

Trombocytózy a trombocytemie

J. Schwarz¹, M. Penka²

¹ Klinický úsek Ústavu hematologie a krevní transfuze, Praha, přednosta doc. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D.

² Oddělení klinické hematologie FN Brno, pracoviště Bohunice, přednosta prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

Souhrn: V přehledném článku je pro nosologickou klasifikaci Ph- myeloproliferativních onemocnění s trombocytózou (MPO-T) doporučeno užívání kritérií WHO nebo rotterdamské skupiny, která se zakládají na průkazu specifických histopatologických rysů jednotlivých MPO-T. Nejčastější z primárních MPO-T jsou proliferativní, prefibrotické nebo časně fibrotické fáze idiopatické myelofibrózy, ještě častější jsou trombocytózy reaktivní. Jsou diskutovány rozdíly mezi primárními MPO-T a sekundární trombocytózou a otázka klonality MPO-T, jakož i metody jejího stanovení. Nejzávažnějšími klinickými projevy a zároveň komplikacemi MPO-T jsou: 1. arteriální a venózní trombózy, 2. přechod MPO-T do sekundární akutní myeloidní leukemie, 3. mikrocirkulační problémy, 4. hemoragie. Hlavní rizika pro trombózu jsou věk, eventuelní předchozí trombóza, počet trombocytů mezi $350-200 \times 10^9/l$ a přítomnost přídatného trombofilního rizika (dědičná trombofilie, malignita, gravidita, hyperkoagulační stav, kardiovaskulární onemocnění). Léčba MPO-T by podle doporučení české multiinstitucionální skupiny měla být stratifikována podle rizika trombózy a krvácení. U rizikových pacientů je podávána tromboreduktivní léčba. S ohledem na možnou leukemogenicitu všech užívaných cytostatik, včetně hydroxyurey, by cytostatika neměla být dlouhodobě podávána osobám pod 60 let – u nich je preferováno užití nemutagenního interferonu- α a anagrelidu. U méně rizikových nemocných stačí antiagregační terapie.

Klíčová slova: myeloproliferativní onemocnění – trombocytemie – sekundární trombocytóza – diagnostika – rizikové faktory – klonalita – leukemická transformace – trombóza – léčba – algoritmus – hydroxyurea – interferon – anagrelid

Thrombocytosis and thrombocythemia

Summary: In this review, we recommend the nosological classification of the Ph- myeloproliferative disorders with thrombocythemia (MPD-T) to be performed either according to the WHO or to the Rotterdam criteria, both of which are based on demonstration of specific histopathological features of the respective MPD-T. The most frequent of the primary MPD-Ts is the proliferative, prefibrotic or early fibrotic phase of idiopathic myelofibrosis, but reactive thrombocytoses are even more frequently seen. The differences between the primary MPD-Ts and secondary thrombocytoses are discussed along with the issue of clonality of these disorders and the methodology of its determination. The most serious complications of MPD-Ts are the following: 1. arterial and venous thromboses, 2. transformation of MPD-T into secondary acute myeloid leukemia, 3. microcirculation problems, 4. hemorrhage. The main risk factors of thrombosis are age, history of previous thrombosis, thrombocyte counts $350-200 \times 10^9/L$ and the presence of an additional thrombophilic risk factor (hereditary thrombophilia, malignancy, gravidity, hypercoagulable states, cardiovascular disease). Treatment of MPD-T, according to the recommendations of the Czech multiinstitutional group, should be stratified with respect to the thrombotic and hemorrhagic risks. In high-risk patients, thromboreductive treatment is warranted. Seeing to the possible leukemogenicity of all the cytostatic drugs used, including hydroxyurea, they should not be administered over prolonged periods of time to individuals less than 60 years old. In these patients, interferon- α or anagrelide should be preferred. In low-risk patients, antiaggregation therapy is sufficient.

Key words: myeloproliferative disease – thrombocythemia – secondary thrombocytosis – risk factors – diagnostics – clonality – leukemic transformation – thrombosis – treatment algorithm – hydroxyurea – interferon – anagrelide

Úvod

Trombocytózy, resp. trombocytemie představují často nedoceňovaný problém v běžné internistické praxi, ačkoli reálně přinášejí závažná rizika pro pacienty (arteriální i venózní trombózy, krvácení). Trombocytemie představují buďto **reaktivní**, cytokiny zprostředkovanou nadměrnou tvorbu krevních destiček vzniklých z polyklonálních prekurzorových buněk (megakaryocytů), anebo

jde o **primární myeloproliferativní onemocnění (MPO)**, dle klasických představ klonální proliferaci, mající původ v pluripotentním myeloidním progenitoru (CFU-GEMM), ze kterého se po diferenciaci a maturaci tvoří nejen trombocyty, ale i buňky červené a granulocyto-makrofagové řady. V rámci primárních MPO bez výskytu filadelfského chromozomu (Ph-) se trombocytemie nejčastěji vyskytuje u raných, proliferativních stadií idiopatické myelofibrózy (IMF), dále u esenciální trombocytemie (ET) a u polycythaemia vera (PV). Zde použijeme pro tato onemocnění souhrnného pojmu MPO s trombocytemií (MPO-T). Specifickým typem MPO pak bývá Ph+ chronická myeloidní leukemie (CML), která se vzácně může ve svém počátku jevit

mu (Ph-) se trombocytemie nejčastěji vyskytuje u raných, proliferativních stadií idiopatické myelofibrózy (IMF), dále u esenciální trombocytemie (ET) a u polycythaemia vera (PV). Zde použijeme pro tato onemocnění souhrnného pojmu MPO s trombocytemií (MPO-T). Specifickým typem MPO pak bývá Ph+ chronická myeloidní leukemie (CML), která se vzácně může ve svém počátku jevit

Tab. 1. Příčiny sekundárních trombocytóz.

- sideropenie, při chronickém krvácení
- chronická zánětlivá onemocnění (morbus Wegener, morbus Crohn, revmatoidní artritida)
- chronické infekce (bakteriální, plísňové, TBC)
- léky (vinca alkaloidy, adrenalin)
- fyzická zátěž (adrenalin?)
- splenektomie, asplenie
- malignity (lymfomy – morbus Hodgkin, karcinomy plic, colon)
- přestřelení po léčbě trombocytopenie (cytostatika, idiopatická trombocytopenická purpura, pernicioza), po akutní krevní ztrátě
- myelodysplazie (5q- syndrom, refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty)
- hemolytické anémie

jako trombocytemie s mírnou leukocytózou, a lze ji zaměnit za Ph-MPO-T.

Termínu **trombocytóza** se někdy používá v souvislosti se sekundárními trombocytemiemi, zatímco termínu **trombocytemie** se používá jak pro primární, tak i sekundární typ onemocnění. Oba termíny označují zvýšení počtu krevních destiček (nad $350 \text{ až } 400 \times 10^9/\text{l}$), podle normy jednotlivých laboratoří.

Reaktivní (sekundární) trombocytózy a jejich odlišení od primárních trombocytemií

Sekundární trombocytóza se vyskytuje u akutních i chronických infekčních onemocnění, jakož i u onemocnění nádorových (tab. 1). Počty trombocytů u sekundárních trombocytóz dle naší praxe (nepublikováno) obvykle nepřesáhnou $1000 \times 10^9/\text{l}$, naopak u MPO-T mohou přesáhnout (často při stavech kombinace MPO-T a stavu po splenektomii) až $4000 \times 10^9/\text{l}$. Nicméně v literatuře jsou údaje o tom, že i u sekundárních trombocytóz počty trombocytů mohou často přesahovat $1000 \times 10^9/\text{l}$ [1]. V běžné internistické či chirurgické praxi bývá většina zachycených trombocytemií sekundárních [1]. Incidence primární ET v západním světě je mezi 0,5–2,5/100 000 obyvatel ročně [2]. Ačkoli u sekundárních trombocytemií bývá riziko závažných komplikací menší než u pri-

márních, zdaleka není nulové [3]. Přidruží-li se jiný trombofilní stav [dědičné trombofilní stavy (např. mutace f. V Leiden, deficit proteinů C a S aj), antifosfolipidový syndrom, těhotenství, nádory, hyperkoagulační stavy – podrobněji viz níže], může být riziko tromboembolizmu i u nich značné a zasluhují náležitou pozornost.

Diagnózu sekundární trombocytózy lze učinit až při vyloučení trombocytemie primární, která je nyní již založena na pozitivně přítomných histopatologických kritériích (viz níže). Donedávna, při používání diagnostických kritérií PVSG (Polycythemia Vera Study Group) pro diagnózu esenciální (primární) trombocytemie tomu bylo vlastně naopak: diagnóza ET bývala per exclusionem při „vyloučení“ trombocytemie sekundární [4], což nebyl vždy snadno splnitelný požadavek. Někdy stačí k odlišení sekundární trombocytemie pečlivá anamnéza, ukazující na přítomnost infekčního nebo nádorového onemocnění, jindy může jít o nelehký diferenciálně-diagnostický problém. Proti diagnóze sekundární trombocytemie hovoří přítomnost splenomegalie, mikrovaskulárních komplikací, abnormální morfologie destiček v nátěru nebo přítomnost cytogenetické aberace [1]. Definitivní odlišení přináší histopatologie dřeně: na rozdíl od jasných charakteristik různých MPO-T, u sekundární trombocytózy nacházíme pouze

zmnožené megakaryocyty normální velikosti i vzhledu [1]. Při vyšetření na klonalitu musí být výsledek negativní, při vyšetření růstu erytroidních prekursorů BFU-E by neměl být pozorován žádný růst kolonií bez přidání erythropoietinu.

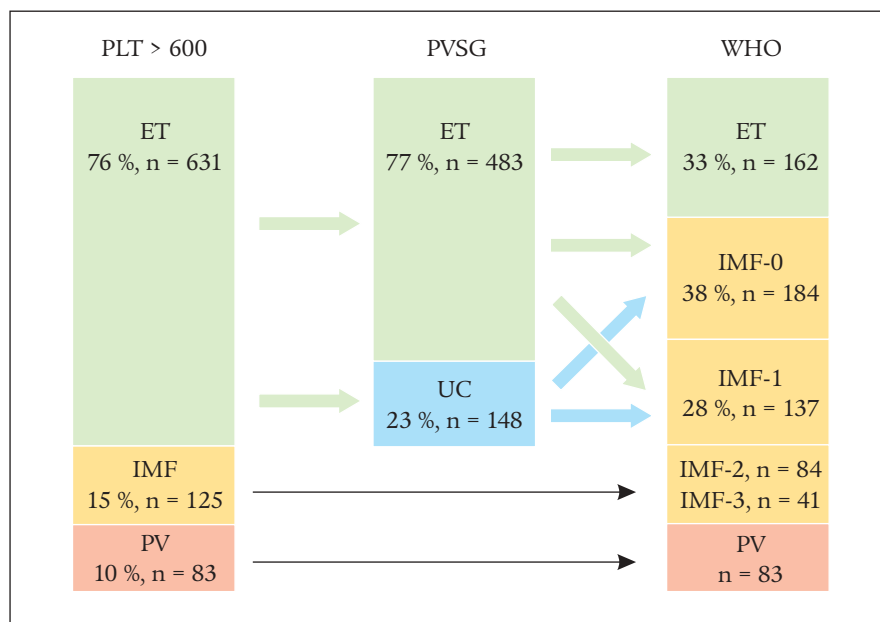
Diagnostická kritéria Ph– MPO-T

Pro každou z nozologických jednotek v rámci MPO jsou vypracována poměrně moderní diagnostická doporučení podle WHO [5,6,7], která jsou založena, alespoň v případě ET a IMF, na pozitivním průkazu vybraných histopatologických znaků. Kritéria WHO velmi pozvolna začínají v klinické praxi nahrazovat starší diagnostická kritéria PVSG pro PV a ET [4,8,9]. Pro IMF se dříve užívaly nejrozumnější diagnostické definice, oblíbená byla kritéria publikovaná Barosim et al [10]. Kritéria PVSG pro diagnostiku ET bývala, na rozdíl od WHO kritérií, založena na vyloučení sekundárního onemocnění [4]. WHO přináší posun především z hlediska časného rozpoznání jednotlivých onemocnění. Z hlediska diagnostiky PV sice nová kritéria neznamenají významný průlom, avšak alespoň uznávají existenci tzv. prepolycytemického stadia PV [6], u kterého může být v laboratorním nálezu pouze izolovaná trombocytemie. Naopak vpravdě revoluční je možnost histologického odlišení ET a tzv. prefibrotického stadia IMF [7], což má potenciálně obrovský význam pro prognostiku MPO-T. ET a IMF mají totiž diametrálně odlišnou (dobrou v případě ET, resp. špatnou u IMF) prognózu a z ní vyplývající i jiné léčebné strategie. Diagnostika MPO-T podle WHO stojí na původních pracích z Německa (především pracoviště z Kolína nad Rýnem). Tato skupina analyzovala stovky biopsií dřeně a zjistila mimo jiné, že až 2/3 pacientů, původně diagnostikovaných podle kritérií PVSG jako ET, má ve skutečnosti některou z fází IMF (začasto velmi ranou, tj. prefibrotickou (obr. 1) [11,12].

I když dřívější PVSG kritéria pro ET doporučovala bioptické vyšetření [4], všímala si pouze přítomnosti a kvality fibrózy dřene, aby odlišila floridní IMF. Novum německých prací spočívá především v detailním popisu morfologie megakaryocytů a způsobu jejich seskupení, které se liší u ET a IMF včetně raných stadií [7,11,12]. Obtíž je však s reprodukovatelností histopatologických nálezů v centrech s menšími zkušenostmi, což se týká rovněž České republiky. Proto doporučujeme, aby histopatologická diagnostika byla doménou jen několika vybraných specializovaných center. Aby klasifikace MPO nebyla příliš jednoduchá, Michiels JJ již delší dobu prosazuje do klinického užití svá „rotterdamská“ diagnostická kritéria MPO založená na biopsiích dřene [13–15] (někdy je též nazývá „evropská“, patrně proto, že organizuje klinickopatologická sympozia tzv. European Working Group on Myeloproliferative Diseases), která se však v některých detailech liší od publikované klasifikace WHO. Podrobný rozbor jednotlivých diagnostických kritérií přesahuje rámec tohoto přehledu. Je nutno alespoň poznamenat, že požadavkem pro diagnózu ET podle pravidel PVSG i podle současných WHO kritérií je trombocytémie nad $600 \times 10^9/l$ [4,5]. Podle novějších názorů (včetně rotterdamské skupiny), které kladou důraz na typické histopatologické charakteristiky onemocnění, stačí k diagnóze ET překročení normální hranice, tj. $400 \times 10^9/l$ [13–16].

Klinické symptomy trombocytemií

V dnešní době, kdy je krevní obraz vyšetřován stále častěji a počítače krvinek běžně stanovují počty trombocytů, je stále více pacientů při zachytu trombocytémie asymptomatických – ve velké studii ET v Itálii jich bylo 44 % [2]. Někteří pacienti naopak již přicházejí se závažnými komplikacemi trombocytemií, které jsou společné pro všechny typy



Obr. 1. Rozdíl v posouzení Ph– MPO-T podle kritérií PVSG a WHO. Klasifikace 839 pacientů s trombocytemiemi s počty destiček (PLT) $> 600 \times 10^9/l$ podle Thieleho a Kvasnicky [12]. UC: neklasifikovatelné MPO. IMF-0 až 3 znamenají grading fibrózy dřene: IMF-0: nepřítomna; IMF-1: mírná retikulární; IMF-2: značná retikulární a ev. mírná kolagenní; IMF-3: pokročilá kolagenní fibróza. Podle Michielse [15]; ve stadiu IMF > 3 (osteoskleróza s hypocelularitou dřene) nebývá trombocytémie.

MPO-T. Pacienti přicházejí do zdravotnického zařízení s cévní mozkovou nebo koronární příhodou, tromboembolizmem, mikrocirkulačními poruchami nebo krvácením. **Trombotické problémy** jsou častější a quadraticky 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, často se přidruží i 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 především hluboké žilní trombózy. Trombózu v oblasti splanchniku je někdy obtížné diagnostikovat a může být mylně pokládána za jiné algické onemocnění gastrointestinálního traktu (GIT), pakliže se na ni nemyslí. Relativně časté jsou trombózy ve v. lienalis, v. portae,

v. mesenterica sup. i inf., nevzácně se může objevit trombóza jaterních žil 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. Část pacientů má **mikrocirkulační problémy**, ať již na kůži aker nebo v CNS. Zhoršení mikrocirkulace v CNS v důsledku zvýšené viskozity krve se může projevovat nejrozličnějšími očními, neurologickými a psychiatrickými symptomy, jejichž původ však bývá bohužel dodnes často nerozpoznán. Častá je bolest hlavy s doprovodnými příznaky často podobnými migréně [17]. Zcela specifickou lézí u MPO-T (a ev. PV i bez trombocytémie) jsou **erytromelalgická ložiska**, která mají zcela specifický histologický obraz. Jde o trombocytární mikrotromby, jen s minimálními depozity fibrinu, přičemž dochá-

Tab. 2. Přehled prací o trombofilních faktorech u MPO (převážně ET a PV).

autor	typ trombofilie	Rok	Ref.
Bucalossi A et al.	antitrombin III, protein C, protein S, APC-R – více trombóz u ET a PV	1996	26
Amitrano L et al.	antitrombin III, protein C, protein S, APC-R, fVL, mutace protrombinového genu, homocystein: trombózy splachnické oblasti a arteriální trombózy – 79 pac. s MPO	2003	27
Ruggeri M et al.	faktor V Leiden a venózní tromboembolizmus u ET a PV	2002	28
Gisslinger H et al.	229 pac: mutace protrombinového genu u ET a PV	2002	29
Schwarz J et al.	význam u MPO-T – trombózy a embolie: protein C, fVL, mut. protrombin. genu, jiný nádor, DIC bez významu: APC-R, mut. MTHFR genu, homocystein, anti-fosfolipidové PL (ELISA), f. II a f. VIII. V sestavě nikdo s patologií AT III a proteinu S	2004	33
Gisslinger H et al.	hladina homocysteinu nemá význam pro trombózu u ET	1999	32
Musolino C et al.	P- a E-selektin – více trombóz	2000	35
Musolino C et al.	vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) – trombózy u ET, PV, IMF a CML	2002	36
Griesshammer M et al.	těhotenství při ET (přehled)	2003	31
Harrison CN et al.	46 pac ET: klonalita (trombózy a embolie u 6/10 monoklonálních z 23 informativních)	1999	34
Teofili L et al.	88 pac ET (6 s reaktivní): c-mpl imunohistologie – slabší a heterogenní barvení u pacientů s trombotickým rizikem	2002	37

Pozn.: ve studiích s pacienty s dg. jinou než ET patrně jen menšina pacientů měla trombocytemii (většinou podíl neuveden)
 APC-R: rezistence k aktivovanému proteinu C; MTHFR: metyltetrahydrofolát-reduktáza

zí ke ztlustění cévní stěny a zúžení jejího lumina fibromuskulární proliferací a degenerací intimy [17,18]. Jsou to zarudlá, pálivá místa v charakteristických lokalizacích na nárttech a ploskách, vzácněji na prstech rukou. Téměř diagnostická pro tento stav je jeho schopnost promptní odpovědi na jednorázové podání 500 mg kyseliny acetylsalicylové (ASA) a neodpovídavost na kumariny i heparin [17]. Snadno se může vyvinout i gangréna [18]. Při výraznějším zvýšení počtu trombocytů mají nemocní tendenci ke krvácivým projevům, které jsou typicky slizničního typu (epistaxe, krvácení do GIT). Dále pacienti mohou mít symptomy specifické pro danou nozologickou jednotku – např. pletoru u PV, anémii u IMF atd. Na rozdíl od MPO-T bývají sekundární trombocytózy jen zcela vzácně symptomatické. U těchto nemocných dominují spíše příznaky jejich primárního infekčního,

systémového, nebo nádorového onemocnění. **Splenomegalie** bývá u ET i PV obvykle patrna pouze při sonografickém vyšetření, výraznější palpovatelná (hepato-)splenomegalie bývá u rozvinutých forem IMF.

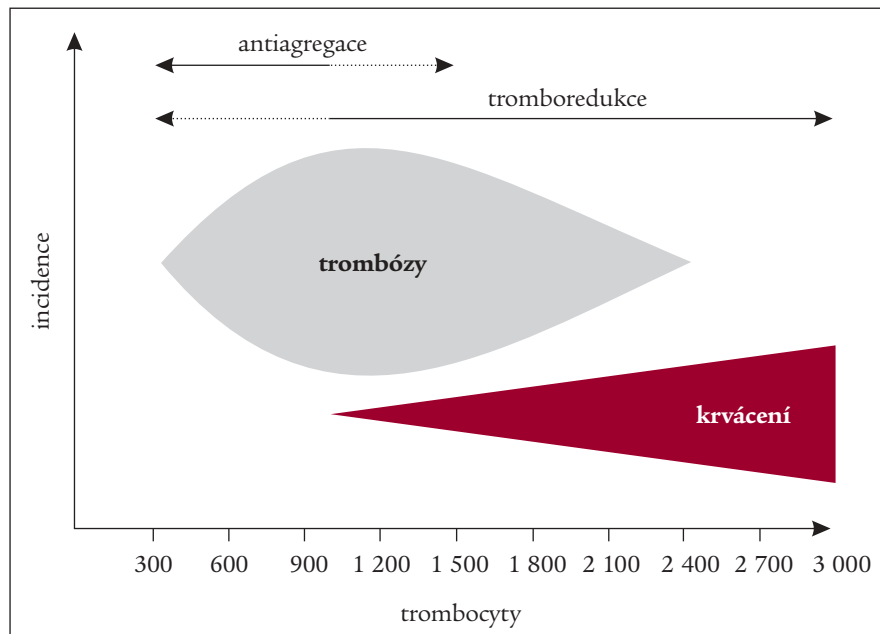
Riziko krvácivých a trombotických komplikací u MPO-T

Již Dameshek v 50. letech minulého století popisoval zdánlivý **paradox současného rizika krvácení a trombózy** u MPO [18]. Evidentně jsou obě rizika **funkcí počtů trombocytů** [19]. Michielsova metaanalýza dat 809 pacientů s ET z celkem 11 studií pak detailně osvětluje vztahy mezi počty trombocytů a oběma riziky. Zatímco **hemoragiemi** jsou ohroženi pacienti s počty trombocytů nad $1\,000 \times 10^9/l$ a s přibývajícím počtem destiček lineárně roste riziko krvácení (obr. 2 – viz klín na obrázku „doutníku a klínu“), **trombotickou komplikací** jsou ohroženi pacienti s počty trombocy-

tů $350\text{--}2\,200 \times 10^9/l$, nejvíce pak při počtech kolem $500\text{--}1\,900 \times 10^9/l$ (viz doutník na obr. 2) [20]. Z toho také vyplývá, že obě rizika jsou při počtech asi $1\,000\text{--}2\,200 \times 10^9/l$ aktuální současně. Jsou však dobře dokumentovány trombózy i při podstatně nižších (i normálních) počtech destiček [21,22]. Nedávno jsme v ÚHKT zaznamenali akutní Q-infarkt myokardu u 40leté pacientky v remisi ET při léčbě anagrelidem, který nastal při počtu trombocytů $289 \times 10^9/l$. Z italské studie pak víme, že riziko trombózy je funkcí doby expozice pacienta zvýšeným počtům trombocytů [23]. Z téže Cortelazzovy studie vyplývá, že dalšími hlavními riziky pro trombózu jsou **věk nad 60 let a anamnéza předchozí trombózy**. Tyto hlavní rizikové faktory byly potvrzeny španělskou studií [24]. Ve studii Cortelazza et al neovlivnily diabetes, hyperlipidemie, hypertenze ani kouření incidenci trombózy [23]. Na-

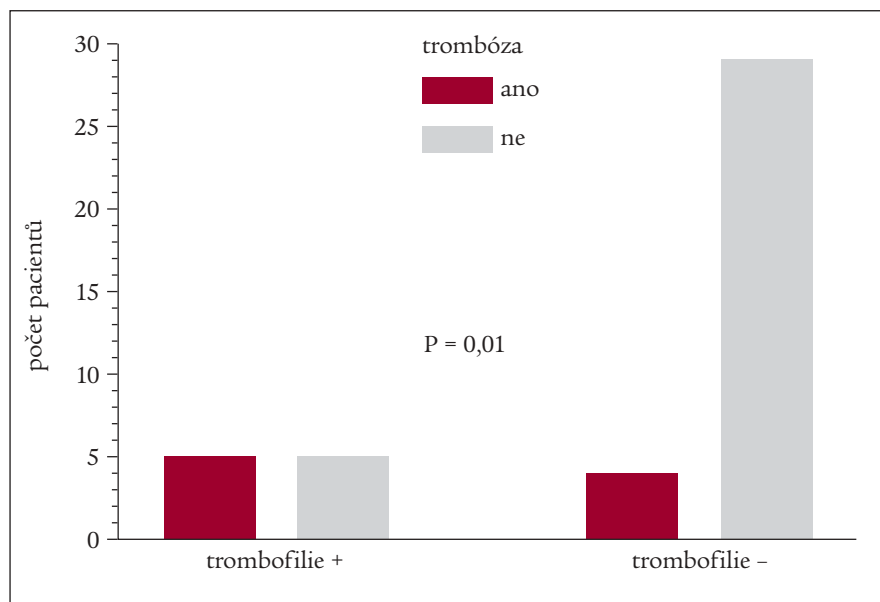
opak Michielsova skupina uznává diabetes, hyperlipidemii a hypertenzi jako rizikový faktor pro trombózu, avšak nikoli věk [20]. Problémem Michielsovy metaanalýzy je, že většina jeho tzv. trombotických komplikací jde na vrub erytromelalgií, zatímco incidence trombózy hlubokých žil je velmi nízká (< 5 %). To je v příkrém kontrastu s vlastním pozorováním v sestavě na ÚHKT (in extenso nepublikováno), kde z 58 konsekutivních pacientů s MPO-T mělo 14 (24 %) klinicky závažnou trombózu, přičemž mírně převažovaly žilní příhody. Naopak jsme ve srovnání s pracemi Michielse pozorovali velmi málo erytromelalgických komplikací. Diskrepance jsou jistě dány selekcí pacientů – Michielsova skupina se totiž přímo zabývala klinickým výzkumem erytromelalgií, zatímco na ÚHKT se dostávají přednostně pacienti se závažnými stavy s anamnézou tromboembolizmu. Dalším extrémně důležitým poznatkem je, že **tromboreduktivní léčba významně snižuje incidenci trombotických komplikací**, jak vyplývá z další studie Cortelazza et al [25]. Podle jedné studie jsou mezi mladšími pacienty patrně více ohroženi trombózou muži, s věkem však významně stoupá incidence trombotických komplikací u žen [3].

V literatuře přibývá dokladů o tom, že u MPO-T hrají z hlediska rizika trombózy významnou roli **přídavné trombofilní rizikové faktory**, které zvyšují míru tohoto rizika vyplývající již z diagnózy trombocytemie. Jsou shrnuty v tab. 2. Za všechny jmenujme především tzv. hereditární trombofilii, tj. dědičné homo- i heterozygotní deficity proteinů C a S, mutace genu f. V (leidská), mutace protrombinového genu G→A 20210, deficit antitrombinu [26–29]. Dalším podobným rizikem je aktivace plazmatické koagulace při nádorových onemocněních [30] a v těhotenství [31]. Zvýšení hladiny homocysteini-



Obr. 2. Schematické znázornění incidence trombózy a krvácení u ET v závislosti na počtu trombocytů.

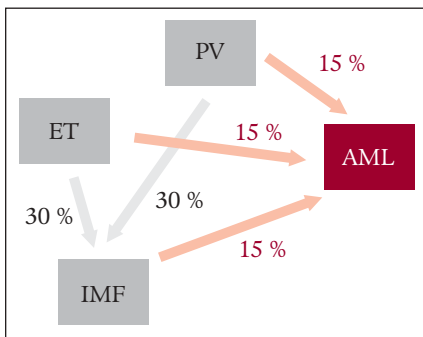
Podle Michielse et al [20] na základě metaanalýzy 809 pacientů z 11 publikovaných studií. Zřejmý paradox rizika obou komplikací současně při trombocytech $1\,000\text{--}2\,200 \times 10^9/\text{l}$. Jsou též vyznačena hlavní léčebná doporučení, tj. tromboreduktivní nebo antiagregační léčba.



Obr. 3. Riziko trombózy a tromboembolizmu u Ph- MPO-T podle přítomnosti přídavného trombofilního rizika (hereditární trombofilie: deficit proteinu C a S, mutace f. V Leiden, mutace genu protrombinu G20210A; přítomnost jiné malignity). Studie ÚHKT [33].

nu kupodivu nemělo statisticky prokazatelný vliv na incidenci trombóz u ET a PV [32]. V ÚHKT jsme provedli prospektivní studii těchto rizik (incidence hereditárních trom-

bofií spolu s trombofilií při nádorech) a zjistili jsme významné zvýšení rizika klinicky závažných trombóz (obr. 3) [33]. Nedávno jsme zaznamenali u mladé pacientky v re-



Obr. 4. Historická představa rizika přechodu MPO do IMF a do s-AML. Podle Pettita [51].

misí MPO-T (počet trombocytů $140 \times 10^9/l$) při terapii interferonem tromboembolizmus při diseminované intravaskulární koagulaci následkem mrtvého plodu na konci 1. trimestru gravidity (nepublikováno). Mezi dalšími již zkoumanými a prokázanými trombofilními riziky lze uvést výskyt antifosfolipidových protilátek [34], zvýšenou expresi selektinů P a E, trombospodinu, vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF), imunohistologický průkaz snížení exprese receptoru pro trombopoetin c-mpl, a v neposlední řadě průkaz klonality ET (ale pouze v jedné z několika prací) [35–38]. Zdá se být logické, že jakýkoli trombofilní faktor, který se uplatňuje v „normální“ populaci bez MPO-T, může zvýšit riziko trombózy při MPO-T. Může to platit i o zvýšení hladin fibrinogenu (a dysfibrinogenemii), f. VIII a von Willebrandova faktoru (vWF), deficitu f. XII a o chirurgických výkonech [39–41]. Soustavné studie na tato témata však u MPO-T nebyly publikovány.

Pokud se týká **rizika krvácení**, rozhodující úlohu patrně nehraje trombocytární funkce [19] (ačkoli dysfunkce bývá prokazována jak ve smyslu zvýšení, tak snížení funkce) [42,43], nýbrž dle literatury **sekundární von Willebrandův syndrom**, který je patrný většinou až při počtech trombocytů nad $1\,500 \times 10^9/l$. Je údajně dán ztrátou velkých vWF multimerů [20,44]. Dle vlastních

zkušeností pozorujeme prodloužení aPTT již při počtech trombocytů blízcích se $1\,000 \times 10^9/l$. Nelze však vyloučit, že u celé plejády koagulačních in vitro testů mohou reziduální neodmyté destičky interferovat se stanovovanými parametry (MUDr. P. Salaj, ÚHKT, osobní sdělení). Tento problém zasluhuje studia. Nicméně výskyt krvácivých komplikací při vyšších počtech trombocytů je realitou.

Otázka klonality u MPO

Byl to opět W. Dameshek, který v roce 1951 definoval koncepci MPO jako soubor různých klonálních onemocnění [45]. Překvapivě se však v posledních letech objevují údaje, že zdaleka ne všechny případy ET a PV (jinak vyhovující definicím PVSG pro tato onemocnění) [4,8] jsou skutečně klonální. U ET je klonálních asi 50 % případů (19–68 % v různých studiích) [38,46–48]. Tyto údaje mohou obrážet heterogenní patogenezu MPO, zčásti však mohou být i výsledkem poměrně nelehké interpretace dosud nestandardizovaných molekulárních metod průkazu klonality – nejčastěji se užívá PCR detekce zastoupení polymorfizmů alel genu receptoru pro androgeny (esej HUMARA) na X chromozomu po jeho inaktivaci (metoda XCIP). Vyšetření lze aplikovat pouze u žen, a to ještě ne u každé pacientky lze získat informativní výsledek díky tzv. skewing lyonizaci (při které se i v kontrolních buňkách, T-lymfocytech dané pacientky, prokáže pouze jediná alela). Vyšetření se provádí na genomové DNA. Ta však není v trombocytech – u nich lze vyšetřit klonalitu stanovením jiných genů po izolaci RNA, vyšetřované geny však vykazují menší míru heterozygocity než gen HUMARA [48]. V souboru 21 vyšetřených pacientek s MPO-T z ÚHKT byla klonalita prokázána u 10 z nich, neprokázána u 9, u 2 nebyl informativní výsledek (Belíčková a Schwarz, nepublikováno). Otázkou nyní je, jak se např. liší „neklonální“ ET od

sekundární trombocytózy. Primární a sekundární onemocnění by mohla odlišit histopatologie kostní dřeně. Potíž však je, že drtivá většina publikovaných studií [38,46–48] nepoužívala WHO klasifikaci (což je konečně obecný problém literatury o ET), zdaleka ne všechny pacientky byly bioptovány a lze si představit, že některé mohly mít prostou reaktivní trombocytemii. V naší sestavě má 9 pacientek bez prokázané klonality většinou nekonkluzivní histologické nálezy a nelze vyloučit, že skutečně mají reaktivní trombocytemii při neodhalené primární příčině. Naopak jedna z těchto pacientek má cytogenetickou aberaci (20q–) svědčící pro klonální ET, což zase naznačuje technické nedokonalosti určování klonality. Cytogenetické klonální aberace jsou však u ET prokazovány vzácně (< 5 % pacientů) [49].

Pomůckou v diagnostice ET a PV může vyšetření na **erythropoetinu (Epo) nezávislého růstu kolonií progenitorů červené řady BFU-E** (EEC) z periferní krve nebo kostní dřeně. Význam však má jen přesně definovaná esej bez přidávání heminu do kultivačního média – v opačném případě totiž rostou kolonie bez přidání Epo i u zdravých jedinců. Francouzští autoři se nyní snaží o mezinárodní standardizaci této esej [50]. Existuje dobrá korelace mezi růstem EEC a zvýšením exprese genu PRV-1 v granulocytech u všech typů MPO na úrovni mRNA (ale nikoli proteinu) [49].

Rizika přechodu MPO-T do sekundární akutní myeloidní leukemie (s-AML)

MPO-T jsou heterogenní skupinou onemocnění s různorodou prognózou. Ta je do značné míry závislá na tom, do jaké míry má konkrétní typ MPO-T tendenci přejít do s-AML (analogický stav k blastické krizi u CML). Zatímco ET přechází do s-AML extrémně vzácně (a to lze ještě spekulovat, zda se nejedná o IMF, u kterých nebyla učiněna řádná diag-

nóza dle WHO), IMF má naopak tendenci k přechodu do s-AML velkou, ačkoli počáteční stadia IMF se kromě histopatologie takřka neliší od ET. s-AML je patrně poslední fází biologického vývoje IMF; udává-li se ve starší literatuře poměrně nízké procento (asi 10 %; obr. 4) [51], je to patrně proto, že pacient zemře na komplikace IMF dříve, než se stačí vyvinout s-AML. PV stojí někde uprostřed ET a IMF: v poměrně malém procentu případů může být pozorován přímý přechod do s-AML, častější je však vývoj do tzv. postpolycytemické IMF, a teprve následně do blastické fáze onemocnění ve formě s-AML.

Odhad přirozeného přechodu jednotlivých typů MPO-T do s-AML bývá ve studiích znehodnocen tím, že většina pacientů dostane *cytostatickou léčbu*, která sama o sobě může indukovat s-AML nebo sekundární myelodysplastický syndrom (s-MDS). Dnes již není mnoho pochyb o tom, že některé látky jsou skutečně *leukemogenní*. V případě MPO se to týká např. radioaktivního fosforu ^{32}P , chlorbucilu a melfalanu. Velké spory se však dodnes vedou o pipobroman a především o *hydroxyureu* (HU; v Česku preparát Litalir®), která je nyní zdaleka nejčastěji užívaným cytostatikem u MPO. HU je ve srovnání s jinými cytostatiky patrně méně toxická a méně leukemogenní. *In vitro* podle jedné publikace neindukuje výměny sesterských chromatid, na rozdíl např. od alkylačních látek [52], ale podle jiné publikace je výměna sesterských chromatid v některých systémech indukována (efekt je silně závislý na zvoleném experimentálním systému) [53]. HU je inhibitorem ribonukleotid-difosfát reduktázy [54,55], je mutagenní u bakterií [56], brání opravám DNA a zvyšuje genotoxicitu [57,58]. *Klinický výzkum* v této problematice je nelehký vzhledem k velmi dlouhé době od diagnózy MPO do jeho přechodu do s-AML. Na problém možné leuke-

mogenicity HU upozornila řada prací [59–63]. Jelikož v citovaných studiích týkajících se ET [62] či MPO-T [63] nebyla důsledně prováděna histopatologická klasifikace dle WHO, lze je jen těžko interpretovat, neboť u nich mohlo být proměnlivé zastoupení ET a IMF (tedy onemocnění s neporovnatelnou tendencí přirozeně přecházet do AML) z hlediska klasifikace WHO. Proto důležitou informaci mohou spíše přinést studie u pacientů s PV, která má menší tendenci k přirozenému vývoji do s-AML. U velké sestavy 292 pacientů s PV prokázala francouzská skupina indukci s-AML (s-MDS) po léčbě pipobromanem nebo HU u 10 % pacientů po 13 letech sledování, po HU byla větší tendence k přechodu do IMF než ve větvi léčených pipobromanem [61]. Incidence AML prudce eskalovala v obou větvích mezi 10. a 16. rokem sledování. Další skupina ukázala vysokou incidenci s-AML a s-MDS (4,5 %), často spojenou s delecí 17p a ztrátou genu p53 u (nebioptovaných) pacientů s ET léčených HU [64]. Podobné 2 případy PV s vývojem AML s delecí 17p byly publikovány Tóthovou na Slovensku [65]. Jelikož však neexistuje žádná prospektivní randomizovaná studie, tím méně s náležitou histopatologickou klasifikací MPO-T, bude téma leukemogenicity HU ještě dlouho otevřené. Zatím panuje pouze shoda, že léčba HU vede k indukci s-AML pouze u pacientů předléčených jinými leukemogenními látkami, jako jsou ^{32}P či busulfan [2,62]. Stále ještě však nebyl zcela překonán názor, že HU je „zlatým standardem“ v léčbě MPO-T. Tyto názory však autoři tohoto přehledu považují ve světle shora uvedených prací za potenciálně nebezpečné. Nedávno bylo publikováno, že HU u pacientů s PV ve studii ECLAP (jejímž primárním cílem bylo sledování trombopreventivního účinku nízkých dávek ASA) neindukuje transformaci do s-AML, na rozdíl od ^{32}P , busulfanu

a pipobromanu [66]. Tato velká italská studie na 1 638 pacientech, randomizovaná proti placebu z hlediska použití ASA, bude mít jistě velký kredit; o to nebezpečnější mohou být z ní pocházející misinterpretace výsledků. Chceme již nyní zdůraznit, že z hlediska možnosti sledování vývoje PV do s-AML má extrémně krátký medián sledování kolem 6 let (i s dobou předcházející vstupu pacientů do této studie), tj. méně než poloviční dobu, kterou udává jako kritickou pro vývoj s-AML skupina francouzská [61].

Léčba trombocytemií

Ačkoli jsou komplexní léčebné strategie u různých typů MPO odlišné (což vyplývá z různorodosti laboratorních nálezů, klinických projevů i prognózy), s fenoménem trombocytémie, je-li přítomna, se musíme vyrovnat u každého z nich a z tohoto hlediska jsou léčebné postupy zatím analogické, neboť i rizika trombocytémie jsou analogická (ale možná nikoli stejná), ať již se jedná o ET, IMF, PV, ev. i CML či jiný typ MPO-T.

V léčbě trombocytémie u MPO-T se uplatňují 2 přístupy: jednak tromboreduktivní léčba – tj. léčba zaměřená na snížení počtů krevních destiček, a jednak antiagregační léčba [67], zaměřená na oslabení jejich funkce. *Z tromboreduktivních látek* se nyní preferenčně používá cytostatikum HU (viz výše), dále imunomodulační látka s antiproliferačním účinkem – rekombinantní interferon- α (IFN), a imidochinazolinový derivát anagrelid (ANG), který jako jediný působí selektivně na trombocyty [68]. Vedle toho přicházejí v úvahu některá cytostatika, která však mají svůj zlatý věk za sebou – busulfan a pipobroman. V *antiagregační léčbě* má zcela dominantní postavení ASA v nízkých dávkách asi 40–100 mg denně. Pouze u pacientů s intolerancí či kontraindikací ASA lze zkusit jiný

Tab. 3. Schéma léčebného algoritmu pro MPO-T.

počty trombocytů (10 ⁹ /l)	18–60 [†] let asymptomatictí negativní anamnéza TEN bez přidatné trombofilie	18–60 [†] let symptomatictí pozitivní anamnéza TEN s přidatnou trombofilií	> 60 let
400–1 000	(0) nebo ASA	ANG nebo IFN + ASA	(HU ^Δ) + ASA
600–1 000 progresivní [◇]	ANG nebo IFN + ASA	ANG nebo IFN + ASA	HU + ASA
1 000–1 500	ANG nebo IFN nebo ASA*	ANG nebo IFN (+ ASA*)	HU (+ ASA*)
1 500–2 000	(HU [□] →) ANG nebo IFN	(HU [□] →) ANG nebo IFN	HU
> 2 000	(HU [□] ± TF) → ANG nebo IFN	(HU [□] ± TF) → ANG nebo IFN	HU
> 2 000 + větší krvácení**	HU + TF → ANG nebo IFN	HU + TF → ANG nebo IFN	TF + HU
	standardní riziko	vysoké riziko	

[†] U pacientů, u kterých bylo zahájeno podávání léčby ve věku < 60 let, lze za předpokladu dobré tolerance původní terapie poračovat i > 60 let věku
ASA = kys. acetylsalicylová (event. jiná antiagregační terapie)

ANG = anagrelid HU = hydroxyurea IFN = interferon-α (včetně pegylované formy)

TF = léčebná trombaferéza () = alternativa ke zvážení

(HU^Δ) = zvážení indikace HU podle dalších trombofilních rizik pacienta

(HU[□]) = praktická možnost zahájit trombo redukci HU vzhledem ke snazší a rychlejší titraci vhodné dávky, a pak teprve převedení na indikovanou trvalou terapii ANG/IFN

[◇] = progresivní trombocytémie s nárůstem počtů trombocytů větším než o 200 × 10⁹/l během 2 měs.

* ASA (event. jinou antiagregační terapii) ponecháváme i tehdy, kdy je nutná léčba kardiovaskulárního onemocnění (např. koronární ateroskleróza, cévní onemocnění mozku apod.)

** v případech krvácení je nutno zajistit léčbu na základě obecných principů (např. etamsylát, antifibrinolytika, krevní deriváty, rFVIIa apod., avšak s ohledem na paralelní riziko trombózy)

preparát, např. tiklopidin, klopi-dogrel či indobufen.

Italská hematologická společnost byla první, jež publikovala národní doporučení pro léčbu ET [69]. S řadou doporučení této skupiny souhlasíme, k některým máme výhrady. Proto v Česku nyní připravuje doporučení k léčbě primárních MPO-T pracovní skupina odborníků z několika pracovišť (Brno, Hradec Králové, Praha). Článek s doporučeními byl nedávno publikován [70]. Zde shrneme především hlavní principy (rozebrané podrobněji v předchozích odstavcích), o které se doporučení opírá:

1. Snaha o nozologickou diagnózu MPO-T (odlišení ET, IMF, PV, neklasifikovatelného MPO, CML, ev. MDS s trombocytemií) dle doporučení WHO [5,6,7], ev. „rotterdamských“ kritérií [15], dříve než započneme léčbu. Obě doporučení se opírají o histopatologický ná-

lez v kostní dřeni. Vzhledem k náročnosti posouzení biopsie a nutné zkušenosti patologa doporučujeme diagnostiku soustředit do větších center, druhé čtení by mělo být samozřejmostí. Pouze u „rozléčených“ pacientů, nebo pacientů ve vysokém věku či ve velmi špatném klinickém stavu se smíříme s diagnostikou podle PVSG [4].

2. Primárním úkolem vedení léčby u MPO s trombocytemií (MPO-T) je předcházet možným fatálním komplikacím resp. klinickým projevům onemocnění vůbec. Prvořadým cílem je prevence trombóz a embolizmu.

3. Léčba se musí řídit podle individuální rizikovosti trombózy (ev. krvácení) daného pacienta. Jde tedy o stratifikaci pacientů podle rizika. Rozhodující význam pro trombotické riziko mají:

- a) věk nad 60 let,
- b) předchozí trombóza,
- c) výše trombocytémie, jak vyplývá jednak z Michielsových prací (obr. 2) [20] a jednak z poznatku, že cytoreduktivní léčba pomocí HU skutečně vede ke snížení incidence trombotických komplikací [25],
- d) přidatné rizikové faktory: přítomnost trombofilních markerů (deficitu proteinů C a S, „leidenské“ mutace f. V, mutace protrombinového genu G→A 20210, deficitu antitrombinu), přihlížíme i k ev. zjištění významného zvýšení hladin f. II a VIII nebo snížení f. XII, ke klinicky závažné formě aterosklerózy tepen srdce, mozku a dolních končetin, těžkému diabetu, malignitě, graviditě, hyperkoagulačnímu stavu (při závažné systémové infekci, stavu po závažném chirurgickém výkonu anebo stavu před ním).

4. Léčba nesmí poškodit pacienta; veškerá cytostatika včetně HU mohou být leukemogenní – viz diskuse výše. Tyto léky smíme dlouhodobě používat jen u pacientů, jejichž průměrná expektance dalšího života je přibližně stejná jako medián vzniku s-AML (tj. asi 15 let) [61] – arbitrárně stanovujeme hranici nad 60 let.

Na základě uvedených principů byl zmíněnou českou skupinou vytvořen **algoritmus pro primární léčbu MPO-T** (tab. 4). Algoritmus krom výše uvedených principů dále zohledňuje fakt, zda pacient má symptomy vyplývající z trombocytemie či nikoli. Terapeutickým cílem při použití trombo-reduktivních látek (HU, IFN a ANG) by měla být normalizace počtů trombocytů (pod $400 \times 10^9/l$) u pacientů s přídatnými trombofilními riziky, u pacientů bez těchto rizik se spokojíme s dosažením hodnot trombocytů pod $600 \times 10^9/l$.

Sekundární trombocytemie, jsou-li málo výrazné, dle některých nepotřebují žádnou speciální terapii. Raději však podáváme antiagregační léčbu (typicky nízké dávky ASA), nikdy totiž nemůžeme u pacienta zcela vyloučit další trombofilii, která může znamenat jeho ohrožení arteriální trombózou či venózním tromboembolizmem. Riziko „nadlečení“ ASA pacientů je méně závažné (obvykle drobná, život neohrožující krvácení), než riziko „podléčení“ – tromboembolismus a jeho důsledky.

Literatura

- Schafer AJ. Thrombocytosis. *N Engl J Med* 2004; 350: 1211–1219.
- Barbui T, Finazzi G. Treatment indications and choice of a platelet-lowering agent in essential thrombocythemia. *Curr Hematol Rep* 2003; 2: 248–256.
- Randi ML, Fabris F, Rossi C et al. Sex and age as prognostic factors in essential thrombocythemia. *Haematologica* 1992; 77: 402–404.
- 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.
- Imbert M, Pierre R, Thiele J et al. Essential thrombocythemia. In Jaffe E, Harris N, Stein H et al. WHO Classification of Tumours: Pathology & Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press 2001: 39–41.
- Pierre R, Imbert M, Thiele J et al. Polycythemia vera. In Jaffe E, Harris N, Stein H et al. WHO Classification of Tumours: Pathology & Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press 2001: 32–34.
- Thiele J, Pierre R, Imbert M et al. Chronic idiopathic myelofibrosis. In Jaffe E, Harris N, Stein H et al. WHO Classification of Tumours: Pathology & Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press 2001: 35–38.
- Berlin NI. Diagnosis and classification of the polycythemia. *Semin Hematol* 1975; 12: 339–351.
- Murphy S, Iland H, Rosenthal D et al. Essential thrombocythemia: an interim report from the Polycythemia Vera Study Group. *Semin Hematol* 1986; 23: 177–182.
- Barosi G. Myelofibrosis with myeloid metaplasia: diagnostic definition and prognostic classification for clinical studies and treatment guidelines. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2954–2970.
- Thiele J, Kvasnicka HM, Boeltken B et al. Initial (prefibrotic) stages of idiopathic (primary) myelofibrosis (IMF) – a clinicopathological study. *Leukemia* 1999; 13: 1741–1748.
- Thiele J, Kvasnicka HM. Chronic myeloproliferative disorders with thrombocythemia: a comparative study of two classification systems (PVSG, WHO) on 839 patients. *Ann Hematol* 2003; 82: 148–152.
- Michiels JJ. Diagnostic criteria of the myeloproliferative disorders (MPD): essential thrombocythemia, polycythemia vera and chronic megakaryocytic granulocytic metaplasia. *Neth J Med* 1997; 51: 57–64.
- 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.
- Michiels JJ. Bone marrow histopathology and biological markers as specific clues to the differential diagnosis of essential thrombocythemia, polycythemia vera and prefibrotic or fibrotic agnogenic myeloid metaplasia. *Hematol J* 2004; 5: 93–102.
- 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 thrombocythemia? An analysis of the natural course including early stages. *Br J Haematol* 1998; 100: 15–23.
- Michiels JJ. Platelet-mediated microvascular inflammation and thrombosis in thrombocythemia vera: a distinct aspirin-responsive arterial thrombophilia, which transforms into a bleeding diathesis at increasing platelet counts. *Pathol Biol (Paris)* 2003; 51: 167–175.
- Mitus AJ, Schafer AJ. Thrombocytosis and thrombocythemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1990; 4: 157–178.
- Barbui T, Cortelazzo S, Viero P et al. Thrombohaemorrhagic complications in 101 cases of myeloproliferative disorders: relationship to platelet number and function. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1983; 19: 1593–1599.
- Michiels JJ, Berneman ZN, Schroyens W et al. Pathophysiology and treatment of platelet-mediated microvascular disturbances, major thrombosis and bleeding complications in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Platelets* 2004; 15: 67–84.
- Storen EC, Tefferi A. Long-term use of anagrelide in young patients with essential thrombocythemia. *Blood* 2001; 97: 863–866.
- Regev A, Stark P, Blickstein D et al. Thrombotic complications in essential thrombocythemia with relatively low platelet counts. *Am J Hematol* 1997; 56: 168–172.
- Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G et al. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 1990; 8: 556–562.
- Besses C, Cervantes F, Pereira A et al. Major vascular complications in essential thrombocythemia: a study of the predictive factors in a series of 148 patients. *Leukemia* 1999; 13: 150–154.
- Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M et al. Hydroxyurea for patients with essen-

- tial thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 1132–1136.
26. Bucalossi A, Marotta G, Bigazzi C et al. Reduction of antithrombin III, protein C, and protein S levels and activated protein C resistance in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with thrombosis. *Am J Hematol* 1996; 52: 14–20.
27. Amitrano L, Guardascione MA, Ames PR et al. Thrombophilic genotypes, natural anticoagulants, and plasma homocysteine in myeloproliferative disorders: relationship with splanchnic vein thrombosis and arterial disease. *Am J Hematol* 2003; 72: 75–81.
28. Ruggeri M, Gisslinger H, Tosi A et al. Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol* 2002; 71: 1–6.
29. Gisslinger H, Mannhalter C, Pabinger I et al. High risk of deep vein thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Abstr. 3144. Blood* 2002; 100: 796a.
30. Falanga A. Thrombosis and malignancy: an underestimated problem. *Haematologica* 2003; 88: 607–610.
31. Griesshammer M, Grünwald M, Michiels JJ. Acquired thrombophilia in pregnancy: essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29: 205–212.
32. Gisslinger H, Rodeghiero F, Ruggeri M et al. Homocysteine levels in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 1999; 105: 551–555.
33. Schwarz J, Hrachovinova I, Vorlova Z et al. Thromboembolism in thrombocythemia patients with an additional thrombophilic state. *Abstr. 974. Hematol J* 2004; 5(Suppl. 2): S321.
34. Harrison CN, Donohoe S, Carr P et al. Patients with essential thrombocythemia have an increased prevalence of antiphospholipid antibodies which may be associated with thrombosis. *Thromb Haemost* 2002; 87: 802–807.
35. Musolino C, Alonci A, Bellomo G et al. Myeloproliferative disease: markers of endothelial and platelet status in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Hematology* 2000; 4: 397–402.
36. Musolino C, Calabro L, Bellomo G et al. Soluble angiogenic factors: implications for chronic myeloproliferative disorders. *Am J Hematol* 2002; 69: 159–163.
37. Teofili L, Pierconti F, Di Febo A et al. The expression pattern of c-mpl in megakaryocytes correlates with thrombotic risk in essential thrombocythemia. *Blood* 2002; 100: 714–717.
38. Harrison CN, Gale RE, Machin SJ 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.
39. Schafer AI, Levine MN, Konkle BA et al. Thrombotic disorders: diagnosis and treatment. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2003: 520–539.
40. Tripodi A. Levels of coagulation factors and venous thromboembolism. *Haematologica* 2003; 88: 705–711.
41. Nowak-Gottl U, Duering C, Kempf-Bielack B et al. Thromboembolic diseases in neonates and children. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003; 33: 269–274.
42. Wehmeier A, Sudhoff T, Meierkord F. Relation of platelet abnormalities to thrombosis and hemorrhage in chronic myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23: 391–402.
43. Rao AK. Molecular and biochemical basis for the platelet dysfunction in myeloproliferative disorders. *Semin Hematol* 2004; 41(Suppl. 3): 6–9.
44. Tatewaki W, Shibata A. Acquired von Willebrand disease in patients with chronic myeloproliferative disorders. *Leuk Lymphoma* 1989; 1: 51–57.
45. Dameshek W. Some speculation on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951; 6: 372–375.
46. Yan L, Elkassar N, Gardin C et al. Clonality assays and megakaryocyte culture techniques in essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* 1996; 22(Suppl 1): 31–40.
47. El-Kassar N, Hetet G, Briere J et al. Clonality analysis of hematopoiesis in essential thrombocythemia: advantages of studying T lymphocytes and platelets. *Blood* 1997; 89: 128–134.
48. Zamora L, Espinet B, Florensa L et al. Clonality analysis by HUMARA assay in Spanish females with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Haematologica/Hematol J* 2005; 90: 259–261.
49. Skoda RC. Chronic myeloproliferative disorders: molecular markers and pathogenesis. *Hematol J* 2004; 5(Suppl. 3): S122–S125.
50. Dobo I, Donnard M, Girodon F et al. Standardization and comparison of endogenous erythroid colony assays performed with bone marrow or blood progenitors for the diagnosis of polycythemia vera. *Hematol J* 2004; 5: 161–167.
51. Pettit JE. The non-leukaemic myeloproliferative disorders. In: Hoffbrand AV, Lewis SM. *Postgraduate Haematology*. 2nd ed. London: Heinemann 1981: 577–604.
52. Raposa T, Várkonyi J. The relationship between sister chromatid exchange induction and leukemogenicity of different cytostatics. *Cancer Detect Prev* 1987; 10: 141–151.
53. Mehnert K, Vogel W, Benz R et al. Different effects of mutagens on sister chromatid exchange induction in three Chinese hamster cell lines. *Environ Mutagen* 1984; 6: 573–583.
54. Schroeder AL. Chromosome instability in mutagen sensitive mutants of *Neurospora*. *Curr Genet* 1986; 10: 381–387.
55. Yarbro JW. Mechanism of action of hydroxyurea. *Semin Oncol* 1992; 19(Suppl. 9): 1–10.
56. Seino Y, Nagao M, Yahagi T et al. Mutagenicity of several classes of antitumor agents to *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, and TA92. *Cancer Res* 1978; 38: 2148–2156.
57. Marsteintredet U, Brunborg G, Bjoras M et al. DNA damage induced by 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2[5H]-furanone (MX) in HL-60 cells and purified DNA in vitro. *Mutat Res* 1997; 390: 171–178.
58. Andersson M, Agurell E, Vaghef H et al. Extended-term cultures of human T-lymphocytes and the comet assay: a useful combination when testing for genotoxicity in vitro? *Mutat Res* 2003; 540: 43–55.
59. Nand S, Messmore H, Fisher SG et al. Leukemic transformation in polycythemia vera: analysis of risk factors. *Am J Hematol* 1990; 34: 32–36.
60. Weinfeld A, Swolin B, Westin J. Acute leukaemia after hydroxyurea therapy in polycythemia vera and allied disorders: prospective study of efficacy and leukemogenicity with therapeutic implications. *Eur J Haematol* 1994; 52: 134–139.
61. Najean Y, Rain JD. Treatment of polycythemia vera: the use of hydroxyurea and pipobroman in 292 patients under

the age of 65 years. Blood 1997; 90: 3370–3377.

62. Randi ML, Fabris F, Girolami A. Leukemia and myelodysplasia effect of multiple cytotoxic therapy in essential thrombocythemia. Leuk Lymphoma 2000; 37: 379–385.

63. Nielsen I, Hasselbalch HC. Acute leukemia and myelodysplasia in patients with a Philadelphia chromosome negative chronic myeloproliferative disorder treated with hydroxyurea alone or with hydroxyurea after busulphan. Am J Hematol 2003; 74: 26–31.

64. Sterkers Y, Preudhomme C, Lai JL et al. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: high proportion of cases with 17p deletion. Blood 1998; 91: 616–622.

65. Tothová E, Fričová M, Štecová N et al. Leukemic transformation of polycythemia vera after treatment with hydroxyurea with abnormalities of chromosome 17. Neoplasma 2001; 48: 389–392.

66. Finazzi G, Caruso V, Marchioli R et al. Acute leukemia in polycythemia vera. An analysis of 1,638 patients enrolled in a prospective observational study. Blood 2005; 105(7): 2664–2670.

67. Bultas J, Karetová D. Nové trendy ve farmakoterapii kardiovaskulárních chorob. Vnitř Lék 2004; 50(Suppl 1): S37–58.

68. Griesshammer M, Bangerter M, Grünwald M. Current treatment practice for essential thrombocythaemia in adults. Expert Opin Pharmacother 2001; 2: 385–393.

69. Barbui T, Barosi G, Grossi 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 the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. Haematologica 2004; 89: 215–232.

70. Penka M et al. Doporučený postup diagnostiky a terapie esenciální trombocytemie a trombocytemie provázející jiné myeloproliferativní choroby. Vnitř Lék 2005; 51(6): 741–751.

MUDr. Jiří Schwarz, CSc.

www.uhkt.cz

e-mail: jiri.schwarz@uhkt.cz

Doručeno do redakce: 11. 3. 2005

Přijato k otištění: 11. 3. 2005