

Alterazioni ematologiche nelle epatopatie

B. Biasioli^a, M. Golato^b

^aDipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Ospedali Riuniti", Trieste

^bDipartimento di Patologia Clinica, Ospedale "F. Renzetti" Lanciano, ASL 02, Chieti

Riassunto

Il fegato svolge un ruolo fondamentale per la produzione delle cellule ematiche e dei fattori della coagulazione. La malattia epatica si ripercuote, quindi, sull'omeostasi del sistema emo-vascolare con anomalie nella produzione di globuli rossi, globuli bianchi e piastrine e con difetti di sintesi dei fattori della coagulazione. La patogenesi è multifattoriale e si evidenzia sia a livello midollare che a livello del sangue periferico dipendendo dall'azione diretta dell'agente eziologico sull'attività midollare, dagli effetti conseguenti alle carenze nutrizionali e da quelli propri dell'epatopatia stessa. L'anemia è un'alterazione di comune riscontro: le diverse cause includono l'emorragia, il deficit di folati, l'emolisi, la soppressione midollare da alcool e l'effetto diretto inibente l'attività midollare indotto dalla malattia epatica. I quadri clinici sono molteplici e dipendono dalla fase della malattia: nell'epatopatia, tipicamente se alcolica, è comune un'anemia moderata con emazie macrocitarie, ma possono essere riscontrati anche normociti e microciti. La trombocitopenia rappresenta una delle più frequenti alterazioni rilevabili in corso di epatopatie: è più frequentemente di grado lieve o moderato. La patogenesi è sia periferica, per aumentata distruzione conseguente ad ipertensione portale, sequestro splenico ed autoanticorpi antiplastrine, sia centrale per diminuita produzione a livello midollare o polmonare. Le infezioni che causano epatopatie possono provocare leucopenia con neutropenia con meccanismi patogenetici molteplici che possono coesistere in uno stesso paziente: comprendono il difetto di produzione e la diminuzione della riserva midollare.

Summary

Hematologic abnormalities in liver diseases

The liver plays a key role in the production of blood cells and coagulation factors. The liver diseases affect the hemovascular system homeostasis with abnormalities in the production of red blood cells, white cells and platelets and with defective synthesis on the coagulation factors. The pathogenesis is multifactorial and it can be highlighted both in bone marrow and in peripheral blood. It depends on the direct action of the etiological agent in medullary activity, on the nutritional deficiencies effects and on those deriving from liver disease. Anemia is a common alteration: different causes include hemorrhage, lack of folates, hemolysis, alcoholic bone marrow suppression and inhibition of the medullary activity induced by liver disease. There are several clinical aspects which depend on disease phase: liver disease, if alcoholic, moderate anemia with macrocytic erythrocytes can be released but normocytes and microcytes can also be found. Thrombocytopenia is one of the most frequent alterations detected in the course of liver disease and it is frequently mild or moderate. The pathogenesis can be peripheral for increased destruction resulting from portal hypertension, splenic sequestration and platelet autoantibodies, and it can be central to decreased production in the bone marrow or lung. Infections that cause liver disease can cause leukopenia with neutropenia with multiple pathogenic mechanisms that can coexist in the same patient and they include the lack of production and the decrease of bone marrow reserve.

Key-words: Liver Disease, Macrocytic Erythrocytes, Acanthocytes, Cirrhosis, Hemolytic Anemia, Spur Cells.

Introduzione

Il fegato svolge un ruolo essenziale per la produzione delle cellule ematiche e per la sintesi dei fattori della coagulazione; in corso di patologie epatiche l'omeostasi del sistema emo-vascolare è compromessa con ripercussioni sia sui processi ematopoietici sia sull'attività emostatica^{1,2}. Il fegato può essere anche il bersaglio di patologie ematolo-

giche primitive, quali l'anemia falciforme, le malattie mieloproliferative e l'emoglobinuria parossistica notturna che ne compromettono la funzionalità³. Le patologie epatiche in cui si riscontrano più frequentemente anomalie ematologiche comprendono le forme acute e croniche: tra le prime si includono sia le forme virali che quelle in corso di intossicazione acuta da etanolo^{4,5}; le malattie epatiche cro-

niche più implicate sono le patologie virali, le alcoliche, le autoimmuni e le colostatiche (cirrosi biliare primitiva, colangite sclerosante, steato-epatite non alcolica, morbo di Wilson, emocromatosi). Nei pazienti epatopatici la disfunzione dell'attività midollare è dipendente dalle carenze nutrizionali, dai deficit di sintesi di fattori emopoietici e dall'effetto tossico diretto degli agenti eziologici stessi sull'eritrono, con conseguenti alterazioni numeriche e funzionali delle cellule ematiche.

Globuli rossi ed epatopatie

Le alterazioni dei parametri ematologici e della morfologia dei globuli rossi possono rappresentare la prima alterazione di una disfunzione epatica, non sono tipiche solo della malattia epatica ma anche di altre patologie che devono essere poste necessariamente in diagnosi differenziale. La macrocitosi, con MCV tra 100-110 fl, è l'anomalia volumetrica più spesso rilevabile sia in presenza che in assenza di anemia⁶. La molteplicità dei quadri clinici con cui si evidenzia la malattia epatica si riflette sul tipo di anemia che può essere anche normocitica e microcitica. La patogenesi delle anomalie morfologiche è multifattoriale. L'iperlipidemia, frequente nell'epatite colostatica, provoca alterazioni nella membrana degli eritrociti con formazione di *cellule a bersaglio* macrocitarie, per aumentata captazione di colesterolo da parte delle membrane delle emazie, con deposizione di lipidi e conseguente alterato rapporto colesterolo/fosfolipidi, da cui consegue un ampliamento della superficie della membrana dei globuli rossi rispetto al citoplasma^{7,8}. La formazione delle cellule a bersaglio è causata, oltre che dalla alterazione dei lipidi plasmatici, anche dai deficit enzimatici, si riscontra in corso di ittero ostruttivo, nelle malattie epatiche parenchimali severe, nel deficit ereditario di lecitina-colesterolo acil transferasi (LCAT). L'assenza di enzimi per la sintesi di colesterolo e fosfolipidi e per l'esterificazione del colesterolo fa sì che le modifiche di lipidi a carico delle membrane riflettano quelle dei lipidi plasmatici: quando la sintesi epatica di LCAT è ridotta, come avviene in corso di epatopatie o inibita in presenza di valori elevati di sali biliari (es. nell'ittero ostruttivo), il rapporto colesterolo/colesterolo esterificato delle membrane dei globuli rossi risulta aumentato⁹. Le cellule a bersaglio possono essere anche microcitarie o normocitarie, secondo la fase della malattia epatica o la presenza di complicanze che ne condizionano il meccanismo di formazione: uno dei meccanismi patogenetici principali è la riduzione del contenuto cellulare non accompagnato dalla riduzione della membrana, come si verifica nella carenza di ferro e nelle emoglobinopatie, condizioni che possono essere, la prima una complicanza dell'epatopatia stessa (ad es. per anemia emolitica o rottura di varici esofagee), la seconda una malattia primitiva ematologica in cui il fegato rappresenta uno dei bersagli. Nel sangue periferico dei pazienti con epatopatie si possono osservare anche gli *stomatociti*, la cui patogenesi è stata associata ad un'alterata permeabilità di membrana. Gli stomatociti sono particolarmente numerosi nello striscio di sangue periferico di pazienti con intossicazione acuta da etanolo o con grave malattia epatica, in particolare ad eziologia alcolica: si tratta di globuli rossi con superficie ridotta rispetto al volume che poi possono modificarsi ulteriormente assu-

mendo la forma di sferociti. Anche se è noto che l'abuso di alcol provoca una vasta gamma di effetti negativi sulla formazione delle cellule del sangue, i meccanismi molecolari attraverso i quali l'alcool esercita la sua azione tossica sono rimasti poco definiti. La *macrocitosi* è l'anomalia morfologica più tipica indotta dal consumo eccessivo di etanolo e può essere indipendente dalla malattia epatica e dal deficit di folati e/o di cobalamina¹⁰. Studi recenti condotti su alcolisti e animali da esperimento indicano che l'acetaldeide, il principale metabolita dell'etanolo, può avere un ruolo importante nella patogenesi dei disordini ematologici poiché è contenuta, ad alte concentrazioni, nei globuli rossi dei soggetti che abusano di alcool, tanto da ritenere che siano gli stessi eritrociti responsabili della rimozione della sostanza³. È stato inoltre dimostrato che l'acetaldeide può legarsi alle proteine e ad altri costituenti cellulari formando composti stabili, con conseguenze negative per le funzioni cellulari, in particolare delle cellule del sangue periferico e dei loro precursori. Gli *echinociti*, eritrociti caratterizzati da molte piccole protrusioni della membrana citoplasmatica, di comune riscontro all'osservazione microscopica, possono essere dovuti ad una bassa concentrazione di albumina, rilevabile nei pazienti con epatopatie e nella fase avanzata della insufficienza renale, ma anche rappresentare degli artefatti¹¹. La formazione di echinociti può derivare da anomalie della lipoproteina ad alta densità che interagisce con i recettori presenti sulla superficie della membrana delle emazie. In contrasto con gli echinociti, gli *acantociti* mostrano solo poche spicole "spinose", proiettate all'esterno, a intervalli irregolari, dalla superficie della membrana dei globuli rossi. Possono essere un segno della sindrome di Zieve¹², una complicanza dell'epatopatia acuta alcolica, associata a emolisi, ipertensione portale, ipersplenismo. Una sindrome distinta, caratterizzata da numerosi acantociti, inizialmente chiamata "anemia emolitica con spur cells", può essere presente in corso di insufficienza epatica di qualsiasi eziologia: le "spur cells" sono acantociti, con spicole più smussate, dovuti ad assorbimento di colesterolo per la presenza in circolo di lipoproteine ricche di lipidi. L'alterato rapporto colesterolo/fosfolipidi riduce la deformabilità eritrocitaria con perdita di membrana da parte degli eritrociti durante il passaggio nella milza, soprattutto nelle epatopatie con ipersplenismo e con conseguente formazione di sferociti e schistociti. Concorre alla formazione delle spur cellule, anche l'aumentata attività proteolitica plasmatica¹³. Le anomalie morfologiche riscontrate nelle epatopatie, indipendentemente dalla specificità della morfologia, comportano la riduzione della vita media dei globuli rossi e la causa principale è da imputare alle membrane eritrocitarie che più ricche di colesterolo presentano una diminuita fluidità e una ridotta capacità di riparazione dei processi di ossidazione che durante la fisiologica senescenza dei globuli rossi, danneggiano i fosfolipidi di membrana. Gli *schistociti* derivano da frammentazione delle emazie, sono rilevabili nel sangue periferico e, spesso, sono la spia di un'emergenza ematologica, indicando patologie a rischio clinico elevato che richiedono interventi terapeutici immediati; si riscontrano nei disordini cardiovascolari e nelle microangiopatie e nelle anemie emolitiche da cause meccaniche^{14,15}. Nell'ambito delle patologie epatiche sono osservabili soprattutto in corso della sin-

drome di Zieve, nella malattia epatica alcolica, nell'ipertensione portale associata ad ipersplenismo, nelle microangiopatie trombotiche. E' di importanza fondamentale quantizzarli, soprattutto per il monitoraggio della malattia. Il conteggio al microscopio, metodo di riferimento, va eseguito computando almeno 1.000 globuli rossi su due o quattro strisci diversi. Oggi l'evoluzione delle tecnologie consente il conteggio degli schistociti in automatico, differenziandoli tramite il contenuto in RNA ed in DNA e il volume cellulare. I vantaggi conseguiti sono quelli di poter diagnosticare tempestivamente patologie con complicanze ad alto rischio per il paziente¹⁵.

Anemia ed epatopatie

In corso di epatopatie sono di comune riscontro quadri anemici polimorfi variamente associati tra loro. L'anemia è solitamente moderata, ma può essere anche severa¹⁶. L'eziologia è multifattoriale. Le cause includono il sanguinamento cronico per varici esofagee, l'emolisi intravascolare e il ridotto assorbimento di ferro, che comportano un'anemia sideropenica con emazie microcitarie e ipocromiche; inoltre il deficit di folati, la soppressione midollare da alcool e dall'effetto diretto dell'epatopatia cronica contribuiscono al quadro polimorfo con anemia macrocitica o normocitica. L'omeostasi del metabolismo del ferro è regolata principalmente dall'epcidina, sintetizzata dal fegato, che rappresenta l'organo centrale in grado di regolarne il traffico e l'utilizzo, in risposta a processi infettivi od in base alle riserve. L'azione dell'epcidina si manifesta attraverso un'inibizione sia dell'assorbimento intestinale di ferro da parte degli enterociti, che del rilascio da parte dei macrofagi. L'iperproduzione di epcidina, per aumentata sintesi epatica, stimolata dalle interleuchine 1 e 6, incrementate per la flogosi cronica, concorre alla riduzione della risposta midollare e determina lo sviluppo di anemia per blocco dell'esportazione del ferro nel circolo¹⁷. Viceversa, la ridotta sintesi di epcidina, come avviene nell'emocromatosi, per inibizione dell'attività proteinosintetica da eccesso di sostanze tossiche (es. alcool), o per insufficienza epatica (ad es. da infezione virale), può portare ad un sovraccarico di ferro, particolarmente evidente negli alcolisti in cui si possono alternare fasi di anemia ferropriva, per diminuita introduzione dietetica, a fasi con sovraccarico di ferro, dovuto anche all'alto contenuto di ferro nelle bevande. Il quadro clinico può ulteriormente complicarsi per danno di organi (cuore, pancreas) da perossidazione lipidica delle membrane. L'epatopatia, soprattutto se alcolica, può essere complicata da un'anemia sideroblastica con alterata sintesi dell'eme e contemporanea presenza di normociti e macrociti. Secondo la fase e la gravità dell'epatopatia si può riscontrare anemia da malattia cronica, in cui le emazie si presentano normocromiche e normocitiche con valori elevati della percentuale di saturazione della transferrina. La carenza di folati, di frequente riscontro nell'epatopatia, soprattutto alcolica, da alterato circolo enteroepatico e da ridotta secrezione epatica, si evidenzia con un'anemia macrocitica. Anche la carenza di vitamina B12, da interruzione del circolo enteroepatico, entra in causa nella patogenesi dell'anemia macrocitica/megaloblastica. Un'anemia da emolisi è comune negli epatopatici con complicanze, quali ipertensione portale e ipersplenismo, ed è

correlata al volume della milza ed alla severità del danno parenchimale. Nei cirrotici le emazie emolizzate vanno dal 20-30 %¹⁸. Tra i meccanismi patogenetici un ruolo importante nella lisi cellulare è giocato dallo stress ossidativo e dalla integrità delle membrane. I globuli rossi sono fisiologicamente sottoposti a stress ossidativo durante la loro funzione di trasportatori di ossigeno: nei soggetti sani sistemi antiossidanti, enzimatici e non, riescono a bilanciare la formazione di radicali liberi, mentre nei pazienti con cirrosi la disfunzione di tali sistemi provoca alterazione della perfusione capillare con lisi cellulare. Studi sperimentali hanno dimostrato che, in condizioni di ipossia, aumenta l'ingresso ed il consumo nei globuli rossi di ossido nitrico (NO), con incremento di metaboliti tossici per la membrana cellulare¹⁹. La gravità dell'anemia è dipendente dalla capacità di compenso midollare, a sua volta correlata all'effetto tossico diretto sull'eritron indotto dai diversi agenti eziologici alla base della malattia epatica. L'effetto soppressivo può condurre anche a un'anemia aplastica: tale evento è stato riportato in pazienti con epatopatie da virus C con un'incidenza dello 0.1-0.2%. Una ridotta sopravvivenza eritrocitaria, per emolisi, si verifica anche nella menzionata sindrome di Zieve, dove le "spur cells" complicano il quadro clinico dell'anemia, tipicamente severa, con reticolocitosi, riscontrabile nei pazienti con cirrosi in fase avanzata, complicata da splenomegalia, ascite, ittero ed encefalopatia.

Nella valutazione di Laboratorio della macrocitosi vanno considerate le diverse patologie in cui possono essere presenti emazie con MCV aumentato. Si dovrà stabilire, in primis, tramite l'esame emocromocitometrico e l'osservazione microscopica, se sono presenti falsi aumenti dovuti ad artefatti (agglutinine fredde, intensa reticolocitosi, aggregati, grave iperglicemia). Invece lo studio dell'assetto del ferro, la valutazione della presenza di emoglobine patologiche, il conteggio reticolocitario saranno necessari per identificare le macrocitosi "mascherate" con "MCV falsamente normale" in pazienti con epatopatia associata a iposideremia, talassemia, m. infettive, m. infiammatorie croniche. L'anemia macrocitica/megaloblastica, da deficit di cobalamina e/o folati, sarà confermata dalla determinazione della stessa cobalamina, dalla valutazione di un eventuale aumento di acido metilmalonico e/o omocisteina, dalla riduzione dei folati eritrocitari, insieme alla presenza di anticorpi antifattore intrinseco ed all'osservazione microscopica di ipersegmentazione dei granulociti neutrofili. Per la diagnosi differenziale delle malattie con macrocitosi sarà indispensabile esaminare la storia clinica dei pazienti, indagando sulla eventuale assunzione di farmaci e/o tossici (alcool, chemioterapici, antivirali quali la zidovudina e la stavudina), sull'esposizione a solventi organici, sulla presenza di patologie con interessamento midollare, quali le epatopatie croniche, le malattie midollari primitive (mielodisplasie o aplasia midollare) e sulla presenza di eventuale disordine tiroideo. Il conteggio dei reticolociti è importante per la diretta correlazione con l'attività eritropoietica midollare indicandone l'entità e la funzionalità. L'osservazione del numero e della maturazione dei reticolociti permetterà di stabilire se l'anemia è di tipo iporigenerativo, da compromissione della funzionalità midollare per patologie ematologiche e non, sospettata per un basso numero

dei reticolociti, o iperrigenerativo in cui l'incremento numerico è indice di una ripresa di attività midollare¹⁵ o di un tentativo di compenso, per aumentata distruzione dei globuli rossi da emolisi o da emorragia acuta. L'osservazione della morfologia eritrocitaria, insieme al conteggio dei reticolociti, consentirà di eseguire una diagnosi differenziale più approfondita. Un'anemia persistente con numero di reticolociti ridotto o normale e con emazie normocromiche normocitiche può indicare una compromissione dell'attività midollare da infiltrazione, da aplasia, da infiammazione, da difetti metabolici o da carenza di fattori emopoietici. La presenza, invece, di un numero basso di reticolociti e di emazie microcitiche, potrà orientare verso un disordine di sintesi di emoglobina per carenza marziale, talassemia o anemia sideroblastica. L'anemia con un numero ridotto di reticolociti, ma con emazie macrocitiche, dovrà porre in essere il sospetto diagnostico di ipoprolifera- zione per alterazioni nucleari, da carenza di folati, B12 o da farmaci. L'individuazione delle popolazioni reticolocitarie a diversa maturazione per mezzo del contenuto in RNA, evidenziato dalla fluorescenza, ha fornito informazioni di notevole utilizzo clinico. L'aumento in circolo delle frazioni più immature reticolocitarie (IRF), in particolare, consente di valutare l'attività eritropoietica midollare precoce, di monitorare le riprese midollari, di differenziare meglio le anemie di tipo iperrigenerativo da quelle che invece dipendono da blocco midollare ed infine di valutare la risposta eritropoietica alle terapie antianemiche (B12, folati, ferro) ed ai trattamenti con eritropoietina. Il parametro CHr (Contenuto Emoglobinico Reticolocitario Medio) è utile per la valutazione ed il monitoraggio, in tempo reale, dell'efficacia del trattamento dei pazienti anemici trattati con terapia marziale o con folati e vitamina B12. La presenza di displasie bi o trilineari, citopenie, screezio leucoeritroblastico e soprattutto una storia clinica non chiara dovrà far porre il sospetto di una patologia midollare da valutare tramite uno studio con ago aspirato^{20,21}.

Piastrine ed epatopatie

La trombocitopenia, causa principale delle complicanze emorragiche, rappresenta una delle più comuni alterazioni rilevabili in corso di epatopatie: è più frequentemente di grado lieve o moderato, ma può, nella malattia complicata, essere severa. L'incidenza varia dal 70 al 90% nelle malattie epatocellulari severe e dal 38 al 63% in corso di cirrosi biliare primitiva e colangite sclerosante. Sono frequenti anche anomalie funzionali, la cui incidenza e gravità è direttamente correlata alla tipologia dell'agente eziologico ed alla severità del danno epatico. La patogenesi è sia periferica, per aumentata distruzione conseguente ad ipertensione portale, sequestro splenico ed autoanticorpi antiplastrine, sia centrale, per diminuita produzione a livello midollare o polmonare. La ridotta attività midollare può dipendere anche da una diminuita produzione di trombopoietina (TPO), chiamata anche fattore di crescita e sviluppo dei megacariociti (MGDF), che a sua volta è regolata dal fattore di crescita epatocitario (HFG), prodotto dagli epatociti e dalle cellule epatiche non parenchimali: Il deficit di TPO, insieme alla bassa concentrazione di HFG, è il fattore eziologico più importante responsabile della trombocitopenia, specialmente nelle malattie epatiche avanzate

e nella cirrosi, inoltre la co-presenza di una CID subclinica può concorrere alla piastrinopenia, tramite un'attivazione piastrinica in circolo, favorita anche da citochine ed endotossine. Le piastrine attivate vanno incontro alla degranulazione rilasciando proteine attive (PF4, beta tromboglobulina) ed esprimono maggiormente le glicoproteine di membrana (P selectine CD62P, CD63), quindi, rapidamente invecchiate, vengono a mancare con conseguente trombocitopenia. Le nuove tecnologie hanno fornito soluzioni per la problematica della valutazione della produzione midollare, in pazienti a rischio emorragico, come gli epatopatici, tramite lo studio delle piastrine reticolate. Le piastrine giovani, entro le prime 24 ore della loro vita ed appena rilasciate dal sangue midollare, contengono quantità significative di RNA e sono identificabili sullo striscio di sangue periferico tramite la colorazione con il nuovo blu di metilene: in analogia ai reticolociti sono chiamate piastrine reticolate²². Il conteggio, inizialmente citofluorimetrico, creava difficoltà di standardizzazione, oggi risolte grazie all'automazione sugli ultimi emocitometri (SYSMEX XE 2100)^{23,24}. Le piastrine immature sono differenziate dalle mature sia per la posizione, dovuta al maggiore volume, nello scattergramm che per l'aumentata fluorescenza in proporzione all'aumentato contenuto in RNA. Il conteggio avviene sul canale dei reticolociti tramite l'utilizzo di coloranti fluorescenti polimetinici in grado di legarsi agli acidi nucleici; attraverso software dotati di specifici algoritmi ed, usando dei gating, è possibile quantificare le piastrine immature esprimendole in percentuale rispetto al conteggio totale (IPF%)²⁵. Il conteggio delle piastrine reticolate fornisce indicazioni immediate sull'attività megacariocitopoietica midollare, differenzia le piastrinopenie da distruzione periferica da quelle da insufficienza midollare, mostra un utilizzo clinico in condizioni di aumentato turnover piastrinico (porpora trombotica trombocitopenica, porpora trombocitopenica autoimmune, ipertensione associata a gravidanza). L'IPF% risulta, quindi, utile per monitorare la ripresa della piastrinopoiesi nei trapianti midollari e nel decorso terapeutico della porpora trombotica trombocitopenica e permette di discriminare i meccanismi patogenetici, in rapporto allo stadio evolutivo della malattia, delle trombocitopenie secondarie ad epatopatia, in cui l'eziologia è multifattoriale, evitando che il paziente sia sottoposto ad approfondimenti diagnostici invasivi²⁵. Attraverso il monitoraggio di tale parametro si hanno indicazioni sull'effettiva necessità di trasfusioni piastriniche, sull'andamento della megacariocitopoiesi e sull'efficacia della terapia in corso di piastrinopenie^{2,14}; infatti, risultano particolarmente utili in pazienti con insufficiente sintesi di trombopoietina, trattati con farmaci stimolanti la megacariocitopoiesi.

Globuli bianchi ed epatopatie

Nelle malattie epatiche è frequentemente rilevabile una leucopenia con neutropenia di gravità variabile dipendente dalla fase di malattia, dalle complicanze e dall'agente eziologico. La patogenesi include molteplici meccanismi, spesso coesistenti in uno stesso paziente, come la soppressione della granulopoiesi, con produzione ridotta o assente di granulociti dovuta ad infezioni (epatiti), abuso alcolico, deficit di fattori nutritivi (ac.folico/B12), la distruzione, l'emarginazione ed il sequestro dei granulociti circolanti ri-

scontrabili nei processi flogistici, nell'alcolismo acuto e nelle complicanze della cirrosi, come l'ipertensione portale e l'ipersplenismo. La durata e la severità della neutropenia dipende dall'agente eziologico e dalle condizioni del paziente: patologie concomitanti possono far variare l'andamento clinico e la severità della stessa neutropenia. Le granulocitopenie possono essere suddivise in lievi (neutrofili $= 1.0-1.5 \times 10^3/\mu\text{l}$), moderate (neutrofili $= 0.5-1.0 \times 10^3/\mu\text{l}$) e severe (neutrofili $< 0.5 \times 10^3/\mu\text{l}$). Diversi studi hanno evidenziato in corso di epatite virale acuta, di tipo A e B, ipoplasia midollare e pancitopenia (0.1-0.2%). In seguito ad epatite di tipo A, B, C e ad infezioni da virus epatotrofici, quali il virus di Epstein e Barr (EBV) e il citomegalovirus (CMV), la neutropenia è causata principalmente da emarginazione; è di grado lieve o moderata e coincide con il periodo della viremia. L'epatite B e da EBV, insieme all'infezione da HIV, possono determinare una granulocitopenia da blocco midollare per infezione dei precursori emopoietici causando una neutropenia severa e di maggiore durata²⁶. Inoltre i deficit funzionali inerenti la chemiotassi, la fagocitosi ed il burst ossidativo provocata dagli stessi virus e dalla stessa epatopatia, possono complicare il quadro clinico peggiorato dalla presenza di anticorpi antineutrofili tipici dell'epatopatia autoimmune ma rilevabili anche nelle infezioni virali. Le cellule mieloidi immature (promielociti, mielociti, metamielociti) reperite nel sangue periferico possono indicare un'aumentata attività della granulocitopoiesi midollare in risposta ad infezioni e a malattie infiammatorie acute ma anche segnalare una ripresa di attività midollare in seguito ad un blocco transitorio da alcool o virus. Possono peraltro essere la spia di una patologia ematologica primitiva con interessamento anche epatico. Sono evidenziabili, attraverso allarmi generici, dalla maggior parte degli emocitometri, o, più specificatamente, tramite canali dedicati che differenziano i granulociti immaturi dagli altri cluster cellulari in base alle caratteristiche specifiche del nucleo e del citoplasma²⁷⁻²⁹.

Bibliografia

1. Caldwell SH, Hoffman M, Lisman T, Macik BG, Northup PG, Reddy KR, et al. Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management. *Hepatology* 2006; 44:1039-46.
2. Gonzalez-Casas R, Jones EA, Moreno-Otero R. Spectrum of anemia associated with chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15:4653-8.
3. Banerjee S, Owen C, Chopra S. Sick cell hepatopathy. *Hepatology* 2001; 33:1021-8.
4. Latvala J, Parkkila S, Melkko J, Niemelä O. Acetaldehyde adducts in blood and bone marrow of patients with ethanol-induced erythrocyte abnormalities. *Mol Med* 2001; 7:401-5.
5. Hashimoto Y, Nakayama T, Futamura A, Omura M, Nakahara K. Erythrocyte mean cell volume and genetic polymorphism of aldehyde dehydrogenase 2 in alcohol drinkers. *Blood* 2002; 99:3487-8.
6. Savage DG, Ogundibe A, Allen RH, Stabler SP, Lindenbaum J. Etiology and diagnostic evaluation of macrocytosis. *Am J Med Sci* 2000; 319:343-52.
7. Grattagliano I, Giudetti AM, Grattagliano V, Palmieri VO, Gnani GV, Lapadula G, et al. Structural and oxidative modifications of erythrocyte ghosts in patients with primary biliary cirrhosis: relation with the disease stage and effect of bile acid treatment. *Eur J Clin Invest* 2003; 33:868-74.
8. Exner M, Schwarzingger I. Targeting the dust. *Br J Haematol* 2001; 114:739.
9. Salvioli G, Lugli R, Salati R. Lipid substrates for LCAT activity in liver disease. *Scand J Gastroenterol* 1977; 12:841-7.
10. Koivisto H, Hietala J, Anttila P, Parkkila S, Niemelä O. Long-term ethanol consumption and macrocytosis: diagnostic and pathogenic implication. *J Lab Clin Med* 2006; 147:191-6.
11. Bizzaro N, Piazza I, Baldo G, Baritussio A. Alcohol induced burr cell (echinocytic) haemolytic anaemia and haemochromatosis. *Clin Lab Haematol* 1993; 15:93-102.
12. Zieve FJ. The metabolic syndrome: diagnosis and treatment. *Clin Cornerstone* 2004; 6(Suppl 3):S5-13.
13. Vassiliadis T, Mpoumpouaris A, Vakalopoulou S, Giouleme O, Gkissakis D, Grammatikos N, et al. Spur cells and spur cell anemia in hospitalized patients with advanced liver disease: Incidence and correlation with disease severity and survival. *Hepatol Res* 2010; 40:161-70.
14. Burns E, Lou Y, Patathak A. Morphologic diagnosis of thrombotic thrombocytopenia purpura. *Am J Hematol* 2004; 75: 18-21.
15. Cenci AM, Biasioli B, Cappelletti P. Obiettivi clinici dell'ematologia di laboratorio. *RIMeL/IJLaM* 2008; 4:16-27.
16. Lee GR, Bithell TC, Foerster J, eds. Appendix A. In: *Wintrobe's Clinical Hematology*, 9th ed., Philadelphia, PA: Lea & Febiger; 1993. p 2303.
17. Andrews NC. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest* 2004; 113:1251-3.
18. Hilgard P, Schreiter T, Stockert RJ, Gerken G, Treichel U. Asialoglycoprotein receptor facilitates hemolysis in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Hepatology* 2004; 39:1398-407.
19. Han TH, Qamirani E, Nelson AG, Hyduke DR, Chaudhuri G, Kuo L, et al. Regulation of nitric oxide consumption by hypoxic red blood cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 12504-9.
20. Kickler TS, Borowitz MJ, Thompson RE, Charintranont N, Law R. Ret-Y a measure of reticulocyte size: a sensitive indicator of iron deficiency anemia. *Clin Lab Haematol* 2004; 26: 423-7.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Methods for Reticulocyte Counting (Automated Blood Cell Counters, Flow Cytometry, and Supravital Dyes)*; Approved Guideline - Second Edition NCCLS Document H44-A2, Villanova, Pennsylvania, 2004.
22. Buttarello M, Temporin V, Ceravolo R, Farina G, Bulian P. The new reticulocyte parameter (RET-Y) of the Sysmex XE 2100: its use in the diagnosis and monitoring of post treatment sideropenic anemia. *Am J Clin Pathol* 2004; 121:489-95.
23. Bain BJ. Performing a blood count. In: Bain BJ, ed. *Blod Cells A Practical Guide*. Fourth Edition. Oxford, UK: Blackwell Publishing; 2006. p. 20-60.
24. Canals C, Remacha AF, Sardá MP, Piazuelo JM, Royo MT, Romero MA. Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter - reticulocyte hemoglobin equivalent - in the diagnosis of anemia. *Haematologica* 2005; 90:1133-4.
25. Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni S, Machin SJ. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Clin Pathol* 2004; 126:93-9.
26. Wright D, Palmblad JEW. Acquired neutropenia and agranulocytosis. In: Young NS, Gerson LS, High AK, eds *Clinical Hematology*. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2006. p. 192-202.
27. Boxer L, Dale DC. Neutropenia: Causes and Consequences. *Semin Hematol* 2002; 39:75-81.
28. Newburger EP. *Disorders of Neutrophil Number and Function*. Washington, DC, USA: American Society of Hematology; 2006. p. 104-6.
29. Cenci AM, Biasioli B, Golato M. Neutropenie: il punto di vista del Laboratorio. *RIMeL/IJLaM* 2007; 3(Suppl):96-106.