

10. Reinhold M. et al. Modern Hematology- Biology an Clinical Management, 2nd edition, 2007, 677 p.
11. Rubin O., Crettaz D. Microparticles in stored red blood cells: submicron clotting bombs? Blood Transfus 2010. vol. 8 (3), p. 31-38
12. Srihirun S., Sriwantana T. Platelet inhibition by nitrate is dependent on erythrocytes and deoxygenation, PloS ONE 2012. vol. 7 (1), p. 1371-1373
13. Van Ommen H., M. Peters The bleeding child. Part I: primary hemostatic disorders, Eur J Pediatr 2012. Vol. 171, p.1-10
14. Van Beers E., Schaap M. Circulating erythrocyte-derived microparticles are associated with coagulation activation in sickle cell disease. Hematologica 2009. vol. 94 (11) p. 1513-1519
15. Wohner N., Role of cellular elements in thrombus formation and dissolution. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem. 2008 July. vol. 6(3) p. 224-228
16. Абакумов М.М. Оксид азота и свертывающая система крови в клинике. Вестник Российской академии медицинских. 2005. №10, с. 53-60
17. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита 2010, 826 с.
18. Кузник Б.И. Физиология и патология системы крови. Москва, Вузовская книга, 2004, 336 с.
19. Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин С.Е. Межклеточные взаимодействия. Москва, Медицина, 2003, 288 с.

ROLUL LEUCOCITELOR ÎN PROCESUL DE HEMOSTAZĂ (reviu de literatură)

Olesea Cibotari, Marian Vicol, Rodica Bordian, Galina Eșanu, Valentin Țurea
Departamentul Pediatrie, USMF "Nicolae Testemițanu"

Summary

The role of leucocytes in hemostasis

The study was geared towards the evaluation of the role that other blood elements partake in hemostasis. Nowadays it was established that besides thrombocytes, leucocytes also participate actively in primary and secondary hemostasis. Depending upon predominant mechanisms involved by leucocytes in hemostasis, they can lead to DIC- syndrome, or can create conditions to improve microcirculation and liquidate the pathological process.

Rezumat

Acest studiu a fost orientat spre a studia și rolul altor elemente în sistemul de hemostază. În prezent a fost stabilit că pe lângă trombocite și leucocitele participă activ în procesul de hemostază primară și secundară. În dependență de mecanismele predominante prin care leucocitele participă în procesul de hemostază, ele o pot degrada până la dezvoltarea CID-sindromului, sau din contra pot crea condiții pentru ameliorarea microcirculației și lichidarea procesului patologic.

Actualitatea

Rolul trombocitelor în procesul de hemostază primară este incontestabil. Este binecunoscut rolul trombocitelor și în procesul hemostazei secundare. În plasma sanguină pe lângă trombocite mai sunt și alte elemente figurate sanguine, mult mai complexe ca structură și funcție decât trombocitele. Oare chiar nu au leucocitele nici un rol în funcția de hemostază?

Scopul

Studierea și analizarea surselor bibliografice din ultimul deceniu în vederea elucidării rolului leucocitelor în mecanismele complexe ale hemostazei în condiții fiziologice și patologice.

Material și metode

Au fost studiate și analizate sursele bibliografice publicate între anii 2002 - 2010 în limbile engleză și rusă la tema propusă pentru cercetare.

Rezultate și discuții

Se cunoaște faptul că în lezarea vasului, leucocitele întotdeauna participă în procesul de formare a trombului, fiind unul din participanții cei mai activi atât în procesul de hemostază vasculo-trombocitară cât și în procesul de coagulare [5, 6, 11, 12]. Cu aproximativ jumătate de secol în urmă A. L. Copley a acordat atenție faptului că leucocitele în cadrul unei leucocitoze pronunțate sunt capabile să obstruiască vasele sanguine de calibrul mic. În cadrul leziunilor vaselor mici ele au importanță în procesul de formare a dopului trombocitar. O activitate crescută în procesul de hemostază primară o manifestă neutrofilele și limfocitele [6, 8]. Cu toate acestea, unul din agenții agreganți ai leucocitelor îl reprezintă ADP-ul [2].

Încă în anul 1974 s-au adus dovezi că leucocitele oamenilor sănătoși și a celor bolnavi de leucemie sunt capabile să amplifice agregarea trombocitelor. Însă, doar acum s-a stabilit faptul că neutrofilele, monocitele și limfocitele sunt capabile nu doar să se unească de trombocite, ci și au acțiune asupra proceselor spontane și inductoare ale agregării trombocitelor [3, 4].

În 1976 P. Menson a descris substanța care induce activarea, agregarea și reacția de eliberare a trombocitelor în procesele imunologice. Această substanță poartă denumirea de PAF (Protrombin Activator Factor). Pentru prima dată PAF a fost extras din bazofile, însă mai târziu s-a constatat că această structură este sintetizată de către polinucleare, monocite, trombocite, macrofagele peritoneale și cele alveolare [2, 16, 17]. Eliberarea de PAF este indusă de adeziunea leucocitelor polimorfonucleare și agregarea acestora sub influența fracției C5a a complementului [1]. Secreția de PAF nu doar conduce către adeziunea pronunțată și agregarea trombocitelor, dar și la hipercoagulare – sindromul CID [13]. Eliberarea de PAF este însoțită de un complex de reacții, având acțiune asupra diferitor celule – neutrofile, monocite, euzinofile, macrofagi, endoteliocite ș.a. PAF induce agregarea nu doar a trombocitelor, dar și a leucocitelor stimulând producția de hemoatractanți, servind drept factor chemotactic pentru eozinofile, mărește hemotaxisul neutrofilelor, conduce către activarea și degranularea diferitor celule, intensifică eliberarea radicalilor liberi, formarea și secreția leucotrienei – C4 la nivelul microvaselor lezate. Pe lângă cele expuse anterior, PAF amplifică expresia de adeziune a neutrofilelor, intensificând migrarea acestora și acțiunea lezantă asupra endoteliului [10]. Secreția superoxidului și a leucotrienei – C4 de către eozinofile stimulează sinteza GM-CSF, care în complex cu IL-3 induc secreția TNF din monocite, mărinde citotoxicitatea acestora. Prin urmare, reacțiile expuse mai sus sunt însoțite de intensificarea agregării plachetelor sanguine precum și dezvoltarea coagulării intravasculare diseminate [13].

Un puternic agent agregant îl reprezintă ADP-ul [6, 7, 9]. Este stabilit faptul că trecerea ATP-ului în ADP în sângele omului se realizează doar în prezența mononuclearelor sau a limfocitelor polimorfonucleare, deasemenea trecerea ADP-ului în ATP se realizează prin prezența obligatorie a fermentilor plasmatici [2]. Acumularea ATP-ului în sânge împiedică agregarea plachetelor sanguine și este repede utilizat de către leucocite. În acest mod, în sânge, cu ajutorul leucocitelor se reglează echilibrul dintre agreganți și dezagreganți [10].

În stările patologice însoțite de mobilizarea neutrofilelor, catepsina G eliberată stimulează plachetele sanguine, conducând către creșterea concentrației intracelulare de calciu, prin aceasta intensificând agregarea și adeziunea acestora. Sub acțiunea sa pe membrana plachetelor sanguine face posibilă exprimarea receptorului fibrinogenului, datorită căruia se realizează interlegătura plachetelor sanguine între ele. Sub acțiunea TNF α și PAF, catepsina G se eliberează din neutrofile [17]. Datorită acestui fapt conținutul ei pe membrana celulelor crește de 2-3 ori. Prin

urmare, neutrofilele capătă o sensibilitate crescută (de 15-25 ori) către hemoatractanți, crescând activitatea fagocitară a leucocitelor. În același timp, catepsina G impregnată pe suprafața leucocitelor activează trombocitele și stimulează coagularea sângelui [17, 18].

Diferite leucocite, precum macrofagele, sunt capabile să sintetizeze prostoglandine [2]. La stimularea neutrofilelor, eozinofinelor, macrofagelor, limfocitelor de către zimogen crește producția de PG E2. Această reacție se realizează îndeosebi de către macrofage, care sintetizează de 2 ori mai mult PG E2, comparativ cu neutrofilele și de 4-40 ori mai intensiv decât eozinofilele și limfocitele respectiv. Fagocitele mononucleare stimulate sintetizează tromboxan A2 (TxA2) și PG I2, însă în doze mai mici decât PG E2. Predominarea PG I2 și îndeosebi a PG E2 asupra TxA2 conduce către aceea, că fagocitele polimorfonucleare stimulate induc dezagregarea trombocitelor și deci influențează restabilirea microcirculației în regiunea lezată. Există și o altă cale, cu ajutorul căreia leucocitele pot să inhibe agregarea trombocitelor. Eliberarea de neutrofile și monocite, în dependență de concentrația acestora, exercită o acțiune inhibitorie asupra formării agregatelor plachetare, indusă de trombină.

Leucocitele conțin fosfolipază, capabilă să elibereze acidul arahidonic din celulele membranei. În leucocite se găsește lipooxigenaza, sub acțiunea căreia are loc trecerea acidului arahidonic în HPETE, o structură instabilă care trece sub influența peroxidazei în structură stabilă 5-HETE. Prin intermediul dihidrazei se formează leucotriene, care posedă acțiune hemotactică puternică, respectiv influențează nu doar asupra hemostazei vasculo-trombotice, dar și asupra procesului de coagulare a sângelui.

Pe de altă parte, leucocitele (neutrofilele și monocitele) prezintă sursa de PG I2, NO și substanțe asemenea factorului endotelial de relaxare – acesta posedând o acțiune antiagregantă puternică. Un rol important în hemostaza primară le revin monocitelor. În particular este stabilit că stimularea monocitelor printr-un contact strâns cu trombocitele activate de către colagen la etapele inițiale, micșorau capacitățile plachetelor sanguine să formeze agregate [6, 16].

În ultimii 20 de ani în multe state cu scop terapeutic se administrează IL-2. Sub influența acestora frecvent apar trombocitopenii. Se pare că IL-2 după contactul de 10 min cu trombocitele, brusc scade agregarea lor [14]. Studiul detaliat a acestui fenomen a permis stabilirea faptului că IL-2 nu acționează preponderent asupra trombocitelor, însă posedă influență prin intermediul mononuclearelor, astfel înlăturarea ultimelor potențiază agregarea plachetelor sanguine. De fapt, apariția trombocitopeniei după injectarea IL-2 poate fi legată cu prezența CID-sindromului și consumul plachetelor sanguine [13, 14].

Toate cele menționate demonstrează interacțiunile complicate bidirecționale ale leucocitelor și ale sistemului de hemostază vasculo-trombotic.

La mijlocul secolului XX au fost obținute date convingătoare, care demonstrează că în leucocitele oamenilor sănătoși și a celor bolnavi de leucemie se conțin factori care accelerează sau încetinesc coagularea sângelui. Prin diverse investigații efectuate în aceeași ani a fost arătat că leucocitele oamenilor sănătoși și la bolnavi de limfocitoză cronică se conțin factori ce amintesc procoagulanții P3 și P4 ai trombocitelor. Aceste structuri sunt capabile considerabil să scurteze timpul coagulării sanguine, să scadă parametrii R, K și T ai tromboelastogramei. Extractele din neutrofile de la oamenii sănătoși micșorau nivelul trombotestului, prelungind timpul recalcificării plasmei și reduceau utilizarea protrombinei.

S-a dovedit că învelișurile neutrofilelor la oamenii sănătoși și bolnavi cronici de limfo- și mieloleucoză, semnificativ micșorau sau normalizau timpul coagulării plasmei și a sângelui bolnavilor de hemofilia A și B, care a fost explicată prin prezența în componența lor a factorului tisular (TF). Cu toate acestea, în continuare se relatează faptul că limfocitele posedă capacitatea să sintetizeze factorul VIII și prin urmare să scurteze timpul de coagulare la bolnavii de hemofilie A [6]. Nu se exclude faptul că neutrofilele sau limfocitele diferitor stadii de dezvoltare au în componența sa TF [11]. Prin urmare limfocitele intacte în condiții naturale sunt capabile să mărească coagularea sângelui. Despre participarea leucocitelor și formarea trombului mărturisesc următoarele date: la bolnavi de infarct miocardic în timpul primelor ore după acces în trombul coronar se găsesc agregatele trombocitelor, microvezicule cu includerea TF, fibre de

fibrinogen și o cantitate semnificativă de leucocite, numărul cărora crește neconținut către aproximativ 20 ore de la acces [12, 18]. Mai mult de atât, în condiții experimentale este remarcat că dacă se inhibă interacțiunea dintre leucocite, celulele endoteliale și trombocite, se poate de atins reducerea manifestărilor ischemice și preveni apariția trombului arterial sau venos în locul inflammat [4, 10, 18].

În conformitate cu datele Д. А. Зубаиров [15], activitatea TF în celulele sanguine periferice ale oamenilor sănătoși nu se manifestă, însă la bolnavii de leucemie acută și mieloleucoză cronică celulele blaste în sângele periferic se caracterizează clar printr-o capacitate crescută de activare a coagulării sângelui.

Monocitele au capacitatea de a secreta și sintetiza un procoagulant identic cu TF, acesta având influență asupra coagulării sanguine doar în prezența factorului plasmatic VIII. Monocitele nestimulate ale omului sănătos slab expresează TF. Sinteza și secreția TF de către monocite prezintă o reacție dependentă de temperatură, astfel stimularea fagocitelor mononucleare la temperatura de 37°C reduce timpul de coagulare al plasmei aproximativ de 7 ori [16, 17]. Pentru stimularea sintezei TF de către monocite este necesar contactul direct al acestora cu limfocitele. În particular este stabilit că Ig G sau complexe imune circulante cresc activitatea procoagulantă a mononuclearelor. Însă, dacă din cultura fagocitelor mononucleare se exclud limfocitele, atunci capacitatea monocitelor de sintetizare a TF dispare complet și se restabilește din nou prin introducerea limfocitelor anterior prelucrate cu Ig G. Prin urmare, această reacție este legată de eliberarea de către T-limfocite a citokinelor proinflamatorii, capabile să stimuleze sinteza și secreția TF de către monocite și macrofagi. Stimulatorul sintezei de către macrofagi a procoagulantului, care posedă proprietățile TF, îl reprezintă trombina. În același timp, trombina stopează migrarea macrofagilor și brusc intensifică activitatea lor fagocitară [18]. Descrierea acestei reacții este condiționată de prezența pe macrofagi a receptorilor către trombină, care se referă, după cum este stabilit la momentul actual către receptorii proteinazoactivatori (PAR). Interacțiunea mononuclearelor cu trombocitele și granulocitele se realizează prin participarea P-selectinei, care conduce către activarea factorului nuclear NF-Kb și ca urmare, către expresarea TF. Acidul arahidonic exogen accelerează expresia TF în leucocitele mononucleare și această reacție nu depinde de prezența trombocitelor. COX-1 și metaboliții ei de tip TxA2 sau endoperoxizi, joacă un rol major în inducerea sintezei TF sub acțiunea acidului arahidonic. Acidul arahidonic conduce către creșterea sintezei nu doar a TxA2, dar și a expresiei TF în monocite la pacienții cu diabet zaharat tip 2. În prezența T-helperilor (CD-4+) crește posibilitatea monocitelor de a sintetiza TF, pe când T-killerii (CD-8+) inhibă acest proces. Monocitele secretă TF și sub acțiunea citokinelor proinflamatorii [10, 14]. Dacă incubăm sângele cu TNF α , atunci monocitele expresează TF, datorită căruia procesul coagulării se accelerează considerabil. Acest efect după intensitatea sa nu cedează acțiunii lipopolizaharidelor. TNF α deasemenea este capabil să intensifice posibilitatea monocitelor să expreseze TF sub influența lipopolizaharidelor. Un alt proinflamator care este citokina-IL6, induce eliberarea de TF prin intensificarea sintezei TNF α . Pe de altă parte citokina – IL-10, împiedică influența lipopolizaharidelor asupra expresării TF de către monocite. Sub influența IL-4 se deprimă acțiunea LPZ, proteinei hemoatractante a monocitelor și CRP (proteina reactivă C) asupra expresării TF de către monocite și micșorarea secreției TNF α , dozodependentă. Nivelul local crescut de IL-4 poate să inhibe completamente secreția factorului tisular de către monocite. Prin urmare, IL-4 crește nivelul intracelular de AMPc atât în monocite, cât și în celulele endoteliale, ceea ce reduce transcrierea ARN-ului și posibilitatea formării anticorpilor contra TF [14].

Un puternic activator al formării TF de către monocite și macrofagi îl reprezintă ceruloplasmina. Sub acțiunea acesteia crește expresia genei TF, care conduce către creșterea activității acestuia de 70 de ori și mai mult [2]. Conținutul ceruloplasminei se mărește în cazul bolilor infecțioase, oncologice și inflamatorii, ceea ce prezintă unul din momentele predispozante către apariția sindromului CID [13]. Кузник Б.И. susține, că oamenii pot fi clasificați în 2 grupe: indivizi cu expresarea crescută a TF de către monocite și indivizi cu expresarea redusă a TF de către monocite [16]. La persoanele cu expresarea crescută a TF, în rețea factorul tisular se

conține în interiorul celulei, însă după o activare ușoară a acestora, el trece pe suprafața celulelor și participă în coagularea sângelui. Atunci când expresarea acestuia este redusă la stimularea continuă a celulelor acesta tinde să rămână în interiorul structurilor date. Oamenii care fac sport, prezintă o expresare slabă a TF. Sinteza acestuia de către monocite după stimularea de către lipopolizaharide depinde de faptul cât de receptivi sunt oamenii la agentul dat. La persoanele receptivă către LPZ, intensitatea expresării TF a fost de 2 ori mai înaltă comparativ cu a celor nereceptivi la factorul respectiv. În același timp, la cei nereceptivi către LPZ, acumularea TF în interiorul monocitelor a fost semnificativ mai înaltă decât la cei receptivi. Nu este exclus că o sensibilitate crescută a monocitelor către LPZ la diferite persoane are legătură cu polimorfismul TF. Este stabilit că monocitele care posedă un răspuns redus la LPZ mai slab expresează TLR-4 (TOLL - receptor asemănător), deci oamenii cu un nivel scăzut al expresiei receptorului CD36 (scavenger receptor, acesta se conține pe suprafața membranei monocitelor circulante și reprezintă un indicator al activității mononuclearelor) pe monocite și macrofage posedă o predispunere importantă către dezvoltarea sindromului-CID și tromboze. Deci, LPZ induce expresarea TF de către monocit, macrofagi și endoteliu, dar posibil și de către alte celule [2, 18].

Concluzii

1. Leucocitele au un rol important și complex atât în buna funcționare a mecanismelor hemostazei primare cât și a celei secundare.
2. Monocele și macrofagi pot lega pe membrana lor protrombina, factorul VII și VIIa, deasemenea și protrombinaza. Aceasta demonstrează că procesul de coagulare a sângelui poate să decurgă nemijlocit și pe suprafața leucocitelor.
3. Citokinele prin intermediul receptorilor, localizați îndeosebi pe suprafața leucocitelor, și nu numai, induc expresia exagerată a TF și dezvoltarea sindromului CID.
4. Înhibând interacțiunea dintre leucocite cu celulele endoteliale și trombocitele, se poate de atins reducerea manifestărilor ischemice și preveni apariția trombului arterial sau venos în regiunea procesului inflamator.
5. În dependență de mecanismele predominante prin care leucocitele participă în procesul de hemostază, ele îl pot degrada până la dezvoltarea CID-sindromului, sau din contra pot crea condiții pentru ameliorarea microcirculației și lichidarea procesului patologic.

Bibliografie

1. Amara U., Flierl M.A. Molecular intercommunication between the complement and coagulation systems. *J. Immunol* 2010. vol. 185, p. 5628- 5636
2. Burnier L., Fontana P., Kwak B.R., Angellilo-Scherrer A. Cell-derived microparticles in haemostasis and vascular medicine, *Thromb Haemost*, 2009, p. 439-51
3. Hillyer C. et al. *Transfusion medicine and hemostasis. Clinical and laboratory aspects*, 1st edition, 2009, 706 p.
4. Htun P. et al. Course of platelet activation and platelet leukocyte interaction in cerebrovascular ischemia. *Stroke* 2006. Vol. 37, p. 2283-2287
5. Lanszkowsky Ph. et al. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, 5th edition, 2011, 1054 p.
6. Lichtman M. et al. *William's Hematology*, 7th edition, 2007, 1250 p.
7. Longo L. Dan et al. *Harrison's Hematology and Oncology*, 2010, 785 p.
8. Kitchens C. et al. *Consultative Hemostasis and Thrombosis*, 2007, 781 p.
9. Reinhold M. et al. *Modern Hematology- Biology and Clinical Management*, 2nd edition, 2007, 677 p.
10. Pingnian H. Leukocyte/ endothelium interactions and microvessel permeability: coupled or uncoupled? *Cardiovascular research* 2010. vol 87, p. 281-290
11. Totani L., Evangelista V., Platelet-leukocyte interactions in cardiovascular disease and beyond, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010 December, vol 30 (12), p 2357-2361

12. Wohner N., Role of cellular elements in thrombus formation and dissolution, *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2008 Jul. vol 6 (3), p. 224-228
13. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Взаимодействие лейкоцитов и тромбоцитов с эндотелием и двс-синдром, *Тромбоз, гемостаз и реология*, 2006, № 1, с. 15-28.
14. Витковский Ю.А., Кузник Б.И. Влияние интерлейкина 1 на способность лимфоцитов выделять факторы, влияющие на адгезию и агрегацию тромбоцитов, свёртывание крови и фибринолиз, *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*, 2002, № 4, с. 468-75.
15. Зубаиров Д.М. Что такое гиперкоагулемия и каков её механизм, *Тромбозы, кровоточивость и болезни крови*, 2008, № 8, с.16-30.
16. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита, 2010, 826 с.
17. Кузник Б.И. Физиология и патология системы крови. Москва, Вузовская книга, 2004, 336 с.
18. Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин С.Е. Межклеточные взаимодействия. Москва, Медицина, 2003, 288 с.

MODIFICAREA GEOMETRIEI VENTRICULARE IN HIPERTENSIUNEA ARTERIALA LA COPII ŞI ADOLESCENŢI

Radu Tabac, Nicolae Rusu

(Coordonator ştiinţific: d.m., conf. univ. Stamatii Adela)

Summary

Left ventricular geometry in children and adolescents

Arterial hypertension is a non-infectious pandemic in the history of humanity that places the cardiovascular diseases at one of the first places according to the indexes of sickness rate and death-rate. Left Ventricular Hypertrophy is a multifactor condition caused mainly by arterial hypertension. The changes in the target organs are a function of the levels of blood pressure and the duration of the disease. The purpose of this study was to evaluate the LV hypertrophy and LV geometry in children and adolescents with arterial hypertension.

Rezumat

Hipertensiunea arterială reprezintă o pandemie neinfecţioasă în istoria omenirii, care poziţionează maladiile sistemului cardiovascular la limita de vîrf în structura maladiilor prin morbiditate şi mortalitate. Hipertrofia ventriculară stîngă este modificare multifactorială, cauzată primordial de hipertensiunea arterială. Modificările organelor ţintă sunt dependente de valorile tensionale şi durata maladiei. Scopul studiului prezent este de a evalua prezenţa Hipertrofiei Ventriculare, precum şi modelul geometric de afectare la copii şi adolescenţii cu hipertensiune arterială.

Actualitatea

Conform *The Fourth Report on The Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents*, revizia 2004, drept hipertensiune sunt considerate valorile presiunii sistolice şi/sau diastolice mai mari sau egale cu percentila 95 a tensiunii arteriale, stabilite în baza criteriului de sex, vîrstă, înălţime, determinate la 3 măsuri separate prin interval minim de o săptămînă, cu excluderea în prealabil a fenomenului de "white coat". Intervalul centilelor 90- 95 este considerat drept prehipertensiune (tab.1) [14,28,4,12,3,24,18,31].