



Laboratorní vyšetření v hematologii + Chronická lymfocytární leukemie

Martin Špaček

I. interní klinika – klinika hematologie
a Centrální hematologické laboratoře ÚLBLD

Úvod

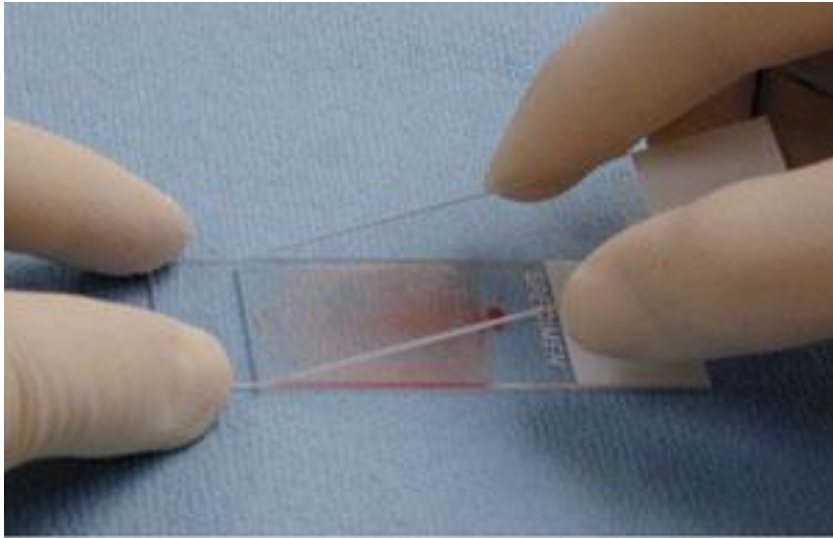
- Laboratorní vyšetření v hematologii
 - Krevní obraz + diferenciál, ICIS skóre
 - Imunofenotypizace (FACS)
- Chronická lymfocytární leukemie

Krevní obraz + diff + rtc

- **Krevní obraz**
 - Leukocyty: WBC
 - Erytrocyty: RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW
 - Trombocyty: PLT, MPV, PCT, PDW; *frakce nezralých trombocytů*
 - *Normoblasty*
- **KO + diferenciál leukocytů**
 - Neutrofily, lymfocyty, monocyty, eozinofily, bazofily; *nezralé granulocyty*
 - Manuální (mikroskopický) diferenciál leukocytů
- **Retikulocyty**

Diferenciální počet leukocytů (KO + diff)

- Krevní analyzátor
- Mikroskopický diferencíál leukocytů (= nátěr)
 - Manuální



Diferenciální počet leukocytů (KO + diff)

- Krevní analyzátor
- Mikroskopický diferenciál leukocytů (= nátěr)
 - Manuální
 - Automatický (digitální morfologie)

Hematologický analyzátor

**Digitální
morfologie**

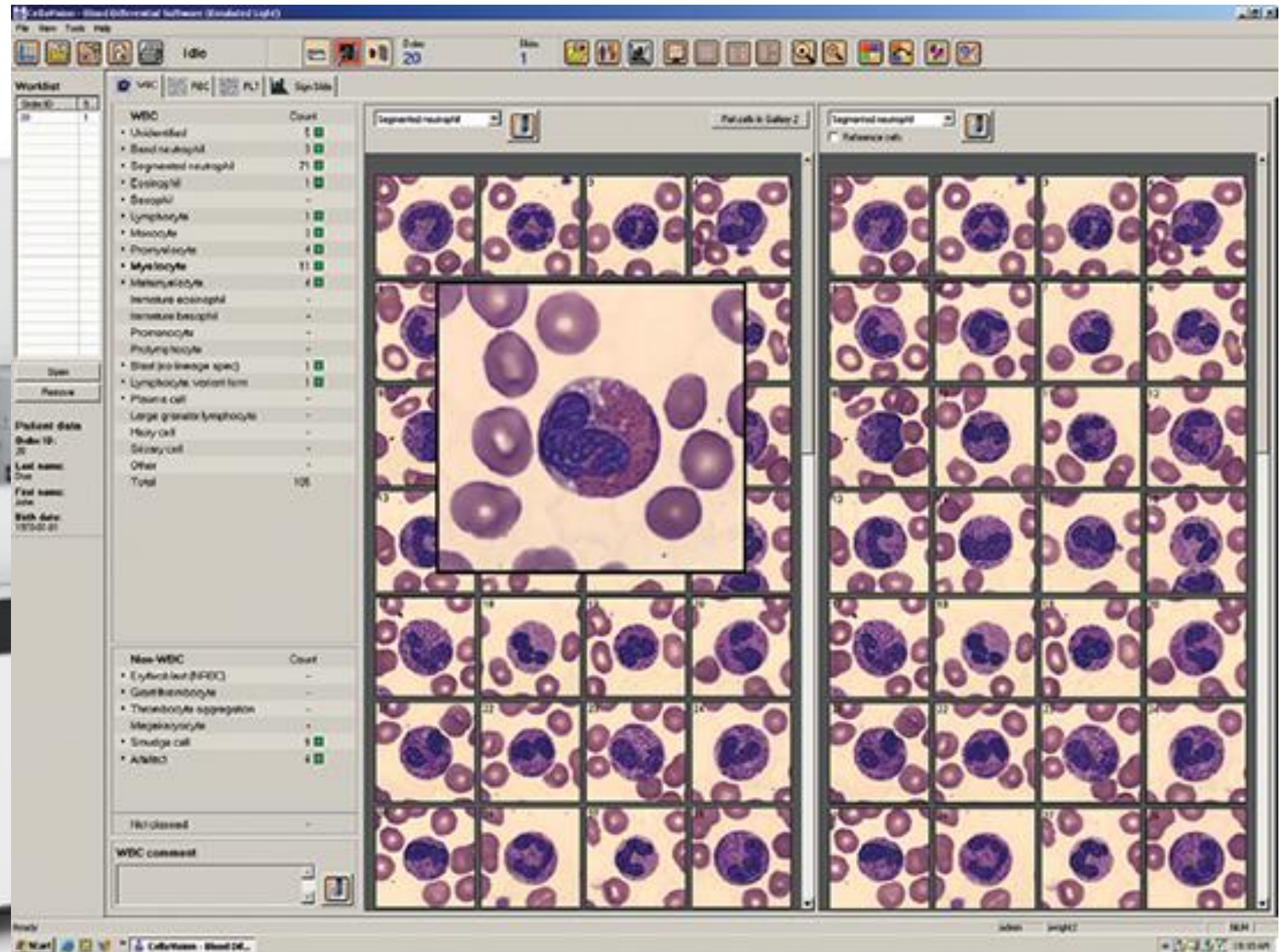
**Nátěrový a
barvicí automat**

**Krevní
analyzátory**



Hematologický analyzátor

Digitální
morfologie



Nadstavbové parametry KO

- **Frakce nezralých trombocytů (%)**
- IPF – Immature Platelet Fraction
- Význam v dif. dg. trombocytopenie
- ↑ zvýšená spotřeba či destrukce
- ↓ snížená produkce v kostní dřeni

Imunitní trombocytopenie

- 34 letá žena
- PL: „exantém“ > dermatologie > interna
- Petechie

Krevní obraz-perifer			
10 ⁹ /l	4,00..10,00	Leukocyty WBC	4,54
10 ¹² /l	3,80..5,20	Erytrocyty RBC	4,59
g/l	120..160	Hemoglobin HGB	134
l	0,350..0,470	Hematokrit HCT	0,380
fl	82,0..98,0	Stř.obj.ery MCV	82,8
pg	28,0..34,0	Stř.mn.hem.v ery MCH	29,2
g/l	320..360	Stř.konc.hem. v ery MCH	353
%	10,0..15,2	Distr.křiv.ery RDW	12,3
10 ⁹ /l	150..400	Trombocyty PLT	2
%	0,8..6,3	Mladé frakce trombocytů	34,4
fl	7,8..11,0	Stř.obj.trombo MPV	<u>Txt+His</u>
%	0,120..0,350	Tromb.hematokrit PCT	<u>Txt+His</u>
fl	9,0..17,0	Distr.křiv.tr. PDW	<u>Txt+His</u>
-		Shluky PLT	
Dif.stroj. relativní			
%	45,0..70,0	Neutrofily NE	49,8
%	20,0..45,0	Lymfocyty LY	46,5
%	2,0..12,0	Monocyty MO	3,3
%	0,0..5,0	Eozinofily EO	0,0
%	0,0..2,0	Bazofily BA	0,4
Dif.stroj. absolutní			
10 ⁹ /l	2,00..7,00	Neutrofily abs. NE	2,26
10 ⁹ /l	0,80..4,00	Lymfocyty abs. LY	2,11
10 ⁹ /l	0,08..1,20	Monocyty abs. MO	0,15
10 ⁹ /l	0,00..0,50	Eozinofily abs. EO	0,00
10 ⁹ /l	0,00..0,20	Bazofily abs. BA	0,02
Diferenciál manuální			
<+>			
Ostatní hematologie-			
%	0,0..0,6	Nezralé granulocyty	0,2
10 ⁹ /l	0,00..0,09	Nezralé granulocyty abs.	0,01
-	0,00..0,00	Normoblasty / 100 L	0,00
10 ⁹ /l	0,00..0,00	Normoblasty abs. strojov	0,00
%	5..25	RTC stroj.	10
10 ¹² /l	0,025..0,100	RTC abs. stroj.	0,044
pg	28,0..38,0	Koncentrace hem. v RET	29,2

Normoblasty – NRBC (Nucleated Red Blood Cell)

- Normoblasty = erythroblasty = nezralé červené krvinky
- Normoblasty → retikulocyty → erytrocyty
- Normální hodnota = 0 (% a $10^9/l$)
 - ↑ reaktivní nález
 - ↑↑ hemolytické anémie, hematologická onemocnění

Nezralé granulocyty – IG (Immature Granulocytes)

- Počet nezralých granulocytů
- Je součástí diferenciálu z analyzátoru
- Zvýšené hodnoty = „hrubší posun doleva“
- Časný marker bakteriální infekce, sepse



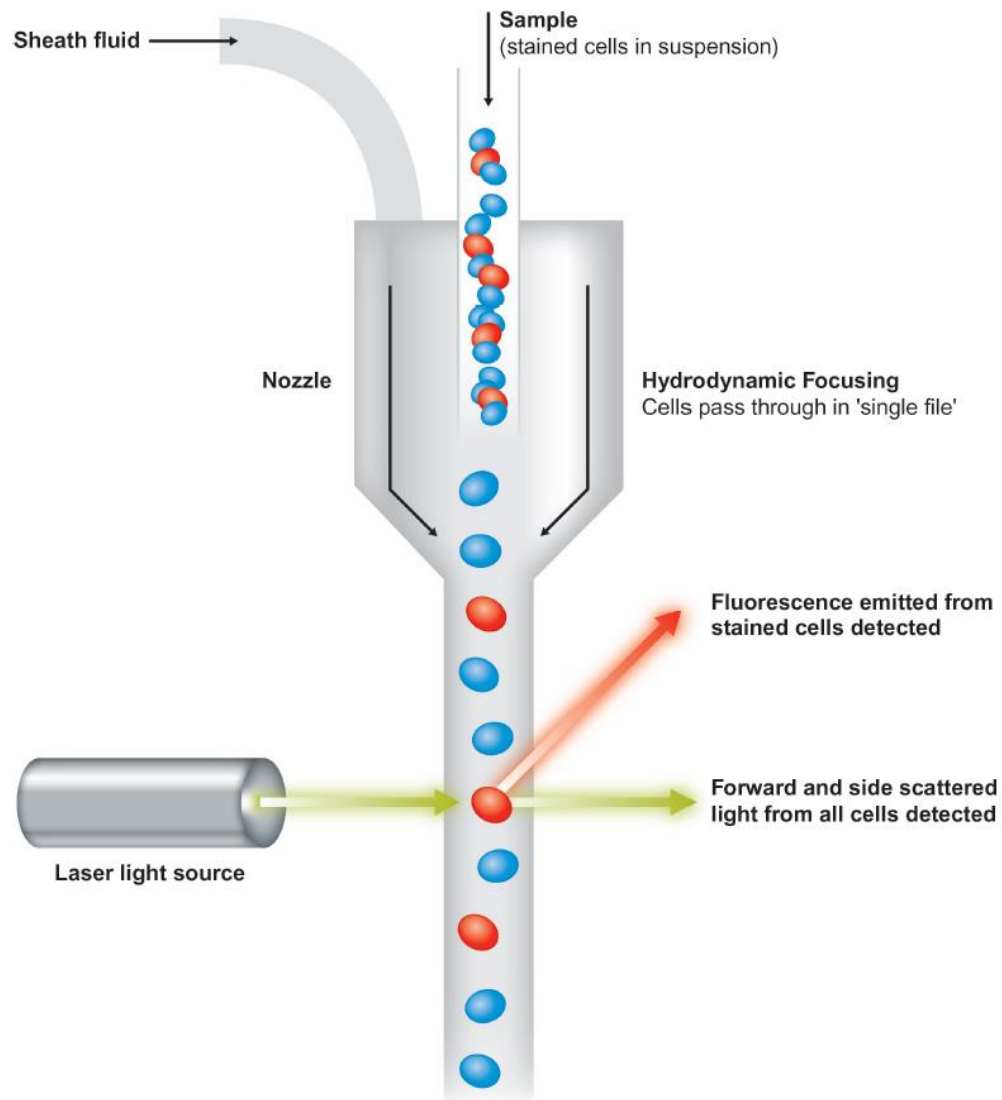
ICIS skóre

- **Intensive Care Infection Score**
- Výpočet z 5 parametrů krevního obrazu (KO+diff+rtc)
 - Neutrofily počet/fluorescence, IG, lymfo produkující protilátky, Ret-He
- ICIS ≤ 5 nízké riziko sepse/bakteriální infekce
- Monitorace odpovědi na ATB

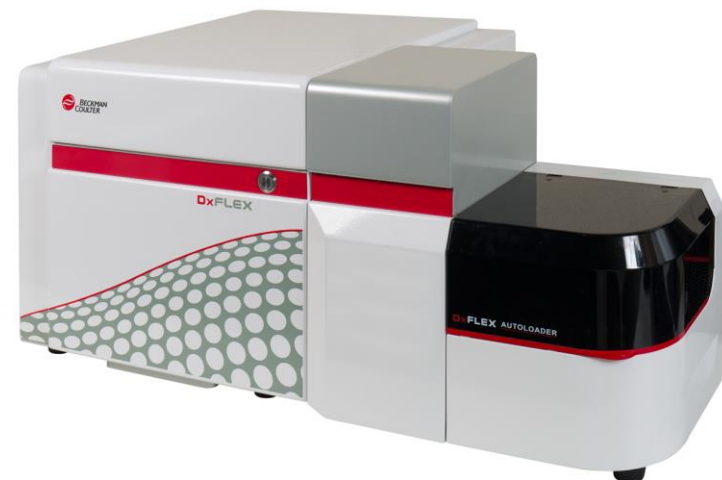
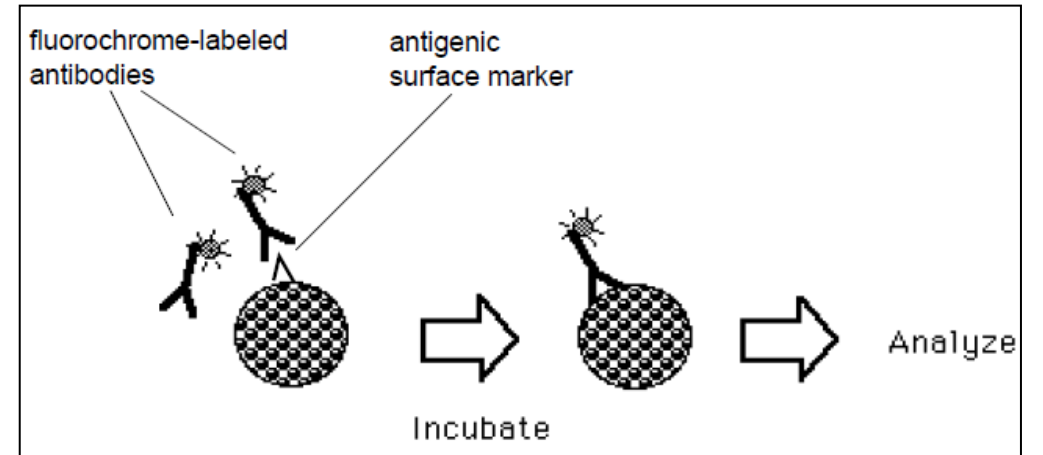
Referenční meze – minimum k zapamatování

- **WBC:** $4-10 \times 10^9/l$
- **Hgb:** muži 135-175 g/l, ženy 120-160 g/l
 - Významná anémie (k transfúzi): $< 80 \text{ g/l}$
- **PLT:** $150-400 \times 10^9/l$
 - Významně zvýšené riziko krvácení: $< 20 \times 10^9/l$
- **Neutrofily:** $2,0-7,0 \times 10^9/l$
 - Významná neutropenie (stupeň 3): $< 1,0 \times 10^9/l$

Průtoková cytometrie (flow cytometry)



Fluorescence-activated cell sorting (FACS)



Imunofenotypizace průtokovou cytometrií

- Identifikace buněk pomocí panelu různých protilátek značených fluorchromy
- CD klasifikace (Cluster of Differentiation)
- Vyšetřované vzorky
 - PK, KD, lymfatické uzliny, likvor, punktáty...
- Diagnostika
- Sledování po léčbě

Imunofenotypizace

Imunofenotypizační vyšetření		Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha 2	Razítko - adresa žadatele (IČZ, IČP): Lékař (IČL a podpis):
Osobní data pacienta (štítek): Příjmení: Jméno: Číslo pojištěnce: Datum narození: ☐ M ☐ Ž Pojišťovna: Diagnóza:		Datum a čas odběru: Odebral: Datum a čas příjmu: Přijal:	Telefon:
Centrální hematologické laboratoře Klinické laboratoře ÚLB LD VFN a 1. LF UK		U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha 2 pavilon A4, laboratoř FACS	Tel.: 2 2496 2877
Materiál k vyšetření: ☐ Periferní krev ☐ Kostní dřeň ☐ Mozkomíšni mok ☐ Lymfatická uzlina ☐ Jiný:			
Požadované vyšetření (rutinní): ☐ Lymfoproliferace - screening ☐ B-lymfoproliferace - typ: ☐ T/NK-lymfoproliferace - typ: ☐ Akutní leukemie - typ: ☐ Myelodysplastický syndrom ☐ Chronická myeloproliferace ☐ Mastocytóza ☐ Mnohočetný myelom / MGUS		Požadované vyšetření (speciální - po domluvě): ☐ PNH (paroxysmální noční hemoglobinurie) [1] ☐ Fetální erytrocyty [1] ☐ HS (hereditární sférocytóza) [1] ☐ Imunoglobuliny vázané na trombocytech [1] ☐ Screening trombocytárních glykoproteinů [2] ☐ HIT (heparinem indukovaná trombocytopenie) [2+3] ☐ Jiné:	
Důvod vyšetření a relevantní klinická/laboratorní data: ☐ Nové, diagnostické ☐ Kontrolní ☐ Jiný důvod:			
Pozn. k odběrům: [1] - K3EDTA, [2] - citrát sodný, [3] - sérum (srážlivá krev) bližší info viz http://ulbld.lf1.cuni.cz			

Chronická lymfocytární leukemie

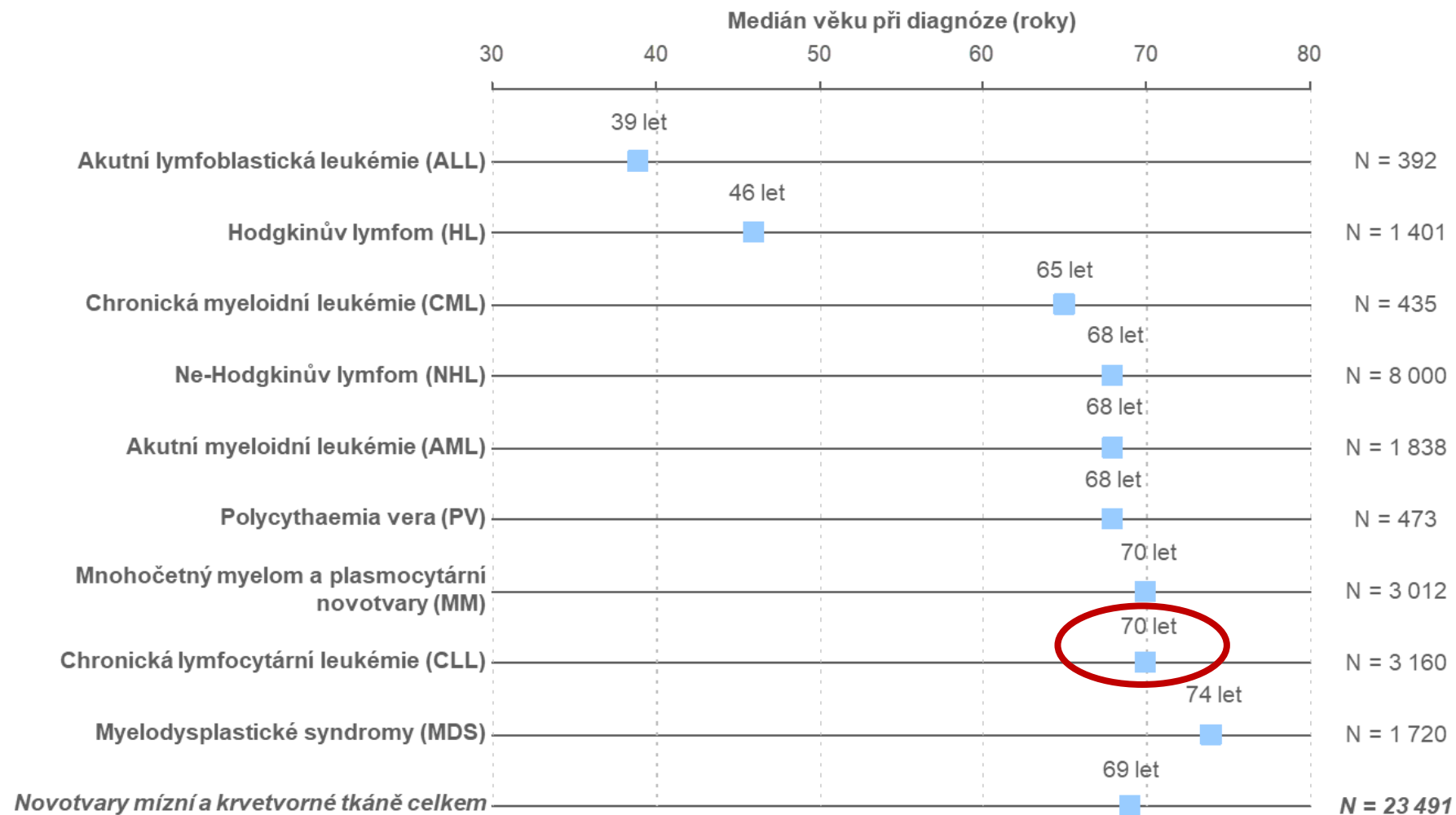
- Statistika
- Klinické projevy
- Diagnóza
- Staging, prognóza
- Terapie
- Komplikace

Incidence v ČR v letech 2014–2018



Incidence stabilní
Prevalence stoupá
(cca 5 tisíc pacientů)

Incidence v ČR v letech 2014–2018



Klinické projevy

- Při diagnóze často asymptomatické onemocnění
- Při pokročilejším onemocnění může být:
 - Únava, teploty, hubnutí, noční poty (B symptomy)
 - Lymfadenopatie
 - Splenomegalie (hepatomegalie)
 - Anémie – anemický syndrom
 - Trombocytopenie – krvácivé projevy

Další klinické projevy

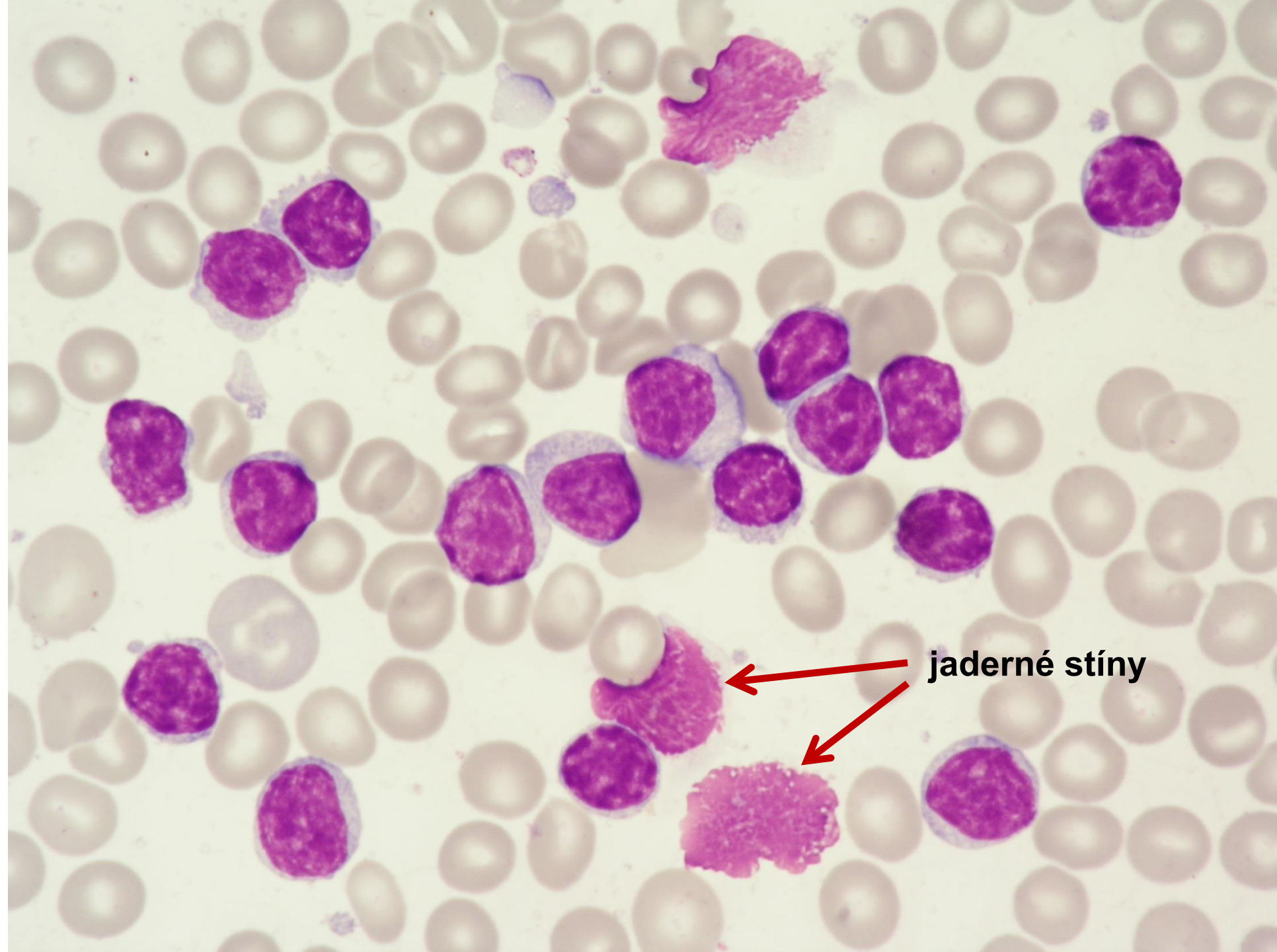
- Opakované infekce
- Autoimunitní onemocnění
- Silné reakce na hmyzí bodnutí
- Infiltrace tonzil

Diagnostika

- Hlavní diagnostická kritéria:
 - B-lymfocyty v periferní krvi $> 5 \times 10^9/l$
 - Typický imunofenotyp
- Hlavní diagnostická vyšetření:
 - Krevní obraz s diferencíálem leukocytů (mikroskopicky)
 - Imunofenotypizace lymfocytů průtokovou cytometrií

Nátěr periferní krve:

- malé zralé lymfocyty
- četné jaderné stíny



Jaká je prognóza pacientů s CLL?

- Přežití 5 let od diagnózy cca 90%
- Až třetina pacientů s CLL nikdy nevyžaduje léčbu
- Léčíme pouze aktivní onemocnění
- Většina pacientů umírá z jiných příčin, než CLL (infekce)

Prognostické faktory

- Jsme schopni již při diagnóze odhadnout pacienty s dobrou a špatnou prognózou
- Horší prognóza:
 - Vyšší klinické stádium (Rai, Binet)
 - Nemutovaný stav IGHV
 - Aberace genu TP53 (mutace nebo delece)

Klinické stádium dle Raie

Stádium	Znaky	medián přežití (roky)
0	Lymfocytóza	> 10
I	Lymfocytóza + lymfadenomegalie	7-11
II	Lymfocytóza + spleno nebo hepatomegalie	7-8
III	Lymfocytóza + anémie, Hb < 110g/l	4-5
IV	Lymfocytóza + trombocytopenie, PLT < 100x10 ⁹ /l	4-5

Rai KR et al. Blood 1975.

Nabhan, Rose, JAMA 2014

Wierda et al, Blood 2007

Mayo Clinic CLL database 1995-2015 (n = 2,559)

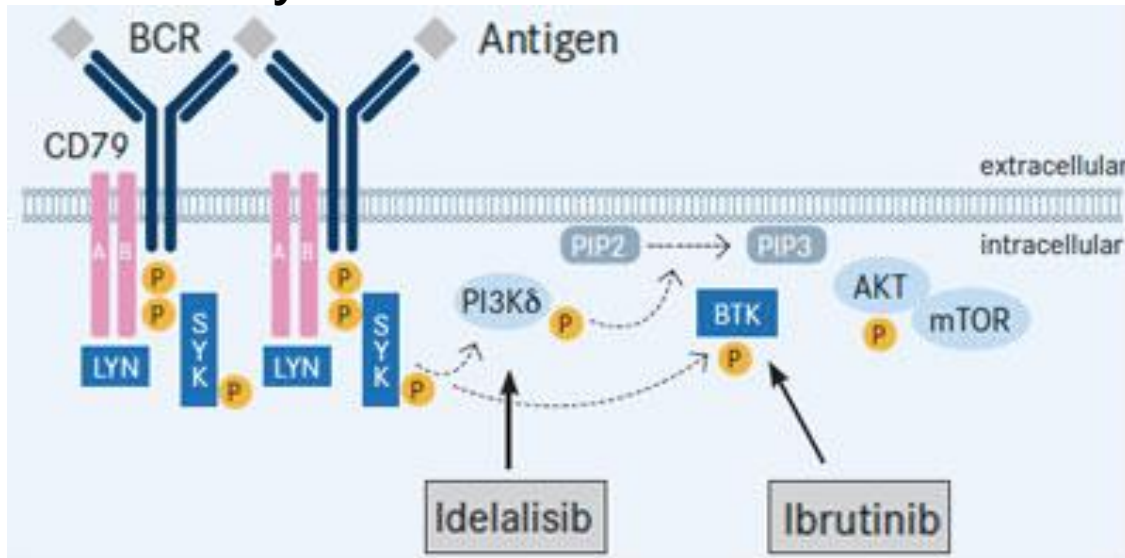
Léčebné možnosti

- **Cílená terapie**
 - BCR inhibitory a BCL2 inhibitory
- Chemoimunoterapie
 - Obinutuzumab (anti-CD20) + chlorambucil
- Alogenní transplantace krvetvorných buněk
 - Dosud jediná kurativní léčba (pro mladší pacienty)

Cílená léčba – nové malé molekuly

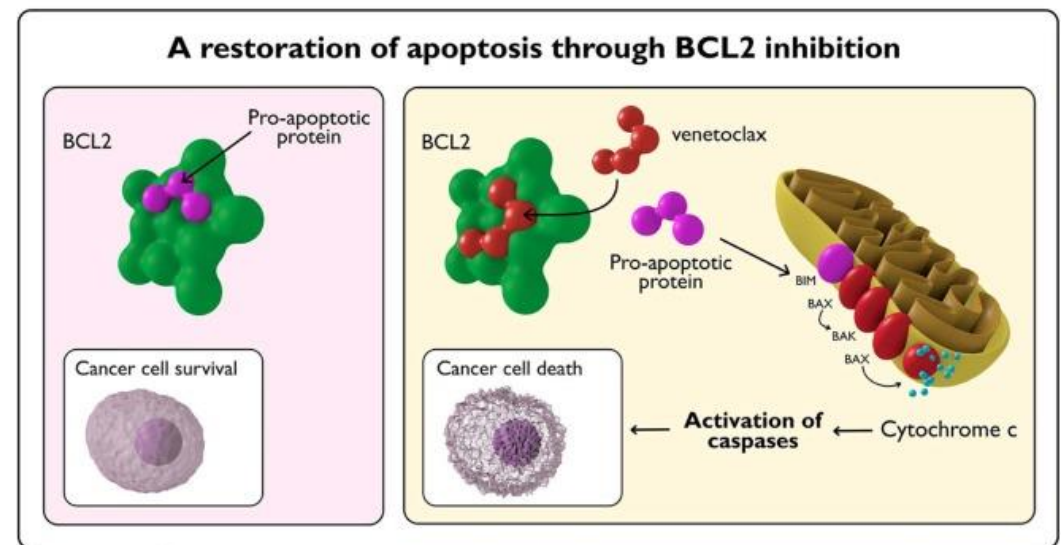
- Výborné výsledky také u chemorefrakterních pacientů či aberací genu TP53
- Možné podávání i u starších a komorbidních pacientů
- Nevýhodou některé specifické nežádoucí účinky a lékové interakce

BCR inhibitory



Akalabrutinib
Zanubrutinib

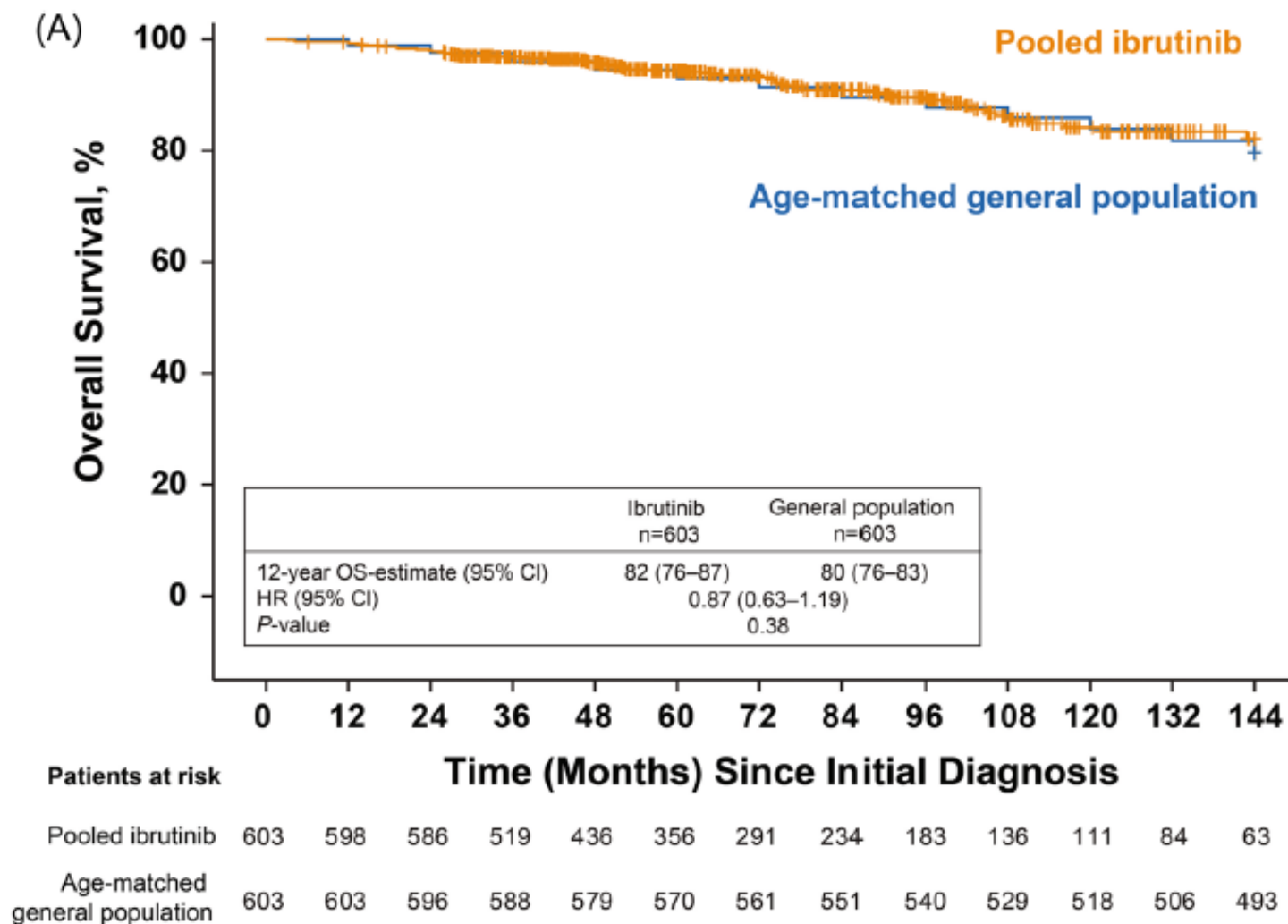
Venetoclax - a BCL2 specific inhibitor



Léčebné možnosti

- Časově omezená terapie
 - ibrutinib + venetoklax (15 měsíců)
 - venetoklax + obinutuzumab (12 měsíců)
 - relapsy: venetoklax + rituximab (24 měsíců)
- Kontinuální terapie
 - kovalentní BTK inhibitor (akalabrutinib, ibrutinib, zanubrutinib)
 - nekovalentní BTK inhibitor (pirtobrutinib)

Přežití s CLL se dostává na úroveň běžné populace



Komplikace u CLL

- **Transformace**
 - Richterův syndrom (až 10% pacientů, agresivní lymfom)
- **Infekce**
 - Nejčastější příčina morbidit a mortality
 - Pneumonie, atypické infekce
- **Autoimunitní komplikace**
 - Až 25% pacientů, AIHA, ITP
- **Další malignity**
 - Až 4x častější oproti běžné populaci

Podpůrná péče

- I běžné infekce mohou u pacientů s CLL probíhat těžce
- Léčit časně a intenzivněji
- Časně nasadit ATB
- Nelze se orientovat podle neutrofilie

Podpůrná péče

- Očkování
 - Pneumokok, chřipka, covid
- Hypogammaglobulinémie
 - Substituce při opak. infekčních komplikacích a IgG < 5g/l
- Aktivní screening na jiné malignity

Shrnutí CLL

- CLL je nejčastější leukémií u dospělých
- Diagnostika z krve průtokovou cytometrií
- Velmi variabilní průběh, léčí se pouze aktivní choroba
- Výrazné zlepšení prognózy s příchodem cílených léků
- Důležitá podpůrná péče – zejména infekční komplikace



**VŠEOBECNÁ FAKULTNÍ
NEMOCNICE V PRAZE**



**1. LÉKAŘSKÁ
FAKULTA**
Univerzita Karlova

Děkuji za pozornost

