

Doporučený postup diagnostiky a terapie esenciální trombocytemie a trombocytemie provázející jiné myeloproliferativní choroby

M. Penka¹, J. Schwarz², R. Pytlík³, M. Doubek⁴, Y. Brychtová⁴, P. Dulíček⁵

¹ Oddělení klinické hematologie FN Brno, pracoviště Bobunice, přednosta prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

² Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha, ředitel prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.

³ I. interní klinika 1. lékařské fakulty UK a VFN, Praha, přednosta prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.

⁴ Interní hematologická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bobunice, přednosta prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

⁵ Oddělení klinické hematologie – II. interní klinika Lékařské fakulty UK a FN, Hradec Králové, přednosta prof. MUDr. Jaroslav Malý, CSc.

Souhrn: Esenciální trombocytemie (ET) není časté onemocnění (výskyt činí asi 0,1–1,5 případů na 100 000 osob), ale protože se objevují jak v souvislosti s diagnostikou, tak i léčbou nové přístupy a možnosti, které posouvají standardní péči, ale na druhou stranu vyžadují uvážlivý a cílevědomý přístup, je třeba se tímto problémem odpovídajícím způsobem zabývat. Je celá řada aspektů, které v rámci diagnostiky a diferenciální diagnostiky vyvolávají polemiku – nejvýznamnější je asi, zda je nutné či není histologické vyšetření kostní dřeně a v rámci léčby, kdy léčbu započít, jakým lékem a jak péči o nemocné organizovat. Vše se dotýká nejen esenciální trombocytemie, ale i myeloproliferativních onemocnění provázených trombocytemií vůbec (MPO-T). Přiložený doporučený postup by mohl posloužit jako vodítko v dané problematice, aniž by omezoval prostor k polemice.

Klíčová slova: myeloproliferace – (esenciální) trombocytemie – megakaryopoéza – anagrelid – interferon – hydroxyurea

Practice guidelines for diagnosis and therapy of essential thrombocytaemia and thrombocytaemia associated with other myeloproliferative diseases

Summary: Essential thrombocytaemia (ET) is not a frequent disease (incidence rate is about 0.1–1.5 cases per 100,000 persons) but as new approaches and possibilities advancing the standard care but contrariwise requiring responsible and systematic approach occur both in relationship with diagnosis and with treatment, it is necessary to deal appropriately with this problem. There is a variety of aspects, which evoke controversy within the scope of diagnosis and differential diagnosis – the most important thing is whether the histological examination of bone marrow is required or not and how to organise care of patients. All this relates not only to essential thrombocytopenia but also to myeloproliferative diseases associated with other myeloproliferative diseases at all (MPO-T). Enclosed recommended practice guidelines could help to serve as a guide in problems given without limiting the space for disputation.

Key words: myeloproliferation – (essential) thrombocytaemia – megakaryopoiesis – anagrelide – interferon – hydroxyurea

Definice esenciální trombocytemie (ET) a trombocytemie provázející další myeloproliferativní choroby (MPO-T)

Esenciální trombocytemie (ET) je onemocnění projevující se zvýšeným počtem krevních destiček, pro něž nelze uplatnit kritéria platná pro jiné myeloproliferativní choroby nebo reaktivní zvýšení krevních destiček. Trombocytemie mohou tedy provázet idiopatickou myelofibrózu (IMF) – nejčastěji její prefibrotické (proliferativní) stadium, pravou polycytemii (polycytemia vera – PV) a chronické myeloidní leukemie (CML). Z hlediska průkazu Ph₁ chromozomu lze rozděl-

lit zmíněné myeloproliferativní choroby na Ph₁ negativní (IMF, PV a sama ET) a Ph₁ pozitivní (CML). S trombocytemií se setkáváme také v souvislosti s infekcemi, záněty, malignitami, krvácením, hemolytickou anémií nebo po splenektomii či v důsledku účinku některých léků (viz níže). V těchto případech mluvíme častěji o trombocytóze a její klinická relevance nebývá tak závažná.

Patogeneza Ph₁ negativních myeloproliferativních onemocnění

Mezi klasická Ph₁ negativní onemocnění patří tedy polycytemia vera

(PV), idiopatická myelofibróza (IMF) a esenciální trombocytemie (ET). Příčina těchto onemocnění zůstává neznámá, ale jsou klasifikována společně, protože splňují pět základních charakteristik:

1. původ v pluripotentní hematopoetické progenitorové buňce;
2. dominance klonu nad normálními hematopoetickými progenitorovými buňkami;
3. zvýšená produkce jedné nebo více řad krevních elementů i přes nepřítomnost fyziologického stimulu;
4. extramedulární hematopoéza;

5. transformace do akutní myeloidní leukemie (velmi variabilní u jednotlivých typů myeloproliferací [9]).

V poslední době byly definovány nové funkční a molekulární charakteristiky těchto onemocnění. Většina myeloproliferativních onemocnění nemá rodinný výskyt a jejich příčinou je somatická mutace na úrovni krvetvorné buňky. Kromě některých případů esenciální trombocytemie jsou myeloproliferativní nemoci klonálním onemocněním krvetvorné buňky [11].

Normální hematopoéza je regulovaná souhrou stimulačních (růstové faktory) a inhibičních signálů. U myeloproliferativních onemocnění vzniká somatická mutace na úrovni kmenové buňky a vede k minimálně dvěma různým typům poškození: hypersenzitivita progenitorů ke stimulačním růstovým faktorům a rezistence k inhibičním signálům.

Fenotypickým projevem somatických mutací je porucha buněčné odpovědi a deregulace genové exprese. Poškozená odpověď hematopoetických progenitorů na cytokiny, kdy BFU-E kolonie rostou bez přidání růstových faktorů (endogenní růst erytroidních kolonií), je přítomna u všech pacientů s polycytemia vera [14,17,31] a u většiny případů esenciální trombocytemie. Tento fenomén je jedním z diagnostických kritérií dle WHO u polycytemia vera. Abnormální *in vitro* růst hematopoetických progenitorů u myeloproliferativních nemocí inspiroval studie zaměřené na poškození signalizace cytokinového receptoru. Nebyly nalezeny žádné mutace genů pro erytropoetin, pro erytropoetinový receptor, IGF-1 receptor nebo trombopoetinový receptor (c-MPL) [12].

Jak již bylo řečeno, u pacientů s myeloproliferativním onemocněním se nejedná o genovou mutaci trombopoetinového receptoru c-MPL, ale je významně snížena exprese MPL

proteinu (trombopoetinového receptoru) na trombocytech u části pacientů. Snížená exprese MPL na trombocytech by se mohla stát novým diagnostickým markerem PV, ET a IMF. Snížená exprese c-MPL byla nalezena také u reaktivní trombocytózy a hereditární trombocytemie s genovou mutací TPO receptoru, ukazující, že tato změna může být způsobena různými molekulárními mechanismy. Zvýšená exprese transkripčního koaktivátoru „high mobility group protein A2“ (HMGA2) byla nedávno popsána jako první molekulární marker pro IMF [1]. PRV-1 a HMGA2 jsou markery, které mohou být užitečné pro diagnózu PV a IMF.

Chromozomální aberace a jiné cytogenetické abnormality představují nález u menšiny pacientů. V době diagnózy u pacientů s PV v méně než 30 %, méně než 40 % u IMF, méně než 25 % u ET. Žádná chromozomová abnormalita není specifická jako u CML. Charakteristickou chromozomovou abnormalitou je delecce 20q (10–15 % pacientů). Nejpravděpodobnějším genetickým mechanismem souvisejícím s delecí 20q je inaktivace tumor supresorového genu, nemůžeme však vyloučit ani jiné mechanismy. Další chromozomální abnormalitou je aberace 9p u 30 % pacientů s PV [2]. Zůstává nejasné, zda jde patogeneticky o primární změny nebo sekundární poškození při progresi nemoci.

Klasickým projevem polycytemia vera je trilineární hyperplazie, ale může se prezentovat jen izolovanou erytrocytózou, trombocytózou, leukocytózou a nebo jako myelofibróza s myeloidní metaplastií (MMM). Diagnostická kritéria PVSG [26] definují pouze pacienty, kteří dle konsenzu mají jistou diagnózu PV.

Idiopatická myelofibróza (IMF) (synonyma: myelofibróza s myeloidní metaplastií, chronická myelomonocytární metaplastie) je klonální onemocnění myeloidní a lymfoidní řady [34]. Myelofibróza je reaktivní

proces a může být asociovaná s benigní nebo maligní nemocí včetně myeloproliferace. V kostní dřeni u IMF se tvoří depozita kolagenu, nové formace kosti (osteoskleróza) a angiogeneze. Tato stromální reakce je mediovaná cytokiny (fibroblast growth factor, IL-1, TGF- β). Zdrojem cytokinů jsou klonální megakaryocyty a monocyty [18,33]. Na druhé straně fibroblasty kostní dřene jsou polyklonální [3]. Abnormální akumulace megakaryocytů v kostní dřeni a jejich tvorba cytokinů se zdá v patogenezi MMM klíčová.

V patogenezi ET dle současných poznatků hraje klíčovou roli klonální snížení exprese trombopoetinového receptoru na trombocytech a megakaryocytech. Mechanismus snížené exprese c-MPL není znám. U zdravého pacienta probíhá regulace produkce trombocytů z megakaryocytů v kostní dřeni následovně: trombopoetin, který je tvořen v játrech, se naváže na trombopoetinové receptory na trombocytech v periferní krvi a volný plazmatický trombopoetin stimuluje megakaryopoézu a takto vede k produkci trombocytů. U sekundární (reaktivní) trombocytózy jiné onemocnění stimuluje zvýšenou syntézu trombopoetinu (pravděpodobně cestou cytokinů, např. IL-6), a takto vede ke zvýšení frakce volného plazmatického trombopoetinu a zvýšení megakaryopoézy. U klonální trombocytózy snížení exprese trombopoetिनových receptorů (c-MPL) na trombocytech vede ke zvýšení frakce volného plazmatického trombopoetinu a zvýšené megakaryopoézy. I přestože exprese trombopoetिनových receptorů na megakaryocytech je snížena, megakaryocyty jsou hypersenzitivní na trombopoetin a dojde ke zvýšení produkce trombocytů [37].

Klinické příznaky trombocytemie při MPO

Klinické příznaky MPO-T jsou dány jednak typem základního onemocnění (zda jde o ET, PV, IMF nebo

CML), jednak trombocytemií samotnou. Trombocytemie u MPO může být zcela asymptomatická (se stále častějšími vyšetřeními krevního obrazu s uvedením počtů trombocytů; těchto pacientů stále přibývá), mohou být přítomny (v době diagnózy i později) trombotické projevy na úrovni žilního systému (venózní tromboembolizmus – VTE), na úrovni arteriální i na úrovni mikrocirkulace (kardiovaskulární, neurologické a kožní projevy). Pacienti s trombocytemií mohou mít krvácivé projevy spojené s patologickou krvácivostí, které bývají následkem ne vždy prokazatelné poruchy funkce trombocytů. Při trombocytemiích nad $1\,000 \times 10^9/l$ jsou krvácivé projevy častější a někdy spojené s prodloužením aPTT, podle některých může jít o sekundární von Willebrandovu chorobu [28]. Další projevy trombocytemických MPO jsou svázány s možností progresu onemocnění do jiné klinické jednotky, nejzávažněji do sekundární akutní myeloidní leukemie (s-AML) s velmi špatnou prognózou [2,23].

Trombotické problémy jsou častější a quoad vitam závažnější než krvácivé. Proto také při sledování a léčbě pacientů s MPO-T klademe důraz především na prevenci závažných trombotických projevů.

Venózní trombózy se u pacientů s MPO-T vyskytují predilekčně v cévách dolních končetin (DK) a splanchniku, jsou provázeny možností plicní embolie. Mohou se vyskytnout případy plicních embolií, u kterých se neprokáže primární trombotické ložisko. Pokud se týká trombóz DK, vidáme jak povrchové tromboflebitidy, tak hluboké žilní trombózy (HŽT). Trombózy v oblasti splanchniku jsou někdy obtížně diagnostikovatelné a mohou být mylně pokládány za jiná algická onemocnění gastrointestinálního traktu, pakliže se na ně nemyslí. Časté jsou trombózy ve v. lienalis, v. portae, v. mesenterica superior i inferior, nevzácně se může objevit trombóza jaterních žil

Tab. 1. Srovnání modifikovaných kritérií PVSG a kritérií TVSG pro diagnostiku esenciální trombocytemie [22,26].

PVSG kritéria

- I. **trombocyty** $> 600 \times 10^9/l$
- II. **hematokrit** < 40 nebo normální objem červených krvinek (muži $< 36\text{ ml/kg}$, ženy $< 32\text{ ml/kg}$)
- III. **barvitelné železo** ve dřeni a/nebo normální ferritin v séru a/nebo normální objem červené krvinky
- IV. **nepřítomnost Ph₁ chromozómu** a bcr-abl přestavby
- V. **kolagenní fibróza** ve dřeni:
 - a) nepřítomná nebo
 - b) $< 1/3$ biopsie a bez splenomegalie a leukoerytoblastózy
- VI. **žádné cytogenetické ani morfologické podezření** na myelodysplastický syndrom
- VII. **žádný důvod pro reaktivní trombocytózu**

TVSG kritéria

A. Diagnostická kritéria

1. trombocyty nad $400 \times 10^9/l$ bez známé příčiny reaktivní trombocytemie
2. histopatologický nálezn v souladu s diagnózou ET – viz text
3. histopatologický nálezn v souladu s diagnózou ET – viz text. Absence nebo jen hraniční zvýšení retikulinu

B. Potvrzující kritéria

1. normální nebo zvýšená hladina ALP v leukocytech, normální sedimentace, nepřítomnost horečky či infekce
2. normální nebo zvýšená celularita v kostní dřeni bez přítomnosti retikulinových vláken nebo s jejich minimální přítomností
3. normálně velká nebo sonograficky jen mírně zvětšená slezina
4. tvorba endogenních erytroidních a/nebo endogenních megakaryocytových kolonií (EEC, EMC) in vitro
5. nepřítomny známky nebo příčiny reaktivní trombocytemie

s Budd-Chiariho syndromem. Pokud se týká arteriálního postižení, dominují trombotické cévní mozkové příhody (CMP), od mírné tranzitorní formy (TIA) až po devastující příhody potenciálně smrtelné. Dále se vyskytuje koronární syndrom v různých formách až po infarkty myokardu. Poškození malých tepének na DK může vést k syndromu modrých prstů až ke gangrénám prstů DK. Nejpestřejší klinické projevy mají poruchy mikrocirkulace s nejčastějšími projevy v oblasti CNS, které mohou mít velmi rozličnou symptomatologii neurologickou a oční. Patří sem bolesti hlavy, únava, mžítiky před očima, rozostření vizu, skotomy a nejrůznější často velmi atypické stesky. Na DK, méně často na horních končetinách, se objevují červenofialová bolestivá ložiska erytromelalgie, která mají zvláštní histologický obraz se zánětlivými změnami s přítomností destičkových mikrotrombů a depozit fibrinu. Typická je

pro ně až zázračně rychlá úleva od bolesti při léčbě kyselinou acetylosalicylovou (ASA) [23].

Diagnostika a diferenciální diagnostika esenciální trombocytemie a trombocytemií provázejících myeloproliferativní choroby

I. Diagnostika

Zatím neznáme znak, jenž by jednoznačně odlišil esenciální trombocytemií od trombocytemií při ostatních myeloproliferativních chorobách a dokonce ani od reaktivních trombocytemií.

K diagnostice esenciální trombocytemie bylo vytvořeno několik systémů, které používají vždy více různých kritérií. V tab. 1 jsou srovnána diagnostická kritéria esenciální trombocytemie vypracovaná „Polycytemia Vera Study Group“ (PVSG) [24,26] a „evropská“ či „rotterdamská“ diagnostická kritéria, „Thrombocythemia Vera Study Group“ (TVSG) [22]. Hematopatologická skupina z Kolí-

Tab. 2. Diagnostická kritéria esenciální trombocytemie podle Světové zdravotnické organizace (WHO kritéria) [13].**Pozitivní kritéria**

- trvalý počet trombocytů $600 \times 10^9/l$ a větší
- biopsie kostní dřeně prokazuje dominantní proliferaci megakaryocytární linie se zvýšeným počtem zvětšených, zralých megakaryocytů

Vylučovací kritéria

- 1) není přítomna polycytemia vera
 - normální erytrocytární masa, nebo koncentrace hemoglobinu $< 185 \text{ g/l}$ u mužů a $< 165 \text{ g/l}$ u žen
 - je detekovatelné železo v kostní dřeni, normální ferritin nebo normální MCV
 - pokud tyto podmínky nejsou splněny, musí být negativní výsledek pokusu zvýšit podáním železa erytrocytární masu nebo koncentraci hemoglobinu na hladinu diagnostickou pro primární polycytemii
- 2) není přítomna CML (negativní vyšetření Ph1 chromozomu nebo BCR-ABL fúzního genu)
- 3) není přítomna chronická idiopatická myelofibróza:
 - není přítomna kolagenní fibróza
 - retikulinová fibróza je minimální nebo chybí
- 4) není přítomen myelodysplastický syndrom:
 - není $\text{del}(5q)$, $\text{t}(3;3)(q21;q26)$, $\text{inv}(3)(q21;q26)$
 - není signifikantní granulocytární dysplazie, a dále málo nebo žádné mikromegakaryocyty
- 5) není průkaz, že trombocytóza je reakcí na:
 - současný zánětlivý proces nebo infekci
 - maligní nádor
 - předchozí splenektomii

Pro stanovení diagnózy esenciální trombocytemie musí být splněny všechny body.

na nad Rýnem definovala kritéria, na základě kterých je možno rozlišit jednotlivé Ph₁-negativní myeloproliferace pomocí trepanobiopsického vyšetření [25,43]. Kostní dřeň pacienta s esenciální trombocytemií má normální nebo pouze lehce zvýšenou buněčnost, obsahuje zmnožené zralé megakaryocyty s normálním poměrem jádro/cytoplazma a nenesou dysplastické rysy. Základní rozdíly v interpretaci histopatologického nálezu (ve srovnání s kritérii PVSG) je založen na posouzení morfologických detailů megakaryocytů. Nalezneme absolutní převahu velkých, polyploidních megakaryocytů, s hutným jaderným chromatinem. Megakaryocyty jsou většinou ve skupinách, ale disperzní rozložení je možné. Erytropoéza a granulopoéza nejsou ani utlumené, ani hyperplastické. Oproti kritériím PVSG je v případě TVSG kritérií výslovně řečeno, že jakýkoli stupeň retikulinové

fibrózy musí vést k úvahám o počátečním stadiu myeloidní metaplasie s myelofibrózou. Základním kritériem pro diagnózu myeloidní metaplasie s myelofibrózou (MMM, jinak též idiopatická myelofibróza – IMF, či agnogenní myeloidní metaplasie) není přítomnost retikulinových vláken, ale hyperproliferace dysplastických megakaryocytů v hypercelulární dřeni. Ve srovnání s ET nalezneme větší variabilitu ve velikosti megakaryocytů, od obrovských (většinou s jemnějším „obláčkovitým“ jaderným chromatinem), kterých je většina, až po malé formy, typické pro myelodysplastický syndrom. Tyto megakaryocyty tvoří shluky extendující směrem ke kostním trámčům a jsou výrazně dysplastické – s pyknotickým jádrem, abnormálním poměrem jádro/cytoplazma, často jsou patrná holá jádra bez cytoplazmy. Současně je přítomna hyperplazie neutrofilní řady. Tento ob-

raz se označuje jako incipientní stadium myeloidní metaplasie, celulární stadium myelofibrózy, nebo jako esenciální megakaryocyticko-granulocytová metaplasie (EMGM) [44,45].

Při diagnostice esenciální trombocytemie doporučujeme postupovat podle nejnovějších kritérií Světové zdravotnické organizace (WHO) [13], která jsou uvedena v tab. 2. „Rotterdamská“ („evropská“ či TVSG) a WHO kritéria jsou založena na stejné histopatologické klasifikaci, ale v jednom důležitém detailu se liší: počet trombocytů pro diagnózu ET začíná podle TVSG již nad 400, zatímco u WHO nad $600 \times 10^9/l$. Lze tedy pro praxi doporučit WHO kritéria, doplněná touto modifikací TVSG [13,21].

II. Diferenciální diagnostika

Esenciální trombocytemie je vzácné onemocnění. Proto nepřekvapuje, že většina nemocných s vysokými počty krevních destiček má reaktivní trombocytózu. Podle Schafera [37] má reaktivní trombocytózu 88 % pacientů s počty trombocytů nad $500 \times 10^9/l$ a 82 % pacientů s počtem trombocytů nad $1\,000 \times 10^9/l$. Z tohoto faktu vyplývá, že diferenciální diagnostiku esenciální trombocytemie nelze v žádném případě podceňovat.

Trombocytóza je často náhodně zjištěný nález při vyšetření parametrů krevního obrazu. Jde o diagnostickou výzvu, která má tři hlavní příčiny: **reaktivní proces** (sekundární trombocytemie), **klonální onemocnění kostní dřeně** (esenciální trombocytemie, myeloproliferace a další) a **familiární onemocnění**. Diferenciální diagnostika trombocytemie by měl být proces o dvou krocích: v prvním kroku by měla být vyloučena reaktivní trombocytemie, ve druhém pak jiná myeloproliferace, případně další onemocnění kostní dřeně.

A) Reaktivní trombocytemie

Reaktivní (sekundární) trombocytemie může být způsobena následujícími faktory [37]:

1. Faktory způsobující krátkodobé trombocytemie:

- a) akutní krevní ztráta;
- b) stav po trombocytopenii („rebound“);
- c) akutní zánět a infekce;
- d) fyzická zátěž.

2. Faktory způsobující dlouhodobé trombocytemie:

- a) sideropenie;
- b) hemolytická anémie;
- c) splenektomie, asplenie – po splenektomii dochází ke zvýšené tvorbě trombopoetinu pravděpodobně vlivem vyšší produkce interleukinu-6 [7];
- d) malignity;
- e) chronické záněty (kolagenózy, pneumonitidy, tuberkulóza, chronické střevní záněty);
- f) léky (vinkristin, cytokiny, růstové faktory).

K odlišení reaktivní trombocytemie a esenciální trombocytemie nelze použít jen hodnotu počtu trombocytů v periferní krvi. Byly totiž popsány případy správně stanovené diagnózy esenciální trombocytemie u nemocných s počty krevních destiček v periferní krvi nižšími než $600 \times 10^9/l$ [15,36]. Při obtížích s odlišením reaktivní trombocytemie je nutné histopatologické vyšetření. Při reaktivní trombocytemii se nalezne zmnožení morfologicky normálních megakaryocytů (výrazně menších než u MPO-T).

Tab. 3 shrnuje rozdíly onemocnění reaktivní (sekundární) trombocytemie a trombocytemie při myeloproliferativním onemocnění.

B) Myeloproliferativní onemocnění

Diferenciálně diagnosticky je od esenciální trombocytemie nutné odlišit ostatní myeloproliferativní nemoci, u nichž jsou zjišťovány vyšší hodnoty krevních destiček. Kromě pravé polycytemie, chronické myeloidní leukemie a neklasifikovatelné chronické myeloproliferativní nemoci je

Tab. 3. Rozdíly mezi trombocytemií při myeloproliferativním onemocnění a sekundární trombocytemií [37].

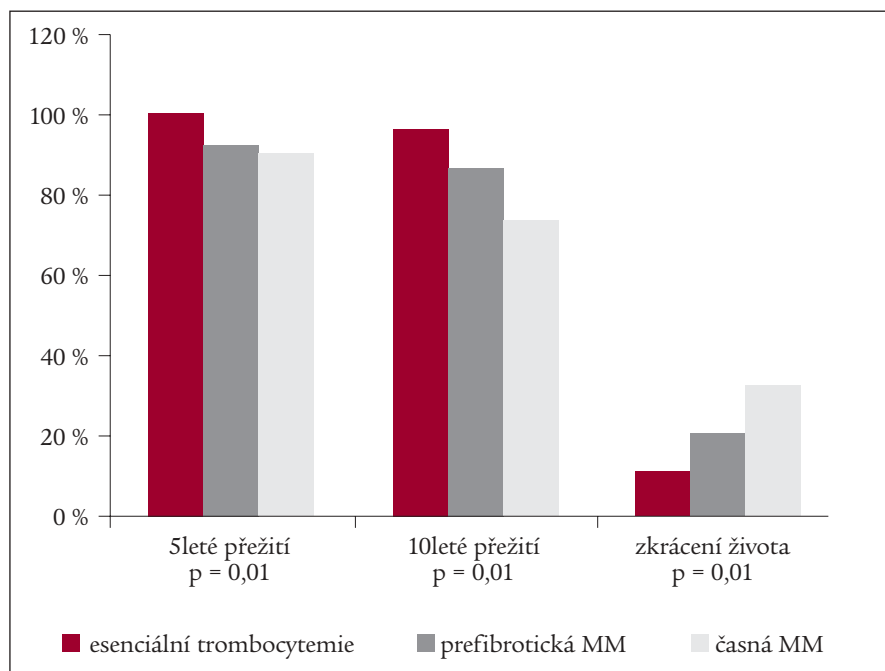
trombocytemie při myeloproliferativním onemocnění		sekundární trombocytemie
	primární onemocnění	
NE		ANO
	cerebrovaskulární ischemie	
ANO		NE
	arteriální nebo žilní trombóza	
ANO		NE
	krvácení	
ANO		NE
	splenomegalie	
ANO		NE
VELKÉ TROMBOCYTY	morfologie trombocytů	NORMÁLNÍ
ABNORMÁLNÍ	funkce trombocytů	NORMÁLNÍ
	megakaryocyty kostní dřeně	
zvýšený počet, morfologicky abnormální (dysplastické, zvýšená ploidita)		zvýšený počet, morfologicky normální
	cytogenetika [5-, t(3;3), inv(3), 13q22-, +8, +9]	
POZITIVNÍ		NEGATIVNÍ

nutné vyloučit především iniciální prefibrotické stadium idiopatické myelofibrózy [13,42]. Toto odlišení je možné jen histologicky a je důležité především z hlediska posouzení prognózy nemocného, a tedy i volby další terapie [20]. Nemocní s prefibrotickým stadiem idiopatické myelofibrózy mají prognózu významně horší než nemocní s esenciální trombocytemií [43] (obr. 1). U esenciální trombocytemie se v kostní dřeni nalézají zmnožené obrovské megakaryocyty s hyperploidními jádry a je patrné jejich abnormální shlukování. V případě myelofibrózy se v kostní dřeni také nachází zmnožené obrovské megakaryocyty s hyperploidními jádry a je patrné jejich abnormální shlukování. Na rozdíl od esenciální trombocytemie jsou megakaryocyty u myelofibrózy (esenciální megakaryocytární granulocytární metaplasie, myeloidní metaplasie) dysplastické, lze u nich pozorovat změny ja-

derného chromatinu a poruchy vyzrávání jádra a cytoplazmy [23,44] (blíže viz kapitola Diagnostika). V diferenciální diagnostice myeloproliferativních chorob je histologické vyšetření rozhodující [9,22,38]. Cytogenetické změny jsou přítomny jen u necelých 25 % nemocných s esenciální trombocytemií [41]. Molekulárně genetické vyšetření exprese receptoru pro trombopoetin ukazuje jeho sníženou expresi na trombocytech u všech myeloproliferativních chorob, i když tato exprese by měla být u esenciální trombocytemie nejnížší [41].

C) Další onemocnění kostní dřeně

Z dalších onemocnění kostní dřeně je třeba na prvním místě zmínit myelodysplastický syndrom, zejména jeho variantu s delecí dlouhého raménka chromozomu 5 (5q-), pro niž je trombocytemie typická [42]. Odlišit je nutné i nemoci ze skupiny



Obr. 1. Přežití a předpokládané zkrácení života u pacientů s esenciální trombocytemií a pacientů v časných fázích myeloidní metaplazie (MM) [45].

myelodysplastických/myeloproliferativních nemocí [13]. V prvním případě je pro diferenciální diagnostiku myelodysplastického syndromu 5q- nutné histologické a cytogenetické vyšetření, ve druhém případě je pro diferenciální diagnostiku rozhodující vyšetření histologické.

D) Familiární trombocytemie

Familiární trombocytemie jsou raritní onemocnění. Asi 20 % případů rodinných trombocytemií je způsobeno autozomálně dominantní mutací genu pro trombopoetin, která způsobuje jeho nadměrnou produkci. Zbýlých 80 % případů má příčiny jiné a dosud neznámé. Byl popsán případ rodiny, u jejíž členů byla zjištěna autozomálně dominantně dědičná trombocytemie způsobená bodovou mutací transmembránové domény receptoru pro trombopoetin c-MpL [37,39].

Doporučená vyšetření

Na základě výše uvedených skutečností navrhuje následující paletu vyšetření, která by měla být použita

v diagnostice esenciální trombocytemie a trombocytemií provázejících ostatní myeloproliferativní nemoci.

1. Základní diferenciální diagnostika

Tato vyšetření nemusí být prováděna na specializovaném hematologickém pracovišti. Nutnost provedení těchto vyšetření vyplývá z výše uvedeného textu.

- anamnéza;
- fyzikální vyšetření;
- vyšetření krevního obrazu, mikroskopické vyšetření diferenciálního rozpočtu leukocytů a vyšetření morfologie trombocytů a erytrocytů (poikilocytóza, drepanocytóza u IMF), přítomnost erytroblastů, alkalická fosfatáza leukocytů;
- základní koagulační vyšetření;
- základní biochemické vyšetření (sérová urea, kreatinin, ionty, jaterní enzymy včetně laktát dehydrogenázy);
- sérové železo a ferritin;
- C-reaktivní protein a sedimentace erytrocytů;
- vyšetření stolice na přítomnost okultního krvácení;

- RTG vyšetření srdce a plic, paranasálních dutin a panoramatický snímek zubů;
- revmatoidní faktor a antinukleární protilátky;
- ultrazvukové vyšetření břicha;
- ORL vyšetření;
- stomatologické vyšetření;
- gynekologické vyšetření u žen a urologické vyšetření u mužů.

2. Stanovení definitivní diagnózy a prognózy

a) Vyšetření nezbytná

- vyšetření kostní dřeně – trepanobiopsické vyšetření s odběry dřeně na histologické, cytologické, cytogenetické (klasická cytogenetika a případně FISH na přítomnost translokace BCR-ABL) a molekulárně genetické vyšetření (BCR-ABL);
- rozšířené koagulační vyšetření včetně vyšetření hladiny D-dimerů, antitrombinu a screeningu trombofilních stavů (protein C, protein S, APC rezistence, Leidská mutace faktoru V, mutace genu pro protrombin 20210A, lupus anticoagulans, antikardiolipinové protilátky, protilátky anti- β_2 -glykorotein I) – nutné pro posouzení rizika trombózy, od něhož se odvíjí terapie.

b) Vyšetření doplňková

Mohou diagnózu a prognózu upřesnit, ale nejsou nezbytná pro její stanovení.

- vyšetření exprese genu PRV-1 v granulocytech [40] a do budoucna vyšetření mutace JAK2;
- vyšetření exprese trombopoetického receptoru c-MpL na trombocytech;
- vyšetření klonality u žen;
- imunofenotypizační vyšetření kostní dřeně a periferní krve včetně imunofenotypizačního vyšetření trombocytů;
- vyšetření funkce trombocytů;
- další koagulační vyšetření – hladina faktoru VIII, hladina homocysteinu, mutace MTHFR;
- vyšetření růstu megakaryocytárních kolonií.

Tab. 4. Srovnání základních léků s tromboreduktivními účinky.

	HU	IFN	ANG
mechanismus účinku	inhibice DNA reparače	imunomodulace	inhibice terminální MK diferenciace
odpověď (%)	> 80	90	> 90
nutnost vysazení	zřídka	25 (%)	16 (%)
poločas/způsob eliminace	4 hod./renální	–	1,5 hod./renální
nástup účinku	3–5 dní	3–26 týdnů	1–2 týdny
vedlejší účinky	neutropenie anémie, afty rash, leukemogenicitu	flu-like syndrom anorexie deprese, cytopenie	bolesti hlavy palpitace, retence vody
kontraindikace	neutropenie, gravidita	0	kongestivní srdeční vada, gravidita
relaps po vysazení (%)	100	90	100

Tab. 5. Doporučený léčebný postup.

počet trombo	do 60 bez rizika	do 60 s rizikem	nad 60 let
400–1 000	(0); ASA	ANG/IFN + ASA	(HU) + ASA
600–1 000 progresivní*	ANG/IFN + ASA	ANG/IFN + ASA	HU + ASA
1 000–1 500	ANG/IFN (+ ASA)**	ANG/IFN (+ ASA)**	HU (+ASA)**
1 500–2 000	(HU*) → ANG/IFN	(HU+) → ANG/IFN	HU
2 000 a výše	(HU* + TF) → ANG/IFN	(HU* + TF) → ANG/IFN	HU
2 000 a výše + krvácení**	HU* + TF → ANG/IFN	HU* + TF → ANG/IFN	TF + HU

() alternativa ke zvážení; * progresivní trombocytémie s nárůstem počtu trombocytů větším než $0,2 \times 10^9/l$ během 2 měsíců;

**ASA ponecháváme i tehdy, kdy je nutná léčba kardiovaskulárního onemocnění (např. koronární ateroskleróza, cévní onemocnění mozku apod.) i další antitrombotika lze podávat, jsou-li indikována i z jiných důvodů než z důvodu ET (MPO-T);

*HU je možno (ale nikoliv nutno) indikovat do doby zvládnutí vysoké trombocytémie, pak zahájíme léčbu ANG nebo INF;

**v případě krvácení je nutno zajistit léčbu na základě obecných principů (např. Dicynone, antifibrinolytika, krevní deriváty, rF VIIa apod.); TF – trombocytoferéza

Terapie ET/MPO-T

Terapie:

- vychází ze zajištění **diagnostiky ET (MPO-T)** – dle definice WHO a její „rotterdamské“ či „evropské“ modifikace [21], která je provedena nebo potvrzena v Centru vysoce specializované hematologické péče (CVSHP) či v Centru pro trombózu a hemostázu (CTH – dále jen „Centra“);
- a ze stanovení individuální rizikovitosti trombózy (ev. krvácení) daného pacienta. Jde tedy o stratifikaci pacientů podle rizika [37]. Rozhodující význam pro trombo-

tické riziko mají: věk nad 60 let, předchozí trombózy, výše trombocytémie – jak vyplývá jednak z Michielsových prací [23] a jednak z poznatku, že cytoreduktivní léčba pomocí HU skutečně vede ke snížení incidence trombotických komplikací [4]. Mezi další rizikové faktory pro trombózu patří: přítomnost trombofilních markerů (deficit proteinů C a S, „leidenská“ mutace f. V, mutace protrombinového genu G20210A, deficit antitrombinu), přihlížíme i k ev. zjištění významného zvýšení hladin f. II a VIII nebo snížení f. XII, ke kli-

nicky závažné formě aterosklerózy tepen srdce, mozku a dolních končetin, těžkému diabetu, malignitě, graviditě, hyperkoagulačnímu stavu při závažné infekci, stavu po závažném chirurgickém výkonu anebo stavu před ním;

- v rámci léčby lze použít **léky** s cytoreduktivním účinkem: anagrelid (ANG), interferon α (IFN), hydroxyureu (HU), v krajních případech busulfan (BU), pipobroman (PB) a dále léky s antitrombocytárním, resp. antiagregačním účinkem: kyselina acetylsalicylová (ASA), tiklopidin, klopi-

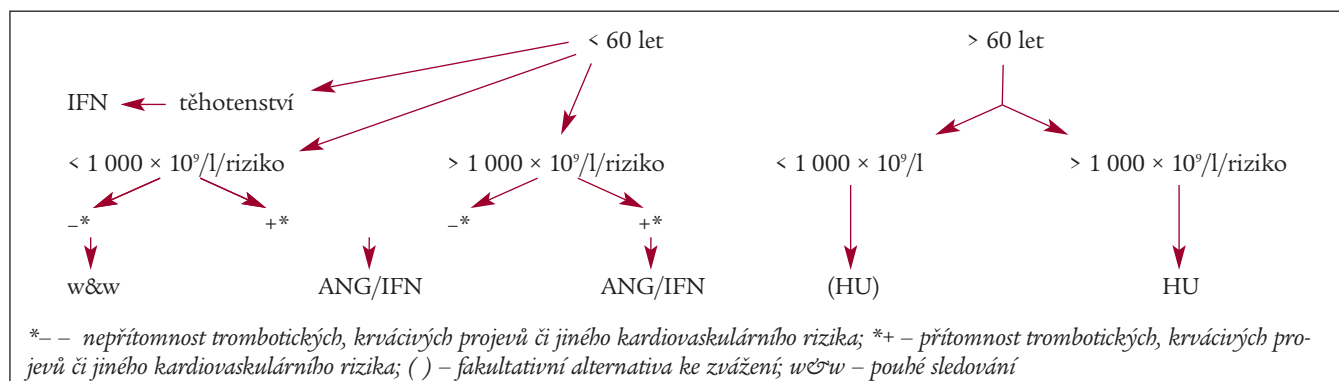


Schéma 1. Doporučené indikace trombo-reduktivní léčby (viz text).

dogrel, indobufen apod., případně doplňkové léky – antitrombotika (heparin, kumariny), symptomatica aj. [46];

d) **doporučení terapie ET (MPO-T)** je většinou poskytováno v souvislosti se stanovením diagnózy Centrem ve spolupráci s ošetřujícím lékařem dle „Doporučeného postupu ČHS“. Léčba, pokud není pacient indikován k pouhému sledování a pokud se k ní rozhodneme, má v podstatě dvě alternativy, a to buď: 1) pouhé podávání antiagregancií (ASA) nebo 2) podávání léků s trombo-reduktivním účinkem (viz výše). *Cílem terapie* má být korekce počtu trombocytů (u rizikových pacientů pod $400 \times 10^9/l$, u nerizikových pod $600 \times 10^9/l$) a zábrana vzniku klinických projevů krvácení či trombózy [8]. Lze ji podle základních aspektů věku a rizikových okolností rozčlenit následovně:

– *ve věku pod 60 let* – w&w (sledování bez léčby). V případě výskytu tromboembolických nebo krvácivých projevů nebo v případě jejich rizika včetně rizika kardiovaskulárního, či v případě vysokého počtu trombocytů ($> 1\,000 \times 10^9/l$) – **anagrelid** nebo **interferon α** . Lékem první volby by zde mohl být anagrelid se svým cíleným trombo-reduktivním účinkem [19,29,30,32]. Anagrelid nasazujeme v dávce 2 kapslí po 0,5 mg a zvyšujeme o 1 kapsli po 0,5 mg za týden.

V případě, že je dosaženo odpovídajícího efektu při dobré toleranci léku, je indikováno pokračování zavedené léčby. Průměrná denní dávka se přitom pohybuje okolo 2,0 mg. Pokud není efektu dosahováno – nedochází k poklesu destiček, nebo je nutné k jeho dosažení použít dávky vyšší než 5 mg anagrelidu denně, popř. lék není dlouhodobě nemocným uspokojivě tolerován (bolesti hlavy, retence tekutin, otoky, tachykardie aj) – je vhodné zvážit záměnu anagrelidu – nejspíš za interferon α [6]. Léčbu interferonem α zahajujeme nejčastěji v dané indikaci dávkou 3 milionů jednotek subkutánně 3krát týdně. V případě, že by byl nasazen interferon α jako lék první volby (může to být výhodou při MPO-T s leukocytózou, kdy se jedná spíše o případy IMF), pak by se s jeho výměnou (za anagrelid či hydroxyureu) mělo počítat při nedosažení efektu léčby do 3 až 13 týdnů nebo nutnosti převýšení dávky 30 milionů jednotek interferonu týdně, či špatné snášenlivosti léku (těžko zvladatelný flu-like syndrom, anorexie, váhový úbytek apod.).

V případě nutnosti aplikace vyšších dávek je možno dle dosud nastíněných pravidel zvážit i **kombinovanou léčbu** (např. ANG/IFN, ANG/HU či IFN/HU)

za účelem snížení dávek obou preparátů k co nejnižším dávkám zajišťujícím účinnost léčby při minimalizaci nežádoucích účinků [46].

U nemocných pod 60 let v celkově špatném zdravotním stavu lze ordinovat jako lék první volby HU (viz dále). Některými autory je doporučována vůbec jako lék volby [10].

– *ve věku nad 60 let* – pokud je přítomna klinická symptomatologie nebo dochází-li ke vzestupu destiček nad $1\,000 \times 10^9/l$ nebo progreduje-li trombocytémie rychle s nárůstem trombocytů o více než $200 \times 10^9/l$ za méně než 2 měsíce, je indikována **hydroxyurea** [4,16]. Začínáme dávkou asi 1 000 až 1 500 mg denně a v následujících týdnech dávku dle kolísání počtu leukocytů a množství hemoglobinu upravujeme. Pokud zmíněné parametry umožní, řídí se další úprava dávky dle kolísání počtu destiček. Ve věku mezi 60–70 lety nemocného lze zvážit podávání ANG/IFN v případě zvláště dobrého zdravotního stavu a předpokladu dlouhodobé délky života v dobré kvalitě. Z důvodu možného leukemoidního účinku při dlouhodobém podávání HU zvláště v kombinaci s jinými cytostatiky, především alkylancii [47] se doporučuje ponechávat tuto léčebnou alternativu až ve zde zmíněné indikaci. U stavů

s vysokou trombocytemií nad $1\,500 \times 10^9/l$ je možné léčbu zahájit u všech rizikových skupin HU (při vysokém riziku krvácení při velmi vysokých počtech trombocytů nebo při přítomnosti krvácivých projevů) a lze ji spojit s trombaferézou. HU doporučujeme v těchto případech proto, že má nejmenší rozpětí potřebných dávek a netratí se tolik času titrací vhodné dávky.

– v případě nežádoucích účinků hydroxyurey – podáváme **anagrelid** nebo **interferon** dle výše uvedených dávkovacích schémat, pouze u nemocných reagující špatně na běžné dávky nebo v případě celkově špatného zdravotního stavu – busulfan či jiná alkylancia.

– v případě nežádoucích účinků interferonu (např. závažný flu-like syndrom nereagující na paracetamol či jiná běžná analgetika/antipyretika) nebo v případě kontraindikací (jako např. jaterní, ledvinné či srdeční onemocnění) – zvažujeme **anagrelid** či **hydroxyureu**.

– v případě nežádoucích účinků anagrelidu (cefalea, palpitace, otoky) nebo jeho kontraindikací (závažné onemocnění srdce, jaterní či renální selhání) – zvažujeme **interferon** či **hydroxyureu**.

– v těhotenství (příp. také již i v době plánování těhotenství) – **interferon α** (viz výše), protože ANG není pro nedostatek zkušeností všeobecně doporučován, i když jsou zprávy i o úspěšně završených těhotenstvích za léčby anagrelidem [5,48].

e) **antiagregační léčba** – nejčastěji ASA (většinou 50–100 mg denně) – je podávána v případě, kdy není dosaženo normálních počtů destiček, kdy však jejich počet nepřesahuje $1\,200\text{--}1\,500 \times 10^9/l$, dále v případě hrozby nebo výskytu trombotických projevů (kardiovaskulární riziko či symptomatologie a může být zvažována v souvislosti s ně-

kterými trombofilními stavy – zejména antifosfolipidovým syndromem či u těhotných s trombofilní dispozicí). V některých případech se podává ASA samostatně bez léků s tromboeduktivním účinkem, v jiných případech společně s tromboeduktivními léky (viz výše léčebné schéma). Použít lze ale i jiné antiagregační preparáty (viz výše) – v obvyklém doporučeném dávkování.

f) **doplňková profylaxe a léčba** zahrnuje především opatření řešící základní klinické projevy ET/MPO-T – tedy trombózu a krvácení. Vedle základní choroby k nim přispívají i choroby kardiovaskulární nebo jejich riziko a/nebo trombofilní vrozené a získané stavy přispívající především ke vzniku žilního tromboembolizmu nebo trombohemoragického syndromu, kdy se setkáváme současně s trombotickými i krvácivými příznaky. Krvácivé projevy mohou být však i důsledkem funkční poruchy trombocytů, které myeloproliferativní stavy provázejí.

V případech prodělaných trombóz je léčba doplněna o antitrombotika – heparin (nizkomolekulární nebo nefrakcionovaný) nebo k dlouhodobému režimu vhodnější kumariny. V případech prodělané trombózy a při současném výskytu dalších trombofilních dispozic, než je samotné základní onemocnění (ET/MPO-T), je indikována dlouhodobá či celoživotní perorální antikoagulační léčba.

V souvislosti s krvácením lze použít prostředky hemostyptické léčby používané při poruchách primární hemostázy (etamsylát, trombocytární koncentráty, plazmatické deriváty, nespecifická hemostyptika a případně a výjimečně antifibrinolytika).

Součástí doplňkové léčby může být léčba symptomatická, která představuje celou škálu dalších léčebných opatření v souvislosti s dal-

šími zdravotními těžkostmi nemocného s respektováním možné interakce s léky podávanými k léčbě ET/MPO-T (např. analgetika a antiflogistika, antibiotika apod.).

g) **dispenzarizace** pacientů (léčených i neléčených) – v Centru s kontaktem 1krát za rok.

h) **sledování** pacientů spádovým hematologem ve spolupráci s Centrem, kde kontrola nejméně 1krát za půl roku.

i) léčebný režim by měl být určen v rámci dohody ošetřujícího lékaře, centra a pacienta samotného. V případě **nutnosti ustoupit od obvyklých pravidel** – nežádoucí účinky, eskalace dávky léku nad obvyklou mez nebo výskyt dalších problémů (závažná onemocnění pacienta, obtížná komunikace s nemocným apod), je nutné řešit stav zajištěním individuálních podmínek péče ve spolupráci ošetřujícího lékaře s Centrem. **Další úprava** návrhu zajištění péče se odvíjí od dalšího vývoje diagnostiky a terapie.

Literatura

1. Andrieux J, Demory JL, Dupriez B et al. Dysregulation and overexpression of HMGA2 in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 39: 82–87.
2. Barbui T, Barosi G, Brossi A et al. Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 2004; 89: 215–232.
3. Castro-Malaspina H, Gay RE, Jhanwar SC et al. Characteristics of bonemarrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny in patients with myeloproliferative disorders. *Blood* 1982; 59: 1046–1054.
4. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 113.
5. Doubek M, Brychtová Y, Doubek R et al. Anagrelide in pregnancy: report of

- a case of essential thrombocythaemia. *Ann Hematol* 2004; 83: 726–727.
6. Elliott MA, Tefferi A Interferon- α therapy in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23: 463.
7. Folman CC, Ooms M, Kuenen B et al. The role of thrombopoietin in post-operative thrombocytosis. *Br J Haematol* 2001; 114: 126–133.
8. Fruchtmann SM Treatment paradigms in the management of myeloproliferative disorders. *Semin Hematol* 2004; suppl. 3: 18–42.
9. Georgii A, Buhr T, Buesche G et al. Classification and staging of Ph-negative myeloproliferative disorders by histopathology from bone marrow biopsies. *Leukemia Lymphoma* 1996; 22(suppl 1): 15–29.
10. Green A, Campbell P, Buck G et al. The Medical Research Council PT1 trial in essential thrombocythemia. *Blood* 2004; 104: 5a–6a.
11. Harrison CN, Gale RE, Machin SK et al. A large proportion of patients with a diagnosis of Essential Thrombocythemia do not have a clonal disorder and may be at lower risk of thrombotic complications. *Blood* 1999; 93: 417–424.
12. Horikawa Y, Matsumura I, Hashimoto K et al. Markedly reduced expression of platelet c-mpl receptor in essential thrombocythemia. *Blood* 1997; 90: 4031–4038.
13. Jaffe ES, Harris NL, Stein H et al. (Eds.): World health organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press 2001.
14. Kralovics R, Buser AS, Teo SS et al. Comparison of molecular markers in a cohort of patients with chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2003; 102: 1869–1871.
15. Lengfelder E, Hochhaus A, Kronawitter U et al. Should a platelet limit of $600 \times 10^9/l$ be used as a diagnostic criterion in essential thrombocythaemia? An analysis of the natural course including early stages. *Br J Haematol* 1998; 100: 15–23.
16. Lofvenberg E, Wahlin A Management of Polycythemia vera, Essential Thrombocythemia an myelofibrosis with hydroxyurea. *Eur J Haematol* 1998; 41: 375.
17. Liu E, Jelinek J, Pastore YD et al. Discrimination of polycythemia and thrombocytoses by novel, simple, accurate clonality assays and comparison with PRV-1 expression and BFU-E response to erythrocytosis. *Blood* 2003; 101: 3294–3301.
18. Martyre MC, Le Bousse-Kerdiles MC, Romquin N et al. Elevated levels of basic fibroblast growth factor in megakaryocytes and platelets from patients with idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1997; 1997: 441–448.
19. Mazur EM, Rosmarin AG, Sohl PA et al. Analysis of the mechanism of anagrelide-induced thrombocytopenia in humans. *Blood* 1992; 79: 1931.
20. Messa RA, Tefferi A, Jacobsen SJ et al. Population-based incidence and survival figures in Essential Thrombocythemia and agnogenic myeloid meta-plasia: an Olmsted County study. *Am J Hematol* 1999; 61: 10–15.
21. Michiels JJ Diagnostic criteria of the myeloproliferative disorders (MPD): essential thrombocythaemia, polycythemia vera and chronic megakaryocytic granulocytic metaplasia. *Netherlands J Med* 1997; 51: 57–64.
22. Michiels JJ, Juvonen E Proposal for revised diagnostic criteria of essential thrombocythemia and polycythemia vera by the Thrombocythemia Vera Study Group. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23: 339–347.
23. Michiels JJ, Kutti J, Stark P et al. Diagnosis, pathogenesis and treatment of the myeloproliferative disorders essential thrombocythemia, polycythemia vera and essential megakaryocytic granulocytic metaplasia and myelofibrosis. *Neth J Med* 1999; 54: 46–62.
24. Michiels JJ, Barbui T, Finazzi G et al. Diagnosis and treatment of Polycythemia Vera and possible future study designs of the PVSG. *Leuk Lymphoma* 2000; 36: 239–253.
25. Michiels JJ, Thiele J Clinical and pathological criteria for the diagnosis of essential thrombocythemia, polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis (agnogenic myeloid metaplasia). *Int J Hematol* 2002; 76: 133–145.
26. Murphy S, Peterson P, Iland H et al. Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Semin Hematol* 1997; 34: 29–39.
27. Oehler L, Jaeger E, Eser A et al. Imatinib mesylate inhibits autonomous erythropoiesis in patients with polycythemia vera in vitro. *Blood* 2003; 102: 2240–2242.
28. Penka M, Buliková A, Matýšková M et al. Hematologie I. Neonkologická hematologie. Praha: Grada 2001.
29. Petrides PE Anagrelide: decade of clinical experiences with its use for the treatment of primary thrombocythemia. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5: 1781–1798.
30. Pettitt RM, Silverstein MN, Petrone ME Anagrelide for control of thrombocythemia in polycythemia and other myeloproliferative disorders. *Semin Hematol* 1997; 34: 51.
31. Prchal JF, Axelrad AA Letter: bone marrow responses in polycythemia vera. *N Engl J Med* 1974; 290: 1382.
32. Pytlík R, Cmunt E, Kleibl Z et al. Úloha anagrelidu v léčbě esenciální trombocytemie. *Trans Hematol dnes* 2004; 10: 154–160.
33. Rameshwar P, Denny TN, Stein D et al. Monocytes adhesion in patients with bone marrow fibrosis is required for the production of fibrogenic cytokines. Potential role for interleukin-1 and TGF- β . *J Immunol* 1994; 153: 2819–2830.
34. Reeder TL, Bailey RJ, Dewald GW et al. Both B and T lymphocytes may be clonally involved in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* 2003; 101: 1981–1983.
35. Roder S, Steimle C, Meinhardt G et al. STAT3 is constitutively active in some patients with polycythemia rubra vera. *Exp Hematol* 2001; 29: 694–702.
36. Sacchi S, Vinci G, Gugliotta L et al. Diagnosis of essential thrombocythemia at platelet counts between 400 and $600 \times 10^9/l$. *Haematologica* 2000; 85: 492–495.
37. Schafer AI Thrombocytosis. *N Engl J Med* 2004; 350: 1211–1219.
38. Schwarz J, Penka M Trombocytózy a trombocytemie. *Vnitř Lék* 2005; 51: v tisku.
39. Skoda RC. Chronic myeloproliferative disorders: molecular markers and pathogenesis. *Hematol J* 2004; 5: S122–S125.
40. Spinelli O, Rota B, Finazzi G et al. Quantitative analysis of PRV-1 gene expression in chronic myeloproliferative

disorders: positive correlation with polycythemia vera diagnosis and leukocyte alkaline phosphatase expression. *Blood* 2002; 100: 3145a.

41. Spivak JL Diagnosis of the myeloproliferative disorders: resolving phenotypic mimicry. *Semin Hematol* 2003; 40: 1–5.

42. Thiele J, Kvasnicka HM, Diehl V et al. Clinicopathological diagnosis and differential criteria of thrombocythemias in various myeloproliferative disorders by histopathology, histochemistry and immunostaining from bone marrow biopsies. *Leukemia Lymphoma* 1999; 33: 207–218.

43. Thiele J, Kvasnicka HM, Graeff AS et al. Follow-up examinations including sequential bone marrow biopsies in essential thrombocythemia (ET): A retrospective clinicopathological study of

120 patients. *Am J Hematol* 2002; 70: 283–291.

44. Thiele J, Kvasnicka HM, Werden C et al. Idiopathic primary osteo-myelofibrosis: a clinico-pathological study on 208 patients with special emphasis on evolution of disease features, differentiation from essential thrombocythemia and variables of prognostic impact. *Leukemia Lymphoma* 1996; 22: 303–317.

45. Thiele J, Kvasnicka HM, Zankovich R et al. Clinical and morphological criteria for the diagnosis of prefibrotic idiopathic (primary) myelofibrosis. *Ann Hematol* 2001; 80: 160–165.

46. Tefferi A, Solberg LA, Silverstein MN A clinical update on Polycythemia Vera and Essential Thrombocythemia. *Am J Med* 2000; 109: 141–149.

47. Weinfeld A, Swolin B, Westin J Acute leukaemia after hydroxyurea therapy in Polycythaemia Vera and allied disorders: prospective study of efficacy and leukemogenicity with therapeutic implications. *Eur J Haematol* 1994; 52: 134–139.

48. Wright CA, Tefferi A A single institutional experience with 43 pregnancies in Essential Thrombocythemia. *Eur J Haematol* 2001; 66: 152.

prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.
www.fnbrno.cz
e-mail: m.penka@fnbrno.cz

Doručeno do redakce: 2. 5. 2005