

Diagnostický význam a úskalí hodnocení roztěrového preparátu kostní dřeně u mnohočetného myelomu

V. Ščudla¹, Z. Adam²

¹ III. interní klinika Lékařské fakulty UP a FN Olomouc, přednosta prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.

² Interní hematologická klinika Lékařské fakulty MU a FN Brno, pracoviště Bobunice, přednosta prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.

Souhrn: Náplní předloženého sdělení je podání současného pohledu na význam hodnocení roztěrového preparátu aspirátu kostní dřeně (KD) v diagnostice a sledování průběhu mnohočetného myelomu (MM). Vlastní pozornost je věnována indikaci a technice aspirační biopsie, diagnostickému a diferenciatně-diagnostickému významu hodnocení procentuálního zastoupení plazmatických buněk v kostní dřeni a jejich morfologických odchylek z hlediska odlišení od reaktivní plazmocytozy a monoklonální gamapatie nejistého významu. Stranou zájmu nezůstala ani otázka vybraných morfologických klasifikačních systémů, včetně jejich přínosu pro rozpoznání a předpověď prognózy nemoci. Významná část sdělení je věnována interpretačním limitacím hodnocení roztěrového preparátu KD pro diagnostiku i monitorování průběhu MM, nezbytná pozornost je zaměřena i na indikaci a posouzení významu histologického vyšetření trepanobiopsického vzorku KD a přínosu vybraných speciálních metodik, zejména vyšetření imunofenotypických, proliferativních a apoptotických vlastností plazmocytů. Ze sdělení vyplývá, že kvantitativní i cytomorfológické hodnocení nátěru KD je i v současnosti integrální součástí standardního algoritmu metodik, používaných v diagnostice a sledování průběhu MM, vyžadujících z hlediska techniky odběru KD, zhotovení nátěru a jeho pečlivého zhodnocení, ale i z pohledu klinické interpretace nanejvýš kvalifikovaný přístup.

Klíčová slova: mnohočetný myelom – biopsie kostní dřeně – plazmatické buňky – morfologie myelomových plazmocytů – diagnóza – diferenciatní diagnóza – morfologická klasifikace myelomu – hodnocení průběhu

Diagnostic importance and pitfalls of evaluating bone marrow smear preparation in multiple myeloma

Summary: The aim of this study is to give a current view of the importance of evaluating preparations of smears of bone marrow (BM) aspirates in the diagnosing and monitoring the course of multiple myeloma (MM). Special attention is given to the indication and technique of aspiration biopsy, diagnostic and differential-diagnostic importance of evaluating the percentage representation of plasmatic cells in the bone marrow and their morphological deviation from the point of view of distinguishing them from reactive plasmocytosis and monoclonal gammopathy of undetermined significance. Also addressed is the issue of selected morphological classification systems including their benefits in identifying and forecasting the prognosis for the disease. A large part of the report is dedicated to the interpretational limitations of evaluating BM smear samples for the diagnosis and monitoring of the course of MM, and due attention is also given to indication for and assessment of the importance of histological examination of a BM trepanobiopsic sample of bone marrow and the benefits of particular specialized methods, especially the examination of immunophenotypic, proliferative and apoptotic qualities of plasmocytes. The report shows that quantitative and cytomorphological evaluation of bone marrow samples still forms integral part of the standard algorithm of methods used in MM diagnosing and monitoring, and requires an extremely qualified approach to BM collection, the preparation of the smear and to precise evaluation, as well from the point of view of clinical interpretation.

Key words: multiple myeloma – bone marrow biopsy – plasmatic cells – morphology of myeloma plasmocytes – diagnosis – differential diagnosis – morphological classification of myeloma – course evaluation

Úvod

Mnohočetný myelom (MM) je onemocnění způsobené neoplastickou klonální proliferací elementů konečné vývojové fáze B-lymfocytární linie,

tj. plazmocytů vyznačujících se produkcí monoklonálního imunoglobulinu (MIG, „paraproteinu“, M-proteinu) a projevy orgánové dysfunkce shrnuté do eponyma CRAB (C – hy-

perkalcemie, R – renální insuficience, A – anémie, B – „bone disease“, tj. myelomová kostní nemoc) a které bylo na našem pracovišti rozšířeno na CRABI (I – imunodeficience) [1–3].

Tab. 1. Diferenciální diagnostika monoklonálních gamapatií.

	MGNV • 3 kritéria • ne – AL	D-MM (I-A) • 3 kritéria • Ne-MM, MGNV, SP	Solit. kostní plasmocytom	MM • 3 kritéria • IB-III A/B
1. Plasmocyty v kostní dřeni – plasmocytom/histol.	< 10 % neg.	10–30 %	< 10 % Plasmocytom (histol.)	> 10 % ev. pos.
2. Monoklonální imunoglobulin (v séru / v moči)	Pos. IgG < 30,0 g/l IgA < 20,0 U-BJ < 1,0 g/den	Pos.	Neg., nebo IgG < 35,0 g/l IgA < 20,0 U-BJ < 1,0 g/den (↓ po aktinoter.)	Pos.
3. Dysfunk. orgánu při MM (ROTI)	Neg.	Neg./„mírné“ CRAB	Neg.	Pos. (> 1)
C • S-Ca > 2,8 (mmol/l)	N	Neg.	N	•
R • S-kreatinin > 177 μmol/l	N	Neg.	N	•
A • Hb < 100 g/l	N	Neg.	N	•
B • osteolyt. léze a/nebo OSP s kompr. frakturami	N (KR, MRI, PET)	Neg. (KR) ev. oj. léze (KR, MRI/CT, PET)	N (KR, MRI, PET)	•
• S-albumin	N	N-↓	N	N-↓
• Pokles normálních Ig	±	±	-	+
• PC-PI (%)	Nízký	↓-N (< 1 %)	↓-N	↑-N
• PROGRESE	Stabilita	Stabilita→progrese	Stabilita→progrese?	Posit.

MGNV – monoklonální gamapatie nejistého významu, AL – AL amyloidóza, D-MM – doutnající forma mnohočetného myelomu, SP – solitární plasmocytom, U-BJ – Bence-Jonesova bílkovina v moči, OSP – osteoporóza, KR – konvenční radiografie, MR – zobrazení magnetickou rezonance, CT – výpočetní tomografie, PET – pozitronová emisní tomografie, Ig – imunoglobulin, PC-PI – proliferační (propidium-jodidový) index plazmatických buněk, N – normální hodnota

Klinicko-laboratorní projevy nemoci jsou podmíněny především vnitřními biologickými vlastnostmi neoplasticky transformovaných plazmocelulárních elementů, tj. myelomových buněk, velikostí nádorové masy i reakcí elementů mikroprostředí kostní dřeně (KD), ale i odezvy organismu jako celku. Ke klíčovým mechanismům, uplatňujícím se na rozvoji a klinické manifestaci MM, patří zejména kinetické vlastnosti myelomových buněk, tj. stupeň jejich proliferace a apoptózy [4,5].

Diagnostická kritéria pro mnohočetný myelom

Již z prosté definice MM vyplývá, jak významným kritériem pro rozpoznání onemocnění je procentuální zastoupení plasmocytů v KD, důležitým aspektem jsou ale i jejich morfolo- gické, ultrastrukturální a imunofe-

notypické vlastnosti. Diagnostika MM je integrovanou aktivitou zaměřenou nejenom na odhalení zmnožení morfolo- gicky atypických plasmocytů v KD, ale i na podchycení přítomnosti Mlg v séru a/nebo v moči, radiografických známek osteolytického postižení skeletu a dalších přidružených orgánových projevů vyplývajících ze samotné podstaty nemoci. Vzhledem k tomu, že nejenom klasická SWOG (South West Oncology Group), ale i recentní IMWG (International Myeloma Working Group) diagnostická kritéria MM zahrnují jako jedno ze stěžejních diagnostických znaků přítomnost více nežli 10 % plasmocytů v KD (v normální KD < 5 %), tab., je nutno považovat vyšetření roztěrového preparátu aspirátu KD za prvotní, základní, a tím i nezbytné vyšetření v rámci rozpoznání nemoci [1,3,6]. Klasifi-

kační systém dle SWOG považoval za tzv. velké kritérium přítomnost více nežli 30 % plazmatických buněk, zatímco výskyt 10–30 % byl považován za kritérium malé [6].

Aspirační biopsie KD se provádí obvykle z oblasti zadního horního trnu kosti kyčelní nebo manubria či těla sternální kosti, výjimečně i z oblasti předního trnu kosti kyčelní, a to v podmínkách běžné místní infiltrační anestézie. Jde o vyšetření pro hematologa nebo odborného internistu zcela běžné, prováděné v ambulantních podmínkách a většinou nemocných i relativně dobře snášené, přinášející u MM diagnostický úspěch v 90 % případů [7]. Nutno ale zdůraznit, že vzhledem k ložiskovému charakteru postižení KD může být vyšetření touto technikou nezřídka falešně negativní a vyžadující proto opakované odběry z odlišných částí skeletu,

přednostně ale cíleně z oblasti radiograficky prokázané osteolytické léze nebo místa lokální kostní bolestivosti [8,9]. Indikací aspirační biopsie KD je jakékoliv podezření na možnost mnohočetného myelomu, tj. přítomnost Mlg v séru a/nebo v moči (Bence-Jonesova bílkovina), abnormální koncentrace jednoho z volných lehkých řetězců (VLŘ) κ nebo λ v séru, případně odchylnost poměrového indexu κ/λ , nález nezvykle vysoké hodnoty sedimentace erytrocytů (u sekretorického typu MM nezřídka vyšší nežli 100 mm/hod), přítomnost provleklých nevyjasněných bolestí skeletu, řešení etiologicky nejasné osteoporózy a především nález ostře ohraničených osteolytických lézí v oblasti osového skeletu, nebo projevů sdružených v příznakovém komplexu CRABI (tab) [2,10]. Samotná diagnostika MM založená na analýze aspirátu KD se zabývá nejen hodnocením početního zastoupení plazmocytů v KD, ale i pátráním po přítomnosti kvalitativních odchylek plazmatických buněk, zatímco informaci o charakteru distribuce plazmocytů v KD přináší histologické vyšetření materiálu získaného při histobiopsii [7,9,11]. Je nezbytné, aby žádanka k vyšetření KD obsahovala nejen základní parametry hemogramu, typu i kvantity Mlg i ostatních stěžejních dat, ale i jasně zformulovanou otázku pro hodnotícího lékaře.

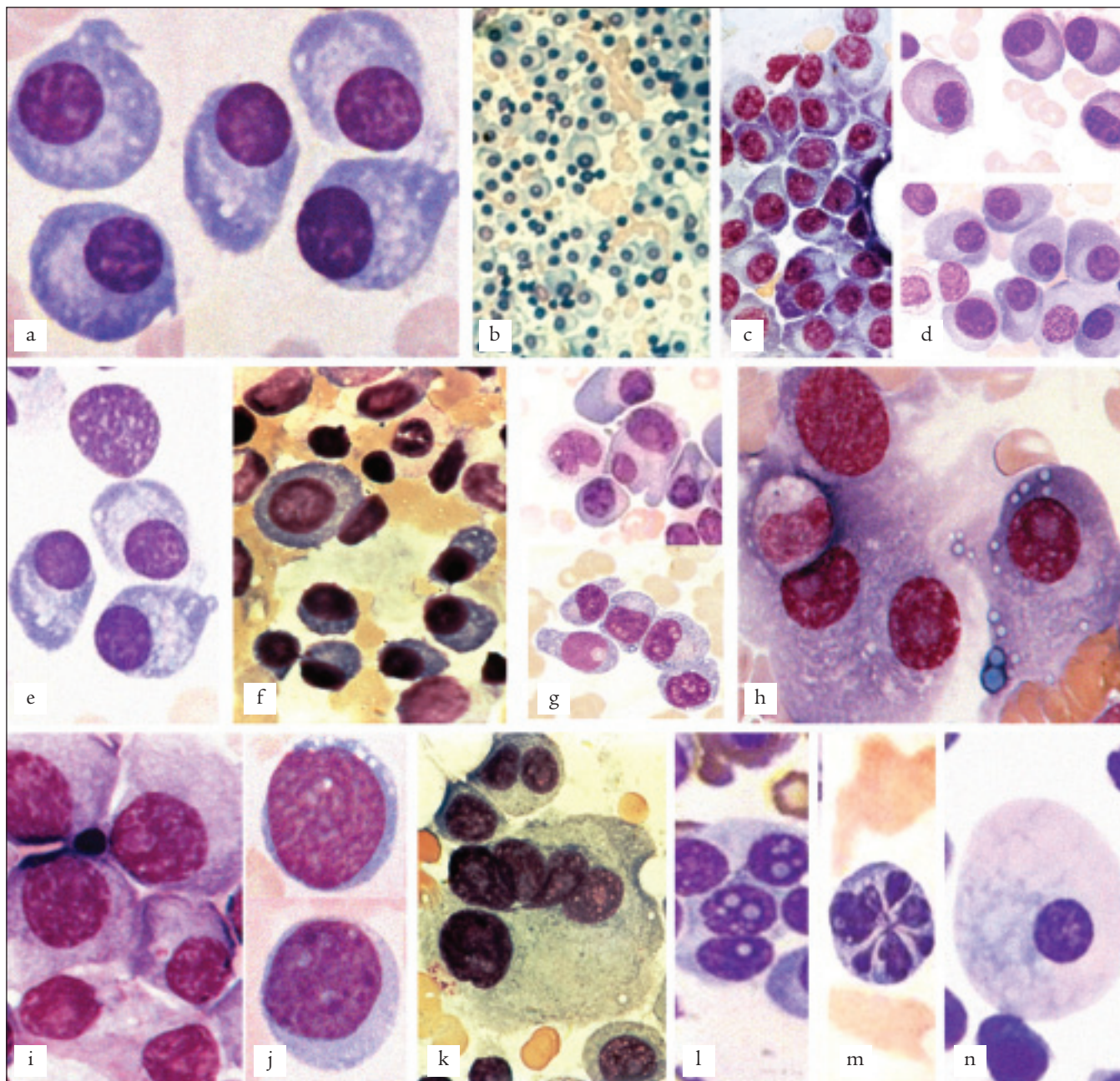
Morfologie plazmatických buněk

Nutno říci, že problematika diagnostiky MM na podkladě kvantitativní i kvalitativní analýzy roztěrového preparátu KD ve světelném mikroskopu a při použití standardního panoptického barvení se již v předchozích dekádách z hlediska poznání uzavřela, nicméně i v současnosti patří nadále k základním pilířům diagnostiky této nemoci. Ne zcela kvalitní interpretace přítomných změn v KD může vést nejen k oddálení diagnózy, ale méně zkušeného lékaře svést i na scestí.

Normální, zralé plazmatické buňky jsou proměnlivé velikosti (9–30 μm), s jádrem oválného tvaru uloženého excentricky, s bohatou a sytě bazofilní cytoplazmou s typickým paranukleárním dvorcem projasnění. Jádro je poměrně malé, bez přítomnosti jadérek, s hrubou jadernou strukturou a s ložiskovou kondenzací chromatinu dávající jádru „loukočovitý“ vzhled. Z morfologického hlediska se tradičně rozlišují dva hlavní typy plazmocytů, a to Marschalkův retikulární typ vyvíjející se v zárodečném centru folikulu, odpovědný za syntézu imunoglobulinu třídy IgG i IgA, a Moeschlinův lymfoplazmocytní typ vznikající mimo germinální centrum a odpovědný především za syntézu imunoglobulinu typu IgM [12].

V případě MM se vyskytuje v KD značně proměnlivý počet plazmocytů s různou mírou zralosti, rozprostřených difúzně, ložiskově a často i smíšeně s pestrou a pro daného jedince s dosti typickou morfologií. Většina nemocných s MM má v KD v období diagnózy nemoci > 10 % plazmatických buněk, průměrný výskyt je 30–40 %, zatímco vzácně, zejména v případě bioptického zastižení myelomového ložiska, může být v nátěru přítomno i více než 90 % plazmocytů zcela vytěsňujících elementy normální krvetvorby. Z cílené analýzy vyplynulo, že 1/3 nemocných má v nátěru při diagnóze < 30 % plazmocytů, 11 % jedinců < 10 % a u 3 % pacientů s MM dokonce < 5 % plazmatických buněk [7,11]. Z uvedeného vyplývá, že izolované hodnocení relativního zastoupení plazmatických buněk v nátěru KD nelze přeceňovat a nemělo by být posuzováno, zejména v případě výskytu 5–15 % plazmocytů, příliš rigorózně a mělo by být v této situaci bezpochyby doplněno o současné histologické vyšetření trepanobioptického vzorku [13]. Je nasnadě, že současné provedení histologického vyšetření zvyšuje diagnostické možnosti MM u dalších 10 % jedinců s negativním cytologickým

hodnocením [10]. Histobioptické vyšetření umožňuje u řady nemocných rozpoznání nápadného zmnožení tukových buněk snižujících procentuální zastoupení plazmocytů v nátěru [9]. Nemocní s atrofií KD se vyznačují naopak relativně vysokým zastoupením plazmocytů v aspirátu v důsledku relativního nadhodnocení celkové plazmocelulární masy, zatímco v případě nodulární plazmocelulární infiltrace KD dochází v mimonodulárních oblastech k podhodnocení skutečného plazmocelulárního počtu [9]. K všeobecně velmi častému problému patří i podhodnocení reálného zastoupení plazmocytů v nátěru KD v důsledku nevhodné bioptické techniky se zhotovením nátěru s velkou příměsí periferní krve. Je proto důležité, aby technice aspirační biopsie i zhotovení roztěrového preparátu byla věnována maximální pozornost, neboť ovlivňuje do značné míry validitu interpretačního závěru, a tím i klinickou výtečnost vyšetření. V případě naléhavého podezření na MM by se nemělo s opakovaním biopsie KD váhat a nedopustit „ztrátu diagnostické iniciativy“, a tím i oddálení terapeutického řešení. Nutno pamatovat i na skutečnost, že nejkratnější jsou z hlediska adekvátní buněčnosti úvodní 1–2 ml dřevěného aspirátu, zatímco při aspiraci více nežli 5 ml dochází k výraznému poklesu procentuálního zastoupení plazmatických buněk [14]. Nutno doporučit, aby v případě nespokojivé technické kvality nátěru bylo svěřeno opakování aspirační biopsie zkušenému lékaři, a to nejlépe hematologovi, který bude hodnocení KD provádět. Nezřídka již makroskopický charakter aspirátu KD ovlivňuje samotnou techniku zhotovení nátěru a jeho znalost zpřesňuje mikroskopické hodnocení, a tím i validitu závěru. Zkušený lékař může dokonce spojit odběr na cytologii, histologii a další speciální vyšetření, např. cytogenetickou analýzu, vyšetření kinetických a imunofenotypických



Obr. 1. Morfologická variabilita myelomových plazmocytů – převážně změny buněčného jádra [16,29].

- a) Zralé plazmatické buňky poměrně uniformního vzhledu, s excentrickým uložením jádra, hrubou strukturou chromatinu a s výrazně bazofilní cytoplazmou s dobře patrným dvorcem paranukleárního projasnění.
- b) Kompaktní infiltrace kostní dřeně poměrně pleiomorfní populací myelomových plazmocytů s chyběním elementů normální krvinečky.
- c) Ložiskový infiltrát tvořený myelomovými elementy s projevy anizocytózy, anizokaryózy resp. i dvojjadernosti, s heterogenní strukturou jaderného chromatinu s případným náznakem přítomnosti jádérka.
- d) Poměrně zralé myelomové plazmocyty s jistou anizonukleózou; různě objemná, homogenní cytoplazma s přítomností paranukleárního projasnění.
- e) Elementy Marschalkova typu s nápadným paranukleárním, nehomogenním dvorcem projasnění; výrazně excentrické uložení jader s absencí jadérek a s poměrně hutnou strukturou chromatinu.
- f) Myelomové elementy převážně malobuněčného typu s hutnou, kompaktní strukturou jádra.
- g) Poněkud nezralé, pleiomorfní myelomové elementy s výraznou anizocytózou, anizonukleózou, přítomen je i obří dvojjaderný element s nápadnou anizokaryózou a s přítomností jadérek; v dolní části záběru jsou pleiomorfní myelomové elementy s nápadnou anizomorfií jader, s jemnou strukturou chromatinu a s přítomností jemně jaderné i cytoplazmatické vakuolizace.

pokračování na následující straně

- h) Velké, vysoce anaplasticky dediferencované myelomové plazmocyty s jemnou, retikulární strukturou jádra a s dobře patrnými jádérky; bohatá, síťovitě uspořádaná cytoplazma s vymizením paranukleárního projasnění a vpravo i s přítomností světlemodrých Russellových tělísek.
- i) Skupinka myelomových plazmocyty se zřejmou jadernou pleiomorfií, retikulární chromatinovou strukturou a s diskretní přítomností jáderek; bohatá, lehce narůžovělá, nehomogenní cytoplazma s vymizením paranukleárního projasnění v Golgiho zóně a s ojedinělými azurofilními granulacemi zřetelné projevy jádro-cytoplazmové maturační asynchronie.
- j) Vysoce nezralé myelomové elementy plazmoblastického charakteru s velkým, centrálně uloženým jádrem, s velmi jemnou chromatinovou strukturou, s náznakem drobných jáderek a se sporou, homogenní, světle bazofilní cytoplazmou s chybějícím paranukleárním projasněním; u plazmoblastického elementu v horní části záběru je zřejmá ložisková vakuolizace cytoplazmy.
- k) V popředí obří, 5-jaderný plazmocyt s výraznou anizokaryózou, s různorodou strukturou jaderného chromatinu a s přítomností objemných jáderek; bohatá, světle bazofilní a inhomogenní cytoplazma.
- l) Zčásti syncytiálně uspořádané myelomové plazmocyty s nápadnou kohezí, s jemnou strukturou jádra a s vícečetnými, ostře ohraničenými intranukleárními denzními tělísky Dutcherova typu; sytě bazofilní, chudší cytoplazma s vesměs chybějícím paranukleárním projasněním.
- m) Myelomový element s výraznou hypersegmentací jádra (7 segmentů charakteru „rosety“), vyplňujícího většinu buněčné plochy.
- n) Plazmatická buňka s velmi malým, pyknotickým a lehce excentricky uloženým jádrem; cytoplazma s ložiskově světle bazofilní nehomogenní strukturou a s rozáhlým difúzním narůžovělým zbarvením (buňka v apoptóze).

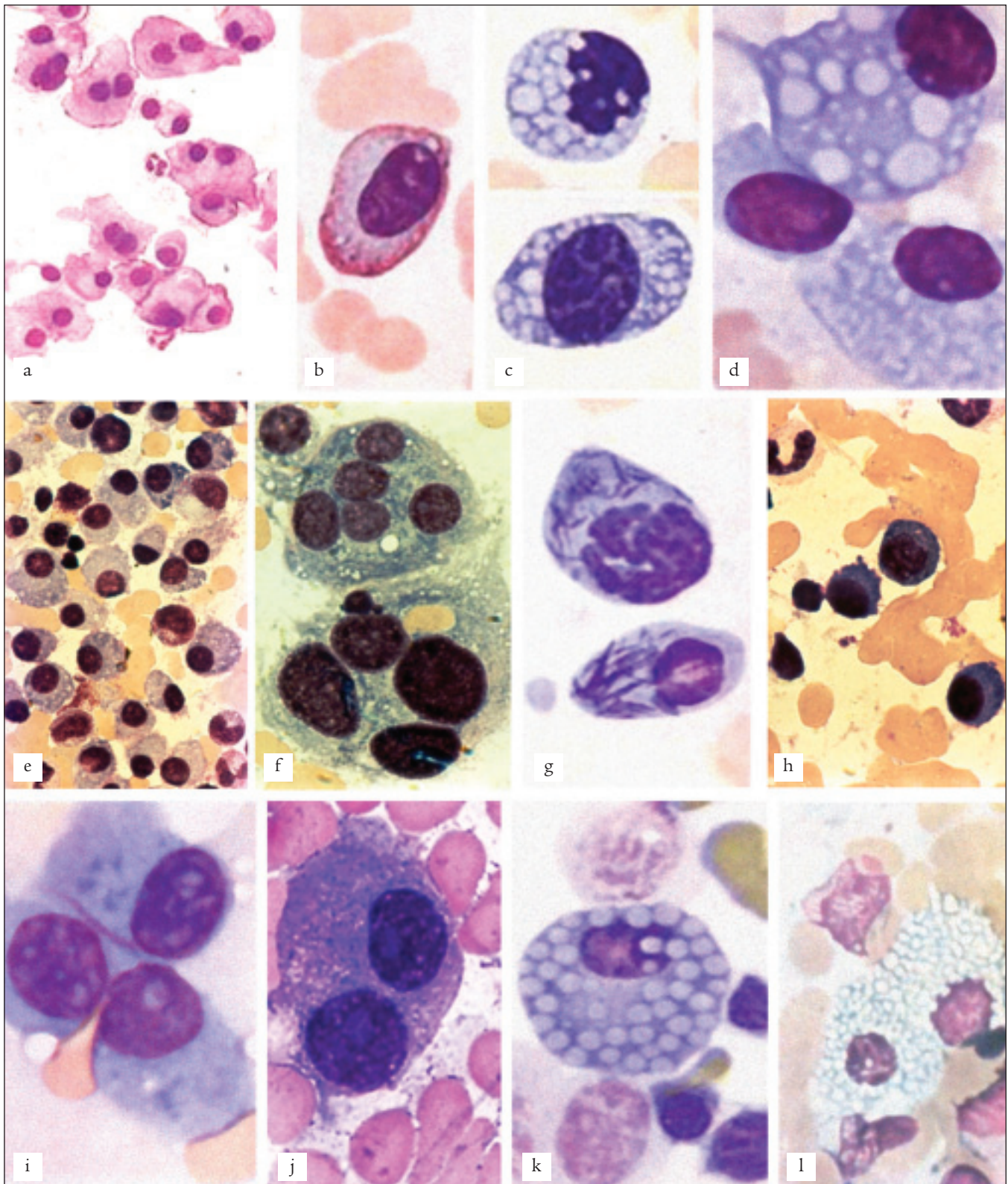
vlastností myelomových buněk do jednoho výkonu a zbavit nemocného opakovaní tohoto nepříjemného zároku.

Nutno zdůraznit, že z hlediska rozpoznání MM je důležitá nejenom kvantitativní, ale i kvalitativní analýza plazmocyty KD, nalézající uplatnění v diagnostice MM zejména v hraničních situacích, např. v případě nízkého, < 5% výskytu plazmocyty v KD. Z morfologických odchylek je zejména důležité odhalení vyjádřené maturační jádro-cytoplazmové asynchronie, přítomnosti nápadných jáderek, výrazné variability vesměs většího a různě tvarově změněného jádra, zvětšené velikosti buněk a relativně zralého charakteru cytoplazmy [15]. Nutno upozornit, že v důsledku neobvykle vysoké hodnoty M-proteinu v plazmě může mít pozadí roztěrového preparátu hodnoceného s pomocí světelného mikroskopu namodralý kolorit [8]. Změny morfologie myelomových plazmocyty zahrnují různě vyjádřenou variabilitu velikosti a tvaru buněk (anizocytóza) i samotného jádra (anizonukleóza) včetně rozmanitého charakteru jeho struktury, výskyt vícejadernosti a jaderné hypersegmentace, přítomnost různého počtu a velikosti jáderek (obr. 1), změny množství, uspořádání

a tinkčních vlastností cytoplazmy a v některých případech i přítomnost různých cytoplazmatických inkluzí a nález mitotických obrazců (obr. 2) [8,16,17].

U MM nabývají plazmatické buňky často pestrých až bizarních kvalitativních proměn, s různě vyjádřenými projevy buněčné nezralosti a anaplazie. Je známo, že nález pouze nízkého počtu vysoce abnormálních plazmocyty v jinak normální KD umožňuje při jisté zkušenosti hodnotitele rozpoznání MM. Při vyšetření KD nutno počítat s tím, že morfologie myelomové populace je neobvykle rozdílná. Vedle „zralých“ forem s elementy velmi podobnými normálním plazmocytům se vyskytují i formy „malobuněčné“ s převahou elementů lymfoplazmocytyárního typu, nebo naopak populace elementů střední a větší velikosti s projevy atypie a nezralosti, s nízkým indexem excentricity, s vysokým jádro-cytoplazmovým poměrem, se sporou cytoplazmou s vymizením paranukleárního projasnění a s případnou vakuolizací cytoplazmy. Množství cytoplazmy je značně proměnlivé, stupeň bazofilie je značně variabilní a při použití standardního barvení odráží množství RNA, přičemž paranukleární projasnění se nachází

v oblasti Golgiho aparátu, v němž je zpracováván a glykosylován imunoglobulin před sekrecí z buňky [18]. Myelomové plazmocyty se vyznačují v důsledku poruch sekrece Mlg neobvyčejnou pestrostí zejména cytoplazmatického obrazu. Občasně lze pozorovat přítomnost jednoho či více višňově červených, nebo světle modrých hyalinních a PAS pozitivních denzních inkluzních tělísek Russellova typu vznikajících v důsledku nahromadění sekrečního produktu v cytoplazmě, která se při lýze buněk mohou uvolnit i do intersticia. Jejich protějškem obdobného vzhledu, ale s umístěním v oblasti jádra jsou pseudointranukleární denzní tělíška Dutcherova, vznikající v důsledku intranukleární invaginace cytoplazmy [8,15,16]. Vyplnění buněčné cytoplazmy světle modrými, narůžovělými, případně i bezbarvými sférickými denzními inkluzemi vznikajícími v důsledku nadměrné akumulace imunoglobulinu a vedoucí k multicyklickému vyklenutí okraje buňky vede k tomu, že plazmocyt nabývá hroznovitěho vzhledu (Mottova buňka resp. morula či *grape cell*) [19]. Rumělkové difúzní zbarvení cytoplazmy napodobující záři zapadajícího slunce („plápolající cytoplazma“) se zvýrazněním okrajů buňky způsobeným



Obr. 2. Morfologická variabilita myelomových plazmocytů – převážně změny cytoplazmatické [16,29].

- a) Většinou velké, případně dvojjaderné myelomové elementy s výrazně růžovým zbarvením vesměs objemné cytoplazmy a s nápadnou okrajovou karminofilii (plaménkové buňky); převážně malá, zřetelně pyknotická jádra s různorovou nitrobuněčnou lokalizací.
- b) Myelomový plazmocyt s objemnou cytoplazmou s nehomogenními tinkčními vlastnostmi a s oblastmi převážně paranukleární bazofilie a výrazné, nehomogenní okrajové karminofilie; polárně uložené reniformní jádro s náznakem pyknózy.
- c) Plazmocyty s nápadnou vakuolizací bazofilní cytoplazmy; nahoře deformace pyknotického jádra s potlačením chromatinové struktury a s indentacemi polycyklického charakteru v důsledku ložiskové invaginace cytoplazmy. *pokračování na následující straně*

- d) Myelomové elementy s nápadnou anizocytózou, s výraznou heterogenní vakuolizací abundanční cytoplazmy dávající buňkám pěnovitý vzhled.
- e) Masivní infiltrace kostní dřene pleiomorfními myelomovými plazmocytů s poměrně kompaktní strukturou jader; cytoplazma s lehkou karminofilíí a s jemnou vakuolizací difuzního charakteru postrádající paranukleární projasnění v Golgiho zóně.
- f) Obří, polyploidní myelomové elementy s nápadnou anizokaryózou a bohatou, lehce bazofilní a vakuolizovanou cytoplazmou s rozvolněnými, vláknitými okraji; v níže uloženém elementu obraz fagocytózy erytrocytu.
- g) Myelomové elementy s nápadnou anizocytózou a s pyknózou jader; středně bazofilní cytoplazma je vyplněna četnými azurofilními jehličkovitými inkluzemi (krystalická forma denaturovaného imunoglobulinu).
- h) Myelomové plazmocytů s nápadnou bazofilíí cytoplazmy; element při levém okraji s vybíhajícími pupenci cytoplazmy („cytoplasmatic blebs“).
- i) Myelomové plazmocytů se středně bazofilní cytoplazmou a s přítomností nenápadných, neostrých, sytě bazofilních inkluzí (Snapper- Schneidovy inkluze); v jádrech patrna vesměs prominentní, vícečetná jádérka vezikulárního charakteru.
- j) Obří dvojjaderná figura s nápadnou anizonukleózou; modrorůžová, jemně vakuolizovaná cytoplazma se shluky bazofilního materiálu dávající cytoplazmě zrnitý vzhled.
- k) Myelomová buňka s bohatou, přiměřeně bazofilní cytoplazmou vyplněnou vyjma Golgiho zóny mnohočetnými, dobře ohraničenými světlemodrými denzními tělísky Russellova typu; pyknotické oválné jádro je umístěno polárně při okraji buňky (Mottova morula).
- l) Dva plazmocelulární elementy s voštinovitou strukturou cytoplazmy, s polycyklickými konturami buněk, nazelenalým zbarvením cytoplazmy a s pyknotickými jádry (thesaurocyty, resp. elementy Gaucherova typu).

ucpáním sekrečních kanálků při buněčném okraji precipitáty Ig vede ke vzniku tzv. plaménkových buněk, které se poněkud častěji vyskytují u IgA typu myelomu [15,20]. Ojedinele lze pozorovat i elementy Gaucherova typu, resp. charakteru thesaurocytu (*storage cells*) s bohatou, modrozelenou, fibrilárně uspořádanou cytoplazmou a s malým, pyknotickým jádrem vytlačeným k okraji buňky. Ojedinele lze zachytit i elementy s vilózními okraji cytoplazmy a zřídka i buněčné formy s jehličkovitými-krystalickými inkluzemi (intracytoplazmatická krystalizace alterovaného Ig nebo glykoproteinu) [12,20], nebo s projevy buněčné fagocytózy [21]. Nutno ale zdůraznit, že tyto cytoplazmatické, pro morfologa zajímavé a interpretačně atraktivní změny, nejsou pro MM i ostatní plazmocelulární neoplazie patognomonické, nemají prognostický význam a mohou být občas pozorovány i u reaktivní plazmocytózy nebo dokonce i v KD zdravého jedince [15,19].

Pro samotnou cytomorfológickou diagnostiku MM jsou mnohem důležitější nežli změny cytoplazmatické atypie jaderné. Myelomové plazmocytů mívají velká jádra, převyšující

nezřídka 2–3krát objem cytoplazmy, namísto hutného, loukoťovitě uspořádaného chromatinu lze nalézt jemnou jadernou strukturu velmi podobnou struktuře blastických elementů. Tvar jádra je proměnlivý s možnou přítomností zářezu či náštěpu, s lobulací, ojedinele i cerebriformního charakteru. Jádro má tendenci k centrálnímu uložení, což je vyjádřeno nízkým indexem excentricity, bývá přítomen i vysoký poměr velikosti jádra a cytoplazmy, častým nálezem je přítomnost velkých, nápadných a ostře ohraničených jadérek. Velmi nezralé, anaplasticky vysoce dediferencované typy se vyznačují přítomností elementů plazmoblastického typu s velmi jemnou strukturou jádra a s přítomností prominentních jadérek, ke znakům zhoubného charakteru procesu patří podle některých autorů i přítomnost jaderných inkluzí (Dutcherova tělíska) a buněčná vícejadernost [19]. Z hlediska morfologické diagnostiky MM je snad nejdůležitějším nálezem diskordance mezi stupněm nezralosti jádra a zralostí cytoplazmy, vyznačující se její bohatostí a sytou bazofilíí [15]. Nutno podotknout, že u řady nemocných s MM se bohužel morfologický

obraz myelomového klonu, vyhodnocený s pomocí světelného mikroskopu, podstatně neliší od normálních plazmocytů, což významně oslabuje možnosti samotné morfologické diagnostiky. Myelové plazmocytů jsou v roztěrovém nátěru KD rozprostřeny obvykle difuzně spolu s krvetvornými elementy, velmi často je však přítomna nehomogenní distribuce s různě nápadným ložiskovitým, občasně i syncytiálním nakupením elementů plazmocelulární série a ojedinele i s přítomností plošných, případně i kompaktních okrsků myelomové infiltrace s úplným chyběním elementů normální krvetvorby. Nález plošných plazmocelulárních infiltrátů, dokumentujících tzv. „mass“ efekt s obrazem kompletní náhrady normální kostní dřene myelomovými buňkami jako vyústění nekontrolované proliferace maligního klonu, je z diagnostického hlediska velmi důležitý [11]. Tento patologický mikroanatomický obraz totiž kontrastuje s nálezem nahodile disperzního uspořádání neagregovaných plazmocytů u reaktivní plazmocytózy. Míru a charakter infiltrace KD myelomovým procesem lze ale podstatně lépe nežli při

hodnocení roztěrového preparátu aspirátu KD zhodnotit histologickým a imunohistochemickým vyšetřením trepanobiopsického vzorku. Je známo, že výskyt plazmocelulárních elementů se může při srovnání nálezu v roztěrovém a histologickém obraze často velmi podstatně lišit [11,13]. Příčinou bývá nejčastěji steatóza, fibróza nebo hypoplazie KD, zejména ale nodulární charakter myelomové infiltrace KD.

Bylo zjištěno, že stupeň infiltrace KD myelomovými plazmocytami jako projev rozsahu nádorové masy má nepochybný vztah k prognóze nemoci. Příznivá prognóza, vyjádřená dlouhým celkovým přežitím, je spojena s méně než 20% zastoupením plazmocytů v KD, zatímco > 50% infiltrace je spojena s nepříznivou prognózou a s krátkým celkovým přežitím [11]. V případě nízkého zastoupení plazmocytů, postrádajících výše specifikované kvalitativní odchylky a chybění dřevných agregátů, je rozpoznání MM při analýze KD svízelné a založeno na současném zhodnocení klinických a laboratorních ukazatelů a samozřejmě i na současném provedení aspirační biopsie i trepanobiopsie s histologickým vyšetřením histobiopsického vzorku [9,11,13].

Hodnocení průběhu nemoci

Je nasnadě, že v průběhu MM dochází s ohledem na výsledek léčby (kompletní remise vs relaps nemoci vs prvotní léčebná rezistence s trvalou progresí choroby) k poklesu i k naopak normalizaci početního zastoupení plazmocytů v KD, nebo naopak k jejich numerické perzistenci či různě rychlému nárůstu a v případě terminální fáze choroby k jejich enormnímu zmnožení s prohloubením morfologické nezralosti, pleiomorfie a anaplastické dediferenciace s průvodním útlakem elementů normální krvetvorby, provázené případně i rozvojem paraneoplastické či polékové dyshemopoézy. Ke standardnímu

algoritmu vyšetření, používanému v rámci sledování průběhu choroby, proto patří opakované vyšetření KD s monitorováním kvantitativních i kvalitativních změn zejména v klíčových údobích nemoci, tj. při hodnocení výsledku léčby (léčebná odezva, remise, rezistence k chemoterapii nebo progresi nemoci), při ověření trvání dlouhodobé stabilní/plateau fáze nemoci, zejména ale při podezření na opětovný relaps či progresi choroby. Důležitost hodnocení poměrů v KD z hlediska výskytu plazmocelulární populace vysvětluje i z kritérií doporučených pro hodnocení dosažení a stanovení úplnosti remise choroby po prodělané léčbě, kdy podmínkou kompletní remise je zcela normální zastoupení plazmocytů v KD [22]. Neobyčejně důležité je hodnocení poměrů v KD zejména v případě tzv. „hyposekrečního relapsu nebo progresi MM“, vyznačující se významným nárůstem plazmocytů v KD bez průvodního vzestupu koncentrace Mlg v séru a/nebo v moči (důsledek anaplastické dediferenciace myelomové buňky se snížením či dokonce ztrátou schopnosti sekrece Mlg). Neobyčejný význam má hodnocení poměrů v KD při sledování průběhu choroby u prvotně asekretorické a hyposekretorické (*low secretory*) formy MM, případně i u MM IgD a Bence-Jonesova typu vyznačujícími se jistými metodickými úskalími v hodnocení pohybu a množství M-komponenty. Přes nepochybnou důležitost tohoto přístupu je ale nutné vyšetření a komplexní zhodnocení dalších klíčových ukazatelů MM, tj. klinického obrazu (zejména přítomnosti kostní bolesti), hladiny Mlg v séru a/nebo v moči, koncentrace VLŘ zejména u Bence-Jonesova a nesekečního typu MM, radiografického vyšetření skeletu (výběrově i MRI, FDG PET-CT a ^{99m}TcMIBI scintigrafie) a ukazatelů shrnutých v eponymu CRABI. Výsledek vyšetření KD musí být vždy hodnocen v kontextu ostatních klíčových vyšetření

a testů sloužících k hodnocení průběhu a aktivity MM.

Morfologické klasifikační systémy

V průběhu předchozích více než 50 let byla sestavena řada klasifikačních systémů, snažících se na podkladě morfologické analýzy plazmocelulárních elementů ve světelném mikroskopu vydělit morfologické typy MM, využitelné v diagnostice, zejména ale v předpovědi klinického průběhu a prognózy nemoci [7,23,24]. V klinické praxi doznal určitého uplatnění systém navržený Greippem, rozdělující MM do 3 skupin podle stupně buněčné diference s tím, že z prognostického hlediska je nejdůležitější rozpoznání plazmoblastického typu myelomu [25,26]. Plazmoblastické elementy se vyznačují neobyčejně jemnou retikulární strukturou jádra s pouze minimální, nebo chybějící kondenzací chromatinu, přítomností velkého (> 10 μm), koncentricky uloženého jádra, a/nebo velkého jádérka (> 2 μm), sporou cytoplazmou zaujímající méně než polovinu jaderné plochy s chybějícím paranukleárním projasněním. Za plazmoblastický typ MM je považována situace vyznačující se přítomností nejméně 2 elementů plazmoblastického typu při vyhodnocení nejméně 500 plazmocelulárních buněk. Rozsáhlá studie ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) prokázala v souboru nově rozpoznávaných nemocných s MM, že plazmoblastický typ se vyskytuje u 1/10 nemocných a je velmi významným a nezávislým faktorem prognózy [25]. Medián celkového přežívání byl u plazmoblastického typu 1,9 roku, u neplazmoblastického 3,7 let, přičemž obdobný, statisticky významný rozdíl byl zaznamenán i při hodnocení délky období do progresi choroby po dosažení remise nemoci. V další, obdobně koncipované studii, bylo zjištěno, že plazmoblastický typ MM byl nezávislým prediktorem prognózy u nemocných léčených v relapsu

nebo v progresi nemoci vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací krvetvorných buněk s tím, že délka mediánů celkového přežití od autologní transplantace byla 5 a 24 měsíců, zatímco délka mediánů do progresu choroby činila 4 a 12 měsíců [27]. Současné hodnocení stupně infiltrace KD myelomovými plazmocytami (< 20 %, 20–50 % a > 50 %) a jejich morfologických charakteristik (plazmocytární vs. plazmoblastický typ) prokázalo také výrazné rozdíly v délce mediánů celkového přežití (72, 23 a 6 měsíců) [28]. Pro zkušeného, morfologicky orientovaného hematologa není neznámou skutečností, že v pozdní, progresivní fázi nemoci dochází k výraznému nárůstu plazmoblastických elementů v KD, takže v terminálním období mohou tyto formy představovat dominantní populaci [29]. Navazující, hlouběji koncipované studie prokázaly, že plazmoblastický typ MM se vyznačuje rovněž vysokým výskytem závažných cytogenetických změn [27], vysokou hodnotou proliferací indexu, hyperkalcémií a častým výskytem ras-mutace [25]. Neobvykle systematicky pojatá a zejména mezi patologií všeobecně rozšířená Bartlova klasifikace MM rozčleňuje nemocné na skupinu s nízkým (plazmocytů Marschalkova typu a malobuněčného charakteru), se středním (nález plazmocytů s našťiplymi jádry a přítomnost polymorfních i asynchronních typů) a s vysokým stupněm malignity (plazmoblastický typ) [9,13]. Dnes již historická klasifikace dle Lopeze-Cardoza se vyznačovala tříděním MM podle I. až IV. stupně plazmocelulární dediferenciace (dobře, středně, vysoce dediferencovaný typ a typ anaplastický) [24]. Přestože většina předchozích morfologických klasifikací založených na analýze plazmatických buněk s pomocí světelného mikroskopu prokázala svou klinickou účinnost a vztah k prognóze, nedoznala širšího uplatnění v klinické praxi.

Mezi příčiny patří okolnost, že morfologické hodnocení myelomových buněk je značně subjektivní s omezenou reproduktibilitou a vyžadující značnou morfologickou zkušenost, trpělivost a interpretační erudici. K limitujícím okolnostem patří i okolnost, že morfologie plazmatických buněk závisí do jisté míry i na technické kvalitě nátěru a výběru vhodné části nátěru k samotnému hodnocení (viz rozdíly ve velikosti buněk a jejich součástí včetně jaderné struktury v okrajově tenké části nátěru a ve „startovací-husté“ části roztěrového preparátu). Další okolností je doslova záplava nových, objektivně měřitelných a snáze dostupných ukazatelů s významným prognostickým dopadem, vycházejících z hodnocení vnitřních biologických vlastností myelomové tkáně, charakteristik mikroprostředí KD případně i reakce celého organismu, které význam morfologického pohledu významně oslabily.

Diferenciální diagnostika myelomu z hlediska hodnocení kostní dřeně

V případě iniciační fáze MM je nutné jeho odlišení zejména od reaktivní plazmocytózy (RP) provázené obvykle polyklonální hyperimunoglobulinémií, a pouze zřídka přítomností nevelké M-komponenty. Reaktivní zmnožení polyklonálních plazmocytů provází chronické zánětlivé stavy, různé bakteriální a virové infekce, chronická parenchymatózní onemocnění jater včetně jaterní cirhózy, diabetes mellitus, revmatoidní artritidu a ostatní difuzní systémové choroby pojiva, různé imunopatologické stavy, Hodgkinovu chorobu a diseminované neoplazie včetně metastatických forem karcinomu. K odlišení od MM přispívá imunohistochemické vyšetření kostní dřeně prokazující v případě RP polyklonální charakter plazmocelulární populace s chybějící restrikcí exprese lehkých řetězců κ nebo λ . V případě RP lze v KD občasné pozorovat zvýšení počtu eozinofilů, mastocytů a megaka-

ryocytů, ojediněle i tzv. plazmocelulární satelitózu, vyznačující se přítomností histiocytu obklopeného plazmatickými buňkami [30].

K odlišení iniciačního stadia MM od MGNV se používá vyhodnocení konstelace IMWG kritérií (tab). Nutno vzít ale v úvahu i okolnost, že ojediněle existují případy MGNV a RP s přítomností 20–30 % plazmocytů v KD. Při hodnocení nátěru KD nutno vzít navíc v potaz i okolnost, že za normálních okolností se mohou i v případě RP vyskytovat dvojjaderné, nikoliv ale vícejaderné plazmocytů. Diagnóze MM nasvědčuje i přítomnost anizonukleózy, projevy jaderné nezralosti a nález jaderných inkluzí [17,19]. Čím vyšší je stupeň jaderné nezralosti, a čím větší jsou jádérka, tím větší je pravděpodobnost maligního charakteru hodnoceného procesu [13,31]. Důležitým diferenciálně diagnostickým znakem napomáhajícím odlišení MM od RP, je přítomnost maturační asynchronie jádra a cytoplazmy (N/C asynchronie) a zastoupení kompaktních a prstěncitých jadérek [32]. K přesnému vyhodnocení přítomnosti a stupně N/C asynchronie plazmatických buněk lze s výhodou použít elektronové mikroskopie [23,32] zpřesňující nejenom diagnostiku MM a jeho odlišení od RP, ale i posouzení prognózy nemoci [33,34]. V případě plazmoblastického typu MM je nutné odlišení od postižení KD v rámci imunoblastického lymfomu B-typu s plazmocytoidní diferenciací a metastatické formy vysoce anaplastických nádorů včetně karcinomu. Obávaným diagnostickým omylem každého hematologa je záměna MM za tzv. „pseudomyelom“ vyznačující se přítomností generalizovaného neoplastického procesu s nálezem osteolytických lézí, reaktivní plazmocytózy a M-komponenty v séru. Pro méně zkušeného hodnotitele KD je někdy svízelné rozlišení vysoce dediferencovaných myelomových elementů od dyserytropoetických erytroblastů

a nebo i osteoblastů. Nutno opětovně připomenout, že i neoplastické plazmocyty mohou být zralého typu a čistě cytologické odlišení od reaktivní populace je proto prakticky nemožné [17]. Samotný nále v KD nemusí být vzhledem k tomu, že i nádorové plazmocyty mohou být dobře diferencované jednoznačně patognomický pro zhoubný plazmocelulární proces [15].

Speciální, komplementární vyšetření

V současnosti lze považovat vyšetření roztěrového preparátu KD, raději ale se současným vyšetřením histobiopického vzorku, za iniciální, bazální a standardní diagnostický krok, vyžadující ale z pohledu současné úrovně hematologie většinou provedení řady dalších, diagnosticky přírodných testů. K vyhodnocení klonality plazmatických buněk lze použít imunohistochemické vyšetření řezového preparátu KD, dle některých zkušeností případně i imunofenotypizaci plazmocyty v aspirátu KD s pomocí průtokové cytometrie s možností průkazu restrikce κ/λ poměru v důsledku dominantní exprese jednoho typu lehkého řetězce. Lze využít i individuálního vyšetření imunofenotypu plazmatických buněk, neboť myelomové elementy se obvykle vyznačují pozitivní expresí značek CD13+, CD38+, CD45-, CD56+, CD79a+, CD126+ a zejména CD138+, zatímco pozitivita CD19 a CD20 je značně variabilní [12,35,36].

Nelze pominout, že plazmatické buňky produkují různé cytokiny, včetně IL-6, což je hlavní cytokin uplatňující se spolu se svým receptorem (IL-6R) v aktivaci proliferace a útlumu apoptózy myelomových plazmocyty a VEGF (vaskulární endotelový růstový faktor) i HGF (hepatocytární růstový faktor), mající důležitou roli v procesu angiogenezy. Myelomové buňky rovněž exprimují mj. IL-1 β a TNF α (faktor nekrotizující tumory) a RANKL (liganda receptoru nukleárního faktoru κ -B),

což jsou neobyčejně potentní působky podílející se na aktivaci osteoklastické kostní resorpce, a tím i na rozvoji myelomové kostní nemoci [37,38]. Neobyčejně důležitou vlastností myelomových plazmocyty a významným prognostickým faktorem MM je hodnota proliferativního indexu, vyšetřitelná v našich podmínkách nejlépe s pomocí průtokové cytometrie stanovením tzv. propidium-jodidového indexu plazmatických buněk (PC-PI), kde hraniční hodnota 2,9 rozděluje nemocné na jedince s významně odlišnou délkou mediánu celkového přežití. Významný vztah k prognóze byl rovněž sledován i při vyhodnocení stupně apoptózy myelomových buněk s pomocí tzv. annexin-V indexu, kde hodnota apoptotického indexu PC-AI 4,4 rozděluje nemocné do skupin s významně odlišnou prognózou [4].

Závěr

Z uvedeného vyplývá, že cytomorfoloické vyšetření aspirátu kostní dřeně má v diagnostice MM zásadní význam, patří do spektra bazálních a standardních vyšetření s tím, že procentuální zastoupení plazmocyty v KD je jedním ze základních SWOG i IMWG diagnostických kritérií MM a přístupem důležitým z hlediska odlišení MM od RP a MGNV. Vzhledem k tomu, že hodnocení roztěrového preparátu může být z hlediska rozpoznání MM nezřídka falešně negativní (např. příměs periferní krve, hypocelularita nebo tukový charakter KD, zejména ale nodulární charakter myelomových mas), patří ke standardnímu postupu provedení současné histobiopsie s odběrem materiálu na speciální vyšetření (např. cytogenetické, buněčnou imunofenotypizaci, vyšetření kinetických vlastností myelomových buněk aj). Je proto důležité, aby si lékař, kterému se dostává do rukou výsledek hodnocení roztěrového preparátu aspirátu KD, byl vědom skutečných možností i limitací této diagnostické techniky

z hlediska rozpoznání i sledování průběhu MM. Je nasnadě, že optimální podmínky ke skutečně vysoce validnímu zhodnocení standardního roztěrového preparátu KD má komplexně vzdělaný hematolog, spojující morfoloickou erudici s klinickým pohledem a s kritickou interpretací stěžejních klinicko-laboratorních dat.

Zpracována s podporou
VVZ 6198959205

Literatura

1. Kyle RA, Child JA, Durie BGM et al. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma, and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Brit J Haematol* 2003; 121: 749-757.
2. Adam Z, Študla V, Neubauer J. Mnohočetný myelom. In: Adam Z, Vorlíček J et al. *Hematologie II. Přehled maligních hematologických nemocí*. Praha: Grada Publishing 2001: 461-502.
3. Adam Z et al. Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu. Doporučení vypracované Českou myelomovou skupinou, Myelomovou sekcí ČHS a experty Slovenské republiky pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu. *Vnitř Lék* 2005; 51(Suppl 1): 3-51.
4. Scudla V, Ordeltova M, Minarik J et al. Prognostic significance of plasma cell propidium iodide and annexin-V indices and their mutual ratio in multiple myeloma. *Neoplasma* 2006; 53: 213-218.
5. Scudla V, Ordeltova M, Bacovsky J et al. The relationship between proliferation and apoptosis in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance or multiple myeloma. *Hematologica* 2005; 90: 1713-1714.
6. SWOG Southwest Oncology Group. Remission maintenance therapy for multiple myeloma. *Arch Int Med* 1975; 135: 147-152.
7. Kyle RA, Bayrd ED. *The monoclonal gammopathies. Multiple myeloma and related plasma-cell disorders*. Springfield: Charles Thomas Publisher 1976.
8. Sakalová A et al. *Generalizovaný plazmocytóm*. Bratislava: Veda 1983.
9. Frisch B, Bartl R. *Biopsy interpretation of bone and bone marrow*. London: Arnold 1999.

10. Špička I et al. Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie. Praha: Galén 2005.
11. Bartl R, Frisch B, Burkhardt G et al. Bone marrow histology in myeloma: its importance in diagnosis, prognosis, classification and staging. *Brit J Haematol* 1982; 51: 361–375.
12. Grogan TM, Gelbspan D, Rimsza L. Hematologic investigations: morphologic and phenotypic features of myeloma marrow diagnosis. In: Gahrton G, Durie BGM, Samson DM. Multiple myeloma and related disorders. London: Arnold 2004: 102–124.
13. Bartl R, Frisch B, Wilmanns W. Morphology of multiple myeloma. In: Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA. Myeloma biology and management. Oxford: Oxford medical publications 1995: 83–123.
14. Pour L, Penka M, Smolej L et al. Hodnocení kostní dřeně u pacientů s mnohočetným myelomem v různých fázích odběru. *Hemat Transf* 2006; v tisku.
15. Dispenzieri A, Lacy MQ, Greipp PR. Multiple myeloma. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN et al. Wintrobe's clinical hematology. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2004: 2583–2636.
16. Hoffbrand AV, Pettit JE. Sandoz atlas of clinical hematology. 2nd ed. Barcelona: Mosby-Wolfe 1994.
17. Campr V. Morfologické rysy mnohočetného myelomu. In: Špička I et al. Mnohočetný myelom a další monoklonální gamapatie. Praha: Galén 2005: 44–46.
18. Farquhar MG, Palade GE. The Golgi apparatus (1954–1981) from artifact to center stage. *J Cell Biol* 1981; 91(Suppl): 77–103.
19. Hobbs JR. The immunoglobulins and their abnormalities. In: Hardisty RM, Weatherall DJ. Blood and its disorders. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1974: 1319–1373.
20. Drivsholm A, Clausen J. The relationship between the cytology and immunoelectrophoretic pattern in 105 cases of myelomatosis. *Acta Med Scand* 1964; 175: 609–620.
21. Gaja A, Buliková A, Novotný J et al. Plazmocyty s fagocytární aktivitou. *Trans Hemat* 2004; 10: 76–77.
22. Blade J, Samson D, Reece D et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haematopoietic stem cell transplantation. *Brit J Haematol* 1998; 102: 1115–1123.
23. Wutke K, Varbiro M, Rdiger G et al. Cytological and histological classification of multiple myeloma. *Haematologia* 1981; 14: 315–329.
24. Cardozo PL. Atlas of clinical cytology. Herhogenbasch: Targa e.v.s 1975, ISBN 90–90000–16.
25. Greipp PR, Leong T, Bennett JM et al. Plasmoblastic morphology – an independent prognostic factor with clinical and laboratory correlates: Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) myeloma trial E9486 report by the ECOG Myeloma laboratory group. *Blood* 1998; 91: 2501–2507.
26. Greipp PR, Raymond NM, Kyle RA. Multiple myeloma: significance of plasmoblastic subtype in morphologic classification. *Blood* 1985; 65: 305–310.
27. Rajkumar SV, Fonseca R, Lacy MQ et al. Plasmoblastic morphology is an independent predictor for poor survival following autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1551–1557.
28. Rajkumar SV, Fonseca R, Dispenzieri A et al. Methods for estimation of bone marrow plasma cell involvement in myeloma: predictive value for response and survival in patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Am J Hematol* 2001; 68: 269–275.
29. Barlogie B, Shaughnessy J, Munshi N et al. Plasma cell myeloma. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS et al. Williams hematology. 6th ed. New York: Mc Graw-Hill Medical Publishing Division 2001: 1279–1304.
30. Hyun BH, Kwa D, Gabaldon H et al. Reactive plasmocytic lesions of the bone marrow. *Am J Clin Pathol* 1976; 65: 921–928.
31. Turesson I. Nucleolar size in benign and malignant plasma cell proliferation. *Acta Med Scand* 1975; 197: 7–14.
32. Smetana K, Gyorkey F, Gyorkey P et al. Ultrastructural studies on human myeloma plasmocytes. *Cancer Res* 1973; 33: 2300–2309.
33. Graham RC, Bernier GM. The bone marrow in multiple myeloma: correlation of plasma cell ultrastructure and clinical state. *Medicine* 1975; 54: 225–243.
34. Scudla V, Wiedermann B, Kodousek R et al. Significance of nucleo-cytoplasmic maturation asynchrony in multiple myeloma. *Neoplasma* 1986; 33: 483–491.
35. Rajkumar SV, Greipp PR. Plasma cells and immunoglobulins. In: Mehta J, Singhal S. Myeloma. London: Martin Dunitz 2002: 3–23.
36. Adam Z. Imunofenotyp buněk mnohočetného myelomu. *Hemat Transf* 1997; 7: 17–26.
37. Malpas JS, Bergsagel DE, Kyle RA et al. Myeloma biology and management. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 2004.
38. Tricot G. Multiple myeloma and other plasma cell disorders. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ et al. Hematology basic principles and practice. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone 2000: 1398–1415.

prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.
www.fnol.cz
e-mail: vlastimil.scudla@fnol.cz

Doručeno do redakce: 31. 8. 2006

www.urologickelisty.cz