

Chương III. DÒNG BẠCH CẦU

SINH LÝ BẠCH CẦU

PGS.TS.BS. Mai Phương Thảo

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Sau khi học xong bài này, sinh viên có khả năng:

1. Trình bày được số lượng và công thức bạch cầu ở người Việt Nam bình thường và phân tích công thức bạch cầu.
2. Phân tích bốn đặc tính của bạch cầu.
3. Giải thích chức năng của từng loại bạch cầu: bạch cầu đa nhân trung tính, bạch cầu ưa acid, bạch cầu ưa kiềm, bạch cầu đơn nhân, bạch cầu lympho (T và B).

Bạch cầu là những tế bào hình cầu, có nhân, được tạo thành trong tủy xương và không chứa hemoglobin. Khi các thành phần của máu được phân tách, bạch cầu và tiểu cầu tạo nên một lớp dịch nhầy, mỏng, có màu trắng, nằm giữa huyết tương và hồng cầu. Bạch cầu có kích thước lớn hơn hồng cầu và có nhân. Mặc dù bạch cầu là một thành phần của máu, máu chỉ có vai trò đơn thuần như một công cụ vận chuyển bạch cầu đi đến các mô khác nhau để tham gia bảo vệ cơ thể chống lại các vật xâm lấn và loại bỏ các tế bào chết hay mảnh vỡ tế bào bằng quá trình thực bào.

1. SỐ LƯỢNG VÀ CÔNG THỨC

1.1. Số lượng

Số lượng bạch cầu trong máu ngoại vi khoảng 4 – 11 G/L (Giga/lít) ($\times 10^9$ tế bào/lít). Ở trẻ em và phụ nữ có thai, số lượng bạch cầu cao hơn.

Thay đổi sinh lý của số lượng bạch cầu: số lượng bạch cầu thường tăng sau khi ăn, sau khi lao động, luyện tập, trong thời kỳ kinh nguyệt, trong những tháng cuối của thai kỳ. Lúc sắp sinh, số lượng bạch cầu có thể tăng tới 17 G/L. Số lượng bạch cầu ở trẻ sơ sinh rất cao, khoảng 20 G/L.

Thay đổi bệnh lý của số lượng bạch cầu: khi số lượng bạch cầu tăng trên 11 G/L gọi là tăng bạch cầu, giảm dưới 4 G/L gọi là giảm bạch cầu. Số lượng bạch cầu tăng trong các bệnh nhiễm khuẩn cấp tính hoặc nhiễm virus, đặc biệt tăng cao trong bệnh bạch huyết cấp hoặc mạn tính, các bệnh rối loạn chuyển hóa hoặc rối loạn hormone, dị ứng và một số bệnh ác tính. Số lượng bạch cầu giảm trong trường hợp bị nhiễm độc, nhiễm xạ, trong bệnh suy tủy.

1.2. Công thức

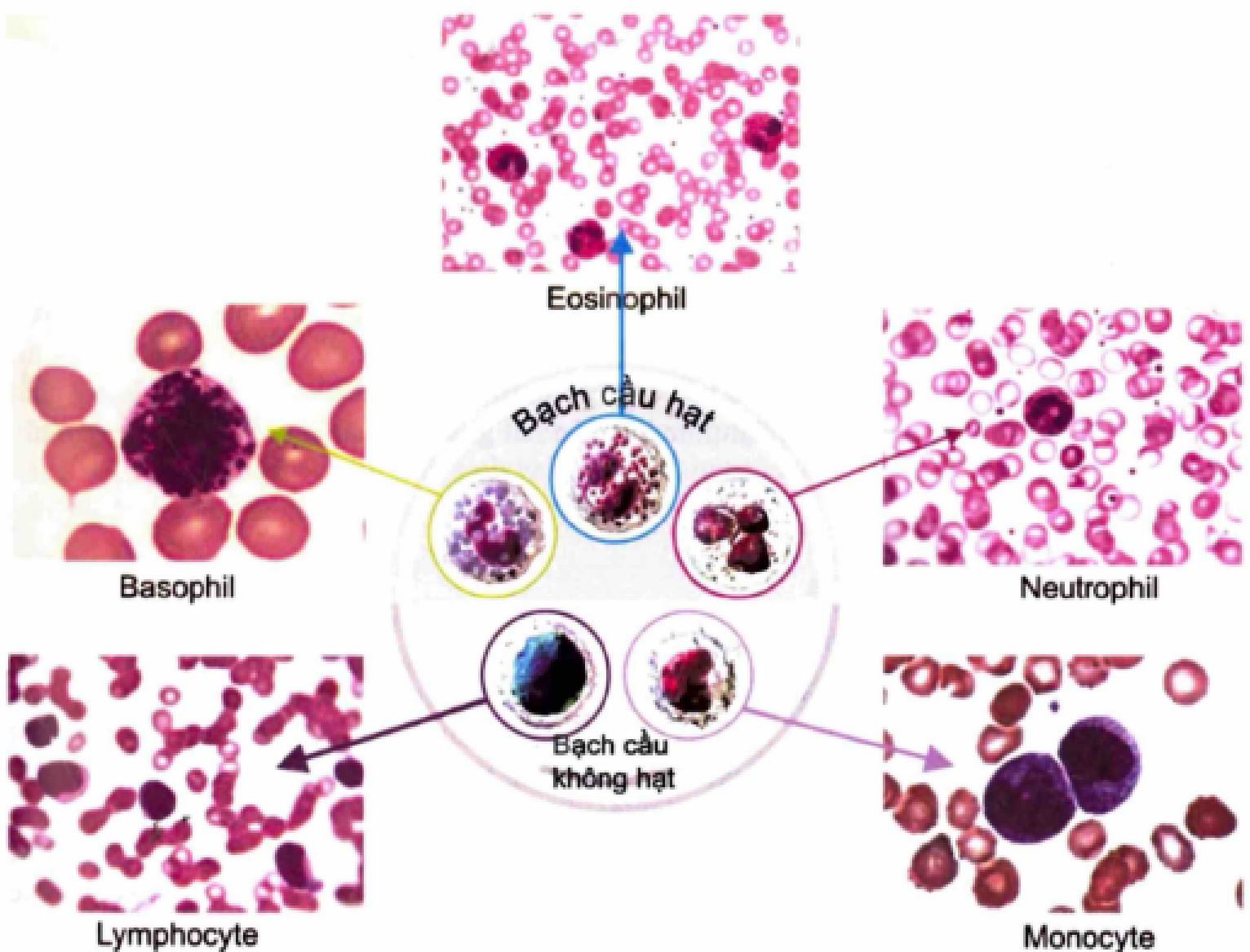
Có nhiều loại công thức bạch cầu khác nhau, tùy theo mục đích thăm dò nghiên cứu, người ta có thể dùng những tiêu chuẩn khác nhau để phân loại công thức bạch cầu.

1.2.1. Công thức thông thường

Là tỉ lệ phần trăm trung bình giữa các loại bạch cầu trong máu. Công thức này giúp ta tìm hướng xác định nguyên nhân bệnh.

1.2.2. Công thức Arneth

Arneth nghiên cứu bạch cầu đa nhân trung tính nhận thấy rằng bạch cầu càng già nhân càng chia nhiều múi. Vì vậy, công thức này giúp người ta thăm dò tốc độ sinh sản và phá hủy của bạch cầu.



Hình 7.1. Hình ảnh của năm loại bạch cầu quan sát dưới kính hiển vi

2. ĐẶC TÍNH CỦA BẠCH CẦU

2.1. Khả năng xuyên mạch

Bạch cầu có thể chui xuyên qua những khe hở giữa các tế bào nội mô của mao mạch để vào các tổ chức quanh mao mạch, mặc dù những lỗ nhỏ đó có kích thước nhỏ hơn bạch cầu nhiều lần. Bạch cầu xuyên mạch để đến những nơi hấp dẫn chúng, chủ yếu là các ổ viêm.

2.2. Di chuyển bằng chân giả (ameboid movement)

Mỗi khi có kích thích tại một nơi nào đó trong cơ thể (kích thích hóa học,...) bạch cầu chuyển động bằng cách thò các tua bào tương, gọi là chân giả bò đến tập trung tại địa điểm bị kích thích.

2.3. Đặc tính hóa hướng động (chemotaxis)

Những sản phẩm hủy hoại trong mô viêm, đặc biệt polysacarid (*polysaccharide*) của mô, các sản phẩm bổ thể (*complement*) có thể làm bạch cầu đa nhân trung tính di chuyển tới chỗ viêm. Một số độc tố của vi khuẩn cũng có thể gây hóa ứng động, trong đó một số độc tố gây hóa ứng động dương tính, tức là lôi cuốn các bạch cầu về phía độc tố, ngược lại một số độc tố khác gây hóa ứng động âm tính, tức là đẩy bạch cầu ra khỏi nguồn độc tố.

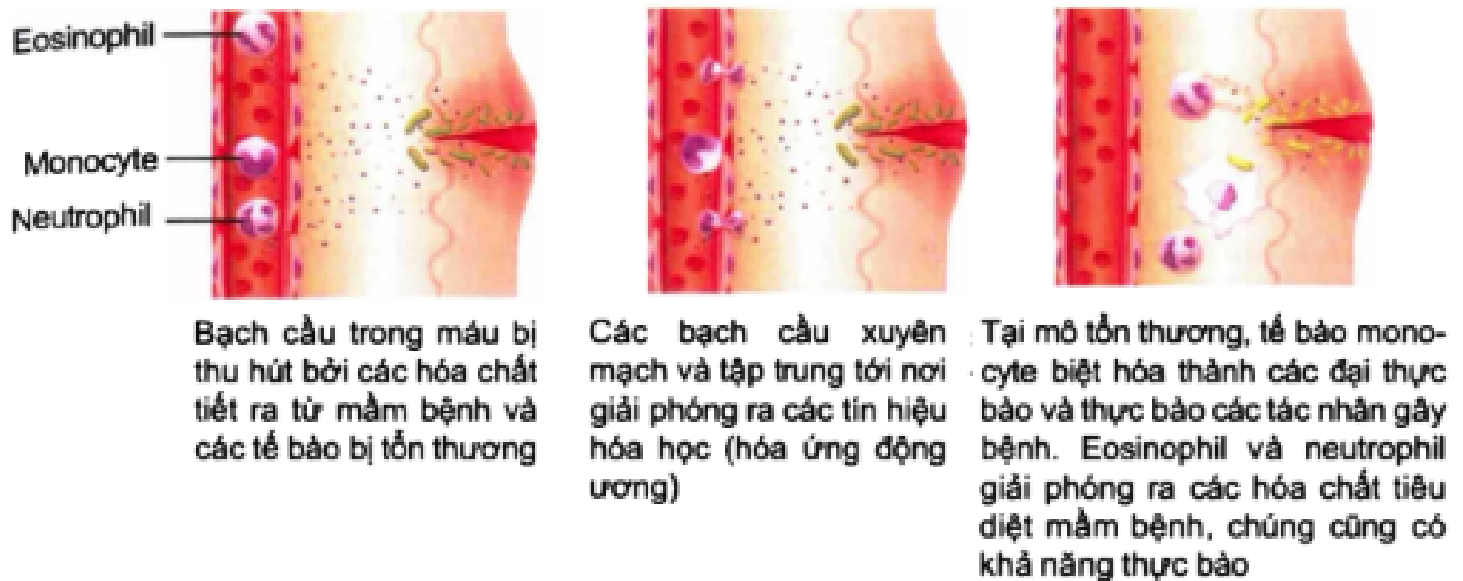
2.4. Khả năng thực bào (phagocytosis)

Những nơi viêm là nơi tập trung nhiều bạch cầu, tại đó bạch cầu thò chân giả bắt giữ các vi khuẩn và mảnh tế bào chết. Khi các vật lạ đó lọt vào bào tương của bạch cầu như một túi thực bào, các men của bạch cầu sẽ tiêu hóa chúng. Sự thực bào là chức năng quan trọng nhất của bạch cầu đa nhân trung tính và đại thực bào. Sự bắt giữ vi khuẩn của tế bào thực bào tùy thuộc một số yếu tố sau:

- Bề mặt của vật lạ
- Diện tích bề mặt của vật lạ
- Bao bằng bổ thể (*opsonin* hóa).

Các đại thực bào (*macrophage*) có nguồn gốc từ các bạch cầu đơn nhân, có khả năng thực bào mạnh hơn bạch cầu trung tính (có khả năng thực bào nguyên một hồng cầu già hay một ký sinh trùng sốt rét, trong khi bạch cầu đa nhân trung tính không thể thực bào một vật lớn hơn vi khuẩn), giữ vai trò quan trọng trong nhiễm khuẩn mạn tính. Nếu viêm mạn tính (trong trường hợp lao hay viêm vôi trứng mạn), tỉ lệ mono bào trong máu có thể tăng cao đến 30%, hoặc thậm chí tới 50%. Bạch cầu chứa nhiều men có khả năng làm tiêu hủy vi khuẩn và các vật lạ mà bạch cầu bắt giữ. Các men phần lớn nằm trong các hạt *lysosome* của bạch cầu. Các *lysosome* của đại thực bào chứa các men tiêu mỡ (*lipase*) giúp chúng tiêu hóa mỡ bao bọc các vi khuẩn lao, vi khuẩn phong và một số vi khuẩn khác. Còn các bạch cầu trung tính chứa trong bào tương một số lượng lớn *lysozyme* và *phagocytin* là những chất hủy diệt vi khuẩn rất mạnh.

Ngoài men thủy phân của *lysosome*, tế bào thực bào còn chứa các tác nhân có tác dụng giết vi khuẩn trước khi bị thực bào. Ví dụ: bạch cầu đa nhân trung tính chứa peroxyt hydro (*hydrogen peroxide*), chất này sau khi thấm vào túi thực bào có tác dụng giết chết vi khuẩn bằng cách oxyt hóa những chất hữu cơ của vi khuẩn.



Hình 7.2. Các đặc tính của bạch cầu

3. CHỨC NĂNG BẠCH CẦU

3.1. Chức năng của bạch cầu đa nhân trung tính

Chức năng chính của bạch cầu đa nhân trung tính là thực bào. Nó tạo ra hàng rào bảo vệ đầu tiên chống lại sự xâm nhập của các vi khuẩn sinh mủ.

3.1.1. Trong trường hợp bình thường

Số lượng bạch cầu trung tính có thể tăng gấp 3 – 4 lần so với bình thường sau khi tập thể thao, vận động nhiều, làm việc nặng hoặc chích norepinephrin. Khoảng 60 phút sau khi có sự tăng bạch cầu đa nhân trung tính sinh lý kể trên, số lượng bạch cầu trở lại bình thường vì bạch cầu lại bám vào các thành mao mạch.

3.1.2. Trong trường hợp viêm

Trong vòng một vài giờ sau khi mô bị tổn thương, các bạch cầu đa nhân trung tính di chuyển về vùng bị tổn thương.

“Yếu tố gia tăng bạch cầu” được phóng thích từ các mô bị tổn thương, khuếch tán nhanh chóng vào máu và đến tủy xương. Tại tủy xương nó phát huy hai tác dụng:

- (1) kích thích tủy xương phóng thích các tế bào đa nhân ra khỏi nơi dự trữ trong tủy xương vào máu, mà đặc biệt là bạch cầu đa nhân trung tính;
- (2) làm tăng tốc độ sản xuất các bạch cầu đa nhân ở tủy xương.

Đại thực bào được huy động, tập trung tới vùng bị tổn thương và là hàng rào chống đỡ đầu tiên của cơ thể trong vòng giờ đầu, nhưng với số lượng không nhiều. Trong những giờ sau, bạch cầu đa nhân trung tính giữ vai trò chính từ 6 – 12 giờ. Đồng thời trong thời gian này, một lượng lớn bạch cầu đơn nhân từ máu vào mô, thay đổi đặc tính của chúng. Cuối cùng, một nguồn lớn đại thực bào từ bạch cầu đơn nhân xâm nhập vào vùng mô bị tổn thương vào giờ thứ 10 – 12. Như vậy, giai đoạn sau của hiện tượng viêm, các bạch cầu đa nhân trung tính không còn hiệu quả thực bào như các đại thực bào nữa. Bạch cầu đa nhân trung tính và các

đại thực bào sau khi ăn vi khuẩn, mô hủy hoại chúng bị nhiễm độc và chết dần dần tạo thành mù ở nơi vi khuẩn xâm nhập.

3.2. Chức năng bạch cầu ưa acid

- Khử độc các protein lạ trước khi chúng có thể gây tác hại cho cơ thể. Do đó, số lượng bạch cầu ưa acid tăng trong dị ứng.
- Bạch cầu ưa acid thường tập trung nhiều ở niêm mạc đường tiêu hóa và ở trong tổ chức phổi, nơi mà các protein lạ thường xâm nhập vào cơ thể.
- Khả năng thực bào của bạch cầu ưa acid yếu so với bạch cầu đa nhân trung tính. Do đó, nó không giữ vai trò quan trọng trong việc chống lại sự nhiễm khuẩn.
- Làm tan cục máu đông: bạch cầu ưa acid di chuyển đến cục máu đông, tại đó chúng giải phóng ra *plasminogen*, chất này được hoạt hóa thành *plasmin*, làm tiêu các sợi *fibrin* và làm tan cục máu đông.
- Bạch cầu ưa acid tăng cao trong phản ứng dị ứng, phản ứng miễn dịch và tự miễn dịch, trong quá trình phân hủy protein của cơ thể. Đặc biệt, trong các trường hợp cơ thể bị nhiễm các loại ký sinh trùng như giun đũa, giun móc, bệnh sán heo (*Trichinella*) do ăn thịt heo có sán nấu không chín,... số lượng bạch cầu ưa acid có thể tăng tới 25% – 50%.

3.3. Chức năng bạch cầu ưa kiềm

Bạch cầu ưa kiềm không có khả năng di chuyển và thực bào, nhưng có chức năng sau:

- Bạch cầu ưa kiềm chứa một số chất như: *heparin*, *histamin* và một lượng nhỏ *serotonin*, *bradykinin*. Bạch cầu ưa kiềm giải phóng heparin vào máu để phòng ngừa quá trình đông máu trong lòng mạch.
- Bạch cầu ưa kiềm còn có vai trò quan trọng trong một số phản ứng dị ứng, vì globulin miễn dịch gây ra phản ứng dị ứng là IgE có khuynh hướng gắn trên màng bạch cầu ưa kiềm.

Khi có một kháng nguyên đặc hiệu phản ứng với kháng thể IgE thường gây ra phản ứng mạnh, làm bề màng bạch cầu, giải phóng ra *histamin*, *bradykinin* là các chất gây giãn mạch và tăng tính thấm của thành mạch. Chính những chất này gây ra các phản ứng tại chỗ của thành mạch và mô, biểu hiện bằng các triệu chứng phù, ban đỏ, mẩn ngứa và đau.

3.4. Chức năng của bạch cầu đơn nhân

3.4.1. Đại thực bào

Bạch cầu đơn nhân được phóng thích từ tủy xương vào máu tuần hoàn là những tế bào chưa trưởng thành, nên chúng chưa có khả năng thực bào. Sau ít giờ ở trong máu tuần hoàn bạch cầu đơn nhân xuyên mạch ra ngoài các mô. Ở đó chúng bắt đầu biến đổi hình dạng, tế bào phình to ra, tăng kích thước lên gấp khoảng 5 lần (đường kính khoảng 80 μm). Đồng thời trong bào tương của bạch cầu đơn nhân có chứa một lượng lớn lysosome và ti thể, làm cho bào tương giống như một cái túi chứa đầy hạt. Tế bào thời kỳ này được gọi là đại thực bào (macrophage) là dạng trưởng thành của bạch cầu đơn nhân. Các đại thực bào này sẽ gắn với mô gọi là đại thực bào cố định, chúng ở tại mô hàng tháng hoặc hàng năm, cho đến khi có các

kích thích thích hợp chúng sẽ tách khỏi mô để trở thành đại thực bào lưu động, đi đến vùng viêm nhiễm theo cơ chế hóa ứng động.

3.4.2. Hệ võng nội mô

Ngoài hệ bạch cầu trong máu, một nhóm tế bào khác trong các mô cũng có chức năng bảo vệ cơ thể chống lại các tác nhân xâm lấn, đó là hệ võng nội mô. Nó bao gồm hai loại tế bào:

- (1) các đại thực bào cố định xuất phát từ các bạch cầu đơn nhân ở trong các mô khác nhau, bám vào các thành mạch máu và mạch bạch huyết
- (2) các lympho bào tự do trong các mô, chúng xuất phát từ các hạch bạch huyết.

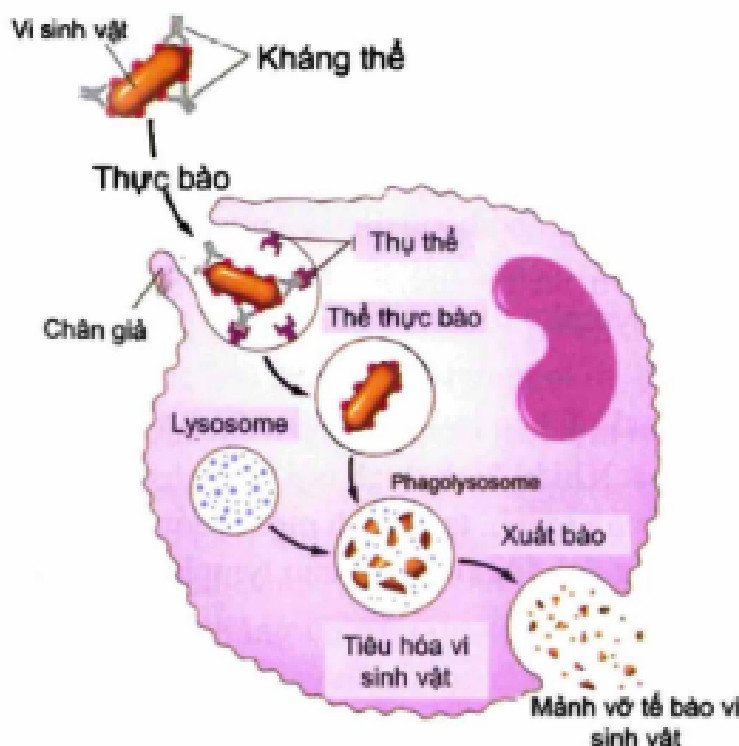
Các đại thực bào trong các mô khác nhau, có hình dáng và tên gọi khác nhau: đại thực bào phế nang trong các phế nang của phổi, thực bào các vật xâm lấn qua đường hô hấp hay các tiểu phân bụi như bụi silic, than,... đáp ứng với các quá trình viêm mạn tính như lao. Các đại thực bào cố định trong mô được gọi chung là mô bào (*histocyte*).

3.4.3. Chức năng của đại thực bào

- Khả năng thực bào của đại thực bào lớn hơn nhiều so với các bạch cầu đa nhân trung tính. Mỗi đại thực bào có thể ăn tới 100 vi khuẩn, các hồng cầu già, các bạch cầu đã chết, ký sinh trùng sốt rét, các mô hoại tử,... Do đó, chúng giữ vai trò quan trọng trong các bệnh nhiễm trùng mạn tính.

- Các đại thực bào có nhiều lysosome chứa các men thủy phân protein, tiêu diệt vi khuẩn và các vật lạ. Ngoài ra, lysosome của các đại thực bào còn chứa một lượng lớn men lipase, có khả năng tiêu hóa màng lipid của những vi khuẩn đặc biệt kháng cồn, kháng acid như vi khuẩn lao, vi khuẩn phong,...

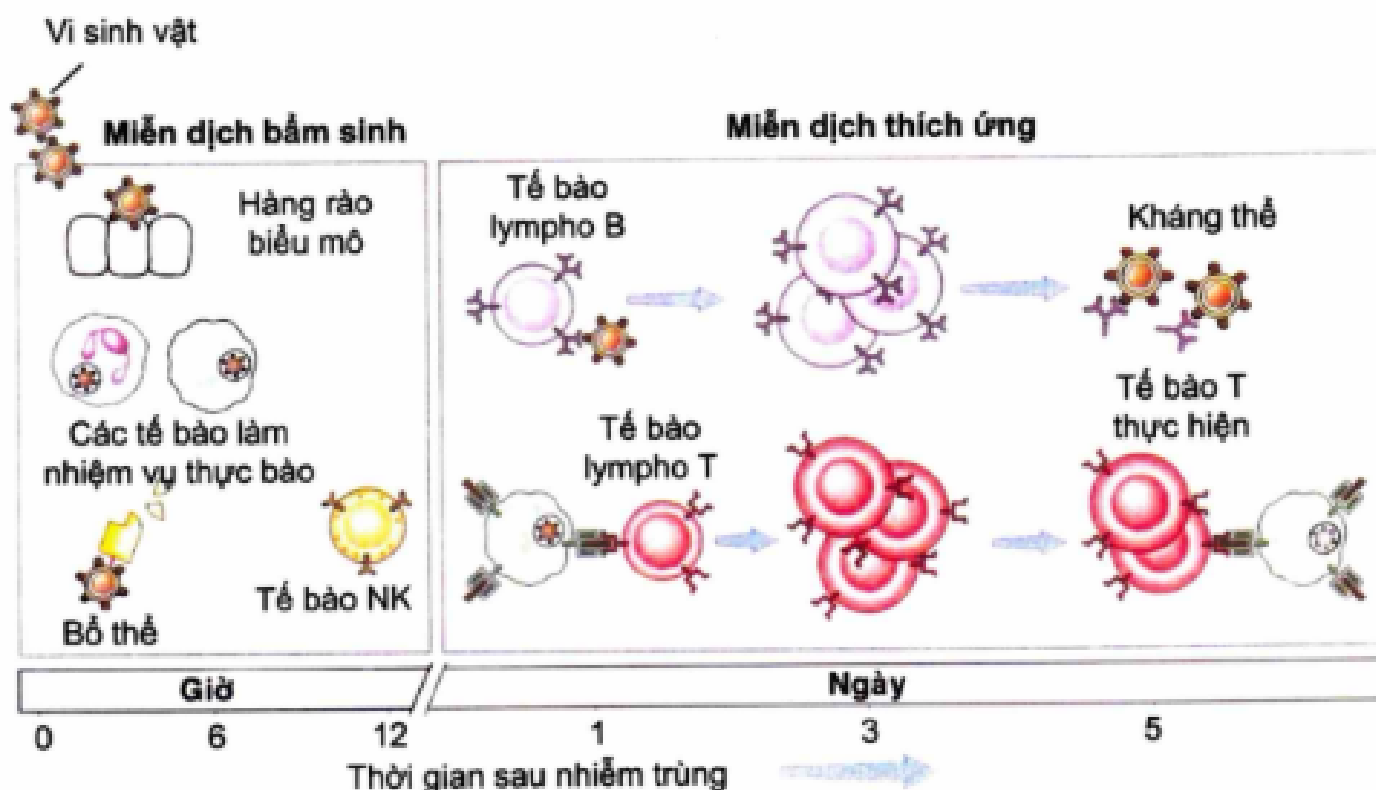
- Đại thực bào không phải là những tế bào có khả năng miễn dịch nhưng chúng đóng vai trò đặc biệt quan trọng trong việc khởi động quá trình miễn dịch, kích thích dòng lympho.



Hình 7.3. Khả năng thực bào của các đại thực bào

3.5. Chức năng của bạch cầu lympho

Bạch cầu lympho là những tế bào có khả năng miễn dịch của cơ thể. Dựa vào cách thực hiện chức năng của chúng, người ta phân biệt thành hai dòng: (1) dòng bạch cầu lympho cảm ứng có chức năng miễn dịch tế bào, có khả năng tiêu diệt các tác nhân xâm lấn và (2) dòng bạch cầu lympho có chức năng miễn dịch thể dịch, có khả năng tạo kháng thể, làm mất hiệu lực của kháng nguyên.



Hình 7.4. Sự tham gia của các loại bạch cầu vào quá trình đáp ứng miễn dịch

3.5.1. Sự phân phối bạch cầu lympho trong cơ thể

Sau khi bạch cầu lympho được đào tạo trưởng thành từ trong tuyến ức đối với lympho T và từ tủy xương đối với lympho B, chúng được đưa vào máu tuần hoàn. Thời gian bạch cầu lympho ở trong máu chỉ vài giờ, sau đó tất cả bạch cầu lympho sẽ xuyên mạch để qua các mô rồi vào các hạch bạch huyết. Như vậy, các bạch cầu lympho không phải có nguồn gốc từ hạch bạch huyết, mà nó chỉ được vận chuyển đến dự trữ tại tổ chức này từ các nơi đã đào tạo huấn luyện nó trưởng thành. Đời sống của các bạch cầu lympho thường kéo dài từ 100 – 300 ngày hoặc có thể nhiều năm.

Mỗi dòng bạch cầu lympho chỉ miễn cảm đối với một loại kháng nguyên đặc hiệu, hay một nhóm kháng nguyên có cùng một tính chất hóa học. Khi bị kích thích bởi một kháng nguyên đặc hiệu, tất cả các loại bạch cầu lympho đều tăng sinh mạnh, tạo thành một số lớn tế bào tiếp theo dưới nó, dẫn đến sản xuất một lượng lớn kháng thể đối với bạch cầu lympho B, hay tạo thành lympho cảm ứng đối với bạch cầu lympho T.

3.5.2. Bạch cầu lympho B – miễn dịch thể dịch

Bình thường bạch cầu lympho nằm yên tĩnh trong các tổ chức bạch huyết. Khi có vật lạ xâm nhập cơ thể với kháng nguyên đặc hiệu và qua trung gian là đại thực bào, sau khi tiếp xúc với kháng nguyên này, lập tức lympho B tăng kích thước và biệt hóa trở thành dạng trẻ hơn là **nguyên bào lympho** (*lymphoblast*). Rồi một số của loại này biệt hóa thành **nguyên tương bào** (*plasmoblast*) và chuyển thành **tương bào** (*plasmocyte*). Trong các nguyên tương bào, bào tương phát triển mạnh và mạng lưới nội bào tăng sinh.

Quá trình tự sinh sản bắt đầu với cường độ phân chia mạnh trong vòng 10 giờ đầu. Sự phân chia tiếp tục trong vòng 4 ngày và có khoảng 500 tế bào tương bào được tạo thành từ một nguyên tương bào. Sau đó, toàn bộ tương bào trưởng thành sản xuất ra kháng thể là gamma-globulin với số lượng cực kỳ nhanh, được bài tiết vào dịch bạch huyết, rồi vào máu tuần hoàn. Quá trình sản xuất kháng thể này được tiếp tục trong nhiều ngày cho tới khi tương bào chết.

Một số nguyên bào lympho được tạo thành do hoạt hóa của dòng lympho B, không biệt hóa thành nguyên tương bào, mà lại chuyển dạng trở thành lympho bào B trưởng thành mới, được gọi là các lympho B “nhớ”, trú ngụ thường xuyên trong tổ chức bạch huyết, cho đến khi được hoạt hóa lại do một lượng kháng nguyên mới cùng loại với kháng nguyên cũ. Trong lần này, sau khi tiếp xúc với kháng nguyên cùng loại, nó tạo ra một sự đáp ứng kháng thể nhanh và mạnh hơn nhiều so với đáp ứng lần đầu tiên, đó là đáp ứng thứ phát. Đáp ứng thứ phát nhanh, mạnh và kéo dài hơn nhiều so với đáp ứng tiên phát. Nếu đáp ứng tiên phát là 6 tuần thì đáp ứng thứ phát kéo dài đến nhiều tháng. Đó là nguyên tắc của việc sử dụng vaccin miễn dịch.

Có năm loại kháng thể là IgM, IgG, IgA, IgD, IgE. Trong đó, IgG chiếm khoảng 75% và IgE chiếm tỉ lệ rất thấp của kháng thể, nhưng giữ vai trò quan trọng trong các bệnh dị ứng.

3.5.3. Dòng lympho bào T- miễn dịch qua trung gian tế bào

Bạch cầu lympho T bắt nguồn từ những tế bào gốc sinh máu vạn năng trong tủy xương, đi vào máu và hoàn thành sự phát triển trong tuyến ức. Lympho T liên tục di chuyển giữa lách, hạch bạch huyết và các mô liên kết. Khi các bạch cầu lympho T đi qua tuyến ức, những receptor bề mặt ký hiệu CD4 và CD8 được gắn vào màng tế bào. Lympho T mang receptor CD4 được gọi là CD4⁺, lympho T mang receptor CD8 được gọi là CD8⁺. Các receptor bề mặt này cho phép bạch cầu lympho T nhận biết được các kháng nguyên peptide. Các lympho T hoạt hóa này đáp ứng với kháng nguyên bằng cách tấn công trực tiếp hoặc bằng cách giải phóng ra các hóa chất gọi là lymphokine, hấp dẫn bạch cầu hạt đến vùng xâm nhập đồng thời kích thích lympho B và các lympho T khác.

Sau khi tiếp xúc với kháng nguyên tương ứng, một số lympho bào T sẽ chuyển thành lympho bào cảm ứng và được giải phóng từ các tổ chức lympho bào, song song với sự giải phóng kháng thể của lympho bào B. Các lympho bào cảm ứng được tạo thành và đưa vào bạch huyết, từ đó chúng chuyển qua hệ tuần hoàn, ở lại trong máu khoảng thời gian ngắn từ vài phút đến vài giờ. Sau đó chúng chuyển từ hệ tuần hoàn vào trong các mô của cơ thể.

Khi tiếp xúc với kháng nguyên, một số lympho T cũng chuyển thành một loại lympho T mới, gọi là tế bào “nhớ”. Một số lớn lympho “nhớ” mới được tạo thành và bổ sung vào số lympho T có trong tổ chức lympho. Mỗi khi tiếp xúc với kháng nguyên cùng loại ở những lần sau, sự giải phóng các lympho cảm ứng sẽ xảy ra nhanh hơn nhiều và mạnh hơn nhiều so với sự đáp ứng lần đầu tiên phát. Đó là sự đáp ứng thứ phát.

Các lympho cảm ứng có thời gian sống không xác định và tồn tại cho đến khi tiếp xúc lại với kháng nguyên đặc hiệu của chúng. Trong một số trường hợp lympho cảm ứng có thể tồn tại tới 10 năm. Miễn dịch tế bào bền hơn nhiều so với miễn dịch thể dịch.



Hình 7.5. Lympho bào B và lympho bào T tham gia vào quá trình đáp ứng miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào

CÂU HỎI TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Bạch cầu KHÔNG có đặc tính gì?
 - A. Xuyên mạch
 - B. Chuyển động bằng chân giả
 - C. Tạo áp suất keo
 - D. Thực bào
2. Bạch cầu ưa acid KHÔNG có chức năng nào?
 - A. Khử độc các protein lạ
 - B. Làm tan cục máu đông
 - C. Thực bào
 - D. Chống đông máu trong lòng mạch
3. Các kháng thể của lympho bào B KHÔNG sử dụng phương thức nào để loại bỏ trực tiếp vật xâm nhập?
 - A. Ngưng kết
 - B. Kết tủa
 - C. Tiêu đi
 - D. Gây viêm
4. Men của hệ thống bổ thể KHÔNG có tác dụng nào?
 - A. Hoạt hóa thực bào
 - B. Hóa ứng động
 - C. Trung hòa
 - D. Kết tủa kháng nguyên
5. Các lympho bào T cảm ứng phá hủy các tác nhân xâm lấn bằng cách nào?
 - A. Tấn công trực tiếp vật xâm lấn
 - B. Hoạt hóa hệ thống phản vệ
 - C. Tấn công gián tiếp vật xâm lấn bằng cách giải phóng nhiều yếu tố
 - D. A và B đúng
 - E. A và C đúng

ĐÁP ÁN: 1C 2A 3C 4B 5D

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Sinh lý – Sinh lý bệnh Miễn dịch. Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh. Sinh lý học y khoa. NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, 2022, tr.21 – 28.
2. Ganong's Review of Medical Physiology 25th ed., Lange McGraw Hill Companies, 2016, tr.554 – 555.
3. Guyton A. C. and Hall J.E. Textbook of Medical Physiology, 14th ed., Elsevier Saunders, 2020, tr.449 – 470.