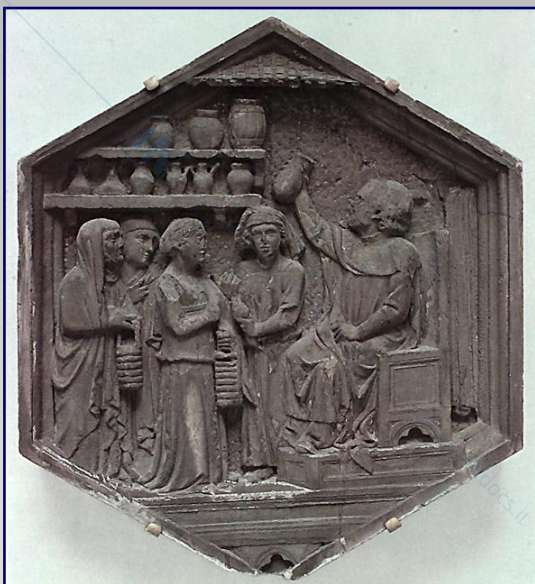


**SCUOLA REGIONALE DI FORMAZIONE SPECIFICA IN MEDICINA
GENERALE - CORSO 2009-2011**



**GLI ESAMI DI PRIMO
LIVELLO IN EMATOLOGIA**

Dott.ssa Maria Brini

Reggio Emilia, 15 aprile 2010

IL SANGUE

Da sempre è stato attribuito al sangue un carattere di sacralità

M. Wintrobe titola ***BLOOD, pure ed eloquent***

F. Caligaris- Cappio in un recente editoriale definisce:

- **Sangue come difesa**
- **Sangue come via di traffico**
- **Sangue come memoria del corpo**
- **Sangue come trasmissione del segnale proliferativo**
- **Sangue come salvavita**
- **Sangue come trasporto**
- **Sangue come mezzo riparatore**

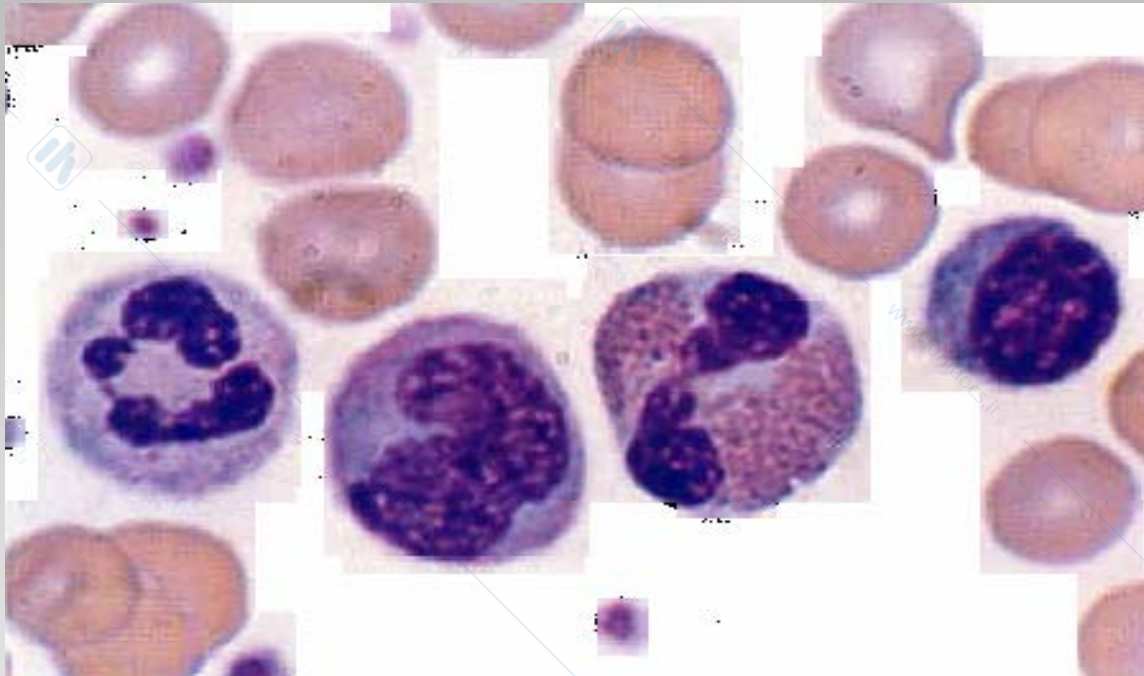
IL REFERTO EMOCROMOCITOMETRICO o “EMOCROMO”

Contiene una serie di parametri numerici che si riferiscono alla quantificazione delle varie popolazioni cellulari, alle loro caratteristiche, ad un insieme di rapporti esistenti tra l'emoglobina e la sua distribuzione nei globuli rossi, alle caratteristiche volumetriche delle cellule, ed infine alla classificazione dei globuli bianchi nelle 5 popolazioni

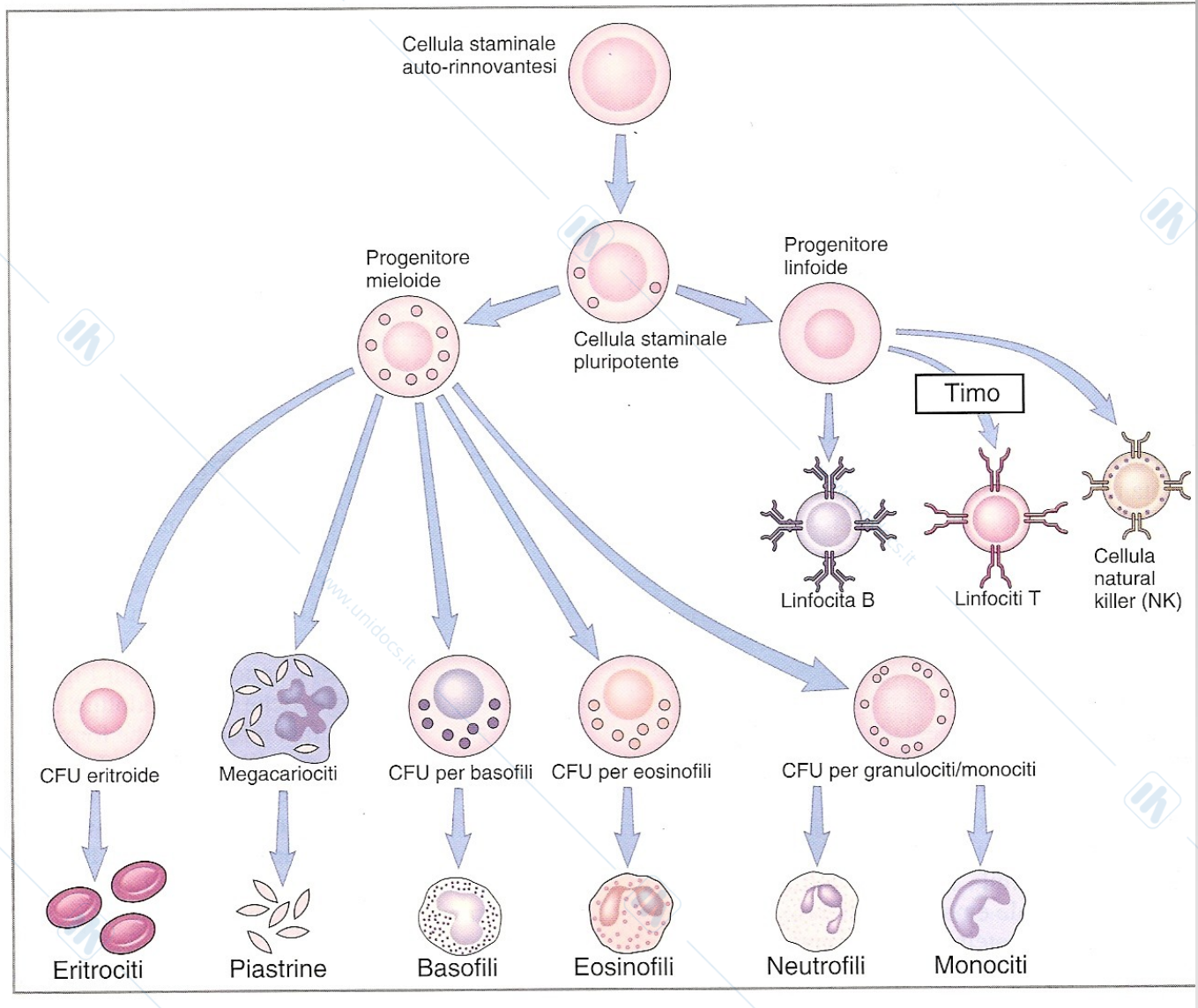
COSA SI VALUTA

- **Eritrociti, Hb, Hct → trasporto O₂-Hb**
 - ↳ **Cellule della respirazione**
- **Leucociti = PMN, Mon., Linf.T, Linf.B**
 - ↳ **Cellule della difesa**
 - immunità aspecifica**
 - immunità specifica**
- **Piastrine (in connessione con il sistema endoteliale)**
 - ↳ **Controllo emostasi/coagulazione**

CELLULE DEL SANGUE



EMOPOIESI



LA RICHIESTA

- **Quesito clinico**
- **Controllo di malattia in atto**
- **Controllo terapia in corso**
- **Check-up, screening, medicina preventiva, diagnosi precoce, ecc.**

EMOCROMO (M)

ROUTINE

Richiesta n°:

0060501604

NUMERO SCHEDA

SIG.

Nato/a il : f M

Prelievo accettato il: 10-04-2009

3819 AMBULATORIO LACC

Tessera san. n°: 2957858

Note:

Analisi	*	Risultato	Unità di misura	Valori di riferimento
---------	---	-----------	-----------------	-----------------------

EMATOLOGIA

Emocromo

Leucociti	5,78	x1000/mmc	[4,00 - 10,00]
Eritrociti	5,13	milioni/mmc	[4,50 - 6,00]
Emoglobina	15,4	g/dl	[14,0 - 17,5]
Ematocrito	44,7	%	[40,0 - 52,0]
Volume corpuscolare medio	87,1	fl	[80,0 - 95,0]
Contenuto emoglobinico medio	30,0	pg	[26,0 - 32,0]
Concentrazione emogl. corpuscolare media	34,5	g/dl	[32,5 - 36,0]
RDW	13,0	%	[11,5 - 14,1]
Piastrine	249	x1.000/mmc	[150 - 450]

Formula leucocitaria

	Valori assoluti		Valori %	
Neutrofili	2,89	[1,60 - 7,50]	50,10	[40,00 - 75,00]
Linfociti	1,99	[0,80 - 4,50]	34,60	[20,00 - 45,00]
Monociti	0,50	[0,08 - 1,00]	8,70	[2,00 - 10,00]
Eosinofili	0,35	[0,04 - 0,60]	6,10	* [1,00 - 6,00]
Basofili	0,02	[0,00 - 0,15]	0,50	[0,00 - 1,50]

EMOCROMO (F)

ROUTINE

Richiesta n° :

0060427874

Sig.ra

Nato/a il :

F

Prelievo accettato il: 10-01-2009

3819 AMBULATORIO LACC

Tessera san. n°: 2667935

Note:

Analisi	*	Risultato	Unità di misura	Valori di riferimento
EMATOLOGIA				
Emocromo				
Leucociti		7,65	x1000/mmc	[4,00 - 10,00]
Eritrociti		4,57	milioni/mmc	[4,30 - 5,50]
Emoglobina		14,5	g/dl	[12,5 - 15,5]
Ematocrito		41,9	%	[36,0 - 46,0]
Volume corpuscolare medio		91,7	fl	[80,0 - 95,0]
Contenuto emoglobinico medio		31,7	pg	[26,0 - 32,0]
Concentrazione emogl. corpuscolare media		34,6	g/dl	[32,5 - 36,0]
RDW		14,0	%	[11,5 - 14,1]
Piastrine		237	x1.000/mmc	[150 - 450]

Formula leucocitaria

	Valori assoluti		Valori %	
Neutrofilii	3,28	[1,60 - 7,50]	43,00	[40,00 - 75,00]
Linfociti	3,38	[0,80 - 4,50]	44,20	[20,00 - 45,00]
Monociti	0,68	[0,08 - 1,00]	9,00	[2,00 - 10,00]
Eosinofili	0,25	[0,04 - 0,60]	3,30	[1,00 - 6,00]
Basofili	0,03	[0,00 - 0,15]	0,50	[0,00 - 1,50]

LINEE GUIDA PER IL REFERTO EMATOLOGICO

GdSE –SIMEL 2002

- **Deve contenere i dati che caratterizzano**
 - » **il paziente (anagrafica e identificativo)**
 - » **il campione (identificativo,data,ora)**
 - » **la provenienza (interni,esterni)**
 - » **Il richiedente(Medico UO o MMG)**
 - » **Referto (con quesito clinico se presente)**
- **Non deve contenere allarmi strumentali né grafici ,la morfologia strumentale (diversa nei diversi strumenti) deve essere interpretata dal patologo che deve integrare gli aspetti tecnico-scientifici e le correlazioni con paziente e situazione clinica**
- **I dati numerici devono essere correlati da intervalli di riferimento distinti per età e sesso**
- **I dati numerici e gli indici devono essere**
 - » **universali**
 - » **clinicamente utili**
 - » **facilmente interpretabili**

LINEE GUIDA PER IL REFERTO EMATOLOGICO

(segue)

Dati obbligatori

- GB o WBC
- GR o RBC
- Hb
- HT
- MCV
- MCHC *
- PLT
- Quantificazione delle popolazioni leucocitarie in n.assoluto
- Ret (se richiesto)

Parametri in corso di valutazione per utilità clinica

RDW distribuzione dei GR

CHr Concentrazione emoglobinica reticolocitaria

MCVr volume reticolocitario medio

IRF frazione reticolociti immaturi

Parametri con utilità clinica ma poco standardizzati

MPV volume piastrinico medio

PDW ampiezza di distribuzione dei v.piastrinici

LINEE GUIDA PER IL REFERTO EMATOLOGICO

(segue)

Commenti ai dati numerici

Leucociti: Linea linfoide:

- Atipici = patologia linfoide
- Attivati = morfologia suggestiva di reattività
- Popolazioni anomale dovrebbero essere quantificate in rari= $\leq 5\%$, alcuni 5-10%, numerosi $>10\%$)
- Quantificare i prolinfociti nella LLC

Leucociti: Linea mieloide :

- Descrivere le anomalie qualitative
- Segnalare le eventuali peculiarità (es.corpi di Auer)
- Quantificare le popolazioni anomale
- Conta delle Band cell (dato poco affidabile)

LINEE GUIDA PER IL REFERTO EMATOLOGICO

(segue)

Commenti ai dati numerici

Eritrociti:

- **Segnalare alterazioni di forma e volume**
- **Anomalie generiche anisocitosi e poichilocitosi vanno quantificate**
- **Indicare anomalie peculiari di patologia**
- **Segnalare alterazioni essenziali per la diagnosi di patologia ad evoluzione spesso drammatica (ad es.PTT,SEU,CID ecc),**
- **Segnalare presenza di corpi di Joli eventualmente associati a macrotrombocitemia**
- **Segnalare emazie a bersaglio**

Piastrine:

- **Anisopoichilocitosi e Plt giganti**
- **Micromegacariociti ,nuclei nudi e frammenti megacariocitari**
- **Commenti per pseudopiastrinopenie da anticoagulante (ad es.EDTA)**

COMUNICAZIONE DEI DATI CRITICI IN EMATOLOGIA

Ematocrito < 14 % >60 %

Leucociti < 2000 in paziente nuovo o calo di 1000 in paz.con prec <4000
> 50000 in paiente nuovo

Striscio cellule leucemiche, reaz.leucemoide, schizociti, parassiti malarici o altri

Piastrine < 20000 > 1 milione

Reticolociti > 200/1000

ERITROCITI

- numero
- contenuto in Hb
- massa (Hct o PCV)
- parametri di Wintrobe :

MCV: volume corpuscolare medio = Hct/GR

a. microcitiche (< 80 fL)

a. normocitiche (80-95 fL)

a. macrocitiche e megalocitiche (>95 fL e > 115 fL)

MCH: contenuto emoglobinico medio = Hb/GR

a. normocromiche

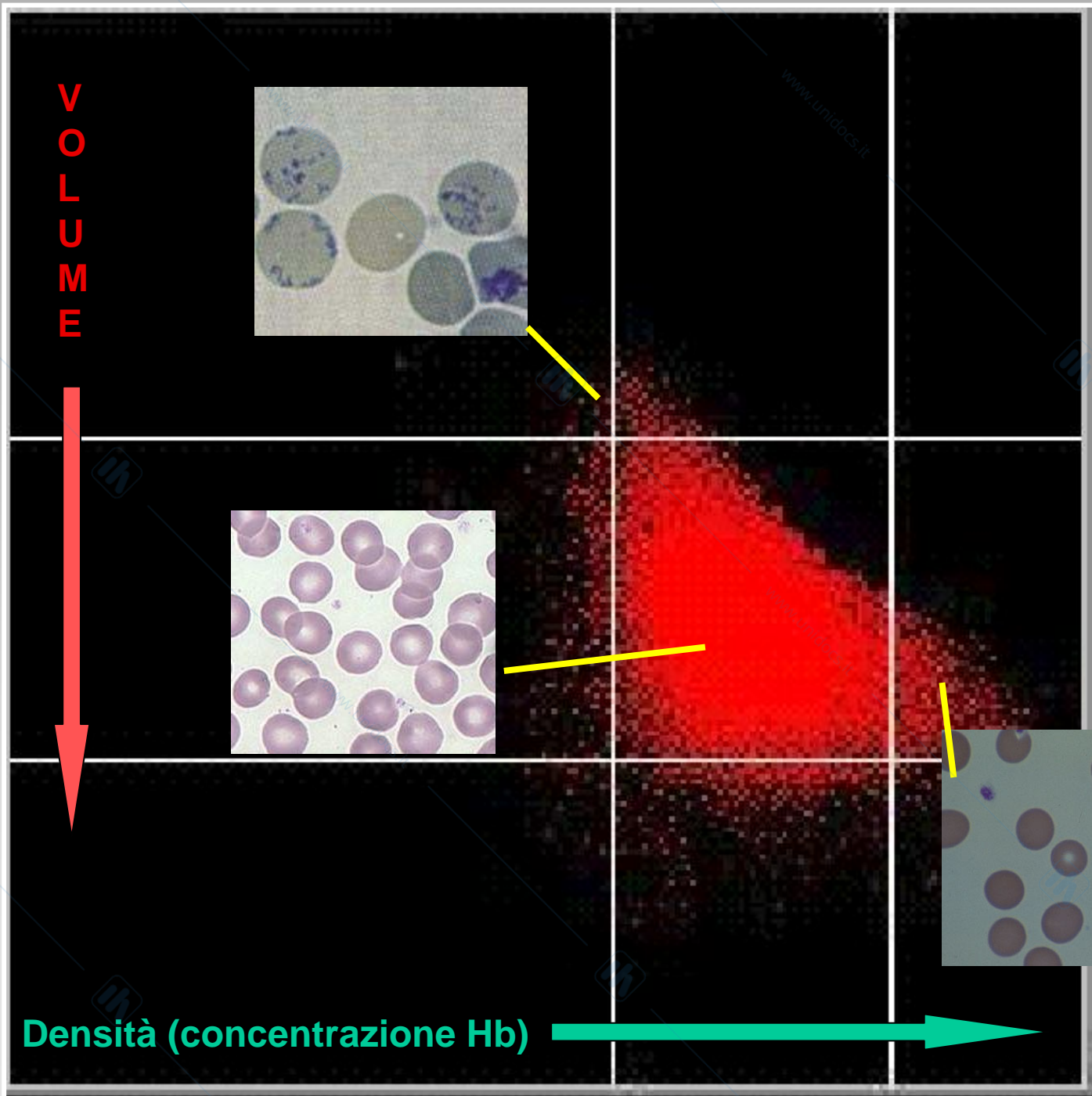
a. ipocromiche

MCHC: concentrazione emoglobinica corpuscolare media = Hb/Hct

poco utile salvo sferocitosi

RDW: distribuzione dei Volumi ,è un CV espresso in %

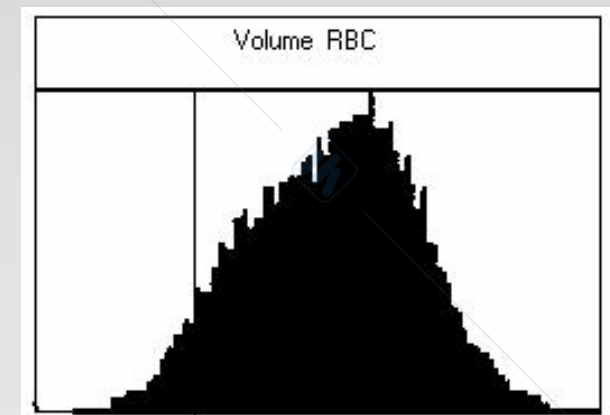
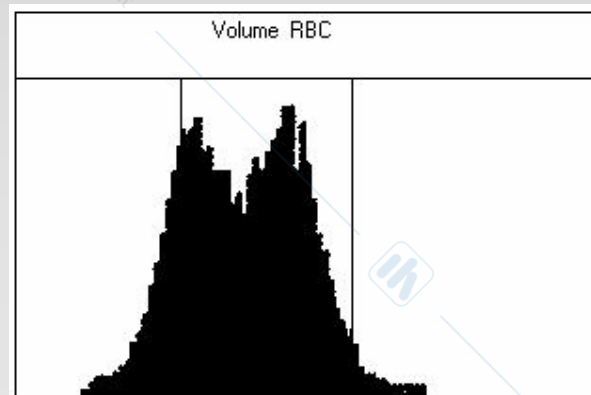
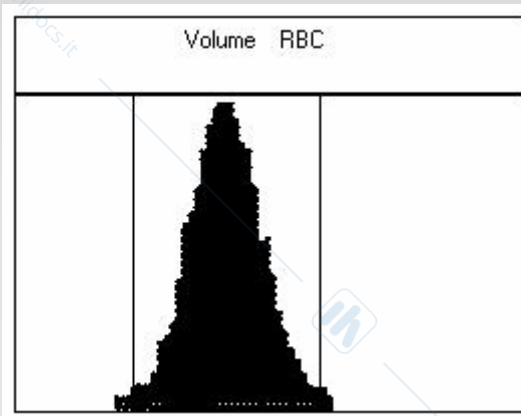
$CV\% = SD/MCV = RDW$



VALUTAZIONE QUANTITATIVA DEGLI ERITROCITI

- *INDICI DI WINTROBE*
- *CURVE DI DISTRIBUZIONE VOLUMETRICA ERITROCITARIA*
- *CITOGRAMMA VOLUME/CONCENTRAZIONE DI EMOGLOBINA*

CURVA DI DISTRIBUZIONE DEL VOLUME ERITROCITARIO



RETICOCITI

- numero percentuale
- numero assoluto !!!
- indice di maturità

l'RNA colorabile con blu di metilene fornisce il N.di reticolociti ma l'RNAm in IF può valutarne anche la maturità:

LFR

MFR

HFR (reticolociti prematuri)

N.B. la conta reticolocitaria permette in prima istanza di differenziare le a. con risposta midollare dalle a. con ridotta produzione midollare adeguata

INDICI RETICOLOCITARI

- **MCVr** : volume reticolocitario medio
- **CHr** : contenuto Hb per singola cellula
- **MCHCr** : concentrazione Hb media
- **RetHb** : Hb dei reticolociti circolanti totali = $\text{CHr} \times \text{N.ret}$

N.B. i parametri reticolocitari permettono di evidenziare la carenza di Fe già in fase precoce e di monitorare la risposta midollare alla terapia con Fe e con EPO

ANEMIA

Riduzione della quantità totale di Hb circolante negli eritrociti del sangue periferico

Per convenzione si utilizza la concentrazione dell'Hb supponendo che il volume ematico si mantenga costante.

In realtà il volume ematico può essere modificato in molte situazioni:

- Emorragia acuta per emodiluizione
- Gravidanza per ritenzione idrica
- Altre cause di ritenzione idrica (insufficienza renale, cardiaca, epatica)
- Volemia diminuita (m.di Addison, ustioni)

I valori indicativi di anemia sec. WHO sono i seguenti:

Hb	inferiore	a 11 g/dl	nei bambini
“	“	a 12 g/dl	nella donna
“	“	a 11 g/dl	in gravidanza
“	“	a 13 g/dl	nell'uomo

LA DIAGNOSI DI ANEMIA E' ESTREMAMENTE SEMPLICE

$$\mathbf{ANEMIA = \downarrow HB}$$

(!! emodiluizione, emoconcentrazione, emorragia in atto)

***LA DIAGNOSTICA SI ARTICOLA QUINDI IN SENSO
PRETTAMENTE DIFFERENZIALE***

PARAMETRI PIU' FREQUENTEMENTE USATI

RBC

HB

HT

MCV

MCH

MCHC

reticolociti

CLASSIFICAZIONE EZIOPATOGENETICA DELLE ANEMIE

Alterata produzione eritrocitaria

- a) *Quantitativa*
- b) *Qualitativa*

Aumentata distruzione eritrocitaria

Aumentate perdite ematiche

ANEMIE DA ALTERATA PRODUZIONE

DEFICIT QUALITATIVO

frequenti

a. sideropenica
talassemie

meno frequenti

a. da carenza cobalaminica
a. da carenza di folati
emoglobinopatie

rare

*difetti del metabolismo
purinico e pirimidinico*
atransferrinemia
porfirie

ANEMIE DA ALTERATA PRODUZIONE

DEFICIT QUANTITATIVO

frequenti

a. infiammatoria

a. da IRC

meno frequenti

mieloftisi

*localizzazioni
linfomatose e
mielomatose*

*sindromi
mielodisplastiche**

a. da disordini endocrini

rare

a. aplastica

aplasia eritroide pura

*a. diseritropoietiche
congenite*

ANEMIE DA AUMENTATA DISTRUZIONE

difetti intracorporeali

sferocitosi ereditaria

ellissocitosi ereditaria

carenze enzimatiche

*emoglobinuria parossistica
notturna*

difetti extracorporeali

a. immunoemolitiche

a. microangiopatica

emoglobinuria da marcia

a. da protesi valvolari

a. da agenti chimici e fisici

a. da microorganismi

ipersplenismo

CLASSIFICAZIONE MORFOLOGICA DELLE ANEMIE

Alterazioni della colorazione Hb

Anemie ipocromiche

Anemie normocromiche

Alterazioni del volume

Anemie macrocitiche (MCV > 102 fl)

Deficit B12 e folati

Accelerata eritropoiesi (MEN)

Anemie microcitiche (MCV < 84 fl)

Deficit di ferro

Deficit di sintesi Hb(talassemie,emoglobinopatie)

Deficit di sintesi delle porfirine

Infezioni croniche

Alterazioni della forma a volte peculiari

Poichilocitosi

Presenza di eventuali schizociti

Anisopoichilocitosi

Ellissocitosi

Ovalocitosi

Drepanocitosi

Sferocitosi

Target cells

CARATTERISTICHE DEGLI ERITROCITI FRA

MICROSCOPIA

CITOMETRIA

Alterazioni morfologiche

Poichilocitosi

Inclusi eritrocitari

Anisocitosi

Microcitosi – Macroцитosi

Ipocromia – Ipercromia

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE

Poichilocitosi

a.carenziali

a.megaloblastiche

talassemia, PTT(scistociti)

Forme peculiari

ellissocitosi

drepanocitosi

schistocitosi

sferocitosi

leptocitosi

“target cells”

acantociti (5-10 spicule)

echinociti (numerose brevi spicule)

stomatocitosi

Inclusi

punteggiatura basofila

anelli di Cabot

corpi di Howell-Jolly

corpi di Heinz (coloraz.specifica)

A. MICROCITICHE E/O IPOCROMICHE

- a.sideropenica**
- anemia delle malattie croniche**
- a.sideroplastica congenita o acquisita (il Fe non è utilizzato nella sintesi dell'eme)**
- talassemie**
- alcune emoglobinopatie (ad es.HbE)**

ANEMIE EMOLITICHE

- **L'emolisi avviene in circolo (emolisi intravascolare) o nel SRE (emolisi extravascolare)**
- **presente reticolocitosi**
- **anomalie morfologiche**
policromatofilia, sferocitosi, frammentazioni
- **segni biochimici di emolisi**
 - **aumento bilirubina indiretta**
 - **diminuzione o assenza di HPT**
 - **aumento UBG**
 - **aumento LDH**

A. EM. DA CAUSE INTRACORPUSCOLARI

- Sferocitosi**
- Ellissocitosi**
- Stomatocitosi**
- Acantocitosi**
- Deficit G-6-PDH**
- Deficit PK**
- Porfiria eritropoietica congenita (PEC)**
- Protoporfiria eritropoietica (PPE)**
- EPN (test di HAM e IF)**
- Alterazioni acquisite della membrana eritrocitaria (acantociti)**

A. EM. DA CAUSE EXTRACORPUSCOLARI

A-Anemie emolitiche autoimmuni (Ab anti-eritrociti)

-Eziologia:

-Isoanticorpi

- naturali(grippo ABO in genere Ig M) (segni di emolisi intravascolare)
- isoanticorpi immuni dopo stimolo Ag (gravidanza,trasfusioni , in genere IgG), segni di laboratorio di emolisi extravascolare ma spesso solo test di Coombs diretto
- Autoanticorpi per Ag dei propri GR,frequenti nelle malattie autoimmuni
 - anticorpi caldi (37° , IgG, legame con C basso)
 - anticorpi freddo (4°, IgM--->agglutinine, fissano C)

-Test di Coombs positivo TCI o TCD

A. EM. DA CAUSE EXTRACORPUSCOLARI *(segue)*

Da Ab caldi :

–idiopatica

–secondaria (LLC,LES,neoplasie, malattie virali, epatopatie croniche ecc)

con TAD + e TAI +

da Ab freddi :

–idiopatica

–secondaria(Mycoplasma pn.,malattie virali,linfomi,farmaci

B- Anemie extracorporeali non immunologiche

C- Anemie emolitiche microangiopatiche (PTT e SEU)

D- Anemie emolitiche nelle infezioni

ANEMIA SIDEROPENICA

30% NELLA POPOLAZIONE MONDIALE

8% NEI PAESI SVILUPPATI (FINO AL 25% DELLE DONNE IN ETA' FERTILE)

51% DEI BAMBINI NEI PAESI IN VIA DI SVILUPPO (13% NEI PAESI SVILUPPATI)

TEST DIAGNOSTICI NELLA ANEMIA SIDEROPENICA:

Anemia (non presente nei primi stadi)

Anisocitosi (presente anche nei primi stadi) e Poichilocitosi

Microcitosi (non obbligatoria)

Ipocromia (comparsa precoce di sottopopolazioni ipocromiche)

Microcitosi ed ipocromia reticolocitaria (molto precoce)

Sideremia ↓, Tibc ↑, Ubc ↑, Transferrinemia ↑

Ferritinemia ↓, Protoporfirina Libera Eritrocitaria ↑, Recettore Sierico Della Transferrina ↑

SIDEREMIA

È il Fe +++ legato alla TRF plasmatica

Variabili

- **Ritmo circadiano**
- variabilità biologica (mestr,grav,ter.contracc.or)**

Iposideremia:

- ridotto apporto o assorbimento**
- attivazione monociti/macrofagi**
- situazioni perinatali, gravidanza, accrescimento**

Ipersideremia:

- iperemolisi**
- anemie sideroblastiche**
- siderocromatosi ereditaria (HFE :mutaz C282Y o H63D)**

TRANSFERRINA

TRF è proporzionale al total iron binding capacity (TIBC)

Si dosa come proteina plasmatica con metodo immunometrico

Saturata dal Fe per circa 1/3

Valori aumentati:

a.sideropenica

a.da emorragia

aumentate richieste

Valori diminuiti

atransferrinemia congenita

malnutrizione e cachessia neoplastica

perdita o ridotta produzione di proteine

flogosi acute e croniche con attivazione del SRE

FERRITINA

E' indice fedele della ferritina nei depositi

Svela gli stadi iniziali di deficit di Fe

ATTENZIONE: può essere aumentata per malattie concomitanti:

Malattie infiammatorie (AR)

Neoplasie

Necrosi cellulari

Emocromatosi e emosiderosi

Ipertiroidismo

Alcool

Contraccettivi orali

TIBC e sTRF

TIBC

rappresenta la **saturazione della transferrina**

$$\% \text{ saturazione} = \text{Fe} \times 100 / \text{TIBC}$$

—
viene usato soprattutto per rivelare il sovraccarico di Fe

sTRF

derivano dai precursori eritroidi e **danno una valutazione della massa eritroide**

Aumenta nel deficit di Fe

è normale nelle malattie croniche

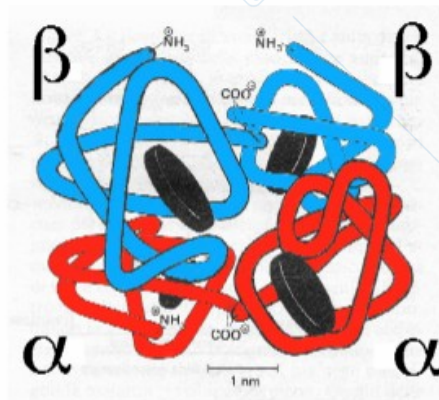
viene usato come parametro per lo stato del Fe in gravidanza

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

	MCV	RDW	reticolociti	ferritina	transferrina	sideremia	recettori solubili
anemia sideropenica	↓	↑	↓	↓	↑	↓	↑
anemia delle malattie croniche	↓ o N	↑	↓	N o ↑	N o ↓	↓	N
anemia sideroblastica	↓	↑ o N	↓	↑	N o ↓	↑	N
talassemia	↓↓	N o poco ↑	N o ↑	N o ↑	N	N o ↑	N
anemie emolitiche	N o ↑	N o ↑	↑	↑	N	↑	↑

EMOGLOBINA

Struttura dell'emoglobina



$\alpha_2 \beta_2$

Fig.1. Struttura dell'emoglobina presente nell'uomo adulto.

LE CATENE GLOBINICHE

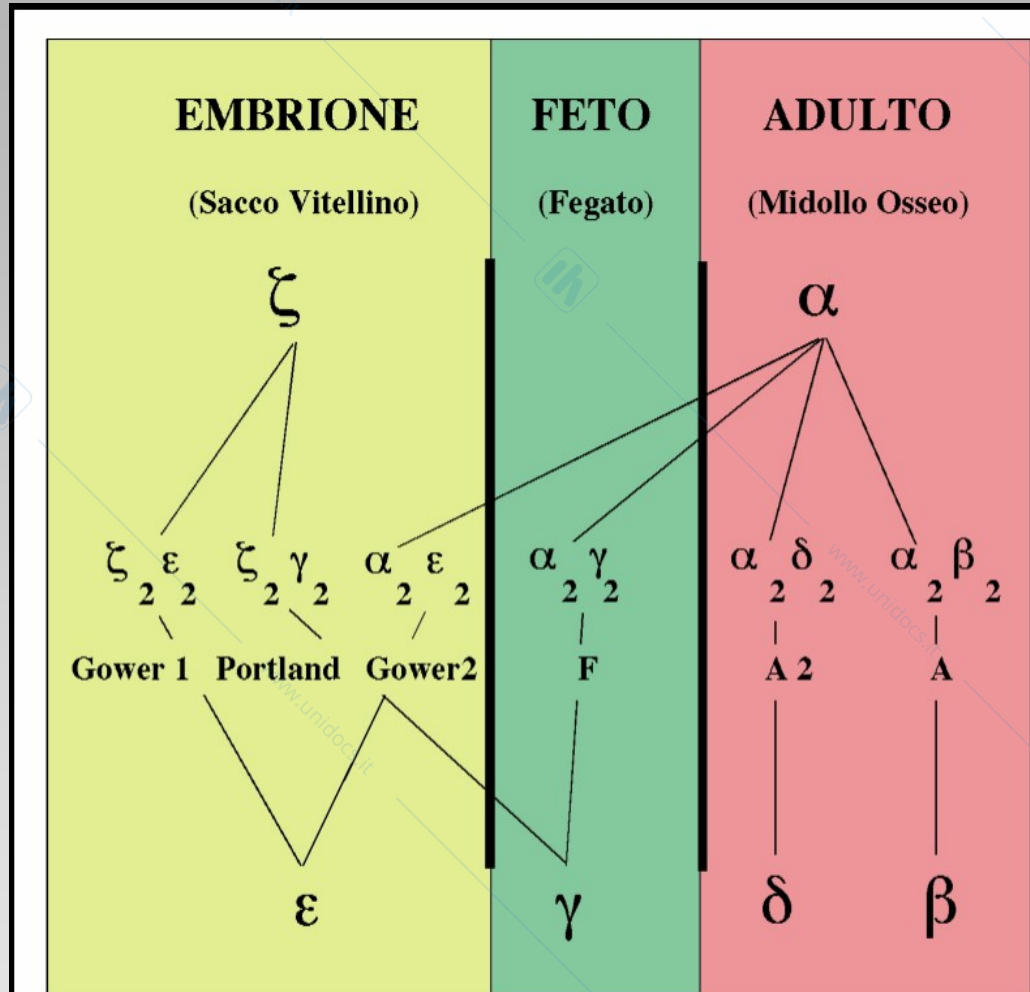
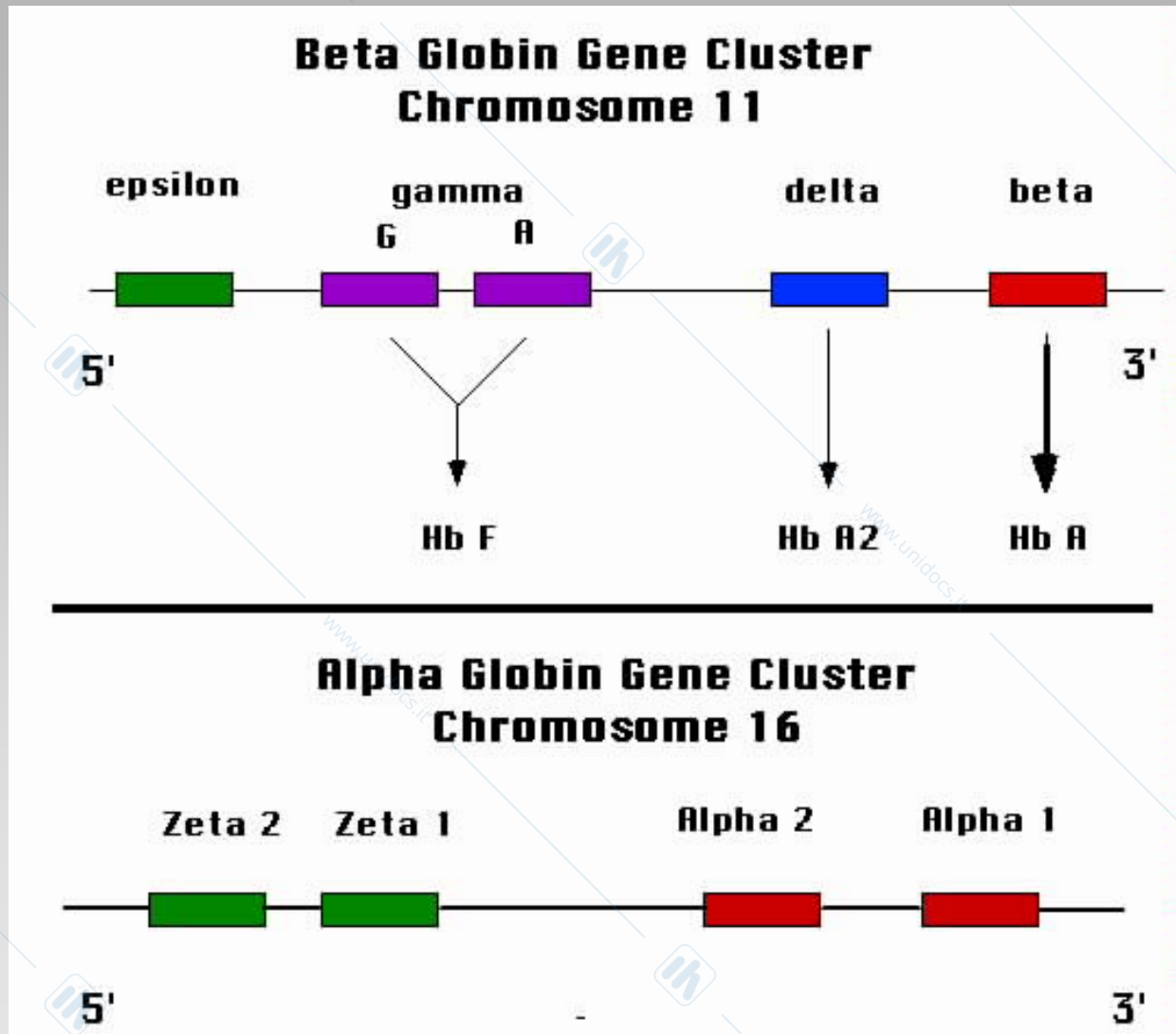
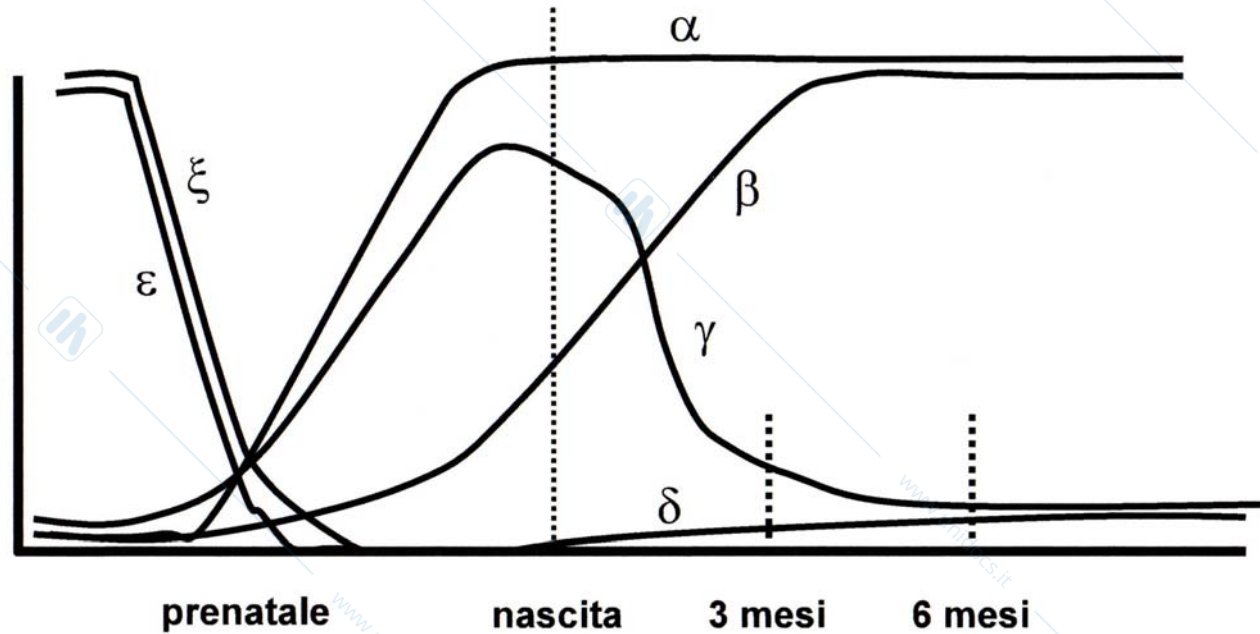


Fig.2. Composizione delle emoglobine (Gower 1, Gower 2, Portland, F, A, A2) prodotte nell'uomo dall'embrione, dal feto e dall'adulto. Tra parentesi sono indicati i siti di eritropoiesi.

GENI DELLE CATENE



SINTESI DELLE CATENE



Gower 1	$\xi_2\varepsilon_2$
Gower 2	$\alpha_2\varepsilon_2$
Portland	$\xi_2\gamma_2$
HbH	β_4
Hb Barts	γ_4



HbA:	$\alpha_2\beta_2$	95%
HbA1c:	$\alpha_2\beta_2(\text{glic})$	3%
HbA2:	$\alpha_2\delta_2$	2%
HbF:	$\alpha_2\gamma_2$	<1%

TALASSEMIE

Disordine di tipo **quantitativo** nella sintesi di Hb (riduzione o soppressione)

Possono riguardare le

Catene alfa – 4 geni sul cromosoma 16

Catene beta – 2 geni sul cromosoma 11

La Hb è una proteina tetramERICA con pm 65.000, costituita da 4 paia di catene polipeptidiche uguali tra loro (globine) legate ciascuna da un gruppo prostetico: EME (PLE IX e Fe ++)

ALFA-TALASSEMIE

Molto eterogenee a seconda del N.di geni coinvolti

La gravità per riduzione della sintesi delle catene alfa si può così riassumere:

- delezione di un gene = portatore silente**
- delezione di due geni = talassemia minor**
- delezione di tre geni = malattia ad HbH**
- delezione di quattro geni = idrope fetale placentare**

GRAVITA' DELLE α TAL

<i>α-talassemie</i>	<i>dati ematologici</i>	<i>emoglobine</i>
- α / α α -talassemia asintomatica o eterozigosi α^+ -talassemia	emocromo normale	raramente tracce di HbH
$\alpha\alpha$ /- - o α -/ α - cis trans α -talassemia minor o eterozigosi α^0 -talassemia	Hb normale o \downarrow , ipocromia, microcitosi, parametri del ferro normali	HbA ₂ spesso \downarrow HbH: talora presente Pattern anche normale
α -/ - - malattia da HbH (β_4) o eterozigosi mista α^+ e α^0	anemia emolitica, Hb 7-9 g/dL ipocromia microcitosi	HbH: 10-20%
-- / -- idrope fetale placentare Hb Bart's (γ_4) omozigosi α^0 -talassemia	grave anemia emolitica Hb 6g/dL si manifesta nella vita fetale	80% Hb Bart's % var HbH cordone ombelicale e neonato

BETA-TALASSEMIE

Comprendono più di 180 mutazioni del gene beta-blobinico

La riduzione della sintesi delle catene beta può essere totale (β^0) o parziale (β^+)

Eterogeneità e diverse condizioni

Le catene in eccesso precipitano senza formare tetrametri

La beta-talassemia è una condizione di eterozigoti β^+ , o doppia eterozigoti β^0 e β^+ , ma la riduzione delle catene può dare quadri clinici diversi :

Portatore silente

Trait talassemico

Talassemia intermedia

Talassemia maior

TALASSEMIA MAIOR

	HbA	HbA ₂	HbF	Hb Lepore
β^0/β^0	assente	var/aum	95%	assente
β^+/β^+	presente (5-35%)	var/aum	var(60-95%)	assente
β^0/β^+	presente	var/aum	var	assente
β^0/Lepore	assente	assente	80%	20%
omozigosi $\delta\beta$	assente	assente	100%	assente

EMOGLOBINOPATIE

Alterazioni di tipo qualitativo della composizione dell'Hb(sostituzione, perdita o aggiunta di un aa in una delle catene globiniche.

Si classificano in base alle conseguenze patologiche:

varianti con tendenza all'aggregazione

HbS

HbC

varianti con tendenza alla precipitazione(Hb instabili:180var.in genere sulle cat.β)

varianti con diminuita sintesi di Hb

HbE

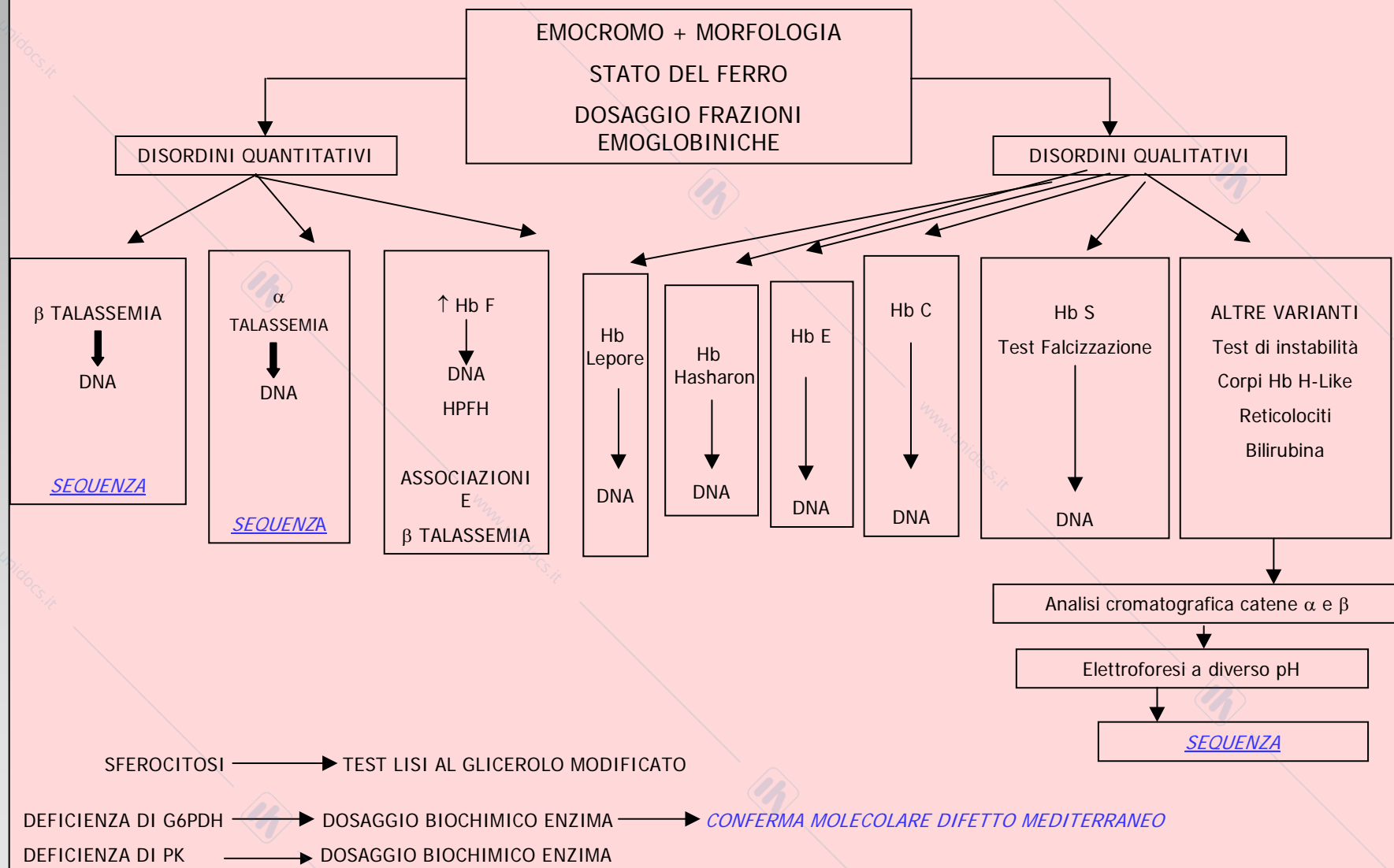
Hb Lepore

varianti con alterata affinità per l'ossigeno

Maggiore affinità → policitemia (P50 Sn)

Minore affinità → cianosi (P50 Dx) es. Meta-Hb

FLOW-CHART da seguire per la VALUTAZIONE di MICROCITEMIA:



ESAMI DI I LIVELLO

- **Emocromo**
 - **Morfologia eritrocitaria**
 - **Resistenze osmotiche globulari**
 - **Valutazione stato del ferro: ferritina dosaggio**
(sideremia, transferrina, zincoprotoporfirina eritrocitaria)
 - **Dosaggio cromatografico delle frazioni emoglobiniche**
 - **Indici di emolisi: Bilirubina**
- *Elettroforesi emoglobina (acetato, agarosio, tampone alcalino, tampone acido)*

ESAMI DI II LIVELLO

- **Reticolociti**
- **Test di lisi al glicerolo modificato (Pink test) per sferocitosi ereditaria**
- **Inclusi eritrocitari (corpi di Heiz simili – blu brillante di cresile)**
- **Test di termolabilità tipo Carrel (isopropanolo)**
- **Dosaggio meta Hb**
- **Valutazione cromatografica di eventuali varianti**
- **Determinazione della G6PDH (pHmetria differenziale)**
- *Test di falcizzazione*

SFEROCITOSI EREDITARIA

È la più comune anemia ereditaria nelle popolazioni dell'Europa settentrionale, con un'incidenza di un caso su 2500 persone (ma, secondo alcuni, l'incidenza sarebbe ancora più elevata)

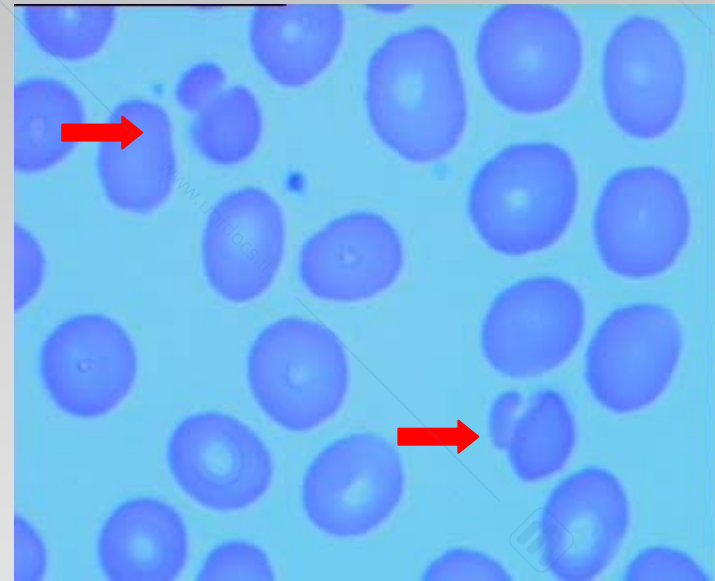
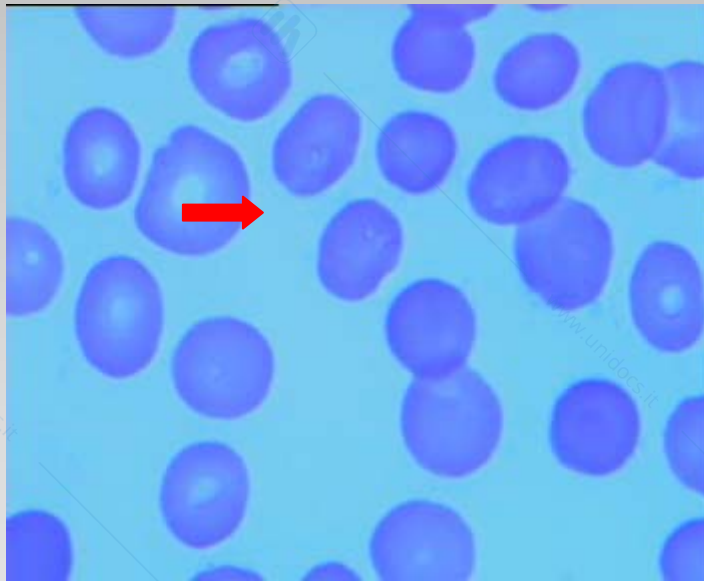
nel 75% delle famiglie la malattia viene trasmessa con meccanismo autosomico dominante

nel restante 25% dei casi si parla di forme "non dominanti": in questo gruppo sono comprese forme recessive vere, e forme conseguenti a mutazioni "de novo".

Diagnosi di sferocitosi ereditaria

- 1. storia familiare positiva*
- 2. esame clinico*
- 3. evidenza laboratoristica di emolisi*
- 4. presenza in circolo di microsferociti rilevabili:*
 - a. mediante osservazione dello striscio periferico*
 - b. mediante citometria*

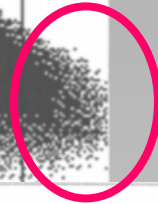
M.Bessis 1978: il giovane ematologo che si aspetta di scorgere degli sferociti resta il più delle volte deluso...



PRESENZA DI ERITROCITI IPERCROMICI

20,6%

omozigote



5,6%

eterozigoti



3,3%

normale



0,3%

RBC

***DIFETTO DI PROTEINA
4.2 "NOCERA"
nuova mutazione I
descrizione in una famiglia
di razza caucasica***

ERITROCITOSI

Quando c'è un aumento di Hb il parametro da valutare è l'HCT (VN 40-54%)

Eritrocitosi se HCT > 54 % nell'uomo
 HCT > 49 % nella donna

Ipotesi diagnostica

Primitiva – PV o morbo di Vaquez

Secondaria – insuff.respiratoria (BPCO,tabagismo)
 -alta quota ,shunt cardiaco Dx → Sn,HbCO,tumori EPS ...

Spuria * - sindrome da disidratazione (ustioni,diarrea,diuretici)
 -sindrome da stress

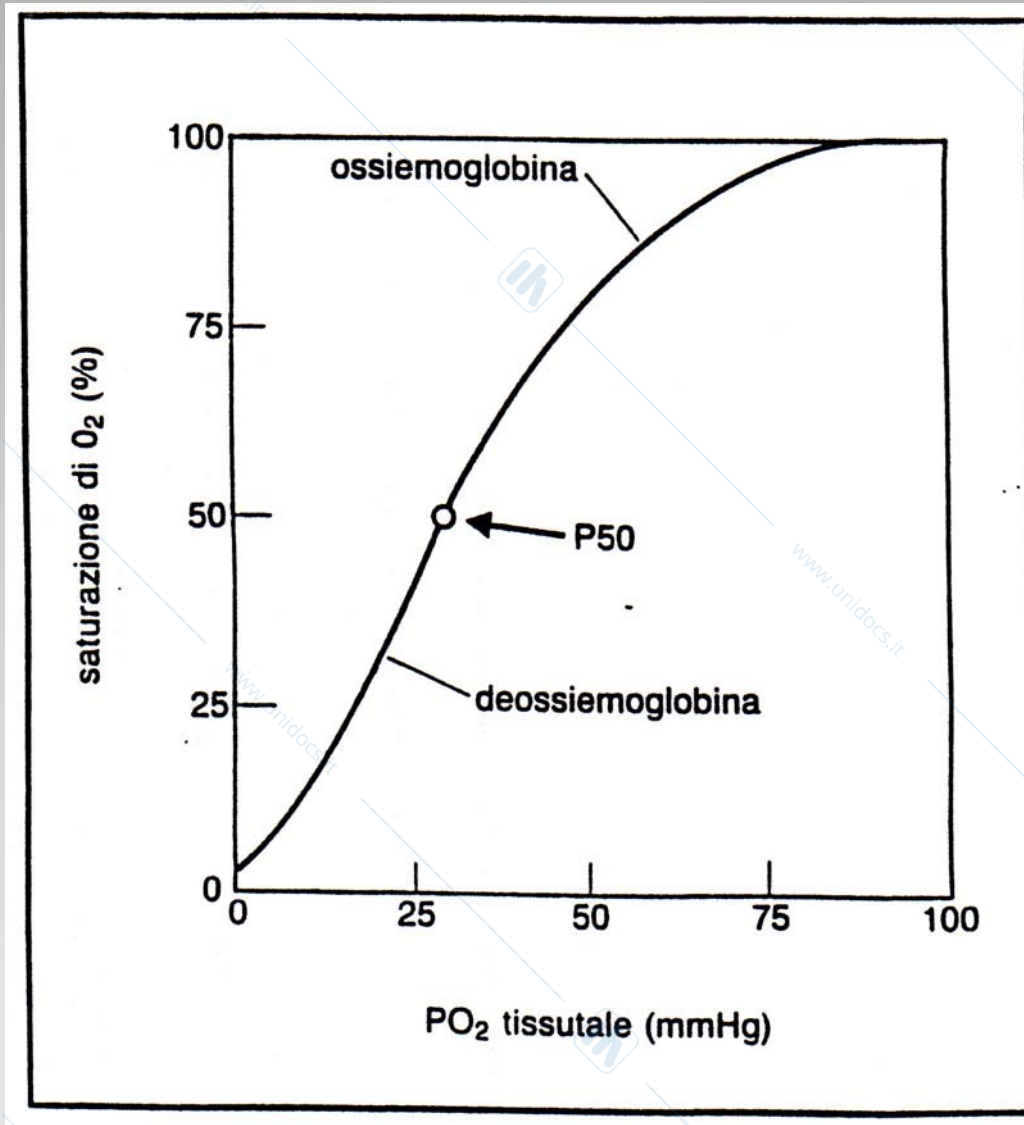
si può differenziare determinando la massa eritrocitaria mediante Cr51

ERITOCITOSI

ERITROCITOSI PRIMITIVE E SECONDARIE: *CRITERI DIFFERENZIALI*

	PRIMITIVE	SECONDARIE
Ematocrito	> 54% (Uomo) > 49% (Donna)	> 54% (Uomo) > 49% (Donna)
Massa eritrocitaria	> 36ml/Kg (Uomo) > 32ml/Kg (Donna)	> 36ml/Kg (Uomo) > 32ml/Kg (Donna)
Leucociti	Aumentati	Normali
Piastrine	Aumentate	Normali
Saturazione arteriosa O₂	≥ 92%	< 92%
Fosfatasi alcalina leucocitaria	Aumentata	Normale
Splenomegalia	Presente	Assente
HbCO (Carbossiemoglobina)	Normali	↑ (ossicarbonismo)
Dosaggio dell'eritropoietina	Normali	↑ (tumori E.P.S.)

CURVA DI DISSOCIAZIONE DELLA Hb



PIASTRINE

Biochimicamente attive:

Citoplasma :granuli densi: ADP,Ca⁺⁺,serotonina

**granuli alfa : fatt.VW,beta-tromb,PDGF,PF4,F
actina**

Superficie:recettori di membrana : GPIb/fatt.VW

GPIaIIb/collagene

GPIIbIIIa/F e altri ligandi

A riposo forma discoide

Attivate da agonisti fisiologici o dall'endotelio alterato:

shape –change

adesione,secrezione di granuli,produzione di TXA₂

aggregazione

PIASTRINE

recettori



fattori coagulazione



Fibrinogeno



vWF

granuli



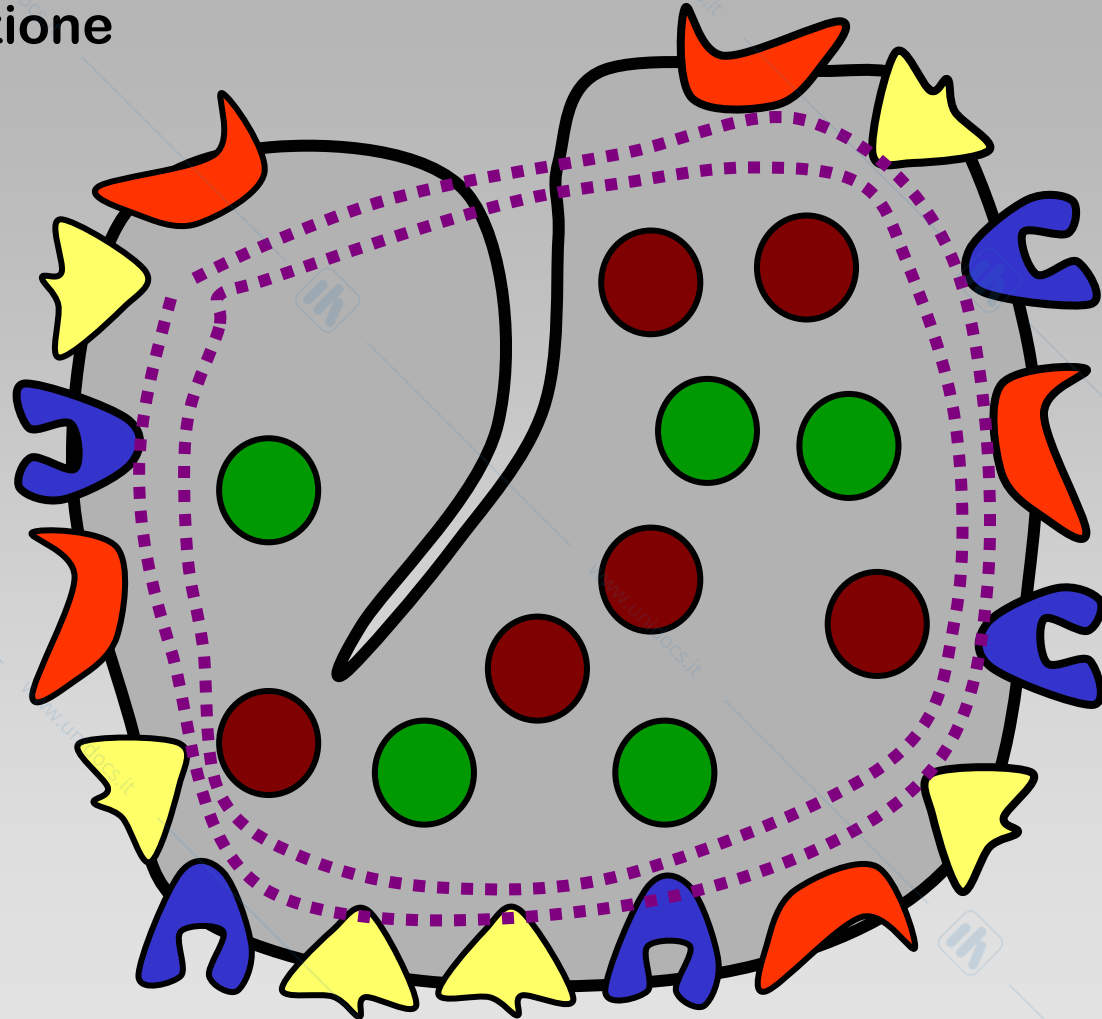
alfa-granuli



granuli densi



actina



PIASTRINOPATIE

Trombastenia di Glanzmann (GPIIb-IIIa)

Malattia di Von Willebrand (interazione tra GPIb con f.V e VIII)

**Sindrome di Bernard-Soulier (assenza o deficit di GPIb) piastrine giganti
in circolo**

Deficit di GPIa-IIa

Disordini della secrezione e della traduzione

Piastrinopatia nell'anemia di Fanconi

Sindrome di Wiscott-Aldrich (cr.X)

Anomalia di May-Hegglin (piastrine giganti e inclusi nei polinucleati)

PIASTRINOPENIE

A-aumentato consumo

- **Autoimmuni:**

PTI

Post-trasfusionale, P.neonatale, SMP, By-passcardio-polmonare,protesi valvolare ecc

Associata ad infezioni (mononucleosi,HIV,malaria)

Da farmaci (eparina,rifampicina,chinino,sulfamidici,penicilline)

- **PTT e SEU**

- **Ipersplenismo e splenomegalia,CID,trasfusioni massive**

B-ridotta produzione

Farmaci citotossici

Leucemie,metastasi,,aplasie,MDS,

anemie aplastiche

anemia megaloblastica

radioterapia

infezioni

PIASTRINOSI

Primitive:

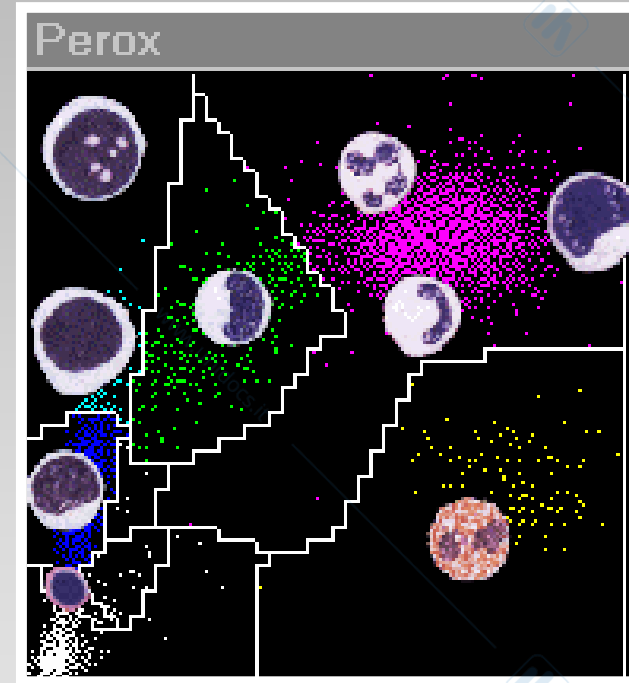
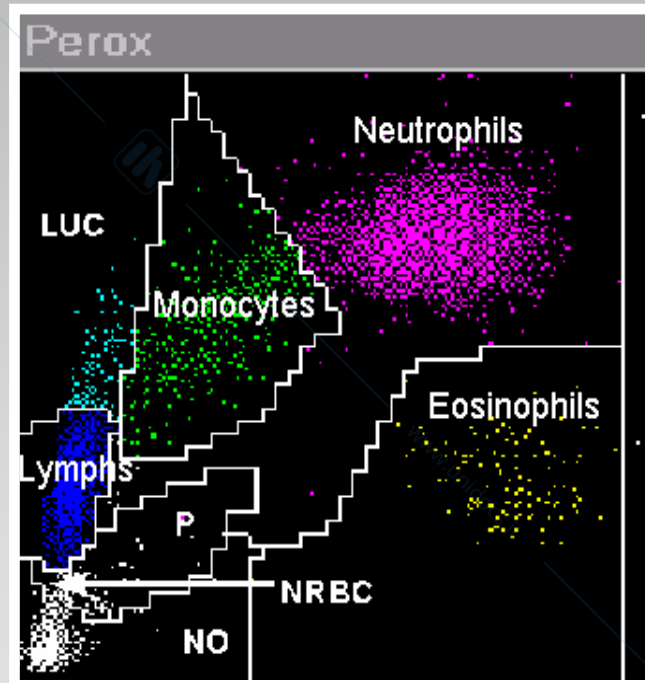
- trombocitemia essenziale

Secondarie:

- infezioni
- malattie maligne
- infiammazioni
- gravidanza
- splenectomia
- deficit di Fe
- emorragie

CITOGRAMMA

Intracellular Peroxidase Flow Cytometric Analysis



Finestra di lavoro
 Configurazione Associa Nascondi Disponi finestre Stampa Schermo disattivato

Emocromo di routine		
WBC:	H 25.30	x10 ³ /μL
RBC:	L 3.77	x10 ⁶ /μL
HGB:	L 9.8	g/dL
HCT:	L 33.7	%
MCV:	89.4	fL
MCH:	L 26.0	pg
MCHC:	L 29.1	g/dL
CHCM:	L 29.8	g/dL
CH:	26.2	pg
RDW:	H 20.3	%
HDW:	H 4.82	g/dL
PLT:	155	x10 ³ /μL
MPV:	8.5	fL

Formula WBC di routine		
WBC:	%	x10 ³ /μL
Neutro:	L 8.5	H 25.30
Linfo:	51.4	H 13.01
Mono:	L 2.6	H 0.67
Eosino:	0.2	H 0.06
Baso:	0.7	H 0.18
LUC:	H 36.4	H 9.22
LI:		2.85 *
MPXI:		-0.9
WBXP:		26.75

Retic di routine		
Retic:	%	N. x10 ⁹ /L
CHR:		pg
CHm:		pg

Parametri Routine aggiuntivi	
% Blasti:	11.7
% Iper:	1.3
% Ipo:	36.1
% Macro:	4.8
% Micro:	3.7
Fram. RBC:	0.03 x10 ⁶ /μL
Ombre RBC:	0.00 x10 ⁶ /μL
Neutro X:	68.1
Neutro Y:	68.8
MNx:	8.6
MNy:	14.2
%MN:	89.3
%PMN:	9.8
HGB cal:	10.1 g/dL

Parametri PLT aggiuntivi		
PDW:	H 82.1	%
PCT:	0.13	%
MPC:	24.1	g/dL
MPM:	1.82	pg
Grandi PLT:	11	x10 ³ /μL

Allarmi morfologici		
MICRO:	+	
MACRO:	+	
IPO:	+++	
IPER:		
ANISO:	++	
VAR HC:	+++	
DEV. A SINISTRA:		
BLASTI:	+++	
ATIP:	+++	
NRBC:		
IG:		
GRANDI PLT:		
AGGREGATI PLT:		
MPO-DEF:		
FRAM. RBC:		
OMBRE RBC:		

Allarmi campione/sistema		
WBC:	%NEUT:	#RETIC:
WBXP:	%NEUT:	#RETIC:
WBCB:	%LYMP:	CHg:
RBC:	%LYMP:	CHr:
HGB:	%MONO:	CHCMg:
HCT:	%MONO:	CHCMr:
MCV:	%EOS:	MCVg:
MCH:	%EOS:	MCVr:
MCHC:	%BASO:	RDWg:
CHCM:	%BASO:	RDWr:
CH:	%LUC:	HDWg:
CHDW:	%LUC:	HDWr:
RDW:	LI: VB	CHDWg:
HDW:		CHDWr:
PLT:		
MPV:		
PDW:		
PCT:		

Volume RBC		
Volume RBC	RBC HC	Vol. piastrine

RBC V/HC	
RBC V/HC	RBC V/HC

Perox	
Perox	Perox

PLT Scatter	
PLT Scatter	PLT Scatter

Baso	
Baso	Baso

LAM - M 0

Finestra di lavoro
 Configurazione Associa Nascondi Disponi finestre Stampa Schermo disattivato

Retic di routine

	%	N.	
Retic:	0.8	23.1	x10 ⁹ /L
CHR:	H	36.7	pg
CHm:		34.6	pg

Volume RBC **RBC HC** **Vol. piastrine**

Trasm. HGB **CH retic**

Emocromo di routine

WBC:	H	38.37	*	x10 ³ /μL
RBC:	L	2.74	*	x10 ⁶ /μL
HGB:	L	8.5	*	g/dL
HCT:	L	25.8	*	%
MCV:		94.4	*	fL
MCH:		30.9	*	pg
MCHC:	L	32.7	*	g/dL
CHCM:		34.8	*	g/dL
CH:		32.7	*	pg
RDW:	H	14.8	*	%
HDW:		2.87	*	g/dL
PLT:	L	49	*	x10 ³ /μL
MPV:		8.9	*	fL

Formula WBC di routine

	%	x10 ³ /μL
WBC:		H 38.37 *
Neutro:	H	84.1 * H 32.26 *
Linfo:		6.6 * 2.54 *
Mono:	L	2.3 * 0.90 *
Eosino:		6.0 * H 2.29 *
Baso:	H	3.3 * H 1.27 *
LUC:		1.0 * 0.39 *
LI:		H 3.53 *
MPXI:		H 22.9
WBCP:		19.90

Perox **Baso**

RBC V/HC **Ass scatter retic**

Parametri Routine addizionali

% Blasti:	39.1
% Iper:	2.1
% Ipo:	0.8
% Macro:	3.1
% Micro:	0.5
Fram. RBC:	0.01 x10 ⁶ /μL
Ombre RBC:	0.00 x10 ⁶ /μL
Neutro X:	84.4
Neutro Y:	72.4
MNx:	6.8
MNy:	7.9
%MN:	64.3
%PMN:	4.6
HGB cal:	9.0 g/dL

Allarmi morfologici

MICRO:

MACRO: +

IPO:

IPER:

ANISO:

VAR HC:

DEV. A SINISTRA: +

BLASTI: +++

ATIP:

NRBC:

IG: +++

GRANDI PLT:

AGGREGATI PLT:

MPO-DEF:

FRAM. RBC:

OMBRE RBC:

Allarmi campione/sistema

WBC: WC BS	#NEUT: XS	#RETIC:
WBCP: XS	#NEUT: XS	#RETIC:
WBCB: BS	#LYMP: BC XS	CHg:
RBC: CC	#LYMP: BC XS	CHR:
HGB: CC	#MONO: XS	CHCMg:
HCT: CC	#MONO: XS	CHCMr:
MCV: CC	#EOS: XS	MCVg:
MCH: CC	#EOS: XS	MCVr:
MCHC: CC	#BASO: BC	RDWg:
CHCM: CC	#BASO: BC	RDWr:
CH: CC	#LUC: BC XS	HDWg:
CHDW: CC	#LUC: BC XS	HDWr:
RDW: CC	LI: VB	CHDWg:
HDW: CC		CHDWr:
PLT:		
MPV:		
PDW:		
PCT:		

LAM - M 3

Finestra di lavoro
 Configurazione Associa Nascondi Disponi finestre Stampa Schermo disattivato

Intestazione

Emocromo di routine

WBC:	L	1.27	*	x10 ³ /μL
RBC:	L	1.83		x10 ⁶ /μL
HGB:	L	6.5		g/dL
HCT:	L	17.6		%
MCV:	H	95.8		fL
MCH:	H	35.7		pg
MCHC:	H	37.2		g/dL
CHCM:		36.2		g/dL
CH:		34.3		pg
RDW:	H	20.7		%
HDW:	H	5.10		g/dL
PLT:	L	32		x10 ³ /μL
MPV:		9.2		fL

Formula WBC di routine

	%		x10 ³ /μL	
WBC:		L	1.27	*
Neutro:	L	14.3	*	L 0.18 *
Linfo:	H	78.5	*	L 1.00 *
Mono:	L	2.7	*	L 0.03 *
Eosino:		0.3	*	L 0.00 *
Baso:		0.5	*	L 0.01 *
LUC:		3.7	*	L 0.05 *
LI:				2.54
MPXI:				-4.3
WBCP:				1.00

Retic di routine

	%	N.	x10 ³ /L
Retic:			
CHr:			pg
CHm:			pg

Parametri Routine addizionali

% Blasti:	5.5	
% Iper:	12.3	
% Ipo:	7.5	
% Macro:	10.0	
% Micro:	2.2	
Fram. RBC:	0.01	x10 ⁶ /μL
Ombre RBC:	0.00	x10 ⁶ /μL
Neutro X:		
Neutro Y:		
MNx:	13.0	
MNy:	13.5	
%MN:	59.3	
%PMN:	39.6	
HGB cal:	6.4	g/dL

Parametri PLT addizionali

PDW:	H	80.2	%
PCT:	L	0.03	%
MPC:		22.7	g/dL
MPM:		1.81	pg
Grandi PLT:		3	x10 ³ /μL

Allarmi morfologici

MICRO:	
MACRO:	++
IPO:	+
IPER:	+++
ANISO:	++
VAR HC:	+++
DEV. A SINISTRA:	
BLASTI:	++
ATIP:	
NRBC:	+++
IG:	
GRANDI PLT:	
AGGREGATI PLT:	
MPO-DEF:	
FRAM. RBC:	
OMBRE RBC:	

Allarmi campione/sistema

WBC: RB WC	%NEUT: RB	#RETK:
WBCP:	#NEUT: RB	%RETK:
WBCB:	%LYMP: RB	CHg:
RBC:	#LYMP: RB	CHr:
HGB:	%MONO: RB	CHCMg:
HCT:	#MONO: RB	CHCMr:
MCV:	%BOS: RB	MCVg:
MCH:	#BOS: RB	MCVr:
MCHC:	%BASO:	RDWg:
CHCM:	#BASO:	RDWr:
CH:	%LUC: RB	HDWg:
CHDW:	#LUC: RB	HDWr:
RDW:	LI:	CHDWg:
HDW:		CHDWr:
PLT:		
MPV:		
PDW:		
PCT:		

RBC V/HC

Perox

PLT Scatter

Baso

Volume RBC

RBC HC

Vol. piastrine

LAM - M 6

LEUCOCITOSI

Leucocitosi = WBC 10.000 – 20.000 /ml

Reazione leucemoide = WBC > 50.000 /mmc con elementi immaturi in circolo dd LMC)

Neutrofilia = Neutrofili circolanti >4000 -9.500 /ml

- Cause di neutrofilia acuta:

stimoli fisici (caldo, freddo, dolore, convulsioni, ecc)

stimoli emotivi (paura, stress)

infezioni (batteri, funghi, rickettsie, virus)

farmaci (steroidi, vaccini, veleni)

- Cause di neutrofilia cronica:

Infezioni persistenti

Infiammazioni

Tumori

Farmaci e tossine (fumo)

Disordini ematologici

LEUCOCITOSI (segue)

Eosinofilia lieve < 1500 /mmc

- “ moderata 1500-5000 /mmc
- “ severa oltre 5000 /mmc

- Cause di eosinofilia

Infezioni e infestazioni (parassiti, batteri, miceti, chlamidia)

Malattie allergiche

Connettiviti e malattie autoimmuni

Stati di immunodeficienza

Neoplasie (LH, Linfomi a cell. T, MDS)

Sindrome eosinofila idiopatica

LEUCOCITOSI (*segue*)

Monocitosi

Reattive

Tesaurismosi

Neoplasie

Linfocitosi = linfociti > 4000/mmc

Neoplasie maligne linfocitarie

Sindromi mononucleosiche (EBV,CMV,HIV,HCV,HSP II ,rosolia ,H.Zooster, adenovirus,Toxoplasma)

Infezioni (B. pertussis)

Linfocitosi persistente

linfocitosi transitoria

NEUTROFILIA

Quando il numero dei neutrofi supera $7000-7500/\text{mm}^3$

MECCANISMI PATOGENETICI:

- 1) *Aumento di produzione* (alcuni giorni): → forme reattive, s. mieloproliferative
- 2) *Aumento di dimissione dal compartimento midollare di riserva* (alcune ore): → infezioni acute, cortisone, stress
- 3) *Passaggio dal compartimento marginato (endotelio dei piccoli vasi) a quello circolante* (alcuni minuti) → adrenalina, stress, cortisone
- 4) *Ridotto passaggio dal sangue ai tessuti*: → azione farmacologica (cortisone, adrenalina)

INQUADRAMENTO NOSOGRAFICO:

- | | | |
|-------------------------------------|---|---|
| Neutrofilie reattive | → | infezioni batteriche - micosi - protozoi
connettiviti (artrite reumatoide)
necrosi estese, tumori solidi metastatici
eclampsia, tireotossicosi |
| Neutrofilie nell'ambito di emopatie | → | s. mieloproliferative croniche (LMC)
policitemia vera |
| Neutrofilie varie | → | terapia cortisonica, adrenalina
tabagismo, stress, gravidanza,
lattazione, ovulazione |

E' sempre utile ricercare le cause $\left\{ \begin{array}{l} \text{acute} \\ \text{croniche} \end{array} \right.$

NEUTROFILIA: ORIENTAMENTO DIAGNOSTICO

Per un rapido *orientamento diagnostico* di fronte a *neutrofilia* si deve considerare :

- **Dati anamnestici:**
 - Sintomatologia infettiva (es: tipo di febbre, artralgie, esantemi, orofaringe, ecc.)
 - Sintomatologia neoplastica (es: febbre a genesi ignota (Pel-Ebstein), masse neoformate)
 - Uso di farmaci
 - Tabagismo

- **Elementi clinici: esame obiettivo**
 - Linfadenopatia
 - con caratteri di LAB
 - con caratteri di LAN
 - Splenomegalia
 - di tipo infettivo
 - di tipo emolinfopatico

- **Dati di laboratorio:**
 - Valutare emocromo precedente
 - neutrofilia cronica costante
 - neutrofilia acuta recente
 - Ricerca e conta di cellule immature (striscio periferico)
 - emopatie
 - formula leucemoide
 - Predominanza di cellule mature
 - infezioni
 - flogosi (necrosi)
 - azione farmacologica
 - patologie tossico-metaboliche

LEUCOPENIE

Leucopenia = WBC < 4.000 /ml

Neutropenia = Neutrofili circolanti < 1500/mmc

Agranulocitosi = neutrofili circolanti < 500/mmc

- Cause di neutropenia

Neutropenie da deficit di produzione:

Neutropenie congenite

Neutropenie secondarie a

Farmaci, infezioni, AR, Cirrosi, malnutrizione

Mieloftisi

Neutropenie da aumentata distruzione con meccanismo immune e con meccanismo non immune

Farmaci associati a neutropenia:

Analgesici e anti-infiammatori : indometacina, acetaminofene

Antibiotici : cefalosporine, gentamicina, penicilline, rifampicina, trimetoprim, vancomicina

Anticonvulsivanti: carbamazepina, fenitoina

Antidepressivi: amitriptilina

Anti-H2

Antitiroidei

Cardiovascolari: captoril, idralazina, metildopa, propranololo

Diuretici: acetazolamide, clorotiazide

Ipoglicemizzanti orali

LEUCOPENIE (segue)

Linfocitopenia = linfociti < 1.000/mmc

Cause di linfocitopenia

Congenite

Acquisite : anemia aplastica

Infezioni

Iatrogene : steroidi,immunosoppressori,chemio-radioterapia

Malattie autoimmuni,HD,carcinomi

Nutrizionali (alcool, deficit di Zn)

LINFOCITI: SISTEMA LINFOIDE

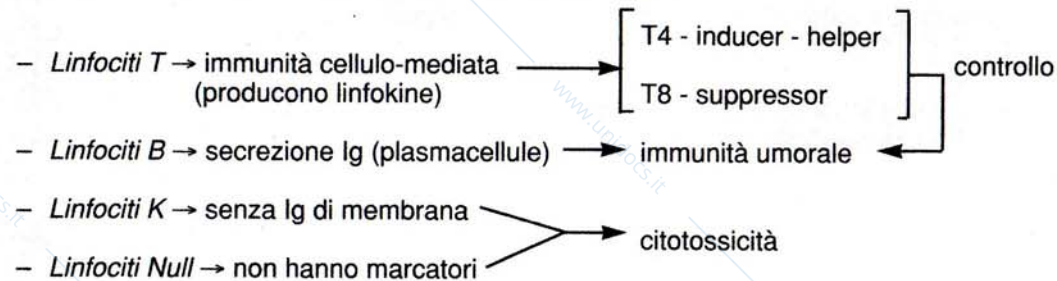
- *IL SISTEMA LINFOIDE* è responsabile dei processi specifici dell'immunità cellulare e umorale -

E' costituito :

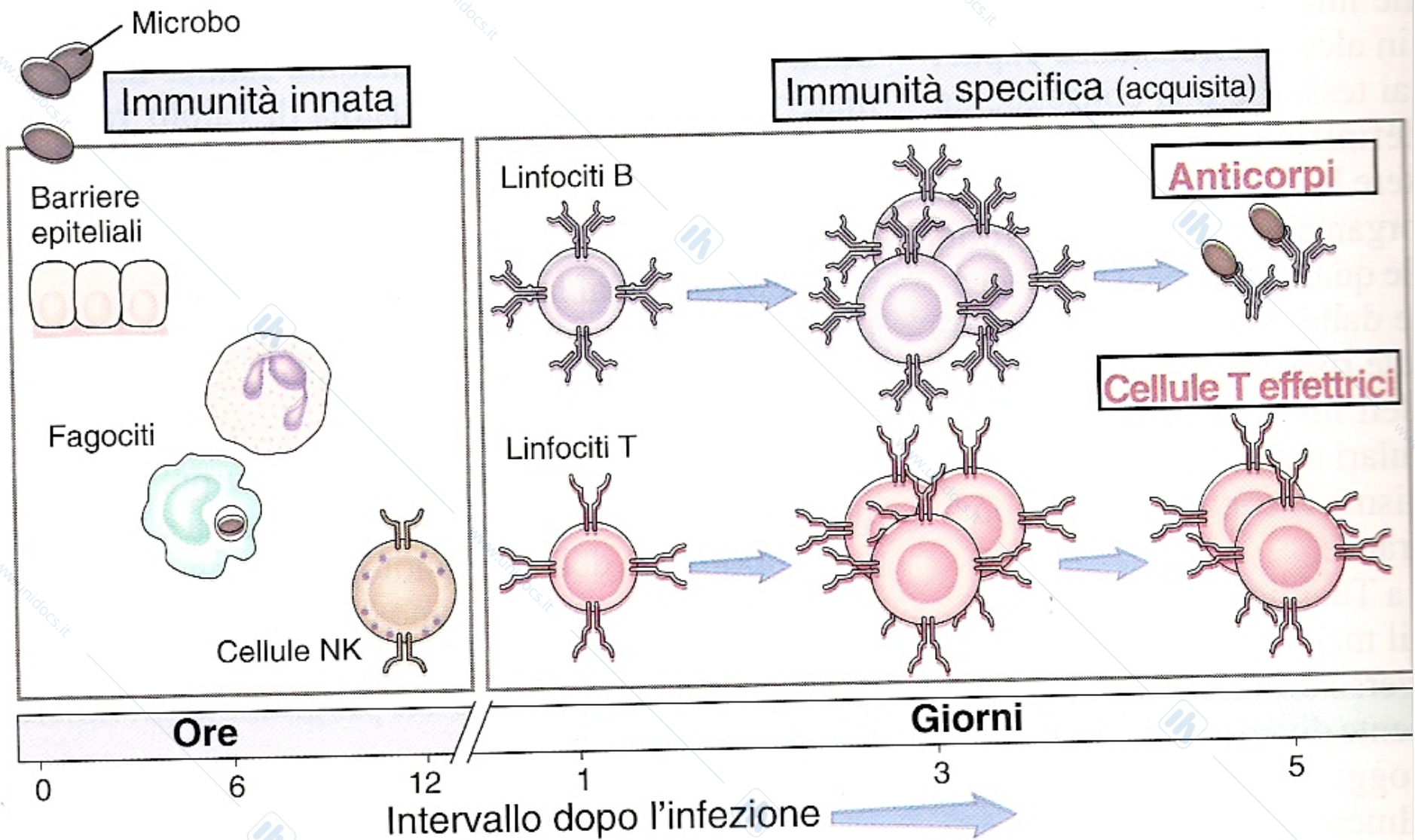
- da linfociti e plasmacellule presenti negli organi linfoidei primari (midollo osseo - timo).
- da linfociti e plasmacellule presenti negli organi linfoidei secondari (milza - linfonodi).
- da linfociti e plasmacellule dispersi o aggregati in vari tessuti e apparati (respiratorio, digerente).
- da linfociti circolanti nel sangue periferico e nella linfa.

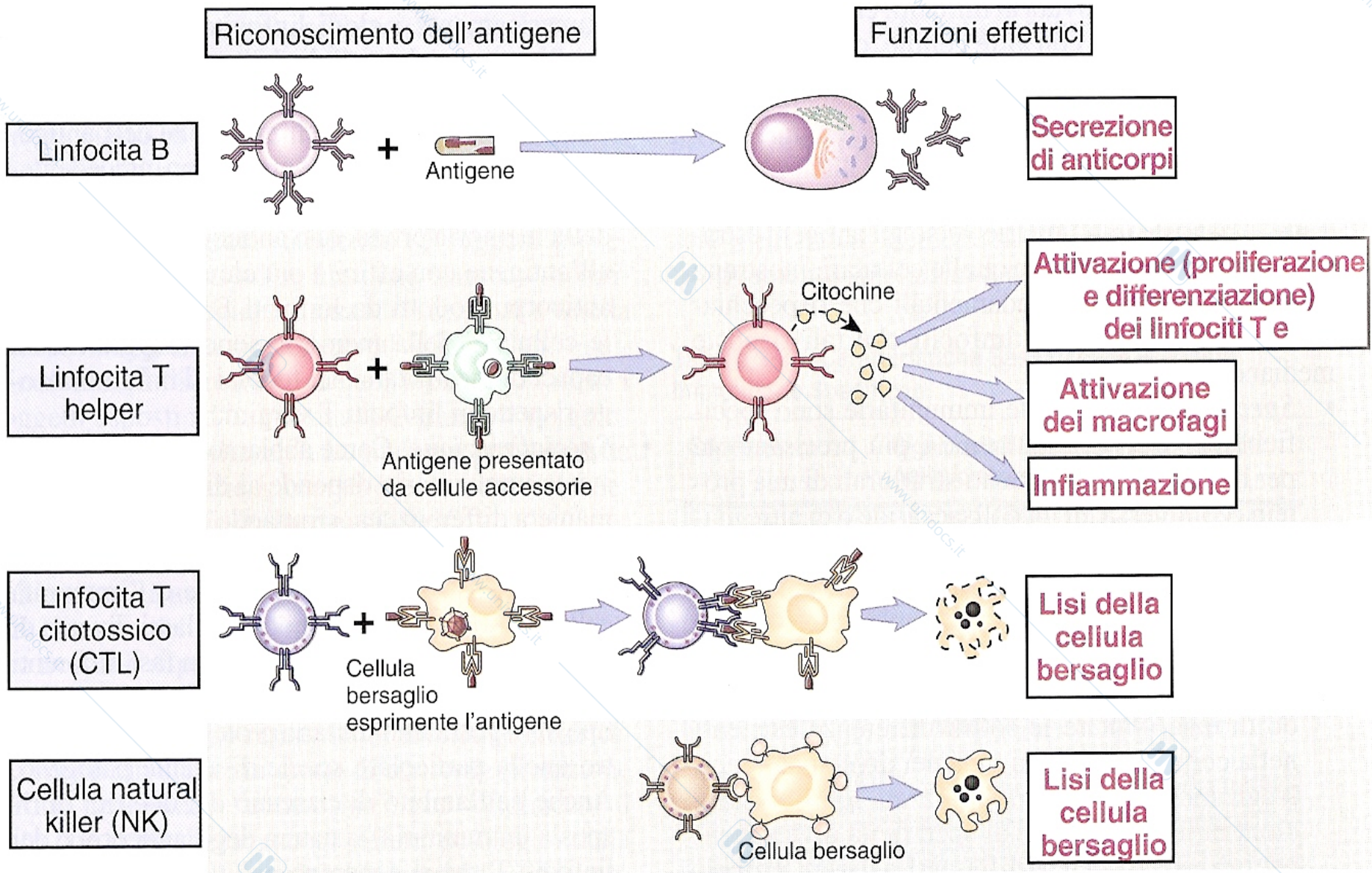
- I linfociti sono mobili, attraversano gli endoteli, si spostano nei tessuti.
- Non esplicano fagocitosi ma sono capaci di pinocitosi.
- I linfociti stimolati (antigeni, linfocine, mitogeni) si moltiplicano e si trasformano in grandi cellule di aspetto "blastico" (immunoblasti) che si trovano negli organi linfoidei secondari ma anche in circolo (infezione - E.B.V.).

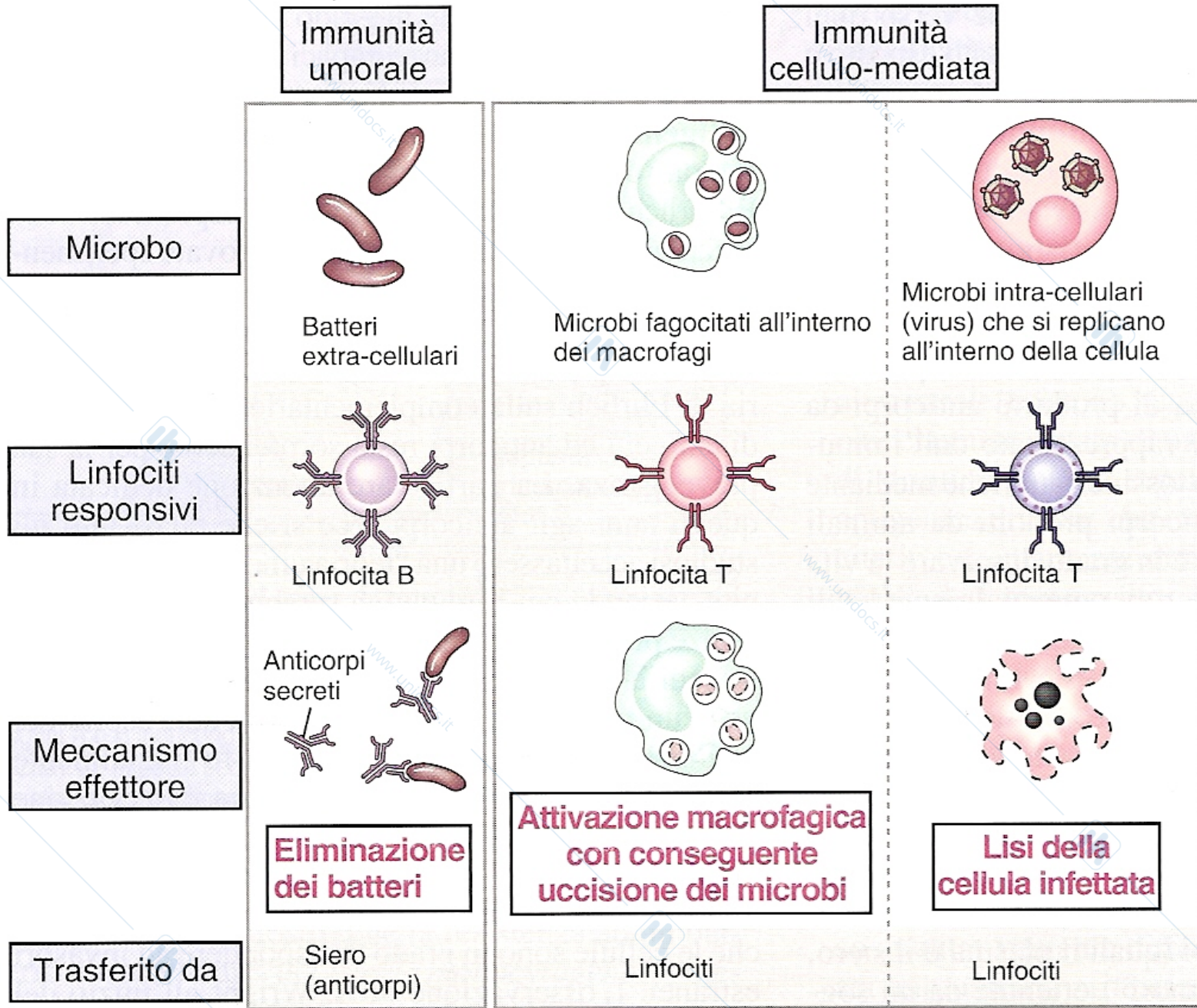
I linfociti si distinguono in 4 classi (marcatori di membrana) :

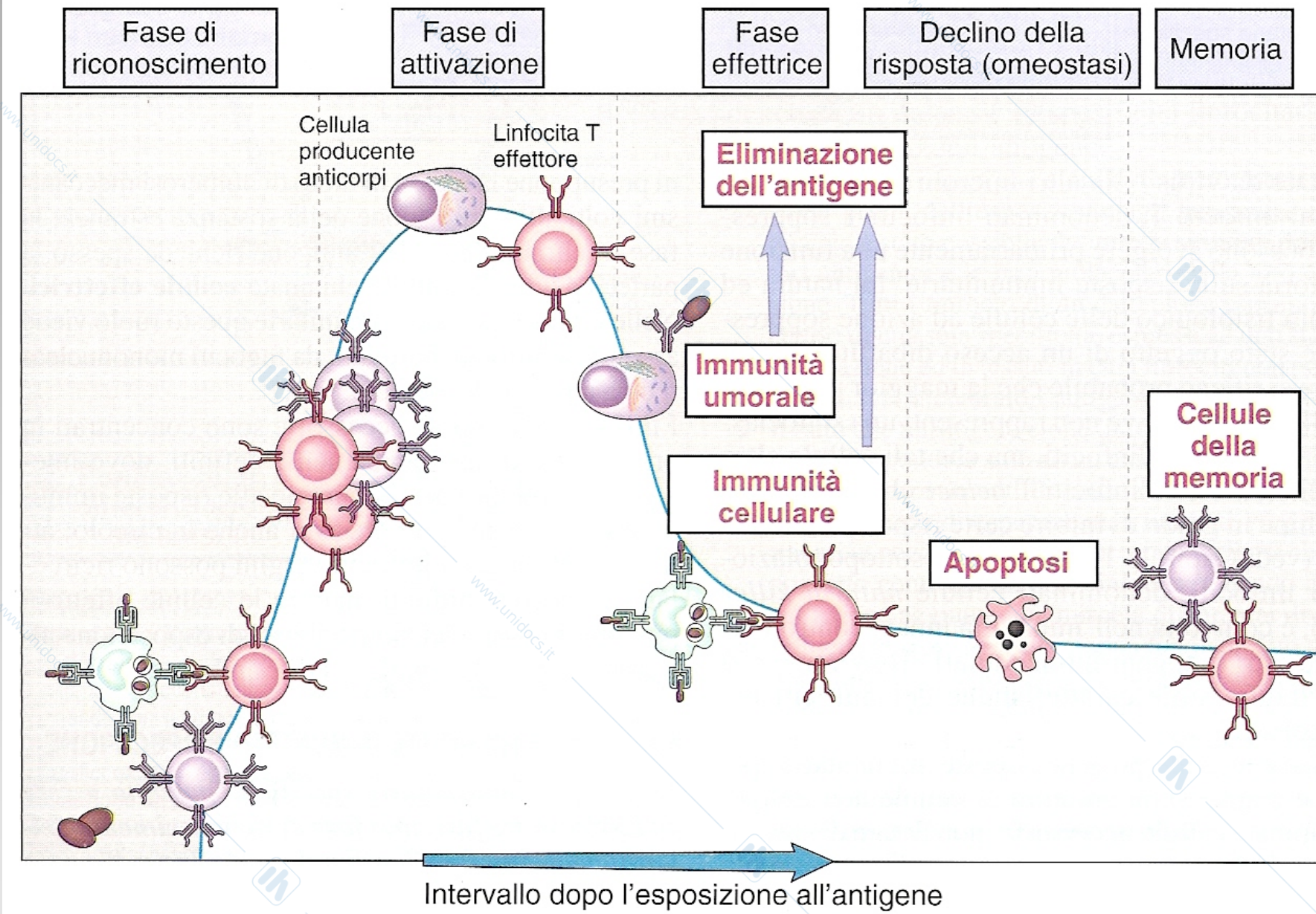


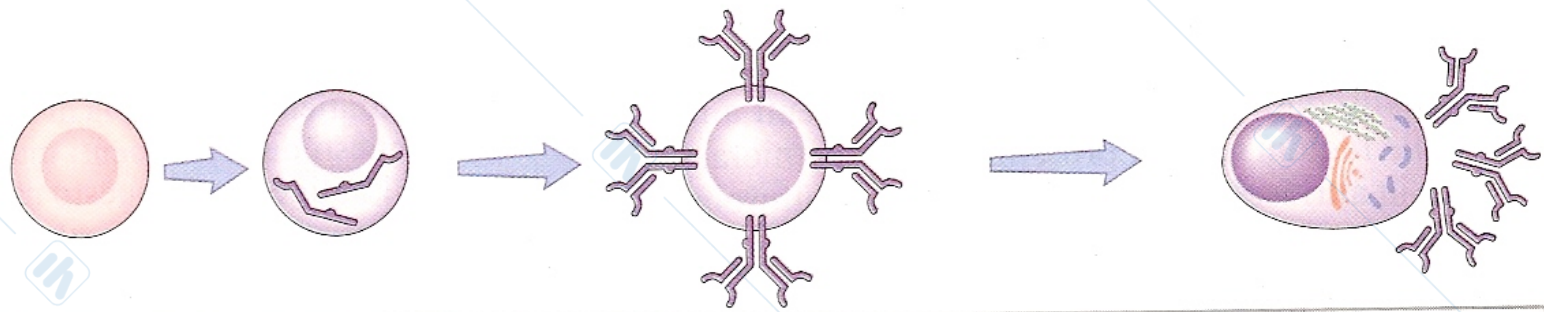
I *linfociti T* e *B* attivati dal contatto con Ag, oltre la risposta immunologica primaria, danno vita ad una numerosa progenie di linfociti sensibilizzati (linfociti memoria) che scateneranno la risposta secondaria.











Stadio di maturazione	Cellula staminale	Cellula pre-B	Cellula B immatura	Cellula B matura	Cellula B attivata	Cellula secernente anticorpi
Profilo di espressione delle Ig	Nessuna espressione	Catene pesanti μ nel citoplasma	IgM di membrana	IgM ed IgD di membrana	Basso livello di produzione di Ig; scambio isotipico della catena pesante; maturazione dell'affinità	Elevato tasso di secrezione di Ig; ridotta espressione di Ig sulla membrana