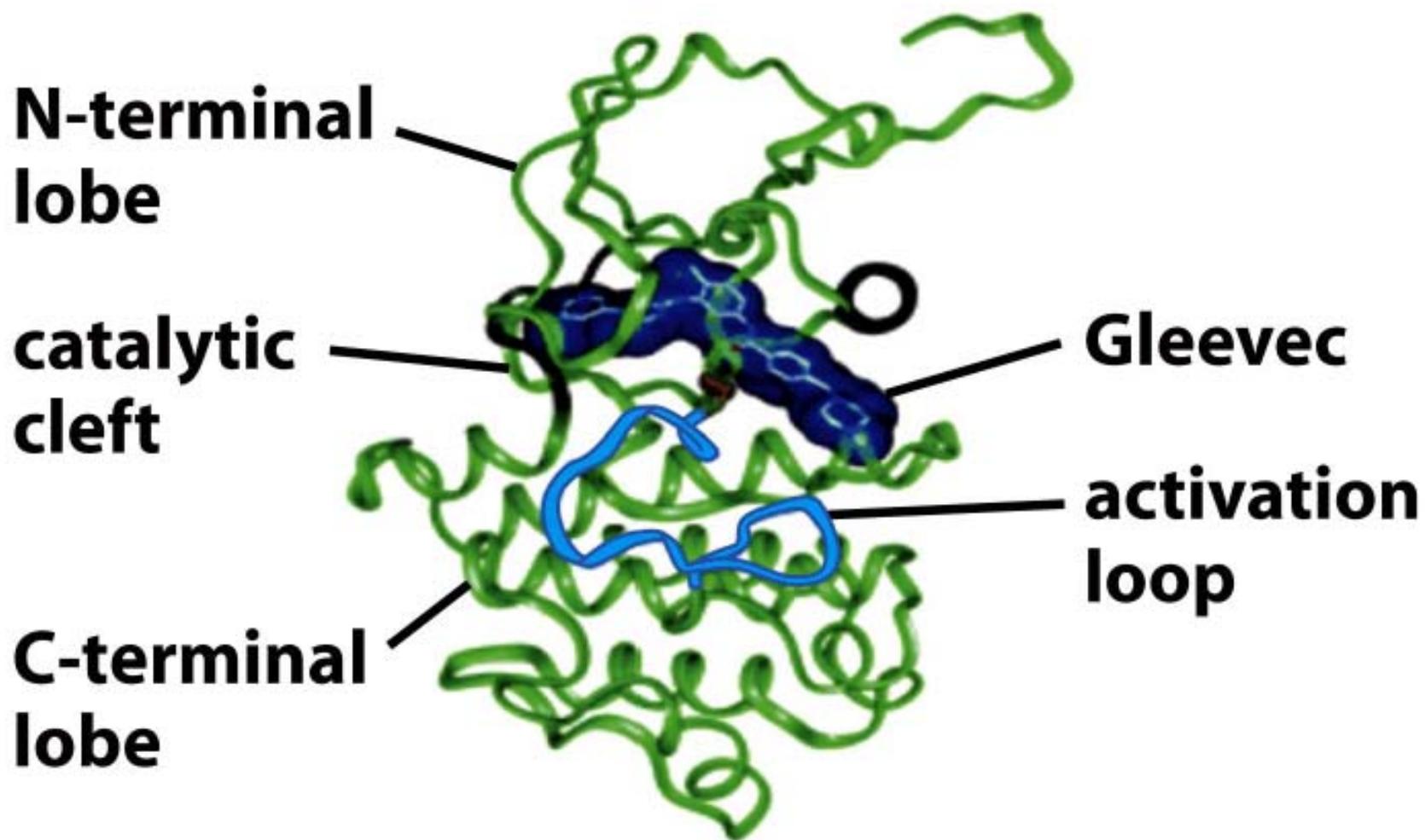


Figure 16.10b *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)