

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
«NICOLAE TESTEMIȚANU»

FIZIOPATOLOGIA

proceselor patologice în sistemul sanguin

Curs teoretic

Profesor universitar Vasile Lutan

CHIȘINĂU, 2022

Fizopatologia proceelor patologice în sistemul sanguin. Curs teoretic.

Publicație aprobată de Consiliul de Management al Calității a Universității de Stat de Medicină și Farmacie «Nicolae Testemițanu» (Procesul verbal din 28 octombrie 2021).

Recenzenți: Stela Todiraș, dr. șt. med., conf. universitar, Victoria Rotaru, dr. șt. med., conf. universitar.

Se recomandă în calitate de material didactic pentru studenții tuturor programelor de studii medicale superioare.

Autor: Vasile Lutan, doctor habilitat în științe biologice, profesor universitar,

Profesor la catedra Fiziopatologie și Fiziopatologie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie «Nicolae Testemițanu»

Fiziopatologia proceselor patologice în sistemul sanguin

CUPRINSUL

I.	Fiziopatologia anemiilor	3
II.	Fiziopatologia eritrocitozelor	9
III.	Fiziopatologia sideropeniei și anemiei fieriprive	12
IV.	Fiziopatologia carenței vitaminei B₁₂/acidului folic și anemiei megaloblastice	28
V.	Fiziopatologia hemolizei	38
VI.	Fiziopatologia hemoblastozelor	52
VII.	Fiziopatologia leucocitozelor și leucocitopeniilor	61

I. Fiziopatologia anemiilor. Caracteristica generală

Necesitățile organismului uman adult în oxigen, atât în stare de repaus, cât și la efort fizic maxim, sunt satisfacute de cca 750 g de hemoglobina normală repartizată în cca 25×10^{12} (trilioane) de eritrocite suspendate în cca 5 l de sânge. Hemoglobina normală adultă (HbA) este constituită din 4 lanțuri proteice de globină (2 alfa și 2 beta) și 4 molecule de hem, fiecare cu câte un ion bivalent de fier. Fiziologic fiecare eritrocit conține 29 pg (picogram, 29×10^{-12} g). În condiții de suprasolicitare, de ex., la efort fizic îndelungat, numărul total de eritrocite și cantitatea de hemoglobină pot fi elevate considerabil, în timp ce la subsolicitare îndelungată, de ex., la bătrâni sau la bolnavii la pat, indicii sângelui diminuează, ceea ce este deasemenea un fenomen fiziologic - «anemie fiziologică».

Anemia se definește ca proces patologic manifestat prin micșorarea numărului de eritrocite, a conținutului de hemoglobina sau a ambilor indicii concomitent. Deoarece este posibilă modificarea atât concomitentă, cât și separată a eritrocitelor și hemoglobinei, pentru definirea acestor stări, la rand cu termenul anemia, se utilizează și termenii de hemoglobinopenie - micșorarea conținutului de hemoglobina în sânge și eritrocitopenie - micșorarea conținutului de eritrocite.

Proliferarea eritrocitelor și sinteza hemoglobinei sunt stimulate concomitent de factorii eritropoietici (de ex., eritropoietina), dar nu sunt procese cuplate organic, ci decurg independent. Din această cauză este posibilă decuplarea acestor procese: eritropoieza normală cu sinteza deficitară de hemoglobină (anemia hipocromă feriprivă) sau sinteza hemoglobinei normală cu dereglarea proliferării eritroblastelor (anemia hipercromă deficitară de vitamina B₁₂).

Toate anemiile, indiferent de etiologia și patogenia acestora au manifestări comune patologice și suscită un complex stereotip de reacții compensatorii. La rând cu aceasta, anemiile manifestă și caractere specifice în funcție de etiologia și patogenia concretă.

Reacțiile compensatorii în anemii.

Asigurarea organismului cu oxigen este un proces cooperatist cu participarea mai multor sisteme : eritrocitar, cardiovascular, respirator, metabolismul. Deoarece fenomenul-cheie în anemii este hipoxia, în reacțiile compensatorii sunt antrenate toate aceste sisteme.

Trigger-ul reacțiilor compensatorii în anemii este hipoxia determinată de diminuarea capacității oxigenice a sângelui – cantitatea (volumul) maximă de oxigen transportată de sânge calculată prin produsul cantității totale de hemoglobină în sânge (la adult cca 750g) și capacitatea pectică de oxigen – 1,34 ml O₂/1 g hemoglobină adultă. Astfel calculată capacitatea oxigenică a sângelui la adult este egală cu cca 1000 ml oxigen.

Or hipoxemia anemică se manifestă prin micșorarea capacității oxigenice a sângelui mai jos de cea normală determinată de diminuarea cantității de hemoglobină în sânge.

Hipoxemia inițiază reacții compensatorii, care vizează optimizarea aprovizionării organismului cu oxigen.

1. Reacțiile compensatorii hematogene

a. Intensificarea eritropoiezei: diminuarea presiunii oxigenului în sânge provoacă expresia factorului inducibil al hipoxiei (*Hypoxia-inducible factors, HIFs 1,2*) în nefrocite – factor transcriptional sensibil la hipoxie, care reduce citocromul, ceea ce stimulează secreția eritropoietinei.

Eritropoietina încrețată în sânge stimulează în măduva roșie proliferarea și diferențierea proeritroblastelor eritropoietin-sensibili până la reticulocite și concomitent stimulează sinteza hemoglobinei. În rezultat în măduva roșie are loc creșterea populației celulelor imature – normoblastelor, reticulocitelor, eritrocitelor policromatofile și lansarea în sânge a unui număr crescut de eritrocite – astfel crește capacitatea oxigenică a sângelui. Un alt efect al HIF este angiogeneza în organele ischemiate cu ameliorarea perfuziei organului.

b. Modificarea proprietăților hemoglobinei: în hipoxie, hipercapnie și acidoză se modifică afinitatea hemoglobinei la oxigen - curba de disociere a oxihemoglobinei se deplasează spre dreapta, ceea ce rezultă cedarea mai completă a oxigenului în țesuturi la valori mai mari de presiune a oxigenului.

c. Acumularea în eritrocite a DPG (difosfoglicerat) în hipoxie cronică, care diminuează afinitatea hemoglobinei față de oxigen și facilitează cedarea oxigenului în țesuturi.

2. Reacțiile compensatorii circulatorii. Hipoxemia, hipercapnia și acidoza prin intermediul chemoreceptorilor vasculari (glomusul carotidian) în mod reflex stimulează sistemul nervos vegetativ simpatic și reacțiile ulterioare cardiace și vasculare: efectele cardiotrope pozitive ino-, batmo-, crono- și dromotrope cu tahicardie, creșterea volumului sistolic și în sumă creșterea debitului cardiac; vasele dotate cu alfa-adrenoreceptori reacționează la catecolamine prin vasospasm, creșterea tensiunii arteriale și vitezei de circulație a sângelui. Concomitent în organele cu vasele spasmate (piele, splanhnii, mușchii nefuncționali) scade perfuzia, iar debitul cardiac este redistribuit în organele, vasele cărora sunt dotate cu beta-adrenoreceptori și care se dilată sub influența catecolaminelor – survine redistribuția sângelui către organele vitale – centralizarea hemodinamice.

3. Reacțiile compensatorii hidro-saline. Hipoxia anemică activează sistemul nervos vegetativ simpatic cu vasospasmul în rinichi, ceea ce conduce la hipoperfuzia rinichiului și activarea sistemului renină-angiotensină-aldosteron – secreția reninei, transformarea angiotensinogenului în angiotensină I, conversia angiotensinei I în angiotensină II cu efect vasoconstrictor și stimularea secreției de aldosteron cu reabsorbția sodiului și apei în rinichi. În rezultat are loc creșterea volumului sângelui, ceea ce ameliorează perfuzia organelor.

4. Reacțiile compensatorii respiratorii. Reacțiile reflexe ale aparatului respirator în hipoxie sunt demarate de stimularea chemoreceptorilor corpusculilor carotidieni de către hipoxie, hipercapnie și acidoză și constau în accelerarea și aprofundarea respirației externe, hiperventilație pulmonară, accelerarea returului venos al sângelui spre cord. Concomitent, cu același efect final, are loc excitarea chemoreceptorilor centrali cu sensibilitate pronunțată la hipercapnie.

5. Reacții compensatorii tisulare. În condiții de hipoxie are loc comutarea metabolismului celular oxidativ spre glicoliza anaerobă.

La rând cu beneficiul fiziologic, este necesar de menționat și dezavantajul reacțiilor compensatorii de lungă durată: astfel hiperfuncția îndelungată a cordului provoacă hipoxia miocardului; hiperventilația pulmonară provoacă alcaloza respiratorie; metabolismul anaerob conduce la acumularea lactatului și acidoză metabolică, stimularea cronică a eritropoiezei se soldează cu epuizarea seriei eritroblaste a măduvei roșii și epuizarea rezervelor de fier.

Fenomenele patologice în anemii. Anemia și hipoxia organelor și țesuturilor demarează multiple procese patologice, care depind de regimul de activitate a organismului, intensitatea metabolismului, necesitatea în oxigen, mecanismele compensatorii și în sumă determină rezistența individuală față de hipoxie.

1. Leziuni celulare. Patogenia leziunilor celulare hipoxice constau în hipoenergeneză, dereglarea funcțiilor pompelor ionice cu acumularea intracelulară a sodiului și calciului cu efectele specifice – citoliza osmotică, anihilarea gradientului electrolic, a potențialului de repaus și excitabilității, activarea enzimelor intracelulare (proteaze, ATP-aze, fosfolipaze, endonucleaze) – efectele finale

sunt leziuni celulare, distrofii, apoptoza, necroza, iar ulterior - inflamație locală, fibrozarea organului. Alte fenomene citopatogene în hipoxie sunt acidoza celulară cu destabilizarea membranei lizozomale și autoliza celulei, stresul oxidativ cu efecte patogene asupra tuturor componentelor celulare.

2. Dereglările funcționale. Hipoxia diminuează funcțiile bazale celulare – excitabilitatea, proliferarea și regenerarea, reparația fiziologică și funcțiile specifice ale organelor. Cele mai sensibile organe la hipoxie sunt sistemul nervos central, miocardul, rinichii, ficatul, pe când țesutul conjunctiv, pielea sunt mai rezistente la hipoxie. Din această cauză cele mai precoce dereglări funcționale în anemie/hipoxie survin din partea neuronilor corticali (dereglarea funcțiilor specializate - de ex., scrisul, dereglări de cunoștință de diferit grad până la comă), dereglări vegetative, vasomotorii, tulburarea funcției centrului respirator până la paralizia acestuia.

Clasificarea fiziopatologică a anemiilor.

Clasificarea anemiilor se bazează pe diferite principii: etiologie, patogenie, caracterul eritropoezei, starea regenerativă a organelor eritropoetice, caracterul hematiilor și a. (Clasificarea clinică a anemiilor include entități nozologice concrete înregistrate în nomenclatorul bolilor cu ghid specific de diagnostic, monitorizare, tratament și profilaxie).

A. În funcție de etiologie:

1. Anemii congenitale
2. Anemii achiziționate

B. În funcție de patogenie:

1. Anemii prin dereglarea eritropoezei (dereglarea proliferării celulare și sintezei hemoglobinei)
 - pancitopenia (aplazia totală a măduvei oaselor)
 - anemia aplastică
 - anemia hipoplastică

- anemia sideroblastica (dereglarea incorporării fierului în hem și sintezei hemoglobinei cu acumularea în eritrocite a fierului non-hemic – feritina și hemosiderina)
- anemia fierodeficitară
- anemia deficitară de vitamina B₁₂/acid folic
- anemia deficitară de proteine

3. Anemiile hemolitice – hiperhemoliza

- anemiile hemolitice endoeritrocitare – defecte genetice ale eritrocitelor, care diminuează rezistența mecanică și capacitatea oxigen-pexică a eritrocitelor (membranopatii, enzimopatii, hemoglobinopatii)
- anemiile hemolitice exoeritrocitare - distrucția eritrocitelor sub acțiunea factorilor nocivi (mecanici, fizici, chimici, biologici, antigenici)
- anemiile cu hemoliza intracelulară (liza eritrocitului are loc în interiorul macrofagului)
- Anemiile cu hemoliza intrvasulară (liza eritrocitului are loc în lumenul vasului sanguin)

4. Anemiile posthemoragice

- anemia posthemoragică acută
- anemia posthemoragică cronică

C. Conform caracterului eritropoezei – în funcție de celula finală a eritropoezei:

- anemii normoblastice (eritropoeza finisează cu producția de normocite)
- anemii megaloblastice (eritropoeza finisează cu producția de megalocite)

D. În funcție de intensitatea regenerării celulelor eritroide:

- anemii regenerative/hiperregenerative
- Anemii hipo- și aregenerative.

E. În funcție de saturația eritrocitelor cu hemoglobină:

- anemii normocrome (eritrocitul conține cantitatea fiziologic normal de hemoglobină)
- anemii hipocrome (eritrocitul conține cantitatea redusă de vhemoglobină)

- anemii hipercrome (eritrocitul conține cantitatea supranormală de hemoglobină)

Indiferent de diagnosticul nozologic concret, în fiecare caz anemia trebuie calificată conform acestor criterii, care au semnificație diagnostică și indică parametrii ce urmează a fi corecți. Astfel, caracterul hiporegenerativ indică necesitatea stimulării eritropoiezei; caracterul hipocrom necesită corecția metabolismului fierului; macro/megalocitoza indică deficiența de vitamină B12/acid folic.

II. Fiziopatologia eritrocitozelor

Eritrocitoză se definește ca mărirea conținutului de eritrocite într-o unitate de volum de sânge. Conform etiologiei și patogeniei eritrocitozele se clasifică:

1. eritrocitoze primare - procese proliferative, eritromielozele;
2. eritrocitoze secundare reactive;
3. eritrocitoze relative, false (hemoconcentrația în deshidratare)

Eritrocitoza primară. Eritremia. (Policitemia adevărată. Boala Vaquez)

Eritrocitozele primare prezintă procese patologice hiperproliferative de origine tumorală cu hiperproducția nehomeostatică a excesului de eritrocite: în rezultat crește numărul de eritrocite într-o unitate de volum de sânge, crește volumul total de sânge și numărul total de eritrocite.

Eritrocitoza primară se numește și absolută.

În anul 1892 medicul francez Louis Henri Vaquez a descris policitemia și a presupus, că patogenia bolii constă în activitatea regenerativă crescută a măduvei roșii. În anul 1903 medicul canadian William Osler a descris policitemia ca entitate nozologică de sinestătătoare.

Eritremia reprezintă proces tumoral în măduva roșie, boală mieloproliferativă cu afectarea predominantă a seriei eritroblaste manifestată prin conținutul crescut de eritrocite în sânge, hipervolemie cu policitemie.

Eritremia este boala vârstei înaintate (60 – 80 ani), dar se întâlnește și la tineri. Este cea mai frecventă boală mieloproliferativă cronică cu incidența de 29: 100000 de persoane.

Etiologia.

În baza cercetărilor epidemiologice se presupune relația eritremiei cu transformarea celulelor-stem: se depistează mutația tirozinkinazei JAK 2 (kinaza Janus), în care valina din poziția 617 este înlocuită cu fenilalanina, ceea ce modifică transcripția genelor și conduce la proliferare continuă necontrolată a celulelor. Această mutație se întâlnește și în alte patologii proliferative (trombocitemia esențială), dar mai frecvent în policitemie.

Patogenia.

Mutația tirozinkinazei JAK2 modifică transcripția genelor, face celulele mai sensibile la factorii de creștere (eritropoietina, trombopoietina) și conduce la proliferare continuă necontrolată a celulelor seriei eritrocitare și megacariocitare. Are loc metastazarea celulelor progenitoare cu formarea coloniilor eritroide extramedulare.

Manifestările clinice.

- Policitemia – creșterea conținutului de eritrocite în unitate de volum și în valoare absolută în organism.
- Hemoconcentrația. Excesul de eritrocite crește hematocritul peste 45%, crește vâscozitatea sângelui, crește rezistența periferică vasculară, agregabilitatea și coagulabilitatea sângelui cu modificări de microcirculație, hiperemia tegumentelor cu nuanță cianotică din cauza reducerii oxihemoglobinei în vasele cu circulație încetinită, tromboze.
- Hipervolemie. În rezultatul hiperproducției de eritrocite se instalează hipervolemia policitemică cu consecințe hemodinamice: suprarsolicitarea cordului cu volum (crește presarcina), hipertrofia excentrică a miocardului, hipertensiune arterială sistolică.
- Staza sângelui în splină și ficat conduce la splenomegalie și hepatomegalie, iar dereglările microcirculatorii în stomac și duoden conduc la ulcere gastrice și duodenale.

- Liza celulelor și catabolismul intens al nucleoproteidelor conduc la formarea excesivă de acid uric cu hiperuricemia și depunerea cristalelor în structurile articulare – artralgie, guta; eliminarea excesivă a acidului uric cu urina conduce la urolitiază.
- Caracteristic este formarea coloniilor eritroide extramedulare – tumori secundare, metastatice în ficat, splină și a.

Hemograma în caz tipic de eritremie:

- hipervolemie – volumul sângelui crește de 1,5—2,5 ori față de normă (norma – 7% din masa corporală);
- eritrocitoză - $6—8 \times 10^{12}$ /L (norma – $4,5 - 5,5 \times 10^{12}$ /L) ; policromazia eritrocitelor (eritrocite policromatofile), prezența în sânge a eritroblastelor;
- hemoconcentrație - hematocritul – peste 65 % (norma – 35-45 %);
- reticulocitoză - 15—20 ‰ (norma – 5-10‰) ;
- hemoglobina - 180—220 g/L (norma 120-160 g/L);
- indicele cromatic - 0,7—0,6 (norma – 0,9-1,1); (sinteza hemoglobinei întârzie față de eritropoieza accelerată); conținutul mediu de hemoglobină în eritrocit – sub 29 pg; concentrația medie de hemoglobină în eritrocit – sub 33%;
- leucocitoză - $10—12 \times 10^9$ /L (norma – $4-9 \times 10^9$ /L) din contul neutrofilelor - 70—85 %, devierea nucleului spre stânga până la mielocite; eozinofilie, rar – bazofilie;
- trombocitoză - $400—600 \times 10^9$ /L (norma – cca 300×10^9);
- VSH – 1-2 mm/oră (norma bărbați – 5-10 mm/oră);
- eritropoietina scăzută.

Riscurile și complicațiile eritremiei: agregabilitatea și coagulabilitatea crescută a sângelui, embolia vaselor creierului, splinei, ficatului, picioarelor; tromboza venelor profunde a picioarelor; eroziuni și ulcere gastro-duodenale; colelitiază, urolitiază;

Tratamentul. Citostatice, exfuzii de sânge, tratamentul simptomatic

Eritrocitozele secundare reprezintă reacția măduvei roșii la procese patologice extramedulare: hipoxia (în afecțiunile pulmonare, cardiovasculare, procese histitoxice, hipoxia atmosferică), secreția excesivă de eritropoetine în tumori renale, hipersecreția de glucocorticosteroizi în tumori suprarenaliene (sindromul Cushing), tumori masculinizante cu exces de androgene.

Eritrocitozele relative sunt în relație cu pierderi lichidiene (deshidratarea organismului în diaree, vomă, poliurie, hiperventilație pulmonară, transpirație abundentă) și hemoconcentrație cu creșterea numărului de eritrocite într-o unitate de volum, dar cu reducerea volumului total de sânge – aceste forme nu reprezintă patologii ale eritronului și necesită doar corecția volumelor lichidiene.

De menționat, că atât eritrocitozele adevărate, cât și cele false modifică reologia sângelui cu consecințe similare. Manifestări comune pentru toate formele de eritrocitoze sunt creșterea rezistenței vasculare periferice, hemoconcentrație, hipervâscozitatea sângelui, agregarea celulelor sanguine, tromogeneza, dereglarea circulației sanguine sistemice.

III. Fiziopatologia sideropeniei și anemiei fieriprive

Rolul biologic al fierului

Fierul reprezintă un oligoelement de importanță vitală în organism. La începutul secolului XXI OMS a declarat deficiența de fier unul din 10 riscuri importante pentru sănătatea populației.

Fierul participă la importante procese fiziologice:

- 1) transportul oxigenului - cvazitotalitatea de oxigen este vehiculată cu sângele spre organe în componența oxihemoglobinei – $Hb(O_2)_4$; această funcție este efectuată de fierul bivalent din componența hemoglobinei eritrocitare, iar oxigenul fixat de fierul din mioglobina miocitelor servește drept rezervor intracelular de oxigen;
- 2) fierul din componența enzimelor (citocromii a,b,c, oxigenaze, peroxidaze, catalaza, NO-sintaza, citocromoxidaza, citocromul p450, etc.) participă în procesele metabolismului energetic.

Fierul în organism există în 2 forme:

a) compușii trivalenți – Fe^{3+} - chimic și biologic inert, lipsit de potențial redox (nu poate reduce alți compuși prin cedarea electronului), netoxic (nu provoacă stresul oxidativ);

b) compușii bivalenți – Fe^{2+} - compuși solubili, biologic activi, potențial redox mare (reduce alte substanțe cedând un electron); Fe^{2+} este toxic prin capacitatea de a provoca stresul oxidativ.

Fierul activ bivalent există doar în celule, unde efectuează funcțiile specifice, dar unde capacitatea oxidativă este moderată de sistemele antioxidative; extracelular circulă doar fierul inactiv trivalent. Menținerea fierului extracelular în stare trivalentă este un proces activ, reglat prin diferite sisteme enzimatice – dereglarea sau insuficiența acestor sisteme enzimatice conduce la stres oxidativ cu afectarea tuturor organelor (de ex., în hemocromatoza ereditară).

Rolul fierului în maturația eritrocitului

Maturația eritrocitului constă în sinteza și acumularea hemoglobinei. Fiecare moleculă de hemoglobină conține 4 atomi de fier. La etapa de maturație fiecare eritrocit conține cca 29 pg (picograme, 10^{-12}g) de hemoglobină. În deficiența fierului scade sinteza și, respectiv, conținutul de hemoglobină în eritrocit - diminuează funcția transportatoare de oxigen, scade capacitatea oxigenică a sângelui, survine hipoxia. Diminuarea conținutului de hemoglobină (chiar și cu conținutul normal de eritrocite), poartă denumirea de anemie fieriprivă. La rând cu anemia în organism survin și alte dereglări dependente de rolul biologic al fierului în procesele oxido-reductive.

Homeostazia și bilanțul fierului în organism

Homeostazia cantitativă a fierului este un proces de importanță vitală strict menținută prin echilibrarea pierderilor cu aportul de fier. Dishomeostazia cu deficit (echilibrul negativ de fier) provoacă anemie și dereglări biochimice esențiale prin hipoactivitatea metaloenzimelor ce conțin fier (dizenergogeneza). Dishomeostazia cu exces (echilibru pozitiv de fier) provoacă stresul oxidativ cu

alterarea organelor vitale și moartea prematură a organismului. Or dishomeostazia fierului conduce la patologii grave, ceea ce determină necesitatea menținerii stricte a conținutului de fier în organism.

Spre deosebire de alte elemente chimice, homeostazia cărora este menținută predominant prin procesul de eliminare activă din organism a excesului (de ex., sodiul), homeostazia fierului este menținută prin reglarea activă a absorbției fierului din tubul digestiv, în timp ce eliminarea este un proces pasiv – fierul se pierde doar prin eliminarea celulelor moarte, care conțin fier (de ex., eritrocitele lizate fiziologic, enterocitele și epitelocitele descuamate). Homeostazia fierului este menținută prin ajustarea aportului/absorbției fierului la valoarea pierderilor de fier. În organism există rezerve de fier depozitat predominant în macrofage (sistemul macrofagal – ficatul, splina, măduva roșie, țesutul limfoid,) care poate fi mobilizat la necesitate pentru compensarea aportului fluctuant de fier exogen sau pierderile excesive nefiziologice de fier.

Pierderile zilnice de fier la maturi constituie cca 30 mg, și constă din pierderi neutilizabile (celulele descuamate – cca 2 mg de Fe) și pierderile reutilizabile (liza fiziologică a eritrocitelor – cca 28 mg de Fe). Astfel necesitățile zilnice vor fi acoperite de 28 mg fier endogen provenit din liza fiziologică a eritrocitelor și doar 2 mg fier exogen, parvenit cu alimentele și absorbit în tubul digestiv. Mecanismele enterale mențin cu strictețe cantitatea de fier absorbit zilnic: în aportul alimentar excesiv absorbția fierului în enterocit este stopată, iar în deficit de fier este favorizată, deși în diapazon restrâns.

Asimilarea fierului alimentar este mecanismul principal de menținere a homeostaziei fierului. La o rație alimentară obișnuită mixtă (produse animaliere și vegetale) sursele de fier sunt carnea roșie (mioglobina), sângele (hemoglobina) – așa-numitul fier hemic, și compușii organici și anorganici din sursele vegetale (fierul non-hemic) cu predominarea cantitativă în rația alimentară a fierului nonhemic. La vegetarieni, dar mai ales la vegani, fierul non-hemic vegetal este unica sursă de fier. Deoarece procesele de absorbție a fierului hemic și nonhemic sunt diferite, iar fierul nonhemic se absoarbe mai greu decât fierul hemic, vegetarienii sunt persoanele cu risc crescut la deficiența de fier.

Or necesitățile de fier sunt acoperite din două surse: fierul exogen alimentar și fierul endogen din depozitele de fier. Reglarea absorbției fierului alimentar și extragerea fierului din depozitele interne se

efectuează prin aceleași mecanisme homeostatice în strictă conformitate cu necesitățile organismului pentru a preveni formarea excesului de fier în circulație cu consecințe nocive.

Absorbția fierului alimentar.

Absorbția fierului alimentar din tubul digestiv prin enterocite este un proces strict reglat și depinde de nivelul fierului în organism: deficitul de fier activează, iar excesul de fier blochează absorbția. Aceasta asigură menținerea homeostaziei fierului în organism, preîntâmpinând atât deficitul, cât și excesul de fier. Menținerea homeostaziei fierului este asigurată de un ansamblu de mecanisme - enzime, canale membranare, receptori, transportori specifici dirajate de sisteme reglatorii celulare și sistemice.

Absorbția fierului alimentar hemic. Fierul hemic din componența hemoglobinei și mioglobinei se absoarbe în enterocit prin mecanisme unice. Hemoglobina și mioglobina din produsele alimentare animaliere în stomac sunt supuse degradării de către acidul clorhidric și pepsină mai întâi în hem și globină; globina este degradată în mod obișnuit, iar hemul parvine în duoden, unde este fixat și incorporat în enterocite prin endocitoză de către proteina transportoare de hem (*heme carrier protein 1*). În enterocit sub acțiunea enzimei hemoxigenaza hemul cedează fierul și este supus catabolizării cu formarea bilirubinei. Fierul eliberat de la hem ulterior urmează traseul comun și pentru fierul nonhemic.

Absorbția fierului alimentar nonhemic din produsele vegetale și fierul anorganic parcurge un traseu mai complicat, necesită participarea mai multor factori, absorbția este mai dificilă și mai vulnerabilă.

Factorii implicați în absorbția fierului non-hemic.

a) Acidul clorhidric și acidul ascorbic. În stomac asimilarea fierului nonhemic necesită acid clorhidric și acid ascorbic: acidul clorhidric ionizează fierul atomic, iar acidul ascorbic reduce fierul trivalent neasimilabil în fier bivalent, care poate fi absorbit. Aclorhidria sau hipovitaminoza C reduc asimilarea fierului alimentar.

- b) Dcytb – (engl., *Duodenal Cytochrome b*) - citocromul b duodenal de pe membrana apicală a enterocitului duodenal; este o reductază, care fixează fierul alimentar trivalent din lumenul duodenului și îl reduce în fier bivalent asimilabil; în lipsa sau hipoactivitatea citocromului b duodenal fierul trivalent din alimentele vegetale nu se absoarbe și se pierde (de menționat, că fierul din componența alimentelor animaliere – hemoglobina, mioglobina denumit fier hemic nu necesită această enzimă, absorbându-se integral în formă de hem).
- c) DMT-1 (engl., *Divalent metal transporter 1*), transportorul metalelor bivalente (Fe, Zn, Co, Mn și a.); este o proteină secretată de enterocitele duodenale și situată pe membrana apicală, care încorporează fierul alimentar din lumenul intestinului în enterocit. Interiorizarea fierului din lumenul intestinului în enterocit nu este un proces difuzional pasiv, ci depinde homeostatic de DMT-1. Expresia DMT-1 este reglată prin *feed-back* negativ la nivel celular și sistemic. Astfel, depozitarea excesivă a fierului în formă de feritină în enterocit (dovadă a suficienței fierului) inhibă expresia DMT-1 și stopează direct absorbția fierului în enterocit. La nivel sistemic schema reglării este mai complexă: nivelul normal de transferină și feritină în sânge induce secreția de către ficat a proteinei specifice - hepcidina, care, la rândul ei, inhibă expresia DMT-1 în enterocit și consecutiv absorbția fierului. Din contra, diminuarea cantității de feritină în sânge (dovadă a epuizării fierului) inhibă secreția hepatică de hepcidină și derepresează DMT-1 – absorbția intestinală a fierului crește). Ambele mecanisme mențin nivelul normal al fierului în organism și preîntâmpină atât excesul, cât și deficitul de fier. Prin același mecanism este reglată și mobilizarea fierului din macrofage și ficat.
- d) Mobilferina (engl., *mobilferrin*) – proteină celulară citosolică, transportorul intracelular al fierului de la locul absorbției din lumenul intestinului (polul apical al enterocitului) spre locul de ieșire în sânge (polul bazolateral); preîntâmpină efectele nocive ale fierului bivalent în interiorul celulei.
- d). Hefestina (engl., *Hephaestin*). Ieșirea fierului din enterocit în sânge necesită transformarea fierului reactiv bivalent în fier areactiv trivalent – acest proces este efectuat de oxidaza hefestina, proteină

enzimatică situată în membrana bazolaterală a enterocitului, care oxidează fierul bivalent în formă trivalentă, necesară pentru lansarea în sânge.

e) Fieroportina (engl., *ferroportin*) – proteină transmembranară la polul bazolateral al celulei, unicul transportor de fier, canal transmembranar specific pentru Fe, transportorul fierului din enterocit în sânge; reglează homeostatic ieșirea fierului în sânge, fiind modulată de asemenea de hepcidină: nivelul normal de transferină și feritină în sânge induce secreția de hepcidină, care, la rândul ei, inhibă expresia fieroportinei și successiv inhibă ieșirea fierului din enterocite în sânge. Din contra, diminuarea transferinei și feritinei în sânge inhibă secreția hepatică de hepcidină și dereprează fieroportina – crește eliberarea fierului din enterocit.

Toate cele patru mecanisme responsabile de absorbția fierului în sânge – citocromul C duodenal, DMT-1, fieroportina și hefestina reglează absorbția și mențin nivelul normal al fierului în organism.

Transportul sanguin și utilizarea fierului sunt procese complexe și reglate homeostatic de mai multe mecanisme.

a) Ceruloplasmina – proteină plasmatică secretată de ficat, fieroxidaza plasmatică (analoagă hefestinei) – oxidează fierul bivalent din plasmă în fier trivalent; preîntâmpină apariția accidentală a fierului bivalent în sânge și protejează organismul de stresul oxidativ provocat de circulația liberă a fierului bivalent.

b) Apotransferina – proteină plasmatică secretată de ficat (unicul transportor de fier seric): în sânge fixează 2 atomi de fier trivalent eliberat din enterocite (dar și cel eliberat din macrofage, hepatocite) și se transformă în transferină. Transferina este ligand specific pentru receptorii transferinici CD71 de pe eritrocariocitele măduvei roșii; după fixare de membrana celulei complexul transferină + receptor este încorporat integral în celulă; în eritrocariocit fierul detașat este transferat în mitocondrii, unde are loc sinteza hemului, iar apotransferina eliberată de fier este reîntoarsă în sânge pentru recirculație.

În sânge nu toată apotransferina se cuplează cu fierul - raportul normal transferină/apotransferină este egal cu 30% / 70%, ceea ce înseamnă, că rezerva fieropectica este de 70%. În deficitul de fier raportul

transferină/apotransferină scade, iar capacitatea fieropectică crește – acesta este un semn diagnostic veridic al carenței de fier. În excesul de fier în sânge (de ex., transfuzia de sânge conservat, hemoliza masivă) are loc saturația apotransferinei, iar în sânge apare fierul liber non-transferinic - survine pericolul de stres oxidativ.

În surplusul de fier crește raportul transferină/apotransferină, ceea ce stimulează secreția hepcidinei - în rezultat se inhibă DMT-1 (scade absorbția fierului în enterocit); se inhibă hefestina și fieroportina (scade eliberarea fierului din enterocit, macrofag și hepatocit) - scade accesul de fier în sânge și se restabilește homeostazia.

c) Receptorii specifici transferinici fixați pe membrana citoplasmatică a celulelor consumatoare de fier (în primul rând eritrocariocitele) se complexează cu transferina și împreună sunt internalizați în celulă. Apotransferina este reîntoarsă în sânge, iar receptorul este clivat cu eliberarea fierului și formarea rămășiței de receptor (*truncated soluble transferrin receptor*, sTfR), care circulă liber în sânge. Concentrația sTfR în sânge este invers proporțională cu conținutul de fier intracelular: deficiența de fier provoacă superexpresia și creșterea concentrației de receptori liberi în plasmă, iar în surplusul de fier scade expresia și concentrația receptorilor solubili. Receptorii transferinici sunt prezenți pe membrana celulelor eritrocitare până la reticulocit; eritrocitele mature nu posedă receptori transferinici, nu asimilează fierul și nu sintetizează hemoglobina.

Stocarea fierului în depozite de asemenea este reglată homeostatic conform necesităților organismului în fier cu participarea mai multor mecanisme.

a) Apoferritina - proteina intracelulară, fixează fierul, transformându-se în feritină – formă de depozitare a fierului în celule. Feritina în enterocite provine din excesul fierului absorbit din intestin, iar în macrofage – din excesul fierului format la hemoliză, în hepatocite și alte celule – excesul de fier din sânge, în epiteliul renal – din hemoglobina reabsorbită din urina primară în caz de hemoglobinurie. Feritina reprezintă un complex hidrosolubil de fier trivalent cu apoferritina în formă de corpuscul (membrana corpusculului constă din apoferritină, iar miezul din cca 3000 atomi de fier). Deși feritina este o proteină intracelulară, aceasta este prezentă și în sânge în cantitate mică, dar

care se modifică în raport proporțional cu conținutul celular și servește indice a rezervelor de fier în organism și semnal homeostatic pentru secreția hepcidinei și menținerea concentrației normale de fier în sânge. Astfel, creșterea feritinei plasmatică induce secreția hepcidinei și inhibiția absorbției intestinale a fierului și eliberării din depozite; diminuarea feritinei inhibă secreția hepcidinei și stimulează absorbția și mobilizarea fierului.

b) Hemosiderina - alt compus de fier depozitat intracelular – reprezintă feritina parțial deproteinizată, insolubilă în apă. Se depozitează în eritrocariocite, epitelocitele tubilor renali, care la descumare se traduce prin hemosiderinurie.

Mobilizarea fierului din depozitele endogene.

Cea mai importantă cantitativ sursă de fier pentru organism este fierul endogen – cca 28 mg zilnic comparativ cu 2 mg de fier provenite din sursele alimentare. Structurile, care acumulează fierul în formă de depozite de feritină și hemosiderină sunt enterocitele (acumulează surplusul de fier absorbit, dar nesolicitat), hepatocitele (acumulează surplusul de fier nesolicitat din sânge) și macrofagele sistemului macrofagal (splina, țesutul limfoid, ficatul, măduva oaselor) – acumulează fierul provenit din liza eritrocitelor. Mecanismele de mobilizare a fierului din depozite (macrofage, hepatocite) sunt realizate de aceleași mecanisme moleculare ca și din enterocit: hefestina și fieroportina. Extragerea fierului din macrofagele depozitare este un proces homeostatic strict reglat: necesitatea în fier este percepută prin nivelul oxemiei, feritinei și transferinei – diminuarea acestor indicii inhibă secreția de către ficat a hepcidinei, ceea ce dereprează mecanismele de ieșire a fierului din macrofag: sinteza hefestinei, care oxidează fierul bivalent în fier neactiv trivalent și sinteza fieroportinei - transportorul de fier necesar pentru ieșirea fierului în sânge. Din contra, valoarea crescută de transferină și feritină suscită sinteza hepcidinei și blocarea mobilizării fierului din depozite.

Dirijorul major al proceselor homeostatice a fierului (absorbția, mobilizarea din depozite, transportul, asimilarea) este hepcidina.

Hepcidina este o proteină a fazei acute a inflamației secretată de ficat sub acțiunea interleuchinelor proinflamatoare (IL-1,2,6) împreună cu alte proteine de fază acută. Hepsidina este o peptidă antibacteriană, care reglează homeostazia fierului: se secretă în condițiile suficienței de fier (concentrația normală de transferină și feritină în sânge) și inhibă absorbția intestinală a fierului și mobilizarea fierului endogen din depozite. La deficitul de fier (concentrația scăzută de feritină și transferină) secreția hepcidinei scade, ceea ce dereprează mecanismele absorbției și mobilizării fierului. Defectele secreției hepcidinei devin cauze de patologii severe: surplusul de hepcidină observat în inflamațiile cronice conduc la anemii cronice fierodeficitare în condiții de accesibilitate alimentară a fierului, iar insuficiența ereditară a hepcidinei conduce la hemocromatoză cu exces de fier și cu stres oxidativ grav cu afectarea organelor vitale și moarte prematură.

Sideropenia – deficiența fierului în organism.

Sideripenia reprezintă cea mai răspândită patologie hematologică pe scară globală, inclusiv și în Republica Moldova. Deficitul de fier se întâlnește la 2/3 din copii și femeiele gravide– contingentul de risc pentru deficitul de fier și anemia fieriprivă.

Etiologia sideropeniei.

Factorii care cauzează deficitul de fier sunt numeroși și includ procesele patologice, care afectează toate verigile metabolismului fierului.

1. Deficit alimentar de fier. Utilizarea fierului din alimente depinde de cantitatea totală de fier ingerată și de compușii fierului din alimente, care au un randament diferit de absorbție.

Fierul din alimentele animaliere se conține în hemoglobină, mioglobină și este denumit fierul hemic și se absoarbe în proporție de cca 20% din totalul ingerat. Produsele vegetale conțin compuși de fier trivalent (fier non-hemic), care se absorb în proporție de cca 10% din totalul ingerat. Norma zilnică de fier este acoperită la 10% prin absorbția fierului hemic și la 90% din fierul nonhemic.

Or chiar dacă aportul cantitativ de fier este suficient, disponibilitatea va depinde de natura fierului. Astfel rația alimentară vegetariană și vegană poate fi o cauză a deficienței de fier.

Deficitul alimentar survine fie la ingerarea insuficientă, fie în lipsa de fier hemic ușor asimilabil, fie din cauza complexării fierului în intestin cu formarea de compuși insolubili, care se elimină cu masele fecale (complexarea cu oxalații, fitații, tanină, antacide, tetracicline).

2. *Sarcina* este o cauză iminentă a deficitului de fier la femei prin asigurarea necesităților fătului. Echilibrul fierului la făt este pozitiv în orice condiții, indiferent de asigurarea mamei cu fier. Chiar și la gravidele cu anemie fieriprivă are loc acumularea necesară a fierului în organismul fătului.

Echilibrul pozitiv de fier la făt este menținut de următoarele mecanisme:

- a. placenta fixează fierul din eritrocitele și sângele matern și îl transportă în mod activ în circulația fătului;
- b. în placentă există apoferitina proprie, care crează din fierul matern rezerve suplimentare de fier pentru făt;
- c. apotransferina fetală posedă afinitate mare față de fier - aceasta asigură preluarea fierului din tranferina maternă indiferent de gradientul de concentrație a fierului pe ambele părți a placentei; or transportul de fier este activ în direcția fătului, contra gradientului de concentrație;
- d. apoferitina fetală este mai stabilă și păstrează rezervele de fier pentru viața postnatală, iar necesitățile curente ale fătului sunt satisfăcute din fierul matern.

Datorită acestor mecanisme fătul primește necesarul de fier de la mamă, chiar dacă mama suferă de sideropenie și anemie fieriprivă; la făt nu se înregistrează carență de fier.

În gestația fiziologică mama transmite fătului cca 300 mg de fier; deja la săptămâna a 37 de gestație nivelul fierului în organismul fătului este mai mare decât la mamă. Această cantitate de fier asigură nu doar funcțiile fiziologice, dar și formarea rezervelor de fier necesare pentru viața postnatală.

Deoarece asigurarea fătului cu fier depinde de circulația utero-placentară, evoluția patologică a sarcinei conduce la sideropenie inițială la făt. Toate condițiile enumerate sunt menținute doar în sarcina fiziologică. Patologia sarcinei, dereglările circulației placentare sunt cauzele sideropeniei la făt sau nașterii fătului cu rezerve insuficiente de fier pentru viața postnatală.

3. *Perioada postnatală timpurie.* În condiții de sarcină fiziologică copilul se naște cu echilibru pozitiv de fier și cu rezerve de fier depozitat. La momentul nașterii organismul copilului conține cca 70 mg fier/kg, inclusiv și fierul din depozite. Imediat după naștere rezervele de fier la copil sunt suplimentate de fierul provenit din hemoliza fiziologică a nou-născuților. Or în perioada postnatală timpurie sursele de fier pentru copil sunt rezervele acumulate antenatal, fierul provenit din hemoliză și laptele mamei. Rezevele de fier antenatal se epuizează la vârsta de 6 luni (la copiii născuți prematur – deja la 3 luni); după această vârstă la copii survine pericolul de sideropenie.

Necesitățile în fier la copii de vârstă fragedă sunt condiționate de pierderile inevitabile de fier cu masele fecale, cu celulele descuamate, utilizarea fierului pentru sinteza hemoglobinei, mioglobinei, metaloenzimelor; necesitățile în fier cresc concomitent cu creșterea organismului. În primele 4 luni de viață postnatală sursă suficientă de fier pentru copil este laptele matern; datorită proteinei din lapte – lactoferina – fierul matern se absoarbe la 50% (la maturi se absoarbe circa 10% din fierul alimentar). Ulterior nici laptele mamei, nici laptele de vacă nu satisfac necesitățile de fier a copilului. Aceasta necesită surse suplimentare alimentare și crează premise pentru instalarea deficitului de fier la copii, care vor avea consecințe grave asupra creșterii și dezvoltării.

4. *Adolescența* este perioadă critică pentru instalarea sideropeniei - perioada de dezvoltare fizică furtunoasă, în plus la fetițe pubertația este în asociație cu demararea hemoragiilor ciclice. Pierderile de sânge necesită recuperare suplimentară a fierului (2 ml sânge pierdut = 1 mg Fe), ceea ce devine o cauză frecventă a sideropeniei la adolescente.

5. *Hemoragiile cronice* cu pierderi necompensate de fierul alimentar sunt întâlnite frecvent atât la femei (hemoragii genitale), cât și la bărbați (hemoragii gastrointestinale, hemoroidale) și sunt cauze a sideropeniei și anemiilor fieriprive.

6. *Dereglarea absorbției și mobilizării fierului endogen.*

Absorbția fierului are loc în duoden și jejunul proximal, dar prepararea fierului alimentar pentru absorbție începe deja în stomac. În stomac hemoglobina și mioglobina (sursele de fier hemic) sub acțiunea pepsinei sunt dezintegrate în globină și hem, ultimul se va absorbi în duoden. Deasemenea în stomac sub acțiunea acidului clorhidric fierul este extras din compușii vegetali organici și anorganici și ionizat; partial fierul trivalent este redus în fier bivalent de către acidul ascorbic.

Fierul hemic din componența hemoglobinei și mioglobinei se absoarbe mai lesne, decât fierul nonhemic (anorganic). Rândamentul absorbției: fierul hemic > Fe bivalent nonhemic > Fe trivalent nonhemic.

Factori favorizanți ai absorbției fierului sunt acidul clorhidric, acizii ascorbic, piruvic, fructoza, sorbitolul, alcoolul etilic.

Cauzele dereglării absorbției fierului:

- excesul alimentar de Fe, care formează în enterocit rezerve de feritină, ceea ce prin *feed-back* intracelular provoacă supresia DMT-1 și blocul absorbției fierului; concomitent surplusul de feritină intracelulară provoacă supresia hefestinei și fieroportinei și blochează ieșirea fierului din enterocit în sânge; din această cauză absorbția fierului în anemia fieriprivă nu poate fi accelerată cu megadoze de preparate de fier – aceasta va inhiba absorbția fierului;
- achilia, aclorhidria, gastrita atrofică, cancerul gastric, gastrectomia – în lipsa acidului clorhidric hemoglobina nu este degradată, iar fierul anorganic nu este ionizat;
- duodenită, ileita, atrofia mucoasei – fierul nu este interiorizat în enterocite;
- inflamații cronice - hipersecreția hepcidinei (la rând cu alte proteine a fazei acute)

inhibă DMT-1 – nu are loc transportul fierului alimentar în enterocit; concomitent are loc și inhibiția fieroportinei și hefestinei, ceea ce inhibă ieșirea fierului din enterocit și mobilizarea fierului endogen din depozite. În inflamațiile cronice se instalează un fenomen paradoxal: acumularea excesivă a fierului în enterocite și macrofage concomitent cu hipofieremie și carența de fier funcțional cu anemie fierprivă;

- rașitismul: hipofieremia este consecința acumulării fierului în oase (schimbul Ca-Fe);

Manifestările deficienței de fier

a. Sindromul sideropenic.

Sideropenia are o evoluție relativ îndelungată și manifestări biochimice și clinice etapizate.

Din conținutul total de fier în organism egal cu cca 4 g fierul depozitat în organele sistemului macrofagal în formă de feritină și hemosiderină (splina, ficatul, măduva roșie) constituie 20%. O parte mai mică de fier se află în circulație în componența transferinei. Respectiv, la diminuarea aportului de fier exogen necesitățile vor fi acoperite de fierul endogen, care se va epuiza succesiv. Parametrii biochimici ai metabolismului fierului se modifică succesiv cu evoluția și aprofundarea carenței de fier.

La etapa timpurie feritina este prima rezervă epuizabilă de fier; micșorarea feritinei în sânge este primul semnal al epuizării rezervelor și carenței de fier, pe când și transferina și hemoglobina nu se modifică. Semne obiective de carență de fier nu se înregistrează: eritrocitele și hemoglobina rămân la valori normale, activitatea enzimatică normală. Aceasta este etapa cea mai timpurie – insuficiența prelatentă de fier, dar care deja indică necesitatea compensării medicamentoase a deficitului de fier întru prevenirea dereglărilor manifeste. Paternul biochimic al carenței prelatente: feritina – scăzută; transferina – norma; capacitatea sideropenică a serului – norma; saturația transferinei cu fier – norma; hemoglobina – norma.

La etapa a doua, după epuizarea rezervelor feritice, fierul transferinic este a doua rezervă epuizabilă de fier; se înregistrează micșorarea concomitentă a feritinei și transferinei, dar cu păstrarea conținutului normal de hemoglobină. La această etapă deficiența de fier poartă denumirea de insuficiență latentă și de asemenea necesită compensarea medicamentoasă a fierului pentru prevenirea

anemiei. Paternul biochimic al carenței latente: feritina – scăzută; transferina – scăzută; capacitatea sideropenică a serului – crescută; saturația transferinei cu fier – scăzută; hemoglobina – norma.

La etapa avansată are loc epuizarea rezervelor de fier din componența feritinei și transferinei, ceea ce conduce la dereglarea sintezei hemoglobinei – survine sideropenia și anemia manifestă clinic. Deoarece hemoliza decurge cu viteza de 1% de eritrocite zilnic, iar sinteza hemoglobinei continuă din fierul reutilizat din hemoliza, anemia nu progresează rapid. Paternul biochimic al carenței manifeste: feritina – scăzută; transferina – scăzută; capacitatea sideropenică a serului – crescută; saturația transferinei cu fier – scăzută; protoporfirina eritrocitară – crescută (indică lipsa fierului și prezența protoporfirinei fără fier, netransformată în hemoglobină) ; hemoglobina – scăzută.

Deoarece absorbția intestinală a fierului fiziologic este limitată la cca 2 mg zilnic și aceasta nu crește semnificativ în anemie, iar abundența de fier alimentar sau medicamentos inhibă absorbția, recuperarea medicamentoasă a carenței de fier se efectuează cu doze fiziologice de fier, ceea ce necesită timp îndelungat (în funcție de gradul sideropeniei - luni de zile). Aceasta dictează inițierea recuperării carenței de fier la etapa prelatentă sau latentă prin *screening*-ul populației cu risc de sideropenie (gravide, copii de vârstă fragedă, adolescente) pentru prevenirea dezvoltării anemiei manifeste.

2. *Sindromul anemic*. Carența de fier afectează sinteza de hemoglobină, iar proliferarea și diferențierea eritrocitelor decurge normal până la un grad avansat de sideropenie. Aceasta determină tabloul hematologic al anemiei feriprive:

- eritrocitele – deoarece fierul este necesar pentru sinteza hemoglobinei, inițial capacitatea proliferativă a seriei eritrocitare nu este afectată - conținutul de eritrocite este normal; din cauza hipoxiei crește secreția eritropoietinei cu intensificarea eritropoiezei – numărul de eritrocite poate fi chiar crescut (poliglobulia);
- hemoglobina totală este scăzută; în funcție de conținutul de hemoglobină, anemia se clasifică în anemie de gradul I – Hb = 90-120 g/L; gradul II – 70-90 g/L; gradul III – sub 70 g/L;
- indicele cromatic – gradul de saturație a eritrocitului cu hemoglobină (acceptat convențional egal cu 0,9-1,1 la persoanele sănătoase cu conținutul normal de eritrocite și hemoglobină); în

anemia feriprivă din cauza scăderii disproporționale a hemoglobinei comparativ cu păstrarea numărului cvazinormal de eritrocite indicele cromatic este scăzut sub 0,9 – anemie hipocromă.

Măsură precisă a saturației eritrocitului cu hemoglobină este conținutul mediu de Hb în eritrocit – scăzut sub 29 pg (10^{-12} g) și concentrația medie de Hb în eritrocit – scăzută sub 33%;

- modificarea morfologiei eritrocitelor: microcitoză – diametrul eritrocitului sub 7,5 μm ; anizocitoză – prezența în circulație concomitent a eritrocitelor de dimensiuni normale și microcitelor; poikilocitoză - prezența în sânge a eritrocitelor cu abateri de la forma de disc biconcav – în formă de elipsă, sferă, secere etc.; anulocitoză – din cauza hipocromiei și distribuirii neuniforme a hemoglobinei în eritrocit (predominant la periferie), centrul eritrocitului apare decolorat, iar eritrocitele au imagine de inel; măsură precisă a dimensiunilor eritrocitului este volumul mediu al eritrocitului, egal în normă cu cca 90 fL (femtolitri, 10^{-15} L).
- reticulocitele în sângele periferic – forma tânără a eritrocitului ieșit din măduva roșie; eritrocitele ies din măduva roșie la etapa de reticulocit (eritrocitele, care se maturizează definitiv în măduvă sunt supuse lizei – eritropoieza inefficientă); reticulocitele în circulație timp de cca 48 ore se transformă în eritrocit matur; numărul reticulocitelor este măsura vitezei de regenerare a seriei eritroide; deoarece în sideropenie proliferarea nu este dereglată conținutul reticulocitelor rămâne normal de cca 1% (10‰ – promile);
- eritropoietina este crescută proporțional cu anemia și hipoxemia;
- densitatea receptorilor transferinici pe celulele eritrocariotice și reticulocite – crește; fenomenul are semnificație compensatorie, deoarece sporește fixarea transferinei și preluarea fierului; concomitent crește și concentrația receptorilor transferinici solubili;
- protoporfirina în eritrocite – este crescută, deoarece în lipsa fierului protoporfirina eritrocariocitelor rămâne neutilizată pentru sinteza hemoglobinei;
- hemosiderina în măduva roșie reprezintă rezerva de fier necesară pentru sinteza hemoglobinei – în sideropenie lipsește;

- bilirubina în sânge – din cauza hipocromiei eritrocitelor la hemoliză se elimină mai puțină hemoglobină și, respectiv, se sintetizează mai puțină bilirubină – survine hipobilirubinemia.

3. *Sindromul hipoxic.* Din cauza diminuării hemoglobinei scade capacitatea oxigenică a sângelui și survine hipoxemia. Capacitatea oxigenică a sângelui este cantitatea totală de oxigen fixată de hemoglobină (cantitatea de oxigen dizolvat în formă liberă în plasmă este neglijabilă). Fiecare gram de hemoglobină fixează maxim 1,34 ml de oxigen; respectiv cantitatea normală totală de hemoglobină în sânge egală cu cca 700 g fixează cca 1 L de oxigen. Scăderea hemoglobinei diminuează proporțional capacitatea oxigenică. Astfel în anemia de gradul III cu conținutul de hemoglobină egal cu 70 g/l – capacitatea oxigenică scade pe jumătate ($70 \text{ g/l} \times 5 \text{ L} = 350 \text{ g hemoglobină}$; $350 \text{ g} \times 1,34 \text{ ml oxigen} = 469 \text{ ml oxigen}$) – survine hipoxia anemică.

Manifestările hipoxiei constau din reacțiile compensatorii tipice din partea aparatului respirator, sistemului cardiovascular, țesuturi, metabolism.

Fenomenele patologice în anemii se manifestă prin efectele nocive a hipoxiei: fatigabilitate, sindromul asteno-vegetativ, paretezii, edeme pe picioare, miastenie, retard fizic și mintal, vertije, sincope, cefalee), leziuni celulare hipoxice, acidotice și oxidative.

4. *Sindromul epitelial* se manifestă prin piele uscată (ihtioză), unghii fragile, koilonihii (unghii în formă de linguriță), stomatită angulară, sclere albastre (în deficitul de fier nu se hidroxilează prolina și lizina necesare pentru sinteza colagenului – are loc subțierea sclerelor prin care se întrevește plexul vascular - chorioidea, cu nuanță albăstrie).

5. *Sindromul gastrointestinal:* carie dentară, gastrita atrofică anacidă, glosita atrofică sideropenică, disfagia sideropenică, modificarea gustului cu perversii culinare (pacienții mănâncă substanțe necomestibile – pământ, cretă, crupe și aluat crud).

6. *Sindromul intoxicației metabolice:* fatigabilitate, slăbirea memoriei, cefalee, subfebrilitate sideropenică.

7. *Sindromul imunodeficientar* – predispoziția la infecții respiratorii, scade imunitatea naturală (lizozimul, properdina), imunodeficiență specifică – scade IgA.

8. *Sindromul dizenergogenetic se traduce prin* insuficiența metaloenzimelor: citocromoxidaza, oxidazele, citocromii, catalaza, peroxidazele, NO-sintaza, citocromul p450 etc.; are loc dereglarea multiplicării, creșterii și activității celulelor, inclusiv eritrocitelor, procese celulare distrofice, atrofile.

Principii terapeutice:

1. recuperarea deficitului de fier cu preparate de fier;
2. tratament peroral; administrarea parenterală a preparatelor de fier provoacă stresul oxidativ și se utilizează în cazuri excepționale în sideropenii ereditare sub control riguros;
3. criteriu de însănătoșire – nu numai restabilirea hemoglobinei, ci și formarea de rezerve de fier - normalizarea transferinei și feritinei;
4. hemotransfuzia – doar în cazuri vitale; hemotransfuzia crează surplus de fier în sânge, ceea ce inhibă absorbția fierului.

IV. Fiziopatologia carenței ciancobalaminei/acidului folic și anemiei megaloblastice

În anul 1855 medicul englez *Thomas Addison*, iar în anul 1872 medicul german *Michael Anton Biermer* au descris o boală pe atunci necunoscută, pe care au numit-o anemie pernicioasă (malignă, incurabilă), deoarece nu existau remedii pentru tratament și boala avea rezoluție fatală. Mai târziu s-a propus ca această boală să fie denumită anemia Addison- Biermer.

În anul 1926 *George Hoyt Whipple*, *George Richards Minot* și *William Parry Murphy* au stabilit, că anemia denumită pernicioasă se tratează cu ficat crud, care conține o substanță denumită factor antianemic extrinsec (identificată mai târziu ca ciancobalamina, vitamina B₁₂), iar la baza bolii stă incapacitatea stomacului de a

secreta o mucoproteină necesară pentru absorbția vitaminei B₁₂ în intestin denumită factor antianemic intrinsec.

În 1934 autorii au fost decernați cu premiul Nobel.

Ulterior vitamina B₁₂, care s-a dovedit a fi ciancobalamină, a fost extrasă din ficat de animale (rândamentul – 1g de cobalamină dintr-o tonă de ficat) sau din deșeurile de canalizare (cobalamina sintetizată de bacteriile de putrefacție). Următoarea etapă a fost tentativa cu succes de sinteză chimică a cobalaminei, care a ocupat 10 ani de cercetări a 100 savanți din 20 țări.

În prezent cobalamina este obținută pe scară industrială prin sinteza microbiologică cu utilizarea tulpinelor mutante de microorganisme, ceea ce satisface completamente necesitățile medicinei. Astfel anemia și-a pierdut fatalitatea, este completamente curabilă și nu se mai numește pernicioasă, ci simplu anemia deficitară de B₁₂ sau, conform tabloului hematopoietic – anemie megaloblastică. Mai târziu s-a stabilit, că nu toate manifestările anemiei pernicioase depind de carența vitaminei B₁₂; unele manifestri clinice depind de tandemul biochimic a vitaminei B₁₂ cu acidul folic.

Rolul biologic al vitaminei B₁₂ și acidului folic.

Vitamina B₁₂ (ciancobalamină) în cooperare cu acidul folic are rol esențial în multiplicarea celulară, maturizarea neuronilor și metabolismul energetic.

Rezumativ efectele biochimice cooperatiste ale cobalaminei și acidului folic pot fi descrise în succesiunea următoare.

După absorbția intestinală în sânge și ulterior în celule sunt prezenți ciancobalamină și derivatul acidului folic 5-metiltetrahydrofolatul. 5-metiltetrahydrofolatul joacă rol de donator de grupuri metilice, iar cobalamina are rol de transfer a grupului metilic preluat de la acidul folic spre homocisteină, care, acceptând grupul metilic, se transformă în metionină necesară pentru sinteza ADN și consecutiv pentru multiplicarea celulară. Rezumativ procesele biochimice decurg în următoarea succesiivitate:

- 1) cobalamina + metiltetrahydrofolat = tetrahydrofolat + **metilcobalamina**;
- 2) **metilcobalamina** + homocisteina = cobalamina + **metionina**;
- 3) **metionina** - sinteza timidinei - sinteza ADN - **replicarea ADN - proliferarea celulară**.

Or în lipsa cobalaminei și acidului folic nu are loc replicarea ADN și se blochează multiplicarea celulară. În special suferă țesuturile cu regenerare continuă: organele hematopoietice, epitelul, spermatogeneza. Efectul

nociv paralel cu deficiența de ADN este acumularea substăntului nesolicitat în reacția biochimică - homocisteinei cu efecte toxice.

Alt efect biochimic specific doar pentru ciancobalamină este catalizarea sintezei acizilor grași și mielinei din metilmalonilCoA. Consecințele deficitului vitaminei B₁₂ pentru această reacție se manifestă prin următoarele efecte patologice:

- 1) dereglarea sintezei acizilor grași - deficitul de acizi grași și deficit energetic;
- 2) deficit de mielină – demielinizarea neuronilor;
- 3) surplusul de acid metilmalonic nesolicitat – efect toxic.

Ciclul metabolic al vitaminei B₁₂ în organism are câteva momente cruciale, care pot deveni cauze a carenței și dezvoltării anemiei.

Ciclul metabolic al vitaminei B₁₂ include câteva etape.

1. Sursele exogene de ciancobalamină sunt în exclusivitate produsele alimentare animaliere – ficatul, carnea, ouăle; dieta vegetariană/vegană este una din cauzele hipovitaminozei B₁₂;
2. ciancobalamina din componența alimentelor în cavitatea bucală se asociază cu o proteină specială secretată de glandele salivare – proteina R (rapidă), transcobalamina I. În asociație cu această proteină ciancobalamina este protejată de degradare de către acidul clorhidric din stomac, ceea ce permite tranziția prin stomac în duoden în integritate; lipsa acestei proteine în patologia glandelor salivare poate fi cauză a carenței de vitamină;
3. în stomac vitamina B₁₂ în asociație cu transcobalamina I nu este supusă prelucrării, însă activitatea normală a stomacului are importanță pentru absorbția ulterioară în ileon a vitaminei:
 - a) acidul clorhidric și pepsina extrag vitamina din alimente;
 - b) celulele gastrice parietale secretă gastromucoproteina denumită factorul intrinsec antianemic, factorul *Castle*, care are importanță în absorbția vitaminei în ileon;

4. în duoden, în mediu alcalin, sub acțiunea tripsinei ciancobalamina se decuplează de la proteina R și se cuplează cu factorul intrinsec *Castle* parvenit din stomac în compoziția chimului alimentar.

Importanța asocierii ciancobalaminei la factorul intrinsec constă în următoarele:

a) factorul intrinsec protejează ciancobalamina de consumul de către microflora intestinală și endoparaziți;

b) factorul intrinsec este ligand specific pentru receptorii de pe enterocitele din ileonul proximal (cubilina) – ciancobalamina în asociație cu factorul intrinsec este recunoscută, fixată de membrana enterocitului și incorporată în enterocit;

5. din enterocit ciancobalamina este lansată în sânge, unde este preluată de transportorul specific transcobalamina II; importanța biologică a transcobalaminei II constă în faptul, că aceasta este ligand specific pentru receptorii de pe eritrocariocite, epiteliocite, spermatogonii - astfel ciancobalamina este recunoscută și cedată fără pierderi celulelor consumatoare de ciancobalamina;

6. o mare parte de ciancobalamina este depozitată în ficat; în ficatul sănătos rezervele de vitamina B_{12} constituie cca 3 mg, ceea ce, în raport cu necesitățile zilnice de cca 2-3 mcg, acoperă necesitățile organismului timp de până la 5 ani, iar patologia ficatului și incapacitatea de a stoca vitamina B_{12} poate fi cauză a carenței vitaminei.

Ciclul metabolic al acidului folic (vitamina B9; acidul pteroilglutamic)

Forma poliglutamică a acidului folic este prezentă în zarzavaturi cu frunze verzi și proteinele animale. Acidul folic se absoarbe în duoden și jejunul proximal. În enterocit sub acțiunea enzimei dihidrofolatreductaza se reduce până la 5- metiltetrahidrofolat, care în sânge se leagă de albumine specifice și este transportat spre celulele-consumatoare. 5- metiltetrahidrofolatul cedează grupul metilic cobalaminei, pe care aceasta ulterior transferă homocisteinei, transformând cisteina în metionină; metionina, la rândul ei, participă la sinteza timidinei și consecutiv a ADN.

Ficatul conține o rezervă de acid folic doar pentru 3-4 luni. La copii deficiența acidului folic apare ușor din cauza necesităților mari și aportului redus - anemia megaloblastică apare deja peste 16-130 zile după instalarea deficitului de acid folic.

Etiologia și patogenia carenței de ciancobalamină

Cauzele carenței de ciancobalamină sunt multiple.

1. Aportul alimentar redus. Nici un animal superior nu posedă capacitatea de a sintetiza ciancobalamină și toate sunt dependente de sursele exogene de vitamină. Sursele alimentare de B₁₂ pentru om sunt în exclusivitate produsele animaliere - ouăle, carnea, ficatul, peștele. (În vegetații ciancobalamină lipsește; animalele erbivore multigastrice - bovinele, ovinele - primesc vitamina B₁₂ sintetizată de microflora simbiotă din prestomac, iar erbivorele monogastrice - cabalinele, iepurii – vitamina B₁₂ sintetizată de microflora din colon). Riscul carenței de vitamina B₁₂ există la vegani (dieta vegetariană strictă) și acestor persoane se recomandă preparatele de cobalamină sau suplimentarea rației cu alimente ce conțin ciancobalamină.
2. Necesitățile crescute ale organismului: sarcina, copilăria fragedă, pubertația.
3. Pierderi exagerate de vitamină - paraziții și flora intestinală, care consumă ciancobalamină (de ex., *Diphyllobothrium latum*).
4. Patologia glandelor salivare - lipsa proteinei transcobalamină I secretate de glandele salivare - vitamina B₁₂ neprotejată de transcobalamină I este degradată de acidul clorhidric în stomac.
5. Patologia stomacului:
 - a) aclorhidria – în lipsa acidului clorhidric nu are loc eliberarea B₁₂ din alimente;
 - b) gastrita atrofică, lipsa celulelor parietale secretoare de factorul antianemic intrinsec;
 - c) gastrita autoimună – autoanticorpi contra celulelor parietale (distrucția celulelor parietale) sau autoanticorpi contra factorului intrinsec (în lipsa factorului intrinsec vitamina B₁₂ nu este recunoscută de enterocite și nu se absoarbe).

6. Patologia pancreasului (pancreatita cronică): lipsa proteazelor pancreatice, care eliberează ciancobalamina din complex cu transcobalamina I – în rezultat ciancobalamina nu se asociază la factorul intrinsec, nu este recunoscută de receptorii enterocitelor și nu este absorbită.
7. Patologia ileonului - rezecția, ileita, deficitul ereditar de receptori pe enterocite (cubilina) – survine dereglarea interiorizării (endocitozei) complexului B₁₂+factorul intrinsec în enterocite – neabsorbția și pierderea vitaminei B12.
8. Patologiile ficatului cu epuizarea rezervelor și riscul de hipovitaminoză.
9. Lipsa transcobalaminei II (proteină secretată de ficat) - deficitul ereditar de transcobalamina II, patologia ficatului - are loc dereglarea preluării vitaminei B₁₂ din enterocit și transportul acesteea în sânge – în rezultat ciancobalamina se pierde, nu este recunoscută de receptorii membranari a eritrocariocitelor și survine deficiența de vitamină.
10. Patologia celulelor consumatoare de B₁₂ – lipsa ereditară a receptorilor specifici pentru vitamina B₁₂; dereglarea fixării și incorporării în celule – survine deficitul celular de B B₁₂.
11. Protoxidul de azot, N₂O (gaz ilariant) utilizat în anestezia chirurgicală – scindează vitamina B₁₂ în ficat – anestezia cu N₂O conduce la epuizarea vitaminei depozitate și hipovitaminoză manifestată prin polineuropatie.

Etiologia deficienței acidului folic

Sursă alimentară importantă de acid folic sunt zarzavaturile cu frunze verzi comestibile (neprelucrate termic), tomatele, dar și carnea, drojdiile, laptele. Necesitățile zilnice – cca 200 mcg de folați.

Cauzele carenței de acid folic:

1. carența alimentară (rar);
2. alcoolismul;
3. necesități crescute: sarcina, copilăria;

4. rezecția jejunului, unde are loc absorbția acidului folic ;
5. deficiența tiaminei ;
6. antagoniștii acidului folic (metotrexat).

Manifestările hipovitaminozei B12 și carenței de acid folic

Efectul cooperatist al vitaminei B12 și acidului folic este participarea la proliferarea celulară – acest proces se dereglează la lipsa unuia din componente – a vitaminei sau a acidului folic, sau a ambilor concomitenți; efectul dismetabolic depinde doar de vitamina B12 și nu și nu de lipsa acidului folic.

Manifestările carenței de ciancobalamină și acid folic includ câteva sindroame cardinale : anemia, atrofia tubului digestiv și demielinizarea structurilor nervoase. Anemia și atrofia tubului digestiv sunt cauzate de lipsa separată a ciancobalaminei, lipsa separată de acid folic sau de carența ambelor substanțe; degenerescența structurilor nervoase și dereglările metabolismului energetic sunt în relație doar cu carența de ciancobalamină (în carența separată de acid folic, dar cu disponibilitatea de vitamina B12 se dereglează mitoză celulară, dar nu se afectează metabolismul energetic și lipsește simptomatologia neurogenă).

1. Sindromul anemic. Manifestarea clinică principală a deficitului de ciancobalamină și acid folic este anemia megaloblastică.

Ciancobalamina și acidul folic sunt indispensabile pentru desfășurarea normală a ciclului celular. Ciclul celular normal la celulele eucariote decurge în două perioade: perioada de creștere celulară (faza G1, S și G2) și perioada de multipălcare (faza M). În interfaza precedentă multipălcării are loc prepararea celulei pentru divizare: replicarea (sinteza și dublarea elicelor de ADN), transcripția (sinteza mRNA de pe secvențele specifice de ADN) și translația (sinteza în ribozomi a proteinelor specifice). Acum celula este pregătită să intre în faza M – mitoză.

În lipsa ciancobalaminei și/sau a acidului folic nu are loc replicarea ADN și ciclul celular se blochează în faza G2 – multiplicarea celulei nu are loc. Astfel are loc disocierea a două procese:

creșterea și diviziunea – celulele progenitoare cresc, dar nu se divid; se instalează disproporția dintre nucleul în arest mitotic și citoplasma în dezvoltare. Rezultatul acestei disociații este creșterea în volum a celulelor – megalocitoza.

Referitor la eritropoieză carența de ciancobalamină și acid folic se manifestă prin dereglarea proliferării celulei unipotente eritropoietice – proeritroblastului. În eritropoieza normală proeritroblastul prin 4 diviziuni consecutive formează 16 eritrocite mature (normocite), ceea ce necesită creșterea de 16 ori a cantității de ADN și necesită o cantitate respectivă de ciancobalamină și acid folic. În deficitul de cobalamină și acid folic are loc doar creșterea și maturizarea citoplasmei eritroblastului, în timp ce nucleul rămâne neschimbat; eritroblastul nu se divide și dă naștere doar a unui eritrocit.

Tabloul hematologic în anemia B₁₂-folievodeficitară:

a) eritrocitele: numărul de eritrocite scade sub 4×10^{12} /L (ajunge sub 1×10^{12} /L) – anemie pronințată cu hemodiluție – hematocritul sub 35%. Morfologia eritrocitelor se modifică - în circulație sunt prezente eritrocite de dimensiuni mari - macrocite (diametrul 12 - 14 mcm), megalocite (diametrul peste 14 mcm); volumul mediu al eritrocitului – peste 120 fL (femtolitri, 10^{-15} L; norma – 90 fL); se modifică și forma eritrocitelor – în loc de forma normală de disc biconcav eritrocitele au forma de disc biconvex - ovalocite; în eritrocite se depistează punctație bazofilă – reziduuri de organite, reziduuri de nucleu (corpusculi Howell-Jolli, inele Cabot); numărul de reticulocite este redus;

b) hemoglobina scade sub 120 g/L; deoarece sinteza de hemoglobină nu este afectată, hemoglobina scade mai puțin în raport cu scăderea eritrocitelor ceea ce atribuie eritrocitelor hipercromie – conținutul mediu de Hb în hematii depășește 35 pg (picograme, 10^{-12} g; norma – 29 pg); concentrația medie de hemoglobină în eritrocit rămâne normală – cca 34% - și nu poate crește, deoarece concentrația hemoglobinei în eritrocitul normal este la nivel de saturație; indicele cromatic – peste 1,1 (norma – 0,9 – 1,1) – anemie cu caracter hipercrom;

c) leucocitele: numărul de leucocite scade - leucocitopenie; neutropenie; predomină neutrofilele polisegmentate (neutrofile senile), care conțin nucleul segmentat în 5 și mai mulți lobi;

- d) scade și regenerarea megacariocitelor – se instalează trombocitopenia;
- e) măduva roșie: numărul de mielocariocite crescut, iar numărul de eritrocariocite scăzut; numeroase megaloblaste; asincronismul maturizării nucleului și citoplazmei: nucleul tânăr, citoplasma matură; se depistează hemoglobinizarea timpurie a eritrocariocitelor;
- f) sindromul icteric, hiperhemoliza – dimensiunile mari și forma eliptoidă scad plasticitatea eritrocitelor, din care cauză acestea sunt reținute în organele eritrodieretice - survine splenohepatomegalia, eritrocitele sunt scoase din circulație prematur prin hemoliza intracelulară de către macrofage, longevitatea eritrocitelor scade de 2-3 ori, survine hiperhemoliza și hiperbilirubinemia cu bilirubina indirectă – sindromul icteric. Hiperhemoliza conduce la hiperfieremie - fierul seric crescut peste 170 mcg% cu stresul oxidativ.

Or conform indiciilor hematologici anemia B₁₂ deficitară poartă următoarele caracteristice: megaloblastică, hipercromă, hiporegenerativă.

Biochimia sângelui:

1. crește activitatea lactatdehidrogenazei (izoforma LDG -2 specifică pentru celulele hematopoietice) – rezultatul hiperhemolizei, inclusiv și intravasculare;
2. în deficiența de vitamină B12 crește homocisteina și acidul metilmalonic cu efecte toxice;
3. în deficiența separată de acid folic – crește doar homocisteina, iar acidul metilmalonic rămâne normal. (Nivelul normal de acid metilmalonic exclude deficiența de cobalamină!).
4. hiperbilirubinemie cu bilirubină neconjugată (icter hemolitic).

B. Sindromul gastroenterologic se manifestă prin atrofierea proximo-distală a epiteliului tubului digestiv – de la cavitatea bucală și până la segmentele terminale a tubului digestiv. Se manifestă prin:

1. atrofia și inflamația mucoasei bucale și a limbei – stomatită atrofică, glosita *Hunter* – papilele limbei atrofiate, limba roșie, șlefuită;
2. atrofia mucoasei esofagului;

3. atrofia și inflamația mucoasei stomacului – gastrită atrofică, hiposecreția gastrică (până la achilia rezistentă la histamină);
4. autoanticorpi contra celulelor parietale, care afectează sinteza de factor antianemic intrinsec și pompa protonică – survine aclorhidria, hiporexia;
5. autoanticorpi contra factorului antianemic intrinsec, care blochează fixarea vitaminei B₁₂ - astfel vitamina este consumată de microflora intestinală și de paraziți; se blochează fixarea de enterocite și absorbția vitaminei în ileon;
6. atrofia mucoasei intestinului cu maldigestie și malabsorbție;
7. hepatomegalie, splenomegalie.

C. Sindromul neuropsihic în deficiența de ciancobalamină are la bază dereglarea sintezei de mielină și intoxicația cu homocisteină și acid metilmalonic. (În deficiența separată de acid folic cu disponibilitatea de vitamina B₁₂ sindromul neuropsihic lipsește).

Manifestările sindromului neuropsihic:

1. mieloza funiculară – demielinizarea și degenerarea fibrelor nervoase a tractelor medulare a măduvei spinării cu dereglarea transmiterii impulsurilor nervoase: apar dereglări senzoriale (parestezii, amorțeli) și motorii (diminuarea reflexelor tendinoase, miastenia membrelor, dereglări uro-genitale – enurezie, encoprezie);
- g) demielinizarea tractului piramidal cortico-spinal cu dereglarea mișcărilor voluntare;
- h) dereglări psihice - psihoze, demenție; la persoanele senile – depresii.

Diagnosticul se bazează pe manifestările clinice și biochimice (acidul metilmalonic, homocisteinic). Standardul de aur este depistarea nivelului scăzut de vitamina B12 în sânge.

Tratamentul: administrarea preparatului de vitamină B12 sintetic.

Hiperdozarea vitaminei B12: consumul zilnic de cobalamină în doze peste 55 mcg crește riscul cancerului pulmonar cu cca 40%.

Criteriile de diferențiere a carenței de vitamina B12 și acid folic:

Simptomul	Carența de B₁₂	Carența de acid folic
Aclorhidria	Prezentă	Absentă
Autoanticorpi	Prezenți	Absenți
Gastrita atrofică	Prezentă	Absentă
Riscul de carcinom gastric	Mare	Nu
Neutrofile hipersegmentate	Prezente	Prezente
Volumul mediu al eritrocitelor	Crescut	Crescut
Sindromul neurologic	Prezent	Absent
Pancitopenia	Prezentă	Prezentă
Homocisteina plasmei	Crescută	Crescută
Acidul metilmalonic urinar	Crescut	Normal
Gastrina serică	Crescută	Norma

V. Fiziopatologia hemolizei

Terminologie. În literatura specială sunt utilizați doi termeni pentru desemnarea procesului de scoatere din circuit a eritrocitelor – hemoliza și eritrodieriza. Eritrodieriza (*erythrodiæresis*) - moartea fiziologică a eritrocitului, procesul fiziologic de distrucție și eliminare din circuit a eritrocitelor cu ciclul vital finalizat. Hemoliza (din greacă: *haima* – sânge; *lysis* – dizolvare, dezintegrare) – orice moarte a eritrocitului, atât fiziologică, cât și provocată de factorii patogeni, proces fiziologic și patologic.

Hemoliza fiziologică. (Eritodieriza).

Reieșind din durata medie de circulație a eritrocitului egală cu 120 zile, zilnic cca 0,8% din totalul de eritrocite din patul vascular sunt scoase din circulație, iar timp de 120 zile sunt înnoite toate eritrocitele circulante.

Fiziologic 90% din eritrocitele bătrâne sunt lizate de către macrofagele sistemului macrofagal (splină, ficat, măduva roșie, organele limfoide) – hemoliza intracelulară; 10% din eritrocite sunt lizate direct în patul vascular – hemoliza intravasculară. Or hemoliza fiziologică decurge la 90 % intracelular și la 10% - intravascular.

Hemoliza patologică este scoaterea din circuit a eritrocitelor normale înainte de epuizarea ciclului vital, reducerea termenului de circulație sub 120 zile.

Hemoliza fiziologică intracelulară este efectuată de macrofagele organelor sistemului macrofagal prin selecția eritrocitelor bătrâne. Eritrocitele sunt celule acariote (lipsite de nucleu și de alte organele celulare – mitocondrii, reticulul endoplasmatic rugos, ribozomi). Lipsa nucleului privează eritrocitele de funcțiile bazale proprii celulelor cariote: multiplicarea, sinteza proteinelor structurale și capacitatea de reconstruire plastică, resinteza enzimelor necesare pentru reacțiile metabolice energogenetice și antioxidative, pentru funcționarea pompelor ionice și menținerea formei de disc biconcav, care asigură plasticitate, suplețea și rezistență la deformații mecanice. Patrimoniul enzimatic și plastic al eritrocitului primit «la naștere» se epuizează timp de 120 zile de circulație și nu poate fi recuperat.

Pe parcursul vieții eritrocitul este supus deformațiilor mecanice: timp de 1 minut eritrocitul normal cu diametrul de 7,5 mcm parcurge de două ori capilarele organelor sistemului macrofagal cu diametrul

de 2-4 mcm, iar 10 % din eritrocite nimeresc în capilarele sinusoidale ale splinei și pot părăsi acestea doar prin fenestrele sinusoidelor cu dimensiunile de 0,5-0,7 mcm. Pe parcursul vieții eritrocitul parcurge cca 150-200 km, inclusiv și prin spațiile capilare înguste. Aceste condiții de circulație supun eritrocitele deformării mecanice, în sinusoidalele splinei eritrocitele sunt supuse acțiunii mediului acid, hipoxic, hipoglicemic. Aceste obstacole pot fi depășite doar de eritrocitele tinere cu rezerve necesare plastice și energetice.

Pe măsura îmbătrânirii și epuizării resurselor plastice și enzimatică eritrocitul nu poate menține forma biconcavă, asigurată de activitatea continuă a pompelor ionice, care mențin gradientul ionic, osmolaritatea intracelulară, hidratarea intracelulară, forma și dimensiunile eritrocitului. În plus epuizarea enzimelor antioxidative supun eritrocitul stresului oxidativ. Eritrocitul devine bombat, pierde plasticitatea și este reținut în sinusoidalele înguste ale organelor sistemului macrofagal, unde este fagocitat de macrofag. La rând cu aceasta eritrocitele bătrâne expresează pe membrană antigenul senilității («antigenul celulelor bătrâne») recunoscut de către macrofage prin receptorii naturali pentru aceste antigene – în rezultat eritrocitul «bătrân» este recunoscut, reținut și fagocitat de macrofag.

Toate aceste condiții conduc la reținerea eritrocitelor bătrâne în capilarele sinusoidale ale organelor sistemului macrofagal. Macrofagele situate pe ambele părți ale sinusoidului fagocitează eritrocitul reținut. Astfel cca 90% din eritrocite sunt eliminate prin hemoliza intracelulară de către macrofage. Or expresia veche «splina – cimitirul eritrocitelor» nu este corectă; splina este «abatorul» eritrocitelor selectate pentru sacrificare.

Mecanismele hemolizei intracelulare.

Eritrocitul fagocitat de macrofag formează fagozomul, care se contopește cu lizozomii, formând fagolizozomul. Sub acțiunea enzimelor lizozomale are loc degradarea consecutivă a eritrocitului: distrucția membranei, scindarea hemoglobinei în hem și globină; globina este scindată până la aminoacizi, care se reutilizează. Din hem este extras fierul, care se depozitează în macrofag în formă de feritină și hemosiderină, utilizat ulterior la necesitate (fierul endogen reutilizat acoperă cca 90% din

necesitățile zilnice de fier). Hemul fără de fier (inelul tetrapirolic) sub acțiunea hemoxigenazei se transformă în biliverdină cu structură lineară, iar ulterior sub acțiunea biliverdinreductazei se transformă în bilirubină cu structură ciclică. Bilirubina sintetizată în macrofag este o substanță micromoleculară slab solubilă în apă și toxică prin acțiunea sa antioxidantă (efectul antioxidant al bilirubinei depășește acel al alfa-tocoferolului recunoscut ca etalon antioxidant). Din aceste considerente bilirubina formată în macrofag și lansată în sânge este asociată la albumina transportatoare și poartă denumirea de bilirubină asociată la albumină (alte denumiri - bilirubina liberă, bilirubina neconjugată, bilirubina indirectă).

Bilirubina asociată la albumină capătă proprietăți noi, care permit circulația nenocivă în sânge: complexul este macromolecular, ceea ce împiedică transvazarea în țesuturi și prin filtrul renal; este stabilă în mediul acvatic; nu exercită toxicitate. Totodată, albumina este ligand specific pentru receptorii de pe membrana hepatocitelor, ceea ce asigură captarea selectivă a bilirubinei de către ficat (în ficat datorită sinusoidelor plasma sanguină și proteinele fac contact direct cu hepatocitele). De menționat, că capacitatea albuminei de fixare a bilirubinei este de câteva ori mai mare, decât cantitatea de bilirubină formată în condiții de hemoliză fiziologică; în hemoliza intracelulară patologică intensă se formează o cantitate mare de bilirubină, care depășește capacitatea pectică a albuminei (survine saturația), iar excesul de bilirubină rămâne cu adevărat liber, neasociat la albumină – anume această bilirubină iese din vas în interstițiu, provocând icter și toxicitate în creier - așa numitul icter nuclear – cu imbiția nucleelor subcorticale și trunchiului cerebral. Deoarece bilirubina posedă efect antioxidant, are loc inhibiția proceselor oxidative în ciclul Crebs al neuronilor cu deficit energetic – survine encefalopatia bilirubinică.

Hepatocitele captează complexul albumină-bilirubină prin receptori specifici membranari, o desprind de la albumină și prin intermediul sistemelor de transport (proteina Y - ligandina) și proteina Z transportă bilirubina în microzomi, unde are loc conjugarea bilirubinei cu acidul glucuronic – proces catalizat de către enzima uridilfosfat- glucuroniltransferaza cu formarea unui nou compus – bilirubina conjugată – mono- sau diglucuronidbilirubină. Acest compus a fost denumit bilirubina conjugată sau

bilirubina directă cu proprietăți noi: compus micromolecular, solubil în apă, cu toxicitate redusă. Din microzomi bilirubina conjugată este translocată prin aparatul Golgi la polul lateral al hepatocitului, de unde este secretată în capilarele sistemului biliar (fiziologic bilirubina directă nu se reîntoarce în sânge, iar depistarea în sânge a cca 15% de bilirubină directă se consideră artefact biochimic).

În duoden bilirubina conjugată sub acțiunea enzimelor microbiene este deconjugată, iar bilirubina eliberată sub acțiunea dehidrogenazelor microbiene este ulterior transformată în mezobilinogen, urobilinogen. Urobilinogenul din intestinul subțire este absorbit în sânge și prin *v. porta* parvine din nou la ficat, care îl transformă în bilirubină și îl reîntoarce în duoden. Din această cauză doar o mică parte de urobilină pătrunde în circulația sistemică, parvine la rinichi și este eliminată cu urina - urobilinuria fiziologică.

Moment patogenetic important în icterul nou-născuților este faptul, că duodenul nou-născuților este steril, lipsesc enzimele microbiene, din care cauză nu are loc deconjugarea bilirubinei și transformarea în urobilinogen, iar bilirubina conjugată (di- și monoglucuronidul) este absorbită în sânge – survine icterul cu bilirubină directă, conjugată.

Urobilina ajunsă în intestinul gros este transformată în stercobilină și eliminată cu masele fecale; doar o parte mică de stercobilină este absorbită în venele hemoroidale și parvine în circulația sistemică ocolind ficatul, iar de aici – și în rinichi și urină – survine stercobilinuria fiziologică (urobilina și stercobilina din urină sunt generic numiți urobilinoizi). Astfel se încheie ciclul biochimic normal al hemoglobinei eliberate în hemoliza fiziologică intracelulară.

Hemoliza fiziologică intravasculară.

După cum am menționat, 10% din eritrocitele supuse lizei fiziologice sunt distruse nemijlocit în patul vascular cu un ciclu specific de metabolizare a hemoglobinei eliberate. Liza intravasculară este rezultatul deformațiilor mecanice a eritrocitelor în torentul sanguin, acțiunii factorilor reologici, hipoxiei, variațiilor osmolare plasmatică și a. Acest număr de eritrocite lizate intravascular eliberează zilnic cca 200 mg de hemoglobină. Hemoglobina tetrameră are masa moleculară egală cu 64 kDa, iar în

patul vascular hemoglobina se scindează în 2 dimeri cu mM de 32 kDa, ceea ce ar permite filtrarea în glomerulul renal (performanța capilarelor glomerulare este de cca 70 kDa). În condiții fiziologice hemoglobina eliberată pe parcursul hemolizei intravasculare nu parvine în sistemul urinar datorită mecanismelor de protecție naturală.

Primul mecanism protectiv natural constă în faptul, că hemoglobina ieșită din eritrocit în plasma sanguină (hemoglobinemia) se asociază la proteina specifică cu afinitate pentru hemoglobină - haptoglobină (alfa2-globulină) cu formarea unui complex cu masa moleculară 140-320 kDa, ceea ce depășește permeabilitatea filtrului renal și nu se filtrează în urina primară. Totodată haptoglobina este ligand pentru receptorii specifici de pe membrana macrofagelor, care captează complexul hemoglobină-haptoglobină și degradează hemoglobina după schema descrisă mai sus cu formarea bilirubinei.

Al doilea mecanism protectiv este faptul, că hemoglobina în plasmă parțial poate fi scindată în hem și globină; hemul se leagă de o proteină specifică – hemopexina, care ulterior este de asemenea fagocitată și degradată de către macrofage. Organismul posedă și a treia rezervă protectivă contra hemoglobinemiei. Chiar dacă hemoglobinemia depășește capacitatea pectică a haptoglobinei, iar surplusul de hemoglobină se filtrează prin filtrul glomerular în tubii renali hemoglobina din urină este absorbită de epitelioците și transformată în bilirubină, iar fierul este depozitat în formă de feritină și hemosiderină – hemosideroza tubilor renali. Ulterior epiteliul se descuamează – în urină se înregistrează hemosiderinuria.

Or în condiții fiziologice produsul final al hemolizei în ambele cazuri – intracelulară și intravasculară - este bilirubina, iar în sânge nu circulă hemoglobina liberă, în urină definitivă nu este prezentă hemoglobina.

Rezumând cele expuse constatăm, că homeostazia sistemului eritocitar este menținută prin echilibrarea eritrodierzei cu procesul de regenerare a eritrocitelor în mduva roșie. Numărul de eritrocite scoase din circulație este înlocuit cu același număr de eritrocite regenerate. În aceste condiții se mențin la nivel constant și alți parametri: hemoglobinemia – lipsește; hemoglobinuria – lipsește; concentrația de

bilirubină indirectă – constant normală; concentrația corpurilor urobilinoizi în urină – constant normală; concentrația stercobilinei în masele fecale – constant normală.

Hemoliza patologică

Hemoliza patologică reprezintă hiperhemoliza – depășirea numărului de eritrocite scoase din circulație (și, respectiv, reducerea termenului de circulație sub 120 zile) sau eliminarea din circulație a eritrocitelor anormale. Hemoliza patologică este posibilă prin aceleași două mecanisme patogenetice majore: hemoliza intracelulară și intravasculară cu elaborarea acelorași produse biochimice.

Etiologia și patogenia hemolizei patologice intravasculare

În circulația sistemică se pot crea condiții nocive, care conduc la liza eritrocitelor în patul vascular.

a. Hemoliza mecanică (traumatică) – sindromul fragmentării eritrocitelor. Eritrocitele supuse acțiunii mecanice în patul vascular se pot distruge totalmente cu eliminarea hemoglobinei în sânge sau se pot fragmenta cu deformarea («amputarea») eritrocitelor – se formează eritrocite truncate - schizocite, fragmente de eritrocite în formă de microcite, semilună, triunghiulare, care sunt eliminate de către organele sistemului macrofagal. Se întâlnește în dereglări de circulație cu torent turbulent, în anevrisme vasculare, în implantarea protezelor vasculare și valvulare. Chiar și mersul îndelungat pe teren incongruent conduce la traumarea eritrocitelor («hemoglobinemie de marș»). Dezintegrarea eritrocitului în patul vascular conduce la hemoglobinemie cu toate consecințele.

b. Hemoliza osmotică. Deoarece osmolaritatea plasmei sanguine fiziologic variază în funcție de regimul salin și potabil, eritrocitele trebuie să posede o rezistență osmotică într-un anumit diapazon de osmolaritate. Rezistența osmotică reprezintă capacitatea eritrocitului de a-și păstra viabilitatea într-un diapazon larg de osmolaritate extracelulară: de la izosmolaritate – 0,85% soluție de clorură de sodiu până la hipoosmolaritatea de 0,32% soluție de clorură de sodiu. În mediul hipoosmolar apa intră prin canalele acvatice în eritrocit echilibrând osmolaritatea intra – și extracelulară și deformând eritrocitul. Rezistența mecanică a eritrocitului este asigurată de forma biconcavă (indicele de sfericitate – raportul

dintre grosimea și diametrul eritrocitului – egal cu 0,28), care atribuie celulei rezervă de deformare și de acumulare a apei până la sferizarea eritrocitului, după care survine hemoliza. Rezistență osmotică maximă posedă eritrocitele tinere, iar cu timpul ea se reduce, ajungând până la sfericizare la sfârșitul vieții (120 zile) și eliminarea din circulație.

Hemoliza osmotică poate fi provocată de consumul excesiv de apă fără săruri (hiperhidratarea hipoosmolară), de infuzii abundente de soluție izotonică de glucoză (5%) – glucoza este metabolizată, iar în patul vascular rămâne apa, care provoacă hipoosmolaritate.

c. Hemoliza chimică. Hemolizinele – substanțele, care degradează membrana eritocitară, eliberează hemoglobina din eritrocite cu ieșirea în sânge – hemoglobinemia. Hemolizinele reprezintă toxine bacteriene (stafilococi, streptococi), toxinele verminelor patogeni, insectelor, scorpionilor și șerpilor), care conțin lizolecitinaze – enzima, care degradează fosfolipidele membranei celulare. Există autolizine, care provoacă autohemoliza, izolizine, heterolizine.

d. Liza eritrocitelor anormale. Rezistența osmotică a eritrocitului se reduce la modificarea patologică a formei eritrocitului – sferică în microsferocitoza ereditară, eliptoidă în anemia megaloblastică, sau la modificarea proprietăților citoscheletului în anemiile hemolitice ereditare. Macroцитеle și megalocitele sunt supuse lizei în capilarele înguste ale organelor sistemului macrofagal. Pentru aceste celule perioada de circulație în patul vascular se reduce de 10 ori.

e. Hemoliza intravasculară imună cu participarea complementului activat (V. mai jos).

Manifestările și consecințele hemolizei patologice intravasculare.

La distrucția masivă intravasculară a eritrocitelor cantitatea de hemoglobină eliberată în sânge depășește capacitatea de fixare a haptoglobinei, ceea ce conduce la circulația hemoglobinei libere în sânge – hemoglobinemia și ulterior la filtrația hemoglobinei în urină primară. Cantitatea de hemoglobină în urina primară depășește capacitatea de reabsorbție a epiteliului renal – survine prezența hemoglobinei în urina definitivă - hemoglobinuria. Descuamarea epiteliului tubular bogat în hemosiderina provenită din transformarea hemoglobinei reabsorbite conduce la hemosiderinurie.

Hemoglobina nereabsorbită parvine în tubii distali și sedimentează, deoarece pH acid al urinei în tubii distali atinge punctul izoelectric pentru hemoglobină. Conglomeratele de hemoglobină obturează tubii renali – survine insuficiența renală prin blocul urinar.

Situație gravă se crează în sindromul *crash* - zdrobirea mușchilor striati și în alte cazuri de rabdomioliză – în rezultat din miocite se eliberează mioglobina (cromoproteidă identică cu hemoglobina, dar monomer cu masa moleculară de 16 kDa), care foarte ușor se filtrează în capilarele glomerulare cu aceleași consecințe ca și în cazul hemoglobinuriei.

În urină hemoglobina se oxidează în methemoglobină, formează compuși, care modifică culoarea urinei în roșu, roșu-închis, brun sau negru.

Un alt fenomen asociat la hemoliza intravasculară este circulația în sânge a stromei eritrocitelor lizate, care obturează capilarele și provoacă dereglări de microcirculație. De asemenea din eritrocitele lizate se eliberează tromboplastina eritocitară și ADP, care agreghează trombocitele și provoacă trombogeneza până la CID.

Caracteristica comparativă a hemolizei intracelulare și intravasculare

Semnele hemolizei	Hemoliza intravasculară	Hemoliza intracelulară
Locul hemolizei	Patul vascular	Sistmul macrofagal
Factorii patogeni	Hemolizine, factori mecanici, fizici, chimici	Membranopatii, enzimopatii, hemoglobinopatii
Hepato-splenomegalia	Puțin pronunțată	Pronunțată

Hemosideroza	Tubii renali	Splina, ficatul, măduva roșie
Semnele de laborator	Hemoglobinemia, hemoglobinuria, diminuarea haptoglobinei, hiperbilirubinemia, hemosiderinuria	Hiperbilirubinemia, stercobilina în intestine crescută, urobilina în urină crescută
Icter	Prezent	Prezent

3.2.2. Hemoliza patologică intracelulară

Etiologia și patogenia hemolizei patologice intracelulare.

În hemoliza intracelulară procesele de degradare a eritrocitelor decurg în macrofagele sistemului macrofagal.

1. *Hemoliza imună.* Hemoliza imună are la bază reacția dintre antigenele eritrocitare membranare și anticorpii contra acestor antigene:

a) izoantigenele eritrocitare polizaharidice: antigenele sistemului ABO cu următoarele proprietăți: stimulează elaborarea de IgM; stimulează elaborarea anticorpilor la cald (reacționează cu antigenele la temperatura de 37°C) sau la rece (reacționează cu antigenele la temperatura de 4°C); izoantigenele sistemului ABO reacționează cu izohemaglutininele alfa și beta. Reacția dintre antigenele polizaharidice și anticorpii specifici provoacă reacții hemotransfuzionale acute (la incompatibilitatea de grup dintre recipient și donator);

b) antigenele proteice: antigenele sistemelor Rh stimulează elaborarea predominant a anticorpilor IgG de tip cald, care provoacă reacții posthemotransfuzionale tardive (la incompatibilitatea de Rh dintre recipient și donator);

c) formarea autoantigenelor eritrocitare și suscitarea sintezei autoanticorpilor antieritrocitari cu următoarele mecanisme patogenetice. La fixarea haptenei (medicamente, antigene bacteriale) pe membrana eritrocitului

se formează complexul haptena + antigenul eritrocitar; complexul format devine non-self, iar sistemul imun elaborează anticorpi, care pot reacționa cu fiecare component în parte, inclusiv și cu antigenul eritrocitar; ulterior demarează reacția autoimună alergică tip II citotoxică (citotoxică); la interacțiunea antigen+ anticorp eritrocitul este opsonizat cu fragmentul constant al imunoglobulinei Fc; ulterior are loc activarea complementului pe cale clasică și opsonizarea eritrocitului cu fragmentul major al complementului activat C3b – în rezultat eritrocitul dublu opsonizat este recunoscut de către macrofage prin intermediul receptorilor naturali contra Fc și C3b - eritrocitul este fagocitat și lizat. Un alt mecanism hemolitic este formarea complexului membranatacant C₅₋₉ a complementului activat cu distrucția directă a eritrocitului;

d) dereglarea funcției limfocitelor T-supresori (reglatori)– defect natural sau afecțiune dobândită a sistemului imun cu hiperactivitatea și autoagresivitatea contra eritrocitelor proprii;

e) denaturarea structurii antigenelor eritrocitare sub acțiunea diferitor factori lezanți (temperatura, raze ionizante, radicali liberi etc.) cu acapararea de epitopi noi, pentru care sistemul imun nu posedă toleranță imunologică;

f) reacții încrucișate dintre antigenele eritrocitare și bacteriene – mimicria antigenică naturală a bacteriilor cu antigenele macroorganismului; la atacul bacterian sistemul imun elaborează anticorpi antibacterieni, care reacționează încrucișat și cu antigenele eritrocitare cu liza consecutivă;

g) dereglarea funcției B-limfocitelor, apariția clonelor interzise în hemoblastoze și colagenoze – deorece selecția negativă cu eliminarea clonelor limfocitare autoagresive are loc în perioada antenatală, postnatal pot apărea clone interzise contra antigenelor eritrocitare, care nu sunt eliminate prin selecție – survine reacția autoimună contra eritrocitelor

2. *Hemoliza non-imună*. Al doilea grup de hemoliză intracelulară prezintă defectele ereditare ale eritrocitelor, care le fac vulnerabile la condițiile de circulație.

- a. Membranopatiile eritrocitare – defecte ale structurii membranelor citoplasmice și citoscheletului:

- microsferocitoza ereditară – boala *Minkowsky-Chauffard* – boală cu transmitere autosomal dominantă cu incidența în populație de 1:5000. Este în relație cu defectul proteinelor membranare – a spectrinei, din care cauză scade plasticitatea și crește permeabilitatea membranei citoplasmatică; în rezultat sodiul și apa patrund în eritrocit, eritrocitul devine sferic. În spațiile intersinuzale ale splinei cu mediul acid și hipoglicemie și mai mult scade activitatea pompelor Na,K de pe membranele eritrocitare, concentrația sodiului intracelular și conținutul de apă crește - un atare eritrocit deformat este reținut în sinusoidale splinei și fagocitat de macrofage. Eritrocitele trecând prin capilare înguste ale splinei se traumatizează («amputarea eritrocitului»), pierd o parte din membrană și scad în dimensiuni – astfel eritrocitele eliberate din măduva roșie cu dimensiuni normale devin microcite.

Microsferocitele au o perioadă de viață mai scurtă din cauza hemolizei intense. În rezultat microsferocitoza conduce la anemie, reticulocitoză provocată de hipoxie și de produsele hemolizei, hiperbilirubinemie cu fracția indirectă provenită din cantitatea mare de hemoglobină eliberată din eritrocitele distruse. Splina se mărește în volum – splenomegalie;

- ovalocitoza (eliptocitoza) ereditară – boală ereditară cu transmitere autosomal dominantă, prezența în sânge a eritrocitelor malformate cu forma eliptoidă (disc biconvex); defect al spectrinei din componența citoscheletului eritrocitului, care diminuează plasticitatea eritrocitului și conduce la hemoliză intensă, cu consecințele tipice pentru hemoliza patologică intracelulară;
- stomatocitoza - boală ereditară cu transmitere autosomal dominantă, circulația în patul vascular a eritrocitelor, care au în centru o fâșie necolorată, care desparte vizibil eritrocitul în două părți, atribuindu-i forma de stomă (gură). La baza patogeniei stă defectul proteinelor membranare cu creșterea permeabilității, pătrunderea în exces a sodiului și apei în celulă – survine gonflarea eritrocitului, pierderea plasticității, reținerea și fagocitoza în sistemul macrofagal - survine hemoliza intensă intracelulară cu consecințele caracteristice anemiilor hemolitice.

b) Enzimopatiile eritrocitare – lipsa sau defecte ereditare a enzimelor eritrocitare:

- anemia hemolitică ereditară cu lipsa glucozo-6-fosfatdehidrogenazei în eritrocite. Se moștenește după tipul recesiv, suferă predominant bărbații din populația țărilor mediteranene. Lipsa enzimei crează deficit de protoni și dereglează reducerea NADP în NADP.H2 necesară pentru reducerea glutatationului (glutatationul redus este un factor important antioxidativ, care protejează eritrocitul de stresul oxidativ) – în rezultat eritrocitul nu este protejat de radicalii liberi, are loc alterarea proteinelor membranare a eritrocitului și hemoliza intravasculară. Agenți declanșatori a crizei hemolitice în această patologie pot servi și unele medicamente cu efect antioxidativ, care oxidează glutatationul și diminuează capacitatea antioxidativă a eritrocitului – norsulfazolul, streptocidul, biseptolul și a., medicamentele antimalarice, derivații nitrofuranului. Hemoliza are loc în patul vascular. Decurge cu anemie, hemoglobinemie, hemoglobinurie, obturarea tubilor renali cu conglomerat de hemoglobină sedimentată în urina acidă în tubii distali, hemosidernemie, hiperbilirubinemie, icter, splenomegalie,.

c. Hemoglobinopatiile – defecte ereditare a structurii hemoglobinei. Hemoglobina umană în perioada postnatală la adulți este reprezentată aproape în exclusivitate de hemoglobina adultă HbA (globina constă din două lanțuri alfa și două beta; constituie cca 96%), de hemoglobina fetală (HbF – globina constă din două lanțuri alfa și două gama; constituie cca 2% din totalul hemoglobinei circulante) și de hemoglobina HbA2 (globina constă din două lanțuri alfa și două sigma; constituie cca 2%). Devierile globinei de la structura normală au următoarele variante:

- talasemiile – hemoglobinopatiile cu modificarea structurii cuaternare a hemoglobinei - globina constă din lanțuri normale de globină, dar în combinație anomală: alfa-talasemiile (globina cu 4 lanțuri alfa), beta-talasemiile (globina cu 4 lanțuri beta) și talasemia beta-sigma (câte două lanțuri respectiv). Eritrocitele devin mici (microcitoză) și hipocrome (conținut scăzut de hemoglobină). Alfa telasemiile sunt răspândite în populația Africei și Extremului orient, beta-talasemiile – în populația țărilor mediteranene.

- hemoglobinopatiile cu modificarea structurii primare a globinei – consecutivitatea de aminoacizi în moleculă (HbS, HbE, HbD și a.). Varianta clinică este drepanocitoza (HbS, anemia falciformă, sicliformă) – se întâlnește la rasa negroidă. Esența bolii constă în înlocuirea valinei cu acidul glutamic în beta-lanțul hemoglobinei – apare hemoglobina S, cu solubilitatea în apă de 100 ori mai mică, decât hemoglobina normală. De menționat că solubilitatea HbS diferă: HbS oxigenată are aceeași solubilitate ca și HbA (normală) – în rezultat eritrocitele în sângele arterial cu HbS oxigenată au forma normală. În capilarele circuitului mare oxihemoglobina cedează oxigenul, HbS se reduce și pierde la jumătate din solubilitate – în rezultat are loc ciclizarea eritrocitului – hemoglobina sedimentează atribuind eritrocitului forma de seceră. Eritrocitele devin rigide și sunt mai ușor reținute și fagocitate în organele eritrodieretice – survine hemoliza intracelulară cu toate consecințele tipice.

Manifestările și consecințele hiperhemolizei intracelulare:

1. *Sindromul anemic* – micșorarea numărului de eritrocite și cantității de hemoglobină, diminuarea capacității oxigenice a sângelui, hipoxemia, hipoxia anemică.
2. *Sindromul icteric* - icter hemolitic: hiperbilirubinemia cu bilirubina indirectă ca rezultat al hiperhemolizei și producției sporite de bilirubină și incapacității relative a ficatului suprasolicitat de a procesa toată cantitatea de bilirubină din sânge – colorația icterică a pielii și mucoaselor;
3. *encefalopatie bilirubică*: fiziologic toată bilirubina formată în sistemul macrofagal în hemoliza fiziologică este asociată la albumina specifică transportatoare de bilirubină, ceea ce asigură reținerea bilirubinei în patul vascular fără toxicitate; hiperhemoliza formează cantități mari de bilirubină, care depășesc capacitatea pectică a albuminei – în rezultat o parte de bilirubină rămâne liberă, neasociată la albumină, trece bariera hematoencefalică și prin efectul antioxidant inhibă energogeneza în neuroni – survine encefalopatia bilirubică.
4. *Calculoza biliară*. Captarea și procesarea de către ficat a unei cantități sporite de bilirubină indirectă conduce la creșterea concentrației de bilirubină conjugată în bilă – survine cristalizarea și

formarea de calculi biliari bilirubinici – blocarea ducturilor biliare hepatic comun sau coledoc – icter mecanic

5. *Urobilinuria* - cantitate sporită de urobilinogen și stercobilinogen în masele fecale - colorația intensă a materiilor fecale și în urină.

VI. Fiziopatologia hemoblastozelor

Sistemul leucocitar (leuconul) este organizat în următoarele compartimente:

- a) organele leucopietice (măduva roșie a oaselor și timusul) cu celulele progenitoare și rezervele leucocitare;
- b) leucocitele migratoare circulante în sânge;
- c) leucocitele funcționale din organe.

În organele leucopietice are loc regenerarea și diferențierea leucocitelor; sângele este doar mediul de vehiculare a leucocitelor spre organele de reședință permanentă. Structurile, în care leucocitele își efectuează funcțiile specifice sunt organele limfoide periferice (splina, ganglionii limfatici, structurile limfoide compacte) și absolut toate organele din sistemele organismului. Or leucocitele sunt omniprezente în întreg organismul uman, unde fiecare formă își exercită funcțiile specifice și unde își finisează existența prin apoptoză după un anumit termen determinat de viață. Cu adevărat este corectă expresia, conform căreia leucocitele se nasc în măduva roșie, dar mor în organe după epuizarea potențialului de viață și activitate.

Morfologic și funcțional leuconul constă din subsistemul mieloid provenit de la celula stem pluripotentă - predecesorul comun mieloid (leucocitele granulate neutrofile, eozinofile și bazofile - mastocite, monocite – macrofage) și subsistemul limfoid provenit de la celula stem pluripotentă - predecesorul comun limfoid (limfocitele B și limfocitele T, limfocitele NK- kilerii naturali).

Homeostazia fiecărei populații de leucocite și ajustarea la necesitățile variabile ale organismului se efectuează prin comunicarea dintre organe și măduva roșie prin intermediul semnalelor provenite de la

agenții patogeni intruși (bacterii, viruși, ciuperci), antigene, molecule lezionale, factori de creștere vehiculați cu sângele; ca răspuns măduva roșie reproduce sau eliberează din rezerve leucocitul necesar anume pentru contracararea agresiunii actuale (limfocite, monocite, neutrofile, eozinofile, bazofile).

Leucocitele destinate protecției parvin la organ de asemenea pe calea hematogenă. Astfel sângele este doar mediul de comunicare bidirecțională dintre organele leucopoitice și organele de reședință permanentă și funcționare a leucocitelor.

Tradițional din motivul accesibilității sângele circulant este cel mai utilizat mediu de investigație a sistemului leucocitar, dar nu și cel mai informativ. Informații exhaustive despre funcționalitatea și procesele patologice din sistemul leucocitar pot fi obținute doar prin estimarea leucocitopoezei direct în măduva roșie și sistemul limfoid și evaluarea funcționalității fiecărei forme de leucocit (activitatea fagocitară a neutrofilelor și monocitelor, sinteza imunoglobulinelor de către plasmocite, activitatea limfocitelor, starea de sensibilizare a mastocitelor și bazofilelor etc.).

Hematopoieza decurge prin procesele de proliferare, diferențiere și maturare de la celula-stem hematopoitică multipotentă până la celulele sanguine mature.

La fel ca și în sistemul eritocitar, procesele patologice din sistemul leucocitar poartă caracter primar și secundar (reactiv). Procesele primare în organele leucopoitice și organele limfoide periferice reprezintă boli tumorale (proliferative); procesele secundare reprezintă reacția organelor leucopoitice la procesele patologice din alte organe (predominant – reacția la xenobionți).

3.1. Procese primare proliferative în sistemul leucocitar. Hemoblastozele

Caracteristica generală a hemoblastozelor este dereglarea proliferării și/sau a diferențierii celulelor progenitoare de leucocite.

Hemoblastozele prezintă patologii tumorale originare din diferite serii de celule-stem hematopoitice. În funcție de celulele, din care se dezvoltă tumoarea, hemoblastozele se împart în leucemii și limfoame.

1. *Leucemiile* sunt hemoblastozele, care se dezvoltă din celulele hematopoitice ale măduvei roșii a oaselor.

2. *Limfoamele* – hemoblastoze care se dezvoltă din celulele extramedulare (limfocite mature):

Fiziopatologia hemoblastozelor

Etiologia. Etiologia hemoblastozelor nu este cunoscută cert pentru fiecare caz. Este stabilită corelația statistică pozitivă dintre incidența hemoblastozelor și următorii factori:

1. factori fizici (razele ionizante);
2. factori chimici (cancerigene chimice - factorul oranj exfoliant, erbicide etc.);
3. infectarea cu unii viruși;
4. factori ereditari.

Proprietatea comună a factorilor etiologici este efectul mutagen, capacitatea oncogenă, care se caracterizează prin dereglarea proceselor comutate celulare proliferare/apoptoză și constă în exacerbarea multiplicării celulelor concomitent cu inhibiția apoptozei celulelor mutante.

Patogenia generală a hemoblastozelor.

Hemoblastozele, lafel ca și alte tumori, prezintă patologia creșterii și diferențierii celulare și are la bază trei procese fundamentale:

- hiperplazia – plofirerarea nelimitată a unei serii leucocitare cu formarea focarului (coloniei) primar tumoral;
- anaplazia – blocul diferențierii - predominarea proliferării față de diferențiere (maturizare) cu acumularea celulelor nediferențiate. În mod normal proliferarea decurge paralel cu diferențierea celulară: dintr-o celulă blastă prin dividere se naște o celulă blastă și o celulă diferențiată; astfel se mențin ambele populații – populația de blaste - rezervă pentru proliferare și populația celulelor mature diferențiate, care vor executa funcțiile specifice. Anaplazia este proliferarea clonală fără diferențiere: dintr-o celulă blast se nasc două celule blaste – astfel în populația celulară prin dividerea clonală se acumulează o populație imensă de celule blaste cu deficit de celule mature funcționale;

- metaplazia – ieșirea celulelor tumorale din organul hematopoietic în sânge și colonizarea altor organe nespecifice (splina, ganglioni limfatici, ficatul etc.) cu substituirea celulelor aborigene; se formează focare noi de țesut tumoral – metastaze; metastazele devin focare tumorale secundare.

Conceptul patogenetic al hemoblastozelor întrunește mai multe legități, care în linii generale sunt prezente în toate formele de hemoblastoze.

1. Conceptul clonal al patogeniei hemoblastozelor. Conform acestui concept tumoarea provine dintr-o singură celulă hematopoietică (pluripotentă sau unipotentă), care sub acțiunea factorului cancerigen a suferit o mutație, care a transformat-o în celulă tumorală. Ulterior din această unică celulă prin proliferare clonală se acumulează o populație de celule tumorale identice celei originale – or tumoarea prezintă o clonă celulară provenită dintr-o singură celulă mutantă (tumoare monoclonală).

2. Coexistența a două populații de celule în organele hematopoietice – populația de celule morfologic și funcțional normale și populația celulelor tumorale. În debutul tumorii predomină populația sănătoasă de celule progenitoare și respectiv populația de celule diferențiate, din care cauză tumoarea clinic nu se manifestă. Ulterior, din cauza potențialului proliferativ enorm al clonei tumorale are loc predominarea absolută a populației de celule tumorale asupra celulelor diferențiate.

Deosebiriile dintre populația celulară normală și cea leucemică sunt esențiale.

- a) Celulele din clona leucemică posedă potențial enorm de proliferare necontrolată, care depășește potențialul proliferativ a celulei normale. Astfel, limita de multiplicare a celulei normale până la diferențierea deplină este de 6 mitoze; celula leucemică timp de 3 luni se multiplică de 40 de ori, dând naștere a 10^{12} celule nediferențiate cu masa de 1 kg. Începând de la limita aceasta leucemia se manifestă clinic;
- b) asincronismul dintre proliferarea intensă și diferențierea întârziată (blocul diferențierii) a celulelor tumorale;
- c) longevitatea populației leucemice – din cauza refracterității față de apoptoză celulele tumorale sunt practic nemuritoare. Celulele somatice umane și altor organisme pluricelulare posedă o anumită limită

de multiplicare – conform limitei *Hayflick* (*Hayflick limit, anul 1961*) aceasta constituie cca 50 de mitoze, după care celula moare. Limita de mitoze depinde de reducerea progresivă a lungimei telomerilor cu fiecare mitoză. Telomerul este polinucleotidul atașat la capetele ADN, care se reduce cu fiecare replicare a moleculei de ADN aproximativ cu 3-6 nucleotide, astfel că la limita Hayflick telomerul se reduce cu 150-300 nucleotide, ceea ce conduce la moartea celulei prin apoptoză. (Enzima ADN - polimeraza poate replica molecula de ADN, dar nu și capetele – telomerele). În celulă există enzima telomeraza, care poate restabili lungimea telomerului, ceea ce alungește perioada reproductivă a celulei, însă în celulele normale somatice telomeraza este inactivă – ea este activă doar în gamete și celulele canceroase. S-a constatat, că celulele tumorale produc telomeraza activă, care restabilește lungimea telomerului cu fiecare mitoză – astfel celula devine nemuritoare, multiplicându-se înfinit fără epuizarea telomerilor. Acesta este modelul de imortalizare a celulelor tumorale.

3. Substituția populației normale de către populația tumorală. Odată cu expansia populației tumorale are loc substituția progresivă a populației celulelor normale de către clona tumorală și supresia tuturor seriilor hematopoietice normale din măduva roșie. Mecanismele supresiei hematopoezei normale de către celulele tumorale sunt multiple:

- substituția mecanică a populației normale de către populația tumorală expansivă;
- fibrozarea măduvei și substituția populațiilor normale cu țesut conjunctiv;
- factorii stimulatori de colonii elaborați de celulele matricei stimulează mai intens celulele tumorale decât cele normale;
- celulele leucemice elaborează factori umorali, care inhibă proliferarea celulelor normale, dar nu și celor tumorale;
- prin competiție populația tumorală epuizează sursele nutritive cu inaniția populației sănătoase.

În rezultat are loc regresia seriilor normale hematopoietice cu manifestările respective: anemie (hipoxie), diminuarea populației de leucocite diferențiate (imunodeficiență naturală și adaptativă), trombocitopenie (sindrom hemoragic).

4. Ieșirea în circulația sanguină a celulelor tumorale imature. În hematopoieza normală celulele intermediare imature (blastele, promielocitele, mielocitele, parțial și metamielocitele) prin moleculele de adeziune intercelulară sunt atașate de matricea intercelulară și nu pot ieși în circulație; doar celulele normale mature (granulocitele nesegmentate, segmentate) pierd moleculele de adeziune, se desprind de matrice și ies în circulație. Celulele tumorale de orice generație (blaste, promielocite, mielocite, metamielocite) sunt lipsite de moleculele de adeziune intercelulară, nu se fixează de matrice și ies în circulație. Detașarea celulelor tumorale din focarul primar conduce la apariția acestora în sânge (blastemie), diseminarea celulelor tumorale, infiltrarea și colonizarea organelor extramedulare – survine metaplazia, metastazarea tumorii primare cu formarea de tumori secundare. Mai frecvent are loc metastazarea leucemiilor din măduvă în splină, ganglioni limfatici, ficat și alte organe.

Metastazele extramedulare a leucemiilor se comportă conform microecologiei organelor colonizate: devin autonome, acaparează proprietăți deosebite de tumoarea primară, inclusiv se modifică și sensibilitatea la citostatice - citostaticele eficiente contra tumorii primare devin ineficiente pentru tumoarea metastatică.

Hemoblastozele extramedulare (limfoamele) metastazează în sens opus – din organele limfoide în măduva roșie – are loc leucemizarea limfoamelor.

5. Progresia tumorală. Celulele din clona tumorală sunt predispuse la mutații – astfel în populația clonei primare prin mutații apar subclone tumorale - tumoarea conține populații cu diferit genotip - devine policlonală. Prin progresie apar clone mai maligne decât clona primară. Astfel, mutațiile în cadrul leucemiilor cronice (mielocitare și limfocitare), care inițial la etapa monoclonala constau din celule diferențiate, conduc la apariția clonelor de celule nediferențiate – blaste, ceea ce atribuie bolii caracter malign cu evoluție fulgerătoare – acutizarea și criza blastică în stadiul terminal. Progresia tumorală transformă hemoblastoza cronică în forma acută și conduce la final.

Odată cu apariția clonelor multiple organismul efectuează selecția celor mai rezistente clone: prin reacțiile protective imune, hormonale sunt anihilate clonele mai puțin agresive, iar clonele cele mai

rezistente și agresive supraviețuiesc. Astfel organismul lucrează în detrimentul său, păstrând cele mai rezistente clone de celule tumorale.

Reieșind din patogenie evoluția leucemiilor decurge în câteva stadii caracteristice în linii generale pentru toate formele de leucemii.

Stadiul I - inițierea (transformarea tumorală) – sub influența factorului cancerigen celula-stem hematopoietică suferă mutații (sau deleții cromozomiale – ruperea cromozomului cu pierderea unui segment); mutațiile genelor antioncogene și oncogene conduc la inactivarea programului antioncogen, inactivarea programului apoptogen, hiperexpresia oncogenelor și programului antiapoptotic. Celula capătă proprietatea de proliferare nelimitată și nemurire.

Stadiul II – promoția – stadiul monoclonal – apariția monocloniei de celule tumorale cu proliferarea nelimitată, necontrolată și acumularea unei populații imense de celule mutante.

Stadiul III – progresia (stadiul oligo-policlonal) - apar mutații numeroase în celulele primei clone și nașterea clonelor multiple tumorale. Apar subclone blaste mai agresive și mai maligne cu proprietăți supresive pentru hematopoieza normală și metaplazie.

Stadiul IV – terminal – acutizarea (criza blastică) a leucemiilor cronice.

Particularitățile leucemiilor acute și cronice.

Deși principiile patogenetice generale sunt proprii atât leucemiilor cronice, cât și celor acute, deosebirea esențială este celula de origine a hemoblastozelor: hemoblastozele acute provin din celulele-stem unipotente cu blocul diferențierii la nivel de blast, iar hemoblastozele cronice provin din celulele-stem pluripotente cu diferențierea până la celulele mature. Ambele forme de hemoblastoze se caracterizează prin capacitatea nelimitată de proliferare și transformarea în forme policlonale.

Leucemiile acute prezintă tumori maligne provenite din mutația celulelor hematipoietice unipotente blaste ale măduvei roșii: eritroblast, mieloblast, megacarioblast, monoblast, limfoblast etc.

O particularitate a leucemiilor acute este proliferarea clonală necontrolată și nelimitată a blastului mutant cu reproducerea altor blaste până la extenuarea organismului – gazdă.

A doua proprietate este blocul diferențierii blastului mutant tumoral – multiplicarea celulelor tumorale blaste decurge cu dividere clonală – respectiv clona tumorală blastică crește progresiv, iar celulele nediferențiate nefuncționale înlocuiesc celulele mature, funcționale.

A treia particularitate este inhibiția populației celulare normale de către clona tumorală cu simptomele clinice respective – anemie (hipoxie), granulocitopenie, limfocitopenie (imunodeficiență), trombocitopenie (sindromul hemoragic).

Leucemiile acute mieloide: formele normo- sau leucopenice – leucocitele în sângele periferic - $0,1 \times 10^9/L$ - $10 \times 10^9/L$; formele subleucemice (sub $50 \times 10^9/L$); formele leucemice (peste $50 \times 10^9/L$); anemia; trombocitopenia.

Majoritatea leucocitelor în sânge sunt reprezentate de blaste; granulocite – puține nesegmentate și segmentate (lipsa formelor celulare intermediare – promielocite, mielocite, este denumită *hiatus leukemicus*. Mielograma demonstrează infiltrația blastică.

Limfocitoza acută se manifestă prin substituția seriilor medulare cu celule limfoblaste, invadarea sângelui cu limfoblaste (până la 90%), anemie, trombocitopenie, granulocitopenie.

Leucemiile cronice prezintă tumori mieloproliferative și limfoproliferative cu potențial nelimitat proliferativ, dar cu păstrarea capacității de diferențiere până la celule mature. Leucemiile cronice provin prin mutația celulei pluripotente – predecesorul comun mieloid sau predecesorul comun limfoid cu predominarea proliferării unei serii: eritro-, mielo-, megacario-, monoblaste, limfocitelor B sau T.

Mieloleucemia cronică – boală clonală originară din predecesorul comun pluripotent mieloblast, proliferarea necontrolată și nelimitată a celulelor mieloide în măduva roșie cu generarea de granulocite (neutrofile, bazofile, eozinofile) mature. Are la bază translocarea cromozomială și asamblarea unui cromozom anomal - cromozomul Philadelphia, Ph. Cromozomul Philadelphia apare prin translocarea reciprocă între cromozomii 9 și 22 (provoacă cca 95% de cazuri de mieloleucoză cronică și cca 25% de

cazuri de leucemie limfoblastă acută). În rezultatul translocației gena ABL1 (*Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*) din cromozomul 9 se unește cu locusul BCR (*breakpoint cluster region*) a cromozomului 22 – în rezultat se formează proteina himeră BCR-ABL1, care posedă activitate tirozinkinazică. În normă tirozinkinaza este mediatorul, care transmite semnalul mitotic de la factorii de creștere (IL3) spre nucleu – astfel inițiază mitoză. Deoarece himera BCR-ABL1 se transcrie și persistă permanent în celulă, activitatea mitotică a celulei devine perpetuă, interminabilă fără a trece în faza de repaus G₀. Mai mult, proteina BCR-ABL1 inhibă reparația ADN, ceea ce face celula sensibilă la alte mutații genice.

Or proteina BCR-ABL1 formată în rezultatul deleției cromozomiale este baza patogenetică a mieloleucemiei cronice. Deoarece proteina BCR-ABL cu activitate tirozinkinazică stă la baza proliferării necontrolate a celulelor, strategia terapeutică antitumorală va fi ațintită spre inhibiția tirozinkinazei.

În mieloleucemia cronică în stadiul monoclonal în măduva roșie aproape 100% de celule au cromozomul Ph (mielocariocitele, eritrocariocitele, megacariocitele). Leucograma demonstrează leucocitoză neutrofilă cu devierea nucleului spre stânga până la promielocite; bazofilie și eozinofilie (asociația bazofilă- eozinofilă); eritrocitele și trombocitele – norma.

În stadiul policlonal (criza blastică) – scade procentul neutrofilelor segmentate și nesegmentate, crește procentul de mielocite, promielocite, mieloblastele; trombocitopenia.

Leucemia cronică limfocitară este un proces limfoproliferativ; inițial apare tumoarea monoclonală prin mutația predecesorului comun limfoid din măduva oaselor. Celula mutantă malignă dă naștere clonei de celule cu potențial proliferativ mare și nelimitat, dar cu diferențierea până la limfocite mature – în 95% tumoarea este B-celulară; în 5% - T-celulară.

Linfocitele B în leucoza limfocitară cronică sunt atipice pozitive CD5/CD19/CD23 în măduvă, splină, ganglioni limfatici, ficat. Celulele maligne au mutația cu supresia genei p53 (proapoptogenă) și expresia excesivă a BCL-2 (antiapoptogenă) – în rezultat celula tumorală se eschivează de la apoptoză. Clona

malignă substituie alte serii medulare: eritrocitare (sindromul anemic), megacariocitare (sindromul hemoragic), granulocitare (sindromul infecțios).

Celulele maligne ies în circulația sanguină și infiltrează organele extramedulare.

Limfoamele prezintă tumori maligne, care se dezvoltă din celulele limfoide extramedulare:

limfoamele Hodgkin – 80% din B-limfocitele mature și 20% - din T-limfocitele mature ale ganglionelor limfatici.

Limfoamele non-Hodgkin sunt tumori din limfocitele B și T din ganglionii limfatici cu blocul la diferite etape de blasttransformare.

VIII. Fiziopatologia leucocitozelor și leucocitopeniilor

Leucocitozele și limfocitopeniile prezintă procese secundare leucopoitice, reacția sistemului leucocitar la procesele patologice primare localizate în afara organelor hematopoietice provocate de factori patogeni exogeni sau dishomeostazii endogene.

Procesele secundare leucocitare sunt provocate de factori biologici (viruși, bacterii, ciuperci, protozoare, paraziți pluricelulari), substanțe biologice active (hormoni, citokine, mediatori proinflamatori, factori de creștere), alergene și haptene (vaccinuri, seruri imune, antibiotice, sulfanilamide, alte medicamente cu structură antigenică sau haptenică) și reprezintă reacții protective.

Procesele secundare în formă de leucocitoze se manifestă prin modificări în organele leucopoitice (regenerarea accelerată, hiperproliferare, hiperproducția de leucocite), modificări în circuitul sanguin (leucocitoză, apariția celulelor imature) și în țesuturi (creșterea populației de leucocite rezidente, activarea leucocitelor aflate în stare de repaus funcțional, demararea proceselor fiziologice adaptativ-protective specifice fiecărei forme de leucocit.

Procesele secundare în formă de leucocitopenii se manifestă prin inhibiția leucocitopoiezei și devastarea celulară cu modificările consecutive în sângele periferic – diminuarea numărului de leucocite, îmbătrânirea populației leucocitare circulante.

Cea mai evidentă și ușor apreciabilă manifestare a proceselor stimulative în organele leucopoietice este leucocitoza – creșterea numărului de leucocite în sânge, în timp ce modificările esențiale din organele leucopoietice și organele de reședință a leucocitelor rămân în umbră și pot fi dezvăluite doar prin investigații speciale.

Sistemul leucocitar nu este unul unitar - fiecare formă de leucocit prezintă un sistem morfofuncțional integru cu funcții specifice și reacții discrete la diferiți agenți patogeni și necesită o analiză aparte.

1. Procesele reactive limfocitare.

Celula progenitoare a tuturor seriilor leucocitare este celula-stem hematopoietică multipotentă, de la care provin 2 celule pluripotente: predecesorul comun mieloid și predecesorul comun limfoid. Ulterior diferențierea predecesorului limfoid dă naștere celulelor unipotente – blaste: limfoblastul B, limfoblastul T și limfocitele kileri naturali (NK).

Multiplicarea și diferențierea limfoblastului T și B decurge în două etape cu legități diferite: limfocitopoieza și imunopoieza.

Limfocitopoieza reprezintă multiplicarea limfoblastelor T și B până la limfocitele mature T și B și este un proces antigenindependent - decurge în lipsa antigenelor străine. Rezultatul final al limfocitopoiezei este generarea clonelor de limfocite naive specifice pentru tot spectrul de antigene existente în natură. Limfopoieza limfocitelor B decurge în măduva roșie din limfoblastul B, iar a limfocitelor T – din limfoblastul T emigrat din măduva roșie în timus. Limfopoieza finisează cu elaborarea clonelor de limfocite specializate pentru depistarea antigenelor străine, care vor contacta cu organismul pe parcursul vieții.

Limfocitopoeza este un proces proliferativ unic caracteristic doar pentru un singur tip de celule somatice din corpul uman – limfoblastele T și B. Datorită prezenței în limfoblaste a enzimei speciale recombinaza, la fiecare mitoză are loc recombinația genei responsabile de sinteza receptorilor specifici limfocitari, care recunosc antigenul – BCR (*B-cell receptor*) și TCR (*T cell receptor*). Astfel fiecare celulă descendentă de la limfoblast posedă receptor cu configurație unică, specifică doar pentru un singur antigen. În rezultat proliferarea dă naștere la multiple clone limfocitare, fiecare cu receptor specific doar pentru un antigen, iar numărul clonelor este imens și comparabil cu numărul de antigene existente în natură. Or fiecărui antigen natural corespunde o clonă specifică de limfocite după principiul: o clonă de limfocite doar pentru un singur antigen. (De menționat, că proliferarea cu recombinația genelor este proprie și celulelor sexuale – gameților).

Limfopoeza rezultă cu formarea clonelor de limfocite naive (virgine), care se află în repaus, dar care vor deveni active și funcționale în colaborare cu alte celule imunocompetente la contactul cu antigenul specific.

Limfocitele T-naive și B-naive reemigrează din timus și măduva roșie în organele limfoide periferice: splină, ganglionii limfatici, formațiunile limfoide compacte din tubul digestiv, tractul respirator, urogenital. Astfel, spre deosebire de organele imune centrale monovalente (măduva generează limfocite B, timusul – limfocite T), organele limfoide periferice sunt bivalente – posedă populație de limfocite B, care vor elabora imunitate umorală cu anticorpi și populație de limfocite T, care vor elabora imunitate celulară cu limfocite citotoxice.

Limfocitele T și B naive circulă în sânge tranzitând regulat nodulii limfatici, unde, contactând cu antigenul, prin imunopoieză vor deveni celule active, imunogene.

A doua etapă de specializare a limfocitelor este imunopoieză.

Imunopoieză limfocitului B naiv demarează la contactul cu antigenul specific, care activează limfocitul, îl transformă în limfoblast, acesta se multiplică fără recombinația genei BCR – astfel în rezultatul imunopoiezei se formează o populație numeroasă de limfocite B specifice antigenului – clona

imună. Imunopoeza B decurge în cooperare cu macrofagele și limfocitele T-helper. Ulterior limfocitele B din clona imună se diferențiază în plasmocite producătoare de imunoglobuline – IgM, IgG, IgA, IgD, IgE. La finele reacției imunologice limfocitele B participante sunt supuse apoptozei, însă nu toate. O parte din limfocitele din clona specifică nu se diferențiază în plasmocite, se eschivează de apoptoză și formează populația longevită de celule B de memorie, care vor reacționa prompt la pătrunderea repetată a aceluiași antigen.

Imunopoeza limfocitelor T naive. Primind antigenul străin de la celulele antigenprezentatoare în ganglionul limfatic limfocitul T naiv este reținut aici și se transformă în limfoblast, se divide, dar fără recombinarea genei receptorului TCR – astfel se formează clona de limfocite T cu același receptor specific doar pentru antigenul, care l-a activat.

În rezultatul imunopoezei limfocitului T se formează clone specifice de T- helperi (CD4+), care verifică specificitatea antigenică a străinului și îl diferențiază de antigenele proprii (evită autoimunitatea, autoagresia limfocitelor contra antigenespr proprii) și permit limfocitelor T – kileri (citotoxice; CD8+) de a nimici obiectul străin («licență de vânătoare»). Limfocitele Th dau naștere subclaselor de Th1, Th2 și Th17. A treia clasă sunt limfocitele T reglatoare (denumirea veche – supresoare), care modulează răspunsul imun exagerat.

Homeostazia și dereglările sistemului limfocitar pot fi apreciate prin detreminarea cantitativă a claselor de limfocite în organele limfopoitice, în sângele circulant și prin estimarea funcționalității limfocitelor (activitatea anti-antigenică, sinteza imunoglobulinelor).

Din numărul total de leucocite în sângele circulant egal în normă cu $4-9 \times 10^9/L$, rata limfocitelor constituie cca 25 %. Limfocitele în sânge sunt reprezentate de limfocitele T (naive, Th, Tk, Tr, NK) – 85% din totalul de limfocite circulante și limfocitele B (naive și angajate, plasmocite) – cca 15%.

Modificările cantitative a limfocitelor sunt limfocitozele și limfocitopeniile.

Limfocitoza – creșterea numărului de limfocite în sânge (în unitate volumetrică și în volumul total de sânge). Limfocitoza indică activarea sistemului limfocitar.

Clasificarea limfocitozelor

1. Limfocitoze fiziologice – însoțesc diferite stări fiziologice neinfecțioase (noi-născuții, efort fizic și psihoemoțional).
2. Limfocitoze patologice primare (neoplazice) – hemoblastozele.
3. Limfocitoze patologice secundare (reactive) – simptom al unei patologii primare nonhematologice, reacția seriei limfocitare la procese patologice în organele extramedulare: infecții cu imunitate celulară - viroze (hepatita C, variola, rușeola, mononucleoza infecțioasă, citomegalovirus, rușeola); infecții bacteriene cronice (tuberculoza, sifilis, bruceleza, lepra), micoze, protozoare. Odată cu rezoluția procesului infecțios limfocitele revin la normal.
4. Reacții leucemoide tip limfocitar. Noțiunea reacție leucemoidă (asemănătoare, care imită leucemia) este aplicată din motivul, că în această reacție crește considerabil numărul total de leucocite (hiperleucocitoză), în circulație apar și celule tinere, ceea ce aparent seamănă cu leucemia. Însă în esență reacția leucemoidă nu are în patogenie creșterea blastomatoasă, ci este provocată de factor infecțios, la eradicarea căruia limfocitele revin la normal fără consecințe.

Limfocitozele primare și secundare sunt absolute (adevărate), deoarece are loc creșterea numărului absolut de limfocite în unitate volumetrică și în volumul total de sânge în baza hiperproducției de limfocite.

În afară de limfocitozele absolute (adevărate) în clinică se mai utilizează și noțiunea de limfocitoze relative (false) – creșterea doar a procentului de limfocite în sânge în baza scăderii altor forme de leucocite (cel mai frecvent – neutrofilele), dar cu păstrarea normală a numărului absolut de limfocite în sânge; în acest caz termenul limfocitoză nu este adecvat și conduce la confuzii.

Limfocitopenia – micșorarea numărului de limfocite în unitate volumetrică și volumul total de sânge sub 1000/mcl de sânge; la copiii până la 2 ani – 1500/mcl sânge. Limfocitopeniile reflectă procesele aplastice, distructive, degenerative în organle limfopoetice, dar și procesele, care alterează limfocitele în patul vascular. Limfocitopeniile se manifestă prin diminuarea reacțiilor proprii limfocitelor – imunitatea.

Clasificarea limfocitopeniilor

1) Limfocitopenii primare, ereditare (imunodeficiențe ereditare):

- imunodeficiența tip B prezintă defectele ereditare a seriei de limfocite B; survine lipsa limfocitelor B naive și reacțiilor imune tip umoral - incapacitatea de a sintetiza imunoglobuline (agmaglobulinemia); incapacitatea de a manifesta reacții alergice imediate; predispoziția la infecții bacteriene acute, toxicoinfecții. Imunodeficiențele tip B fac 70% din imunodeficiențele primare (ereditare). Clinic se manifestă prin infecții frecvente bronho-pulmonare, gastrointestinale și generalizate. Totodată infecțiile virale decurg obișnuit, deoarece sunt păstrate limfocitele T și imunitatea celulară. La fel se păstrează și reacțiile alergice tip întârziat (efectuate de limfocitele T).
- Imunodeficiența tip T prezintă defectele ereditare a seriei de limfocite T; survine lipsa limfocitelor T și reacțiilor imune celulare; incapacitatea de a manifesta reacții alergice tip întârziat; predispoziția la infecții specifice cronice, viroze (*Herpes simplex*, *Varicella zoster*, *Cytomegalovirus*), micoze, protozoare, ciuperci patogene; predispoziția la boli autoimune; predispoziția la neoplasme. Deoarece limfocitele Th sunt implicate și în reacțiile imune umorale în acest tip de imunodeficiență suferă și imunitatea umorală.
- Limfocitopenia ereditară mixtă este cea mai gravă formă - afectează concomitent ambele serii de limfocite – B și T; lipsa reacțiilor imune de ambele tipuri – umorală și celulară. Caz tipic – imunodeficiența combinată *DiGeorge*.

2. Limfocitopeniile secundare, dobândite:

- inaniția proteică;
 - limfocitopenia autoimună;
 - SIDA – distrucția limfocitelor T-helper CD4+ de către virusul HIV: survine predispoziția la infecțiile oportune și bolile oncologice;
 - razele ionizante - radioterapia proceselor tumorale;
 - citostaticele – chimioterapia proceselor tumorale;
 - serul antilimfocitar utilizat în transplantul de organe pentru a preveni reacția de rejet;
 - sindromul Cushing, hormonoterapia bolilor alergice și autoimune cu glucocorticosteroizi, care provoacă apoptoza limfocitelor;
 - Lupusul eritematos sistemic; artrita reumatoidă; miastenia.
-

2. Procesele reactive granulocitare.

2.a. Neutrofilia și neutropenia.

Regenerarea granulocitelor (inclusiv a neutrofilelor) decurge în măduva roșie din celula-stem pluripotentă – predecesorul comun mieloid, trecând consecutiv prin formele de mieloblast – promielocit neutrofil – mielocit neutrofil – metamielocit neutrofil – neutrofil nesegmentat – neutrofil segmentat. Diferențierea este stimulată de interleukina IL-3, factorii stimulatori de colonii G- CSF (granulocite), MG- CSF (monocite, granulocite), de neutrofilopoietine și inhibată de șaloane (keiloane). Glucocorticosteroizii, androgenele, somatotropina stimulează neutropoieza și rețin neutrofilele în patul vascular.

În seria granulocitară capacitatea de multiplicare posedă mieloblastele, promielocitele și mielocitele: diferențierea mieloblastului până la mielocit parcurge 4-6 mitoze cu formarea a 16-64 de mielocite.

Mielocitul posedă potențial regenerativ – în regim fiziologic parcurge încă 2 mitoze până la metamielocit; în infecții mielocitul activat parcurge 4 mitoze până la neutrofilul matur – respectiv crește numărul de neutrofile necesar pentru combaterea infecției. O parte de mielocite în măduva roșie intră în ciclul G₀ de repaus mitotic, se rețin în măduvă formând rezerva mielocitară medulară, activată prompt la necesitate. Metamielocitele, nesegmentatele și neutrofilele segmentate mature nu regenerează.

Generațiile neproloferative de granulocite (nesegmentate și segmentate) se rețin în măduvă pentru 5-7 zile, formând rezerva granulocitară a măduvei, care depășește celulele neutrofile din circulație de 30 ori. Aceasta asigură dezvoltarea rapidă (câteva ore) a neutrofiliei în infecțiile bacteriene acute din contul rezervei medulare.

Sporirea paralelă în sânge a numărului de neutrofile mature și neutrofile tinere denotă o reactivitate adecvată la infecții și este un predictor pozitiv al evoluției benefice a procesului inflamator. Totodată progresarea în infecții a procentului de celule tinere în sângele periferic în asociere cu diminuarea celulelor mature denotă epuizarea rezervelor proliferative medulare și prezintă un predictor nefavorabil al evoluției inflamației.

În sângele circulant sunt lansate neutrofilele nesegmentate și cele segmentate (în raport de cca 1:20). Neutrofilele în patul vascular se subîmpart în neutrofile în libera circulație și neutrofilele parietale – fixate de endoteliu prin moleculele de adeziune. Între aceste două populații există schimb permanent și echilibru dinamic 1:1; astfel numărul de leucocite libere depistate în sângele circulant face doar jumătate din populația totală de neutrofile din patul vascular. Totodată, desprinderea neutrofilelor parietale de la vas (în spasmarea vaselor) sau sechestrarea celulelor în microvase (în șoc) modifică numărul de neutrofile circulante, are loc redistribuirea leucocitelor în diferite arii vasculare – survine leucocitoza sau leucocitopenia relativă prin redistribuire.

Neutrofilele sunt cea mai numeroasă și cea mai dinamică populație de leucocite - la matur zilnic înnoiesc cca $1,6 \times 10^{12}$ celule. Neutrofilele neformate ieșite din măduvă circulă în sânge doar 10-12 ore, după ce emigrează în interstițiu. În patul vascular circulă neutrofilele nesegmentate (cca 3% - 200 celule

în 1 mcl de sânge) și neutrofilele segmentate (cca 60% - 4000 celule în 1 mcl sânge). Neutrofilele permanent emigrează din patul vascular în interstițiu, unde persistă timp de 2-6 zile, după ce mor prin apoptoză și sunt fagocitate de macrofage. Neutrofilele din țesuturi nu revin în circulația sanguină.

În țesuturi neutrofilele execută funcția de protecție naturală (fagocitoza xenobionților), participă în cooperare cu imunocitele și în reacțiile protective adaptative. Neutrofilele fagocitează microorganisme (coci), care provoacă inflamație acută. Populația de neutrofile prezentă în țesuturi în lipsa agresiunii bacteriene nu este suficientă pentru contracararea infecției. Numărul suplimentar de neutrofile este recrutat pe două căi: stimularea neutropoiezei și mobilizarea promptă a rezervelor de neutrofile din măduva roșie – în rezultat crește numărul de neutrofile circulante în sânge – survine leucocitoza neutrofilă, neutrofilia. Neutropoieza este stimulată de citokinele proinflamatoare – factorii stimulatori de colonii granulocitare și monocito-granulocitare (G-CSF și MG-CSF), de antigenele și produsele vitale bacteriene și produsele de dezintegrare tisulară.

Ieșirea topică selectivă a neutrofilelor din sânge în focarul inflamator este asigurată de citokinele și mediatorii formați în focarul inflamator (selectine, integrine, factorii chemotactici), care activează local endoteliocitele, provoacă adeziunea la peretele vasului și ieșirea neutrofilelor în focarul inflamator. Chemotactismul este exercitat de citokine, leucotriena B₄, histamina, fragmentele active a complementului C_{3a}, C_{5a}, fragmentele fibrinolizei, de trombină, fibrină, neuropeptide, fragmentele imunoglobulinelor și citokinele - chemokine profesionale.

Parvenite în focarul inflamator neutrofilele efectuează fagocitoza microorganismelor. Fagocitoza decurge în câteva etape consecutive: apropierea, adeziunea la obiect, înglobarea și dezintegrarea obiectului.

Apropierea este datorată substanțelor chemotactice (antigenele microbiene, produsele de dezintegrare celulară, mediatorii mastocitari, histamina, factorii chemotactici mastocitari, fragmentul constant al imunoglobulinelor Fc, fragmentele complementului activat C_{3a}, C_{5a}).

Adeziunea neutrofilelor la agentul patogen se datorește prezenței pe membrana citoplasmatică a neutrofilelor a receptorilor naturali specifici pentru lipopolizaharidele microbiene, fragmentul Fc, fragmentul major al complementului activat C3b, care opsonizează bacteria. Urmează apoi inglobarea obiectului în fagocit cu formarea fagozomului, contopirea cu lizozomul cu formarea fagolizozomului, unde se desfășoară ultimul act al fagocitozei – anihilarea obiectului fagocitat cu concursul sistemelor bactericide a neutrofilelor.

Datorită substanțelor biologice neutrofilele exercită în țesuturi multiple efecte: bactericide, virucide, tumoricide, histolitice, flogogene, imunogene.

Mecanismele bactericide ale neutrofilelor:

a) mecanismele bactericide oxigendependente includ radicalii liberi de oxigen și clor, formați prin activarea mecanismelor enzimatică: mieloperoxidaza (scindează peroxidul de oxigen), NADPH-oxidaza cu formarea radicalilor de oxigen și clor;

b) mecanismele bactericide oxigenindependente includ numeroase enzime, care dezintegrează agentul patogen sau țesuturile proprii, asigurând accesul neutrofilelor în focarul inflamator:

- proteina cationică activă față de bacteriile Gram-negativ – crește permeabilitatea membranei citoplasmatică bacteriene, ceea ce conduce la citoliză;
- lizozimul (muramidaza) și fagocitina – provoacă liza bacteriilor Gram-negativ și pozitive;
- enzimele amilo-, proteo- și lipolitice, care scindează substratul organic al bacteriilor;
- elastaza – scindează sialoforina (CD43) care asigură funcția de barieră a membranei celulare bacteriene.

Mecanismele histolitice a neutrofilelor provoacă liza componentelor țesuturilor proprii, care are o semnificație ambiguă: pe de o parte liza matricei intercelulare asigură pătrunderea neutrofilelor în spațiile interstițiale, unde s-au inoculat microorganismele; pe de altă parte liza țesuturilor conduce la expansia procesului inflamator, diseminarea infecției prin intermediul neutrofilelor moarte încărcate cu

microorganismele. Ultimul moment dictează necesitatea drenării și lavajului focarelor inflamatoare purulente cu antiseptice (abces, flegmon, empiem). Sistemul histolitic al neutrofilelor include:

- colagenazele și elastaza - dezintegrează elementele țesutului conjunctiv și matricei intercelulare - elastina, proteoglicanele, hemoglobina, fibrinogenul, colagenul;
- hialuronidaza – factorul de permeabilizare, depolimerizează substanța fundamentală a țesutului conjunctiv;
- catepsina G – scindează hemoglobina, fibrinogenul, elastina, proteoglicanele; inactivează bradikina.
- activatorul plasminogenului – efectuează fibrinoliza

Efectele flogogene ale neutrofilelor demarează și mențin reacția inflamatoare și procesele postinflamatorii prin următoarele mecanisme:

- secretă citokine proinflamatoare TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-alfa;
- secretă factorul stimulator de colonii G-CSF și GM-CSF, factorul activator al trombocitelor (PAF);
- secretă factorul de creștere a fibroblastelor (FGF), factorul leucocitar de creștere, care stimulează proliferarea țesutului conjunctiv și contribuie la regenerarea postinflamatoare.

Mecanismele imunogene ale neutrofilelor constau în următoarele:

- amplifică producția de Ig de către limfocitele B;
- posedă efect citolitic imun (*killig*) – în prezența IgG și complementului neutrofilul elimină peroxid de hidrogen și radicali de clor, care omoară celula străină la distanță, fără a o fagocita;
- neutrofilele atacă celulele infectate cu virus și provoacă apoptoza acestora.

Modificările din seria leucocitelor neutrofile includ leucocitoza neutrofilă (neutrofilia) și neutropenia.

Neutrofiliiile – creșterea numărului absolut de neutrofile în unitate de volum și volumul total al sângelui periferic peste limitele normale consecutiv intensificării leucitopoiezei.

Clasificarea neutrofililor

1. Neutrofilie fiziologică – postalimentară, la gravide, la efort fizic, reacții psiho-emoționale – cel mai frecvent este în relație cu redistribuirea neutrofilelor parietale și circulante sau cu redistribuirea leucocitelor în diferite arii ale patului avascular; nu prezintă o neutrofilie adevărată cu stimularea leucitopoiezei, nu indică patologie, nu necesită intervenții medicale.
2. Neutrofilie patologică primară – leucemiile mieloidă; la rând cu creșterea numărului de neutrofile în mieloleucemia cronică apar celule cu defecte cromozomiale – prezența cromozomului Philadelphia; pentru această formă este caracteristică și asociația neutrofilă-bazofilă – creșterea paralelă a numărului de bazofile în sânge.
3. Neutrofilie patologică reactivă (secundară): procese patologice inflamatoare extramedulare: apare în stadiile inițiale ale inflamației acute provocate de cocci piogeni; în traumatisme, necroză, inclusiv infarctul miocardic (inflamație aseptică); hemoragie acută.

Variantele calitative de neutrofilie patologică secundară includ următoarele forme:

- regenerative – cu devierea nucleului spre stânga – apariția unui număr mare de celule tinere - neutrofile nesegmentate, metamielocite (gradul de deviere este estimat prin indicele devierii nucleului spre stânga: suma mielocite + metamielocite + neutrofile nesegmentate raportate la neutrofilele segmentate egal în normă cu 0,05-0,1; în neutrofiliiile regenerative indicele crește);
- degenerative - cu devierea nucleului spre dreapta – diminuarea numărului celulelor tinere, indicele devierii nucleului scade, apar celule senile, hipersegmentate;
- regenerative-degenerative – creșterea numărului de celule nesegmentate și tinere concomitent cu scăderea numărului de celule mature; denotă diminuarea capacității de regenerare și epuizarea rezervelor de granulocite medulare.

4. Neutrofilia în hipercorticism: glucocorticosteroidii stimulează neutropoieza și inhibă emigrarea neutrofilelor din patul vascular în țesuturi.

5. Reacțiile leucemoide mieloid (pseudoleucemice) – reacția organelor hematopoietice cu hiperleucocitoză neutrofilă cu devierea nucleului spre stânga foarte pronunțată asemănătoare cu leucemia, dar care nu prezintă un proces neoplazic; apar în stările septice, toxicoinfecții; odată cu rezoluția procesului inflamator numărul neutrofilelor revine la normal.

6. Neutrofilie relativă (falsă): creșterea procentului neutrofilelor în leucogramă pe seama scăderii procentului de limfocite; numărul absolut de neutrofile nu se modifică; ca atare neutrofilia lipsește.

Neutropeniile.

Neutropenia – micșorarea numărului de leucocite neutrofile în unitate de volum și volumul total al sângelui periferic consecutiv diminuării producției neutrofilelor în măduva roșie.

Neutropenia se instalează în procesele primare distructive sau inhibitoare în sistemul granulocitelor neutrofile și se manifestă prin supresia regenerării seriei granulocitare în măduva roșie, diminuarea numărului de neutrofile în sângele circulant cu lipsa celulelor imature și inactivarea neutrofilelor în organele periferice, ceea ce face posibilă agresiunea bacteriană necontracarată. Procesele poartă semnificație negativă – denotă supresia imunității nespecifice, predispoziția la infecții.

Cauzele și patogenia neutropeniilor:

1. defectul ereditar sau afectarea celulelor stem (anemia aplastică) - se manifestă prin supresia regenerării tuturor seriilor hematopoietice medulare: anemie, granulocitopenie, trombocitopenie;
2. utilizarea citostaticelor, radioterapia tumorilor, virozele (gripa);
3. neutropenia autoimună: la utilizarea medicamentelor cu structură haptenică (antibiotice, sulfanilamide, analgezice, aminazina, antitiroidele, antidiabeticele) are loc asocierea medicamentului la antigenele superficiale ale neutrofilelor - se formează antigene complete, care suscită elaborarea autoanticorpilor; interacțiunea autoanticorpului în liberă circulație cu haptena de

pe neutrofil conduce la opsonizarea neutrofilului cu Fc al imunoglobulinei și C3b al complementului activat; neutrofilul opsonizat este fagocitat de macrofagele splinei – survine reacția alergică tip II citolitică cu neutropenie;

4. afectarea predecesorilor granulo-monocitopoiezei de către T-limfocitele autoagresive (în colagenoze);
5. leucocitopenia ineficace (deficit de vitamină B12, acid folic, fier);
6. expansie tumorală în măduva roșie cu suprimarea și substituirea celulelor sănătoase; intoxicație canceroasă;
7. neutropenii prin redistribuirea în patul vascular: șoc, hemodializa;
8. agranulocitoza – cazul extrem de neutropenie - lipsa totală sau scăderea numărului de neutrofile sub 200/mcl sânge concomitent cu diminuarea drastică a eozinofilelor.

Consecințele neutropeniei și agranulocitozei: imunodeficiență naturală, predispoziția la infecțiile acute cocice.

2.b. Modificările cantitative a granulocitelor bazofile și mastocitelor.

Bazofilele – celulele cu granulație specifică bazofilă în citoplasmă - sunt reprezentate în organism de către două populații celulare: leucocitele bazofile circulante în sânge și mastocitele rezidente în țesuturi.

Granulocitele bazofilele sunt cea mai mică populație de leucocite în sânge - 0,5-1% (22-95 /mcL).

Leucocitele bazofile regenerează în măduva roșie din mieloblast și se diferențiază în bazofile mature prin stadiile de promielocit bazofil, mielocit bazofil, metamielocit și bazofil segmentat.

Maturizarea durează în măduvă 2 zile; peste 7 zile bazofilul matur se elimină în sânge, unde circulă timp de 8 ore; după degranulare moare în circulație. Bazofilopoieza este reglată de bazofilopietine și estrogene; inhibată de steroizi și tiroxină. Bazofilia se depistează în faza de rezoluție a inflamației acute, în stres, mixedem.

Mastocitele sunt cellule similare cu bazofilele. Anterior se considera, că mastocitele sunt bazofilele rezidente emigrate din sânge în țesuturi. Recent a fost demonstrat, că aceste două cellule au origine din două celule hematopoietice. Predecesorul comun al bazofilelor și mastocitelor este celula din măduva roșie, care expresează CD34; ulterior mastocitele ies din măduva roșie în circulație în stare imatură, emigrează în țesuturi, unde se maturizează și trăiesc până la 2 ani. Morfologic se deosebesc de bazofile – mastocitul are dimensiuni mai mari, nucleul nu este segmentat. Mastocitele sunt prezente în majoritatea țesuturilor ce înconjoară vasele sanguine și nervii, în special în piele, plămâni, tractul digestiv, gura, nasul, ochii.

Bazofilele și mastocitele au structură, receptori și biochimie comună și participă cooperativ în procesele patologice: în reacțiile inflamatoare/alergice bazofilele emigrează din sânge în focarul inflamator și exercită aceleași funcții, ca și mastocitele.

Funcțiile bazofilelor și mastocitelor sunt exercitate de substanțele biologice active denumite mediatori (spectru comun pentru ambele populații de celule):

- triptaza – enzimă proteolitică, activează complementul pe cale alternativă; scindează fragmentul C3 cu formarea fragmentului major C3b și fragmentelor active - anafilatoxine C3a, consecutiv, prin cascada și C5a, care posedă multiple funcții: degranulează alte mastocite neactivate, declanșând o reacție inflamatoare autocatalitică în lanț; provoacă hiperemia arterială cu hiperpermeabilizarea vaselor, are efect chemotactic pentru neutrofile și eozinofile – efectul sumar este inflamația acută;
- histamina - provoacă hiperemia arterială cu hiperpermeabilizarea vaselor, efect chemokinet pentru leucocite;
- heparina – anticoagulant natural;
- arilsulfataza – degradează leucotrienele sintetizate de mastocite; preîntâmpină efectul sistemic bronhoconstrictor al leucotrienelor;
- sintetizează eucozanoide:
 - tromboxani – factori proagreganți a trombocitelor

- prostaciline – PG I₂ - factori antiagreganți pentru trombocite
- prostaglandina D₂- recrutează limfocitele Th₂, eozinofilele și bazofilele
- factorul activator al plachetelor (PAF)
- leucotriena C₄ - scindează PAF (factorul activator al plachetelor) secretat de mastocite;
- IL-4 (interleukina – cheie pentru suscitarea sintezei de IgE) și IL-13;
- TNF-alfa;
- factorul de creștere a fibroblastelor, chemochine eozinofilice, radicali liberi.

Mastocitele rezidente și bazofilele emigrate din sânge exercită aceleași funcții în cooperare – demarează și mențin reacțiile inflamatoare acute și reacțiile alergice imediate tip I și III.

În reacțiile alergice tip I interacțiunea dintre antigen și anticorp are loc pe membrana mastocitului cu degranularea acestuia, elaborarea de mediatori mastocitari, care demarează faza fiziopatologică a reacției alergice.

În reacția tip III complexii imuni infiltrază țesuturile, unde are loc activarea complementului cu formarea anafilatoxinelor C_{3a}, C_{5a}, care degranulează mastocitele, iar mediatorii mastocitari provoacă inflamația acută.

În reacția inflamatoare acută și în reacțiile alergice la rând cu mastocitele participă în cooperare și leucocitele bazofile din sânge. Bazofilele posedă receptori membranari pentru factori chemotactici (peptida formilmetionilică bacteriană, anafilotoxinele C_{3a}, C_{5a}, chemochine), pentru fragmentul Fc a IgE, receptori histaminici H₂, toll-like receptori (TLR) pentru PAMP și DAMP. Receptorii membranari asigură emigrarea leucocitelor bazofile din sânge în țesutul inflammat – astfel funcția bazofilelor sanguine este menținerea reacției inflamatoare și alergice demarate de mastocite în țesuturi. Necesitatea participării leucocitelor bazofile în menținerea inflamației acute demarate de mastocite este dictată de următorul fapt. Spre deosebire de mastocite, care după degranulare necesită un timp oarecare pentru restaurarea granulelor cu substanțe biologice active, bazofilele din sânge

prezintă o sursă recuperabilă de mediatori alergici/inflamatori. Astfel anume tandemul mastocite-bazofile mențin neîntrerupt procesul inflamator/alergic. (De menționat, că spre deosebire de bazofile, care mor după degranulare, mastocitele după degranulare restaurează granulele și trăiesc cca 2 ani).

Concomitent cu bazofilele are loc extravazarea eozinofilelor în focarul inflamator alergic declanșat de mastocite, ceea ce are o semnificație deosebită: arsenalul de enzime a eozinofilelor degradează substanțele biologic active eliminate de mastocite-bazofile, fagocitează complexii antigen-anticorp, detritul celular și astfel mențin inflamația în limite și intensitate adecvată.

Bazofilele în cooperare cu eozinofilele sunt angajate în imunitatea antiparazitara contra paraziților multicelulari. Paraziții (helminții) au pe suprafața celulelor receptori naturali, la care se fixează IgE; la rândul lor eozinofilele posedă receptori specifici cu care se fixează de IgE de pe corpul paraziților, degranulează eliberând substanțe citolitice – perforina, care perforază celulele parazitului și provoacă moartea acestora (în special larvele), granzime, care pătrund în celulele perforate și provoacă apoptoza.

Stimularea regenerării în sistemul granulocitelor bazofile se manifestă prin sporirea numărului de bazofile în sângele circulant și activarea mastocitelor în organele periferice. Procesele poartă semnificație protectivă.

Bazofilia – creșterea numărului absolut de bazofile în unitate volumetrică și în volumul total de sânge.

Clasificarea bazofiliilor:

1. Bazofilia primară se întâlnește în procele mieloproliferative, în leucemia mieloidă cronică în formă de neutrofilie cu asociația bazofilă-eozinofilă.
2. Bazofilia secundară reactivă se observă în:
 - reacțiile alergice imediate (reacțiile anafilactice generalizate și locale) – șocul anafilactic, dermatita atopică, rinita alergică, alergiile alimentare;
 - hipotireoza, terapia cu tireostatice (hormonii tiroidieni inhibă regenerarea bazofilelor);
 - invazii parazitare; protozoare;

- hemofilie.

Din motive tehnice (numărul extrem de mic al bazofilelor în sânge) bazofilia este greu de depistat și nu furnizează informație diagnostică sau predictivă. Degranularea bazofilelor *in vitro* sub acțiunea antigenului specific este un procedeu de diagnosticare a reacțiilor alergice imediate. (Se efectuează prin incubarea bazofilelor colectate de la pacientul cu reacție anafilactică cu mostrele de alergene suspectate - alergenul în cauză este depistat prin degranularea bazofilelor).

Din cauza conținutului foarte mic de celule bazofile în sângele periferic bazopenia nu are utilizare practică.

2.c. Modificările cantitative a granulocitelor eozinofile

Eozinofilele regenerează în măduva roșie din celula stem unipotentă - mieloblast - și se diferențiază consecutiv prin stadiile de promielocit eozinofil, mielocit eozinofil – eozinofil matur. Producția eozinofilelor este reglată de IL-3 și 5, factorul stimulator de colonii granulocitar-monocitar (GM-CSF). Eozinofilele se maturizează în măduva roșie timp de 8 zile; în patul vascular circulă timp de 12 ore, după care ies în țesuturi (piele, mucoasele tractului digestiv, plămâni, tractul urinar), unde persistă 10-12 zile și mor prin apoptoză. Activarea și migrarea eozinofilelor este stimulată de factori chemotactici: C_{3a} , C_{5a} și C_{567} , factorul chemotactic mastocitar, antigenele parazitare.

Numărul de eozinofile în sânge constituie cca 100-250/mcL – cca 1-5% din totalul de leucocite în hemocirculație. Conținutul eozinofilelor în țesuturi depășește de 100 ori conținutul în sânge.

În reacțiile stimulative eozinofilele apar în sânge foarte timpuriu, dar dispar peste 3 ore și reapar din nou în sânge din țesuturi. Recirculația sânge – țesut – sânge menține eozinofilia în sânge.

În țesuturi eozinofilele se acumulează în locurile cu concentrație fiziologică mare de histamină – mucoasa intestinală, pulmoni – aici concentrația celulelor depășește cea din sânge de 300 ori.

Funcția principală a eozinofilelor este imunitatea naturală antiparazitara – eozinofilele au afinitate pentru IgE și IgG fixate pe corpul parazitului multicelular. Fixându-se de corpul parazitului eozinofilul degranulează și elimină substanțe citolitice (perforine, proteina bazică principală, proteina cationică, granzime), care provoacă moartea parazitului. Un alt rol important al eozinofilelor este modularea reacției inflamatoare și alergice declanșate de mastocite/bazofile prin fagocitoza și degradarea substanțelor biologice active, a complexilor antigen-anticorp, degradarea histaminei, leucotrienelor, anihilarea radicalilor liberi etc.

Granulele eozinofilelor conțin numeroase substanțe biologice active:

- enzime lizomale proteolitice - colagenaza, elastaza, ARN-aza, catepsine;
- glucuronidaza;
- lipooxigenaza, ciclooxigenaza – sintetizează eucozanoizi;
- peroxidaza – scindează peroxidul de hidrogen;
- arilsulfataza – scindează leucotrienele;
- histaminaza - scindează histamina;
- proteina majoră bazică (*major basic protein, MBP*) cu efect citotoxic pentru larvele paraziților;
- proteina cationică eozinofilă cu efect citolitic;
- perforina – perforază membrana citoplasmatică, provoacă citoliza;
- granzime – provoacă apoptoza celulelor paraziților;
- sistemul oxidativ - generează specii reactive de oxigen (peroxizi, monoxid de azot, halogene, cianuri) cu potențial oxidativ superior neutrofilelor, care provoacă apoptoza și necroza microorganismelor;
- neurotoxina eozinofilică (*eosinophil-derived neurotoxin, EDN*);
- factori de creștere – factorul transformator de creștere (TGF-beta), factorul endotelial de creștere, factorul trombocitar de creștere.

Rolul biologic al eozinofilelor:

- anihilarea extracelulară a paraziților pluricelulari prin citoliză – proteina principală și proteina cationică se inserează în membrana citoplasmatică, o perforază și provoacă citoliza;
- ARN-aza are efect antiviral;
- stimulează fibroblastele și regenerarea postinflamatorie;
- eozinofilele sunt fagocite foarte active – posedă 75 % din activitatea fagocitară a neutrofilelor; fagocitează bacterii, micoplasme, complecși imuni, detrit celular;
- neutralizează heparina prin proteina cationică eozinofilă.

Eozinofilia – creșterea conținutului absolut de eozinofile în unitate volumetrică și volumul total de sânge.

Cauzele eozinofiliei:

- parazitoze (helminți, lamblii, echinococ, trichinele);
- reacțiile alergice reaginice (anafilactice);
- reacții alergice medicamentoase – antibiotice, sulfanilamine, fenotiazine, antituberculoase;
- bolile țesutului conjunctiv (artrita reumatoidă, sclerodermia, periarteriita nodoasă);
- boli pulmonare (astmul bronșic, sarcoidoza, pneumonia, pleurita);
- infarct miocardic (predictor nefavorabil);
- hipocorticism.

Eozinopeniile - micșorarea conținutului absolut de eozinofile în unitate volumetrică și volumul total de sânge.

Cauzele eozinopeniilor:

- faza inițială a inflamației;

- infecții purulente grave (semn nefavorabil);
- șoc, stres, intoxicații;
- hipercorticism;
- tumori maligne.

3. Modificările cantitative a monocitelor/macrofagelor.

Monocitele regenerează în măduva roșie din celula stem unipotentă monoblast, trecând prin stadiile de promonocit spre monocit matur. După maturizare monocitul se află în măduvă 3 zile, după care iese în sânge, unde circulă 3 zile și emigrează în țesuturi.

În țesuturi monocitele se transformă în macrofage specifice pentru fiecare țesut: celulele Kupfer hepatice, macrofagele țesutului limfoid, macrofagele peritoneale, pleurale, alveolare, osteoclastele în oase, microglia în SNC, celulele dendritice din piele și mucoase, histiocitele din țesutul conjunctiv. Fiecare oră din patul vascular în țesuturi emigrează 7×10^9 celule. În țesuturi numărul macrofagelor depășește numărul de monocite în sânge de 25 ori. Macrofagele tisulare au potențial de multiplicare și mențin populația independent de măduva roșie.

Monocitul este celulă imunocompetentă – în cooperarea cu limfocitele T și B efectuează răspunsul imun celular și umoral.

Macrofagele produc peste 40 de substanțe biologice active (SBA):

- enzime proteolitice;
- radicali liberi de oxigen, halogene, monoxid de azot;
- pirogene endogene -IL-2, care la nivel de hipotalamus declanșează febra;
- receptori pentru Fc a IgG, C3b al complementului activat – acești receptori facilitează fagocitoza patogenelor marcate (opsonizate) cu C3b, Fc;

- receptori pentru DAMP și PAMP, pentru lipopolizaharidele bacteriene, care declanșează inflamația;
- receptori naturali pentru antigenele bacteriene (de ex., lipopolizaharide) - atribuie monocitelor/macrofagelor capacitatea de fagocitoză nespecifică, la primul contact cu patogenul.

Rolul biologic al monocitelor-macrofagelor.

Macrofagele posedă multiple funcții biologice:

- fagocitoza nespecifică – capacitatea de a recunoaște și fagocita orice obiect străin la primul contact;
- demarează imunogeneza: recunosc, fagocitează, procesează antigenele străine, le asociază la complexul major de histocompatibilitate MCH II și le prezintă limfocitelor T și B;
 - demarează reacția inflamatoare: recunosc moleculele lezionale (DAMP) și moleculele patogene (PAMP) prin receptori naturali TLR; secretă interleukinele proinflamatoare IL-1, IL-6, IL-12, IL-2, TNF;
- înlătură structurile proprii deteriorate: secretă enzime, care degradează detritul celular (elastaza, colagenaza, fibrinaza);
- stimulează regenerarea postinflamatorie: secretă factori de creștere, angiogenetici;
- menține homeostazia calitativă a țesuturilor: fagocitează celulele lezate, cancerizate;
- posedă efect bactericid: generează radicali liberi de oxigen și clor.

Macrofagele formate din monocitele sanguine emigrate în țesuturi se află în stare neactivă, dar sub acțiunea antigenelor străine se activează prompt la nivel de genom.

Activarea macrofagelor de către antigen se efectuează pe două căi – clasică și alternativă - cu generarea respectiv a două fenotipuri de macrofage cu proprietăți diametral opuse – macrofage M I și macrofage M II.

Activarea clasică a macrofagelor cu generarea de fenotip M1 are loc în faza inițială a inflamației la contactul cu limfocitul Th1 activat de către viruși și bacterii patogene.

Proprietate remarcabilă a activării macrofagului pe cale clasică este expresia CD40 membranar, sinteza TNF-alfa, care în mod paracrin activează alte macrofage neactive – survine reacția în lanț cu activarea unui număr mare de macrofage.

În rezultatul activării clasice macrofagul capătă fenotip proinflamator, produce citokine proinflamatoare (IL-1, IL-6, TNF-alfa), dar puțină IL-10 (antiinflamatoare), produce molecule efectoare bactericide, crește rezistența la infecțiile intracelulare, anihilează celulele tumorale.

Pe membrana macrofagului activat pe cale clasică se expresează superantigenul străin în asociație cu moleculele complexului major de histocompatibilitate MCH II și molecula B7 (co-stimulatorul în procesul de prezentare a antigenului). Ulterior are loc prezentarea antigenului străin limfocitelor T și B și declanșarea reacției imune.

Macrofagul activat pe cale clasică sporește capacitățile protective contra agentului patogen prin elaborarea radicalilor liberi de oxigen și clor, expresia NO-sintazei inducibile cu formarea monoxidului de azot cu efect bactericid.

Activarea macrofagului pe cale alternativă rezultă cu formarea macrofagelor cu fenotipul antiinflamator M II. Activarea alternativă se produce în perioada de rezoluție a procesului inflamator de către IL-4 și IL-13, de către complexii imuni, hormonii glucocorticosteroizi. Fenotipul M II produce puține citokine proinflamatoare, dar produce IL-10 antiinflamatoare, participă în reacțiile imune de tip Th2 (reacții alergice reaginice, reacții alergice în invaziile parazitare).

Macrofagele tip II au fenotip antiinflamator, imunomodulator, remodelant tisular. Macrofagele M II participă la restaurarea structurilor alterate în inflamație: fagocitează detritul celular, atrag eozinofilele în focarul inflamator, care fagocitează complexii imuni, substanțele biologic active, stimulează procesele regenerative, stimulează collagenogeneza, angiogeneza.

Concomitent cu activarea macrofagelor în țesuturile periferice, în procesul inflamator are loc stimularea regenerării monocitelor în măduva roșie, ceea ce se manifestă prin sporirea numărului de monocite în sângele circulant – survine monocitoza.

Monocitoza – creșterea numărului absolut de monocite în unitate volumetrică și volumul total de sânge.

Clasificarea monocitozelor:

- monocitoza primară - se întâlnește în leucemia cronică monoblastică;
- monocitoza reactivă secundară - apare în stadiile tardive ale inflamației, reconvalescență, boli infecțioase cronice, mononucleoza infecțioasă;
- reacțiile leucemoide monocitare- macrofagale prezintă creșterea exagerată a monocitelor în sânge; se observă în tuberculoză.

Procesele inhibitoare în sistemul monocitar-macrofagal se manifestă prin supresia regenerării monocitelor în măduva roșie și în organele de reședință, scăderea numărului de monocite în sângele circulant și inactivarea macrofagelor în organele periferice. Fenomen ușor detectabil caracteristic pentru procesele supresive sunt monocitopeniile.

Monocitopenia – micșorarea numărului absolut de monocite în unitate volumetrică și în volumul total de sânge.

Cauzele monocitopeniei: hipercortizolismul, terapia cu glucocorticosteroizi; anemia aplastică; anemia megalocitară.

Bibliografia

1. Carol Matson Porth. 7th Edition. Pathophysiology.
2. Corcimaru Ion. Hematologie. Chișinău, 2007
3. D'Angelo G (March 2013). "Role of hepcidin in the pathophysiology and diagnosis of anemia". Blood Research. **48** (1): 10–5. doi:10.5045/br.2013.48.1.10. PMC 3624997. PMID 23589789.

4. Edward F.Goljan. Rapid review pathology. Fourth edition.
5. Fiziopatologie medicală. Vol.I. Chişinău, 2002
6. Fiziopatologie medicală. Vol.II. Chişinău, 2005
7. Lee-Ellen Copstead, Jaquelyne Banasik. Pathophysiology. Fifth edition.
8. Leukocytosis: Basics of Clinical Assessment, American Family Physician. November 2000.
9. Longo, Dan L.; Camaschella, Clara (7 May 2015). "Iron-Deficiency Anemia". *New England Journal of Medicine*. **372** (19): 1832–1843. doi:10.1056/NEJMra1401038. PMID 25946282.
10. Porth, Carol Mattson (2011), "White blood cell response", Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States (3rd ed.), Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, pp. 64–65, ISBN 978-1-58255-724-3, retrieved 13 November 2011
11. Primack BA, Mahaniah KJ. Anemia. In: South-Paul JE, Matheny SC, Lewis EL. eds. CURRENT Diagnosis & Treatment: Family Medicine, 4e New York, NY: McGraw-Hill; . Accessed November 30, 2018.
12. Robbins and Cotran. Pathologic bases of diseases. Eight edition
13. Rogers, Kara, ed. (2011), "Leukocytosis definition", Blood: Physiology and Circulation, Chicago: Britannica Educational Publishing, p. 198, ISBN 978-1-61530-250-5, retrieved 12 November 2011
14. Zorc, Josep· h J, ed. (2009), "Leukocytosis", Schwartz's Clinical Handbook of Pediatrics (4th ed.), Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, p. 559, ISBN 978-0-7817-7013-2, retrieved 12 November 2011
15. "Megaloblastic Anemia: Overview - eMedicine Hematology".