

Diferenciální diagnostika leukocytózy a leukopenie

Tomáš Arpáš¹, Michael Doubek¹

¹Interní hematologická a onkologická klinika, LF MU a FN Brno

Vyšetření krevního obrazu patří k nejčastěji vyšetřovaným laboratorním parametrům v klinické praxi lékaře. Fyziologické počty leukocytů jsou v rozmezí $4-10 \times 10^9/l$ krve. U pacientů se často setkáváme se změnami absolutního počtu leukocytů a jednotlivých podtypů leukocytů v diferenciálním rozpočtu. Tyto změny můžou souviset s celou řadou závažných i benigních stavů a je potřeba je správně interpretovat a rozhodnout o dalším postupu. Příčiny leukocytózy a leukopenie lze jednoduše rozdělit na primárně hematologické onemocnění a příčiny sekundární (reaktivní), kdy změny hodnot leukocytů vznikají jako reakce hematopoézy a distribuce leukocytů v návaznosti na jiné onemocnění a stavy. Tento článek má za cíl stručně shrnout možné příčiny leukocytózy a leukopenie a též poskytnout stručné rady, jak při došetření těchto stavů postupovat.

Klíčová slova: diferenciální krevní obraz, leukemie, leukocytóza, leukopenie.

Differential diagnosis of leukocytosis and leukopenia

The blood cell count is often examined in routine clinical praxis. Physiologic leucocyte count is in range $4-10 \times 10^9$ in liter of blood. Abnormal values of leukocytes and subtypes of leukocytes in differential count are often present. Changes in leukocytes counts are caused by variety of benignant or malignant conditions. It is important in clinical praxis to interpret changes in blood cell count correctly and choose adequate approach in investigation process. In general, leukocytosis and leukocytopenia may present in primary hematologic disorder or secondary/reactive states, caused by reaction of hemato-poiesis to underlying condition. This article review common causes of leukocytosis or leukopenia and give basic advice how to investigate patients with changes in leukocytes count.

Key words: differential blood cell count, leukemia, leukocytosis, leukopenia.

Úvod

Patologický počet leukocytů je v klinické praxi častým nálezem se širokým spektrem vyvolávajících příčin a často s potřebou komplexní diferenciální diagnostiky v rámci došetření. Důvody k vyšetření krevního obrazu jsou různé: preventivní prohlídky, vyšetření v akutním stavu nebo cílená kontrola krevního obrazu ze zjevného důvodu. Při zhodnocování patologických hodnot v krevním obraze je vždy potřeba myslet na klinický stav pacienta a důvod, proč byl odběr prováděn. Mimo laboratorní testy je vždy základem stanovení správného diagnostického postupu pečlivé klinické vyšetření pacienta a důkladná anamnéza. Přínosné často bývá zhodnocení laboratorní historie pacienta stran dynamiky změn krevního obrazu, v případě, že jsou starší výsledky dostupné.

Při patologických hodnotách leukocytů je potřeba provést jejich diferenciální rozpočet a zjistit, ve které linii leukocytů dochází k odchylce od normy. Vyšetření diferenciálního rozpočtu lze provést automatickým analyzátozem i v akutním režimu, limitací je neschopnost analyzátoru zhodnotit morfologické odchylky leukocytů a správně zařadit patologické buňky (např. blastické elementy může analyzátor řadit pod monocyty). V případě podezření na hematologické nebo hematoonkologické onemocnění (klinické symptomy, výrazné odchylky počtu krvinek) je indikováno morfologické vyšetření nátěru periferní krve mikroskopicky. Morfologické vyšetření je dále potřebné při hláškách automatického analyzátoru, zejména o přítomnosti blastů nebo atypických forem lymfocytů. Morfologické vyšetření může nalézt a blíže popsat případné patologické leukocyty (blasty, mladší formy, abnormální lymfocyty

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: MUDr. Tomáš Arpáš, Arpas.Tomas@fnbrno.cz

Interní hematologická a onkologická klinika, LF MU a FN Brno

Jihlavská 340/20, 625 00 Brno

Cit. zkr: Vnitř Lék. 2022;68(7):E28-E35

Článek přijat redakcí: 27. 6. 2022

Článek přijat po recenzích: 30. 9. 2022

a jiné) v periferní krvi. Kromě počtu leukocytů vždy hodnotíme také ostatní parametry krevního obrazu: hemoglobin, hematokrit, objem erytrocytů, počet trombocytů, které nám poskytnou další informace o možné příčině leukocytózy nebo leukopenie a též vypovídají o akutnosti a závažnosti stavu pacienta (např. těžká anémie, trombocytopenie). Referenční meze parametrů krevního obrazu uvádí tabulka 1.

Pomocí vyšetření krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem, důkladnou anamnézou a klinickým vyšetřením jsme většinou schopni snadno odlišit případné sekundární a reaktivní změny počtu leukocytů, nebo nabýt podezření na hematologickou diagnózu.

Leukocytóza

Leukocytóza je častý laboratorní nález definovaný vzestupem počtu leukocytů nad referenční mez ($10 \times 10^9/l$). Diferenciální diagnostika

příčiny leukocytózy je široká a někdy i obtížná. Adekvátní zhodnocení anamnézy, klinického stavu pacienta a diferenciálního rozpočtu leukocytů je základem k správnému postupu. Pro došetření příčiny leukocytózy je důležité zjistit, který podtyp leukocytů je zmnožen a zdali jsou přítomny i patologické formy leukocytů jako blasty, nezralé formy, atypické lymfocyty. Typ zmnožených krvinek závisí na příčině leukocytózy (1, 2).

Přítomnost blastických elementů v periferní krvi vede k podezření na akutní leukemii. Typická bývá krátká anamnéza rozvoje potíží pacienta a rychlý vývoj změn v krevním obraze. Mimo průkaz různého počtu blastických elementů v krevním obraze typicky nalézáme cytopenie podmíněné náhradou zdravé krvetvorby. V diferenciálním rozpočtu bývá někdy zjevná absence mezistupňů vývoje granulocytů (promyelocytů, myelocytů a metamyelocytů) v kontrastu s přítomností

Tab. 1. Referenční meze krevního obrazu (20)

Parametry – analyzátor	Jednotky	Ženy	Muži
Leukocyty – počet (WBC)	$10^9/l$	4,0–10,0	4,0–10,0
Erytrocyty – počet (RBC)	$10^{12}/l$	3,80–5,20	4,0–5,8
Hemoglobin – koncentrace (HGB)	g/l	120–160	135–175
Hematokrit (HCT)	l/l	0,35–0,47	0,40–0,50
Střední objem erytrocytů (MCV)	fl	82,0–98,0	82,0–98,0
Střední množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH)	pg	28–34	28–34
Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCH)	g/l	320–360	320–360
Šíře distribuce erytrocytů – směrodatná odchylka (RDW-SD)	fl	37,0–54,0	37,0–54,0
Šíře distribuce erytrocytů – variační koeficient (RDW-CV)	%	10,0–15,2	10,0–15,2
Trombocyty – počet (PLT)	$10^9/l$	150–400	150–400
Střední objem trombocytů (MPV)	fl	7,8–12,8	7,8–12,8
Šíře distribuce trombocytů – směrodatná odchylka (PDW-SD)	fl	9,0–17,0	9,0–17,0
Šíře distribuce trombocytů – variační koeficient – (PDW-CV)	%	12,0–18,0	12,0–18,0
Retikulocyty – relativní počet (RET)	%	0,5–2,5	0,5–2,5
Retikulocyty – absolutní počet (RET#)	$10^9/l$	25–100	25–100
Normoblasty – absolutní počet (NRBC#)	$10^9/l$	0–0,015	0–0,015
Diferenciální rozpočet	Jednotky	Ženy	Muži
Neutrofily	%	45,0–70,0	45,0–70,0
Lymfocyty	%	20,0–45,0	20,0–45,0
Monocyty	%	2,0–12,0	2,0–12,0
Eozinofily	%	0,0–5,0	0,0–5,0
Bazofily	%	0,0–2,0	0,0–2,0
Neutrofily absolutně	$10^9/l$	2,00–7,00	2,00–7,00
Lymfocyty absolutně	$10^9/l$	0,80–4,00	0,80–4,00
Monocyty absolutně	$10^9/l$	0,08–1,20	0,08–1,20
Eozinofily absolutně	$10^9/l$	0,00–0,50	0,00–0,50
Bazofily absolutně	$10^9/l$	0,00–0,20	0,00–0,20
Diferenciální rozpočet mikroskopicky	Jednotky	Ženy	Muži
Neutrofily segmenty	%	47–70	47–70
Neutrofily tyče	%	0–4	0–4
Lymfocyty	%	20–45	20–45
Monocyty	%	2–10	2–10
Eozinofily	%	0–5	0–5
Bazofily	%	0–1	0–1

blastů nazývána hiatus leukemicus. Potíže pacientů bývají často nespecifické, může být vyjádřen anemický syndrom, patologické krvácení, petechie a tvorba modřin při trombocytopenii, infekční komplikace při neutropenii nebo také známky orgánové infiltrace. V případě extrémní hyperleukocytózy obvykle nad $100 \times 10^9/l$ podmíněné blastickými elementy bývá vyjádřen syndrom leukostázy s poruchou mikrocirkulace. Nová diagnóza akutní leukemie je závažným akutním stavem ohrožujícím pacienta na životě (krvácení, leukostáza, orgánové infiltrace a další). Pacienty s podezřením na akutní leukemii je nutno bez prodlevy referovat do hematooonkologického centra k dalšímu došetření a léčbě. Rozlišení podtypu akutní leukemie morfoloogickým, imunofenotypizačním a onkogenetickým vyšetřením se provádí v hematooonkologickém centru (3). Diagnóza akutní myeloidní leukemie (AML) je potvrzena při nálezů přes 20 % blastů myeloidního fenotypu v periferní krvi nebo kostní dřeni. Kritérium 20 % blastů nemusí být naplněno v případě cytogenetického průkazu translokace t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16) nebo dalších cytogenetických a molekulárních změn definujících AML dle WHO klasifikace (13, 15). Klinicky specifickým podtypem akutní leukemie je promyelocytární leukemie (M3 dle francouzsko-americko-britské FAB klasifikace). Jedná se o nemoc s možnými urgentními komplikacemi. Vyzrálší blastické elementy promyelocyty obsahují ve své cytoplazmě (patognomická) granula s prozánětlivými a prokoagulačními působky (tkáňový faktor, elastáza, proteolytické enzymy). V případě degranulace se rozvíjí akutní syndrom diseminované intravaskulární koagulopatie, pacienti jsou ohroženi trombózou i závažným krvácením. V případě podezření na APL (nález susp. promyelocytů v krevním obraze nebo nález blastů s podezřelou koagulopatií) je potřeba pacienta urgentně referovat do hematologického centra na jednotku intenzivní péče. (3) Akutní lymfoblastová leukemie (ALL) má podobné příznaky jako AML. Častější bývají B symptomy a může být přítomna lymfadenopatie, orgánové infiltrace, např. splenomegalie, hepatomegalie, plicní infiltráty a zejména může být přítomna infiltrace CNS. Diagnóza se stanoví morfoloogickým a imunofenotypizačním vyšetřením blastů z periferní krve a kostní dřeni. V případě, že není dosaženo kritéria 25 % blastů ve dřeni, je nemoc nazývána lymfoblastový lymfom, nicméně jedná se o stejnou nozologickou jednotku.

Menší procento blastických elementů do 20 % v periferní krvi může být pozorováno v případě chronických myeloproliferativních nemocí (MPN), myelodysplastického syndromu (MDS) nebo překryvných diagnóz MDS/MPN. Z nemaligních příčin se blasty v periferní krvi objevit například u těžké infekce (leukemoidní reakce), reparaci kostní dřene (např. po chemoterapii), nebo také iatrogeně po aplikaci granulocytárních růstových faktorů (G-CSF) (1, 14).

Neutrofilie je v praxi nejčastější změnou počtu leukocytů, přičemž poznání příčiny nebývá většinou problémem. Za normálních okolností tvoří neutrofilní granulocyty 45–70 % leukocytů, za patologii je považován vzestup absolutního počtu nad hodnotu $7 \times 10^9/l$. Počet neutrofilů v periferní krvi je závislý na rovnováze tvorby v kostní dřeni, uložení v marginálním poolu a migraci do tkání. Funkcí neutrofilních granulocytů je zejména obrana organismu před infekcemi (zejména bakteriální a houbové) a reakce na poškození tkáně ve formě zánětů. Akceleraci tvorby granulocytů a jejich uvolněním z marginálních rezerv reaguje

organismus na různé inzulty (infekce, poškození tkání, zánět, stres a jiné). V organismu je tvorba a migrace neutrofilů regulována cytokiny, růstovými faktory (G-CSF a GM-CSF) a adhezivními molekulami (2, 8).

Většina případů neutrofilie je reaktivní, v důsledku působení fyziologických mechanismů (prozánětlivé cytokiny, CSF) v návaznosti na vyvolávající situaci (např. infekce, trauma, zánět). Leukocytóza podmíněnou počtem neutrofilních granulocytů je potřeba hodnotit s ohledem na klinický stav pacienta a pátrat po sekundární příčině, pokud není zjevná. Nejčastější příčiny reaktivní neutrofilie jsou různé typy zánětu a stavy spojené s vyplavením prozánětlivých cytokinů, jako infekce, poškození tkání, nádory, nebo také autoimunitní procesy. Z dalších příčin je možná neutrofilie například po tkáňové ischemii, krvácení, při metabolických dekompenzacích (např. ketoacidóza), při kortikoterapii, po aplikaci G-CSF u onkologicky léčených pacientů, po splenektomii a další (přehledně tabulka 2). Reaktivní elevace neutrofilních granulocytů jen zřídka přesáhne hodnot přes $30 \times 10^9/l$ a má přechodný ráz. Diferenciálně diagnostický přínos má i morfoloogické vyšetření leukocytů. U reaktivních příčin možno pozorovat v neutrofilech toxické azurofilní granule a při vyšetření na alkalickou fosfatázu bývají reaktivní neutrofilie silně pozitivní, na rozdíl od případů leukemie. Naopak u maligních příčin neutrofilie mohou být přítomny dysplastické změny granulocytů jako hypolobularizace jádra, abnormální shlukování chromatinu, hypogranulace cytoplazmy. Jako posun doleva označujeme zmnožení nezralých granulocytů (tyčků, metamyelocytů, myelocytů), které bývá přítomno v případě intenzivního zánětu a infekce, ale typicky i u chronické myeloidní leukemie. Reaktivní leukocytóza extrémních hodnot s posunem doleva se nazývá také leukemoidní reakcí (1, 2, 8).

Na druhé straně, zvýšení počtu neutrofilních granulocytů může být také podmíněno myeloproliferativním onemocněním, kdy dochází k nezávislé a nadměrné proliferaci klonu myeloidní kmenové buňky. Tyto nemoci mají původ v alteraci genů (mutace nebo translokace) pro klíčové proteiny signálních drah spouštějících proliferaci klonu myeloidních buněk. V případě chronické myeloidní leukemie (CML) typicky nacházíme translokaci t(9;22) s vytvořením Filadelfského chromozomu (PH) a vznikem fúzního genu BCR-ABL. V případě ostatních myeloproliferativních nemocí zejména mutace Janusovy kinázy JAK2. Na myeloproliferativní onemocnění je třeba pomyslet v případě extrémních hodnot granulocytů nad $30 \times 10^9/l$, chybění vysvětlující příčiny reaktivní elevace granulocytů nebo dlouhodobém přetrvávání patologických hodnot při kontrolách krevního obrazu. V krevním obraze může být

Tab. 2. Příčiny leukocytózy podmíněné neutrofilními granulocyty

Reaktivní a sekundární příčiny	Hematoonkologické příčiny
Infekce Trauma Recentní infarkt nebo tkáňová ischemie Metabolická dekompenzace – ketoacidóza Nádorové onemocnění – paraneoplasticky Autoimunitní zánět Kortikoidy Stav po splenektomii Stres Kouření	Chronická myeloidní leukemie PH negativní myeloproliferace Chronická myelomonocytární leukemie

přítomno zmnožení bazofilních i eozinofilních granulocytů, typické pro CML. Polyglobulie anebo trombocytémie může nasměrovat diagnostiku směrem k PH negativním myeloproliferacím. Pozornost je potřeba věnovat příznakům typickým pro myeloproliferativní onemocnění, jako splenomegalie a hepatomegalie, konstituční symptomy (pocení, hubnutí, teploty nevyvolané infekcí) a trombotickým komplikacím doprovázejícím myeloproliferativní nemoci. Pacienti s klinicky atypickou trombózou (jak venózní, tak arteriální) a patologickou myeloidní leukocytózou, polyglobulií nebo trombocytémií, mají být hematologicky došetřeni pro podezření na myeloproliferativní onemocnění. Z myeloproliferativních nemocí (MPN) se neutrofilii může projevit typicky CML, ale i polycytemia vera, primární myelofibróza v prefibrotickém stadiu, chronická neutrofilní leukemie a chronická myelomonocytární leukemie (CMML). Diagnóza myeloproliferativní nemoci se potvrzuje vyšetřením kostní dřeně, cytogenetickým (např. t(9;22) a molekulárně genetickým vyšetřením (BCR-ABL, JAK2 a další). V případě extrémních hodnot leukocytů nad $100 \times 10^9/l$ při CML hrozí i syndrom leukostázy v důsledku městnání leukocytů v mikrocirkulaci. Leukostáza se projeví nejčastěji měnlivou neurologickou symptomatologií, poruchami zraku a sluchu, respiračním a kardiálním selháváním, mohou se objevit ischemické komplikace s infarkty a u mužů také priapismus. Jedná se o hematologickou emergenci vyžadující terapeutický zásah ve formě leukaferézy a cytoredukční léčby (1, 2, 3, 8, 9, 11).

Hypereozinofilie je definována zvýšením počtu eozinofilních granulocytů nad $0,5 \times 10^9/l$, přičemž za klinicky významné se považují hodnoty nad $1,5 \times 10^9/l$. Těžká hypereozinofilie může vést k infiltraci a poškození tkání degranulací s uvolněním toxických substancí. Postižena bývá kůže, plíce, GIT, ale též srdce, specificky endokard s následnou fibrózou a možnou tvorbou kardiálních trombů. Je proto potřeba v diagnostice postupovat promptně. Příčina může být primární (klonální myeloproliferativní onemocnění), nebo častěji reaktivní/sekundární. V rámci hledání sekundární příčiny, známek myeloproliferace nebo lymfoproliferace a zhodnocení případného orgánového poškození je potřeba komplexní přístup zahrnující podrobnou anamnézu, klinické vyšetření, mikrobiologická, serologická, zobrazovací, hematologická a další vyšetření (2, 3, 5, 6).

V prvé řadě je potřeba pátrat po možné sekundární příčině. Nejčastější bývá sekundární eozinofilie při parazitárních infekcích, alergických reakcích, autoimunitních zánětech, plicních nemocech nebo

také paraneoplasticky (např. u T lymfomů, Hodgkinova lymfomu, ale i solidních tumorů) (3, 5, 6).

Po vyloučení sekundárních příčin eozinofilie je potřeba se zaměřit na došetření možného klonálního hematologického onemocnění s eozinofilii. Je indikováno vyšetření kostní dřeně včetně onkogenetického vyšetření. WHO klasifikace specificky rozeznává kategorii myeloidních a lymfoidních malignit s eozinofilii a abnormalitami genů PDGFRA, PDGFRB a FGFR1. Chronická eozinofilní leukemie je definována eozinofilii a přítomností 2–20 % blastů v periferní krvi nebo 5–20 % v kostní dřeni, a/nebo eozinofilii s klonální cytogenetickou/molekulární abnormalitou nedefinující jiné onemocnění ve WHO klasifikaci. Dále může eozinofilie provázet myeloproliferativní nemoci, zejména CML, CMML a systémovou mastocytózu. Akutní myeloidní leukemie s fúzním genem CBF-MYH11 (cytogeneticky: inv(16)(p13.1q22) nebo t(16;16)(p13.1;q22)) může být také doprovázena hypereozinofilii (3, 5, 6).

V případě, že není prokázáno klonální hematologické onemocnění ani sekundární příčina hypereozinofilie a trvají počty eozinofilů přes 1,5 tis./ μl po dobu víc než ½ roku, jedná se o idiopatickou hypereozinofilii. Jsou-li přítomny i známky orgánového poškození, nemoc je klasifikována jako hypereozinofilní syndrom (3, 5, 6) (Přehled příčin eozinofilie – tabulka 3).

Bazofilie je v praxi raritní nález, zejména přítomna izolovaně. Reaktivní bazofilie je vzácná, příčinou může být například atopie, alergické reakce, některé chronické infekce. Reaktivní bazofilie bývá přechodná. V případě trvající bazofilie, extrémních hodnot nad $1 \times 10^9/l$ a jiných známek myeloproliferace klinicky (hepatomegalie, splenomegalie, trombóza a jiné) nebo v krevním obraze (neutrofilie, posun doleva, polyglobulie, trombocytóza) je potřeba došetřit případné myeloproliferativní onemocnění, zejména CML (1, 4, 9, 11).

Monocytóza je definována počtem nad $1 \times 10^9/l$. Ve většině případů je reaktivního původu, bývá asociována s chronickými infekcemi, autoimunitními nemocemi, různými malignitami (karcinomy, lymfomy, myelom), po splenektomii, případně i v rámci lékových reakcí. Dále možno monocytózu pozorovat při obnově krvetvorby po chemoterapii nebo transplantaci krvetvorných buněk. V případě, že monocytóza je setrvalá a není zjevná vysvětlující příčina, v rámci došetření přichází v úvahu několik možných hematologických nemocí s monocytózou. Chronická myelomonocytární leukemie (CMML) je nemocí na pomezí myeloproliferace a myelodysplázie, typicky se vyskytující v starší po-

Tab. 3. Příčiny hypereozinofilie

Reaktivní a sekundární příčiny	Hematoonkologické příčiny
Invazivní parazitární infekce	Myeloproliferace/lymfoproliferace s abnormalitami genů PDGFRA, PDGFRB a FGFR1
Alergická reakce, atopie	Chronická eozinofilní leukemie
Dekompenzované astma bronchiale	Chronická myeloidní leukemie
Autoimunitní a reumatologické nemoci, vaskulitidy, Churg-Straussové syndrom	PH negativní myeloproliferace
Maligní tumory a lymfomy – paraneoplasticky	Systémová mastocytóza
Plicní nemoci – Löfflerův syndrom, sarkoidóza	Chronická myelomonocytární leukemie
Primární gastrointestinální eozinofilní záněty	
Kožní syndromy s eozinofilii	
Lékové reakce	
Idiopatická hypereozinofilie a hypereozinofilní syndrom	

populaci pacientů. V krevním obrazu je perzistentní monocytóza (nad $1 \times 10^9/l$, nad 10 %), přítomnost anémie a/nebo trombocytopenie, známky dysplazie v jedné nebo více řadách při vyšetření kostní dřeně a počet myeloidních blastů do 20 %. Pro diagnózu je potřeba vyloučit jiné myeloproliferativní nemoci, zejména CML (negativní vyšetření fúzního genu BCR-ABL) (10). Z hematologických malignit může být dále přítomna monocytóza při některých podtypech akutní myeloidní leukemie, juvenilní myelomonocytární leukemii a někdy i v případě CML nebo PH negativních myeloproliferací. V praxi je potřeba monocytózu ověřovat mikroskopickým vyšetřením nátěrů krve. Při vyšetření automatickým přístrojem může docházet k zařazení blastických elementů pod monocyty, přičemž se může jednat o akutní leukemii (1, 7).

Lymfocytóza je definována počtem lymfocytů nad $4 \times 10^9/l$ v dospělé populaci. V rámci došetření v anamnéze pátráme po možných příčinách reaktivní lymfocytózy, jako recentně prodělaná virová infekce, mononukleóza, pertuse, očkování, známé autoimunitní onemocnění a podobně. Reaktivní lymfocytóza jen málokdy přesáhne počtu $30 \times 10^9/l$ a má přechodný charakter. Dále se soustředíme na případné známky lymfoproliferativního onemocnění jako B symptomy (horečka nezpůsobená infekcí, noční pocení, hubnutí), přítomnost lymfadenopatie, splenomegalie, v případě T-lymfoproliferací kožní změny a infiltrace. Důležitou informací pro diferenciální diagnostiku lymfocytózy nám poskytne morfologické vyšetření krevního obrazu. Lymfocytóza může mít monomorfní nebo polymorfní charakter. V případě monomorfní populace je podezření na lymfoproliferativní onemocnění, když reaktivní lymfocytóza má spíše polymorfní charakter. V případě monomorfní lymfocytózy dále v rámci morfologického vyšetření zkoumáme velikost a tvar lymfocytů, tvar jádra, přítomnost jadérka, granule a zbarvení cytoplazmy. Klíčové v rámci diferenciální diagnostiky je vyšetření průtokovou flowcytometrií, která nám v případě maligní lymfoproliferace potvrdí klonální charakter populace lymfocytů a určí podtyp zmnožených lymfocytů. Pro chronickou lymfocytární leukemii a některé další lymfoproliferace je imunofenotypizace také diagnostická (1, 2).

Nejčastější leukémií dospělého věku je chronická lymfocytární leukemie (CLL). Typická je monomorfní lymfocytóza s malými lymfocyty s okrouhlým jádrem, ale mohou být přítomny i prolymfocyty (do 55 %). Počty lymfocytů pro stanovení diagnózy přesahují $5 \times 10^9/l$ a často dosahují extrémních počtů přes $200 \times 10^9/l$. Buňky jsou však drobné a uzpůsobené cirkulaci (na rozdíl od blastů akutní leukemie), nebývají tedy známky leukostázy. Nemoc má chronický charakter a v počátečních stádiích většinou asymptomatický průběh, velká část pacientů je s CLL diagnostikována náhodným nálezem lymfocytózy při odběrech krevního obrazu z jiného důvodu. Mimo lymfocytózu mohou mít pacienti různě objemnou lymfadenopatii, splenomegalii a v pokročilých stádiích anemii a trombocytopenii. Přítomny někdy bývají i B symptomy a mohou se objevit i autoimunitní fenomény, zejména imunitní hemolytická anémie nebo imunitní trombocytopenie. Diagnóza se potvrdí flowcytometrickým vyšetřením s nálezem typického imunofenotypu s koexpresí znaků CD5, CD19, CD23. V případě, že dominuje lymfadenopatie bez lymfocytózy a diagnóza se prokáže

histologickým vyšetřením, je nemoc označována jako lymfom z malých lymfocytů (SLL) (12).

Ostatní lymfoproliferace mívají většinou odlišný morfologický charakter lymfocytů a mají jiný imunofenotyp než CLL.

Z lymfomů se nejčastěji projevuje lymfocytózou mantle cell lymfom, buňky bývají větší než CLL a mívají členitější nebo naštípnuté jádro. Folikulární lymfom a jiné indolentní B lymfomy bývají leukemizované jen zřídka. Agresivní leukemizované lymfomy jako Burkittův lymfom nebo difúzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL) mají charakter větších buněk až blastického vzhledu, klinické příznaky pacientů jsou závažné a rychle progredující (lymfadenopatie, B symptomy, orgánové infiltrace, CNS postižení) a pacienti vyžadují akutně došetření a léčbu. Patologickou lymfocytózu můžeme nacházet i u T-lymfomů a Sézaryho syndromu. V případě nálezu buněk lymfomu v periferní krvi dle flowcytometrie je v rámci došetření a stanovení přesné diagnózy lymfomu standardně potřeba pátrat po patologické lymfadenopatii, klinicky a pomocí zobrazovacích metod (ideálně vyšetření PET/CT), s následným histologickým vyšetřením lymfatické uzliny (je-li přítomna patologická lymfadenopatie) a též provedením trepanobiopsie s histologickým vyšetřením kostní dřeně (3).

Ze vzácných lymfoproliferací se významnou lymfocytózou projevuje prolymfocytární leukemie (PLL), která může být B-buněčná nebo T-buněčná. B-PLL je definována přítomností přes 55 % prolymfocytů v periferní krvi s odpovídajícím B-buněčným imunofenotypem. Morfologicky jsou prolymfocyty asi 2x větší než lymfocyty, mají kulaté jádro se středně kondenzovaným chromatinem s přítomným jadérkem a neobjemnou cytoplazmou. U většiny případů nacházíme významné změny karyotypu s aberacemi zahrnujícími MYC onkogen a delece genu TP53. Nemoc má agresivní průběh a nepříznivou prognózu. T-PLL je vzácná nemoc projevující se leukocytózou, postižením sleziny, uzlin a často kožní infiltrací. Diagnostika je založena na kombinaci klinických vyšetření, hodnocení krevních nátěrů, vyšetření imunofenotypu, cytogenetiky a molekulární biologie (3). V periferní krvi můžeme dále prokázat atypické lymfocyty s výběžky cytoplazmy u vlasatobuněčné leukemie nebo splenického lymfomu z B-buněk marginální zóny (atypická/variantní vlasatobuněčná leukemie), většinou však nebývá absolutní zmnožení lymfocytů u těchto pacientů a typickými projevy jsou cytopenie, splenomegalie a infekční komplikace. Vlasatobuněčná leukemie je indolentní lymfoproliferací s příznivou prognózou, diagnostika je postavena na morfologickém vyšetření nátěru krve, typickém imunofenotypu a vyšetření mutace BRAF V600E. U variantní formy není přítomna mutace BRAF V600E, je mírně odlišný imunofenotyp a bývá častěji leukocytóza. Z dalších vzácných lymfoproliferací se mohou v periferní krvi nalézt například buňky leukemie z velkých granulárních lymfocytů (LGL) nebo buňky lymfoplazmocelulárního lymfomu (1, 3) (Přehled příčin lymfocytózy – tabulka 4).

Tab. 4. Příčiny lymfocytózy

Reaktivní a sekundární příčiny	Hematoonkologické příčiny
Virové infekce, pertuse Autoimunitní záněty Stav po vakcinaci	Chronická lymfocytární leukemie Leukemizované lymfomy Vzácné lymfoproliferace LGL leukemie

Leukopenie

Leukopenie je definována poklesem celkového počtu leukocytů pod $4 \times 10^9/l$. V klinickém kontextu se pod leukopenií rozumí zejména neutropenie. Je tedy podstatné hodnocení absolutního počtu neutrofilních granulocytů v diferenciálním rozpočtu, jelikož normální nebo i zvýšený počet celkových leukocytů nevylučuje klinicky závažnou neutropenii. Za neutropenii označujeme hodnoty pod $2 \times 10^9/l$ v kavkazské populaci (v africké populaci pod $1,5 \times 10^9/l$). Oportunními infekcemi jsou výrazně ohroženi pacienti při hodnotách pod $0,5 \times 10^9/l$. Lymfopenie je definována hodnotami pod $0,8 \times 10^9/l$ a taktéž se jedná o stav klinicky významné imunokompromitace pro pacienta. Odchyly ostatních řad leukocytů většinou doprovázejí klinické stavy a nemoci s pancytopenií, izolovaný pokles absolutního počtu eozinofilů, bazofilů a monocytů nemá pro běžnou klinickou praxi podstatný význam.

Neutropenie je v klinické praxi častým stavem, může se jednat o izolovanou patologii nebo přítomnou v kombinaci s dalšími cytopeniemi. Funkcí neutrofilních granulocytů je obrana organismu před infekcemi (zejména bakteriálními a houbovými) a reakce na poškození tkáně. Neutropenictí pacienti jsou tedy ohroženi častějšími infekcemi se závažnějším průběhem a též oportunními infekcemi netypickými patogeny (např. systémové plísňové infekce, pneumonie vyvolané *Pneumocystis jirovecii* a další). Počet neutrofilů v krvi je závislý na rovnováze tvorby, uložení v marginálním poolu a migraci do tkání. V cirkulující krvi je přítomno jen asi 5 % všech neutrofilních granulocytů, zbytek představují dozrávající granulocyty v kostní dřeni a marginální pool. V důsledku poruchy jednoho nebo kombinace těchto procesů dochází k neutropenii. Patofyziologicky lze příčiny neutropenie dělit na podmíněné sníženou kapacitu myelopoézy v kostní dřeni a příčiny s normální myelopoézou, přičemž snížená kapacita kostní dřene může být způsobena primární (vrozenou) poruchou myelopoézy, nebo sekundárně, potlačením normální myelopoézy (např. infiltrace dřene hematologickou malignitou) (16).

Klinický obraz pacientů s neutropenií je závislý na příčině neutropenie a přítomnosti infekčních komplikací. Izolovaná neutropenie bez přítomnosti infekce je zpravidla asymptomatická. Ve vyšetření je důležitá anamnéza pacienta, zhodnocení aktuálních potíží, dotazy na četnost infekčních onemocnění, zhodnocení komorbidit, pečlivá léková anamnéza, dále přínosné bývá dohledání starších výsledků krevního obrazu k zhodnocení dynamiky. Z laboratorních vyšetření je klíčové

samořejmě vyšetření krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů a mikroskopické vyšetření nátěru krve. Hodnotíme závažnost neutropenie a přítomnost cytopenie v ostatních řadách. Přítomnost patologických buněk jako blastů či patologických lymfocytů může nasměrovat k diagnóze hematologické malignity, dysplastické rysy buněk k MDS, makrocytóza k deficitu vitamínu B12 nebo kyseliny listové. Flowcytometrická analýza periferní krve může odhalit patologický klon lymfocytů, nebo klon paroxysmální noční hemoglobinurie. Přítomnost antileukocytárních protilátek podporuje autoimunitní původ neutropenie, nicméně je to poměrně nespecifické vyšetření, které nevylučuje jinou příčinu neutropenie. Pro došetření příčiny je téměř vždy potřeba vyšetření kostní dřene. Základem je mikroskopické hodnocení nátěrů z aspirace kostní dřene (myelogramu) s posouzením granulopoézy stran produkce, vyžrávání a přítomnosti dysplastických změn. Dále hodnotíme v myelogramu i změny v ostatních liniích a případné známky patologické infiltrace. Z aspirátu kostní dřene se dále provádí flowcytometrické, cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření dle indikace hematologa, v rámci došetření klonálních hematologických nemocí. Často je v rámci diagnostiky zapotřebí také histologické vyšetření kostní dřene provedením trepanobiopsie k posouzení struktury, celularity a poškození kostní dřene u některých diagnóz, nebo například v případě nemožnosti aspirovat kostní dřeň (suchá punkce) (2, 8, 16).

Přehled příčin neutropenie

Neutropenie s primární (vrozenou) poruchou myelopoézy

Jsou skupinou vzácných vrozených nemocí, podmíněných mutací genů potřebných pro normální myelopoézu, které mimo neutropenii pacienta ohrožují vysokým rizikem vzniku hematologické malignity. Nemoci se projeví zpravidla v dětství nebo v časně dospělosti. Do této skupiny nemocí řadíme cyklickou neutropenii podmíněnou mutací genu ELANE kódujícího neutrofilní esterázu. Pacienti mívají v několika týdenních cyklech se opakující neutropenie vázané zejména na přítomnost infekce. Dále neutropenie s poruchou myelopoézy bývá součástí vrozených syndromů, například Kostmanův syndrom, Shwachman-Diamondův syndrom, GATA-2 syndrom, Chediak-Higashi syndrom, Fanconiho anemie. Diagnostika vrozené neutropenie je založena na rodinné anamnéze a rozsáhlém molekulárně genetickém vyšetření, používá se celoxomové sekvenování (WES) a masivní paralelní sekvenování (MPS) (16, 17).

Tab. 5. Příčiny neutropenie

Primární porucha myelopoézy	Sekundární porucha myelopoézy	Bez poruchy myelopoézy
Cyklická neutropenie	Akutní leukemie	Infekce
Kostmanův syndrom	Infiltrace lymfoproliferací (LGL, HCL, lymfomy, CLL)	Autoimunitní neutropenie
Shwachman-Diamondův syndrom	Infiltrace solidním tumorem	Autoimunitní neutropenie novorozence
GATA-2 syndrom	MDS	Hypersplenismus
Chediak-Higashi syndrom	Myelofibróza primární/sekundární, mastocytóza	Benigní etnická neutropenie
Fanconiho anemie	Aplastická anemie	
	Autoimunitní agranulocytóza	
	Léky – myelotoxická	
	Léky – idiosynkratické reakce	
	Infekce kostní dřene	
	Strádaté nemoci	
	Nutriční deficit	

Neutropenie se sekundární (získanou) poruchou myelopoézy.

Ve většině případů je postižena hematopoéza ve víceřích vývojových liniích a pacienti se prezentují s pancytopenií. Z hematologických příčin bývá neutropenie nebo pancytopenie přítomna při infiltraci dřeně akutní leukemií, lymfoproliferací (CLL, LGL, vlasatobuněčná leukemie, lymfomy, myelom), systémovou mastocytózou, nebo u myelofibrózy (3). Agresivní nehematologické malignity jako nediferencované karcinomy nebo melanom mohou někdy infiltrovat kostní dřeň s následnou pancytopenií. V diagnostice maligní infiltrace má klíčové postavení vyšetření nátěrů a histologie kostní dřeně. Myelodysplastický syndrom (MDS) je častou příčinou neutropenie hlavně u starších pacientů a pacientů s anamnézou předchozí onkologické léčby chemoterapií. Diagnóza MDS je stanovena na základě cytopenie v periferní krvi a přítomnosti dysplastických změn při vyšetření kostní dřeně, diagnózu podpoří nebo upřesní průkaz klonálních cytogenetických abnormalit nebo mutací. (3, 19) Získaná aplastická anemie je podmíněna imunitní destrukcí krvetvorby s těžkou pancytopenií, diagnóza se stanovuje per exclusionem vyloučením ostatních příčin pancytopenie, náročné je zejména odlišení od hypoplastické formy MDS (18).

V klinické praxi bývá častá zejména iatrogenní neutropenie, v důsledku myelotoxicity léků, zejména cytostatik, některých cílených onkologických léků a cytostatiky působících imunosupresiv (např. methotrexát, mykofenolát). Přímou myelotoxicitu pozorujeme i u jiných léků, například některých antivirotik (zidovudin, ganciclovir). Dávkově závislé idiosynkratické reakce projevující se neutropenií nebo aplázií ve víceřích krevních řadách byly pozorovány například po chloramfenikolu, solích zlata, thyreostatikách, nesteroidních antiflogistikách (indometacinu, acetaminofenu), tricyklických antidepresivech, phenothiazinech (2). Dalším možným mechanismem lékové toxicity způsobující neutropenii jsou imunoalergické, dávkově nezávislé reakce. Ty mohou být vyvolány teoreticky jakýmkoliv léčivem, popsány jsou například po sulfonamidech, betalaktamech, ticlopinech. Přerušení užívání léku vede k normalizaci počtu leukocytů (2). V rámci diagnostiky polékové neutropenie je potřeba prokázat jednoznačnou časovou souvislost s užíváním léku a vyloučit jinou příčinu neutropenie.

Z nemaligních příčin může být kostní dřeň postižena také u některých infekcí (parvovirus B19, leishmanióza a jiné) nebo i střádavých nemocí (Gaucherova nemoc). Nutriční deficit, zejména těžká megaloblastická anemie při deficitu vitamínu B12, se projevuje pancytopenií včetně neutropenie, s typickým nálezem makrocytů.

LITERATURA

1. Chabot-Richards DS, George TI. Leukocytosis. Int J Lab Hem. 2014;36:279-288.
2. Hillman RS et al. Hematology in clinical practice, 5. edition, McGraw-Hill: 2010. ISBN 978-0-07-176653-1
3. Doubek M, Mayer J et al. Léčebné postupy v hematologii 2020. Doporučení ČHS ČLS JEP. ČLS JEP: 2020. ISBN 978-80-270-8240-7
4. Ferial J, Depasse F et al. How I investigate basophilia in daily practice. Int J Lab Hematol. 2020;42:237-245.
5. Larsen R.L., Savage N.M. How I investigate Eosinophilia. Int J Lab Hem. 2019;41:153-161.
6. Novotný J. Hypereozinofilie. Transfúze a hematologie dnes 2021; 27(4):278-282.
7. Lynch DT et al. How I investigate monocytosis. Int J Lab Hem. 2018;40:107-114.
8. Stiene-Martin A. Nonmalignant Leukocyte Disorders. In: Rodak BF et al. Hematology: Clinical Principles and Applications (4th edn.). St. Louise. Elsevier: 2012. 408-426. ISBN 978-1-4377-0692-5

Neutropenie bez poruchy myelopoézy je podmíněna zvý-

šenou spotřebou neutrofilních granulocytů. Typickou příčinou jsou těžké infekce se septickým průběhem, kdy excesivní přesun neutrofilů do zanícených tkání nestíhá kompenzovat myelopoéza. Autoimunitní neutropenie bývá pozorována v případě systémových onemocnění pojiva (systémový lupus), vaskulitid nebo u reumatoidní artritidy (Feltyho syndrom), bývají přítomny antileukocytární protilátky. Neutropenie s přítomností antileukocytárních protilátek se přechodně může objevit i v návaznosti na prodělanou virovou nebo bakteriální infekci. Neutropenie může být způsobena také splenomegalií s hypersplenismem (2, 8). Benigní etnická neutropenie je klinicky asymptomatické snížení počtu neutrofilů u příslušníků některých etnik v Africe, Arabů, Židů a dalších, bez potřeby léčebné intervence (17).

Lymfopenie

Lymfopenie je definována hodnotami pod $0,8 \times 10^9/l$, podmíněna může být jak primárním vrozeným imunodeficitem, tak získanými příčinami. Lymfopenie vede k poruchám adaptivní imunity v buňkách i humorální složce. Pacienti jsou ohroženi širokým spektrem oportunních infekcí (například herpetickými viry) a těžkým průběhem běžných infekcí. Získané příčiny lymfopenie jsou nejčastěji iatrogenní, typicky léčba imunosupresivy, kortikoidy, onkologická léčba zejména lymfoproliferací (chemoterapie, anti CD protilátky, inhibitory B buňkové signalizace a další). Lymfopenii možno pozorovat i v případě některých akutních infekcí, například při těžkém průběhu infekce způsobné koronavirem SARS-CoV-19. Další příčinou může být infekce virem HIV. V přístupu k pacientovi je potřeba dříve zhodnotit případnou zjevnou příčinu jako imunosupresiva, kortikoidy, chemoterapie nebo akutní infekce. V případě dlouhodobého trvání lymfopenie dopátrat anamnézu stran rizikového chování s ohledem na HIV infekci, provést testování na HIV. V případě podezření na primární (vrozený) imunodeficit doplnit flowcytometrii s imunofenotypizací lymfocytů a vyšetření imunologem (8).

Závěr

Diferenciální diagnostika leukocytózy a leukopenie je častým úkolem lékařů napříč všemi specializacemi. Adekvátní zhodnocení stavu a rozhodnutí o dalším postupu je klíčové, s ohledem na možná závažná onemocnění skrytá za laboratorní hodnotou počtu leukocytů.

9. Guglielmelli P, Vannucchi AM. Current management strategies for polycythemia vera and essential thrombocythemia, Blood Reviews 2020; (42) 100714. ISSN 0268-960X. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100714>.
10. Patnaik, MM, Tefferi, A. Chronic Myelomonocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and management. Am J Hematol. 2020;95:97-115.
11. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2020 update on diagnosis, therapy and monitoring. Am J Hematol. 2020; 95(6):691-709.
12. Smolej L, Špaček M, Pospíšilová Š et al. Doporučení pro diagnostiku a léčbu chronické lymfocytární leukemie 2021. Transfúze a hematologie dnes 2021;27(1):91-106.
13. Döhner H, Estey E et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood 2017;129(4):424-447.
14. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. Blood Cancer Journal 2017; (7), e577; doi:10.1038/bcj.2017.53

15. Narayanan D., Weinberg O.K. How I investigate acute myeloid leukemia, *Int J Lab Hematol.* 2020;42:3-15.
16. Frater JL. How I investigate neutropenie, *Int J Lab hematol.* 2020;42(Suppl. 1):121-132.
17. Staňo Kozubík K, Vrzalová Z et al. Kongenitální neutropenie u dětí a dospělých, *Transfúze a hematologie dnes* 2021;27(4):297-303.
18. Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood.* 2017;129(11):1428-1436.
19. Garcia-Manero G, Chien KS, Montalban-Bravo G. Myelodysplastic syndromes: 2021 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol.* 2020;95:1399-1420.
20. Doporučení ČHS ČLS JEP, Referenční meze krevního obrazu, retikulocytů, normoblastů a diferenciálního počtu leukocytů dospělých, verze: 2., revize: 2., platnost od: 18. 6. 2021