

DĚTSKÁ HEMATOLOGIE

Lucie Šrámková
Jan Starý
Dagmar Pospíšilová
a kolektiv

JÁ JSEM KYMIRIAH



**Protože
chci umožnit svému
imunitnímu systému
bojovat.¹**

Ilustrativní foto. Nejedná se o skutečného pacienta.

TERAPEUTICKÉ INDIKACE | KYMIRIAH® (tisagenlecleucel) je indikován k léčbě¹:

- pediatrických a mladých dospělých pacientů do 25 let včetně s B-lymfocytární akutní lymfoblastickou leukémií (ALL), která je refrakterní, v relapsu po transplantaci nebo ve druhém nebo pozdějším relapsu,
- dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním difúzním velkobuněčným B-lymfomem (DLBCL) po dvou nebo více liniích systémové terapie,
- je indikován k léčbě dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním folikulárním lymfomem (FL) po dvou nebo více liniích systémové terapie.

KYMIRIAH®
(tisagenlecleucel) Dispersion
for IV infusion

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky. Podrobnosti o hlášení nežádoucích účinků viz SPC bod 4.8.

Zkrácená informace o přípravku • Kymiriah 1,2 × 10⁶ – 6 × 10⁶ buněk infúzní disperze • Složení: **Léčivá látka: Tisagenlecleucel - autologní T-lymfocyty geneticky modifikované k expresi anti-CD19 chimerického antigenního receptoru (životaschopné CAR pozitivní T-lymfocyty). **Indikace:** Přípravek Kymiriah je indikován k léčbě pediatrických a mladých dospělých pacientů do 25 let včetně s B-lymfocytární akutní lymfoblastickou leukémií (ALL), která je refrakterní, v relapsu po transplantaci nebo ve druhém nebo pozdějším relapsu, k léčbě dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním difúzním velkobuněčným B-lymfomem (DLBCL) po dvou nebo více liniích systémové terapie a k léčbě dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním folikulárním lymfomem (FL) po dvou nebo více liniích systémové terapie. **Dávkování:** Přípravek Kymiriah musí být podáván ve zdravotnickém zařízení s oprávněním k této léčbě. Léčba má být zahájena pod vedením a dohledem zdravotnického pracovníka, který má zkušenosti s léčbou hematologických malignit a je vyškolen pro podání přípravku Kymiriah a péči o pacienty léčené tímto přípravkem. Před podáním infuze musí být pro pacienta k dispozici toxičumab pro použití v případě syndromu z uvolnění cytokinů a vybavení pro emergentní péči. Zdravotnické zařízení musí mít v rozmezí 8 hodin přístup k dalším dávkám toxičumabu. Přípravek Kymiriah je určen pouze pro autologní použití. **Dávkování u pediatrických a mladých dospělých pacientů s B-lymfocytární ALL:** Pacienti s tělesnou hmotností 50 kg a méně: 0,2 až 5 × 10⁶ životaschopných CAR pozitivních T-lymfocytů/kg tělesné hmotnosti. Pacienti s tělesnou hmotností nad 50 kg: 0,1 až 2,5 × 10⁶ životaschopných CAR pozitivních T-lymfocytů (není založeno na tělesné hmotnosti). **Dávkování u dospělých pacientů s DLBCL a FL:** 0,6 až 6 × 10⁶ životaschopných CAR pozitivních T-lymfocytů (není založeno na tělesné hmotnosti). Pro minimalizaci potenciální akutní reakce na infuzi se doporučuje, aby byli pacienti premedikováni paracetamolem a difenhydraminem nebo jiným H1 antihistaminikem přibližně 30 až 60 minut před podáním infuze přípravku Kymiriah. Kortikosteroidy se nemají nikdy užívat s výjimkou život ohrožujícího stavu. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoliv pomocnou látku. Musí být zvaženy kontraindikace lymfodepleční chemoterapie. **Zvláštní upozornění/upozornění:** Aby se zlepšila sledovatelnost, má být uchováván název přípravku, číslo šarže a jméno pacienta po dobu 30 let. Infuze přípravku Kymiriah má být pozdržena, pokud má pacient jakýkoliv z následujících stavů: nevyřešené závažné nežádoucí účinky (zejména plicní reakce, srdeční reakce nebo hypotenze) z předchozích chemoterapií, aktivní nekontrolovaná infekce, akutní reakce štepů proti hostiteli, významné klinické zhoršení nádorové záležitosti leukémie nebo rychlá progresse lymfomu po lymfodepleční chemoterapii. Zdravotnické pracovníci, kteří podávají přípravek Kymiriah, musí po léčbě u pacientů sledovat známky a příznaky infekcí a v případě potřeby je vhodně léčit. Pacienti léčení přípravkem Kymiriah nemají darovat krev ani poskytovat svoje orgány, tkáně nebo buňky. Po podání infuze přípravku Kymiriah byl často pozorován syndrom z uvolnění cytokinů, včetně fatálních nebo život ohrožujících stavů. Ve většině případů došlo k rozvoji syndromu z uvolnění cytokinů mezi 1. až 10. dnem (medián doby nástupu 3 dny) po podání infuze přípravku Kymiriah u pediatrických a mladých dospělých pacientů s B-lymfocytární ALL, mezi 1. až 9. dnem (medián nástupu 3 dny) po infuzi Kymiriah u dospělých pacientů s DLBCL a mezi 1. až 14. dnem (medián nástupu 4 dny) po infuzi Kymiriah u dospělých pacientů s FL. Medián doby do vyřešení syndromu z uvolnění cytokinů byl 8 dnů u pacientů s B-lymfocytární ALL, 7 dnů u pacientů s DLBCL a 4 dny u pacientů s FL. Při podávání přípravku Kymiriah se často vyskytují neurologické nežádoucí účinky, zejména encefalopatie, stav zmatenosti nebo delirium. Většina neurologických nežádoucích účinků se objevila během 8 týdnů po podání infuze přípravku Kymiriah a byly přechodné. Pacienti s aktivní nekontrolovanou infekcí nemají zahajovat léčbu přípravkem Kymiriah, dokud není infekce zcela vyřešena. Po podání infuze přípravku Kymiriah se u pacientů často vyskytují závažné infekce, včetně život ohrožujících nebo fatálních infekcí. Pacienti mají být sledováni pro známky a příznaky infekce. Po podání infuze přípravku Kymiriah byla u pacientů často pozorována febrilní neutropenie, která může probíhat souběžně se syndromem z uvolnění cytokinů. Cytopenie se může projevovat po dobu několika týdnů následujících po lymfodepleční chemoterapii a podání infuze přípravku Kymiriah. U pacientů léčených přípravkem Kymiriah se mohou vyvinout sekundární malignity nebo relapsy jejich rakoviny. ¹ Po léčbě hematologických malignit T-lymfocyty s CAR zacílené na BCMA nebo CD19, včetně přípravku Kymiriah, byly hlášeny malignity T-lymfocytů. Malignity T-lymfocytů, včetně CAR pozitivních malignit, byly hlášeny několik týdnů až let po léčbě T-lymfocyty s CAR zacílené na CD19 nebo BCMA. Vyskytly se fatální reakce. ² Kvůli sekundárním malignitám mají být pacienti caeloživotně sledováni. Hypogamaglobulinémie a agamaglobulinémie se mohou vyskytnout u pacientů po podání infuze přípravku Kymiriah. Po léčbě přípravkem Kymiriah je třeba monitorovat hladiny imunoglobulinů. Přiležitostně by se pozoroval TLS, který může být závažný. Pro minimalizaci rizika TLS mají pacienti se zvýšenou hladinou kyseliny močové nebo s vysokou nádorovou zátěží před podáním přípravku Kymiriah dostat allopurinol nebo alternativní profylaxi. Nedoporučuje se, aby byl pacientům podán přípravek Kymiriah během 4 měsíců od alogenní transplantace kmenových buněk. Leukaferezni materiál od pacientů pozitivně testovaných na HBV, HCV a HIV nebudou akceptovány pro výrobu přípravku Kymiriah. Přípravek Kymiriah se nedoporučuje, pokud má pacient labující CD19-negativní leukemii po předchozí anti-CD19 terapii. Tento léčivý přípravek obsahuje pomocné látky dextran a dimethylsulfoxid (DMSO). Každá z těchto pomocných látek může po parenterálním podání způsobit anafylaktickou reakci po parenterálním podání. Pacienti, kterým nikdy dříve nebyl podán dextran a DMSO, mají být pečlivě sledováni během prvních minut infuze. **Interakce:** Vakcinace vakcínami se nedoporučuje alespoň 6 týdnů před začátkem lymfodepleční chemoterapie, během léčby přípravkem Kymiriah a do zotavení imunity po léčbě přípravkem Kymiriah. Těhotenství a kojení: Před zahájením léčby přípravkem Kymiriah je nutné ženám ve fertilním věku provést těhotenství test. Podávání přípravku Kymiriah se v těhotenství a u žen ve fertilním věku, které nepoužívají antikoncepci, nedoporučuje. Těhotenství po ukončení léčby přípravkem Kymiriah má být diskutováno s ošetřujícím lékařem. **Vliv na řízení vozidel a obsluhu strojů:** Přípravek Kymiriah má výrazný vliv na schopnost řídit a obsluhovat stroje. Vzhledem k možnému rozvoji neurologických nežádoucích účinků, včetně změn duševního stavu nebo epileptických záchvatů, jsou pacienti, kteří dostávají přípravek Kymiriah, vystaveni riziku změněného nebo sníženého vědomí nebo ztráty koordinace a musí se zdržet řízení nebo obsluhy těžkých nebo potenciálně nebezpečných strojů po dobu 8 týdnů po podání infuze. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: infekce neznámého původu, virové infekce, bakteriální infekce, anémie, febrilní neutropenie, neutropenie, trombocytopenie, syndrom z uvolnění cytokinů, hypogamaglobulinémie, snížená chuť k jídlu, hypokalemie, hypofosfátemie, bolest hlavy, encefalopatie, tachykardie, krvácení, hypertenze, arytmie, hypotenze, kašel, dyspnoe, hypoxie, průjem, nauzea, zvracení, zácpa, bolest břicha, vyrážka, artralgie, muskuloskeletální bolest, akutní selhání ledvin, pyrexie, únava, otok, bolest, snížený počet lymfocytů, snížený počet leukocytů, snížená hladina hemoglobinu, snížený počet neutrofilů, snížený počet trombocytů, zvýšené hodnoty jaterních enzymů. Časté: mykotické infekce, hemofagocytární lymfositicytóz, leukopenie, pancytopenie, koagulopatie, lymfopenie, reakce na infuzi, reakce štepů proti hostiteli, hypomagnezémie, hypocalbinémie, hyperglykémie, hypernatrémie, hyperurikémie, hyperkalemie, syndrom nádorového rozpadu, hyperkalemie, hyperfosfátemie, hypernatrémie, hyperfibrinémie, hypokalemie, anxieta, delirium, poruchy spánku, závrať, poranění neuropatie, třes, motorická dysfunkce, epileptické záchvaty, poruchy řeči, neurálie, zrakové postižení, srdeční selhání, srdeční zástava, fibrilace síní, trombóza, syndrom kapilárního úniku, orofaryngeální bolest, plicní edém, nazální kongesce, pleurální výpotek, tachypnoe, stomatitida, bítlší distenze, sucho v ústech, ascites, hyperbilirubinémie, pruritus, erytém, hyperhidróza, noční pocení, bolest zad, myalgie, příznaky podobné chřipce, astenie, syndrom multiorганové dysfunkce, zimnice, zvýšené hodnoty bilirubinu v krvi, snížená tělesná hmotnost, snížená hladina fibrinogenu v krvi, zvýšené hodnoty mezního normalizovaného poměru, zvýšená hladina D-dimerů, prodloužený aktivovaný parciální tromboplastinový čas, prodloužený protrombinový čas. **Další nežádoucí účinky - viz úplná informace o přípravku.** **Podmínky uchování:** Přípravek uchovávejte a připravujte při teplotě ≤ -120 °C, např. v nádobě pro kryogenní uchování v plynné fázi kapalného dusíku a musí zůstat zmrazený, dokud není pacient připraven k léčbě, aby bylo zajištěno, že pacientovi jsou podány životaschopné buňky. Po rozmrazení znovu nezmrázíte. **Dostupné léčivé formy/velikosti balení:** 1,2 × 10⁶ – 6 × 10⁶ buněk infúzní disperze (1 nebo více infúzních vaků (10 – 50 ml)). **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. **Reg. číslo:** EU/1/18/1297/001. **Datum registrace:** 23.8.2018. **Datum poslední revize textu SPC:** 1.8.2024. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Novartis Europharm Limited, Vista Building, Elm Park, Merion Road, Dublin 4, Irsko. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis, uhrada přípravku dosud nebyla stanovena. ¹Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku.**

REFERENCE: 1. Kymiriah 1,2 × 10⁶ – 6 × 10⁶ buněk infúzní disperze. Souhrn údajů o léčivém přípravku, datum revize textu: 1.8.2024.

**Děkujeme společnostem, které v této publikaci inzerují
nebo její vydání jiným způsobem podpořily (v abecedním pořadí):**

Amgen s.r.o.

Novartis s.r.o.

Octapharma CZ, s.r.o.

Pfizer, spol. s r.o.

ROCHE s.r.o.

Swedish Orphan Biovitrum s.r.o.

Sysmex CZ s.r.o.

DĚTSKÁ HEMATOLOGIE

Lucie Šrámková
Jan Starý
Dagmar Pospíšilová
a kolektiv

GRADA Publishing

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**.

Automatizovaná analýza textů nebo dat ve smyslu čl. 4 směrnice 2019/790/EU a použití této knihy k trénování AI jsou **bez souhlasu nositele práv zakázány**.

**doc. MUDr. Lucie Šrámková, Ph.D., prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.,
prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D., a kolektiv**

Dětská hematologie

Editoři

doc. MUDr. Lucie Šrámková, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D.

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

Kolektiv autorů

MUDr. Petr Birke, doc. MUDr. Jan Blatný, Ph.D., MUDr. Michaela Čepelová, Ph.D., RNDr. Martina Divoká, Ph.D., doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D., MUDr. Renata Formánková, Ph.D., doc. MUDr. Eva Froňková, Ph.D., MUDr. Ivana Hadačová, doc. Mgr. Monika Horváthová, Ph.D., prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc., prof. MUDr. Jan Janota, Ph.D., Mgr. Magdalena Jelínková, doc. MUDr. Eva Karásková, Ph.D., MUDr. Edita Kabičková, Ph.D., Mgr. Katarína Hlušíčková Kapraňová, Ph.D., MUDr. Petra Keslová, Ph.D., Mgr. Lukáš Kolařík, Mgr. Pavla Kořalková, Ph.D., Mgr. Barbora Králová, MUDr. Barbora Ludíková, Ph.D., MUDr. Jan Máchal, MUDr. Pavel Mazánek, MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D., Mgr. Renáta Mojžíková, Ph.D., prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc., MUDr. Zbyněk Novák, prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D., prof. MUDr. Petr Sedláček, CSc., MUDr. Petr Smíšek, prof. MUDr. Jan Starý, DrSc., MUDr. Martina Suková, doc. MUDr. Lucie Šrámková, Ph.D., MUDr. Karel Švojgr, Ph.D., doc. MUDr. Jana Volejníková, Ph.D., MUDr. Tomáš Votava, Ph.D., MUDr. Ondřej Zapletal, Ph.D., MUDr. Ester Zápotocká, MUDr. Kateřina Zdráhalová

Recenzenti

prof. MUDr. Jan Lebl, CSc., FCMA

Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. MUDr. Felix Votava, Ph.D.

Klinika dětí a dorostu 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha

Vydání odborné knihy schválila Vědecká redakce nakladatelství Grada Publishing, a.s.

Obrázky a fotografie dodali autoři. Obr. 8.1 překreslil Jiří Hlaváček.

Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2024

© Grada Publishing, a.s., 2024

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 9840. publikaci

Šéfredaktorka lékařské literatury MUDr. Michaela Lízlerová

Odpovědná redaktorka BcA. Radka Jančová, DiS.

Sazba a zlom Lucie Koubová

Počet stran 508

1. vydání, Praha 2024

Vytiskla D.R.J. TISKÁRNA RESL, s.r.o., Příbram

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, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění však pro autory ani pro nakladatelství nevyplývají žádné právní důsledky.

ISBN 978-80-271-7706-6 (pdf)

ISBN 978-80-271-5143-1 (print)

Editori

doc. MUDr. Lucie Šrámková, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D.

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

Kolektiv autorů

MUDr. Petr Birke

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

doc. MUDr. Jan Blatný, Ph.D.

Oddělení dětské hematologie a biochemie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně a Fakultní nemocnice Brno

MUDr. Michaela Čepelová, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

RNDr. Martina Divoká, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.

Ústav biologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

MUDr. Veronika Fiamoli, Ph.D.

Oddělení dětské hematologie a biochemie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně
a Fakultní nemocnice Brno

MUDr. Renata Formánková, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. MUDr. Eva Froňková, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

MUDr. Ivana Hadačová

Oddělení klinické hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. Mgr. Monika Horváthová, Ph.D.

Ústav biologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

prof. MUDr. Jan Janota, Ph.D.

Gynekologicko-porodnická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Mgr. Magdalena Jelínková

Oddělení dětské hematologie a biochemie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně a Fakultní nemocnice Brno

MUDr. Edita Kabičková, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. MUDr. Eva Karásková, Ph.D.

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

Mgr. Katarína Hlušíčková Kapraňová, Ph.D.

Ústav biologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

MUDr. Petra Keslová, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Mgr. Lukáš Kolařík

Oddělení klinické hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Mgr. Pavla Kořalková, Ph.D.

Ústav biologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

Mgr. Barbora Králová

Ústav biologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

MUDr. Barbora Ludíková, Ph.D.

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Jan Máchal

Oddělení dětské hematologie a biochemie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně a Fakultní nemocnice Brno

MUDr. Pavel Mazánek

Oddělení dětské hematologie a biochemie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně a Fakultní nemocnice Brno

MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Mgr. Renáta Mojžíková, Ph.D.

Ústav biologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc.

Ústav patologické fyziologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha

MUDr. Zbyněk Novák

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D.

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

prof. MUDr. Petr Sedláček, CSc.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

MUDr. Petr Smíšek

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

MUDr. Martina Suková

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. MUDr. Lucie Šrámková, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

MUDr. Karel Švojgr, Ph.D.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. MUDr. Jana Volejníková, Ph.D.

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

MUDr. Tomáš Votava, Ph.D.

Dětská klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni a Fakultní nemocnice Plzeň

MUDr. Ondřej Zapletal, Ph.D.

Oddělení dětské hematologie a biochemie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně
a Fakultní nemocnice Brno

MUDr. Ester Zápotocká

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

MUDr. Kateřina Zdráhalová

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Recenzenti

prof. MUDr. Jan Lebl, CSc., FCMA

Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

doc. MUDr. Felix Votava, Ph.D.

Klinika dětí a dorostu 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha

Krvácivé epizody pod kontrolou – jednoduše a pohodlně¹

Profylaktická léčba hemofilie A
bez použití koagulačního faktoru.²




HEMLIBRA[®]
em ic i z u m a b



HEMLIBRA[®]

emicizumab

HEMLIBRA 30 mg/ml injekční roztok, HEMLIBRA 150 mg/ml injekční roztok – Zkrácená informace o přípravku • **Účinná látka:** emicizumab. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Roche Registration GmbH, Grenzach-Wyhlen, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/18/1271/001-004. **Indikace:** Přípravek Hemlibra je indikován k rutinní profylaxi krvácivých epizod u pacientů s hemofilii A s inhibítorem faktoru VIII, u pacientů s těžkou hemofilii A (vrozený deficit koagulačního faktoru VIII, FVIII < 1 %) bez inhibitoru faktoru VIII a u pacientů se středně těžkou hemofilii A (vrozený deficit koagulačního faktoru VIII, FVIII ≥ 1 % a ≤ 5 %) se závažným krvácivým fenotypem bez inhibitoru faktoru VIII. Přípravek Hemlibra mohou používat všechny věkové kategorie. **Dávkování a způsob podání:** Léčba musí být zahájena pod dohledem lékaře se zkušeností s léčbou hemofilie a/nebo krvácivých poruch. Den před zahájením léčby přípravkem Hemlibra musí být ukončena léčba (včetně rutinní profylaxe) bypassovými přípravky. Profylaxe faktorem VIII (FVIII) může pokračovat během prvních 7 dnů léčby přípravkem Hemlibra. Doporučená dávka je 3 mg/kg jednou týdně během prvních 4 týdnů (nasyčovací dávka), po kterých následuje od týdne 5 udržovací dávka buď 1,5 mg/kg jednou týdně, nebo 3 mg/kg každé dva týdny nebo 6 mg/kg každé čtyři týdny, všechny dávky podávané formou subkutánní injekce. Režim nasycovací dávky je vždy stejný bez ohledu na režim udržovací dávky. Při sestavování celkového objemu dávky pro podání nesměšujte různé koncentrace roztoku Hemlibra (30 mg/ml a 150 mg/ml) v jedné injekční stříkačce. Nepodávejte objem větší než 2 ml na injekci. Přípravek Hemlibra je určen k dlouhodobé profylaktické léčbě. Nejsou doporučeny žádné úpravy dávkování přípravku Hemlibra. Přípravek Hemlibra je určen pouze k subkutánnímu použití a musí být aplikován pomocí vhodné aseptické techniky. Během léčby přípravkem Hemlibra mají být jiné léčivé přípravky k subkutánní aplikaci aplikovány přednostně v jiných místech. Přípravek Hemlibra je určen k používání pod vedením zdravotnického pracovníka. Po důkladném zaskolení v aplikaci subkutánní injekce jej může aplikovat pacient nebo pečovatel, uzná-li to lékař za vhodné. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Imunogenita:** U pacientů s klinickými projevy ztráty účinnosti (např. nárůst počtu průlomových krvácivých příhod) je třeba okamžitě zhodnotit etiologii a při podezření, že příčinou jsou neutralizující protilátky proti emicizumabu, je třeba zvážit jiné možnosti léčby. **Významné interakce:** S emicizumabem nebyly provedeny žádné adekvátní ani dostatečně kontrolované studie interakcí. Klinické zkušenosti naznačují, že emicizumab interaguje s aPCC. Emicizumab zvyšuje koagulační potenciál; dávka FVIIa nebo FVIII potřebná k zajištění hemostázy může být proto nižší než bez profylaxe přípravkem Hemlibra. Zkušenosti se souběžným podáváním antifibrinolytik s aPCC nebo rFVIIa u pacientů léčených emicizumabem jsou omezené. Při podávání systémových antifibrinolytik v kombinaci s aPCC nebo rFVIIa u pacientů léčených emicizumabem je však třeba vzít v úvahu možnost trombotických příhod. **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky:** Nejzávažnějšími nežádoucími účinky hlášenými v klinických studiích s přípravkem Hemlibra byly trombotická mikroangiopatie (TMA) a trombotické příhody včetně trombózy kavernózního splavu (CST) a trombóza povrchových žil s kožní nekrózou. Nejčastějšími nežádoucími účinky u pacientů léčených přípravkem Hemlibra byly reakce v místě vpichu, bolest kloubů a bolest hlavy. Celkem tři pacienti na profylaxi přípravkem Hemlibra v klinických studiích ukončili léčbu kvůli nežádoucím účinkům, ke kterým patřila TMA, kožní nekróza současně s povrchovou tromboflebitidou a bolest hlavy. **Druh obalu a dostupná balení:** Injekční lahvička 3 ml, Hemlibra s koncentrací 30 mg/ml obsahuje 12 mg emicizumabu v 0,4 ml injekčního roztoku, nebo obsahuje 30 mg emicizumabu v 1 ml injekčního roztoku. Injekční lahvička 3 ml, Hemlibra s koncentrací 150 mg/ml obsahuje 60 mg emicizumabu v 0,4 ml injekčního roztoku, nebo obsahuje 105 mg emicizumabu v 0,7 ml injekčního roztoku, nebo obsahuje 150 mg emicizumabu v 1 ml injekčního roztoku, nebo obsahuje 300 mg emicizumabu ve 2 ml injekčního roztoku. Balení obsahuje vždy jednu injekční lahvičku. **Podmínky uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2–8 °C). Neotevřené injekční lahvičky lze po vyjmutí z chladničky uchovávat při pokojové teplotě (do 30 °C) až po dobu 7 dnů kumulativně. Chraňte před mrazem a před světlem.

Datum registrace: 23.2.2018 **Datum poslední úpravy textu Zkrácené informace o přípravku:** 9.11.2023. **Aktuální verze Souhrnu údajů o přípravku** Je dostupná na <https://www.sukl.cz>, resp. <https://www.roche.cz/cs/produkty-vpols/produkty-lekari.html>

Výdej léčivého přípravku Je vázán na lékařský předpis. **Léčivý přípravek Hemlibra** je v indikaci rutinní profylaxe krvácivých epizod u pacientů s hemofilii A (vrozený deficit koagulačního faktoru VIII) s inhibítorem faktoru VIII a v indikaci rutinní profylaxe krvácivých epizod u pacientů s těžkou hemofilii A (vrozený deficit koagulačního faktoru VIII, FVIII < 1 %) bez inhibitoru faktoru VIII hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. **Léčivý přípravek zatím není hrazen u pacientů se středně těžkou hemofilii A (vrozený deficit koagulačního faktoru VIII, FVIII ≥ 1 % a ≤ 5 %) se závažným krvácivým fenotypem bez inhibitoru faktoru VIII.**

Podmínky úhrady viz www.sukl.cz. Další informace o přípravku získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku Hemlibra, nebo na adrese Roche s.r.o., Sokolovská 685/136f, 18600 Praha 8, Tel: +420 220382111. Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.ema.europa.eu/>.

Reference: 1. SKINNER, Mark W., Claude NÉGRIER, Ido PAZ-PRIEL, et al. The effect of emicizumab prophylaxis on long-term, self-reported physical health in persons with haemophilia A without factor VIII inhibitors in the HAVEN 3 and HAVEN 4 studies. Haemophilia [online]. 2021, 27(5), 854-865 [cit. 2022-08-22]. ISSN 1351-8216. Dostupné z: doi:10.1111/hae.14363. 2. Souhrn informací o přípravku HEMLIBRA.

Obsah

Předmluva	1
-----------------	---

Kapitola I

Fyziologie a patofyziologie krvetvorby

1 Fyziologie a patofyziologie krvetvorby	5
1.1 Buňky v krvi a řízení jejich tvorby	5
1.2 Transkripční faktory a genová exprese v diferenciaci a funkční specializaci krevních buněk	6
1.3 Tkáně umožňující krvetvorbu	7
1.4 Prenatální hematopoéza	7
1.5 Postnatální hematopoéza	8
1.6 Kmenová krvetvorná buňka a progenitory pro vývojové větve hematopoézy	8
1.7 Myelopoéza a lymfopoéza	9

Kapitola II

Laboratorní vyšetření v hematologii

2 Laboratorní vyšetření v hematologii	23
2.1 Morfologická vyšetření	23
2.2 Hemokoagulační laboratorní vyšetření	33
2.3 Průtoková cytometrie	39
2.4 Molekulární genetika	48
3 Pediatrické normy hematologických parametrů	53
3.1 Doporučení ČHS ČLS JEP Referenční meze krevního obrazu (KO), retikulocytů (RET), normoblastů (NRBC) a diferenciálního rozpočtu leukocytů (DIF) u dětí	53
3.2 Doporučená referenční rozmezí pro koagulační stanovení – děti + dospělí	56

Kapitola III

Onemocnění červené krevní řady

4 Anemie	63
4.1 Fyziologie erytropoézy a metabolismu železa	63
4.2 Etiologie a diagnostika anemie u dětí	69
5 Sideropenická anemie (anemie z nedostatku železa)	79
5.1 Incidence a prevalence deficitu železa	80
5.2 Etiologie a patofyziologie	80
5.3 Klinický obraz	84
5.4 Diagnostika	85
5.5 Léčba	87
5.6 Sideroblastické (sideroblastové) anemie	90
6 Anemie při zánětu	93
6.1 Etiologie a patofyziologie	95
6.2 Klinické příznaky	98
6.3 Léčba	102
7 Makrocytární anemie, megaloblastické (megaloblastové) anemie	105
7.1 Etiopatogeneze	105

7.2	Klinické projevy	107
7.3	Laboratorní vyšetření	107
7.4	Léčba	108
7.5	Prognóza	108
8	Hemolytické anemie	111
8.1	Patofyziologie hemolýzy	111
8.2	Klinické příznaky	111
8.3	Abnormality erytrocytární membrány	112
8.4	Poruchy metabolismu erytrocytů	114
8.5	Autoimunitní hemolytická anemie, Evansův syndrom	120
8.6	Paroxysmální noční hemoglobinurie	124
9	Hemoglobinopatie, methemoglobinemie	131
9.1	Hemoglobinopatie: talasemie a strukturální hemoglobinové varianty	131
9.2	Methemoglobinemie	145
10	Erytrocytózy	149
10.1	Etiologie	149
10.2	Patofyziologie	151
10.3	Klinický obraz	154
10.4	Laboratorní vyšetření a diferenciální diagnostika	155
10.5	Léčba	158
10.6	Prognóza	158
10.7	Erytrocytóza u novorozenců	159
11	Tranzientní erytroblastopenie u dětí	161
11.1	Definice	161
11.2	Etiologie a patogeneze	161
11.3	Klinické příznaky	161
11.4	Laboratorní vyšetření	161
11.5	Léčba a prognóza	162

Kapitola IV

Poruchy bílé krevní řady

12	Leukocytóza, neutrofilie, eozinofilie, monocytóza, lymfocytóza	165
12.1	Leukocytóza	165
12.2	Neutrofilie	165
12.3	Eozinofilie	166
12.4	Monocytóza	167
12.5	Lymfocytóza	167
13	Leukopenie	169
13.1	Neutropenie	169
13.2	Lymfopenie	181

Kapitola V

Poruchy hemostázy, krvácivé stavy

14	Trombocytopenie a trombocytopatie	187
14.1	Trombocytopenie	187
14.2	Trombocytopatie	210

15	Koagulopatie	215
15.1	Vývojová hemostáza	215
15.2	Vrozené poruchy krevního srážení	217
15.3	Syndrom diseminované intravaskulární koagulace	224
15.4	Hemoragická nemoc novorozenců podmíněná nedostatkem vitamínu K	230
15.5	Život ohrožující krvácení	231
16	Krvácivé stavy z cévních příčin	237
16.1	Henochova–Schönleinova purpura	237
16.2	Alergická vaskulitida	237
16.3	Systémové vaskulitidy, vaskulitidy při revmatických onemocněních	238
16.4	Erythema nodosum	238
16.5	Hereditární hemoragická teleangiectazie	238
16.6	Vrozená onemocnění pojiva	239
Kapitola VI		
Trombózy		
17	Trombotické komplikace v pediatrii	243
17.1	Rizikové faktory spojené s VTE, trombofilie	243
17.2	Indikace k vyšetření vrozených trombofilních dispozic u dětí	247
17.3	Hormonální antikoncepce a trombofilie	248
17.4	Klinické symptomy	249
17.5	Diagnostika	250
17.6	Léčba hluboké žilní trombózy	251
17.7	Specifické situace v pediatrii	259
17.8	Tromboprofylaxe v dětském věku	261
Kapitola VII		
Trombotická trombocytopenická purpura		
18	Trombotická trombocytopenická purpura	267
18.1	Etiologie	267
18.2	Patofyziologie	267
18.3	Klinické příznaky	267
18.4	Vrozená (kongenitální) TTP	268
18.5	Získaná (imunitní) TTP	269
18.6	Terapie	270
18.7	Diferenciální diagnostika	271
Kapitola VIII		
Selhání kostní dřeně		
19	Získaná selhání kostní dřeně	275
19.1	Aplastická anémie	275
19.2	Tranzientní erytroblastopenie dětského věku	278
20	Vrozená selhání kostní dřeně	281
20.1	Vrozená selhání kostní dřeně s postižením všech tří krvetvorných linií	281
20.2	Selhání kostní dřeně s postižením jedné krvetvorné linie	288

Kapitola IX

Myelodysplastický syndrom

21	Myelodysplastický syndrom	299
21.1	Primární a sekundární MDS	299
21.2	Juvenilní myelomonocytární leukemie	306

Kapitola X

Leukemie

22	Akutní lymfoblastická leukemie	313
22.1	Etiopatogeneze	313
22.2	Detekce minimální reziduální nemoci	313
22.3	Klinický obraz	314
22.4	Diagnostika	315
22.5	Léčba	316
22.6	Prognóza	321
22.7	Prognóza pacientů s relapsem ALL	322
23	Akutní myeloidní leukemie	323
23.1	Etiopatogeneze	323
23.2	Klinické a laboratorní nálezy	324
23.3	Specializovaná diagnostika	325
23.4	Léčba	326
24	Chronická myeloidní leukemie	329
24.1	Klinické projevy	329
24.2	Vyšetření	330
24.3	Diferenciální diagnostika	333
24.4	Terapie	334
24.5	Prognóza	336
25	Myeloproliferativní onemocnění	337
25.1	Klinické projevy a nález	337
25.2	Léčba	339
25.3	Esenciální trombocytemie	340
25.4	Polycythaemia vera	341
25.5	Primární myelofibróza	342

Kapitola XI

Histiocytózy

26	Histiocytóza z Langerhansových buněk	347
26.1	Klasifikace	348
26.2	Diagnostika	349
26.3	Léčba	352
26.4	Závěr	354
27	Hemofagocytující lymfohistiocytóza	357
27.1	Patofyziologie	357
27.2	Klinické příznaky	360
27.3	Diagnostika	360
27.4	Laboratorní vyšetření	361

27.5	Diferenciální diagnostika	362
27.6	Prognóza a léčba	364
27.7	Klinické jednotky	365
27.8	Shrnutí pro praxi	370

Kapitola XII

Mastocytóza

28	Mastocytóza	375
28.1	Etiopatogeneze	375
28.2	Diagnostika	376
28.3	Laboratorní vyšetření	377
28.4	Léčba	379
28.5	Prognóza	379

Kapitola XIII

Lymfomy

29	Hodgkinův lymfom	383
29.1	Etiologie a patogeneze	383
29.2	Histologický obraz	385
29.3	Klinické nálezy	386
29.4	Diagnostika a staging	386
29.5	Léčba	387
29.6	Dispenzární péče	390
30	Non-Hodgkinův lymfom	393
30.1	Incidence, etiologie a patofyziologie	393
30.2	Klasifikace NHL u dětí a dospívajících	394
30.3	Klinické projevy	395
30.4	Syndrom náhlého rozpadu nádoru	398
30.5	Laboratorní a zobrazovací vyšetření	399
30.6	Léčba	401
30.7	Prognóza	405

Kapitola XIV

Transplantace kmenových buněk krvetvorby

31	Transplantace kmenových buněk krvetvorby u hematologických onemocnění	411
31.1	Hledání dárce	412
31.2	Indikace k transplantaci u maligních onemocnění krvetvorby	412
31.3	Indikace k transplantaci u nemaligních onemocnění krvetvorby nebo imunity	414
31.4	Průběh transplantace	415
31.5	Prognóza dětí po alogenní transplantaci	416
31.6	Souhrn pro klinickou praxi	416

Kapitola XV

Paliativní péče

32	Dětská paliativní péče v hematoonkologii	421
32.1	Co je dětská paliativní péče a komu je určena	421
32.2	Kontrola symptomů u dětí v paliativní péči	422

32.3	Bolest	422
32.4	Dušnost	424
32.5	Komunikace s dítětem o smrti	425

Kapitola XVI

Očkování

33	Očkování u hematologických pacientů	431
33.1	Obecná doporučení	431
33.2	Očkování netransplantovaných pacientů léčených pro hematologickou malignitu či jiná hematologická onemocnění	432
33.3	Očkování pacientů po transplantaci krvetvorných buněk	432
33.4	Bezpečnost používaných vakcín u hematologických a transplantovaných pacientů	432
33.5	Očkování rodinných příslušníků a personálu zdravotnického zařízení	432
33.6	Závěr	434

Kapitola XVII

Hematologická onemocnění v novorozeneckém věku

34	Anemie v novorozeneckém věku (anemie z nezralosti)	439
34.1	Diagnostika a diferenciální diagnostika	440
34.2	Prevence	441
34.3	Terapie	441
34.4	Prognóza	443
35	Polycytemie u novorozence	445
35.1	Klinické a laboratorní příznaky polycytemie	445
35.2	Příčiny polycytemie	445
35.3	Diagnostika polycytemie	446
35.4	Screening polycytemie	446
35.5	Diferenciální diagnostika	446
35.6	Terapie	446
36	Trombocytopenie u novorozenců	449
36.1	Klinický obraz	449
36.2	Diagnostika	449
36.3	Terapie	451
36.4	Prenatální a porodnický management	451

Kapitola XVIII

Diferenciální diagnostika splenomegalie, zvětšené lymfatické uzliny (včetně ALPS)

37	Vyšetření dítěte se splenomegalií	455
38	Uzlinový syndrom u dětí	459
38.1	Vyšetření pacienta s přetrvávající lymfadenopatií nejasné etiologie	460
38.2	Indikace k exstirpaci a k histologickému vyšetření zvětšené uzliny	460

Kapitola XIX

Hematologické projevy u jiných onemocnění

39	Hematologické projevy u jiných onemocnění	463
39.1	Gastrointestinální trakt a výživa	463
39.2	Játra	463

39.3	Ledviny.....	464
39.4	Srdce.....	465
39.5	Plíce.....	465
39.6	Žlázy s vnitřní sekrecí.....	465
39.7	Kůže.....	466
39.8	Revmatická onemocnění.....	466
39.9	Kawasakiho nemoc.....	466
39.10	Infekce.....	467
39.11	Anemie chronických chorob.....	468
39.12	Poruchy příjmu potravy.....	468
39.13	Polékové změny.....	468
39.14	Gaucherova choroba.....	468
39.15	Wilsonova choroba.....	468
	Zkratky.....	471
	Souhrn.....	481
	Rejstřík.....	483



Předmluva

Od vydání dosud jediné české monografie Dětská hematologie uplynulo v roce 2024 dlouhých 67 let. Trio tehdejších autorů Otto Hrodek, Jiří Janele a Miroslav Mitera zmiňuje v úvodu k monografii z roku 1957 vznik nového oboru dětská hematologie, který se částečně oddělil jak od pediatrie, tak od hematologie dospělých. Některé krevní choroby se vyskytují pouze v dětství, jiné naopak v této věkové kategorii zcela chybí nebo mají odlišnou biologii a prognózu ve srovnání se stejně se nazývajícím onemocněním dospělých. Padesátá léta minulého století, ve kterých byla zakladateli oboru dětská hematologie v České republice profesorem Hrodkem a docentem Janelem napsána první monografie, přinesla pokrok v morfologické a imunohistochemické diagnostice krevních onemocnění i v rozšiřujícím se portfoliu koagulačních vyšetření. Léčebné možnosti závažných krevních onemocnění byly u dětí omezené. Aplastická anemie se léčila transfuzemi krve, kortikoidy prodlužovaly intervaly nezbytných převodů. Vyléčení dosažením spontánní regenerace krvetvorby bylo výjimečné. U dětí s akutní lymfoblastickou leukémií byla již používána první objevená cytostatika, metotrexát a merkaptopurin i kortikoidy, vedoucí k transientním remisím, vyléčení prvních pacientů bylo ještě více než dekádu vzdálené. Prognóza nehodgkinských lymfomů (nazývaných lymfosarkomy a retotelosarkomy) byla „naprosto infaustní“. V léčbě hemofilie „měly v období krvácení vedle úplného klidu na lůžku největší význam převody čerstvé krve a čerstvé nebo čerstvě zmražené či lyofilizované plazmy“. Recidivující krvácení do

kloubů zanechávalo těžké kloubní deformity vedoucí k invaliditě.

Co se za více než půl století od napsání první monografie v dětské hematologii změnilo? K mikroskopu a základním koagulačním vyšetřením přibýly počítáče krvinek, generující řadu detailních informací o jednotlivých krevních elementech, automatizace zrychlila a rozšířila diagnostiku koagulačních poruch, metody imunofenotypizace, nádorové cytogenetiky a molekulární biologie detailně klasifikují nádorová onemocnění, detekují minimální reziduální nemoc, podle jejíž výše se řídí individuální léčebný postup, diagnostikují známá vrozená onemocnění a nacházejí nové varianty genů spojených s rozvojem krevních onemocnění či predisponujících ke vzniku krevních malignit. Portfolio nových léků se stále rozšiřuje. Cytostatika jsou v léčbě nádorů doplňována i nahrazována monoklonálními protilátkami a léky cíleně zasahujícími změněné buněčné dráhy. Transplantace krvetvorných buněk se stala rutinní, i když nadále velmi náročnou metodou léčby selhání kostní dřeně a leukemií, u kterých se uplatňuje i genová léčba. Děti s aplastickou anémií a akutní lymfoblastickou leukémií mají více než 90% šanci na úplné vyléčení. Šance na vyléčení dětí s nehodgkinskými lymfomy přesahuje 80 %, u pacientů s Hodgkinovými lymfomy se při příznivé reakci na iniciální chemoterapii opouští radioterapie s cílem snížit pozdní následky. Hemofilici prožívají stejné dětství jako zdravé děti, sportují, nemocnici navštěvují pouze k ambulantním kontrolám. Časně zahájená profylaktická léčba moderními rekombinantními faktory a monoklo-

nálními protilátkami je prevencí krvácení a změnila jejich životy.

Profesor Hrodek založil v roce 1985 pracovní skupinu dětské hematologie České republiky, která zavedla jednotné diagnostické a léčebné přístupy k vybraným onemocněním a setkává se na pravidel-

ných seminářích a výročních konferencích. Předkládaná monografie je společným dílem kolektivu autorů z pracovišť v Praze, Olomouci, Brně a Plzni. Stejně jako autoři první monografie doufáme, že dáme studentům a pediatrům v praxi vodítko pro jejich práci a pro další rozvoj dětské hematologie.

Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.

Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK

a FN Motol, Praha

Praha, květen 2024

Kapitola I

Fyziologie a patofyziologie krvetvorby

1 Fyziologie a patofyziologie krvetvorby

Emanuel Nečas

Hematopoeza (krvetvorba) je výsledkem činnosti krvetvorné tkáně, která stále obnovuje své buněčné složení. Stálá je jen populace kmenových buněk a podpůrné stroma.

Krev představuje „tekutý“ orgán, který plní řadu funkcí. Propojuje vzájemně všechny části těla a zároveň prostřednictvím plic, trávicího ústrojí, ledvin a kůže je spojuje i se zevním prostředím. Mezi základní funkce buněčné části krve patří transport krevních plynů, účast na funkcích imunitního systému, udržování tekutosti krve a integrity cévního systému. Tyto funkce krve jsou závislé na činnosti cirkulačního aparátu. Při udržování tekutosti krve a integrity cévního systému má důležitou úlohu krevní plazma a játra, která jsou zdrojem většiny jejích proteinů.

Poruchy funkce krve spočívají v nedostatku nebo nadbytku krevních buněk a proteinů plazmy nebo v jejich nedostatečné funkci. Příčinou jsou buď vrozené patologie, většinou geneticky podmíněné, nebo získaná onemocnění, ta buď v důsledku somatických mutací, nebo z jiných příčin, často pak jako sekundární důsledky jiných onemocnění. Protože je hematopoeza zdrojem buněk imunitního systému, jsou hematologická onemocnění úzce propojena s poruchami imunitních funkcí.

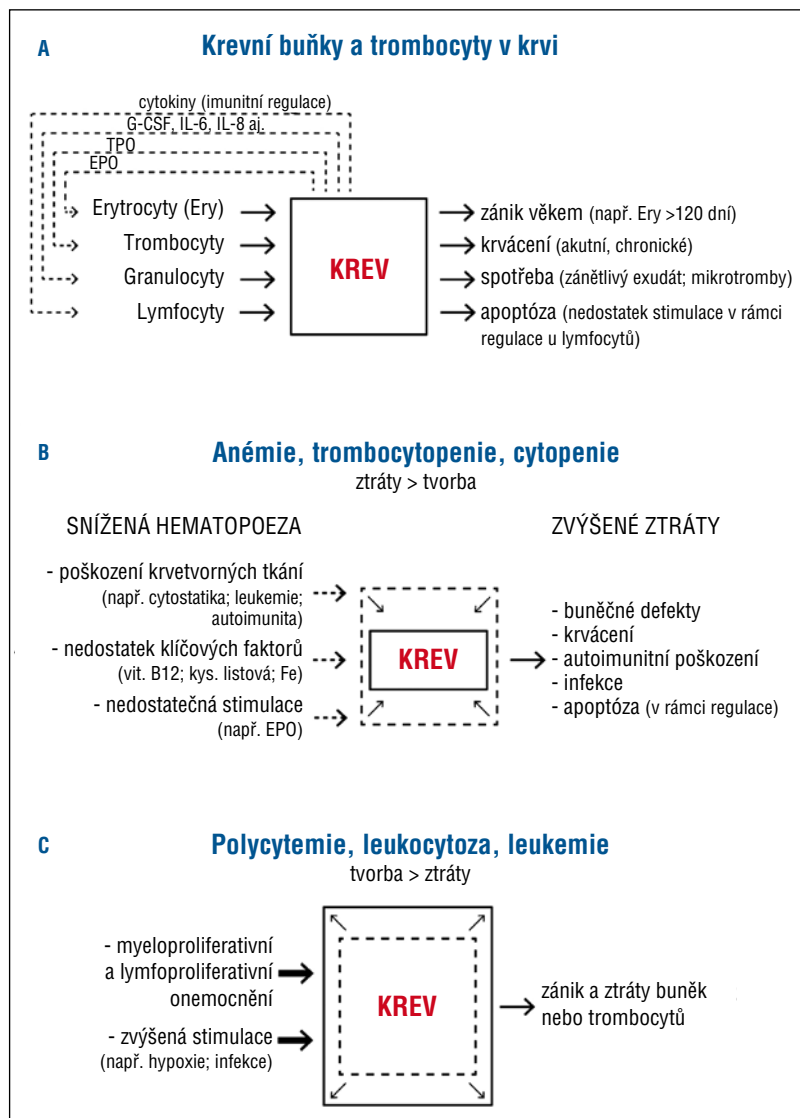
1.1 Buňky v krvi a řízení jejich tvorby

Počet krevních buněk a trombocytů v krvi je výsledkem rovnováhy mezi jejich zánikem a tvorbou (obr. 1.1A). U granulocytů a lymfocytů mohou změny počtu buněk v krvi způsobit také přesuny buněk mezi krví a jinými orgány. Regulace počtu krevních buněk se uskutečňuje

zpětnovazebnými mechanismy, které upravují jejich tvorbu. Nepoměr mezi zánikem a ztrátami krevních buněk a jejich tvorbou působí buď snížení jejich počtu, anemii, trombocytopenii a jiné cytopenie (obr. 1.1B), nebo zvýšení jejich počtu, polycytemii, trombocytemii či leukocytózu (obr. 1.1C). Zvýšený zánik a ztráty krevních buněk mohou být kompenzovány jejich zvýšenou tvorbou. Při chronických poruchách se tím většinou nastavuje nový rovnovážný stav, který je však náchylnější k narušení.

Tvorba krevních buněk je řízena jednak na úrovni mikroprostředí krvetvorných tkání, prostřednictvím cytokinů a chemokinů, a jednak systémově působícími faktory s vlastnostmi endokrinní regulace. Dobře je známa regulace erytropoezy hormonem erytropoetinem v závislosti na zásobení tkání kyslíkem a částečně regulace tvorby trombocytů hormonem trombopoetinem v závislosti na jejich počtu. Tvorba granulocytů a monocytů je řízena růstovými faktory – G-CSF (faktor stimulující kolonie granulocytů, granulocyte colony stimulating factor) a GM-CSF (faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů, granulocyte-macrophage colony stimulating factor) a M-CSF (faktor stimulující kolonie makrofágů, macrophage colony stimulating factor) a cytokiny v souvislosti se zánetem. Udržování počtu lymfocytů, jejich různých druhů, je nejméně známé a uskutečňuje se v rámci imunitních reakcí.

Krevní a krvetvorné buňky mají morfologické charakteristiky, pomocí kterých je lze rozlišit v mikroskopických nátěrech a preparátech. Jejich rozlišení a charakterizaci významně rozšiřuje průtoková cytometrie.



Obr. 1.1 Buňky a trombocyty v krvi

(na návrh autora graficky zpracovala Mgr. Kateřina Faltusová, Ph.D.)

EPO – erythropoetin; G-CSF – granulocytární kolonie stimulující faktor, granulocyte colony stimulating factor; IL – interleukin; TPO – trombopoetin

1.2 Transkripční faktory a genová exprese v diferenciaci a funkční specializaci krevních buněk

Tvorba krevních buněk spočívá v proliferaci, diferenciaci a funkční maturaci buněk. Tyto děje jsou výsledkem řízení exprese genů transkripčními fak-

tory, specifickými proteiny, které spolu s dalšími proteiny a stavem chromatinu aktivují nebo tlumí specifické geny, jejichž produkty ovlivňují proliferaci, diferenciaci a maturaci progenitorů a prekursorů krevních buněk. Transkripční faktory udržují i stav plně diferencovaných jaderných krevních

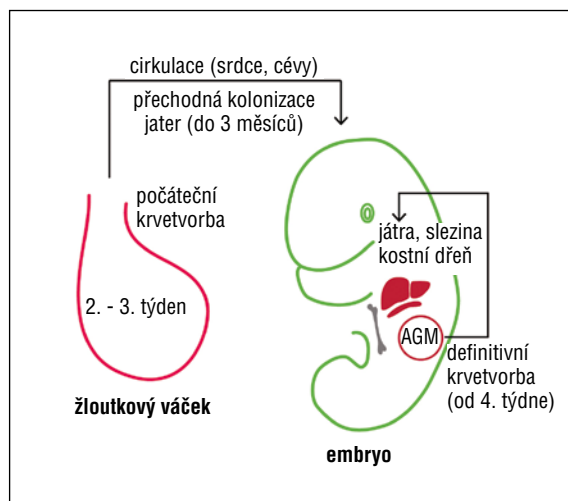
buněk a řídí jejich funkci v imunitních dějích a při hojení tkáňových poškození. Specifické transkripční faktory působí v různých fázích vzniku krevních buněk, přičemž záleží jak na jejich množství, vzájemném poměru i na trvání jejich působení. Zásadní význam působení transkripčních faktorů na stav jaderné buňky je demonstrován možností změny zralého lymfocyty v makrofág manipulací jeho transkripčních faktorů. Mutace genů, které kódují transkripční faktory významné pro proliferaci, diferenciaci a maturaci krevních buněk, jsou etiologickým a patogenetickým mechanismem řady hematologických nemocí, především nemocí onkohematologických.

1.3 Tkáně umožňující krve tvorbu

Vznik krve tvorby, její orgánová distribuce během embryonálního, fetálního a postnatálního vývoje, jsou určovány tkáňovým mikroprostředím (stroma), které umožňuje kolonizaci kmenovými buňkami, podporuje a řídí jejich populaci, a umožňuje jejich diferenciaci a tvorbu krevních buněk, jakož i jejich přestup do krve. Vztah vlastní krve tvorby a stromatu krve tvorných tkání je specifický pro jednotlivý druh buněk a je oboustranný. Jeho současná znalost je omezena na znalost některých klíčových růstových faktorů a buněčných signalizací. Národným příkladem vztahu stromatu a hematopoiezy je embryonální a fetální krve tvorba a patologická krve tvorba extramedulární.

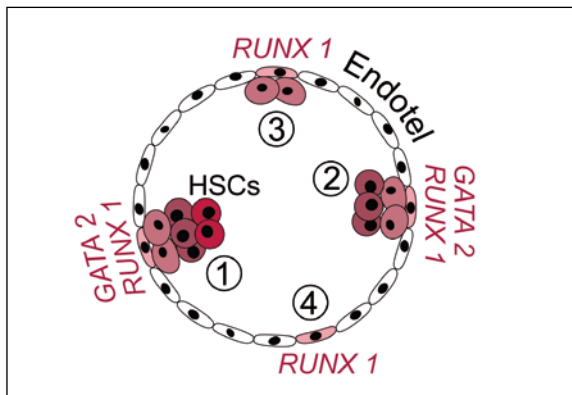
1.4 Prenatální hematopoieza

V embryu se krve tvorba vyvíjí paralelně s vývojem cévního a cirkulačního systému (obr. 1.2). První krevní buňky vznikají extra-embryonálně ve žlutkovém vřáku v třetím týdnu vývoje embrya z mezodermu. Zdrojové buňky mohou mít hematogenní i vaskulogenní potenciál a představovat heman-gioblasty. Prvními krevními buňkami jsou jader-



Obr. 1.2 Embryonální a fetální hematopoieza
(na návrh autora graficky zpracovala Mgr. Kateřina Faltusová, Ph.D.)
AGM – aorta-gonad-mesonephros

né erytrocyty, v podstatě erytroblasty, obsahující embryonální hemoglobiny s vysokou afinitou ke kyslíku. Prvotní krve tvorba je také zdrojem makrofágů, potřebných pro remodelaci vznikajících tkání, a také trombocytů, potřebných k udržení integrity cévního systému. V tomto vývojovém období jsou zdrojem erytrocytů, megakaryocytů, monocytů/makrofágů a granulocytů buňky, které se diferencují z endotelu cév ve žlutkovém vřáku. Krve tvorba ve žlutkovém vřáku je přechodná, prostřednictvím cirkulace se rozšíří do embrya, zárodku jater, kde je zdrojem krevních buněk do třetího vývojového měsíce. Krve tvorba pocházející ze žlutkové-ho vřáku se označuje jako **krve tvorba embryonální**, též primitivní, oproti **krve tvorbě definitivní**, která vzniká nezávisle ve čtvrtém vývojovém týdnu v části embrya označované jako aorta-gonad-mesonephros (AGM). V oblasti AGM vzniknou prekuzory hematopoetických kmenových buněk z některých buněk endotelu aorty v důsledku aktivace genů, které jsou zdrojem specifických transkripčních faktorů, např. RUNX1. Tyto prekuzory se diferencují v buňky kmenové (hematopoie-



Obr. 1.3 Vznik hematopoetických kmenových buněk definitivní hematopoiezy diferenciací buněk endotelu aorty v oblasti AGM embrya (na návrh autora graficky zpracovala Mgr. Kateřina Faltusová, Ph.D.)

Runx1, Gata 2 – geny pro transkripční faktory; 1–4 – klonové kmenových buněk. AGM – aorta-gonad-mesonephros; HSCs – krvetvorné kmenové buňky, hematopoietic stem cells

tic stem cells, HSC), které budou zdrojem krevních buněk ve fetu a postnatálně během celého života. V krátkém vývojovém období vznikne paralelně několik klonů kmenových buněk (obr. 1.3), které kolonizují fetální játra, slezinu a thymus. V těchto orgánech jsou HSC zdrojem různých krevních buněk, přičemž udržují a zvětšují i svoje vlastní populace. Schopnost udržovat vlastní populaci při současné produkci diferencovaných buněk umožňuje dlouhodobou krvetvornou funkci těchto buněčných klonů během fetálního vývoje a následně i v celém postnatálním životě.

Ve třetím vývojovém měsíci se krvetvorba z fetálních jater a sleziny rozšíří i do dutin kostí v podobě kostní dřeně. Ve zralém novorozenci je zcela převažujícím zdrojem krevních buněk kostní dřeň a thymus. Erytrocyty ještě obsahují až 70 % fetálního hemoglobinu F s globinovými podjednotkami α , γ . V krvi je více nezralých forem granulocytů se sníženou výbavou cytoplazmatických granul oproti pozdějším životním obdobím a jsou přítomny i nezralé prekurzory granulocytů. Lymfocyty T i B jsou převážně naivní s individuálně specifickým receptorem T-buněk (T cell receptor, TCR) a recepto-

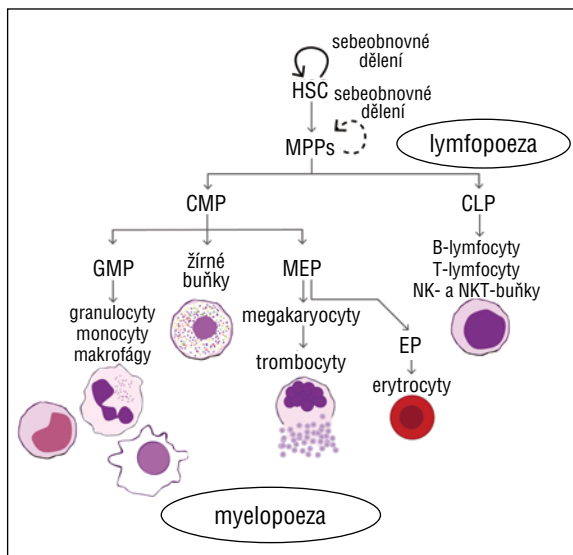
rem B-buněk (B cell receptor, BCR). Většina těchto lymfocytů neprodělala klonální expanzi vyvolanou rozpoznáním cizorodého antigenu.

1.5 Postnatální hematopoieza

Tvorba krevních buněk je výsledkem proliferace a diferenciací buněk v několika stále se udržujících buněčných klonech v kostní dřeň. Tyto klony lze zjednodušeně považovat za rovnocenné: všechny produkují jak krevní buňky myeloidní (erytrocyty, granulocyty, makrofágy, megakaryocyty), tak i různé druhy buněk lymfoidních. Normální krvetvorba má proto **polyklonální charakter**. Rovnocennost krvetvorných klonů může být narušena dominancí některého klonu, který se stane převažujícím zdrojem krevních buněk. Typickým příkladem je nádorová krvetvorba, při které vznikne patologický buněčný klon, odvozený od nádorově změněné (mutované) buňky. Dominantní klon produkuje buňky paralelně s produkcí buněk z klonů normálních, avšak ve větším množství. Nádorová krvetvorba je, na rozdíl od normální krvetvorby, ve většině případů **monoklonální**. Nádorový klon potlačuje tvorbu krevních buněk z klonů normálních, ale neníčí HSC. Po potlačení patologického klonu se proto může obnovit polyklonální krvetvorba.

1.6 Kmenová krvetvorná buňka a progenitory pro vývojové větve hematopoiezy

Kmenové buňky jsou vývojově multipotentní schopné konečné diferenciací do kteréhokoliv druhu krevních buněk a tkáňových makrofágů. Jejich vývojový potenciál zahrnuje jak myelopoezu (tvorbu erytrocytů, granulocytů, monocytů, trombocytů), tak i lymfopoezu, tvorbu různých typů lymfocytů (obr. 1.4). Kmenové buňky současně udržují svoji vlastní populaci sebereprodukčním dělením bez diferenciací. Schopnost sebereprodukce HSC (bez diferenciací) je podstatou velké regenerač-



Obr. 1.4 Myelopoeza a lymfopoeza

(na návrh autora graficky zpracovala Mgr. Kateřina Faltusová, Ph.D.)

CLP – společný progenitor lymfoidních buněk, common lymphoid progenitor; CMP – společný progenitor myeloidních buněk, common myeloid progenitor; GMP – granulocyto-makrofágový progenitor; HSC – krvetvorná kmenová buňka, hematopoietic stem cells; MEP – megakaryocyto-erytroidní progenitor; MPP – multipotentní progenitor

ní schopnosti krvetvorné tkáně a možnosti její transplantace. Kmenové buňky však nejsou zcela stejné z hlediska produkovaných druhů krevních buněk. Vedle HSC, které stejně vytváří myeloidní a lymfoidní buňky, jsou i HSC, které jsou převážně zdrojem buněk myeloidních nebo lymfoidních. Vývojový potenciál HSC může být i užší – pro dva druhy krevních buněk nebo jen jeden.

Progenitory mají buď vývojový potenciál multipotentní, nebo specifický pro určitý druh krevních buněk, ale nejsou schopny časově neomezené sebe reprodukce. Po transplantaci mohou být zdrojem krevních buněk jen po omezenou dobu na rozdíl od HSC, které podporují krvetvorbu dlouhodobě.

1.7 Myelopoeza a lymfopoeza

Myelopoeza a lymfopoeza jsou dvě větve hematopoezy oddělené po diferenciaci jejich progenitorů, kte-

rému však předchází progenitory, které nejsou zcela vyhraněné a až vzájemná koncentrace určitých transkripčních faktorů a délka jejich působení nasměrují buňku do lymfoidní nebo myeloidní vývojové větve.

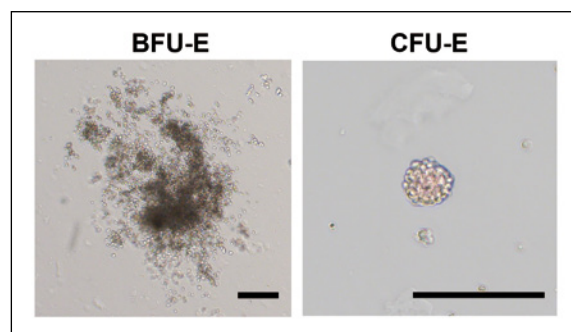
1.7.1 Myelopoeza

Myelopoeza zahrnuje tvorbu erytrocytů, trombocytů, granulocytů, monocytů / makrofágů / dendritických buněk a žírných buněk.

Erytropoeza a funkce erytrocytů

Tvorba červených krvinek (erytropoeza) je dominantní část hematopoezy. Erytropoeza produkuje asi 2 miliony erytrocytů každou sekundu, 20 ml erytromasy každý den. Erytrocyty jsou bezjaderné buňky prakticky vyplněné hemoglobinem. Během 120 dní přítomnosti v krvi projdou asi 200 000krát kapilárami, přičemž jsou mechanicky deformovány. Membrána erytrocytů je zpevněná spektrinem a jeho vazbou na cytoskelet. Erytropoeza je spojena se syntézou asi 6 gramů hemoglobinu během jednoho dne, která potřebuje asi 20 mg železa. Erytropoeza může být krátkodobě, ale i dlouhodobě několiknásobně zvýšená.

Zdrojem erytrocytů jsou buňky s bipotentním vývojovým potenciálem označované jako MEP (me-



Obr. 1.5 Kolonie (klony) erytroidních buněk z progenitoru BFU-E a progenitoru CFU-E

(mikrofotografie zhotovil Ing. Tomáš Heizer z kultivovaných buněk myší kostní dřeně; úsečka ukazuje 0,1 mm)

BFU-E – burst forming unit-erythroid; CFU-E – colony forming unit-erythroid

gakaryocyto-erytroidní progenitory), které se diferencují v unipotentní erytroidní progenitory BFU-E (burst forming unit-erythroid) a následně CFU-E (colony forming unit-erythroid) (obr. 1.5). CFU-E se již vývojově překrývají s proerytroblasty. Erytroidní vývojová řada zahrnuje:

HSC – MEP – BFU-E – CFU-E – proerytroblast – bazofilní erytroblast – polychromatofilní erytroblast – ortochromní erytroblast – retikulocyt – erytrocyt.

Buňky MEP jsou stimulovány růstovým faktorem SCF (stem cell factor), který je ligandem receptoru c-Kit. Zdrojem SCF je mikroprostředí krvetvorné tkáně, endotel krevních sinusoid, perisinusoidální buňky a osteoblasty. Mezi vývojovým stadiem BFU-E a CFU-E se na buňkách významně zvyšuje množství receptorů pro erytropoetin, a následně v proerytroblastech a bazofilních erytroblastech množství receptorů pro transferin. Hlavními transkripčními faktory, které řídí změny genové exprese podmiňující erytroidní diferenciaci, jsou GATA1, FOG1 (friend of GATA) a KLF1. V kostní dřeni je asi 25 % mikroskopicky rozpoznatelných jaderných prekursorů erytrocytů, proerytroblastů až ortochromních erytroblastů.

Řízení erytropoezy erytropoetinem

Erytropoeza je zcela závislá na erytropoetinu. Vytvoření neutralizačních protilátek proti erytropoetinu způsobí těžkou aplastickou anemii. Erytropoetin se váže na erytropoetinový receptor a nitrobuněčná signalizace využívá tyrozinkinázu JAK2 a transkripční faktory STAT 5 a STAT 3. Aktivována je i signalizace cestou PI3K/APT a RAS/MKK. Erytropoetin tím zvyšuje rezistenci buněk vůči apoptóze, zvyšuje buněčné dělení a podporuje erytroidní diferenciaci.

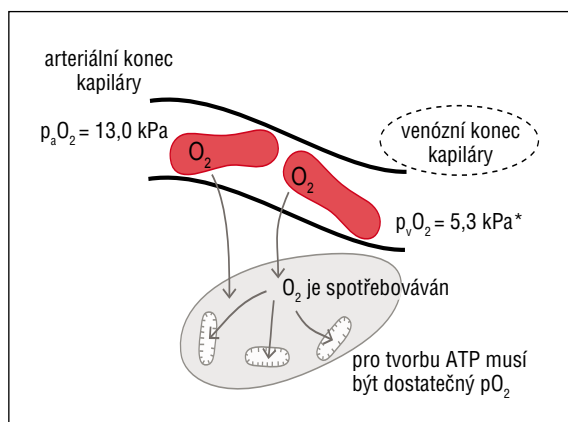
Regulace tvorby erytropoetinu tkáňovým obsahem kyslíku

Zdrojem erytropoetinu jsou prenatálně játra, v postnatálním životě pak ledviny (při značné hy-

poxii i hepatocyty), především intersticiální buňky podobné fibrocytům v oblasti stočené části proximálního tubulu v kůře ledviny. Zpětná resorpce velké části profiltrovaného natria v této části ledvinného tubulu je spojena s velkou spotřebou kyslíku. Výzkum řízení produkce erytropoetinu byl východiskem pro objev univerzálního mechanismu, kterým buňky vnímají koncentraci („parciální tlak“) kyslíku v jejich cytoplasmě. Klíčovou úlohu mají specifické enzymy, prolylhydroxylázy, které v závislosti na koncentraci molekul kyslíku (O_2) hydroxylují protein HIF-1 nebo HIF-2 (hypoxia inducible factor 1/2). HIF jsou transkripční faktory, které po přestupu do buněčného jádra aktivují nebo utlumí několik desítek genů. Nedostatek kyslíku stabilizuje HIF tím, že nedochází k jeho hydroxylaci. Koncentrace HIF v cytoplasmě a buněčném jádře se proto při tkáňové hypoxii zvýší. V buňkách, ve kterých může být gen pro erytropoetin funkční, určuje koncentrace kyslíku v cytoplasmě jeho aktivitu především transkripčním faktorem HIF-2.

Funkce erytrocytu při transportu kyslíku z plic do tkání

Erytrocyty zvyšují schopnost krve přenášet kyslík asi 50krát oproti plazmě. Uvolňování kyslí-



Obr. 1.6 Erytrocyty udržují vysoký p_{O_2} na venózním konci kapiláry (na návrh autora graficky zpracovala Mgr. Kateřina Faltusová, Ph.D.)

* $p_{v O_2}$ je různý v závislosti na průtoku krve a intenzitě energetického metabolismu tkáně

ku z hemoglobinu erytrocytů při poklesu pO_2 v kapiláře v důsledku spotřeby kyslíku okolní tkáň zabraňuje velkému poklesu pO_2 . To je významné především v oblastech tkáně okolo venózních částí kapiláry nejvíce ohrožených tkáňovou hypoxií působící nedostatek ATP (obr. 1.6).

Kyselina listová, vitamin B12 a železo v erythropoeze

Produkce erytrocytů je výsledkem velkého počtu buněčných dělení potřebných k vytvoření asi 20 ml nové tkáně, erytromasy, každý den. Erythropoeza je proto více než jiné tkáně závislá na syntéze DNA, vyžadující kyselinu listovou a vitamin B12. Pro erythropoezu je také specifická velká potřeba železa pro tvorbu hemoglobinu. Převaha železa dodávaného transferinem erytroblastům v kostní dřeni je z jeho recyklace po uvolnění z hemu enzymem hemoxygenázou, hemu pocházejícího z hemoglobinu erytrocytů zanikajících ve slezině a v játrech. Velká potřeba železa pro erythropoezu propojuje příjem železa z potravy s erythropoezou prostřednictvím hepcidinu, peptidu vytvářeného v játrech. Při intenzivní erythropoeze se sekrece hepcidinu sníží a absorpce Fe z potravy se zvýší. Hepcidin je negativní regulátor absorpce železa v duodenu.

Trombocytopoeza (též trombopoeza)

a funkce trombocytů

Kostní dřev produkuje asi 2 miliony trombocytů za sekundu. Trombocyty jsou 2–3 μm velké bezjaderné buněčné útvary, které vznikají odlupováním části cytoplazmy a buněčné membrány megakaryocytů. Megakaryocyty vznikají z progenitorů MEP v kostní dřeni a následnou diferenciací a maturací, jejíž součástí je několik endomitóz bez rozdělení buňky. Zralé megakaryocyty jsou velké buňky (40–100 μm) s obsahem DNA, který odpovídá 8 nebo 16 buňkám. V kostní dřeni je asi 0,05 % megakaryocytů. Buněčná membrána megakaryocytů je členěná do mnoho výběžků, které pronikají endoteliem sinusoid kostní dřene a z nichž se odlupují

trombocyty, které cirkulují v krvi. Vývojová řada je:

HSC – MEP – megakaryocytový progenitor – megakaryocyt – zralý megakaryocyt – pro-trombocytární megakaryocyt – trombocyty.

Pro megakaryocytární diferenciaci jsou významné transkripční faktory GATA1, FOG-1, Fli-1, RUNX1, NF-E2. Základním růstovým a diferenciacním faktorem je trombopoetin.

Řízení trombocytopoezy trombopoetinem

Na všech buňkách, které se účastní trombocytopoezy a na trombocytech je přítomen **trombopoetinový receptor** (TPOR; označovaný též MPL). Trombopoetinový receptor je přítomný i na HSC, kde má však funkci, která přímo nesouvisí s trombocytopoezou. Pro trombocytopoezu je významná stimulace časných stadií megakaryocytů trombopoetinem. Trombopoetin, podobně jako erythropoetin, působí na cílové buňky signálními drahami JAK2/STAT, PI3K/AKT a RAS/MAPK.

Trombopoetin je glykoprotein produkovaný hlavně v játrech a ledvinách, ale také stromatem kostní dřene i jinými tkáněmi. Játra jsou jeho hlavním zdrojem. Koncentrace trombopoetinu v plazmě je nepřímě úměrná počtu trombocytů. Tento vztah je základem pro koncepci řízení trombocytopoezy stálou produkcí trombopoetinu a jeho spotřebou trombocyty. Produkce trombopoetinu v játrech však není zcela konstantní. Je stimulována zachycením „starých“ trombocytů specifickým receptorem na hepatocytech, ke kterému se vážou trombocyty po ztrátě kyseliny sialové z jejich membrány. Produkci trombopoetinu v játrech také zvyšuje interleukin 6, zvýšeně produkovaný při zánětech. Dlouhodobé zvýšení počtu trombocytů v krvi po splenektomii ukazuje, že trombocytopoeza není určována jen zpětnou vazbou závislou na počtu trombocytů v cirkulaci.

Funkcí trombocytů je udržování integrity cévní části cirkulačního aparátu, zástava krvácení z poškozených cév, účast na iniciaci zánětu v poraně-

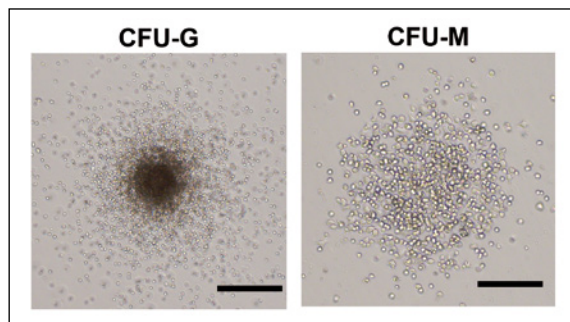
ných tkáních a na průběhu hojení ran. V krvi je $150\text{--}400 \times 10^9$ trombocytů/litr krve a v cirkulaci trombocyty setrvávají 5–10 dní. Jsou zachycovány a aktivovány v místech poškození endotelu. Nodostatek trombocytů nebo jejich dysfunkce, vrozené a získané **trombocytopatie**, zvyšují riziko krvácení a zhoršují průběh hojení ran. Vysoký počet trombocytů může zvyšovat riziko vzniku trombů a cirkulačních uzávěrů.

Granulocytopoeza (též granulopoeza) **a funkce granulocytů**

Granulocytopoeza zahrnuje tvorbu neutrofilních, eozinofilní a bazofilních granulocytů. Na jejím začátku se od ní odděluje monocytopenoeza v důsledku jiné sestavy klíčových transkripčních faktorů. Kostní dřeň produkuje asi čtyřikrát méně granulocytů než erytrocytů, ale v kostní dřeni převažují prekurzory pro granulocyty nad erytroblasty asi dvakrát. To je způsobeno delším časem vzniku granulocytů (asi 10 dní) než erytrocytů. Přispívá k tomu i setrvání segmentovaných granulocytů v kostní dřeni, kde „vyčkávají“ na uvolnění a vyplavení do krve v případě jejich potřeby.

Neutrofilní, eozinofilní a bazofilní granulocyty se liší hlavní funkcí, čemuž odpovídá jiný typ granul v jejich cytoplazmě a receptorů na membráně. Jejich vývoj probíhá obdobnými vývojovými stadii, je však řízen jinou skladbou transkripčních faktorů. Tvorba neutrofilních granulocytů je kvantitativně převažující. V krvi jsou neutrofilní granulocyty zastoupeny 50–70 % ze všech bílých krvinek, eozinofily 3–7 % a bazofily 1 %.

Granulocytopoeza je odvozena od společné progenitorové buňky pro myeloidní větve hematopoezy (common myeloid progenitor, CMP). Z ní se diferencuje progenitorová buňka pro granulocyty a monocyty/makrofágy, označovaná jako GMP (granulocytární-makrocytární progenitor). Vlivem transkripčních faktorů C/EBP (CCAAT/enhancer binding protein) α , C/EBP- ϵ a Gfi-1 se tyto progeni-



Obr. 1.7 Kolonie (klony) granulocytů a monocytů/makrofágů z progenitoru CFU-G a progenitoru CFU-M (mikrofotografie zhotovil Ing. Tomáš Heizer z kultivovaných buněk myší kostní dřeni; úsečka ukazuje 0,1 mm)
CFU-G – colony forming unit-granulocyte; CFU-M – colony forming unit-macrophage

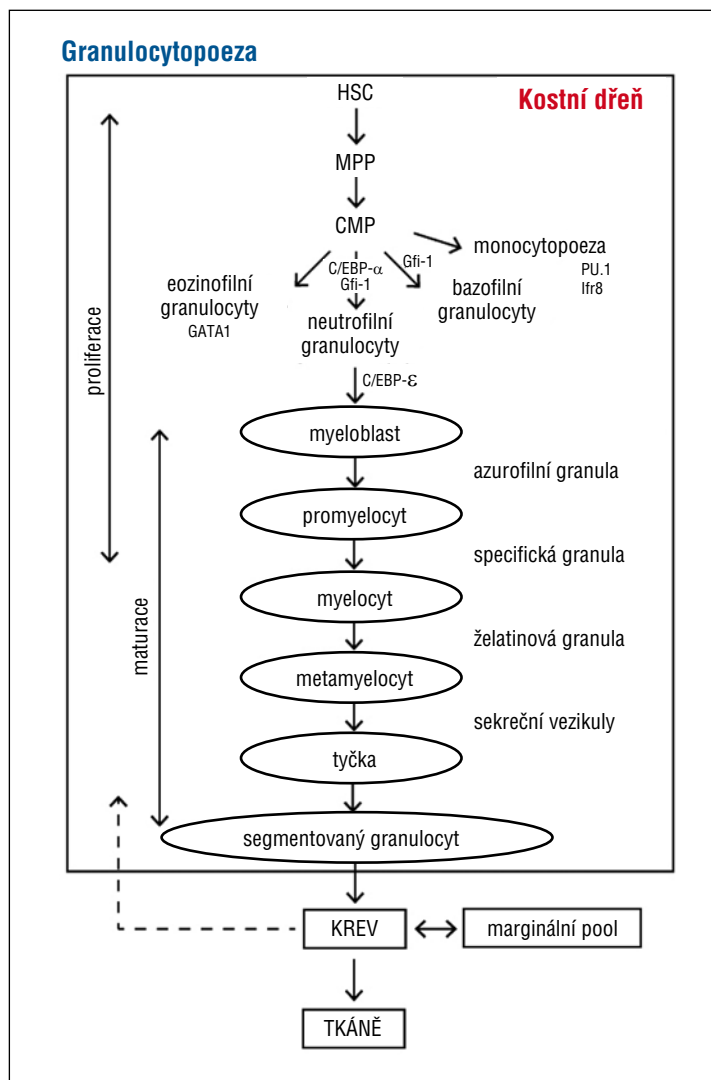
tory diferencují v granulocytární prekurzory, vlivem transkripčních faktorů PU.1 a Irf8 v prekurzory monocytů. Specifická acetylace C/EBP- ϵ a nízká exprese transkripčního faktoru GATA1 určuje jejich vývoj v neutrofilní granulocyty oproti vývoji v eozinofilní granulocyty. Jedna buňka GMP může dát vznik stovkám granulocytů působením růstových faktorů G-CSF a GM-CSF nebo prekurzorům monocytů/makrofágů působením růstového faktoru M-CSF (obr. 1.7). Vývojová řada granulopoezy je:

HSC – CMP – GMP – myeloblast – promyelocyt – myelocyt – metamyelocyt – tyčka – segmentovaný granulocyt.

Buněčné dělení probíhá až do stadia metamyelocytu, potom dochází jen ke zrání buněk provázené tvorbou dalších cytoplazmatických granul a kondenzací a segmentací buněčného jádra. V prekurzoru neutrofilního granulocytu se postupně tvoří čtyři typy granul: azurofilní (primární), specifická (sekundární), želatinózní (terciární) a sekreční vezikuly (obr. 1.8). V krvi fétu jsou zralé granulocyty přítomny od čtvrtého vývojového měsíce.

Vyplavení granulocytů do krve a přestup do tkání

Granulocyty jsou v kostní dřeni zadržovány vazbou jejich receptoru CXCR4 k jeho ligandu CXCL12



Obr. 1.8 Granulocytopoeza a granulocyty v krvi a v tkáních
(na návrh autora graficky zpracovala Mgr. Kateřina Faltusová, Ph.D.)
C/EBP-α, C/EBP-ε, Gfi-1, GATA1, PU.1, Irf8 – transkripční faktory. CMP – společný progenitor myeloidních buněk, common myeloid progenitor; EBP – CCAAT/enhancer binding protein; HSC – krvetvorná kmenová buňka, hematopoietic stem cell; MPP – multipotentní progenitor

(SDF-1). Tuto vazbu snižuje růstový faktor G-CSF. Vyplavení granulocytů do krve zvyšuje interakce jejich jiného receptoru, CXCR2, s jeho ligandem přítomným na endotelu sinusoid kostní dřeně.

Granulocyty cirkulují v krvi několik hodin a rozpoznávají případná místa zánětu způsobená biolo-

gickými patogeny nebo poškozením tkáně. V těchto místech se granulocyty zachycují k endotelu a v několika krocích pronikají do okolní tkáně. Pokud nebyly granulocyty takto využity k obraně organismu a hojení poškozených tkání, vystupují z krve zpět do kostní dřeně, kde jsou odstraněny makrofágy.

Funkce granulocytů a jejich poruchy

Granulocyty mají receptory, kterými reagují na změnu endotelu v místě infekce nebo tkáňového poškození. Zachycují se k endotelu, migrují do okolní tkáně, rozpoznávají patogeny svými receptory PPR (pattern recognition receptor; např. receptory TLR) na základě patogenních znaků označovaných souhrnně jako PAMPs (např. lipopolysacharid G-negativních bakterií; edotoxin), poškozenou tkáň na základě molekul označovaných jako DAMPs (např. extracelulární ATP), aktivované složky komplexu C3a a C5a a další signály. Granulocyty jsou významnou součástí přirozené imunity.

Neutrofilní granulocyty mohou fagocytovat mikroorganismy a poškozené části tkáně a ve fagolysosomech, které obsahují v membráně enzym NADP oxidázu, je inaktivovat a degradovat. NADP oxidáza je zdrojem kyslíkových radikálů (reactive oxygen species, ROS) konverzí molekulárního kyslíku (O_2) na superoxid (O_2^-). Myeloperoxidáza, enzym přítomný v granulích neutrofilních granulocytů, katalyzuje vznik hydroxylových radikálů, kyseliny chlorné a chloraminů, látek se silnými antimikrobiálními účinky. Sekrecí obsahu různých cytoplazmatických granul (degranulací) působí granulocyty baktericidně a proteolyticky na své okolí. Granulocyty mohou do okolí vylučovat řetězce DNA, které tvoří síť zachycující patogeny – tzv. NET a proces netózy. K uvolnění různorodého bakteriocidního a proteolytického obsahu granulí (defenzin α , elastázy, metaloproteinázy, lysozym, katepsin, laktoferin, myeloperoxidáza a další) dochází také při nekróze granulocytů. Vedle degradace mikrobiálních patogenů a poškozených částí tkáně mohou granulocyty proteolytickými enzymy a ROS poškodit i tkáň zdravou. V místě zánětu jsou granulocyty zdrojem cytokinů a chemokinů, které ovlivňují aktivitu buněk přirozené i adaptivní části imunity, zesilují obranou reakci nebo ji následně tlumí. Jsou zdrojem hnisu a abscesů a mohou se podílet i na udržování chronického zánětu. Vro-

zené defekty mohou snižovat funkce granulocytů, jejich schopnost koncentrace v místě výskytu patogenů nebo tkáňového poškození, případně snižovat účinnost mechanismů, kterými granulocyty eliminují patogeny a poškozené části tkáně. Nedostatek granulocytů nebo jejich poruchy jsou provázeny vyšším výskytem infekčních onemocnění a zhoršeným hojením ran. Eozinofilní a bazofilní granulocyty mají specifické funkce v důsledku jiných receptorů a jiného obsahu cytoplazmatických granul. Eozinofilní granulocyty jsou účinné v potlačení parazitárních infekcí a spolu s bazofilními granulocyty významnými činiteli alergických reakcí.

Regulace tvorby granulocytů, neutrofilie a neutropenie

Granulocyty setrvávají v cirkulaci 10–20 hodin. Pokud nejsou zachyceny v poškozené tkáni, vrací se granulocyty do kostní dřeně, kde jsou fagocytovány a degradovány makrofágy. Předpokládá se, že jejich degradace je hlavním faktorem, který určuje produkci granulocytů, a to prostřednictvím cytokinů a růstových faktorů produkovaných makrofágy v závislosti na množství fagocytovaných granulocytů. Zánik granulocytů apoptózou a fagocytózou makrofágy nepůsobí zánětlivou reakci. Zánik spojený s jejich disrupcí a vylitím jejich obsahu je zdrojem zánětu a případně tkáňového poškození. Zaniklé granulocyty nahrazuje granulocytopenie, která reaguje na přítomnost zánětu a tkáňového poškození. Nerovnováha mezi zánikem a tvorbou neutrofilních granulocytů se v krvi projeví jako neutropenie nebo neutrofilie.

Klidová a nouzová granulocytopenie

Granulocytopenie v nepřítomnosti infekce nebo zánětu se označuje jako **klidová** (steady state). Infekce nebo zánět zvýší potřebu granulocytů. Jsou uvolněny zralé granulocyty z kostní dřeně a některých orgánů (sleziny) a zvýší se jejich tvorba na úrovni progenitorů a dělicích se prekurzorů (myeloblast, promyelocyt, myelocyt). Toto se ozna-

čuje jako **nouzová granulocytopenie** (emergency granulopoiesis). Nouzová granulocytopenie je indukována cytokiny – interleukiny (IL) IL-1 β , IL-6, IL-17 a růstovými faktory – G-CSF a GM-CSF. Je závislá na transkripčním faktoru C/EBP- β , na rozdíl od klidové granulocytopenie, která je řízena transkripčními faktory C/EBP- α a C/EBP- ϵ . Nouzová granulocytopenie je provázána vyplavováním méně zralých forem granulocytů (tyčky), včetně metamyelocytů a myelocytů („posun doleva“).

Granulocyty u novorozenců

Granulocyty v krvi novorozenců, především předčasně narozených a nezralých novorozenců, mají nižší výbavu baktericidních látek. Na postnatální granulocytopenie se pravděpodobně odráží kolonizace těla, zvláště střeva, mikroorganismy. V prvním postnatálním měsíci života jsou imunitní reakce vysoce závislé na přirozené imunitě, jejíž jsou granulocyty významnou součástí. Uvádí se, že léčba antibiotiky v tomto období a některé typy stravy mohou zvýšit pozdější výskyt alergií, autoimunitních nemocí a metabolických poruch. V prvních hodinách po porodu se počet granulocytů v krvi přechodně zvýší na hodnoty, které jsou několikanásobkem jejich počtu v pozdějším životě.

Monocytopenie a funkce monocytů; dendritické buňky

V krvi je mezi bílými krvinkami asi 10 % monocytů. Monocyty vznikají z progenitorové buňky GMP a následně z bipotentní buňky pro monocyt a myeloidní dendritické buňky. Myelopoeza závisí na růstovém faktoru M-CSF, který stimuluje proliferaci a diferenciaci společného monocytodendritického progenitoru, a dále specifického progenitoru monocytů, monocytoblastu a pre-monocytu vazbou na receptor M-CSF (CD115). Kolonie (klon) prekurzorů monocytů je na obrázku 1.7. Monocytopenie indukují a řídí transkripční faktory PU.1, GATA2, IRF8 a KLF4.

Monocyty spolu s makrofágy a dendritickými buňkami v tkáních tvoří **mononukleární systém fagocytů**. Monocyty v krvi nejsou homogenní populací, asi 95 % jsou klasické monocyty CD14⁺⁺CD16⁻CCR2⁺⁺, které cirkulují v krvi asi jeden den a vystupují do tkání, především střeva, kde doplňují tkáňové makrofágy. Řada tkáňových makrofágů, buňky Langerhansovy v epidermis, buňky Kupfferovy v játrech, mikroglie a jiné jsou však embryonálního původu a v tkáních udržují svoji populaci nezávisle na postnatální krvetvorbě. Klasické monocyty se hromadí v poškozené tkáni, ve které probíhá zánět a plní zde funkce spojené s fagocytózou a odstraněním patogenů a poškozených částí tkáně. Podílí se na řízení průběhu zánětu produkcí cytokinů v závislosti na svém stavu (M1 a M2 polarizace makrofágů). Významná je i jejich funkce antigen-prezentujících buněk. Monocyty CD14⁺CD16⁺⁺CCR2^{+/-} setrvávají v cirkulaci delší dobu, a to v kontaktu s endotelem. Mezi těmito dvěma typy monocytů jsou monocyty představující fenotypově jejich přechod.

Fetální hematopoeza a kostní dřeň jsou také zdrojem myeloidních konvenčních dendritických buněk.

1.7.2 Lymfopoeza

Lymfopoeza se odvíjí od společného lymfoidního progenitoru (common lymphoid progenitor, CLP), který je zdrojem progenitorů pro T-lymfopoezu, B-lymfopoezu a buňky NK (přirození zabíječi, natural killer cells).

T-lymfopoeza (thymocytopenie) a T-buňky

Zdrojem T-buněk je thymus, který k produkci T-buněk používá lymfoidní progenitorové buňky z kostní dřeně. Většina T-buněk v těle však pochází z období fetálního a časného postnatálního života. T-buňky produkované thymem osidlují tkáně různých orgánů. Nejvíce T-buněk je v „bariérových“ tkáních, které přicházejí do styku s okolním

prostředím: v tonzilách, tenkém a tlustém střevě, v plicích, kůži, dále ve slezině a v asi 500 lymfatických uzlinách. T-lymfocyty v krvi, kterých je asi $0,5\text{--}1,2 \times 10^9/\text{ml}$, představují jen asi 2–3 % všech T-buněk přítomných v těle.

V thymu dochází k maturaci prekurzorů T-lymfocytů a T-buněk, jejíž součástí je přestavba genů pro proteiny, které jsou hlavní součástí TCR. Vznikne tím mnoho milionů variant tohoto receptoru, potřebných k rozpoznání ohromného množství antigenů jednak tělu vlastních, a jednak tělu cizorodých. V tomto procesu tvorby budoucích T-buněk jsou pozitivně selektovány buňky, které tolerují antigeny tělu vlastní a zničeny (jsou negativně selektovány) jsou buňky, které by mohly být aktivovány antigeny daného jedince. Při maturaci prekurzorů T-buněk se také diferencují subtypy budoucích T-buněk.

T-buňky produkované thymem mají asi 100 milionů variant TCR specifických pro velké množství cizorodých antigenů, se kterými se lymfocyty mohou setkat, a to nejčastěji v bariérových tkáních, v nádorech a poškozených tkáních. Tyto tzv. **naivní T-buňky** mají subtypy s různou funkcí v reakcích imunitního systému, např. **CD4+ pomocné T-buňky** (Th buňky; „helpery“), **CD8+ cytotoxické T-buňky**, **NKT-buňky (natural killer T-cells)**, regulační T (T_{reg}) **buňky**, **buňky s $\alpha\beta$ nebo $\gamma\delta$ řetězci TCR**. Jednotlivé T-buňky různých subtypů mají jedinečný TCR, pokud neprodělaly klonální expanzi vyvolanou příslušným antigenem nebo superantigenem. V tkáních se mohou udržovat samoreprodukci i poté, kdy jejich produkce v thymu ustane. Významná část naivních T-buněk vznikne již před narozením a v prvních dvou letech života. Produkce naivních T-buněk pokračuje v thymu do dospělosti, ale její intenzita se snižuje. Ustává v důsledku involuce thymu a jeho nahrazení tukovou tkání okolo 50 let věku. Naivní T-buňky, schopné reagovat na nový cizorodý antigen, jsou v periferních lymfatických

tkáních přítomny i desítky let po ukončení jejich produkce v thymu.

T-lymfocyty v krvi a T-buňky v tkáních

T-lymfocyty v krvi (2–3 %) a T-buňky v tkáních (98–97 %) jsou heterogenní skupinou buněk s různými funkcemi souvisejícími s obranou proti biologickým patogenům a nádorům. Jsou základní složkou adaptivního imunitního systému. Naivní T-buňka se po setkání s cizorodým antigenem příslušným k jeho variantě TCR začne dělit a vytvoří klon buněk se stejným TCR. Tento klon T-buněk vykonává svou funkci v imunitní reakci, která spočívá v aktivaci B-buněk a makrofágů v případě pomocných CD4+ T-buněk, cytotoxicitě v případě CD8+ buněk, tlumení imunitní odpovědi v případě T_{reg} buněk. Po odeznění potřeby imunitní reakce se vzniklý klon buněk zmenší (kontrahuje) pod vlivem buněk T_{reg} a jiných imunosupresorových buněk. Část buněk z vytvořeného klonu však dlouhodobě, po mnoho let (i desítky let), v organismu zůstane, stane se součástí paměťových buněk imunitního systému. Převaha T-lymfocytů v krvi dospělých lidí jsou **buňky paměťové**. U malých dětí a až do puberty převažují v krvi mezi T-lymfocyty buňky naivní, které neprodělaly klonální expanzi v reakci na antigen. Zastoupení regulačních T_{reg} buněk je u dětí významně vyšší (10–30 % CD4+ buněk) než u dospělých (5 %). Paměťové T-buňky reagují rychle a silně klonální expanzí na výskyt stejného antigenu, který vedl k jejich vzniku předchozí klonální expanzí.

T-lymfocyty cirkulující v krvi lze rozlišit na základě jejich imunofenotypu, základně na CD4+ pomocné T-lymfocyty, CD8+ cytotoxické lymfocyty a CD4+CD25+ Treg-lymfocyty. Pomocí dalších znaků lze T-buňky dále charakterizovat, např. na Th1, Th2, Th17 buňky lišící se zacílením imunitní odpovědi na viry a intracelulární bakterie (Th1) nebo podporu protiparazitární imunity a tvorby protilátek (Th2).

T-lymfocyty a T-buňky u dětí

Thymus obsahuje T-buňky od čtvrtého vývojového měsíce a po šestém měsíci jsou T-buňky přítomny i ve slezině a v lymfatických uzlinách. Jsou to převážně T-buňky naivní, které neprodělaly klonální expanzi v reakci na antigen. V časném postnatálním období a potom i v dětství je organismus vystaven velkému množství tělu cizích antigenů, na které příslušné T-buňky reagují klonální expanzí a tvorbou paměťových T-buněk. Vyšší zastoupení T_{reg} buněk u dětí tlumí možnou nadměrnou aktivaci imunitního systému v období zvýšeného výskytu nových antigenů v časném postnatálním životě. S věkem přibývá zastoupení paměťových buněk v celkovém repertoáru T-buněk jak mezi T-lymfocyty v krvi, tak T-buňkami ve tkáních.

B-lymfopoeza a B-buňky

B-lymfocyty ($CD19^+$) v krvi představují asi 10 % ze všech lymfocytů. Zdrojem B-lymfocytů je kostní dřeň a lymfatické tkáně.

B-lymfopoeza v kostní dřeni

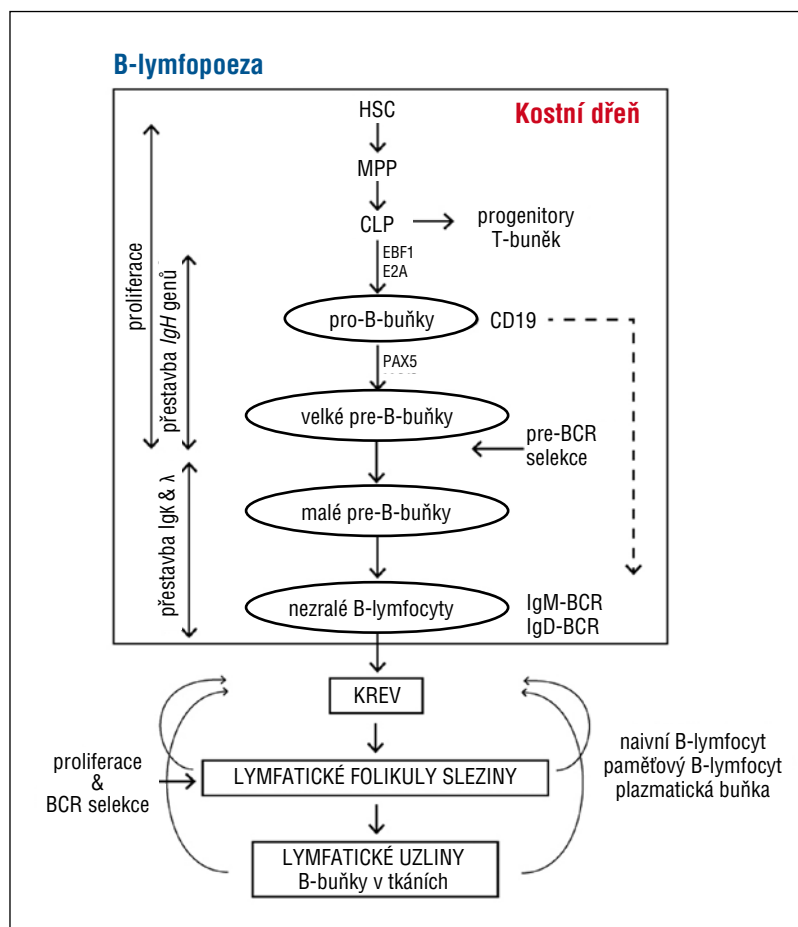
V kostní dřeni je asi 10–20 % buněk klasifikovaných jako lymfocyty. Jsou to různé prekurzory B-buněk. Zahrnují několik stadií vývoje B-buněk odvozených od CLP. Transkripční faktor EBF1 spolu s transkripčním faktorem E2A působí zahájení přestavby genů kódujících těžký řetězec imunoglobulinů. Buňky proliferují a exprimují znak $CD19$. Receptorem $CXCR4$ se váží k buňkám stromatu. Časné stadium vývoje B-buněk v kostní dřeni se označuje jako **pro-B-buňky**. V dalším vývoji exprimují buňky označované jako **velké pre-B-buňky** nezralou podobu receptoru B-buněk (pre-BCR). Přechodně exprimovaný pre-BCR má dvě molekuly těžkého řetězce imunoglobulinů s individuálně přestavěnou variabilní částí. Buňky s variantou pre-BCR, která reaguje s antigeny vlastního těla, jsou eliminovány apoptózou. Vzniká tím tolerance budoucích B-buněk vůči antigenům vlastního těla. Buňky,

kteří projdou tímto prvním kontrolním stupněm („checkpoint“), přestanou exprimovat pre-BCR a dělit se. Vzniklé **malé pre-B-buňky** se dále vyvíjejí tím, že v nich probíhá přestavba genů pro variabilní části lehkých imunoglobulinových řetězců κ a λ . Ty se stanou součástí jedinečných variant BCR na každém budoucím B-lymfocyty v krvi a na B-buňkách v lymfatických tkáních. Vývoj B-buněk v kostní dřeni, ve kterém má významnou úlohu i transkripční faktor PAX5, je v kostní dřeni ukončený vznikem **nezralého B-lymfocyty** (obr. 1.9).

Úloha sleziny a periferních lymfatických tkání na vývoji nezralých B-lymfocytů produkovaných kostní dřeni

Snížení exprese receptoru $CXCR4$ a jiných vazeb ke stromatu kostní dřene vede k uvolnění nezralého B-lymfocyty do krve. Jeho další vývoj probíhá v lymfatických folikulech sleziny.

Zvyšuje se schopnost B-buněk rozpoznat cizorodý antigen, reagovat na něj tvorbou a sekrecí specifické protilátky různého typu, a rovněž schopnost nereagovat na antigeny těla vlastní. Tyto **zralé B-buňky** (naivní B-lymfocyty) jsou vyplavovány do krve a lymfatickým systémem do lymfatických uzlin. V případě, kdy jejich specifický BCR detekuje příslušný cizorodý antigen na antigen-prezentujících buňkách, v krvi, v tkáních, a zvláště v lymfatických uzlinách, B-buňka se začne dělit a vzniká klon buněk s jejím specifickým BCR. Tyto buňky také začnou secernovat specifickou protilátku vůči danému antigenu. Sekrece protilátek je výsledkem přeměny B-lymfocyty v **plazmatickou buňku** (plazmocyt). Po odeznění imunitní reakce se klon B-buněk se specifickým receptorem BCR zmenší apoptózou, na čemž se podílí jak regulace imunitní reakce buňkami T_{reg} a dalšími mechanismy, včetně působení regulačních B-buněk (B_{reg}). Část buněk vzniklého buněčného klonu dlouhodobě v organismu přetrvává ve formě **paměťových B-buněk**. Místo jedné B-buňky s jedinečným BCR je po aktivaci cizorodým



Obr. 1.9 B-lymfocyty a B-buňky v kostní dřeni, lymfatických tkáních a v krvi

(na návrh autora graficky zpracovala Mgr. Kateřina Faltusová, Ph.D.)

EBF1, E2A, PAX5 – transkripční faktory. BCR – receptor B-buněk; CD19 – antigenní znak; CLP – společný progenitor lymfoidních buněk, common lymphoid progenitor; HSC – krvetvorná kmenová buňka, hematopoietic stem cell; Ig – imunoglobulin; MPP – multipotentní progenitor

antigenem v organismu více buněk s tímto BCR, což umožňuje rychlejší a silnější tvorbu specifické protilátky po opětovném vniknutí příslušného cizorodého antigenu do organismu.

B-lymfocyty v krvi

Asi 10 % všech lymfocytů v krvi jsou B-lymfocyty. Jejich zdrojem je kostní dřeň a lymfatické tkáně (viz obr. 1.9). Všechny mají znak CD19, ale zahr-

nují i buňky vyplavené z kostní dřene (přechodný B-lymfocyt), zralý naivní lymfocyt, B-lymfocyt, který je součástí antigenem aktivovaného klonu, paměťový B-lymfocyt a plazmatické buňky. V dospělosti je skoro polovina B-lymfocytů v krvi buňkami paměťovými. Mají znak CD27. Při opětovné expozici antigenu jsou časným zdrojem plazmatických buněk, které secernují příslušnou protilátku s vysokou afinitou vůči antigenu.

Literatura

- Carsetti R, Terreri S, Conti MG, et al. Comprehensive phenotyping of human peripheral blood B-lymphocytes in healthy conditions. *Cytometry* 2022;101:131–139.
- Guilliams M, Mildner A, Yona S. Developmental and functional heterogeneity of monocytes. *Immunity* 2018;49:595–613.
- Kumar BV, Connors T, Farber DL. Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity* 2018;48:202–213.
- Lawrence SM, Corriden R, Nizet V. The ontogeny of a neutrophil: mechanisms of granulopoiesis and homeostasis. *Microbiol Mol Biol Rev* 2018;82:e00057–117.
- Lawrence SM, Corriden R, Nizet V. How neutrophils meet their end. *Trends Immunol* 2020;41:531–544.
- Lenti MV, Luu S, Carsetti R, et al. Asplenia and spleen hypofunction. *Nat Rev Dis Primers* 2022;8:71.
- Malengier-Devlies B, Metzemaekers M, Wouters C, et al. Neutrophil homeostasis and emergency granulopoiesis: The example of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Front Immunol* 2021;12:766620.
- Nečas E, Faltusová K. Současný pohled na krvetvornou tkáň. *Čs Fyziol* 2019;68:57–67.
- O'Byrne S, Elliott N, Rice S, et al. Discovery of a CD10-negative B-progenitor in human fetal life identifies unique ontogeny-related developmental programs. *Blood* 2019;134:1059–1071.
- Paudel S, Ghimire L, Jin L, et al. Regulation of emergency granulopoiesis during infection. *Front Immunol* 2022;13:961601.
- Roy A, Wang G, Iskander D, et al. Transitions in lineage specification and gene regulatory networks in hematopoietic stem/progenitor cells over human development. *Cell Rep* 2021;36:109698.
- Xie H, Ye M, Feng R, Graf T. Stepwise reprogramming of B cells into macrophages. *Cell* 2004;117:663–676.

Kapitola II

Laboratorní vyšetření v hematologii

2 Laboratorní vyšetření v hematologii

Lukáš Kolařík, Ivana Hadačová, Ester Mejstříková, Eva Froňková

Hematologická laboratorní vyšetření poskytují informace o počtu a morfologii krevních elementů, mohou poskytnout základní informace o jejich funkčnosti (zejména trombocytů) a informace o stavu krevního srážení. Využití hematologických laboratorních metod je široké. Metody se uplatňují v rámci kontroly zdravotního stavu pacienta, diferenciální diagnostiky onemocnění a patologických stavů a při kontrole léčby pacienta.

Hematologické laboratorní metody můžeme dělit na metody základní a speciální. Mezi metody základní se řadí vyšetření krevního obrazu, včetně stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů, stanovení nezralých forem trombocytů, tzv. retikulovaných trombocytů, stanovení retikulocytů, mikroskopické hodnocení nátěrů periferní krve a základní koagulační vyšetření. Mezi metody speciální se řadí mikroskopické hodnocení nátěrů kostní dřeně a tělních tekutin (ascity, dialyzáty, punktáty a likvory), cytochemická vyšetření a speciální koagulační vyšetření, např. stanovení koagulační aktivity faktorů, vyšetření na lupus antikoagulans atd.

2.1 Morfologická vyšetření

Morfologická vyšetření zahrnují stanovení krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů pomocí hematologického analyzátoru, stanovení počtu retikulocytů, nezralých forem trombocytů a samotná morfologická hodnocení nátěrů periferní krve pomocí mikroskopu, eventuálně pomocí digitální morfologie. Vyšetření je prováděno z nesrážlivé žilní a arteriální krve, v opodstatněných případech (novorozenci, děti a pacienti se špatným žilním vstupem) lze vyšetření provést z kapilár-

ní krve. Zcela vzácně je vyšetřována pupečnicková krev. Jako antikoagulační činidlo je nejvíce využívána K_3EDTA . Morfologická vyšetření nelze provést ze sraženého či částečně sraženého vzorku krve, z naředěného vzorku infuzním přípravkem nebo ze vzorku, který prošel teplotním poškozením. Stabilita řádně odebraného materiálu je pět hodin při pokojové teplotě, v závislosti na spektru vyšetření. Vzorky nesmějí být uchovávány ani transportovány do laboratoře při chladničkové teplotě z důvodu aktivace koagulace a rozpadu krevních elementů.

2.1.1 Stanovení krevního obrazu

Krevní obraz představuje základní screeningové hematologické vyšetření. Poskytuje informace o počtu krevních elementů (leukocyty, erytrocyty a trombocyty), hodnotě hemoglobinu a informace o základní morfologii např. velikosti (střední objem erytrocytu, mean corpuscular volume /MCV/, velikost trombocytu, mean platelet volume /MPV/). Moderní hematologické analyzátory doplňují krevní obraz o počet erytroidních prekurzorů, tzv. erytroblastů/normoblastů.

Indikace vyšetření: Podezření na přítomnost početních změn krevních elementů, např. anemie, leukocytóza a trombocytopenie, součást screeningového vyšetření, vstupní vyšetření při přijetí pacienta k hospitalizaci a součást předoperačního vyšetření.

V případě patologického výsledku krevního obrazu lze vyšetření rozšířit o další metody, např. při leukocytóze – stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů, při zjištění anemie – stanovení retikulocytů, popř. morfologického hodnocení erytrocytů, při trombocytopenii – stanovení retikulovaných

Tab. 2.1 Rozdíl mezi stanovením diferenciálního rozpočtu leukocytů pomocí analyzátoru a mikroskopu

Analyzátorové stanovení		Mikroskopické stanovení
Výhody	rychlost – čas analýzy cca 5 minut	vyšší počet rozlišovaných subpopulací leukocytů
	automatizace procesu analýzy	popis morfologických změn leukocytů, erytrocytů a trombocytů
	vyšší počet hodnocených elementů	identifikace atypických buněk
Nevýhody	nízký počet rozlišovaných subpopulací leukocytů	rychlost cca 1–2 hodiny
	v případě patologie leukocytů vzrůstající chybovost	nižší počet hodnocených elementů
	výskyt interferencí	validita výsledku závislá na hodnotiteli

(archiv autorů)

trombocytů vždy v kombinaci s mikroskopickým vyšetřením trombocytů, při přítomnosti pancytopenie – nutno vždy doplnit o mikroskopické stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů.

1.1.2 Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů

Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů poskytuje informace o počtu jednotlivých subpopulací leukocytů. Vyšetření může být provedeno pomocí hematologického analyzátoru nebo mikroskopického hodnocení. Rozdíly mezi analyzátorovým a mikroskopickým hodnocením diferenciálního rozpočtu leukocytů jsou uvedeny v tabulce 2.1.

Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů – pomocí analyzátoru

Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů pomocí hematologického analyzátoru umožňuje rozlišit pět subpopulací leukocytů (neutrofilů, eozinofilů, bazofilů, lymfocytů a monocytů). Moderní hematologické analyzátory dokáží vyčlenit i nezralé formy granulocytů, tzv. immature granulocytes.

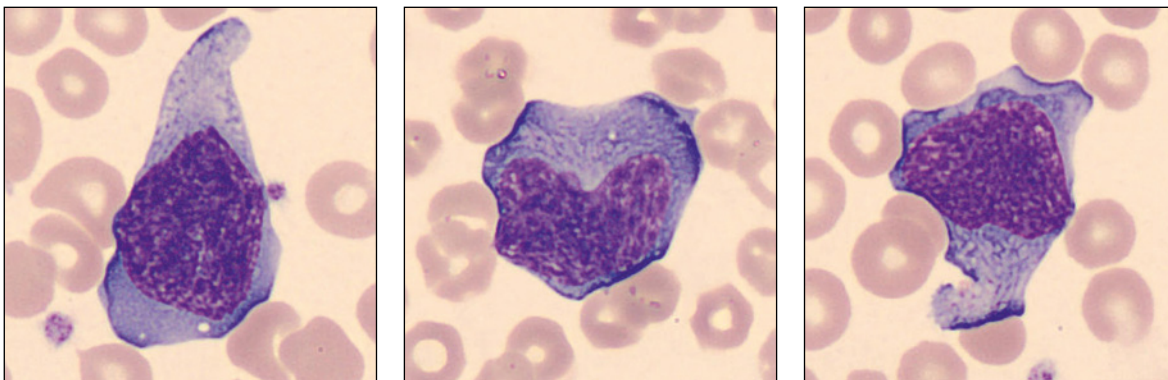
Indikace vyšetření: V případě leukocytózy v krevním obraze, při přijetí k hospitalizaci zejména pediatrických pacientů, v případě podezření na infekční stav: virová infekce – lymfocytóza, bakteriální infekce – neutrofilie + nezralé formy granulocytů, parazitární infekce trávicího traktu a bronchiální astma – eozinofilie, alergie – bazofilie.

Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů – pomocí mikroskopu

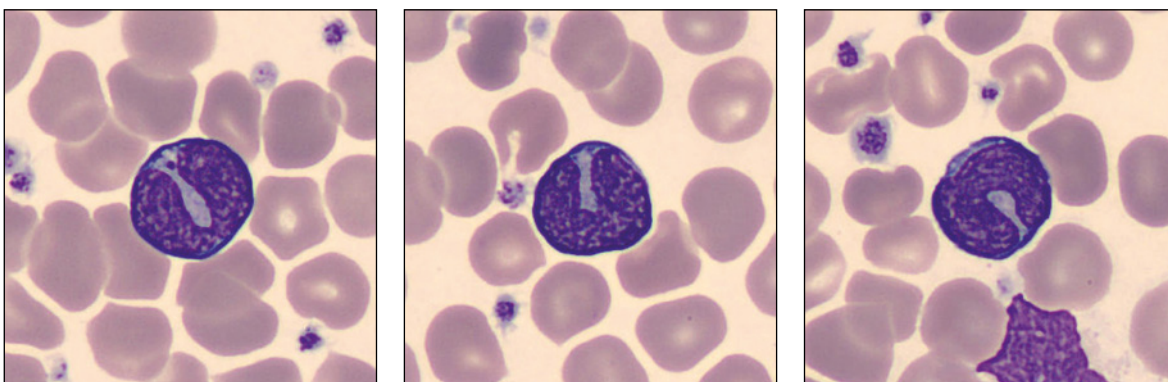
Stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů pomocí mikroskopického hodnocení poskytuje rozlišení většího počtu subpopulací leukocytů oproti stanovení pomocí analyzátoru, zároveň umožňuje morfologický popis jednotlivých leukocytů. Při mikroskopickém popisu leukocytů může být vznesena suspekce na různá infekční onemocnění, např. přítomnost cytotoxických lymfocytů (též známé jako virocyty či elementy charakteru LyMo) – nejčastěji při infekci virem Epstein–Barrové (EBV) či dalších virových onemocněních (obr. 2.1–2.3), přítomnost lymfocytů s hlubokým zářezem v cytoplazmě – suspektní pro infekci způsobenou bakterií *Bordetella pertusis* (obr. 2.4–2.6).

Mimo suspekce na infekční onemocnění může mikroskopické hodnocení leukocytů upozornit na možnou přítomnost hematoonkologického onemocnění, které je nejčastěji provázeno přítomností blastických elementů nebo leukemických promyelocytů (obr. 2.7–2.9), přítomností Aeurových tyčů (obr. 2.10–2.12), přítomností nezralých forem granulocytů za současného výskytu změn v erytrocytech (kapkovité erytrocyty, ovalocyty) či přítomností morfologicky klonálních lymfocytů, popř. klonálních plazmatických buněk.

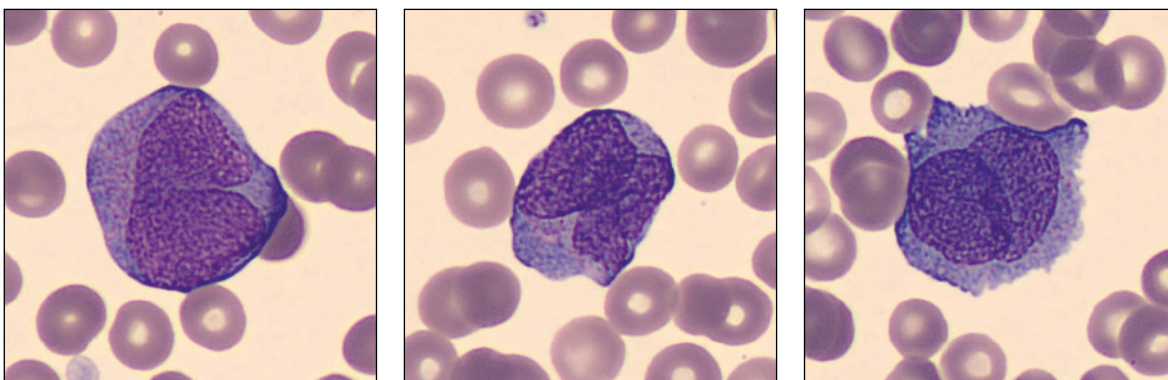
Součástí mikroskopického hodnocení je zároveň hodnocení morfologie erytrocytů a trombocytů.



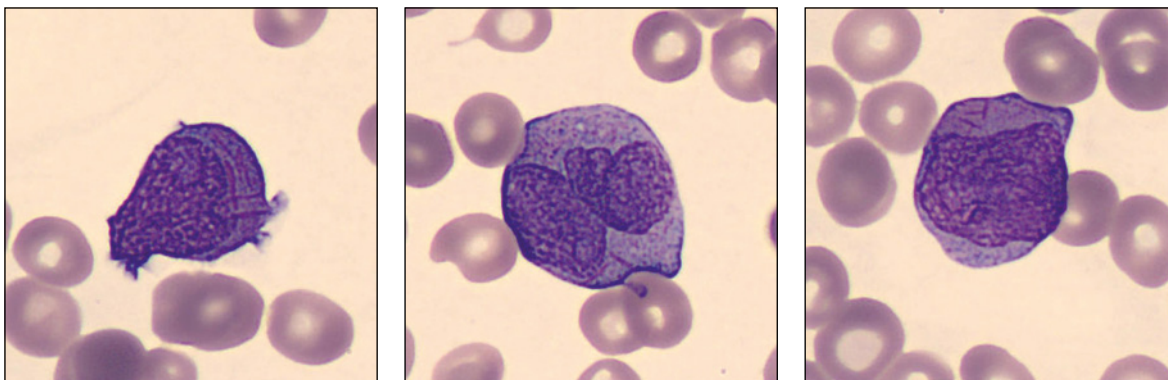
Obr. 2.1–2.3 Periferní krev – cytotoxické lymfocyty u pacienta s infekcí virem Epstein–Barrové (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; digitální morfologie CellaVision DM96)



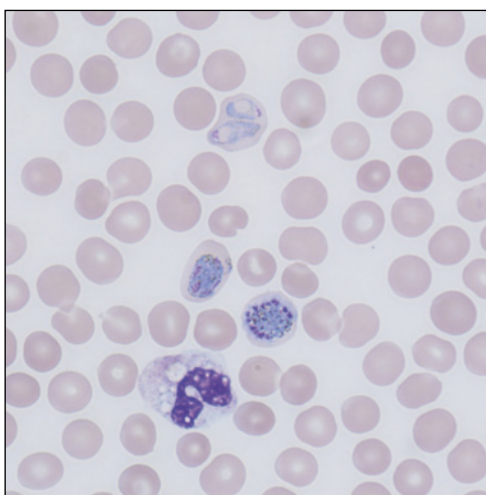
Obr. 2.4–2.6 Periferní krev – lymfocyty s výraznými zářezy v jádře u pacienta s infekcí vyvolanou bakterií *Bordetella pertussis* (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; digitální morfologie CellaVision DM96)



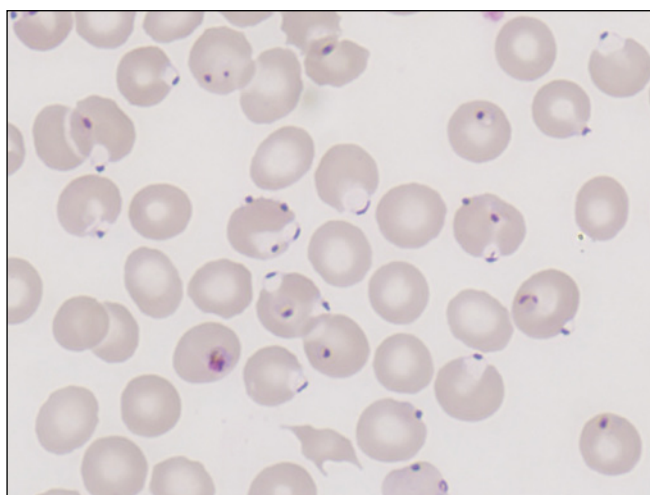
Obr. 2.7–2.9 Periferní krev – charakteristické leukemické promyelocyty s bilobárními jádry „vzhledu andělských křídel“ u pacienta s akutní promyelocytární leukémií (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; digitální morfologie CellaVision DM96)



Obr. 2.10–2.12 Periferní krev – charakteristické leukemické promyelocyty s četnými Auerovými tyčemi (tyčové útvary v cytoplasmě), „buňky typu faggot cell“ u pacienta s akutní promyelocytární leukémií (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; digitální morfologie CellaVision DM96)



Obr. 2.13 Tenký nátěr periferní krve – *Plasmodium vivax* (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol; nátěr k nafo-
cení poskytl RNDr. Lenka Richterová, Ph.D., Praha; foto: Olympus BX53)



Obr. 2.14 Tenký nátěr periferní krve – *Plasmodium falciparum* (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)

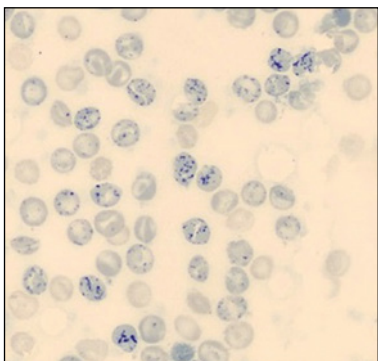
Při mikroskopickém hodnocení může být odhalena i přítomnost non-WBC (white blood cells) elementů, např. přítomnost parazitů (nejčastěji plasmodia), bakterií, kvasinek, jader megakaryocytů či mikromegakaryocytů (obr. 2.13 a 2.14).

Indikace: Pancytopenie, popř. bicytopenie, výrazná leukocytóza, abnormální zastoupení subpopulací leukocytů při analyzátorovém hodnocení diferenciálního rozpočtu leukocytů, suspekce na

hematoonkologické onemocnění – nutno vždy upozornit laboratoř provádějící vyšetření.

2.1.3 Stanovení retikulocytů

Retikulocyty představují vývojový předstupu zralých erytrocytů. Retikulocyty mohou být stanoveny pomocí hematologického analyzátoru nebo pomocí mikroskopického hodnocení po obarvení supravitálním barvením (obr. 2.15). Moderní he-



Obr. 2.15 Supravivální barvení na retikulocyty pomocí brilliant-kresylové modře, pacient s anemií z deficitu puryvátkinázy s vysokým počtem retikulocytů (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)

matologické analyzátoři umožňují stanovení nejen relativního a absolutního počtu retikulocytů, ale zároveň i stanovení jednotlivých vývojových frakcí retikulocytů (IRF, LFR, MFR a HFR) a stanovení hemoglobinu v retikulocytech. Stanovení vývojových frakcí retikulocytů a hemoglobinu v retikulocytech poskytuje detailnější informace o stavu erythropoezy v kostní dřeni. Hemoglobin v retikulocytech umožňuje lékaři rychlejší zhodnocení účinnosti léčby přípravky s železem a erytropoetinem.

Snížený počet retikulocytů v periferní krvi může poukázat na neefektivní hematopoezu, přítomnou např. u aplastické anemie. Zvýšená hodnota retikulocytů odráží odpověď kostní dřene na vývoj anemie se zvýšeným rozpadem či ztrátou erytrocytů, provázející např. hemolytické anemie, talasemie či reakci na akutní ztrátu krve. V případě anemie s retikulocytózou je vhodné provést vyšetření markerů hemolýzy (bilirubin, laktátdehydrogenáza, haptoglobin, volný hemoglobin aj.).

Indikace: V rámci diferenciální diagnostiky anemií a polycytemií, monitorace léčby přípravky s železem a erytropoetinem, monitorace funkčního stavu kostní dřene např. po chemoterapii.

2.1.4 Stanovení retikulovaných trombocytů

Retikulované trombocyty představují frakci mladých trombocytů. Stanovení probíhá pomocí he-

matologického analyzátoru na principu průtokové cytometrie. Stanovení retikulovaných trombocytů umožňuje odlišení trombocytopenií vyvolaných poruchou tvorby trombocytů od trombocytopenií způsobených zvýšenou destrukcí a konzumpcí. V případě poruchy tvorby trombocytů je hodnota retikulovaných trombocytů nízká, oproti např. idiopatické trombocytopenické purpurě či trombocytické trombocytopenické purpurě, kdy je hodnota retikulovaných trombocytů vyšší.

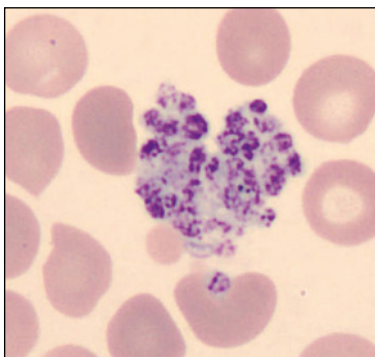
Indikace: Trombocytopenie, sledování účinnosti léčby trombocytopenie, posouzení regenerace kostní dřene po chemoterapii.

2.1.5 Mikroskopické hodnocení trombocytů

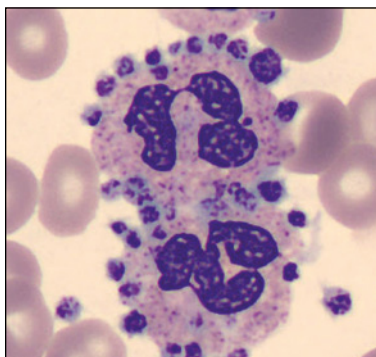
Mikroskopické hodnocení trombocytů je prováděno v případě, že je v krevním obraze pacienta přítomna trombocytopenie, nebo v rámci diferenciální diagnostiky trombocytopenií a trombocytopenií, kdy je vyžadován popis morfologie trombocytů. V případě trombocytopenie v krevním obraze je úkolem laboratoře vyloučit při mikroskopickém hodnocení trombocytů fenomén „pseudotrombocytopenie“.

Indikace: V případě krvácivých stavů, při trombocytopenii v krevním obraze, diferenciální diagnostika trombocytopenií a trombocytopenií, vyloučení pseudotrombocytopenie.

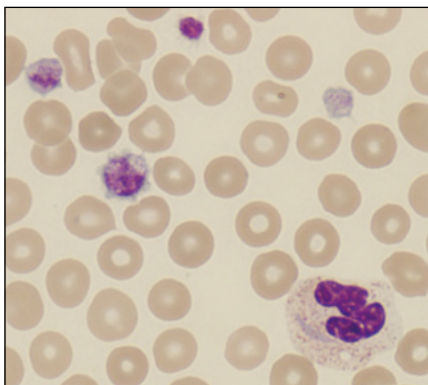
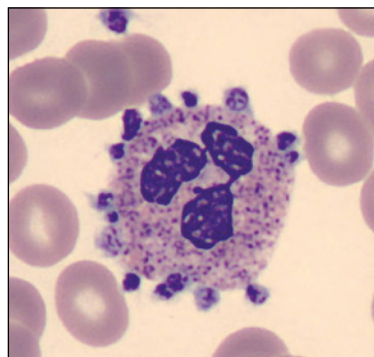
Pseudotrombocytopenie je laboratorní fenomén, kdy je *in vitro* zjištěn snížený počet trombocytů, zatímco *in vivo* se hodnota trombocytů pohybuje v referenčním rozmezí. Přibližně 15–20 % izolovaných trombocytopenií představují pseudotrombocytopenie. Mezi nejčastější příčiny pseudotrombocytopenie patří přítomnost shluků trombocytů (obr. 2.16), méně často se vyskytuje satelitismus trombocytů (obr. 2.17 a 2.18). Nejčastější příčinou vzniku shluků trombocytů představuje náročný odběr, zejména u pediatrických pacientů a u pacientů se špatným žilním přístupem, či nedostatečné promíchání zkumavky po odběru. Méně často dochází k reakci



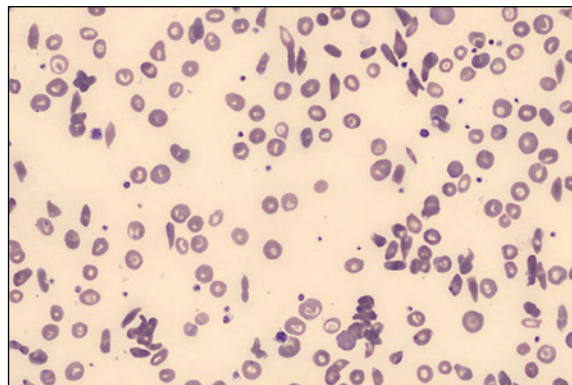
Obr. 2.16 Periferní krev – shluk trombocytů (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; digitální morfologie CellaVision DM96)



Obr. 2.17–2.18 Periferní krev – satellitizmus trombocytů na povrchu segmentovaných neutrofilních granulocytů (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; digitální morfologie CellaVision DM96)



Obr. 2.19 Periferní krev – morfologicky charakteristický obraz Mayovy–Hegglinovy anomálie: trombocytopenie, makrotrombocyty a přítomnost Döhleho inkluzí (šedomodrá srpkovitá inkluze v segmentovaném neutrofilním granulocytu) (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)



Obr. 2.20 Nátěr periferní krve od pacienta se srpkovitou anemií (hemoglobinopatie S) (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; digitální morfologie CellaVision DM96)

trombocytů s antikoagulačním činidlem K_3EDTA za vzniku shluků trombocytů. Nejčastěji uváděná příčina destičkového satellitizmu spočívá v interakci draselných iontů K_3EDTA s neutrofilny a trombocyty, při které dojde k obnažení membránových glykoproteinů (neutrofilny – $Fc\gamma$, trombocyty – glykoproteinový komplex IIb/IIIa) a následnému vytvoření protilátek, které umožní adherenci trombocytů na neutrofilny. Pro eliminaci fenoménu pseudotrombocytopenie je možno provést odběr do jiného odběrového média – ThromboExact, které místo draselných iontů obsa-

huje horečnaté ionty. V ThromboExactu lze stanovit pouze počet trombocytů, proto je nezbytné provést současný odběr do K_3EDTA pro stanovení ostatních parametrů krevního obrazu, případně diferenciálního rozpočtu leukocytů aj.

Morfologicky charakteristický obraz Mayovy–Hegglinovy anomálie ukazuje obrázek 2.19.

2.1.6 Mikroskopické hodnocení erytrocytů

Mikroskopické hodnocení erytrocytů umožňuje popis odchylek v morfologii erytrocytů. Morfo-

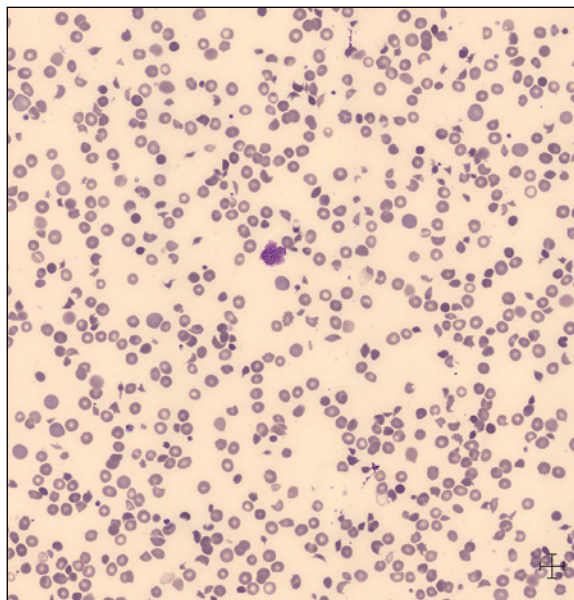
logické odchylky erytrocytů se dělí na odchylky velikosti (mikrocyty, makrocyty, anizocytóza erytrocytů), změny v barvitelnosti (hypochromní erytrocyty, polychromazie, anizochromie), změny tvaru (poikilocyty, akantocyty, echinocyty, terčovitě erytrocyty, stomatocyty, knizocyty, sférocyty, ovalocyty, dakryocyty, schistocyty aj.), inkluze v erytrocytech (Howellova–Jollyho tělíčka, bazofilní tečkovaní, Pappenheimerova tělíčka a Cabotovy prstence) a změny konfirmace v nátěru (penízkovatění erytrocytů a aglutinace erytrocytů).

Nátěr periferní krve od pacienta se srpkovitou anemií ukazuje obrázek 2.20.

Indikace: V rámci diferenciální diagnostiky anemií a polycytemií

2.1.7 Stanovení počtu schistocytů

Schistocyty představují fragmenty erytrocytů cirkulující v krevním oběhu pacienta. Mecha-

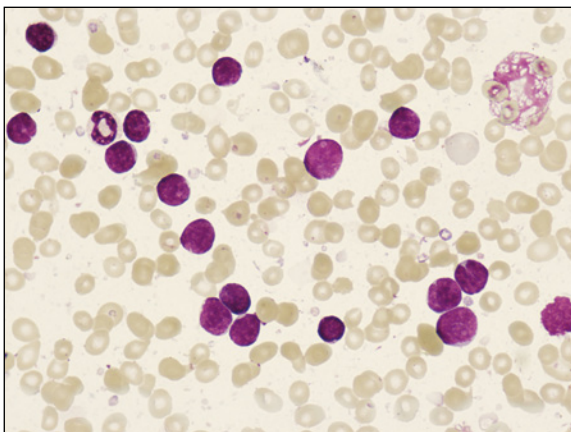


Obr. 2.21 Nátěr periferní krve pacienta s HUS, v nátěru přítomny velmi četné schistocyty (fragmentocyty)
(z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; digitální morfologie CellaVision DM96)

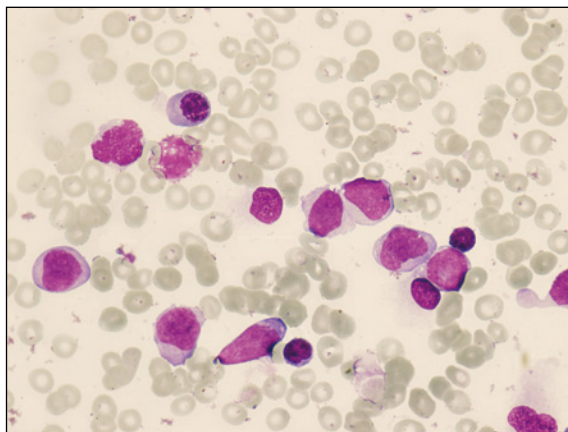
nizmus vzniku schistocytů je odvislý od vyvolávajícího stavu / onemocnění. Schistocyty mohou vznikat z řady příčin, a to na základě mechanického poškození, z fyzikálních příčin či působením infekčního agens. Mechanické poškození erytrocytů může být způsobeno např. umělými chlopněmi, extrakorporálním oběhem a zejména mechanickým poškozením provázejícím trombotické mikroangiopatie (TMA) a mikroangiopatické hemolytické anemie (MAHA). Mezi mikroangiopatické hemolytické anemie se řadí: hemolyticko-uremický syndrom (obr. 2.21), trombotická trombocytopenická purpura, HELLP syndrom, preeklampsie a eklampsie, závažný antifosfolipidový syndrom a diseminované intravaskulární koagulace. Fyzikální vznik schistocytů provází popáleniny, zejména III. stupně, při kterých dochází k fyzikální a osmotické lýze erytrocytů či při maligní hypertenzi. Mezi infekční agens schopná vyvolat hemolytické poškození erytrocytů a tím vznik schistocytů patří např. *Escherichia coli*, *Plasmodium*, *Clostridium perfringens*, *Trypanosoma*, *Bartonella bacilliformis*, *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi* aj.

Indikace: V případě přítomnosti anemie s trombocytopenií v krevním obraze a klinického podezření na trombotickou mikroangiopatii nebo mikroangiopatickou hemolytickou anemii, diferenciální diagnostika anemií, monitorace pacientů s hemolyticko-uremickým syndromem a trombotickou trombocytopenickou purpurou, monitorace pacientů po transplantaci kostní dřeně (riziko rozvoje TMA).

Poznámka: Zvýšené množství schistocytů může mít mnoho příčin, proto je důležité, zda se u pacienta vyskytovaly schistocyty jako dominantní morfologická odchylka v erytrocytech (suspektní pro TMA) či zda byl nález schistocytů provázen i dalšími morfologickými nálezy, zejména výraznou anizocytózou a poikilocytózou (nemusí svědčit pro TMA).



Obr. 2.22 Nátěr kostní dřeně z pravé kyčle, uniformně infiltrovaná kostní dřeň u pacienta s akutní lymfoblastickou leukémií, na fotografii četné lymfoblasty s úzkým lemem cytoplazmy, spodní pravý kvadrant neutrofilní myelocyt (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)



Obr. 2.23 Nátěr kostní dřeně z pravé kyčle, uniformně infiltrovaná kostní dřeň u pacientky s akutní myeloidní leukémií – subtyp M4 (podle FAB), na fotografii sedm blastických elementů, dva lymfocyty a jeden polychromní erytroblast (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)

2.1.8 Morfologické vyšetření kostní dřeně

Kostní dřeň (medulla ossium) představuje místo tvorby a diferenciací hematopoetických buněk, s výjimkou lymfocytů, které v kostní dřeni vznikají, ale diferenciaci podstupují v lymfatických orgánech, např. v lymfatických uzlinách, thymu a slezině. Z povahy této charakteristiky je kostní dřeň vyšetřována v případě podezření na hematologická onemocnění (nevysvětlitelná anémie, trombocytopenie, neutropenie či pancytopenie), hematoonkologická onemocnění (obr. 2.22 a 2.23) a onkologická onemocnění. Odběr kostní dřeně se provádí u dětí do jednoho roku z tibie, od jednoho roku je odběr prováděn nejčastěji ze sternu nebo předních a zadních hřebenu kosti pánevní. U dospělého pacienta je kostní dřeň nejčastěji odebírána biopsií ze sternální kosti při tzv. sternální punkci nebo z kyčelní kosti punkční biopsií nebo trepanobiopsií. K cytologickému vyšetření je vyžadováno 0,1–0,2 ml dřeňové krve, ze které se okamžitě po odběru provádí nátěry na podložní skla.

Vyšetření kostní dřeně zahrnuje zhodnocení a popis nátěru kostní dřeně, stanovení myelogramu, morfologický popis buněk a závěr.

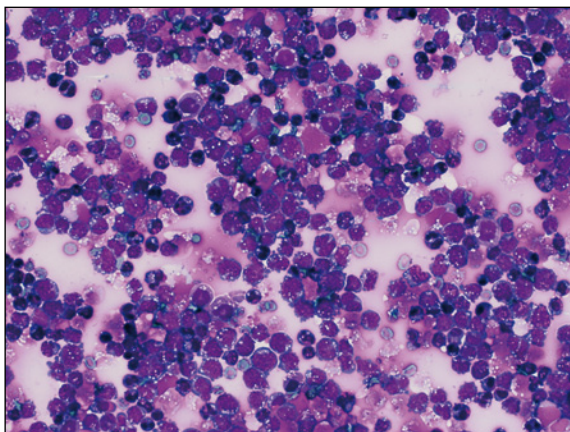
Indikace: Vyšetření etiologie anémie, trombocytopenie, neutropenie či pancytopenie, v případě zachytu atypických buněk v periferní krvi, při suspekci na hematoonkologické onemocnění, v případě podezření na infiltraci kostní dřeně nádorem, např. neuroblastomem či Ewingovým sarkomem aj.

2.1.9 Morfologické vyšetření tělních tekutin

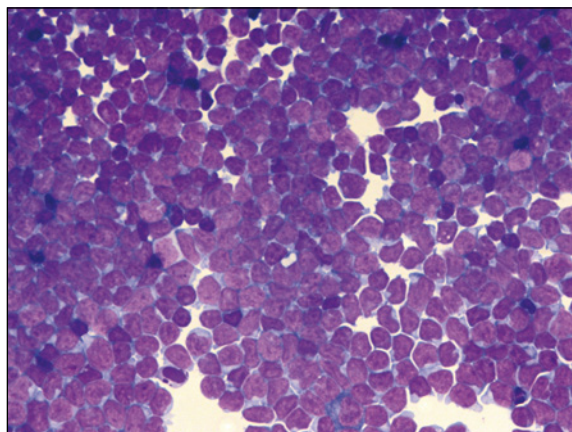
Spektrum morfologického vyšetření tělních tekutin v hematologické laboratoři je široké a odvislé od typu laboratoře. Vyšetření zahrnuje zejména vyšetření tekutin z punkce ascitu, punkce fluidotoraxu či vyšetření dialyzátu (obr. 2.24). Rovněž je vyšetřován mozkomíšní mok u hematoonkologických pacientů a bronchoalveolární laváže (obr. 2.25).

Vyšetření punktátů a dialyzátu je zaměřeno na stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů pro průkaz bakteriálního nebo virového původu zánetu, eventuálně prokázání infiltrace nádorovými buňkami.

Vyšetření mozkomíšního moku je zaměřeno zejména na průkaz přítomnosti atypických buněk při akutní leukemii.



Obr. 2.24 Masivní infiltrace fluidotoraxu L3 blasty (podle FAB)
(z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)



Obr. 2.25 Infiltrace mozkomíšního moku lymfoblasty u pacienta s akutní lymfoblastickou leukémií
(z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Leica DM2500)

Indikace punktáty a dialyzáty: Průkaz charakteru zánětlivého procesu, eventuálně vyloučení infiltrace nádorovými buňkami.

Indikace mozkomíšního mok: Průkaz přítomnosti atypických buněk při akutní leukemii v rámci stanovení diagnózy a v průběhu léčby.

2.1.10 Cytochemické metody v hematologii

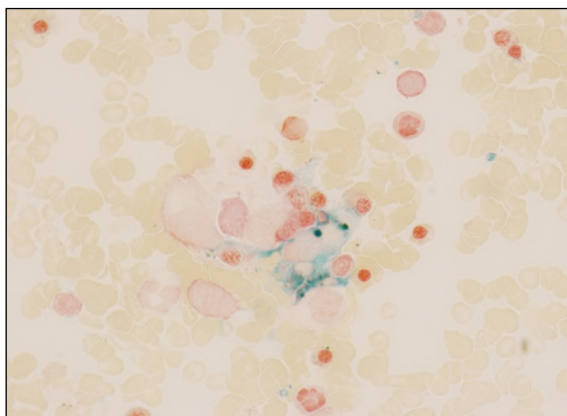
Cytochemické metody jsou využívány ke znázornění buněčných struktur, které nejsou viditelné při rutinním panoptickém barvení. Pomocí těchto metod může být proveden průkaz řady enzymů (peroxidázy, kyselé fosfatázy aj.) a substancí zahrnující zejména průkaz železa a polysacharidů. Průkaz enzymů a substancí umožňuje zařadit buňky do jednotlivých vývojových řad nebo prokázat jejich patologickou proliferaci. Mezi základní a nejčastěji využívané cytochemické metody patří barvení na železo, průkaz peroxidázy, kyselé fosfatázy, barvení nespecifických esteráz (včetně blokady NaF) a barvení PAS.

Barvení na železo

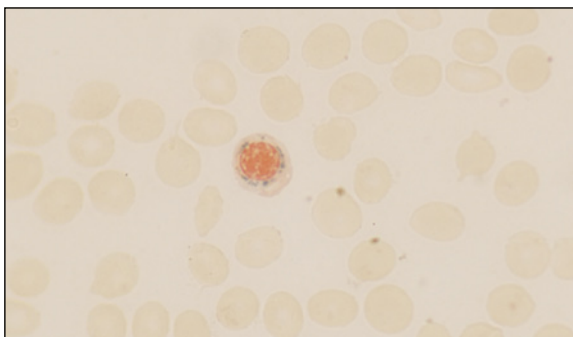
Barvení slouží k průkazu železa v erytrocytech (siderocyty), erytroblastech (sideroblasty), retikulárních

buněk (siderofágy) a k vyšetření extracelulárního železa (obr. 2.26 a 2.27).

Indikace: Snížené hodnoty až vymizení siderocytů a sideroblastů provází např. sideropenické anemie, bakteriální infekce, akutní revmatoidní horečku aj. Zvýšené hodnoty siderocytů a sideroblastů provází např. hemolytické a megaloblastové anemie, dyserythropoetické anemie a neefektivní erythropoezu, myelodysplastický syndrom (včetně přítomnosti prstenčitých sideroblastů) aj.



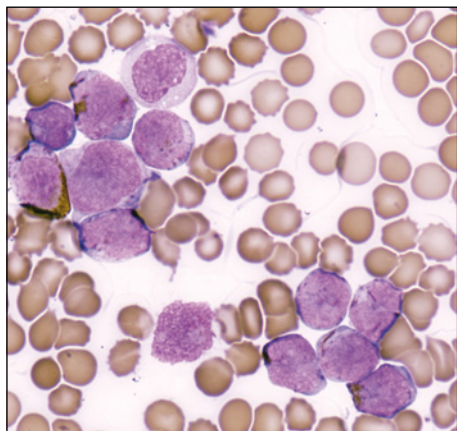
Obr. 2.26 Barvení na přítomnost železa, nátěr kostní dřeně – uprostřed siderofág, dále přítomny sideroblasty a extracelulární železo
(z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)



Obr. 2.27 Barvení na přítomnost železa, nátěr kostní dřeně – uprostřed prstenčitý sideroblast
(z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)

Průkaz myeloperoxidázy

Metoda slouží k průkazu enzymu myeloperoxidázy lokalizované v primárních azurofilních granulích neutrofilů, eozinofilů a monocytů. Myeloperoxidáza v eozinofilních granulích je chemicky, cytochemicky a imunologicky odlišná od myeloperoxidázy neutrofilů. Pozitivita myeloidních buněk na myeloperoxidázu se zvyšuje s vyzráváním buněk, tj. největší množství peroxidázy je přítomno v neutrofilních a eozinofilních segmentovaných granulocytech, monocytů vykazují jemnou granulární pozitivitu (obr. 2.28).



Obr. 2.28 Barvení POX, nátěr kostní dřeně u akutní myeloidní leukemie, pozitivní myeloidní blasty (zlatohnědé zabarvení cytoplazmy), některé s přítomností Auerových tyčí, dále v horním levém kvadrantu přítomný monocyt (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)

Indikace: Odlišení akutní myeloblastické a monoblastické leukemie od lymfoblastické leukemie.

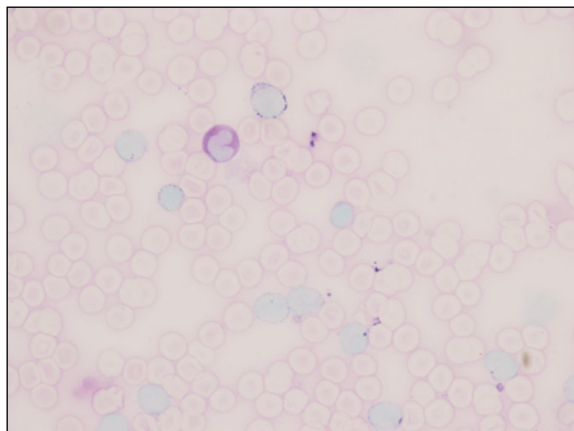
Průkaz polysacharidů – PAS barvení

Barvení slouží k průkazu vysokomolekulárních polysacharidů, zejména glykogenu. Glykogen představuje zdroj energie pro metabolismus leukocytů. Vysokomolekulární polysacharidy můžeme prokázat ve všech buňkách kromě fyziologických erytroblastů. V případě patologických stavů dochází ke změně positivity, a to zejména v lymfoidních buňkách (obr. 2.29).

Indikace: Odlišení akutní lymfoblastické leukemie od akutní myeloidní leukemie. V případě akutní erytroleukemie a talasemie pozitivita i v erytroblastech.

Barvení nespecifických esteráz, včetně blokady NaF

Esterázy představují lyzozomální enzymy přítomné v endoplazmatickém retikulu. Esterázy jsou přítomny též v primární azurofilní granulaci granulocytů, monocytů a dalších buněk, avšak s odlišnou vlastností k fluoridu sodnému (NaF). Nespecifické esterázy přítomné v primární azurofilní granulaci monocytů, makrofágů, megakaryocytů a trombo-



Obr. 2.29 Barvení PAS, nátěr kostní dřeně u akutní lymfoblastické leukemie, granulární až blokovaná pozitivita lymfoblastů, dále fyziologická pozitivita zralého granulocytu (z archivu Oddělení klinické hematologie FN Motol, Praha; Olympus BX53)