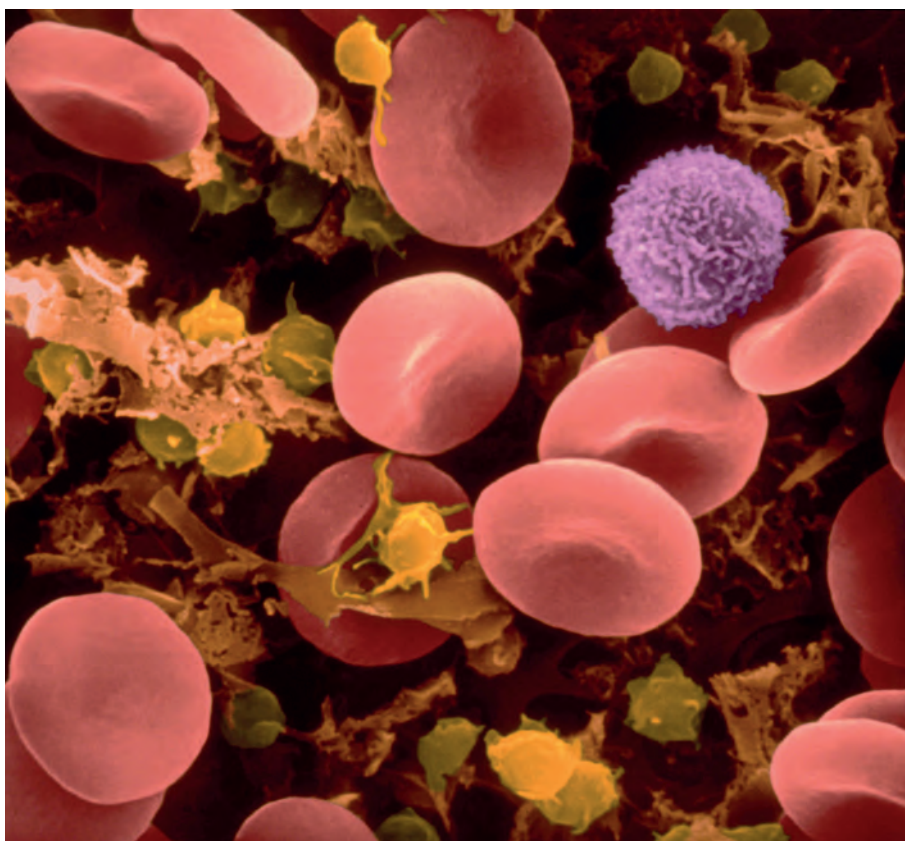


Miroslav Penka, Eva Tesařová a kolektiv

Hematologie a transfuzní lékařství I

Hematologie



Miroslav Penka, Eva Tesařová a kolektiv

Hematologie a transfuzní lékařství I

Hematologie

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být re-produkována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude trestně stíháno.

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc., MUDr. Eva Tesařová a kolektiv

HEMATOLOGIE A TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ I

HEMATOLOGIE

Vedoucí autorského kolektivu:

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc., oddělení klinické hematologie FN Brno

Autorský kolektiv:

MUDr. Jan Blatný, Ph.D., oddělení klinické hematologie FN Brno*

RNDr. Ludmila Bourková, oddělení klinické hematologie FN Brno

MUDr. Alena Buliková, Ph.D., oddělení klinické hematologie FN Brno

Mgr. Zbyněk Čech, oddělení klinické hematologie FN Brno

Mgr. Magdaléna Jelínková, oddělení klinické hematologie FN Brno*

MUDr. Jarmila Kissová, oddělení klinické hematologie FN Brno

MUDr. Zdeněk Kořístek, Ph.D., Interní hematookologická klinika LF MU a FN Brno

Mgr. Lucie Kovářová, Ph.D., oddělení klinické hematologie FN Brno

Doc. RNDr. Petr Kuglík, CSc., Ústav experimentální biologie PěF MU

MUDr. Miloslava Matýšková, CSc., oddělení klinické hematologie FN Brno

MUDr. Jan Novotný, Ph.D., oddělení klinické hematologie FN Brno

Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc., oddělení klinické hematologie FN Brno

Doc. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Centrum molekulární biologie a genové terapie,

Interní hematookologická klinika LF MU a FN Brno

Bc. Markéta Slánská, oddělení klinické hematologie FN Brno*

MUDr. Petr Smejkal, Ph.D., oddělení klinické hematologie FN Brno

Bc. Irena Trnavská, oddělení klinické hematologie FN Brno

MUDr. Ondřej Zapletal, oddělení klinické hematologie FN Brno*

RNDr. Jiřina Zavřelová, oddělení klinické hematologie FN Brno

* nyní oddělení dětské hematologie FN Brno

Recenze:

Doc. RNDr. Miroslav Pecka, CSc.

Prof. MUDr. Ladislav Chrobák, CSc.

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

© Grada Publishing, a.s., 2011

Obrázky dodali autoři.

Cover Photo © fotobanka allphoto, 2011

Vydala Grada Publishing, a.s., U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 4577. publikaci

Odpovědná redaktorka PhDr. Alena Palčová

Sazba a zlom Jana Řeháková, DiS.

Počet stran 424 + 64 stran barevných příloh

1. vydání, Praha 2011

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod, a. s.

Názvy produktů, firm apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

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

ISBN 978-80-247-3459-0 (tištěná verze)

ISBN 978-80-247-7192-2 (elektronická verze ve formátu PDF)

ISBN 978-80-247-7193-9 (elektronická verze ve formátu EPUB)

Obsah

Předmluva	13
Poděkování	14
1 Fyziologie krvetvorby	15
1.1 Vznik a vývoj krvetvorby (<i>J. Novotný</i>)	15
1.2 Vývoj krevních buněk (<i>J. Novotný</i>)	15
1.3 Tvorba a vývoj červených krvinek (erytropoéza) (<i>J. Novotný, M. Jelínková</i>)	17
1.4 Hemoglobin (<i>J. Novotný</i>)	20
1.5 Tvorba a vývoj bílých krvinek (<i>J. Novotný</i>)	21
1.6 Tvorba a vývoj trombocytů (<i>J. Novotný, M. Penka</i>)	27
1.7 Hodnocení (<i>J. Novotný</i>)	29
1.8 Klinický význam (<i>J. Novotný</i>)	29
2 Fyziologie krevního srážení	31
2.1 Cévy, cévní systém (<i>J. Novotný</i>)	31
2.1.1 Cévní stěna	31
2.1.2 Endotel	32
2.2 Primární hemostáza (<i>M. Penka</i>)	33
2.3 Systém plazmatických faktorů (<i>M. Matýšková, J. Zavřelová</i>)	36
2.3.1 Systém koagulačních faktorů	38
2.3.1.1 Koagulační faktory	38
2.3.1.2 Vlastní proces koagulace	43
2.3.2 Systém přirozených inhibitorů (<i>M. Matýšková, J. Zavřelová</i>)	45
2.3.2.1 Serpiny	46
2.3.2.2 Systém proteinu C	49
2.3.2.3 Kuniny	50
2.3.2.4 Metaloproteinázy	50
2.3.2.5 Nespecifické inhibitory	50
2.3.3 Fibrinolytický systém (<i>J. Novotný, M. Matýšková</i>)	51
2.3.3.1 Plazminogen, plazmin	52
2.3.3.2 Aktivátory plazminogenu	52
2.3.3.3 Inhibitory v systému fibrinolýzy	52
2.3.3.4 Průběh fibrinolýzy	54
2.3.3.5 Funkce fibrinolytického systému	55
3 Laboratorní diagnostika v hematologii	61
3.1 Morfologická vyšetření (<i>L. Bourková, M. Jelínková, I. Trnavská, M. Slánská</i>)	61
3.1.1 Hematologické analyzátoři	61
3.1.1.1 Princip impedanční analýzy	61
3.1.1.2 Princip optické analýzy	61
3.1.1.3 Jiné analytické metody	62
3.1.2 Vyšetření na hematologických analyzátořích	62

3.1.2.1	Parametry krevního obrazu	62
3.1.2.2	Hodnocení krevního obrazu	62
3.1.2.3	Kontroly krevního obrazu	65
3.1.2.4	Stanovení počtu retikulocytů	66
3.1.3	Morfologická charakteristika hematopoetických buněk.....	67
3.1.3.1	Erytrocytární vývojová řada	67
3.1.3.2	Leukocytní vývojová řada	68
3.1.3.3	Megakaryocytární vývojová řada	71
3.1.4	Nátěry periferní krve a kostní dřeň	72
3.1.4.1	Zhotovení nátěrů	72
3.1.4.2	Barvení nátěrů	72
3.1.4.3	Hodnocení nátěrů periferní krve	72
3.1.4.4	Hodnocení nátěrů kostní dřeň	81
3.1.4.5	Kontrola kvality barvení nátěrů	81
3.2	Základní vyšetření pro hemolytické anémie (<i>L. Bourková, M. Jelínková</i>) ...	81
3.2.1	Obecné testy	81
3.2.1.1	Osmotická rezistence erytrocytů.....	81
3.2.1.2	Hemosiderin v moči	82
3.2.1.3	Volný hemoglobin v plazmě/séru	82
3.2.1.4	Test autohemolýzy	82
3.2.2	Testy na průkaz abnormálních hemoglobinů	83
3.2.2.1	Stanovení fetálního hemoglobinu (HbF)	83
3.2.2.2	Stanovení hemoglobinu A ₂	83
3.2.2.3	Elektroforéza hemoglobinu	84
3.2.3	Testy na průkaz nedostatku enzymů	84
3.2.3.1	Barvení Heinzových tělísek	84
3.2.3.2	Glukóza-6-fosfát dehydrogenáza	85
3.2.3.3	Pyruvátkináza	85
3.3	Cytochemická vyšetření (<i>L. Bourková, M. Jelínková, I. Trnavská, M. Slánská</i>).....	85
3.3.1	Barvení zásobního železa	86
3.3.2	Barvení neutrofilní alkalické fosfatázy	86
3.3.3	Barvení peroxidázy	87
3.3.4	Barvení sudanovou černí B.....	88
3.3.5	Barvení chloracetátesterázy	88
3.3.6	Barvení nespecifických esteráz (s blokadou fluoridem).....	88
3.3.7	PAS (periodic acid – Schiff)	89
3.3.8	Barvení kyselých fosfatázy (s rezistencí na kyselinu L vinnou).....	90
3.4	Vyšetření metodou klonálních kultivací (<i>L. Bourková</i>).....	90
3.5	Hemokoagulační laboratorní vyšetření (<i>J. Zavřelová, M. Jelínková, M. Matýšková</i>).....	91
3.5.1	„Bed-side“ testy	93
3.5.1.1	Doba srážlivosti plné krve (Lee White)	93
3.5.1.2	Trombelastograf.....	93
3.5.2	Primární hemostáza	95
3.5.2.1	Počet a morfologie trombocytů	95
3.5.2.2	Doba krvácení	95

3.5.2.3	Rezistence kapilár (Rumpelův-Leedův test)	96
3.5.2.4	Test konzumpce protrombinu	96
3.5.2.5	Vyšetření PFA-100	96
3.5.2.6	Agregace trombocytů	96
3.5.2.7	Vyšetření retrakce	97
3.5.2.8	Mikropartikule	97
3.5.3	Systém plazmatických koagulačních faktorů	98
3.5.3.1	Test konzumpce protrombinu	98
3.5.3.2	Protrombinový test (PT) – tromboplastinový test podle Quicka	98
3.5.3.3	Aktivovaný parciální tromboplastinový test (APTT).....	99
3.5.3.4	Trombinový test (TČ, TT)	99
3.5.3.5	Reptilázový test (ReT)	100
3.5.3.6	Korekční testy	100
3.5.3.7	Trombin generační test (TGT, TGA)	100
3.5.3.8	Stanovení koncentrace fibrinogenu	100
3.5.3.9	Stanovení solubilních komplexů fibrinových monomerů (SFM)	101
3.5.3.10	Stanovení koagulačních faktorů	101
3.5.3.11	Stanovení faktoru XIII	102
3.5.4	Přirozené inhibitory	103
3.5.4.1	Vyšetření antitrombinu (AT).....	103
3.5.4.2	ProC® Global	103
3.5.4.3	Vyšetření APC rezistence (APC-R).....	104
3.5.4.4	Vyšetření proteinu C	105
3.5.4.5	Vyšetření proteinu S	105
3.5.5	Testy fibrinolytického systému	105
3.5.5.1	Euglobulinová fibrinolýza	105
3.5.5.2	Stanovení koncentrace fibrinogenu	106
3.5.5.3	Vyšetření FDP	106
3.5.5.4	Vyšetření D-dimerů	106
3.5.5.5	Stanovení solubilních komplexů fibrinových monomerů (SFM)	107
3.5.5.6	Stanovení α_2 -antiplazminu.....	107
3.5.5.7	Stanovení plazminogenu	107
3.5.5.8	Stanovení PAI-1	107
3.5.5.9	Stanovení tPA	107
3.5.5.10	Venookluzivní testy	108
3.5.6	Identifikace získaného inhibitoru	108
3.5.6.1	Korekční testy	108
3.5.6.2	Cirkulující antikoagulans	108
3.5.6.3	Kvantitativní průkaz specifického inhibitoru	108
3.5.6.4	Identifikace lupus antikoagulans	109
3.5.7	Molekulární markery	111
3.5.7.1	Markery aktivace endotelu	111
3.5.7.2	Markery aktivace trombocytů	111
3.5.7.3	Markery aktivace koagulace	111

3.5.7.4	Markery aktivace fibrinolýzy	111
3.5.8	Diagnostika von Willebrandovy choroby	111
3.5.8.1	Vyšetření koncentrace VWF (VWF:Ag)	112
3.5.8.2	Vyšetření funkční aktivity VWF	112
3.5.8.3	Diskriminační testy	112
3.5.8.4	Molekulární diagnostika	113
3.5.9	Diagnostika HIT	113
3.5.9.1	Funkční testy	113
3.5.9.2	Imunologické testy	113
3.5.10	Sledování léčby	114
3.5.10.1	Heparin	114
3.5.10.2	Pentasacharidy	114
3.5.10.3	Deriváty dikumarinu	114
3.5.10.4	Antitrombocytární léčba	114
3.5.10.5	Trombolýza	115
3.5.10.6	Substituční léčba	115
3.6	Flowcytometrické vyšetření (<i>L. Kovářová</i>)	115
3.6.1	Princip metody	115
3.6.2	Hodnocení	116
3.6.3	Imunofenotypizace	116
3.6.4	Příklady uplatnění v hematologii	117
3.6.4.1	Neonkologické indikace	117
3.6.4.2	Hematoonkologické indikace	117
3.7	Cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření (<i>Š. Pospíšilová, Z. Čech, P. Kuglík, L. Kovářová</i>)	118
3.7.1	Genetická informace buňky	118
3.7.2	Změny genetické informace	120
3.7.3	Cytogenetické vyšetření	121
3.7.3.1	Metody klasické cytogenetiky: G pruhování	121
3.7.3.2	Metody molekulární cytogenetiky	122
3.7.4	Molekulárně biologické metody	124
3.7.4.1	Separace buněk, izolace nukleových kyselin	124
3.7.4.2	Polymerázová řetězová reakce (PCR)	126
3.7.4.3	Metody detekce mutací	142
3.7.4.4	Metody analýzy proteinů	146
3.7.4.5	Genomika a proteomika	148
4	Fyziologické hodnoty krevního obrazu a koagulačních testů	159
4.1	Referenční meze krevního obrazu, diferenciálního počtu leukocytů a koagulačních testů u dospělých (<i>J. Kissová</i>)	159
4.2	Referenční meze krevního obrazu a koagulačních testů u dětí (<i>J. Blatný</i>) ...	160
5	Neonkologická hematologie	163
5.1	Anémie (chudokrevnost) (<i>A. Buliková, pediatrický dodatek S. Köhlerová</i>)	163
5.1.1	Anémie z poruchy tvorby erytrocytů	164
5.1.1.1	Anémie z poruchy syntézy hemoglobinu	164

5.1.1.2.	Anémie z poruchy syntézy DNA – megaloblastové anémie	175
5.1.1.3	Anémie ze selhání hemopoetických buněk – aplastické anémie	179
5.1.1.4	Anémie spojené s poruchou vyzrávání krvetvorby – dysplastické (dyserytropaetické) anémie	183
5.1.2	Anémie ze zvýšené ztráty erytrocytů	185
5.1.2.1	Korpuskulární hemolytické anémie	187
5.1.2.2	Extrakorpuskulární hemolytické anémie	203
5.1.3	Akutní posthemoragická anémie	207
5.2	Poruchy leukocytárního systému (<i>M. Penka</i>)	208
5.2.1	Kvantitativní poruchy leukocytárního systému	208
5.2.1.1	Změny počtu jednotlivých typů bílých krvinek	208
5.2.1.2	Choroby počtu leukocytárního makrofágového systému	214
5.2.2	Kvalitativní poruchy leukocytárního systému	219
5.2.2.1	Morfologické změny leukocytů	219
5.2.2.2	Funkční změny leukocytů	220
5.3	Poruchy primární hemostázy – poruchy krevního srážení z destičkových příčin (<i>M. Penka, M. Matýšková</i>)	222
5.3.1	Kvantitativní poruchy primární hemostázy	224
5.3.1.1	Trombocytopenie	224
5.3.1.2	Trombocytóza	232
5.3.2	Kvalitativní poruchy primární hemostázy – trombocytopatie	233
5.3.2.1	Vrozené trombocytopatie	234
5.3.2.2	Získané trombocytopatie	236
5.3.3	Substituční léčba krevními destičkami	239
5.3.4	Medikamentózní hemostyptická léčba	239
5.4	Vrozené krvácivé stavy (<i>P. Smejkal</i>)	241
5.4.1	Von Willebrandova choroba	241
5.4.2	Hemofilie	244
5.4.3	Vrozené defekty ostatních koagulačních faktorů	248
5.4.4	Kombinované defekty	250
5.4.5	Pediatrický dodatek (<i>J. Blatný</i>)	250
5.5	Trombofilie (<i>M. Matýšková</i>)	251
5.5.1	Pediatrický dodatek (<i>J. Blatný</i>)	255
5.6	Získané poruchy krevního srážení (<i>M. Matýšková, A. Buliková</i>)	256
5.6.1	Získané poruchy krevního srážení bez přítomnosti inhibitoru	257
5.6.1.1	Nedostatek vitamínu K	257
5.6.1.2	Jaterní postižení	258
5.6.1.3	Metabolický syndrom	258
5.6.1.4	Uremie	258
5.6.1.5	Nádorová onemocnění	259
5.6.1.6	Paraproteinemie	259
5.6.1.7	Trauma	260
5.6.1.8	Sepse	260
5.6.1.9	Virové infekce	261
5.6.1.10	Syndrom diseminované intravaskulární koagulace (DIC)	262
5.6.1.11	Biologické látky, např. hadí jedy	266

5.6.2	Získané poruchy krevního srážení z poruchy plazmatických faktorů vznikající na imunitním podkladě.....	266
5.6.2.1	Choroby provázené přítomností specifických autoprotilátek/inhibitorů	267
5.6.2.2	Nespecificky působící antikoagulancia	271
5.7	Sledování antitrombotické léčby (<i>M. Penka, J. Zavřelová</i>).....	275
5.7.1	Antikoagulační léčba	275
5.7.2	Antitrombotická léčba heparinem	276
5.7.3	Antikoagulační léčba perorálními preparáty	277
5.7.4	Antiagregační léčba	277
5.7.5	Trombolytická léčba	278
5.7.6	Substituční léčba	278
6	Onkologická hematologie	289
6.1	Akutní leukemie (<i>A. Bulíková</i>).....	291
6.1.1	Akutní myeloidní leukemie (AML).....	293
6.1.1.1	Akutní myeloidní leukemie s rekurentní genetickou abnormitou (nejčastěji s balancovanou translokací či inverzí)...	296
6.1.1.2	Akutní myeloidní leukemie spojená s dysplastickými změnami	301
6.1.1.3	Myeloidní neoplazie spojené s léčbou	302
6.1.1.4	Akutní myeloidní leukemie jinak neurčené	304
6.1.1.5	Myeloidní sarkomy	308
6.1.1.6	Myeloidní proliferace spojené s Downovým syndromem	308
6.1.1.7	Blastické neoplazie z plazmatických dendritických buněk	308
6.1.2	Akutní leukemie nejasného původu	310
6.1.3	Akutní lymfoblastické leukemie, respektive prekurzorové lymfoblastické neoplazie	311
6.1.3.1	B lymfoblastické leukemie/lymfomy jinak nespecifikované (B-ALL/LBL)	311
6.1.3.2	B lymfoblastické leukemie/lymfomy s rekurentní genetickou abnormitou	312
6.1.3.3	T lymfoblastické leukemie/lymfomy (T-ALL/LBL).....	313
6.2	Myelodysplastický syndrom (MDS) (<i>J. Kissová</i>).....	314
6.2.1	Refrakterní cytopenie s unilineární dysplazií (RCUD)	319
6.2.2	Refrakterní anémie s prstencítyými sideroblasty (RARS)	320
6.2.3	Refrakterní cytopenie s multilineární dysplazií (RCMD)	321
6.2.4	Refrakterní anémie s excesem blastů (RAEB)	321
6.2.5	Myelodysplastický syndrom s izolovanou delecí 5q	322
6.2.6	Myelodysplastický syndrom, neklasifikovatelný (MDS-U).....	323
6.3	Myeloproliferativní neoplazie a myelodysplasticko/myeloproliferativní neoplazie (<i>J. Kissová, M. Penka</i>).....	323
6.3.1	Myeloproliferativní neoplazie (MPN).....	323
6.3.1.1	Chronická myelogenní leukemie, BCR-ABL1 pozitivní (CML)...	324
6.3.1.2	Chronická neutrofilní leukemie (CNL)	326
6.3.1.3	Pravá polycytemie (PV)	327
6.3.1.4	Primární myelofibróza (PMF)	329

6.3.1.5	Esenciální trombocytémie (ET)	331
6.3.1.6	Chronická eozinofilní leukémie blíže nespecifikovaná (CEL, NOS)	332
6.3.1.7	Mastocytóza	333
6.3.1.8	Myeloproliferativní neoplazie neklasifikovatelné (MPS-U)	333
6.3.2	Myeloidní a lymfoidní neoplazie s eozinofilií a abnormalitami PDGFRA (platelet derived growth factor receptor α), PDGFRB (platelet derived growth factor receptor β) nebo FGFR1 (fibroblast growth factor receptor-1)	334
6.3.2.1	Myeloidní a lymfoidní neoplazie s přestavbou genu PDGFRA ...	334
6.3.2.2	Myeloidní neoplazie s přestavbou genu PDGFRB	335
6.3.2.3	Myeloidní a lymfoidní neoplazie s abnormalitami FGFR1	335
6.3.3	Myelodysplasticko/myeloproliferativní neoplazie (MDS/MPN)	336
6.3.3.1	Chronická myelomonocytární leukémie (CMML)	336
6.3.3.2	Atypická chronická myeloidní leukémie, BCR-ABL1 negativní (aCML)	338
6.3.3.3	Juvenilní myelomonocytární leukémie (JMML)	338
6.3.3.4	Myelodysplasticko/myeloproliferativní neoplazie neklasifikovatelné (MDS/MPN-U)	339
6.3.3.5	Provizorní jednotka WHO 2008: refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty a trombocytózou (RARS-T)	340
6.4	Lymfoproliferativní onemocnění (<i>A. Buliková</i>)	340
6.4.1	Neoplazie ze zralých B buněk	341
6.4.1.1	Chronická lymfatická leukémie/lymfom z malých lymfocytů (CLL/SLL)	342
6.4.1.2	B prolymfocytární leukémie (B PLL)	344
6.4.1.3	Splenický lymfom z B buněk marginální zóny (SMZL)	344
6.4.1.4	Leukémie s vlasatými buňkami (HCL)	345
6.4.1.5	Lymfoplazmocytární lymfom/Waldenströmova makroglobulinémie	345
6.4.1.6	Malignity z plazmatických buněk	346
6.4.1.7	Folikulární lymfom (FL)	348
6.4.1.8	Lymfom z pláštových buněk (MCL)	349
6.4.1.9	Difuzní velkobuněčný B lymfom (DLBCL)	349
6.4.1.10	Burkittův lymfom (BL)	350
6.4.1.11	Ostatní lymfoproliferace ze zralých B lymfocytů	350
6.4.2	Malignity ze zralých T a NK buněk	351
6.4.2.1	Leukémie z velkých granulovaných lymfocytů (LGL-L)	352
6.4.2.2	Agresivní leukémie z NK buněk	352
6.4.2.3	T prolymfocytární leukémie (T-PLL)	353
6.4.2.4	Leukémie/lymfom z T buněk dospělých (HTLV pozitivní) (ATLL)	353
6.4.2.5	Mycosis fungoides (MF) a Sézaryho syndrom (SS)	354
6.4.2.6	Anaplastický velkobuněčný lymfom	354
6.4.2.7	Další zralé T/NK buněčné lymfoproliferace	355
6.4.3	Hodgkinovy lymfomy (HL)	355
6.4.3.1	Klasický Hodgkinův lymfom	356

6.4.3.2	Nodulární Hodgkinův lymfom s predominancí lymfocytů ...	356
6.5	Hematologické malignity u dětí (<i>O. Zapletal</i>).....	357
6.5.1	Leukemie	358
6.5.2	Lymfomy.....	361
6.6	Onkologická hematologie: transplantace hematopoetických buněk (<i>Z. Kořístek</i>)	361
6.6.1	Principy a indikace transplantací krevetvorby	363
6.6.2	Vyhledání dárce	365
6.6.3	Odběr krevetvorných buněk	366
6.6.4	Podání krevetvorných buněk	368
6.6.5	Časné potransplantační období	369
6.6.6	Období po obnově krevetvorby	370
Zkratky		375
Věcný rejstřík		387
Souhrn		419
Summary		421

Předmluva

Publikace „Hematologie a transfuzní lékařství“ je knihou, která je specificky zaměřená na hematologickou a v hematologii používanou laboratorní diagnostiku. Je účelově zpracována především pro obec zdravotních laborantů. Publikace však může mít pochopitelně širší využití u všech odborníků, laiků, kteří mohou z textů čerpat nové nebo upřesňující poznatky potřebné pro svoji specializaci.

Původně mělo dílo zahrnovat čistě hematologickou problematiku, velmi rychle se ale rozrostlo o příbuzný (a vlastně společný atestační) obor transfuzního lékařství a následně i o problematiku, která s hematologií v laboratorní diagnostice souvisí nebo ji významně doplňuje (molekulární biologie, imunocytologie apod.).

Autorský kolektiv byl sestaven z odborníků vlastního hematologického pracoviště ve FN Brno, kteří se jednotlivými segmenty hematologického zaměření zabývají, a z důvodu co nejširšího pojetí zahrnuje lékaře, ale i další specialisty především z laboratorních oborů, včetně zdravotních laborantů.

Publikace je sestavena ze dvou dílů – samostatné hematologické a samostatné transfuziologické části, každá z nich se svou obrazovou přílohou, ale s jednotným uspořádáním, aby mohly vytvořit dvoudílný kompaktní celek.

Úvodem jsou v hematologické části zpracovány kapitoly se spíše teoretickým a obecným zaměřením, pak následují kapitoly speciální problematiky zaměřené na problémové okruhy jednotlivých systémů, jak bývají v hematologii běžně členěny, včetně tabulek normálních hodnot. Samostatnou přílohu tvoří obrázky významnějších nebo instruktivních nálezů, jejich seznam, seznam zkratk a rejstřík.

I když si jsme vědomi, že ve věku elektronického zpracování textů nemá již knižní podoba publikací svoje dominantní místo, zůstává stále pohotovým zdrojem informací. Je stále dost v oblibě u řady čtenářů, proto jsme se rozhodli ji napsat. Věříme, že své čtenáře nezklameme a přineseme jim to, co hledají a očekávají. Jsme si zároveň vědomi nutnosti inovace ve vcelku časném časovém horizontu a pokusíme se tento požadavek takového zpracování rovněž naplnit.

Čtenářům přejeme, aby jim naše práce – ať již jakkoliv – prospěla, a svým spoluautorům děkují za úsilí a snahu přispět čtenářům ke zmíněnému prospěchu.

Miroslav Penka

Poděkování

Za pomoc při zpracování obrazové dokumentace děkujeme zdravotním laborantkám OKH FN Brno – paní Jaroslavě Hoblové, Monice Antošové, Libuši Antošové.

Autoři kapitoly 3.7 děkují Mgr. Petru Dobešovi z centra molekulární biologie a genové terapie Interní hematoonkologické kliniky FN Brno za pomoc při technické realizaci obrázků 3.39, 3.40, 3.41, 3.42, 3.43, 3.44, 3.50, 3.51, 3.58, 3.62, 3.63, 3.64, 3.65.

Naše poděkování patří i recenzentům prof. MUDr. Ladislavu Chrobákovi, CSc., a doc. RNDr. Miroslavu Peckovi, CSc., za jejich pečlivou a precizní práci, kterou s prostudováním naší publikace měli, a za jejich kritickou shovívavost při zpracování recenze.

Poděkování patří také sponzorům, bez jejichž příspěvní a pomoci by publikace možná sice vznikla, ale byla by neprodejná.

Poděkování patří i všem spoluautorům, kteří se na publikaci podíleli.

1 Fyziologie krvetvorby

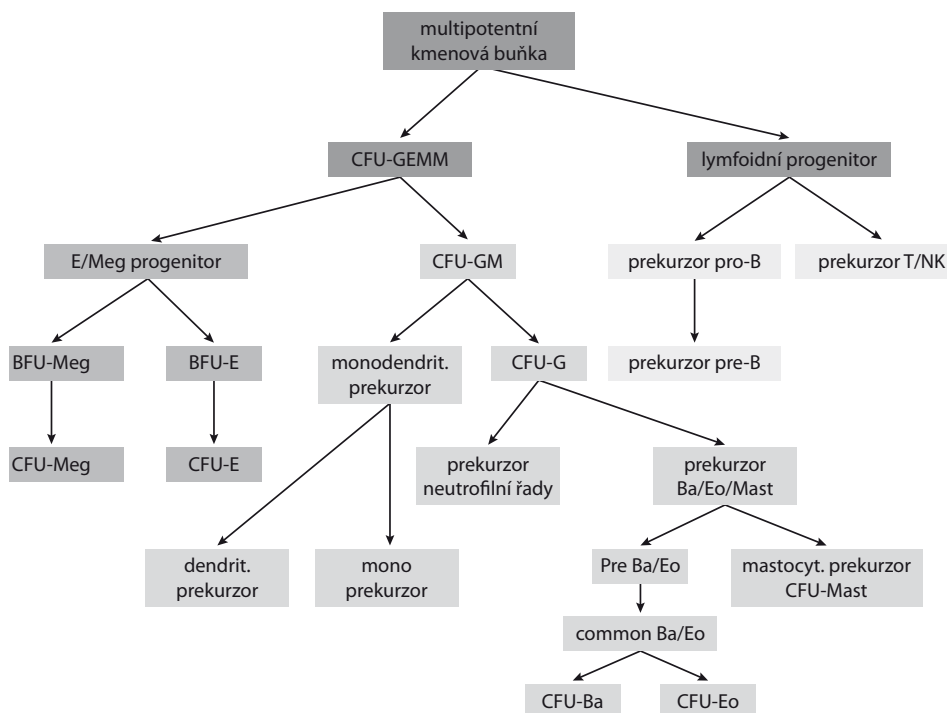
1.1 Vznik a vývoj krvetvorby

Krvetvorba (hemopoéza nebo hematopoéza) je v období **embryonálního vývoje** lokalizována nejprve do oblasti žloutkového vaku, posléze tento úkol přejímají játra a slezina a konečně pak kostní dřev. Za patologických stavů (hemolýzy, myeloproliferativní onemocnění apod.) může dojít k opětovné aktivaci hemopoézy v játrech a slezině a dokonce i v mízních uzlinách byla popsána nelymfoidní hemopoetická aktivita (zvláště u myeloproliferací). Hemopoéza vznikající v oblasti žloutkového vaku z embryonálních kmenových buněk diferencujících se v kmenové buňky krvetvorby představuje mezoblastové období, začínající asi 14.–20. den embryonálního vývoje. Vytvářejí se ostrůvky primitivních hemopoetických buněk, lemovaných endoteliemi (area vasculosa). Asi ve 4. týdnu života se primitivní cévy žloutkového vaku propojí s cévním systémem embrya. Mezoblastové období trvá asi do 10. týdne nitroděložního života, zároveň se po 6. týdnu vývoje objevuje krvetvorba v mezenchymu mezi hepatocyty a posléze i ve slezině (hepatolienální období). Od 20. týdne nitroděložního vývoje se krvetvorba přesunuje do kostní dřev. Hlavním **hemopoetickým orgánem je kostní dřev**, je zde přítomen „pool“ (anglicky zásoba, termín se v odborném tisku o kmenových buňkách běžně používá) **hemopoetických kmenových buněk** – pluripotentní kmenová buňka pro všechny řady nelymfoidní i lymfoidní, kmenová buňka pro lymfoidní řadu, multipotentní kmenová buňka pro všechny nelymfoidní řady CFU-GEMM (colony forming unit – granulocytes, erythrocytes, monocytes/macrophages, megakaryocytes), zralější kmenové buňky v podobě společných prekurzorů pro erytroidní a megakaryocytární linii a pro granulocytární/monocytární linii. Primitivní i vyzrálější kmenové buňky podléhají tzv. **asymetrickému dělení**, kdy jedna z dceřiných buněk je identická s mateřskou kmenovou buňkou (self renewal – samoobnovování kmenových buněk) a druhá se dále diferencuje.

1.2 Vývoj krevních buněk

Multipotentní (totipotentní) kmenová buňka jednak v kostní dřeví udržuje relativně stálý počet těchto prekurzorů (self renewal) a na druhé straně dává vzniknout zralším kmenovým buňkám, tzv. **committed cells**. Každá krvetvorná řada pak vychází z kmenových buněk pro jednotlivé linie. Eozinofilní a bazofilní řada a navíc i vývoj tkáňových bazofilů vychází ze specifických CFU (CFU-Eo, CFU-Ba a CFU-mast). Lymfoidní řada pak vychází ze společné kmenové buňky pro B a T řadu a NK cells (natural killer). Vývoj krvetvorby v časných fázích (nezralé kmenové buňky) zachycuje obrázek 1.1. Hemopoéza je pod kontrolu řady interleukinů (IL), CSF (colony-stimulating factors) a navíc zde hrají roli interakce kmenových buněk se stromatem hemopoetických orgánů – jde o tzv. hemopoetické indukční mikroprostředí (HIM). Buněčné elementy HIM tvoří monocyty/makrofágy, endotelie, retikulární buňky aj. umístěné v extracelulární matrix. Teprve souhrou všech těchto faktorů

je umožněna normální hemopoéza. Poruchy na úrovni kmenových buněk a/nebo HIM mohou vyústit v nejrůznější patologické stavy (dřeňové útlumy, myelofibrózy, myelodysplazie, akutní hemoblastózy apod.). Výzkum v oblasti kmenových buněk (a nejen hemopoetických) velmi pokročil a dotýká se jak otázek maligního bujení, tak možnosti náhrady tkání (v našem případě hematopoézy) vhodně manipulovanými kmenovými prekurzory.



Obr. 1.1 Časný vývoj krvetvorby

Na obrázku je znázorněna časná hematopoéza. Jednotlivé prekurzorové buňky nejsou identifikovatelné světelnou mikroskopií. Ze znázorněných prekurzorů se pak diferencují zralejší elementy v podobě proerytroblastů, promegakaryoblastů, myeloblastů a elementů T, B nebo nulových lymfocytů. Rovněž jsou znázorněna časná stadia diferenciac mastocytární a dendritické linie. Kmenové buňky se dělí asymetricky – v jednu identickou kmenovou buňku (*self renewal*) a v *committed cell* (buňku s další diferenciací). Tak je udržována zásoba (*pool*) kmenových buněk i diferenciac hematopoézy.

CFU – colony forming unit, BFU – burst forming unit, GEMM – granulocytární, erytroidní/megakaryocytární, monocytární, GM – granulocytární a monocytární, T/NK – T a NK lymfocyty, Meg – megakaryocytární

Kmenové buňky hematopoézy lze studovat řadou metod, nejpřínosnějšími jsou různé kultivační metody *in vitro*, kdy se využívá jednak různé komponovaných kultivačních médií, a pak i sledování odpovědi na nejrůznější růstové faktory a/nebo jejich kombinace. Každý růstový faktor se váže na specifické receptory, exprimované na povrchu různých hemopoetických prekurzorů, a tím je dána specifčnost jeho působení. Mezi **růstové faktory hemopoézy** patří interleukiny (IL) – IL-2, 3, 4, 5, 6,

7, 9, 11, 12, 15, dále erythropoetin (EPO), trombopoetin (TPO), GM-CSF (granulocytární a makrofágové kolonie stimulující faktor), G-CSF (granulocytární kolonie stimulující faktor) c-kit ligand neboli stem cell factor (SCF) a řada dalších. Některé z růstových faktorů se již vyrábějí rekombinantní technologií (vnesením genů kódujících tyto faktory, do vhodných buněk v tkáňových kulturách) a jsou užívány léčebně (např. EPO, TPO a jeho analoga, G-CSF).

Kmenové buňky, kultivované ve vhodných médiích, se mohou dále zkoumat na ultramikroskopické úrovni, průtokovou cytometrií s eventuálním cell-sortingem (přístrojovým sběrem zvolených elementů), transfekcí do vhodných linií pokusných zvířat, sledováním aktivace různých genů detekcí specifických mRNA (messenger ribonukleových kyselin), multi-array analýzou (sledováním aktivace mnoha genů najednou) apod. Jisté struktury na povrchu (v buněčné membráně) jednotlivých řad nám mohou pomoci v detekci diferenciaci těchto elementů. Jsou to nejčastěji tzv. **CD znaky** (clusters of differentiation). Například CD2 je znakem T lymfocytů, CD19 B lymfocytů, CD14 monocytů, CD15 granulocytů, CD16 NK buněk a glykoforin A erytroidní řady (CD235a). Pro kmenové buňky je charakteristickým znakem CD34. Více jak 99 % dřevných elementů je CD34 negativních, avšak jen určitá část CD34 pozitivních buněk představuje nezralé kmenové buňky. O CD znacích blíže viz kapitola o flow cytometrii.

Mechanismy vedoucí jednak k nutnému samoobnovování poolu multipotentních buněk a na druhé straně vedoucí k diferenciaci v „committed cells“ jsou jen částečně známy a jejich přesnějším poznáním by mohlo dojít k pokroku v diagnostice i léčbě např. v oblasti hemoblastóz nebo dřevných útlumů.

V současnosti zaznamenáváme výrazný posun v poznacích o hierarchii krvetvorby, např. se zdá, že kmenové buňky pro makrofágy a dendritické buňky lze detekovat v časných fázích lymfoidního (nemyeloidního) vývoje.

1.3 Tvorba a vývoj červených krvinek (erythropoéza)

Erythropoéza vychází ze společné linie (kmenové buňky) s megakaryopoézou a dále samostatně postupuje od BFU-E (burst forming unit-erythropoesis) přes CFU-E k již morfologicky diferencovatelným proerytroblastům. Další maturace pak probíhá přes bazofilní, polychromatofilní a oxyfilní erytroblasty k bezjaderným retikulo-cytům, které jsou vyplavovány z kostní dřevě do periferní krve. Jaderné erytroblasty se v periferní krvi objevují pouze za patologických stavů (vystupňovaná hemolýza, velké ztráty krve, akutní i chronické hemoblastózy, metastázy do kostní dřevě apod.). Celkově jsou erythropoéza a zralé erytrocyty označovány pojmem **erytron**. V erytronu je udržována dynamická rovnováha mezi zánikem a tvorbou červených krvinek. Hlavním regulačním proteinem erytronu je v ledvinách produkovaný **erythropoetin (EPO)**. Za patologických okolností může nerovnováha v tomto systému vést k anémii nebo erytrocytóze. Nejčasnější identifikovanou buňkou erytronu je tzv. **BFU-E (burst forming unit-erythroid)**. Tyto erytroidní prekurzory při kultivaci in vitro vytvářejí velké kolonie (proto burst = výbuch) dobře hemoglobinizovaných erytroblastů. Zpočátku je tento růst nezávislý na erythropoetinu, ale je zcela závislý na IL-3, později směsi cytokinů EPO, TPO, GM-CSF a stem cell faktoru. Detaily regulace proliferace a diferenciaci BFU-E nejsou přesně známy. Morfologicky

se jedná o velmi nezralé blasty, mnohdy s pseudopodickými výběžky, vysokým nukleo/cytoplazmatickým poměrem a výraznými nukleoly. BFU-E se postupně diferencují v **CFU-E (colony forming unit-erythroid)**. Jsou to poněkud zralejší blasty, jejichž proliferace je plně závislá na EPO, a nesou na svém povrchu četné receptory pro EPO. Při pokusech na zvířatech vedla anemizace k expanzi počtu CFU-E a naopak polytransfuze k výrazné redukci CFU-E paralelně s koncentrací EPO v krvi. **Proerytroblast** je první identifikovatelnou buňkou pomocí světelné mikroskopie. Proerytroblast má asi 14–20 μm v průměru, jádro s relativně hrubším chromatinem (oproti myeloblastům a lymfoblastům), v cytoplazmě jsou ultramikroskopicky prokazovány známky počínající syntézy hemoglobinu, četné ribozomy a počínající struktury Golgiho komplexu. V buňkách je přítomen **feritin** jak difúzně, tak i v podobě organel, nazývaných **siderozomy**. Cytoplazma proerytroblastu je sytě bazofilní, někdy vytváří pseudopodie, někdy s projasněním u jádra (Golgiho komplex) a jádro tvoří více než 80 % plochy buňky. **Bazofilní erytroblast** je poněkud menší než proerytroblast (cca 12–17 μm), vykazuje zmenšující se nukleo/cytoplazmatický poměr a hrubší strukturu jádra většinou bez nukleolů. Cytoplazma zůstává sytě bazofilní, i když tato bazofilie může již být méně nápadná. S pokračující diferenciací dochází k progresivnímu zmenšování a pyknotizaci jader erytroblastů a postupné změně barvy cytoplazmy od bazofilní (sytě modrá) přes polychromatofilní (špinavě šedivá) až po růžovou při barvení podle Maye-Gruenwalda-Giemsy. Změna barvy cytoplazmy souvisí s nárůstem hemoglobinu a redukcí ribozomálních komplexů ve zrajících erytroblastech. **Polychromatofilní erytroblasty** jsou posledním vývojovým stupněm erytropoézy schopným dělení. Jádro je již výrazně kondenzováno a cytoplazma špinavě šedá. Velikost této buňky se pohybuje v rozmezí 12–15 μm . **Ortochromní (také oxyfilní) erytroblasty** již nejsou schopny dělení, jádro je silně pyknotické, malé a již v něm neprobíhá syntéza deoxyribonukleových kyselin (DNA). Oxyfilní (ortochromní) erytroblasty jsou nejmenšími elementy erytropoézy (8–12 μm), jejich velikost se téměř blíží zralým erytrocytům. Ortochromní erytroblasty však nejsou plně hemoglobinizovány, a proto jejich oxyfilie nedosahuje intenzity, jakou vidíme u zralých erytrocytů. Extruzí jádra, což je aktivní proces za účasti aktinových filament, se oxyfilní erytroblast dále vyvíjí v retikulocyty. **Retikulocyty** jsou poněkud větší než normální erytrocyty (normocyty) a mají nepravidelný tvar, což je zvláště dobře detekovatelné ultramikroskopicky. Retikulocyty mají zachovanou jistou možnost aktivního pohybu, což se považuje za důležité při přechodu těchto buněk přes endoteliální póry dřeňových sinusoid do periferní krve. V retikulocytech ještě probíhá syntéza hemoglobinu a některé další metabolické pochody, které nejsou prokazatelné ve zralých erytrocytech zvaných normocyty. Některými supravitálními barveními (např. brilliant kresylovou modří – bližze viz příslušná kapitola) lze ve světelné mikroskopii zobrazit v retikulocyty přítomnou ribozomální RNA jako tzv. „substantia reticulofilamentosa“. V retikulocyty však postupně dochází k degradaci RNA ribonukleázami a jinými enzymy, které jsou například blokovány při otravě olovem. RNA bloky jsou pak viditelné při normálním barvení jako bazofilní tečkování (můžeme je však vidět i u řady jiných závažných poruch krve-tvorby). Normální retikulocyty vykazují asi o 20 % větší objem než normocyty. **Normocyty** jsou bikonkávní bezjaderné buňky, nemající vlastní proteosyntézu. Měří asi 7 μm v průměru a vykazují vysoký poměr povrch/objem, což je výhodné pro jejich hlavní funkci – přenášet do tkání kyslík. Pro normální erytropoézu jsou nezbytnou

nutností **aminokyseliny, železo, vitaminy B₁₂, B₆ a kyselina listová** a některé další stopové prvky. Při těžké podvýživě (hladovění, mentální anorexie, kachexie) tak rezultuje anémie z kombinovaného deficitu uvedených látek.

Železo je biogenní prvek, který se vyskytuje prakticky ve všech živých organizmech. Najdeme je v jednobuněčných organizmech (kvasinky, bakterie), v buňkách rostlin a v tělech bezobratlých i obratlovců až po savce. Je tomu tak proto, že atom železa je schopen velmi snadno vázat i uvolňovat elektron, a tak měnit své mocenství z dvojmocné feroformy na trojmocnou feriformu a naopak. Železo se ze všech biogenních kovů vyskytuje v organismu v nejvyšším množství, což obnáší asi 35 mg/kg u žen a 45 mg/kg u mužů. Největší podíl celkového množství železa v organismu je obsažen v hemoglobinu (60–70 %), asi 10 % je součástí myoglobinu, cytochromů a jiných enzymů, asi 20–30 % tvoří zásobní pool v podobě vazby na feritiny, méně než 1 % je obsaženo v cirkulujícím poolu v krvi. Vedle své nejnámější funkce transportu kyslíku plní železo i řadu dalších vitálních funkcí – je nutné pro syntézu nukleových kyselin (DNA i RNA), syntézu řady proteinů, účastní se řízení buněčné proliferace a diferenciaci a apoptózy, je nutné pro syntézu myelinu a formování dendritů neuronů, což se odráží v ovlivňování pochodů učení a paměti. Pozornost řady vědeckých týmů je upřena na úlohu železa v procesech stárnutí tkání, neurodegenerace, maligního bujení, aterosklerózy a role železa v imunitním systému. Železo je v krevním proudu vázáno na bílkoviny. Z největší části jde o transportní protein **transferin**. Molekula transferinu váže dva atomy trojmocného železa Fe⁺⁺⁺. Denně dochází k obrátu asi 25 mg železa v krvi. Za normálních okolností je transferin saturován pouze asi ze třetiny své vazebné kapacity. Při nedostatku železa saturace transferinu klesá, naopak při přetížení organismu železem stoupá. Při rozvoji anémií chronických onemocnění dochází nejčastěji k poklesu koncentrace sérového železa i transferinu (transferin je negativní reaktant akutní fáze), takže saturace transferinu může být normální nebo mírně snížená (záleží na vzájemném poměru poklesu železa i transferinu). Molekula transferinu obsahující železo má vysokou afinitu ke specializovaným receptorům, lokalizovaným na buněčných membránách s nejhustší expresí na buňkách hemopoézy. Byly již popsány 2 typy **transferinových receptorů (TfR)** – **TfR a TfR2**.

Zásobní železo je v buňkách uloženo ve formě **feritinu**. U většiny obratlovců je feritin tvořen dvěma typy podjednotek, označovaných jako L (light, liver) a H (heavy, heart) feritin. Tyto podjednotky se organizují do schránek, z nichž každá je složena ze čtyřadvaceti molekul L nebo H feritinu. Feritinové schránky jsou schopné každá pojmout několik tisíc atomů Fe⁺⁺⁺. Jednotlivé feritiny se od sebe liší zastoupením L a H podjednotek a jsou označovány jako **izoferitiny**. H feritin je feroxidáza a jeho aktivita usnadňuje rychlou inkorporaci atomu Fe do feritinových komplexů a na druhé straně je toto železo rychleji z feritinu uvolňováno. Izoferitiny, bohaté na L podjednotky, přijímají Fe pomaleji a déle jej skladují. Jednotlivé tkáně a orgány se liší zastoupením exprese a translace mRNA pro L a H podjednotky feritinu. **TfR a feritin představují dva hlavní proteiny regulace buněčné homeostázy železa**. Při **negativní bilanci železa** (poruchy vstřebávání, chronické krevní ztráty, gravidita apod.) se postupně rozvíjí karence tohoto prvku. Nejprve dochází k depleci železa v zásobách monocyto-makrofágového systému (MMS), pak klesá saturace transferinu pod 15 % jeho celkové vazebné kapacity a současně stoupá i koncentrace transferinu v krvi. Po vyčerpání zásob železa v MMS i snížení jeho obsahu