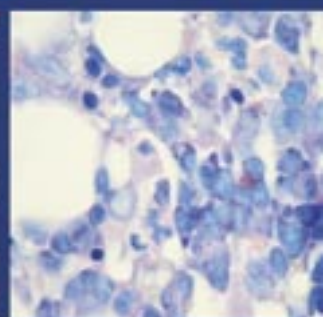
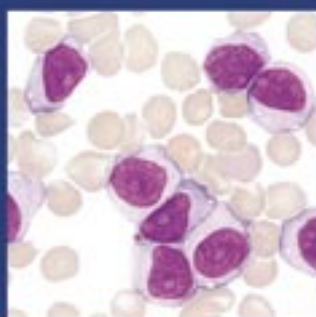
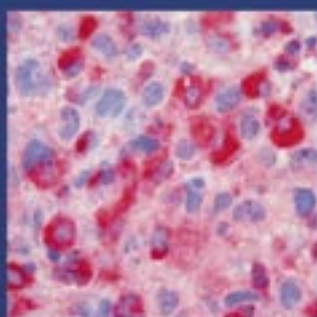


Hematoonkologický **ATLAS** krve a kostní dřeně



Petra Kačírková
Vít Campr

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude **trestně stíháno**.

Používání elektronické verze knihy je umožněno jen osobě, která ji legálně nabyla a jen pro její osobní a vnitřní potřeby v rozsahu stanoveném autorským zákonem. Elektronická kniha je datový soubor, který lze užívat pouze v takové formě, v jaké jej lze stáhnout s portálu. Jakékoliv neoprávněné užití elektronické knihy nebo její části, spočívající např. v kopírování, úpravách, prodeji, pronajímání, půjčování, sdělování veřejnosti nebo jakémkoliv druhu obchodování nebo neobchodního šíření je zakázáno! Zejména je zakázána jakákoliv konverze datového souboru nebo extrakce části nebo celého textu, umísťování textu na servery, ze kterých je možno tento soubor dále stahovat, přitom není rozhodující, kdo takovéto sdílení umožnil. Je zakázáno sdělování údajů o uživatelském účtu jiným osobám, zasahování do technických prostředků, které chrání elektronickou knihu, případně omezují rozsah jejího užití. Uživatel také není oprávněn jakkoliv testovat, zkoušet či obcházet technické zabezpečení elektronické knihy.



Copyright © Grada Publishing, a.s.



Copyright © Grada Publishing, a.s.

HEMATOONKOLOGICKÝ ATLAS KRVÉ A KOSTNÍ DŘENĚ

Hlavní autoři:

MUDr. Petra Kačírková

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Pořadatelka díla, autorka textů týkajících se cytologie a genetiky, autorka cytologických fotografií

MUDr. Vít Campr

Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha

Autor textů týkajících se histologie a genetiky, autor histologických fotografií

Spoluautoři:

MUDr. Josef Karban, CSc.

1. interní klinika 1. LF UK a VFN, Centrální hematologická laboratoř VFN, Praha

Autor textů týkajících se průtokové cytometrie

MUDr. Dana Mikulenková

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Spoluautorka textů týkajících se cytologie

Recenzenti:

MUDr. Alena Buliková, Ph.D.

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

Prof. MUDr. Lukáš Plank, CSc.

Kniha vychází se spoluúčastí a podporou Ústavu hematologie a krevní transfuze.

Autoři i nakladatelství děkují firmám DAKO Czech Republic, s.r.o.,

Olympus C&S spol. s r. o. a Pfizer, spol. s r. o.

za podporu, která umožnila vydání této knihy.



© Grada Publishing, a.s., 2007

Ilustrace, není-li uvedeno jinak, z archivu autorů.

Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2007

Fotografie na obálku dodali autoři.

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 3095. publikaci

Odpovědná redaktorka Mgr. Jitka Straková

Sazba a zlom Antonín Plicka

Počet stran 304

1. vydání, Praha 2007

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a. s.

Husova ulice 1881, Havlíčkův Brod

Názvy produktů, firem apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v této knize jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění ale nevyplývají pro autory ani pro nakladatelství žádné právní důsledky.

Všechna práva vyhrazena. Tato kniha ani její část nesmějí být žádným způsobem reprodukovány, ukládány či rozšiřovány bez písemného souhlasu nakladatelství.

ISBN 978-80-247-1853-8 (tištěná verze)

ISBN 978-80-247-6775-8 (elektronická verze ve formátu PDF)

© Grada Publishing, a.s. 2011

Obsah

Přehled použitých zkratk	VII
Předmluvy recenzentů	XI
Úvod	XIII
1 Chronická myeloproliferativní onemocnění	1
1.1 Chronická myeloidní leukemie	1
1.2 Chronická neutrofilní leukemie	3
1.3 Chronická eozinofilní leukemie a hypereozinofilní syndrom	3
1.4 Polycythaemia vera	5
1.5 Chronická idiopatická myelofibróza	6
1.6 Esenciální trombocytémie	8
1.7 Chronické myeloproliferativní onemocnění neklasifikovatelné	8
2 Myelodysplasticko-myeloproliferativní onemocnění	41
2.1 Chronická myelomonocytární leukemie	41
2.2 Atypická chronická myeloidní leukemie	42
2.3 Juvenilní myelomonocytární leukemie	43
2.4 Myelodysplasticko-myeloproliferativní onemocnění neklasifikovatelné	43
3 Myelodysplastický syndrom	55
3.1 Refrakterní anémie	60
3.2 Refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty ...	61
3.3 Refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií ...	61
3.4 Refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií a s prstenčitými sideroblasty	61
3.5 Refrakterní anémie s excesem blastů	61
3.6 Myelodysplastický syndrom asociovaný s izolovanou del(5q)	62
3.7 Myelodysplastický syndrom neklasifikovatelný ...	62
4 Akutní myeloidní leukemie	89
4.1 Akutní myeloidní leukemie s rekurentními genetickými abnormalitami	93
4.2 Akutní myeloidní leukemie s multilineární dysplazií	95
4.3 Postterapeutické akutní myeloidní leukemie a myelodysplastické syndromy	95
4.4 Akutní myeloidní leukemie jinak nekategorizované	96
5 Akutní leukemie obtížně klasifikovatelné linie	147
5.1 Nediferencovaná akutní leukemie	147
5.2 Bilineární akutní leukemie	147
5.3 Bifenotypová akutní leukemie	147
6 Malignity z prekurzorových B- a T-buněk	155
6.1 Prekurzorová B-lymfoblastická leukemie/ lymfoblastický lymfom	156
6.2 Prekurzorová T-lymfoblastická leukemie/ lymfoblastický lymfom	158
7 Malignity ze zralých B-buněk	167
7.1 Chronická lymfatická leukemie/lymfom z malých lymfocytů	169
7.2 B-prolymfocytární leukemie	170
7.3 Lymfoplazmocytární lymfom/Waldenströмова makroglobulinémie	171
7.4 Splenický lymfom z B-buněk marginální zóny ...	171
7.5 Leukemie z vlasatých buněk	172
7.6 Malignity z plazmatických buněk	173
7.7 Extranodální lymfom z B-buněk marginální zóny ze slizniční lymfatické tkáně	176
7.8 Nodální lymfom z B-buněk marginální zóny	176
7.9 Folikulární lymfom	176
7.10 Lymfom z plášťových buněk	177
7.11 Difuzní velkobuněčný B-lymfom	178
7.12 Mediastinální velkobuněčný B-lymfom	179
7.13 Intravaskulární velkobuněčný B-lymfom	179
7.14 Primární exsudativní lymfom	179
7.15 Burkittův lymfom/leukemie	179
7.16 Lymfomatoidní granulomatóza	179
8 Malignity ze zralých T- a NK-buněk	217
8.1 T-prolymfocytární leukemie	217
8.2 Leukemie z velkých granulárních T-lymfocytů ...	218
8.3 Agresivní leukemie z NK-buněk	218
8.4 Leukemie/lymfom z T-buněk dospělých (HTLV-1 pozitivní)	219
8.5 Extranodální lymfom z NK/T-buněk nazálního typu	219
8.6 Intestinální lymfom z T-buněk, enteropatický typ	219
8.7 Hepatosplenický T-lymfom	219
8.8 Panikulitický podkožní T-lymfom	220

8.9 Blastický lymfom z NK-buněk	220	11 Malignity z histiocyťů a dendritických buněk	241
8.10 Mycosis fungoides a Sézaryho syndrom	220	11.1 Histiocytární sarkom	241
8.11 Primární kožní CD30 pozitivní T-lymfoproliferativní onemocnění	220	11.2 Histiocytóza z Langerhansových buněk	241
8.12 Angioimunoblastický T-lymfom	220	11.3 Sarkomy/nádory z dendritických buněk	242
8.13 Periferní T-lymfom nespecifikovaný	221	11.4 Akutní leukemie z dendritických buněk	242
8.14 Anaplastický velkobuněčný lymfom	221	12 Mastocytózy	245
9 Hodgkinův lymfom	233	12.1 Systémová mastocytóza	245
9.1 Klasický Hodgkinův lymfom	233	12.2 Mastocytární leukemie	246
9.2 Nodulární Hodgkinův lymfom s predominací lymfocytů	234	13 Metastatické postižení kostní dřeně	251
10 Lymfoproliferativní onemocnění spojená s imunodeficity	237	Apendix I	
10.1 Lymfoproliferativní onemocnění spojená s primárními onemocněními imunity	237	Metodické poznámky	265
10.2 Lymfomy spojené s infekcí virem HIV	237	Apendix II	
10.3 Potransplantační lymfoproliferativní onemocnění	237	Přehled WHO klasifikace nádorů hematopoetické a lymfatické tkáně	269
10.4 Lymfoproliferativní onemocnění spojená s léčbou metotrexatem	237	Literatura	273
		Rejstřík	279

Přehled použitých zkratk

AB	alciánová modř (alcian blue)
ABL	akutní bazofilní leukemie
aCML	atypická chronická myeloidní leukemie
AcP	kyselá fosfatáza (acid phosphatase)
AEL	akutní eozinofilní leukemie
AILT	angioimunoblastický T-lymfom (angioimmunoblastic T-cell lymphoma)
ALCL	anaplastický velkobuněčný lyfom (anaplastic large cell lymphoma)
ALIP	abnormální lokalizace nezralých prekurzorů (abnormal localization of immature precursors)
ALL	akutní lymfoblastická leukemie
AML	akutní myeloidní leukemie
AML-MLD	akutní myeloidní leukemie s multilineární dysplazií
ANAE	α -naftyl-acetát-esteráza
ANBE	α -naftyl-butyrtát-esteráza
AP	akcelerovaná fáze (accelerated phase)
APL	akutní promyelocytární leukemie
APMF	akutní panmyelóza s myelofibrózou
ATLL	leukemie/lymfom z T-buněk dospělých (adult T-cell leukaemia/lymphoma)
ATRA	all- <i>trans</i> -retinová kyselina (all- <i>trans</i> -retinoic acid)
BP	blastická fáze (blast phase)
CAE	naftol-AS-D-chloroacetát-esteráza
CALLA	common acute lymphoblastic leukaemia antigen
CD	cluster of differentiation
CEL	chronická eozinofilní leukemie
cHL	klasický Hodgkinův lyfom (classical Hodgkin lymphoma)
CIMF	chronická idiopatická myelofibróza
CLL	chronická lymfatická leukemie
CLL/PL	chronická lymfatická leukemie/prolymfocytární leukemie
CML	chronická myeloidní leukemie
CMML	chronická myelomonocytární leukemie
CMPD	chronická myeloproliferativní onemocnění (chronic myeloproliferative diseases)
CNL	chronická neutrofilní leukemie
CNS	centrální nervový systém
CP	chronická fáze (chronic phase)
cy	cytoplazmatický
DLBCL	difuzní velkobuněčný B-lymfom (diffuse large B-cell lymphoma)
DNA	kyselina deoxyribonukleová (deoxyribonucleic acid)
DS	Downův syndrom
EBV	virus Epsteina-Barrové
ECP	Evropská klinická a patologická (kritéria) (European Clinical and Pathological)
EDTA	etylen-diamino-tetraacetát
EGIL	Evropská skupina pro imunologickou klasifikaci leukemií (European Group for the Immunological Classification of Leukemias)

EMA	epitelový membránový antigen
EMS	8(eight)p11 myeloproliferativní syndrom
EORTC	Evropská organizace pro výzkum a léčení nádorů (European Organization for Research and Treatment of Cancer)
ET	esenciální trombocytémie
FAB	francouzsko-americko-britská (klasifikace)
FCM	průtoková cytometrie (flow cytometry)
FISH	fluorescenční in situ hybridizace
FL	folikulární lymfom
FSC	forward scatter
G-E, G/E	granulocyto-erytroidní
GPA	glykoforin A (glykophorin A)
HCD	nemoc těžkých řetězců (heavy chain disease)
HCL	leukemie z vlasatých buněk (hairy cell leukaemia)
HES	hypereozinofilní syndrom
HIV	virus lidského imunodeficitu (human immunodeficiency virus)
HL	Hodgkinův lymfom
HLA	lidský leukocytární antigen (human leukocyte antigen)
H-RS	buňka Hodgkinova/Reedové-Sternbergova
HTLV-1	virus lidské T-leukemie 1 (human T-cell leukaemia virus 1)
Ig	imunoglobulin
IgH	těžký řetězec imunoglobulinů (heavy chain immunoglobulin)
IgL	lehký řetězec imunoglobulinů (light chain immunoglobulin)
IPSS	Mezinárodní prognostický skórovací systém (International Prognostic Scoring System)
ITD	interní tandemová duplikace
JMML	juvenilní myelomonocytární leukemie
KD	kostní dřev
L&H	lymfoidně histiocytární (buňka)
LBL	lymfoblastický lymfom
LGL	velký granulární lymfocyt (large granular lymphocyte)
LGLL	leukemie z velkých granulárních lymfocytů
LCH	histiocytóza z Langerhansových buněk (Langerhans cell histiocytosis)
LPL	lymfoplazmocytární lymfom
LYG	lymfomatoidní granulomatóza
MALT	slizniční lymfatická tkáň (mucosa-associated lymphoid tissue)
MCL	lymfom z buněk pláště (mantle cell lymphoma)
MDS	myelodysplastický syndrom
MDS/MPD	myelodysplasticko-myeloproliferativní onemocnění (myelodysplastic/myeloproliferative diseases)
MDS-f	myelodysplastický syndrom s fibrotizací
MF	myelofibróza
M-FISH	mnohobarevná fluorescenční in situ hybridizace
MGG	May-Grünwald a Giemsa (barvení)
MGUS	monoklonální gamapatie nejasného významu (monoclonal gammopathy of undetermined significance)
MIC	morfologická-imunologická-cytogenetická (klasifikace)
MIC-M	morfologická-imunologická-cytogenetická a molekulárně genetická (klasifikace)
ML	maligní lymfom
MLBCL	mediastinální velkobuněčný B-lymfom (mediastinal large B-cell lymphoma)
MPO	myeloperoxidáza
MyF	mycosis fungoides
MZL	lymfom z B-buněk marginální zóny (marginal zone B-cell lymphoma)
N/C	nukleo-cytoplazmatický
NAP	neutrofilní alkalická fosfatáza
NC	jaderná buňka (nucleated cell)
NEC	non-erytroidní buňka (non-erythroid cell)

NK	přírozený zabíječ (natural killer)
NLPHL	nodulární Hodgkinův lymfom s predominancí lymfocytů (nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma)
NMZL	nodální lymfom z B-buněk marginální zóny (nodal marginal zone B-cell lymphoma)
NSE	nespecifická esteráza
PAS	kyselina jodistá a Schiffovo reagens (periodic acid Schiff's reagents)
PCL	plazmocytární leukemie
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
PDW	šíře distribuční křivky objemu trombocytů (platelet distribution width)
PEL	primární exsudativní lymfom (primary effusion lymphoma)
Ph	Philadelphia chromozom
PK	periferní krev
PLL	prolymfocytární leukemie
PNH	paroxysmální noční hemoglobinurie
PSA	prostatický specifický antigen
PTCL	periferní T-lymfom (peripheral T-cell lymphoma)
PTLD	potransplantační lymfoproliferativní onemocnění (post-transplant lymphoproliferative disorders)
PV	polycythaemia vera
PVSG	studijní skupina pro polycythaemia vera (Polycythaemia Vera Study Group)
RA	refrakterní anemie
RAEB	refrakterní anemie s excesem blastů
RAEB-T	refrakterní anemie s excesem blastů v transformaci
RARS	refrakterní anemie s prstenčitými sideroblasty (refractory anaemia with ringed sideroblasts)
RCM	celková erytrocytární masa (red cell mass)
RCMD	refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií
RCMD-RS	refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií a s prstenčitými sideroblasty (refractory cytopenia with multilineage dysplasia and ringed sideroblasts)
RDW	šíře distribuční křivky objemu erytrocytů (red cell distribution width)
REAL	Revidovaná evropsko-americká klasifikace lymfomů (Revised European-American Lymphoma (Classification))
RS	Reedové-Sternbergova (buňka)
RTG	rentgen
RT-PCR	reverzně transkriptázová polymerázová řetězová reakce
s	povrchový (surface)
SBB	Sudanová čern B (Sudan black B)
SLL	lymfom z malých lymfocytů (small lymphocytic lymphoma)
SLVL	splenický lymfom s vilózními lymfocyty
SM	systémová mastocytóza
SM-AHNMD	systémová mastocytóza asociovaná s klonálním hematologickým onemocněním jiné než mastocytární linie (systemic mastocytosis with associated clonal, haematological non-mast cell lineage disease)
SMZL	splenický lymfom z B-buněk marginální zóny (splenic marginal zone lymphoma)
SS	Sézaryho syndrom
SSC	side scatter
TCR	T-buněčný receptor (T-cell receptor)
THRCL	velkobuněčný B-lymfom bohatý na T-lymfocyty/histiocyty (T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma)
TdT	terminální deoxynukleotidyl-transferáza
TMD	tranzientní myeloproliferativní onemocnění (transient myeloproliferative disease)
TRAP	tartarát-rezistentní kyselá fosfatáza (tartrate-resistant acid phosphatase)
U	neklasifikovatelný (unclassifiable)
vHCL	variantní leukemie z vlasatých buněk (variant hairy cell leukaemia)
WBC	white blood cell (leukocyte)
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)
WM	Waldenströмова makroglobulinemie

Předmluvy recenzentů

Hematoonkologický atlas pražských autorů MUDr. Petry Kačírkové a MUDr. Víta Campa je na domácí poměry ojedinělým dílem, a to jak svým zaměřením, tak také rozsahem.

V minulosti byl hematologický atlas u nás sestaven vlastně jen Vilémem Hulem v 50. letech minulého století. Jednalo se o publikaci, která poskytovala obecné principy a základní informace cytomorfologické diagnostiky a představovala úvod do hematologické morfologie v celém rozsahu potřeby tehdejší doby.

Předkládaná publikace se zaměřuje na hematoonkologickou morfologickou diagnostiku a v tomto směru poskytuje detailní a zároveň komplexní zpracování, a to jak v obrazové, tak i v popisné části. Vychází z dokonalých znalostí problému a odborné literatury, ale i z vlastních bohatých zkušeností a schopnosti jejich využití. Dílo má pozoruhodný obsah v obrazové i popisné části. Zpracovává problematiku cytologickou, histologickou, imunocytologickou, cytogenetickou a molekulárně biologickou. Klasifikace chorob jsou převzaty z posledních literárních odkazů, zároveň však sledují i jejich vývoj a změny. Atlas zahrnuje všechny choroby zařazované v současnosti do kapitoly hematologické onkologie.

Publikace je po úvodní části a seznamu zkratk rozdělena do následujících kapitol: 1. Chronická myeloproliferativní onemocnění, 2. Myelodysplasticko-myeloproliferativní onemocnění, 3. Myelodysplastický syndrom, 4. Akutní myeloidní leukemie, 5. Obtížně klasifikovatelné akutní leukemie, 6. Malignity z prekurzorových B- a T-buněk, 7. Malignity ze zralých B-buněk, 8. Malignity ze zralých T- a NK-buněk, 9. Hodgkinův lymfom, 10. Lymfoproliferativní onemocnění spojená s imunodeficity, 11. Malignity z histiocytů a dendritických buněk, 12. Mastocytózy, 13. Metastatické postižení dřeně. V appendixech jsou v části I Metodické poznámky a v části II WHO klasifikace

nádorů hematopoetické a lymfoidní tkáně. Na závěr je zpracován podrobný rejstřík. Uspořádání je velmi přehledné, logicky navazující a vyčerpávající.

Obrazová část je značně obsažná a popisuje takřka všechny zobrazené buňky, což není úplně běžné. Celé dílo obsahuje téměř 600 obrázků a je doloženo více než 150 literárními odkazy. V naprosté většině využívá vlastního materiálu, pouze z menší části materiálu zapůjčeného spolupracujícími pracovišti.

Nebráním se tomu opakovaně zdůraznit, že se jedná o dílo svým zaměřením, obsahem i rozpětím zcela výjimečné, které poskytuje velmi fundovaně, přitažlivě a přehledně detailní informace o laboratorní diagnostice hematoonkologických chorob. Obrazová část je sestavena velmi uvážlivě a je provázena instruktivním popisem a komentářem k buňkám, případně i dalším podrobnostem. Zároveň je třeba velmi vyzvednout kvalitu digitálního zpracování obrazové dokumentace.

Dílo je sestaveno nesmírně pečlivě a odráží obrovský kus práce. Pravděpodobně dnes nikde neexistuje dílo podobného charakteru, a proto by asi nebylo neskromné přeložit ho do angličtiny a publikovat rovněž v zahraničí. Je velmi pravděpodobné, že publikace vyvolá velký ohlas a vydobude si i odpovídající ocenění. Bez předbíhání událostem lze však říci už nyní, že předkládaný atlas je mimořádným příspěvkem k obohacení naší odborné literatury. Atlas bude nepochybně sloužit velmi širokému okruhu odborníků – hematologům, onkologům, cytologům, histologům, patologům, ale i studentům a teoretickým a výzkumným pracovníkům. Velmi si vážím toho, že jsem mohl být jedním z prvních, kterým se toto skvělé dílo dostalo do rukou.

V Brně 8. září 2007

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

Dávno sa minuli doby, kedy sa medicínska diagnostika a liečba opierala o individuálne výkony jednotlivcov, hoci medzi nimi boli neraz vskutku výnimočné osobnosti. Dávno sa minuli doby medicínskych polyhistorov, ktorí boli považovaní za všeznalcov. Rovnako sa v postupne v miznúcej minulosti stráca pozícia patológa ako v zásade „neomylného“ diagnostika. Rozvoj modernej medicíny a medicínskych vied priniesol nielen explóziu poznatkov a pochopenie javov na subcelulárnej, génovej až molekulovej úrovni, ale súčasne aj prudký rozvoj nových a nedávna netušených technologických možností, ktoré umožňujú aplikácie nových diagnostických postupov. Je preto viac než logické, že dnešná medicína je tímovou prácou, založenou na multidisciplinárnej spolupráci a vzájomnej výmene a korelácii jednotlivých parametrov. Pritom platí, že v dobrom tíme sa nijako nestráca ani výnimočná individualita, naopak môže tu nájsť ešte lepšie uplatnenie. Multidisciplinárna spolupráca sa opiera nielen o spoluprácu kvalitných odborníkov jednotlivých medicínskych disciplín, ale rovnako aj o prelínanie viacerých diagnostických metód – od morfológických a funkčných cez imunologické až po genetické a molekulovo-biologické.

Dnešná moderná hematológia, hematoonkológia a hematopatológia sú snád' najlepším či najnázornejším príkladom pokroku doby, lebo práve výskum a štúdium „ľahko dostupných“ krvných a lymfatických buniek neraz umožnili revolučné zmeny nášho chápania choroby, jej príčiny, diagnos-

tiky a liečby. Ved' už len samotná klasifikácia nádorových ochorení krvi, krvotvorných orgánov a lymfatického tkaniva podľa Svetovej zdravotníckej organizácie je tým najlepším príkladom multiparametrického klasifikačného a diagnostického prístupu, ktorý nachádza uplatnenie aj vo fáze voľby vhodnej liečby a monitorovania priebehu ochorenia.

Predložený atlas spĺňa požiadavky doby vhodnou voľbou autorského kolektívu, ktorý sa opiera o dlhoročné skúsenosti zainteresovaných špičkových pracovísk a pracovníkov v tejto oblasti. Rovnako viac než spĺňa požiadavky doby aplikáciou klasických morfológických, moderných imunodiagnostických, molekulovo-biologických a ďalších laboratórnych metód na súčasnej úrovni poznania hematológie a hematoonkológie. Je výsledkom dobrej a o recentné vedecké a odborné poznatky sa opierajúcej spolupráce klinika-hematológa a patológa. Táto monografia predkladá návody, návrhy a riešenia, ako postupovať v hematologickej a hematoonkologickej diagnostike, a bude tak určovať normy jak v hematologickej klinickej diagnostike a praxi, ako aj modernej bioptrickej diagnostike, vrátane požiadaviek na aplikáciu poznatkov genetiky a molekulovej biológie do dennej praxe v prospech pacienta a liečiteľnosti jeho ochorenia.

V Martine 6. septembra 2007

Prof. MUDr. Lukáš Plank, CSc.

Hematologické atlasy vyšly u nás naposledy v 50. letech minulého století (Ławkowicz, W., Krzemińska-Ławkowiczová, I.: Hematologický atlas, Státní zdravotnické nakladatelství, 1953 a Hule, V.: Hematologický atlas, Slovenská akademie věd, 1955). Obsahovaly pouze základní informace a byly úvodem do hematologické cytologie v kontextu potřeby tehdejší doby. Zájemcům o hematologickou morfologii se kromě několika kvalitních zahraničních atlasů nabízí už jen základní obrazová dokumentace v učebnicích hematologie. Po delším rozvažování jsme se proto rozhodli vytvořit atlas věnující se morfologii alespoň hematologických malignit jakožto nejzávažnější skupině hematologických onemocnění.

Vodítkem při jeho tvorbě nám byla v současnosti platná klasifikace nádorů hematopoetické a lymfatické tkáně podle Světové zdravotnické organizace (World Health Organization – WHO), která byla publikována v roce 2001. Tato klasifikace standardizovala nomenklaturu a definovala jednotlivé typy hematologických malignit na základě integrace morfologických rysů s výsledky specializovaných vyšetření od imunofenotypizace přes cytogenetiku až po vyšetření molekulární. Tento trend nastolily již předchozí běžně užívané klasifikace (např. tzv. MIC klasifikace leukemií nebo REAL klasifikace lymfomů). Převratnost klasifikace WHO proti předchozím spočívá v tom, že poprvé zahrnuje všechny hematologické malignity.

Přes komplexní přístup však diagnostika hematologických onemocnění stále vychází z morfologického obrazu a výsledky speciálních vyšetření se doplňují postupně v delším časovém horizontu. Cytologické vyšetření krve a kostní dřeně, případně histologické vyšetření kostní dřeně jsou u hematologických malignit většinou „prvním kontaktem“ s postiženou tkání. Na základě těchto vyšetření lze někdy udělat pravděpodobnou diagnózu, jindy nasměrovat pacienta ke specializovaným vyšetřením, která je nutno pro jejich často vysokou cenu indikovat velmi uvážlivě.

Dobře to lze ilustrovat na příkladu akutní myeloidní leukemie. Cytologický obraz je popsán prakticky v intencích klasické FAB klasifikace, poprvé publikované již v roce 1976 a s jistými modifikacemi přejaté do současného schématu. Doplňuje se vyšetřením imunofenotypu průtokovou cytometrií. Je-li potřeba, indikuje se trepanobiopsie kostní dřeně včetně imunohistologie. V další etapě pak dobíhají časově i finančně náročnější vyšetření cytogenetické a molekulárně genetické, na základě jejichž výsledků se pak jednotka definitivně zařadí do schématu WHO klasifikace.

Celý víceúrovňový diagnostický proces tak může trvat řadu dnů až několik týdnů, většinou je však nutné začít s terapií ještě před jeho definitivním ukončením. Tím v mnoha případech vzrůstá význam klasického morfologického přístupu jakožto „první linie“ v rozpoznání správné diagnózy. A právě pro morfology je určen náš atlas.

Žádná klasifikace není definitivní a s postupujícím časem a pokračujícím poznáním etiologie a patogenese jednotlivých onemocnění především na molekulární úrovni se vyvíjí a modifikuje. My jsme se rozhodli pro přehlednost a lepší orientaci dodržet schéma dosud platné klasifikace WHO a podrobněji ilustrovat jednotlivé nozologické jednotky. Rozhodli jsme se takto přesto, že od její první publikace logicky vznikla celá řada polemik a návrhů na její modifikaci – např. ve skupině chronických myeloproliferativních onemocnění, myelodysplastického syndromu, malignit ze zralých T- a NK-buněk atd. Nicméně jsme se snažili tyto změny a návrhy zachytit a v textu je uvádíme. Volně přiřazujeme kapitulu poslední, zabývající se metastatickým postižením kostní dřeně, neboť se domníváme, že hraje velmi důležitou a neoddelitelnou roli v diferenciální diagnostice primárně dřeňových maligních procesů.

Ve stručném úvodním textu uvádíme u každé skupiny onemocnění definici a základní morfologické rysy, některé údaje jsou pro větší přehlednost ve formě tabulek. Pro doplnění a lepší pochopení jsme přiřadili údaje o imunofenotypizačním vyšetření a stručné poznámky o cytogenetickém a molekulárně genetickém vyšetření, aniž bychom je ilustrovali – zde odkazujeme na specializované publikace. Z důvodů prostorových jsou velmi limitované a neúplné poznámky diferenciálně diagnostické, rovněž se nevěnujeme obrazu normální periferní krve a kostní dřeně, které by měly být poučeným čtenářům dobře známé. Rozsah publikace bohužel neumožnil ani podrobnější pojednání vyšetření kostní dřeně po léčbě, včetně potransplantačních kontrolních analýz a diagnostiky iniciálních relapsů chorob. Na základní literaturu musíme odkázat i v případě základní metodiky zpracování a barvení odebraného materiálu.

Těžiště našeho atlasu určeného pro morfology logicky leží v části obrazové. Maximum informací je obvykle získáno z cytologického vyšetření periferní krve a aspirátu kostní dřeně, doplněného histologickým vyšetřením trepanobiopsie kostní dřeně, které je diagnosticky rozhodující pouze v některých případech (např. chronické myeloproliferace či lymfomy). Tomu zhruba odpovídá i poměr zastoupení cytologických a histologických obrázků v naší publikaci celkově i v rámci jednotlivých kapitol. Důležitost

histologického vyšetření však vzrůstá a ještě více bude zdůrazněna v připravované revizi klasifikace WHO. Popisy k jednotlivým fotografiím jsme se snažili udělat podrobné, tak aby se v nich čtenář snadno orientoval.

V cytologii převládají fotografie preparátů v základním, tzv. panoptickém barvení (podle Maye-Grünwalda a Giemsy), doplňující jsou cytochemické metody jako průkaz myeloperoxidázy, nespecifických esteráz, PAS-reakce, průkaz trojmocného železa a další. V histologické části atlasu rovněž převládá základní barvení hematoxylinem a eozinem, méně často je doplněno barvení podle Giemsy, stříbření retikulinových vláken, histochemický průkaz chloroacetát-esterázy či barvení berlínskou modří. Zejména v kapitolách o lymfoproliferacích jsou použity výsledky imunohistologického průkazu základních lymfoidních znaků.

Původní zvětšení cytologických obrázků je 1000×, méně často 200× či 600×. Zvětšení však v popisech neuvádíme, neboť při zpracování fotografií jsme přistoupili ke zhotovení různě velkých výřezů a čtenář se může relativně snadno orientovat podle velikosti obligátně přítomných erytrocytů (jejichž průměr je 7–8 μm). V případě složených cytologických obrázků je jejich výsledné zvětšení identické. Původní zvětšení histologických fotografií je obvykle 400× a někdy 1000×, méně často je použito zvětšení menší až přehledné 200× a ojediněle 100× či 40×. Ani v těchto případech zvětšení neuvádíme.

Teprve v průběhu psaní atlasu a hlavně při dokumentování jednotlivých jednotek jsme si uvědomili, do jak velkého a náročného úkolu jsme se pustili. Většina případů pochází ze sestavy pacientů léčených a obvykle i diagnostikovaných v Ústavu hematologie a krevní transfuze (ÚHKT) v Praze, bioptické vyšetření bylo prováděno v Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN v Motole. Děkujeme vedení těchto institucí za podporu, ošetřujícím lékařům a všem pracovníkům, kteří se podíleli na přípravě preparátů a bez jejichž hluboké erudice a zručnosti by jistě nemohla vzniknout ani jedna fotografie tohoto atlasu. Náš dík patří také všem pacientům, fotografie jejichž nálezů v krvi a kostní dřeni jsme pro publikaci použili. Jsme též vděční sponzorům, díky jejichž pomoci mohlo být toto vysoce výrobně nákladné dílo vydáno.

Vzhledem k tomu, že jsme na našich pracovištích neměli příležitost některé nozologické jednotky diagnostikovat – buď proto, že jsou příliš vzácné, nebo proto, že například nejsme zaměřeni na hematologii dětského věku – obrátili jsme se i na další pracoviště v České republice a v zahraničí. Náš velký dík za zapůjčení případů patří prim. MUDr. J. Blatnému, Ph.D., z Oddělení klinické hematologie FN Brno, doc. MUDr. T. Kozá-

kovi, Ph.D., z Hematologické kliniky FN Královské Vinohrady v Praze a vrchní laborantce tohoto pracoviště paní H. Šubrtové, prim. MUDr. I. Hochové z Oddělení klinické hematologie FN Motol a prof. MUDr. J. Starému, DrSc., z Kliniky dětské hematologie 2. LF UK Praha, doc. MUDr. B. Friedmannovi, CSc., in memoriam z 1. interní kliniky 1. LF UK Praha a MUDr. P. Žákovi, Ph.D., z Hematologické kliniky FN Hradec Králové. Za poskytnutí fotografií děkujeme dr. Bridget S. Wilkins z Clinical & Laboratory Sciences, University of Newcastle Upon Tyne, Velká Británie, a prof. MUDr. J. Hastkovi z III. Medizinische Universitätsklinik, Fakultät für Klinische Medizin Mannheim, Universität Heidelberg, SRN. Poděkování patří také prof. ing. K. Michalové, DrSc., a RNDr. J. Březinové, Ph.D., z ÚHKT a Oddělení cytogenetiky VFN Praha za cenné připomínky k cytogenetickým poznámkám v textu. Děkujeme také MUDr. J. Schwarzovi, CSc., z ÚHKT Praha, RNDr. M. Kalinové z Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN v Motole a doc. MUDr. J. Trkovi, CSc., z Laboratoře molekulární genetiky 2. LF UK Praha za připomínky k molekulárně genetickým poznámkám. Poděkování patří rovněž prof. MUDr. K. Smetanovi, DrSc., z ÚHKT Praha za podporu a cenné rady v oblasti cytologie. Za neocenitelné rady a připomínky k celému textu vděčíme MUDr. Kateřině Benešové, CSc., z ÚHKT Praha.

Děkujeme také recenzentům za jejich mimořádně pečlivou práci a podnětné poznámky, které přispěly ke zvýšení úrovně celého díla. Veškeré případné nepřesnosti a omyly v textu ale padají samozřejmě na hlavu autorů. Za výslednou podobu atlasu vděčíme pracovníkům nakladatelství Grada Publishing, bez jejichž nadstandardního přístupu nelze obdobné na grafiku náročné dílo vydat. Zvláštní dík patří panu A. Plickovi za jeho výjimečně zodpovědný, precizní a velkými zkušenostmi podložený přístup při společném zpracování fotografického materiálu.

Doufáme, že všem, kteří si náš atlas prolistují, přinese tato kniha snadný a přehledný přístup k základním informacím o morfologické diagnostice hematologických malignit a že se nám podaří na čtenáře přenést alespoň část naší poněkud zvrácené vášně pro mikroskopickou diagnostiku poměrně uzavřené skupiny závažných onemocnění. A pokud si někdo položí tuto knihu na dosah od mikroskopu a v případě pochybností v ní bude listovat, naše nejtajnější sny budou naplněny.

Praha, květen 2007

Petra Kačírková a Vít Campř

1 Chronická myeloproliferativní onemocnění

Chronická myeloproliferativní onemocnění (chronic myeloproliferative diseases – CMPD) jsou klonální hematopoetická onemocnění kmenové buňky charakterizovaná proliferací jedné či více myeloidních linií (granulocytární, erytroidní či megakaryocytární) v kostní dřeni (KD). Proliferace je efektivní, spojená se zvýšenými počty granulocytů, erytrocytů či trombocytů v periferní krvi (PK) a vyzrávání je relativně normální. Častá je splenomegalie a hepatomegalie, způsobená sekvestrací nadbytečných krevních buněk, extramedulární hematopoezou, leukemic-kou infiltrací či kombinací těchto faktorů. Ačkoliv jde o onemocnění chronická a v začátku nenápadná, mají různě silnou tendenci podléhat klonální evoluci a buď progredovat v selhání kostní dřene spojené s myelofibrózou či inefektivní hematopoezou, nebo většina z nich transformovat do akutní leukemie, označované jako blastická fáze (transformace, zvrát), resp. sekundární akutní myeloidní leukemie. Cytogenetické či molekulární známky klonální evoluce tak ukazují na akceleraci onemocnění a hrozící blastickou transformaci.

Nejdůležitější změny oproti dřívějším diagnostickým přístupům přináší klasifikace WHO (2001) zejména ve skupině některých Ph negativních CMPD. Nedávno byla kritéria WHO modifikována v návrhu Evropských klinických a patologických (ECP) kritérií (2002) (viz tab. 1.4, 1.5, 1.8).

WHO, event. ECP kritéria jsou užívána převážně ve střední Evropě, nejsou dosud široce uznávána, ale umožňují citlivější záchyt časných stadií onemocnění a rozlišení esenciální trombocytemie (ET), polycythaemia vera (PV) a prefibrotického stadia chronické idiopatické myelofibrózy (CIMF). Přestože tato ECP kritéria definovaná časná stadia nespĺňujú pôvodní diagnostická kritéria PVSG (Polycythaemia Vera Study Group) ani WHO, mohou být klinicky provázena závažnými komplikacemi, kterým je možné při včasné diagnóze předejít. Diferenciální diagnostika mezi těmito jednotkami je možná pouze histologicky, proto jsou histologická kritéria nedílnou součástí diagnostiky. Pouze v trepanobiopsii kostní dřene je možno spolehlivě hodnotit přítomnost a stupeň fibrotizace (viz tab. 1.6) a popsat četnost, distribuci a morfolologii megakaryocytů jako důležitého diferenciálně diagnostického znaku u Ph negativních CMPD. Je nezbytné indikovat trepanobiopsii KD ještě před zahájením léčby, neboť jakákoli terapeutická intervence může morfologický obraz natolik modifikovat, že se vyšetření může stát nepřínosným a onemocnění se nezdaří přesně klasifikovat. Je nutné zdůraznit, že histolo-

gicky lze ve všech případech odlišit CMPD od reaktivních (sekundárních) erytrocytóz, leukocytoz a trombocytoz.

Po stránce genetické jsou CMPD charakterizována chromozomálními změnami postihujícími geny kódující různé tyrozinkinázy. Chronická myeloidní leukemie (CML) je definována přítomností fúzního genu *BCR-ABL* s tyrozinkinázovou aktivitou, u významné části chronických eozinofilních leukemií (CEL) je detekován fúzní gen *FIP1L1-PDGFRα*, také s tyrozinkinázovou aktivitou. Zásadním mezníkem se stal nedávný objev bodové mutace V617F genu *JAK2* (Janus kinase), lokalizovaného na chromozomu 9p24 u CMPD typu PV, CIMF a ET. Mutace vede k aktivaci tohoto tyrozinkinázového genu s následnou proliferací autonomií postižených buněk a je příčinou trilineární myeloproliferace s rozmanitou klinickou manifestací. CMPD a myelodysplasticko-myeloproliferativní onemocnění (viz kap. 2) bez této mutace reprezentují skupinu příbuznou, ale s odlišnou molekulární etiologií. Zcela nedávno byly zjištěny i alternativní typy mutací genu *JAK2*. Přítomnost mutace *JAK2* tak pravděpodobně zásadně ovlivní diagnostiku, klasifikaci i léčebný přístup k těmto onemocněním.

1.1 Chronická myeloidní leukemie (obr. 1.1–1.38)

Chronická myeloidní leukemie (CML) je myeloproliferativní onemocnění vycházející z pluripotentní kmenové buňky a je charakterizováno přítomností Philadelphia (Ph) chromozomu a/nebo *BCR/ABL* fúzního genu. Abnormální fúzní gen je přítomen nejen v buňkách myeloidní řady, ale také v buňkách lymfoidních. Onemocnění probíhá ve dvou až třech fázích – chronická fáze (chronic phase – CP) je následovaná akcelerovanou fází (accelerated phase – AP) a/nebo blastickou fází (blast phase – BP), resp. blastickým zvratem.

V **chronické fázi** je v PK leukocytóza, často velmi výrazná, se „stovkovými“ hodnotami, daná především výrazným zmnožením neutrofilů. Jsou přítomna všechna vývojová stadia (posun doleva), avšak nejvíce jsou zastoupeny segmenty a myelocyty. Častá bývá absolutní bazofilie, případně eozinofilie. Může být mírná absolutní monocytóza. Ve vzácných případech s přítomností p190^{bcr/abl} proteinu (viz níže) bývá výrazná monocytóza absolutní i relativní. Počet trombocytů je normální nebo zvýšený, někdy i na hodnoty kolem $1000 \times 10^9/l$. Častá je mírná normochrom-

ní normocytární nebo makrocytární anemie. Ojedinele lze v nátěru nalézt erytroblasty či holá jádra megakaryocytů. Skóre alkalické fosfatázy v neutrofilech (NAP) je sníženo až nulové.

Aspirát KD je hypercelulární, s vysokým granulocytoerytroidním (G-E) poměrem, většinou s extrémní proliferací neutrofilní granulopoezy, která vyzrává. Nejsou přítomny dysplastické změny a blasty vždy tvoří méně než 10 %, obvykle však méně než 5 % jaderných buněk (nucleated cells – NC). Zmnoženy bývají také elementy bazofilní a/nebo eozinofilní řady. Časté je zmnožení megakaryopoezy, megakaryocyty bývají poměrně malé, s hypobulovanými jádry. Erytropoeza bývá zastoupena relativně sníženo. Někdy mohou být zastiženy strádající buňky typu „sea-blue“ makrofágů nebo pseudo-Gaucherových makrofágů, které strádají zbytky buněk a lipidové inkluze pocházející z buněčných membrán granulocytů. Jde o důsledek insuficience enzymatického systému degradujícího glukocerebrosidy při zvýšeném buněčném obrátu.

Histologie KD: Přestože trepanobiopsie KD není v klasifikaci WHO vyžadována ani jako vedlejší diagnostické kritérium, histologické vyšetření před započatím léčby může přinést prognosticky významné informace. Histologický obraz CML je variabilní a umožňuje rozlišení do tří subtypů – granulocytární, bohatý na megakaryocyty a myelofibrotický (Thiele et al., 2000).

V *granulocytárním subtypu* je KD hypercelulární s převažující proliferací granulocytární řady. Maximum elementů granulocytární řady je lokalizováno peritrabekulárně, s vyzráváním směrem centrálně. Blasty nejsou výrazně zmnoženy. Četné jsou elementy eozinofilní granulopoezy. Poměr mezi granulocytární a erytroidní složkou se zvyšuje i přes hodnoty 10 : 1, ložiskově může červená řada zcela chybět.

V *subtypu CML bohatém na megakaryocyty* jsou megakaryocyty výrazně zmnoženy a někdy se shlukují. Často bývají menší než u ostatních CMPD, popisují se i tzv. trpasličí („dwarf“) megakaryocyty.

Vyčlenění *myelofibrotického subtypu* CML je problematické, neboť přítomnost fibrotizace jde obvykle ruku v ruce se zmnožením megakaryocytární linie, navíc oba předchozí subtypy mohou v průběhu onemocnění do myelofibrózy

přecházet. Nicméně je jisté, že případy s fibrózou v době diagnózy mají horší prognózu.

Nález strádacích makrofágů, pseudo-Gaucherových buněk, je v trepanobiopsii častější než v aspirátu KD. Siderofágy nebývají přítomny, není to však známkou nedostatku zásobního železa, nýbrž jeho změněné distribuce.

FCM: V diagnostice chronické fáze CML nehraje imunofenotypizace významnou roli. Ve vzorcích PK i KD převažují elementy s fenotypem granulocytů (CD33+ CD13+ CD15+), blasty (CD34+ HLA-DR+ CD33+ CD38+) nejsou zmnoženy. Toto vyšetření nám nepomůže ani v odlišení CML-CP od leukemoidní reakce.

Genetika: Standardním cytogenetickým vyšetřením se u naprosté většiny případů nachází specifická chromozomální změna – Philadelphia chromozom, který je většinou výsledkem reciproké translokace mezi chromozomy 9 a 22, t(9;22)(q34;q11). Při této translokaci dochází ke spojení genů *BCR* a *ABL* za vzniku fúzního genu, který kóduje chimerický protein bcr/abl o hmotnosti 210 kD (p210^{bcr/abl}). Gen *BCR* se téměř u všech případů CML láme v oblasti nazývané „major“ (*M-BCR*). Ve velmi vzácných případech dochází ke zlomu genu *BCR* v oblasti nazývané „mikro“ (*mikro-BCR*) a spojením s genem *ABL* vzniká atypický protein o hmotnosti 230 kD (p230^{bcr/abl}). Zcela výjimečně u CML může v genu *BCR* dojít ke zlomu v oblasti nazývané „minor“ (*m-BCR*) za vzniku fúzního genu a následně atypického proteinu o hmotnosti 190 kD (p190^{bcr/abl}). Zlom v této oblasti je však typický spíše pro pacienty s Ph⁺ akutní lymfoblastickou leukémií. Fúzní gen *BCR/ABL* pomocí molekulárních metod, event. fluorescenční in situ hybridizace (FISH), nacházíme u všech diagnostikovaných CML, tedy včetně případů, kdy není Ph chromozom detekován cytogeneticky – v těchto případech mluvíme o tzv. kryptické translokaci t(9;22).

Akcelerovaná fáze je charakterizovaná přítomností jednoho či více kritérií uvedených v tabulce 1.1. Dysplazie granulopoezy, přítomnost extrémně zmnožených dysplastických megakaryocytů a/nebo retikulinová či kolagenní fibrotizace jsou také často známkou CML-AP.

Blastická fáze neboli **blastický zvrát** odpovídá akutní leukemii a je charakterizována přítomností jednoho či více kritérií uvedených v tabulce 1.2. Ve většině případů

Tab. 1.1 Kritéria WHO pro diagnózu akcelerované fáze CML

1. Blasty tvoří 10–19 % WBC v periferní krvi a/nebo 10–19 % NC v kostní dřeni
2. Bazofily v periferní krvi ≥ 20 %
3. Perzistující trombocytopenie $< 100 \times 10^9$ /l nezpůsobená terapií
4. Perzistující trombocytémie $> 1000 \times 10^9$ /l neodpovídající na terapii
5. Zvětšující se objem sleziny a stoupající počet WBC nereagující na terapii
6. Cytogenetický průkaz klonální evoluce

Diagnóza AP-CML vyžaduje splnění alespoň jednoho kritéria.

Tab. 1.2 Kritéria WHO pro diagnózu blastického zvrátu CML

1. Blasty tvoří ≥ 20 % WBC v periferní krvi nebo ≥ 20 % NC v kostní dřeni
2. Prokázaná proliferace blastů v extramedulární lokalizaci
3. Velké agregáty nebo clusterly blastů v biopsii kostní dřeně

Diagnóza BP-CML vyžaduje splnění alespoň jednoho kritéria.

(v 70 %) jde o blasty myeloidního původu v širším smyslu slova – nejčastěji myeloblasty (neutrofilní), méně často blasty eozinofilní, bazofilní, monocytární, megakaryocytární, vzácně erytroidní; může se jednat i o jejich kombinaci. V menší části případů (v 25 %) se jedná o lymfoblasty. Vzácně mohou být přítomny i dvě odlišné populace blastů – myeloidní a lymfoidní. Cytochemický náález je podobný jako u de novo akutních leukemií. V případě myeloblastů je možné prokázat myeloperoxidázu či pozitivitu SBB (Sudan black B – Sudanová čern B), v případě monocytárního původu blastů pozitivitu nespecifických esteráz (α -naftyl-acetát-esterázy či α -naftyl-butyryát-esterázy). Hrubě granulární PAS pozitivita může být v případech proerytoblastového typu blastické krize či v případě B-lymfoblastů. V případě T-lymfoblastů se může prokázat fokální pozitivita kyselé fosfatázy.

Histologie KD: V trepanobiopsii se v této fázi vzhled dřene blíží akutní leukemii, výraznější však bývá příměs eozinofilů a bazofilů. K transformaci může dojít i extramedulárně či v kosti ve formě myelosarkomu.

FCM: Imunofenotypový náález v PK i KD v blastické fázi myeloidního původu v podstatě odpovídá různým typům AML vznikajících de novo. V leukemických buňkách je prokazatelná variabilní pozitivita myeloperoxidázy. Na jejich povrchu jsou detekovatelné znaky spojené s diferenciací do neutrofilní a monocytární řady (CD13, CD14, CD15, CD33, CD64, CD65, CD117 apod.), megakaryocytární řady (CD61, CD41) a/nebo erytroidní řady (glykoforin A). Myeloidní blasty (CD34+ HLA-DR+ CD33+ CD38+) často exprimují i jeden či více lymfoidních markerů, např. CD7. V případě lymfoblastické BP je leukemická populace většinou tvořena prekurzorovými B-lymfoblasty s pozitivitou CD10, CD19, CD34, TdT nebo vzácněji prekurzorovými T-lymfoblasty s pozitivitou CD3, cyCD3, CD7, TdT apod. Podrobnější imunofenotyp odpovídá prekurzorovým B- či T-ALL/LBL. I v těchto případech se můžeme setkat s koexpresí jednoho či více myeloidních markerů.

Genetika: V době akcelerace a blastického zvratu CML se objevují (či jim předcházejí) další cytogenetické změny, například +8, duplikace Ph chromozomu, i(17q), +19 apod. Nejčastější další molekulárně genetické změny se týkají genu *MYC*, může dojít k mutacím *RAS* genů, bodovým mutacím a amplifikaci *BCR-ABL*, delecím i mutacím *TP53*, *RB1* apod.

Velmi vzácně (a téměř pouze u žen) se vyskytují případy *BCR-ABL* pozitivních myeloproliferací s izolovanou extrémní proliferací megakaryopoey s trombocytemií, dříve někdy nazývané Ph+ esenciální trombocytemie (obr. 1.13–1.15), považované za formu časně manifestace chronické fáze CML. V PK nacházíme pouze trombocytemii (někdy extrémní – až kolem $4000 \times 10^9/l$), někdy s mírnou anemií a počet leukocytů může být zcela normální nebo jen lehce zvýšený, bez typického posunu doleva a bez bazofilie. Skóre NAP může být normální a často také nebývá přítomna splenomegalie. V aspirátu KD i v trepanobiopsii nacházíme zvýšenou proliferaci pouze megakaryopoey, morfologie megakaryocytů je však zcela odlišná od esenciální trombocytemie, neboť na rozdíl od ní (viz kap. 1.6) jsou zde megakaryocyty poměrně malé a mají hypobulovaná jádra. Někdy u těchto forem onemocnění postupně dojde k rozvoji typického obrazu CML s hyperplazií granulopoey s typickým nálezem v PK. Zdá se, že tyto případy mají vyšší riziko rozvoje myelofibrózy a/nebo časněho přechodu do blastické fáze. Z toho vyplývá nutnost vyšetření eventuální přítomnosti *BCR-ABL* fúzního

genu u všech trombocytóz, u nichž není zřetelný sekundární původ. Totéž platí pro eozinofilie, u nichž byl sekundární původ vyloučen, neboť CML se může, byť velmi vzácně, manifestovat zmnožením pouze eozinofilní granulopoey do obrazu HES/CEL.

1.2 Chronická neutrofilní leukemie (obr. 1.39–1.44)

Chronická neutrofilní leukemie (CNL) je vzácné myeloproliferativní onemocnění charakterizované neutrofilii v PK a proliferací neutrofilní granulopoey v KD, které se rovněž může blasticky transformovat. Dalšími obvyklými místy postižení jsou slezina a játra. Je nutno vyloučit reaktivní neutrofilii – infekce, zánětlivé procesy, tumory, zvláště Hodgkinův lymfom a malignity z plazmatických buněk. Při nápadnějších dysplastických rysech je nutno odlišit onemocnění ze skupiny MDS/MPD, zejména atypickou CML (aCML).

V PK je neutrofilie $\geq 25 \times 10^9/l$, převahu buněk tvoří segmentované formy. Nezralé formy granulocytů (promyelocyty, myelocyty a metamyelocyty) tvoří maximálně 10 %, blasty nejsou v PK přítomny téměř nikdy. Neutrofilie mohou vypadat normálně, často však mají hrubá azurofilní granula, připomínající toxickou granulaci. Nejsou přítomny dysplastické změny granulocytů, stejně tak morfologie erytrocytů a trombocytů je normální. Může být mírná anemie a/nebo trombocytopenie. Je zvýšené skóre alkalické fosfatázy v neutrofilech.

Aspirát KD je většinou hypercelulární, se zvýšeným G-E poměrem i 20 : 1 a vyšším – hypercelularita je dána zvýšenou proliferací neutrofilní granulopoey, avšak s normálním zastoupením blastů a promyelocytů. Nejsou přítomny signifikantní dysplastické změny v žádné z hematopoetických řad.

Histologie KD: Kostní dřev je hypercelulární trilineární, obrazu dominuje granulocytární řada. Převažují vyzrávající neutrofilie přiměřeného vzhledu, nedochází ke zmnožení blastů. Někdy může být přítomna i proliferace megakaryocytární a červené řady. Fibrotizace v chronické fázi nebývá zastižena buď vůbec, nebo je jen mírná.

FCM a genetika: Nejsou přítomny specifické imunofenotypické ani cytogenetické abnormality, ojediněle byla prokázána V617F mutace genu *JAK2*.

1.3 Chronická eozinofilní leukemie a hypereozinofilní syndrom (obr. 1.45–1.53)

Chronická eozinofilní leukemie (CEL) je relativně heterogenní skupina chronických myeloproliferativních onemocnění charakterizovaných klonální proliferací eozinofilních prekurzorů, která má za následek zvýšené množství eozinofilů v krvi, kostní dřevě a periferních tkáních. Dochází k orgánovému poškození v důsledku leukemické infiltrace nebo jako následek uvolňování cytokinů, enzymů a jiných látek z eozinofilů. CEL je definována jako perzistující eozinofilie $\geq 1,5 \times 10^9/l$ s prokázanou klonální chromozomální

aberrací myeloidních buněk (event. je klonalita prokázána jiným způsobem) nebo se zvýšeným podílem blastů v krvi na 2–19 % WBC (white blood cells – leukocytů) či v kostní dřeni na 5–19 % NC.

Jako **hypereozinofilní syndrom (HES)** je definována perzistující eozinofilie $\geq 1,5 \times 10^9/l$ (přičemž byl vyloučen její sekundární původ), při níž dochází k poškození orgánů a jejich dysfunkci. Není však prokázána klonalita eozinofilů a nejsou zmnoženy blasty.

Sekundárními, reaktivními příčinami eozinofilie, které je nutno vyloučit, jsou např. alergická a parazitární onemocnění, granulomatózní a zánětlivé procesy (vaskulitidy), hematologické malignity (zejména T-lymfomy, Hodgkinův lymfom, akutní lymfoblastová leukemie/lymfom, systémová mastocytóza). Je však nutno vyloučit také jiné hematologické malignity, u kterých jsou eozinofily součástí neoplastického klonu (CML, AML vč. AML s *CBFβ/MYH11*, jiná CMPD, MDS). V neposlední řadě je rovněž třeba vyloučit přítomnost nemaligní populace T-buněk s aberantním fenotypem v PK (CD3- CD4+ nebo CD3+ CD4- CD8-). Ty způsobují proliferaci eozinofilů produkcí interleukinu-5 a pro onemocnění s touto patogenezi se užívá název „**lymfocytární varianta HES**“. U části pacientů s odstupem dochází ke vzniku malignity z T-buněk.

V **PK** je eozinofilie u HES a CEL dána především zralými eozinofily, které mohou mít morfologické abnormality – poruchy granulace včetně hypogranularity, vakuoli-

zace cytoplazmy, hypo- či hypersegmentace jádra apod. Tyto změny však nejsou specifické, vyskytují se i u reaktivních eozinofilií. Častá je současná mírná neutrofilie, někdy monocytóza, event. bazofilie. U HES tvoří blasty maximálně 2 % WBC, u CEL mohou dosáhnout až 19 %.

Aspirát KD je hypercelulární, což je dáno zmnožením eozinofilní granulopoezy. Někdy lze zastihnout Charcotovy-Leydenovy krystaly. Zvýšení počtu blastů na 5–19 % či dysplastické změny v jiných hematopoetických řadách svědčí pro neoplastický proces (nemusí se však nutně jednat o CEL). V eozinofilech lze prokázat kyanid-rezistentní peroxidázu. Eozinofily u CEL mohou být aberantně naftol-AS-D-chloroacetát-esteráza pozitivní.

Histologie KD: Kostní dřeň je trilineární hypercelulární s převládající pravidelně vyžrávající eozinofilní řadou. Různě vyjádřená fibróza je následkem působení různých látek uvolněných z eozinofilů při degranulaci. Také mohou být zastiženy Charcotovy-Leydenovy krystaly. Samotná histologie obvykle neumožňuje rozlišit CEL a HES.

FCM: Toto vyšetření není diagnosticky přínosné, protože eozinofily nemají specifický imunofenotyp. Kromě znaků typických pro granulocytární linii (CD15, CD33, CD65) eozinofily exprimují i znaky CD9, CD35, CD294, CD193, které se však nacházejí mimo jiné i na povrchu jiných leukocytů.

Genetika: U všech pacientů s HES a většiny pacientů s CEL je standardním cytogenetickým vyšetřením nalezen

Tab. 1.3 Kritéria pro diagnózu polycythaemia vera podle PVSG, modifikovaná kritéria PVSG a klasifikace WHO (zdroj: Michiels, JJ., Kvasnicka, HM., Thiele, J. Myeloproliferative disorders. Current perspectives on diagnostic criteria, histopathology and treatment in essential thrombocythemia, polycythemia rubra vera and chronic idiopathic myelofibrosis. Verlag ME – Uwe Grunwald, 2005)

PVSG		Modifikovaná PVSG	WHO
Hlavní kritéria			
A1	RCM muž: > 36 ml/kg žena: > 32 ml/kg	RCM > 25 % nad normální hodnotu	RCM > 25 % nad normální hodnotu nebo zvýšený Hb muž: > 185 g/l žena: > 165 g/l
A2	arteriální $pO_2 > 92\%$	vyloučení sekundární polycytemie	vyloučení sekundární polycytemie
A3	splenomegalie palpačně	splenomegalie palpačně	splenomegalie palpačně
A4	–	cytogenetický průkaz klonality v buňkách kostní dřeně	průkaz klonality jiný než Ph chromozom nebo <i>BCR/ABL</i> fúzní gen
A5	–	–	spontánní EEC
Vedlejší kritéria			
B1	trombocyty > $400 \times 10^9/l$	trombocyty > $400 \times 10^9/l$	trombocyty > $400 \times 10^9/l$
B2	leukocyty > $12 \times 10^9/l$	leukocyty > $12 \times 10^9/l$	leukocyty > $12 \times 10^9/l$
B3	zvýšené skóre NAP	splenomegalie na ultrazvuku	biopsie KD s obrazem typickým pro PV (panmyelóza s prominentní erytroidní a megakaryocytární proliferací)
B4	–	spontánní EEC nebo nízký sérový EPO	nízký sérový EPO
Diagnóza			
PV	A1 + A2 + A3 A1 + A2 + dvě z B	A1 + A2 + A3 nebo A4 A1 + A2 + dvě z B	A1 + A2 + kterékoliv z dalších A A1 + A2 + dvě z B

EEC – endogenní tvorba erytroidních kolonií (endogenous erythroid colony formation); EPO – erythropoetin; Hb – hemoglobin;
RCM – celková erytrocytární masa (red cell mass)

normální karyotyp. U významné části pacientů s CEL lze molekulárně geneticky prokázat kryptickou del(4)(q12q12) dávající vznik fúznímu genu *FIP1L1/PDGFRα* s tyrozin-kinázovou aktivitou. V některých případech CEL je možné nalézt např. +8, i(17q) a jiné. V případě translokace postihující 8p11 se jedná o tzv. **8p11 myeloproliferativní syndrom (EMS)** – agresivní onemocnění, u kterého je eozinofilie spojená s T-lymfoblastovým lymfomem a rychle se transformuje do akutní leukemie, obvykle myeloidního typu.

1.4 Polycythaemia vera (obr. 1.54–1.60)

Polycythaemia vera (PV) je myeloproliferativní onemocnění charakterizované zvýšenou produkcí erytrocytů, která je nezávislá na normální regulaci erytropoezy. Často je spojena se zvýšenou proliferací i ostatních myeloidních řad.

Existuje několik schémat diagnostických kritérií pro PV – původní a modifikovaná kritéria **PVSG** (tab. 1.3), kritéria **WHO** (tab. 1.3) a **ECP** kritéria (tab. 1.4).

Polycythaemia vera probíhá ve více stádiích – iniciálním, polycytemickém a terminálním.

Iniciální (prepolycytemické) stadium, definované podle ECP kritérií, se obvykle projevuje jako mírná až značná klonální trombocytémie bez zvýšení hodnot červeného obrazu a může být mylně považováno za esenciální trombocytémii. K tomuto typu PV lze řadit i případy s mírně zvýšenými hodnotami červeného krevního obrazu, anebo se zvýšenými hodnotami RCM, které ještě nesplňují kritéria PVSG nebo WHO pro diagnózu PV.

Stadium proliferativní (polycytemické) je spojeno se zvýšením erytrocytární masy.

V **PK** je zvýšené množství normochromních normocytárních erytrocytů, v případě ztrátové sideropenie hypochromních mikrocytárních. Hemoglobin i hematokrit jsou výrazně zvýšeny. Častá je také současná neutrofilie a bazofilie. Ojedinele mohou být přítomny méně zralé granulocyty, nikoliv však blasty. Velmi častá je trombocytémie. Nátěr krve je nápadně silný. Často bývá zvýšené skóre alkalické fosfatázy v neutrofilech.

Aspirát KD bývá normo- či hypercelulární. Někdy bývá zvýšeně zastoupena erytropoeza, avšak často je G-E poměr normální a obraz kostní dřeně se blíží normálnímu nálezu v KD, nebýt často zmnožených megakaryocytů s velmi pestrá morfologií, od malých s hypolobulovaným

Tab. 1.4 Evropská klinická a patologická (ECP) kritéria pro diagnózu polycythaemia vera (zdroj: Michiels, JJ., Kvasnicka, HM., Thiele, J. *Myeloproliferative disorders. Current perspectives on diagnostic criteria, histopathology and treatment in essential thrombocythemia, polycythemia rubra vera and chronic idiopathic myelofibrosis*. Verlag ME – Uwe Grunwald, 2005)

Klinická kritéria			Histologická kritéria	
A1			B1	• zvýšená buněčnost s trilineární myeloproliferací („panmyelóza“) • proliferace a shlukování malých až velkých (pleomorfních) megakaryocytů • absence železa • bez výraznější zánětlivé reakce (plazmocytóza, buněčný detritus, eozinofily)
grade 1	RCM	normální		
	Hct	muž: ≤ 0,51 žena: ≤ 0,48		
	Hb	muž: ≤ 185 g/l žena: ≤ 165 g/l		
grade 2	RCM	zvýšena	B2	spontánní tvorba erytroidních kolonií (EEC)
		muž: > 36 ml/kg žena: > 32 ml/kg		
	Hct	muž: > 0,51 žena: > 0,48		
	Hb	muž: > 185 g/l žena: > 165 g/l		
A2	přetrvávající zvýšení počtu trombocytů (grade I: 400–1500, grade II: > 1500 × 10 ⁹ /l)		Grading myelofibrózy u PV: MF-0 prefibrotické stadium PV MF-1 časné fibrotické stadium PV MF-2 manifestní myelofibróza v PV MF-3 pokročilá myelofibróza v PV (postpolycytemická myeloidní metaplasie)	
A3	splenomegalie palpačně, ultrazvukem nebo na CT (délka > 12 cm)			
A4	granulocyty > 10 × 10 ⁹ /l a/nebo zvýšené skóre NAP při absenci horečky nebo infekce a/nebo overexprese <i>PRV-1</i>			
A5	nízká plazmatická hladina EPO			
A6	vyloučení SP			
Diagnóza: B1 + kterékoli z A1 až A5 odpovídá PV. EEC potvrzuje PV a vylučuje SP. A1 grade 1: iniciální latentní PV; A1 grade 2: rozvinutá polycytemická PV				

EEC – endogenní tvorba erytroidních kolonií (endogenous erythroid colony formation); EPO – erythropoetin; Hb – hemoglobin; Hct – hematokrit; RCM – celková erytrocytární masa (red cell mass); SP – sekundární polycytemie (erythrocytóza)

jádrem až po obrovské formy s jádrem extrémně lobulovaným. V žádné z hematopoetických řad nejsou významné dysplastické změny, blasty nejsou zmnoženy. V případě deficitu železa může být erytropoeza mikronormoblastová a lze prokázat absenci zásobního železa a snížení či úplnou nepřítomnost sideroblastů. Případná blastická transformace PV může být předcházena myelodysplastickými změnami.

Histologie KD: Histologicky je již v prepolycytemickém stadiu a zejména v proliferativním stadiu dřev hypercelulární, obvyklá je trilineární („panmyelóza“) ortotopní proliferace s nápadným zmnožením a zvětšením erytronů, které jsou bez podstatnějších dysplastických změn. Poměr granulocytární a erytroidní složky klesá pod 2 : 1. Zmnožené megakaryocyty se shlukují, střídají se formy hyperplastické se silně členěnými jádry i formy menší. Nález mírné dysplazie s nukleocytoplazmatickou asynchronií v megakaryocytární řadě (obraz zhruba mezi ET a CIMF) je tedy pro diagnózu PV přípustný, dysplazie však nebývá v ostatních hematopoetických řadách. Ani histologicky obvykle nelze prokázat železo. Nápadná je síť CD68 pozitivních makrofágů. S přechodem do postpolycytemické fáze se postupně vyvíjí retikulinová, později i kolagenní fibróza.

Terminální stadium – „postpolycytemická myeloidní metaplazie“ či „spent“ fáze – je provázeno cytopeniemi (včetně anémie) způsobenými inefektivní hematopoezou, fibrózou KD, extramedulární hematopoezou a hypersplenismem. U významné části pacientů dochází k transformaci do akutní leukemie, častěji tehdy, byl-li v léčbě použit ^{32}P či busulfan, resp. jiná cytostatika. Objem erytrocytární masy se normalizuje a postupně přechází v anemii, následkem myelofibrózy a myeloidní metaplazie dochází ke vzniku tzv. „leukoerytoblastického obrazu“ – vyplavování granulocytárních a erytroidních prekurzorů, s poikilocytózou a kapkovitými erytrocyty („tear drop“, dakryocyty).

Aspirát KD bývá vzhledem k fibróze hypocelulární, s příměsí periferní krve, někdy bývají zastíženy velmi polymorfní megakaryocyty. Může však jít také o tzv. „suchou“ punkci.

Histologie KD: V terminálním stadiu postpolycytemické myeloidní metaplazie, resp. ve „spent“ fázi, v KD dominuje fibróza retikulinová i kolagenní s poklesem buněčnosti, může být přítomna osteoskleróza. Stav je na podkladě samotného histologického vyšetření obtížně odlišitelný od pokročilé fáze CIMF. Je nezbytné pátrat po zmnožených a shlukujících se blastech, které předznačují možnou transformaci onemocnění.

FCM: Imunofenotypizačně nejsou u PV přítomny žádné specifické abnormality.

Genetika: Cytogenetické změny nacházíme v době diagnózy asi u 20 % pacientů, s progresí choroby jejich frekvence roste – nejčastěji jde o del(20)(q12), +8, +9, del(13q), parciální duplikaci 1q, změny (především ztráta heterozygocie) na 9p apod. Molekulárně geneticky je téměř u všech pacientů s PV detekována V617F mutace JAK2, na rozdíl od esenciální trombocytémie i v homozygotní formě (která signalizuje pokročilejší onemocnění ve srovnání s běžněji zjišťovanou mutací heterozygotní). Často prokazovaná zvýšená exprese PRV-1 a NF-E2 u těchto pacientů je pravděpodobně následkem této mutace a jejich detekce ztrácí na významu.

1.5 Chronická idiopatická myelofibróza (obr. 1.61–1.81)

Chronická idiopatická myelofibróza (CIMF) je klonální myeloproliferativní onemocnění charakteristické především proliferací megakaryocytární a granulocytární řady v KD, spojené primárně s fibrotizací kostní dřeně a s extramedulární hematopoezou. Fibrotizace kostní dřeně je následkem sekundární stimulace fibroblastů KD růstovými faktory produkovanými klonální nádorovou populací.

Proces probíhá v několika stádiích. ECP diagnostická kritéria pro CIMF jsou uvedena v tabulce 1.5. Iniciální – prefibrotické stadium je charakterizované hypercelularitou KD bez výraznější fibrotizace. Fibrotické stadium se vyznačuje postupným narůstáním retikulinové a později kolagenní fibrotizace a často i osteomyelosklerózou (hodnocení stupně fibrotizace zachycuje tabulka 1.6) za současného ubývání hematopoezy a progresu extramedulární hematopoezy („myelofibróza s myeloidní metaplazií“) především ve slezině a játrech. U významné části pacientů (10–30 %) dochází k transformaci do sekundární AML.

V **prefibrotickém stadiu** u většinou asymptomatických pacientů dominuje nález v **PK** trombocytémie (až do $3000 \times 10^9/\text{l}$), často je přítomna jen lehce nadhraniční leukocytóza s absolutní neutrofilii, nikdy však nebývá anémie. Nález ojedinělých kapkovitých erytrocytů, erytroblastů či nezralých granulocytů je možný, avšak krajně vzácný a signalizuje spíše přechod v pokročilejší onemocnění. Mohou být nalezeny atypické trombocyty se značnou anizocytózou.

Aspirát KD bývá buněčný, nápadné je zmnožení megakaryocytů. Ty mají abnormální morfologii – jsou většinou abnormálně velké až gigantické, se značnou lobulizací jádra, někdy je naopak jádro obrovského megakaryocytu hypolobulované. Některé megakaryocyty mohou mít výrazné shlukování („clumping“) chromatinu. Častá je také přítomnost holých megakaryocytárních jader. Malé formy megakaryocytů jsou také přítomny, ale jsou mnohem méně časté než formy obrovské.

Histologie KD: Histologicky je kostní dřev v tomto stadiu hypercelulární („panmyelóza“) s minimální retikulinovou fibrotizací centrovanou na cévní struktury nebo dokonce zcela bez fibrotizace (MF-0). Obrazu dominuje proliferace megakaryocytární a obvykle i granulocytární řady, erytropoeza je někdy redukována. Nápadné jsou kompaktní (až „kohezní“) shluky zmnožených megakaryocytů s maturačními defekty. Megakaryocyty nabývají různé velikosti (od obrovských až po mikromegakaryocyty), jejich jádra jsou často hyperchromní a jsou méně členěná, takže nabývají až „obláčkovitěho“ („cloud-like“) vzhledu, zastihnou se i „nahá jádra“. Vzhled a distribuce megakaryocytů jsou základním diferenciálně diagnostickým znakem při odlišení ostatních Ph negativních CMPD, zejména esenciální trombocytémie.

Ve **fibrotické fázi** se v **PK** teprve postupně (nejčastěji až ve fázi MF-2) vyvíjí anémie, počet leukocytů může být snížený, normální i zvýšený. Je výrazná anizopoikilocytóza erytrocytů, typické jsou kapkovité erytrocyty, sférocyty, dále mohou být přítomny erytrocyty s Howellovými-Jollyho tělísky, bazofilním tečkováním, event. s Cabotovými prstenci a polychromazie. Typický je tzv. leukoerytoblas-

Tab. 1.5 Evropská klinická a patologická (ECP) kritéria pro diagnózu chronické idiopatické myelofibrózy (zdroj: Michiels, JJ., Kvasnicka, HM., Thiele, J. *Myeloproliferative disorders. Current perspectives on diagnostic criteria, histopathology and treatment in essential thrombocythemia, polycythemia rubra vera and chronic idiopathic myelofibrosis*. Verlag ME – Uwe Grunwald, 2005)

Klinická kritéria		Histologická kritéria	
A1	bez diagnózy předcházejícího či současného dalšího subtypu CMPD včetně CML nebo MDS	B1	• megakaryocytární a granulocytární proliferace a relativní snížení erytropoezy • abnormální shlukování a zmnožení atypických obrovských až středně velkých megakaryocytů s „obláčkovitými“ hypolobulovanými jádry a zřetelnou poruchou maturace
C1	<i>časné klinické stadium</i> Hb normální nebo mírná anemie grade I: Hb > 120 g/l mírná splenomegalie na ultrazvuku nebo CT trombocytóza > 400 × 10 ⁹ /l		
C2	<i>intermediární klinické stadium</i> anemie grade II: Hb > 100 g/l leukoerytoblastický obraz a/nebo kapkovité erythrocyty splenomegalie	Grading myelofibrózy u CIMF: MF-0 <i>prefibrotické stadium CIMF:</i> bez retikulinové fibrotizace MF-1 <i>časná CIMF:</i> mírná retikulinová fibrotizace MF-2 <i>manifestní CIMF:</i> výrazná retikulinová a mírná kolagenní fibrotizace MF-3 <i>pokročilá CIMF:</i> výrazná kolagenní fibrotizace +/- osteoskleróza	
C3	<i>pokročilé klinické stadium</i> anemie grade III: Hb < 100 g/l splenomegalie trombocytopenie, leukocytóza nebo leukopenie		
Diagnóza: Kombinace A1 + B1 odpovídá CIMF, každé další kritérium potvrzuje CIMF. C1 je obvykle spojeno s prefibrotickou (MF-0) nebo časnou fibrotickou (MF-1) CIMF.			

Hb – hemoglobin

Tab. 1.6 Hodnocení stupně fibrotizace v kostní dřeni – hodnocení se provádí pouze v buněčných (krvetvorných) úsecích dřene (zdroj: Thiele, J., Kvasnicka, HM., Facchetti, F., et al. *European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity*. *Haematologica*, 2005, 90, 8)

Stupeň	Popis
MF-0	nečetná disperzní retikulinová vlákna
MF-1	řidká síť retikulinových vláken, zejména perivaskulárně
MF-2	difuzní a hustá síť retikulinových vláken, někdy s fokálními hrubými svazky kolagenu a/nebo fokální osteosklerózou
MF-3	difuzní a hustá síť retikulinových vláken s hrubými svazky kolagenu, často spojená s výraznou osteosklerózou

tický obraz – jsou přítomny i méně zralé formy granulocytů včetně myeloblastů (pokud přesahují 10 %, jde již o akceleraci onemocnění a blížící se blastickou transformaci) i erytroidní prekursor – erytoblasty. Počet trombocytů může být různý, v rané fibrotické stadiu (MF-1, event. MF-2) je většinou ještě zvýšený, ve stadiích pokročilé myelofibrózy (typicky MF-3) bývá jejich počet snížený. Trombocyty jsou velmi různé co do velikosti, jsou přítomny také hypo- až agranulární formy, někdy bizarní a abnormálně velké útržky cytoplazmy megakaryocytů. Bývají nalezena také holá megakaryocytární jádra a mikromegakaryocyty. Dysgranulopoeza může být signálem progresu choroby. Skóre NAP bývá zvýšené.

Aspirát KD v této fázi bývá hypocelulární, často se jedná téměř úplně o periferní krev, mohou být zastíženy atypické megakaryocyty. Většinou však jde o „suchou“ punkci.

Histologie KD: Typickým histologickým nálezem ve fibrotické fázi je povšechný sklon k fibrotizaci dřene, nejprve retikulinové jemné (časná CIMF, MF-1), postupně narůstající (plně rozvinutá CIMF, MF-2, 3) s ukládáním kolagenních vláken a osteoplazií až k obrazu osteomyelosklerózy. Zmnožuje se vaskularizace, nápadná je

intrasinusoidální hematopoeza v dilatovaných sinusoidách. Buněčnost postupně klesá, později jsou přítomny i okrsy zcela bez hematopoezy. Poměrně časté jsou drobné reaktivní nodulární infiltráty z malých lymfocytů, v těchto případech je však nutné odlišit autoimunitní formy myelofibrózy. Zmnožení a akumulace blastů naznačuje počínající transformaci procesu do obrazu akutní leukemie. Histologický nálezn může předcházet klinický obraz či cytologický průkaz transformace.

FCM: Nález v periferní krvi i kostní dřeni je u CIMF, stejně jako u jiných CMPD, necharakteristický. V časných fázích onemocnění je v PK prokazatelné zvýšení endoteliálních progenitorových buněk s imunofenotypem CD34+ CD133+ a VEGFR-2+ (vascular endothelial growth factor). Klinicky užitečné může být stanovení hematopoetických progenitorových buněk CD34+ v PK. V pokročilejších stadiích CIMF bývají (na rozdíl od ET) výrazně zmnožené jak relativně, tak i absolutně.

Genetika: Více než třetina pacientů nese nespecifické cytogenetické abnormality jako del(13q), del(20q), +8, del(5q), parciální duplikaci 1q, -5, -7, +9 apod. Zhruba u poloviny pacientů je detekována mutace genu *JAK2*, v některých případech i homozygotní.

1.6 Esenciální trombocytemie

(obr. 1.82–1.90)

Esenciální trombocytemie (ET) je klonální myeloproliferativní onemocnění charakterizované postižením megakaryopoiezy se značnou trombocytemií v PK. Onemocnění striktně diagnostikované podle kritérií WHO (tab. 1.7), resp. ECP (tab. 1.8), nemá tendenci přecházet do myelofibrózy či sekundární AML. Nastane-li tato situace, jde spíše o efekt předchozí léčby cytostatiky.

V PK je značná trombocytemie – podle kritérií WHO $> 600 \times 10^9/l$ (podle kritérií ECP $> 400 \times 10^9/l$), míra anizocytózy trombocytů (PDW) je velká, trombocyty bývají často hypo- či agranulární. Někdy je přítomna mírná neutrofilie. Může být zvýšené skóre alkalické fosfatázy v neutrofilech. U pacientů po infarzaci sleziny mohou být známky hypersplenismu – Howellova-Jollyho tělíška, bazofilní tečkování erytrocytů.

Aspirát KD bývá normocelulární, s velkými shluky trombocytů a četnými megakaryocyty, většinou obrovskými až gigantickými, s hyperlobulovaným jádrem a s objemnou cytoplazmou. Častým nálezem je emperipoleza – přítomnost intaktních leukocytů či hematopoetických prekursorů v cytoplazmě megakaryocytů. Malé formy megakaryocytů se u neléčených případů nenacházejí.

Histologie KD: Kostní dřeň je obvykle normocelulární nebo jen lehce hypercelulární (na rozdíl od nápadně buněčné prefibrotické nebo časně CIMF) s nápadnou megakaryocytární proliferací bez retikulinové fibrotizace. Velké megakaryocyty s extrémně (až „parohovitě“) členěným jádrem tvoří rozvolněné shluky (někdy se zastihnou dva velké megakaryocyty v pozici „lábajících se“ megakaryocytů) a jsou přítomny i peritrabekulárně. Malé megakaryocyty s hypolobulovanými a hyperchromními jádry či nukleocytoplazmatickou asynchronií typické pro

CIMF nejsou přítomny, „dysplastické“ změny se objevují až v souvislosti s terapií. Léčbou ovlivněný terén neumožňuje jednoznačné rozlišení mezi jednotlivými typy myeloproliferací.

FCM: U esenciální trombocytemie nejsou přítomny žádné specifické imunofenotypové abnormality.

Genetika: 95 % pacientů má normální karyotyp, případné chromozomální aberace a genetické změny jsou podobné jako u PV. Asi u poloviny pacientů je detekována mutace genu *JAK2* v heterozygotní formě.

1.7 Chronické myeloproliferativní onemocnění neklasifikovatelné

Jako chronické myeloproliferativní onemocnění neklasifikovatelné (CMPD,U) se označují pouze případy, kdy klinické, laboratorní a morfologické rysy svědčí pro myeloproliferativní onemocnění, avšak nesplňují kritéria pro žádnou ze specifických jednotek nebo jde o překryv („overlap“) dvou či více jednotek. Vždy musí být jednoznačně vyloučeny reaktivní stavy imitující chronické myeloproliferativní onemocnění. Většinou jde o ještě ne plně rozvinuté formy PV, CIMF či ET či naopak o pokročilá stadia CMPD, kdy myelofibróza, osteoskleróza nebo transformace do agresivnějšího stadia onemocnění nedovolují určit původní onemocnění.

Nikdy není přítomen Ph chromozom či *BCR/ABL* fúzní gen. Mutace genu *JAK2* může být přítomna.

Naprostá většina případů s trombocytemií dříve nebo později splní kritéria CIMF podle WHO klasifikace. V některých případech může jít o histologicky nerozpoznanou prepolycytemickou fázi PV (ta je totiž definována pouze ECP kritérii, nikoliv WHO klasifikací).

Tab. 1.7 Kritéria WHO pro esenciální trombocytemii

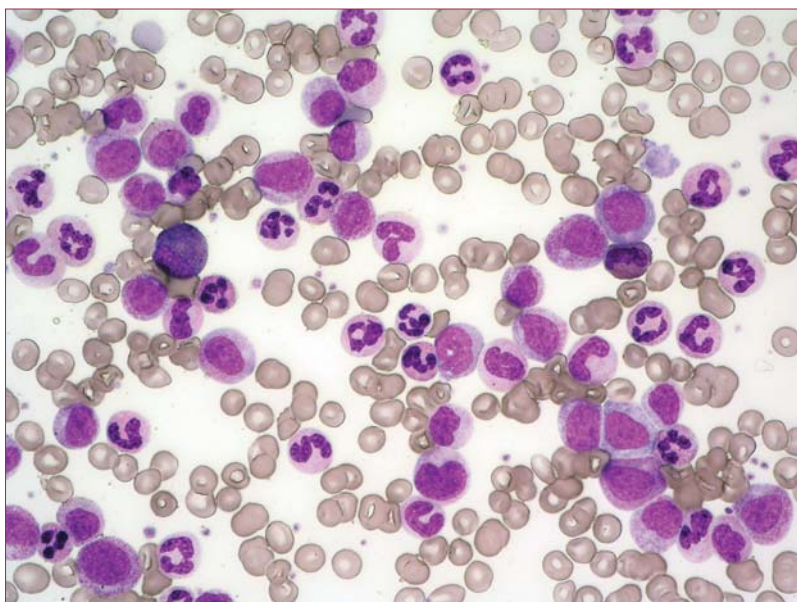
Pozitivní kritéria
- Přetrvávající počet trombocytů $> 600 \times 10^9/l$ - Biopsicky prokázaná proliferace především megakaryocytární řady se zvýšeným počtem obrovských zralých megakaryocytů
Kritéria k vyloučení
- Vyloučení PV: - normální objem erytrocytární masy nebo hemoglobin $< 185 \text{ g/l}$ u mužů či $< 165 \text{ g/l}$ u žen - přítomnost barvitelného Fe v kostní dřeni, normální hladina sérového feritinu nebo normální MCV erytrocytů (při nesplnění tohoto kritéria, resp. sideropenie, musí být PV vyloučena negativním testem léčby železem – nedojde ke zvýšení RCM nebo hladiny hemoglobinu na hodnoty diagnostické pro PV) - Vyloučení CML: - nepřítomnost <i>BCR/ABL</i> fúzního genu - Vyloučení chronické idiopatické myelofibrózy: - bez kolagenní fibrózy - žádná či jen minimální retikulinová fibróza - Vyloučení MDS: - nepřítomnost $\text{del}(5q)$, $\text{t}(3;3)(q21;q26)$, $\text{inv}(3)(q21q26)$ - nepřítomnost granulocytární dysplazie a žádné mikromegakaryocyty - Vyloučení reaktivní trombocytemie v souvislosti s: - probíhajícím zánětem nebo infekcí - malignitou - předchozí splenektomií

MCV – průměrný objem (mean cell volume) erytrocytů; RCM – celková erytrocytární masa (red cell mass)

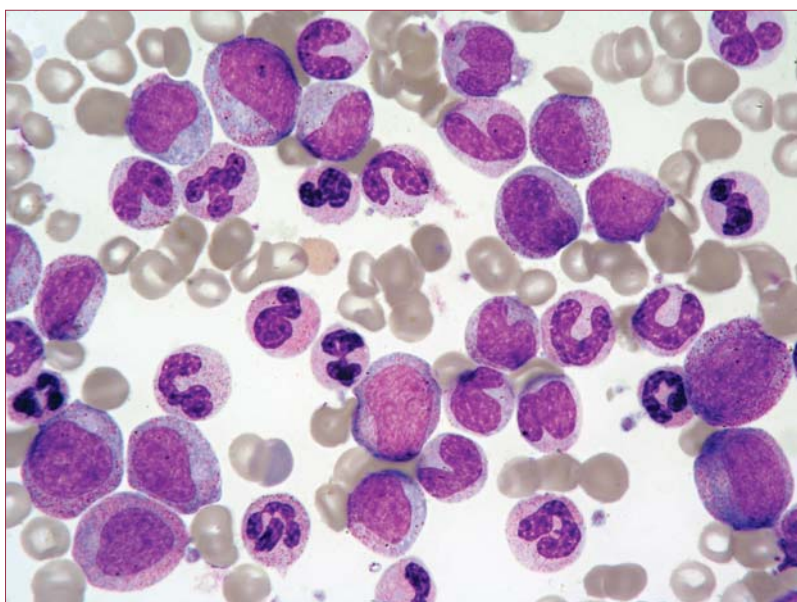
Tab. 1.8 Evropská klinická a patologická (ECP) kritéria pro diagnózu esenciální trombocytemie (zdroj: Michiels, JJ., Kvasnicka, HM., Thiele, J. *Myeloproliferative disorders. Current perspectives on diagnostic criteria, histopathology and treatment in essential thrombocythemia, polycythemia rubra vera and chronic idiopathic myelofibrosis*. Verlag ME – Uwe Grunwald, 2005)

Klinická kritéria		Histologická kritéria	
A1	přetrvávající zvýšení počtu trombocytů nad $400 \times 10^9/l$	B1	• převažující proliferace disperzních nebo řídce se shlukujících zvětšených až obrovských megakaryocytů s hyperlobulovanými jádry a se zralou cytoplazmou, bez nápadnějších cytologických abnormalit • bez známek proliferace granulopoezy či jejího posunu doleva • bez známek proliferace erytropoezy
A2	normální velikost sleziny nebo mírná splenomegalie zjištěná ultrazvukem	B2	žádné nebo jen hraniční zmnožení retikulinu
A3	normální nebo zvýšené skóre NAP a normální sedimentace erytrocytů		
A4	spontánní tvorba megakaryocytárních kolonií (CFU-Meg) a/nebo erytroidních kolonií (EEC)		
A5	vyloučení reaktivní trombocytózy		
A6	vyloučení diagnózy předcházejícího nebo současného jiného typu CMPD včetně CML nebo MDS		
A7	nepřítomnost Ph chromozomu nebo <i>BCR-ABL</i> fúzního genu		
Diagnóza: A1 + B1 + B2 odpovídá ET. Jakékoli další kritérium A potvrzuje diagnózu ET. Grade I ET – počet trombocytů $400\text{--}1000 \times 10^9/l$; grade II ET – počet trombocytů $1000\text{--}1500 \times 10^9/l$; grade III ET – počet trombocytů $> 1500 \times 10^9/l$			

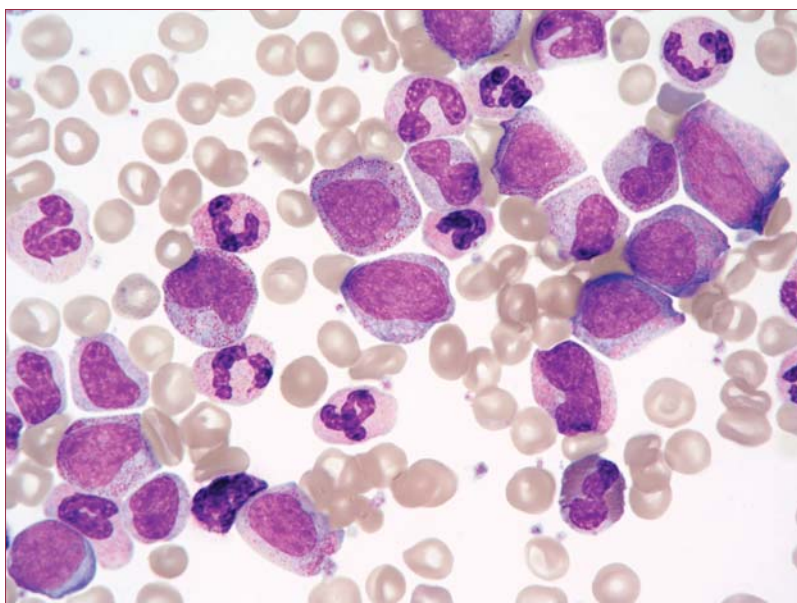
CFU-Meg – jednotka tvořící megakaryocytární kolonie (megakaryocytic colony-forming unit); EEC – endogenní tvorba erytroidních kolonií (endogenous erythroid colony formation)



Obr. 1.1 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; periferní krev. Výrazná leukocytóza, zastoupená různými vývojovými stadii neutrofilní granulopoezy, typické je výraznější zastoupení myelocytů a segmentů.

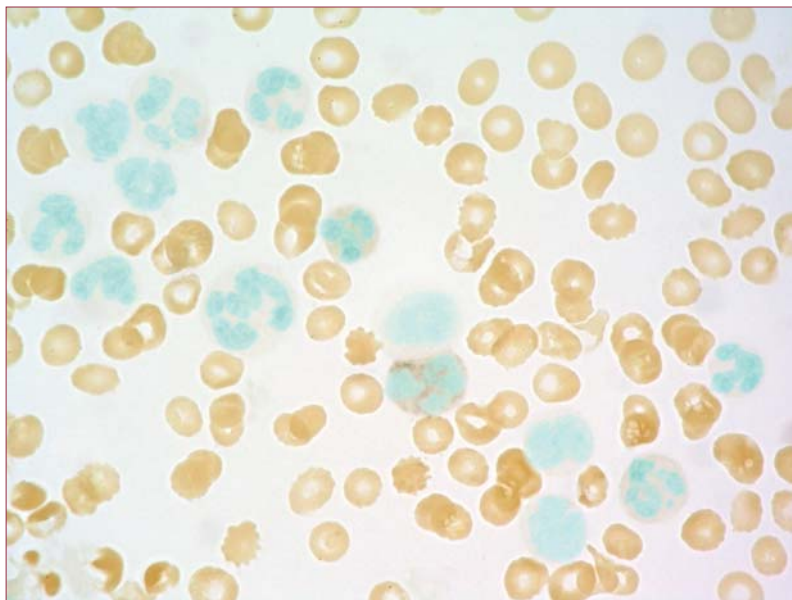


Obr. 1.2 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; periferní krev. Stejný případ jako obr. 1.1. Výrazná leukocytóza, zastoupeny jsou především myelocyty, tyče a segmenty, méně metamyelocyty, ojediněle promyelocyty či myeloblast (v pravém horním kvadrantu). Granulocyty jsou morfologicky normální.

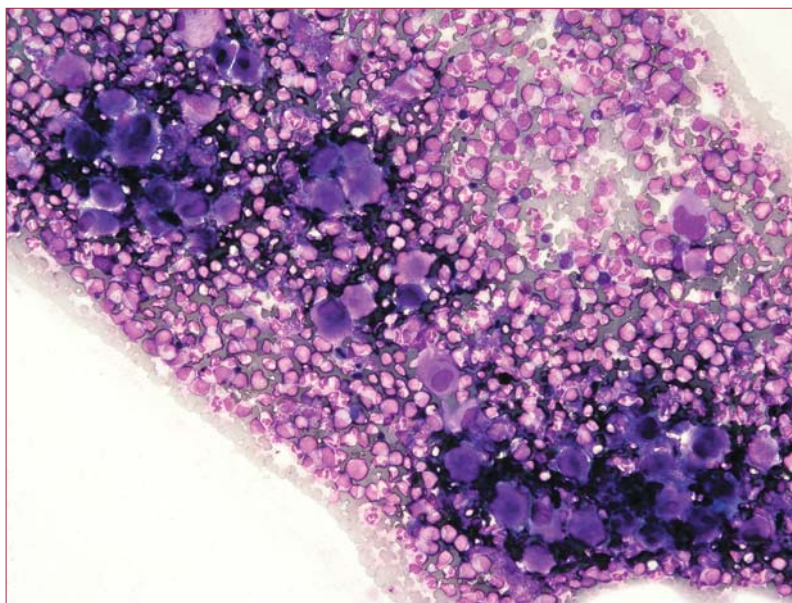


Obr. 1.3 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; periferní krev. Stejný případ jako obr. 1.1 a 1.2. Jsou zastoupena všechna vývojová stadia neutrofilní granulopoezy – v levém dolním rohu myeloblast, při pravém okraji pod sebou směrem ke středu obrázku jsou tři promyelocyty, dále jsou přítomny četné myelocyty, tyče, segmenty a méně metamyelocyty.

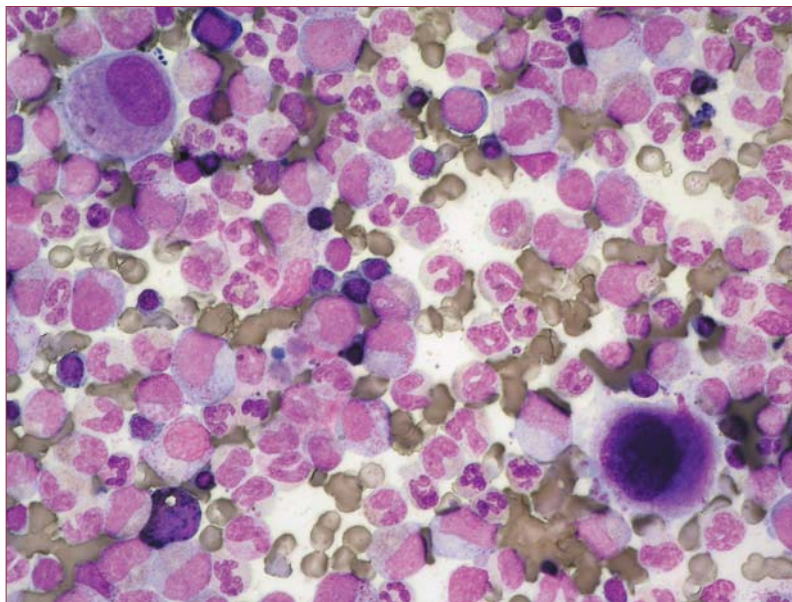
Obr. 1.4 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; periferní krev, průkaz alkalické fosfatázy v neutrofilech. Pod středem obrázku je neutrofil hodnocený semikvantitativně jako 1, ostatní neutrofile na obrázku jsou negativní. Skóre alkalické fosfatázy v neutrofilech je u CML v chronické fázi typicky snižené až nulové a je dáno pravděpodobně snížením až vymizením aktivity tohoto enzymu. Během případných interkurrentních infekcí a s akcelerací onemocnění se skóre alkalické fosfatázy v neutrofilech zvyšuje na normální hodnoty.

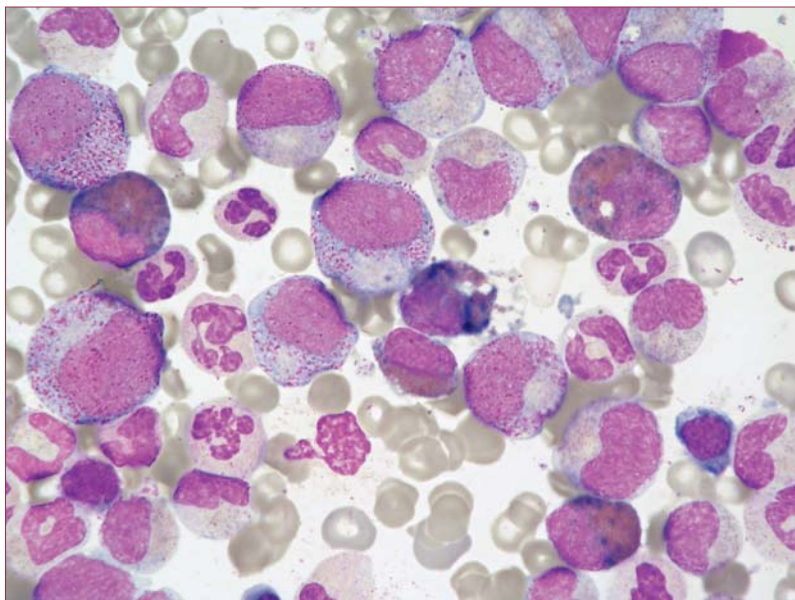


Obr. 1.5 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; aspirát KD. Výrazně hypercelulární aspirát, s výraznou proliferací granulopoezy a megakaryopoezy. Megakaryocyty často bývají v koncích nátěru ve shlucích a jsou menší, s hypolobulovanými jádry.

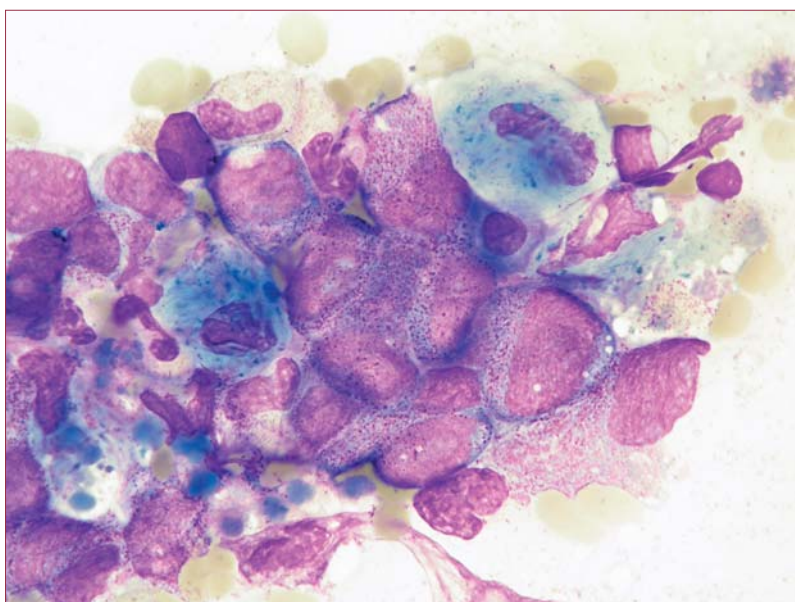


Obr. 1.6 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; aspirát KD. Výrazná proliferace neutrofilní granulopoezy při malém zvětšení, vlevo nahoře a vpravo dole malé jednojaderné megakaryocyty.

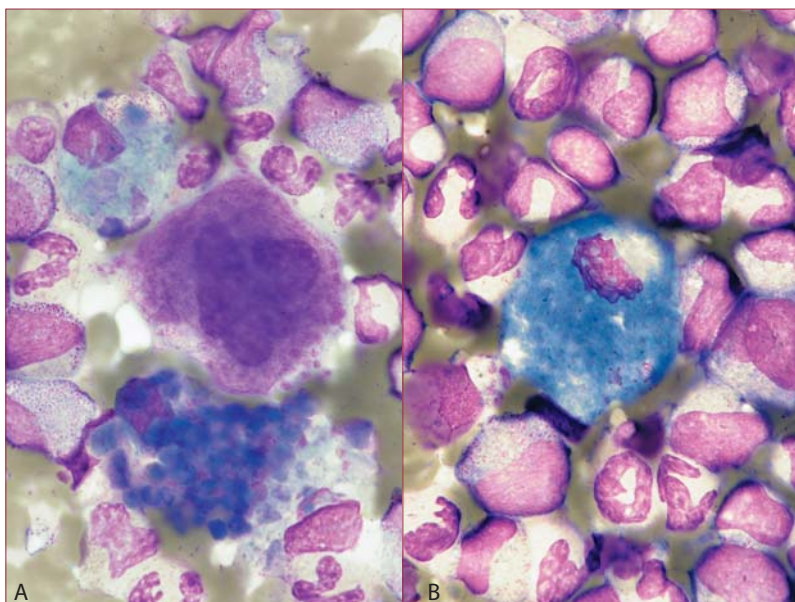




Obr. 1.7 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; aspirát KD. Stejný případ jako obr. 1.6. Kromě proliferace neutrofilní granulopoezy jsou zmnoženy také elementy eozinofilní granulopoezy – na obrázku jsou čtyři eozinofilní myelocyty a jeden metamyelocyt.

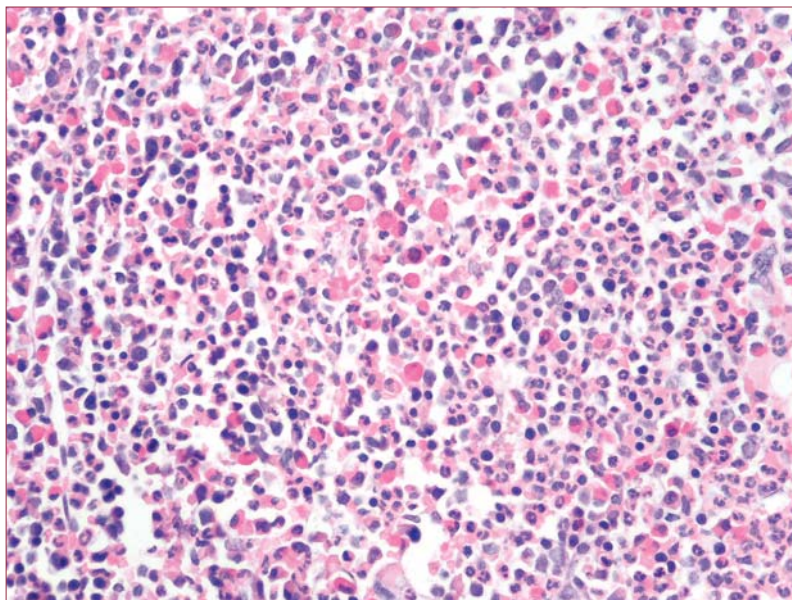


Obr. 1.8 Chronická myeloidní leukemie; aspirát KD. Relativně častý je u CML nález střádacích buněk, resp. makrofágů. Na obrázku jsou tři pseudo-Gaucherovy buňky – makrofágy střádající zbytky buněk a lipidové inkluze, jako důsledek insuficience enzymatického systému degradujícího glukocerebrosidy při zvýšeném buněčném obratu. Typická je pro ně přítomnost zde modravých (jindy šedomodrých) fibrilárních struktur v cytoplazmě, jejichž dvojlom v polarizačním světle je odlišuje od pravých Gaucherových buněk. V levém dolním rohu jsou velké modré inkluze, pocházející z rozpadlého sea-blue makrofágu – jiného typu střádacího makrofágu. Střádací buňky nemají u CML (ani jiných CMPD) zvláštní diagnostický ani klinický význam. Uprostřed je shluk promyelocytů.

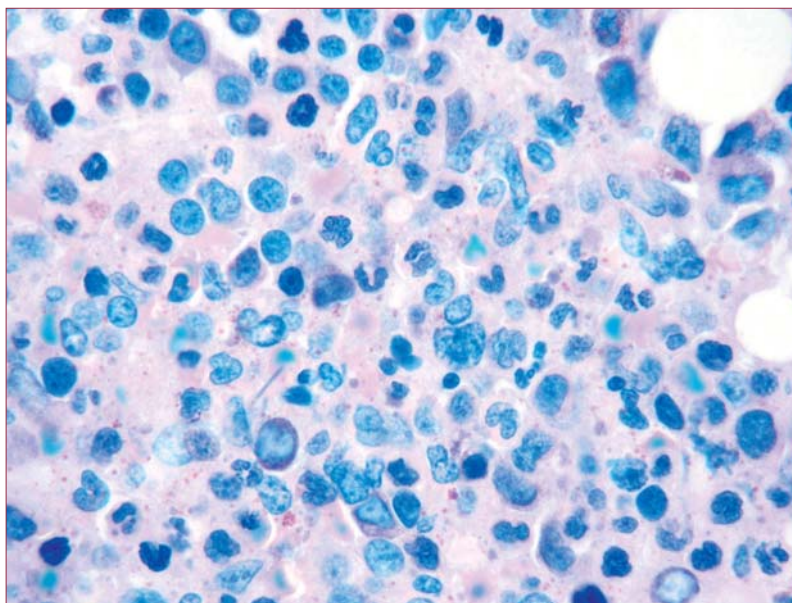


Obr. 1.9 Chronická myeloidní leukemie; aspirát KD. **A:** Nahoře je pseudo-Gaucherova buňka, dole sea-blue makrofág s velkými modrými inkluzemi, mezi nimi menší megakaryocyt. **B:** Sea-blue makrofág s odlišnou morfologií – jasně modré inkluze jsou menší a splývající – cytoplazma se tak barví více homogenně.

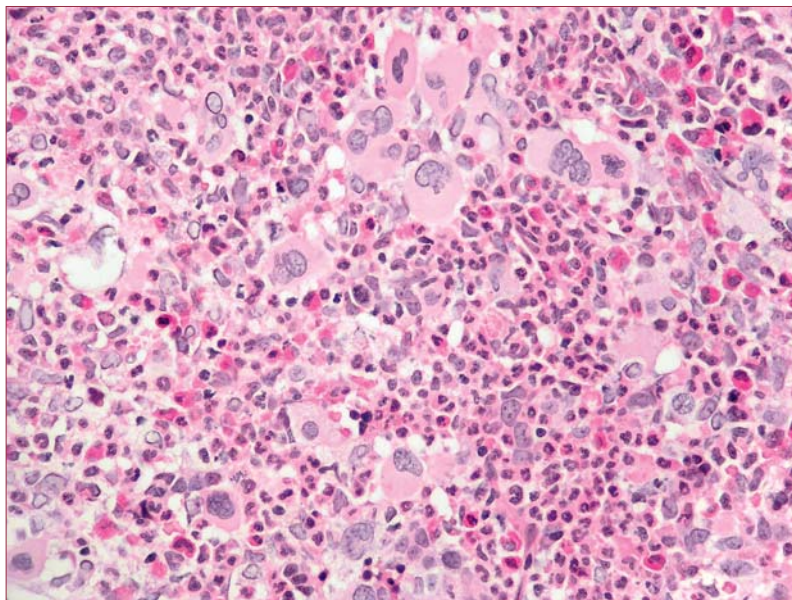
Obr. 1.10 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; trepanobiopsie KD. Hypercelulární hematopoeza, obrazu dominuje vyvíjející granulocytární řada – granulocytární subtyp. Erytropoeza je minimálně zastoupená a je rozptýlená. Megakaryocyty nejsou přítomny. Bez výraznější fibrotizace či hemosiderózy.

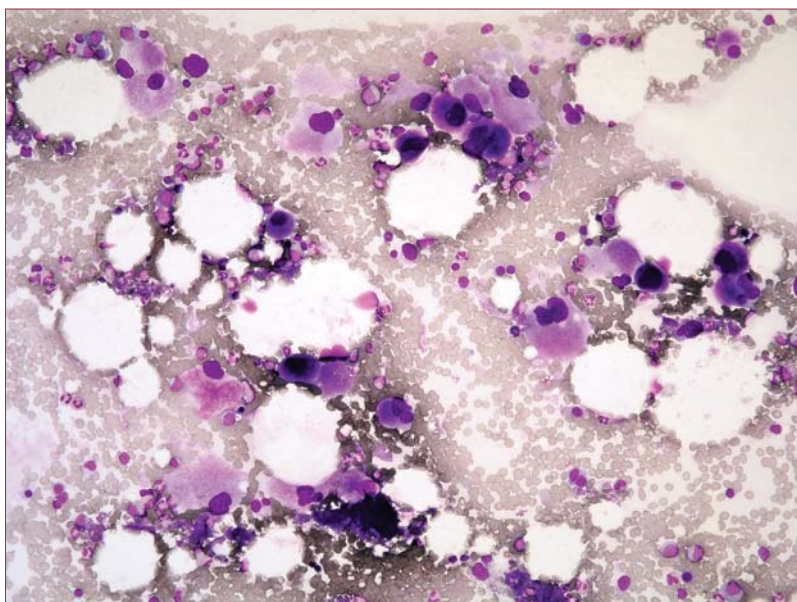


Obr. 1.11 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; trepanobiopsie KD, barvení podle Giemsy. Hypercelulární dřeň s převahou hematopoezy nad tukovou tkání. Převaha vyvíjející granulocytární řady bez zmnožení blastů, zcela nečetné disperzní erythroblasty.

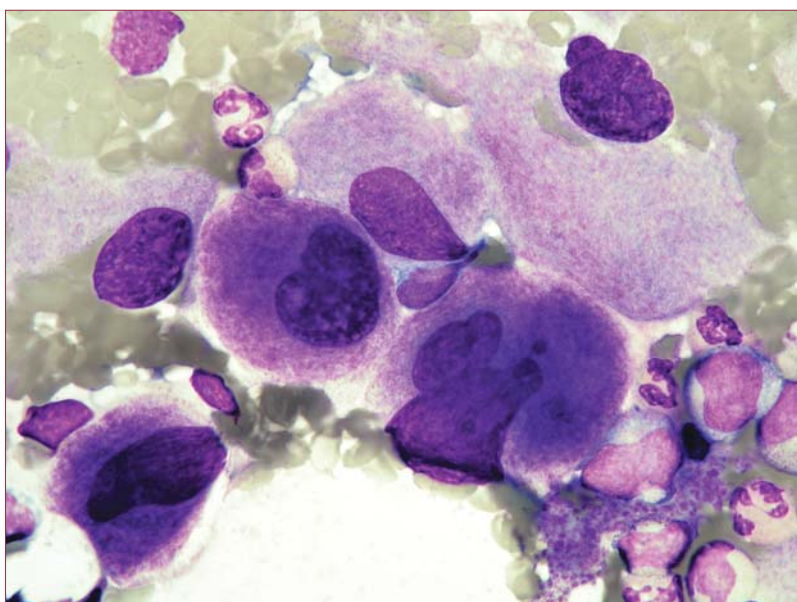


Obr. 1.12 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; trepanobiopsie KD. Megakaryocyty jsou v tomto případě silně zmnoženy a jeví tendenci ke shlukování – subtyp bohatý na megakaryocyty. Na rozdíl od ostatních myeloproliferací jsou buď poněkud menší, nebo průměrného vzhledu, bez výraznějších „dysplastických“ rysů.

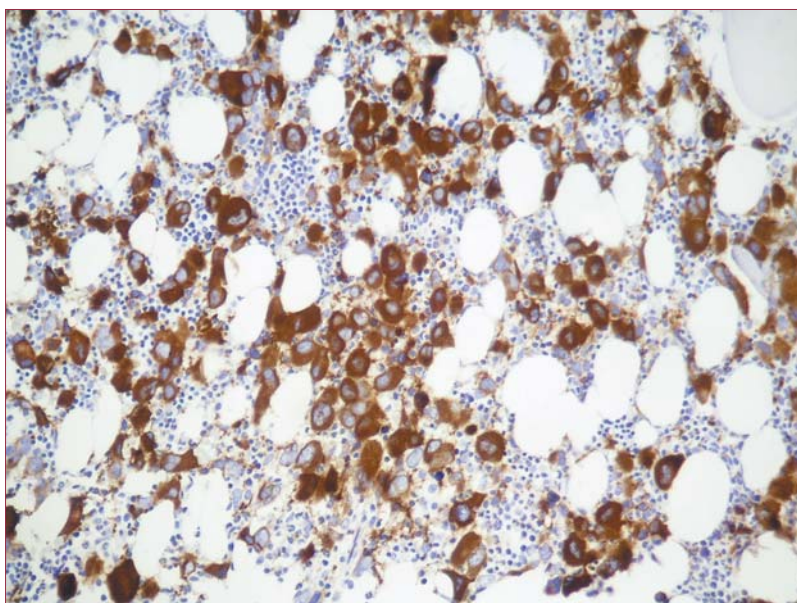




Obr. 1.13 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; aspirát KD. Středně buněčné nátěry se zmnožením megakaryopoezy. Megakaryocyty jsou často menší a mají hypolobulovaná jádra. Granulopoeza není zvýšeně zastoupena. Jde o neobvyklý případ s normální hodnou WBC bez posunu doleva, s lehkou anémií a výraznou trombocytemií – $2400 \times 10^9/l$, bez splenomegalie, BCR-ABL pozitivní. Dříve se tyto jednotky označovaly jako Ph⁺ esenciální trombocytemie.

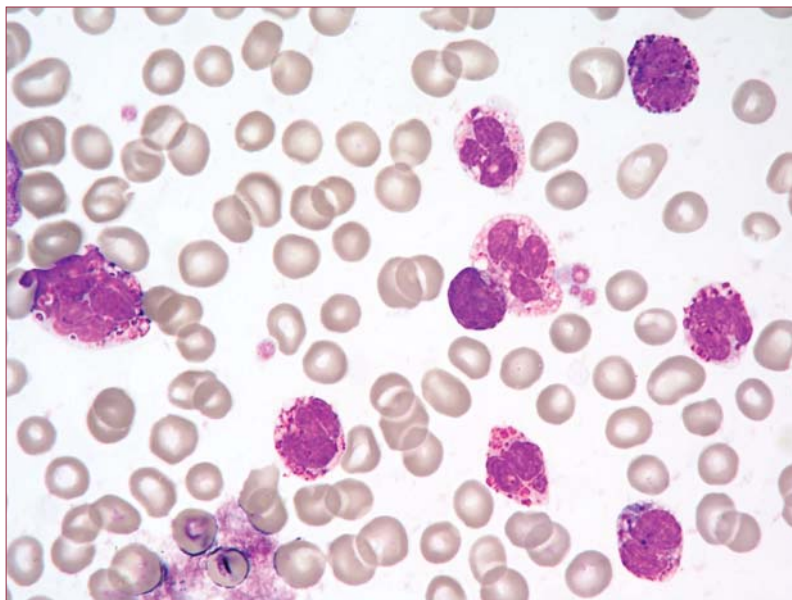


Obr. 1.14 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; aspirát KD. Stejný případ jako obr. 1.13. Shluk šesti malých megakaryocytů s hypolobulovanými jádry, jejich morfologie je pro CML typická.

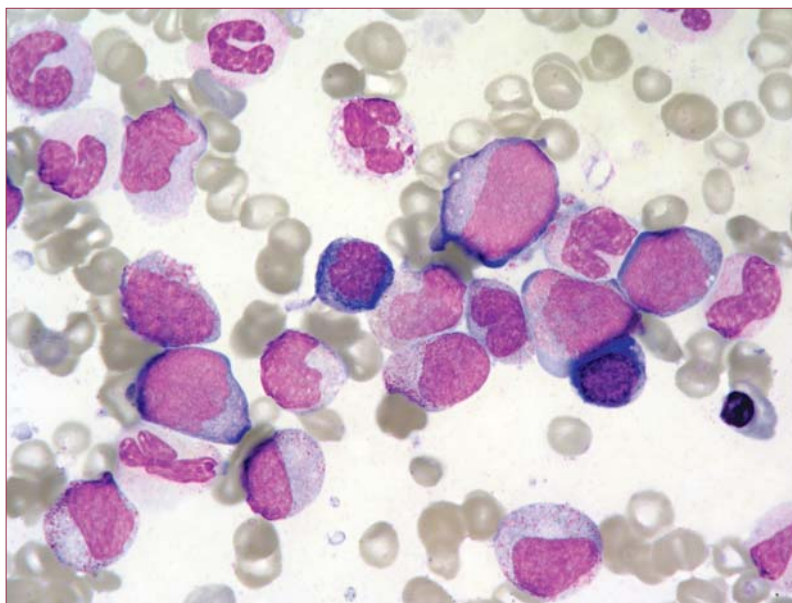


Obr. 1.15 Chronická myeloidní leukemie, chronická fáze; trepanobiopsie KD, imunohistologie. Stejný případ jako obr. 1.13 a 1.14. Zhruba normocelulární hematopoeza s extrémním zmnožením shlukujících se megakaryocytů – subtyp bohatý na megakaryocyty. Megakaryocyty zvýrazněné silnou cytoplazmatickou expresí CD61 jsou obvykle přiměřeně velké nebo menší, jádra mají hypolobulovaná, nepravidelná až oválná, většinou nikoli hyperchromní. Červená řada tvoří erytrony, granulocytární řada je vysloveně nenápadná, vyzrává, bez zmnožení blastů. Fibrotizace nebyla prokázána.

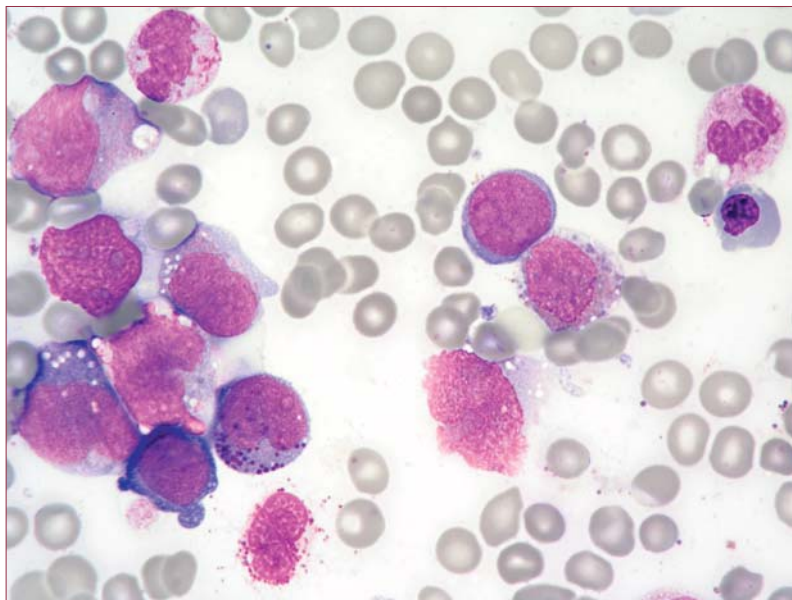
Obr. 1.16 Chronická myeloidní leukemie, akcelerovaná fáze; periferní krev. Bazofilie – na obrázku je devět bazofilů – osm segmentů a uprostřed pravděpodobně bazofilní metamyelocyt. Bazofilní segment vlevo je hyperdiploidní. Lehká anizocytóza erytrocytů.

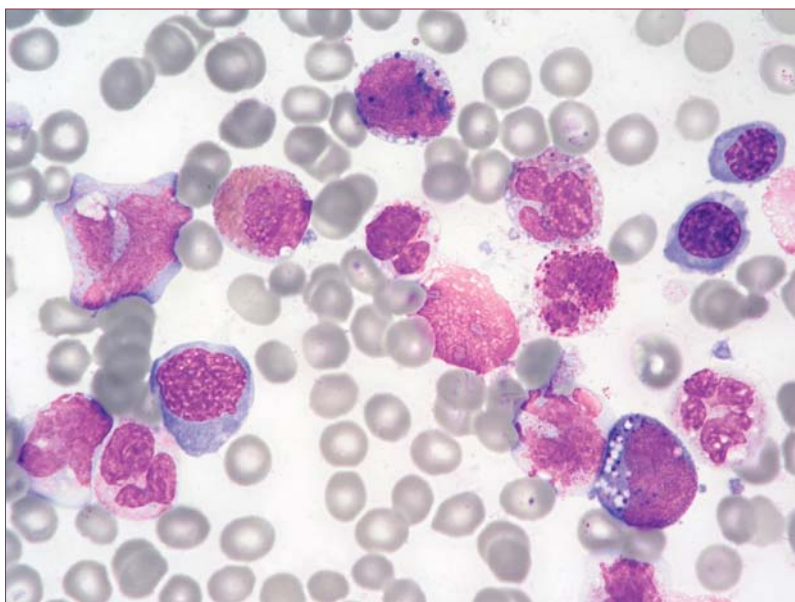


Obr. 1.17 Chronická myeloidní leukemie, akcelerovaná fáze; aspirát KD. Zmnožení myeloblastů – na obrázku jsou čtyři, ten horní z dvojice v levé polovině obrázku má v cytoplasmě hrubší azurofilní granula. Mimo ně jsou na obrázku zralejší elementy neutrofilní granulopoezy, tři monocyty (vlevo nahoře dva a napravo od středu pod velkým myeloblastem jeden). Nahoře uprostřed je bazofilní segment s částečně v.s. arteficiálně lyzovanými granuly, dále jsou zde tři erytroblasty (dva bazofilní a jeden pozdní polychromatofilní) s mírně atypickými tvary jader.

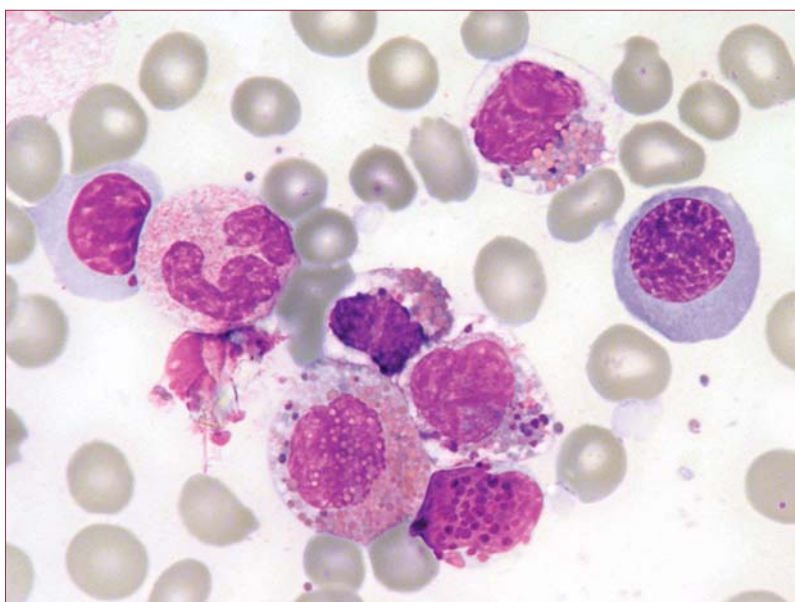


Obr. 1.18 Chronická myeloidní leukemie, akcelerovaná fáze; aspirát KD. V levém horním kvadrantu je nahoře atypický neutrofil s hrubými granuly v cytoplasmě a pod ním dva velké blasty III. typu (s četnými jemnými granuly, na pomezí myeloblastu a promyelocytu) s nepravidelným tvarem jádra a s vakuolizací cytoplazmy. V levém dolním kvadrantu jsou dva blasty – ten vlevo obrovský, s nepravidelným tvarem jádra a vakuolizací cytoplazmy i jádra, ten vpravo s bazofilními granuly. Mezi nimi je nahoře mladý element monocytoidní morfologie s drobnými protruzemi jádra a pod ním velmi mladý element červené řady – ve stadiu na pomezí proerytroblastu a bazofilního erytroblastu. V pravé polovině obrázku je blast, částečně degranulovaný eozinofilní metamyelocyt, neutrofilní segment s vakuolizací cytoplazmy a pozdní polychromatofilní erytroblast s atypickým tvarem jádra. Mimo to jsou na obrázku dvě rozpadající se holá jádra a dole rozpadající se bazofil.

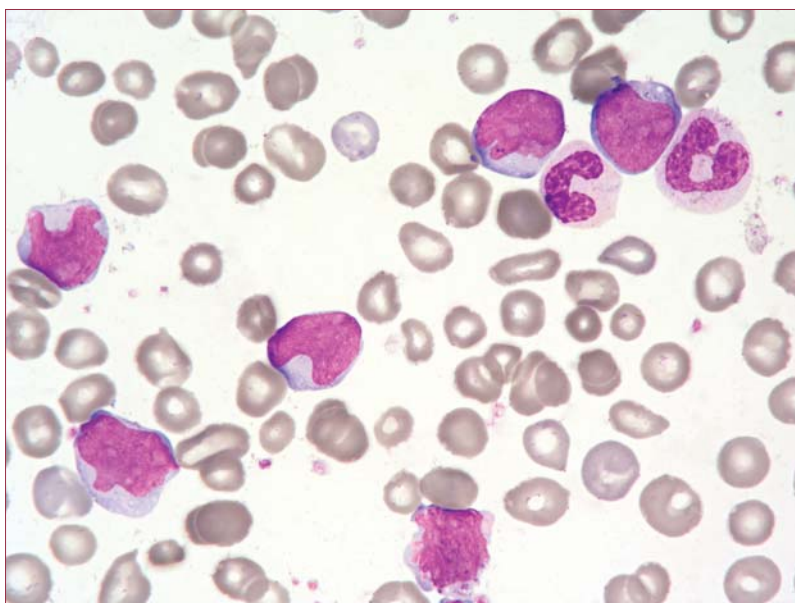




Obr. 1.19 Chronická myeloidní leukemie, akcelero-
vaná fáze; aspirát KD. Stejný případ jako obr. 1.18.
V levém horním kvadrantu je atypický promyelomo-
nocytoïdní element a zralý eozinofil, v levém dolním
kvadrantu dysplastický neutrofilní metamyelocyt
s atypickým tvarem jádra a hypogranulární cyto-
plazmou, neutrofilní segment a bazofilní erytroblast
s nepravidelnostmi jaderné membrány, pravděpo-
dobně v profázi. Nahoře uprostřed je bazofilní myelo-
cyt, pod ním téměř degranulovaný bazofilní seg-
ment. V pravém horním kvadrantu je eozinofilní a bazofilní
segment a dva časné polychromatofilní erytroblasty
s mírně nepravidelnými tvary jádra, v pravém dol-
ním kvadrantu je dysplastický neutrofilní metamyelo-
cyt s protruzemi jaderné hmoty, blastický element
s bazofilními granuly a vakuolizací a hypersegmen-
tovaný neutrofil s vakuolizací. Dysplastické změny
souvisejí nejen s progresí samotné choroby, ale také
s předchozí cytotoxickou terapií.



Obr. 1.20 Chronická myeloidní leukemie, akcelero-
vaná fáze; aspirát KD. Stejný případ jako obr. 1.18
a 1.19. Zmnožení většinou těžce abnormálních eozino-
filů – na obrázku jsou čtyři: degranulace, vakuo-
lizace cytoplazmy, perzistence tmavě purpurových
proeozinofilních granul. Dále jsou zřetelné neutrofilní
segment, časný polychromatofilní erytroblast s jader-
ním fragmentem, časný polychromatofilní megal-
oblast a atypický bazofil.



Obr. 1.21 Chronická myeloidní leukemie, myeloidní
blastický zvrát; periferní krev. Leukocytóza daná pří-
tomností blastů – ty mají v tomto případě nepravidelný
tvar jádra s jedním či více nukleoly a světle bazofilní
agranulární cytoplazmu. Blast dole uprostřed má čet-
né protruze jaderné hmoty do cytoplazmy. Myeloidní
původ blastů byl prokázán imunofenotypizací. Dále
jsou na obrázku dvě neutrofilní tyče, anizocytóza
a poikilocytóza erytrocytů.