



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Ústav hematologie a krevní transfuze

Veronika Flídrová

**Hematoonkologická onemocnění v závislosti
na krevních skupinách**

*Relationship between hematologic malignancies and
blood groups*

Diplomová práce

Praha 2008

Autor práce: **Veronika Flídrová**

Studijní program: **Všeobecné lékařství**

Vedoucí práce: **MUDr. Martin Písačka**

Pracoviště vedoucího práce: **Ústav hematologie a krevní transfuze**

Datum a rok obhajoby: **21.5.2008**

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracovala samostatně a použila jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne 5.5.2008


Veronika Flídrová

Poděkování

Ráda bych poděkovala MUDr. Martinovi Písačkovi, vedoucímu Referenční laboratoře pro imuno hematologii, za porozumění a všestrannou pomoc při volbě a zpracování řešené problematiky. Samozřejmě děkuji i všem pracovníkům oddělení imuno hematologie, kteří ochotně a trpělivě snášeli mou přítomnost v laboratořích. Nakonec bych ráda poděkovala doc. Ing. Ivanovi Naggymu za pomoc při statistickém zpracování.

OBSAH

I. ÚVOD	6
1. KREV	6
1.1 Složení a funkce krve	6
1.2 Diferenciace a zrání krevních buněk	7
1.2.1. <i>Erythropoéza</i>	8
1.2.2. <i>Leukopoéza</i>	8
1.2.3. <i>Vývoj trombocytů</i>	9
2. SKUPINOVÝ SYSTÉM ABO	9
2.1 Podskupiny a varianty A, B, H	9
2.2 Krevní skupiny	11
3. HEMATOONKOLIGICKÁ ONEMOCNĚNÍ	12
3.1 Akutní myeloidní leukémie (AML)	12
3.2 Akutní lymfoblastová leukémie (ALL)	15
3.3 Chronická myeloidní leukémie (CML).....	17
3.4 Chronické lymfatické leukémie (CLL)	23
3.4.1. <i>Chronická B – lymfocytární leukémie (B-CLL)</i>	23
3.4.2. <i>B-prolymfocytární chronická leukémie</i>	33
3.4.3. <i>Splénický lymfom s vilózními lymfocyty</i>	35
3.4.4. <i>T-chronické lymfatické leukémie</i>	36
3.4.5. <i>T-prolymfocytární leukémie</i>	36
3.4.6. <i>Lymfocytóza a leukémie z velkých granulárních lymfocytů.</i>	37
3.5 Myelodysplastický syndrom (MDS)	38
II. CÍL PRÁCE	45
III. MATERIÁL A METODIKA	46
IV. VÝSLEDKY	47
V. ZÁVĚR	52
VI. SOUHRN	53
VII. SUMMARY	54
VIII. LITERATURA	55

I. ÚVOD

1. KREV

Krev je kapalná cirkulující tkáň složená z tekuté plazmy a buněk (erytrocyty, leukocyty, trombocyty) kolující v uzavřeném systému krevních cév. Celkový objem cirkulující krve odpovídá přibližně 8 % tělesné váhy a 55 % tohoto objemu tvoří plazma.

1.1 Složení a funkce krve

Krevní plazma je složená z velkého množství iontů, organických a anorganických molekul a vody. Do anorganické složky řadíme různé soli (chlorid draselný a uhlíčan sodný) a ionty (Ca^{2+} , $(\text{PO}_4)^{3-}$, Fe^{2+} , Cu^{2+} , atd.). Organickou složku krevní plazmy tvoří bílkoviny, které se dělí na frakci albuminovou, globulinovou a fibrinogenovou, z nichž nejvíce jsou zastoupeny albuminy (4,8 %).¹ Globuliny jsou druhou významnou skupinou do které patří protilátky cirkulující v plazmě. K úkolům plazmatických bílkovin patří humorální imunita, zachování koloidně-osmotického tlaku, který zabezpečuje udržování konstantního objemu krve, transport ve vodě nerozpustných látek a ochrana některých substancí před odbouráním v krvi a vyloučením ledvinami.² Fibrinogen spolu s protrombinem má velký význam při hemokoagulaci. Dalšími organickými látkami, které se vyskytují v plazmě, jsou glukóza, tuky a tukům podobné látky, vitamíny, hormony, žlučová a jiná barviva a některé dusíkaté látky.

Leukocyty jsou součástí účinného obranného systému chránícího tělo před nádory a virovými, bakteriálními či parazitárními infekcemi.³ Průměrné množství leukocytů u dospělého člověka je 4 000-11 000 v jednom mikrolitru krve, a to u obou pohlaví. Bílé krvinky rozdělujeme na granulocyty a agranulocyty. Granulocyty se dále dělí podle barvitelnosti jejich granul na neutrofilny, eozinofily a bazofily a agranulocyty rozlišujeme na monocyty a lymfocyty. Při jejich nedostatku dochází k poruchám imunity, při velkém nadbytku dojde k hyperviskóznímu syndromu (leukostáza).

Trombocyty jsou nepravidelné, bezjaderné útvary vznikající z megakaryocytu v kostní dřeni. Jejich počet kolísá mezi 180 000-350 000

v jednom mikrolitru krve. Při nedostatku trombocytů dochází k poruchám srážení krve.

Erytrocyty jsou bezjaderné buňky skládající se z cytoplazmy obsahující hemoglobin a z povrchové membrány. Hemoglobin je krevní barvivo, jehož nejdůležitější funkce jsou: přenos kyslíku z vnějšího prostředí do tkání, odstraňování CO₂ z organismu a udržování acidobazické rovnováhy. Funkcí krevní membrány je udržení integrity buňky. Její prasknutí se označuje jako hemolýza. Podle způsobu porušení povrchové blány rozlišujeme hemolýzu na osmotickou, chemickou, toxickou, imunobiologickou, termickou a mechanickou. Počet erytrocytů v 1mm³ krve je u muže asi 5 000 000 a u ženy asi 4 500 000.

Funkce krve jsou dány jejím složením. Jedná se o funkce respirační, nutriční, exkreční, udržovací (udržení acidobazické rovnováhy, osmotického tlaku a vodního a minerálního hospodářství), regulační (regulace metabolismu a tělesné teploty) a ochranné.

1.2 Diferenciace a zrání krevních buněk

Krevní elementy (erytrocyty, leukocyty, trombocyty) pocházejí z nediferencované pluripotentní kmenové buňky mezenchymového původu, která má schopnost diferenciace a vlastní sebeobnovy. Diferenciace pluripotentní buňky na progenitorovou se děje za pomoci hematopoetických růstových faktorů. Mezi nejznámější patří například: *erythropoetin* vedoucí k diferenciaci do červené řady, *GM-CSF*, tj. granulo-makrofágové kolonie stimulující faktor, *G-CSF* stimulující kolonie granulocytů, *M-CSF* stimulující kolonie mikrofágů a *trombopoetin* působící diferenciaci CD34+ buněk do megakaryocytové řady.⁴ Podobný účinek na diferenciaci a produkci buněk jednotlivých krevních řad jako růstové faktory mají také některé interleukiny a interferony. Z nichž nejznámější jsou: *interleukin 1* podílící se na diferenciaci T i B lymfocytů a účastní se též regulace zánětlivých pochodů, pak také *Interleukin 3* stimulující progenitorové buňky všech krevních řad.⁵ Avšak růstové faktory, interleukiny a interferony nejsou jedinými předpoklady pro správnou diferenciaci buněk. Mezi další látky nezbytné pro krve tvorbu se řadí především vitamíny, hlavně C, B₆ a B₁₂, a pak také kyselina listová a kovy (Fe, Cu, Co). Významnou úlohu pro proliferaci kmenových buněk mají i vnitřní faktory uložené v genetické výbavě každé buňky.

Progenitorové buňky se dále vyvíjí v prekurzorové buňky, které jsou již poměrně přesně definovány mikroskopickými metodami. Další diferenciaci a zrání prekurzorových buněk jednotlivých krevních řad má některé společné rysy jako je kondenzace chromatinové struktury buněčného jádra či snižování aktivity jadérek.⁴

Klinické poruchy tvorby pluripotentních a progenitorových buněk mohou být ve smyslu deficitní (např. aplastická anémie), či produkce abnormálních buněk (MDS, paroxysmální noční hemoglobinurie), nebo naopak zvýšené produkce, včetně maligní proliferace abnormálních buněk (akutní leukémie).

1.2.1. Erytropoéza

Diferenciaci a zrání erytrocytů probíhá v kostní dřeni a trvá kolem jednoho týdne. Dochází ke ztrátě jádra, syntéze hemoglobinu, který přibývá se zráním erytroblastů a ke zmenšování velikosti erytrocytů. Místem zániku za fyziologických podmínek je slezina.

Během diferenciaci a zrání erytroblastů může dojít k řadě abnormalit, které se označují jako dysplastické a často vyúsťují v inefektivní erytropoézu. K nim jsou řazeny synchronie ve vyzářování jádra a cytoplazmy, kdy jádro se opoždí ve vyzářování za cytoplazmou a naopak. Patří sem i abnormality jádra, jako je jeho fragmentace a výskyt vícejadernosti nebo jeho předčasná ztráta. Zvýšený počet všech těchto abnormalit najdeme u myelodysplastického syndromu (MDS) a u nemocných po léčbě cytostatiky. U primárního MDS se vyskytuje ještě další abnormalita, železo nezabudované v hemu se skladuje v mitochondriích, které tvoří kolem jádra prstenčitý lem, vznikají tzv. prstenčité buňky.⁵

1.2.2. Leukopoéza

Diferenciaci a zrání granulocytů se odehrává v kostní dřeni a trvá déle než jeden týden. V periferní krvi jsou za fyziologických stavů přítomny převážně zralé formy a malý počet téměř dozrálých stádií těchto buněk. Místem zániku jsou v závislosti na funkci tkáně, zejména plíce, slezina, játra a sliznice trávicího a popřípadě i dýchacího ústrojí.

Buňky monocytární řady vznikají a diferencují se v kostní dřeni z prekurzorových kmenových buněk. Zralý krevní monocyt není terminální

buňkou, ale je základem další diferenciaci, která se již většinou odehrává ve tkáních a při které dochází k transformaci zralých monocytů na tkáňové makrofágy.

Lymfocyty vznikají z progenitorových lymfoidních buněk v kostní dřeni, od kterých se odvozují dvě funkčně odlišné linie lymfocytů T a B. B lymfocyty se diferencují v kostní dřeni na rozdíl od T lymfocytů, které se diferencují v thymu. Kromě B a T lymfocytů se z lymfoidní progenitorové buňky ještě diferencují NK lymfocyty (natural killer cells), jejichž počet v periferní krvi za fyziologických okolností je velmi nízký.

T lymfocyty jsou děleny podle funkce a dalších fenotypických znaků na jejich povrchu na supresorové CD8 a pomocné CD4 buňky. Fenotypickým znakem B lymfocytů jsou CD10, CD19 a CD20 a na svém povrchu mají exprimovány imunoglobuliny. Od B lymfocytů jsou odvozovány plazmatické buňky, jejichž charakteristickým imunofenotypickým znakem je CD38. Tyto charakteristické fenotypické znaky jsou velmi důležité pro určení původu nádorové masy při diagnostice hematologických onemocnění.

1.2.3. Vývoj trombocytů

Diferenciaci a maturaci megakaryocytů probíhá v kostní dřeni a trvá přibližně 10 dní. V periferní krvi pak zralé trombocyty cirkulují také přibližně 10 dní a staré krevní destičky jsou vychytávány a fagocytovány ve slezině, játrech a kostní dřeni.

2. SKUPINOVÝ SYSTÉM AB0^{1,6,7}

Skupinový systém AB0 a k němu patřící krevní skupiny jsou ze všech systémů nejstarší. Patří k němu čtyři základní skupiny: A, B, 0, AB.

Systém krevních skupin AB0 je jediným erytrocytárním systémem, v němž protilátky anti-A, anti-B popř. anti-A i anti-B jsou trvale přítomny v séru zdravých osob, jimž chybí odpovídající aglutinogen.

2.1 Podskupiny a varianty A, B, H

Krevní skupiny AB0 jsou geneticky determinovány, na devátém chromozomu se střídají tři běžné a několik vzácněji se vyskytujících alelických

genů. Na jiném chromozomu jsou situovány alely H a h a v jejich těsné blízkosti na dalším lokusu geny Se a se pro sekretorství. Antigen H má význam hlavně v ontogenezi a syntéze krevních skupin jako jejich biosyntetický předstupeň. Bylo dokázáno, že krevní skupina A a B vzniká navázáním jednoduchých sacharidů na antigenní strukturní předstupeň H. Ve skupině A jde o N-acetylgalaktosamin, ve skupině B jde o D-galaktózu. Alelický gen h je amorfou. Při jeho přítomnosti v homozygotní formě se nevytváří žádná H substance nezbytná pro následující expresi A nebo B antigenů.

Gen 0 je němý gen, kontrolující výstavbu proteinu, který může být sice imunologicky prokázán, nemá však prokazatelnou transferázovou aktivitu, nevyvine se žádný antigen, H substance zůstane nemodifikována. V evropské populaci se najdou velice vzácně osoby u nichž se sešly dva amorfní geny hh. Tito jedinci mají normálně fungující transferázy, chybí jim však základní substance pro výstavbu A nebo B substancí - substance H. Nemají proto ani A, ani B, ani H vlastnosti a jejich sérum může proto obsahovat protilátky anti-A, anti-B i anti-H. Jsou označováni jako **bombayský fenotyp** nebo skupina O_h . Tito jedinci nesmí při transfúzi dostat krev skupiny 0, nýbrž opět jen krev bombayského fenotypu.

A i B krevní skupiny mají více dědičných variant, podskupin. Na základě kvantitativních a kvalitativních rozdílů mezi antigeny A i na základě jejich kvalitativních poměrů k antigenu H rozeznáváme ve skupině A podskupiny: A_1 , A_2 , A_3 , A_4 a další slabé skupiny. Nejdůležitější jsou podskupiny, A_1 a A_2 s přibližnou četností 80 % a 20 %.

Různost podskupin dokazuje jejich odlišná reakce s aglutininem anti-A. Dokazuje to i skutečnost, že aglutinin anti-A není jednotný, ale složený z více částí. Postupné vysycování aglutininu anti-A slabšími podskupinami je sice výsledkem odstupňovaných kvalitativních vztahů, ale i do určité míry výsledkem kvalitativních odlišností mezi podskupinami. U podskupin A_2 a A_3 se velmi často vyskytuje přirozený aglutinin anti- A_1 a v podskupinách A_x pravidelný a přirozený aglutinin anti-A, schopný shlukovat podskupiny A_1 , A_2 i A_3 .

Nepravidelné protilátky anti- A_1 , nalézáme v sérech asi 4 % osob skupiny A_2 nebo až u 20 % skupiny A_2B . Reagují sice specificky, ale jsou většinou příliš slabé, než aby mohly být užívány jako diagnostikum. Mají většinou chladový charakter.

Podskupiny A₂ a A₃ mají slabě vyjádřený A aglutinogen a proto erytrocyty reagují s anti-H sérem jen mírně. Jejich význam či spíše nebezpečí spočívá v tom, že mohou být chybně určeny jako skupina 0 a erytrocyty jsou transfundovány jako takové. Při vyšším titru aglutinujících nebo hemolyzujících protilátek může u příjemce následovat potransfúzní reakce.

Podskupiny A se pochopitelně vyskytují i ve skupině AB, kde také rozeznáváme podskupiny A₁B, A₂B, A₃B a A_xB. U skupiny B se varianty a podskupiny vyskytují ojediněle.

Skupinové vlastnosti A, B a H jsou v krvi přítomny nejen na erytrocytech, ale v menším množství na leukocytech a trombocytech, podle příslušné krevní skupiny i v krevní plazmě a mohou se vyskytovat i v tělních tekutinách a tkáních. Problém s expresí antigenů ABH nastává při nádorových transformacích. Bylo zjištěno, že u mnoha malignit dochází ke snižování aktivity exprese antigenů ABH během funkční a morfologické nádorové dediferenciace buněk a naopak u těch tkání kde se ABH antigen ve zralých buňkách nevyskytuje se díky maligní transformaci znovu objevuje.

2.2 Krevní skupiny

Ve skupinovém systému AB0 známe tři základní geny, A, B a 0. Geny A a B mají charakter dominantních genů. Gen 0 je recesivní, bez funkce, neschopný změnit antigen H za jiný. Navenek se projevuje jen tehdy, když se v genotypu nachází v homozygotní formě 00. Tento genotyp (00) reprezentuje krevní skupinu 0, u které se nevyskytuje žádný aglutinogen, s výjimkou antigenu H.

Geny A a B vytvářejí aglutinogeny A a B, nejen když se vyskytují v homozygotní formě, ale i tehdy, když jsou přítomny v heterozygotní kombinaci. V heterozygotní kombinaci mohou být jednak geny A a B, a potom jejich kombinace dává krevní skupinu AB, nebo jsou v kombinaci s genem 0. V tom případě v genotypu A0 je dominantní gen A. Gen A potlačuje recesivní gen 0 a skupina se projevuje jako A. Obdobné je to u genotypu B0. Recesivní charakter genu 0 se ukazuje jen při fenotypickém projevu krevní skupiny.

3. HEMATOONKOLIGICKÁ ONEMOCNĚNÍ

3.1 Akutní myeloidní leukémie (AML)

Akutní myeloidní leukémie představuje urgentní onkologickou záležitost, vyžadující rychlé a agresivní řešení. Slovo akutní vyznačuje totiž nejenom prudký nástup tohoto onemocnění, první příznaky nemoci se zpravidla objevují jen několik týdnů před zjištěním definitivní diagnózy, ale i průběh onemocnění. U neléčeného nebo nedostatečně léčeného pacienta je medián přežití 2-3 měsíce.⁸

AML je charakterizována maligní transformací kmenové hematopoetické buňky, která je spojena s úplnou nebo s částečnou ztrátou schopnosti diferenciaci při zachovalé schopnosti proliferace. Postupně dochází k hromadění mladých, abnormálních blastů v krvi, v kostní dřeni, v orgánech hematopoetických a někdy i nehematopoetických. Akumulace těchto patologických blastických buněk v kostní dřeni utlačuje fyziologickou krvetvorbu a postupně se rozvíjí anémie, granulocytopenie a trombocytopenie a ty pak způsobují typické klinické příznaky.

Incidence tohoto onemocnění se zvyšuje s věkem, ve skupině nad 65let je již 15 až 17/100 000 obyvatel.⁹

Etiologie není zcela objasněna. Menší část případů souvisí s genetickou predispozicí nebo s expozicí účinku karcinogenů, jako jsou alkylační cytostatika, organická rozpouštědla typu benzenu nebo toluenu a ionizační záření. Leukémie, které vznikají pod vlivem těchto kancerogenů, mají typické chromozomální změny a většinou se vyvíjejí cestou myelodisplastického syndromu.⁵ Ale i u AML vzniklých bez kontaktu s kancerogeny jsou ve většině případů prokazatelné chromozomální změny. Proto je velmi důležité cytogenetické vyšetření a to nejen pro upřesnění diagnózy, ale hlavně pro stanovení prognózy. U některých nemocných a zvláště starších vzniká AML sekundárně, vyvine se z původní diagnózy myelodisplastického syndromu.

V klinickém obraze se vyskytují příznaky nedostatečnosti kostní dřene a nádorový syndrom. Nedostatečnost kostní dřene vyplývá z akumulace nádorových buněk ve dřeni utlačující normální krvetvorbu a vyúsťující v příznaky anémie, granulocytopenie, trombocytopenie. Nádorový syndrom

odpovídá orgánové infiltraci leukemickou masou. Nejčastěji se vyskytuje u monoblastového typu AML jako hepatosplenomegalie, lymfadenopatie, hypertrofická gingivitida a papilózní fialovo-červené kožní infiltráty. Leukemické buňky u AML bývají velké a tuhé, proto pokud jsou u pacienta v periferní krvi přítomny v počtu nad $50-100 \times 10^9/l$, mohou způsobovat příznaky z hyperleukocytózy.⁸ Syndrom hyperleukocytózy vyplývá z poruchy mikrocirkulace projevující se např.: bolestmi hlavy, neurologickými příznaky a poruchou funkce řady orgánů. Neurologickými příznaky se může manifestovat i infiltrace CNS, ale u AML je méně častá než u akutní lymfatické leukémii.¹⁰

Diagnózu je možné stanovit již na základě vyšetření diferenciálního krevního obrazu, kde najdeme přítomnost blastů dosahujícího více jak 5 % celkového počtu jaderných buněk. Dále je přítomen malý počet vyvrálých granulocytů, avšak vývojová stádia granulocytů nejsou přítomna. Přítomnost vývojových stádií granulocytů a počet blastů nepřesahující 5% jsou charakteristické pro chronickou myeloidní leukemii (CML). Pro podrobnější klasifikaci a získání prognostických informací je potřebné provést ještě další vyšetření a to především morfologické hodnocení diferenciálního krevního obrazu a aspirátu z kostní dřeně doplněné o speciální cytochemická, cytogenetická, molekulárně genetická vyšetření a imunofenotypizaci buněk kostní dřeně i periferní krve.

K rozdělení AML do podtříd se u nás v praxi stále využívá klasifikace FAB (French-American-British clasification), založená především na morfologickém hodnocení myelogramu a diferenciálního krevního obrazu. FAB klasifikace definuje typy M0 až M7,⁴ z čehož se nejčastěji vyskytují typy M1 a M2, představující více jak 50 % případů AML dospělých.¹⁰ Tato klasifikace je však nedostačující a proto WHO připravuje novou klasifikaci zohledňující výsledky cytogenetického vyšetření blastů a dalších doplňujících vyšetření.⁹

Léčba AML probíhá ve dvou hlavních fázích. První se označuje jako indukční a jejím cílem je navodit kompletní remisi nemoci, což znamená zmenšit leukemickou populaci pod hranici morfologického stanovení a dosáhnout regenerace fyziologické krevtvorby a tím normalizaci krevního obrazu. Úkolem druhé fáze tzv. postremisní je zničení zbytkové nemoci a snaha o vyléčení. Do této fáze lze zařadit několik odlišných postupů, např.: intenzivní chemoterapie, vysokodávková chemoterapie s autologní nebo alogenní transplantací kostní

dřeně nebo kmenových krvetvorných buněk získaných z periferní krve a nebo málo toxická dlouhodobá udržovací chemoterapie. Tyto postupy platí pro všechny typy AML kromě promyelocytární leukémie (AML M3).

K určení prognózy u AML byla vytipována celá řada faktorů, jsou to například věk, cytogenetický nález, de novo nebo sekundární leukémie, odpověď na první indukční chemoterapii, imunofenotypizační nález, vstupní koncentrace leukocytů a další. Jako zásadní prognostické faktory se ukázaly první dva, věk a cytogenetický nález.⁸ Lepší prognózu mají pacienti mladší 55 let. Z cytogenetického hlediska dobrá prognóza zahrnuje translokace t(8;21), t(15;17), špatná prognóza zahrnuje abnormality více než tři chromozomů, monotonie chromozomů 5 nebo 7, delece dlouhého raménka chromozomu 5 nebo abnormality dlouhého raménka chromozomu 3, ostatní nálezy, včetně normálního karyotypu, charakterizují střední riziko. Prognostické faktory se vztahují k pravděpodobnosti navození remise, frekvence relapsů i k celkovému přežití.

Akutní promyelocytární leukémie (APL) je charakteristická dramatickým začátkem a rychlým rozvojem konsumpční koagulopatie, takže často již v průběhu stanovení diagnózy může dojít ke smrtelnému krvácení. Příčinou APL je chromozomální translokace mezi chromozomy 15 a 17, která vede k zablokování normální maturace granulocytů. FAB klasifikace zařazuje APL jako AML M3 a rozeznává standardní (hypergranulocytární) a variantní (mikrogranulární) formu. Laboratorně je APL charakterizována častou leukopenií, respektive pancytopenií. Při variantní formě, která se vyskytuje asi v 10%, je naopak častá leukocytóza. Léčba APL spočívá v aplikaci kyseliny all-trans retinové (ATRA), která způsobí diferenciaci nezralých promyelocytů ve zralé granulocyty. ATRA je schopná uvést chorobu do remise, potom však musí následovat obvyklá konsolidační léčba. APL patří k nejlépe léčitelným formám AML, pokud se podaří zvládnout iniciální hemoragickou diatézu, která je v současnosti komplikací s největším rizikem mortality. Transplantace kostní dřeně je indikována pouze při relapsu onemocnění, který je častější u nemocných s hyperleukocytózou.

3.2 Akutní lymfoblastová leukémie (ALL)

ALL jsou maligní onemocnění vznikající z klonální proliferace lymfoidních prekurzorů se zástavou ve vyžívání. Leukemický klon nejpravděpodobněji vzniká v kostní dřeni a je hematogenně diseminován do mnoha extramedulárních lokalizací. Defekt regulace není spojen s maligním postižením pluripotentní hematopoetické kmenové buňky, proto je možno ALL vyléčit chemoterapií i bez alogenní transplantace kmenových krvetvorných buněk.

Incidence má bimodální distribuci. První vrchol je ve věkové kategorii 3-5 let, jde o nejčastější leukémii dětského věku, druhý je kolem 75. roku, u dospělých prezentuje 20% všech leukémií.⁴ Poměr mužů a žen s ALL je 1,4 : 1.⁹ Vyšší incidenci ALL nacházíme u trizomie chromozomu 21, kdy je riziko vzniku 20krát vyšší než u lidí bez této aberace, dále se častěji vyskytují u některých dědičných syndromů, jako jsou například Fanconiho anémie nebo neurofibromatóza. Mezi faktory zevního prostředí mající vliv na vznik ALL patří stejně jako u jiných leukémií především kancerogenní látky jako alkylační cytostatika, organická rozpouštědla a ionizační záření. Je prokázáno že zvláštní formy ALL mají souvislost s virovými infekcemi a to s virem „Epsteina a Barrové“ a „Human T-lymphotropic Virus type I“ (HTLV I).⁹

Klinický obraz vychází z hromadění maligních lymfoblastů v krvi, kostní dřeni, lymfoidních a nehemopoetických orgánech. U pacientů s tímto onemocněním se mohou nalézt známky anémie, granulocytopenie a trombocytopenie. Hepatomegalie a splenomegalie se vyskytuje u 25-50 % nemocných, lymfadenomegalie až u 60 %. Typické je postižení uzlin v předním mediastinu způsobující až obrovské mediastinální masy, hlavně u nemocných s ALL z T lymfocytární linie. Mezi další extramedulární lokalizace patří testes, ledviny, kůže plíce, oči. Neoplastické buňky u ALL mohou též infiltrovat subarachnoidální prostor a tak způsobit leukemickou meningitis nebo mohou přímo infiltrovat parenchym mozku či míchy. Projevy postižení CNS se nacházejí při stanovení diagnózy jen asi v 7 %, často se však objevují v období relapsu. Při extrémních leukocytózách jsou patrné příznaky z hypoperfúze tkání a orgánů, které se mohou vyústit v život ohrožující komplikace.

Pro stanovení diagnózy ALL je nezbytná přítomnost leukemických buněk v kostní dřeni a/nebo periferní krvi či jiných orgánech a tkání. Nátěry kostní dřene jsou většinou hypercelulární s uniformní infiltrací leukemickými blasty.

U 80-90 % pacientů přesahuje počet blastů 50 % buněk dřeně což vede k významné redukci ostatních normálních buněčných elementů. Dalším velmi důležitým diagnostickým krokem je odlišení ALL od AML, neboť tyto dvě nemoci mají rozdílnou jak prognózu tak odpověď na léčebná antineoplastická agens. K tomuto rozlišení se využívá především metod morfologických a imunofenotypových.

Imunofenotypové vyšetření pomocí monoklonálních protilátek je nezbytné i pro určení typu ALL a pro rozdělení leukemických blastů podle míry jejich vyzrávání. Podle EGIL (European Group for the Immunological Characterization of Leukemians) klasifikace jsou ALL rozděleny na B a T lineárně specifické ALL (B-ALL a T-ALL). B-ALL představují 75 % případů akutní lymfatické leukémie dospělých, incidence T-ALL se pohybuje okolo 20 % a v 5 % se jedná o ALL z více vyzrálých B-buněk. Lze se však také setkat se situací, kdy není možno určit, zda lymfoblasty přísluší k B nebo T linii, zde se používá diagnóza null ALL.

U nemocných s ALL se nachází kromě změn v krevním obraze i abnormality biochemických markerů séra. Jsou to například změny hladiny glukózy či draslíku, zvýšené hodnoty LDH a kyseliny močové, které jsou projevem rychlé buněčné proliferace. Hyponatremie a hypokalemie jsou následkem renálních tubulárních abnormalit indukovaných leukemickými blasty a jejich produkty. Další změny v laboratorních testech vyplývají z poruchy funkce parenchymatických orgánů, v závislosti na jejich infiltraci leukemickými blasty. Vždy je nutné vyšetření CNS (CT, mozkomíšní mok), a to především u dětí, kde je pravděpodobnost infiltrace mozku daleko vyšší než v dospělé populaci.

Prognosticky má velký význam cytogenetické vyšetření a to především průkaz Philadelphia chromozomu (Ph chromozom), který vzniká translokací t(9;22). U těchto bcr-abl pozitivních ALL je totiž dlouhodobé přežití menší než 10 %, kdežto v případech B a T ALL bez uvedené chromozomální aberace je dlouhodobá doba přežití 30-40 %.⁹ Po cytogenetických změnách je dalším nezávislým prognostickým parametrem věk. U pacientů starších 50ti let jsou výsledky léčby horší a to nejen pro horší toleranci chemoterapie.

Základním kamenem léčby ALL je chemoterapie. Protokoly pro léčbu ALL jsou složitější než protokoly pro léčbu AML, ale jejich princip je stejný. Indukční

léčba trvá přibližně 8 týdnů a jejím cílem je snížit počet leukemických buněk. Dojde-li k poklesu množství leukemických blastů pod 10^9 , ALL již nebývá tzv. běžnými vyšetřeními detekována v kostní dřeni či periferní krvi a tento stav se označuje jako kompletní remise.⁸ U nemocných s výraznou vstupní leukocytózou předchází indukci ještě tzv. fáze cytoredukční, jejímž cílem je šetrné zničení největší masy nádoru. Tato terapie spočívá buď v opakovaném provádění leukoferéz, nebo v podávání „šetrnější“ léčby, např. kortikoidů či vinkristinu.⁸ Důvodem je obava z tzv. tumor-lysis syndromu. Jako prevence před tímto syndromem je vhodné provádět hyperhydrataci, podávat alopurinol a monitorovat elektrolyty.

Po indukční fázi následuje postremisní fáze, která má za úkol zlikvidovat tzv. minimal residual disease (MRD), což je leukemická masa zůstávající po indukční terapii v klinické kompletní remisi. Hlavní metodou pro detekci MRD je průtoková cytometrie.¹¹ Postremisní fáze obnáší hlavně intenzivní chemoterapii nebo u nemocných s vysokým rizikem a s vhodným dárce i alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby. Zahájení této terapie se provádí většinou velmi krátce po ukončení předchozí indukční léčby, obvykle za 2-8 týdnů.⁸

Po ukončení postremisní chemoterapie může následovat udržovací léčba, ke které se používají např. nízké dávky metotrexátu a merkaptopurinu a která trvá obvykle 6-24 měsíců.⁸ Udržovací terapie je indikována u pacientů léčených pouze chemoterapií nebo u pacientů po autologní transplantaci kostní dřene či hematopoetických kmenových buněk.⁹

Součástí léčby je i profylaxe a léčba postižení CNS, proto se cytostatika aplikují i intratekálně, nebo se využívají taková chemoterapeutika, která pronikají přes hematoencefalickou bariéru při systémovém podání, a nebo lze provést ozařování lbi.

3.3 Chronická myeloidní leukémie (CML)

Chronická myeloidní leukémie je myeloproliferativní onemocnění, jehož příčinou je změna v pluripotentní kmenové buňce. U 90 % nemocných lze prokázat Ph chromozom, který je definován jako reciproká translokace distálních částí dlouhých ramen chromozomů 9 a 22 t(9,22). Více než polovina zbylých nemocných jsou nositelé fúzního genu BCR/ABL, ale existenci Ph

chromozomu u nich nelze prokázat. Ve zbylých případech se jedná o tzv. atypickou CML, tito pacienti jsou Ph a BCR/ABL negativní a mají horší prognózu.

V etiologii CML je jediným prokazatelným zevním faktorem ionizující záření, vliv chemikálií nebo virů se doposud nepodařilo jednoznačně potvrdit.⁸ CML velmi pravděpodobně vzniká maligní transformací jediné pluripotentní kmenové hemopoetické buňky, což dokazuje nález Ph chromozomu v buňkách linie myeloidní, erytroidní, megakaryocytární, a v B-lymfocytech.¹² Ph chromozom je považován za prvotní změnu vedoucí k rozvoji CML. Jakým způsobem vzniká, není doposud zcela objasněno, ale předpokládá se, že k tomu dochází během dělení buňky. Mezi další změny popisované u CML patří nedostatečná exprese povrchových adhezivních molekul, funkční abnormality integrovaných receptorů a porucha apoptózy.

Incidence CML stoupá s věkem. Věkový medián postižení se pohybuje mezi pátou a šestou dekadou. Až 76 % nemocných je starších 50ti let.⁸

Průběh nemoci lze rozdělit na tři stádia: chronickou fázi, fázi akcelerace a blastický zvrát. Tyto stádia se liší v diagnostických kritériích, v klinickém obraze, v odpovědi na léčbu i v době přežití. Ve snaze predikovat odpověď pacientů s různým stádiem choroby na chemoterapii a ve snaze odhadnout délku jejich přežití bylo vytvořeno několik prognostických modelů, z nichž nejznámější byl Sokalův index, který byl v roce 1998 nahrazen „Novým prognostickým indexem“. Tento index používá tyto proměnné: věk, velikost sleziny, počet blastů, destiček, eozinofilů a bazofilů (Tabulka 1).

Tabulka 1: *Hansfordův prognostický index pro pacienty v chronické fázi CML⁹*

Index = $(0,6666 \times \text{věk} + 0,042 \times \text{velikost sleziny} + 0,0584 \times \text{blasty} + 0,0413 \times \text{eozinofily} + 0,2039 \times \text{bazofily} + 1,0956 \times \text{destičky}) \times 1000$	
věk: <ul style="list-style-type: none"> • = 0 při stáří pod 50 let • = 1 při stáří 50 a více let velikost sleziny: <ul style="list-style-type: none"> • udává se o kolik cm přesahuje slezina oblouk žeberní směrem distálním 	počet blastů a eozinofilů: <ul style="list-style-type: none"> • udává se jejich relativní počet vyjádřený v procentech bazofily: <ul style="list-style-type: none"> • = 0 při počtu do 3 % • = 1 při počtu 3 % a více trombocyty: <ul style="list-style-type: none"> • = 0 při počtu trombocytů do $1500 \times 10^9/l$, jinak 1
do 780 = nízké riziko	prům. přežití 98 měsíců, 5-leté 76 %
780-1480 = střední riziko	prům. přežití 65 měsíců, 5-leté 55 %
nad 1480 = vysoké riziko	prům. přežití 42 měsíců, 5-leté 25 %

Počáteční chronická fáze nemoci může probíhat dlouho nepoznaně bez významných klinických příznaků a trvá v průměru 3-5 let,¹² ale může trvat i výrazně kratší (několik měsíců) nebo delší (i 10 let) dobu.⁹ Není výjimkou, že se chronická fáze choroby zjistí při náhodném vyšetření krevního obrazu, nebo pacienta k lékaři přivedou nespecifické obtíže, jako jsou noční poty, váhový úbytek, únava, nevykonnost. Mezi specifičtější příznaky patří: bolesti v levém podžebří, splenomegalie (vyskytuje se u 50-90% pacientů), tlakové bolesti sternu či bolesti v pravém podžebří při hepatomegalii.⁸ Na rozdíl od akutních leukémií nepatří mezi typické příznaky náchylnost k infekci a krvácení, neboť počty neutrofilů a trombocytů nejsou zpočátku sníženy. V období chronické fáze odpovídá choroba příznivě na ambulantně podávanou léčbu, která umožňuje nemocnému vést relativně kvalitní život.

S postupem času se agresivita choroby stupňuje. Zvyšuje se rychlost proliferace buněk a mizí citlivost k léčbě. Pacient se postupně dostane do akcelerované fáze.

Ve fázi akcelerace se zvyšuje únavnost a nevykonnost, neinfekční teploty také nejsou vzácností. Progresivně se zvětšující slezina může utlačovat břišní orgány, způsobuje dyspepsii a objevují se v ní bolestivé infarkty. Další příznaky vyplývají z prohlubující se trombocytopenie a anémie. Mnoho nemocných trpí

velkým úbytkem na váze, často větším než 2 kg za měsíc. Při cytogenetickém vyšetření jsou zjišťovány nové chromozomální aberace mimo Ph chromozom. V periferní krvi se zvyšuje počet blastů. V kostní dřeni se při histologickém vyšetření objevuje kolagenní fibróza. U jedné třetiny nemocných je popsána akutní transformace chronické fáze bez předešlé akcelerace.

Nemoc vrcholí blastickým zvratem, který se podobá akutní leukémii a vždy splňuje kvalitativní parametry odpovídající kritériím její diagnózy. V kostní dřeni jsou přítomny blasty a promyelocyty v počtu více než 50 % všech krevních elementů nebo samotné blasty tvoří nad 30 % krevních buněk kostní dřene či periferní krve. V blastické krizi se dále zhoršuje celkový stav, neinfekční teploty jsou v této fázi téměř pravidlem.⁹ Klinický obraz vyplývá z progredující trombocytopenie, anémie a z nedostatku funkčních granulocytů. Vzácně se mohou vyskytovat neurologické problémy, vznikající jako komplikace hyperleukocytózy a poruchy mikrocirkulace, anebo tzv. Sweetův syndrom (akutní febrilní neutrofilní dermatóza), který se vyznačuje horečkou a výsevem bolestivých makronodulárních kožních lézí, vznikajících důsledkem perivaskulárních neutrofilních infiltrátů v dermis.

Zvrat může být myeloblastický (60 % blastických krizí), lymfoblastický (30 %) nebo myelo-lymfoblastický (10 %).⁹ Rozlišit blasty je možné morfologicky, cytochemicky nebo imunofenotypizačně. Asi u 10-15 % pacientů přejde nemoc v terminální myelofibrózu.

Diagnostika se tak jako u jiných leukémií opírá o změny v krevním obraze, kde dominuje leukocytóza, která prakticky u všech nemocných přesahuje hodnoty $25 \times 10^9/l$ a průměrně se dosahované hodnoty pohybují kolem $160-170 \times 10^9/l$.⁸ Charakteristický je pro CML i diferenciální rozpočet bílých krvinek s výrazným posunem doleva a s vyplavením nezralých forem včetně blastů a promyelocytů, které však většinou tvoří pouze několik procent, zatímco metamyelocyty a myelocyty se mohou podílet na celkovém počtu bílých krvinek až v 50 %.⁸ Absolutní počet eozinofilů a bazofilů je zvýšen téměř vždy, zato zastoupení lymfocytů je nízké. Počet trombocytů je u poloviny nemocných zvýšen, nižší hodnoty trombocytů při diagnóze mohou znamenat blížící se akceleraci nebo blastický zvrat. Počet erytrocytů je snížen.

V aspirátu kostní dřene je charakteristickým nálezem hypercelularita se zvýšeným podílem bílé složky na úkor erytroidní linie. Dominují především

granulocyty středního stupně zralosti, zatímco dysplastické formy jsou charakteristické pro atypickou CML. Obvykle jsou i zvýšeny počty megakaryocytů. V různém stupni jsou zmnožena fibrinová vlákna.

Standardní metodou pro potvrzení diagnózy CML je konvenční cytogenetické vyšetření, které může být nahrazeno fluorescenční *in situ* hybridizací a nebo PCR s využitím reverzní transkriptázy.¹¹ Tyto metody mají význam jednak pro potvrzení BCR/ABL positivity v případě Ph negativní CML a jednak pro sledování účinku terapie.

Při první úvaze o léčbě CML je nutno rozhodnout, zda u pacienta přichází v úvahu léčba alogenní transplantací křetvorné tkáně či nikoliv. U těch pacientů, kteří nejsou vhodní pro transplantaci je cílem terapie oddálit blastický zvrát nemoci, za pomoci takové léčby, která efektivně redukuje nádorovou masu a přitom ji lze podávat bezpečně a dlouhodobě. Efektivita léčby se přitom projevuje udržením normálního nebo mírně sníženého počtu leukocytů a lehké trombocytopenie. V chronické fázi se využívají zejména interferon alfa a perorální chemoterapie, eventuálně kombinovaná léčba.

Interferon je indikován u všech nemocných, kteří z jakéhokoliv důvodu nemohou podstoupit transplantaci kostní dřeně (TDK). Mechanismus účinku interferonu alfa u CML není doposud jednoznačně objasněn. Možný je účinek zprostředkovaný imunitním systémem, přímý antiproliferační účinek a nebo vliv na obnovení adhezivity leukemických progenitorů v kostní dřeni.⁸ Mezi prokázané účinky interferonu alfa patří i zvýšení exprese HLA antigenů I. třídy v maligních buňkách, ale není dosud objasněno, zda se jedná o hlavní mechanismus působení interferonu na destrukci nádorové masy.¹² Ve srovnání s perorální chemoterapií získávají nemocní léčení interferonem výhodu přežití až o 20 měsíců a mají takřka dvojnásobnou naději dožít se 10 let. Významné prodloužení přežití je vázáno na dosažení tzv. velké cytogenetické odpovědi buněk (počet Ph pozitivních buněk v kostní dřeni < 35 %). Při léčbě interferonem alfa dosáhne této velké remise 10-40 % nemocných a 5-25 % nemocných kompletní cytogenetickou remisi (0% Ph pozitivních buněk).⁸

Základním lékem v perorální chemoterapii CML je v současnosti hydroxyurea vzhledem k nežádoucím účinkům busulfanu. Pro velmi rychlý nástup účinků se hydroxyurea dobře hodí k razantní redukci leukocytů před zahájením léčby interferonem. Hydroxyurea vede při intenzivním dávkování až u

80 % nemocných ke kompletní nebo parciální hematologické remisi, avšak podíl nemocných u kterých je dosažena cytogenetická odpověď nepřesahuje 5%. Medián přežití při léčbě hydroxyureou dosahuje 48-67 měsíců.⁹

Jedinou kurativní metodou pro nemocné představuje alogenní transplantace kostní dřeně nebo krvetvorných buněk, bohužel k této léčbě je vhodných pouze tak 15-20 % pacientů.¹² O výsledku transplantace rozhoduje množství faktorů, ty nejdůležitější shrnul Gratwohl ve svém skórovacím systému (Tabulky 2,3).⁸

Tabulka 2: Výpočet Gratwohlůva skóre

věk pacienta	<ul style="list-style-type: none"> • pod 20let = 0 • 20-40 let = 1 • nad 40 let = 2
čas od diagnózy k provedení transplantace	<ul style="list-style-type: none"> • do 1 roku = 0 • nad 1 rok = 1
stav onemocnění	1. chronická fáze = 0 akcelerovaná fáze = 1 blastický zvrát nebo další chronická fáze = 2
dárce	HLA identický sourozenec = 0 HLA kompatibilní nepříbuzný dárce = 1
kombinace pohlaví dárce/příjemce	žena/muž = 1 jiná kombinace = 0
Po součtu jednotlivých bodů může nemocný dosáhnout hodnotu skóre mezi 0-7	

Tabulka 3: Pravděpodobnost přežití nemocných podle hodnot Gratwohlůva skóre po 5 letech po alogenní transplantaci

skóre	0	1	2	3	4	5	6-7
LSF % - přežití bez projevů onemocnění	62	61	44	34	28	37	15
SURV % - přežití	76	73	59	49	38	39	19
TRM % - mortalita	21	21	35	47	53	45	81

S provedením alogenní transplantace by se mělo začít co nejdříve, za vhodné se považuje její provedení v časně chronické fázi, protože pravděpodobnost pětiletého přežití se zvyšuje na 50-60 % případů, některé studie dokonce udávají až 80 % případů pětiletého přežití.⁹ Ve fázi akcelerace

se úspěšnost transplantace zmenšuje na 19-37 % a v blastické krizi dosahuje jen 5-27 %. Výsledky transplantací se však stále zlepšují.

Specifickou léčbu CML představuje preparát označovaný jako imatinib (Glivec®, dříve STI571), který byl uveden na trh v roce 2001.¹² Imatinib selektivně inaktivuje proteiny ze skupiny tyrozinkináz včetně BCR-ABL. Tím blokuje přenos fosfátu na další substráty a dochází k přerušení dějů vedoucích k maligní transformaci buňky a rozvoji CML. Tento lék byl nejprve zkoušen u pacientů s rezistentní či akcelerovanou chorobou. V této prognosticky nepříznivé skupině dosáhl v 96 % případů kompletní hematologické remise a ve 33 % cytogenetické odpovědi.⁹ Později byl Imatinib vyzkoušen i u pacientů v chronické fázi CML, kde bylo dosaženo hematologické remise u 97 %, kompletní cytogenetické odpovědi u 48 % a velké cytogenetické odpovědi u 15 % nemocných.¹³ Tyto výsledky potvrdily, že Imatinib má vysokou účinnost a dobrou toleranci ve všech fázích CML.

3.4 Chronické lymfatické leukémie (CLL)

Termín chronická lymfatická leukémie se používá pro celou skupinu lymfoproliferativních nemocí, které se vyznačují zvýšeným počtem malých lymfatických buněk v periferní krvi. Mimo B-CLL do této skupiny patří ještě T-CLL, B a T-prolymfocytární leukémie, splenický lymfom s vilózními lymfocyty a chronická lymfatická leukémie s velkými granulárními lymfocyty.

3.4.1. Chronická B – lymfocytární leukémie (B-CLL)

Chronická B lymfocytární leukémie je nízcí agresivní onemocnění, jehož podstatou je proliferace klonálních, maligně transformovaných vyvrážděných B lymfocytů s charakteristickým imunofenotypem. Tyto lymfocyty mají nejen zvýšenou proliferaci, ale hlavně sníženou apoptotickou schopnost, čímž dochází k jejich velmi rychlému početnímu vzrůstu.

B-CLL je nejčastěji se vyskytující leukémie dospělých lidí v Západní Evropě a Severní Americe (asi 25 %).¹² Její incidence je v Evropě 3/100 000 obyvatel. Vyskytuje se zejména u starších osob ve věku nad 50 let a je dvakrát častější u mužů než žen, pokud porovnááme stejné ročníky. U žen tato choroba kulminuje o 6let později, takže se nakonec vyrovnají součty incidencí B-CLL u všech pacientů nad 50 let. U mladších osob je výskyt B-CLL spíše

výjimečný, u dětí se nevyskytuje. Familiární výskyt CLL je vzácný avšak příbuzní prvního typu mají 3x vyšší riziko vzniku CLL nebo jiného lymfoproliferativního onemocnění, a také je u nich častější výskyt autoimunitních nemocí než v běžné populaci.

Vyšší výskyt tohoto onemocnění se nachází u pracovníků v zemědělství a u lidí, kteří jsou v profesionálním kontaktu s azbestem a chemickými rozpouštědly. Rovněž osoby vystavené působení silných elektromagnetických polí mají vyšší pravděpodobnost onemocnět B-CLL. Na rozdíl od jiných typů leukémií není incidence B-CLL zvýšena u lidí vystavených radioaktivnímu záření a působení alkylačních cytostatik. Ačkoliv lymfoidní maligní choroby jsou časté u lidí s imunodeficiencí, u B-CLL tato souvislost není. Souvislost s infekcí některých známých virů nebyla rovněž prokázána.

V patogenezi se uplatňuje gen *bcl-2*, jehož zvýšená exprese je typická pro folikulární lymfom, avšak buňky u B-CLL nemívají uvedenou translokaci (14;18) jako folikulární lymfom. Ke zvýšené expresi genu *bcl-2* proto dochází jiným mechanismem. Pravděpodobně se jedná o hypometylaci oblasti *bcl-2*-promotoru nebo o produkci základního fibroblastického růstového faktoru (bFGF) samotnými maligními buňkami.¹² Výsledkem této zvýšené exprese genu *bcl-2* je inhibice apoptotické smrti patologických lymfocytů a tedy jejich dlouhověkost.

Průběh B-CLL se rozděluje na dvě období, bezpříznakové a symptomatické. Bezpříznakové období trvá u B-CLL roky až desetiletí, kdy jediným znakem nemoci je lymfocytóza a to jak v periferním krevním obraze, tak i v kostní dřeni. Diagnóza v tomto období je u velké části nemocných stanovena při náhodném vyšetření.

Symptomatické období je charakterizováno generalizovaným zvětšením uzlin a sleziny, v pokročilých stádiích pak infiltrace nelymfatických orgánů (prostata, játer, pohrudnice). Lymfadenopatie je obvykle již zpočátku generalizovaná, postihující uzliny krku, axily i tříselné uzliny. Jejich velikost však nebývá zpočátku nijak extrémní, pohybuje se kolem 2-3 cm, nápadná je však jejich mnohočetnost. Masivní izolované zvětšení uzlin v kterékoliv lokalizaci budí vždy podezření z transformace v maligní lymfom vyššího stupně malignity (Richterův syndrom).

Někteří pacienti mají splenomegalickou formu, u níž je nápadná velmi zvětšená slezina při žádném nebo jen nepatrném zvětšení uzlin. Splenomegalie může někdy způsobovat abdominální dyskomfort, pocit sytosti po malé porci jídla a může vyústit v hypersplenismus a přispívat tak k anémii.

Extranodální infiltrace málokdy vyvolává symptomy, je většinou odhalena jen histologickým vyšetřením tkání. Nejčastější je infiltrace prostaty, která se může projevovat močovými příznaky. Byla popsána i infiltrace ledvin, která však nemá souvislost s nefrotickým syndromem pozorovaným u některých pacientů. Infiltrace gastrointestinálního traktu je výjimečná, podobně jako infiltrace kůže.

V pokročilejších stádiích onemocnění, při vyšší mase maligních buněk, se objevují celkové klinické příznaky. Jsou způsobeny cytokiny, produkovanými buňkami B-CLL, nebo autoimunitním mechanismem. Typickými příznaky jsou teploty neinfekčního původu, zvýšené noční pocení, úbytek hmotnosti až kachektizace, anémie a trombocytopenie s krvácivými projevy. Pokud neinfekční teplota přesahuje 38 °C nebo je výrazné noční pocení a případně hmotnostní úbytek přesáhl za 6 měsíců 10 % původní váhy, označujeme tyto projevy jako B-příznaky, podobně jako u Hodgkinova lymfomu. Pacienti s B-CLL mají dále zvýšenou náchylnost k infekcím, obzvláště plicním.

Diagnóza B-CLL se dříve odvíjela od početního a morfologického nálezu v periferní krvi a kostní dřeni. Tato kritéria lze i nyní použít, pokud není k dispozici imunofenotypizace, která diagnostický proces podstatně zpřesňuje. Jedná se o kritéria „International Workshop on CLL – IWCLL“ z roku 1989, která vyžaduje absolutní počet lymfocytů v periferní krvi vyšší než $10 \times 10^9/l$, přetrvávající po dobu jednoho měsíce. V kostní dřeni musí lymfocyty tvořit více než 30 % všech jaderných buněk. Poslední přepracovaná kritéria pro stanovení diagnózy B-CLL publikoval americký „National Cancer Institute“ v roce 1996. Pro stanovení diagnózy B-CLL je nutných nejméně $5 \times 10^9/l$ lymfocytů v periferní krvi uniformní morfologie malých vyzářelých lymfocytů. Pokud se imunofenotyp a morfologie těchto lymfocytů shodují s diagnózou B-CLL, není nutné vyšetření kostní dřene pro potvrzení diagnózy.

Běžné je, že část lymfocytů bývá atypických, větších, s naštípnutým jádrem a další část bývají lymfocyty morfologie prolymfocytů. Počet typických lymfocytů (malých vyzářelých) musí být nejméně 55%. Přítomnost více než 55% prolymfocytů nebo absolutní počet prolymfocytů větší než $15 \times 10^9/l$ je již

kritériem prolymfocytární leukémie. Na základě typických a atypických buněk dělí někteří autoři B-CLL na subtypy: *typická B-CLL* (< 10% atypických lymfocytů), *smíšená B-CLL/PLL* (počet prolymfocytů mezi 11-54%), *atypická B-CLL* (variabilní zastoupení atypických lymfocytů v periferní krvi, ale < 10% prolymfocytů). Diagnostická kritéria B-CLL shrnuje tabulka 4.⁸

Tabulka 4: *Diagnostická kritéria pro stanovení diagnózy B-CLL*

<p>1. absolutní počet lymfocytů v periferní krvi:</p> <ul style="list-style-type: none"> • > 5 x 10⁹/l podle kritérií National cancer Institute Working Group (1996) • > 10 x 10⁹/l podle kritérií International Workshop on CLL (1986)
<p>2. morfologická kritéria:</p> <ul style="list-style-type: none"> • většina lymfocytů musí odpovídat malým, zralým lymfocytům morfologické podtypy: • typická B-CLL má 10% atypických lymfocytů • smíšená B-CLL/B-PLL s počtem prolymfocytů mezi 11-54% • atypická B-CLL variabilní zastoupení atypických lymfocytů v periferní krvi, ale < 10% prolymfocytů
<p>3. imunofenotyp:</p> <ul style="list-style-type: none"> • CD5+, CD19+, CD20+, CD23+, FMC7-/+ , CD22-/+
<p>4. počet lymfocytů v kostní dřeni:</p> <ul style="list-style-type: none"> • větší než 30%

Imunofenotypizace je nedílnou součástí dnešních diagnostických kritérií B-CLL. Pro buňky B-CLL je typická přítomnost povrchového imunoglobulinu (sIg), intenzita jeho exprese je ale slabá. Nejčastěji jde o sIgM nebo sIgD. Pravidelně lze nalézt společné znaky B lymfocytární řady: CD19, CD20, CD24, CD37, CD40, CD45RA a znaky II. třídy HLA systému. Antigen CD10, přítomný během pre-B vývoje a během folikulární fáze, nebývá u B-CLL nalézán, stejně jako antigen CD34, typický pro pluripotentní buňky.

Pro buňky B-CLL je typická přítomnost CD5 antigenu, který se fyziologicky nachází na T-lymfocytech a na tymocytech. Patologicky je nalézán kromě B-CLL i na buňkách lymfomu plášťové zóny. Zcela vzácné jsou formy B-CLL s negativitou CD5. U těchto negativních variant se popisuje mírně odlišný klinický průběh, dominance velké splenomegalie bez lymfadenopatie a kratší doba přežití.⁹

Druhým typickým znakem buněk B-CLL je přítomnost antigenu CD23, což je nízkofinitní FC-IgE receptor. Antigen CD22 se v případě buněk B-CLL nachází převážně intracelulárně a jeho přítomnost na jejich povrchu je slabá nebo žádná, což tyto buňky odlišuje od dalších B-lymfatických malignit, kde se CD22 nachází jak na povrchu tak v cytoplazmě. Antigen FMC7 je přítomen výjimečně na buňkách B-CLL (< 4%), ale je pravidelně nacházen na buňkách prolymfocytárních nebo vlasatobuněčné leukémie. Antigen CD35 (receptor pro komplement) je přítomný na normálních B-lymfocytech, ale není na buňkách B-CLL. Antigen CD79b (SN8) je u B-CLL obvykle negativní, u ostatních lymfocytárních leukémií je pozitivní. Na základě těchto údajů navrhl Matutes skórovací systém k odlišení B-CLL od jiných B lymfoproliferativních onemocnění (Tabulka 5).

Tabulka 5: Skórovací systém B-CLL (Matutes, 1994)⁹

znak	přítomnost – nepřítomnost znaku	body
CD5	+	1
povrchový CD22	-	1
CD23	+	1
slg	slabě +	1
FMC7	-	1
Pacienti s B-CLL mají v 85 % skóre 4-5, skóre 0-1 jen 0,4% pacientů s B-CLL. Pacienti s jinými lymfoproliferacemi mají v 89% skóre 0.		

Infiltraci kostní dřeně u B-CLL lze histologicky klasifikovat do těchto skupin: intersticiální, nodulární, smíšenou nodulární a intersticiální, difúzní. Intersticiální infiltrace zachovává architekturu kostní dřeně, je přítomna u 33 % pacientů ve stádiu A podle Bineta. Nodulární infiltrace je nalézána u 10 %, smíšená nodulární a intersticiální u 30% pacientů. U 20% se vyskytuje difúzní forma, při které nacházíme hustou infiltraci lymfocytů nahrazující fyziologickou kostní dřeň.

Cytogenetické odchylky často doprovázejí chronickou lymfatickou leukémií. Nejčastější chromozomální aberací je trizomie 12. chromozomu (+12q). Vyskytuje se zhruba u 18% nemocných. Strukturální změny dlouhého raménka 13. a 14. chromozomu jsou méně časté. Nicméně obě změny, tedy 13q- a +12q znamenají pro svého nositele dobrou prognózu, která je podstatně

lepší než při nálezu 17q- a 11q-. Chronická leukémie má u pacientů s posledními dvěma chromozomálními aberacemi podstatně agresivnější průběh.⁹

Mezi komplikace B-CLL patří anémie, trombocytopenie, imunosuprese a sekundární maligní onemocnění.

Chudokrevnost je častou komplikací a vždy je nutno před její léčbou pečlivě analyzovat její etiologii. Protilátky proti erytrocytům se objevují během nemoci u 10-25 % pacientů, hemolytická anémie se manifestuje méně často. Asi 6 % pacientů s B-CLL postihuje čistá aplazie červené řady. Hematokrit klesá pod 21 %, retikulocyty pod 0,5 %, počet trombocytů a neutrofilů v krevním obraze je normální. V kostní dřeni chybí normoblasty a přitom megakaryocytů a myeloidních prekurzorů je normální počet. Laboratorní zkoušky in vitro prokázaly, že T-lymfocyty těchto pacientů inhibují proliferaci erytroidních prekurzorů. Stejně klinické a laboratorní příznaky v periferní krvi i kostní dřeni najdeme při infekci parvovirem B19. Diagnózu lze určit jedině detekcí parvoviru B19 metodou polymerázové řetězové reakce (PCR). Anémie může být také projevem pokročilé choroby. Je způsobena jak cytokiny produkovanými maligními buňkami, tak i mechanickým útlakem kostní dřene buňkami B-CLL. Přispívá k ní i redukce kmenových krvetvorných buněk léčbou. U těchto nemocných také nacházíme absolutně či relativně nedostatečnou tvorbu endogenního erytropoetinu.

Etiologie trombocytopenie kopíruje etiologii anémie. V podstatě je nutno rozlišit zda se jedná o autoimunitní trombocytopenii s protilátkami proti trombocytům a dostatečným počtem megakaryocytů v kostní dřeni, a nebo se jedná o trombocytopenii způsobenou tlumivým vlivem masivní lymfocytární infiltrace kostní dřene s velmi malým počtem megakaryocytů ve dřeni.

Imunosuprese je způsobena poklesem aktivity protilátkové imunity – hypogamaglobulinémií. Buňky B-CLL produkují cytokin TGF β (tumour growth factor β), který inhibuje proliferaci fyziologických B-lymfocytů. Proto pro nemocné s pokročilou chorobou je v klasickém elektroforetickém vyšetření typická nízká frakce gamaglobulinů. Plazmatická hladina imunoglobulinů odráží vývoj nemoci a je východiskem pro rozhodování o jejich léčebném podání při infekci. Monoklonální imunoglobulin bývá přítomen u 5-10 % pacientů s B-CLL, avšak četnost jeho záchytu závisí na citlivosti metody. Monoklonální

imunoglobulin může poškozovat organismus, např.: může vyvolat glomerulonefritidu a nefrotický syndrom nebo rušivě zasahovat do koagulační kaskády a do funkce trombocytů.

Na imunosupresi se též podílí pokles aktivity T-buněčné imunity a při progresi onemocnění i snížený absolutní počet neutrofilů. Deficit T-buněčné imunity se projevuje i při počátečním dostatečném počtu cirkulujících T-lymfocytů, neboť funkce všech T-buněk je porušena. Je snížena aktivita NK (natural killer) buněk, LAK (lymphokineactivated killer) buněk a také je snížena cytotoxická aktivita závislá na protilátkách. Pokles buněčné aktivity je příčinou častých virových chorob. Incidence manifestního onemocnění viry herpes simplex a herpes zoster dosahuje u těchto pacientů 30%.¹⁰ Při progresi onemocnění klesá absolutní počet neutrofilů, což spolu s hypogamaglobulinemií snižuje obranyschopnost proti bakteriálním infekcím.

Ke komplikacím při velmi pokročilém stavu onemocnění patří syndrom leukostázy. Poruchy prokrvení se objevují až při značně vysokých počtech lymfocytů ($500-750 \times 10^9/l$), zatímco např. u chronické myeloidní leukémie se díky větší velikosti krvinek, klinické příznaky zvýšené viskozity objeví již při počtu leukocytů přesahujícím $100 \times 10^9/l$.

Přibližně u 3-5 % nemocných dojde v průběhu nemoci k transformaci v maligní lymfom vyšší malignity, obvykle difúzní velkobuněčný lymfom. Klinickými příznaky této změny jsou vzestup teploty, vzestup aktivity laktátdehydrogenázy (LDH), asymetrická lymfadenopatie a hyperkalcemie. Pro uvedenou transformaci se někdy používá název Richterův syndrom. Možná je i transformace v prolymfocytární leukémii se změnou morfologie lymfocytů a agresivnějším průběhem choroby. Bylo také prokázáno, že u pacientů s B-CLL se častěji vyskytuje solidní karcinom, např. melanom a bronchogenní karcinom, ale i jiné krevní choroby, např. myelodysplastický syndrom, myelom nebo jiný typ leukémie. Absolutně nejčastější jsou bazaliomy.

Průměrné přežití pacientů, jejichž choroba byla diagnostikována v počáteční fázi, je 8-10 let. Zpočátku může docházet i ke spontánním remisím nemoci. Prognóza pacientů s B-CLL závisí hlavně na tumorózní mase, rychlosti progresu onemocnění a senzitivitě na chemoterapii, ale existuje i celá řada dalších prognosticky významných faktorů.

Pro klasifikaci stupně pokročilosti choroby a velikosti masy maligních buněk se používá kritéria, která definovali Rai a Binet. Stanovení klinického stádia podle uvedených kritérií má význam pro odhad doby přežití (Tabulka 6,7).⁹

Tabulka 6: *Klinická klasifikace B-CLL, kterou publikoval Rai a medián přežití pacientů v těchto stádiích dle tří studií*

stadium	znaky	medián přežití			
		Kalil 2000	Montserrat 1997	Montserrat 1995	
0	low risk	pouze lymfocytóza v periferní krvi a kostní dřeni	>10	14,5	>15
I	interme	lymfocytóza a lymfadenopatie	7	7,5	9
II	diate risk	lymfocytóza a splenomegalie nebo hepatomegalie	7	7,5	5
III	high risk	lymfocytóza a anémie, koncentrace hemoglobinu <110g/l	1,5-4	2,5	2
IV		lymfocytóza a trombocytopenie, počet trombocytů <100 x 10 ⁹ /l	1,5-4	2,5	<2

Tabulka 7: *Klinická klasifikace B-CLL, kterou publikoval Binet a medián přežití pacientů v těchto stádiích dle tří studií*

stadium	znaky	medián přežití (roky)		
		Kalil 2000	Montserrat 1997	Montserrat 1995
A	jsou splněny podmínky 1, 2 a 3: 1. počet postižených oblastí < 3 2. koncentrace hemoglobinu ≥ 100g/l 3. počet trombocytů ≥ 100 x 10 ⁹ /l	12	14	12
B	jsou splněny podmínky 1, 2 a 3: 1. počet postižených oblastí ≥ 3 2. koncentrace hemoglobinu ≥ 100g/l 3. počet trombocytů ≥ 100 x 10 ⁹ /l	7	5	5
C	bez ohledu na organomegalii je splněna podmínka 1 nebo obě podmínky 1. koncentrace hemoglobinu < 100g/l 2. počet trombocytů < 100 x 10 ⁹ /l	2-4	2,5	2

definice postižených oblastí

- uzliny hlavy a krku a lymfatická tkáň Waldeyerova okruhu
- unilaterální nebo bilaterální postižení axiálních uzlin
- unilaterální nebo bilaterální postižení tříselných a povrchových femorálních uzlin
- hmatná zvětšená slezina
- hmatná zvětšená játra

za signifikantní adenopatii se považuje průměr uzliny > 1cm

Prognostický význam má kromě počtu lymfocytů i dynamika jejich zvyšování v krevním obraze. Ti nemocní, u nichž zdvojovací čas počtu lymfocytů (lymphocyte doubling time) je delší než 12 měsíců, mají velmi dlouhé přežití. Počet lymfocytů odráží masu tumoru. Proto průměrné přežití pacientů s počtem lymfocytů nad $50 \times 10^9/l$ je kratší (3-4 roky) než u pacientů s počtem lymfocytů pod $50 \times 10^9/l$ (6 a více let).

Mezi další prognostické faktory patří koncentrace hemoglobinu, poruchy karyotypu, histologie kostní dřeně, morfologie lymfocytů v periferní krvi a imunofenotypické znaky. Hladiny hemoglobinu korelují s prognózou v poměru, čím vyšší hladina tím lepší prognóza a naopak. Pacienti s chromozomálními abnormalitami v počátečním stádiu nemoci mají kratší dobu přežití než pacienti s normálním karyotypem. Prognózu naopak zhoršuje difúzní postižení kostní dřeně (3-5 let) a vyšší než pěti procentní počet prolymfocytů v periferní krvi. Také imunofenotypické znaky určují prognosticky výhodné a nevýhodné varianty B-CLL. Klasická B-CLL je téměř vždy CD5+ a CD23+. Případná CD23- při CD19+CD5+ obvykle znamená agresivní chorobu s nevelkou odpovědí na klasickou chemoterapii. Tyto CD antigeny jsou vlastní lymfomu z plášťových buněk. Nepříznivou prognózu znamená také exprese znaku CD44 a absence exprese znaku CD11c.

Hlavní terapeutickou metodou je chemoterapie, která má paliativní charakter jako u všech nízce maligních lymfomů. Časná aplikace cytostatik v počátečním stádiu s cílem oddálit progresi nepřinesla nemocným žádný užitek, někdy byla dokonce spojena s větším výskytem sekundárních malignit a s kratší dobou přežití. K těmto výsledkům dospěly starší studie, v nichž byli pacienti léčeni alkylačními cytostatiky, neboť adenosinová analoga nebyla v té době známá.⁸ U pacientů bez klinických příznaků nemoci, tedy v klinickém stádiu A podle Bineta nebo 0 a I podle Raie, se doporučuje sledování

nemocných. Naopak neodkladně se doporučuje zahájit chemoterapii u pacientů s pokročilou chorobou, tedy v klinickém stadiu Rai III a IV nebo Binet C.

U pacientů v klinickém stádiu Binet B nebo Rai II, III se doporučuje léčbu zahájit jen tehdy, pokud nemoc výrazně progreduje nebo pokud jsou přítomny B symptomy: horečka, noční poty, úbytek hmotnosti větší než 10 % za půl roku. Dalším důvodem k zahájení léčby jsou výrazně zvětšené uzliny nebo hepatosplenomegalie vytvářející mechanické potíže. Indikací k léčbě je také klesající počet erytrocytů a trombocytů. Absolutní počet lymfocytů může být indikací k zahájení léčby, jen pokud se blíží k hranici vzniku hyperleukocytárního hyperviskózního syndromu, tedy nález 200-300 x 10⁹/l leukocytů v krevním obraze. Indikací k zahájení léčby je dynamika vzestupu počtu leukocytů, jak ukazuje tabulka 8.⁸ Podle doporučení National Cancer Institute Working group se léčba u pacientů ve stadiu Rai III a IV zahajuje ihned a u ostatních pokud splňují alespoň jednu z podmínek uvedených v tabulce 8.

Tabulka 8: *National Cancer Institute Working Group* kritéria pro zahájení léčby B-CLL.

1. Je přítomen minimálně jeden z následující klinických symptomů
<ul style="list-style-type: none">• úbytek hmotnosti $\geq 10\%$ za půl roku• značná malátnost a slabost, zabraňující vykonávání běžné denní činnosti a práce• neinfekční teploty trvající déle než 2 týdny• noční pocení bez přítomnosti infekce
2. Postupné zhoršování krvetvorby, rozvoj nebo zhoršování anémie nebo trombocytopenie
3. Autoimunitní anémie nebo trombocytopenie neúspěšně léčená glukokortikoidy
4. Masivní splenomegalie (slezina přesahuje žeberní oblouk o $> 6\text{cm}$) nebo progresse splenomegalie
5. Masivní pakety uzlin, $\geq 10\text{cm}$ v nejdelším průměru, nebo progresse lymfadenopatie
6. Progrese lymfocytózy se vzestupem počtu lymfocytů o $> 50\%$ za 2 měsíce nebo předpokládaný zdvojovací čas kratší než 6 měsíců

Klasickými léky byly a stále zůstávají chlorambucil a glukokortikoidy nebo polychemoterapeutické režimy s doxorubicinem. Purinová analoga, která dosahují většího počtu léčebných odpovědí a delších remisí, jsou indikována až při prvních známkách rezistence nemoci na alkylační cytostatika. Do začátku

roku 2001 nebylo prokázáno, že aplikace purinových analog jako léku první linie statisticky významně prodlouží přežití.⁸

U pacientů mladších 60let by se mělo zvážit použití agresivnějších postupů s kurativním cílem. Tyto postupy obvykle zahrnují léčbu purinovými analogy, monoklonálními protilátkami a vysokodávkovou chemoterapií s transplantací krvetvorné tkáně ať již autologní, nebo alogenní.

Choroba, která se stane rezistentní na alkylační, antracyklinová a purinová analoga, je špatně řešitelný problém. Tyto pacienty je možno léčit paliativně lokální radioterapií, opakovanými leukoferézami, vysokými dávkami glukokortikoidů anebo experimentálními léčebnými protokoly a monoklonálními protilátkami.

Monoklonální protilátky reprezentují novou skupinu protinádorových přípravků, jenž působí cíleně na leukemickou buňku a dovedou indukovat její apoptózu a pomocí komplementu a efektorových buněk i její přímé zničení. Alemtuzumab (anti-CD52) a rituximab (anti-CD20) jsou dnes dostupné a standardně používané monoklonální protilátky v léčbě BCLL. Alemtuzumab je indikován především v léčbě relabujících a refrakterních nemocných a ukazuje se, že by mohl být účinným lékem minimalizujícím zbytkovou chorobu po předchozí chemoterapii. Rituximab se díky synergnímu působení s konvenčními cytostatiky stává stále častěji používaným lékem 1. linie a je nanejvýš pravděpodobné, že se kombinace protilátky anti-CD20, fludarabinu a cyklofosfamidu stane zlatým standardem iniciální terapie nemocných s B-CLL.¹⁴

3.4.2. *B-prolymfocytární chronická leukémie*

Chronická B-prolymfocytární leukémie byla jako samostatná jednotka poprvé popsána Galtonem v roce 1974.⁹ Postihuje podobně jako B-CLL vyšší věkové skupiny (medián 67 let) a je častější u mužů. Údaje o zastoupení prolymfocytární chronické leukémie kolísají od 1% do 10% všech chronických lymfatických leukémií. Je vzácnější než splénický lymfom z vilózních lymfocytů i než vlasatobuněčná leukémie. V některých případech je diagnostikována jako zcela nové onemocnění, jindy je patrný její vznik z B-CLL. B prolymfocytární leukémie tvoří 80% všech případů prolymfocytárních leukémií, zbývajících 20% má původ v T-lymfatické řadě.

B-prolymfocytární chronická leukémie se zásadně liší od B-CLL agresivnějším průběhem a rychlejší progresí. Medián průměrného přežití je obvykle kratší než 3 roky. Proto je v REAL klasifikaci (Revised European-American Lymphoma Classification) zařazena B-CLL do první skupiny nízce agresivních lymfomů, zatímco prolymfatická leukémie je řazena do skupiny středně agresivních lymfoproliferativních chorob.

Charakteristickým znakem je výrazná splenomegalie, ale zvětšení uzlin nebývá patrné. Počty lymfocytů jsou velmi vysoké, obvykle přesahují $100 \times 10^9/l$ a postupně se mohou vyšplhat až na hodnoty 500 případně až $1000 \times 10^9/l$. Zdvojovací čas lymfocytů je krátký, obvykle jen několik měsíců. Anémie a trombocytopenie jsou při stanovení diagnózy zjevné nejméně v 50 % případů. Zřejmě to souvisí s hustou difúzní infiltrací kostní dřeně.

Nemoc je poměrně rezistentní k léčbě. Tato rezistence pravděpodobně souvisí s častými chromozomálními aberacemi t(11;14) (q13;q32), vysokou incidencí mutace genu p53 a častější transformací v agresivnější typy lymfoproliferativních chorob.

Prolymfocyty se morfoloicky liší od buněk B-CLL. Jsou větší s velkým centrálně uloženým kulatým jádrem s centrálním jadérkem. Pro stanovení diagnózy je třeba nelézt přes 55% prolymfocytárních buněk v diferenciálním rozpočtu. Infiltraci prolymfocyty najdeme také v kostní dřeni, ve slezině a mohou být i v játrech.

Některé imunofenotypické znaky se shodují s nálezem u B-CLL, jiné však ne. Společné jsou B-lymfocytární znaky: CD19, CD20, CD24, CD37. Dále obvykle CD22 a FMC7, které nalézáme u obou onemocnění. Rozdíl mezi buňkami B-CLL a B-prolymfocytární leukémie je ve znacích CD23 a CD5. CD23 není nikdy exprimován prolymfocyty, ale u buněk B-CLL je přítomen. Také antigen CD5 se vyskytuje u většiny pacientů s B-CLL, ale u pacientů s prolymfocytární leukémií je přítomen jen tehdy vznikla-li z B-CLL. Další rozdíl mezi B-CLL a B-prolymfocytární leukémií je v expresi povrchových imunoglobulinů. Zatímco B-CLL má malou denzitu povrchových antigenů, B-prolymfocytární leukémie je exprimuje silně, obvykle IgM nebo IgD, méně často IgA nebo IgG.

Terapie je založená na aplikaci alkylačních cytostatik. Při masivní splenomegalii je doporučována splenektomie. Tam, kde je splenektomie nevhodná se doporučuje ozáření sleziny. Purinová analoga jsou u této nemoci

také podávána. Byla po nich popsána nejen parciální, ale i kompletní remise, což nebývá po chemoterapii. Proto jsou adenosinová analoga doporučována některými autory jako léčba první volby.

3.4.3 Splénický lymfom s vilózními lymfocyty

Splénický lymfom s vilózními lymfocyty je charakterizován současnou přítomností splenomegalie, cirkulujících atypických vlasatých (vilózních) lymfocytů a monoklonálního imunoglobulinu. Má pomalý průběh (medián přežití 7-10 let) a transformace v agresivní lymfom je vzácná. Nejčastěji je diagnostikován u osob kolem 70. roku života, v populaci mladší 50let je výjimkou. Incidence je mnohem menší než u B-CLL, ale podobná jako u vlasatobuněčné leukémie.

Nejčastějším příznakem tohoto onemocnění je celková slabost, plynoucí z anémie a dále zažívací potíže způsobené splenomegálií. Slezina nezřídka dosahuje do úrovně pupku. Hepatomegalie je přítomna u 20-40 % pacientů. Ke zvětšení lymfatických uzlin u této choroby nedochází. Počet lymfocytů bývá zvýšen, pohybuje se v rozmezí $10-50 \times 10^9/l$.

Přibližně 30 % pacientů je anemických a 10 % trombopenických. Mimo tento klasický obraz byly výjimečně zachyceny odlišné průběhy této choroby, například infiltrace měkkých tkání tímto lymfomem, nebo kožní příznaky ve formě leukocytoklastické vaskulitidy.⁹

Diagnóza se stanovuje na základě zvýšeného počtu cirkulujících lymfocytů, které jsou obvykle větší než u B-CLL. Jejich cytoplazma je nepravidelná, s vlásky lokalizovanými na jednom pólu buňky. Jádro je umístěno centrálně s výrazným chromatinem a prominujícím nukleolem. Monoklonální imunoglobulin, detekován u 50-70 % pacientů, je obvykle typu IgM, výjimečně typu IgG, v koncentraci nepřekračující 20 g/l. V 50 % případů najdeme infiltraci kostní dřeně vilózními lymfocyty. Také slezina bývá infiltrována a to především bílá dřeň, i když občas je přítomna infiltrace i v červené dřeni. Histologický obraz sleziny je obvykle shodný s nálezem u lymfomu z marginálních buněk.

Imunofenotypické znaky jsou zcela odlišné od B-CLL a klasické formy vlasatobuněčné leukémie, ale překrývají se znaky prolymfocytární leukémie a znaky variantní formy vlasatobuněčné leukémie.

Léčbou volby je splenektomie. U pacientů, u nichž z nějakého důvodu není možné provést chirurgický zákrok, je vhodné ozáření sleziny. Chemoterapie je méně účinná než splenektomie. U mnoha pacientů byl pozorován úspěch léčby purinovými analogy.

3.4.4. *T-chronické lymfatické leukémie*

T-chronická lymfatická leukémie jako jedno onemocnění vlastně neexistuje, je to název pro skupinu posttymických T-lymfoproliferativních chorob, do kterých se zahrnují následující jednotky: leukémie z velkých granulárních lymfocytů, T-prolymfatická leukémie, HLTV1 T-buněčná leukémie dospělých a Sézaryho syndrom. Diferenciální diagnostika se provádí průtokovou cytometrií.

3.4.5. *T-prolymfocytární leukémie*

T-prolymfocytární leukémie tvoří jen 20 % všech prolymfocytárních leukémií, je tedy extrémně vzácná. Postihuje stejnou věkovou skupinu jako B-prolymfocytární leukémie.

V klinickém nálezů dominuje masivní splenomegalie. U poloviny pacientů jsou patrné zvětšené uzliny a u jedné třetiny dochází k infiltraci kůže postihující především trup a končetiny. Kožní biopsie prokáže v těchto případech hustou buněčnou infiltraci kolem cév a adnex. Počty leukocytů jsou stejně vysoké jako u B-prolymfocytární leukémie.

Klinický průběh této formy chronické leukémie je velmi agresivní, průměrné přežití se udává kolem 6 měsíců. Po úspěšné léčbě někteří pacienti přežívají jeden rok. Léčba je tedy v těchto případech indikována ihned při stanovení diagnózy.

Diagnóza se stanoví jednak na základě cytologického nálezu a jednak imunofenotypizací. Klasickým imunofenotypem je CD2+, CD3+, CD4+, CD5+, CD7+, CD8-. Ve čtvrtině případů je i znak CD8 pozitivní.

Pro léčbu této choroby se doporučuje agresivnější polychemoterapie, případně purinová analoga.

3.4.6. Lymfocytóza a leukémie z velkých granulárních lymfocytů

Velké granulární lymfocyty je popisné pojmenování velkých vyzrálých lymfocytů, mající četná jemná azurofilní granula s cytochemickým průkazem kyselé fosfatázy.

Tyto buňky jsou fyziologicky přítomny v periferní krvi přibližně v počtu 220 buněk na litr, tvoří 10-15 % mononukleárních buněk. Zvýšený počet těchto buněk (nad 2000/l) může souviset s různými patologickými stavy. Dočasný vzestup jejich počtu se objevuje při virových infekcích, při infarktu myokardu, po transplantaci kostní dřeně a u některých revmatoidních nemocí. Tato reaktivní forma lymfocytózy z velkých granulárních lymfocytů má polyklonální charakter a trvá obvykle méně než půl roku.

Zvýšení počtu těchto buněk může být také způsobeno leukémií z velkých granulárních lymfocytů, která má dlouhodobý, nízcce agresivní průběh. Trvalý vzestup počtu těchto buněk představuje klonální proliferaci buď z CD3+ nebo CD3- řady T-lymfocytů. Populace CD3+ představuje aktivní cytotoxické T-lymfocyty a CD3- představuje NK buňky.

Chronická lymfatická leukémie z velkých granulárních lymfocytů, typ CD3+ představuje asi jen 2% všech chronických leukémií. Medián věku stanovení diagnózy je 55-60 let a rovnoměrně postihuje obě pohlaví. Z počátku nezpůsobuje žádné vážnější problémy, maximálně se vyskytuje celková slabost a náchylnost k infekcím. Medián přežití se pohybuje kolem 161 měsíců.⁸ Z dalších příznaků se nachází u 20-30 % pacientů středně velká slezina. Hepatomegalie je vzácnější a lymfadenopatie je výjimečná. U 25% pacientů však bývají přítomny kožní infiltráty. Velmi významná je koincidence této chronické T-lymfatické leukémie se seropozitivní revmatoidní artritidou dosahující 20-30 %. Vysoká je i koincidence s jinými sérologickými abnormalitami, jako jsou antinukleární protilátky nebo protilátky proti neutrofilům.

Leukocytóza vůbec není nápadná. Někteří autoři udávají, že počet leukocytů se pohybuje maximálně kolem hodnot 10-20 x 10⁹/l. Častěji je však počet leukocytů nezvýšen. Počet lymfocytů přesahuje 4x 10⁹/l jen u 70 % pacientů. Počet velkých granulárních lymfocytů je přitom obvykle menší než 25% z počtu lymfocytů. U 80 % pacientů je ihned při stanovení diagnózy

nápadná neutropenie, u 40 % je počet neutrofilů menší než $0,5 \times 10^9/l$. Anémie je při stanovení diagnózy přítomna u 50 % a trombocytopenie u 20 %.

Na rozdíl od B-CLL je infiltrace kostní dřeně méně výrazná. Počet lymfocytů v kostní dřeni se pohybuje mezi 20-50 % a u některých nemocných se blíží normálu. U 50 % pacientů chorobu provází polyklonální hypergamaglobulinemie.

Diagnóza se opírá o cytologický obraz, o imunofenotypické znaky lymfocytů a také o klinické údaje. Typickým imunofenotypizačním nálezem jsou CD1-, CD2+, CD3+, CD4-, CD5-, CD7-, CD8+, CD16+/-, CD57+ a TCR α/β +. Pokud je na velkých granulárních lymfocytech přítomen znak CD56, je průběh nemoci obvykle zhoubnější.

Léčba není roky nutná, protože tento typ chronické leukémie má velmi dlouhé indolentní období. Teprve až komplikace způsobené touto nemocí vyžadují léčbu. Podávání prednisolu, případně v kombinaci s perorálním podáváním cyklofosfamidů, dosáhne remise u 70 % pacientů. Další léčebnou alternativou je použití nízkých dávek metotrexátu. Také u tohoto onemocnění se osvědčila purinová analoga. Splenektomie nabízí úlevu pacientům se zvětšenou slezinou, ale k výraznému zlepšení nemoci dojde jen u části z nich.

Chronická lymfatická leukémie z velkých granulárních lymfocytů, typ CD3- vychází z NK buněk a je v Evropě vzácnější než CD3+ forma. Má obvykle chronický, dlouhodobý průběh, ale může být i rychle progredující. Na rozdíl od CD3+ formy je typ CD3- agresivnější s hepatomegalií, lymfadenopatií, infiltrací gastrointestinálního traktu i centrálního nervového systému. Neutropenie se objevuje stejně jako u CD3+ formy, ale počet lymfocytů bývá značně vyšší u typu CD3-. Obvyklý imunofenotyp je CD3-, CD4-, CD8-, CD16+, CD56+, CD57+.

3.5 Myelodysplastický syndrom (MDS)

Myelodysplastický syndrom je označení pro heterogenní skupinu nemocí s charakteristickou monoklonální hematopoézou s normo-, hypo- nebo hypercelulární kostní dřeni a současnou periferní cytopénií postihující jednu či více vývojových linií. Příčinou je poškození kmenové hemopoetické buňky, jež ve svém důsledku vede k tvorbě patologického klonu s určitou růstovou výhodou. Tato populace buněk může postupně díky své proliferační aktivitě

eliminovat normální krvetvorbu a stát se zcela nezávislou na regulačních mechanismech.

Incidence MDS se u dospělých pohybuje okolo 4 případů na 100 000 obyvatel ročně.¹⁵ Výskyt tohoto syndromu se zvyšuje s věkem. Téměř polovinu nemocných tvoří osoby starší 70let, kde činí roční incidence onemocnění až 20-40 případů na 100 000 obyvatel.⁹ Na druhé straně u nemocných mladších 40 let je výskyt MDS poměrně vzácný. MDS se častěji vyskytuje u mužů než žen.¹⁵

Etiologie MDS není zcela objasněna, ale za podstatu choroby se považuje defekt mechanismu opravujícího DNA v hemopoetických buňkách. Tím vzniká jejich genetická nestabilita a ta umožňuje postupnou malignizaci mutované kmenové buňky. Defekt mechanismu opravujícího DNA může být buď vrozený a nebo získaný. Svůj podíl na postupné maligní transformaci má i zvyšující se četnost genových mutací ve vyšším věku a nezanedbatelné jsou i vlivy zevních faktorů. Mezi známé vyvolávající příčiny patří organická rozpouštědla, alkylační cytostatika, epipodofylotoxiny a ionizační záření. Pokud je prokazatelné, že MDS vznikl na podkladě těchto zevních vlivů označujeme ho za sekundární, pokud nenajdeme tuto spojitost mluvíme o primárním MDS. Sekundární MDS má často rychlý průběh s těžkou cytopenií a progresí do akutní leukémie u více než 70 % případů. Také je spojen s rezistencí na cytostatickou léčbu u více než 80 % nemocných a krátkým přežitím v leukemické fázi (v průměru 4-6 měsíců).⁹ Nejčastěji je sekundární MDS pozorován u nemocných s maligními lymfomy a mnohočetným myelomem, kteří byli léčeni vysokodávkovou chemoterapií, eventuálně v kombinaci s radioterapií či transplantací krvetvorných buněk. Poměrně častý výskyt byl popsán i u nemocných s ovariálním nebo testikulárním karcinomem, kterým byla podávána kombinace radioterapie a chemoterapie.

Cytogenetické odchylky jsou prokazatelné u více než poloviny nemocných a nejčastěji postihují chromozomy 5, 7 a 8. Na 5. chromozomu vznikají nejčastěji aberace dlouhého raménka, kde jsou umístěny geny pro růstové hematopoetické faktory a interleukiny. To způsobuje dysregulaci hematopoetických růstových faktorů, což se také podílí na patogenezi této choroby. Bližší patogenetický význam těchto faktorů není dosud znám.

Významná úloha je v iniciální fázi přisuzována mutacím, které vedou k abnormální expresi tzv. onkogenů, či poruší funkce antionkogenů – tumor

supresorových genů. Důsledkem těchto mutací může být proporcionální nárůst buněk v G0/G1-fázi a úbytek buněk v S-fázi, ve které se mohou uplatnit reparační mechanismy, abnormální metabolická aktivita buňky, porucha reparace poškozené DNA a dysregulace procesu programované buněčné smrti. Porucha apoptózy v iniciální fázi MDS hraje důležitou úlohu, v dalším vývoji choroby se však významně uplatňuje vystupňovaná proliferace patologického klonu na které se podílejí cytokiny. Ukazuje se, že dalším z klíčových momentů v postupném vývoji choroby může být progresivní nárůst populace CD34+ buněk s velmi nízkým stupněm apoptozy, jenž vede ke klinickému obrazu pokročilé fáze MDS s nadbytkem blastů a velkou pravděpodobností přechodu do obrazu rozvinuté akutní leukémie.⁸

Klinické příznaky cytopenie jsou odvislé od toho, která hematopoetická řada je v převážné míře postižena. V klinickém obraze tedy mohou převládat únava, dušnost eventuální známky srdečního selhávání při těžké anémii, sklon k recidivujícím infekcím při granulocytopenii či různě závažný stupeň krvácení při trombocytopenii. Fyzikální nález bývá chudý. Průběh onemocnění je chronický u méně pokročilých forem zatímco v pokročilých stádiích s progredujícím počtem blastů ve dřeni je průběh rychlý, ústící v rozvinutou akutní leukémii, pokud nemocní nezemřou dříve na infekční či krvácivé komplikace.

FAB klasifikace (French-American-British classification) byla vytvořena v 1982 a je dodnes užívána jako základná schéma pro dělení nemocných s MDS, které rozděluje do 5 podskupin podle nálezu v kostní dřeni a periferním krevním obraze (Tabulka 9). V roce 1999 byla publikována nová klasifikace vytvořená WHO, která rozděluje MDS do 8 subtypů (Tabulka 10). Ze skupiny nemocných s MDS vyřazuje WHO nemocné s CMML (chronická myelomonocytární leukémie) a nemocné s více než 20 % blastů ve dřeni, které řadí již do skupiny akutních myeloidních leukémií. Ze skupiny refrakterních anémií jsou pak jako samostatné jednotky vyčleněny refrakterní cytopenie s dysplazií ve více řadách a 5q- syndrom a jako nová podskupina je zařazen neklasifikovatelný MDS. 5q- syndrom je charakterizován izolovanou cytogenetickou delecí dlouhého raménka 5. chromozomu a má lepší prognózu než ostatní typy MDS.

Tabulka 9: Charakteristika jednotlivých podtypů MDS podle FAB klasifikace a jejich prognóza^{8,9}

FAB subtypy	% blastů ve dřeni	% prstenčitých sideroblastů	další kritéria	délka přežití (měsíce)
RA	< 5	< 15	< 1 % blastů v periferní krvi	19 – 64
RAS	< 5	≥ 15	< 1 % blastů v periferní krvi	21 – 76
RAEB	5 – 20	různé	< 5 % blastů v periferní krvi	7 – 15
CMML	1 – 20	různé	monocyty v periferní krvi > 1x10 ⁹ /l, zvýšené % monocytů ve dřeni	8 – 60
RAEB-T	21 – 30	různé	> 5 % blastů v periferní krvi a < 30 % blastů ve dřeni	5 – 12

RA – refrakterní anémie, **RAS** – refrakterní anémie se zmnožením prstenčitých sideroblastů,

RAEB – refrakterní anémie s nadbytkem blastů, **CMML** – chronická myelomonocytární

leukémie, **RAEB-T** – refrakterní anémie s nadbytkem blastů v translokaci

Tabulka 10: WHO klasifikace¹⁶

zkratka	subtypy MDS
RA	refrakterní anémie
RARS	refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty
RCMD	refrakterní cytopénie s dysplázií ve více řadách
RCMD-RS	RCMD s prstenčitými sideroblasty
RAEB-I	refrakterní anémie s nadbytkem blastů < 10%
RAEB-II	refrakterní anémie s nadbytkem blastů > 10%
MDS-U	MDS s dysplázií v jedné řadě
MDS del5q	MDS, izolovaná delece 5. chromozomu

Základním vyšetřením, uplatňující se v diagnostice MDS, je pečlivé vyhodnocení nálezu v punktátu kostní dřeně. Punkce kostní dřeně je většinou indikována na základě nevysvětlitelné anémie, neutropenie, trombocytopenie nebo monocytózy v krevním obraze. Morfologické dysplastické změny v jednotlivých hemopoetických řadách jsou důsledkem klonální expanze pluripotentní kmenové buňky, vedoucí k poruše diferenciaci, dysregulaci apoptózy a cytopenii v periferní krvi. V bioptickém vzorku kostní dřeně hodnotíme její buněčnost, přítomnost fibrózy a změny v architektonickém uspořádání, zejména přesun ložisek erytropoézy a megakaryopoézy z intratrabekulárního prostoru peritrabekulárně spolu s hromaděním nezralých granulocytárních prekurzorů v centru dřeňové dutiny. Tato ložiska se nazývají

ALIP (abnormálně lokalizované nezralé prekurzory). Cytochemické vyšetření dřeně je nezbytné pro diagnostiku přítomnosti prstenčitých sideroblastů. Prsteneček je tvořen mitochondriemi přeplněnými železem, které není redukováno z trojmocné formy na dvojmocnou v řetězci cytochromů díky mutaci postihující mitochondriální DNA. Trojmocné železo nemůže být využito k tvorbě hemu.

V diagnostice MDS se uplatňuje též vyšetření povrchových antigenů pomocí monoklonálních protilátek, a to jak průtokovou cytometrií, tak imunohistochemickým barvením řezů zhotovených z bioptických vzorků dřeně. Nejčastěji sledovanými antigeny jsou CD34, HLA-DR a eventuálně CD117 k určení počtu nezralých prekurzorů, CD11b, CD13 a CD33 k potvrzení myeloidního charakteru blastů, CD14 a CD15 k určení monocytární komponenty, CD3 a CD7 k diagnostice přítomnosti časných T-lymfocytů, CD19 a CD20 k průkazu B-lymfocytů, CD41 a CD61 pro vyšetření příslušnosti buněk megakaryocytární řadě, CD71 a glykofirin A k průkazu erytroidní řady. Pomocí monoklonálních protilátek je možno určit i procento buněk nesoucích membránový p-glykoprotein, zodpovědný za rezistenci buněk na řadu cytostatik.

Nedílnou součástí diagnostiky MDS je i cytogenetické vyšetření a to nejen pro častý výskyt klonální abnormality karyotypu, 50 % nemocných s primárním a 80 % nemocných s sekundárním typem MDS, ale i pro svůj prognostický význam. Největší procento abnormalit karyotypu tvoří částečné či úplné ztráty chromozomů, poměrně vysoká je i incidence výskytu přídatných chromozomů, naopak méně často se vyskytují vyvážené translokace.

Častým problémem diagnostiky MDS je odlišení typu refrakterní anémie od některých jiných anémií, kde je přítomnost megaloblastů výrazem nedostatku vitamínu B12 či kyseliny listové. U těchto anémií je nalézána především megaloblastová přestavba dřeně maximálně vyjádřena v červené řadě a nejsou přítomny změny karyotypu při cytogenetickém vyšetření ani cytochemické nálezy typické pro MDS. Pomoci může i bioptické vyšetření kostní dřeně potvrzující dysplastické rysy hemopoézy a eventuálně přítomnost ložisek nezralých myeloidních prekurzorů (ALIP). Problematické může být v některých případech i odlišení pokročilé fáze MDS od časně *de novo* vzniklé akutní leukémie. Rozlišení se většinou opírá o opakované vyšetření dřevňového punktátu a trepanobioptického vzorku dřeně s hodnocením dynamiky nárůstu počtu blastů a přítomnosti morfologických dysplastických změn. Pro odlišení

MDS a myeloproliferativního onemocnění jsou hlavními kritérii přítomnost leukocytózy a erytrocytózy s výraznější splenomegálií.

Prognostickou informaci přináší určení typu MDS spolu s počtem blastů v kostní dřeni. V praxi je k prognostickému rozdělení MDS stále využívána FAB klasifikace, která ho dělí do dvou základních skupin. Do první skupiny patří refrakterní anémie (RA) a refrakterní anémie s prstencítyými sideroblasty (RAS) jako méně pokročilé formy s lepší prognózou, delším přežitím a menším rizikem leukemické transformace. Ostatní formy, refrakterní anémie s nadbytkem blastů (RAEB), refrakterní anémie s nadbytkem blastů v transformaci (RAEB-T) a chronická myelomonocytární leukémie (CMML), jsou řazeny do druhé skupiny, která je spojena s vyšším rizikem přechodu do akutní leukémie a kratší dobou přežití. Nicméně i nemocní s méně pokročilou formou choroby mohou být postiženi život ohrožujícím krvácením či sepsí při těžké pancytopenii v krevním obraze.

V roce 1994 byla vytvořena mezinárodní pracovní skupina, která provedla zhodnocení prognózy 816 nemocných s primárním MDS na podkladě analýzy jednotlivých rizikových faktorů. Výsledkem rozboru bylo vytvoření Mezinárodního prognostického skórovacího systému (IPPS), publikovaného v roce 1997.⁸ Na základě procenta blastů ve dřeni, přítomnosti a charakteru abnormalit karyotypu a počtu cytopenií v periferním krevním obraze jako statisticky významných prognostických faktorů, byli nemocní s MDS rozděleni do 4 podskupin s rozdílnou pravděpodobností délky přežití a přechodu do akutní leukémie (Tabulka 11).

Tabulka 11: *Mezinárodní prognostický index pro MDS (Greenberg, 1997)⁹*

parametr	počet bodů				
	0	0,5	1	1,5	2
počet blastů v kostní dřeni	0-4	5-10	-	11-20	21-29
počet linií s cytopenií	0-1	2-3	-	-	-
cytogenetická riziková skupina	nízké	střední	vysoké	-	-
Riziková skupina	skóre		medián přežití		
Nízké riziko	0		5,7 roků		
Intermediární riziko I	0,5-1,0		3,5 roků		
Intermediární riziko II	1,5-2		1,2 roků		
Vysoké riziko	>2		0,4 roků		

Přes četnost klinických a experimentálních studií jsou léčebné možnosti MDS velmi omezené a mají v podstatě paliativní charakter. Výjimku představuje malá skupina pacientů, pro něž je díky vhodnému věku a díky nalezenému HLA identickému dárci kostní dřeně možné provedení alogenní transplantace s kurativním cílem. U ostatních se využívá tzv. konzervativní terapie, která se liší u cytopenických a leukemických typů MDS. U cytopenických typů jsou voleny takové léky, které by oddálily předčasnou apoptózu a umožnily řádnou maturaci buněk. Neúčinné jsou vitaminy, kortikoidy, anabolika, z antioxidantů amifostin, interferony, antiapoptotické směsi.¹⁷ Mezi akceptované terapeutické postupy patří cytokiny (především erythropoetin vesměs v kombinaci s jinými léky), dále léky, působící různým mechanismem, jehož součástí je i suprese tumor necrosis faktoru (cyklosporin A, ATG, infliximab, thalidomid a analog thalidomidu Revlimid). Svě místo mají chelatory železa. Úspěšnost léčby vesměs nepřesahuje 30 %.¹⁷ Leukemické typy MDS u mladých nemocných do 60 let jsou léčeny agresivní chemoterapií jako AML, což už spolu s transplantací není zahrnováno mezi konzervativní léčbu MDS. U starších pacientů je doporučována řada méně agresivních kombinací cytostatik nebo jen nízké dávky cytostatik. Naději pro onkologické nemocné obecně včetně nemocných s MDS skýtají inhibitory molekul angažovaných v regulaci růstu a zániku buněk.¹⁷

II. CÍL PRÁCE

Cílem této práce je studovat možnou souvislost mezi vznikem hematologických onemocnění a krevní skupinou pacienta. Impulzem ke zpracování této problematiky byla dlouhodobá pozorování pracovníků Ústavu hematologie a krevní transfuze (ÚHKT). Ač není známa příčinná souvislost mezi těmito dvěma jevy, v praxi byla pozorována vyšší spotřeba krevních přípravků skupiny A než odpovídá zastoupení krevních skupin v populaci. Pokud by byla prokázána tato závislost, bylo by možné přistoupit k preventivním opatřením a tím zlepšit prognózu pacientů.

V literatuře se problematikou závislosti vzniku hematologických onemocnění na krevních skupinách zabývá jen několik studií.

Mezi malajskou populací byla provedena studie sledující možný rozdíl mezi výskytem krevních skupin u mužů a žen s akutní leukémií (AML, ALL).¹⁸ Bylo zjištěno, že zatímco u mužů je zastoupení krevní skupiny 0 stejné jak mezi nemocnými tak zdravou populací, mezi ženami se vyskytovalo výrazně méně pacientek s touto krevní skupinou. Vzhledem k malému vzorku nejsou výsledky statisticky průkazné.

Obdobnou studii provedli lékaři v Austrálii, kde celkový soubor nemocných s leukémií (bez rozdílu pohlaví) byl sledován vůči kontrolnímu vzorku. Výsledkem této studie je nález signifikantně vyšší frekvence fenotypu A₂ u pacientů s chronickou lymfatickou leukémií.¹⁹

Zajímavé výsledky přinesly dvě studie z Asie korelující výskyt AB0 a akutní leukémie (AML, ALL) provedené na pediatrických pacientech do 12 let. Obě studie prokázaly u nemocných s akutní lymfoblastovou leukémií vyšší výskyt krevní skupiny 0. Zatímco indická studie²⁰ udává výskyt vyšší o 14,3 % oproti normální populaci, v iránské studii²¹ jde dokonce o více jak 56,5 %. Iránská studie dále uvedla, že ve skupině pacientů s akutní myeloidní leukémií se častěji vyskytuje krevní skupina A, a to o více jak 28,8 % proti kontrole.

Žádná z těchto studií nezohledňuje možné změny exprese antigenů v průběhu onemocnění.^{22,23,24,25,26}

III. MATERIÁL A METODIKA

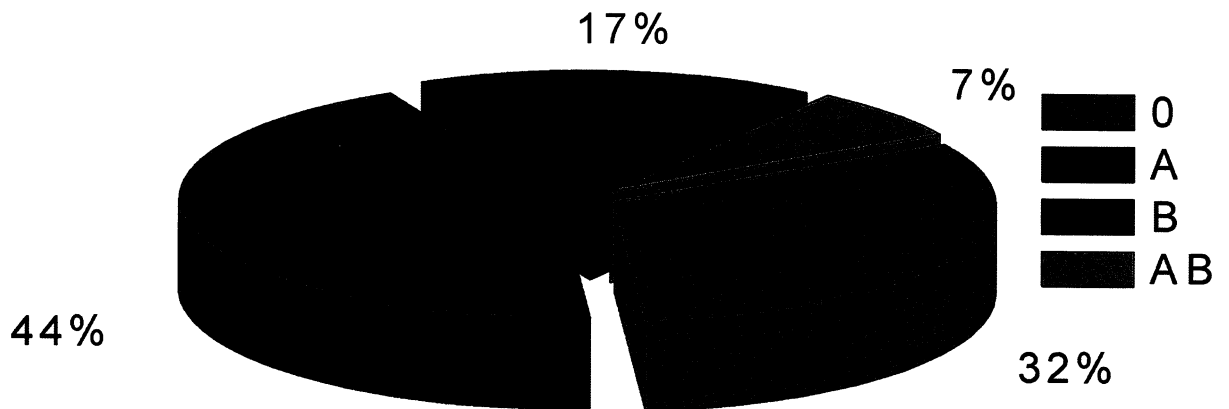
Praktickou část byla provedena v ÚHKT, na oddělení imunohematologie, pod odborným vedením MUDr. Martina Písačky.

Úkolem bylo zjistit počet pacientů transplantovaných v ÚHKT od roku 1990 až do současnosti, k tomu byly využity kartotéky transplantovaných pacientů v laboratoři č. 218 a kartotéky krevních skupin v laboratoři č. 216. Pacienti byli rozděleni podle diagnózy a krevní skupiny. Dále bylo sledováno datum narození, pozitivita specifických protilátek, změna krevní skupiny při transplantaci a zda nemocný ještě žije či nikoliv. Ze získaného souboru byli vyřazeni pacienti, u kterých nebyla data úplná. Set dat byl statisticky zpracován a vyhodnocen pod vedením doc. Ing. Naggyho (ČVUT) a Ing. Suttara (ÚHKT) pomocí chi-testu a pravostranného testu podílu.

IV. VÝSLEDKY

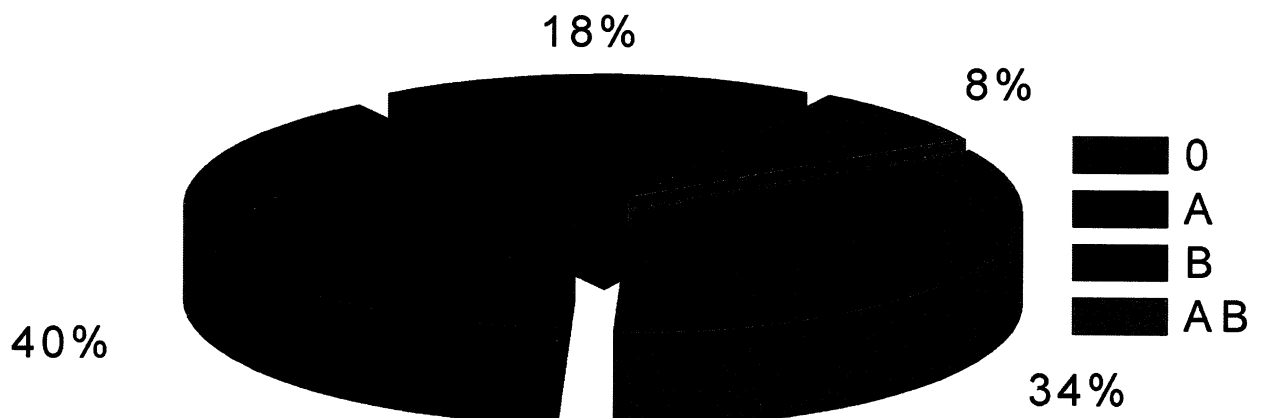
Od roku 1990 až do konce roku 2007 bylo v ÚHKT transplantováno 918 pacientů. Celý soubor byl rozdělen podle zastoupení jednotlivých krevních skupin (KS), obrázek 1.

Obr. 1: Zastoupení krevních skupin u transplantovaných pacientů ÚHKT

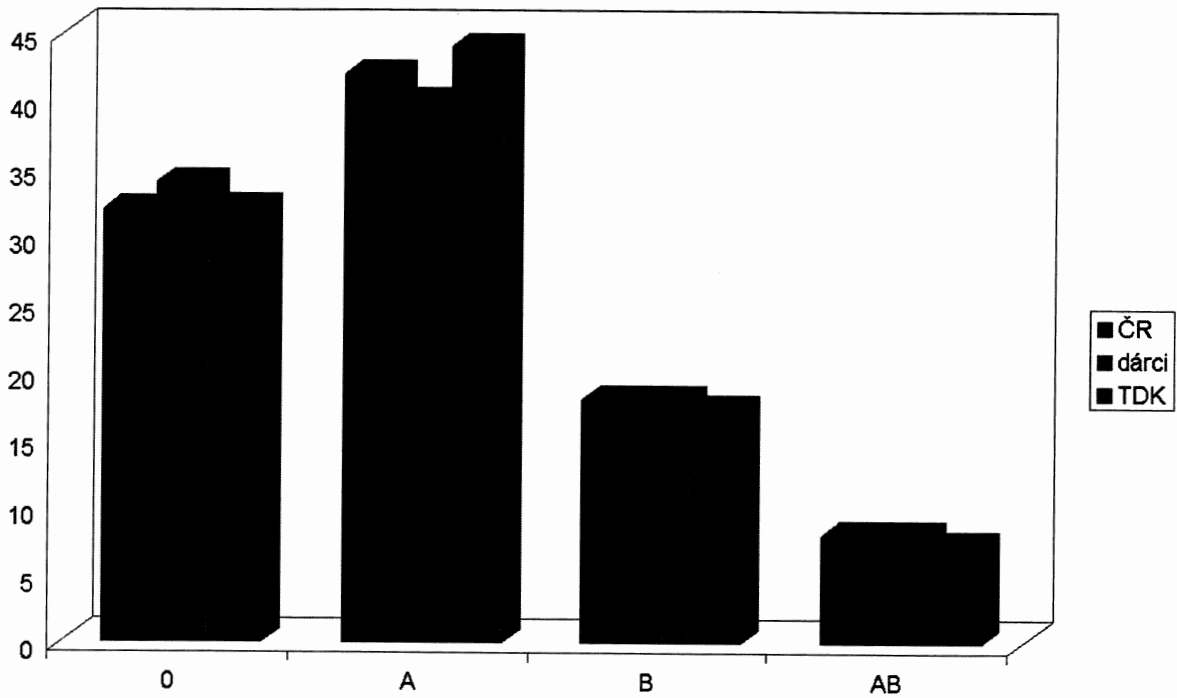


Skupina dárců krve ÚHKT byla také rozdělena dle procentuálního zastoupení jednotlivých KS (Obr. 2) a porovnána s rozložením KS transplantovaných pacientů (TDK) a se zastoupením KS v populaci České republiky²⁷ (Obr. 3).

Obr. 2: Zastoupení krevních skupin u dárců ÚHKT

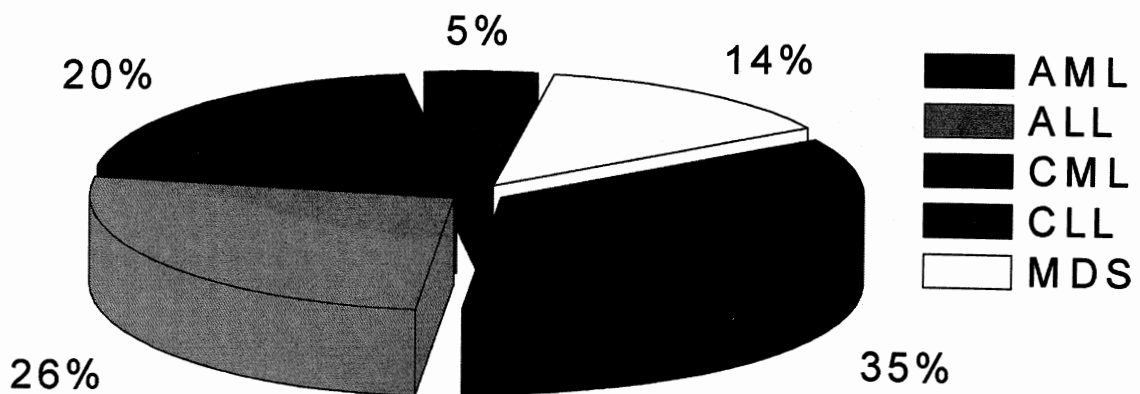


Obr. 3: Porovnání zastoupení krevních skupin v populaci ČR, u dárců a u TDK



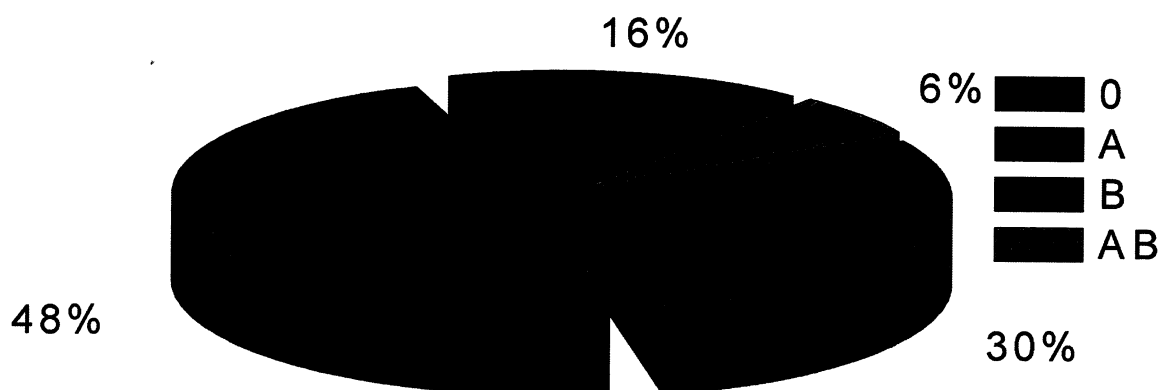
Nejčastějšími diagnózami byly akutní myeloidní (AML, C92.0) a lymfoblastická (ALL, C91.0) leukémie, chronická myeloidní (CML, C92.1) a lymfocytární (CLL, C91.1) leukémie a myelodysplastický syndrom (MDS, D46.0). Procentuální zastoupení těchto diagnóz je ukázáno na obrázku 4.

Obr. 4: Procentuální rozdělení nejčastějších diagnóz u transplantovaných pacientů

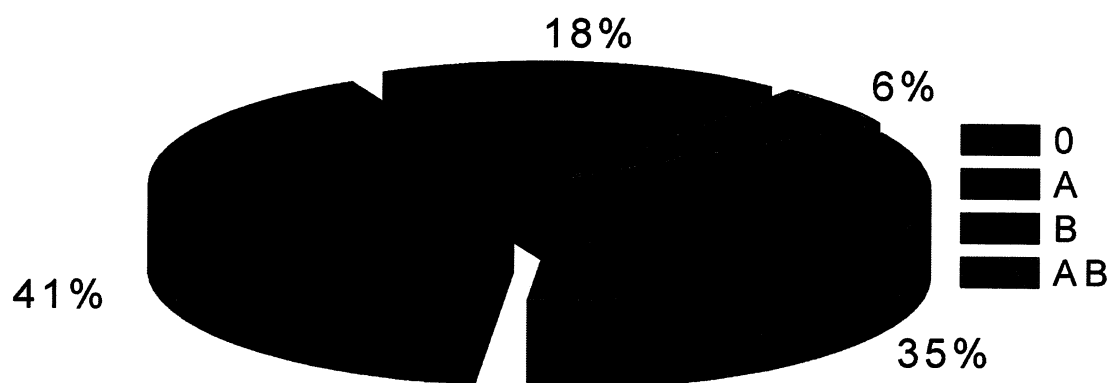


Na obrázcích 5-10 je znázorněno procentuální zastoupení krevních skupin u jednotlivých sledovaných diagnóz. Počet pacientů v souboru je uveden v závorce za názvem grafu.

Obr. 5: Zastoupení KS u pacientů s AML (254 pacientů)



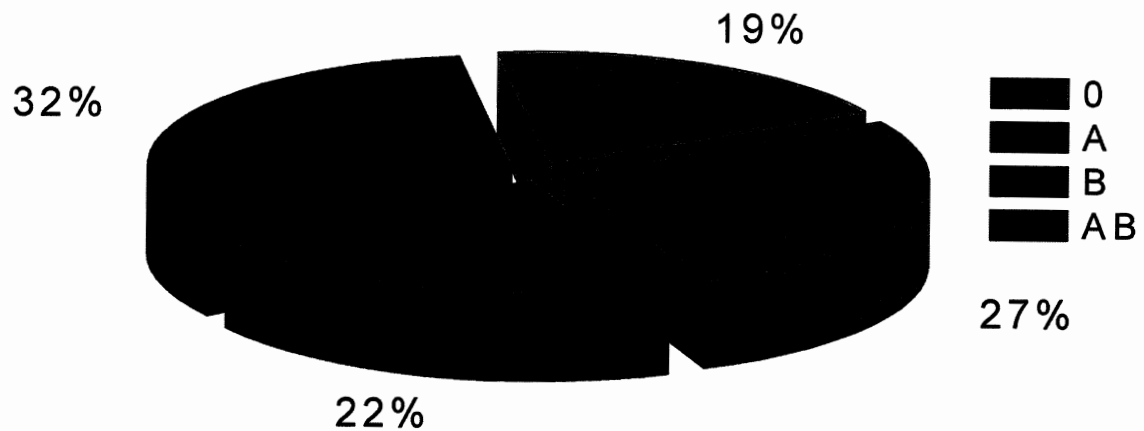
Obr. 6: Zastoupení KS u pacientů s ALL (188 pacientů)



Obr. 7: Zastoupení KS u pacientů s CML (141 pacientů)



Obr. 8: Zastoupení KS u pacientů s CLL (37 pacientů)



Obr. 9: Zastoupení KS u pacientů s MDS (98 pacientů)



Rozdělení pacientů, dle diagnózy a zároveň krevní skupiny je uvedeno v tabulce 12. Tato data byla použita jako vstupní pro statistické zpracování výsledků.

Tabulka 12: Rozdělení pacientů dle diagnózy a krevní skupiny

krevní skupina	AML	ALL	CML	CLL	MDS
0	77	66	52	10	26
A	121	77	51	8	50
B	41	34	25	12	15
AB	15	11	13	7	7

V. ZÁVĚR

Výsledky této práce potvrzují předchozí pozorování pracovníků ÚHKT o vyšší spotřebě krevních přípravků skupiny A u hematologických pacientů (Obr. 3) Není však zcela jasné zda tento fakt je opravdu způsoben vyšším počtem pacientů s krevní skupinou A, neboť byl také zjištěn nižší počet dárců skupiny A než odpovídá rozložení v populaci.

Výsledný set dat (Tabulka 12) byl statisticky zpracován pomocí chi-testu (kontingenční tabulky), který potvrdil statisticky významnou souvislost mezi krevními skupinami a hematologickými onemocněními. Významnost odchylek rozložení krevních skupin u jednotlivých onemocnění byla testována pomocí pravostranného testu podílu. Na hladině významnosti $p = 0,01$ byl prokázán vyšší výskyt AML a MDS u pacientů s krevní skupinou A. Ač data na Obr. 6 a 7 naznačují vyšší výskyt krevní skupiny 0 u pacientů s ALL a CML, nebyla tato souvislost statisticky prokázána.

Pro případné nalezení nových souvislostí a určení daných souvislostí na vyšší hladině významnosti je nezbytné tento výzkum zopakovat s větším souborem dat. Teprve tato rozsáhlejší studie by mohla prokázat zásadní souvislost mezi krevními skupinami a hematologickými onemocněními a poté by bylo možno přistoupit k primární preventivní péči.

Primární preventivní péče by spočívala v určení krevní skupiny populace. Osobám s rizikovou krevní skupinou by byl v rámci pravidelných preventivních prohlídek proveden odběr a rozbor krve pro záchyt případného onemocnění v co nejranějším stádiu a nejnižším věku, protože oba tyto faktory se odrážejí na úspěšnosti léčby.

Takovéto preventivní opatření naráží na důležitý etický aspekt – sdělit pacientovi s rizikovou skupinou, že má vyšší pravděpodobnost vzniku hematologického onemocnění než je incidence v populaci, či nikoli. Vědomí zvýšeného rizika vzniku takto závažného onemocnění může ovlivnit kvalitu života.

Na druhou stranu informace o krevní skupině pacienta uvedená v jeho kartě by usnadnila lékařům zvážit toto onemocnění při diferenciální diagnostice.

VI. SOUHRN

Hematoonkologická onemocnění patří mezi velmi závažná onemocnění často končící smrtí. Včasnou diagnostikou je možné zlepšit prognózu a prodloužit dobu přežití pacienta. Tato práce je zaměřena na studium souvislosti mezi krevními skupinami a hematoonkologickými onemocněními s cílem pomoci včasné diagnostice. Do studie byl zahrnut soubor 918 pacientů po transplantaci dřeně kostní, rozdělený podle krevních skupin a nejčastějších diagnóz. Pomocí chi-testu byla prokázána celková závislost hematoonkologických onemocnění na krevních skupinách a pomocí pravostranného testu podílu byl prokázán významně vyšší počet pacientů krevní skupiny A s akutní myeloidní leukémií a myelodysplastickým syndromem.

II. SUMMARY

Hematologic malignancies represent serious diseases with usually lethal consequences. Prognosis could be positively influenced by opportune diagnosis. This work is focused on study of the relationship between blood groups and hematologic malignancies, resulting in their earlier diagnosis. A set of 918 patients after bone marrow transplantation was sorted according to their blood groups and the most common diagnoses. Coherence between hematologic malignancies and blood groups for all the data set was statistically proven. Furthermore significantly higher ($p = 0,01$) abundance of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrom among blood group A patients was found.

VIII. LITERATURA

- ¹ M.Hrubiško a kolektiv, *Hematologie a krevní transfúze II.*, Státní zdravotnické nakladatelství 1983, 13-62
- ² S. Silbernagl, F. Lang, *Atlas Patofyziologie člověka*, Grada Publishing 2001, 28-60
- ³ W.F Ganong, *Přehled lékařské fyziologie*, Appleton & Lange, 1993, 431-452
- ⁴ M. Anděl, P. Gregor, J. Horák, M. Kment, P. Widimský, *Vnitřní lékařství díl III.b Hematologie*, T. Kozák pořadatel, Galén 2001, 15-33, 141-150, 157-160
- ⁵ P. Klener a kolektiv, *Hematologie - Vnitřní lékařství. Svazek VIII*, Galén 2003, 12-17, 53-61, 66-73
- ⁶ G. Daniels, *Human Blood groups*, Blackwell Science Ltd. 2002
- ⁷ K. Smetana a kolektiv, *Hematologie a transfuziologie I.*, 1992, 29-34, 107-116
- ⁸ J. Mayer, J. Starý a kolektiv, *Leukémie*, Grada Publishing 2002, 221-234, 240-252, 266-278, 300- 342
- ⁹ Z. Adam, J. Vorlíček a kolektiv, *Hematologie II přehled maligních hematologických nemocí*, Grada Publishing 2001,
- ¹⁰ Peter H. Wiernik, *Adult leukemias*, American Cancer Society 2001
- ¹¹ G.B. Faguet, *Hematologic Malignancies Methods and Techniques*, Humana Press 2001
- ¹² G.J.Schiller, *Chronic Leukemias and Lymphomas – Biology, Pathophysiology, and Clinical Management*, Humana Press 2003, 23-48, 93-107
- ¹³ J. Voglová, A. Poznarová, L. Chrobák, J. Rabasová, M. Beránek, J. Moravcová, E. Faber, H. Klamová, M. Cikhart, *Vnitřní Lékařství*, 50, 2004, No. 1, 21-29
- ¹⁴ T. Papajík, R. Urbanová, V. Procházka, K. Indrák, *Transfúze a Hematologie dnes*, 13, 2007, No. 2, 48-55
- ¹⁵ H.J. Deeg, D.T. Bowen, S.D. Gore, T. Haferlach, M.M. Le Bean, Ch. Niemeyer, *Hematologic Malignancies: Myelodysplastic Syndrome*, Springer 2006
- ¹⁶ <http://www.solen.cz/pdfs/int/2005/02/02.pdf>, *Myelodysplastický syndrom – pohled internisty*, MUDr. F. Málek, I. interní klinika FNKV, 3.lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha
- ¹⁷ R. Neuwirtová, *Transfúze a Hematologie dnes*, 10, 2004, No.4, 161-168
- ¹⁸ N. Jackson, B. S. Menon, W. Zarina, N. Zawawi, N. N. Naing, *Ann Hematol*, 1999, May, 78(5), 233-6

-
- ¹⁹ V. Janardhana, D. N. Propert, R. F. Green, *Cancer Genet Cytogenet*, 1991, January, 51(1), 113-20
- ²⁰ M. K. Vadivelu, S. Damodaran, J. Solomon, A. Rajaseharan, *Ann Hematol*, 2004, September, 83(9), 584-7
- ²¹ S. Alavi, H. Ashraf, A. Rashidi, N. Hosseini, M. Abouzari, M. Naderifar, *Pediatr Hematol Oncol*, 2006, December, 23(8), 611-7
- ²² M. Uchikawa, *Nippon Rinsho*, 1997, September, 55(9), 2369-73
- ²³ A. Fujita, S. Fujisawa, R. Hyo, H. Kuwabara, E. Yamazaki, N. Tomita, Y. Ishigatsubo, *Rinsho Ketsueki*, 2008, January, 49(1), 51-4
- ²⁴ K. Benson, *Immunohematology*, 1991, 7(4), 89-93
- ²⁵ T. Matsuki, S. Shimano, K. Furukawa, *Exp Clin Immunogenet*, 1992, 9(3), 125-9
- ²⁶ E. P. Ivamov, V. I. Levin, L. A. Smirnova, V. A. Molocho, *Gematol Transfuziol*, 1990, December, 35(12), 23-4
- ²⁷ V. Hule, M. Hrubisko, *Hematologie a krevní transfuze 2*, Státní zdravotnické nakladatelství Praha 1969