

KASPER D., FAUCI A., LONGO D., BRAUNWALD E., HAUSER S., JAMESON L.

**HARRISON'S PRINCIPLES
of
INTERNAL MEDICINE**

16th edition

**Traducere selectivă pentru
examenul de rezidențiat**

EDITURA MEDICALĂ
București, 2005

Sângerarea și Tromboza	3
Hemostaza normală.....	3
Principii de Genetică Umană	12
Cromozomii și replicarea ADN.....	16
Replicarea ADN și mitoza.....	18
Reglarea expresiei genice.....	20
Activarea și represiia transcripției.....	22
Hibridizarea acizilor nucleici.....	25
Șoarecii transgenici ca modele de boală genetică.....	27
Implicații ale proiectului genomului uman.....	30
Transmiterea bolilor genetice.....	32
Consecințe funcționale ale mutațiilor.....	36
Genetica populațiilor și studii de asociere.....	50
Celulele Stem și Transferul de Gene în Medicina Clinică..	57
Transferul de gene în medicina clinică.....	58
Celulele stem hematopoietice.....	63
Modificarea genetică a celulelor stem.....	65
Terapia genică cu celule stem hematopoietice.....	66
Tehnologia celulelor stem în medicină.....	67
Principii de Endocrinologie.....	71
Natura hormonilor.....	72
Sinteza și procesarea hormonilor.....	74
Secreția, transportul și degradarea hormonilor.....	75
Receptorii de membrană.....	77
Receptorii nucleari.....	79
Funcțiile hormonilor.....	80
Sistemele de reglare hormonală prin feedback.....	82
Ritmuri hormonale.....	84
Exemple de teste cu răspunsuri unice sau multiple.....	85

Hemoragia, tromboza intravasculară și embolismul sunt manifestări clinice frecvente în multe afecțiuni. Sistemul hemostatic normal limitează pierderea de sânge prin interacțiuni reglate precis care au loc între peretele vascular, plachetele sangvine și proteinele plasmatică. Totuși, când un traumatism sau proces patologic afectează arterele sau venele mari, poate apărea o sângerare excesivă în ciuda unui sistem hemostatic normal. Mai rar, hemoragia este determinată de o alterare moștenită sau dobândită a mecanismelor de hemostază. Au fost identificate numeroase tulburări legate de hemostază.

În plus, activarea autonomă a sistemului de hemostază poate determina tromboză și embolism care pot reduce debitul sanguin în organe vitale cum sunt creierul sau cordul. Deși înțelegem mai puțin fiziopatologia trombozei decât insuficiența hemostazei, au fost identificate unele grupe de pacienți care sunt expuse în mod special riscului de tromboză și embolism. Acestea includ pacienți care sunt: (1) imobilizați excesiv după chirurgie, (2) au insuficiență cardiacă congestivă cronică, (3) ateroscleroza, (4) neoplazie sau (5) sarcină. Majoritatea acestor pacienți cu risc crescut de tromboză au tulburări moștenite sau dobândite, cu hipercoagulabilitate și efect protrombotic.

Unele informații din anamneza (ca modul de debut, zone de sângerare, tendința de sângerare familială, medicamente utilizate recent) pot ajuta la stabilirea diagnosticului corect. Examenul fizic poate identifica hematoame sau deformări articulare date de hemartroze în antecedente. Diagnosticul de certitudine este stabilit de teste de laborator. Testele generale de screening permit documentarea unei afecțiuni sistemice dar detalierea diagnosticului se poate face numai prin teste specifice pentru proteinele de coagulare sau funcția plachetară.

Pacientul cu risc trombotic crescut poate fi identificat prin anamneza detaliată. Există trei indicii importante pentru diagnostic: (1) episoade repetate de tromboembolism fără o condiție predispozantă evidentă, (2) istoric familial de tromboză și (3) tromboembolism documentat la adolescenți sau adulți tineri. Toate aceste afecțiuni moștenite pretrombotice pot fi diagnosticate cu teste imunologice funcționale sau genetice.

HEMOSTAZA NORMALĂ

Diagnosticul de certitudine și terapia eficientă a pacienților cu sindroame hemoragipare sau trombotice necesită cunoașterea fiziopatologiei hemostazei. Procesul poate fi împărțit în hemostază primară și hemostază secundară și este inițiat atunci când un traumatism, incizie sau proces patologic rupe continuitatea endoteliului vascular, sângele venind în contact direct cu țesutul conjunctiv subendotelial. *Hemostaza primară* reprezintă procesul de formare a dopului plachetar la nivelul leziunii vasculare. Procesul apare în câteva secunde de la leziune și are o importanță majoră în oprirea sângerării din capilare, arteriole mici și venule (Fig. 53-1). *Hemostaza secundară* cuprinde reacțiile sistemului de coagulare plasmatic ce duc la formarea de fibrină. Aceasta necesită o durată de câteva minute. Rețeaua de fibrină produsă consolidează cheagul hemostatic inițial. Această reacție are importanță în vasele mari și previne recidiva sângerării la interval de ore sau zile după leziune. Deși sunt prezentate ca evenimente separate, hemostaza primară și secundară sunt strâns corelate; de exemplu, activarea plachetară accelerează coagularea plasmei iar produși ai reacției de coagulare plasmatică, ca trombina, induc activarea plachetară.

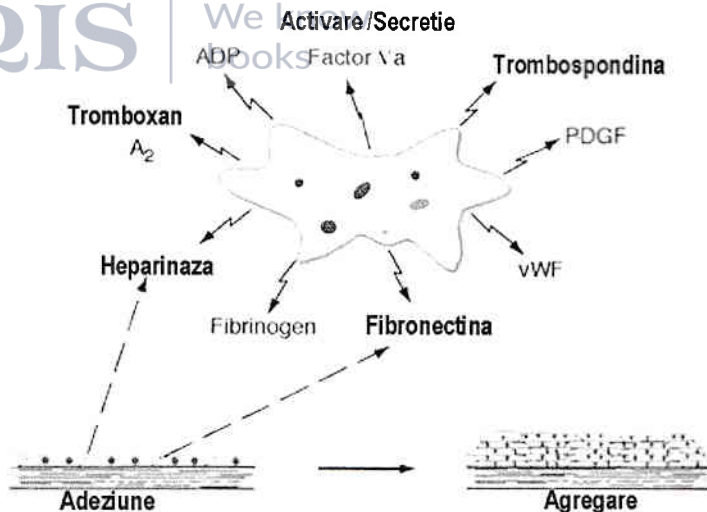


Figura 53-1. Prezentare schematică a evenimentelor majore în hemostaza primară. Primul eveniment este adeziunea plachetară, interacția plachetelor cu o suprafață neplachetară cum este subendoteliul vascular. Aceasta este urmată de activare și secreție plachetară. Sunt descrise câteva din substanțele secretate de plachete. Abrevieri: ADP, adenosin difosfat; PDGF, factor de creștere derivat plachetar; vWF, factor von Willebrand. Evenimentul final este legarea plachetelor activate de monostratul aderent în procesul agregării plachetare.

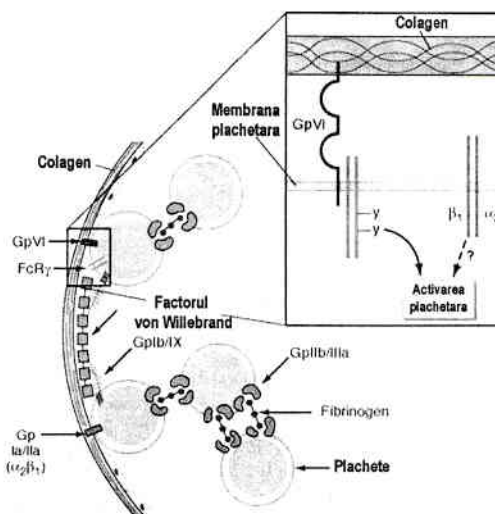


Figura 53-2. Baza moleculară a adeziunii și agregării plachetare. Adeziunea plachetelor la subendoteliul vascular este facilitată de interacțiunea a doi receptori plachetari de colagen, integrina GpIa/IIa ($\alpha_2\beta_1$) și GpVI cu colagenul. Legarea colagenului la GpVI determină interacțiunea cu FcR γ , care este fosforilat și transmite semnale de activare în plachete. Adeziunea este stabilizată de factorul von Willebrand, care formează o punte între fibrele de colagen din peretele vascular și receptorii de pe glicoproteina Ib/IX plachetară (GpIb/IX). Într-o manieră similară, agregarea plachetară este mediată de fibrinogen, care leagă plachete adiacente prin receptori de pe complexul glicoproteic plachetar IIb/IIIa (GpIIb/IIIa, $\alpha_1\beta/3$).

Hemostaza primară necesită trei etape esențiale: adeziunea plachetară, degranularea și agregarea plachetară. În câteva secunde de la leziune, plachetele aderă la fibrele de collagen de sub endoteliul vascular prin cel puțin doi receptori de collagen, glicoproteina (Gp) Ia/IIa, un membru al familiei integrinelor și Gp VI. Legarea Gp VI transmite semnale care activează plachetele prin receptorul Fc (Fc R γ). Această interacțiune cu collagenul este stabilită de factorul von Willebrand (vWF) o glicoproteină de adeziune care permite plachetelor să rămână atașate de peretele vascular în ciuda unor forțe puternice de forfecare care apar în lumenul vascular (Fig.53-2). Factorul vWF își exercită acest rol prin formarea unei legături între zona de receptor de pe Gp Ib/IX și fibrele de collagen. Plachetele aderente activate eliberează conținutul granulelor și dau naștere unor mediatori *de novo*, prezentați în figura 53-1. Ca și în alte celule, activarea plachetară și secreția sunt reglate prin modificări ale nivelului de nucleotide ciclice, influxului de calciu, hidrolizei fosfolipidelor membranare și fosforilării proteinelor intracelulare. Căile de activare relevante sunt prezentate în figurile 53-3, 53-4, 53-5.

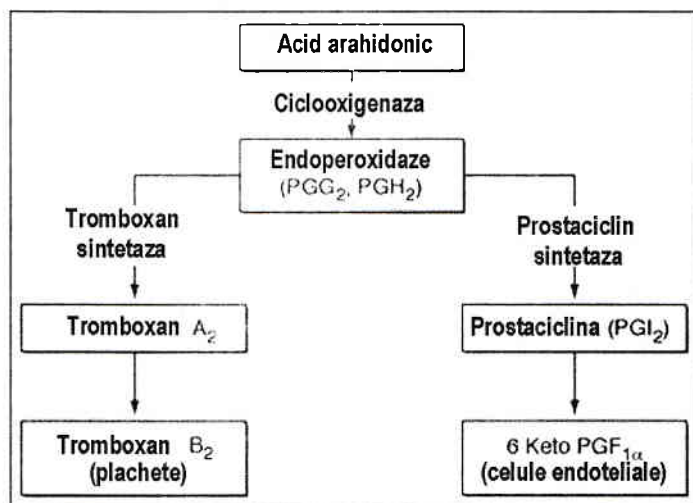


Figura 53-3. Generarea de tromboxan A₂ în plachete și prostacilină (PGI₂) în celule endoteliale.

Legarea agonștilor ca adrenalina, collagenul sau trombina de receptorii de suprafață plachetari activează două enzime de membrană: fosfolipaza C și fosfolipaza A₂.

Aceste enzime catalizează eliberarea de acid arahidonic din două fosfolipide majore de membrană, fosfatidilinozitolul și fosfatidilcolina. Inițial, o cantitate mică din acidul arahidonic eliberat e convertit la tromboxan A₂ (TxA₂) care activează fosfolipaza C. Formarea TxA₂ din acid arahidonic este mediată de enzima ciclooxygenază (Fig. 53-3). Această enzimă este inhibată de aspirină și antiinflamatorii nesteroidiene. Inhibiția sintezei de tromboxan A₂ este o cauză de sindrom hemoragipar blând; pe această cale intervin și unele substanțe antitrombotice folosite ca medicamente.

Activarea plachetară este reglată prin mecanisme fine de control, atât ca viteză cât și ca amplitudine a extinderii procesului (Fig. 53-3). TxA₂, produs plachetar derivat din acidul arahidonic, stimulează activarea plachetară și secreția; în schimb prostacilina, un produs endotelial al metabolismului acidului arahidonic, inhibă activarea plachetară prin creșterea nivelului intraplachetar de cAMP. În plus, celulele endoteliale au pe suprafață o ectoADP – aza care hidrolizează agonistul plachetar adenosindifosfat (ADP) și îi limitează efectele.

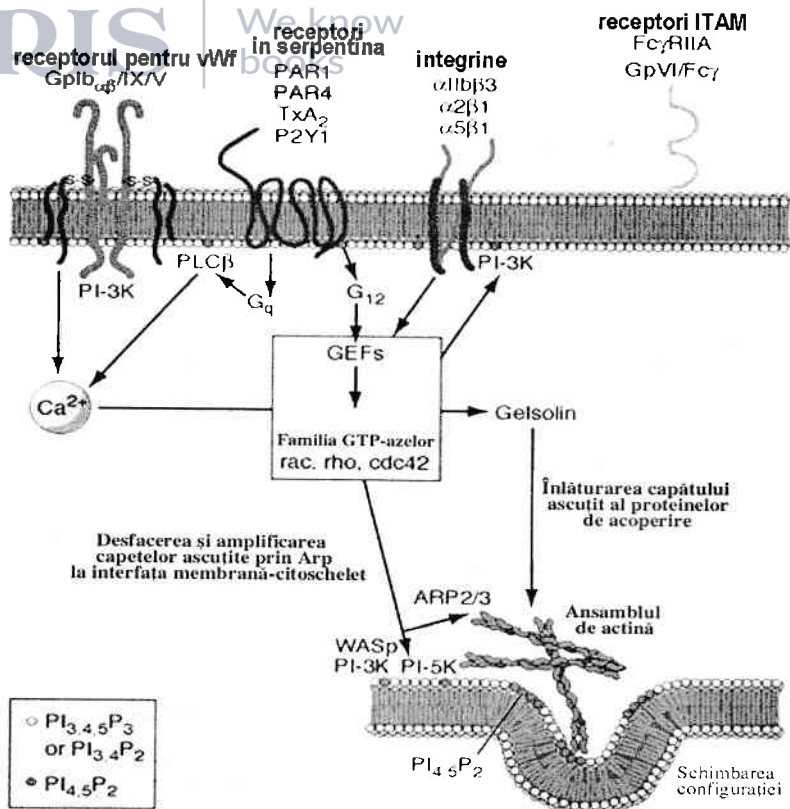


Figura 53-4. Vedere de ansamblu a transmiterii semnalului plachetar. Gruparea actinei, modificarea forței plachetelor, secreția de granule și activarea unor receptori sunt reglate prin nivelul de calciu intracelular, activitatea goanozin trifosfatazelor (GTP-aze) și sinteza de fosfatidil inozitoli. Călea de transducere cea mai bine înțeleasă implică receptorii care traversează multiplu membrana sau receptorii serpentina care includ ca agoniști trombina și tromboxanul A₂. Așa cum se vede receptorii se cuplează cu molecule de semnalizare în aval, prin proteine G heterotrimerice. De exemplu legarea trombinei de PAR1 duce la fosforilarea și disocierea complexului trimeric G_q, activarea fosfolipazei Cβ (PLCβ), hidroliza fosfatidil inozitolului 4,5 bifosfat (PI_{4,5}P₂) la inozitol 1,4,5 trifosfat (IP₃) și diacil glicerol (DAG). IP₃ se leagă de receptori de pe reticulul endoplasmic neted și eliberează calciu în citosol. Calciul activează gelsolina, care fragmentează filamentele de actină și mediază activarea miozinei II de către kinaza lanțurilor ușoare ale miozinei (MLCK). În același timp este activată guanozin trifosfataza trimerică (GTP-ază) G₁₂, ducând la stimularea factorilor de schimb ai guaninei (GEFs), care activează GTP-aze mici din familia rhoA. GTP-rac activează efectori în aval inclusiv kinazele lipidelor fosfatidil inozitol 5 kinază (PI-5K) și fosfatidilinozitol 3 kinază (PI-3K). Activarea altor receptori după cum se arată în figură induce alte căi de transmitere a semnalului cu efecte paralele dar distincte. Stimularea receptorilor cum sunt GpVI și FcγRIIA, care conțin un imunoreceptor cu structură de activare bazată pe tirozină, crește fosforilarea tirozinei acestor receptori, tirozin kinaza Syk, adaptorul SLP76 și PLCγ. Fosforilarea activează PLCγ, care hidrolizează lipidele care la rândul lor stimulează eliberarea de calciu și gruparea actinei. Acestea sunt două din căile complexe de semnalizare care duc la activare plachetară.

Căile de transducere a semnalului plachetar sunt complexe (Fig.53-4). Agenții potențiali de activare plachetară se leagă de un receptor de suprafață care inițiază o cascadă de evenimente semnal. Cele patru clase majore de receptori sunt: (1) GpIb/IX care leagă

vWF; (2) receptorii pentru integrine: GpIIb/IIIa ($\alpha\text{Ib}\beta_3$) leagă fibrinogenul; GpIa/IIa ($\alpha_2\beta_1$) leagă collagenul; (3) receptorii cu șapte domenii transmembranare care leagă trombina (PAR1) sau TxA2; (4) GpVI/FcγRIIa care leagă collagenul. Semnalizarea induce flux de calciu și determină remodelarea citoscheletului, modificarea formei, formarea de pseudopode și eliberarea de grănule. Aceste modificări permit plachetelor să adere la substrat și să formeze agregate intravasculare împreună cu glicoproteine plachetare și de matrice, cum sunt collagenul, vWF și fibrinogenul. Detaliile reacțiilor dependente de nucleotidele guaninice sunt arătate în figura 53-5.

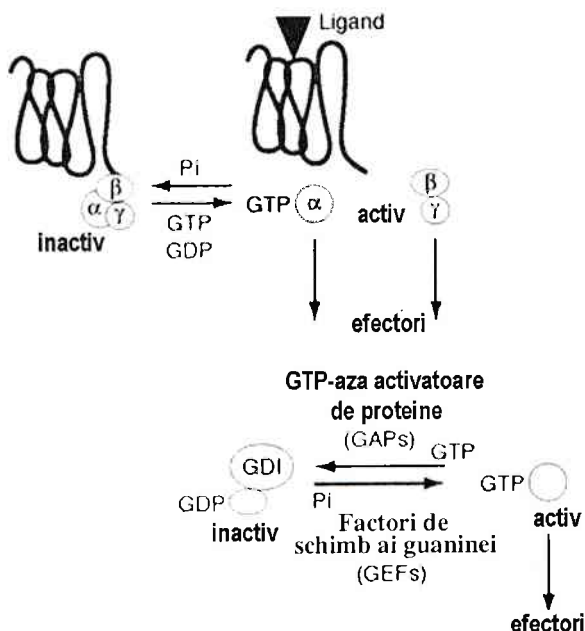


Figura 53-5. O vedere detaliată a activării și inactivării proteinelor G-pas cheie în căile de transducere a semnalului la nivel celular și plachetar. Proteinele G există ca și complexe heterotrimerice (α, β, γ) inactive legate de membrană. Cuplarea ligandului la unul din receptorii multimembranari (de obicei 7 domenii transmembranare) duce la conversia guanozin difosfatului inactiv (GDP) al complexului de proteine G în guanozin trifosfat activ (GTP) care ulterior disociază în GTP- α și subunitățile β, γ . Subunitățile disociate mediază evenimente ulterioare ca în Fig 4. Proteinele activatoare GTP (GAPs) transformă GTP în GDP, care ulterior favorizează reasocierea subunităților pentru a forma heterotrimerul inactiv. Inhibitorii disocierii GDP (GDI) mențin complexul α GDP în stare inactivă. Pi eliberat este apoi adăugat la proteinele G de masă moleculară mică în citosol prin factori de schimb de guanin nucleotide (GEFs). Formele active ale acestor proteine G de masă mică afectează evenimentele în aval, arătate în Fig 53-4.

După activare plachetele eliberează conținutul grănulelor în plasmă. Din lizozomi se eliberează endoglicozidaze și enzime de degradare a heparinei. Din grănulele dense se eliberează calciu, serotonină și ADP4; din grănulele α se eliberează vWF, fibronectina, tomboșpondina, factorul de creștere derivat plachetar (PDGF) și proteina de neutralizare a heparinei (factorul 4 plachetar). ADP – ul eliberat se leagă de receptori purinergici care, activați schimbă conformația complexului GpIIb/IIIa astfel încât poate lega fibrinogenul legând plachetele vecine într-un cheag hemostatic (Fig. 53-2). Principalul factor activator la

nivel plachetar este specific, receptorul purinergic P2Y₁₂. PDGF eliberat stimulează creșterea și migrarea fibroblastelor și a celulelor musculare netede în peretele vascular, element important al procesului de reparare.

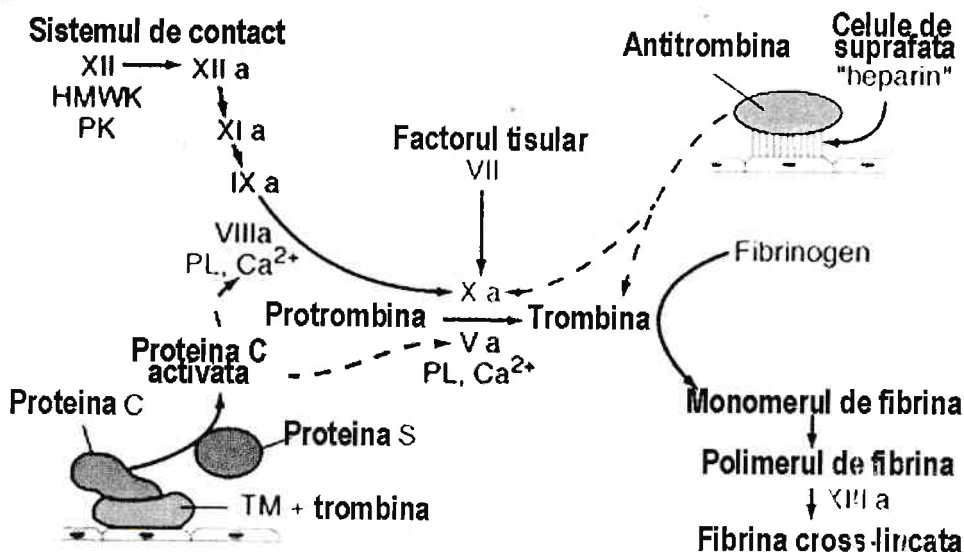


Figura 53-6. Diagrama schematică a unor reacții de coagulare importante clinic. Proteinele precursor sau neactivate sunt indicate prin cifre romane, iar forma activă prin adăugarea indicelui "a"- notăție standard. Alte abrevieri: HMWK chininogenul cu greutate moleculară mare; PK, prekalikreină; PL, fosfolipide; TM, trombomodulină; Ca²⁺, calciu. Există două căi de activare independente, sistemul de contact și sistemul mediat de factorul tisular sau extrinsec. Acestea se întâlnesc în momentul activării factorului 10 și duc la generarea trombinei care transformă fibrinogenul în fibrină. Aceste reacții sunt reglate de antitrombină, care formează complexe cu toate proteazele serice ale coagulării, cu excepția factorului VII și de sistemul proteina C- proteina S, care inactivează factorii V și VIII.

Pe măsură ce cheagul hemostatic se formează, proteinele de coagulare sunt activate pentru a iniția hemostaza secundară. O imagine globală a schemei de coagulare inclusiv a rolului inhibitorilor este prezentată în figura 53-6. În viziunea clasică a coagulării au fost definite patru reacții (Fig. 53-7) care culminează cu producerea trombinei care transformă o cantitate mică de fibrinogen plasmatic în fibrină. Fiecare din reacții necesită formarea unui complex legat de suprafață și conversia unui precursor proteic inactiv în proteaze active prin proteoliză limitată, procese reglate prin cofactori plasmatici și celulari alături de calciu.

În reacția 1, faza intrinsecă sau de contact a coagulării, trei proteine plasmatiche, factorul Hageman (XII), kininogenul cu greutate moleculară mare (KGMM) și prekalikreina (PK) formează un complex pe collagenul vascular subendotelial. După legarea de KGMM, factorul XII este convertit lent la o protează activă (XIIa) care transformă PK în kalikreina și factorul XI în XIa. Kalikreina accelerează conversia XII în XIIa în timp ce XIa participă la reacțiile ulterioare de coagulare. Un mecanism alternativ pentru activarea factorului XI, imprecis detaliat, poate explica de ce pacienții cu deficit de factor XII, KGMM sau PK au hemostaza aparent normală și nu prezintă sângeri.

Reacția 2 permite o cale secundară de inițiere a coagulării prin activarea factorului VII la o protează. În această cale extrinsecă tisulară, se formează un complex între factorul VII, calciu și un factor tisular, o lipoproteină ubicuitară prezentă în membranele celulare și expusă prin leziune celulară. Calea factorului tisular – VII este activă permanent și are un rol major pentru coagularea în condiții bazale, ceea ce pare a fi într-adevăr, principalul mod de inițiere a coagulării. Factorul VII și alte trei proteine de coagulare, factorul II (protrombina), IX și X necesită calciu și vitamina K pentru activitate biologică. Aceste proteine sunt sintetizate hepatic, unde carboxilaza vitamin-K dependentă, catalizează o modificare posttranslațională unică ce adăugă un al doilea grup carboxil la anumite reziduuri de acid glutamic. Perechi din aceste resturi (digamacarboxiglutamic) leagă calciul modificând conformația proteică pentru legarea fosfolipidelor de suprafață și conferă activitate biologică. Inhibiția acestor modificări prin antagoniști de vitamina K (warfarina) reprezintă fundamentul uneia din cele mai obișnuite terapii anticoagulante.

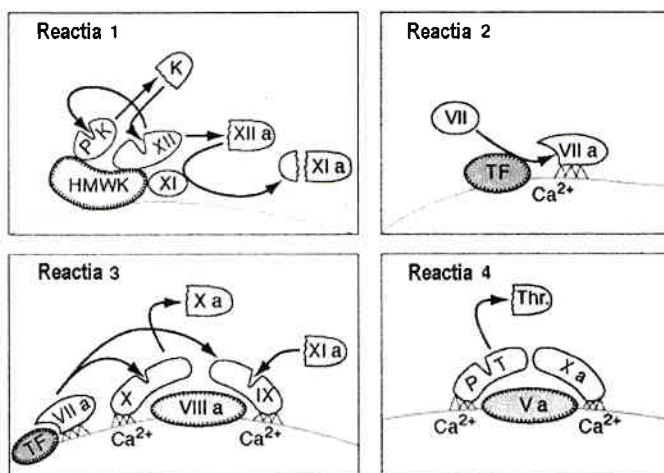


Figura 53-7. Reacțiile majore de coagulare sunt subîmpărțite și prezentate schematic pentru a sublinia asemănarea lor. Toate se bazează pe formarea unor complexe de suprafață cu cofactori enzimatici. Abrevieri: PK, prekalikreina; K, Kalikreina; HMWK, Kininogenul de greutate moleculară mare; TF, factor tisular; Ca²⁺, calciu; PT, protrombină; Thr, trombina. Prin convenție, alți factori de coagulare sunt indicați prin cifre romane, cu indicele "a" pentru a indica starea activă. Semnul ^^ este folosit pentru a indica domeniul Gla (di-γ-carboxiglutamic) din factorii VII, IX, X, Xa și PT care leagă calciu și fosfolipide. Hașura este folosită pentru a indica proteinele care aderă de suprafețe prin interacții hidrofobe.

În reacția 3, factorul X este activat prin proteazele generate în cele două reacții anterioare. În această reacție se formează un complex dependent de calciu și lipide între factorii VIII, IX și X. În acest complex, factorul IX este transformat inițial în factorul IXa de către factorul XIa care a fost generat în calea intrinsecă (reacția 1). Factorul X este apoi activat de către factorul IXa împreună cu factorul VIII. Separat, atât factorul IX și X se pot activa mai direct de către factorul VIIa generat pe calea extrinsecă (reacția 2). Activarea factorilor IX și X permite o legătură între căile de coagulare intrinsecă și extrinsecă (Fig. 53-6).

Reacția 4 este pasul final care transformă protrombina în trombină în prezența factorului V, calciului și fosfolipidelor. Deși conversia protrombinei poate avea loc pe diferite suprafețe naturale sau artificiale bogate în fosfolipide, acest proces are loc de câteva

mii de ori mai rapid pe suprafața plachetelor activate sau a celulelor endoteliale. Trombina are funcții multiple în hemostază. Deși rolul său principal este conversia fibrinogenului în fibrina, de asemenea activează factorii V, VIII și XIII, stimulează agregarea plachetară și degranularea. După eliberarea fibrinopeptidelor A și B din catenele α și β ale fibrinogenului, molecula modificată numită monomer de fibrină, polimerizează într-un gel insolubil. Polimerul de fibrină este ulterior stabilizat prin legături între catenele individuale de fibrină de către factorul XIIIa, o transglutaminază plasmatică (Fig. 53-6).

Deși tabloul clasic al coagulării prezintă utilitate clinică, rămân câteva întrebări importante fără răspuns: (1) de ce deficitul de factor XII prelungește dramatic timpul parțial de tromboplastină (PTT) dar nu determină sângerare, (2) cum se explică heterogenitatea clinică a sindromului hemoragipar la pacienți cu deficit de factor XI, (3) de ce deficitul de factor VIII sau IX determină un sindrom hemoragipar sever chiar dacă rămâne intactă calea extrinsecă? Activarea factorilor IX și X de către complexul factor tisular - VIIa are un rol major în inițierea hemostazei. Odată coagularea inițiată prin acest proces, factorul tisular inhibitor blochează această cale iar elementele căii intrinseci, în special factorii VIII și IX, devin reglatorii dominanți ai generării de trombină. Acest pas explică de ce pacienții deficitari în factori XII sunt asimptomatici iar pacienții deficitari în factor XI au diateze hemoragice ușoare sau medii (Fig. 53-8).

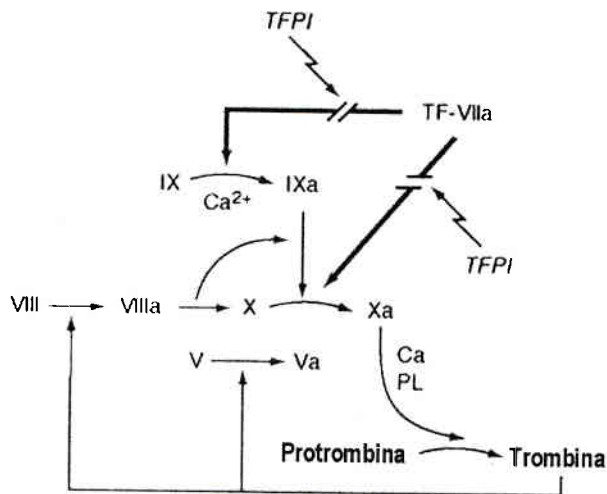


Figura 53-8. Contribuția complexului factorul tisular - VIIa (TF-VIIa) și calea inhibitorie a factorului tisular (TFPI) la coagulare. Activarea inițială a factorului IX de către TF-VIIa compensează deficiențele în factori mai precoce ca factorii XII și XI. Inhibiția ulterioară a TF-VIIa de TFPI determină ca activarea susținută a factorului X de IXa și VIIIa să fie critice pentru hemostaza normală. PL, fosfolipid.

Liza cheagului și repararea vasculară începe imediat după formarea cheagului hemostatic definitiv. Există trei activatori potențiali ai sistemului fibrinolitic: fragmentele factorului Hageman, activatorul urinar al plasminogenului sau urokinaza și activatorul tisular al plasminogenului. Activatorii principali fiziologici, urokinaza și activatorul tisular al plasminogenului difuzează din celulele endoteliale și transformă plasminogenul adsorbit pe cheagul de fibrină în plasmină (Fig. 53-9). Plasmina degradează ulterior polimerul de fibrină în fragmente mici care sunt eliminate de sistemul monocito-macrofagic. Deși plasmina poate să degradeze fibrinogenul, reacția este strict localizată deoarece (1)