

## Diagnosticul diferențial în modificări reactive și maligne leucocitare

**Bogdan Sevastre**

*Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Facultatea de Medicină Veterinară, Strada Mănăstur 3-5, 400372, Cluj-Napoca, Romania,*

E-mail: bogdan.sevastre@usamvcluj.ro

Leucograma reprezintă determinarea numerică și morfologică a profilului leucocitar.

*Leucocitele totale* (LT) reprezintă numărul de leucocite conținute într-un volum de sânge (exprimat în  $10^3 / \mu\text{L}$ ,  $10^3 / \text{mm}^3$  sau  $10^9 / \text{L}$ ). *Formula leucocitară* reprezintă clasificarea leucocitelor în diferite tipuri.

### Metode automate de cuantificare și diferențiere leucocitară

*Analizoarele de impedanță* de obicei procesează sângele în două cuve, una pentru hematii și trombocite (folosind diluanți izotonici) și alta pentru leucocite (utilizează diluenți ce lizează celulele și trombocite, numai nucleele rămân). Toate nucleele sunt numărate, astfel, hematiile nucleate nu pot fi diferențiate de leucocite. În plus, unele analizoare cu impedanță nu fac diferența între toate categoriile de leucocite, ci efectuează o diferențiere în funcție de dimensiunea celulei, împărțind leucocitele în granulocite (celule mari), celule medii și limfocite (celule mici). Altele pot diferenția toate cele cinci categorii pe baza unor anumite soluții de colorare pentru eozinofile și bazofile.

*Analizoarele de flux optice sau cu laser* diferențiază leucocitele pe baza complexității nucleare sau, în cazul *aparaturilor de tip ADVIA*, prin diferență în conținutul de peroxidază. Ele pot identifica o categorie separată de celule cunoscut sub numele de celule necolorate mari (LUC Large Unstained Cells engl.), care sunt celule mari, fără peroxidază cum ar fi eritroblaștii sau diverse alte celule blastice.

*Analiza cantitativă a microhematocritului* diferențiază leucocitele în granulocite și limfocite / monocite, pe baza diferenței în fluorescență a ADN-ului. La câini și bovine eozinofilele sunt detectabile ca o altă categorie, bazată pe fluorescență mai mare decât celelalte granulocite.

Toate aceste dispozitive cuantifică individual fiecare categorie de celule, apoi le adună pentru a calcula leucocitele totale, iar apoi se calculează procentajul corespunzător. Indiferent de metodă, concentrația absolută a leucocitelor (determinate sau calculate) este mai relevantă decât procentul în interpretarea răspunsului leucocitar.

### Diagnosticul modificărilor reactive leucocitare

Tulburările leucocitelor se pot clasifica în două mari categorii: *leucocitoză* - concentrația crescută a leucocitelor, și *leucopenia* - reducerea numărului de leucocite. *Indicele Arneth* reprezintă procentul de neutrofile clasificate în funcție de numărul de lobi ai nucleului. Neutrofilele tinere au nucleu nedivizat, iar cu trecerea timpului, nucleul se segmentează și devine multilobat. Procentul crescut de *neutrofile tinere* este cunoscut sub denumirea de deplasarea *indicelui Arneth spre stânga*, în timp ce *predominanța neutrofilelor mature* cu nucleu multilobat, ca deplasarea *indicelui Arneth la dreapta*.

Neutrofilia are trei cauze principale: *inflamația sistemică* (cu devierea indicelui Arneth spre stânga), *răspuns de fugă sau luptă* (fără devierea indicelui Arneth, limfocite în

limite normale sau limfocitoză), *răspuns la cortizol* (indice Arneth nedeviat, limfopenie, eozinopenie).

Neutropenia are trei cauze majore ce pot fi distinse prin modificări hematologice: *inflamația acută* (cu indice Arneth deviat spre stânga, fără modificarea numărului de hematii sau trombocite), *alterări medulare tranzitorii* (fără devierea indicelui Arneth și fără modificarea numărului de hematii sau trombocite), *alterări medulare ireversibile* (sau cronice) fără devierea indicelui Arneth, anemie neregenerativă, trombocitopenie.

### **Diagnosticul modificărilor hematologice maligne**

Modificările maligne se datorează transformării maligne a unor precursori ai celulelor sangvine, pe parcursul diferențierii celulare. Aceste boli se împart în mai multe categorii, în funcție de linia de diferențiere afectată (mieloidă / limfoidă) și nivelul de diferențiere a precursorilor celulelor sanguine.

*Tulburări limfoproliferative* (cel mai frecvent cu origine extra-medulară) - includ un grup divers de tumori ale limfocitelor B, limfocitelor T, și celulelor NK. Tulburările limfoproliferative se împart în leucemii limfoide și limfom. În leucemii este afectată măduva și sângele periferic (de obicei, dar nu întotdeauna). Limfomul este o tumoră solidă care apare în țesuturi limfoide, altele decât măduva osoasă. Alt grup important al tumorilor limfoide sunt reprezentate de neoplasmele plasmocitelor.

*Tulburări mieloproliferative* (în măduva hematogenă) provin din celule progenitoare mieloide. Se cunosc trei categorii : *leucemii mieloide acute*, în care predomină celulele precursorare imature în măduva osoasă; sindromul mielodisplazic, care se asociază cu hematopoeză inefficientă și citopenii în sângele periferic; și *tulburări mieloproliferative cronice*, în care crește producția unuia sau mai multor elemente mieloide diferențiate (de exemplu, granulocite).

### **Tulburările limfoproliferative**

*Limfomul* este o tumoră solidă cu origine în organele limfoide (splina, timusul, structuri limfoide diseminate), clasificat în funcție de distribuția anatomică, model histologic, morfologia celulară, și expresia markerilor de diferențiere (CD)

*Clasificarea în funcție de distribuția anatomică:*

Limfom multicentric - ganglioni limfatici și organe interne (splină și ficat)

Limfom digestiv - tractul gastro-intestinal și nodulii limfatici aferenți

Limfom mediastinal - timusul și limfonodulii mediastinali.

Limfom cutanat - afectează zone de piele izolate sau poate fi generalizat, implică epiteliul sau dermul și ganglionii limfatici aferenți

Alte categorii de limfom – această categorie include limfoame ce își au originea în organe ca rinichi, ochi, creier etc.

Conform OMS (Organizația Mondială a Sănătății), limfomul la animale se clasifică în următoarele stadii:

Stadiu I - este implicat doar un singur țesut limfoid și organe (excepția măduva osoasă)

Stadiu II - mai mulți limfonoduli într-o regiune

Stadiu III - limfonoduli din diferite regiuni

Stadiu IV - ficatul și splina

Stadiu V - celulele neoplazice sunt prezente în sângele circulant și măduva osoasă

*Leucemia acută limfocitară* (Leucemia acută limfoblastică (LAL) - reprezintă proliferarea malignă a precursorilor limfocitari în măduva osoasă. Apare mai rar în comparație cu limfomul. Apare frecvent la pisicile infectate cu FeLV. LAL pot apărea la orice vârstă și are un prognostic nefavorabil (supraviețuire medie este de aproximativ 65 zile).

Diagnosticul se bazează în principal pe prezența limfocitelor neoplazice (limfoblaști) - examinate pe frotiurile de sânge sau pe medulogramă. Ele sunt mari, cu nucleu rotund, cromatină dispersată, multipli nucleoli sau inele nucleare. Pacienții prezintă citopenie mieloftizică (care afectează una sau mai multe linii celulare).

#### *Leucemia cronică limfocitară (LCL)*

Leucemia cronică limfocitară (LCL) este o boală malignă însoțită de un număr crescut de limfocite relativ diferențiate, în organele limfoide secundare. Apare mai frecvente la câini, mai ales la pacienții vârstnici, evoluția clinică este mai lentă ca în LAL (supraviețuirea medie este de aprox. 450 zile).

Principala caracteristică este limfocitoză (la câini peste 10.000/ $\mu$ l), cu morfologia asemănătoare limfocitelor mici normale. De obicei, acesta este asociat cu limfadenopatie, splenomegalie și hepatomegalie. Măduva hematogenă este invadată în stadiul avansat, urmată de citopenia mieloftizică.

#### *Tumorile plasmocitelor*

*Plasmocitomul* este o tumoră localizată în piele și mucoase. Nu secretă imunoglobuline, astfel încât acestea nu au efect sistemic. La pisici pot să aibă un caracter invaziv local.

*Mielomul multiplu* este o proliferare clonală în măduva osoasă a plasmocitelor, acompaniată de gamopatie monoclonală. Aceste celule pot produce mai multe tipuri de imunoglobuline, mielomul multiplu non secretor se întâlnește mai rar. Cele mai importante criterii de diagnosticare sunt hiperproteinemie, hiperglobulinemie, cu model caracteristic la electroforeză. Gama globulinele sunt foarte crescute ceea ce apare și pe electroforeză (care este semnul distinctiv al gamopatiei monoclonale). Aceste proteine anormale sunt cunoscute ca paraproteine.

#### **Tulburări mieloproliferative**

Sunt leucemiile cu originea în măduva osoasă, care implică proliferarea celulelor liniei mieloidă. În funcție de gradul de diferențiere a celulelor neoplazice, leucemia poate fi *leucemie mieloidă acută (LMA)* – cu proliferarea celulelor precursorare nediferențiate, sau *sindroame mielodisplazice (SMD)* – cu proliferarea celulelor mai diferențiate, care din punct de vedere morfologic sunt mai aproape de celulele mature întâlnite în mod normal pe frotiul de sânge și în măduvă.

Tulburările mieloproliferative sunt destul de rare la animale. Diferențierea în leucemie cronică sau acută se bazează pe procentul de "celule blastice" în sânge și măduva osoasă. În stadiile avansate, leziunile infiltrative se găsesc în organe interne (în principal, splină și ficat). Terapia nu este foarte eficientă.

#### *Leucemia acută mieloidă (LMA)*

Leucemie mieloidă acută (LMA), la câini și pisici se clasifică în mai multe subgrupe, conform clasificării folosite în medicina umană. Diagnosticul de LMA se bazează pe citologia medulară (peste 30% celule blastice raportate la toate celulele nucleate). În plus, procentul blaștilor din măduva osoasă este un important criteriu de diferențiere.

Colorațiile citochimice sunt deosebit de utile în a distinge diferitele tipuri, deoarece blaștii au un aspect foarte asemănător, similar cu LAL. LMA au o evoluție rapidă, cu prognostic nefavorabil.

Subgrupurile LMA recunoscute în medicina veterinară sunt:

*Leucemia acută nediferențiată* (AUL) – număr mare de blaști nediferențiați

*Leucemia acută mieloblastică*

*Leucemie mieloblastică cu maturare* (M1),

*Leucemie mieloblastică fără maturare* (M2)

*Leucemie promielocitară* (M3)

*Leucemia mielomonocitară* (M4) – mieloblaști și monoblaști în măduvă și sânge periferic

*Leucemia monocitară* (M5) – invazia medulară cu celule din linia monocitară, în sânge - monocitoză (monocite imature sau cu aspect bizar).

*Eritroleucemia* (M6) - la pisici infectate cu FeLV. - eritroblaști și mieloblaști în măduvă și sânge.

*Leucemia megacariocitară* (M7) – prezența de megacarioblaști și pancitopenie mieloftizică (mai ales trombocitopenie).

*Sindroame mielodisplazice* (SMD)

Reprezintă proliferările neoplazice ale precursorilor mai maturi ai seriei mieloid. În măduva osoasă, procentul de blaști e sub 30%. Afectează cu preponderență animalele vârstnice, are o evoluție mai lentă și, de obicei, în stadiul terminal se transformă în LMA.

Subtipurile SMD sunt:

*Leucemia granulocitară cronică* (LGC) – se caracterizează prin proliferarea neutrofilelor reactiv mature. Pe frotiul de sânge se poate observa un număr mare de neutrofile cu nucleu nesegmentat (indice Arneht deviat spre stânga) împreună cu precursori neutrofilici în diferite stadii de dezvoltare (metamielocite, mielocite, promielocite și mieloblaști). Apare rar la câini, pisici și cai.

*Leucemia eozinofilică cronică* (LEC) – se caracterizează cu eozinofilie marcantă (diferite stadii de maturare) și invazia eozinofilică în măduva osoasă. Apare la pisici, fără implicarea FeLV. Are caracteristici similare cu sindromul hipereozinofilic.

*Leucemia cronică bazofilică* – evoluează cu bazofilia marcantă, infiltrarea bazofilică a diferitelor organe Foarte rară la câini și pisici.

*Policitemia vera* – eritrocitoza (esențială) primară – este o neoplazie caracterizată prin creșterea eritropoezei independentă de stimulare de eritropoietină. Caracteristicile clinice sunt eritrocitoza absolută cu eritrocite normale, asociată cu un nivel scăzut de eritropoietină. Acesta a fost descris la câini, pisici, bovine și cai.

*Trombocitemia esențială* – număr crescut de trombocite (peste 1 000 000/ $\mu$ l), cu morfologie normală sau modificată (trombocite gigante, intens granulate). Număr crescut de megacariocite în măduva hematogenă.

*Leucemie cronică mielomonocitară*

*Leucemie cronică monocitară*

**Bibliografie selectiva:**

Estridge BH, Reynolds AP, Walters NJ, 2000, Basic Medical Laboratory Techniques 4th Edition, Thomson Learning, London UK

Keer, 2002, Veterinary Laboratory Medicine – Clinical Biochemistry and Hematology  
2nd Edition, Blackweell Science Ltd, Oxford UK  
Thrall AM si colab., 2006, Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Blackweell  
Publishing, Oxford UK