

Alterazioni ematologiche nelle malattie dell'apparato digerente

A.M. Cenci

Laboratorio Corelab e Microbiologia, Nuovo Ospedale S. Agostino-Estense, Dipartimento di Patologia Clinica, AUSL Modena

Riassunto

Le patologie gastroenteriche presentano, tra i segni e i sintomi ad esse correlati, alterazioni ematologiche. Esse sono simili a quelle riscontrabili in patologie non primitivamente ematologiche che insorgono in altri apparati: qui assumono tuttavia specificità legate alle caratteristiche anatomico-funzionali del sistema gastroenterico. Tali peculiarità influenzano pesantemente la forma e l'intensità di espressione delle alterazioni ematologiche osservate, che spesso riconoscono eziopatologie plurifattoriali e complesse.

Tutta la vasta gamma di malattie che colpisce l'apparato gastroenterico può quindi essere complicata o svelata da risvolti ematologici, spesso primo segno di patologia; oltre che alla diagnostica d'organo, accanto a sofisticate metodologie d'indagine di varia pertinenza medica, il laboratorio è in grado di contribuire in modo consistente all'inquadramento del paziente gastroenterologico, durante la terapia e nel corso del follow up. Gli esami messi a disposizione vanno dai semplici test di base, come l'emocromo, ai più sofisticati di ultima generazione e di area specialistica, attraverso i quali è spesso possibile contribuire alla diagnosi definitiva precocemente.

Questo articolo fa il punto sull'attuale diagnostica delle principali alterazioni ematologiche di più frequente riscontro in campo gastroenterologico.

Summary

Hematological features in gastrointestinal diseases

Haematological abnormalities, similar to those found in primitive non-hematologic diseases that occur in other body systems, may be present also in gastrointestinal diseases. However, in gastrointestinal diseases they may have specific features related to the anatomical and functional characteristics of this system. These features strongly influence the shape and the intensity of the expression in hematological abnormalities, which often recognize multi-factorial and complex etiopathogenetic causes.

The wide range of diseases affecting the gastrointestinal system may be complicated or even revealed as the first note of pathology by haematological signs. Together with other methods of investigation, the clinical laboratory can contribute substantially to the early diagnosis and classification of patients during treatment and follow-up by means of basic tests such as CBC, or more sophisticated and last generation tests.

This paper reviews the main haematological disorders most frequently associated to gastroenterological diseases.

Key-words: Gastrointestinal disease; Hematological features; Blood cell count; Anemia; Celiac disease.

Introduzione

Le alterazioni ematologiche fanno parte del corredo di segni e sintomi che accompagnano le malattie gastroenterologiche. Esse, pur analoghe a quelle riscontrabili in altre patologie non ematologiche, assumono tuttavia alcune specificità, legate alle caratteristiche anatomico-funzionali del sistema gastroenterico.

Tali peculiarità sono definite dall'istologia, dall'irrorazione dei tessuti, dai rapporti di confine tra le varie strutture

anatomiche, dai compiti fisiologici degli organi che compongono l'apparato gastroenterico.

La tipologia delle alterazioni è inoltre determinata dalle diverse cause eziopatogenetiche delle malattie che possono coinvolgere gli organi del distretto gastro-enterico singolarmente o nel loro complesso, con modalità differenti, e gradi vari di penetranza.

Le alterazioni possono essere concomitanti, di accompagnamento o causate dalle criticità presentate dalle prin-

cipali funzioni degli organi gastroenterici. Tra queste, in primis, si riconoscono quelle legate al processo digestivo, alle secrezioni endocrina ed esocrina, alla detossicazione. Gli organi dell'apparato possono essere altresì colpiti da patologie infettive, reattive, infiammatorie, autoimmuni, neoplasiche, oltre che da traumi e sanguinamenti. Infine alcuni cambiamenti anatomico-funzionali, con risvolti spesso francamente patologici, sono legati all'età: basti pensare all'imaturità d'organo riscontrabile nell'infanzia ed alle dismaturità della vecchiaia.

Un'alterata funzione gastrointestinale, accompagnata da modificazioni ematologiche, è talvolta connessa a malattie sistemiche, come nel caso di alcune patologie autoimmuni; inoltre essa può essere il riflesso di problematiche più generali. Un esempio è rappresentato da quadri di malassorbimento che determinano carenze fattoriali (cfr. gli effetti dell'anoressia nervosa sull'assorbimento intestinale e quelli dell'anemia macrocitica carenziale dell'anziano).

Alcuni effetti che il tessuto-sangue può subire sono legati alle terapie richieste dagli interventi chirurgici per patologie gastroenteriche, quali quelli con resezioni più contenute o demolitive, per radio e chemioterapie. Anche il capitolo delle perdite ematiche, particolarmente importante in alcune zone intensamente vascolarizzate, quale quella rettale, è sicuramente da tenere in considerazione come fonte di cambiamenti nell'equilibrio emostatico generale.

Le patologie gastroenteriche determinano effetti di danno diretto sugli organi stessi e/o sulle strutture limitrofe, causando lesioni locali o diffuse; a tutti questi stati possono corrispondere alterazioni, selettive o globali, della qualità del sangue.

In soggetti affetti da patologie gastroenteriche, i cambiamenti che avvengono nella crasi ematica riguardano sia il percorso di maturazione che l'attività dei singoli elementi corpuscolati del sangue e sono evidenziati in primis con l'esame emocromocitometrico. Oltre a questo esame, le ripercussioni sono valutabili determinando numerosi analiti coinvolti nelle diverse fasi funzionali del tessuto ematico con una serie di ulteriori test. Queste indagini, di fatto, coinvolgono diversi settori del laboratorio clinico, per lo studio di numerosi elementi essenziali per l'equilibrio fisiologico dell'organismo. Tali elementi, presi in esame nella attività routinaria o specialistica del moderno laboratorio, sono costituiti dai fattori di crescita, dalle sostanze biochimiche facenti parte dei costituenti cellulari, dalle vitamine legate al ciclo di maturazione e di proliferazione delle cellule ematiche, dalle molecole di deposito, e dagli oligoelementi; essi sono in stretto rapporto con le fasi di assorbimento e di catabolismo cui l'apparato gastroenterico integro è deputato.

Un ulteriore contributo che il laboratorio può fornire alla diagnosi clinica e al completamento di quadri differenziali, è costituito dalla ricerca di autoanticorpi, dal riconoscimento di agenti infettivi, dalla dimostrazione di marcatori di infiammazione o di neoplasia, dall'evidenza di predisposizioni eredo-familiari basata su studi genetici. Essenziale resta comunque la diagnostica ematologica; questa muove dai test di base costituiti da misure, conteggi e descrizione della morfologia di elementi quali GR, GB e PLT e misure quali Hb ed MCV, e passa a successivi livelli di indagine con logiche dettate dall'appropriatezza

prescrittiva dei test, attraverso flow chart basate sul rigore scientifico, al servizio della risposta ai quesiti clinici posti. Fanno parte delle fasi di approfondimento lo studio dell'ambiente midollare attraverso l'aspirato e la mielobiopsia, la tipizzazione immunofenotipica degli elementi presenti sia nel sangue periferico che midollare, la biologia molecolare; quest'ultima, in particolare, risulta utile nelle situazioni in cui una patologia secondaria può mimare patologie ematologiche primitive.

A causa delle eterogeneità delle patologie che si possono sviluppare nel sistema gastroenterico, non esiste in realtà una reattività standard per le cellule ematiche, come lo sviluppo di proliferazioni o inibizioni costanti; si riscontrano così, citosi e penie, immaturità e dismaturità cellulari, insorte con meccanismi eziopatogenetici spesso multifattoriali.

I cambiamenti e le alterazioni ematologiche principali e più frequentemente associate alle malattie gastroenterologiche sono costituite da anemia, leucocitosi neutrofila, alcune eosinofilie (soprattutto in ambito parassitologico), leucopenie e neutropenie (in prevalenza in ambito autoimmune), piastrinopenie, carenze fattoriali della coagulazione, emorragie di vario tipo e localizzazione, più raramente piastrinosi.

In tutti questi casi il ricorso alla diagnostica di laboratorio risulta essenziale.

Qui di seguito vengono presi in considerazione alcuni tra i più importanti segni ematologici in campo gastroenterologico, all'interno di diverse situazioni cliniche, sottolineando gli apporti che la diagnostica di laboratorio è oggi in grado di fornire¹.

Le principali patologie gastroenterologiche

Dell'apparato digerente, formato da bocca, stomaco, intestino tenue, intestino crasso e retto, sono di seguito riportate le principali patologie riscontrabili che possono implicare cambiamenti e alterazioni sulla crasi ematica.

- A livello intestinale le *malformazioni* si presentano in forma di stenosi o atresie.
- L'apparato va incontro ad *occlusioni* per fenomeni aderenziali post-patologie varie (come complicanze in morbo di Crohn, appendicite, diverticolosi, interventi chirurgici in addome con formazione di aderenze). Briglie cicatriziali, cordoni più o meno spessi, possono, avvinghiandolo, strangolare l'intestino. L'età del soggetto risulta importante nell'interpretare il tipo di occlusione: nel neonato si devono escludere le malformazioni (stenosi ed atresie dell'esofago o del tratto anale), quindi considerare un ileo da meconio o un volvolo del tenue. Nell'infanzia si devono escludere invaginazioni intestinali, stenosi del piloro, megacolon, patologie da diverticolo di Meckel, appendicopatie. Nella primissima infanzia è possibile trovarsi di fronte all'ingestione di un corpo estraneo (monete, biglie, piccoli sassi). Nel giovane e nell'adulto la maggioranza delle occlusioni è dovuta ad ernie complicate o a pregressi interventi. In età avanzata i rischi maggiori sono connessi a neoplasie. Negli anziani e nei pazienti allettati si incontrano frequentemente fecalomi.
- I *traumi* addominali possono causare contusioni ed ematomi delle pareti intestinali con formazione di cicatrici aderenziali; traumi extra-addominali, ad esempio molti

- traumi rachidei, possono determinare un ileo paralitico.
- Le *malattie neoplastiche*, costituite da tumori sia benigni che maligni, primitivi o metastatici, esordiscono spesso con una sintomatologia occlusiva, diretta o da compressione di altri organi endoaddominali su segmenti intestinali.
 - *Malattie infiammatorie, reattive su base immunologica e autoimmuni*, si possono trovare quali localizzazioni uniche, o inquadrabili in patologie sistemiche.
 - La *colite ulcerosa e la malattia di Crohn* possono manifestarsi a qualsiasi età, con l'incidenza più elevata tra i 20 e i 40 anni per la prima e tra i 15 e i 35 per la seconda, ma, negli ultimi anni si è osservato uno spostamento dell'esordio anche in età pediatrica (20% dei casi in bambini e adolescenti). Uomini e donne ne sono egualmente colpiti; differiscono nelle due patologie i tratti d'intestino più comunemente interessati. L'ipotesi eziopatogenetica è quella di una reazione immunologica abnorme da parte dell'intestino nei confronti di antigeni vari, ad esempio batteri normalmente presenti a livello intestinale. Questo squilibrio immunologico può instaurarsi per un'alterata interazione tra fattori genetici propri dell'individuo e fattori ambientali. Pur non essendo malattie ereditarie le due malattie presentano un certo grado di familiarità, costituito dalla tendenza ad un maggior rischio nei parenti delle persone affette. Il quadro clinico può essere molto variabile nel tipo e nella intensità dei sintomi. La diagnosi si basa soprattutto su indagini strumentali endoscopico-biopsiche, radiologiche, ecografiche. La fase diagnostica si avvale di dati di laboratorio quali l'emocromo per la valutazione dell'anemia, indici di infiammazione, valutazione dello squilibrio elettronico. Tra gli esami del sangue è sicuramente patognomonica la rilevazione di "auto-anticorpi- anticolon"; anche la sola diagnostica strumentale (clisma opaco e la retto-colonscopia) può giungere ad una diagnosi di certezza attraverso la dimostrazione delle lesioni tipiche della malattia¹.
 - La *celiachia, o morbo celiaco*, disordine autoimmune caratterizzato da intolleranza al glutine, proteina contenuta in vari alimenti e principalmente depositata in frumento, orzo, segale e avena, insorge in soggetti geneticamente predisposti. Enteropatia permanente essa è ad oggi il modello di patologia autoimmunitaria più studiata e forse meglio conosciuta. Alla sua patogenesi contribuiscono almeno due tipi di fattori, quelli genetici e quelli ambientali. Il glutine è fattore ambientale responsabile; i fattori genetici, anch'essi molto importanti nel determinismo della malattia, possono essere ascrivibili a geni HLA dipendenti ed HLA indipendenti. In senso stretto la celiachia non è una malattia ma una semplice condizione che per manifestarsi necessita della contemporanea presenza di una predisposizione genetica e di un consumo di alimenti contenenti glutine. Al momento della nascita un individuo porta già con sé i geni legati alla malattia celiaca; si tratta tuttavia di una condizione necessaria ma non sufficiente, per cui l'essere portatori del gene anomalo non significa necessariamente malattia ma solo, maggiore probabilità di svilupparla in condizioni particolari extra-individuo. In risposta alla esposizione al glutine si osservano caratteristiche alterazioni istologiche della mucosa del piccolo intestino tra cui linfocitosi intraepiteliale, infiltrazione linfoplasmacellulare della lamina pro-

pria, e atrofia di vari gradi dei villi. Di recente dimostrazione sarebbe una profonda relazione tra infezione da rotavirus e celiachia, per la presenza nei celiaci di anticorpi verso una proteina virale legata alla rilevazione della presenza del virus sulle cellule dei villi intestinali e coinvolta nei processi di neutralizzazione dell'aggressione a tali strutture. La scoperta aprirebbe nuovi orizzonti nella prevenzione della malattia celiaca, anche grazie alla sintesi di vaccini specifici per l'età pediatrica, attualmente in fase sperimentale.

I pazienti affetti da celiachia hanno una predisposizione a sviluppare carenza di ferro, a causa presumibilmente del preponderante danno della mucosa-duodenale, che è anche il luogo di massimo assorbimento di ferro; una anemia sideropenica è spesso il disturbo rilevato in adulti con diagnosi di celiachia. Gli individui con malattia celiaca sono anche predisposti a una serie di altre anomalie ematologiche, tra cui deficit di vitamina B12 o di acido folico, riscontro di displasia a carico dei granulociti neutrofili e iposplenismo. Il quadro clinico di malattia celiaca è notevolmente cambiato dopo l'avvento dei nuovi test sierologici¹⁻³.

- Anche le *patologie infettive e parassitarie* si presentano con singole localizzazioni o come manifestazioni di un quadro generalizzato. Esse sono sostenute da numerosi agenti, alcuni dei quali trovano negli organi gastroenterici il loro habitat ideale. La rottura dell'equilibrio della flora intestinale, una volta instauratosi, porta a cambiamenti ambientali estremamente pericolosi per la funzione dell'apparato gastroenterico e la salute dell'individuo. Le più recenti conoscenze sulla virulenza dell'*Helicobacter pylori* e sull'"overgrowth batterico", con le ipotesi di una partecipazione dei microrganismi ai meccanismi eziopatogenetici di molti dei disturbi gastrointestinali quali malassorbimenti, anemie, e tumori, ne sono un chiaro esempio. In alcune malattie da elminti, ammassi di parassiti possono determinare occlusioni meccaniche¹.
- La *patologia pancreatica*, principalmente costituita da pancreatiti, acute e croniche, da cisti e da neoplasie è estremamente grave, con presentazioni cliniche che spesso richiedono interventi in urgenza in condizioni drammatiche, con ripercussioni sulle importanti funzioni esocrina ed endocrina della ghiandola.
- Problemi gastrointestinali anche gravi sono connessi all'utilizzo di alimentazione inadeguata, consumo di alcol, assunzione di farmaci e somministrazione di vaccini. Queste sostanze sono in grado di alterare enzimi e flora batterica autoctona, ed innescare disordini immunitari con squilibri immunologici nelle funzioni linfocitarie.
- Collegati anche all'apparato gastroenterico esistono tumori secernenti ormoni e strutture desmoidi¹.

Anemia e malattie gastroenteriche

L'anemia è di frequente riscontro, in varie forme, nelle malattie dell'apparato gastroenterico; essa riconosce diverse cause, dalla perdita ematica, collegata all'emorragia al deficit per malassorbimento degli elementi essenziali per lo sviluppo del patrimonio eritroide dell'organismo. L'anemia da perdita è importante per tutti i processi vitali, a causa delle problematiche cliniche correlate alle modalità e alla velocità dell'instaurarsi delle perdite stesse e contribui-

sce significativamente all'impoverimento delle funzioni eritropoietiche, sino al loro esaurimento, presentando alterazioni della cromia e segni di iporigenerazione spinti, soprattutto in caso di cronicizzazione del sanguinamento.

L'esempio più evidente è l'insorgenza delle anemie microcittiche ferrocarenziali che trovano origine nelle perdite ematiche emorroidarie, soprattutto nel maschio.

Di grande importanza è il capitolo delle anemie carenziali, legato alla compromissione della tradizionale funzione di assorbimento da parte dell'apparato gastroenterico.

In casi di malassorbimento per singoli fatti eziologici, quali compromissioni specifiche di un circuito funzionale o carenze di apporto selettive, l'anemia che ne deriva è anch'essa legata ad una singola causa o ad una carenza specifica (cfr. la presenza di anticorpi anti cellule della mucosa gastrica o un deficit vitaminico); in questi casi il segno clinico compare nell'ambito di tutte quelle patologie che possono presentare il tipo specifico di difetto in gioco. Più comunemente, le anemie dell'apparato gastroenterico riconoscono una multifattorialità, che spesso complica la possibilità di una diagnosi chiara ed esatta¹.

Vengono di seguito trattati i principali tipi di anemia e il contributo del laboratorio al loro inquadramento.

Anemia e Deficienza di Vitamina B 12

Carenza di Vitamina B12. La carenza di Vitamina B12 può svilupparsi per svariate ragioni, riconducibili ad un'insufficiente apporto alimentare e/o ad un alterato assorbimento che, in condizioni normali, avviene nel tratto inferiore dell'intestino tenue, chiamato ileo, grazie alla presenza del fattore intrinseco. A carenze importanti della vitamina si accompagnano gravi forme di anemia e degenerazioni del sistema nervoso. Nei paesi in via di sviluppo la "malnutrizione" da carenza di vitamina B12 e/o folati, dovuta ad un inadeguato apporto con la dieta, rappresenta ancora oggi una delle cause principali di patologie ed è dovuta a motivi sociali, culturali, religiosi, condizioni di povertà estrema. Nei paesi industrializzati questa base è molto rara e si presenta solo in soggetti con una dieta strettamente vegetariana, in bambini nati da madre vegetariana, in persone anziane che tendono a introdurre poca vitamina nella loro dieta o ad assimilarla in modo non adeguato.

Inoltre il deficit riconosce altre cause, quali, ad esempio:

- anemia pernicioso, derivante dalla compromissione della mucosa gastrica e mediata da meccanismi immunologici. Ne deriva gastrite atrofica cronica, con caratteristico danno delle cellule parietali;
- anemia megaloblastica;
- malassorbimento, soprattutto in persone anziane ed in soggetti con patologie gastroenteriche;
- eccessiva crescita della microflora batterica intestinale, la cui fisiopatologia mette in evidenza una competizione intraluminale per la vitamina B12;
- errori congeniti del metabolismo, in particolare deficit enzimatici, quali metionina sintasi, metionina sintasi riduttasi e metilenetetraidrofolato riduttasi (MTHFR). La forma labile della MTHFR è quella più frequentemente riscontrata nella popolazione.

Anche infestazioni enteriche da parassiti, come il verme botriocefalo che consuma la vitamina, e varie sindromi da malassorbimento, conseguenti a celiachia, morbo di Crohn,

ecc., possono determinare carenze di vitamina B12.

Fattori che possono contribuire al malassorbimento alimentare di B12 negli anziani sono la proliferazione microbica intestinale, l'assunzione per lungo tempo di biguanidi e antiacidi, compresi antagonisti dei recettori H2 e inibitori della pompa protonica; l'alcolismo cronico, gli interventi chirurgici gastrici, la compromissione anche parziale del pancreas esocrino e la sindrome di Sjögren. Quando la carenza è associata ad infezione da *H. pylori*, l'eradicazione di quest'ultima è sufficiente per riequilibrare i livelli della vitamina^{1,4}.

Anemia pernicioso. L'anemia pernicioso è una forma anemica dovuta alla carenza di Vitamina B12 ed è una malattia autoimmune caratterizzata dalla distruzione della mucosa gastrica. Si rilevano, associate alla patologia, ipergastrinemia moderata e a volte ipergastrinemia imponente, anche se questo non costituisce un fatto patognomonico. La combinazione di anemia megaloblastica, bassi livelli sierici di vitamina B12 e presenza di anticorpi sierici anti fattore intrinseco, è essenziale per la diagnosi di anemia pernicioso; la positività del test di Schilling aggiunta ad un test per IFA conferma la diagnosi raggiungendo specificità praticamente superiori o pari al 99%. L'anemia pernicioso è frequentemente associata ad altre patologie autoimmuni come il morbo di Graves (30% dei casi), la tiroidite di Hashimoto (10% dei casi), e si accompagna spesso a vitiligine, morbo di Addison, ipoparatiroidismo. L'anemia pernicioso è anche associata ad un aumento dell'incidenza di carcinoma e carcinoidi gastrici e può comparire in altre patologie autoimmunitarie. L'anemia pernicioso e la presenza di anticorpi anti fattore intrinseco vengono associate a numerose altre patologie autoimmuni^{1,4,5}.

Malassorbimento. Col termine di malassorbimento si suole indicare il passaggio deficitario di uno o più prodotti della digestione dal tratto gastrointestinale al sangue. Il malassorbimento, spesso associato a maldigestione, può essere selettivo (relativo ad un solo nutriente, come nell'intolleranza al lattosio); parziale (relativo ad una parte più o meno ampia di nutrienti) o più massivo^{1,6}.

Gastrite atrofica. Varie condizioni patologiche si accompagnano a questo evento; tra queste di notevole importanza per le specifiche conseguenze correlate è la presenza di gastrite atrofica, processo infiammatorio cronico della mucosa dello stomaco con conseguente perdita della componente ghiandolare che sovverte la normale funzionalità gastrica. In presenza di gastrite atrofica, si instaurano gradualmente ipocloridria ed acloridria, con dispepsia e disordini gastroenterici associati ad ipergastrinemia, deficit o mancata secrezione di pepsinogeno e fattore intrinseco. In assenza di un adeguato trattamento, soprattutto nell'anziano, possono sopraggiungere segni extra-apparato gastroenterico quali anemia pernicioso ed iperomocisteinemia legati alla carenza di vitamina B12. La flogosi cronica dello stomaco, come quella da *Helicobacter pylori* può essere alla base di gastrite atrofica, in questo caso localizzata all'antro per poi estendersi a tutta la mucosa (gastrite atrofica multifocale). Se la gastrite è collegata a patologia autoimmune, gli anticorpi anomali aggrediscono le cellule parietali dello stomaco ed il fattore intrinseco (gastrite atrofica autoimmune), con localizzazione elettiva al fondo e al corpo dell'organo. Entrambe le forme sono statisticamente

correlate ad una maggiore incidenza di cancro allo stomaco^{1,4,7}.

Anemia e morbo celiaco (CD)

La malattia celiaca (CD) può essere considerata come una sindrome da malassorbimento archetipo, ed è una causa frequente di anemia associata, anche in assenza di sintomi intestinali. Essa, spesso segnalata come l'unica manifestazione o il più frequente sintomo extra-intestinale di CD, riconosce una caratteristica multifattorialità. Oltre alle carenze e al malassorbimento, infatti, nella celiachia è stata descritta anche una anemia da malattia cronica. È noto che citochine proinfiammatorie giocano un ruolo essenziale nella patogenesi di CD. A questo proposito, sia l'interferone- α che l'interleuchina-6 sono potenti mediatori di ipoferritinemia nell'infiammazione, portando a anomalie nella omeostasi del ferro associate a anemia da malattia cronica. Nella maggior parte dei pazienti celiaci con anemia, i bassi livelli sierici di ferritina in genere presenti indicano una carenza di ferro (ID); la soppressione delle lesioni infiammatorie intestinale con la dieta migliora l'anemia sia attraverso la correzione dell'assorbimento del ferro che per il miglioramento della risposta infiammatoria. La carenza di vitamina B12 è comune anche in CD e, spesso, si traduce in anemia; e molti pazienti celiaci non trattati risultano carenti in folati.

Le cause di carenza di vitamina B12 nel CD possono risiedere nella gastrite autoimmune, nella proliferazione batterica, nella diminuzione di acidi gastrici o una diminuzione dell'efficienza di miscelazione con fattori di trasferimento a livello intestinale^{1-3,8-10}.

Anemia e gastroresezione

L'anemia è una complicanza frequente di gastrectomia: la sua più frequente forma è caratterizzata dalla carenza di ferro e di vitamina B12. L'assorbimento deteriorato del ferro è una verosimile conseguenza della gastrectomia per bypass operatori del duodeno, con conseguente rapido transito intestinale. La carenza di vitamina B12 si sviluppa come conseguenza della diminuzione della produzione del fattore intrinseco, essenziale per l'assorbimento della vitamina B12 nella parte inferiore del piccolo intestino, e anche a causa di un difetto nella separazione della Vitamina B12 dalla sua proteina vettrice. Si tratta di un frequente carenza che può apparire anche dopo lungo tempo rispetto all'intervento, a scorte vitaminiche esaurite.

Negli ultimi decenni la chirurgia bariatrica è stata suggerita e perseguita come trattamento efficace per l'obesità. Tutte le diverse procedure, chirurgiche possono essere associate a sequele a lungo termine, tra cui carenze di ferro, Vitamina B12 e folati. Le principali cause di deficienza di ferro dopo chirurgia bariatrica sono simili a quelle descritte dopo gastrectomia^{1,11}.

Anemia e infezione da *Helicobacter pylori*

Le osservazioni in corso, per quanto riguarda l'associazione tra l'infezione da *H. pylori* e anemia da malattia cronica, si basano su dati clinici ed epidemiologici, pur in un numero molto limitato di casi. Anche i meccanismi di anemia correlata a questo microrganismo non risultano ben

definiti, tuttora se ne ignorano le cause. Solo una piccola popolazione svilupperebbe questo tipo di anemia, nonostante l'ampia espansione dell'infezione in tutto il mondo: individui con un incremento del fabbisogno di ferro, come bambini, e donne fertili in gravidanza, o in premenopausa, soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche, ad esempio i celiaci, sembrano maggiormente esposti a questo rischio di anemia da malattia cronica associata a infezione da *H. pylori*. Diversi studi riportano la risoluzione dell'anemia con l'eradicazione dell'infezione da *H. pylori*, a prescindere della mancanza di integrazione di ferro. I risultati di alcuni studi sostengono l'ipotesi che l'infezione da *H. pylori* influenzi direttamente l'assorbimento del ferro, e che questo migliori significativamente dopo la risoluzione dell'infezione. È stato suggerito che vi sia una competizione per il ferro tra il batteri ed ospite, dato che questo elemento è un nutriente essenziale per crescita batterica ed un fattore importante per il mantenimento della virulenza^{1,7}.

Il laboratorio nello studio delle anemie

Gli algoritmi diagnostici dello studio delle anemie vengono elaborati a partire dai parametri dell'emocromo, sia quelli classici che quelli di più recente introduzione, a volte tecnologia-dipendenti. I valori forniti dalle moderne tecnologie sono caratterizzati da precisione e accuratezza notevoli, e costituiscono la base operativa per la risposta ai quesiti clinici di queste patologie. Di volta in volta, dopo una valutazione iniziale, verranno eseguite indagini di approfondimento e di conferma specifiche e puntuali, costituite dalla ricerca e dal dosaggio di parametri statici o funzionali interessati nel metabolismo del globulo rosso. Si giunge così all'utilizzo di diagnostiche anche molto sofisticate utilizzate nello studio della eritropoiesi midollare, dello stato del ferro corporeo e dei suoi depositi. Quando necessario per diagnosticare accuratamente un'anemia, si eseguiranno indagini per valutare l'emolisi periferica o investigare la composizione dell'emoglobina.

Molti tra i parametri che il laboratorio moderno mette a disposizione della clinica sono forniti con metodiche accurate, veloci, solide, automatizzabili e a costi ragionevolmente contenuti. Questi test già consolidati per l'utile impiego nell'iter diagnostico del paziente affetto da anemia, possono essere inseriti in flow chart diagnostiche eseguibili in immunochimica su piattaforme completamente automatizzate che li rendono disponibili in tempi rapidi utili a completare o confermare notizie sullo stato del paziente anemico.

Da tempo, la ferritina è un parametro che può sostituire in alcuni casi la valutazione delle scorte del ferro intramidollare senza presentare l'invasività del test comunemente utilizzato. Come noto, infatti, la reazione di Perls evidenzia i depositi marziali attraverso la colorazione al blu di Prussia su strisci provenienti da puntato osteomidollare, ed è ben conosciuta l'inaccuratezza, difficilmente eliminabile, insita nel metodo microscopico utilizzato per la lettura della reazione. Il test immunochimico fornisce una standardizzazione del dato sicuramente più garantita accanto all'alta sensibilità del metodo immunometrico di rilevazione.

Il dosaggio dell'eritropoietina è oggi diffuso nella diagnosi e nel monitoraggio terapeutico dell'anemia associata alle IRC o a quella presente nei pazienti neoplastici.

Di più recente introduzione è il test di rilevazione del recettore solubile della transferrina (sTfR) nel plasma o nel siero; è una determinazione indiretta del TfR totale e costituisce un prezioso indicatore della carenza di ferro in soggetti affetti da patologie croniche, quali ad esempio malattie infiammatorie e infezioni. Il parametro risulta quindi utile nella diagnosi differenziale tra l'anemia sideropenica e l'anemia da malattie croniche, che si presenta tra le più comuni forme di anemia carenziale.

Nella valutazione, nell'inquadramento e nel follow up terapeutico delle anemie carenziali megaloblastiche, si possono analizzare le concentrazioni di vitamina B12 e di folato, quest'ultimo nel siero e negli eritrociti.

I valori di folato nel siero sono indice di una recente assunzione, mentre il folato negli eritrociti è il miglior indicatore di immagazzinamento di folato a lungo termine. Un valore basso di folato negli eritrociti indica una carenza prolungata di questo elemento essenziale per il corretto svolgimento di una eritropoiesi equilibrata ed efficace¹.

Diagnosi di laboratorio nella anemia da carenza di Vitamina B 12. L'anemia pernicioso rientra nella categoria delle anemie megaloblastiche, in quanto caratterizzata dalla presenza di globuli rossi, di volume notevolmente aumentato, con vita breve ed in numero assai inferiore alla norma. L'anemia da carenza di B12 è macrocitica, con volume eritrocitario medio (MCV) >100 fl. MCV può raggiungere valori molto elevati, anche superiori a 125 fl. Tra gli altri principali parametri eritrocitari, MCH ed RDW sono solitamente aumentati, MCHC è diminuito. Lo striscio rivela macro-ovalocitosi, aniso e poichilocitosi. Molto frequentemente si osservano residui nucleari quali corpi di Howell-Jolly; è presente reticolocitopenia, a meno che il paziente non sia stato trattato (cfr. la crisi reticolocitaria dopo somministrazione terapeutica come segno di ripresa midollare). Uno dei segni morfologici caratteristici e più precoci è l'ipersegmentazione dei granulociti neutrofilici; più tardivamente si sviluppa una neutropenia. Nella metà dei casi più gravi si riscontra trombocitopenia, a volte sintomatica con emorragie cutaneo mucose, sostenuta da piastrine con bizzarre morfologiche per forma e dimensioni. Il midollo osseo mostra iperplasia eritroide con modificazioni di tipo megaloblastico. La bilirubinemia indiretta può essere elevata per eritropoiesi inefficace e sopravvivenza accorciata delle emazie e, in genere, si riscontrano dosaggi di LDH molto elevati, anch'essi correlati all'inefficiacia dell'ematopoiesi e ad aumentata emolisi. Anche la ferritina sierica appare di solito aumentata (> 300 ng/ml), in modo compatibile con emolisi.

Il dosaggio della vitamina B12 sierica è il metodo più comunemente utilizzato per stabilire la carenza di B12 come causa di megaloblastosi; anche se si possono trovare falsi valori negativi, in generale i livelli <150 pg/ml (<110 pmol/l) indicano con certezza una carenza di B12. Abitualmente, l'anemia o il deficit neurologico è evidente con livelli di B12 <120 pg/ml (<90 pmol/l). Nei casi borderline e quando la clinica depone per una deficienza di B12, si può ricorrere ad ulteriori indagini (ad esempio il dosaggio di acido metilmalonico nel siero, test sensibile a questo tipo di carenza vitaminica). Una volta verificato il deficit di B12, si procede all'identificazione del meccanismo fisiopatologico, attraverso la ricerca degli autoanticorpi diretti contro

le cellule parietali gastriche, presenti nell'80-90% dei pazienti affetti da anemia pernicioso; più importanti e a maggior specificità per la diagnosi sono gli anticorpi rivolti contro il fattore intrinseco, oggi dosabili con test immunologici e più specifici in quanto presenti nel siero della maggior parte dei pazienti con anemia pernicioso. Il test per gli anticorpi contro il fattore intrinseco deve essere eseguito in paziente non in trattamento con B12 nei 5 giorni precedenti all'esame.

Per la presenza nella maggior parte dei pazienti con anemia pernicioso di acloridria, è motivato lo studio della funzionalità gastrica attraverso l'analisi del succo gastrico^{1,4,6}.

Fattore Intrinseco

Il fattore intrinseco di Castle è una glicoproteina sintetizzata dalle cellule parietali della mucosa del fondo e del corpo dello stomaco. Favorisce l'assorbimento del ferro e della vitamina B12 dal cibo (successivamente fissati nell'emoglobina) e la digestione delle proteine. Le sue sintesi e secrezione risultano essenziali per il corretto assorbimento della vitamina B12, che avviene nell'ileo^{1,4,6}.

Anticorpi anti-fattore intrinseco (Ab-IF)

- a) *Struttura e caratteristiche molecolari.* Sono stati descritti due diversi tipi di autoanticorpi anti fattore intrinseco. Gli anticorpi di tipo I (IgG) o anticorpi bloccanti il fattore intrinseco bloccano i siti di legame della vitamina B12 sul fattore intrinseco, evitando la captazione della vitamina B12. Gli anticorpi di tipo II (IgG e IgM) o anticorpi leganti il fattore intrinseco reagiscono con un sito diverso sul fattore intrinseco e possono evitare l'attacco del complesso fattore intrinseco-vitamina B12 a siti di legame nell'intestino tenue; essi mostrano biosintesi ed emivita simile agli altri autoanticorpi.
- b) *Funzione e significato biologico.* Per un efficace assorbimento della vitamina B12 a livello dello stomaco, è indispensabile il suo rilascio dalle proteine di legame; perchè questo avvenga sono necessari l'acido gastrico, la pepsina e il fattore intrinseco. La presenza di autoanticorpi anti fattore intrinseco in circolo è altamente specifica dell'anemia pernicioso e rara nella popolazione sana. Entrambi i tipi di autoanticorpi conosciuti hanno l'effetto di impedire l'assorbimento della vitamina B12.
- c) *Utilizzo clinico.* La combinazione di anemia megaloblastica, bassi livelli sierici di vitamina B12 e presenza di anticorpi sierici anti-fattore intrinseco depone per la presenza dell'anemia pernicioso. Il 90% dei pazienti affetti da questa patologia ha anticorpi contro le cellule parietali, ma essi si trovano anche in altre condizioni, quindi sono sensibili ma non specifici; gli anticorpi anti-FI, invece, sono riscontrati nel 50% dei casi, e sono meno sensibili, ma si trovano molto raramente in altre condizioni, e sono quindi molto specifici. Nella pratica, per la diagnosi di anemia pernicioso, la ricerca degli anticorpi può eliminare, di fatto, la necessità di ulteriori e più indaginosi test, quali il test di Schilling. Questo è un test in vivo, invasivo, che implica radioisotopi e non è eseguibile per tutti i pazienti; inoltre presenta l'inconveniente di lunghe attese per il paziente, con la complicazione di una raccolta di urine delle 24 ore. I nuovi test a disposizione riducono enormemente costi e tempi di attesa con un risultato

affidabile e maggior compliance del paziente.

d) *La rilevazione.* Il test si esegue su siero, o plasma eparinato. Dall'anamnesi del paziente bisogna conoscere se è in corso terapia con vitamina B12, per evitare risultati potenzialmente falsi positivi a causa della saturazione delle proteine di legame della vitamina B12 e del conseguente aumento della vitamina B12 libera, usata come competitore nei dosaggi per gli anticorpi anti-FI. Come per tutti i dosaggi di questo tipo è possibile avere interferenze da parte di HAMA, fattori reumatoidi, etc. Come unità di misura, il risultato viene espresso in AU/mL (antibody units o unità anticorpali) ed ha valori di riferimento metodo dipendenti, che dovranno essere calcolati in ciascun laboratorio di esecuzione. Sono disponibili metodi immunometrici: IRMA ed EIA manuali, ICMA automatizzato; il parametro non è soggetto a secrezione pulsatile e ritmo circadiano, con livelli dipendenti dallo stadio patologico. Nei vari immunoassay il valore di imprecisione espresso in CV è $<8\%$ ^{1,4-8}.

Alterazioni leucocitarie

Esamineremo di seguito le principali alterazioni dei leucociti che avvengono a livello del circolo periferico in concomitanza di patologie gastroenteriche. I cambiamenti possono riguardare il numero degli elementi dei singoli cluster di globuli bianchi, la qualità della maturazione standard nei vari stadi, la comparsa in circolo periferico di cellule immature.

Nelle patologie gastrointestinali si possono incontrare leucocitosi e leucopenie, sostenute praticamente da tutte le categorie di globuli bianchi circolanti. Spesso le leucocitosi possono essere accompagnate dalla comparsa nel circolo periferico di cellule immature. Il significato e il valore da attribuire a questa presenza, e la capacità di cogliere le differenze tra immaturità e dismaturità mieloide, possono rivestire importanza nell'inquadramento di alcune patologie.

Nelle infezioni e nelle neoplasie gastrointestinali si trovano aumenti anche molto notevoli dei granulociti. Appendicitis acute ed occlusioni intestinali possono dar luogo ad aumenti nella conta leucocitaria. Una leucocitosi molto spinta viene comunemente chiamata reazione leucemoide. In questi casi, accanto all'elevato numero di leucociti prevalentemente neutrofili ($50.000-120.000/\text{mm}^3$), si possono comunemente riconoscere elementi immaturi della serie mieloide. Questa reazione, tipica in corso di infezioni piogeniche acute, sostenute da batteri quali stafilococchi ed enterobatteriacee, si trova anche in concomitanza di neoplasie e di altre patologie, in genere sistemiche. Si incontrano *neutropenie* in infezioni batteriche (tifo e paratifo, tubercolosi miliare, tularemia), virali (epatiti, influenza, rosolia, morbillo, varicella), o parassitarie (leishmaniosi viscerale). In alcuni di questi casi, in special modo durante le patologie virali, possono essere presenti elementi attivati della serie linfoide, aumenti relativi o assoluti dei monociti, e alcuni elementi immaturi della serie mieloide, soprattutto nel caso di malattie ad eziologia batterica. Molto spesso inoltre, in caso di infezione, sono presenti in circolo note di displasia a carico dei neutrofili presenti. Sono possibili anche granulocitopenie da diminuita produzione midollare, in particolar modo correlate a linfomi con localizzazio-

ne gastroenterica, ad anemie megaloblastiche, a malnutrizione, a stati cachettici e alcolismo, o associate ad insufficienza pancreatica. Eosinofilie si verificano in occasione di malattie parassitarie, soprattutto quando i parassiti invadono i tessuti come nelle echinococcosi, trichinosi, filariasi; più raramente nelle parassitosi intestinali. Altre cause di eosinofilia sono costituite da artrite reumatoide, dosi elevate di radiazioni ionizzanti, avvelenamenti, interessamenti generici del tubo gastroenterico. Una basofilia è segnalata nella rettocolite ulcerosa, mentre monocitosi sono più comunemente presenti nei tumori maligni anche primitivi, ad esempio dello stomaco, e in malattie dell'apparato digerente quali sprue, enterite segmentaria, colite ulcerativa cronica. Linfocitosi si presentano nel Morbo di Crohn e possono verificarsi nella Rettocolite ulcerosa, oltre che in alcune situazioni infettive o reattive sistemiche con localizzazione gastroenterica. La malattia celiaca non trattata è riconosciuta essere il trigger di altri disordini autoimmuni e circa il 10-28% dei pazienti con celiachia cronica sviluppa una seconda patologia, a volte di natura ematologica.

Anche per i leucociti, le strumentazioni attualmente a disposizione consentono uno studio approfondito, fonte di notizie utili per l'interpretazione dei quadri morfologici presentati.

Oggi, alcune tecnologie di ultima generazione mettono a disposizione il numero delle cellule immature contestualmente agli altri dati dell'emocromo. Infatti, pur essendo in genere gli analizzatori in grado di riconoscere le cellule atipiche/immature rispetto a quelle dei cluster normali, e di segnalarle con l'elaborazione di allarmi strumentali, definiti "morfologici", la sensibilità clinica, cioè la capacità di distinguere i campioni patologici dai normali, appare in stretto rapporto con la filosofia analitica utilizzata. Da sempre tutti gli emocitometri forniscono allarmi correlati alla presenza di elementi "anomali" per il sangue periferico (granulociti immaturi, blasti, elementi in apoptosi o reattivi, ecc...) utilizzando un proprio linguaggio. Nella pratica, per quanto riguarda le corrispondenze morfologiche degli allarmi strumentali di immaturità mieloide con quanto rilevato al microscopio, la segnalazione di "left shift" appare legata a band cell e metamielociti; "immature granulocytes" suggerisce il riscontro di metamielociti, mielociti, e promielociti, mentre blasti e promielociti fanno in genere scattare l'allarme "blasts". Anche le note di displasia vengono segnalate, mediante la valutazione dei valori medi dei volumi e della complessità cellulare, anche essi variamente rilevati dalle diverse filosofie analitiche. Questi dati (definiti parametri posizionali, o, più modernamente "cell population data") che rispecchiano le caratteristiche morfologiche delle cellule, sono in grado di descrivere le differenze che esistono tra elementi nella norma e cluster patologici o dismaturi, e possono costituire un utile suggerimento da considerare anche al momento delle revisioni microscopiche.

A tutt'oggi, invece, nessuna tecnologia presente sul mercato risulta ancora in grado di fornire un dato di notevole rilevanza clinica quale il conteggio dei blasti.

L'analisi integrata delle informazioni strumentali e della morfologia tradizionale migliora l'abilità interpretativa dell'ematologo di laboratorio. Questa nuova morfologia, costituita da segnali strumentali e da rilevazioni al microscopio ottico, si integra perfettamente con le altre tecnolo-

gie (citochimica, immunofenotipizzazione, citogenetica, biologia molecolare) a disposizione del moderno laboratorio di ematologia.

Alterazioni piastriniche ed emorragia

Le patologie gastroenteriche possono dare interessamento piastrinico e sono a loro volta interessate da alcune delle alterazioni piastriniche proprie. Tumori, episodi infettivi, reazioni immunologiche e patologie autoimmuni sono alla base delle alterazioni piastriniche correlate a disturbi dell'apparato gastroenterico. Più comunemente si riscontrano le piastrinopenie, che riconoscono cause diverse. Esempi sono quelli delle piastrinopenie da consumo, come nei casi drammatici di CID scatenate da patologie a partenza gastroenterica (infezioni, tumori, traumi addominali), o quelle in ambito carenziale, che si riscontrano nei quadri di anemia perniziosa, con piastrine caratterizzate da morfologie diverse, o, infine, quelle legate a vario titolo alla patologia epatica. Più rare ma presenti si trovano alcune piastrinosi, in situazioni reattive, correlate a tumori e infiammazione, o come risultato della richiesta e dello stimolo post-emorragici. Oltre che con conteggi, descrizione morfologica ed interpretazione di parametri piastrinici strumentali, il laboratorio contribuisce in particolare alla clinica con alcuni test funzionali, quali studi dell'aggregazione piastrinica e della tromboelastografia. Questi esami, rinnovati per concezione, accuratezza analitica e tecnologia di esecuzione, sono oggi eseguibili su sangue intero, e disponibili anche in POCT, risultando così utili per gli interventi "near patient" che soprattutto in questo campo possono essere richiesti con urgenza.

In ambito gastroenterologico, cambiamenti piastrinici avvengono sia in corso di episodi trombotici, anche maggiori, con importante consumo di trombociti e stimolazioni a loro carico, sia sul versante dei sanguinamenti più o meno cospicui.

Le emorragie digestive sono tutte le perdite ematiche che si verificano, a qualsiasi livello, entro il lume del tubo digerente o delle ghiandole annesse (fegato, pancreas).

Esse possono essere manifeste (ematemesi, melena, rettorragia, enterorragia) e dare quadri di shock e/o di anemia acuta; possono altresì essere occulte portando ad anemia cronica con positività della ricerca sangue occulto nelle feci. In ogni singola situazione devono essere stabilite accuratamente cause e sede della perdita ematica. In caso di emorragie importanti, alcuni esami ematochimici sono utili nel valutare la stabilità emodinamica. Verranno quindi eseguiti, anche in regime di urgenza, l'emocromo completo di piastrine, gli elettroliti, i test della coagulazione, la funzionalità epatica, la ricerca di iperammoniemia e iperazotemia, la funzionalità renale. Sempre utili risultano esami ematochimici seriati, come l'emocromo

completo da ripetere ogni 1-6 ore per valutare la reale gravità della perdita ematica, dal momento che l'esame diretto dell'ematemesi e della melena danno una stima approssimativa e riferita solo alla gravità apparente. Inoltre, nell'interpretazione dei risultati si deve tener conto degli eventuali effetti dell'emodiluzione o dell'emoconcentrazione.

A volte una corretta valutazione di una anemizzazione acuta risulta difficile, in particolar modo quando sia sovrapposta a una anemizzazione cronica. Occorre infine ricordare che non si ricerca sangue occulto nelle feci se l'emorragia è manifesta. In tutte queste situazioni che richiedono di fornire risultati corretti e accurati in tempi spesso drammaticamente brevi, i progressi tecnologici di cui il laboratorio si è dotato negli ultimi anni costituiscono un presidio essenziale per la sicurezza dell'operatore nello svolgimento dei suoi compiti e una garanzia per il servizio reso al paziente¹.

Bibliografia

1. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison - Principi di medicina interna - XVII Edizione. Milano: McGraw-Hill Companies, Publishing Group Italia; 2009.
2. Green P, Jabri B. Coeliac Disease. *Lancet* 2003; 362:383-91.
3. Catassi C, Fasano A. Celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24:687-91.
4. Andrès E, Vidal-Alaball J, Federici L, Loukili NH, Zimmer J, Kaltenbach G. Clinical aspects of cobalamin deficiency in elderly patients. Epidemiology, causes, clinical manifestations, and treatment with special focus on oral cobalamin therapy. *Eur J Intern Med* 2007; 18:456-62.
5. Khan S, Del-Duca C, Fenton E, Holding S, Hirst J, Doré PC, et al. Limited value of testing for intrinsic factor antibodies with negative gastric parietal cell antibodies in pernicious anaemia. *J Clin Pathol* 2009; 62:439-41.
6. Fernández-Bañares F, Monzón H, Forné M. A short review of malabsorption and anemia. *World J Gastroenterol* 2009; 15:4644-52.
7. Kaptan K, Beyan C, Ifran A. Helicobacter pylori and cobalamin deficiency. *Haematologica* 2006; 91(Suppl):ELT08.
8. Harper JW, Holleran SF, Ramakrishnan R, Bhagat G, Green PH. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology. *Am J Hematol* 2007; 82:996-1000.
9. Zamani F, Mohamadnejad M, Shakeri R, Amiri A, Najafi S, Alimohamadi SM, et al. Gluten sensitive enteropathy in patients with iron deficiency anemia of unknown origin. *World J Gastroenterol* 2008; 14:7381-5.
10. Bergamaschi G, Markopoulos K, Albertini R, Di Sabatino A, Biagi F, Ciccocioppo R, et al. Anemia of chronic disease and defective erythropoietin production in patients with celiac disease. *Haematologica* 2008; 93:1785-91.
11. Love AL, Billett HH. Obesity, bariatric surgery, and iron deficiency: true, true, true and related. *Am J Hematol* 2008; 83: 403-9.