

PATOLOGIA GENERALE 2, LEZIONE 11

Prof: Gentile – 12/10/2023 – Sbobinatori: Carmine Buffone, Azzurra Mandolito, Marika – Revisionatore: Sofia De Bei

EMATOLOGIA

EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA

Nei pazienti affetti da EPN si ha una perdita di sangue con le urine, soprattutto durante la notte.

L'emoglobinuria parossistica notturna (EPN) è una malattia provocata da mutazioni acquisite nel fosfatidilinositolo-glican-A (PIGA), un enzima essenziale per la sintesi di alcune proteine regolatrici che stanno sulla membrana dei globuli rossi e regolano l'attività del complemento.

L'EPN ha un'incidenza di 2-5 casi per milione negli Stati Uniti.

È l'**unica** anemia emolitica causata da un difetto intrinseco acquisito della membrana cellulare.

È opportuno ricordare che **le proteine**, che si trovano nei globuli rossi, **sono ancorate nel doppio strato lipidico in due modi**:

1. La maggior parte ha una regione idrofobica **integrata nella membrana cellulare**; queste sono chiamate **proteine transmembrana**.
2. Le rimanenti sono **ancorate alla membrana cellulare** tramite un legame covalente a un fosfolipide specializzato chiamato **glicosilfosfatidilinositolo (GPI)**.

Nell'EPN c'è un'assenza delle proteine correlate al GPI a causa delle mutazioni somatiche che inattivano il PIGA, che è legato al cromosoma X ed è soggetto a lyonizzazione (inattivazione casuale di uno dei cromosomi X nelle cellule delle femmine). Si può avere la patologia sia nelle donne che negli uomini.

Quindi, una sola mutazione acquisita nel gene PIGA attivo di una cellula è sufficiente a produrre una condizione di deficit.

Poiché la mutazione che causa il deficit avviene nelle cellule staminali emopoietiche, la loro discendenza clonale (globuli rossi, globuli bianchi, piastrine) è priva delle proteine correlate al GPI, quindi ha questa alterazione. In genere, solo un sottogruppo di cellule staminali acquisisce la mutazione.

C'è un bilanciamento tra quello che è il clone mutato e quello non mutato, quindi cellule staminali che hanno il PIGA alterato e quelle che invece non lo hanno.

Da notare che la maggior parte dei soggetti sani presenta piccole quantità di cellule del midollo osseo con mutazioni di PIGA identiche a quelle che causano EPN.

Si ipotizza che queste cellule aumentino di numero (producendo quindi EPN clinicamente evidente) solo in casi rari ove esse hanno un vantaggio selettivo, come nel contesto di reazioni autoimmuni contro gli antigeni correlati al GPI.

Tale contesto potrebbe spiegare la frequente associazione di EPN e aplasia midollare.

L'aplasia midollare è una sindrome dovuta ad insufficienza midollare in cui si distruggono le cellule staminali e, probabilmente, queste cellule staminali alterate hanno un vantaggio selettivo rispetto alle altre.

Nell'EPN i globuli rossi sono privi di tre proteine correlate al GPI che regolano l'attività del complemento:

1. **Il CD55**, è un fattore accelerante il decadimento;
2. **Il CD59**, è un inibitore della lisi reattiva ed inibisce il C3 convertasi,
3. La proteina legante il **C8**.

Il CD59, un potente inibitore della C3 convertasi, quando non è espresso sulla membrana del globulo rosso non può svolgere la sua attività di inibire l'attivazione del complemento e dunque si ha l'attivazione della via alternativa del complemento e quindi la lisi dei globuli rossi.

I globuli rossi, che hanno alterato PIGA per una mutazione e quindi sono privi di fattori correlati al GPI (CD55, CD59 e C8), vanno incontro a lisi perché si lega il complemento e si attiva.

Questo si manifesta come emolisi intravascolare, che è causata dal complesso C5 β -C9 di attacco della membrana.

L'emolisi è parossistica (non è continua) e notturna solo nel 25% dei casi; è più frequente un'emolisi cronica senza emoglobinuria grave. La tendenza dei globuli rossi a lisarsi di notte è dovuta alla lieve diminuzione del pH del sangue durante il sonno, che aumenta l'attività del complemento.

Un paziente che ha un'emoglobinuria parossistica notturna, solitamente ha:

- Un'anemia, che può essere da lieve a moderata.
- **Perdita di ferro eme con le urine** (ha emosiderinuria) che porta a carenza di ferro, che peggiora l'anemia (se non trattata).
- **Insorgenza di trombosi**. Solitamente non in sedi frequenti ma in sedi particolari, ad esempio, a livello delle vene epatiche, portalì o cerebrali.

Non è chiaro come l'attivazione del complemento conduca a trombosi nei pazienti con EPN; l'assorbimento di ossido nitrico (NO) da parte dell'emoglobina libera può essere un fattore contributivo e si sospetta possa anche avere un ruolo nel danno endoteliale causato dal complesso di attacco della membrana C5-9.

Il 5-10% circa dei pazienti sviluppa malattie ematologiche, come la leucemia mieloide acuta o una sindrome mielodisplastica, indicando che la EPN può insorgere in un danno genetico a carico delle cellule staminali ematopoietiche, quindi che può andare incontro più facilmente a trasformazione neoplastica.

DIAGNOSI DI EPN

Avviene mediante citofluorimetria, andando a studiare quelli che sono gli antigeni sulle cellule (sia sui globuli rossi che sui globuli bianchi). Nell'immagine sotto, sono rappresentati i globuli rossi.

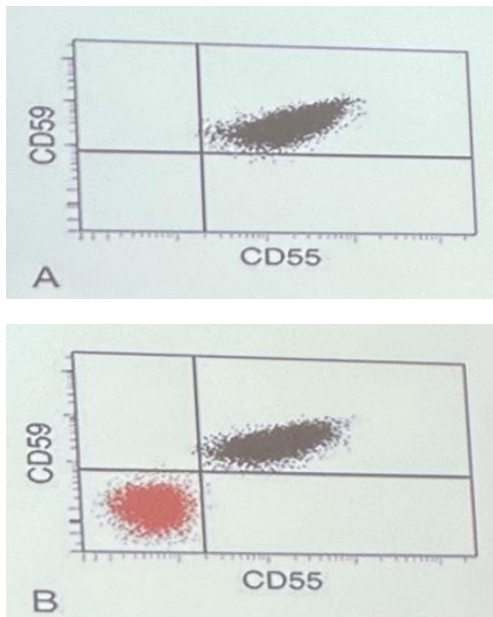


Tabella A: Abbiamo una popolazione (rappresentata dai punti neri ed ogni puntino è un globulo rosso) che esprime sia l'antigene CD55 che l'antigene CD59. Più si sposta a destra e più presenta CD55, più va' in alto e più presenta CD59.

Tabella B: Abbiamo due popolazioni. La popolazione nera rappresenta dei globuli rossi normali (perché presentano sia il CD55 che il CD59) e la popolazione rossa non ha né CD55 e né CD59.

Il ruolo fondamentale dell'attivazione del complemento nella patogenesi dell'EPN è stato dimostrato dall'uso terapeutico di un anticorpo monoclonale, **l'Eculizumab**, che riesce a bloccare la conversione di C5 in C5a.

Questo inibitore, oltre a ridurre notevolmente l'emolisi e le conseguenti necessarie trasfusioni, riduce il rischio di trombosi anche del 90%.

Gli svantaggi della terapia con inibitori del C5 sono i costi elevati e un rischio maggiore di infezioni meningococciche gravi o fatali (come succede nei soggetti con difetti ereditari del complemento).

I pazienti, come quelli splenectomizzati, devono essere **vaccinati** prima di utilizzare questo farmaco. I farmaci immunosoppressivi sono utili per gli individui in cui si osserva aplasia midollare.

La **cura** si ottiene solo con il trapianto di cellule staminali emopoietiche, grazie all'utilizzo di questi nuovi farmaci.

In conclusione, l'EPN è un'anemia emolitica dovuta ad un danno di membrana acquisito (non è congenito).

ANEMIE IMMUNOEMOLITICHE

L'anemia immunoemolitica è causata da anticorpi (prodotti dal nostro organismo stesso) che riconoscono e legano i globuli rossi, portano alla loro prematura distruzione. Sebbene queste malattie siano comunemente denominate anemie emolitiche autoimmuni, la definizione "anemie immunoemolitiche" è preferibile perché in alcuni casi la reazione immunitaria è iniziata dall'assunzione di un farmaco.

Abbiamo tre tipi, in base ai diversi anticorpi, che possono causare anemia immunoemolitica:

- **Da anticorpi caldi** (anticorpi di tipo IgG attivi a 37 °C)
 - Primitiva (o idiopatica)
 - Secondaria
 - Disturbi autoimmuni (in particolare lupus eritematoso sistemico)
 - Farmaci
 - Neoplasie linfoidi
- **Da agglutinine fredde** (anticorpi di tipo IgM attivi sotto i 37 °C)
 - Acuta (infezioni come la mononucleosi)
 - Cronica
 - Idiopatica

- Neoplasie linfoidi
- **Da emolisine fredde** (anticorpi di tipo IgG attivi sotto i 37 °C)
 - Rara; si presenta principalmente nei bambini in seguito a infezione virale.

La diagnosi dell'anemia immunoemolitica richiede il riscontro di anticorpi e/o complemento sui globuli rossi del paziente.

Ciò viene effettuato mediante il **test di Coombs diretto**, in cui i globuli rossi del paziente sono mescolati con antisiero eterologo specifico per immunoglobuline umane o complemento: se uno dei due è presente sulla superficie dei globuli rossi, gli anticorpi provocano agglutinazione, visibile sotto forma di condensazioni.

Nel **test di Coombs indiretto**, il siero del paziente viene testato per valutare la capacità di agglutinare i globuli rossi che portano determinati antigeni.

Il test serve per caratterizzare l'antigene bersaglio e la dipendenza dalla temperatura dell'anticorpo responsabile.

Sono anche disponibili test immunologici quantitativi per misurare direttamente tali anticorpi.

DA ANTICORPI CALDI

Questa forma rappresenta circa l'80% dei casi di anemia immunoemolitica. È causata da anticorpi che si legano stabilmente ai globuli rossi a 37°C.

Circa il 50% dei casi è idiopatico (non hanno altre malattie che hanno causato insorgenza d'immunoglobuline); i rimanenti sono correlati a condizioni predisponenti o a esposizione a farmaci.

La maggior parte degli anticorpi in causa è di classe IgG; meno frequentemente sono coinvolti gli anticorpi IgA.

L'emolisi dei globuli rossi è per lo più **extravascolare**. Le IgG si legano ai globuli rossi e formano un ponte con il frammento cristallizzabile che è sui fagociti che si trovano nella milza.

I globuli rossi che presentano questi anticorpi, vengono fagocitati troppo presto dai macrofagi che stanno nella milza (anziché dopo 120gg, come dovrebbe avvenire fisiologicamente). Anche in questo caso abbiamo un'aumentata distruzione ed una riduzione delle dimensioni del globulo rosso.

Come accade nella sferocitosi ereditaria, si può avere la perdita di membrana e quindi abbiamo dei globuli rossi che assumono delle forme come gli sferociti e sono anch'essi sequestrati e distrutti nella milza.

Quando si ha questo tipo di anemia emolitica autoimmune, si può avere **splenomegalia** (è proprio nella milza che avviene la maggior parte delle emolisi).

La splenomegalia è una condizione medica in cui la milza, un organo situato nella parte superiore sinistra dell'addome, diventa anormalmente ingrandita.

Come per altri disturbi autoimmuni, la causa dell'anemia immunoemolitica, nel 50% dei casi, è sconosciuta ed idiopatica (*non si conosce la ragione del suo sviluppo*). Nei casi idiopatici, gli anticorpi sono diretti contro le proteine di superficie dei globuli rossi, spesso componenti del gruppo sanguigno Rh.

Nei casi indotti da farmaci, sono stati descritti due meccanismi:

- 1) **Farmaci antigenici.** In questo contesto, l'emolisi è legata alla somministrazione endovenosa di grandi quantità del farmaco lesivo e avviene 1-2 settimane dopo l'inizio della terapia.

Questi farmaci, come per esempio la penicillina e le cefalosporine, si legano alla membrana eritrocitaria e creano un nuovo determinante antigenico riconosciuto dagli anticorpi.

Gli anticorpi responsabili talvolta fissano il complemento e provocano **l'emolisi intravascolare**, ma più spesso agiscono come opsonine che promuovono **l'emolisi extravascolare** nei fagociti.

- 2) **Farmaci che riducono la tolleranza.** Questi farmaci, dei quali l'agente ipertensivo α -metildopa è il prototipo, in qualche modo sconosciuto, riducono la tolleranza e ciò porta alla produzione di anticorpi contro gli antigeni dei globuli rossi, in particolare gli antigeni del gruppo sanguigno Rh.

Circa il 10% dei pazienti che assumono l' α -metildopa produce autoanticorpi, come determinato dal test di Coombs diretto, e circa l'1% sviluppa un'emolisi clinicamente significativa.

Il trattamento dell'anemia immunoemolitica da anticorpi caldi è incentrato sulla rimozione dei fattori scatenanti (per esempio, farmaci); quando ciò non è possibile, terapie immunosoppressive e splenectomia rappresentano il migliore piano d'azione.

CRIOGLOBULINEMIA (DA AGGLUTININE FREDEDE)

Questo tipo di anemia immunoemolitica è causata dagli anticorpi IgM, che si legano ai globuli rossi a basse temperature (0-4 °C) ma non a 37°C. Rappresenta il 15-20% dei casi. Gli anticorpi delle agglutinine fredde talvolta appaiono in modo transitorio dopo certe infezioni, quali *Mycoplasma pneumoniae*, la mononucleosi, infezione dovuta a citomegalovirus ecc...

In questo contesto, dovendosi attivare a temperature più basse, il disturbo è lieve ed autolimitante. In alcuni casi, questa anemia si può associare anche a malattie neoplastiche, ad esempio, i linfociti patologici di un linfoma possono produrre queste IgM che causano agglutinine fredde.

Quando parti esposte del nostro corpo (mani, piedi, orecchie) arrivano a temperature più basse (verso i 30°C) le IgM si possono legare ai globuli rossi e ciò porta alla fissazione del complemento. Quando il sangue ricircola e si riscalda, l'IgM è rilasciata, solitamente prima che si verifichi l'emolisi complemento-mediata; per questo motivo, l'emolisi intravascolare per agglutinazione e attivazione del complemento di solito è un evento che si verifica difficilmente, salvo in condizioni estreme.

Tuttavia, il legame transitorio che si forma tra l'IgM e il globulo rosso, seppur si verifichi per una breve durata, è sufficiente per legare quantità di C3b sublitico il quale funge da opsonina e porta a una rapida rimozione dei globuli rossi da parte dei fagociti nella milza, nel fegato e nel midollo osseo (emolisi extravascolare). L'emolisi è di varia entità. L'ostruzione vascolare causata dai globuli rossi agglutinati può provocare pallore, cianosi e fenomeno di Raynaud (cianosi) nelle parti del corpo esposte al freddo. L'anemia immunoemolitica cronica da agglutinine fredde causata da anticorpi IgM può essere difficile da trattare e non risponde molto bene agli immunosoppressori. Il miglior approccio, quando possibile, è evitare l'esposizione al freddo o coprire bene le varie zone del corpo.

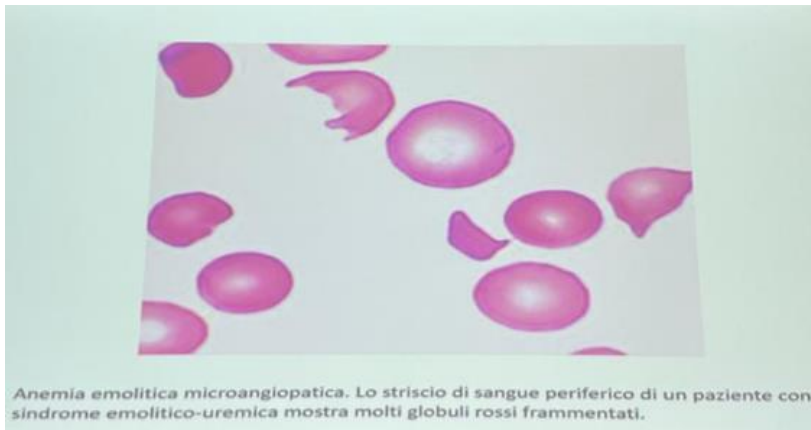
ANEMIA DA EMOLISINE FREDDE

Le emolisine fredde sono autoanticorpi responsabili di una rara entità nota come emoglobinuria parossistica a frigore. Questo raro disturbo può causare emolisi intravascolare ed emoglobinuria, talvolta fatali. Gli autoanticorpi sono IgG che si legano all'antigene del gruppo sanguigno B sulla superficie del globulo rosso nelle aree periferiche fredde del corpo. Per legarsi al globulo rosso, l'anticorpo ha bisogno di basse temperature e per funzionare necessita di temperature di 37 gradi. La lisi complemento mediata si verifica quando le cellule ricircolano nel centro caldo del corpo, dove la cascata del complemento funziona più efficacemente. La maggior parte dei casi si nota nei bambini in seguito a infezione virale; in questo contesto il disturbo è transitorio e la maggioranza dei soggetti affetti guarisce in un mese.

ANEMIA EMOLITICA DA TRAUMI DEI GLOBULI ROSSI

L'emolisi più significativa causata dal trauma dei globuli rossi è osservabile negli individui con proteasi valvolari cardiache e malattie microangiopatiche. Le valvole artificiali meccaniche sono coinvolte più spesso rispetto alle valvole biologiche. L'emolisi deriva da forze di taglio prodotte da un flusso ematico turbolento e anomali gradienti pressori nelle valvole danneggiate.

L'anemia emolitica microangiopatica si presenta più frequentemente con la coagulazione intravascolare disseminata (CID), ma anche con la porpora trombotica trombocitopenica (PTT), la sindrome emolitico-uremica (HSU), l'ipertensione maligna, il lupus eritematoso sistemico (LES) e neoplasie disseminate. La caratteristica comune tra tutte queste patologie è la presenza di lesioni microvascolari che provocano restringimento luminale, spesso dovuto alla deposizione di trombi, i quali producono stress da taglio che danneggiano meccanicamente i globuli rossi in transito. A prescindere dalla causa, il danno porta alla comparsa di emolisi intravascolare e alla presenza, nello striscio di sangue periferico, di frammenti di globuli rossi (schistociti), "acantociti", cellule a caschetto e "cellule a triangolo".



APPROFONDIMENTO: La porpora trombotica trombocitopenica o malattia di Moschowitz è una patologia molto grave per cui il paziente può andare incontro a morte se non trattata subito. È data dal fatto che si formano degli anticorpi contro una proteina detta ADAMTS13, una proteasi che ha la funzione di tagliare i polimeri

del fattore di Von Willebrand. Se questo non accade, si creano dei microtrombi a livello vascolare e ciò porta ad anemia e piastrinopenia in tanti organi come cuore, cervello e reni. La trombosi a tutti i livelli può portare a morte il paziente. Si verificano sia fenomeni emorragici che ischemici. In questi casi la terapia corretta è la plasmaferesi (si rimuove il plasma dal paziente e gli si dà plasma eterologo) per rimuovere i multimeri del Willebrand e fornire plasma normale. Allo stesso tempo però si deve fare una terapia immunosoppressiva perché si produce un anticorpo che va contro ADAMTS13. Una nuova terapia prevede l'utilizzo di un anticorpo monoclonale che va contro l'anticorpo diretto contro ADAMTS13 (Caplacizumab). Per tanto la terapia prevede Caplacizumab, plasmaferesi e terapia immunosoppressiva. La plasmaferesi è una terapia di combinazione che una volta raggiunto l'endpoint con un livello piastrinico di 150000 si inizia una descalation dove la

plasmaferesi anziché essere fatta tutti i giorni, si fa un giorno sì e uno no. La malattia può dare recidive. La terapia anticoagulativa si attua quando il livello piastrinico è troppo elevato. Ci sono inoltre forme congenite della malattia.

ANEMIE DA DIMINUITA ERITROPOIESI

Sebbene le anemie da inadeguata produzione di globuli rossi siano eterogenee, possono essere classificate in alcune categorie principali a seconda della fisiopatologia. Le anemie più comuni e importanti associate all'ipoproduzione di globuli rossi sono quelle causate da carenze alimentari, seguite da quelle legate a infiammazione cronica o insufficienza renale. Si includono anche disturbi meno comuni che portano a insufficienza generalizzata del midollo osseo, quali aplasia midollare, neoplasie emolitiche primitive e patologie infiltrative che portano alla sostituzione del midollo (per esempio metastasi e malattie granulomatose disseminate). Trattiamo innanzitutto le cause estrinseche della diminuzione dell'eritropoiesi, più comuni e clinicamente importanti, e poi le cause intrinseche non neoplastiche.

ANEMIE MEGALOBLASTICHE

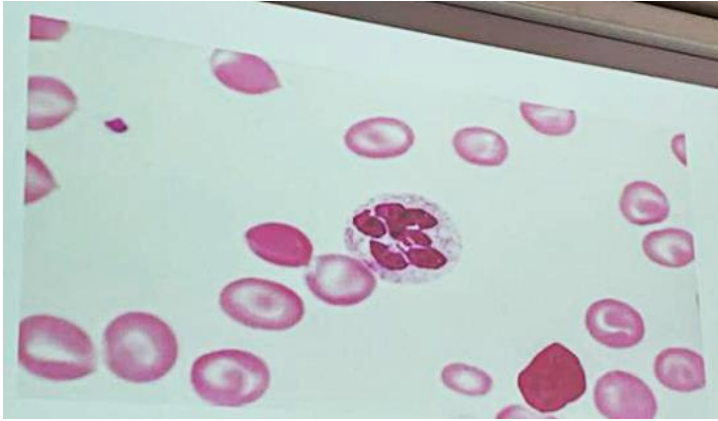
Il tratto comune tra le varie cause dell'anemia megaloblastica è un'alterazione della sintesi del DNA che porta a emopoiesi inefficace e cambiamenti morfologici distintivi, quali precursori eritroidi e globuli rossi eccessivamente grandi. Le cause delle anemie megaloblastiche sono elencate nella tabella:

CARENZA DI VITAMINA B12: ridotta assunzione (dieta vegetariana), alterato assorbimento (deficit fattore intrinseco, anemia perniziosa, gastrectomia, stati di malassorbimento, resezioni ileali, alcuni batteri che competono con l'organismo per l'assunzione di vitamina B12).

DEFICIT DI ACIDO FOLICO: ridotta assunzione (dieta), alterato assorbimento (stesse cause della carenza di vitamina B12), aumentata perdita (dialisi), aumentata richiesta (accrescimento, gravidanza, neoplasie), alterato impiego (terapia farmaci antineoplastici).

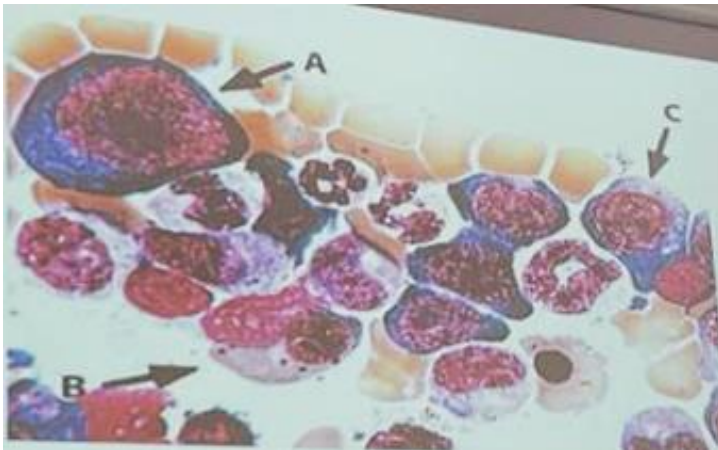
Alcune implicazioni metaboliche della vitamina B12 e dei fosfati saranno trattate in seguito. Per ora è sufficiente ricordare che la vitamina B12 e l'acido folico sono coenzimi necessari per la sintesi della timidina, una delle quattro basi presenti nel DNA. Un deficit di queste vitamine o un'alterazione del loro metabolismo risulta in una maturazione difettosa dei nuclei dovuta a sovvertimento oppure a inadeguatezza della sintesi del DNA, con conseguente ritardo o blocco della divisione cellulare.

Morfologia: Alcune caratteristiche del sangue periferico sono comuni a tutte le forme di anemia megaloblastica. La presenza di globuli rossi macrocitici e ovalari (macro-ovalociti) è altamente caratteristica. Poiché essi sono più grandi rispetto alla norma e più ricchi di emoglobina, la maggior parte dei macrociti non mostra il pallore centrale del normale globulo rosso e può perfino apparire "ipercromica", però il contenuto medio di emoglobina non è elevato. I globuli rossi variano ampiamente in dimensione (anisocitosi) e forma (poichilocitosi). La conta dei reticolociti è bassa. Quando l'anemia è grave compaiono occasionalmente globuli rossi nucleati nel sangue circolante. Anche i neutrofili sono più grandi della norma e mostrano ipersegmentazione: hanno 5 o più lobuli nucleari invece dei normali 3 o 4.



Il midollo osseo è di solito marcatamente ipercellulare per l'aumento del numero di precursori emopoietici. L'incremento volumetrico di tipo megaloblastico è riscontrato in tutte le fasi di sviluppo eritroide. Le cellule più primitive (promegaloblasti) sono grandi, con un citoplasma altamente basofilo, nucleoli prominenti e cromatina finemente dispersa. Non appena queste cellule si differenziano e cominciano ad

accumulare emoglobina, il nucleo conserva la sua cromatina finemente dispersa, invece di sviluppare compressione cromatinica picnotica tipica dei normoblasti. Sebbene la maturazione nucleare sia ritardata, la maturazione citoplasmatica e l'accumulo di emoglobina procedono a ritmo normale, provocando un'asincronia nucleo-citoplasmatica, nella quale i nuclei non raggiungono la picnosi. L'asincronia, quindi, è dovuta al fatto che mentre il citoplasma continua la maturazione e in esso si accumula l'emoglobina, il nucleo rimane grande perché non riesce a replicarsi e dividersi. Poiché la sintesi di DNA è alterata in tutte le cellule proliferanti, anche i precursori dei granulociti mostrano una maturazione impropria sotto forma di metamielociti giganti e forme a disco con nuclei ipersegmentati (visibili nell'immagine). Anche i megacariociti possono essere abnormemente grandi e hanno nuclei bizzarri multilobati.



Morfologia: L'iperplasia del midollo è la risposta a un aumento dei livelli di fattori di crescita come l'eritropoietina. Tuttavia, l'alterazione nella sintesi del DNA spinge la maggior parte dei precursori all'apoptosi nel midollo (un esempio di emopoiesi inefficace) e porta a pancitopenia. L'anemia è ulteriormente esacerbata da un grado lieve di emolisi dei globuli rossi di eziologia incerta. A=proeritroblasto (normalmente più piccola e un citoplasma completamente

blu) Il megaloblasto ortocromatico è emoglobinnizzato ma contrariamente al normoblasto ortocromatico normale, il nucleo non è picnotico. I primi precursori eritroidi (A e C) e le cellule granulocitarie sono anch'esse ingrandite e mostrano una cromatina eccessivamente immatura.

L'asincronismo può portare alla morte cellulare dei precursori dei globuli rossi (Eritropoiesi inefficace).

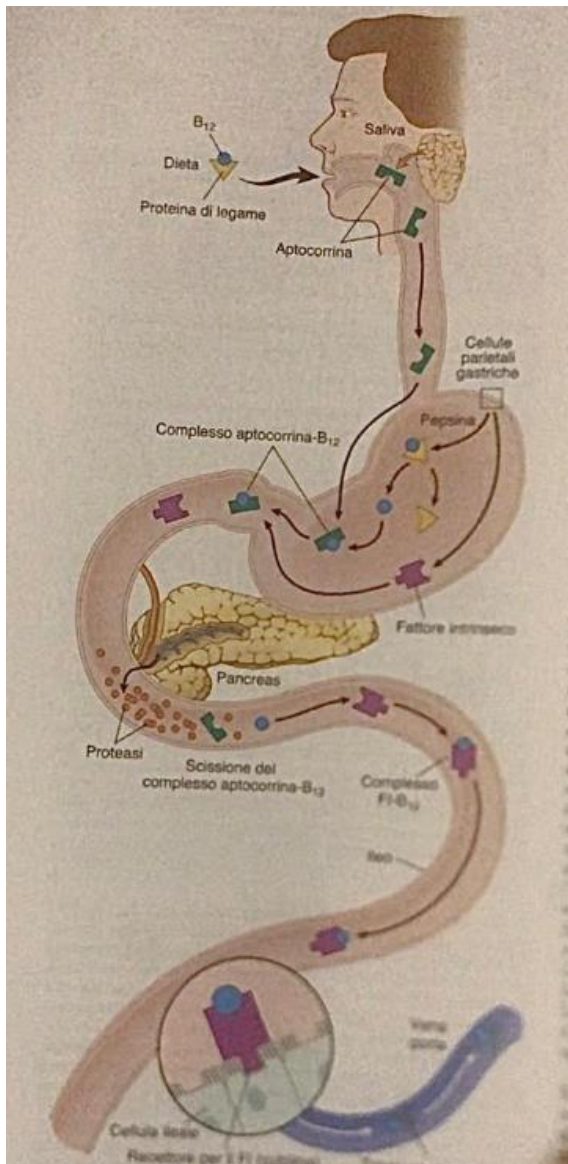
ANEMIA DA CARENZA DI VITAMINA B12 (ANEMIA PERNICIOSA)

È una forma specifica di anemia megaloblastica causata da una gastrite autoimmune che ostacola la produzione di fattore intrinseco, necessario per la captazione della vitamina B12 dall'intestino.

Metabolismo normale Vitamina B12: È un composto organometallico complesso noto anche come cobalamina, presente nei prodotti di origine animale, come carne, pesce, latte e uova. Il fabbisogno giornaliero è di 2-3 microgrammi. Una dieta che include prodotti animali ne contiene molto più del fabbisogno giornaliero minimo, e ciò si traduce in un accumulo di riserve

intraepatiche di B12, sufficienti a durare diversi anni. Al contrario, piante e ortaggi contengono poca cobalamina e diete strettamente vegetariane o macrobiotiche non forniscono adeguate quantità di questo nutriente essenziale. Un tempo i pazienti sottoposti a gastrectomia per ulcera, ad esempio, sviluppavano quest'anemia dopo 5 anni a causa della non produzione del fattore intrinseco (si verificava dopo 5 anni poiché finito questo lasso di tempo, risultavano concluse anche le "scorte" di vitamina B12 presenti nel nostro corpo).

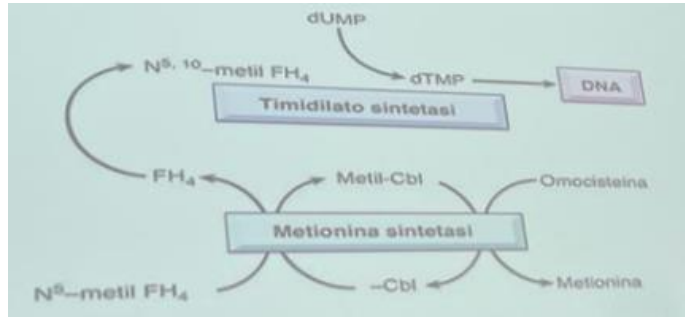
ANTICIPAZIONE: *Chi ha una carenza di B12 sviluppa demielinizzazione a livello nervoso, non si sa per quale motivo.*



Assorbimento della vitamina B12: L'assorbimento di vitamina B12 richiede il fattore intrinseco, che viene secreto dalle cellule parietali della mucosa fundica. La vitamina B12 è liberata dalle proteine che la legano nei cibi attraverso l'azione della pepsina nello stomaco e si lega a una proteina salivare chiamata aptocorrina. Nel duodeno, la vitamina B12 viene rilasciata dall'aptocorrina mediante l'azione di proteasi pancreatiche e si associa al fattore intrinseco. Questo complesso è trasportato all'ileo, dove avviene l'endocitosi da parte degli enterociti ileali che esprimono sulla loro superficie un recettore per il fattore intrinseco, la cubilina.

All'interno delle cellule ileali, la vitamina B12 si associa con uno dei principali trasportatori proteici, la transcobalamina II, ed è secreta nel plasma. La transcobalamina II trasporta la vitamina B12 al fegato e ad altre cellule dell'organismo, in particolare alle cellule rapidamente proliferanti nel midollo osseo e nelle mucose che rivestono il tratto gastrointestinale. Oltre al modo principale, una dose orale di vitamina B12 può essere assorbita (anche se in maniera inefficiente) tramite diffusione passiva, rendendo possibile il trattamento dell'anemia perniciosa con dosi elevate di vitamina B12 per via orale. La somministrazione intramuscolo della vitamina B12 risulta essere molto più efficace rispetto alla diffusione passiva.

Sono note solo 2 reazioni nell'uomo che richiedono vitamina B12. Nella prima, la metilcobalamina funge da cofattore essenziale per la conversione dell'omocisteina a metionina mediante la metionina sintetasi. Si ricorda che l'omocisteina è un aminoacido che, se presente in quantità eccessive, può dare alterazioni a livello vascolare/arterioso e provocare trombosi.



Funzioni biochimiche della vitamina B12.

Nel processo, la metilcobalamina acquista un gruppo metilico ed è rigenerata dall'acido N5-metiltetraidrofólico (N 5-metil FH4), la principale forma dell'acido folico nel plasma. Nella stessa reazione, N 5-metil FH4 è convertito ad acido tetraidrofólico (FH4). L' FH4 è fondamentale, poiché è necessario (attraverso il suo derivato N5,10-metilene FH4) per la conversione della deossiridina monofosfato a deossitimidina monofosfato, un costituente del DNA.

È stato postulato che una ridotta sintesi di DNA nella carenza di vitamina B12 deriva dalla ridotta disponibilità di FH4, la maggior parte del quale è "Intrappolato" come N S-metil FHA.

Il deficit di FH4 può essere esacerbato da un deficit "interno" di forme di F4 poliglutamate metabolicamente attive, Ciò dipende dalla necessità della vitamina B12 per la sintesi di metionina, che fornisce un gruppo carbonioso necessario nella reazione metabolica che crea i folati poliglutammati,

Qualunque sia il meccanismo, la carenza di folato è la causa fondamentale dell'anemia nella carenza di vitamina B12, dal momento che l'anemia migliora a seguito della somministrazione di acido folico.

Le complicanze neurologiche associate a deficit di vitamina B12 sono più enigmatiche, poiché non migliorano con la somministrazione di folati.

L'altra reazione conosciuta che dipende dalla vitamina B12 è l'isomerizzazione del metilmalonil-coenzima A in succinil-coenzima A, da parte dell'enzima metilmalonil-coenzima A mutasi, il quale richiede adenosilcobalamina.

Un deficit di vitamina B12, quindi, porta all'aumento nel plasma e nelle urine dei livelli dell'acido metilmalonico. L'interruzione di questa reazione e il conseguente accumulo di metilmalonato e propionato (un precursore) potrebbero portare alla formazione e all'incorporazione di anomali acidi grassi nei lipidi neuronali.

È stato suggerito che questa alterazione biochimica predisponga alla distruzione mielinica, provocando una degenerazione combinata subacuta del midollo spinale.

ANEMIA PERNICIOSA

Sebbene sia prevalente negli scandinavi e nelle popolazioni caucasiche, l'anemia perniciosa si riscontra in tutti i gruppi etnici, comprese persone di discendenza africana e ispanici.

È una malattia degli anziani (l'età media della diagnosi è 60 anni) ed è rara nei giovani al di sotto dei 30 anni.

Una predisposizione ereditaria di tipo genetico è fortemente sospettata, tuttavia non è stato identificato un definibile quadro genetico di trasmissione. Molti pazienti affetti, inoltre, tendono a formare autoanticorpi contro antigeni self multipli.

Patogenesi

Si ritiene che l'anemia perniciosa sia provocata da un attacco autoimmune sulla mucosa gastrica. Istologicamente, si riscontrano:

- gastrite atrofica cronica caratterizzata da una perdita di cellule parietali,
- modificazioni megaloblastiche nelle cellule mucose simili a quelle riscontrate nei precursori eritroidi

In molti pazienti, ma non in tutti, sono presenti **tre tipi di anticorpi**:

- circa il 75% dei pazienti presenta un **anticorpo di tipo I** che blocca il legame della vitamina B12 al fattore intrinseco. Anticorpi di tipo I si riscontrano nel plasma e nel succo gastrico;
- gli **anticorpi di tipo II** prevengono il legame del complesso vitamina B12-fattore intrinseco e sono presenti anche in un'ampia percentuale di pazienti con anemia perniciosa.
- gli **anticorpi di tipo III** sono presenti nell'85-90% dei pazienti e riconoscono le subunità α e β della pompa protonica gastrica, un componente presente nei microvilli del sistema canalicolare delle cellule gastriche parietali. Gli anticorpi di tipo III non sono specifici, poiché si riscontrano nel 50% degli adulti più anziani affetti da gastrite cronica idiopatica.

Gli autoanticorpi sono di utilità diagnostica, ma non si ritiene che siano la causa principale della patologia gastrica. Piuttosto, sembra che una risposta mediata da cellule T autoreattive dia inizio alle lesioni della mucosa gastrica e stimoli la formazione di autoanticorpi.

Quando la massa di cellule secernenti fattore intrinseco scende al di sotto di un valore soglia (e le riserve di vitamina B12 sono ridotte), si sviluppa l'anemia.

In particolare, l'anemia perniciosa è associata anche ad altri disturbi autoimmuni, principalmente tiroidite autoimmune e adrenalite, suggerendo che tende a insorgere in individui con predisposizione a sviluppare autoimmunità.

Oltre all'anemia perniciosa, la carenza di vitamina B12 può insorgere a seguito di altri disturbi. La maggior parte di questi altera l'assorbimento della vitamina.

A causa dell'acloridria e della mancata secrezione di pepsina (che si verifica in alcuni adulti più anziani), la vitamina B12 non è prontamente rilasciata dalle proteine nei cibi.

In caso di gastrectomia, il fattore intrinseco viene perso. Con l'insufficienza del pancreas esocrino, la vitamina B12 non può essere rilasciata dal complesso aptocorrina-vitamina B12. Una resezione ileale o una patologia ileale diffusa possono impedire un adeguato assorbimento del complesso fattore intrinseco-vitamina B12.

Alcuni cestodi (soprattutto quelli ingeriti mangiando pesce crudo) competono con l'ospite per la B12 e possono provocare una condizione di deficit.

In alcune circostanze, quali gravidanza, ipertiroidismo, cancro disseminato, infezioni croniche, la domanda di vitamina B12 può essere così elevata da produrre una carenza relativa, anche con normale assorbimento.

Morfologia

I reperti nel midollo osseo e nel sangue nell'anemia perniciosa sono analoghi a quelli descritti precedentemente per le altre forme di anemia megaloblastica.

In genere, lo stomaco presenta una gastrite cronica diffusa. l'alterazione più caratteristica è l'atrofia delle ghiandole fundiche, con riduzione sia delle cellule principali sia delle cellule parietali, queste ultime virtualmente assenti.

L'epitelio ghiandolare è sostituito da cellule caliciformi muco-secerenti che assomigliano a quelle che rivestono l'intestino crasso, una forma di metaplasia nota come metaplasia intestinale. Alcune delle cellule colpite e dei loro nuclei possono essere il doppio delle dimensioni normali, modificazioni "megaloblastiche" analoghe a quelle osservate nel midollo.

Con il passare del tempo, la lingua può assumere un aspetto liscio, lucido e carnoso (glossite atrofica). Poiché l'atrofia gastrica e i cambiamenti metaplastici sono dovuti all'autoimmunità, essi persistono dopo la somministrazione parenterale di vitamina B12, mentre le modificazioni "megaloblastiche" nel midollo e nell'intestino sono prontamente reversibili.

Le lesioni del sistema nervoso centrale si riscontrano circa nel tre quarti di tutti i casi di anemia perniciosa florida, tuttavia si possono anche manifestare in assenza di alterazioni ematologiche evidenti.

Le principali alterazioni interessano il midollo spinale, dove si verifica una demielinizzazione del tratto dorsale e laterale, talora seguita da perdita di assoni. Queste modificazioni danno origine a paraparesi spastica, atassia sensoriale e severe parestesie agli arti inferiori. Meno frequentemente, alterazioni degenerative si hanno nei gangli delle radici posteriori e nei nervi periferici.

Caratteristiche cliniche

L'anemia perniciosa ha un esordio insidioso, motivo per cui l'anemia è spesso abbastanza grave nel momento in cui arriva all'attenzione del medico.

L'evoluzione è progressiva a meno che non si instauri una terapia opportuna.

La **diagnosi** si basa su:

1) una moderata o severa anemia megaloblastica

- 2) leucopenia con granulociti ipersegmentati;
- 3) bassi livelli sierici di vitamina B12;
- 4) elevati livelli sierici di omocisteina e acido metilmalonico.

Gli anticorpi sierici anti-fattore intrinseco sono altamente specifici per anemia perniziosa.

La diagnosi è confermata dall'incremento di reticolociti e dall'aumento dei livelli dell'ematocrito che inizia circa 5 giorni dopo la somministrazione parenterale di vitamina B12.

Le persone con atrofia e metaplasia della mucosa gastrica dovute ad anemia perniziosa sono a rischio maggiore per carcinoma gastrico.

Con infusione parenterale o alte dosi di vitamina B12 per via orale l'anemia si risolve e la progressione della patologia neurologica periferica può essere invertita o per lo meno bloccata, anche se le modificazioni nella mucosa gastrica e il rischio di carcinoma restano invariati.

ANEMIA DA CARENZA DI FOLATI

Una carenza di acido folico (più propriamente acido pteroilmonoglutammico) esita in un'anemia megaloblastica avente le stesse caratteristiche patologiche di quella causata dalla carenza di vitamina B12.

I derivati di FH4 agiscono come intermediari nel trasferimento di unità monocarboniose, come i gruppi formile e metile, a svariati composti. L'FH4 agisce anche come accettore di frammenti monocarboniosi da composti come serina e acido formiminoglutamico.

I derivati di FH4 così prodotti, a loro volta, donano i frammenti monocarboniosi acquisiti in reazioni di sintesi di svariati metaboliti. L'FH4, quindi, può essere considerato come

;"intermediario" biologico in un gruppo di scambi che interessano la mobilità di unità monocarboniose.

I più importanti processi metabolici che dipendono da tale trasferimento sono:

- 1) la sintesi purinica;
- 2) la trasformazione dell'omocisteina a metionina, reazione che richiede anche la presenza di vitamina B12;
- 3) la sintesi di dTMP. Nelle prime due reazioni, il FH4 viene rigenerato dai suoi derivati che trasportano unità monocarboniose ed è disponibile ad accettare un'altra unità monocarboniosa e rientrare nella riserva dei donatori.

Nella sintesi del dTMP è prodotto un diidrofolato (FH2) che deve essere ridotto dalla diidrofolato reductasi per rientrare nella riserva degli FH4. Il passaggio della reductasi è rilevante, poiché questo enzima è sensibile all'inibizione da diversi farmaci.

Tra le molecole la cui sintesi è dipendente dai folati, il dTMP è forse il più importante dal punto di vista biologico, poiché è necessario per la sintesi del DNA.

È evidente, da questa trattazione, che la soppressione della sintesi di DNA, comune denominatore della carenza di acido folico e vitamina B12, è la causa immediata di megaloblastosi.

Eziologia

Le tre principali cause di deficit di acido folico sono:

- 1) assunzione ridotta;
- 2) aumento della richiesta;
- 3) impiego alterato.

L'uomo dipende dall'introito alimentare di acido folico. La maggior parte delle diete normali ne contiene ampie quantità. Le fonti più ricche sono i vegetali verdi come lattuga, spinaci, asparagi e broccoli. Alcuni frutti (per esempio, limoni, banane, meloni) e fonti animali (per esempio, fegato) ne contengono minore quantità.

Eziologia

L'acido folico in questi alimenti è per la maggior parte in forma di poliglutammati.

Nonostante la loro abbondanza negli alimenti crudi, i poliglutammati sono sensibili al calore: l'ebollizione, la cottura a vapore o la frittura dei cibi per 5-10 minuti distruggono fino al 95% del contenuto di folati.

Le coniugasi intestinali scindono il poliglutammati a monoglutammati, che è assorbito nel digiuno prossimale.

Durante l'assorbimento intestinale, questi sono modificati a 5-metiltetraidrofolato, la forma di trasporto di folato.

Le riserve del corpo sono relativamente modeste, e una carenza può insorgere nell'arco di settimane o mesi se l'assunzione è inadeguata.

Una ridotta assunzione può derivare sia da una dieta inadeguata sia da un alterato assorbimento intestinale.

Una dieta normale contiene folati in eccesso rispetto al minimo fabbisogno giornaliero nell'adulto.

L'assunzione dietetica inadeguata è quasi invariabilmente associata a diete grossolanamente carenti,

Tale inadeguato apporto alimentare si riscontra spesso negli alcolisti cronici, negli indigenti e nei soggetti molto anziani.

Negli etilisti con cirrosi sono stati implicati altri meccanismi di deficit di folati, come intrappolamento di folato all'interno del fegato, eccessiva perdita urinaria e alterazione del metabolismo del folato.

In queste situazioni, l'anemia megaloblastica è spesso accompagnata anche da malnutrizione generale e manifestazioni di altre avitaminosi, come cheilite, glossite, dermatite.

Le sindromi da malassorbimento, come la sprue, possono condurre ad assorbimento inadeguato di folato, al pari di malattie infiltrative diffuse dell'intestino tenue (per esempio, linfomi).

Inoltre, alcuni farmaci, in particolare l'anticonvulsivante *fenitoina* e contraccettivi orali, interferiscono con l'assorbimento.

Nonostante un adeguato apporto di acido folico, una carenza relativa può essere riscontrata in condizioni di maggiore richiesta, quali gravidanza, infanzia, alterazioni associate a emopoiesi iperattiva (per esempio, anemie emolitiche), neoplasie disseminate.

In tutti questi casi, le richieste di aumento di sintesi di DNA rendono inadeguato il normale apporto.

Gli antagonisti dell'acido folico, come il metotrexato, inibiscono la diidrofolato reduttasi e portano a un deficit di FH4. L'inibizione del metabolismo dei folati colpisce tutti i tessuti a rapida crescita, in particolare midollo osseo e tratto gastrointestinale.

Molti farmaci chemioterapici usati per il trattamento delle neoplasie danneggiano o inibiscono la sintesi di DNA tramite altri meccanismi, e anche questi possono causare modificazioni megaloblastiche in cellule a rapida divisione.

Come menzionato all'inizio, l'anemia megaloblastica provocata da una carenza di acido folico è identica a quella che si riscontra nella carenza di vitamina B12.

Quindi, la diagnosi di carenza di folati può essere fatta solo dimostrando la diminuzione dei livelli di folati nel siero o nei globuli rossi.

Come nella carenza di vitamina B12, i livelli sierici di omocisteina sono aumentati, ma le concentrazioni di metilmalonato sono normali.

È importante notare che non si verificano disturbi neurologici.