

MYELODYSPLASTICKÝ SYNDROM APLASTICKÁ ANÉMIE DIF.DG. PANCYTOPENIE

Prof. MUDr. J.Čermák,CSc.

MYELODYSPLASTICKÝ SYNDROM

klonální porucha krvetvorby (preleukémie, doutnající leukémie)

NOXA - poškození kmenové krvetvorné buňky → vznik mutace

MUTACE → možnost vzniku patologického klonu buněk z poškozené kmenové krvetvorné buňky

RŮSTOVÁ VÝHODA KLONU → možnost postupného nahrazení normální krvetvorby patologickým klonem.

OBRANNÁ REAKCE ORGANISMU

Za normálních okolností vede k eliminaci poškozené buňky.

Abnormální obranná reakce – může vést k nadprodukci cytokinů uplatňujících se v procesu buněčné smrti – apoptosy a v abnormální reakci T lymfocytů, jež může podporovat růst patologického klonu.

MUTACE

ONKOGENY :

Za normálních okolností nejsou exprimovány v genomu, jejich abnormální exprese v důsledku mutace může vést k aktivaci abnormální metabolické cesty, jež ve svém důsledku může mít pro buňku růstovou výhodu (např. abnormální aktivace tyrosin kinasy → kontinuální stimulace proliferace).

ANTIONKOGENY / tumor supresorické geny / :

Jsou za normálních okolností exprimovány v genomu a uplatňují se ve fyziologických pochodech (např. proces buněčné smrti – apoptosy).

Ztráta jejich exprese v důsledku mutace může vést k abnormální proliferaci nezávislé na regulačních faktorech.

MDS

ČASNÁ FÁZE MDS

Mutace vedoucí ke vzniku patologického klonu vede k poruše reparačních mechanismů buňky a k abnormální imunitní odpovědi → reakce na mutovanou kmenovou buňku, jež se jeví jako cizorodá → stimulace proliferace časných prekursorů a zvýšená apoptóza zralějších elementů krvetvorby (účinkem některých cytokinů).

Obraz buněčně bohaté kostní dřeně se současnou cytopenií v periferní krvi.

POZDNÍ FÁZE MDS

Nestabilita genomu (změny karyotypu) vedoucí k přibývání mutací. Zvýšená incidence mutací onkogenů, podporujících abnormální proliferaci (n-ras. flt-3) a inhibujících fyziologickou diferenciaci časných prekursorů (p15), mutace antionkogenů ovlivňující apoptózu buněk → progresivní nárůst počtu nezralých CD 34+ prekursorů v kostní dřeni náležících k patologickému klonu.

Obraz bohaté kostní dřeně s nárůstem počtu myeloblastů – leukemizace procesu.

FAB subtyp	% blastů ve dřeni	% prstenčitých sideroblastů	další kritéria
RA (refrakterní anémie)	< 5	< 15	< 1 % blastů v periferní krvi
RAS refrakterní anémie se zmnožením prstenčitých sideroblastů)	< 5	>15	< 1 % blastů v periferní krvi
RAEB (refrakterní anémie s nadbytkem blastů)	5 - 20	různé	< 5 % blastů v periferní krvi
CMML (chronická myelomonocytární leukemie)	1 - 20	různé	monocyty v periferní krvi >1x 10 ⁹ / l, zvýšené % monocytů ve dřeni
RAEB-T (refrakterní anémie s nadbytkem blastů v transformaci)	21 - 30	různé	> 5 % blastů v periferní krvi a < 30% blastů ve dřeni

FAB klasifikace myelodysplastického syndromu
(dle Bennetta et.al, Br J Haematol, 51, s.189, 1982)

MDS - WHO KLASIFIKACE 2016

MDS s dysplasií v jedné řadě

MDS s dysplasií ve více řadách

MDS s prstěncitými sideroblasty

5q- syndrom

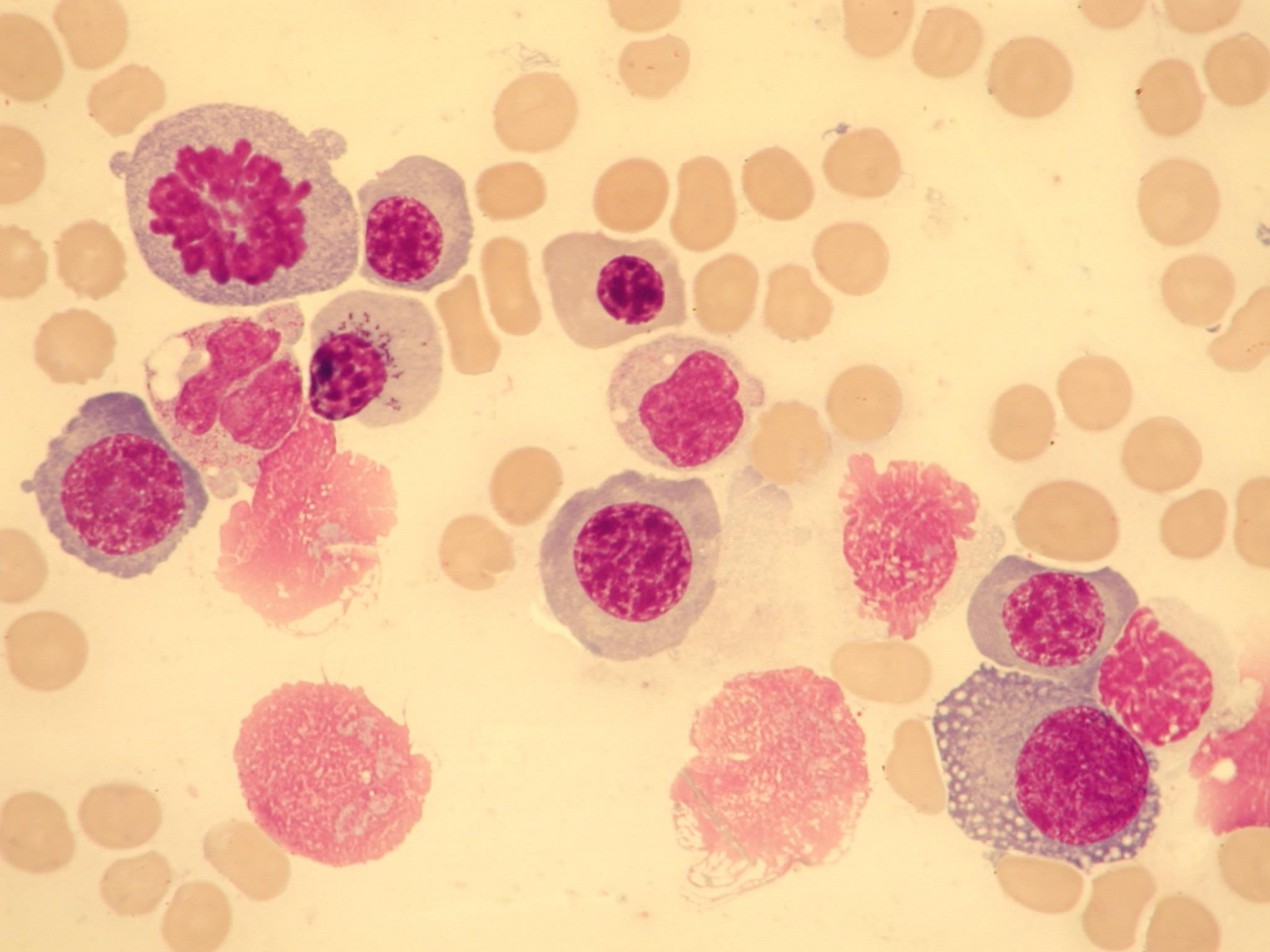
Myelodysplastický syndrom - neklasifikovatelný

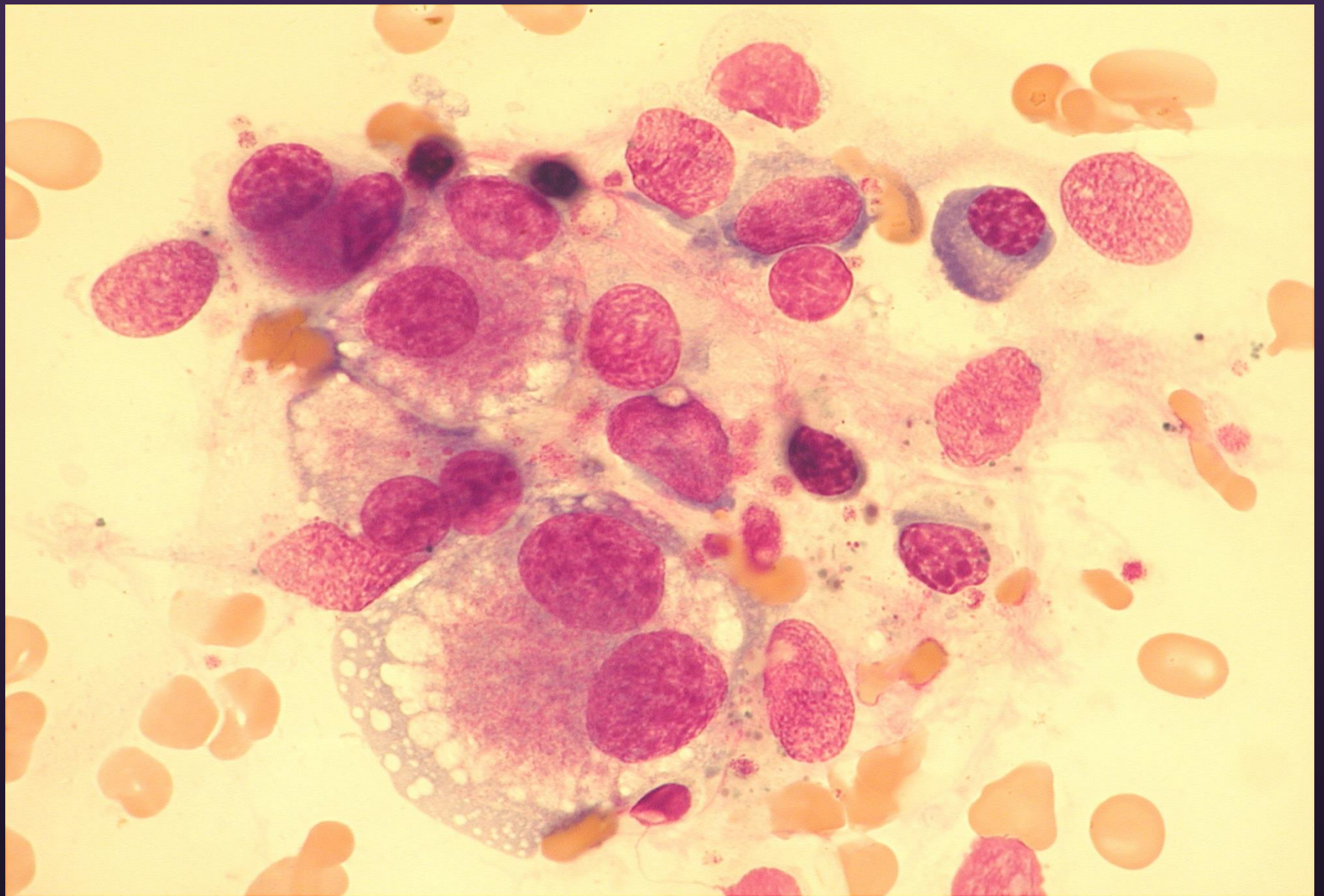
MDS s nadbytkem blastů /EB-1, EB-2/

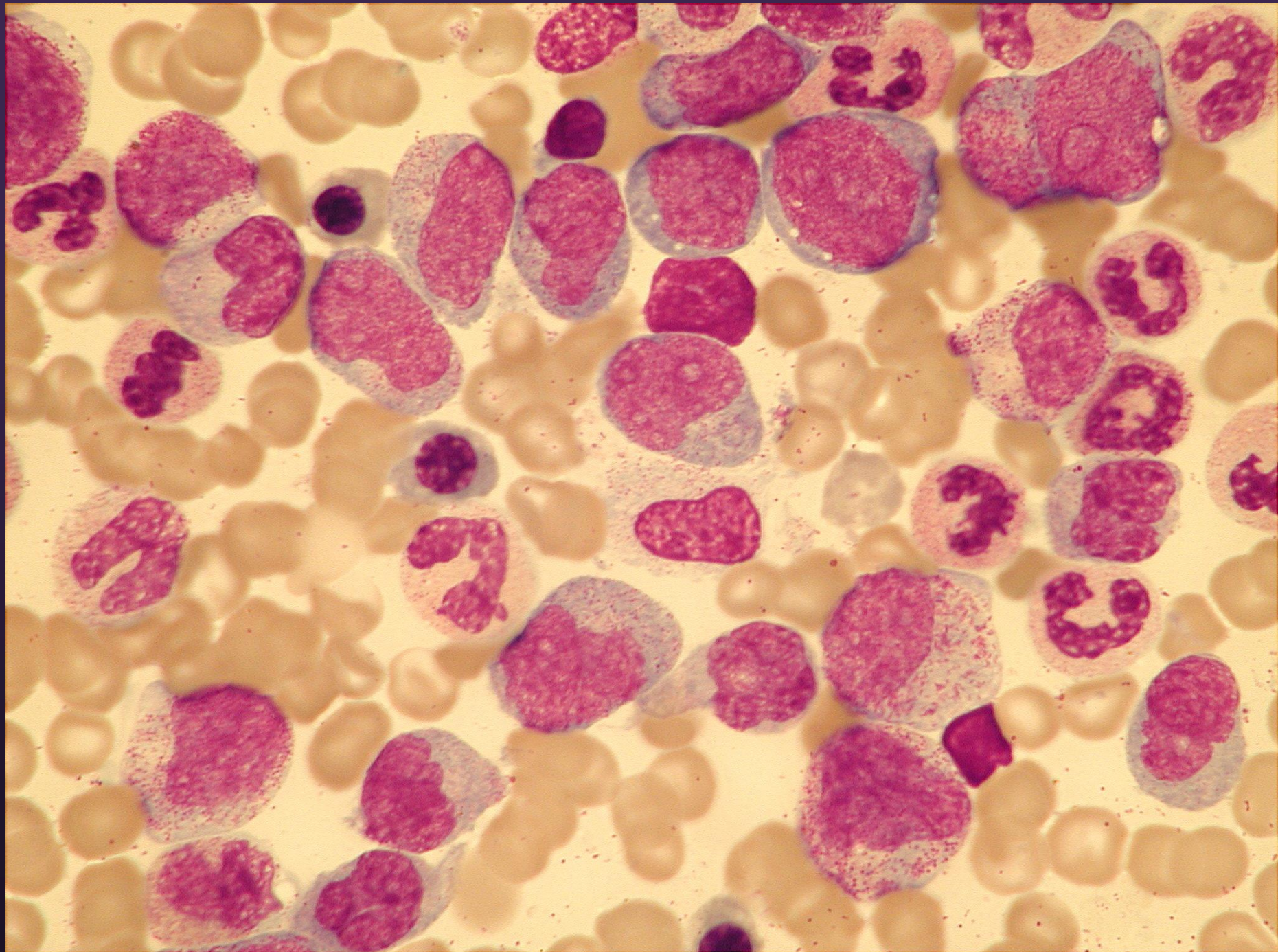
**Nemocní s > 20% blastů v kostní dřeni -
- akutní myeloidní leukémie**

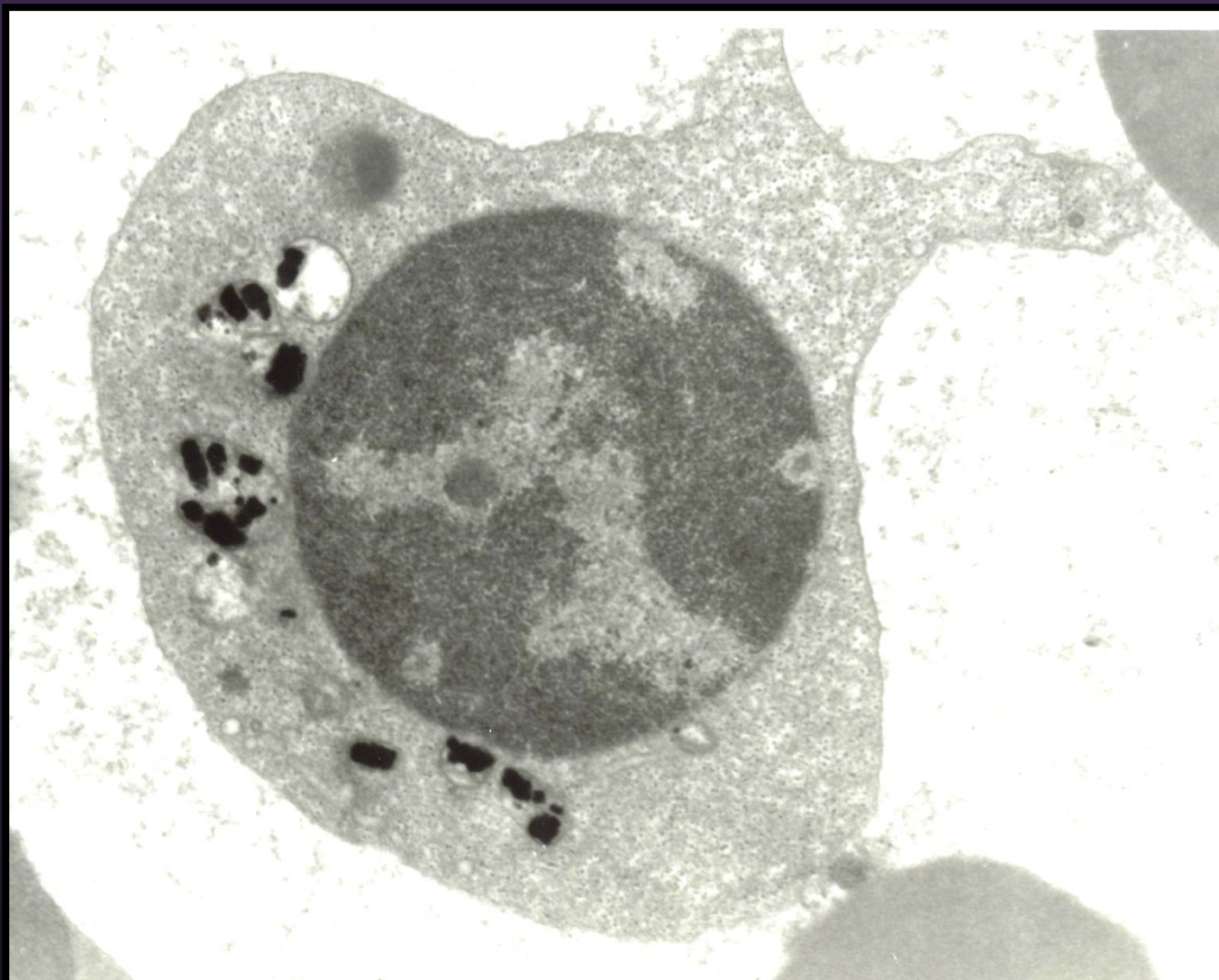
MDS - DIAGNOSTIKA

1. **Periferní krevní obraz** : cytopenie (různě vyjádřená v jednotlivých krevních řadách)
 2. **Sternální punkce** :
 - morfologie - dysplastické změny – atypie jádra, nesouběh zrání jádra a cytoplasmy, poruchy granulací a barvitelnosti cytoplasmy, megaloidie), buněčnost, procento blastů
 - cytochemie - barvení na Fe,PAS,PE,BE
 - cytogenetika - počet a charakter abnormit karyotypu – nejčastěji abnormity 5,7,8 chromosomu, mnohotné aberace
 - průtoková cytometrie - počet CD34+ prekursorů
 - kultivace dřeně in vitro, molekulární biologie
 3. **Trepanobiopsie dřeně** : buněčnost, topické změny, fibrosa
- Biochemická vyšetření** : Fe, feritin, B 12, erytropoetin, bilirubin, koagulace, vyšetření CD 55- a CD59- erytrocytů, testy na korpuskulární a extrakorpuskulární hemolysu.
- Celkové vyšetření nemocného – k vyloučení sekundárních hematologických změn při onemocnění jiného orgánu.**



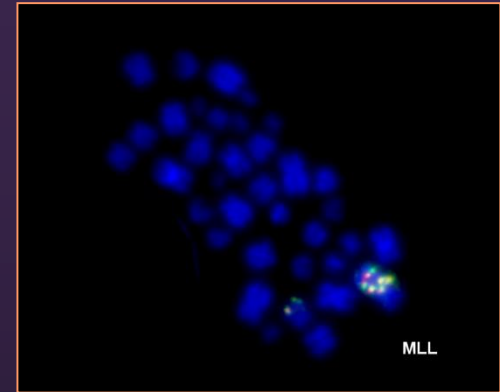
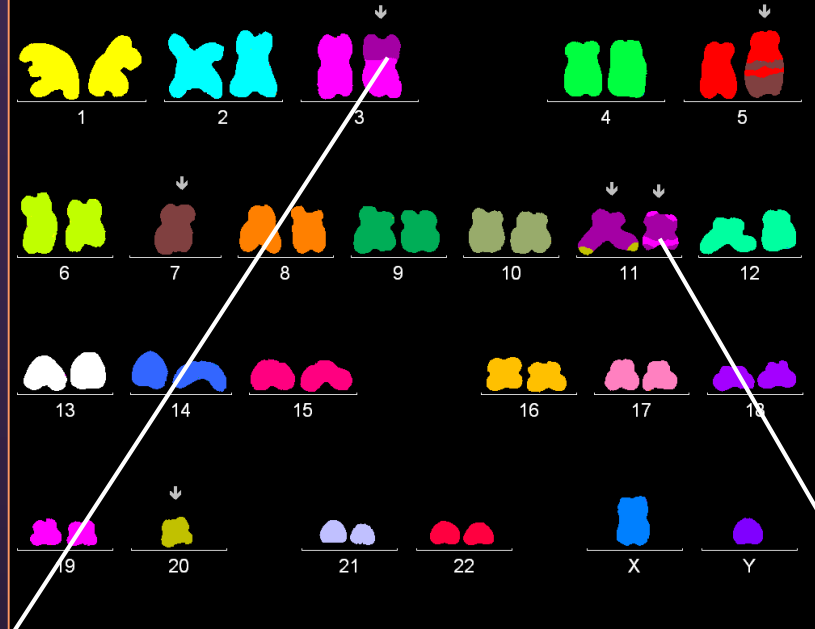








CENTRUM NÁDOROVÉ CYTOGENETIKY ÚKB LD, VFN a 1.LF.UK



translokace zahrnující 3q26



abnormální exprese EVI1

translokace zahrnující 11q23



amplifikace MLL genu

Alterace proliferace a diferenciace → nepříznivá prognosa

DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA MDS

1. APLASTICKÁ ANÉMIE

hypocelulární dřeň bez dysplastických změn, nejsou přítomny změny karyotypu a cytochemické změny, nejsou přítomny CD 59- erytrocyty, nejsou zmnoženy blasty, není přítomna fibrosa dřeně.

2. PAROXYSMÁLNÍ NOČNÍ HEMOGLOBINURIE

je přítomna intravaskulární hemolýza s hemoglobinurií, jsou přítomny CD 59- a CD 55- erytrocyty, nejsou přítomny změny karyotypu.

3. AKUTNÍ LEUKÉMIE

je přítomno více než 20% blastů (dle WHO klasifikace), nejsou dysplastické změny (pokud nejde o leukémii přechodem z MDS).

DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA MDS

4. MEGALOBLASTOVÉ ANÉMIE

je nápadná megaloblastová přestavba dřeně bez výrazných dalších dysplastických změn, nejsou přítomny změny karyotypu a cytochemické změny,

je přítomen deficit B12, resp. kyseliny listové , celkové příznaky (glositis, neurologické příznaky), nález v GIT (atrofická gastritis, malabsorpce), snížená produkce či protilátky proti vnitřnímu faktoru.

5. SIDEROBLASTICKÉ ANÉMIE

Vrozené a získané formy (otrava olovem, některé infekce a léky).
Nejsou změny karyotypu, charakteristická anamnéza.

Často přechodné dysplastické změny
(např. v průběhu infekcí).

I P S S

mezinárodní prognostický systém

Hodnota skóre

PROGNOSTICKÝ FAKTOR

0

0.5

1

1.5

2

Počet blastů ve dřeni / % /

<5

5-10

11-20

21-30

Počet cytopenií

0-1

2-3

Karyotyp

příznivý

intermediární

nepříznivý

/příznivý = normální, -Y, del 5(q), del 20(q)

nepříznivý = komplexní změny (≥ 3 abnormality), abnormality 7 chromosomu

intermediární = ostatní změny /

RIZIKO

skóre

Nízké

0

Intermediární - 1

0.5 - 1.0

Intermediární - 2

1.5 - 2.0

Vysoké

> 2.5

Revidovaný IPSS – stejné parametry, podrobnější cytogenetické dělení a klasifikace hloubky cytopenie

Kontrolní otázka 1 :

**Pro stanovení prognózy nemocných s MDS
není důležité :**

- A. Vyšetření počtu myeloblastů v kostní dřeni**
- B. Vyšetření chromozomálních změn**
- C. Vyšetření počtu retikulocytů v periferní krvi**

MDS - LÉČBA

1.PODPŮRNÁ LÉČBA

transfuze erytrocytů a trombocytů, chelatační léčba

2.LÁTKY INHIBUJÍCÍ STUPEŇ APOPTOZY

růstové faktory (EPO, G-CSF)

3.IMUNOSUPRESIVNÍ LÁTKY

kortikosteroidy + Cyclosporin A

(prednison 20-30 mg/den + CS-A 3 mg/kg/den)

antithymocytární globulin (ATG)

imunomodulační látky - lenalidomid

MDS - LÉČBA

4. HYPOMETYLAČNÍ / DIFERENCIAČNÍ LÁTKY

5-azacytidin, decitabin – reverse vyhasínání funkce diferenciačních genů (p15) → snížení počtu blastů, prodloužení doby do leukemizace procesu

5. CHEMOTERAPIE

monoterapie – hydroxyurea, cytosin arabinosid
(nízké dávky: $10-40 \text{ mg/m}^2$).

kombinovaná chemoterapie – anthracykliny + cytosin arabinosid
(standardní dávky: $100-200 \text{ mg/m}^2$, vysoké dávky $2-3 \text{ g/m}^2$).

6. TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK

allogení od HLA identického příbuzného či nepříbuzného dárce,
haploidentická - v současné době stále jediný kurativní přístup

3 leté přežití bez známek choroby : 40 – 45% RAEB, RAEB-T
60 – 65% RA.

Poměrně vysoké riziko komplikací při transplantaci (25-40%) – infekce,
reakce štěpu proti hostiteli.

Kontrolní otázka 2 :

**Jediným kurativním přístupem k nemocným
MDS je :**

- A. Vysokodávkovaná chemoterapie**
- B. Transplantace krvetvorných buněk**
- C. Podávání hypometylačních látek**

APLASTICKÁ ANÉMIE / DŘEŇOVÝ ÚTLUM

KRITÉRIA

Těžká aplastická anémie :

periferní krev - nejméně 2 kritéria :

$RTC < 0,1\%$ or $< 40 \times 10^9/l$

$NS < 0,5 \times 10^9/l$, $PLT < 20 \times 10^9/l$

kostní dřeň - snížení buněčnosti $< 30 \%$,
není fibróza

ETIOLOGIE

1. Idiopatická – 70%
2.
 - a) infekční hepatitis
 - b) jiné virové infekce (parvovirus B19, někdy HIV)
 - c) léky (CLMF, zlato, sulfonamidy)
 - d) záření
 - e) cytostatika
 - f) infekce (tbc), systémové choroby (lupus erytematodes).
 - g) chemické látky (benzén, pesticidy)

APLASTICKÁ ANÉMIE

PATOGENEZE

1. toxický účinek na kmenovou buňku resultující v apoptózu
2. toxický účinek na hemopoetické mikroprostředí
3. imunotoxicita (aktivace cytotoxických T lymfocytů, zvýšena tvorba cytokinů indukujících apoptózu – $\text{TNF}\alpha$, IL-1)
4. tvorba volných hydroxylových radikálů
5. přímé poškození DNA.

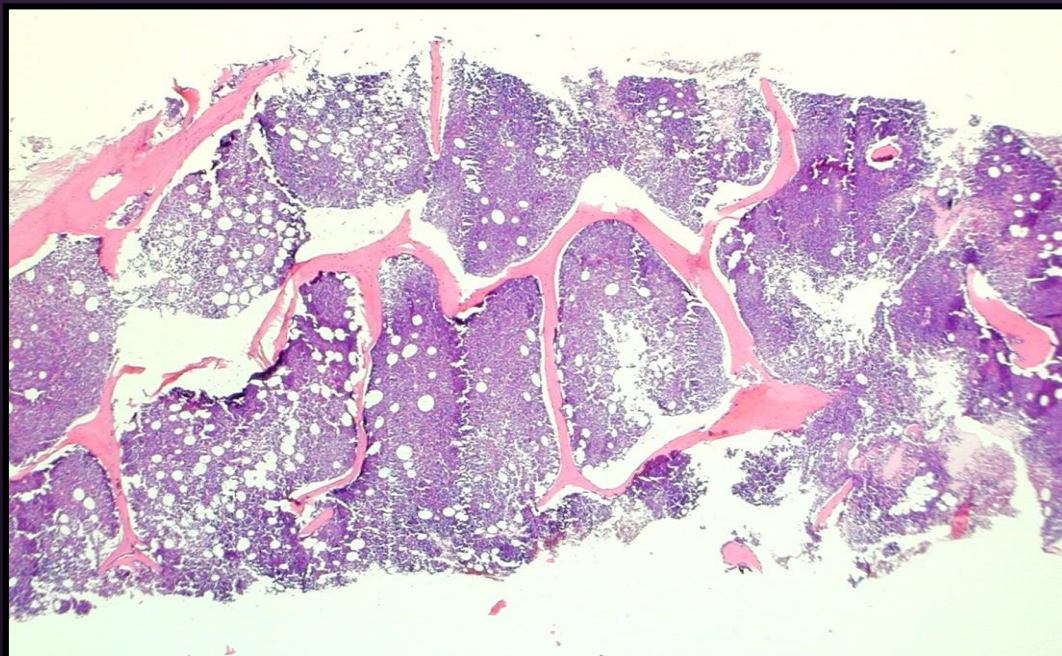
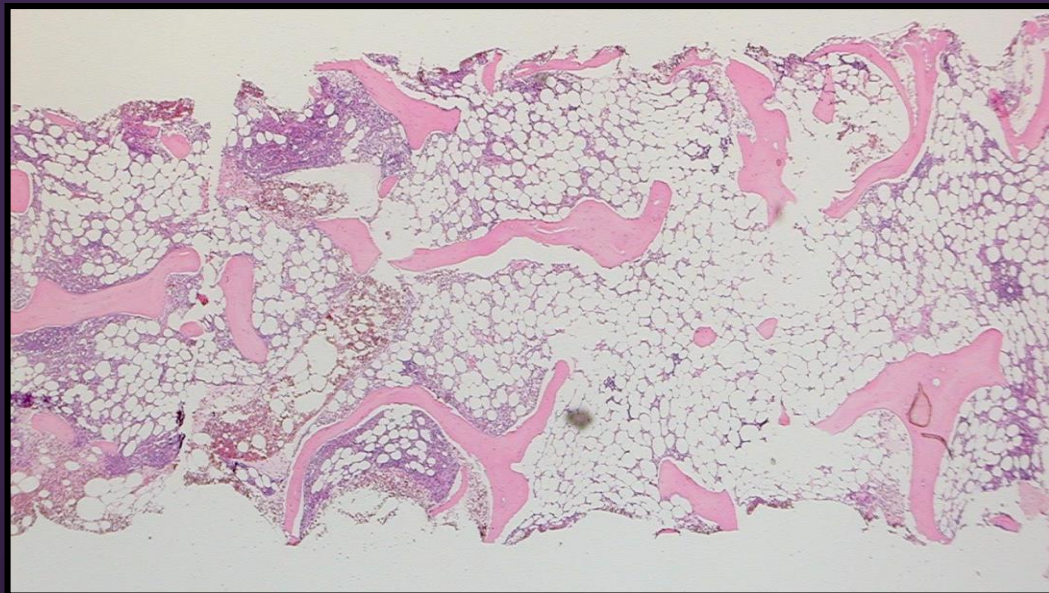
APLASTICKÁ ANÉMIE

DIAGNOSTIKA : periferní krevní obraz, punkce kostní dřeně
trepanobiopsie kostní dřeně
cytogenetika, CFU-GM růst in vitro
průtoková cytometrie

Hypoplastická tuková dřeň bez přítomnosti fibrozy a dysplasie, bez chromosomálních aberací, bez zmnožení blastů a bez známek infiltrace klonální lymfoproliferací či metastázami nádoru, snížený růst prekursorů krvetvorby in vitro.

DIF. DG.: **myelodysplastický syndrom** (dysplasie, změny karyotypu, zmnožení blastů, cytochemické abnormity)
paroxysmální noční hemoglobinurie
(i.v. hemolýza, CD 59-, CD55- krvinky)
myelofibrosa
(dřeňová fibrosa, ↑% of normoblastů a mladších granulocytů v periferní krvi, splenomegalie)
hypoplastická forma akutní leukemie
(zvýšené % blastů v kostní dřeni)
leukémie z vlasatých lymfocytů
(fibrosa, vlasaté lymfocyty, splenomegalie)

APLASTICKÁ ANÉMIE



MDS

APLASTICKÁ ANÉMIE - LÉČBA

a) ALLOGENÍ TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK

těžká aplastická anémie, nemocní < 55 let.

efekt– HLA shodný příbuzný dárce – 3 leté přežití – 70-90%

nepříbuzný či částečně shodný dárce – 3 leté

přežití – 60% (pouze u relapsů po imunosupresi či u velmi mladých nemocných)

b) KOMBINOVANÁ IMUNOSUPRESE

ATG – 4 mg/kg/4-5 dní + Prednison - 1 mg/kg/den 14 dní +

Cyclosporin A – 3 mg/kg/den nejméně 6 měsíců.

efekt – 3 leté přežití - 70% nemocných.

c) AGONISTÉ TROMBOPOETINOVÉHO RECEPTORU +/- EPO

zejména u lehčích forem, efekt u 60-70% nemocných

d) PODPŮRNÁ LÉČBA

transfuze erytrocytů a trombocytů

antibiotika, antimykotika, růstové faktory (G-CSF), imunoglobuliny.

ČISTÁ APLASIE ČERVENÉ KREVNÍ ŘADY (PRCA)

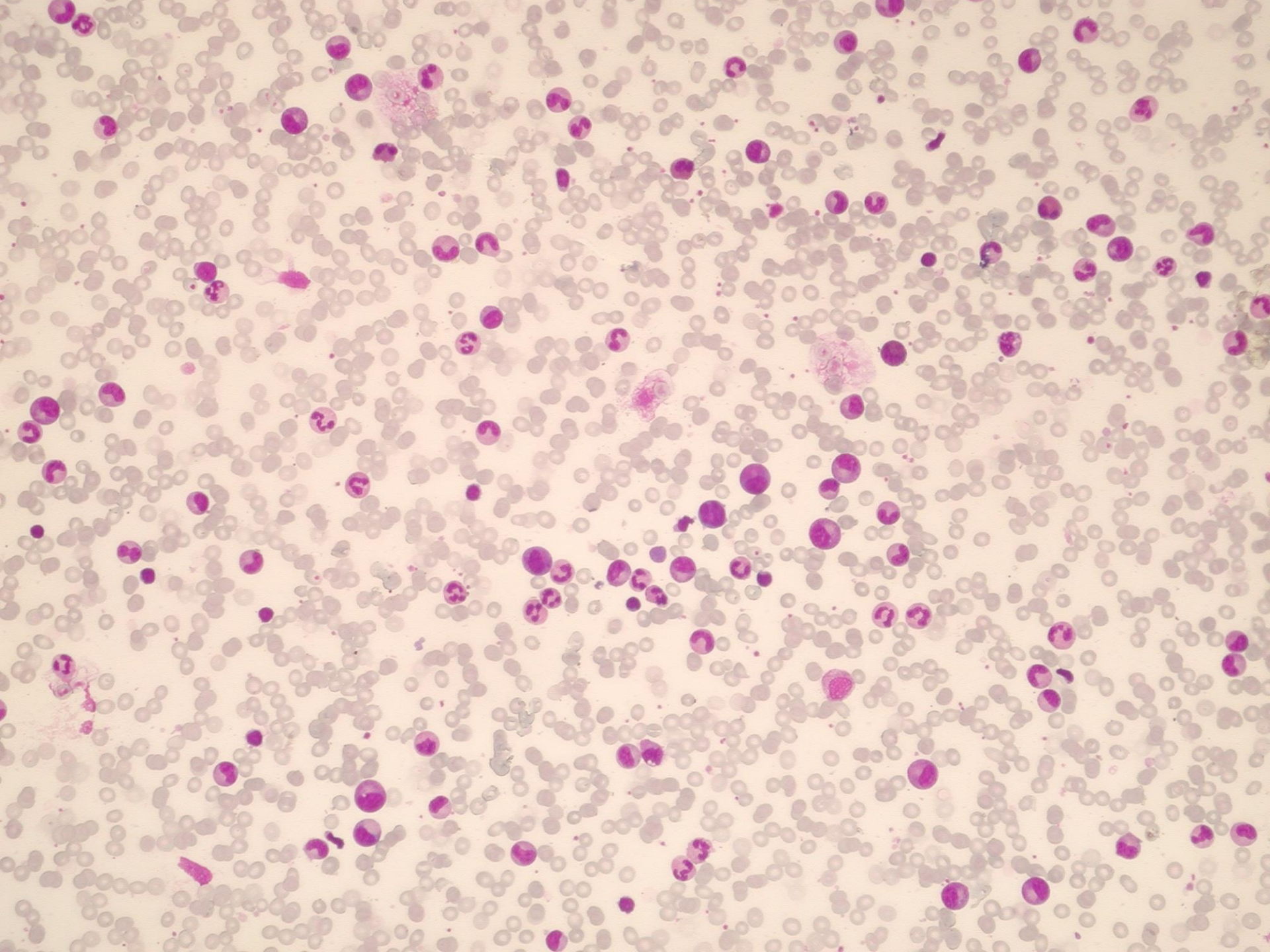
normochromní normocytární anemie, $\downarrow$ RTC $< 0.1\%$,
 $\downarrow$ erytroblastů v kostní dřeni $< 0.5\%$ + normální počty leuko a trombo.

VROZENÁ FORMA: Diamond Blackfanův syndrom

ZÍSKANÁ FORMA : idiopatická
sekundární -

1. tymom
2. hematologické malignity
(chronické lymfoproliferace)
3. infekce (parvovirus B19 ,
hepatitis, infekční mononukleóza)
4. solidní nádory
5. systémové choroby

ETIOLOGIE : plasmatický IgG inhibitor, protilátky proti EPO,
přímé toxické poškození prekursorů erytropoézy.
aktivace cytotoxických lymfocytů namířených
proti erytroidním prekursorům



DIAGNOSTIKA

periferní krev – normocytární normochromní anemie,

RTC < 0,1 %, normální počty leuko a trombo

kostní dřeň - absence prekursorů červené řady (< 0.5%),
jinak normální

normální sFe, sFerritin, sBilirubin, sB12, s kyselina listová, ↑ sEPO
normální karyotyp

LĚČBA

kombinovaná imunosuprese :

Prednison 20-30 mg/den + Cyclophosphamide 50-150 mg/den
+ Cyclosporin A 5-15 mg/den

ATG, i.v. IgG, plasmaferesa, thymektomie.

Kontrolní otázka 3 :

Do obrazu aplastické anémie nepatří :

- A. Hypoplasie kostní dřeně**
- B. Zmnožení blastů v kostní dřeni**
- C. Pancytopenie v periferní krvi**

PAROXYSMALNÍ NOČNÍ HEMOGLOBINURIE

ETIOLOGIE A PATOGENEZE

noxa vyvolávající mutaci PIG-A genu zodpovědného za tvorbu glykosylfosfatidyl inositolu, jenž se uplatňuje při vazbě některých proteinů k membráně – CD 59 /MIRL/ a CD 55 /DAF/ - inhibitory aktivovaných složek C3b a C8b komplementu.

Důsledek: abnormální senzitivita buněk k lýze aktivovaným komplementem.

KLINICKÝ OBRAZ

hemoglobinurie (často s maximem po ránu), někdy po předchozí provokaci (infekce, menses, zátěž), bolesti břicha, tlak na prsou, zvýšený sklon k tvorbě trombóz. Uvolněný Hb při intravaskulární hemolýze –

1. konsumpce NO-prolongovaná vasokonstrikce – ischemie, bolesti
2. aktivace koagulačního systému- trombofilie, trombózy v mezenterálním, portálním řečišti.

PAROXYSMALNÍ NOČNÍ HEMOGLOBINURIE

DIAGNOSTIKA

normocytární normochromní anemie, leukopenie, trombocytopenie
hemoglobinurie, ↑ RTC

↑ sBilirubin, ↑ volný Hb v séru, ↑ LDH, ale negativní testy na hemolýzu :
normální Coombsův test, normální osmotická rezistence
a autohemolýza

Hamův test – hemolýza erytrocytů nemocného okyseleným sérem
obsahujícím komplement

Průtoková cytometrie – deficit CD59 a CD55 antigenů na erytrocytech
a na granulocytech.

LÉČBA

transfuze erytrocytů (deleukotizované, promyté)
prevence trombotických komplikací - antikoagulancia

při selhávání kostní dřeně – těžké cytopenii :

kortikosteroidy v kombinaci s imunosupresivy (CS-A, ATG)

transplantace krvetvorných buněk

při těžké hemolýze, trombotických komplikacích :

inhibice koagulační kaskády (eculizumab - anti C5 komplementu)

Průtoková cytometrie

PNH III. erythrocyty

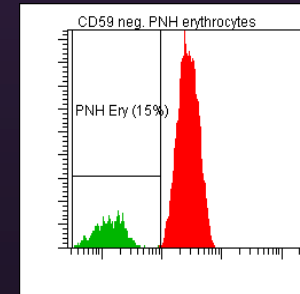
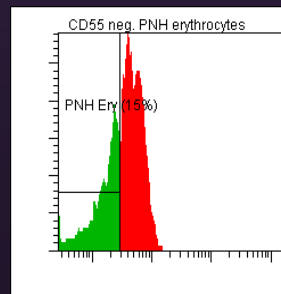
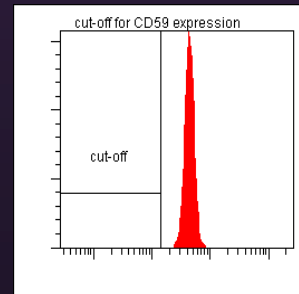
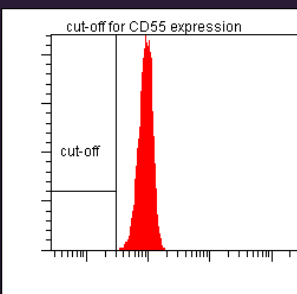
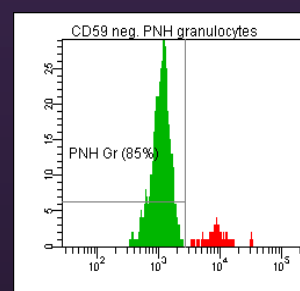
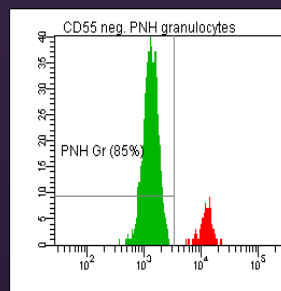
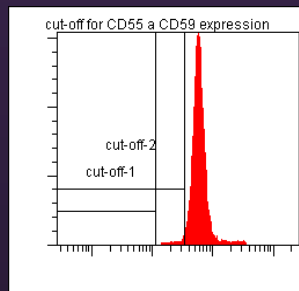
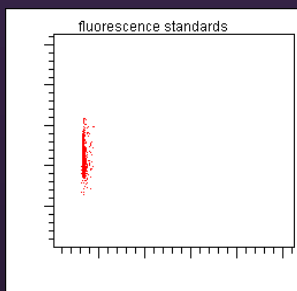
25%

/PNH Redquant,™/

PNH granulocyty

70%

/PNH Cellquant,™/



Kontrolní otázka 4 :

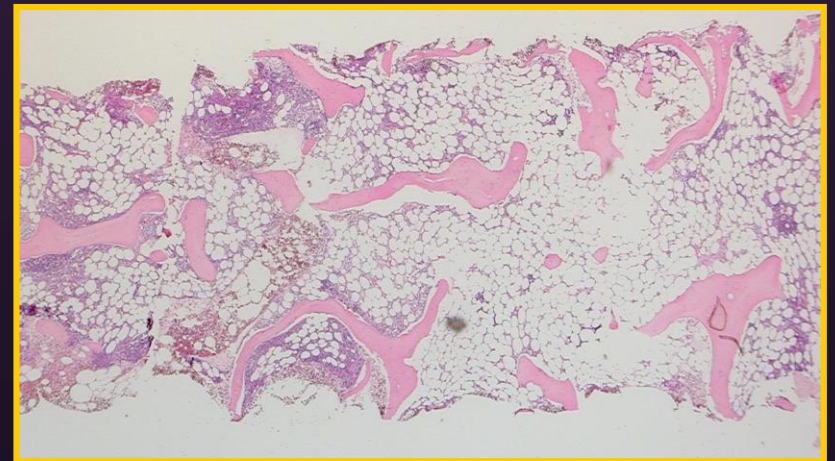
Pro diagnostiku PNH je zásadní :

- A. Průkaz protilátek proti erytrocytům**
- B. Průkaz deficitu inhibitorů komplementu na povrchu buněk**
- C. Průkaz dysplastických změn v kostní dřeni**

DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA PANCYTOPENIE

PANCYTOPENIE S HYPOCELULÁRNÍ KOSTNÍ DŘENÍ

získaná aplastická anemie
vrozené aplastické anemie (např. Fanconiho anemie)
hypoplastická forma myelodysplastického syndromu
hypoplastická forma akutní leukémie de novo
lymfoproliferativní onemocnění (leukemie z vlasatých lymfocytů)
infekce (tbc, legioneloza)
hypothyreóza



DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA PANCYTOPENIE

PANCYTOPENIE S NORMOCELULÁRNÍ ČI HYPERCELULÁRNÍ DŘENÍ

Primární postižení kostní dřeně :

myelodysplastický syndrom
některé formy akutní leukemie – akutní promyelocytární leukemie
paroxysmální noční hemoglobinurie
některé lymfoproliferativní onemocnění
myelofibrosa – časná stadia

Sekundární postižení kostní dřeně při systémových onemocněních :

lupus erytematodes, sarkoidosa
infekce (tbc, brucelosa, sepse)

