

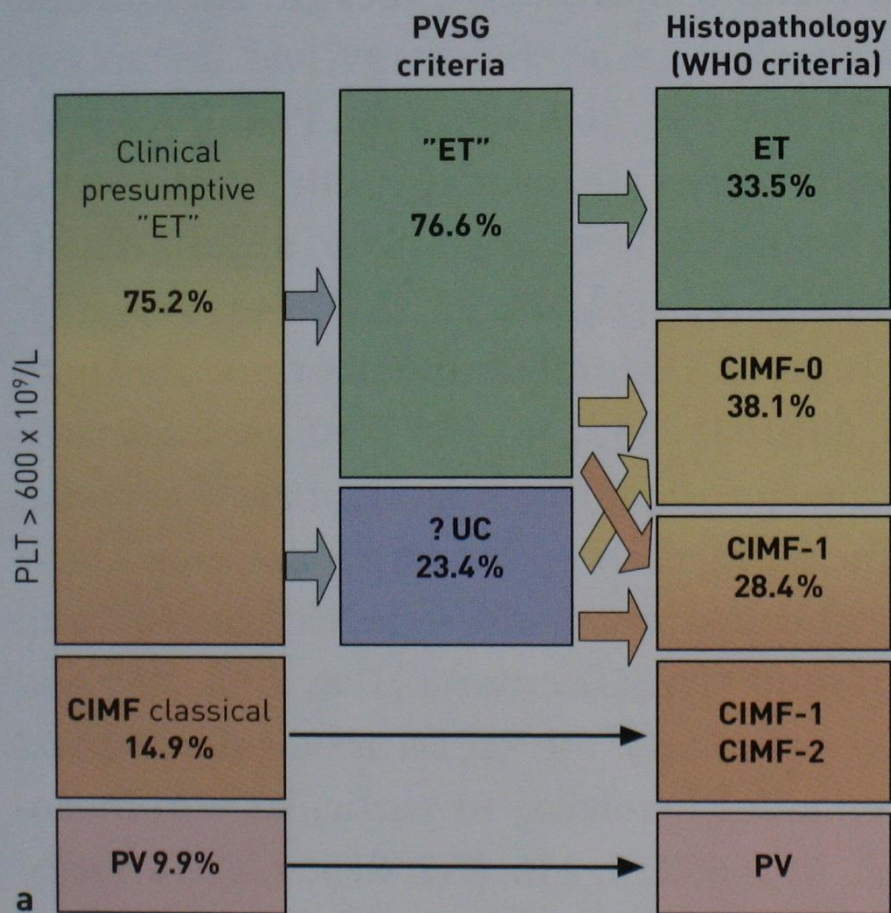
Myeloproliferativní a myeloproliferativně - myelodysplastické choroby

Buliková A., Kissová J,
FN Brno

Přehled klasifikací MPS

- Dameshek 1951
- PVSG 1975; opakované revize
- WHO 2001
 - CML definována cytogeneticky a/nebo mol. geneticky
 - definovány nové nosologické jednotky
 - skupina MDS/MPS
- Semi-molekulární klasifikační systém 2005
- WHO klasifikace 2008
 - MPN
 - zahrnuta mastocytóza
 - případy s eozinofilií vyčleněny při definovaných odchylkách
 - diagnostický algoritmus Ph- změněn zavedením JAK2
 - změna rozhraní pro trombocytémii
 - akcelerovaná fáze CML při léčbě TKI
- WHO klasifikace 2016!

Differentiation of Ph¹- MPDs with thrombocytopenia (n = 839)



Loss of life expectancy in Ph¹- MPDs with thrombocytopenia (n = 839)

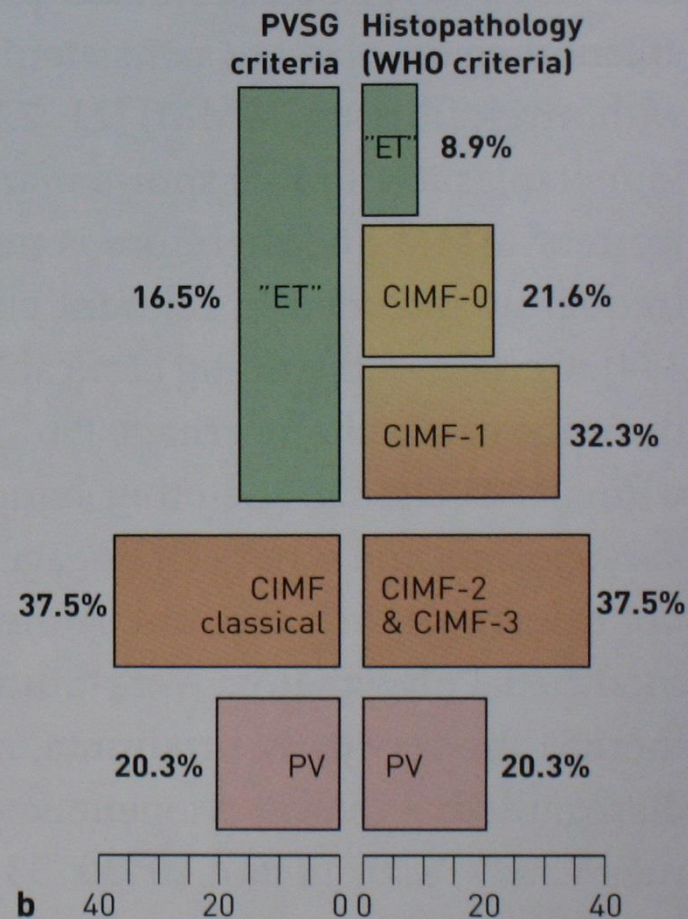
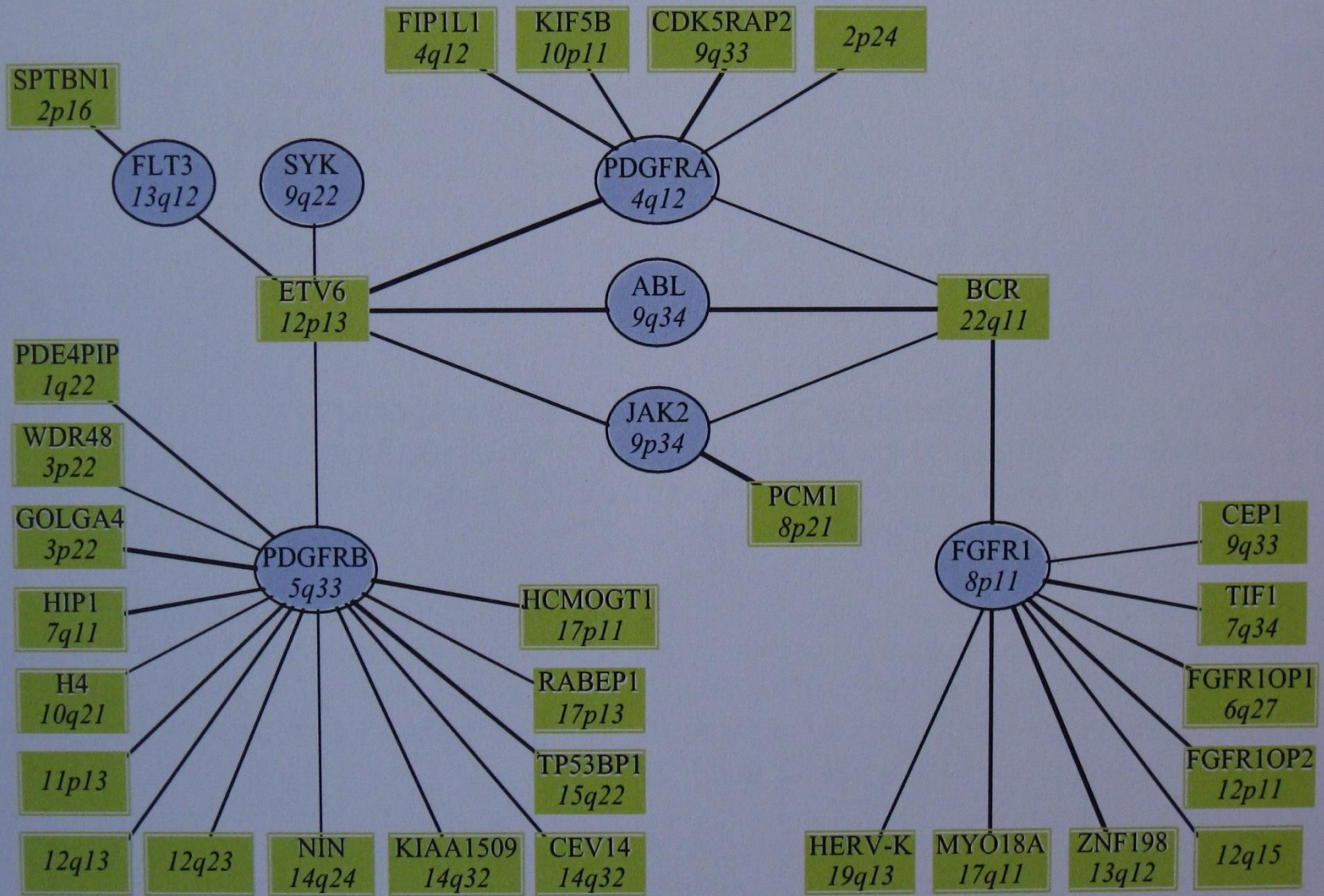


Figure 1 a, b. Comparative evaluation of two major diagnostic classification systems (PVSG versus WHO) for MPDs and the accordingly calculated disease-specific loss of life expectancy [288].



Charakteristika MPN:

- Proliferace klonu myeloidních buněk odvozených od nádorového prekursoru
- Vzniká odchylkou v multipotentní nebo nejvýše pluripotentní (schopné dát vzniku jak myeloidní tak lymfoidní linie) kmenové buňce i když diferenciacce probíhá dominantně v jedné vývojové linii
- Maturace nádorových buněk je zachována a buňky si ponechávají jistou schopnost odpovídat na fyziologické regulační mechanizmy

Charakteristika MPN:

- Skupina vykazuje větší či menší tendenci progrese do nádorového onemocnění připomínajícímu akutní leukémii (nejvíce a nejrychleji CML, vzácně ET)
- Dysplastické rysy jsou buď nepřítomny, nebo jsou nevýrazné. S progresí choroby však dysplastických rysů přibývá a hemopoéza je inefektivní
- Diagnostika je více závislá na nálezů v periferní krvi nežli v kostní dřeni

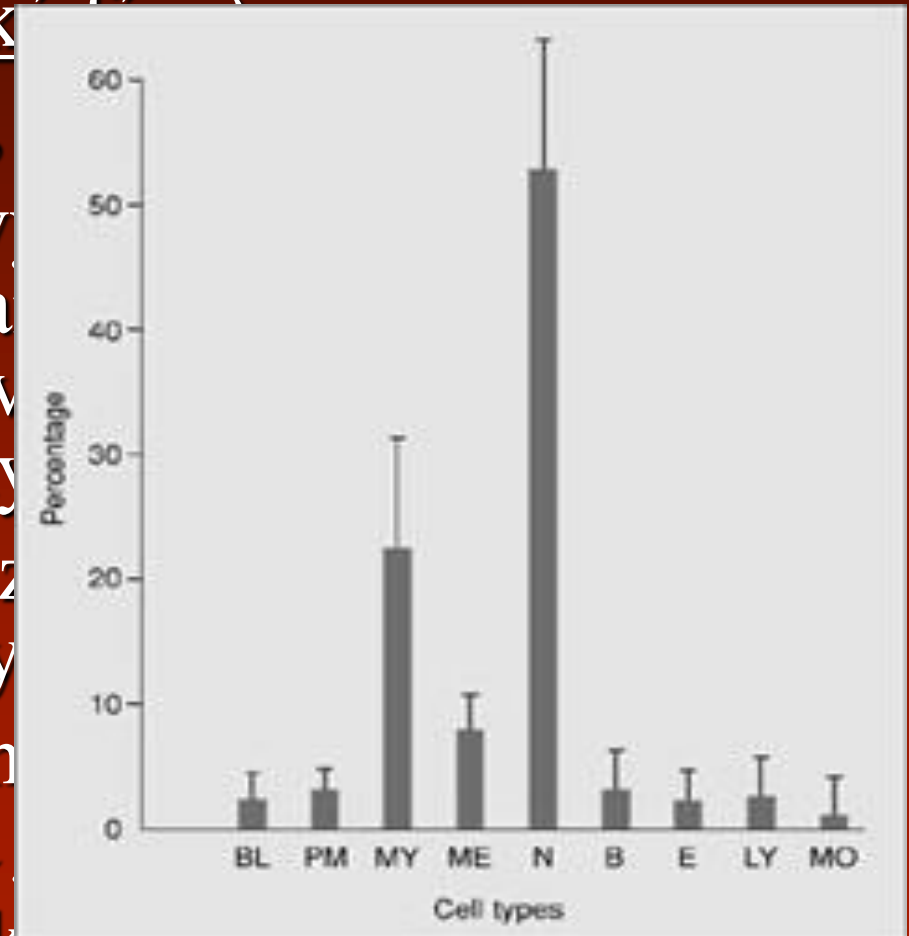
Chronické myeloproliferativní neoplázie

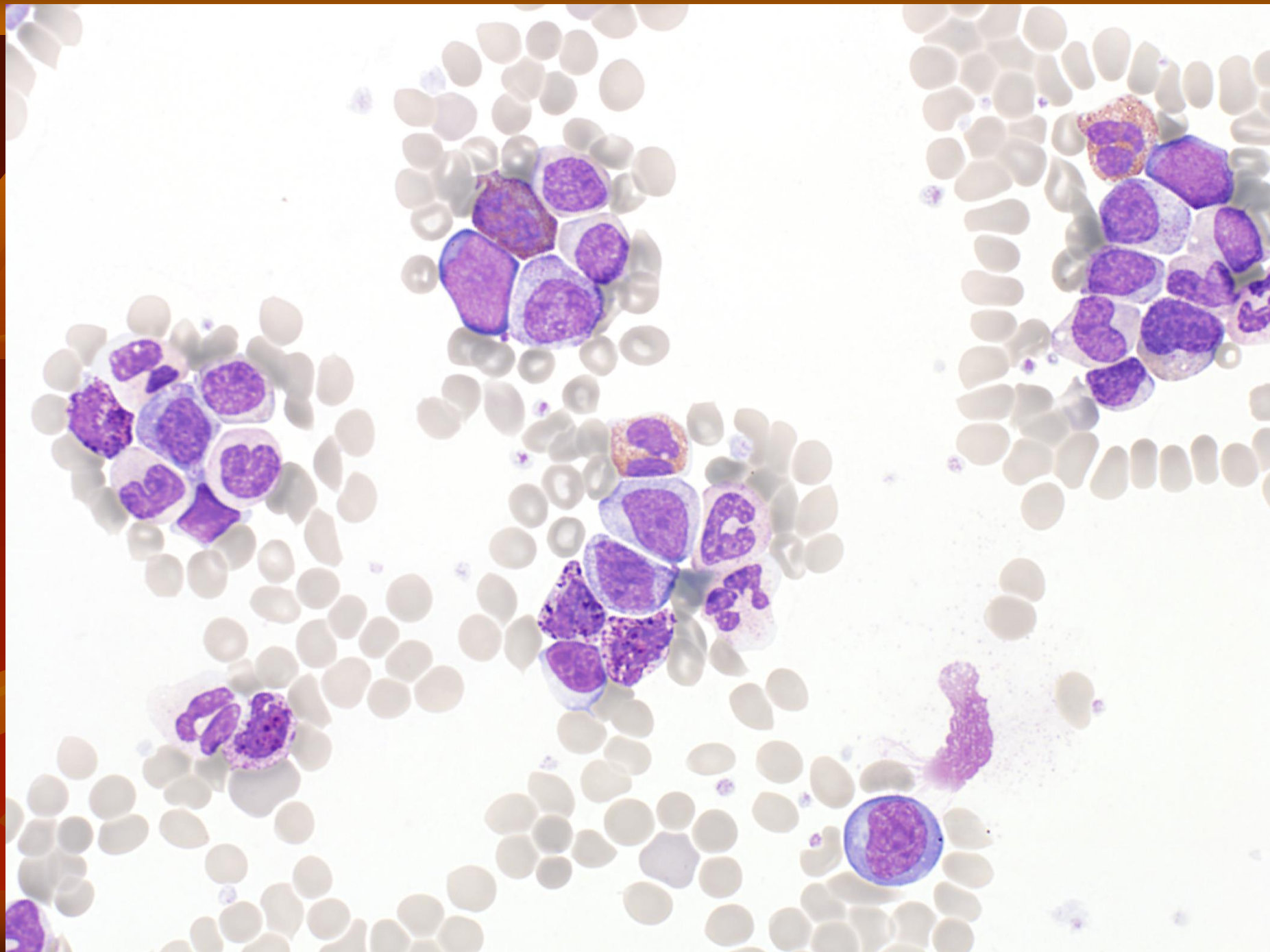
- Chronická myeloidní leukémie s t(9;22)(q34;q11), BCR/ABL pozitivní
- Chronická neutrofilní leukémie
- Chronická eozinofilní leukémie NOS
- Primární myelofibróza (PMF)
 - PMF, prefibrotické stadium
 - PMF, fibrotické stadium
- Pravá polycytémie
- Esenciální trombocytémie
- Chronické myeloproliferativní onemocnění, neklasifikovatelné

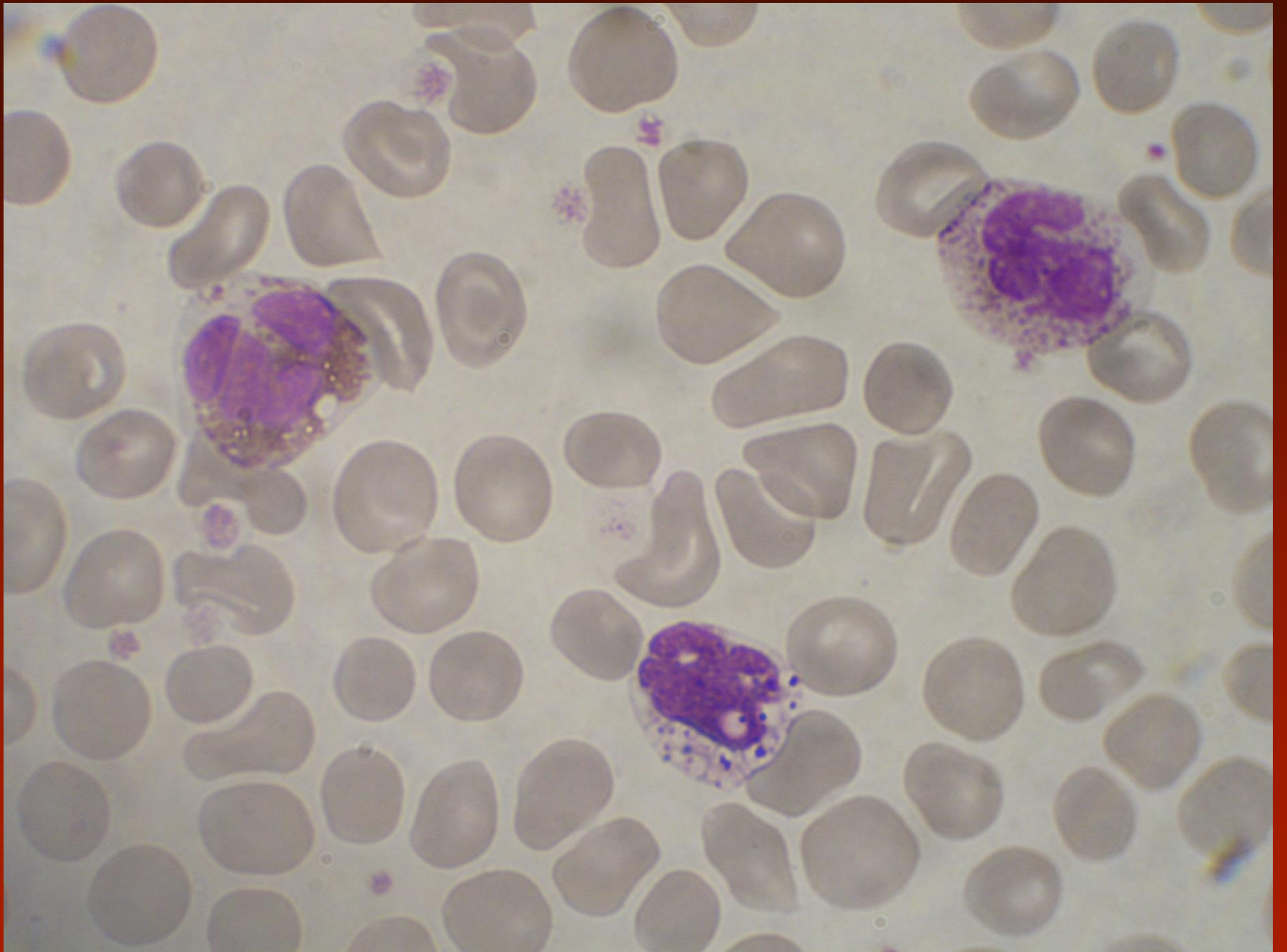
Chronická myeloidní leukémie t(9;22) a/nebo BCR/ABL pozitivní

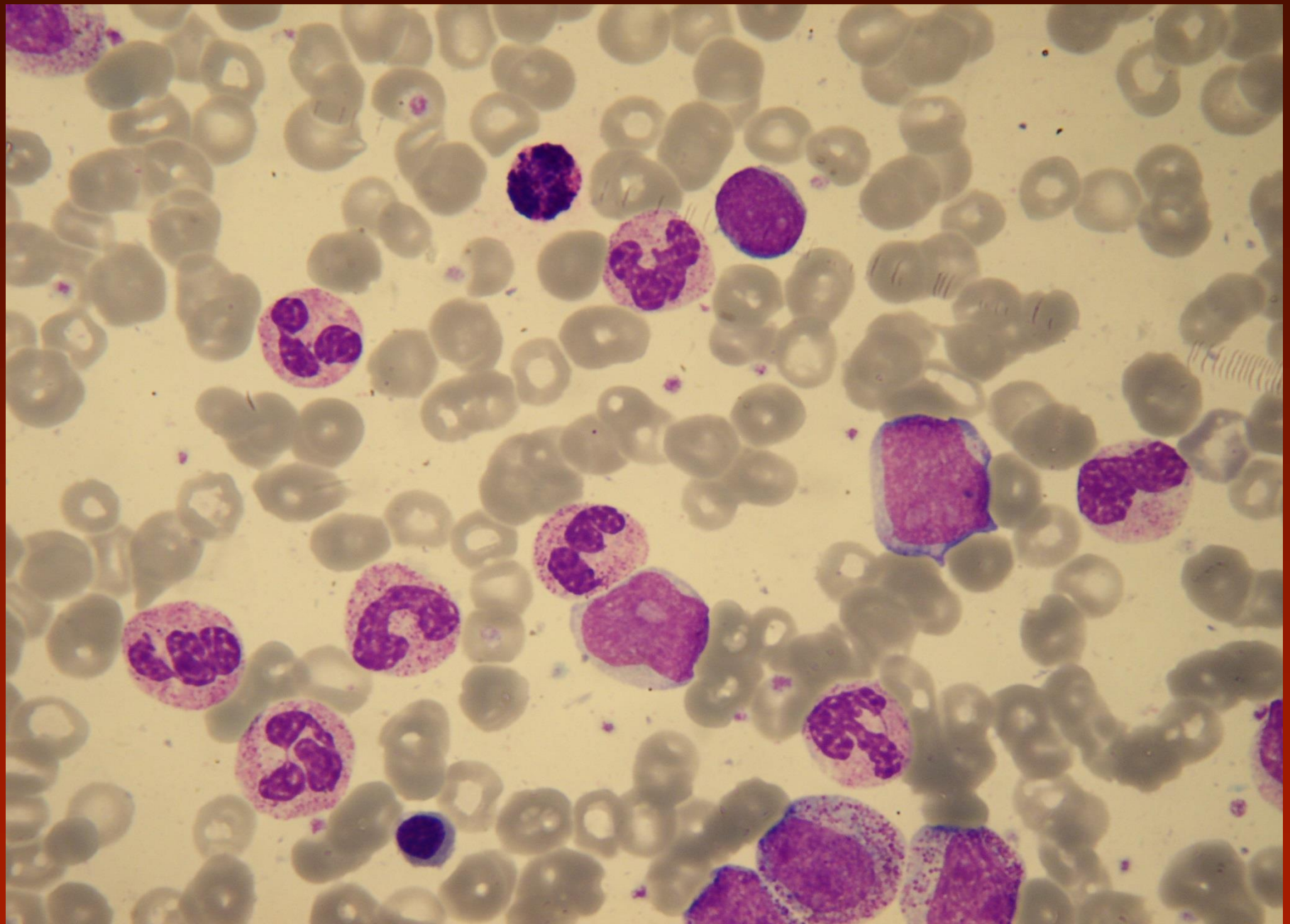
Periferní krev (chronická fáze)

- leukocyty zmnoženy,
- neutrofilie, všechna v
vrcholy - segmentová
myelocyty, blasty obvykle
promy < 15%, není dysplazie
- absolutní bazofilie různé
eozinofilie, monocytémie
- častěji zmnoženy trombocyty
destičky a poškozená funkce
- je snížena ALP v leukocytárním





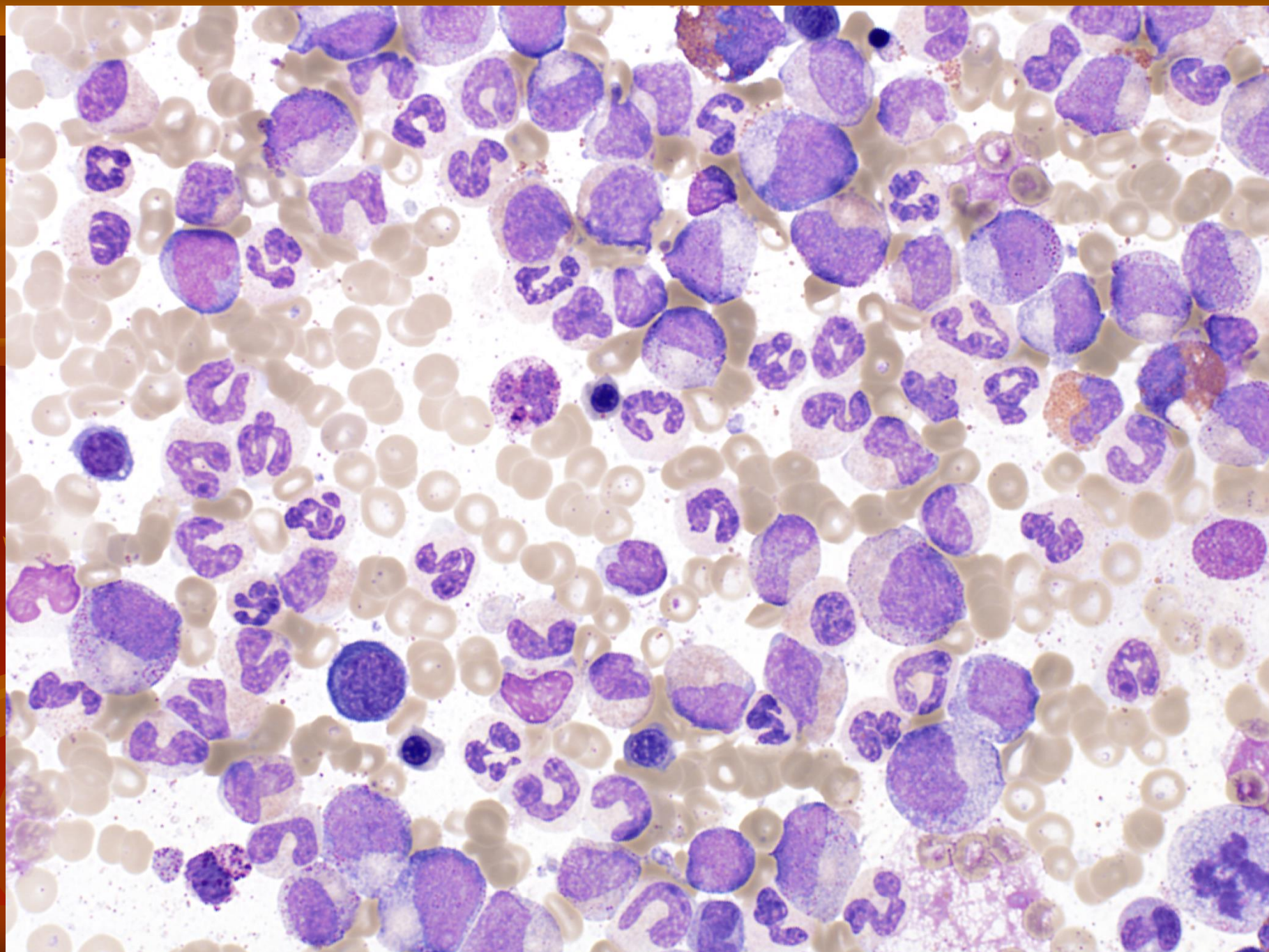


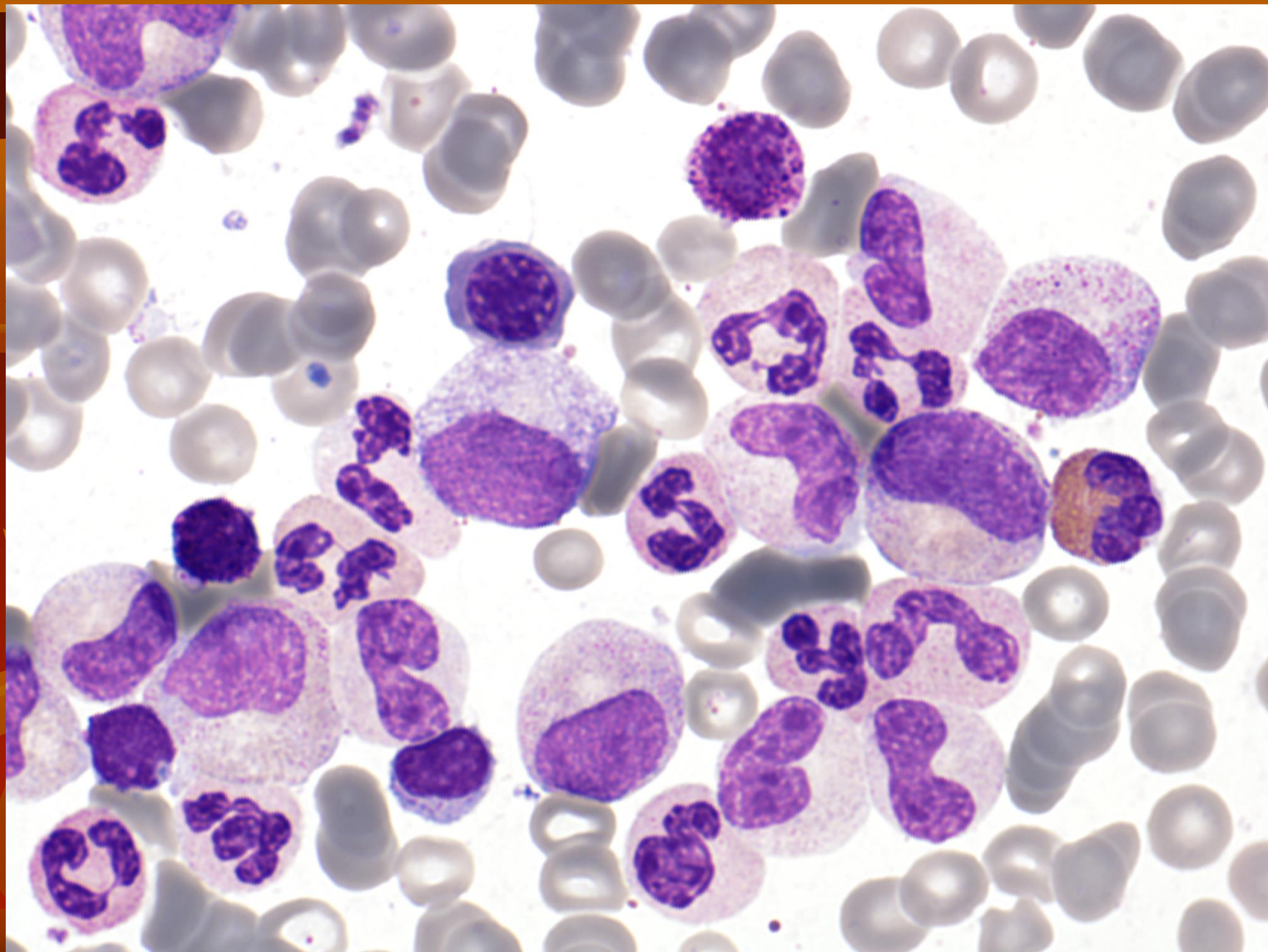


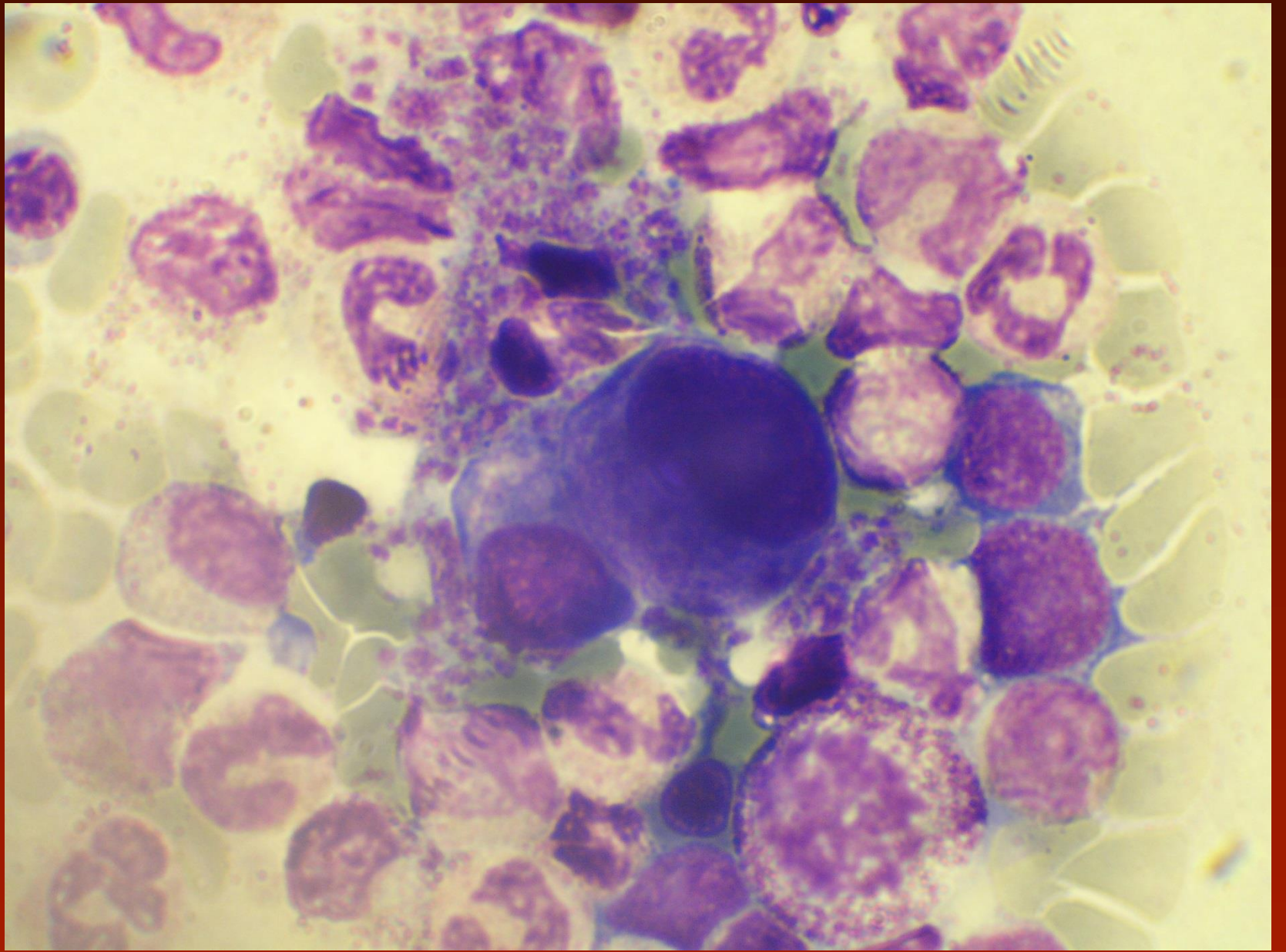
CML BCR/ABL 1 pozitivní

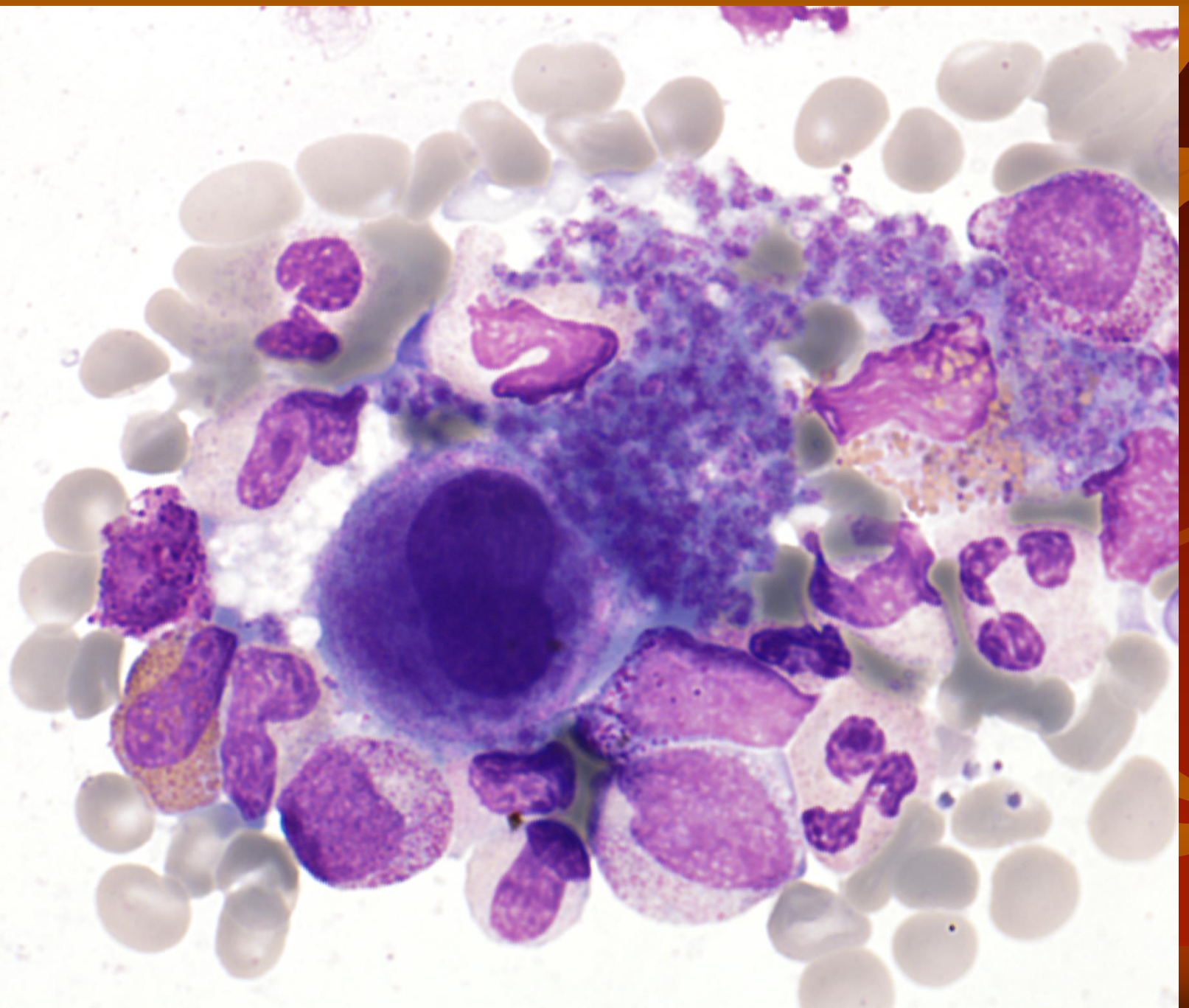
Kostní dřev (chronická fáze):

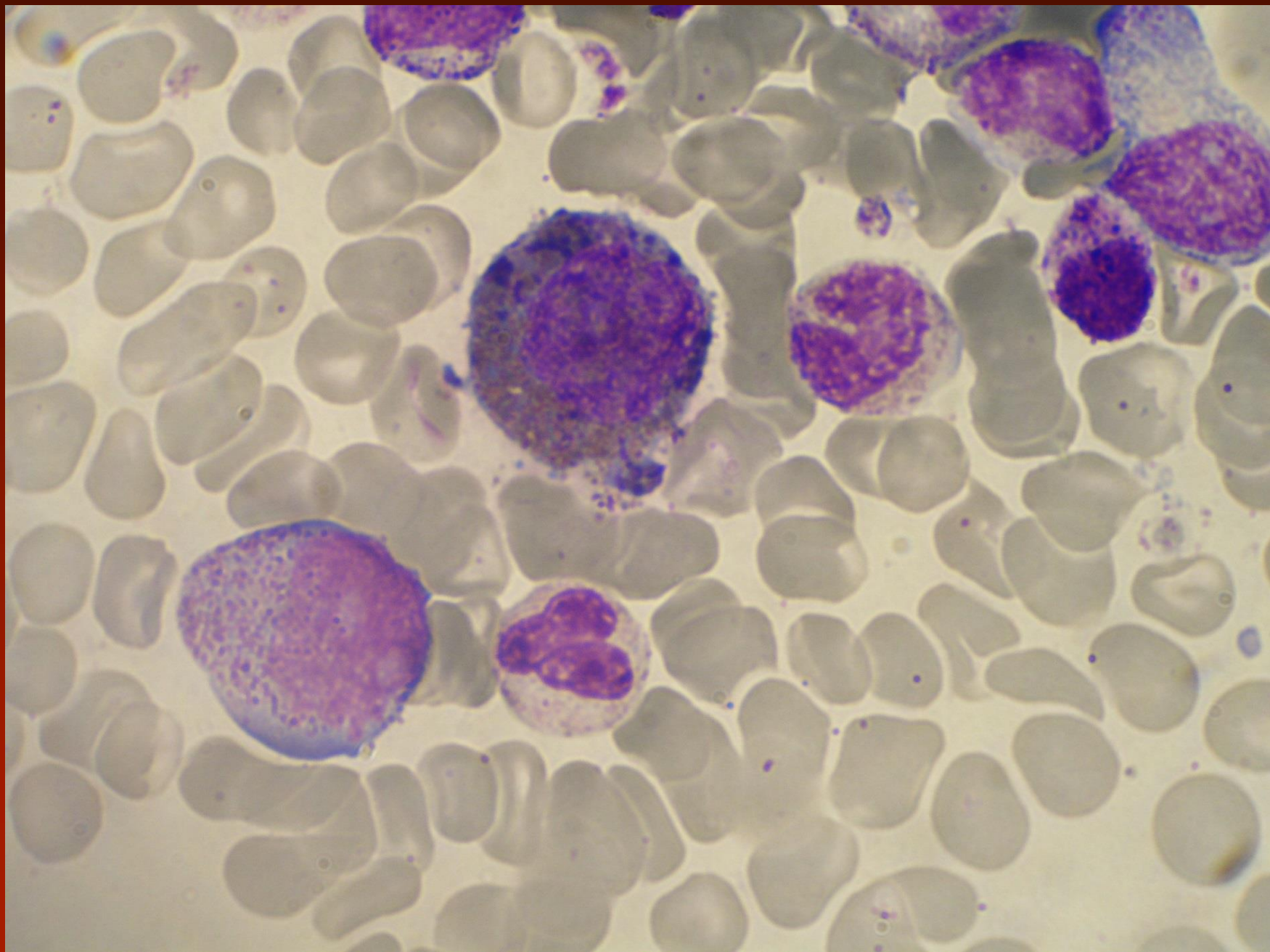
- hyperplazie granulocytární respektive u 40-50% i megakaryocytární s G/E až 25:1, blasty obvykle pod 5%, rozložení stadií jako v periferní krvi (myelocyty, segmenty), bazofilie
- megakaryocyty malé, hypoploidita jader
- může být výrazná eozinofilie
- u 30% Pseudo-Gaucherovy buňky či sea-blue histiocyty

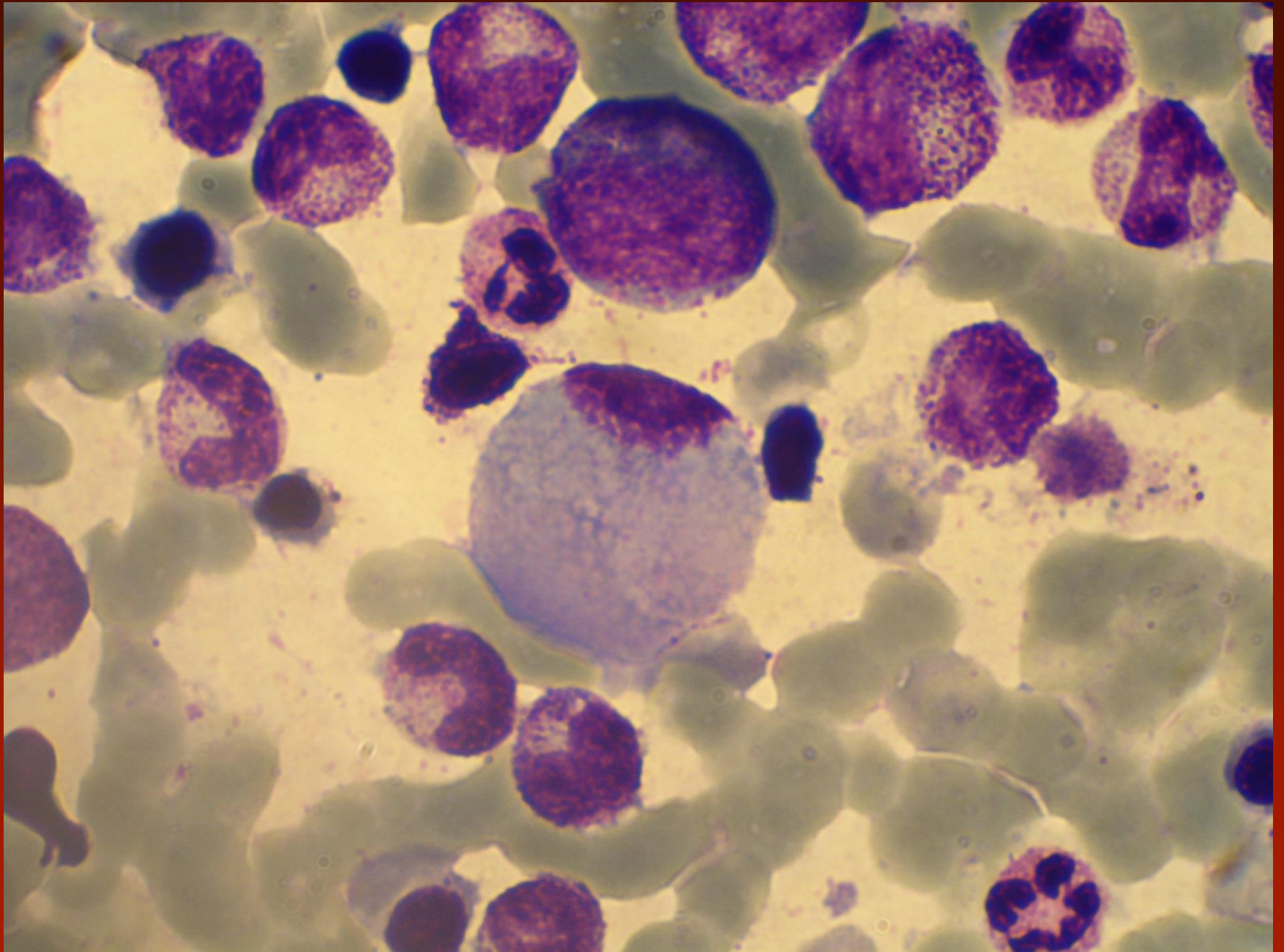


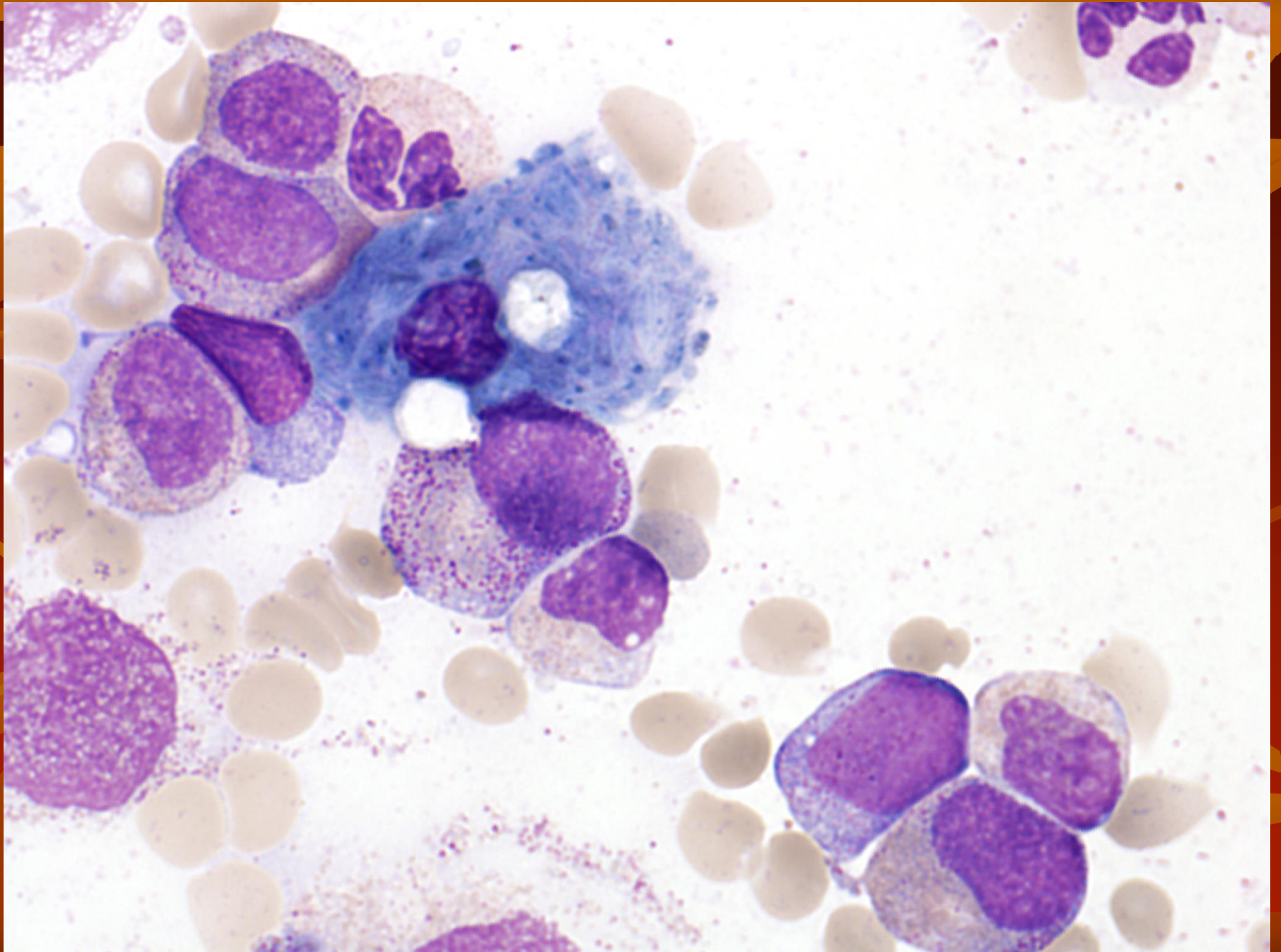












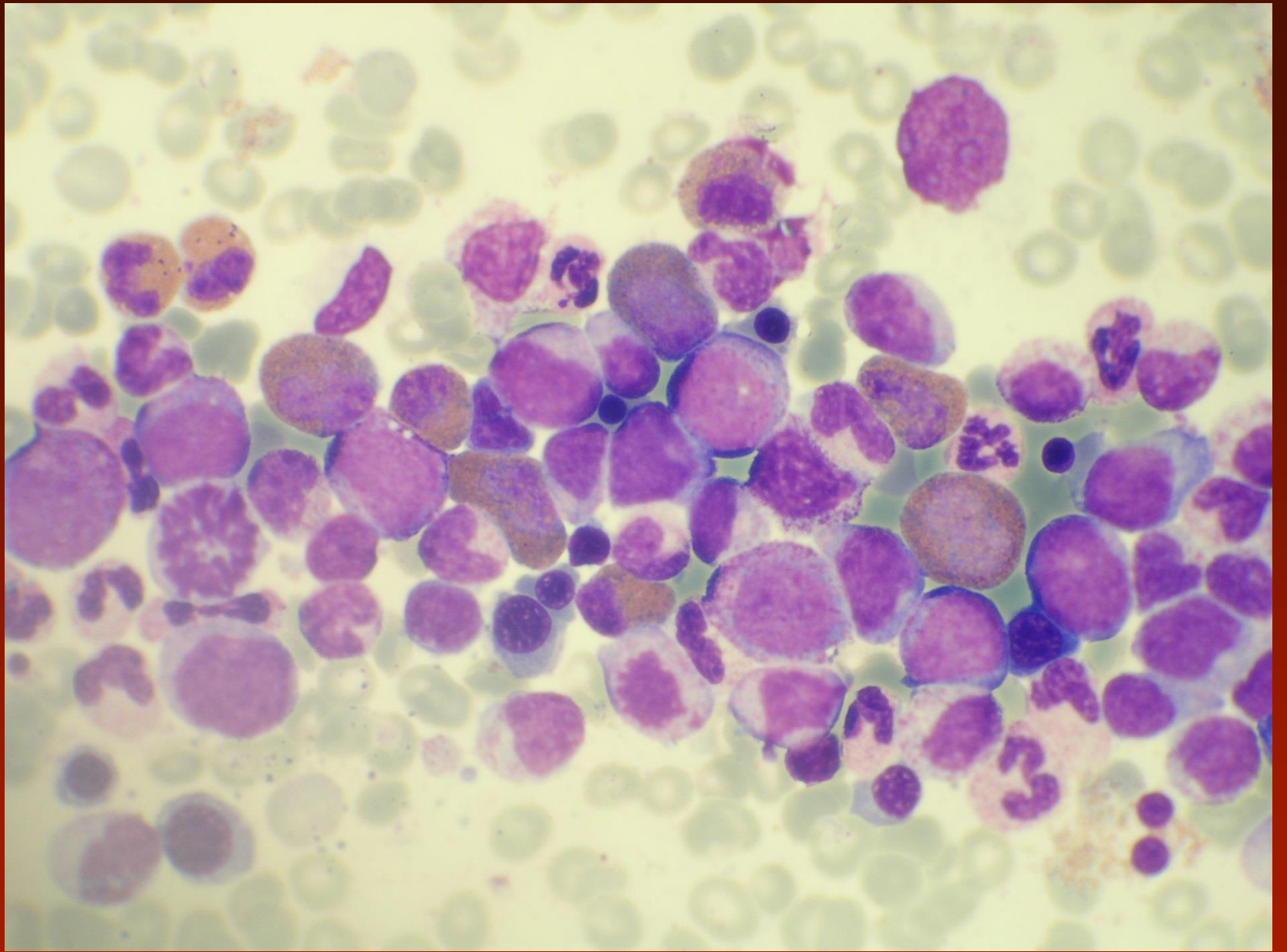
CML - akcelerovaná fáze

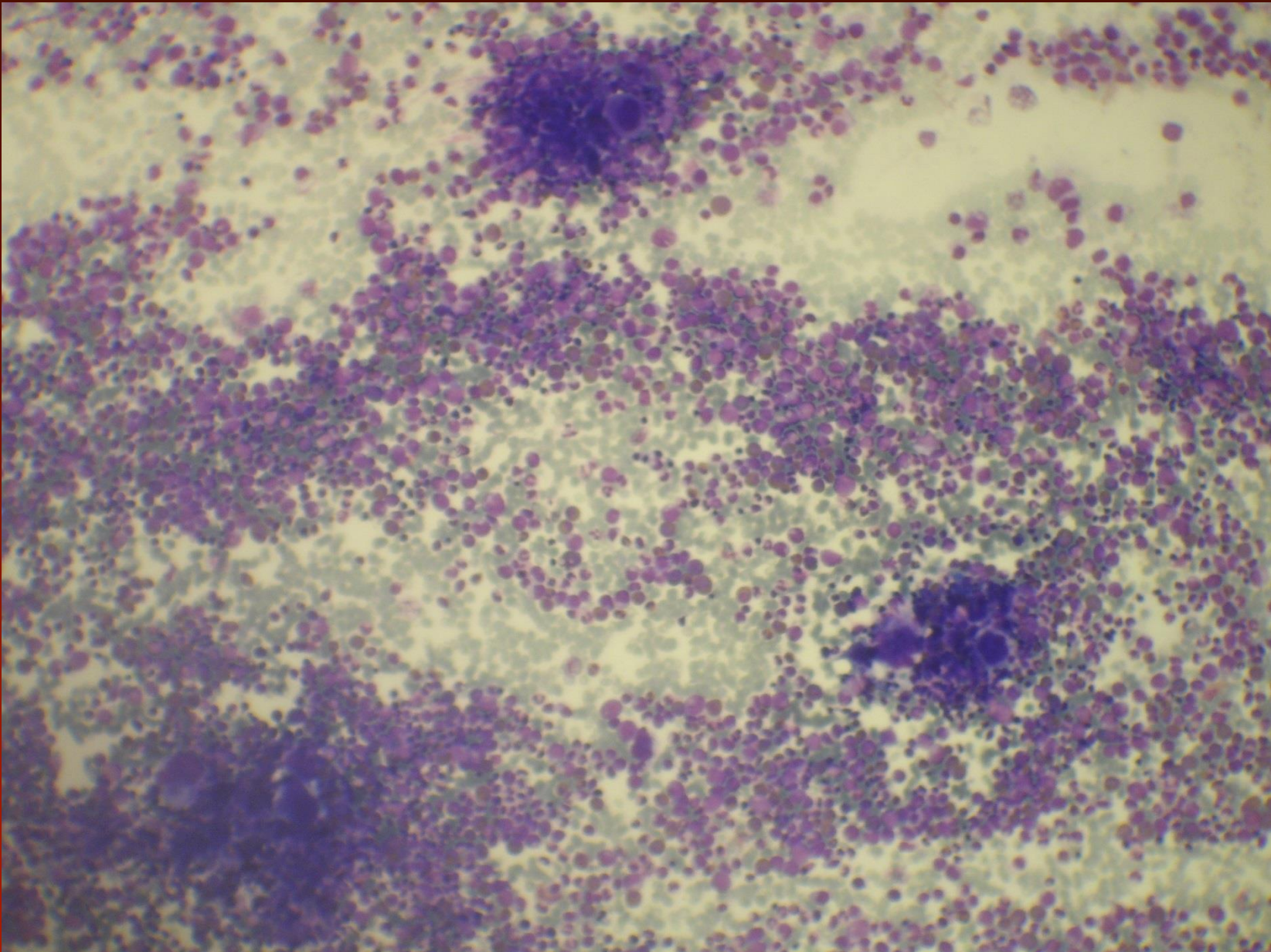
- myeloblasty jsou 10-19% v periferní krvi nebo kostní dřeni
- periferní bazofily jsou 20% a více
- trvající trombocytopenie $< 100\text{G/l}$ bez vztahu k léčbě, trvající trombocytémie $> 1000\text{G/l}$ neodpovídající na léčbu
- persistující či narůstající počet leukocytů ($> 10\text{G/L}$)
- zvětšující se slezina nereagující na léčbu
- cytogenetický průkaz klonálního vývoje

CML - akcelerovaná fáze

Podezřelé známky akcelerace:

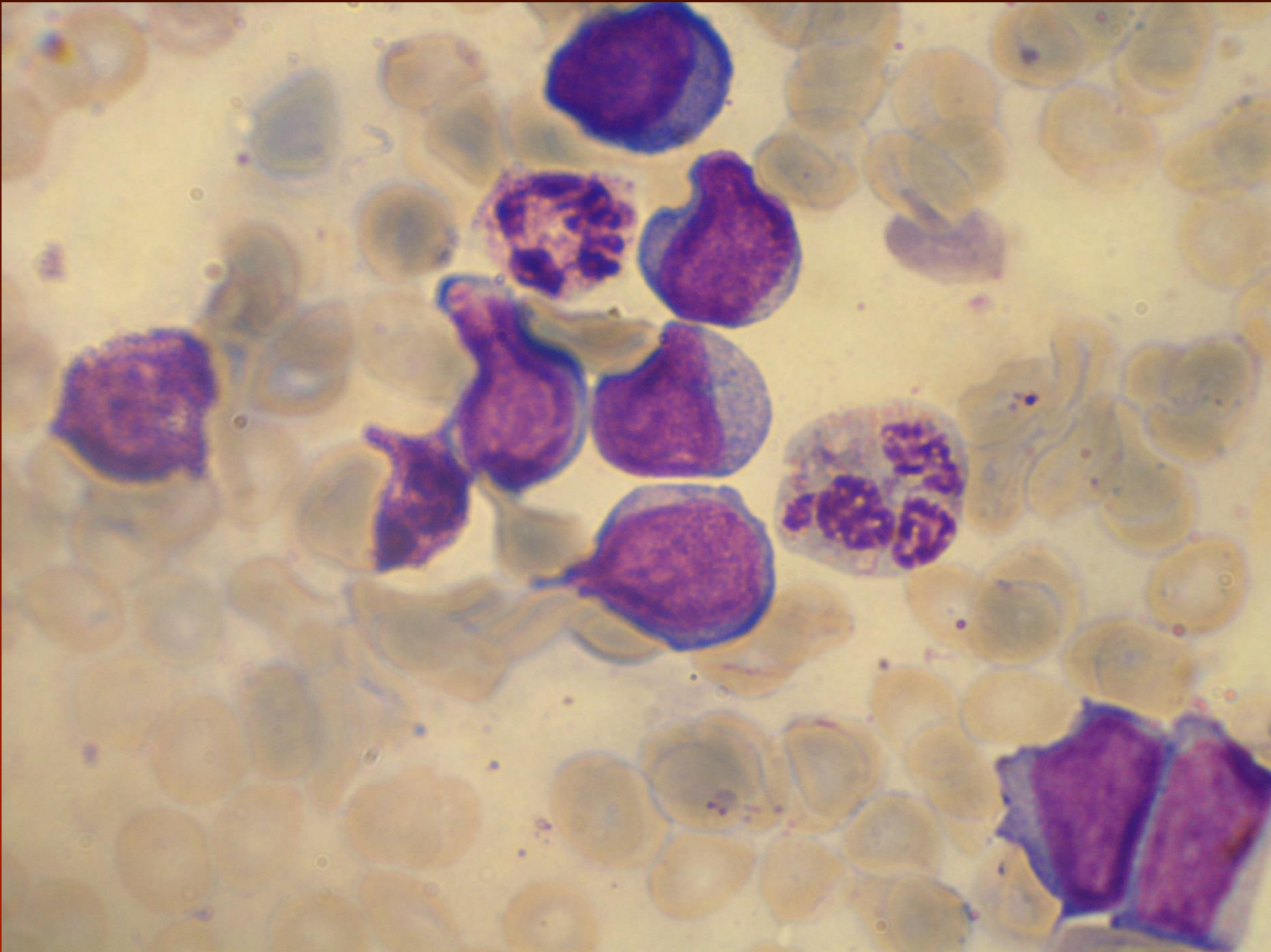
- zřetelná dysplázie granulocytární řady
- výrazná proliferace malých dysplastických megakaryocytů ve velkých shlucích (lépe histologicky)
- přítomnost lymfoblastů může předpovídat lymfoblastický zvrát (i v periferní krvi)

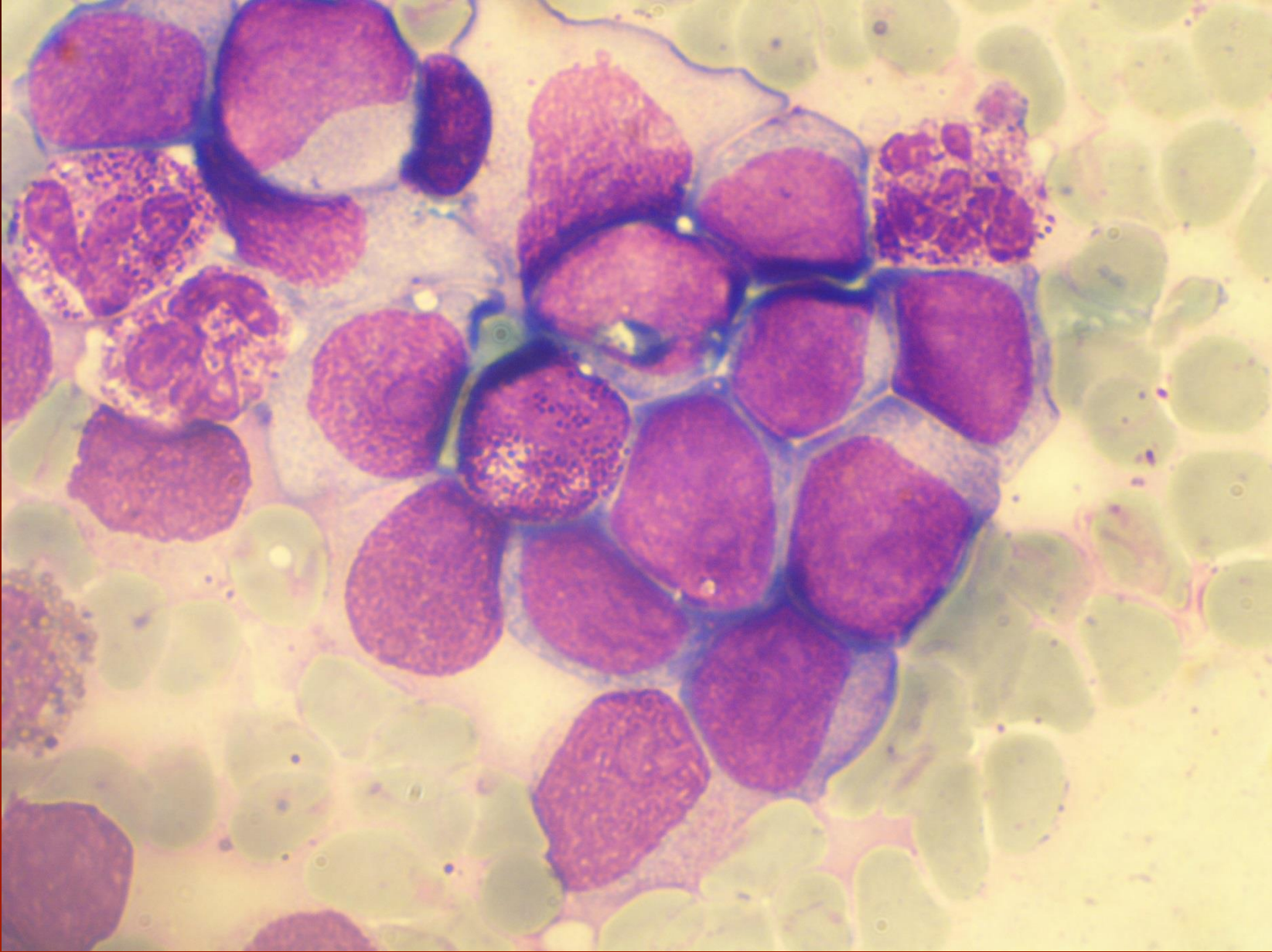


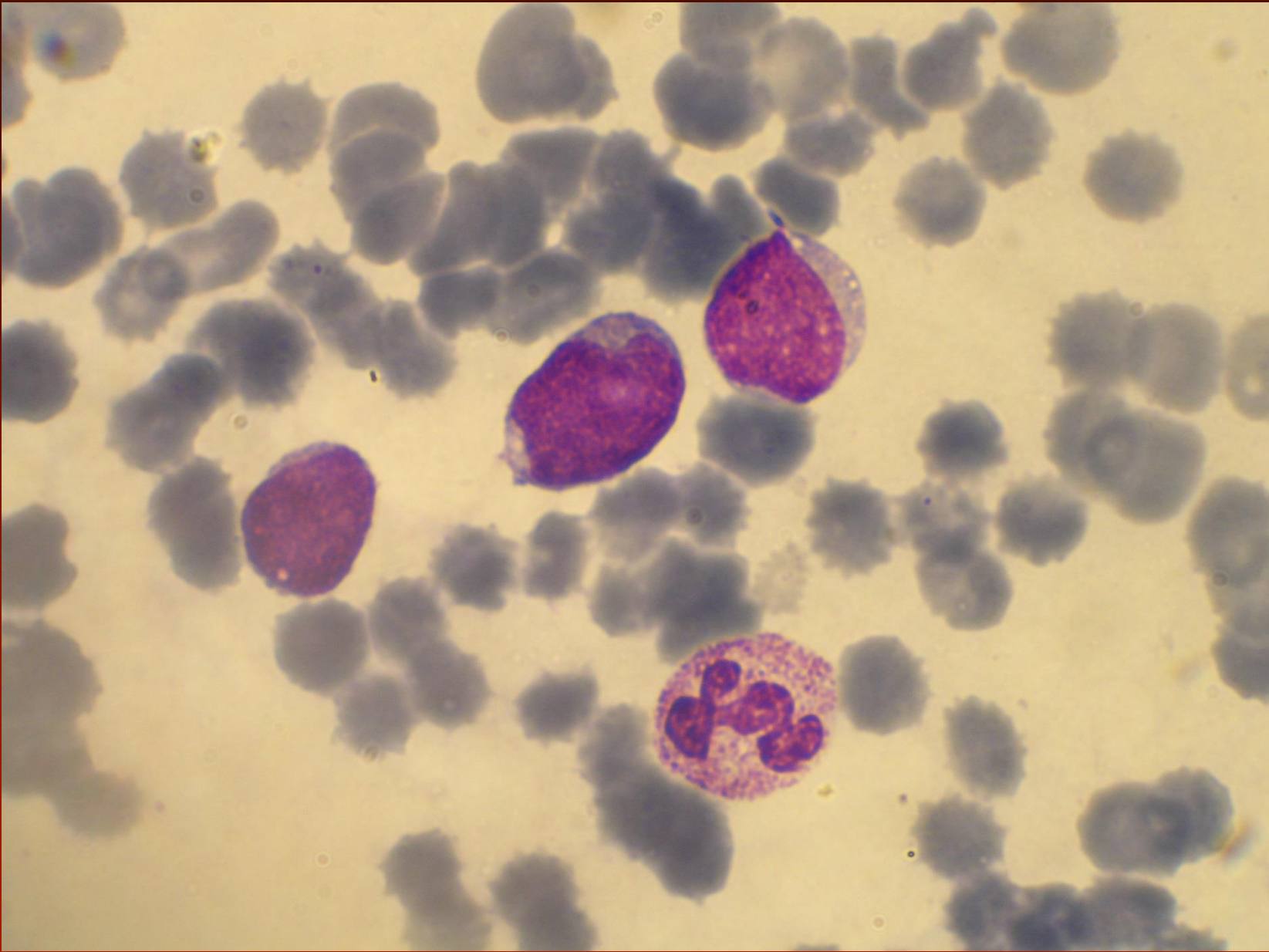


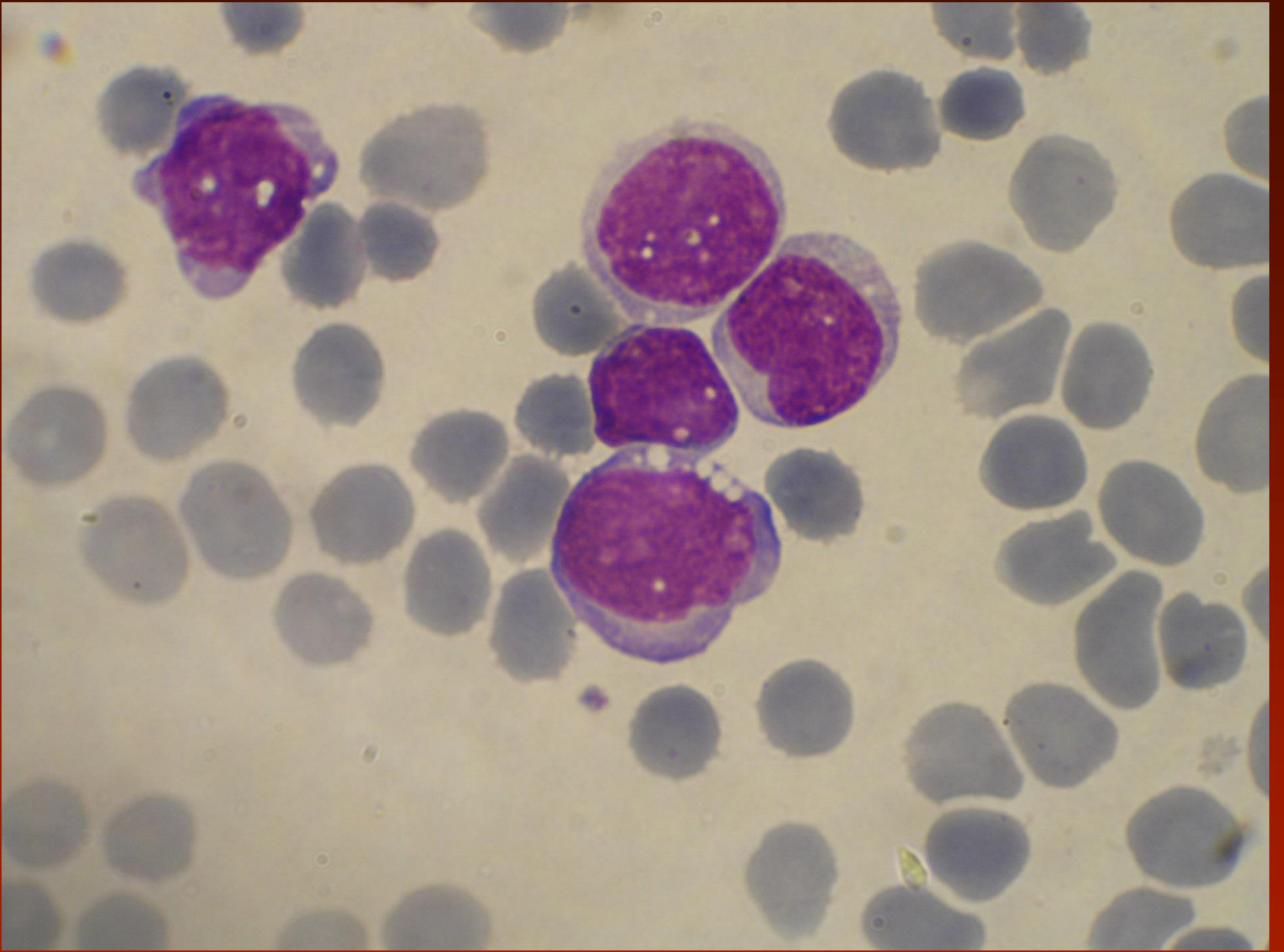
CML - blastická fáze

- blasty tvoří 20% z jaderných buněk v periferní krvi nebo kostní dřeni, dobře dokumentovaných lymfoblastů může být i méně
- je prokázána extramedulární blastická proliferace (cytologicky zřídka aspirace např. z uzliny, sleziny, CNS)
- 70% jsou blasty z myeloidní linie (může jít o neutrofilní ale i eozinofilní nebo basofilní blasty, stejně jako monoblasty, proerytoblasty nebo megakaryoblasty), 20-30% lymfoblastická proliferace (nutná imunofenotypizace), vzácně i 2 blastické linie









WHO klasifikace 2016

Pravá polycytémie

Hlavní kritéria:

1. hemoglobin > 165 g/l u mužů

hemoglobin > 160 g/l u žen

nebo htk > 0,49 u mužů

htk > 0,48 u žen

nebo zvýšený objem erytrocytární masy (nad 25% normálních hodnot)

2. biopsie kostní dřeně ukazuje hypercelularitu vzhledem k věku s trilineárním růstem (panmyelóza) včetně dominující erytroidní, granulocytární a megakaryocytární proliferace s pleomorfními, zralými megakaryocyty (rozdíly ve velikosti)

3. přítomnost mutace JAK2V617F nebo JAK2 exon 12

Vedlejší kritérium:

Subnormální hladina EPO

Diagnóza PV vyžaduje buď všechna hlavní kritéria nebo první dvě a malé kritérium (*biopsie KD nemusí být vyžadována v případech trvalé absolutní erytrocytózy: Hb > 185 g/l u mužů nebo > 165 g/l u žen, jestliže je přítomno 3. hlavní kritérium a vedlejší kritérium*)

Pravá polycytémie ve WHO klasifikaci

WHO 2001	WHO 2008	WHO 2016
<p>Hlavní kritéria</p> <ol style="list-style-type: none"> Hemoglobin > 185 g/l u mužů, > 165 g/l u žen nebo průkaz zvýšeného objemu erytrocytární masy (nad 25% normálních hodnot) Žádný důkaz sekundární erytrocytózy Splenomegalie Klonální genetická abnormalita jiná než BCR/ABL fúzní gen Růst endogenních erytroidních kolonií in vitro <p>Vedlejší kritéria</p> <ol style="list-style-type: none"> Trombocytóza > $400 \times 10^9 /l$ WBC > $12 \times 10^9 /l$ Biopsie kostní dřeně ukazuje panmyelózu s dominujícím erytroidní a megakaryocytární proliferací Nízká hladina EPO <p>Diagnóza vyžaduje přítomnost prvních dvou hlavních kritérií a některé z dalších hlavních kritérií nebo přítomnost prvních dvou hlavních a dvě z kritérií vedlejších.</p>	<p>Hlavní kritéria</p> <ol style="list-style-type: none"> Hemoglobin > 185 g/l u mužů, >165 g/l u žen nebo průkaz zvýšeného objemu erytrocytární masy (nad 25% normálních hodnot) Přítomnost JAK2 V617F nebo jiné funkčně podobné mutace jako JAK2 exon 12 <p>Vedlejší kritéria</p> <ol style="list-style-type: none"> Biopsie kostní dřeně vykazuje hypercelularitu s trilineárním růstem (panmyelóza) a dominující proliferací erytropoézy, granulopoezy i megakaryopoezy Hladina sérového erytropoetinu snižená pod normální rozmezí Formace endogenních erytroidních kolonií in vitro (bez přítomnosti erytropoetinu) <p>Diagnóza vyžaduje přítomnost obou velkých kritérií a malé kritérium nebo přítomnost prvního velkého kritéria současně se dvěma vedlejšími kritérii.</p>	<p>Hlavní kritéria</p> <ol style="list-style-type: none"> hemoglobin > 165 g/l u mužů hemoglobin > 160 g/l u žen nebo htk > 0,49 u mužů htk > 0,48 u žen nebo zvýšený objem erytrocytární masy (nad 25% normálních hodnot) biopsie kostní dřeně ukazuje hypercelularitu vzhledem k věku s trilineárním růstem (panmyelóza) včetně dominující erytroidní, granulocytární a megakaryocytární proliferace s pleomorfními, zralými megakaryocyty (rozdíly ve velikosti) přítomnost mutace JAK2V617F nebo JAK2 exon 12 <p>Vedlejší kritéria Subnormální hladina EPO</p> <p>Diagnóza PV vyžaduje buď všechna hlavní kritéria nebo první dvě a vedlejší kritérium.</p>

Pravá polycytémie – morfologie v polycytemické fázi

Morfologické změny i když jsou charakteristické musí korelovat s klinickými a ostatními laboratorními nálezy

Periferie: Zmnožení normocytárních erytrocytů (někdy hypochromní mikrocytární při sideropenii), neutrofilie, bazofilie, trombocytóza (>50%), občas nezralé granulocyty a gigantické destičky.

Kostní dřeň: Erytroidní, někdy i granulocytární hyperplazie, bazofilie, eozinofilie, zvýšení neutrofilních prekurzorů, často zvýšeny mgk, stejně tak jejich velikost a lobulizace jader. Zásobní Fe je obvykle nepřítomno (>95%).

Pravá polycytémie ve fázi post-polycytemické myelofibrózy

Nezbytná kritéria:

- průkaz PV definované dle WHO kritérií
- dřevňová fibróza 2-3 stupně nebo 3-4 stupně

Přídavná kritéria (pro dg. nezbytná 2):

- anémie nebo snížená potřeba flebotomické či cytoreduktivní léčby
- leukoerytoblastický obraz v periferní krvi
- zvětšení splenomegalie
- přítomnost > 1 z kritérií: ztráta hmotnosti > 10% za 6 měsíců, noční pocení, nevysvětlitelné teploty (nad 37,5°C)

JAK2 V617F 2005

	PV (%)	ET	MIF	jiné
Baxter	97	57	50	
Levine	74	32	35	
James	89	43	43	
Kralovics	65	23	57	CML 0
Zhao	83	NA	NA	
Jones	81	41	42	CML 0 CMML/UMPD 20 CNL 33

Pravá polycytémie - genetika

- není specifická změna, abnormity detekovány u asi 20% nemocných
- nejčastější abnormity: del(20q), +8, +9, del(13q) a del (9p)
- není BCR/ABL

- 95% má JAK2 V617F, další jiné mutace JAK2 – exon 12

dif. dg. polyglobulie: vrozené příčiny – familiární erytrocytózy

- vrozené stavy charakterizované zvýšeným počtem erytrocytů
- mohou být provázeny zvýšeným sklonem k trombóze jak v tepenném tak venózním řečišti (někteří pacienti mohou být klinicky němí)
- 4 typy dle laboratorních a genetických nálezů:
 - ECYT 1 – AD, hypersenzitivita erytroidních prekurzorů na EPO, nízké hladiny EPO, není zvýšení leukocytů či trombocytů; není tendence přechodu do leukémie (geneticky EPOR- 11 testů)
 - ECYT 2 – AR, zvýšené hladiny EPO, normální afinita O₂ zvýšená afinita erytroidních prekurzorů na EPO (geneticky VHL- 161 testů)
 - ECYT 3 – dědičnost ?, EGLN-1; egl-9 – family hypoxia inducible factor 1 (geneticky EGLN1 12 testů)
 - ECYT 4 – AD, zvýšené EPO (geneticky EPAS 1- 6 testů)

Dif dg. polyglobulie, získané příčiny

- hemokoncentrace – falešná/sekundární polyglobulie
 - dehydratace
 - endokrinní/nefrologické příčiny
- kompenzatorní zvýšení EPO
 - plicní insuficience
 - dlouhodobý pobyt ve vysokých nadmořských výškách
 - choroby s míšením arteriálního a venózního řečiště
- nadprodukce erythropoetinu
 - arteficiální produkce EPO u nádorových onemocněních
 - plíce, mozek, játra

WHO klasifikace 2016

Prefibrotická PMF

Hlavní kritéria:

1. Megakaryocytární proliferace a atypie, bez retikulinové fibrózy > grade 1, doprovázené zvýšením celularity KD vzhledem k věku, granulocytární proliferací a často zvýšenou erytropoezou
2. Nejsou naplněna WHO kritéria pro BCR/ABL+ CML, PV, ET, myelodysplastického syndromu nebo jiné myeloidní neoplázie
3. Přítomnost mutace JAK2, CALR nebo MPL nebo v nepřítomnosti těchto mutací, přítomnost jiného klonálního markeru* nebo nepřítomnosti menší reaktivní retikulinové fibrózy v KD**

Vedlejší kritéria:

Přítomnost nejméně jednoho z následujících:

- a. Anemie, která není vysvětlena komorbiditami
- b. Leukocytóza $\geq 11 \times 10^9 / l$
- c. Splenomegalie při palpačním vyšetření
- d. Zvýšená LD nad horní hranici referenčního rozmezí

Diagnóza prePMF vyžaduje naplnění všech tří hlavních kritérií a nejméně jednoho vedlejšího kritéria

* v nepřítomnosti některé ze 3 klonálních mutací, průkaz nejčastějších doprovodných mutací (např. ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1) může pomoci ke rozhodnutí o klonální povaze onemocnění

** menší (grade 1) retikulinová fibróza sekundární u infekcí, autoimunitních onemocnění nebo jiných chronických zánětlivých chorob, HCL nebo jiných lymfoproliferativních chorob, metastatických malignit nebo toxických myelopatiích

Prefibrotická PMF ve WHO klasifikaci

WHO 2001	WHO 2008	WHO 2016
<p>1. Biopsie kostní dřeně s hypercelularitou, proliferací neutrofilní a megakaryocytární řady s atypiem (shlukování, ab, normální lobulizace jader, holá megakaryocytární jádra). Minimální nebo chybějící retikulinová fibróza.</p> <p>2. Mírná anemie, mírná až střední leukocytóza, mírná až značná trombocytóza</p> <p>3. Žádná nebo mírná splenomegalie nebo hepatomegalie</p> <p>Diagnóza vyžaduje naplnění všech kritérií.</p>	<p>Hlavní kritéria</p> <p>1. Biopsie kostní dřeně vykazuje megakaryocytární proliferaci a atypie, v nepřítomnosti signifikantní retikulinové fibrózy, změny megakaryocytů musí být doprovázeny zvýšenou celularitou, granulocytární proliferací a často sníženou erytropoezou</p> <p>2. Nejsou naplněna WHO kritéria pro BCR/ABL+ CML, MDS nebo jiné myeloidní neoplázie</p> <p>3. Mutace JAK2V617F nebo MPL nebo v nepřítomnosti, žádný důkaz reaktivní fibrózy</p> <p>Vedlejší kritéria</p> <p>a. Leukoerytroblastóza</p> <p>b. Zvýšení LDH</p> <p>c. Anemie</p> <p>d. Splenomegalie</p> <p>Diagnóza vyžaduje naplnění všech tří hlavních kritérií a dvě z vedlejších kritérií</p>	<p>Hlavní kritéria:</p> <p>1. Megakaryocytární proliferace a atypie, bez retikulinové fibrózy > grade 1, doprovázené zvýšením celularity KD vzhledem k věku, granulocytární proliferací a často zvýšenou erytropoezou</p> <p>2. Nejsou naplněna WHO kritéria pro BCR/ABL+ CML, PV, ET, myelodysplastického syndromu nebo jiné myeloidní neoplázie</p> <p>3. Přítomnost mutace JAK2, CALR nebo MPL nebo v nepřítomnosti těchto mutací, přítomnost jiného klonálního markeru* nebo nepřítomnosti menší reaktivní retikulinové fibrózy v KD</p> <p>Vedlejší kritéria: Přítomnost nejméně jednoho z následujících:</p> <p>a. Anemie, není sekundární při komorbiditách</p> <p>b. Leukocytóza $\geq 11 \times 10^9 / l$</p> <p>c. Splenomegalie při palpačním vyšetření</p> <p>d. Zvýšení LD nad horní hranici referenčního rozmezí</p> <p>Diagnóza vyžaduje naplnění všech tří hlavních kritérií a nejméně jednoho vedlejšího kritéria</p> <p>*ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1</p>

WHO klasifikace 2016

Primární myelofibróza

Hlavní kritéria:

1. Přítomnost megakaryocytární proliferace a atypie, doprovázená buď retikulonovou a/nebo kolagenní fibrózou grade 2 nebo 3
2. Nejsou naplněna kritéria pro ET, PV, BCR/ABL+ CML, myelodysplastický syndrom nebo jiné myeloidní neoplázie
3. Přítomnost mutace JAK2, CALR nebo MPL nebo v nepřítomnosti těchto mutací, přítomnost jiného klonálního znaku* nebo nepřítomnost reaktivní myelofibrózy**

Vedlejší kritéria:

Přítomnost minimálně jednoho z následujících:

- a. Anemie, není vysvětlena komorbiditami
- b. Leukocytóza $\geq 11 \times 10^9 /l$
- c. Splenomegalie při palpačním vyšetření
- d. Zvýšené LDH nad horní hranici referenčního rozmezí
- e. Leukoerytroblastóza

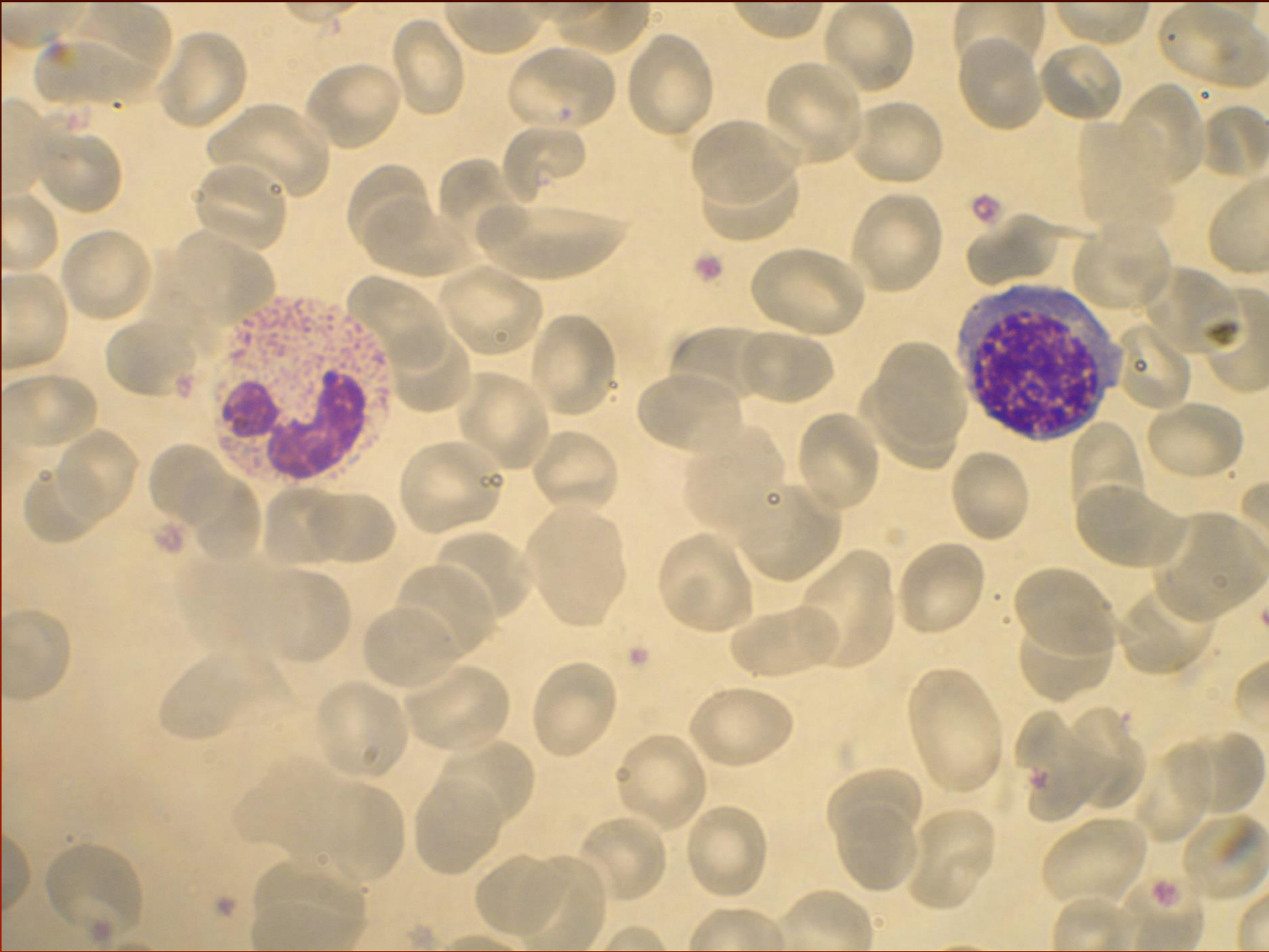
Diagnóza PMF vyžaduje naplnění všech tří hlavních kritérií a nejméně jednoho vedlejšího kritéria.

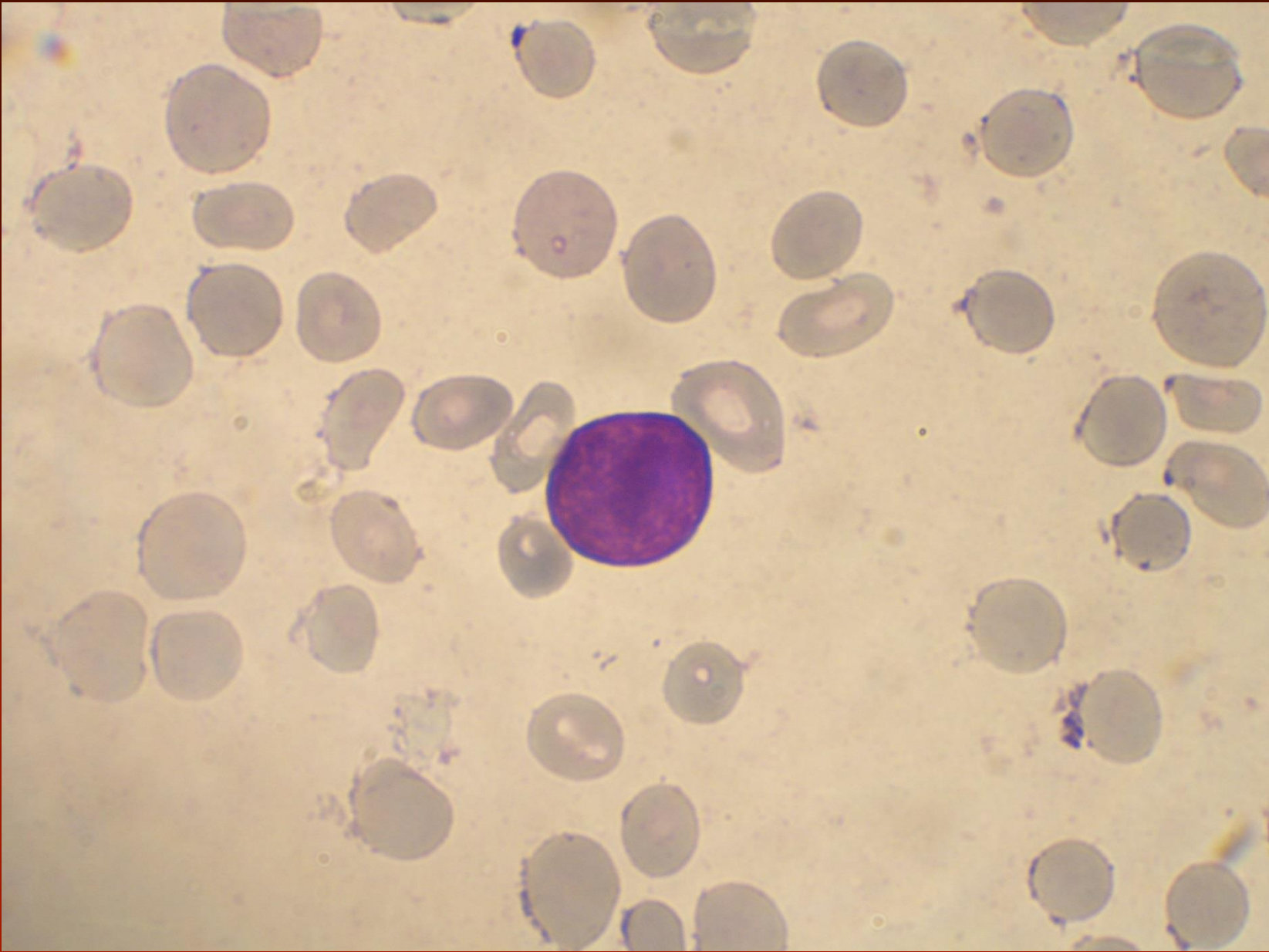
* v nepřítomnosti některé ze 3 klonálních mutací, průkaz nejčastějších doprovodných mutací (např. ASXL1, EZH2, TET2, IDH1/IDH2, SRSF2, SF3B1) může pomoci ke rozhodnutí o klonální povaze onemocnění

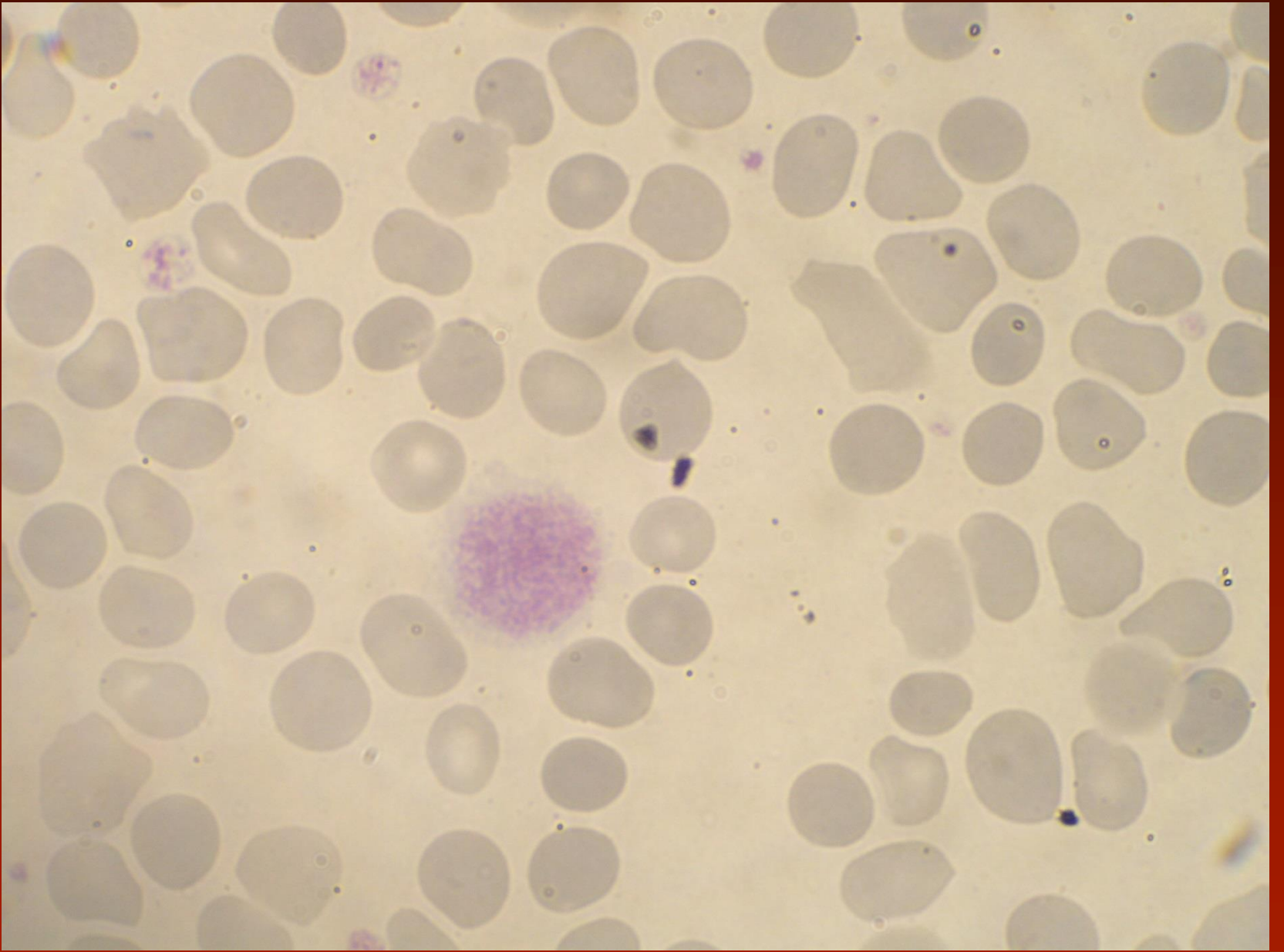
** menší (grade 1) retikulinová fibróza sekundární u infekcí, autoimunitních onemocnění nebo jiných chronických zánětlivých chorob, HCL nebo jiných lymfoproliferativních chorob, metastatických malignit nebo toxických myelopatiích

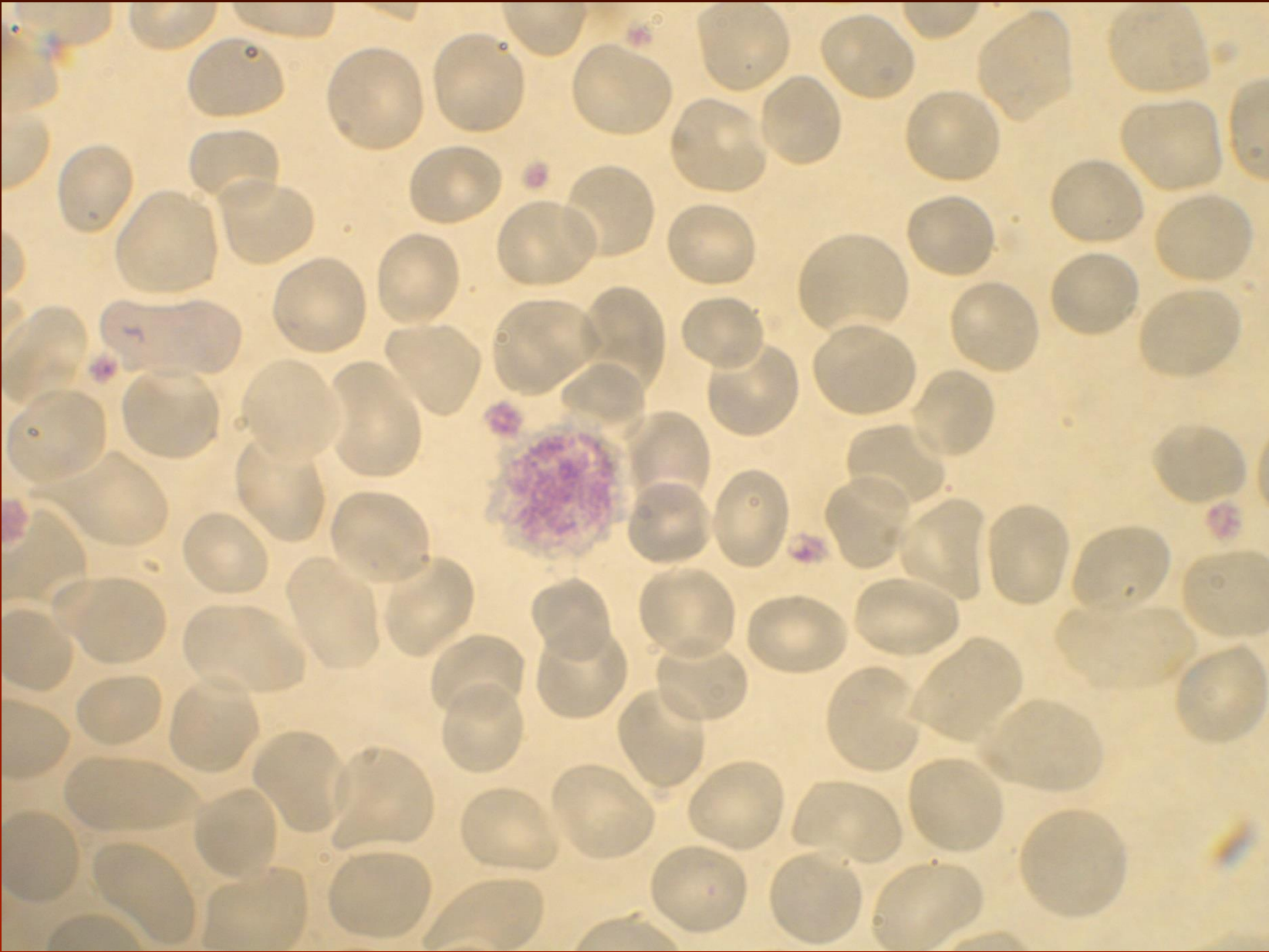
Primární myelofibróza ve WHO klasifikaci

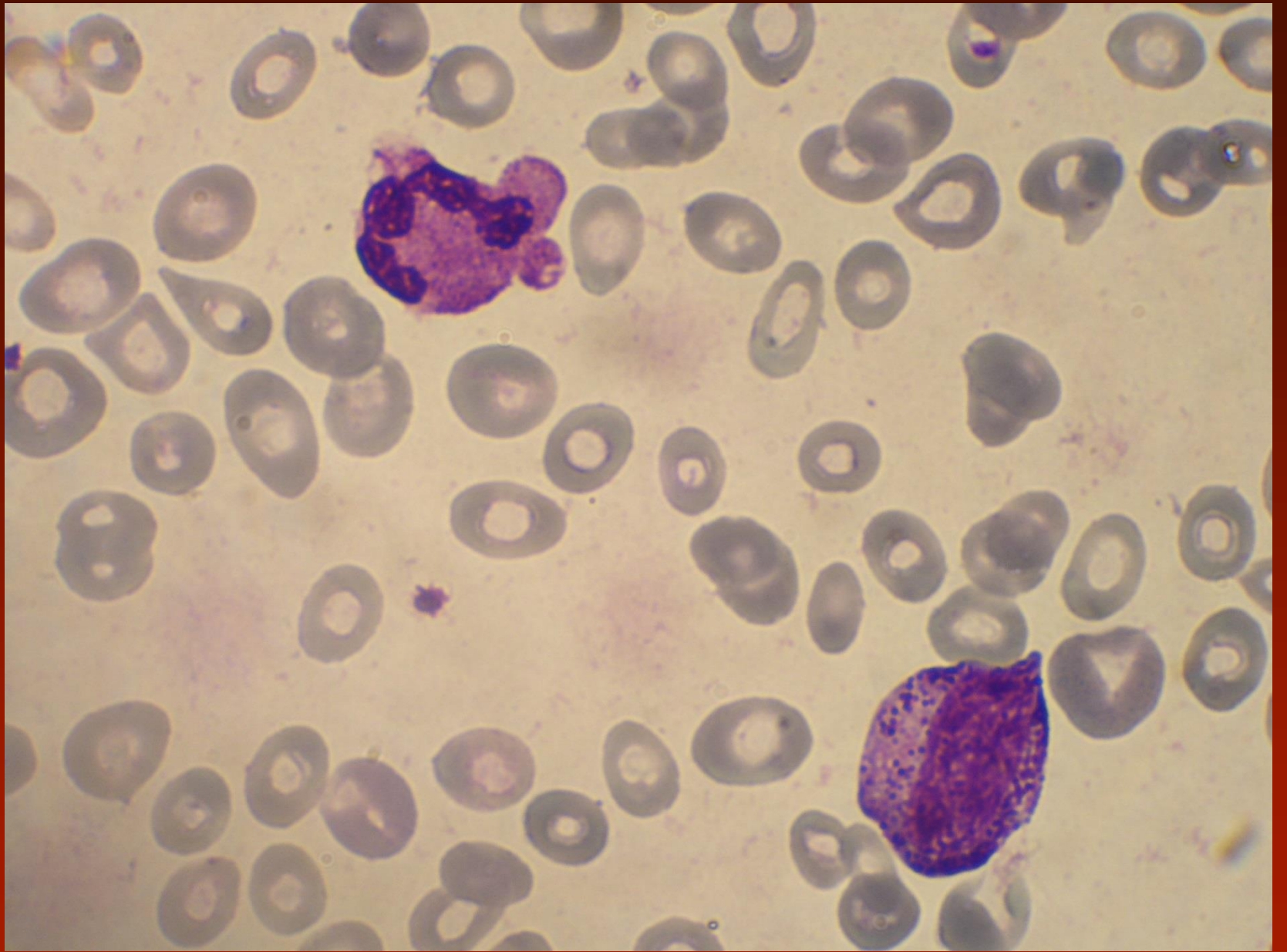
WHO 2001	WHO 2008	WHO 2016
<ol style="list-style-type: none"> 1. Biopsie kostní dřeně se sníženou celularitou, dilatované dřevité sinusy s intraluminální hematopoezou, dominující megakaryocytární proliferace a atypie (shlukování, abnormálně lobulovaná jádra, holá jádra), retikulinová a/nebo kolagenní fibróza, nová tvorba kosti (osteoskleróza) 2. Střední až značná anemie, nízké normální nebo zvýšené leukocyty, střední až výrazná spleno- nebo hepatomegalie 3. Leukoerytroblastóza, nápadná poikilocytóza s přítomností slzičkovitých erytrocytů 	<p>Hlavní kritéria:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Přítomnost megakaryocytární proliferace s atypií doprovázená buď retikulinovou a/nebo kolagenní fibrózou, 2. Nepřítomná WHO kritéria pro ET, PV, BCR-ABL+ CML, MDS nebo jiné myeloidní neoplázie 3. Přítomnost mutace JAK2 V617F nebo jiných klonálních markerů (např. MPLW515K/L) nebo v nepřítomnosti klonálních znaků, bez přítomnosti fibrózy kostní dřeně nebo jiných změn sekundárních při infekci, autoimunních onemocněních nebo jiných chronických zánětlivých chorob, HCL nebo jiných lymfoidních neoplázií nebo toxických myelopatií <p>Vedlejší kritéria:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Leukoerytroblastóza v periferní krvi 2. Zvýšená hladina LDH 3. Anémie 4. Splenomegalie 	<p>Hlavní kritéria:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Přítomnost megakaryocytární proliferace a atypie, doprovázená buď retikulinovou a/nebo kolagenní fibrózou grade 2 nebo 3 2. Nejsou naplněna kritéria pro ET, PV, BCR/ABL+ CML, myelodysplastický syndrom nebo jiné myeloidní neoplázie 3. Přítomnost mutace JAK2, CALR nebo MPL nebo v nepřítomnosti těchto mutací, přítomnost jiného klonálního znaku nebo nepřítomnost reaktivní myelofibrózy <p>Vedlejší kritéria:</p> <ol style="list-style-type: none"> a. Anemie, není vysvětlena komorbiditami b. Leukocytóza $\geq 11 \times 10^9 / l$ c. Splenomegalie při palpačním vyšetření d. Zvýšené LDH nad horní hranici referenčního rozmezí e. Leukoerytroblastóza
<p>Diagnóza PMF vyžaduje naplnění všech kritérií</p>	<p>Diagnóza PMF vyžaduje naplnění všech tří velkých a dvou malých kritérií.</p>	<p>Diagnóza PMF vyžaduje naplnění všech tří hlavních kritérií a nejméně jednoho vedlejšího kritéria.</p>

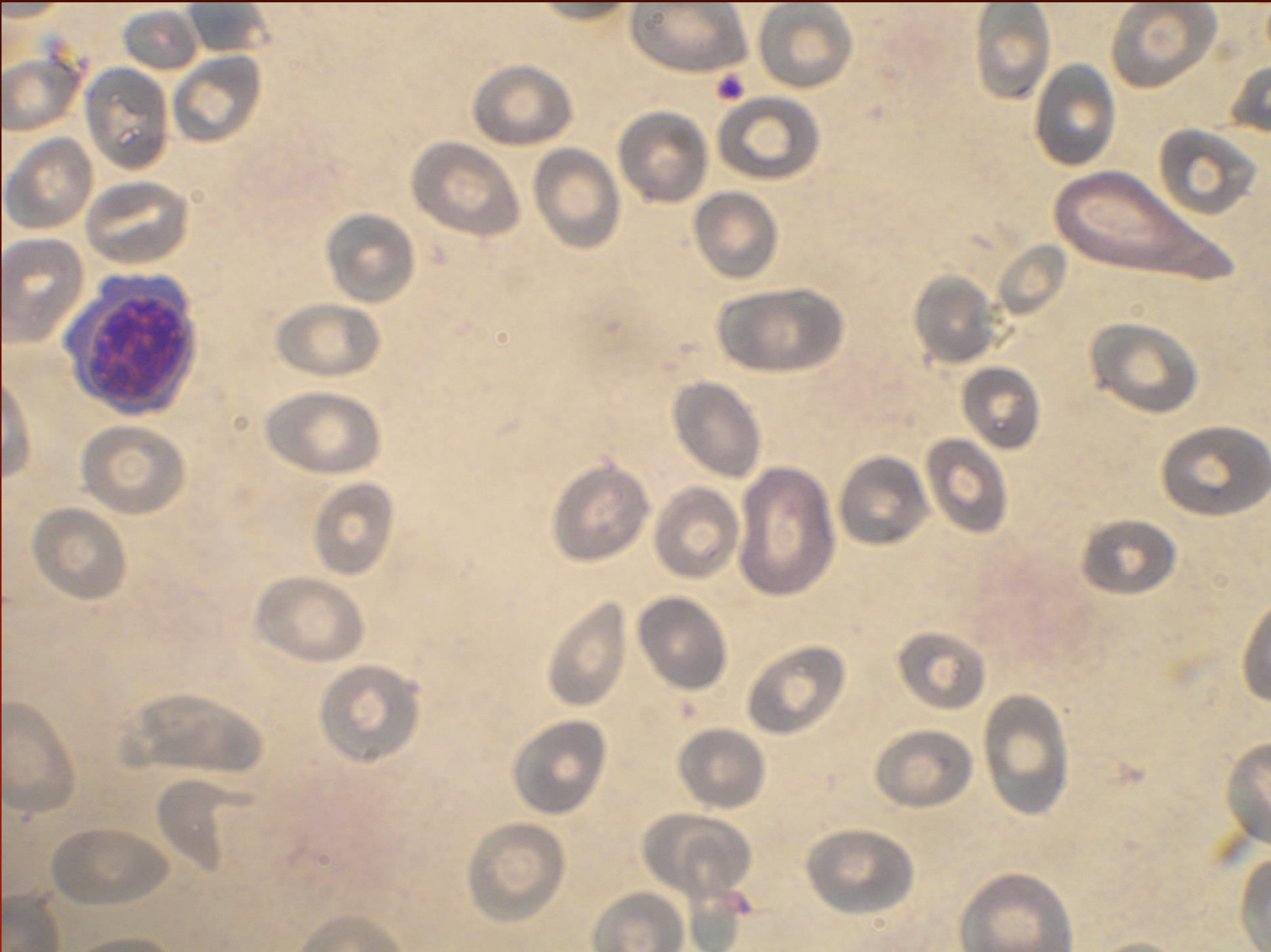








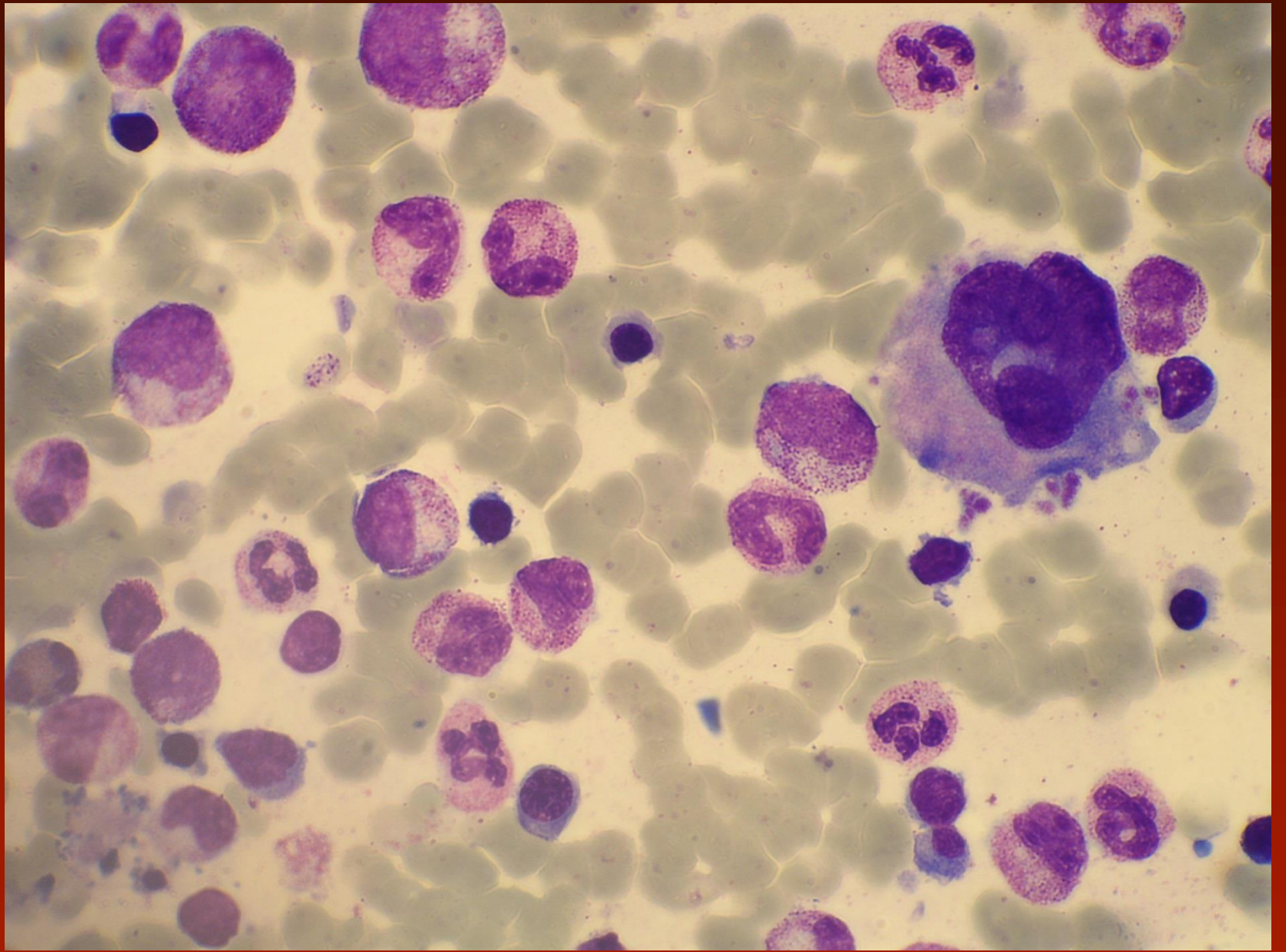


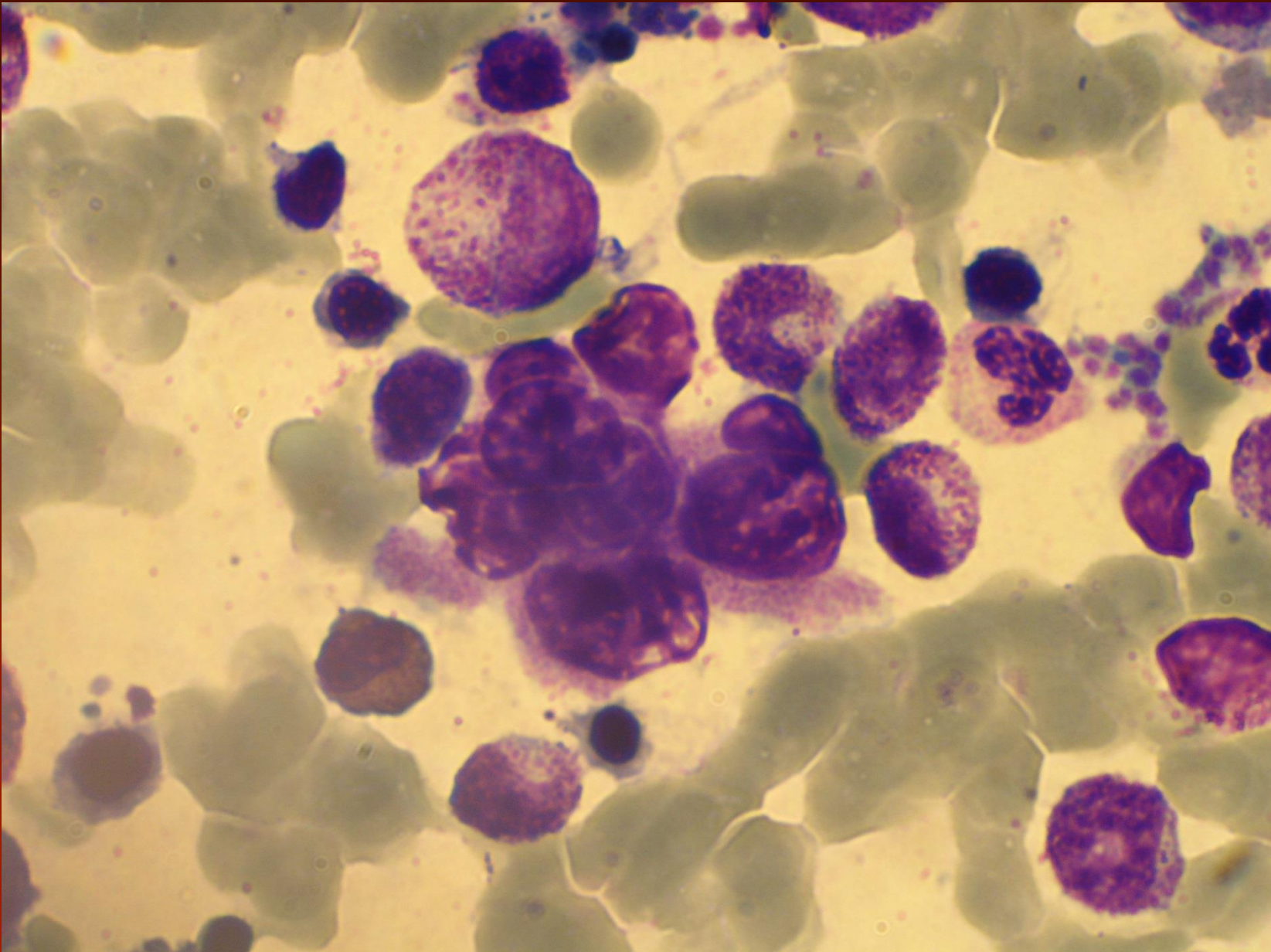


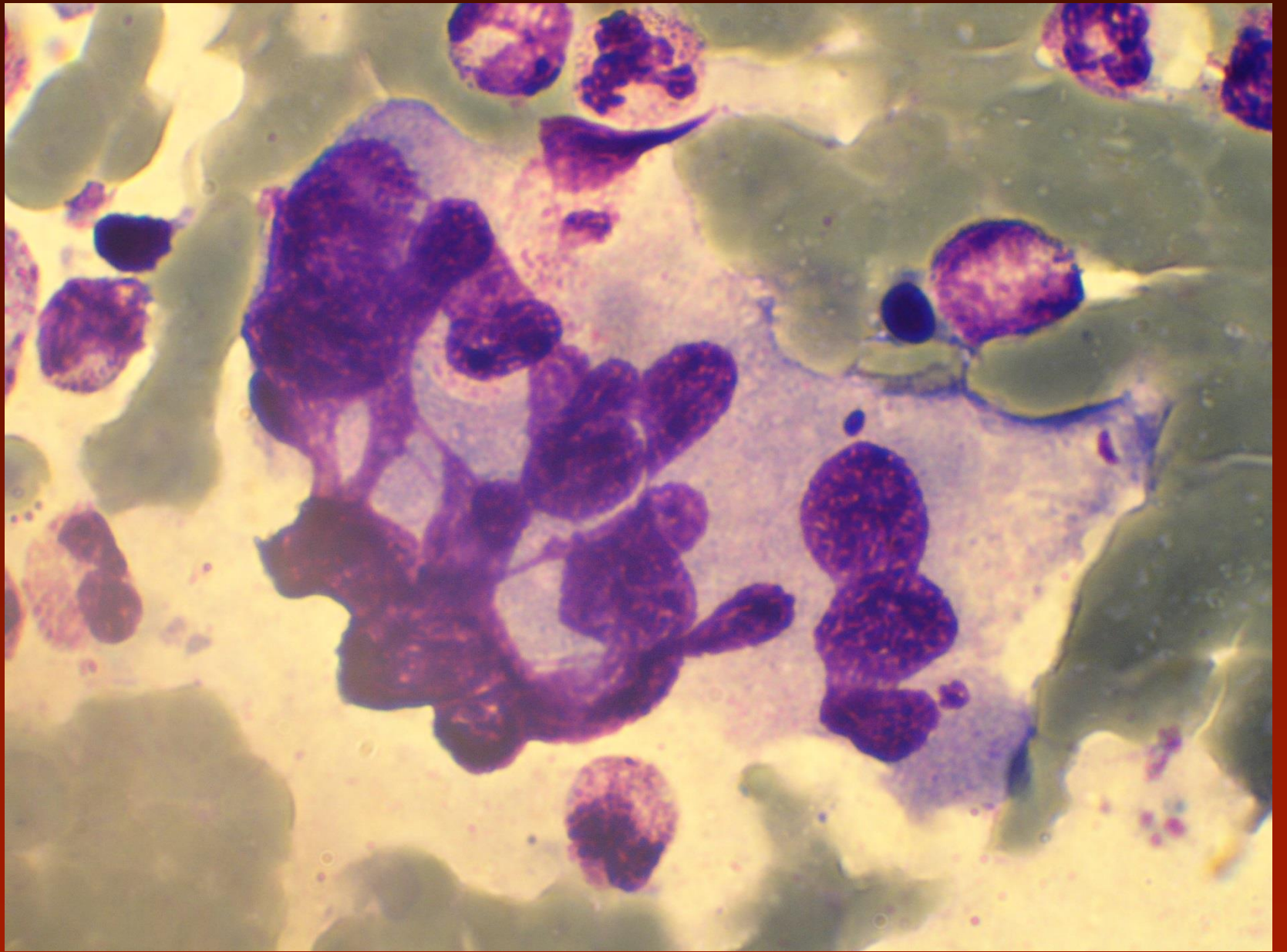
Primární myelofibróza

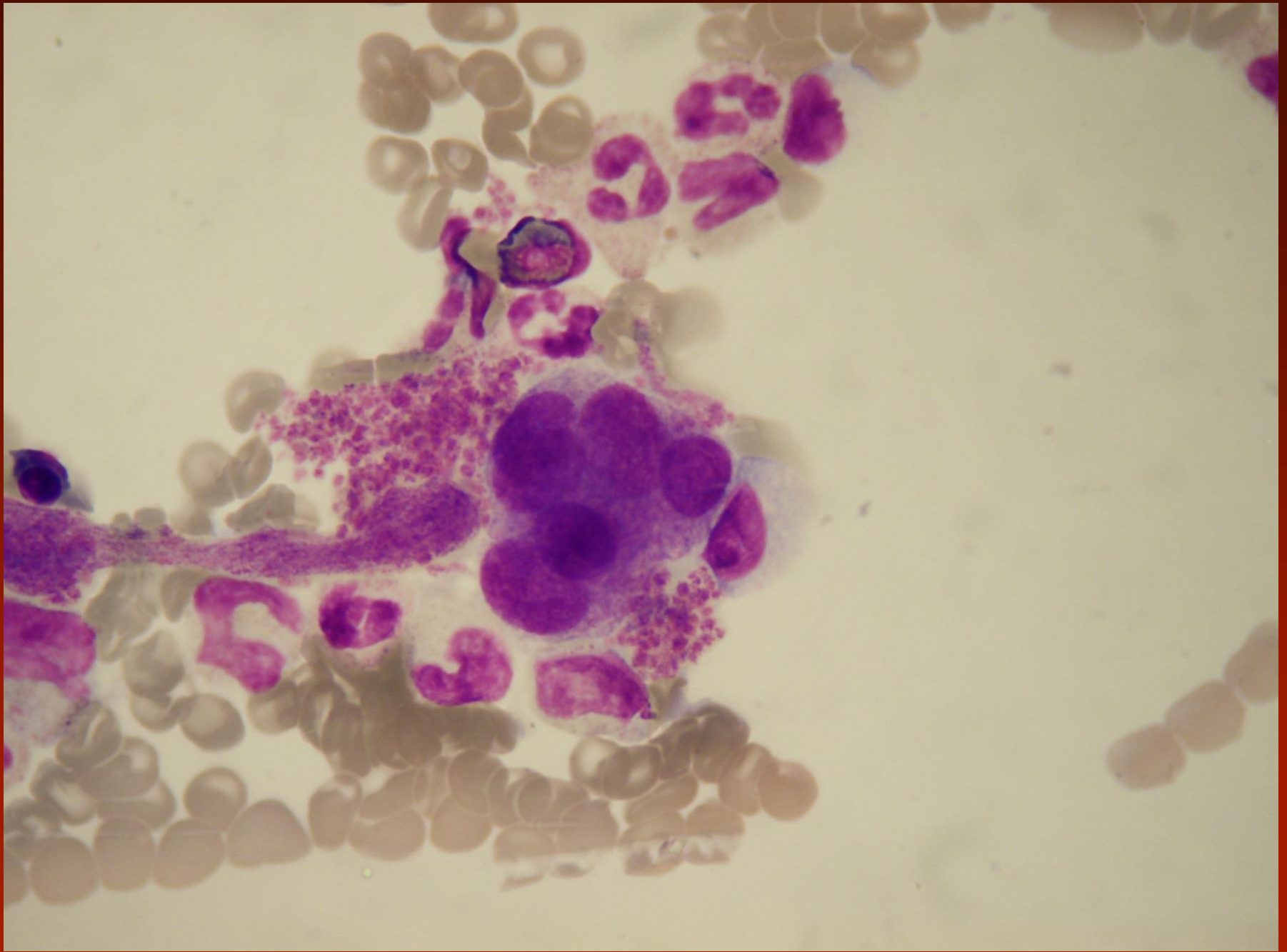
Kostní dřeň - prefibrotické stadium:

- hypercelularita, zvýšený počet neutrofilů s posunem doleva ale dominantní populací jsou metamy až segmenty, blasty pod 10%
- erythropoéza redukována, ale více nezralých prekurzorů
- megakaryocyty jsou abnormální - často ve shlucích, zvětšené, oj. mikro mgk, dysplastické změny - abnormální chromatinové shluky, balónovitá jádra, změny poměrů jádra/cytoplazma, četná holá jádra. Největší atypie mezi MPS, dominantní rys.









WHO klasifikace 2016

Esenciální trombocytémie

Hlavní kritéria:

1. Počet trombocytů $\geq 450 \times 10^9 / l$
2. Biopsie kostní dřeně vykazuje proliferaci dominantně megakaryocytární linie se zvýšeným počtem velkých zralých megakaryocytů s hyperlobulovanými jádry. Není signifikantní zvýšení či posun doleva v neutrofilní granulopoeze nebo erytropoeze a velmi zřídka menší (grade I) zvýšení retikulinových vláken
3. Nejsou naplněna WHO kritéria pro BCR/ABL + CML, PV, PMF, myelodysplastický syndrom nebo jiné myeloidní neoplázie
4. Přítomnost mutace JAK2, CALR nebo MPL

Vedlejší kritérium:

Přítomnost klonálního znaku nebo nepřítomnost důkazu pro reaktivní trombocytózu

Diagnóza ET vyžaduje naplnění všech hlavních kritérií nebo první tři hlavní kritéria a vedlejší kritérium

Esenciální trombocytémie ve WHO klasifikaci

WHO 2001	WHO 2008	WHO 2016
<p>Hlavní kritéria</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Trvalý počet trombocytů $\geq 600 \times 10^9 / l$ 2. Biopsie kostní dřeně vykazuje proliferaci zejména megakaryocytární linie se zvýšeným počtem zvětšených, zralých megakaryocytů 3. Nejsou naplněna kritéria PV, CML, PMF nebo myelodysplastického syndromu 4. Žádný důkaz reaktivní trombocytózy <p>Diagnóza ET vyžaduje naplnění všech kritérií.</p>	<p>Hlavní kritéria</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Trvalý počet trombocytů $\geq 450 \times 10^9 / l$ 2. Biopsie kostní dřeně vykazuje proliferaci megakaryocytární řady se zvýšeným počtem velkých zralých megakaryocytů. Není signifikantní zvýšení nebo posun doleva v neutrofilní řadě či erytropoeze 3. Nejsou naplněna WHO kritéria pro PV, PMF, BCR-ABL1 pozitivní CML nebo myelodysplastický syndrom či jinou myeloidní neoplázii 4. Přítomnost JAK2 V617F nebo jiného klonálního znaku, nebo v přítomnosti JAK2 V617F, žádný důkaz reaktivní trombocytózy <p>Diagnóza ET vyžaduje přítomnost všech čtyř kritérií.</p>	<p>Hlavní kritéria</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Počet trombocytů $\geq 450 \times 10^9 / l$ 2. Biopsie kostní dřeně vykazuje proliferaci dominantně megakaryocytární linie se zvýšeným počtem velkých zralých megakaryocytů s hyperlobulovanými jádry. Není signifikantní zvýšení či posun doleva v neutrofilní granulopoeze nebo erytropoeze a velmi zřídka menší (grade I) zvýšení retikulinových vláken 3. Nejsou naplněna WHO kritéria pro BCR/ABL + CML, PV, PMF, myelodysplastický syndrom nebo jiné myeloidní neoplázie 4. Přítomnost mutace JAK2, CALR nebo MPL <p>Vedlejší kritérium Průkaz klonality nebo nepřítomnost důkazu pro reaktivní trombocytózu</p> <p>Diagnóza ET vyžaduje naplnění všech hlavních kritérií nebo první tři hlavní kritéria a vedlejší kritérium.</p>

Esenciální trombocytémie

Periferie

- trombocytémie > 450 G/l, MPV zvýšeno, anizocytóza trombocytů a přítomnost gigantických destiček, event. hypo až agranulované, holá jádra mgk
- někdy neutrofilie, vzácně nezralá stadia, bazofilie je netypická, leukocyty ne více než 20 G/l
- po infarktu sleziny obvyklé změny hyposplenismu – Howell-Jollyho tělíška, akantocyty, terčovité erytrocyty, sferocyty.

Kostní dřeň:

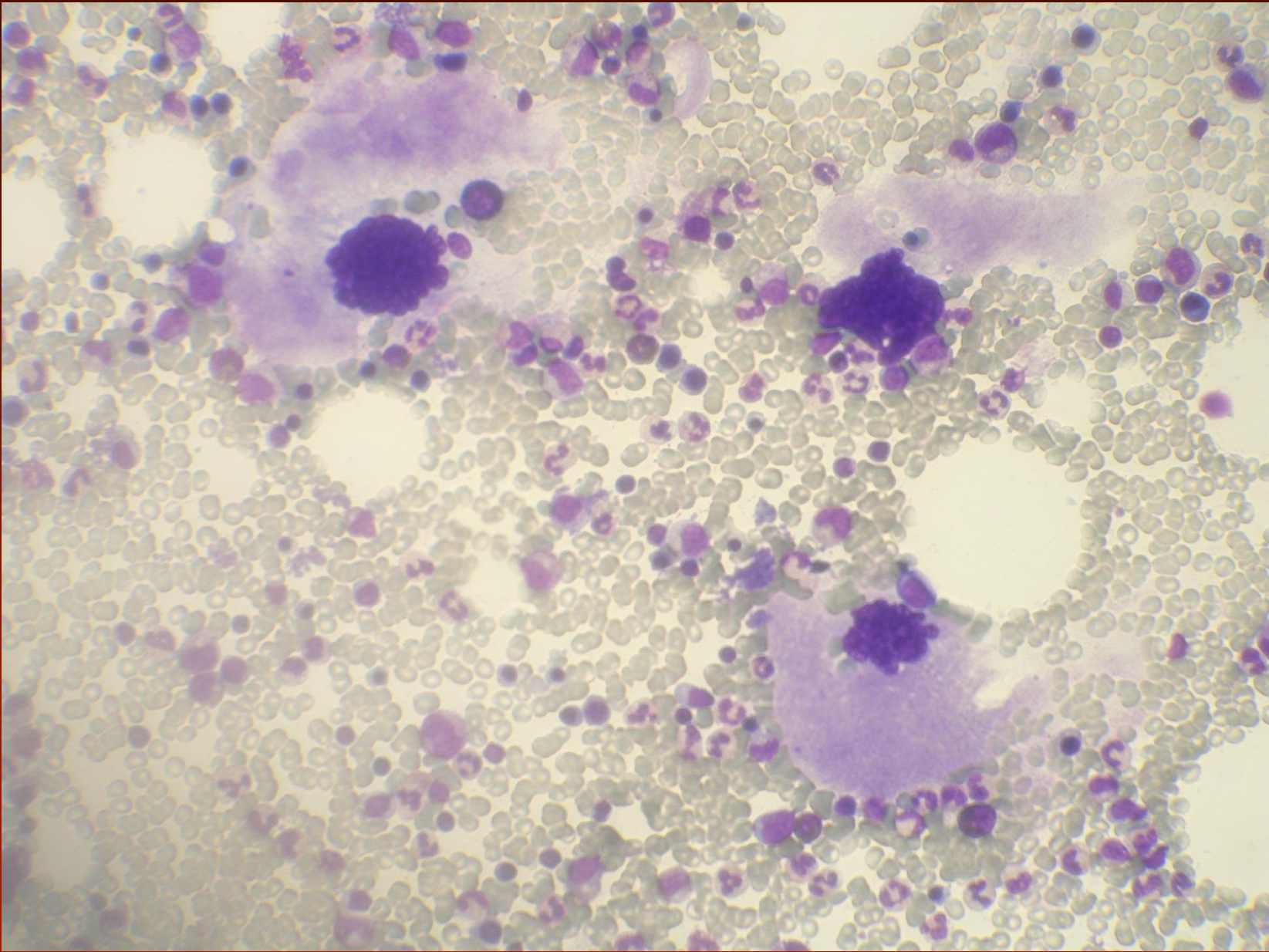
- většinou normo až hypercelulární dřeň, (hypocelularita dg. nevylučuje)
- zvýšený počet megakaryocytů, někdy v trsech, jsou velké až gigantické, s bohatou zralou cytoplazmou, hyperlobulizovaným jádrem s hladkými konturami, nejsou atypické formy, trsy trombocytů, častý je nález emperipolézy

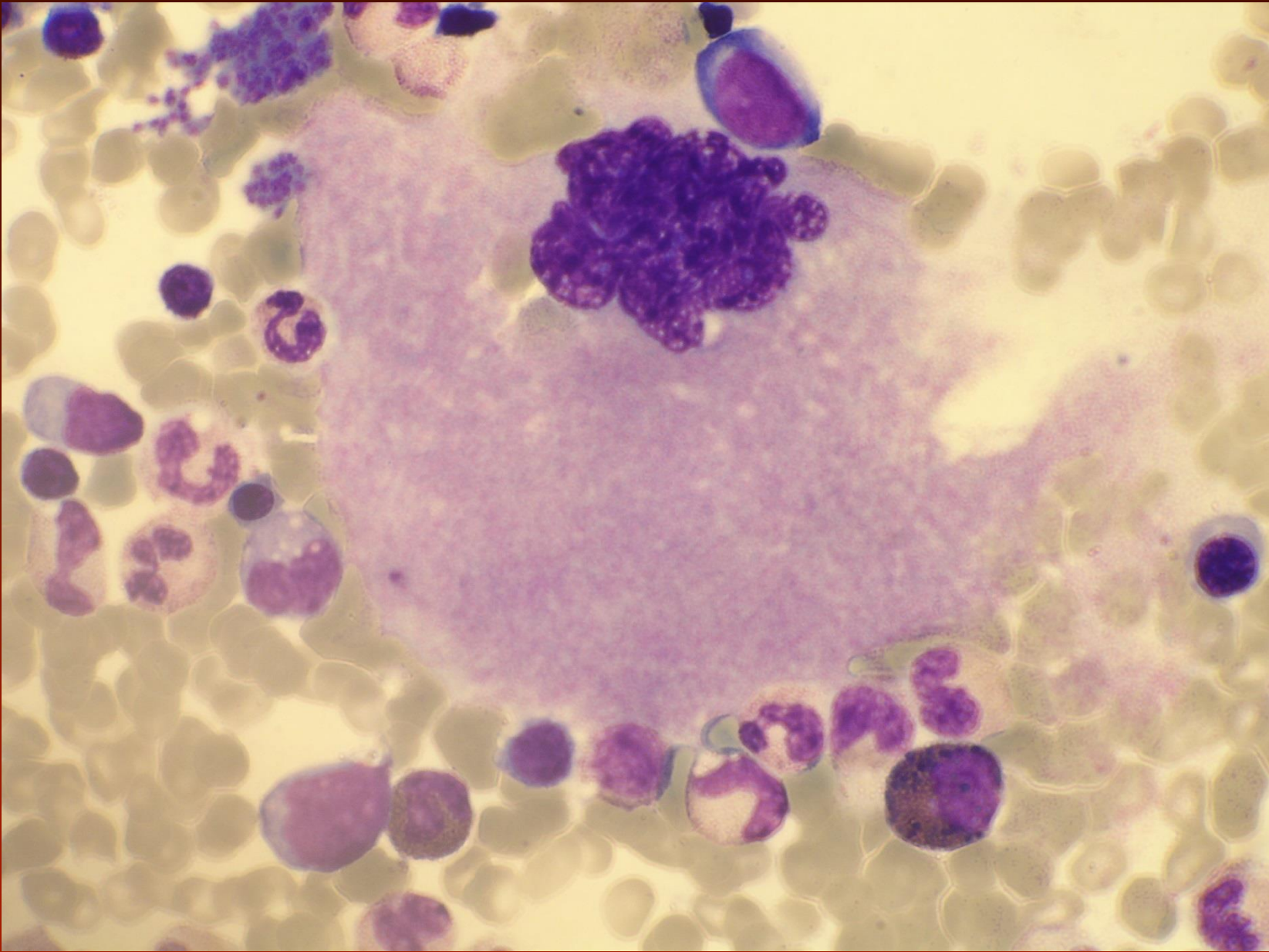
Esenciální trombocytémie

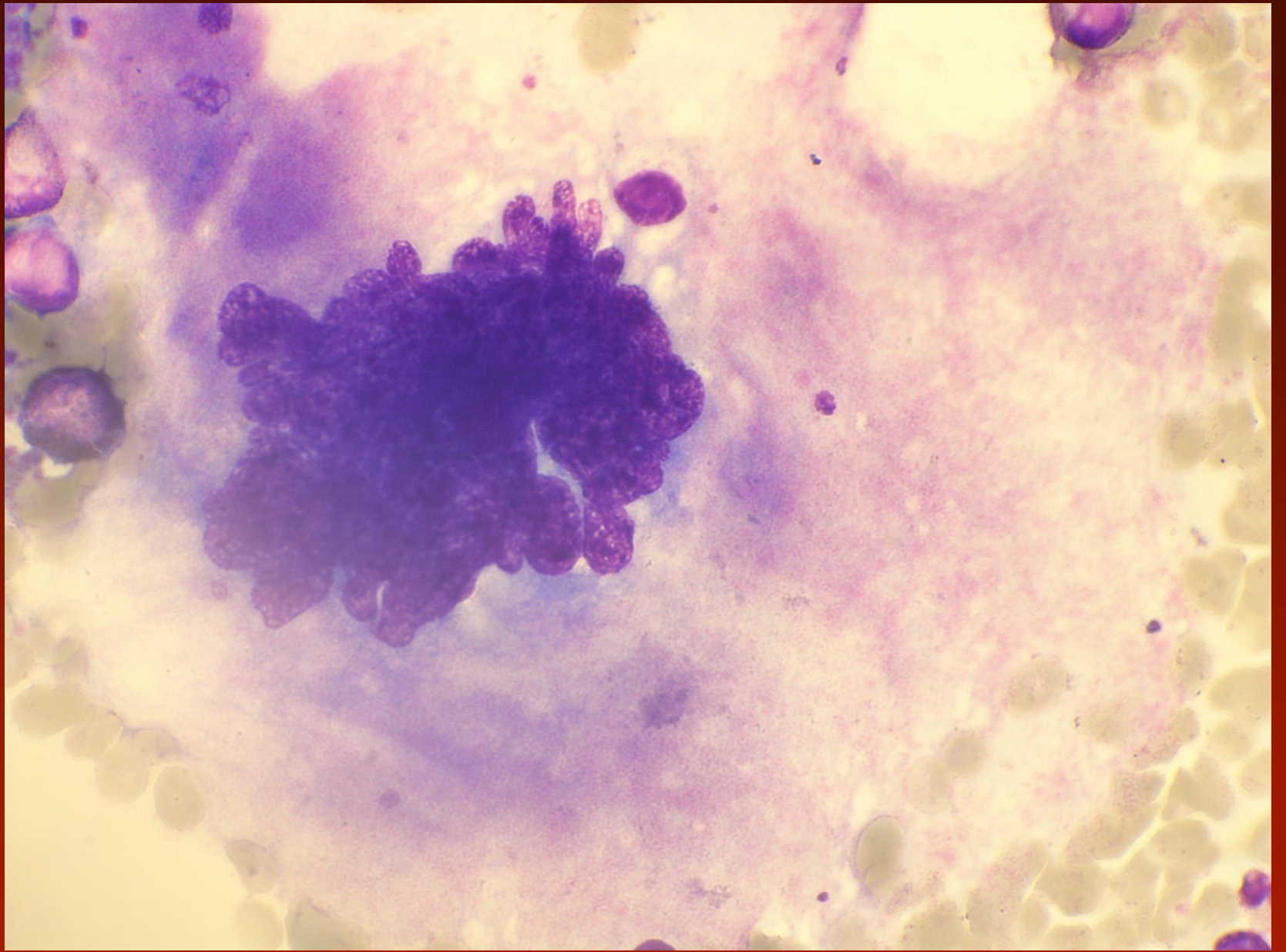
dif. dg. reaktivní trombocytémie

U reaktivní trombocytémie:

- Periferní krev:
 - destičky malé, normálně granulované, nejsou jádra mgk
 - není neutrofilie, basofilie
- Kostní dřeň:
 - zvýšený počet megakaryocytů, snížená velikost, může být emperipoléza
 - nejsou obvykle gigantické, nejsou shluky







ET - genetika

- nejsou specifické odchylky
- změny u 5-10% nemocných
- častějšími nálezy jsou del 20q, del 9q a +8
- 65% nemocných má JAK2V617F
- 20-25% má mutaci CALR
- 5% nemocných má mutaci MPL
- 5-10% je triple negativních

Dif. dg. trombocytózy - nejčastější příčiny

- sideropenie
- záněty, nekrotické stavy
- postižení dřeně solidním nádorem
- MPN, MDS/MPN, MDS (5q-)

Chronická neutrofilní leukémie - diagnostická kritéria

Periferní krev:

- leukocytóza $> 25 \text{ G/l}$
- segmentované neutrofily a tyče $> 80\%$ leukocytů
- nezralé granulocyty (promy-metamy) $< 10\%$ leukocytů
- myeloblasty $< 1\%$
- může být toxická granulace
- není dysgranulopoéza, eozinofilie, bazofilie
- monocyty $< 1\text{G/l}$

Chronická neutrofilní leukémie - diagnostická kritéria

Kostní dřeň:

- hypercelulární dřeň, zmnožená neutrofilní granulopoéza G/E až 20:1
- myeloblasty < 5%, proporcionální vyzrávání v neutrofilní řadě
- megakryocyty jsou normální nebo s posunem doleva

Molekulární genetika

- přítomnost mutace CSF3R

Není-li pozitivní mutace, pak leukocytóza > 3 měsíce, splenomegalie a neidentifikovatelná příčina rektivní neutrofilie včetně chorob plazmocytů

Chronická neutrofilní leukémie - diagnostická kritéria

- je přítomna hepatosplenomegalie
- nezjištěna jiná příčina neutrofilie (zánětlivý proces, tumor)
- není Ph1 chromozom nebo BCR/ABL
- není prokazatelné jiné myeloproliferativní onemocnění PV, PMF, ET
- není přestavba PDGFRA, PDGFRB, FGFR1
- není prokazatelný myelodysplastický syndrom nebo myelodysplasticko-myeloproliferativní onemocnění (není dysplázie granulopoézy, myelodysplastické rysy jiné řady, monocyty $< 1 \text{ G/l}$)

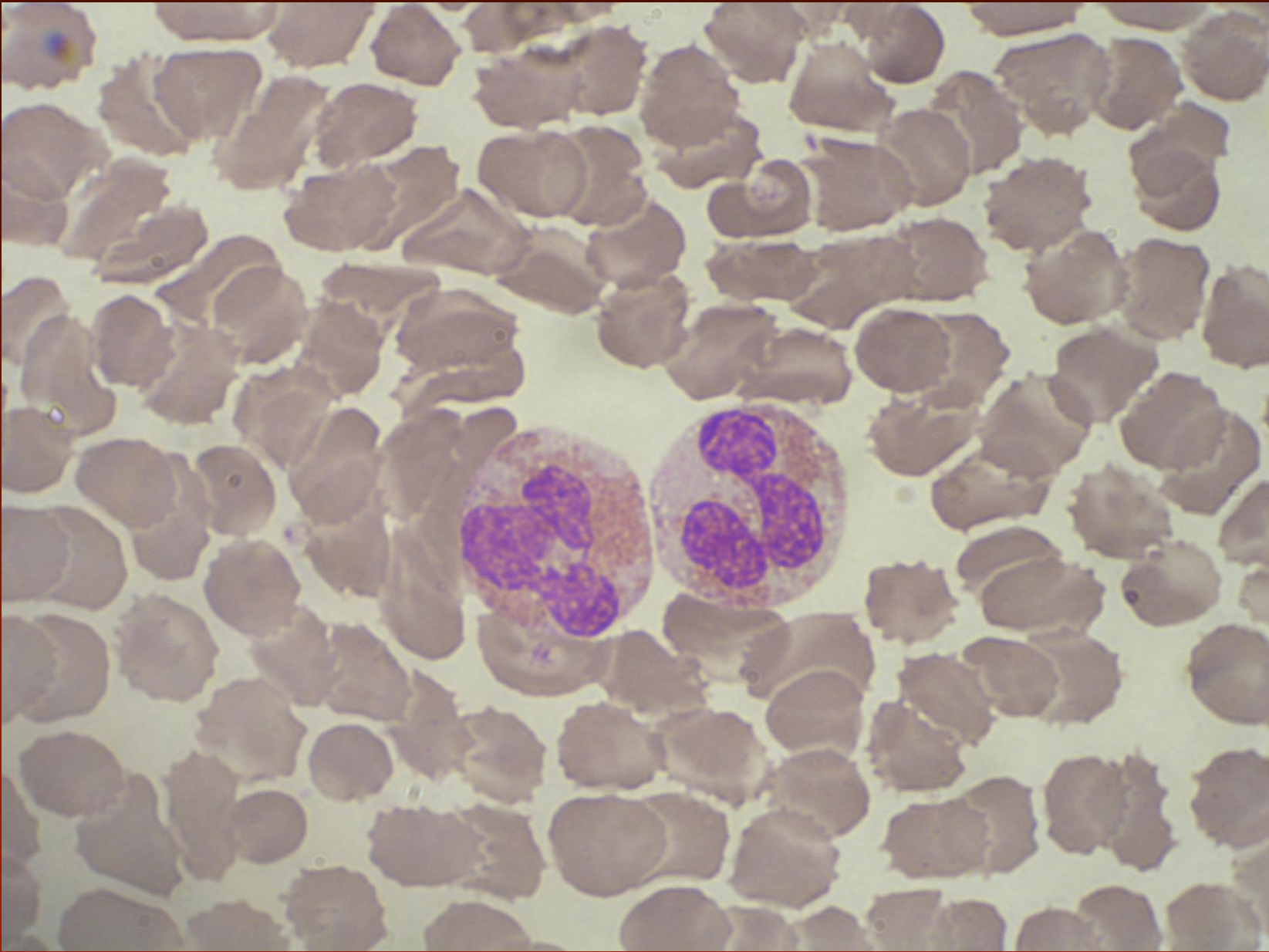
Chronická eozinofilní leukémie jinak nespecifikovaná

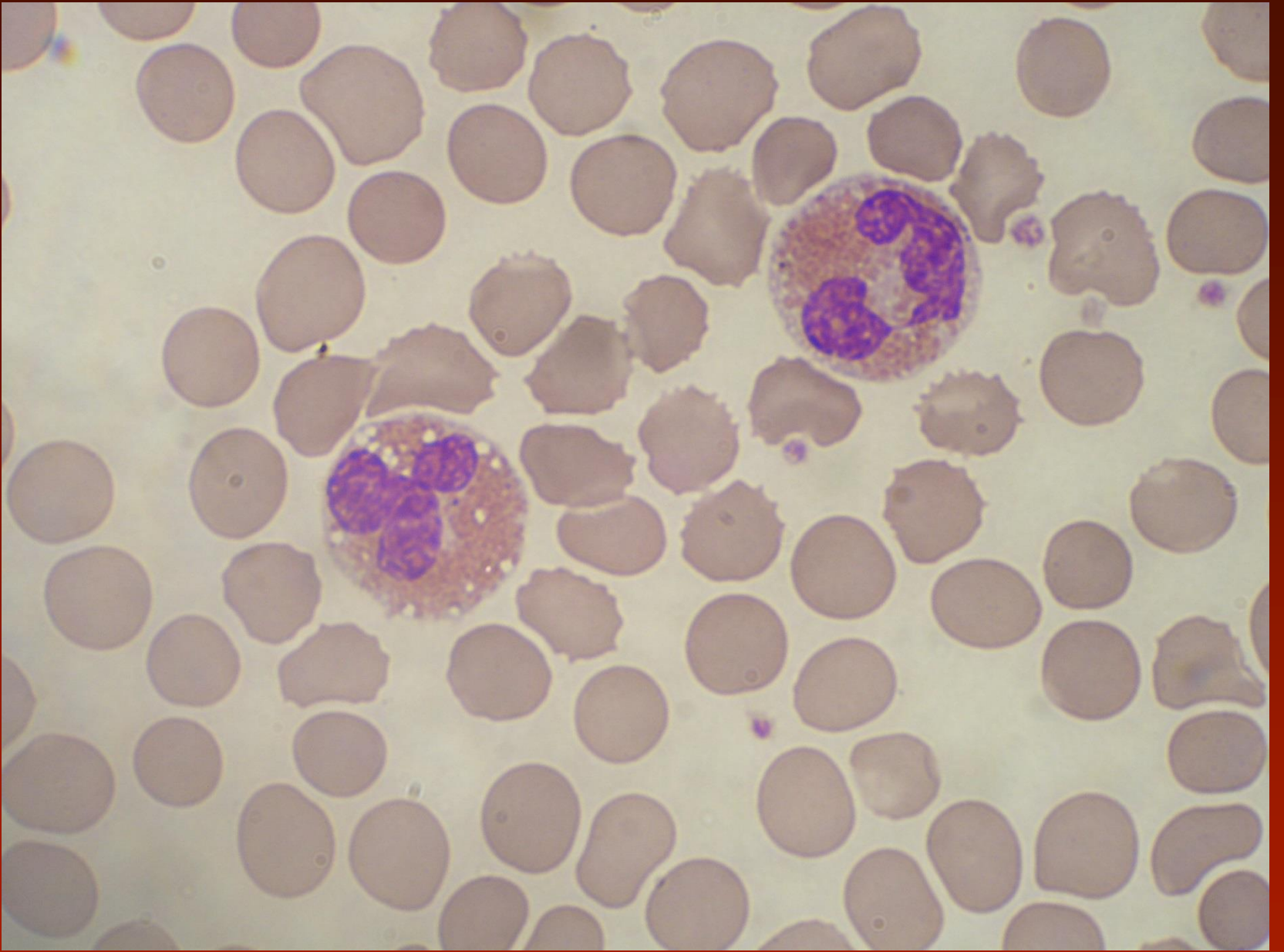
- počet eozinofilů nejméně 1,5 G/l
- není Ph1 nebo BCL/ABL, jiné MDN (PV, ET, PMF)
- Není t(5;2) nebo jiná přestavba PDGFRB
- Není FIP1L1-PDGFR A či jiná přestavba PDGFR A
- Není přestavba FGFR 1
- < 20% blastů v periferní krvi či kostní dřeni, není inv nebo t(16) nebo jiná diagnostické známky AML
- je prokázána klonalita onemocnění a/nebo jsou blasty v PK > 2% nebo > 5% v KD

CEL

Periferní krev:

- většinou vyzrálé eozinofily, málo myelocytů a promyelocytů
- abnormality: vypadaná granulace, vakuolizace cytoplazmy, hypersegmentace jader, hyposegmentace a větší velikost, ale i normální
- někdy vyjádřena neutrofilie a nebo i monocytóza, případně i bazofilie
- u diagnózy CEL by mělo být $> 2\%$ blastů

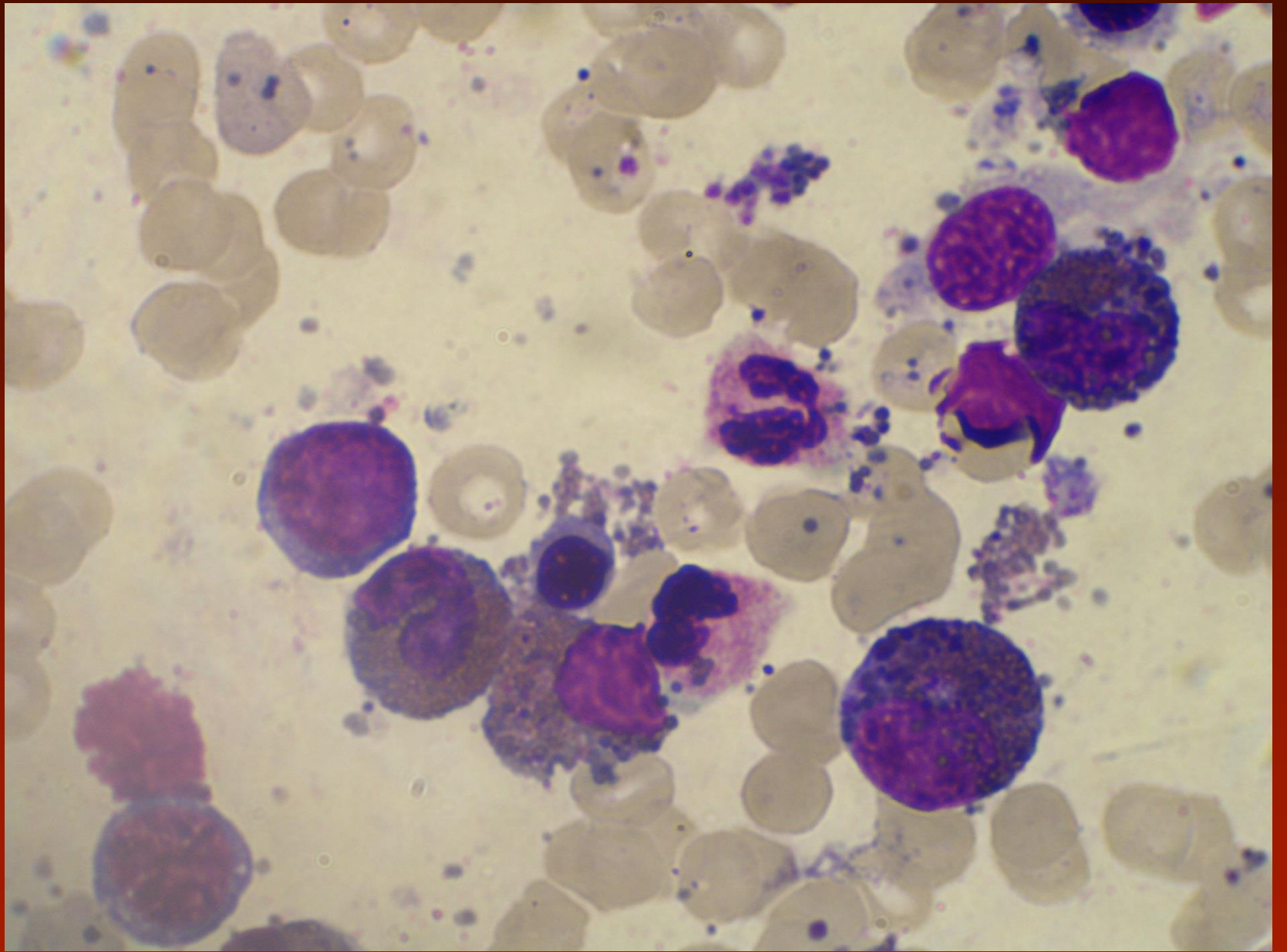


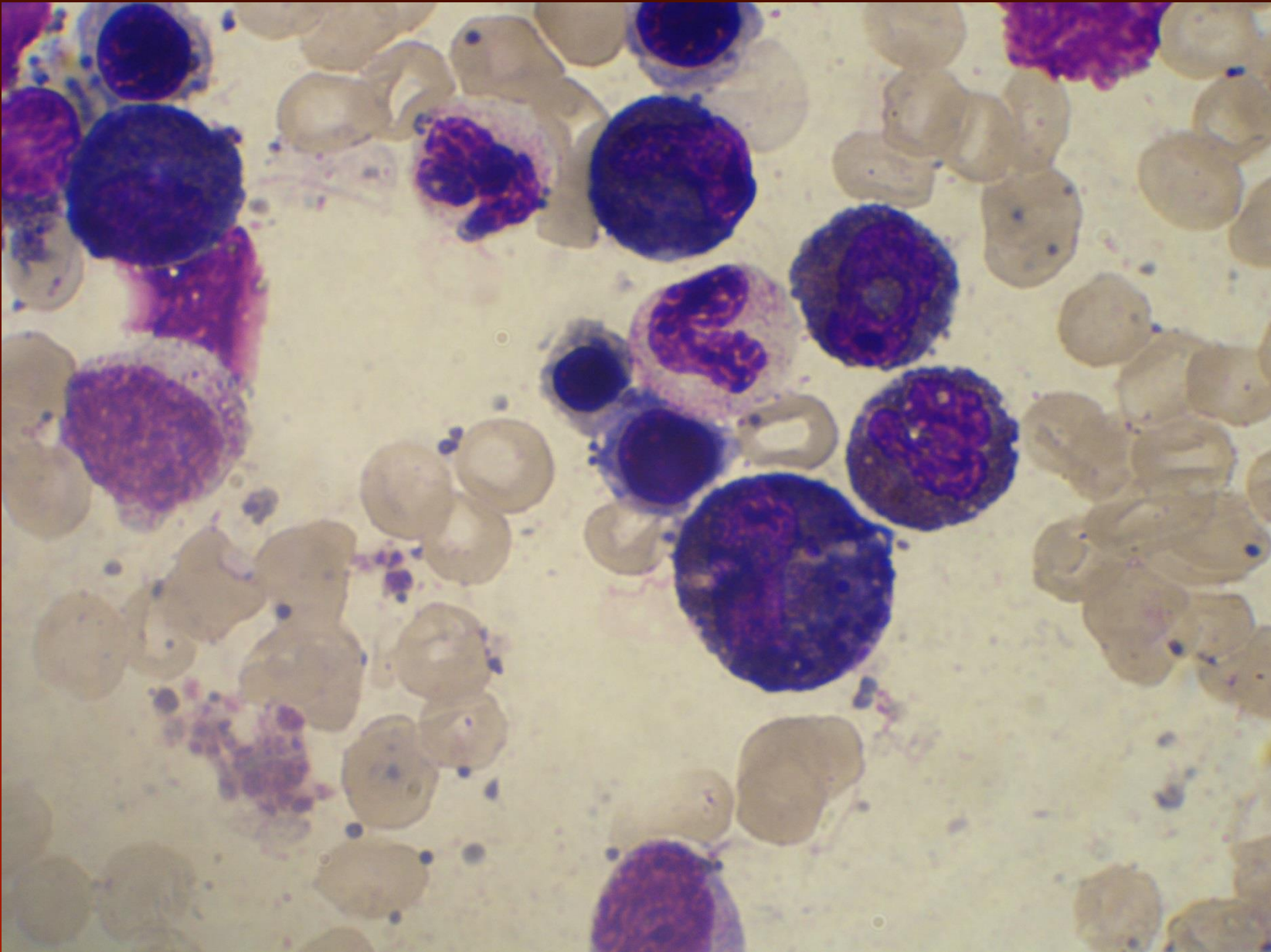


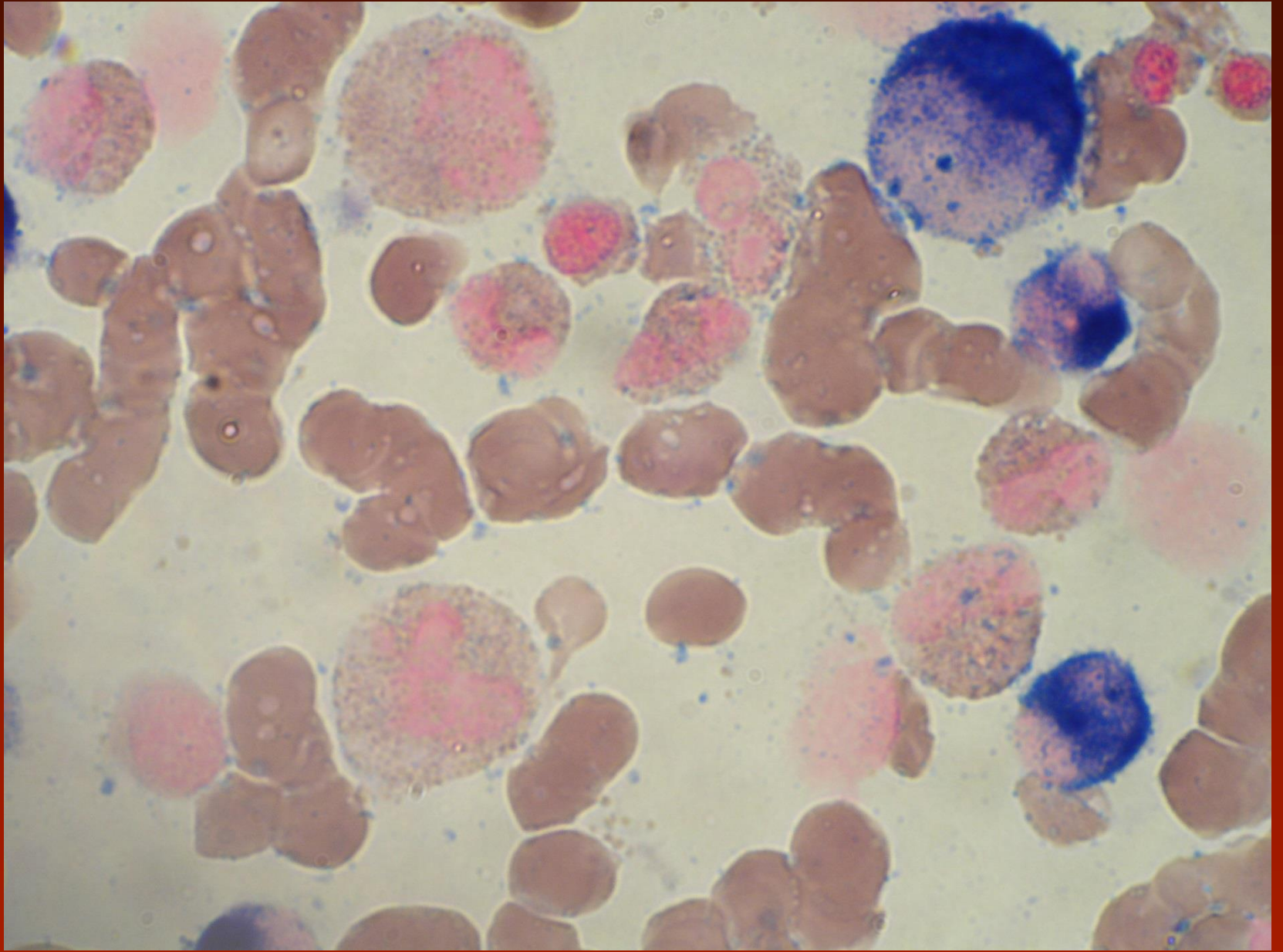
CEL

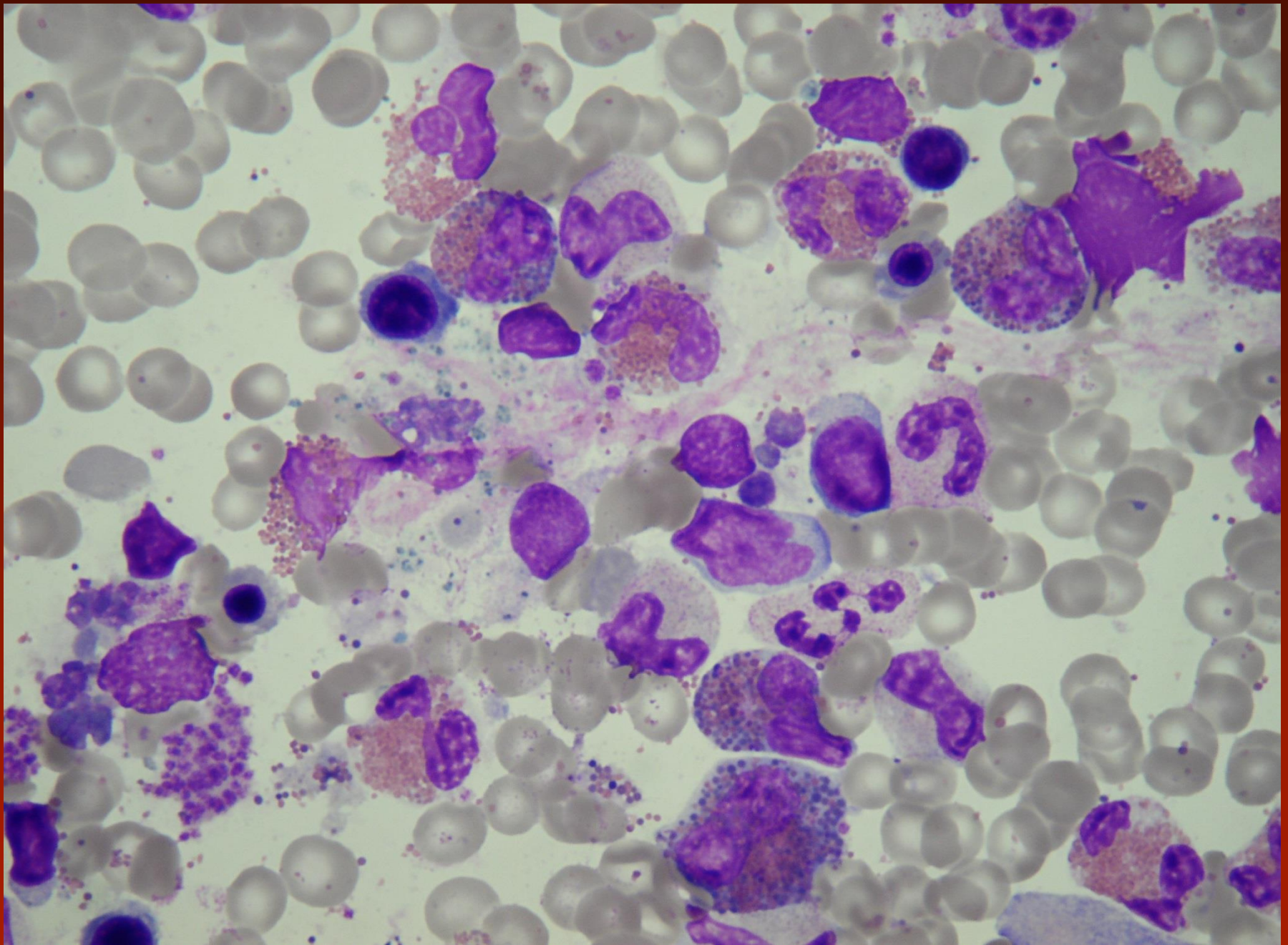
Kostní dřeň:

- hypercelularita díky hyperprodukcii eozinofilů, většinou zachováno normální vyzrání, často Charcot-Leydenovy krystaly, eozinofilní myelocyty obsahují proeozinofilní granula barvící se bazofilně
- blasty 5-19%, dysplastické rysy jak eozinofilů tak jiných řad podporují podezření na CEL
- pozitivita CHE podporuje podezření na nádorové onemocnění, diagnózu však neprokazuje

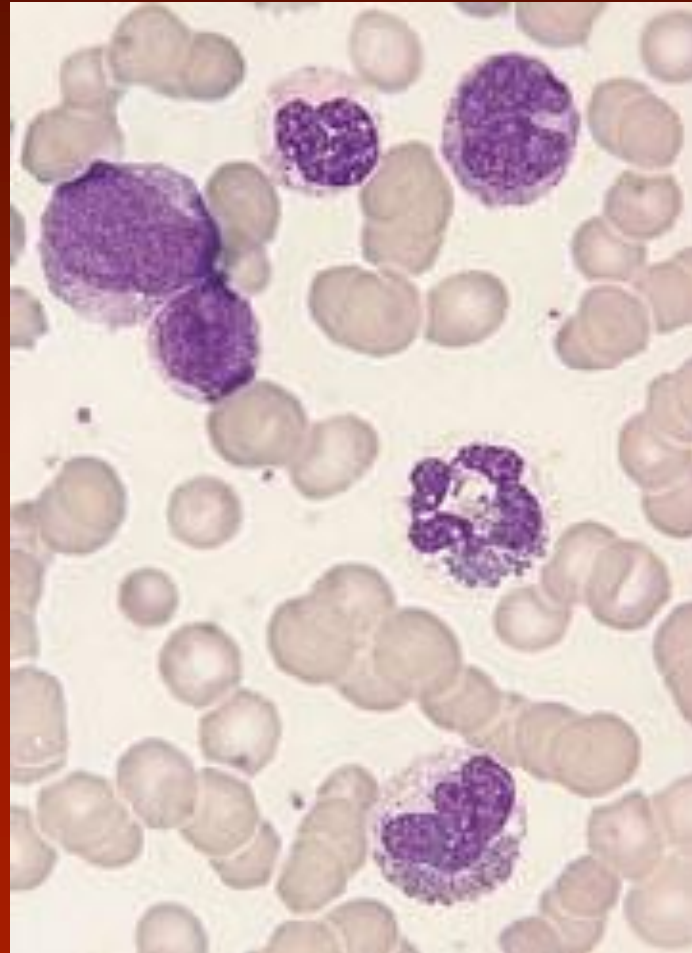
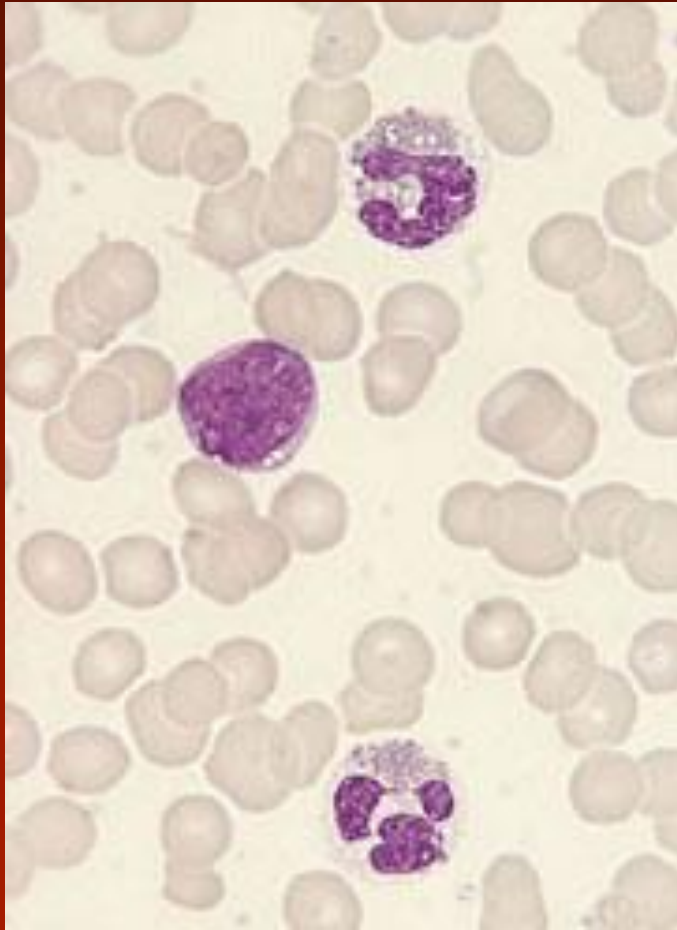








Eosinophilic leukaemia with trisomy 8

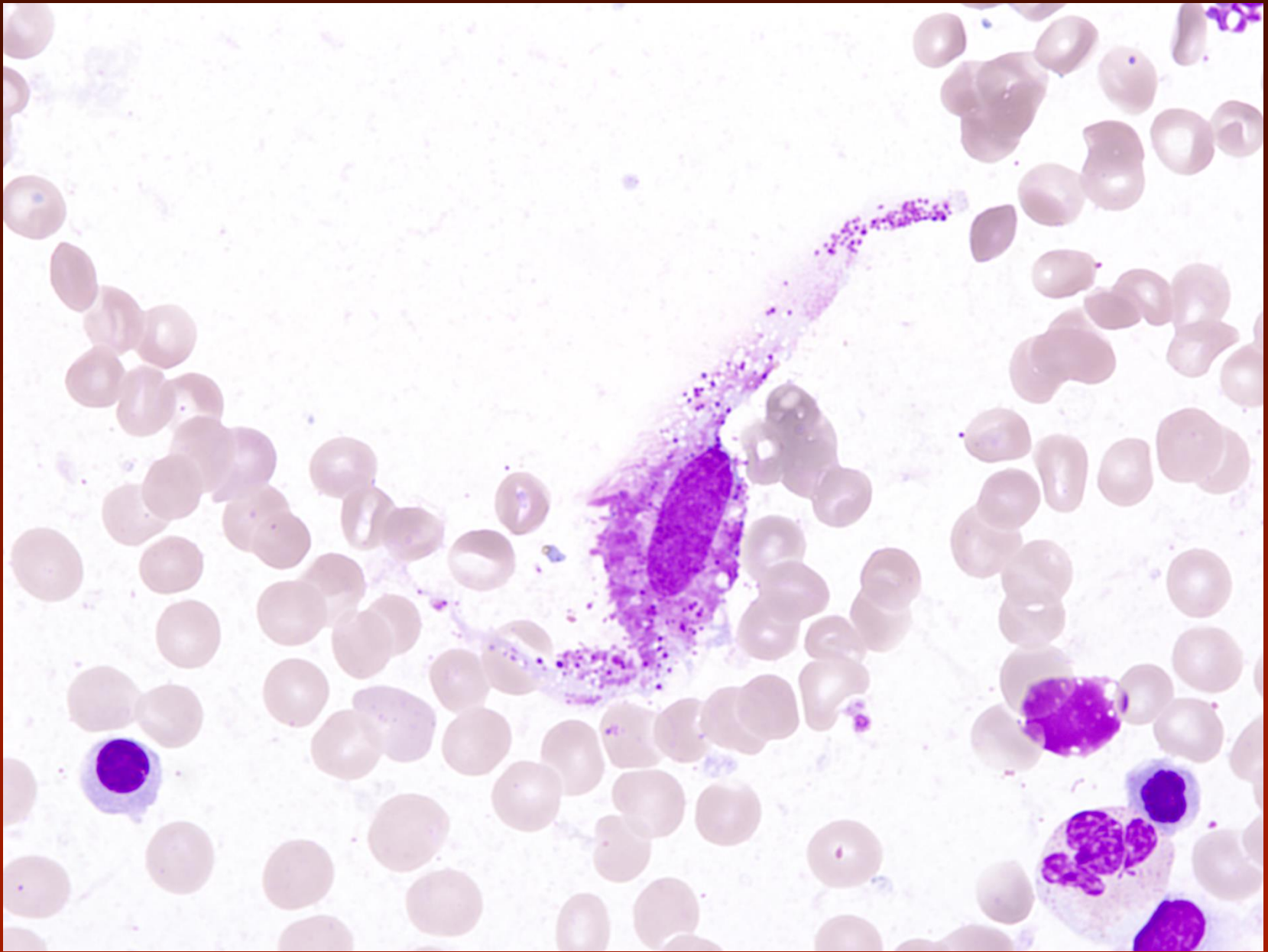


Chronické myeloproliferativní onemocnění, neklasifikovatelné

- onemocnění jasně myeloproliferativního charakteru, nesplňuje však diagnostická kritéria předchozích
- dvě skupiny:
 - iniciální stadia PV, CIMF nebo ET
 - pozdní stadia chronických myeloproliferativních chorob
- morfologické rysy jsou variabilní

Mastocytózy

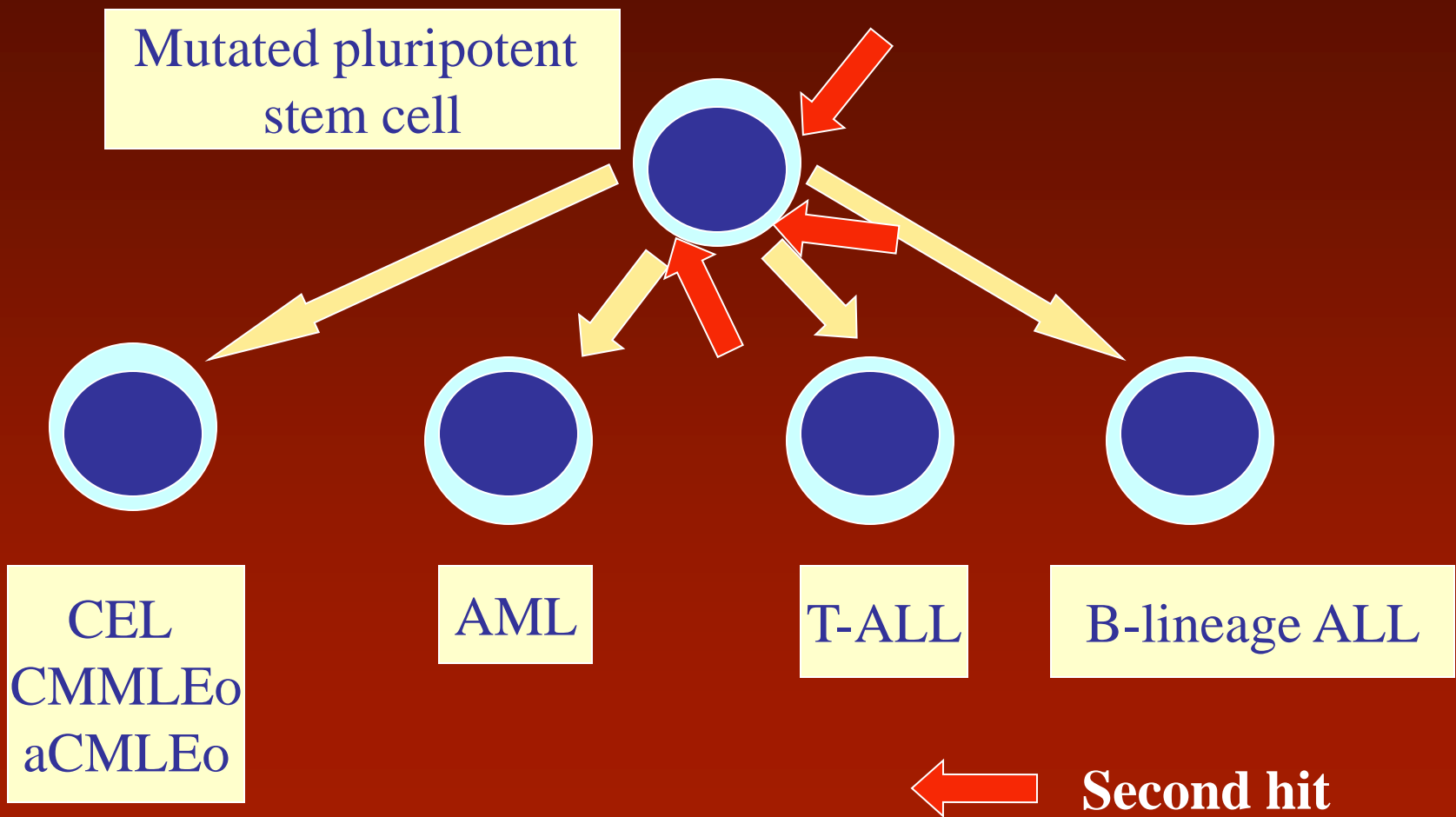
- kožní mastocytóza
- systémová mastocytóza
 - indolentní systémová mastocytóza
 - doutnající systémová mastocytóza
 - systémová mastocytóza spojená s klonální hematologickou chorobou ne-mastocytové linie
 - agresivní systémová mastocytóza
 - leukémie z mastocytů
- sarkom z mastocytů



Myeloidní a lymfoidní nádory s eozinofilií a abnormalitami PDGFRA, PDGFRB a FGFR1

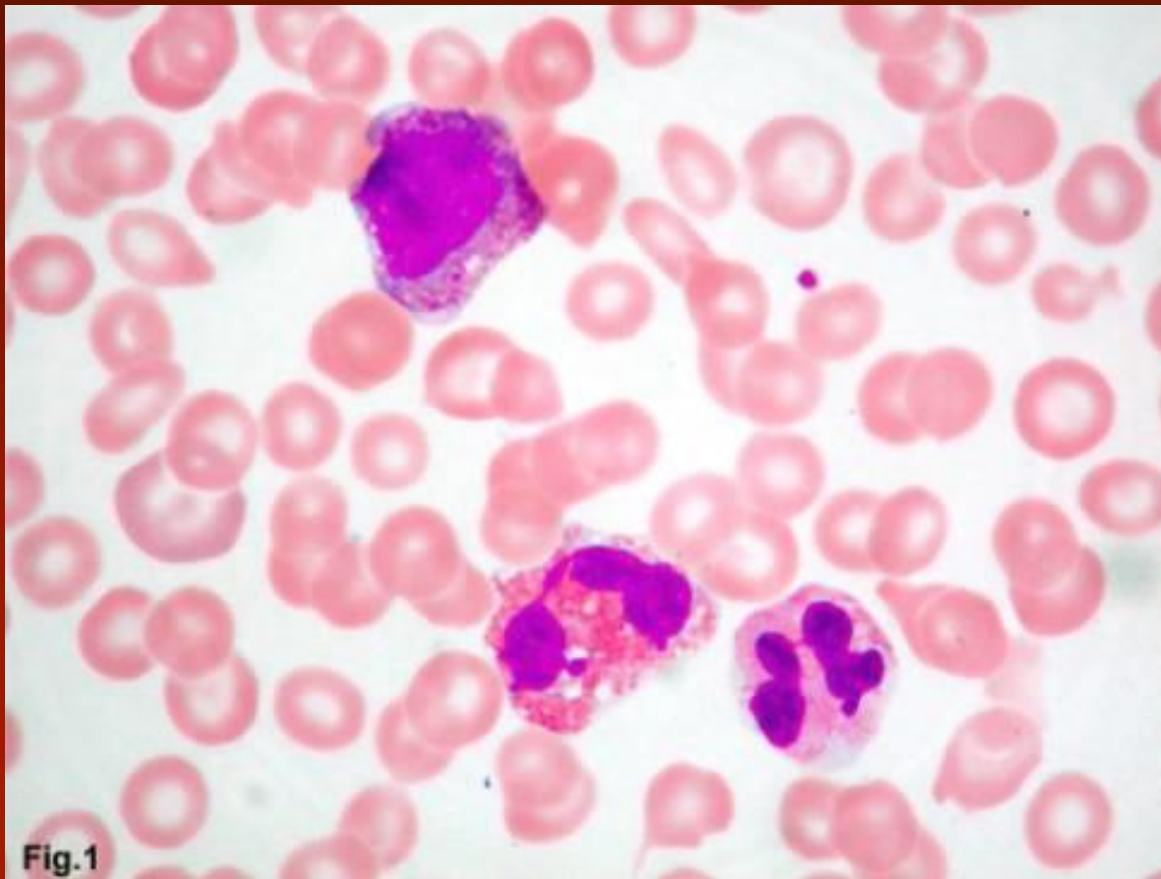
- 8p11 syndrom (přestavba FGFR1)
 - t(8;13), t(6;8), t(8;9), t(8;17), t(8;19), t(8;22) ins(12;8)...
 - není účinnost imatinibu
- 5q33 syndrom (ETV6-PDGFRB nebo jiné přestavby PDGFRB)
 - t(5;12), t(1;5), t(5;7), t(5;10), t(5;14), t(5;15), t(5;17)
- 4q12 syndrom (FIP1L1-PDGRA, BCR-PDGFR1)
 - žádný cytogenetický nález
 - t(4;22)

The 8p11 syndrome



8p11 syndrom

Case report – periferní krev



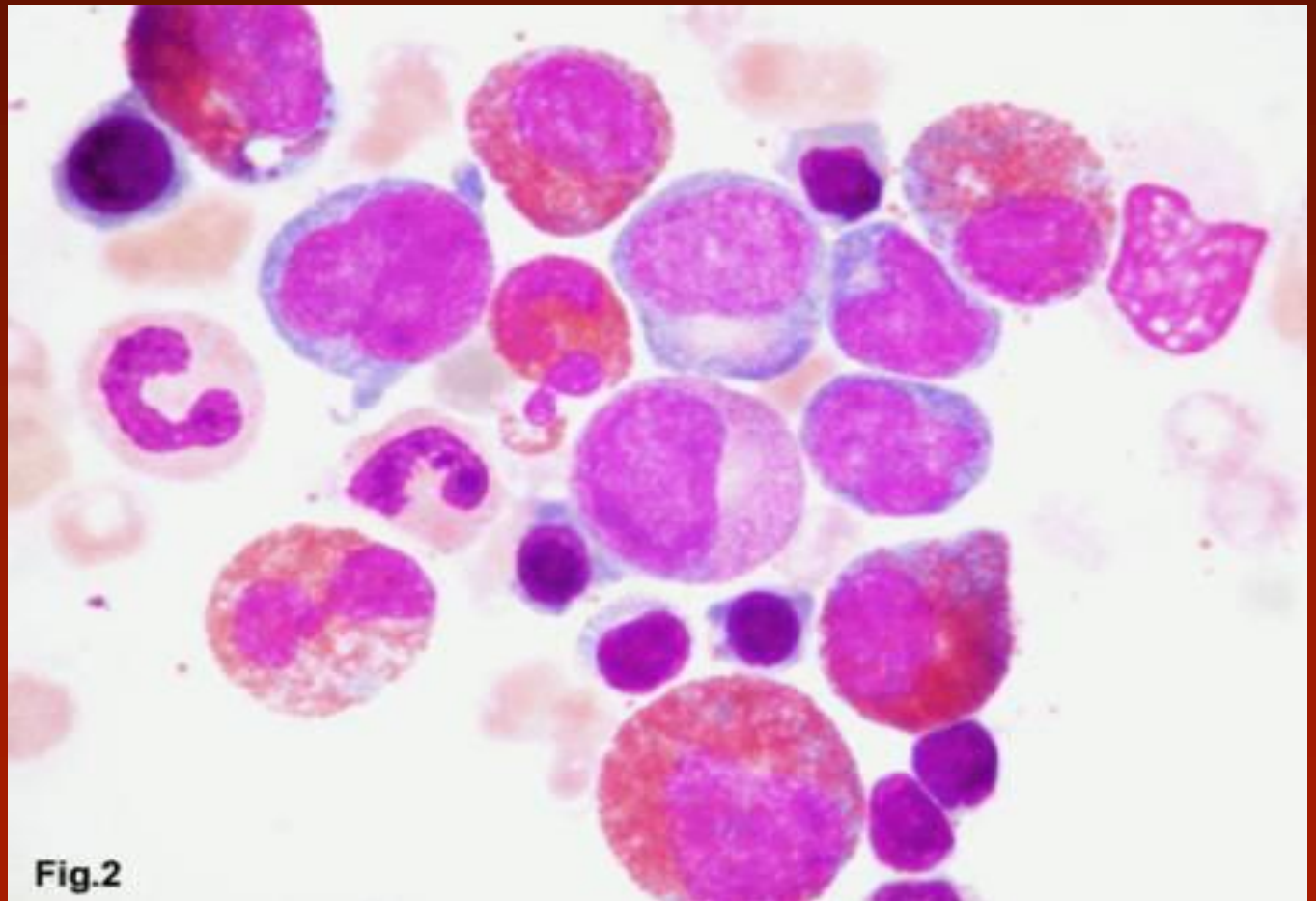
8p11 syndrom

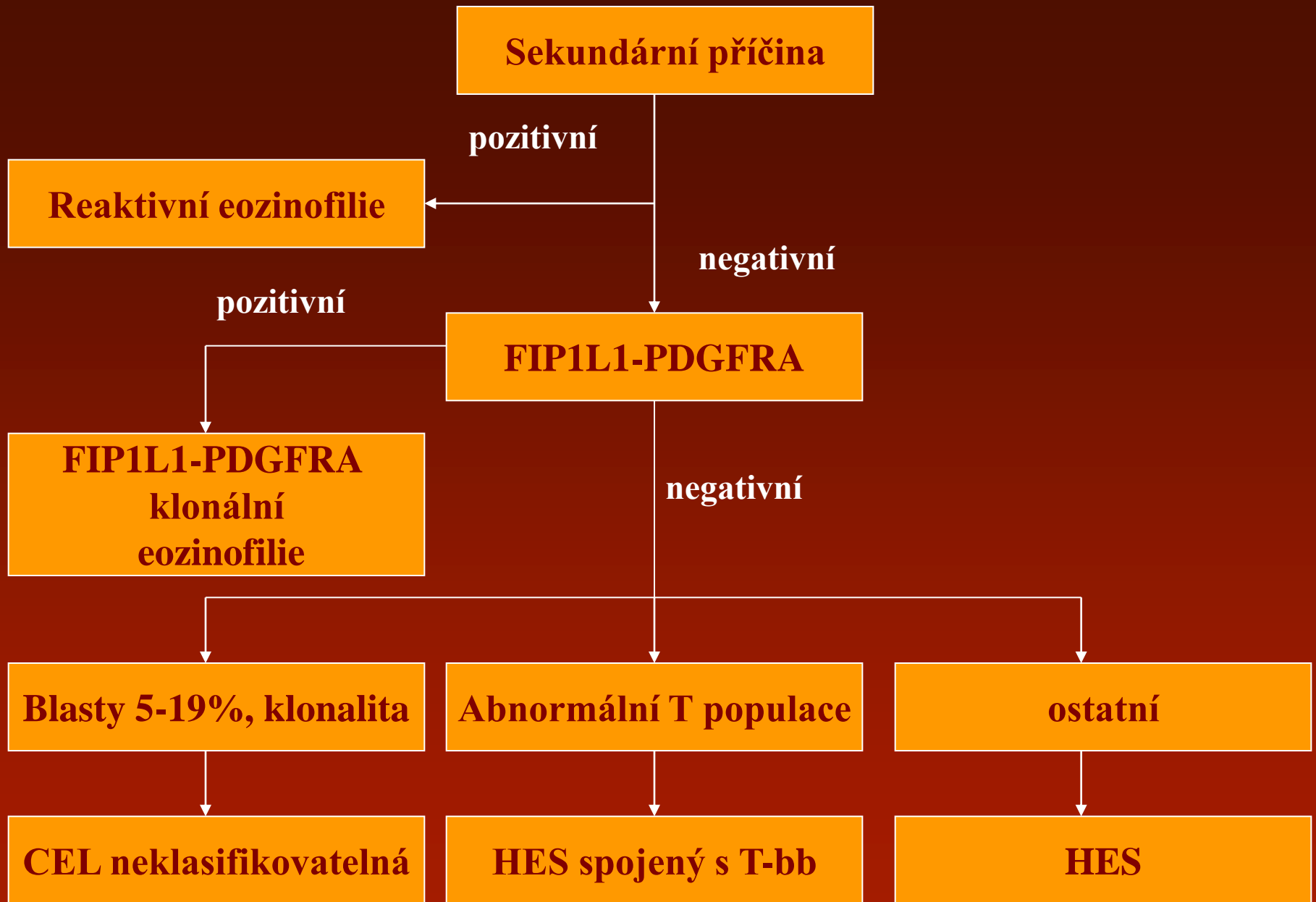
Case report – kostní dřeň

20%
eosinofilů,
3% blastů

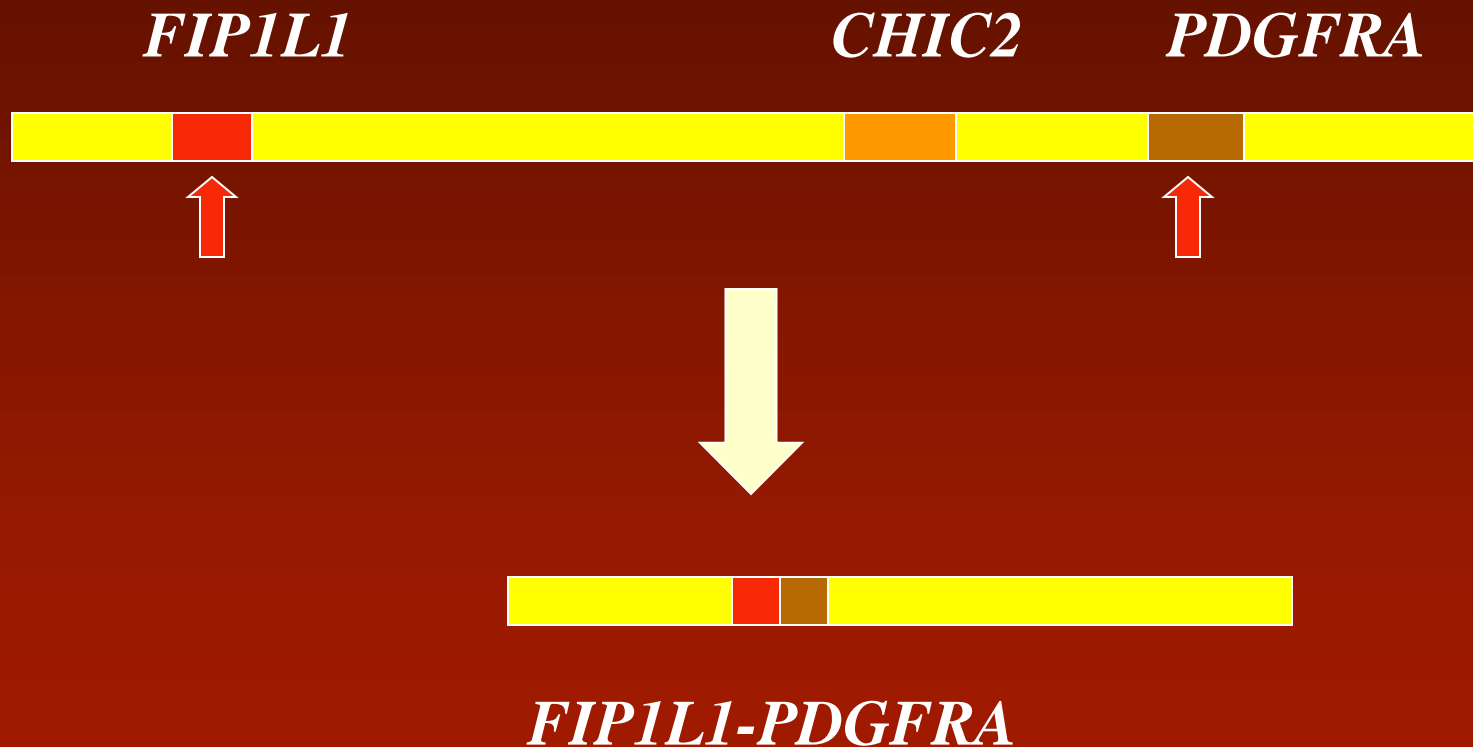
Diagnóza:

aCML s
eozinofilií



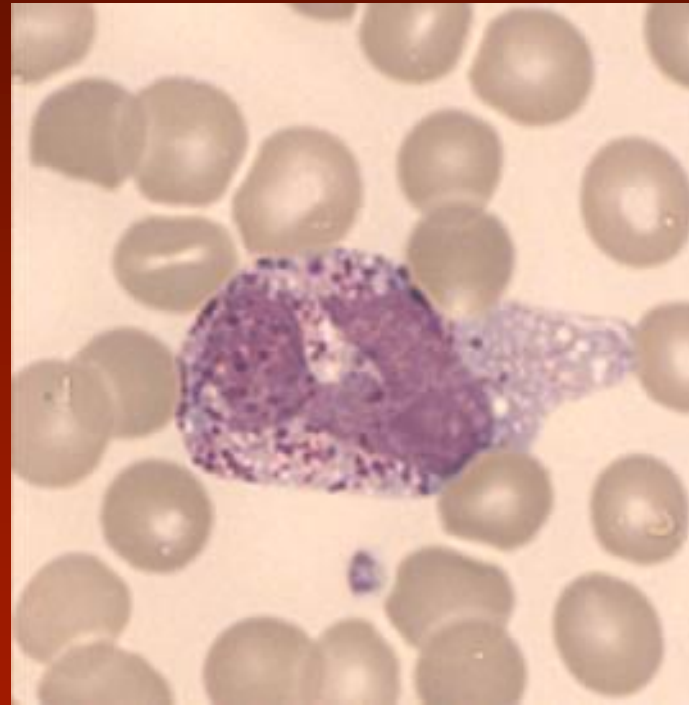
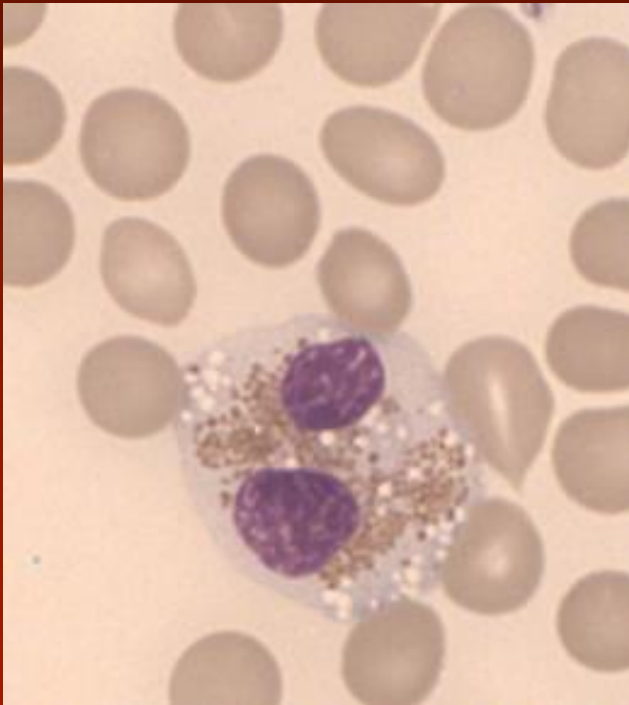


The *FIP1L1-PDGFR* syndrome



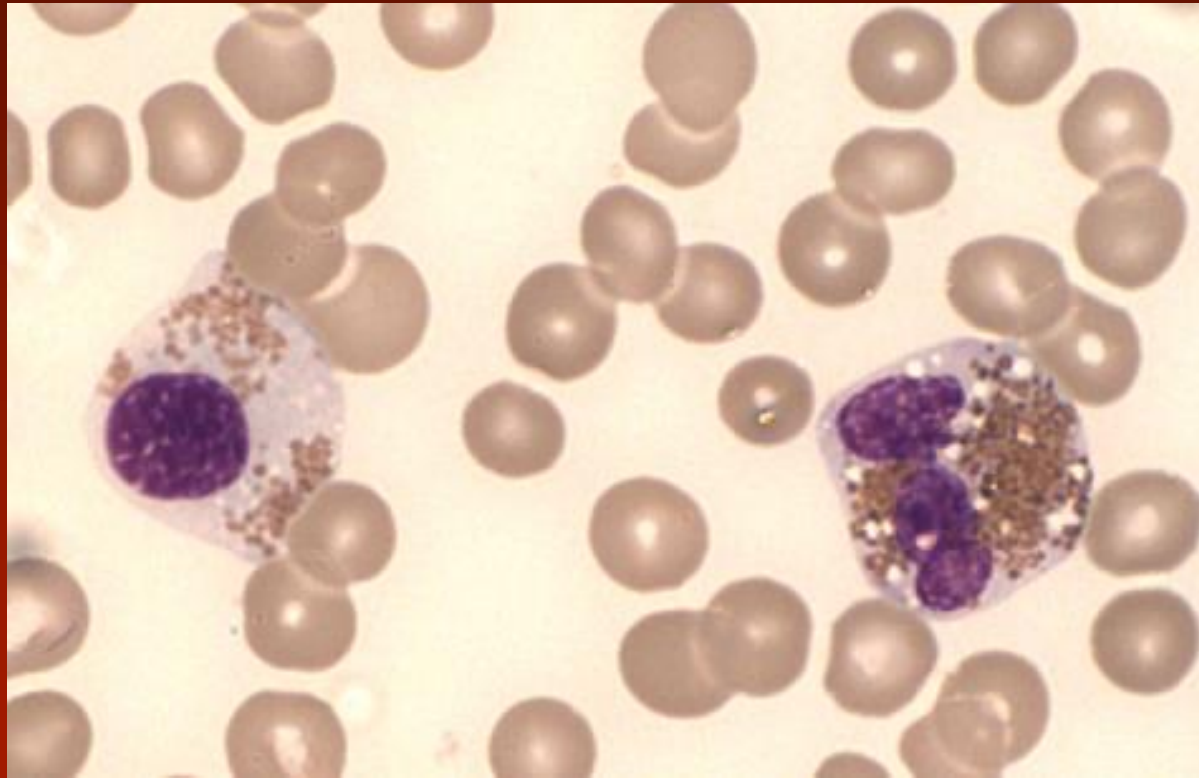
➔ Breakpoints in *FIP1L1* and *PDGFR*

typický pacient s *FIP1L1-PDGFR* syndromem



Krevní nátěr

typický pacient s *FIP1L1-PDGFR* syndromem



Krevní nátěr

Hypereozinofilie

<i>FIP1L1-PDGFR</i> A syndrom	Lymfoproliferativní HES
Hlavně muži Kardiální postižení Zvýšená tryptáza/zvýšení mastocytů GI postižení Akutní transformace možná	Není predominance mužů Časté kožní postižení Zvýšení interleukinu 5 a IgE GI postižení Zjevný lymfom se může vyvinout

Charakteristika MDS/MPN

- Klonální hemopoetické neoplázie, které v čase iniciální diagnózy nesou klinické, laboratorní a/nebo morfologické rysy myelodysplastického syndromu a současně nálezy, které jsou kompatibilní se syndromem myeloproliferace (dřeňová hyperplázie z důvodů proliferace nejméně jedné myeloidní řady, zvýšený počet cirkulujících periferních buněk).
- Hepatomegalie a splenomegalie je častá (klinické nálezy jsou variabilní, mohou se měnit).
- Současně přítomná dysplázie vede možnému současnému výskytu cytopenie.

Myeloproliferativní - myelodysplastické choroby

- Chronická myelomonocytární leukémie
- Atypická chronická myeloidní leukémie BCR-ABL1 negativní
- Juvenilní myelomonocytární leukémie
- MDS/MPN s prstenčitými sideroblasty a s trombocytémií
- Myelodysplasticko-myeloproliferativní onemocnění, neklasifikovatelné

Chronická myelomonocytární leukémie

- $> 1 \text{ G/l}$ monocytů v periferní krvi, relativní počet je $\geq 10\%$
- nejsou kritéria CML, PMF, PV a ET
- není přestavba PDGFRA, PDGFRB nebo FGFR1
- méně než 20 blastů v kostní dřeni či periferní krvi (včetně monoblastů a promonocytů)
- dysplázie v jedné nebo více myeloidních liniích; v případech, kde není dysplázie je CMML jestliže
 - je získaná klonální cytogenetická abnormita
 - monocytóza přetrvává více než 3 měsíce a jiné příčiny monocytózy jsou vyloučeny

Chronická myelomonocytární leukémie

- Myelodysplastický typ
 - Leukocyty $< 13\text{G/l}$
- Myeloproliferativní typu
 - Leukocyty $\geq 13\text{G/l}$
- CMML-0: $< 2\%$ blastů v PK a $< 5\%$ v KD
- CMML-1: 2-4% blastů v PK a 5-9% v KD
- CMML-2: 5-19% blastů v PK, 10-19% v KD
či přítomnost Auerových tyčí

CMMol – periferní krev

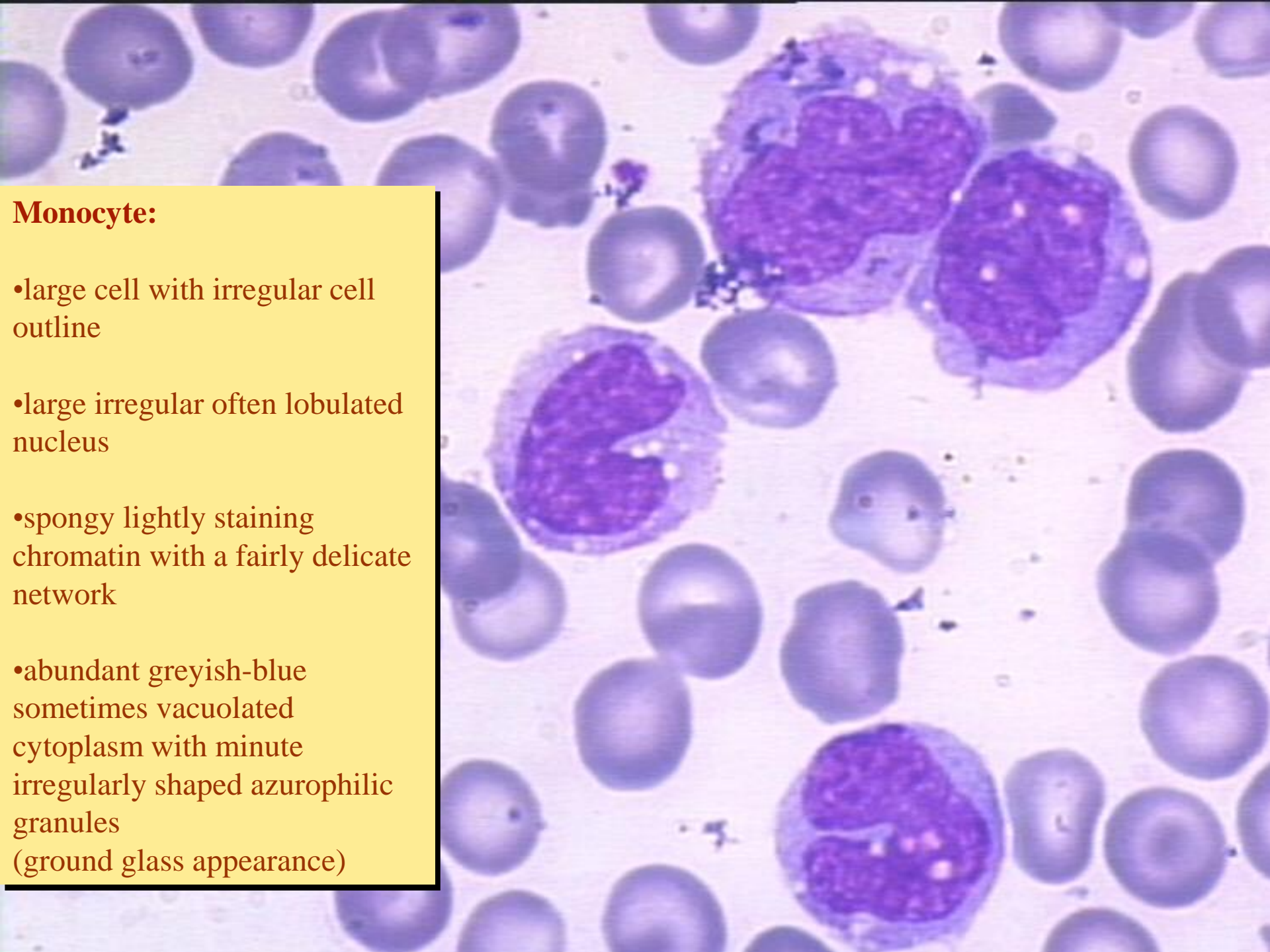
- monocyty obvykle 2-5G/l, ale i 80G/l, většinou > 10% jaderných buněk; většinou vyzrálé, ale i morfologické atypie: abnormální granulace, neobvyklé štěpení jádra, jemný jaderný chromatin, blasty a promonocyty jsou obvykle nalezeny (< než 20%)
- neutropenie, ale i neutrofilie, nezralé prekurzory obvykle < 10%, bazofilie někdy, eozinofily normální až výrazně zvýšené, dysgranulopoéza (méně výrazná u pacientů s leukocytózou)
- lehká anémie normo- až makrocytární, často středně významná trombocytopenie

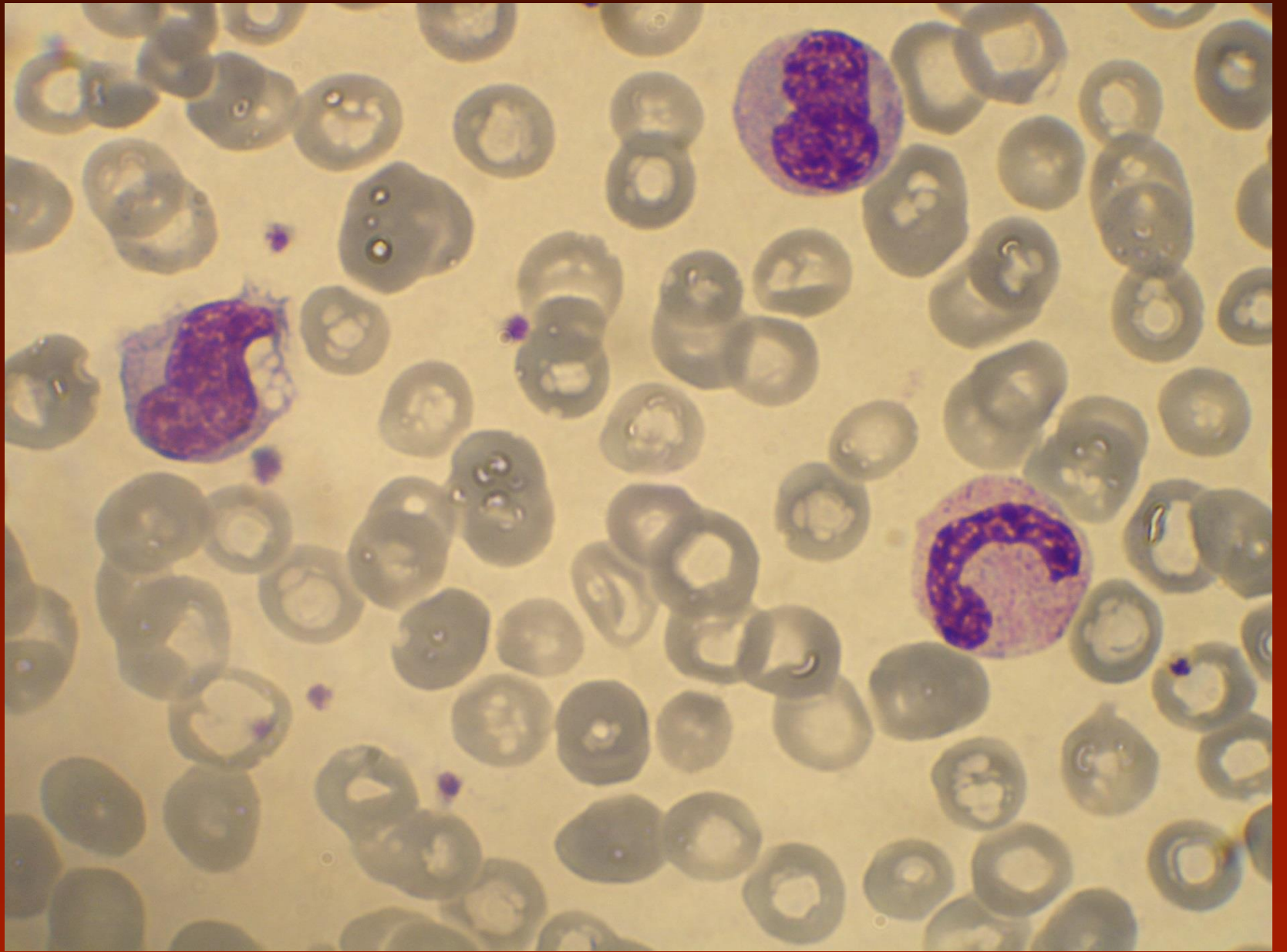
CMMoI – kostní dřeň

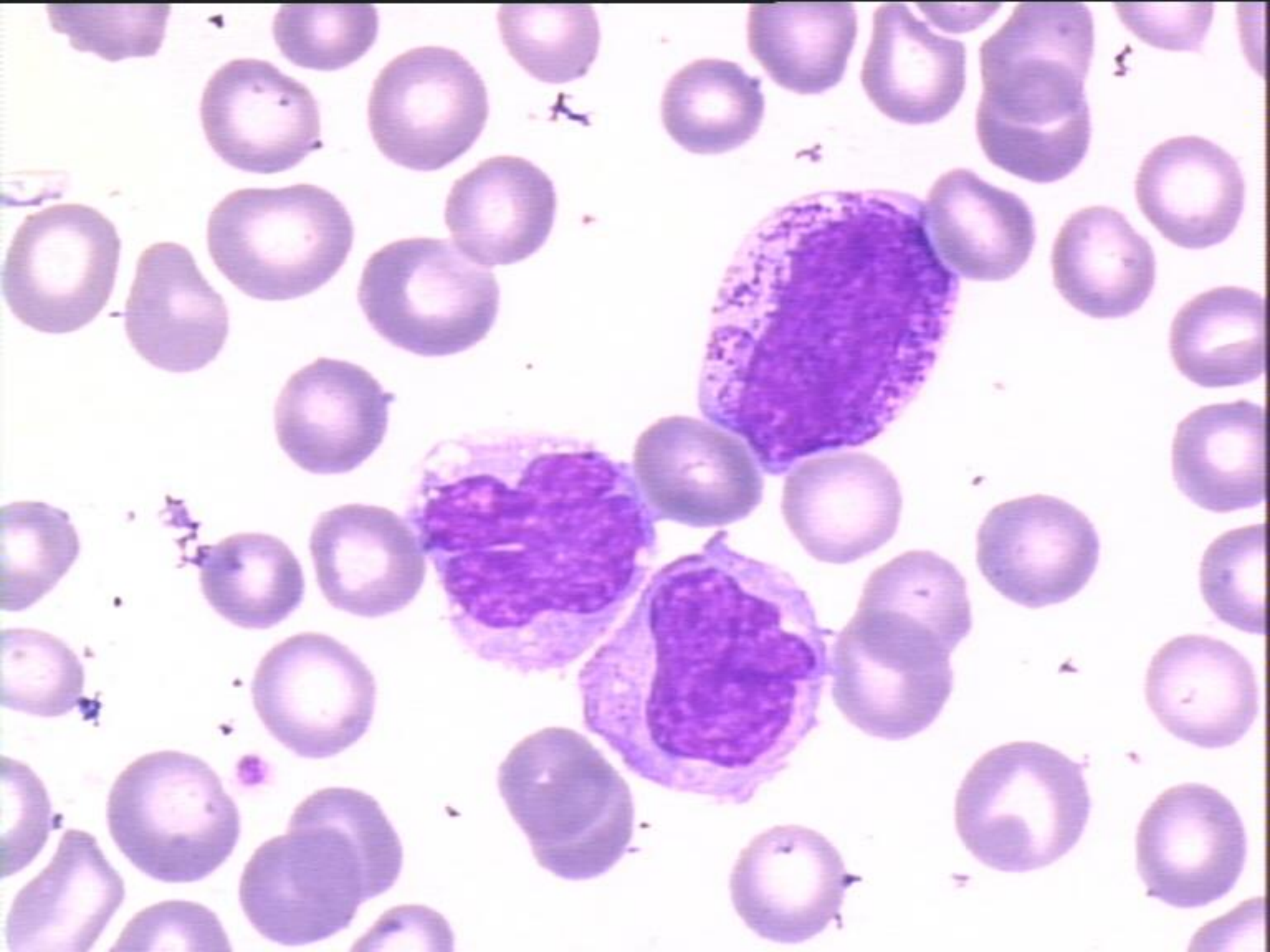
- hypercelulární u 75% případů (ostatní normo i hypocelulární)
- je přítomna granulocytární proliferace, většinou s dysgranulopoézou, méně často i erytrocytární proliferace s dyserythropoézou (cca 50% pacientů)
- monocytární proliferace variabilně, někdy více zřetelná barvením na nespecifickou esterázu
- mikromegakaryocyty a/nebo mgk s abnormálně lobulizovanými jádry

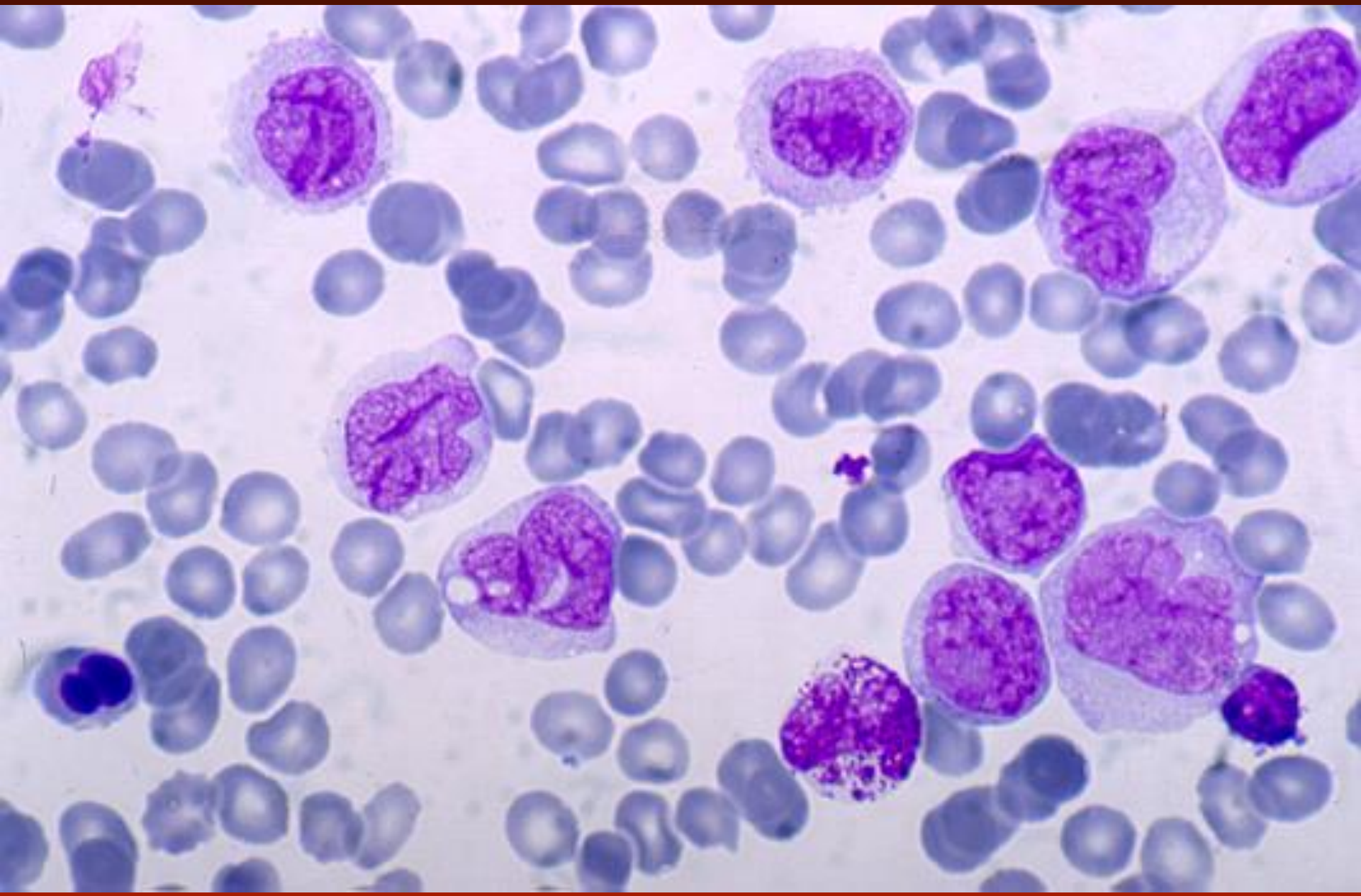
Monocyte:

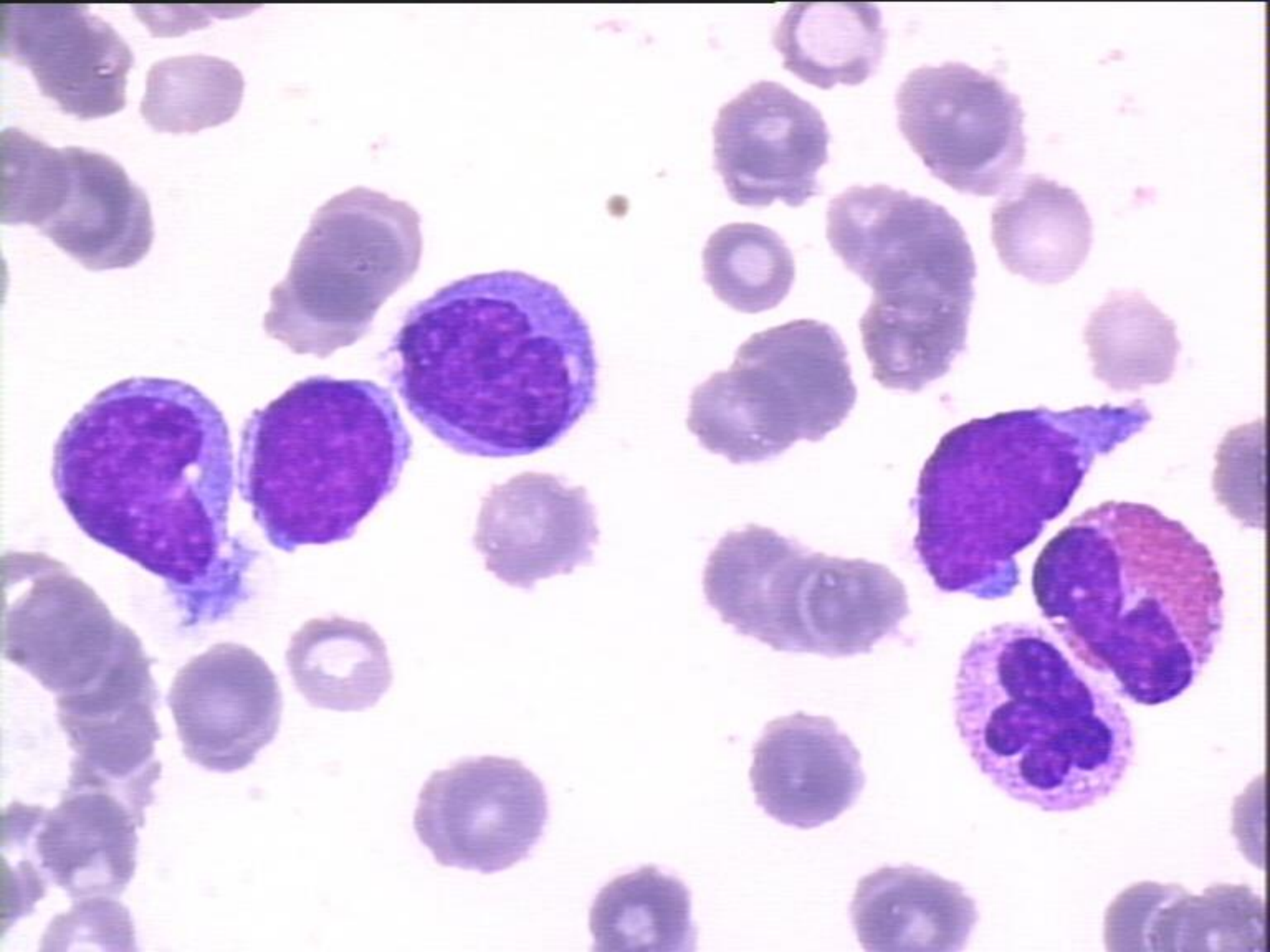
- large cell with irregular cell outline
- large irregular often lobulated nucleus
- spongy lightly staining chromatin with a fairly delicate network
- abundant greyish-blue sometimes vacuolated cytoplasm with minute irregularly shaped azurophilic granules (ground glass appearance)









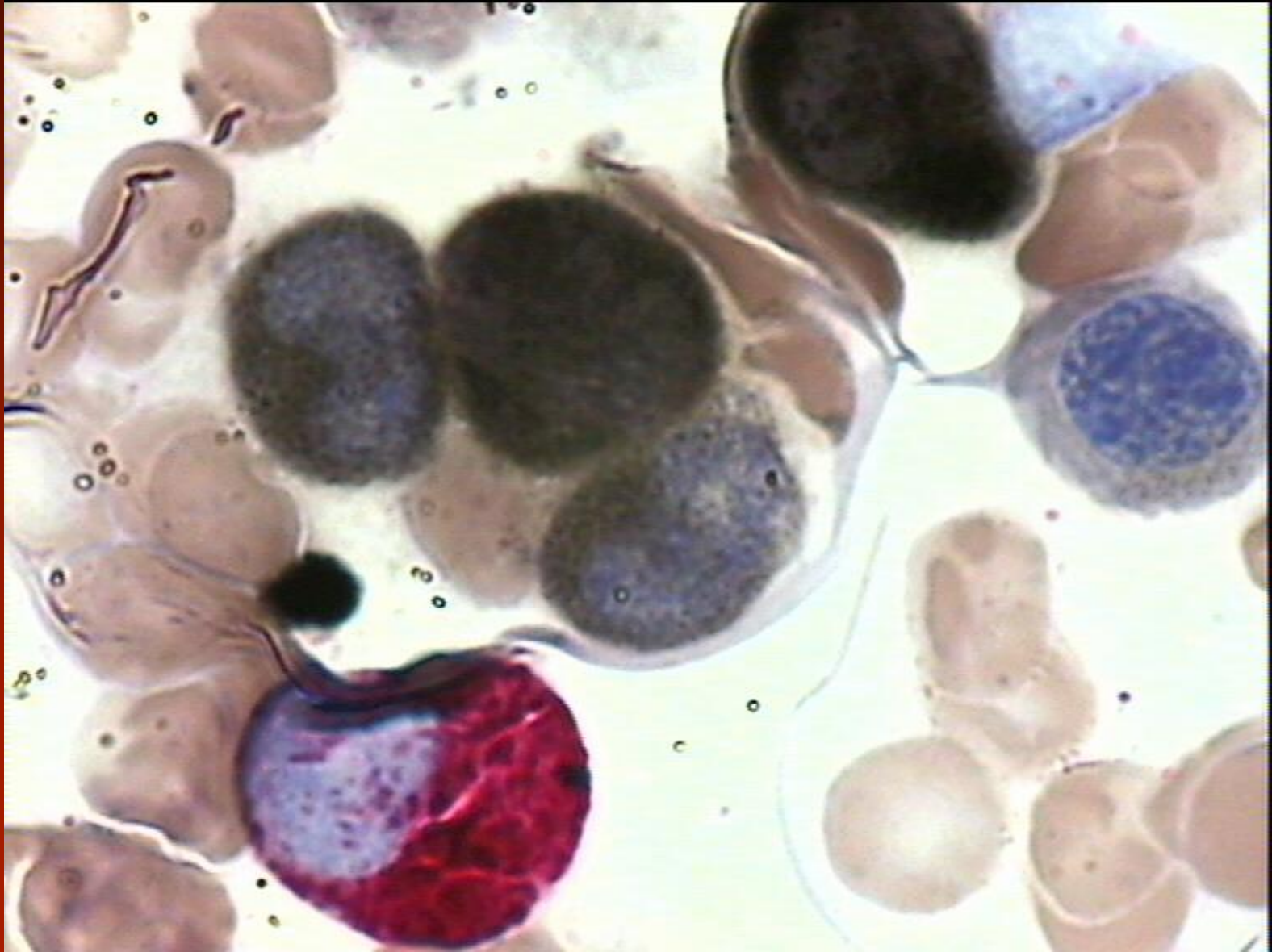


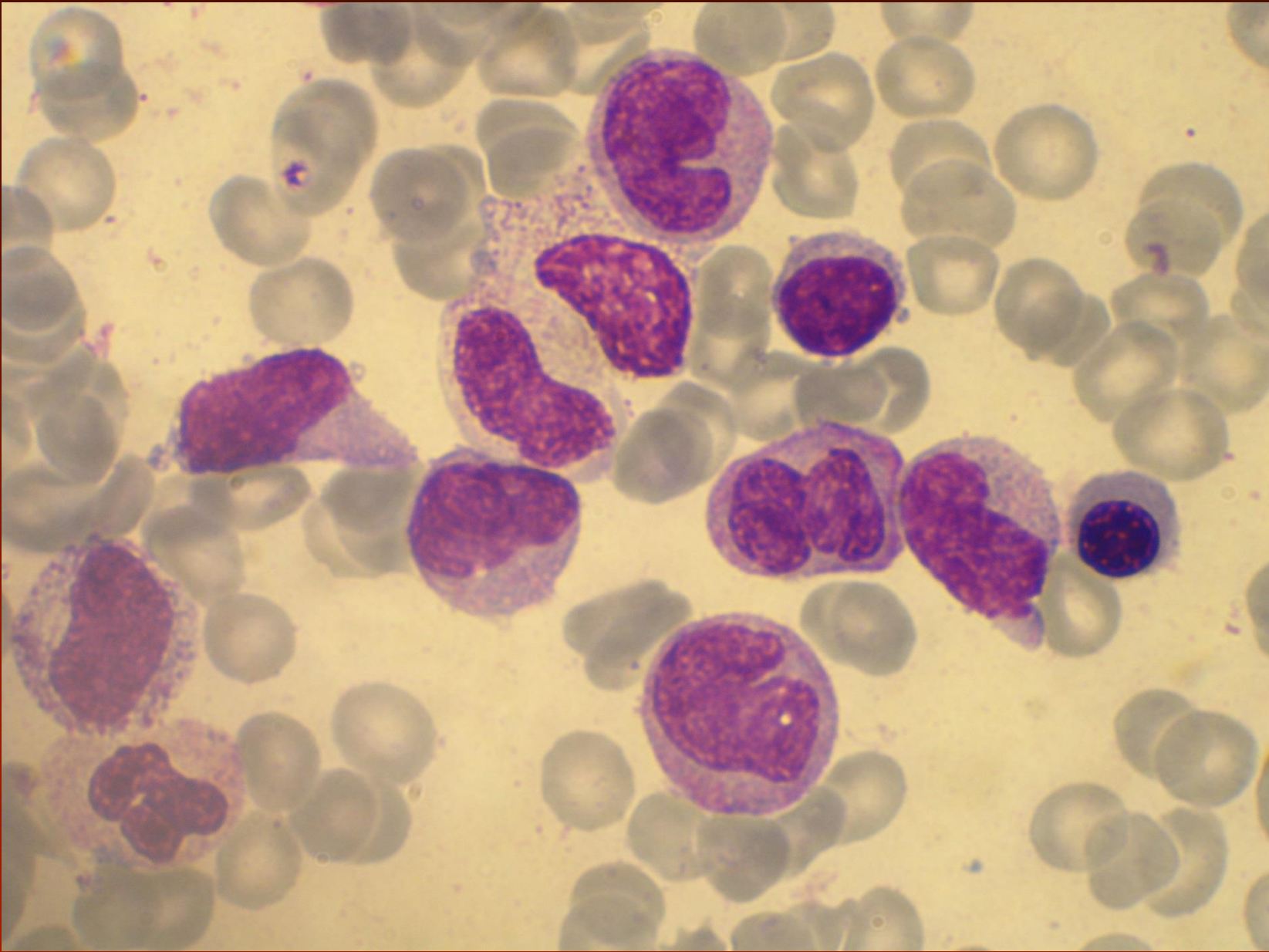
α -naphthyl acetate esterase (ANAE) cytochemical reaction

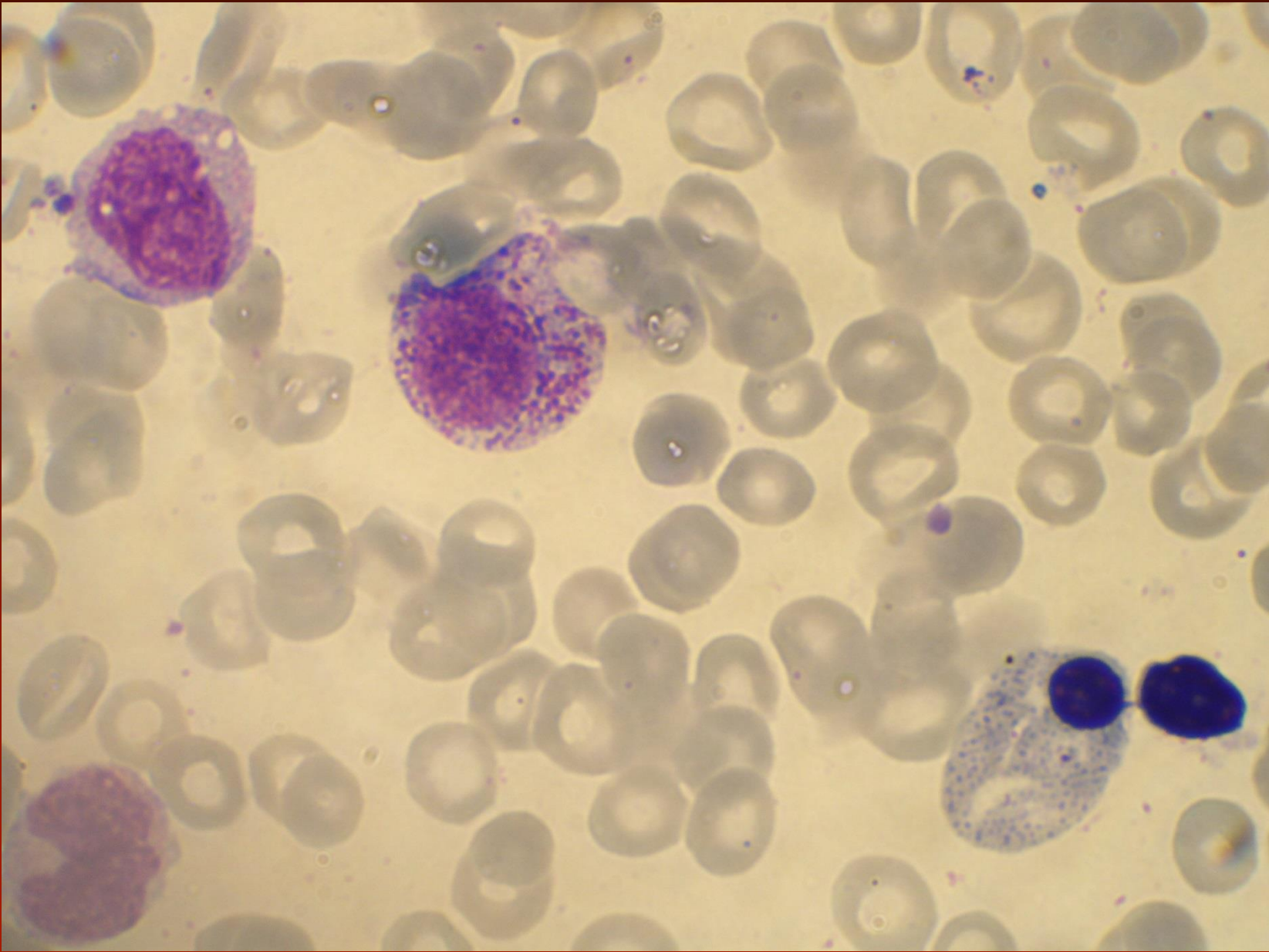


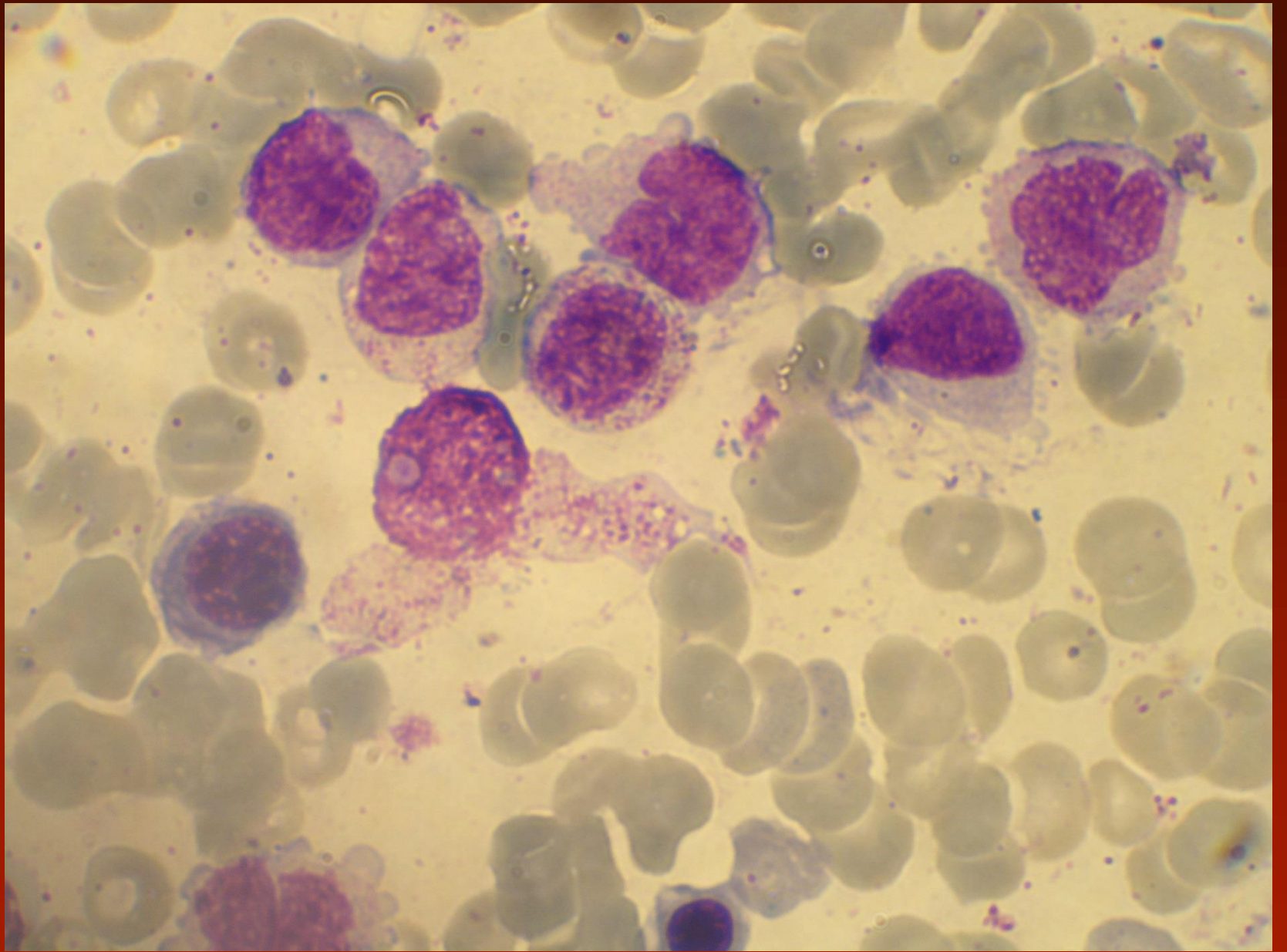
Combined reaction

α -naphthyl acetate esterase (ANAE) & naphthol As-D chloro-acetate esterase (CAE)



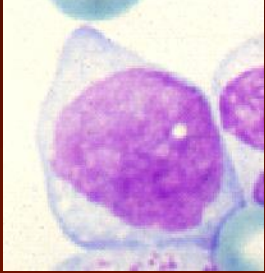
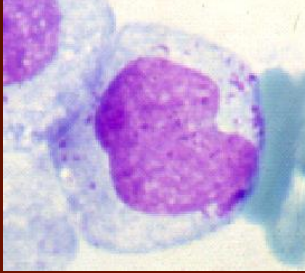
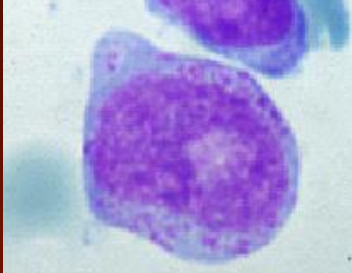




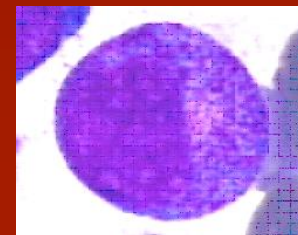


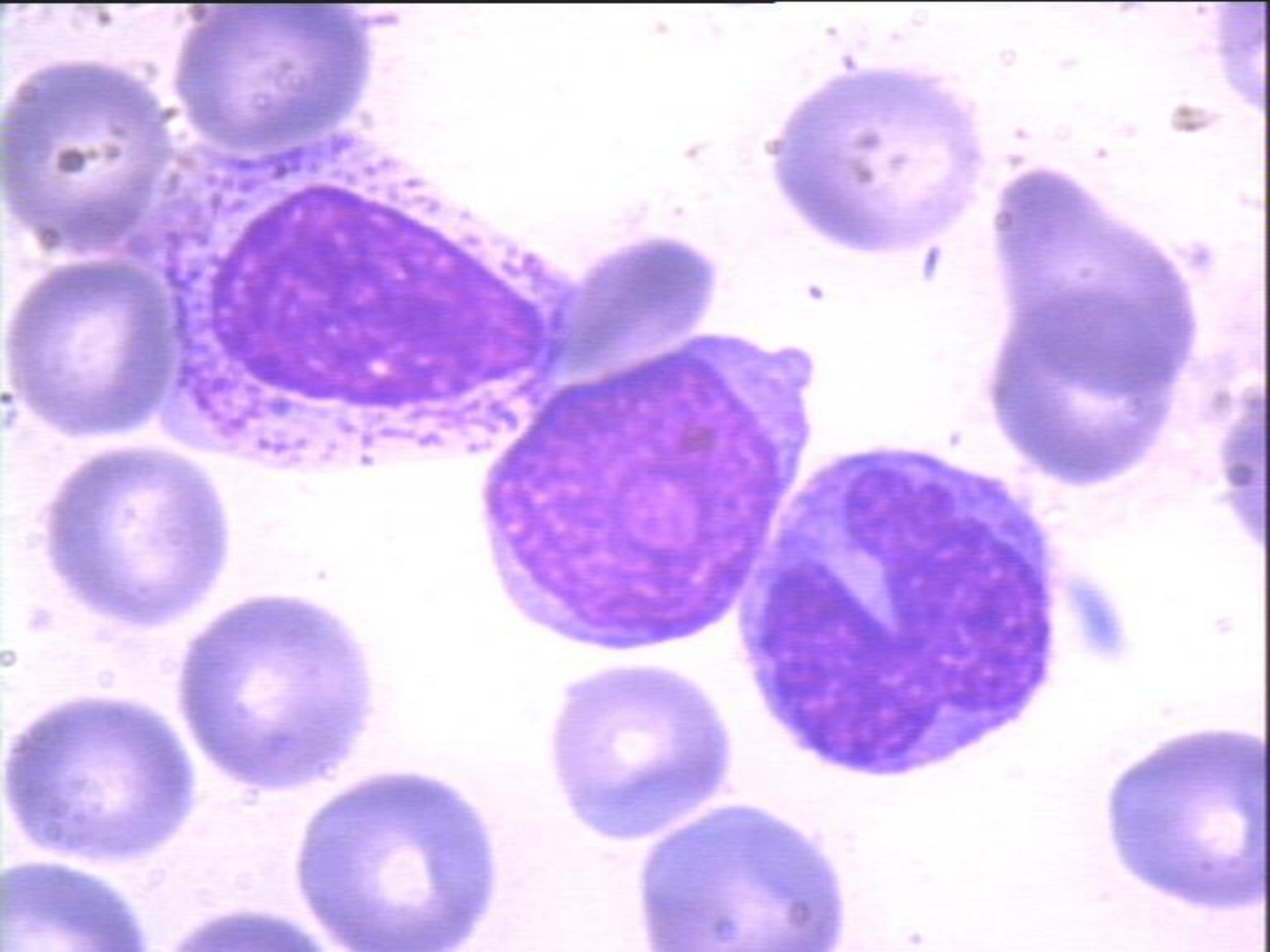
WHO: Blasts and CMML

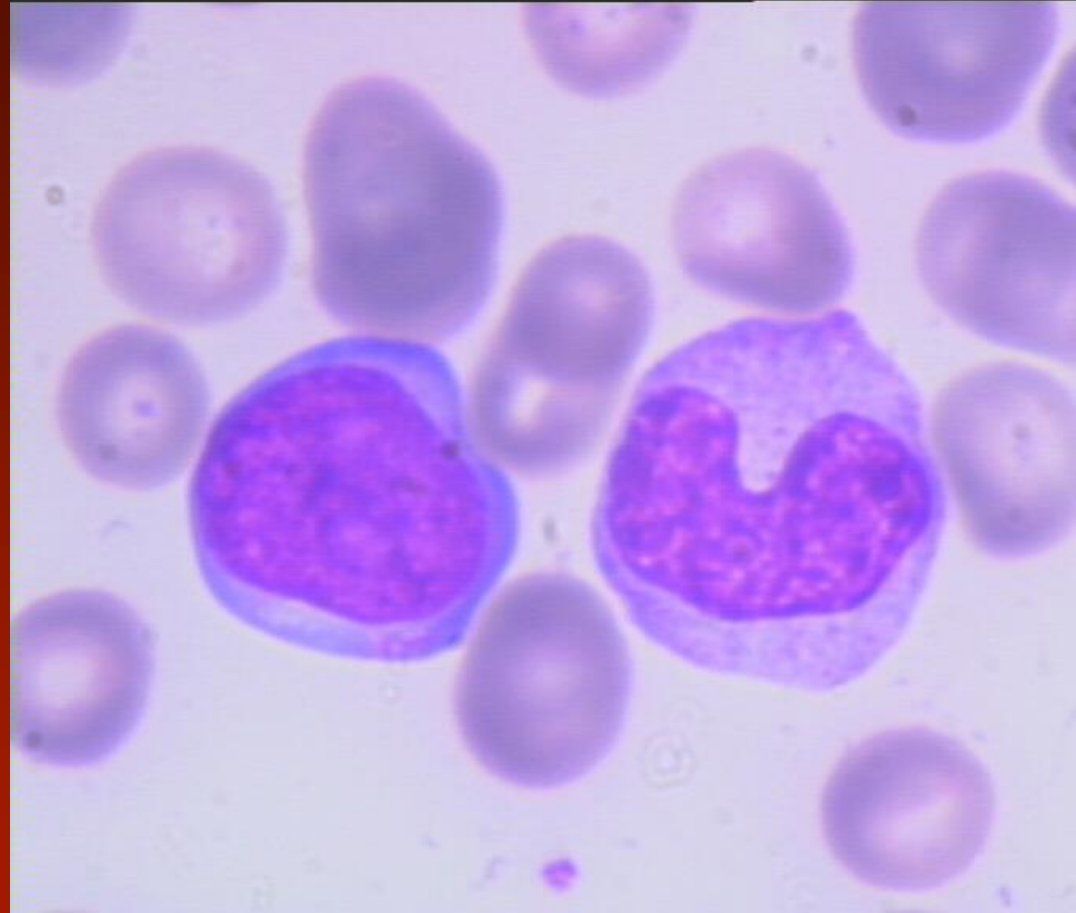
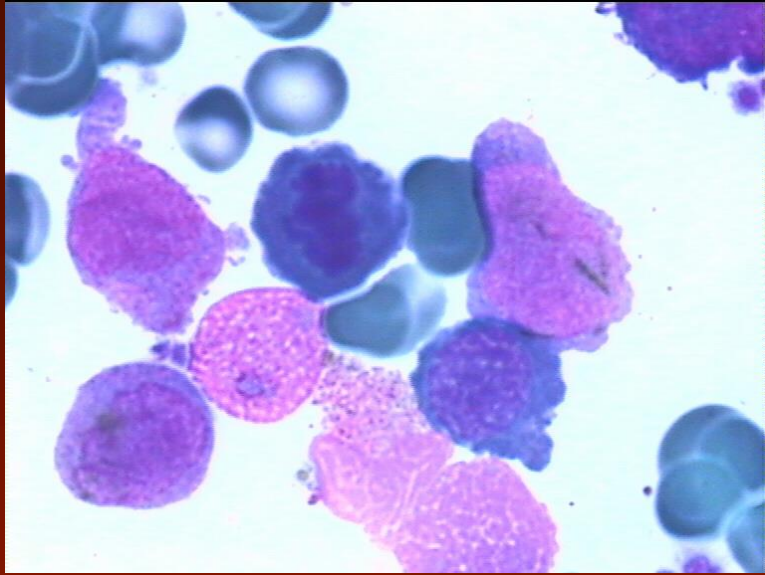
Monoblasts and Promonocytes
are
equivalent to blasts

<p>Type I blast Undifferentiated blast</p> 	<p>Type II blast Myeloblast</p> 	<p>Type III blast Atypical promyelocyte</p> 
<p>Central nucleus, delicate chromatin, nucleoli</p>	<p>Central nucleus, delicate chromatin, nucleoli</p>	<p>Nucleus more or less central</p>
<p>Basophilic cytoplasm</p>	<p>More plentiful cytoplasm</p>	<p>More or less delicate chromatin, one or two nucleoli</p>
<p>Absence of granules (and Auer rods)</p>	<p>Some azurophilic granules (<20)</p>	<p>Numerous azurophilic granules (>20), often very large</p>
<p>Absence of centrosome</p>	<p>Absence or irregularity of centrosome</p>	<p>Absence or irregularity of centrosome</p>

Promyelocyte



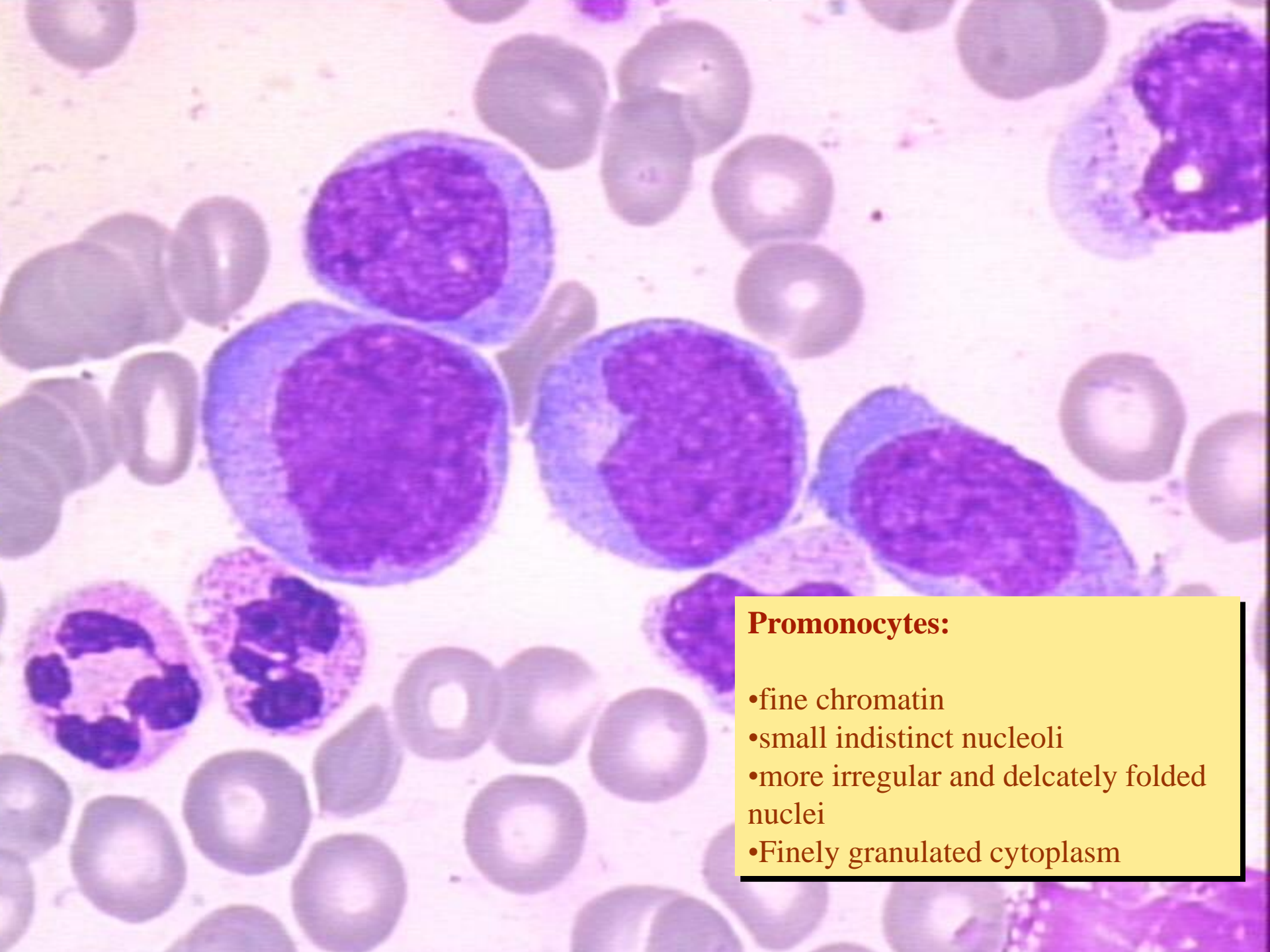




A microscopic image showing several monoblasts. The cells are characterized by large, round or slightly indented nuclei with a very loose, spongy, reticular, and homogeneous chromatin pattern. Some cells have one or more nucleoli. The cytoplasm is scanty and basophilic, without a ground glass appearance or granules. The background shows numerous smaller, more typical leukocytes for comparison.

Monoblasts:

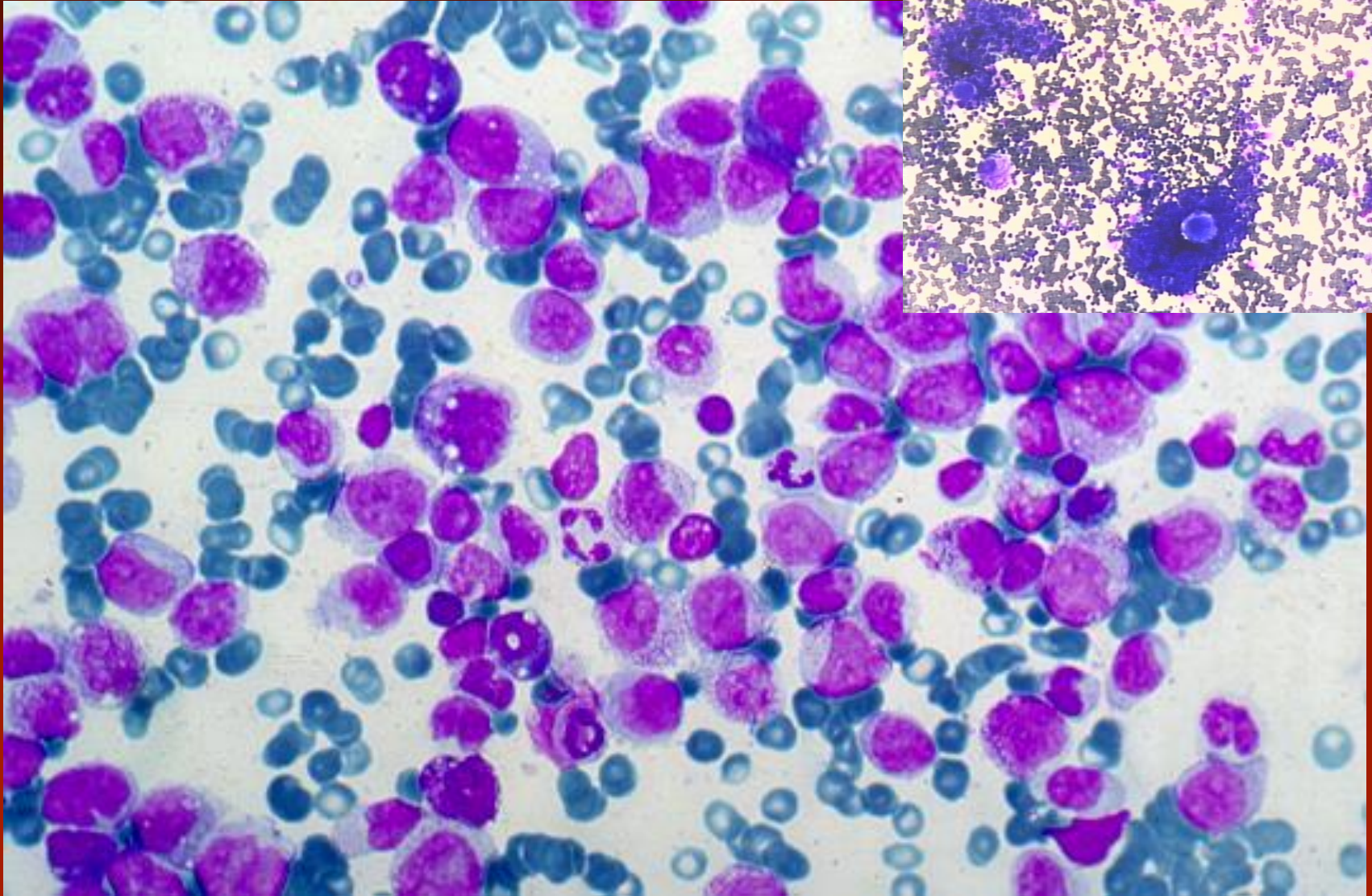
- large round or slightly indented nucleus
- very loose, spongy, reticular and homogeneous chromatin
- one or more nucleoli
- scanty basophilic cytoplasm, without ground glass appearance, without granules



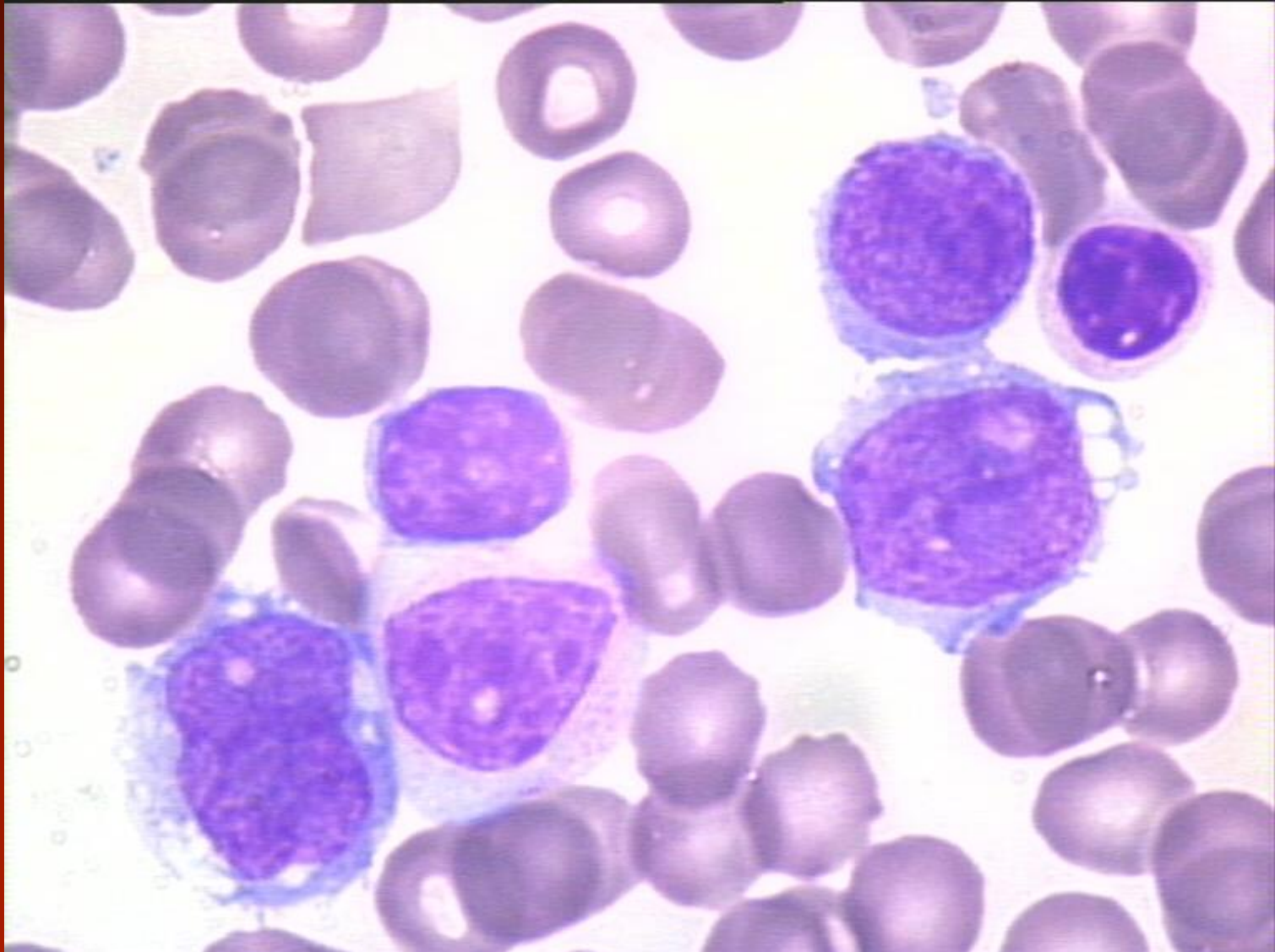
Promonocytes:

- fine chromatin
- small indistinct nucleoli
- more irregular and delicately folded nuclei
- Finely granulated cytoplasm

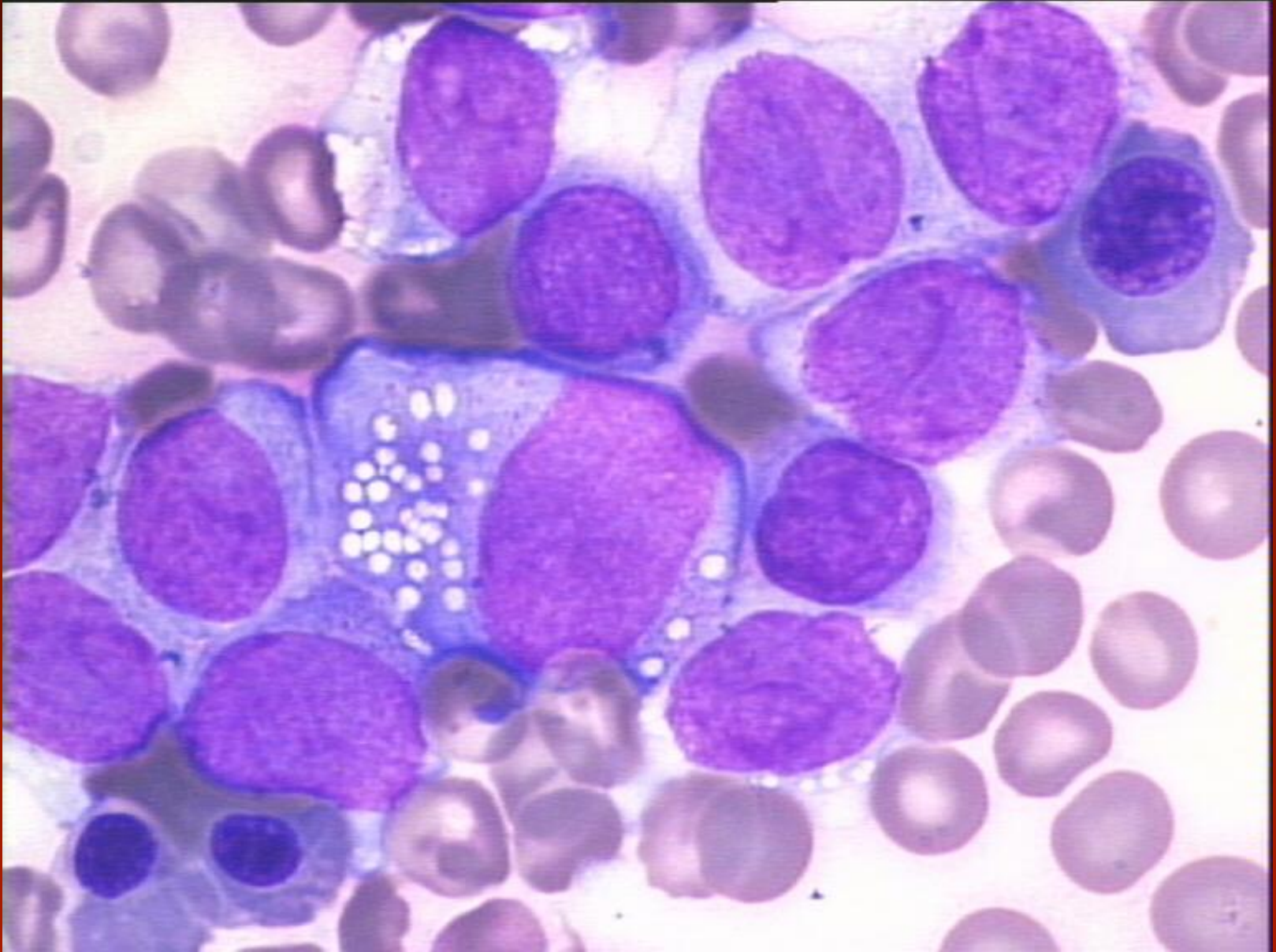
CMML: Bone marrow (I)

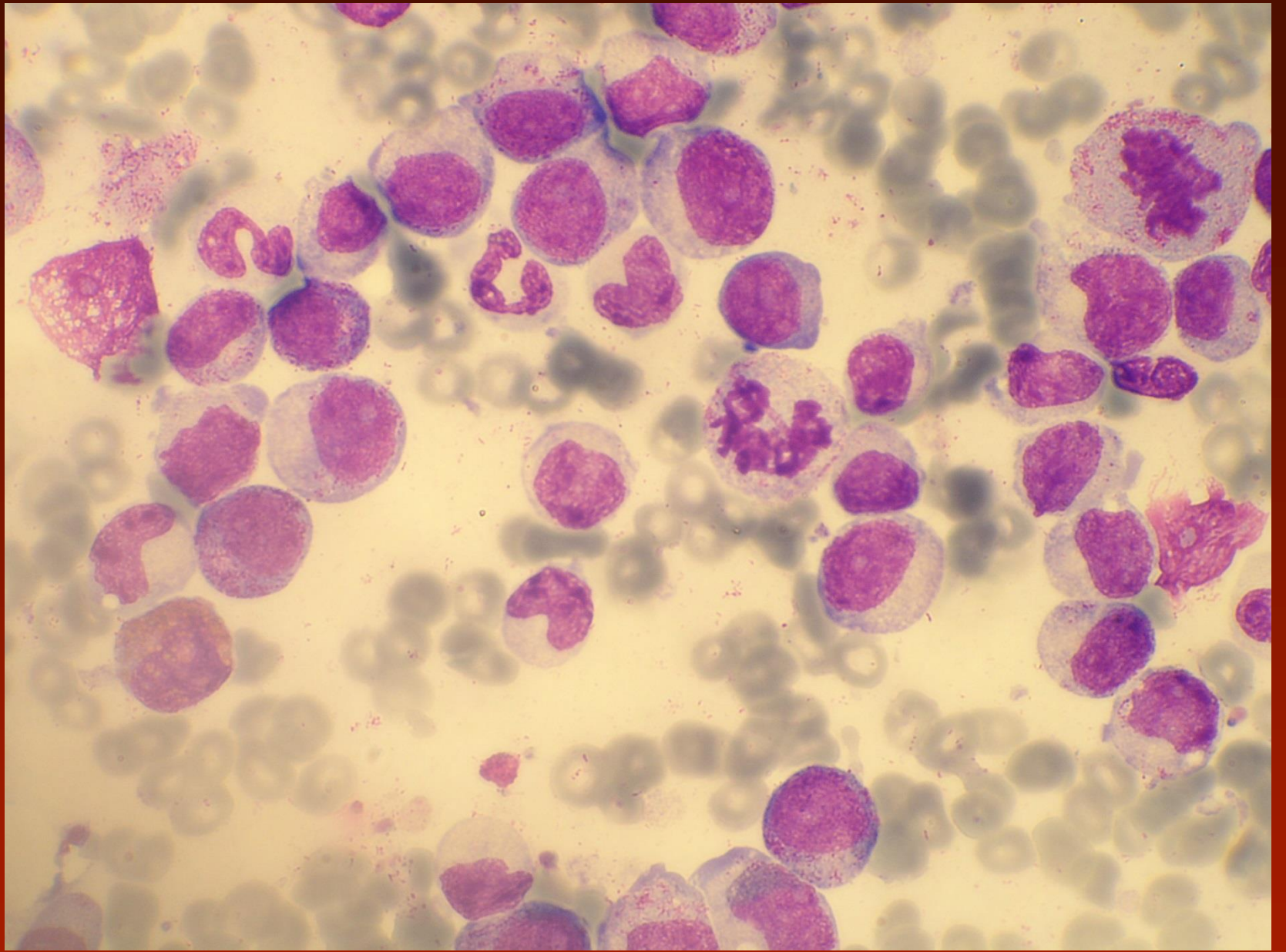


CMMML: Bone marrow (II)



CMML: Bone marrow (III)





Atypická CML

Periferní krev:

- periferní leukocytóza se zvýšením počtu zralých a nezralých neutrofilů, výrazná dysgranulopoéza pseudo-Pelger-Huetovy i jiné jaderné abnormality, abnormálně kondenzovaný jaderný chromatin, bizardně segmentovaná jádra, abnormální granulace v cytoplazmě...
- neutrofilní prekurzory (promy až metamy) tvoří nejméně 10% leukocytů (obvykle 10-20%), blastů je < 20% jaderných buněk

Atypická CML BCR/ABL negativní

- periferní leukocytóza při zvýšení neutrofilů a jejich prekurzorů s výraznou dysgranulopóezou (WBC > 13G/l)
- není Ph chromozom nebo BCR/ABC
- není přestavba PDGFRA nebo PDGFRB
- neutrofilní prekurzory jsou > 10% leukocytů (promyelocyty, myelocyty, metamyelocyty)
- minimální basofilie; < 2%
- žádná nebo minimální monocytóza, monocyty jsou < 10% leukocytů
- hypercelulární kostní dřeň s granulocytární proliferací a dysplázií, s nebo bez dysplázie v erythropoéze a megakaryocytech
- méně než 20% blastů v kostní dřeni

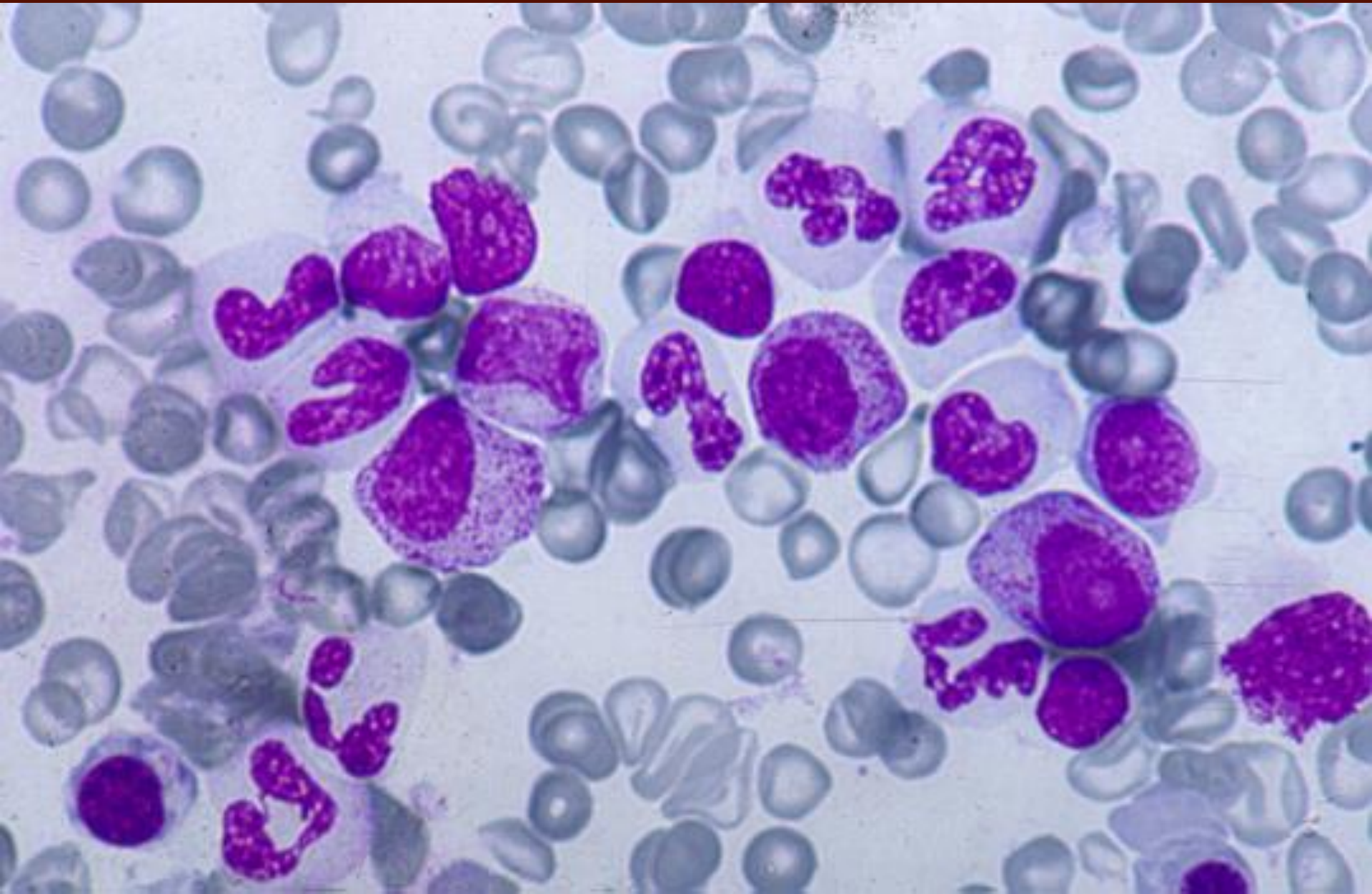
Atypická CML

- bazofily < 2% leukocytů; monocyty < 10% leukocytů
- středně významná anémie občas s makroovalocytózou

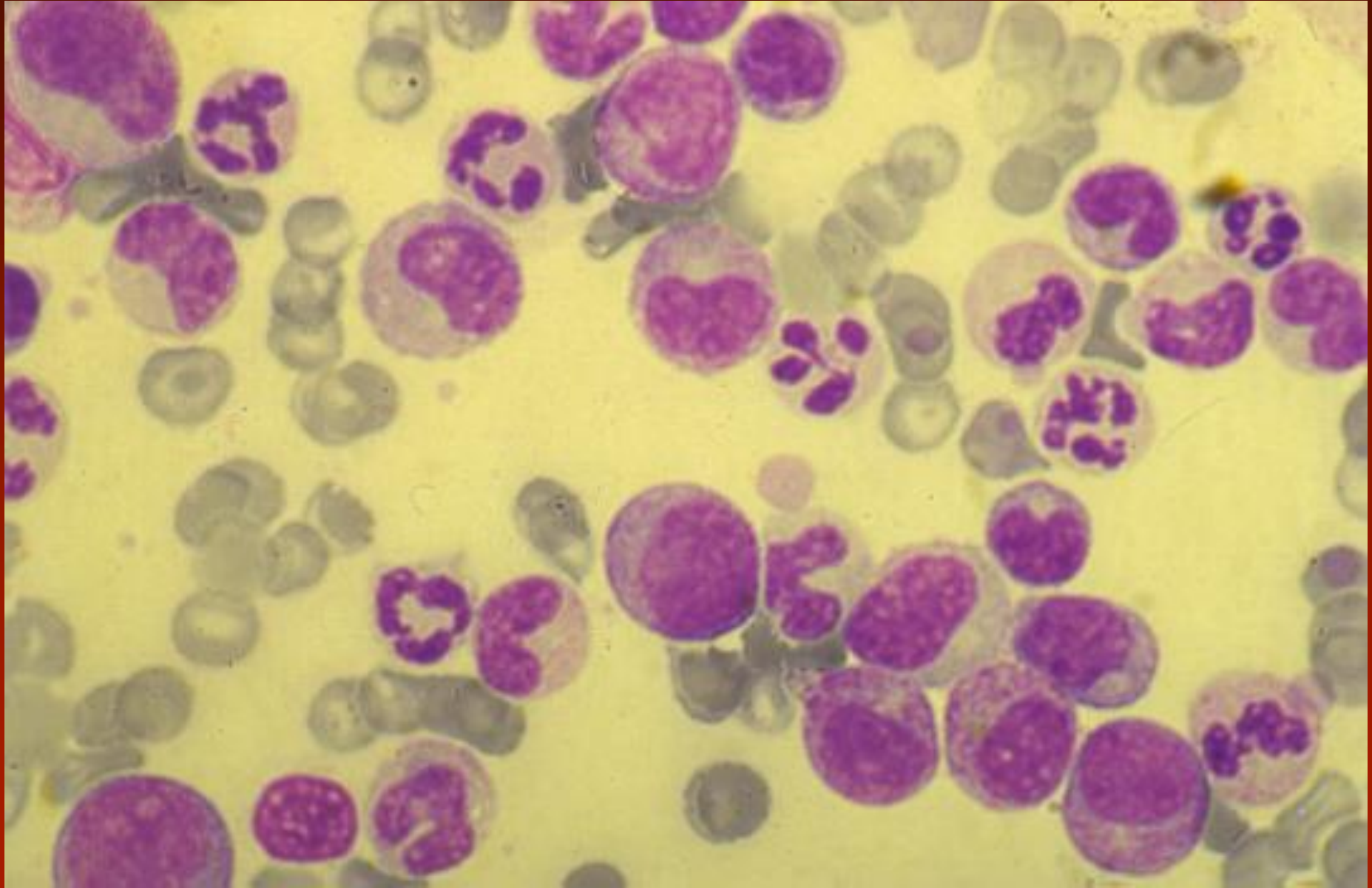
Kostní dřeň:

- hypercelulární kostní dřeň s granulocytární proliferací, granulocytární dysplázií, blasty < 20% jaderných buněk dřeně
- obvykle bez významných dysplastických změn v erytroidní a megakaryocytární linii (nějaké mohou být)
- megakaryocyty mohou být sníženy

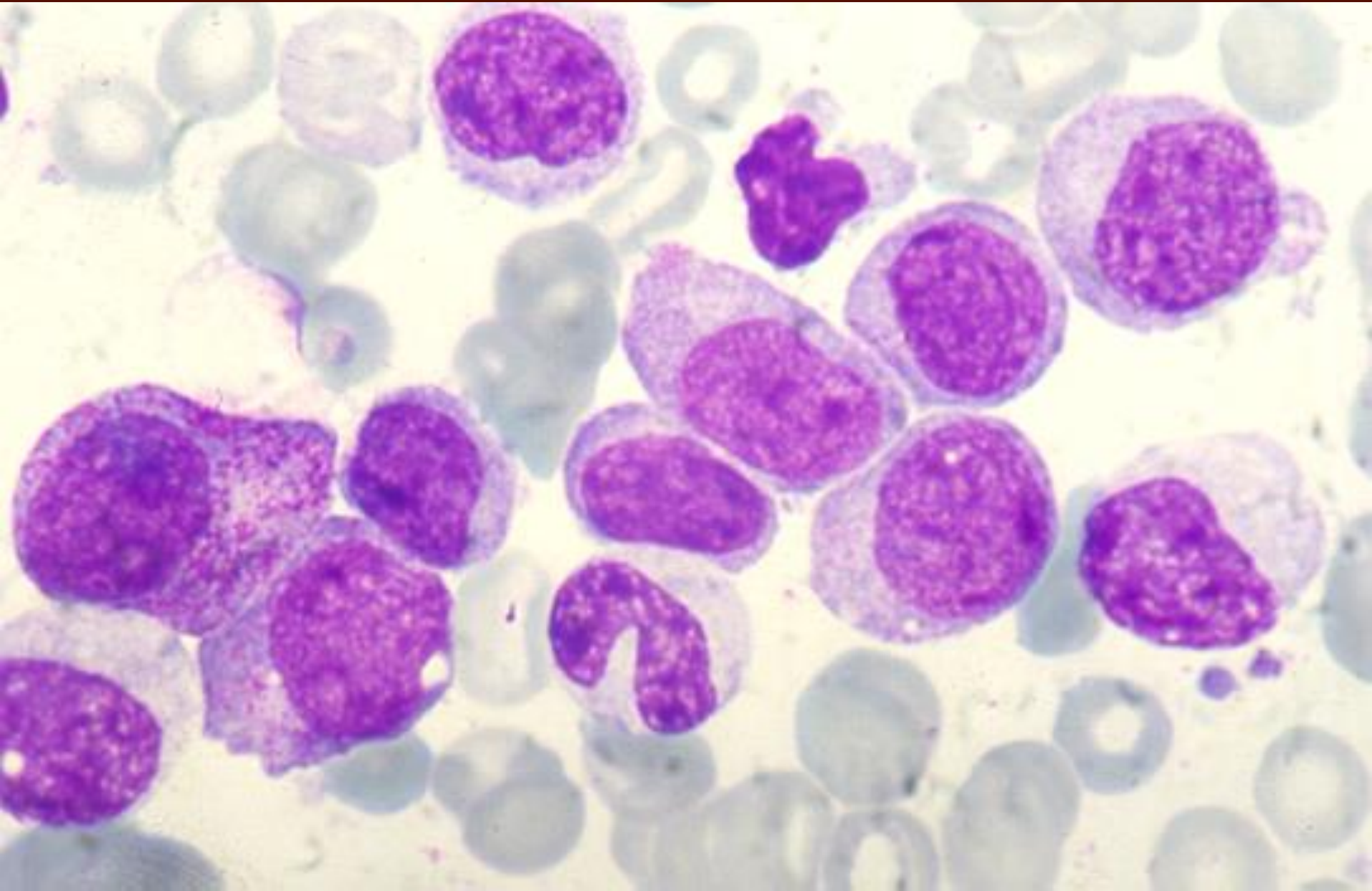
aCML: Peripheral blood (I)



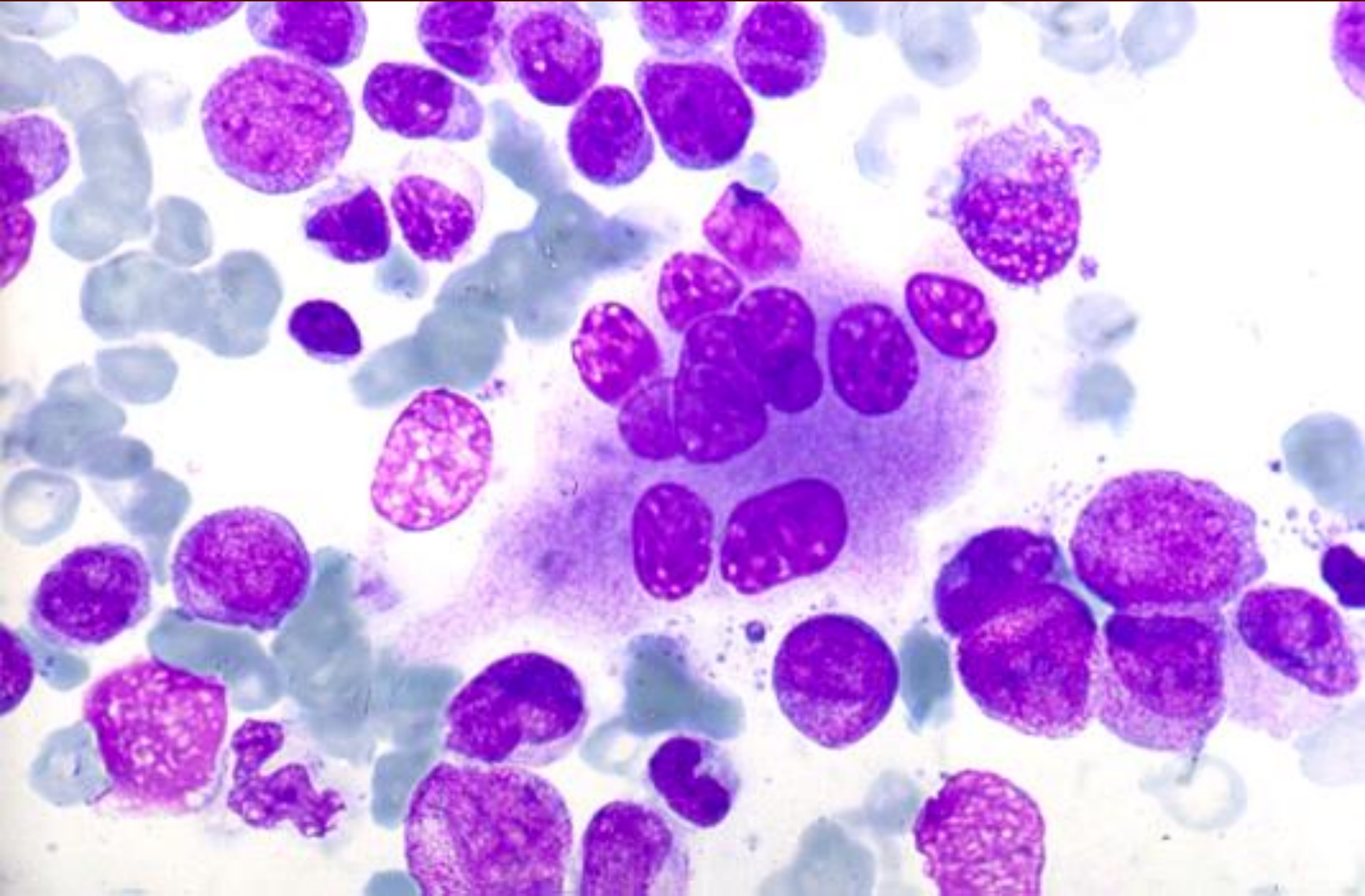
aCML: Peripheral blood (II)

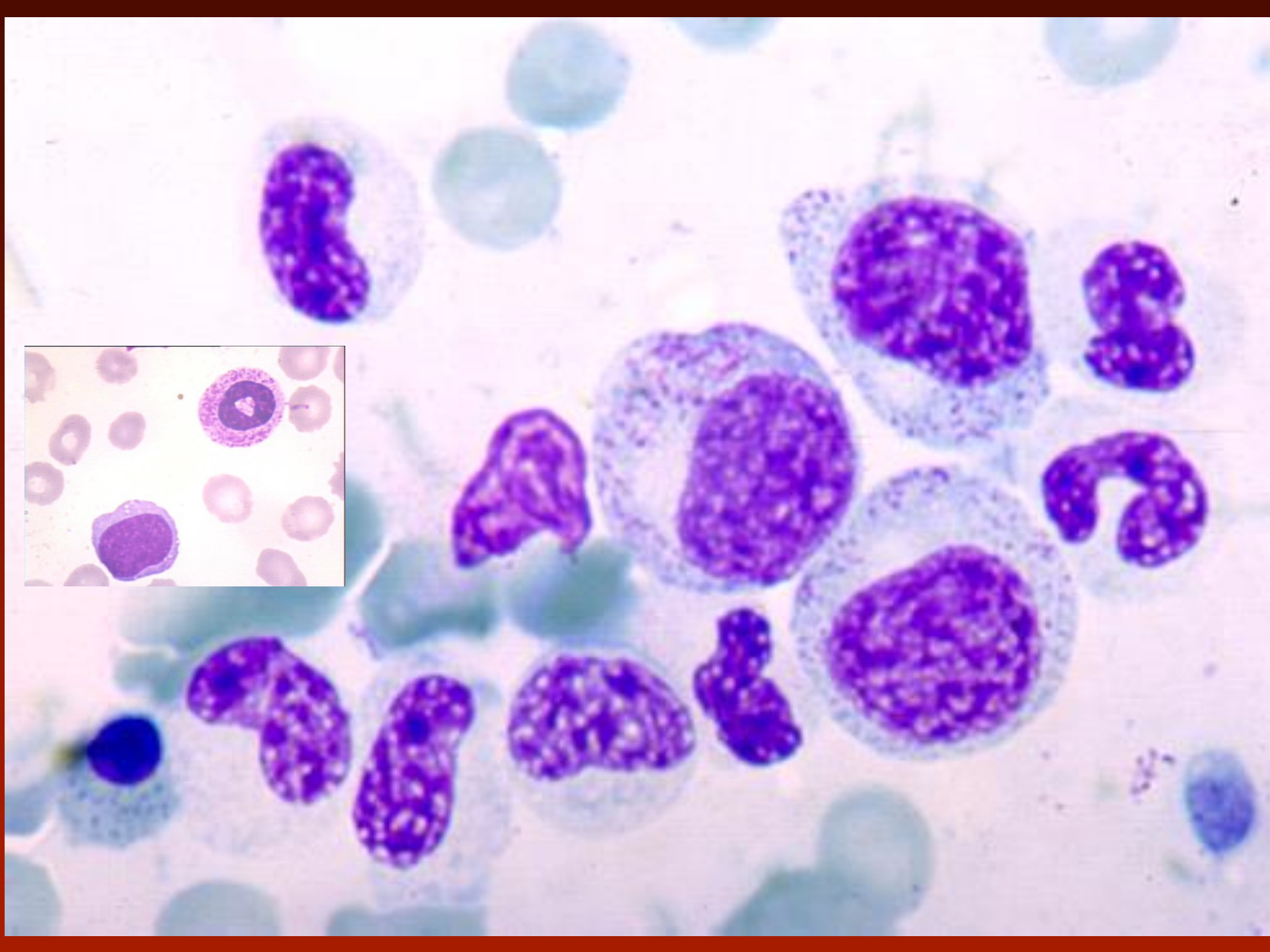


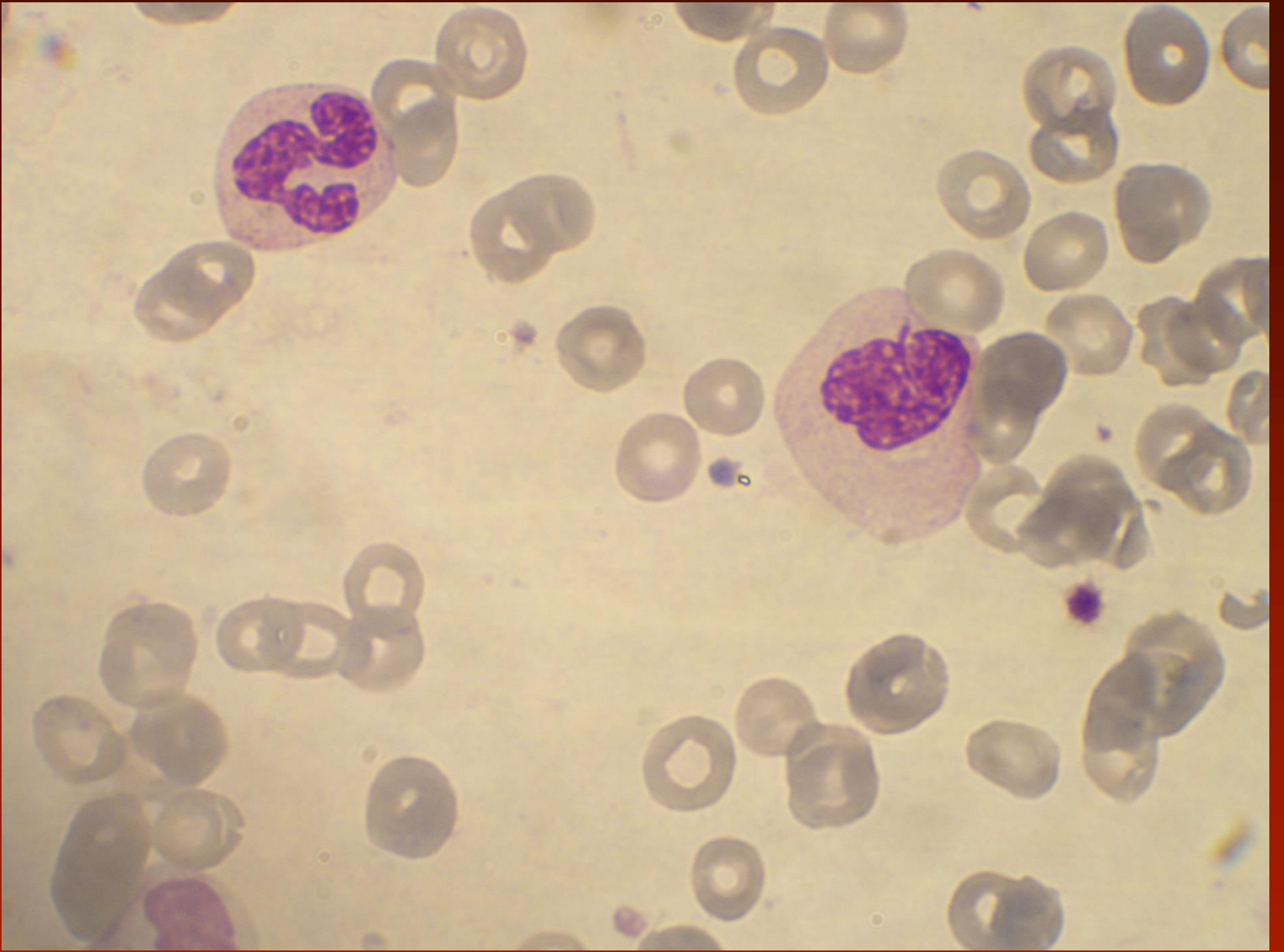
aCML: Bone marrow (I)

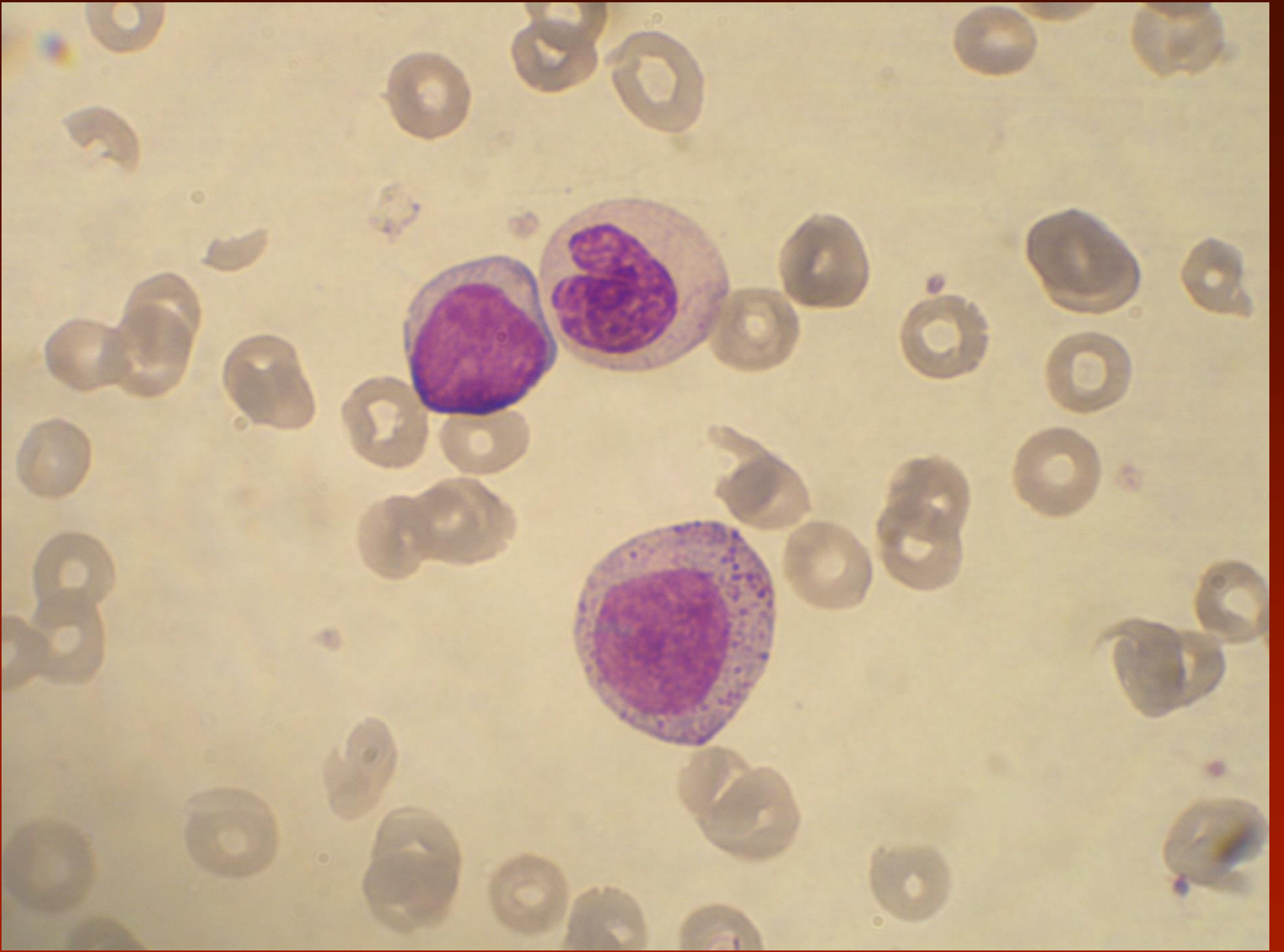


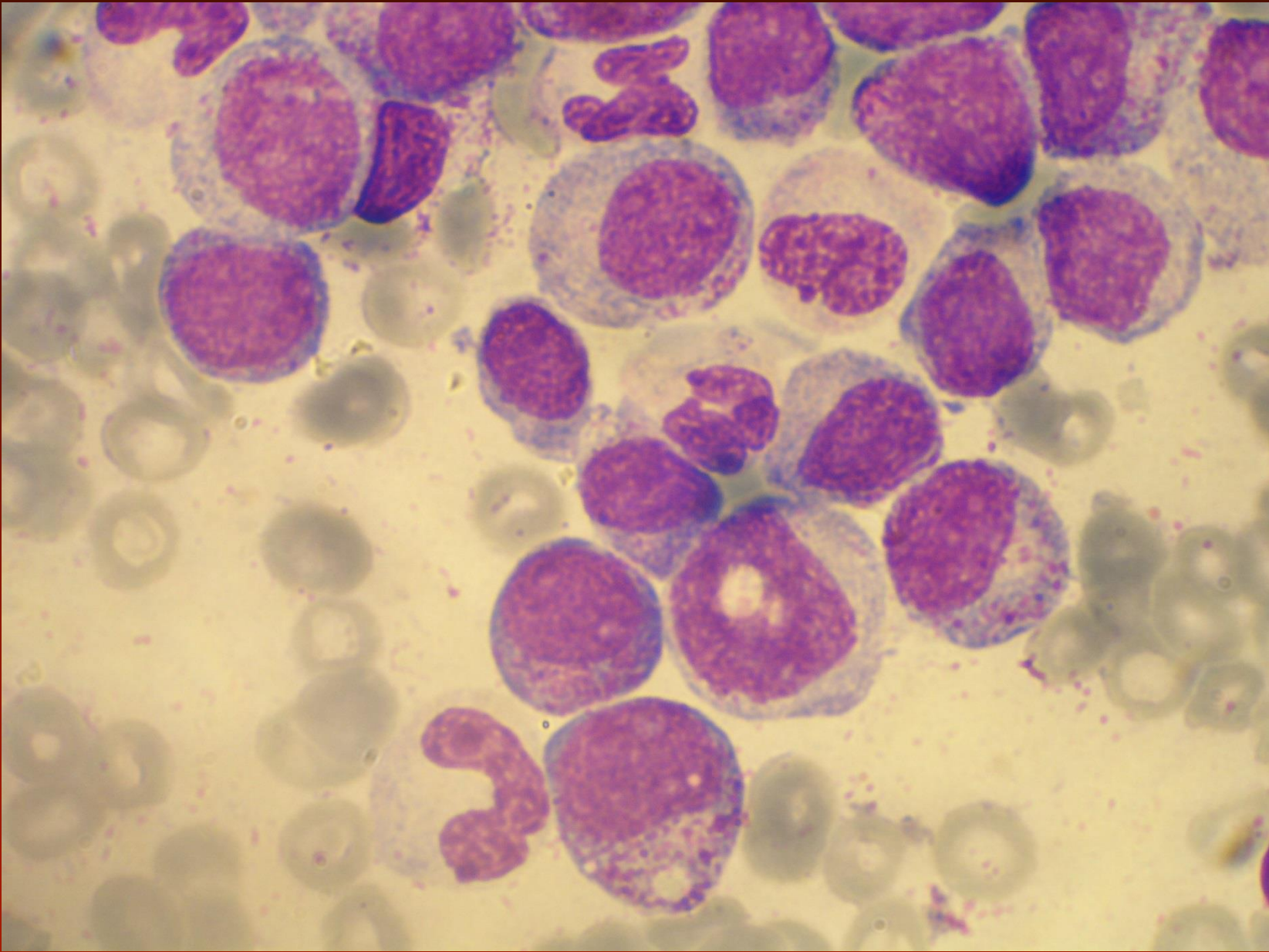
aCML: Bone marrow (II)











Juvenilní myelomonocytární leukémie

Jsou přítomny klinické a hematologické nálezy (všechny 4)

- monocytóza v periferní krvi ≥ 1 G/l
- blasty včetně promonocytů jsou $< 20\%$ (obvykle méně než 5%) leukocytů periferní krve nebo jaderných buněk kostní dřeně
- splenomegalie
- není Ph1 chromozom nebo BCR/ABL

Juvenilní myelomonocytární leukémie

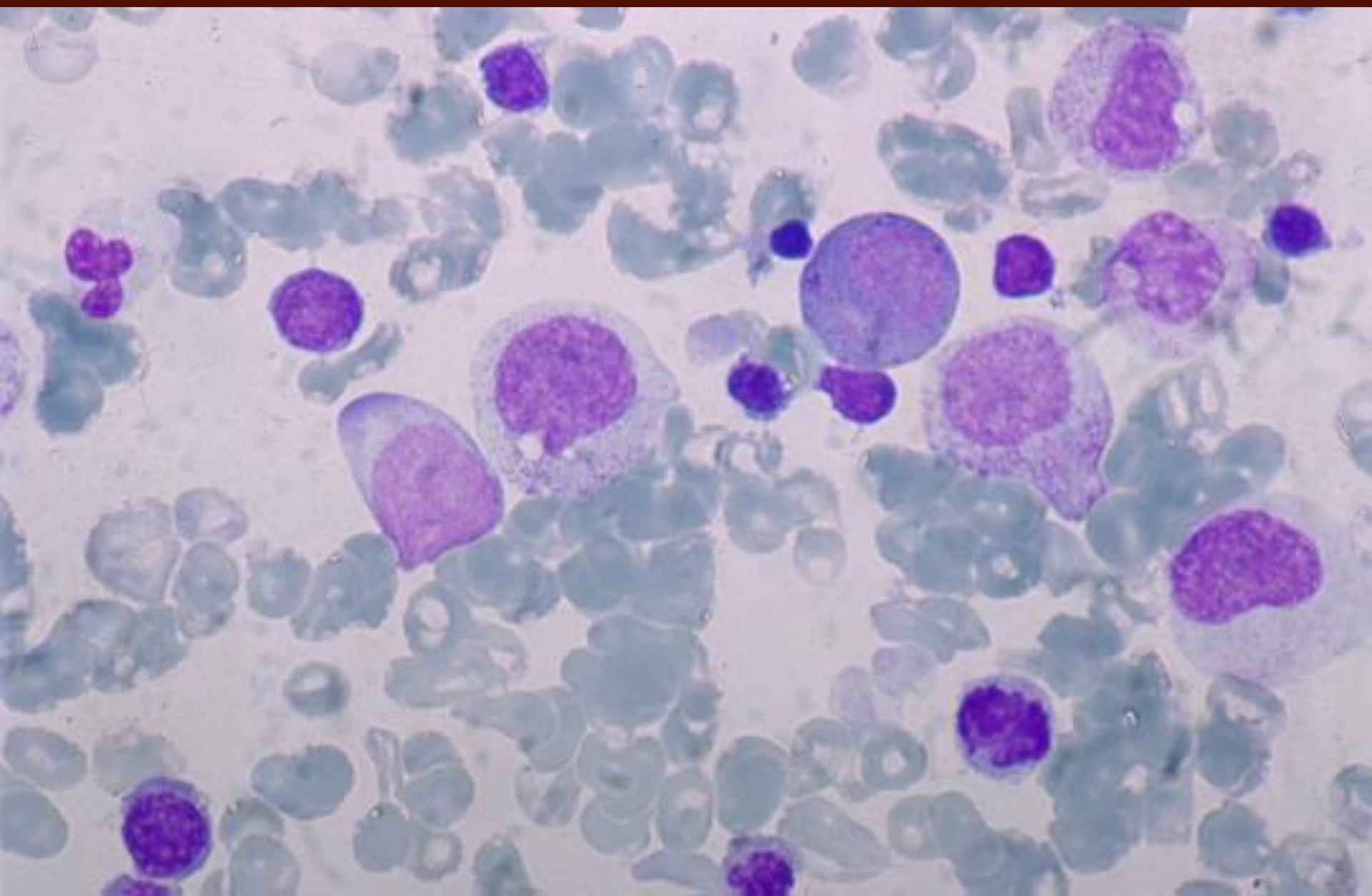
Jsou přítomny genetické nálezy (1 stačí)

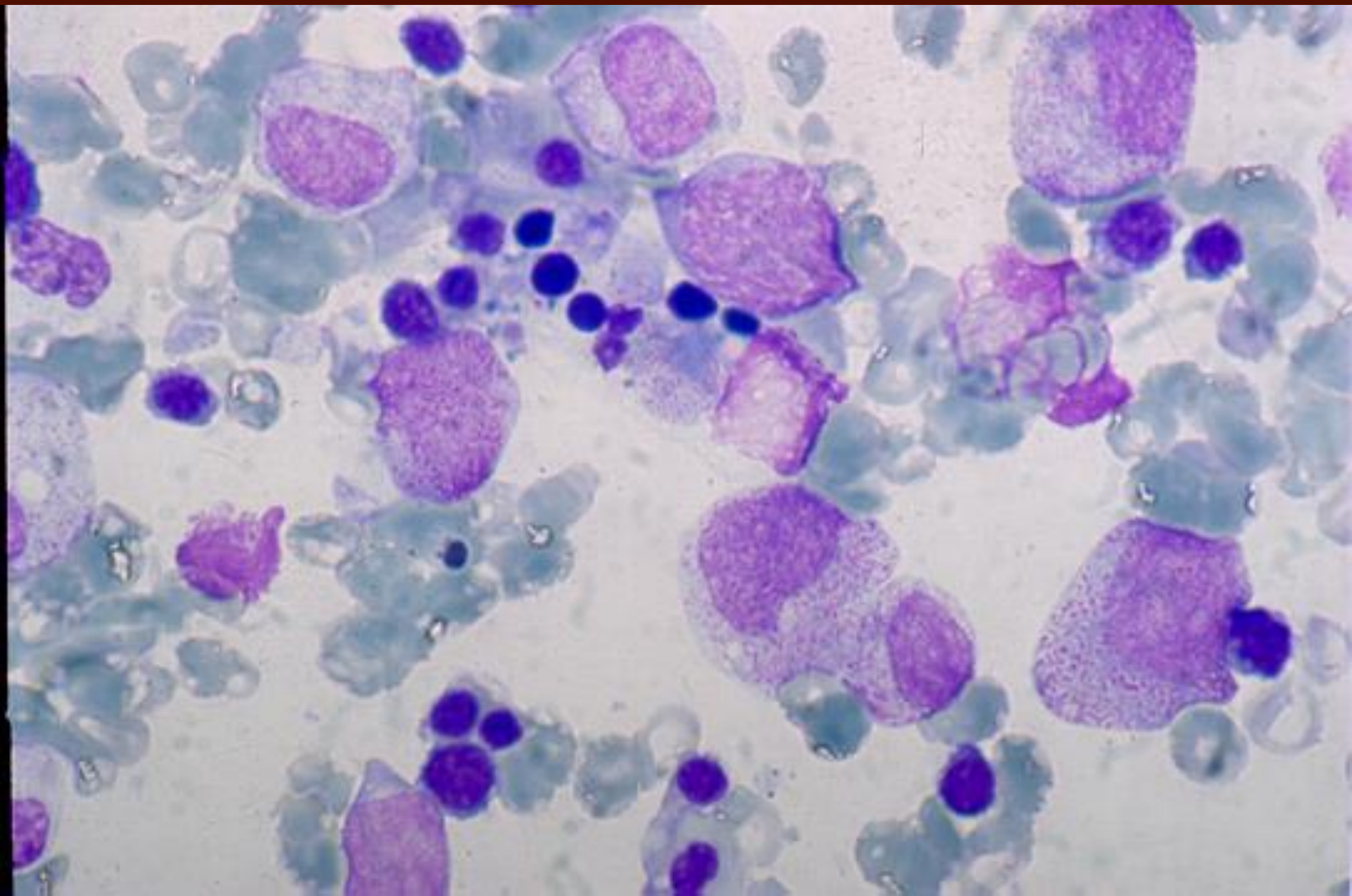
- Somatické mutace PTPN11 nebo KRAS nebo NRAS
- Klinická diagnóza NF1 nebo NR1 mutace
- CBL mutace germinativní linie a ztráta heterozygosity CBL

Juvenilní myelomonocytární leukémie

kde nejsou genetické nálezy pak musí být:

- je přítomna monosomie 7 nebo jiná chromozomální abnormita +
- jsou přítomna nejméně 2 následující kritéria:
 - hemoglobin F je vyšší než je věku odpovídající
 - jsou přítomny nezralé granulocyty v periferní krvi
 - je prokázána hypersenzitivita myeloidních progenitorů na GM-CFS in vitro
 - je prokázána hyperfosforylace na STAT5





MDS/MPN s prstenčitými sideroblasty a trombocytózou

- anémie spojená s erytroidní dysplázií nebo s multilineární dysplázií, < 1% blastů v PK a < 5% v KD
- trombocytémie $\geq 450\text{G/l}$
- je přítomno nejméně 15% (5%) prstenčitých sideroblastů
- přítomnost mutace SF3B1, když není vyloučení cytotoxických vlivů nebo léčba RF
- vyloučení BCR/ABL, PDGFRA, PDGFRB, FGFR1...
- není anamnéza MPN, MDS (s výjimkou MDS-RS) nebo jiný typ MDS/MPN

Myelodysplastické- myeloproliferativní onemocnění, neklasifikovatelné

- onemocnění má klinické, laboratorní a morfologické rysy jednoho z typů MDS (RA, RAS, RCMD, REAB) s $< 20\%$ blasty v periferní krvi a kostní dřeni
- současně jsou myeloproliferativní rysy tj. trombocytóza $> 600\text{G/l}$ spojená s proliferací megakaryocytů nebo leukocytóza nejméně 13G/l se zřetelnou splenomegalií

Myelodysplastické- myeloproliferativní onemocnění, neklasifikovatelné

- současně není předchozí anamnéza probíhajícího chronického myeloproliferativního onemocnění nebo MDS, není současná cytotoxická léčba nebo léčba růstovými faktory, která by vysvětlovala myelodysplastické či myeloproliferativní rysy
- taktéž není průkaz Ph chromozomu, BCL/ABL, del(5q), T(3;3)(q21;q26) nebo inv(3)(q21q26)

Myelodysplastické- myeloproliferativní onemocnění, neklasifikovatelné

- nebo má pacient smíšené myeloproliferativní a myelodysplastické rysy a nemůže být přiřazen k žádné z jiných kategorií MDS, CMPD nebo MDS/MPS