

Trombocitemia esențială (2)

Investigațiile de laborator utile pentru diagnosticul de TE sunt: hemograma completă cu examinarea microscopică a frotiului de sânge, teste de coagulare, teste de agregabilitate trombocitară, examenul histologic al măduvei osoase și teste moleculare pentru punerea în evidență a mutațiilor JAK2V617F, CALR și MPL.

Modificările constanțelor hematologice ale sângelui periferic constau din număr crescut de trombocite, peste $450 \times 10^9/L$ (timp de >3 luni), creșterea înconstanță a

Testele de coagulare de triaj (timpul de protrombină și timpul de tromboplastină parțial) sunt în limite normale, dar efectuarea lor este indicată în practica curentă deoarece permit diferențierea de alte cauze sistemice de sângerare, timpul de sângerare este normal, uneori ușor prelungit. Recent s-a constatat că testul de generare a trombinei (care este complet automatizat) și tromboelastograma pot pune în evidență riscul crescut de tromboză la pacienții cu TE, de exemplu, înaintea unei intervenții

corect de TE la 85%–90% din pacienți și este considerată astăzi o investigație deosebit de utilă pentru diagnosticul acestei boli. Mutația JAK2V617F se întâlnește la 50%–60% din pacienți și este sub formă heterozigotă, mutația CALR la 25% (la 70% din pacienții cu TE cu mutația JAK2-negativă) și mutația MPL la 4% dintre aceștia, mutațiile excluzându-se mutual, în sensul că prezența uneia exclude prezența celorlalte. Determinarea cantitativă a mutației JAK2 poate fi utilă în practica în unele situații pentru diferențierea de PV, având doar valoare orientativă (valori <50% se întâlnesc cu precădere în TE). Evidențierea uneia din mutațiile driver în serul unui pacient face inutilă căutarea prezenței celorlalte și invers. Aproximativ 10%–20% din pacienții cu TE diagnosticați ca atare conform criteriilor OMS sunt „triplic negativ”, adică toate cele trei mutații sunt absente. Rezultă că, în fața unui pacient cu număr crescut de trombocite, determinarea celor trei biomarkeri permite un diagnostic corect de TE la 85%–90% din cazuri. Totuși, cu toată valoarea pentru diagnosticul de TE a prezenței uneia din cele trei mutații, diagnosticul se poate stabili și în lipsa lor (fie sunt absente, fie imposibil de testat) pe

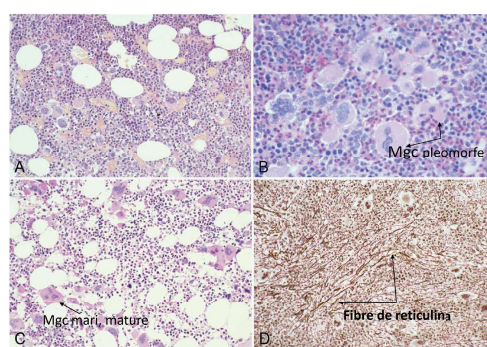


Fig. 9 - Aspectul histologic al măduvei osoase în TE comparativ cu mPV. În mPV se constată: A. celularitate crescută prin proliferarea celulei liniei hematopoietice (panmieloză); B. variabilitate evidentă a dimensiunilor megacariocitelor (pleomorfism); în TE se constată: C. celularitate normală și o proliferare limitată la megacariocite. Pleomorfismul megacariocitelor este mult mai redus, predominant megacariocite mature marcate hiperlobulate; D. în cea 10% din cazurile de mPV se observă o ușoară îngroșare a fibrelor reticuline. Reprodus din: Kvasnicka H.M. et al., 2017

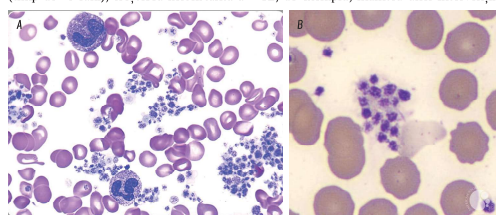


Fig. 6 - A. Numeroase trombocite anizocitare dispuse predominant în grupuri mari și plaje (frotiu din sânge periferic). B. Grup de trombocite normale numeric aglutinate (clotting). Reprodus din ImageBank (ASH).

numărului de leucocite, înconstanță anemie ușoară, prezența pe frotiu de grupuri mari, agregate până la plaje de trombocite moderat anizocitare (fig. 6). Uneori, numărul real al trombocitelor este evaluat eronat mai redus de către analizorul automat, datorită aglutinării (clumping) acestora, favorizată și de activarea prin contact în una traumatică venopuncției și a prezenței anticoagulantului EDTA, care va fi înlocuit la repetarea numărării cu citratul de sodiu. În plus, evaluarea aproximativă a numărului de trombocite pe frotiul de sânge este o practică obișnuită în laboratorul de hematologie specializat. Examenul hematologic al sângelui periferic este util pentru practică, de exemplu, în cazul situațiilor cu fier scăzut în organism (microciteză, VEM scăzut) la care este necesară diferențierea TE de trombocitoze secundare post-sângerare cronică sau de o PV mascată de deficitul de fier.

Examinarea măduvei osoase arată o densitate a celulei măduvei medulare normală sau ușor crescută la 90% din pacienți, hiperplazie în principal a liniei megacariocitare cu megacariocite mari, uneori gigante, cu citoplasma abundentă, nucleu

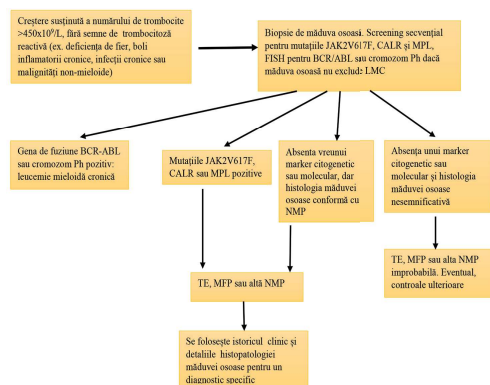


Fig. 8 - Algoritm de diagnostic în TE. Reprodus din: Nordic care program for patients with Essential Thrombocythemia, Polycythemia Vera and Primary Myelofibrosis, 4th version, 2017

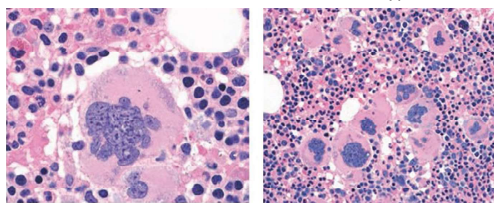


Fig. 7 - Aspectul proliferării megacariocitelor în TE (descriere în text). Reprodus din Michiels, 2014

hiperlobulat (aspect de staghorn – coarne de cerb), aglomerate în grupuri laxe (fig. 7), hemosiderin, de regulă, în limite normale. Precursorii granulocitari și eritrociti sunt normal reprezentați, rareori moderat crescuți, reticulina poate apărea ușor îngroșată fără să depășească gradul 1. În TE, biopsia de măduvă osoasă se recomandă pentru diagnostic, ori de câte ori este posibil, pentru a permite diferențierea de cele cazuri de MFP care se pot manifesta inițial cu trombocitoză izolată, dar și de mPV (vezi și „Viața Medicală” nr. 28/13.07.2018). Aportul imunohistochimic este redus. Examenul citogenetic nu constituie o investigație utilă pentru diagnostic, fiind rezervat pentru acele situații în care există suspiciunea progresiei spre LAM.

chirurgicale. Testele de agregare trombocitară sunt perturbate, deosebi cele la adrenalină, ADP și colagen, cele la ristocetină și acid arahidonic fiind în limite normale. Nivelurile în ser ale acidului uric și ale vitaminei B12 pot fi crescute (la 25% din pacienți), dar aceasta nu constituie o caracteristică a bolii, ca de altfel nici creșterea în ser a fosfatazei alcaline serice și/sau a lactatdehidrogenazei. Pseudohiperpotasemia a fost însă descrisă frecvent în TE cu un număr mai mare de trombocite, ea fiind cauzată de eliberarea potasiului din trombocite în cursul coagularii și a retracției cheagului în containerul de recoltare. Evidențierea mutațiilor driver din TE se face în sângele periferic prin tehnici de biologie moleculară, permite un diagnostic

baza datelor clinice, hematologice și histopatologice.

Investigarea imagistică este utilă atât la diagnostic, cât și pe parcursul bolii, doar pentru a evalua mai precisă dimensiunile splinei (ecografie abdominală) și pentru decelarea și urmărirea evoluției unor tromboze profunde (ecografie Doppler, tomografie computerizată, angiogramă). Un algoritm de diagnostic al TE este prezentat în fig. 8.

Diagnostic diferențial

Trombocitoza este întâlnită relativ frecvent în practica medicală generală, reprezentând în majoritatea cazurilor un proces reactiv. Cauzele mai frecvente ale trombocitozei reactive sunt: infecțiile, neoplazii maligne, inflamația cronică, hemoliza, sângerări acute și cronice, leziuni tisulare.

În practica curentă, una dintre sursele adeseori întâlnite este o sângerare (în general, abundentă), urmată imediat de o trombocitoză reactivă (necesită proba timpului) sau, mai rar, a unui pacient cu TE ignorată și care sângerează abundent și la care poate fi necesară reducerea rapidă a numărului de trombocite în scop terapeu-

tic. Trombocitoza congenitală este foarte rară și se asociază cu mutații activatoare ale genelor pentru Tpo sau pentru receptorul acestuia (Mpl). Dificultatea diagnosticului diferențial este însă mai accentuată în cazul altor NMP Ph (-) asociate cu trombocitoza. Importanța diferențierii este doar pentru prognostic, atitudinea terapeutică actuală fiind aceeași.

Diferențierea de PV poate fi dificilă atunci când valorile hemoglobinei și ale hematocritului sunt între cele două limite inferioare ale normalului, limite stabilite de ultimele două clasificări OMS din 2016 și din 2008 (vezi și „Viața Medicală” nr. 28/13.07.2018), între 16,5 și 18,5 g/dL și între 49% și 52% pentru bărbați și respectiv între 16 și 16,5 g/dL și între 48% și 49,5% pentru femei și se asociază o trombocitoză peste valorile prevăzute de clasificarea OMS din 2016 ($>450 \times 10^9/L$), iar valorile eritropoietinei serice sunt concluzive.

Aceste cazuri au fost etichetate „PV mascată” (mPV), denumire care este însă în curs de dispariție odată cu implementarea pe scară largă a ultimei clasificări, în urma căreia toate cazurile ce îndeplinesc criteriile sunt considerate PV constituie. În aceste situații, dacă testarea moleculară nu este concludentă, examinarea histopatologică, efectuată de un hematopatolog experimentat și instruit pentru acest domeniu, devine absolut necesară. O ilustrare a aspectului măduvei osoase în TE și în mPV este făcută în fig. 9. Diferențierea TE de mPV este utilă în practica curentă pentru evidențierea acelor cazuri de PV care mimează TE, dar au o durată de viață mai scurtă, un risc mai mare pentru tromboze și pentru evoluție accelerată spre mielofibroză.

Diferențierea de MFP în stadiul incipient sau pre-MFP este, de asemenea, utilă deoarece aceasta din urmă are o rată de progresie spre MFP constituită și LAM semnificativ mai mare și mai rapidă și, implicit, o durată de viață semnificativ mai redusă comparativ cu TE. Ea se face în principal cu ajutorul aspectului histopatologic (fig. 10), utilizându-se în această privință criteriile recomandate de clasificarea OMS a bolilor mieloproliferative revizuită în 2016 (tabelul 2). Spre deosebire de aspectul histopatologic al măduvei osoase din TE, cel din MFP în stadiul prefibrotic constă din

Ei se face în prezent pe baza unei scheme de clasificare a OMS, revizuită încontinuu (ultima dată în 2016). S-a constatat însă că aplicabilitatea practică a acesteia este destul de dificilă, ea generând discrepanțe deloc neglijabile chiar între diagnostice stabilite de patologi reputați. Astfel, până la descoperirea unor markeri moleculari mai extinși și valabili acuratețe pentru diagnostic, practicienii trebuie să fie conștienți de această reproducibilitate limitată a diagnosticului histopatologic.

Evoluție și complicații

Durata de viață a pacienților cu TE în SUA s-a dovedit a fi în medie de 19,8 ani (de 32,7 ani pentru cei <60 de ani), fiind superioră celor cu PV (15,5 ani și respectiv 23,8 ani), dar inferioară populației generale comparabile ca vârstă și sex. Pacienții cu TE

Tabelul 2. Criteriile OMS pentru diagnosticul de preMFP (Reprodus din: Arber D.A. et al., 2016)

Criterii majore
1. Proliferare a megacariocitelor și atipii ale acestora, fără fibroză reticulică gradul 1, însoțită de densitate celulară medulară (ajustată conform vârstei) crescută, proliferare granulocitară, adesea eritropoieză scăzută.
2. Absența îndeplinirii criteriilor OMS pentru diagnosticul de LMC, PV, TE, sindrom mielodisplazic sau alte neoplazii mieloid.
3. Prezența mutațiilor JAK2, CALR sau MPL sau, în absența acestora, prezența unui alt marker clonal ori absența fibrozei reticulice minore (s gradul 1) reactive
Criterii minore
Prezența a cel puțin unui element din următoarele, confirmate în două determinări consecutive:
a. Anemie neutrărită unei stări corimorbe
b. Leucocitoză $>11 \times 10^9/L$
c. Splenomegalie palpabilă
d. LDH crescut peste limita superioară de referință
Diagnosticul de preMFP necesită îndeplinirea tuturor celor trei criterii majore și a cel puțin unui criteriu minor

*Mutații variate, menționate în text.

„triplic negativ” au durată de viață cea mai lungă, similară cu cea a indivizilor sănătoși din loturile martor, cei cu mutația JAK2 și

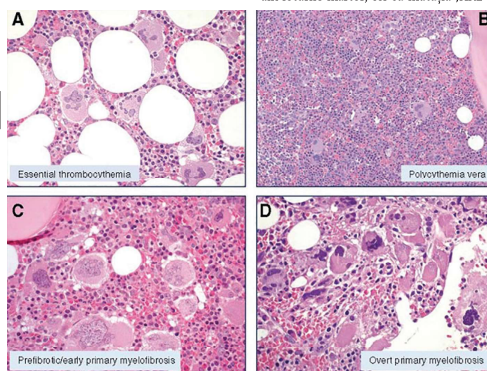


Fig. 10 - Diagnosticul diferențial histologic al TE. A. TE: măduva normocelulară cu proliferare de Mgc mari/gigante cu nuclei hiperlobulați, dispuse separat sau în grupuri. B. PV: măduva hiperplazică cu proliferare eritroidă și Mgc pleomorfă diseminată. C. MFP în stadiul prefibrotic/timpuriu: măduva osoasă hiperplazică cu proliferare granulocitară și Mgc mari cu nuclei bulboși atipici. D. MFP constituită: măduva hiperplazică cu proliferare de Mgc atipice în grupuri dense și vase dilatate cu hematoipoieză intraluminală. Reprodus din: Rumi T., Cazzola M., 2017

Mgc aglomerate în grupuri strânse, nuclei sub hipercomatici și prezintă lobulație neregulată, cu raport nucleu-citoplasmic aberant, hiperplazie granulocitară și eritropoieză scăzută, dar fibroza reticulică este minoră.

Rezultă că hiperplazia Mgc caracterizează toate NMP Ph (-), dar morfologia variază, fie că Mgc sunt marcat pleomorfe și formează grupuri laxe ca în PV, fie că sunt mari, mature și în grupuri mari ca în TE sau sunt intens pleomorfe cu nuclei mari hiperlobulați și dispuse în câmpuri predominant parabrachiale ca în MFP.

Rezultă că diagnosticul diferențial histopatologic ocupă un rol-cheie în delimitarea diverselor entități ale NMP Ph (-).

Dr. Petru-Emil MUNTEAN

Bibliografie
1. Petru-Emil Muntean, Daniela Boleanu, Răzvanuș Rucanuș Miroș, referent științific prof. dr. Florin Mihăilescu. Vademecum de spirometrie. Editura Etna; București 2017. ISBN 978-975-1985-15-2

Spirometria – testul pentru bronhodilatație și bronhoconstricție

Testul de bronhodilatație se efectuează în urma unei spirometrii simple ce relevă o disfuncție respiratorie obstructivă. Se indică testul de bronhodilatație imediat după un test pozitiv de provocare bronșică și în cazul monitorizării tratamentului bronhodilatator din astmul bronșic. Acest test este contraindicat în situațiile în care pacientul prezintă: tulburări de ritm cardiac, palpitații, dereglări hormonale tiroidiene, hipertensiune severă necontrolată, glaucom, hiperplazie benignă de prostată sau diabet zaharat necontrolat.

Înainte de proba de bronhodilatație, nu se vor administra: β_2 agonști cu acțiune de durată scurtă (SABA) înainte cu cel puțin 2–4 ore, antagoniști muscarinici cu durată de acțiune scurtă (SAMA) înainte cu cel puțin 4–6 ore, β_2 agonști cu acțiune de durată lungă (LABA) înainte cu cel puțin 12–24 ore, antagoniști muscarinici cu durată lungă de acțiune (LAMA) înainte cu cel puțin 24–36 ore sau teofilină înainte cu cel puțin 12 ore.

La proba de bronhodilatație se face o spirometrie inițială, apoi se utilizează 2–4 pufuri de Ventolin (100 mcg) prin intermediul unui spacer și se așteaptă un interval de 20–30 de minute pentru a se produce bronhodilatația, după care se reia explorarea respiratorie. Reversibilitatea bronșică reprezintă creșterea cu minimum 12% sau 200 ml a VEMS (volum expirator maxim pe secundă sau FEV1) după administrarea

unui bronhodilatator cu acțiune rapidă (Ventolin).

În situația în care dorim să obținem un bronhospasm prin contracția mușchilor neted bronșici, evidențiable pe rezultatul spirometriei, se poate efectua un test de provocare bronșică prin: administrarea unei doze standard de histamină (sau metacolină în doze crescătoare de aerosoli până la doza maximă admisă), inhalarea vaporilor ce conțin manitol, inhalarea vaporilor de soluție salină, efectuarea câtorva exerciții fizice intense sau efectuarea câtorva respirații accelerate, repetând apoi spirometria.

În cazul în care FEV1 se reduce (în comparație cu valoarea sa înainte de testul de provocare) cu mai mult de 20% după administrarea de metacolină sau cu mai mult de 15% după inhalarea vaporilor cu manitol/soluție salină sau după respirația accelerată ori mai mult de 10% – 200 ml – după efort fizic (în cazul adulților), investigatorul poate conchizi că pacientul are hiperreactivitate bronșică, ceea ce este caracteristic astmului bronșic. În același timp, dacă indicele FEV1 nu se va reduce după proba de provocare bronșică, probabilitatea diagnosticului de astm va scădea drastic. Dacă valorile sunt în limite normale, iar la momentul examinării persoana are simptome caracteristice (tuse sau dispnee), probabilitatea ca acestea să fie asociate cu astmul bronșic scade semnificativ. În această situ-

ție, doctorul va trebui să indice efectuarea unor investigații suplimentare pentru a exclude alte boli care pot provoca aceste simptome.

Rezultatul testului se face pe o hârtie termosensibilă, aparatul imprimă cele mai mari valori obținute ale capacității vitale forțate (CVF) și VEMS, chiar dacă aceste valori nu provin de la aceeași manevră expiratorie, identificăte ca Best CVF (cea mai bună CVF) și Best FEV1 (cel mai bun VEMS). Pentru a putea valida curba flux/volum este necesar să fie îndeplinite anumite condiții: A) curba să înceapă din punctul zero; B) curba inspiratorie continuă să revină în punctul zero; C) expirul să dureze minimum șase secunde; D) fără tuse în prima secundă a expirului maximal și forțat; E) graficul curbei în porțiunea expiratorie să fie cât mai aproape de verticală în porțiunea inițială și să atingă un vârf, ca apoi să continue fără înclinări; F) fără tuse în timpul manevrei de expir forțat; o tuse care în accepțiunea investigatorului poate interfera cu acuratețea determinărilor parametrilor respiratori; G) să nu includă premarul glota; H) să se obțină un platou în porțiunea terminală a expirului; I) se va evita terminarea bruscă a expirului.

Dr. Petru-Emil MUNTEAN

Bibliografie
1. Petru-Emil Muntean, Daniela Boleanu, Răzvanuș Rucanuș Miroș, referent științific prof. dr. Florin Mihăilescu. Vademecum de spirometrie. Editura Etna; București 2017. ISBN 978-975-1985-15-2