***Modificari patologice ale elementelor seriei albe***

***Modificări cantitative ale neutrofilelor***

*Leucocitoza* reprezintă creşterea numărului de leucocite > 10000/mmc.

Se întâlneşte în condiţii fiziologice (efort fizic, digestie intestinală, expunere la frig, emoţii, sarcină) ca urmare a modificărilor distribuţiei în sângele periferic sau prin solicitarea fiziologică a sistemului leucocitar, şi patologice (infecţii, reacţii leucemoide, inflamaţii, hemoragii, leucemii, neoplazii) prin accentuarea leucopoiezei medulare şi prin mobilizarea leucocitelor aflate în circulaţie sau în ţesuturi.

*Leucopenia* reprezintascăderea numărului de leucocite < 4000/mmc. Apare ca urmare a inhibiţiei medulare, modificărilor de distribuţie sau prin inhibiţia leucopoiezei în şocul anafilactic, infecţii, postiradiere, substanţe toxice.

*Neutrofilia* reprezintă creşterea numărului de neutrofile > 8000/mmc şi apare ca urmare a:

- creşterii producţiei medulare

- eliberării rapide a neutrofilelor din măduva osoasă hematogenă în sângele circulant

- fenomenului de demarginaţie

Se întâlneşte în stări fiziologice: - nou-născut

- sarcină

- postprandial

sau patologice: - infecţii

- traumatisme

- arsuri

- boli autoimune

- boli endocrine

- boli metabolice

- medicamente: corticosteroizi,factori de creştere granulocitari

- intoxicaţii acute (Pb, Hg, veninuri)

- splenectomie, asplenism

- infarct miocardic acut

- pancreatită acută

- hemoliză acută

- hemoragii acute

- ocluzie intestinală

*Neutropenia* reprezintă scăderea numărului de neutrofile <1500/mmc.

Mecanisme de producere:

- producţie insuficientă: aplazie, hipoplazie, displazie granulocitară

- blocarea eliberării neutrofilelor din măduvă

- scăderea duratei de viaţă (distrugere prin anticorpi antineutrofilici)

- stocare tisulare fără intensificarea producţiei

- marginaţie excesivă

Neutropenia poate fi:

- falsă (pseudoneutropenie) prin aderarea excesivă la peretele vascular: infecţii virale, ciroză hepatică, mielom multiplu, sindrom Felty.

- adevărată: - infecţii virale, parazitare

- boli endocrine ( boala Addison, hiper/hipotiroidism)

- stări carenţiale

- neoplazii

- sindroame mielodisplazice

- etilism

- hipersplenism

- neutropenii induse de radiaţii, benzen, citostatice

- neutropenii imunologice

- neutropenia cronică idiopatică

- neutropenia congenitală

- agranulocitoze postmedicamentoase (scăderea numărului de neutrofile sub 500/mmc): antimicrobiene, antivirale, antimalarice, anticonvulsivante, anti- reumatice, allopurinol, antitiroidiene, antiulceroase, diuretice, hipoglicemiante, psihotrope, produse prin:

- mecanism imunologic - anticorpi antigranulocitari

- inhibarea imunologică a granulopoiezei

- distrugerea imunologică a neutrofilelor

- mecanism toxic pentru celula stem hematopoietică: fenilbutazona,săruri de aur

***Modificările calitative ale neutrofilelor (granulocitopatii***)

Determină alterarea funcţiei de apărare ale neutrofilelor împotriva infecţiilor prin: - alterarea chimiotaxiei: - diminuarea adezivităţii granulocitare

- alterarea deformabilităţii granulocitare

- scăderea vitezei de deplasare/alterarea orientării

- afectarea fagocitozei - deficit de producere/ utilizare a SRO

- alterarea sistemelor independente de oxigen

*Granulocitopatii prin alterarea chimiotaxiei*:

- deficitul de adeziune leucocitară I (LAD I): absenţa glicoproteinei de adeziune; infecţii grave, leucocitoză cu neutrofilie, absenţa neutrofilelor la locul infecţiei;

- glicogenoza de tip IB

- absenţa granulaţiilor specifice

- sindromul Chediak-Higashi (granulaţii citoplasmatice gigante cu disfuncţie celulară generalizată)

- sindromul imunoglobulinemiei E (Buckle): leziuni cutanate eczematiforme, infecţii recidivante bronhopulmonare, ganglionare

- deficit de glutationsintetază

- hipogamaglobulinemii

- diabet zaharat

- medicamente (corticosteroizi, antiinflamatoare nesteroidiene)

*Granulocitopatii prin alterarea fagocitozei*

- granulomatoza cronică familială (absenţa capacităţii bactericide a neutrofilelor)

- deficitul de mieloperoxidază

- deficit de G-6-PD

- deficit de piruvatkinază

- deficit de glutationperoxidază

- deficit de fosfatază alcalină leucocitar

*Anomalii structurale ale granulocitelor care nu afectează funcţia lor*

- anomalia Adler- Reilly (granulaţii azurofile mari şi numeroase în neutrofile, eozinofile, bazofile)

- anomalia pseudo Pelger–Huet (lipsa lobulării nucleului granulocitelor)

- anomalia May-Hegglin (incluziuni citoplasmatice mari în granulocite şi monocite)

*Eozinofilia* reprezintă creşterea numărului de eozinofile > 400/mmc fiind întâlnită în:- alergii cutanate, astm bronşic alergic

- parazitoze (helmintiaze, toxoplasma, filaria, malaria, trichinela etc)

- boli autoimune (periarterita nodoasă, sindrom Churg-Strauss,

fasciita cu eozinofile)

- medicamente (antibiotice, antifungice, antiparazitare, antialgice,

anticonvulsivante, citostatice, psihotrope etc)

- hemopatii maligne, cancere solide

- afecţiuni dermatologice (pemfigus, psoriazis, eritem polimorf)

- boli infecţioase (aspergiloză, pneumopatia cronică cu eozinofile)

- afecţiuni digestive: boala Crohn, rectocolita hemoragică

- radiaţii ionizante

- hemodializă

- intoxicaţii cronice

*Eozinopenia* se referă la scăderea numărului de eozinofile < 80/mmc, putând fi întâlnită în:

- stress

- posttraumatic

- după intervenţii chirurgicale

- corticoterapie

- infecţii acute cu neutrofilie

- febră tifoidă.

- expunere la frig

- efort fizic intens

*Bazofilia* reprezintă creşterea numărului de bazofile >100/mmc, fiind prezentă în: - neoplaziile mieloproliferative

- leucemii acute cu t(6;9)

- poliartrita reumatoidă

- postsplenectomie

- urticarie

- colite ulcerative

- hipotiroidism

- cancer bronhopulmonar

- postiradiere.

*Bazopenia* se întâlneşte în:- stări de stress

- corticoterapie, administrarea de progesteron

- infectii acute, inflamaţii

- tireotoxicoză

- hemoragii

- sindrom Cushing

- reacţii alergice

*Monocitoza* reprezintă creşterea numărului de monocite > 1000/mmc fiind prezentă în: - infecţii bacteriene, parazitare, ricketsiene

- neoplazii solide (ovar, sân, melanom, stomac)

- hemopatii maligne (limfom Hodgkin, LMNH, leucemii acute

mielomonocitare sau monocitare, LMMC, LGC, mielom

multiplu, policitemia vera, mielofibroză acută)

- granulomatoze (sarcoidoză, boală Crohn, tuberculoză)

- colagenoze(lupus eritematos sistemic, poliartrită reumatoidă)

- endocardite

- tezaurismoze (boala Gaucher, boala Nieman Pick, histiocitoza cu

histiocite ''albastre ca marea'')

Apare ca urmare a stimulării producţiei medulare de monocite, prin intermediul FSC-M produs de limfocitele T sau macrofage.

*Monocitopenia* reprezintă scăderea numărului de monocite < 100/mmc, fiind întâlnită în aplazia medulară, hairy cell leukemia, boli autoimune, cortico- terapie, chimioterapie.

*Limfocitoza* reprezintă creşterea numărului de limfocite > 4000/mmc, putând fi:

*reactivă* - infecţii acute virale (rubeolă, mononucleoză infecţioasă, limfocitozele

acute infecţioase) şi cronice ( tuberculoză, bruceloză, sifilis, hepatite)

- tireotoxicoză

- rahitism

*malignă* : - leucemie limfocitară cronică

- leucemii acute limfoblastice

- limfoame maligne

*Limfocitopenia* se referă la scăderea numărului de limfocite < 100/mmc, fiind produsă prin: - scăderea producţiei (imunodeficienţe primare sau secundare:

HIV, SIDA; malnutriţie, radiaţii, corticoterapie, citostatice,

boală Hodgkin, boli endocrine).

- distrugeri crescute - prin mecanism imun mediat de anticorpi

antilimfocitari (boli autoimune)

- pierderi limfocitare - rupturi/fistule de canal toracic, insuficienţe

cardiace grave, enteropatii

- modificări tranzitorii în circulaţia limfocitelor - stress

*Plasmocitoza* reprezintă creşterea numărului de plasmocite >20/mmc; poate fi reactivă (boli infecţioase, alergie la penicilină, boala serului) sau malignă (mielom multiplu).

*Modificări structurale ale limfocitelor şi plasmocitelor*

- forme Rieder - limfocite cu incizuri nucleare unice/multiple, întâlnite în tusea convulsivă, postsplenectomie, LLC

- celule de iritaţie Tϋrck- sunt limfocite activate prezente în infecţii virale

- umbrele nucleare Gumprecht - sunt resturi nucleare întâlnite în LLC, semn al fragilităţii celulare

- celule limfoplasmocitare -celule cu nucleu sferoidal, cromatina dispusă radiar, citoplasmă bazofilă, abundentă, prezente în mononucleoza infecţioasă

- celule Mott - sunt plasmocite în citoplasma cărora se acumulează un material glicoproteic sub formă de sferule, cu aspect de mură, prezente în mielom.

*Reacţiile leucemoide* sunt stări caracterizate prin:

- număr crescut de leucocite (în jur de 50.000/mm3)

- tablou sanguin periferic asemănător celui din LGC (cu formula leucocitară desfaşurată până la promielocit) sau LLC.

Cauzele reacţiei leucemoide sunt reprezentate de:

- infecţii severe bacteriene

- infecţii virale

- intoxicaţii (mercur)

- arsuri

- eclampsie

- boli maligne cu metastaze osoase

- mielom multiplu

- hemoragii acute severe

- hemolize acute

**Leucemiile acute**

Sunt proliferări maligne caracterizate prin expansiunea clonală a celulelor imature de linie mieloidă sau limfoidă care şi-au pierdut capacitatea de diferenţiere şi maturare, dar proliferează necontrolat, determinând invadarea măduvei osoase hematogene, insuficienţă medulară şi citopenii periferice care asociază sindrom anemic, infecţios şi hemoragic.

*Clasificarea morfologică (FAB) a leucemiilor acute*

Clasifică leucemiile acute în funcţie de fenotipul celular (aspectul morfologic al celulelor observat în microscopie optică pe frotiul medular şi de sânge periferic) coroborat cu o serie de reacţii citochimice şi citoenzimatice.

*Leucemia acuta limfoblastica (LAL)*

LAL1 microlimfoblastica; proliferare monomorfa cu celule mici

LAL2 macrolimfoblastica; proliferare heterogena cu celule mici si mari

LAL3 celule Burkitt-like

*Leucemia acuta mieloblastica (LAM)*

  LAM0 Citologic neidentificabila

LAM1 Mieloblastica fara diferentiere

LAM2 Mieloblastica cu diferentiere

M2Ba varianta cu bazofilie

LAM3 Promielocitara

M3v varianta hipogranulara

LAM4 Mielomonocitara

M4Eo varianta cu eozinofile

LAM5 Monocitara: a. monoblastica / b. monocitara pura

LAM6 Eritroleucemia

LAM7 Megakarioblastica

***Explorarea leucemiilor acute***

*Explorarea morfologică a sângelui periferic:*

- leucocitoza/leucopenie/nr.normal

- blasti leucemici ; ″hiatusul leucemic″

- anemie severă, normocromă, normocitară

- trombocitopenie variabila

*Examenul frotiului de MOH: blasti > 20%*

- MO hipercelulară /hipocelulară (LAM7)

- seriile celulare normale sunt mult reduse ca urmare a insuficienţei medulare, uneori practic inexistente.

Puncţia biopsie de măduvă osoasă - poate evidenţia infiltraţie blastică insulară; fibroză medulară (LAM7)

*Reacţii citochimice şi citoenzimatice:*

LAM: MPO +, NSB +, esterase nespecifice +(LAM4, LAM5), PAS – (+ in LAM6)

LAL- B : MPO -, NSB -, esterase nespecifice -, PAS +, fosfataza acida -.

LAL-T: MPO-, NSB -, esterase nespecifice -, PAS -. Fosfataza acida +.

*Imunofenotiparea:identificarea antigenelor specifice fiecărui tip de leucemie acută:*

HLA-DR, CD34, CD11, CD13, CD14, CD 17, CD33, CD 68, CD41 (LAM)

CD10, CD19, CD20, CD22 (LAL- B)

CD2, CD3, CD5, CD7 (LAL-T)

*Examenul cariotipului -* anomalii structurale sau numerice

*Studii de biologie moleculară:* PCR folosită pentru detectarea bolii minime reziduale.

*Modificări bio-umorale:*

- hiperuricemie;

- creşterea VSH-ului;

- creşterea lizozimului seric în proliferările monocitare;

- creşterea LDH-ului ;

- creşterea metabolismului bazal;

- studiul hemostazei

- studiul funcţiei renale

- studiul functiei hepatice.

***Reacţii citochimice şi citoenzimatice utilizate în diagnosticul leucemiilor***

***Reacţia mieloperoxidazei (MPO)***

Mieloperoxidaza este o enzimă prezentă în granulaţiile azurofile ale granulocitelor, monocitelor şi granulaţiile specifice ale eozinofilelor.

Peroxidazele celulare descompun apa oxigenată şi eliberează oxigenul, care oxidează benzidina şi generează un compus galben-verzui-brun în citoplasma celulelor peroxidazo-pozitive.

Reacţia se utilizează pentru diferenţierea leucemiei acute mieloblastice de leucemia acută limfoblastică, evidenţierea corpilor Auer.

Frotiul se examinează la microscop, după fixare şi colorare, granulaţiile peroxidazo-pozitive apărând de culoare galben-verzui-brun şi nucleii de culoare violet.

***Reacţia esterazelor nespecifice***

Esterazele sunt enzime care hidrolizează esteri alifatici şi aromatici, utile pentru diferenţierea celulelor seriei granulocitare de celulele seriei monocitare. Naphtol AS-D cloracetat esteraza se găseşte în celulele seriei granulocitare şi în cantitate redusă sau absentă în celulele seriei monocitare.

Alfa-naftil acetatul este hidrolizat de esteraze în alfa-naftol, care în contact cu o sare de diazoniu formează un compus roşu-brun, insolubil în apă.

Reacţia este utilizată pentru diagnosticul leucemiilor acute care au componentă monocitară (LAM4, LAM5).

Alfa-naftil-acetat esteraza (ANAE) se evidenţiază în monocite prin prezenţa unui compus roşu-brun, difuz. În celulele T şi megacarioblaşti aspectul este focal în regiunea Golgi/paranuclear. NaF inhibă activitatea enzimei în celulele monocitare, iar în restul celulelor persistă.

***Reacţia PAS (periodic acid Schiff)***

Reacţia evidenţiază glicogenul citoplasmatic, fiind utilizată pentru diagnosticul LAL1, LAL2, SMD, LAM6, LAM7, diferenţierea celulelor Gaucher şi a histiocitelor ''albastre ca marea'' de alte macrofage.

Acidul periodic oxidează grupările 1-2 glicol ale substratului până la stadiul de aldehidă, grupările aldehidice fiind evidenţiate printr-o reacţie de culoare purpurie cu ajutorul reactivului Schiff.

Glicogenul colorat roşu-purpuriu se evidenţiază difuz (granulocitele) sau sub formă de granule (LAL, LLC):

1+ granule roşii rare, mici sau medii

2+ granule în număr moderat, mici sau medii

3+ granule roşii dispuse în inel sau grămezi în citoplasmă, uneori acoperind nucleul.

***Reacţia cu negru Sudan B***

Permite evidenţierea lipidelor, soluţia de negru Sudan B prezentând afinitate pentru substanţele grase, pe care le colorează în maro-închis până la negru. Granulocitele neutrofile şi eozinofile prezintă o reacţie intens pozitivă, în timp ce monocitele au o reacţie slab pozitivă, iar limfocitele una negativă.