

ΔΙΠΛΑ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ
ΕΝΑΣ ΠΡΑΚΤΙΚΟΣ ΑΤΛΑΣ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ

Κατερίνα Μεγαλακάκη

Παθολόγος - Αιματολόγος

Δίπλα στο μικροσκόπιο

Ένας πρακτικός Άτλας Αιματολογίας



ΕΚΔΟΣΕΙΣ
Εθνικού και Καποδιστριακού
Πανεπιστημίου Αθηνών

ΑΘΗΝΑ 2024

Κατερίνα Μεγαλακάκη, Δίπλα στο μικροσκόπιο

© Copyright ΕΚΠΑ, 2024

Α΄ έκδοση: 2024

ISBN: 978-960-466-335-4

Επιμέλεια κειμένων-Διόρθωση: Μαριλένα Κουκούλη

Σχεδίαση εξωφύλλου, σελιδοποίηση:

ΣΥΝΘΕΣΗ, Εργαστήρι γραφικών τεχνών

Κιάφας 3, 106 78 Αθήνα, Τηλ.: 210 381 0502

Εκδόσεις ΕΚΠΑ

Ακαδημίας 52, 5ος όροφος, Αθήνα 10679, Τηλ: 210 368 8186

E-mail: ekdoseis@uoa.gr

52 Akadimias Av., ATHENS, 10679, Greece

Το βιβλίο αυτό αφιερώνεται
στην οικογένειά μου και σε όλους όσους αγαπώ.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος.....	11
Λίγα λόγια από τη συγγραφέα.....	13
Ευχαριστίες	15
Αρκτικόλεξα	16
Κεφάλαιο 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ	19
Κεφάλαιο 2 Η ΕΡΥΘΡΑ ΣΕΙΡΑ	35
Κεφάλαιο 3 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ	41
Κεφάλαιο 4 ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΑΣ ΣΕΙΡΑΣ	53
Κεφάλαιο 5 Η ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ	73
Κεφάλαιο 6 Η ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ	91
Κεφάλαιο 7 ΜΕΓΑΚΑΡΥΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	95
Κεφάλαιο 8 ΤΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ.....	103
Κεφάλαιο 9 ΤΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΑ	111

Κεφάλαιο 10	
ΑΛΛΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ	115
Κεφάλαιο 11	
ΠΕΡΙ ΒΛΑΣΤΩΝ.....	123
Κεφάλαιο 12	
ΟΞΕΙΑ ΜΥΕΛΟΓΕΝΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ.....	129
Κεφάλαιο 13	
ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ.....	157
Κεφάλαιο 14	
ΔΥΣΠΛΑΣΙΑ ΚΑΙ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ.....	163
Κεφάλαιο 15	
ΜΥΕΛΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ	185
Κεφάλαιο 16	
ΛΕΜΦΟΪΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ	205
Κεφάλαιο 17	
ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΜΥΕΛΩΜΑ	237
Κεφάλαιο 18	
ΞΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ	247
Κεφάλαιο 19	
ΠΑΡΑΣΙΤΑ.....	255
Κεφάλαιο 20	
ΠΑΓΙΔΕΣ.....	265
– Εχινοκύτταρα (burr cells) και ακανθοκύτταρα (spur cells)	266
– Ακανθοκύτταρα και σχιστοκύτταρα	266
– Σχιστοκύτταρα, σπασμένα ερυθρά, θραύσματα ερυθρών	267
– Φυσαλλιδοκύτταρα και σφαιροκύτταρα.....	267
– Ελλειπτοκύτταρα και δρεπανοκύτταρα	268
– Σφαιροκύτταρα, στοχοκύτταρα και artifact.....	268
– Rouleaux και συγκολλήσεις ερυθρών	269
– Βασεόφιλη στίξη, σωμάτια Howell-Jolly και σωμάτια Pappenheimer.....	269

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

– Σωματία Howell-Jolly, αιμοπετάλια πάνω στα ερυθρά, παράσιτα, σκουπιδάκια και artifact	270
– Σκουπιδάκια και σωροί αιμοπεταλίων	271
– Εμπύρνηνα ερυθρά και λεμφοκύτταρα στο περιφερικό αίμα.....	271
– Ερυθροβλάστες, λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα στον μυελό	272
– Μεγαλοβλαστοειδής και μεγαλοβλαστική ωρίμαση.....	273
– Ζωηρά βασεόφιλα κοκκία στα κοκκιοκύτταρα: Δυσπλαστική πρωτογενής ή τοξική κοκκίωση, προπρωσινοφιλικά κοκκία, βασεόφιλα κύτταρα ή Chediak-Higashi	274
– Βασεόφιλα ή σιτευτικά κύτταρα (μαστοκύτταρα).....	275
– Μονοκύτταρα και κοκκιοκύτταρα σε δυσπλασία - μυελοκύτταρα και ψευδο-Pelger-Huët	276
– Ραβδοπύρνηνο και μονοκύτταρο.....	277
– Μονοκύτταρα, μεγάλα λεμφοκύτταρα και άτυπα λεμφοκύτταρα.....	277
– Φυσιολογικά και παθολογικά, ώριμα και άωρα λεμφοκύτταρα	279
– Λεμφωματικά λεμφοκύτταρα	281
– Πλασματοκύτταρο, πλασματοκυτταροειδές λεμφοκύτταρο ή κύτταρο Türk.....	283
– Λεμφοκύτταρα με εντομή.....	284
– Λαχνωτό, τριχωτό και artifact	285
– Μονοκύτταρα και λεμφωματικά κύτταρα	286
– Επιθετικά λεμφώματα, κύτταρα Burkitt και λεμφοβλάστες	287
– Μυελοβλάστες, λεμφοβλάστες ή άλλα βλαστικά κύτταρα	288
– Όριμα δίλοβα κύτταρα	290
– Μονοβλάστη, προμονοκύτταρο ή νεαρό μονοκύτταρο	291
– Μονοκύτταρα, μυελοβλάστες και προμυελοκύτταρα στη μικροκοκκιώδη ΟΠΛ	292
– Μικρά μεγακαρυοκύτταρα, μεγακαρυοκύτταρα «νάνοι» και μικρομεγακαρυοκύτταρα.....	294
– Μονόλοβο ΜΓΚ, πλασματοκύτταρο ή οστεοβλάστη.....	296
– Μεγακαρυοκύτταρο ή κύτταρο Gaucher	297
– Εμπεριπόληση ή αιμοφαγοκυττάρωση.....	297
– Αθροίσεις κυττάρων στον μυελό.....	298
– Διπύρνηνα και πολυπύρνηνα κύτταρα στον μυελό: Δυσπλαστικά ΜΓΚ, αθροίσεις πλασματοκυττάρων, πολυπύρνες ερυθροβλάστες, συγκύτια καρκινικών κυττάρων, οστεοκλάστες, συρρέουσες οστεοβλάστες	299
– Αιμοπετάλια ή λειψμάνιες (μυελός)	301
– Μίτωση ή απόπτωση	302
Βιβλιογραφία.....	303

Πρόλογος

Όταν η αγαπητή μου συνάδελφος Κατερίνα Μεγαλακάκη, μου ζήτησε να προλογίσω τον Άτλαντα Αιματολογίας που με κόπο ετοίμασε, το δέχτηκα με χαρά, λόγω της βαθιάς εκτίμησης που πάντα έτρεφα στο πρόσωπό της. Όταν όμως διάβασα αποσπάσματα από το «Δίπλα στο Μικροσκόπιο» –αυτός είναι ο τίτλος του βιβλίου– στη χαρά μου προστέθηκε και η υποχρέωση να δείξω το πόσο πολύτιμη, από εκπαιδευτική άποψη, είναι η κατάθεση της εμπειρίας μιας ιατρού που έχει αντιμετωπίσει με σεβασμό και συνέπεια την καθημερινή της δουλειά. Πιστεύω ακράδαντα πως, βασικοί πυλώνες της σωστής αντιμετώπισης των ασθενών μας, παραμένουν το ιστορικό, η αντικειμενική εξέταση και το μικροσκόπιο. Και αυτό ασφαλώς ισχύει για όσους Αιματολόγους έχουν κλινικοεργαστηριακή εκπαίδευση, όπως ευτυχώς συμβαίνει στη χώρα μας, αλλά και σε πολλές άλλες ευρωπαϊκές χώρες.

Είναι πολλά τα παραδείγματα των λαθών που έχουν γίνει όταν τους βασικούς αυτούς πυλώνες, υποκαθιστούν οι αναρίθμητες και πολύτιμες, κατά τα λοιπά, νέες τεχνικές. Αλλά και πέρα από αυτό, αρκεί να αναλογιστεί κανείς τί θα γινόταν αν, η αρχική αντιμετώπιση της θρομβωτικής θρομβοπενικής πορφύρας, βασιζόταν στα επίπεδα του ADAMTS13 και η αρχική αντιμετώπιση της οξείας προμυελοκυτταρικής αναιμίας στα γονιδιακά ευρήματα. Και υπάρχουν αναρίθμητα τέτοια παραδείγματα. Αξίζει ακόμη να επισημανθεί το πόσο συχνά, στο εξαιρετικά έγκυρο περιοδικό New England Journal of Medicine, η μελέτη του μικροσκοπίου χρησιμοποιείται στη διαγνωστική διαδικασία.

Στην ελληνική βιβλιογραφία, οι Άτλαντες Αιματολογίας είναι λίγοι και αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, το έργο αυτό απαιτεί κόπο και πολύχρονη ενασχόληση για την συλλογή του υλικού. Και φυσικά προϋποθέτει ότι, ο συγγραφέας έχει αντιληφθεί το μέγεθος της βοήθειας που μας παρέχει το μικροσκόπιο. Ο γενικός άτλαντας Αιματολογίας του Γιάννη Μελέτη και ο άτλαντας του Κώστα Λιάπη, που εστιάζει στα παρασιτικά νοσήματα, έχουν σταθεί πολύτιμοι σύμβουλοι σε πολλούς συναδέλφους. Η προσθήκη ενός ακόμη άτλαντα είναι χρήσιμη, διότι, οι εικόνες και στις φυσιολογικές, αλλά και στις παθολογικές καταστάσεις, έχουν τεράστια ποικιλία. Επιπροσθέτως, στην προκειμένη περίπτωση, το συνοδευτικό κείμενο πε-

ριλαμβάνει και τον προβληματισμό που συχνά αναδεικνύεται κατά τη μελέτη των επιχρισμάτων.

Το βιβλίο είναι γραμμένο με έναν εντυπωσιακά ζωντανό, γλαφυρό και συνάμα επιστημονικό τρόπο. Πιστεύω ότι θα αποτελέσει πολύτιμο εκπαιδευτικό και επιστημονικό βοήθημα για όλους τους συναδέλφους, δίνοντας ταυτόχρονα και μια πιο πολύχρωμη και ουσιαστική διάσταση στην καθημερινότητά μας.

Νικόλαος Α. Χαρχαλάκης

Αιματολόγος

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2024

Λίγα λόγια από τη συγγραφέα

Όλοι οι κλινικοί γιατροί και ειδικά οι Αιματολόγοι, γνωρίζουμε ότι, υπό την πίεση της καθημερινότητας και μάλιστα τώρα που φθάσαμε στην εποχή της Ιατρικής Ακριβείας (Precision Medicine), αφιερώνουμε όλο και λιγότερο χρόνο στην παρατήρηση των κυττάρων, τη Μορφολογία (το ίδιο συμβαίνει και με την φυσική εξέταση). Αυτή είναι μια λυπηρή διαπίστωση. Το «πλακάκι» είναι σαν το καλό λογοτεχνικό βιβλίο: όσο περισσότερο ασχολείσαι μαζί του, τόσα περισσότερα όμορφα και χρήσιμα στοιχεία ανακαλύπτεις. Εξ άλλου, στα άρθρα ανασκόπησης της 5ης έκδοσης της ταξινόμησης των όγκων του αιμοποιητικού ιστού του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας WHO-ΗΑΕΜ5 (2022)*, η λέξη «μορφολογία» και τα παράγωγά της, αναφέρονται 22 φορές για τα μυελικά και 30 φορές για τα λεμφικά νεοπλάσματα. Επομένως, κατά τη γνώμη μου η αξία της μορφολογίας παραμένει σταθερή και το μικροσκόπιο θα αποτελεί απαραίτητο εργαλείο της δουλειάς, ακόμη και όταν γενικευθεί η χρήση της Τεχνητής Νοημοσύνης στα Εργαστήρια Μορφολογίας.

Όμως, όποιος κάθεται στον πάγκο του μικροσκοπίου και σπαζοκεφαλιάζει αναζητώντας την ταυτότητα των κυττάρων, διαδικασία όχι πάντοτε εύκολη ακόμα και για τους πλέον έμπειρους παρατηρητές, ανακαλύπτει ότι, τα κύτταρα δεν κρατάνε ταμπελάκια με το όνομά τους. Και δεν είναι λίγες οι φορές που δύο, τρεις ή και περισσότεροι συνάδελφοι μαζευόμαστε γύρω από μια δύσκολη περίπτωση, εκφράζοντας ο καθένας την άποψή του, αναμένοντας παράλληλα με έντονο ενδιαφέρον το πόρισμα των άλλων εργαστηρίων, ώστε να καταλήξουμε στην τελική διάγνωση.

Κατά τη μακροχρόνια, επίπονη και συχνά ψυχοφθόρα ενασχόλησή μου με τα κακοήθη νοσήματα του αιμοποιητικού, είχα την ευκαιρία να δω πολλές ενδιαφέρουσες και διδακτικές εικόνες στο μικροσκόπιο, ελάχιστες από τις οποίες κατέγραψα με τη φωτογραφική μηχανή, εξ αιτίας της απαιτητικής καθημερινότητας. Ωστόσο, μια

* Leukemia. 2022 Jul; 36(7): The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms.

The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms.

αρχική «μαγιά», μια σειρά από ενδιαφέρουσες εικόνες, υπήρξε. Και αναλογιζόμενη τις δυσκολίες που αντιμετωπίζει οποιοσδήποτε καταπιάνεται με τη μελέτη των επιχρισμάτων περιφερικού αίματος και μυελού, δηλαδή με το «πλακάκι», αποφάσισα, μετά τη συνταξιοδότησή μου, να μοιραστώ την εμπειρία μου και να εκπονήσω το παρόν βιβλίο.

Το «Δίπλα στο Μικροσκόπιο» είναι ένας πρακτικός Άτλας Αιματολογίας, ο οποίος δεν παραθέτει απλώς τα κύτταρα –υπάρχουν πολλά παρόμοια και πολύ καλύτερα συγγράμματα– αλλά εστιάζει κυρίως στις διαγνωστικές δυσκολίες, όπως τις συναντάμε στην καθημερινότητα. Απευθύνεται κυρίως σε άτομα που έρχονται για πρώτη φορά σε επαφή με τον πολύχρωμο και συναρπαστικό κόσμο του μικροσκοπίου, αλλά φιλοδοξεί επίσης, να αποτελέσει βοήθημα και για πιο έμπειρους παρατηρητές, που κατά τη διάρκεια της καθημερινής δουλειάς σκοντάφτουν πάνω σε παράξενα ή δύσκολο να χαρακτηρισθούν κύτταρα. Το εάν έχει πετύχει τον σκοπό του, θα κριθεί από τους αγαπητούς συναδέλφους.

Κατερίνα Μεγαλακάκη
Παθολόγος – Αιματολόγος
Αθήνα, Σεπτέμβριος 2024

— Κάποιες επισημάνσεις

Όσοι καθόμαστε στο μικροσκόπιο για να μελετήσουμε τα κύτταρα του αίματος, γνωρίζουμε ότι, στην καθ' ημέρα πράξη, οι εικόνες που βλέπουμε, απέχουν πολύ από τις εικόνες που δείχνουν τα βιβλία Αιματολογίας, οι οποίες συνήθως έχουν υποστεί επεξεργασία, ώστε να τονιστούν οι σημαντικές λεπτομέρειες και να γίνουν πιο διδακτικές. Στο βιβλίο αυτό, οι φωτογραφίες είναι αυτούσιες, χωρίς τροποποιήσεις (εκτός από ελάχιστες περιπτώσεις) και εμφανίζονται όπως βλέπουμε τα επιχρίσματα στο μικροσκόπιο, προκειμένου να αντικατοπτρίζεται με τον καλύτερο δυνατό τρόπο, η πραγματικότητα.

Όλες οι εικόνες του βιβλίου προέρχονται από περιπτώσεις ασθενών με σαφή και εμπειριστατωμένη διάγνωση, αλλά επειδή η φωτογραφική μηχανή αδυνατεί να αποτυπώσει ό,τι και το ανθρώπινο μάτι και επειδή η ερμηνεία των εικόνων είναι υποκειμενική, μπορεί να υπάρξουν αντιρρήσεις ή και αμφισβητήσεις για ορισμένες από αυτές.

Στην περιγραφή των κυττάρων χρησιμοποιείται, χάριν ζωντάνιας, η τρέχουσα ανεπίσημη και ενίοτε αδόκιμη, γλώσσα.

Σε πολλές περιπτώσεις, χρησιμοποιούνται ορισμένοι ευρέως αποδεκτοί και άκρως λειτουργικοί αγγλικοί όροι. Επίσης, μαζί με την ελληνική ορολογία, συχνά παρατίθεται η αντίστοιχη αγγλική μετάφραση.

Στο κείμενο, ακολουθώντας το Μέγα Λεξικόν Δ. Δημητράκου, έκδοση 1964, χρησιμοποιούνται οι λέξεις «ωρίμαση» και όχι «ωρίμανση» καθώς και το θηλυκό «η βλάστη» και όχι «ο βλάστης».

Ευχαριστίες

Το βιβλίο αυτό είναι ο απόηχος των συζητήσεων και η αντανάκλαση του ενθουσιασμού και της φιλομάθειας των νεαρών γιατρών που κάθισαν δίπλα μου στο μικροσκόπιο, κατά τη μακρόχρονη θητεία μου στην Αιματολογική Κλινική του Νοσοκομείου «Μεταξά». Αυτοί είναι που με προέτρεψαν να ασχοληθώ συστηματικά με τις εικόνες του μικροσκοπίου και να καταγράψω τους προβληματισμούς τους μαζί με τα, ενίοτε αστεία, σχόλια και παρομοιώσεις τους και για αυτό τους ευχαριστώ θερμά.

Το Κεφάλαιο «Παράσιτα» δεν θα μπορούσε να περιληφθεί στο παρόν βιβλίο, εάν δεν υπήρχε η ουσιώδης συνδρομή του κ. Κώστα Λιάπη, Αναπληρωτή Καθηγητή Αιματολογίας του Δημοκριτείου Πανεπιστημίου Θράκης, τον οποίον ευχαριστώ ιδιαίτερος καθώς και την Αιματολογική Εταιρεία, για την παραχώρηση των σχετικών φωτογραφιών, που έχουν δημοσιευθεί στο ειδικό αφιέρωμα του περιοδικού *ΗΑΕΜΑ*.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στη μέχρι πρότινος Συντονίστρια Διευθύντρια του Αιματολογικού Εργαστηρίου του Νοσοκομείου «Γεννηματάς» κ. Έλλη Γρίβα, η οποία, μου προσέφερε απλόχερα τον τεχνικό εξοπλισμό του Εργαστηρίου, το αρχείο αιματολογικών παθήσεων και κυρίως τις γνώσεις της. Στο Εργαστήριο αυτό έλυσα πολλές απορίες μου και εμπλούτισα ουσιωδώς τη συλλογή των φωτογραφιών, πάντα με την πρόθυμη συνδρομή της κ. Γρίβα, αλλά και του υπεύθυνου για το πλούσιο φωτογραφικό αρχείο κ. Γιώργου Ανδρούτσου, που αποδείχθηκε πολύτιμος αρωγός στην προσπάθειά μου. Εκεί βρήκα επίσης, την καλή μου φίλη κ. Ιουλία Χαλιορή, Διευθύντρια Αιματολόγο, η οποία στάθηκε πλάι μου στην, ενίοτε κοπιώδη, αναζήτηση ορισμένων ειδικών περιπτώσεων, αλλά και στη γενικότερη αξιολόγηση των εικόνων και για αυτό την ευχαριστώ ιδιαίτερος.

Θα ήθελα επίσης, να αναφέρω και να ευχαριστήσω όλους τους φίλους/συναδέλφους/συνεργάτες, που με κέφι με βοήθησαν να συμπληρώσω τη συλλογή των περιπτώσεων: Τους νεαρούς ειδικευόμενους της Κλινικής μας Σταυρούλα Δούνα και Κωνσταντίνο Γιάννακα, τις κυρίες Μαρία Δημοπούλου και Ντίνα Ρέππα από το

Τμήμα της Μεσογειακής Αναιμίας του Λαϊκού Νοσοκομείου, τον κ. Βασίλη Παρδάλη από το «Ερρίκος Ντυνάν», την κ. Αναστασία Κούκη από το Εργαστήριο της «Ευρωκλινικής» και την κ. Ιωάννα Ιακωβίδου για την παραχώρηση της φωτογραφίας του λεμφώματος Hodgkin από το βιβλίο της «Λεμφογενείς Νεοπλασίες».

Ευχαριστώ επίσης την κ. Λένα Πεδιώτη, η οποία ανέλαβε το τεχνικό μέρος της υλοποίησης του παρόντος βιβλίου, για την άριστη συνεργασία, τον επαγγελματισμό της αλλά και την απεριόριστη υπομονή κατά τις ατελείωτες ώρες ανασκόπησης, ανακατάταξης και αναδιάρθρωσης της ύλης του.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κ. Σέργιο Θεοδωρίδη, υπεύθυνο των εκδόσεων ΕΚΠΑ, για τη στήριξη και ενθάρρυνσή του για την έκδοση του παρόντος βιβλίου.

Όλη αυτή η προσπάθεια δεν θα ήταν εφικτή χωρίς την υποστήριξη των συναδέλφων μου στην Αιματολογική Κλινική του Νοσοκομείου «Μεταξά» και εάν δεν είχα στη διάθεσή μου τα εξαίρετα επιχρίσματα από το Αιματολογικό Εργαστήριο του Νοσοκομείου, το προσωπικό του οποίου ευχαριστώ θερμά, τόσο για την τεχνικά άρτια δουλειά, όσο και για την προθυμία και το πνεύμα συνεργασίας τους.

— Πηγές φωτογραφιών

Οι περισσότερες περιπτώσεις προέρχονται από την Αιματολογική κλινική του Νοσοκομείου «Μεταξά». Όποιες περιπτώσεις ή φωτογραφίες παραχωρήθηκαν ευγενώς από άλλους συναδέλφους, επισημαίνονται με σχετική αναφορά.

Το μεγαλύτερο μέρος των φωτογραφιών του Κεφαλαίου «Παράσιτα», έχουν δημοσιευθεί στο περιοδικό *ΗΑΕΜΑ* και παραχωρήθηκαν ευγενώς από την Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία.

Αρκτικόλεξα

ALAL	Acute leukaemia of ambiguous lineage
ALL	Acute lymphoblastic leukaemia
AML	Acute myeloid leukaemia
AMML	Acute myelomonocytic leukaemia
AMoL	Acute monocytic leukaemia
ANAE	α naphthyl acetate esterase
APL	Acute promyelocytic leukaemia
BL	Burkitt lymphoma
CDA	Congenital dyserythropoietic anemia
CLL	Chronic lymphocytic leukaemia
CNL	Chronic neutrophilic leukaemia
DLBCL	Diffuse large B cell lymphoma
ELN	European LeukemiaNet
ET	Essential thrombocythemia
FL	Follicular lymphoma
G6PD	Glucose-6-phosphate dehydrogenase
HCL	Hairy cell leukaemia
HEMPAS	Hereditary Erythroblastic Multinuclearity with a Positive Acidified Serum lysis test
HL	Hodgkin lymphoma
ICSH	International Council for Standardization in Haematology
ITP	Immune thrombocytopenia
LAP	Leucocyte alkaline phosphatase
LGL	Large granular lymphocyte
MBL	Monoclonal B lymphocytosis
MCH	Mean corpuscular hemoglobin
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration
MCL	Mantle cell lymphoma
MCV	Mean corpuscular volume
MF	Myelofibrosis
MGG	May-Grunwald-Giemsa
MPAL	Mixed phenotype acute leukaemia

MPO/PER	Peroxidase-myeloperoxidase
N:C	Nuclear to cytoplasmic ratio
NAP	Neutrophil alkaline phosphatase
NHL	Non-Hodgkin Lymphoma
PAS	Periodic acid-Schiff
PK	Pyruvate kinase
PRV	Polycythemia rubra vera
RDW	Red cell distribution width
SLL	Small lymphocytic lymphoma
SM-AHN	Systemic mastocytosis associated with haematologic neoplasm
SS	Sézary syndrome
WHO	World Health Organization
AAA	Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
ΑΠ	Αληθής πολυκυτταραιμία
ΔΕΚ	Δικτυοερυθροκύτταρα
ΔΛΜΒΛ	Διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β λεμφοκύτταρα
ΙΘ	Ιδιοπαθής θρομβοκυτταραιμία
ΙΘΠ	Ιδιοπαθής θρομβοπενία
Κ.ο.π.	Κατά οπτικό πεδίο
ΜΔΣ	Μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο
ΜΓΚ	Μεγακαρουκύτταρο
ΜΥΝ	Μυελοϋπερπλαστικό νεόπλασμα
ΟΛΛ	Οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία
ΟΜΛ	Οξεία μυελογενής λευχαιμία
ΟΜΜΛ	Οξεία μυελομονοκυτταρική λευχαιμία
ΟΜοΛ	Οξεία μονοκυτταρική λευχαιμία
ΟΠΛ	Οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία
Π:Κ	Λόγος πυρήνα προς κυτταρόπλασμα
ΠΛ	Πλασματοκυτταρική λευχαιμία
ΠΜ	Πολλαπλό μύελωμα
ΣΔΑ	Συγγενής δυσερυθροποιητική αναιμία
ΧΛΛ	Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία
ΧΜΛ	Χρόνια μυελογενής λευχαιμία
ΧΜΜΛ	Χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία

Κεφάλαιο 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Όλα τα κύτταρα του αίματος προέρχονται από το κοινό αρχέγονο κύτταρο (pluripotent stem cell). Από τον δεσμευμένο (committed) πρόγονο CFU-GEMM εκπορεύονται η ερυθρά, η κοκκιοκυτταρική (ή αλλιώς μυελική), η μονοκυτταρική σειρά (απ' όπου προέρχονται τα μακροφάγα και οι οστεοκλάστες), τα μεγακαρυοκύτταρα που παράγουν τα αιμοπετάλια καθώς και τα σιτευτικά κύτταρα (κοινώς μαστοκύτταρα). Τα λεμφικά κύτταρα, δηλαδή τα Β και Τ λεμφοκύτταρα και τα ΝΚ κύτταρα, προέρχονται από το CFU-L. Επίσης, στον μυελό συναντάμε τα κύτταρα του στρώματος, οστεοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, κύτταρα του δικτύου και λιποκύτταρα. Η μελέτη όλων αυτών βασίζεται κυρίως στη μορφολογική εκτίμηση, ενώ ο ανοσοφαινότυπος, η κυτταροχημεία σπανιότερα και ακόμη πιο σπάνια η ανοσοκυτταροχημεία (ΑΡΑΑΡ), συνήθως επιβεβαιώνουν –και ενίοτε ανατρέπουν– τα συμπεράσματα της μορφολογικής εκτίμησης. Αυτό το βιβλίο ασχολείται αποκλειστικά με τη μορφολογία των κυττάρων στα επιχρίσματα αίματος και μυελού, δηλαδή με το «πλακάκι».

Για να μπορούμε να μελετήσουμε το πλακάκι, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η σταγόνα του αίματος, περιφερικού ή μυελού, να έχει στρωθεί σωστά στην αντικειμενοφόρο πλάκα, να έχει βαφτεί ικανοποιητικά και να επιλεγούν πεδία κατάλληλα για μικροσκόπηση.

— Επίστρωση

Η επίστρωση είναι πολύ σημαντική. Ένα κακοστρωμένο πλακάκι μπορεί να οδηγήσει σε λάθος συμπεράσματα. Συνήθως, τοποθετούμε μια σταγόνα αίματος ή μυελού στην άκρη του πλακιδίου και τη σέρνουμε υπό γωνία 45 μοιρών με ένα άλλο πλακίδιο ή με μια καλυπτρίδα. Σε ένα καλοστρωμένο πλακάκι περιφερικού αίματος το παρασκευάσμα καταλήγει σε λεπτές «ουρίτσες», δηλαδή δεν κόβεται απότομα. Τα παρασκευάσματα του μυελού, τα κάνουμε όπως και στο περιφερικό αίμα, αλλά πριν στρώσουμε τη σταγόνα, περιμένουμε λίγο να απλωθεί σε όλο το μήκος της ακμής του «στρωτήρα». Άλλος τρόπος είναι να πατικώσουμε ελαφρά τη σταγόνα μυελού με ένα δεύτερο καθαρό πλακάκι και να σέρνουμε απαλά το ένα

πάνω στο άλλο, να τα κάνουμε «συρταρωτά». Σκοπός είναι να υπάρχουν περιοχές όχι πολύ πυκνές, με διάσπαρτα θρομβία, ώστε να ξεχωρίζουν τα κύτταρα μεταξύ τους. Ο άπειρος χειριστής αρχικά δυσκολεύεται να στρώσει σωστά, αλλά είναι θέμα χρόνου: όσο περισσότερα πλακάκια στρώνουμε, τόσο καλύτερα αποτελέσματα έχουμε και μια ημέρα, ξαφνικά, το χέρι μας δημιουργεί θαύματα, τέλεια παρασκευάσματα.

— Βάψιμο

Σε ένα σωστό πλακάκι, τα ερυθρά έχουν χρώμα ροζέ έως σομόν (το χρώμα του σολομού – saumon) με την κεντρική τους περιοχή σχεδόν διάφανη. Τα λευκά αιμοσφαίρια, που πρέπει να είναι ομοιόμορφα κατανεμημένα, έχουν πυρήνες με μπλε-μωβ χρώμα, τα κοκκία των ουδετεροφίλων είναι ιώδη (μωβ) και των πωσινοφίλων πορτοκαλοκόκκινα. Τα διάκενα μεταξύ των κυττάρων είναι καθαρά, χωρίς σκουπίδια ή συσσωμάτια χρωστικής.

Σήμερα, στα περισσότερα Εργαστήρια, το βάψιμο των κυττάρων και η μονιμοποίηση γίνονται αυτοματοποιημένα και δεν υπάρχουν προβλήματα, εκτός εάν η χρωστική είναι πολυκαιρισμένη. Τέλος, αν θέλουμε να διατηρηθεί ένα επίχρισμα αναλλοίωτο για μεγάλο χρονικό διάστημα, πρέπει να καλύπτεται με καλυπτρίδα. Αν δεν υπάρχει αυτή η δυνατότητα, καλό είναι αφού τελειώσουμε τη μικροσκόπηση, να αφαιρούμε το κεδρέλαιο σκουπίζοντας το πλακάκι απαλά.

— Επιλογή πεδίου

Στο περιφερικό αίμα, πρέπει να αποφεύγουμε, τόσο τα πυκνά πεδία, όσο και τα ακραία τμήματα του πλακιδίου. Στα πυκνά πεδία, τα κύτταρα είναι «τσαλακωμένα» και χάνουμε τις κυτταρικές λεπτομέρειες, ενώ στην άκρη, τα κύτταρα απλώνουν και ειδικά τα λευκά αιμοσφαίρια, μπορεί να φαίνονται σαν άωρα κύτταρα. Η πιο κατάλληλη περιοχή είναι εκεί όπου τα ερυθρά αιμοσφαίρια μόλις αγγίζουν το ένα το άλλο. Ομοίως και στον μυελό δεν πρέπει να μικροσκοπούμε στα πυκνά πεδία, αλλά όπου τα κύτταρα αραιώνουν σε πληθυσμό και διακρίνονται τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους.

— Το μικροσκόπιο

Σε κάθε μικροσκόπιο, οι προσοφθάλμιοι φακοί έχουν μια σταθερή μεγέθυνση 5-20 φορές (συνήθως 10×), ενώ οι φακοί προσφέρουν περισσότερες επιλογές. Για τα αιματολογικά παρασκευάσματα χρησιμοποιούμε τη μικρή (10×), τη μεσαία (40× ή 50×) και τη μεγάλη μεγέθυνση (100×), που απαιτεί καταδυτικό φακό και το ειδικό

λάδι, το κεδρέλαιο. Όταν οι προσοφθάλμιοι είναι 10x και βλέπουμε με τον μεσαίο φακό 50x, τα κύτταρα μεγεθύνονται κατά 500 φορές. Οι περισσότερες φωτογραφίες αυτού του βιβλίου είναι 100x, 500x και 1.000x και ελάχιστες 2.000x.

— Εξετάζοντας το περιφερικό αίμα

Πριν ακόμα βάλουμε το πλακάκι στο μικροσκόπιο, ελέγχουμε τα στοιχεία τού εξεταζόμενου και ρίχνουμε μια γρήγορη ματιά: φαίνεται καλά στρωμένο; βαμμένο; (Όταν υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση πρωτεϊνών στο αίμα, το πλακάκι φαίνεται πιο βαθύ μπλε σε σχέση με τα άλλα πλακάκια της ίδιας ημέρας).

Με τη μικρή (10x) ή και τη μεσαία μεγέθυνση (40x ή 50x) κάνουμε μια γρήγορη σάρωση: τα κύτταρα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένα; μήπως υπάρχει ινική, συγκρίματα (clumps), rouleaux ή συγκολλήσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων; τα αιμοπετάλια είναι διάσπαρτα ή υπάρχουν σωροί; Στη συνέχεια επιλέγουμε μια κατάλληλη περιοχή, όχι πολύ πυκνή ούτε και στην άκρη-άκρη του παρασκευάσματος και αρχίζουμε τη μελέτη. Με τη μεσαία μεγέθυνση (40x-50x) κάνουμε αδρές παρατηρήσεις για τη μορφολογία των κυττάρων και συνήθως τη χρησιμοποιούμε σε συνδυασμό με τη μεγάλη μεγέθυνση, για να υπολογίσουμε τον αριθμό και το είδος των λευκών.

Με τον καταδυτικό φακό (100x) και μια σταγόνα κεδρέλαιο μελετούμε τις κυτταρικές λεπτομέρειες. Επειδή συνήθως οι «σταρ» του επιχρίσματος είναι τα λευκά αιμοσφαίρια και ξεχνάμε τους «κομπάρσους», είναι καλό να συνηθίσουμε μια συγκεκριμένη διαδικασία, π.χ. παρατηρώ πρώτα τα ερυθρά (μέγεθος, σχήμα, έγκλειστα), συνεχίζω με τα αιμοπετάλια (μέγεθος, κοκκίωση, κατανομή) και καταλήγω στα λευκά. Αναγνωρίζουμε τα είδη τους, μελετάμε την ποιότητά τους και υπολογίζουμε τον διαφορικό τύπο, δηλαδή την ποσοστιαία σχέση τους. Η μέτρηση πρέπει να γίνεται σε 100-200 κύτταρα και να ακολουθεί καθορισμένη διαδρομή (ζιγκ-ζαγκ ή σαν μαϊάνδρος), ώστε να καταγράφονται όλα τα κύτταρα που συναντά το μάτι (συντά ο παρατηρητής υποσυνείδητα αγνοεί, «πηδάει» τα άγνωστα κύτταρα). Αν δεν υπάρχουν «άγνωστα κύτταρα», είναι πιο βολικό και εξίσου αξιόπιστο, ο διαφορικός τύπος να γίνεται με τη μεσαία μεγέθυνση. Πάντως, σε δύσκολα πλακάκια, δεν πρέπει να διστάζουμε να μηδενίζουμε τον μετρητή λευκοκυτταρικού τύπου –κοινώς «χτυπητήρι»– και να ξεκινάμε την καταμέτρηση των κυττάρων από την αρχή. Τελειώνοντας σκουπίζουμε το κεδρέλαιο, γιατί αν μείνει πάνω σε πλακάκια χωρίς καλυπτρίδα, μετά από κάποιο διάστημα καταστρέφονται τα κύτταρα.

Συμβουλή. Αν δεν μπορείτε να εστιάσετε ένα πλακάκι με τη μεσαία ή τη μεγάλη μεγέθυνση, αναποδογυρίστε το! Μπορεί η ετικέτα με το όνομα να έχει μπει στη λάθος όψη.

Αδρός υπολογισμός του αριθμού των λευκών και αιμοπεταλίων

Με τα σύγχρονα μηχανήματα δεν υπάρχει λόγος να υπολογίζουμε τον αριθμό των λευκών, αλλά είναι χρήσιμο να το γνωρίζει κανείς. Υπό τη μεγέθυνση 50x σε ένα καλοστρωμένο πλακάκι, κάθε λευκό αιμοσφαίριο αντιστοιχεί σε 2.000 (ή κατ' άλλους σε 3.000 κύτταρα/mm³). Αν για παράδειγμα, βρίσκουμε κατά μέσο όρο 3 λευκά σε κάθε πεδίο, αυτό αντιστοιχεί σε 6.000 λευκά/mm³, αν βρίσκουμε 5 αυτά αντιστοιχούν σε 10.000/mm³ κ.ο.κ..

Για τον αδρό υπολογισμό του αριθμού των αιμοπεταλίων υπάρχουν πολλές μέθοδοι, αλλά δύο είναι οι επικρατέστερες. Η πιο διαδεδομένη είναι με την απλή μέθοδο των τριών: μετράμε τον αριθμό των αιμοπεταλίων σε 1.000 ερυθρά και τον ανάγουμε στον συνολικό αριθμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων που δίνει ο αναλυτής. Παράδειγμα: σε άτομο με 4.500.000 ερυθρά βρίσκουμε μέσα σε 1.000 ερυθρά 20 αιμοπετάλια. Επομένως: $4.500.000 \times 20 = 90.000.000 / 1.000 = 90.000$. Πώς βρίσκουμε τα 1.000 ερυθρά; Και αυτό είναι θέμα εμπειρίας και εξάσκησης. Συνήθως επιλέγουμε 10 πεδία με το καθένα να περιέχει από 100 ερυθρά, είτε πιο βολικό και πιο ρεαλιστικό, 4 πεδία των 250 ερυθρών έκαστο.

Μια άλλη, ακόμα πιο αδρή μέθοδος, είναι να μετράμε με τον καταδυτικό φακό (100x) τα αιμοπετάλια σε 10 πεδία, βγάζουμε τον μέσο όρο και τον πολλαπλασιάζουμε επί τον σταθερό αριθμό 15.000, διότι έχει υπολογισθεί ότι για κάθε ένα αιμοπετάλιο που βλέπουμε με τον καταδυτικό φακό, σε ένα σωστά κατανεμημένο επίχρισμα, αντιστοιχούν 15.000-20.000 αιμοπετάλια ανά mL πλήρους αίματος. Εφ' όσον οι φυσιολογικές τιμές των αιμοπεταλίων είναι 150.000-400.000, αναμένουμε ότι σε κάθε οπτικό πεδίο 100 ερυθρών, θα βρίσκουμε περί τα 10-25 αιμοπετάλια. Στο προηγούμενο παράδειγμα, θα έπρεπε στα 1.000 ερυθρά να βρίσκαμε κατά μέσον όρο περί τα 6 αιμοπετάλια.

Σήμερα, οι νέοι αναλυτές ξεχωρίζουν τα εμπύρνα ερυθρά από τα λευκά αιμοσφαίρια, αλλά ορισμένοι δεν έχουν αυτή τη δυνατότητα και όταν τα εμπύρνα είναι πάνω από 10 ανά 100 λευκά πρέπει να γίνουν διορθώσεις ως εξής: λευκά $\times 100 / 100 +$ εμπύρνα. Π.χ. έστω αριθμός λευκών από τον αναλυτή 15.300, και εμπύρνα που βλέπουμε εμείς 20 ανά 100 λευκά. $15.300 \times 100 = 1.530.000$. Αυτό το διαιρούμε με το 120 και συνάγουμε ότι τα πραγματικά λευκά είναι 12.750, ενώ τα υπόλοιπα 2.550 κύτταρα είναι εμπύρνα ερυθρά.

— Εξετάζοντας τον μυελό των οστών

Οι ενδείξεις και η τεχνική αναρρόφησης του μυελού των οστών δεν αποτελούν αντικείμενο αυτού του βιβλίου. Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι, ένα αξιόπιστο επίχρισμα μυελού πρέπει να... προέρχεται από τον μυελό, δηλαδή να περιέχει ερυθροβλάστες, μυελοκύτταρα και μεγακαρυοκύτταρα και να έχει τη λιγότερη δυνατή πρόσμειξη περιφερικού αίματος. Το καλύτερο υλικό βρίσκεται στην πρώτη σταγόνα της αναρρόφησης, γιατί μετά προστίθεται και το περιφερικό αίμα. Για τη σωστή αξιολόγηση απαιτείται η παρουσία θρομβίων και όχι μόνο διάσπαρτων κυττάρων του μυελού.

Αρχικά και απαραίτητως στη μικρή μεγέθυνση, πέρα από μια γενική άποψη, αξιολογούμε αδρά την κυτταροβρίθεια του μυελού, εάν υπάρχουν θρομβία, εάν υπάρχουν μεγακαρυοκύτταρα (ΜΓΚ) και μη τυχόν και υπάρχουν συγκύτια ξένων κυττάρων. Σε κάθε οπτικό πεδίο θα πρέπει να υπάρχουν τουλάχιστον 5 ΜΓΚ, κρυμμένα συνήθως στις παρυφές των θρομβίων (φυσιολογικές τιμές 2-10 κατά οπτικό πεδίο). Τα μεταστατικά κύτταρα φαίνονται σαν διάσπαρτες σκούρες νησίδες.

Η κυτταροβρίθεια του μυελού εκτιμάται παραβάλλοντας τα αιμοποιητικά κύτταρα προς τα λιποκύτταρα (Μυελός: Λίπος, όπου Λ=1). Η φυσιολογική κυτταροβρίθεια, ανάλογα και με την ηλικία, είναι 2,5:1 έως 4,5:1, η υπερκυτταροβρίθεια της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας είναι 6:1, ο απλαστικός μυελός 1:1, ενώ ο υποπλαστικός μυελός είναι 2:1. Να σημειωθεί ότι, η εκτίμηση της κυτταροβρίθειας του μυελού είναι πιο αξιόπιστη με την οστεομυελική βιοψία και συχνά υπάρχει αναντιστοιχία με την εικόνα της απλής αναρρόφησης.

Στη μεγαλύτερη μεγέθυνση (συνήθως 100x) επιλέγουμε τις κατάλληλες περιοχές και κινώντας το πεδίο με μαϊάνδρο ή ζιγκ-ζαγκ ή όποιο μοτίβο μας βολεύει, μελετάμε τη μορφολογία των κυττάρων και τα ταυτοποιούμε ένα προς ένα, έχοντας υπ' όψιν μας ότι ακόμα και στα άριστα παρασκευάσματα, υπάρχει ένα ποσοστό κατεστραμμένων κυττάρων. Κατόπιν, υπολογίζουμε τον διαφορικό τύπο και τον λόγο M:E (Myeloid:Erythroid), δηλαδή τη σχέση της κοκκιώδους προς την ερυθρά σειρά. Φυσιολογικά, στους ενήλικους τα κοκκιώδη κύτταρα είναι τριπλάσια των ερυθροβλαστών και ο λόγος M:E είναι 3:1 με διακύμανση 2-4:1. Σε υπέρμετρη αύξηση των μυελικών κυττάρων, π.χ. σε χρόνια μυελογενή λευχαιμία, ο λόγος θα είναι 10:1, ενώ στην ακοκκιοκυτταραιμία θα είναι 1:3. Αντίστροφα, στην απλασία της ερυθράς ο λόγος είναι 5:1, ενώ σε έντονη διέγερση της ερυθροποίησης αντιστρέφεται έως και 1:5.

Τέλος, μια βασική αρχή είναι ότι, ακόμα και όταν η διάγνωση είναι πασιφανής, σε κάθε μυελόγραμμα πρέπει να μελετάμε τουλάχιστον δύο διαφορετικά πλακάρια. Θα εκπλαγείτε από το πόσο συχνά παρουσιάζονται διαφορές ή και ανατροπές από τη μελέτη δύο πλακιδίων από την ίδια αναρρόφηση.

Κλείνοντας, επισημαίνουμε ότι, όταν συναντάμε κύτταρα που δεν τα αναγνω-

ρίζουμε μονομιάς, οι περισσότεροι από εμάς έχουμε την τάση να τα προσπερνάμε, να τα αγνοούμε σαν να μην υπάρχουν! Σε αυτό το σημείο χρειάζεται επιμονή και προσοχή.

— Χρώσεις

Χρώση Romanowsky/May-Grunwald-Giemsa/Wright

Η χρώση που χρησιμοποιούμε σήμερα είναι μια πανοπτική χρώση, δηλαδή χρωματίζει όλα τα κυτταρικά στοιχεία, παραλλαγή της ιστορικής χρώσης Romanowsky. Στην Ελλάδα και την Ευρώπη ονομάζεται May-Grunwald-Giemsa ή MGG, ενώ στις ΗΠΑ η ίδια χρώση ονομάζεται Wright. Περιέχει πωσίνη, κυανού του μεθυλενίου και bleu d'azur. Το κυανού του μεθυλενίου χρωματίζει γαλανά τα όξινα μέρη, το azur blue δίνει ένα βαθύ κόκκινο χρώμα (purple) στα βασεόφιλα συστατικά και η πωσίνη (από την Ηώ, τη θεά της Αυγής) χρωματίζει πορτοκαλοκόκκινα τα αλκαλικά συστατικά, όπως τα πωσινόφιλα κοκκία. Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι με τη MGG, τα πυρηνίδια που περιέχουν RNA και το κυτταρόπλασμα που έχει πολυριβωσώματα και είναι βασεόφιλα στοιχεία, βάφονται μπλε, ενώ τα πρωτογενή (αζουρόφιλα) κοκκία και το DNA του πυρήνα βάφονται κόκκινο-μωβ. Τέλος, η αιμοσφαιρίνη και τα πωσινόφιλα κοκκία παίρνουν χρώμα κόκκινο-πορτοκαλί.

Άλλες χρώσεις

Μετά από την εφαρμογή του ανοσοφαινοτύπου, η χρήση της κυτταροχημείας έχει περιορισθεί, αλλά ορισμένες χρώσεις εξακολουθούν να είναι χρήσιμες. Εξ άλλου, αποτελεί καθήκον κάθε Αιματολόγου να γνωρίζει τις βασικές αρχές, ενώ ένα πλήρες Αιματολογικό Εργαστήριο πρέπει να είναι σε θέση να εκτελεί ορισμένες χρώσεις γρήγορα και αξιόπιστα. Για να εκτιμηθεί το αποτέλεσμα μιας χρώσης βάφεται παράλληλα και ένας μάρτυρας, δηλαδή ένα πλακάκι από ένα υγιές, κατά προτίμηση, άτομο, ώστε να ξέρουμε εάν πέτυχε η χρώση. Συνήθως θετικό αποτέλεσμα θεωρείται όταν είναι θετικό το 3% των υπό αξιολόγηση κυττάρων.

Η χρώση του Perl πρωσσικό μπλε (Perl's prussian blue) είναι απαραίτητη, διότι βάφει τον σίδηρο και την αιμοσιδηρίνη. Ο σίδηρος βάφεται σκουροπράσινος και τον εξετάζουμε με τον καταδυτικό φακό μέσα σε κύτταρα κοντά στα θρομβία. Όταν είναι άφθονος, το σκουροπράσινο χρώμα του φαίνεται στο πλακάκι πριν ακόμα μπει κάτω από το μικροσκόπιο, ενώ σε βαριά σιδηροπενία, όσο και να ψάξουμε δεν βρίσκουμε τα σκούρα κοκκία («ελλείπει»). Με τη χρώση αυτή εκτιμάμε την επάρκεια του οργανισμού σε σίδηρο καθώς και την κατανομή του.

Για την ταυτοποίηση των λευχαιμικών κυττάρων εξακολουθεί να είναι θεμελιώδης η μυελοϋπεροξειδάση (MPO ή PER), που ξεχωρίζει την κοκκιώδη και μονο-

κυτταρική σειρά από τα λεμφικά κύτταρα και η οποία σήμερα ανιχνεύεται και με τον ανοσοφαινότυπο.

Η χρώση της μη ειδικής εστεράσης και αναστολή με φθοριούχο νάτριο (nonspecific α -naphthyl acetate esterase sensitive to sodium fluoride – ANAE – NaF) βάφει τα μονοκύτταρα, τα μεγακαρυοκύτταρα και τα αιμοπετάλια. Η μη ειδική εστεράση βάφει επίσης την κοκκιώδη σειρά, αλλά λιγότερο έντονα από τα μονοκύτταρα. Όταν γίνει αναστολή, «ξέβαμμα» της χρώσης με φθοριούχο νάτριο (NaF), τα κύτταρα της κοκκιώδους αποχρωματίζονται, ενώ τα μονοκύτταρα εξακολουθούν να είναι θετικά. Η χρώση αυτή χρησιμεύει στη διάκριση της μυελογενούς από τη μονοκυτταρική λευχαιμία.

Η χρώση toluidine blue είναι πολύ χρήσιμη, γιατί αναδεικνύει τα μεταχρωματικά κοκκία των βασεόφιλων κοκκιοκυττάρων και των σιτευτικών κυττάρων (μαστοκυττάρων). «Μεταχρωματικά» σημαίνει ότι παίρνουν διαφορετικό χρώμα από αυτό της βαφής.

Οι ακόλουθες χρώσεις χρησιμοποιούνται σπανιότερα.

- Η αλκαλική φωσφατάση των λευκών (LAP) προσλαμβάνεται από τα κοκκία των ουδετεροφίλων και παλαιότερα έθετε τη διάγνωση της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας (ΧΜΛ), γιατί απουσιάζει εντελώς από τα κοκκία των κυττάρων της. Τώρα χρησιμοποιείται σπανίως, κυρίως σε περιπτώσεις αντιδραστικής λευκοκυττάρωσης, ακριβώς για να αποκλεισθεί η ΧΜΛ χωρίς να καταφύγουμε στην κατά πολύ ακριβότερη –και ακριβέστερη– μοριακή μέθοδο. Για τον υπολογισμό του LAP score εκτιμάμε την ένταση της χρώσης με βαθμολογία 0 (τελείως άβαφο κύτταρο) έως 4 (πολύ έντονα κοκκία) σε 100 ουδετερόφιλα και ραβδοκύτταρα. Η φυσιολογική τιμή είναι 20-100. Εκτός από τη ΧΜΛ υπάρχουν και άλλες μυελικές παθήσεις με χαμηλό LAP score.
- PAS. Η χρώση αυτή χρωματίζει έντονα τα άωρα κύτταρα της ερυθράς σειράς σχηματίζοντας μεγάλα βωλία (λίαν ευμεγέθη κοκκία). Χρήσιμη στην ταυτοποίηση δυσερυθροποιητικών ερυθροβλαστών.
- Το μέλαν του Σουδάν Β-Sudan Black B (SBB) και η χλωροοξική εστεράση (ChlOE) προσλαμβάνονται από την κοκκιώδη σειρά.
- Η Όξινη φωσφατάση (θετική στην Τ-ΟΛΛ) και η ανθεκτική στο τρυγικό όξινη φωσφατάση (tartrate-resistant acid phosphatase-TRAP) χρησιμεύουν στη διάγνωση της λευχαιμίας από τριχωτά κύτταρα. Τα κύτταρα βάφονται με αλκαλική φωσφατάση και στη συνέχεια προστίθεται τρυγικό οξύ που φυσιολογικά τα αποχρωματίζει. Στην τριχωτή λευχαιμία η χρώση δεν ξεβάφεται και το κυτταρόπλασμα των παθολογικών λεμφοκυττάρων αποκτά μια κοκκιώδη κοκκινωπή χροιά.

Τέλος, υπάρχουν και οι έμβιες χρώσεις, (supravital stains), που εφαρμόζονται σε ζωντανά, όχι μονιμοποιημένα κύτταρα, όπως η brilliant cresyl blue που βάφει τα δικτυοερυθροκύτταρα. Άλλες, όπως η new methylene blue βάφει τα έγκλειστα των ερυθρών, π.χ. τα σωμάτια Heinz και χρησιμοποιούνται για τη μελέτη των αιμολυτικών αναιμιών.

— Σφάλματα τεχνικής (Artifact)

Τα τεχνικά σφάλματα είναι πολύ συνηθισμένα και οφείλονται σε πλήθος παραμέτρων. Κατά κανόνα είναι αναγνωρίσιμα, αλλά μερικές φορές μπορεί να δημιουργηθούν εικόνες που παραπέμπουν σε παθολογικές καταστάσεις και γι' αυτό πρέπει να είμαστε συγκρατημένοι και προσεκτικοί όταν έχουμε περίεργα ευρήματα.

— Αρχές μορφολογίας

Η αναγνώριση των κυττάρων βασίζεται στα εξής χαρακτηριστικά:

Μέγεθος. Στο περιφερικό αίμα, το μικρότερο κύτταρο είναι το βασεόφιλο και το μεγαλύτερο το μονοκύτταρο, ενώ στον μυελό τα μεγαλύτερα είναι τα μεγακαρουκύτταρα και οι προερυθροβλάστες (Πίνακας 3, σελίδα 30).

Σχήμα. Στρογγυλό/ωοειδές/απισοειδές/ανώμαλο/με προσεκβολές (μπουμπούκια, φουσαλλίδες).

Σχήμα του πυρήνα. Στρογγυλό/ωοειδές/ανώμαλο με λόβωση/εντυπώματα/αναδιπλώσεις.

Θέση του πυρήνα. Κεντρική ή έκκεντρη, κοντά ή μακριά από την κυτταροπλασματική μεμβράνη.

Χρωματίνη. Πυκνή/αραιή/ομοιογενής/δικτυωτή με συσσωρεύσεις/πυκνώσεις. Η υφή της μαρτυράει εάν το κύτταρο είναι άωρο ή όχι. Η αωρότητα δεν περιγράφεται με λόγια, αλλά αναγνωρίζεται με την εμπειρία.

Πυρηνίδια. Βασεόφιλοι σχηματισμοί σε φυσιολογικά ή παθολογικά άωρα κύτταρα και στα κύτταρα του δικτύου.

Κυτταρόπλασμα. Χρώμα: βασεόφιλο-γαλαζωπό/οξεόφιλο-ροζέ/διάφανο. Ποσότητα: λιγοστό/μέτριο/άφθονο. Υφή: ομοιογενής/ανομοιογενής/με κοκκία ή άλλα έγκλειστα. Περίγραμμα: σαφές ή ασαφές όπως π.χ. κύτταρα του δικτύου.

Συσκευή Golgi. Ωχρή περιοχή κοντά στον πυρήνα. Παρατηρείται σε ορισμένα κύτταρα (προμυελο-, μυελο-, μεταμυελοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, προερυθρο- και βασεόφιλες ερυθροβλάστες, οστεοβλάστες).

Κοκκία. Λιγοστά/άφθονα/διάσπαρτα/συγκεντρωμένα/πέριξ ή επάνω στον πυρήνα/με μεγάλη χρωματική ποικιλία

Έγκλειστα, όπως κενοτόπια, υπολείμματα DNA και RNA, φουσκία, διάφορα σωμάτια.

Λόγος πυρήνα/κυτταροπλάσματος-Π:Κ (nucleocytoplasmic ratio – N:C): Είναι ο λόγος του όγκου τού πυρήνα προς τον όγκο τού κυτταροπλάσματος, όπου κυτταρόπλασμα=1. Κάθε κύτταρο είναι σαν μια μεγάλη σφαίρα (το κυτταρόπλασμα) που περιέχει μια μικρότερη (τον πυρήνα)*. Τα άωρα κύτταρα έχουν λιγιστό κυτταρόπλασμα και μεγάλο, υπερδραστήριο πυρήνα που καταλαμβάνει τον μεγαλύτερο χώρο, επομένως ο λόγος N:C είναι υψηλός. Στα ώριμα κύτταρα ο πυρήνας μικραίνει, ενώ το κυτταρόπλασμα διαστέλλεται και ο λόγος N:C είναι χαμηλός. Παραδείγματος χάριν, στην προερυθροβλάστη ο N:C= 8:1, ενώ στην ορθόχρωμη νορμοβλάστη με τον μικρό πυκνό πυρήνα ο N:C= 0,5:1. Στις μυελοβλάστες ο λόγος είναι 4:1, ενώ στα ώριμα κοκκιοκύτταρα 2:1 ή και 1:1. Γενικά, ο υψηλός λόγος είναι χαρακτηριστικό άωρων και κακοήθων κυττάρων. Εξαιρεση αποτελούν τα ώριμα λεμφοκύτταρα, που διατηρούν ευμεγέθη πυρήνα και λιγιστό κυτταρόπλασμα N:C= 3–4:1.

Αν και ο λόγος N:C ή Π:Κ είναι απαραίτητος ως έννοια και αναφέρεται πολύ τακτικά στην αγγλοσαξονική βιβλιογραφία, στην καθημερινότητα συνηθίζουμε τη δισδιάστατη περιγραφή των κυττάρων.

— **Μορφολογικά χαρακτηριστικά ωρίμασης ή πώς ωριμάζουν τα κύτταρα**

Γενικά, τα άωρα κύτταρα είναι μεγαλύτερα από τους ώριμους απογόνους τους. Ο πυρήνας αρχικά καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος του κυττάρου (υψηλός λόγος N:C) και η χρωματίνη είναι αραιή και ανοικτόχρωμη. Όταν έχουμε υψηλή παραγωγή πρωτεϊνών διακρίνουμε τα ελαφρώς βασεόφιλα (γαλαζωπά) πυρηνίδια, τόπο σύνθεσης RNA. Όσο πιο δραστήριο το κύτταρο, τόσο περισσότερα και μεγαλύτερα τα πυρηνίδια. Το κυτταρόπλασμα είναι βασεόφιλο (μπλε), γιατί περιέχει ριβονουκλεοπρωτεΐνες, καθώς υπάρχει έντονη παραγωγή πρωτεϊνών. Ομοίως συμβαίνει και στα πλασματοκύτταρα που παράγουν ανοσοσφαιρίνες. Σε ορισμένα κύτταρα υπάρχει η ωχρή περιοχή, που αντιστοιχεί στη συσκευή Golgi.

Καθώς ωριμάζει το κύτταρο ο πυρήνας συρρικνώνεται, σε αντίθεση με το κυτταρόπλασμα που διαστέλλεται, η χρωματίνη σκουραίνει**, εξαφανίζονται τα πυρην-

* Φανταστείτε τα κύτταρα σαν δύο ισομεγέθη σοκολατάκια. Το ένα περιέχει φουντούκι και το άλλο ένα μικρό φυσικάκι. Αυτό με το φουντούκι έχει μεγαλύτερο πυρήνα και λιγότερη σοκολάτα (κυτταρόπλασμα), ενώ αυτό με το φυσίκι μικρότερο πυρήνα και περισσότερη σοκολάτα.

** Στη βιβλιογραφία αναφέρονται κάπου κάπου οι όροι «ευχρωματίνη» και «ετεροχρωματίνη» αναφερόμενοι στη μορφολογία της χρωματίνης. Η ευχρωματίνη αποτελεί το δραστήριο τμήμα του πυρήνα, όπου μεταγράφεται το DNA σε RNA, είναι πιο ανοικτόχρωμη και πιο αραιή, ενώ η

νίδια, η βασεοφιλία του κυτταροπλάσματος υποχωρεί, η συσκευή Golgi σταδιακά μικραίνει και εξαφανίζεται, ενώ παράλληλα αρχίζουν να εμφανίζονται τα ειδικά χαρακτηριστικά κάθε κυττάρου, π.χ. η αιμοσφαιρίνη, τα κοκκία κ.λπ.

— Μερικές συμβουλές

Το μικροσκόπιο θέλει χρόνο και αμέριστη προσοχή. Κλείστε την πόρτα, κατεβάστε το σταθερό τηλέφωνο και αφήστε το κινητό σας σε άλλο χώρο, ώστε να συγκεντρωθείτε στο έργο σας. Καθίστε αναπαυτικά χωρίς να καμπουριάζετε ή να τεντώνετε τον λαιμό σας και ρυθμίστε σωστά τους προσοφθάλμιους φακούς.

Ακολουθείτε μια συγκεκριμένη τακτική. Μην προσπαθείτε να «βρείτε τη διάγνωση». Παρατηρείστε προσεκτικά το πλακάκι. Ονοματίστε κάθε κύτταρο χωριστά και αν δεν είστε σίγουροι για την ταυτότητα του κυττάρου περιγράψτε το μεγαλόφωνα. Κάποιες φορές θα αντιληφθείτε ότι, αναγνωρίζετε τα κύτταρα βάσει της περιγραφής που μόλις εκστομίσατε.

Να θυμάστε ότι τα κύτταρα που εμείς παρατηρούμε σε δύο διαστάσεις, στρωμένα και πατικωμένα στο πλακάκι, στην πραγματικότητα είναι τρισδιάστατα/σφαιρικά. Πρέπει να τα φανταζόμαστε όπως είναι *in vivo*. Αναγνωρίζουμε επίσης, ότι τα κύτταρα είναι σταματημένα σε ένα στιγμιότυπο του βίου τους, γι' αυτό πολύ συχνά τα βρίσκουμε σε ενδιάμεση, μεταβατική κατάσταση, π.χ. ενδιάμεσα από μυελοκύτταρο προς μεταμυελοκύτταρο, βασεόφιλη προς πολυχρωματόφιλη ερυθροβλάστη κ.λπ. Θυμόμαστε επίσης, ότι τα φυσιολογικά κύτταρα έχουν άπειρες παραλλαγές, ότι πιθανότερο είναι να βρούμε ασυνήθη εμφάνιση συνήθους κυττάρου παρά συνήθη εμφάνιση ασυνήθους κυττάρου, και τέλος ότι: **Όσο περισσότερο κοιτάς, τόσο περισσότερα βλέπεις.**

ετεροχρωματίνη είναι αδρανής, πολύ πιο σκούρα και αφθονεί στα ώριμα κύτταρα. Τέλος, υπάρχει και ο περιγραφικός όρος «παραχρωματίνη» που αναφέρεται στα μικρά λευκωπά στίγματα, σαν «τρπουύλες», που εμφανίζονται σε ορισμένους πυρήνες.

Πίνακας 1: Ενδεικτικές φυσιολογικές τιμές στο αίμα των ενηλίκων

Γενική Εξέταση Αίματος	Τιμές Αναφοράς
Ερυθρά αιμοσφαίρια - RBC	4,5–6,6 x 10 ¹² /L
Αιμοσφαιρίνη - Hb	14–18 g/dL
Αιματοκρίτης - Ht	38–52%
Μέσος όγκος ερυθρών - MCV	79–98 fl
Μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης - MCH	26–32 pg/ερυθρό
Μέση πυκνότητα αιμοσφαιρίνης - MCHC	32–36 Hb/ερυθρό
Εύρος κατανομής μεγέθους ερυθρών - RDW	12,8–14,8
Αιμοπετάλια	150–400 x 10 ⁹ /L
Λευκά αιμοσφαίρια - WBC	4–10 x 10 ⁹ /L
Ουδετερόφιλα - NEUT	42–75 %
Ουδετερόφιλα	2–8 x 10 ⁹ /L
Λεμφοκύτταρα - LYMPH	20–50%
Λεμφοκύτταρα	1,2–4 x 10 ⁹ /L
Μονοκύτταρα - MON	1,7–9,3 %
Μονοκύτταρα	0,1–0,6 x 10 ⁹ /L
Ηωσινόφιλα - EO	0–5 %
Ηωσινόφιλα	0,1– 0,6 x 10 ⁹ /L
Βασεόφιλα - BAS	0–1%

Πίνακας 2: Φυσιολογικές τιμές στον μυελό των ενηλίκων

Κύτταρα	Ποσοστό	Κύτταρα	Ποσοστό
Μυελοβλάστες	0-2 %	Προερυθροβλάστες	0-1 %
Προμυελοκύτταρα	1-6 %	Βασεόφιλες ερυθροβλάστες	1-3 %
Μυελοκύτταρα	5-16 %	Πολυχρωματόφιλες ερυθροβλάστες	13-30 %
Μεταμυελοκύτταρα	5-24 %	Ορθόχρωμες ερυθροβλάστες	1-4 %
Ραβδοκύτταρα	10-15 %	Μυελικά/Ερυθρά	1.5-4.0:1
Ώριμα πολυ	4-11 %	Λεμφοκύτταρα	5-20 %
Ηωσινόφιλα	0-6 %	Μονοκύτταρα	0-3 %
Βασεόφιλα	0-2 %	Πλασματοκύτταρα	0-2 %
		Κύτταρα δικτύου	0-2 %
		Μεγακαρουκύτταρα	0-2 %

Μυελικά στοιχεία/Λιπώδης ιστός = 2.5-4.5:1

Πίνακας 3: Κατάταξη των κυττάρων του αίματος κατά μέγεθος

Οστεοκλάστες	100 μm	Πολυχρωματόφιλες ερυθροβλάστες	8-12 μm
Μεγακαρουκύτταρα	25-100μm	Ηωσινόφιλα	12-18 μm
Προερυθροβλάστες	20-25 μm	Ουδετερόφιλα	12-15 μm
Οστεοβλάστες*	30 μm	Βασεόφιλα	10-14 μm
Μονοκύτταρα	15-20 μm	Λεμφοκύτταρα	8-12 μm
Πλασματοκύτταρα	9-20 μm	Ερυθρά αιμοσφαίρια	7-8 μm
Σιτευτικά κύτταρα (mast cells)	5-20 μm	Αιμοπετάλια	2-5 μm

* Οι οστεοβλάστες είναι κύτταρα του στρώματος.

Υπόδειγμα έκθεσης μυελογράμματος

Ημερομηνία

Όνομα

Ηλικία:

Αρ. Μητρώου:

Αρ. Μητρώου Εργ.:

Αναρρόφηση:

ΟΜΒιοψία:

Κυτταροβρίθεια:

Μ:Λ=

Μεγακαρυοκύτταρα:

Ερυθρά σειρά:

Κοκκιώδης σειρά:

Μ:Ε=

Λεμφοκύτταρα:

Πλασματοκύτταρα:

Βλάστες:

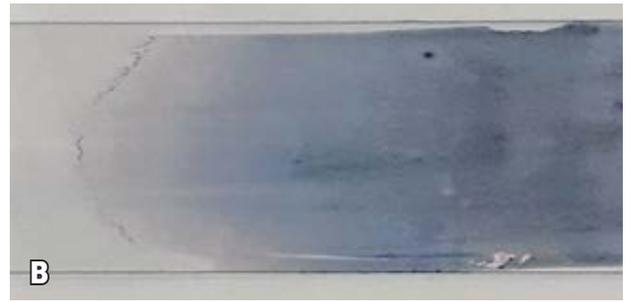
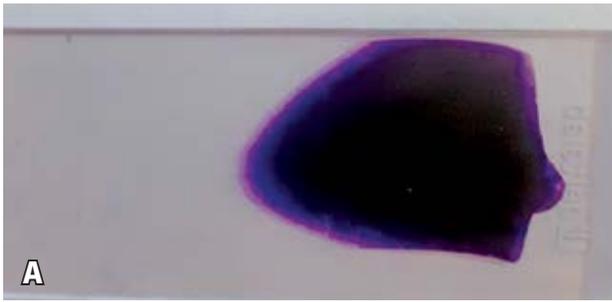
Ξένα κύτταρα:

Μικροοργανισμοί :

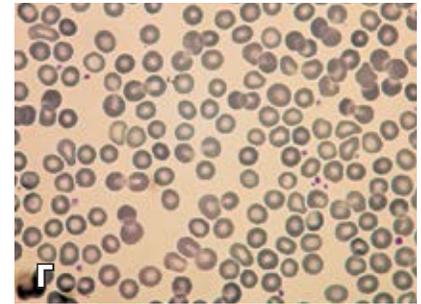
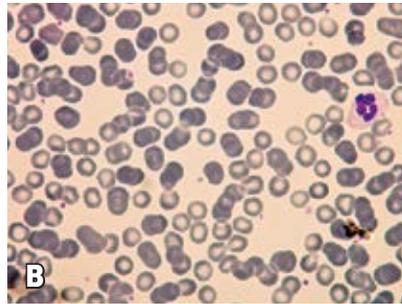
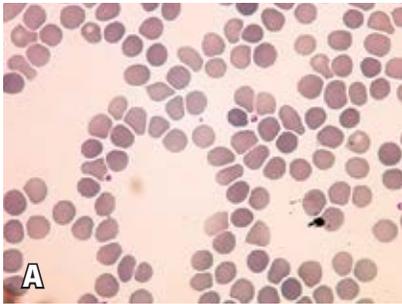
Σίδηρος μυελού:

Σχόλια:

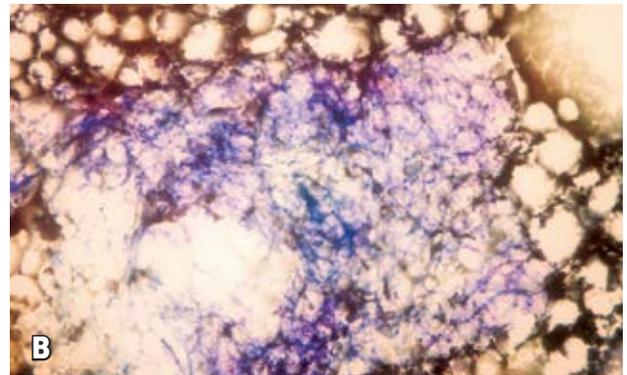
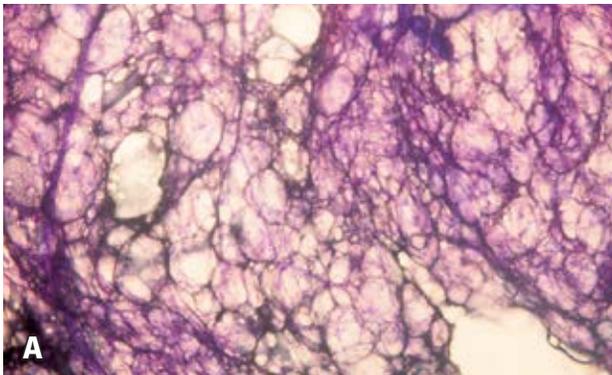
Υπογραφή



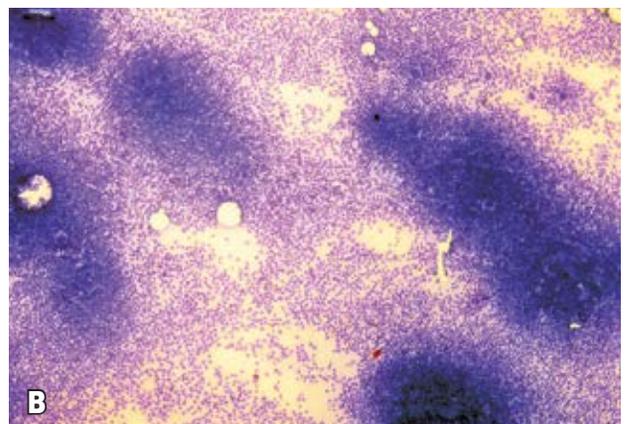
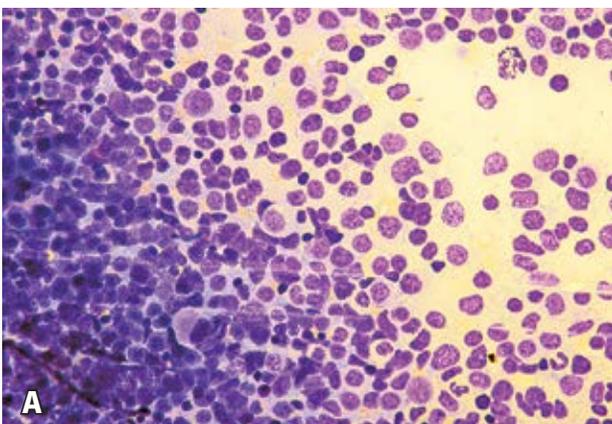
A. Κακή επίστρωση. **B.** Σωστή επίστρωση. Παρατηρείστε πώς «σβήνει» το πλακάκι στο τελείωμα.



Περιφερικό αίμα. **A.** Πολύ αραιό πεδίο. Ομοίμορφα ερυθρά χωρίς την κεντρική ωχή περιοχή. **B.** Πολύ πυκνό. Στριμωγμένα ερυθρά, δεν διακρίνονται οι κυτταρικές λεπτομέρειες. **Γ.** Η σωστή περιοχή. Τα ερυθρά μόλις ακουμπούν μεταξύ τους.

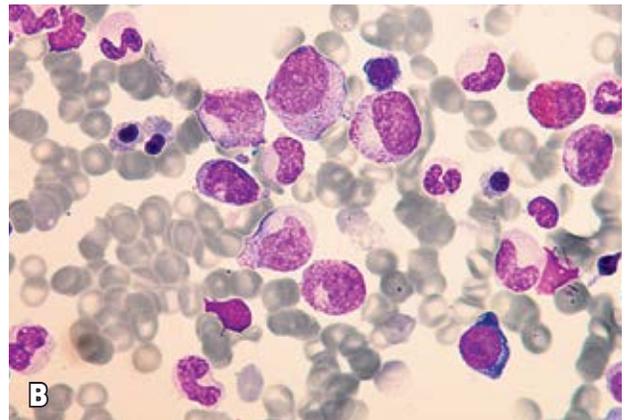
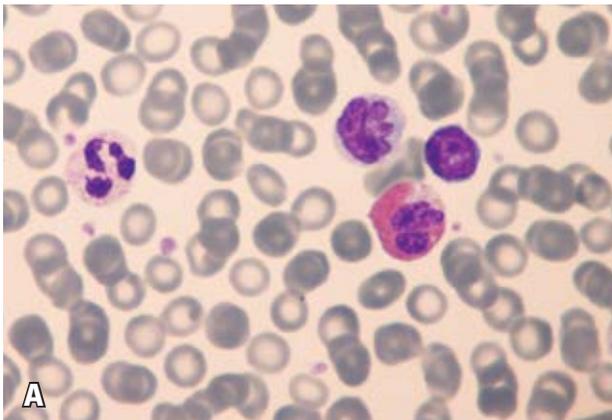
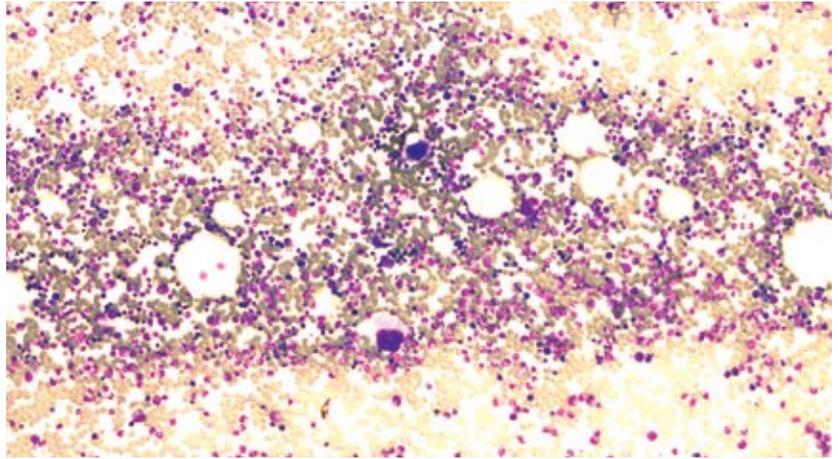


Μυελοί με μικρή μεγέθυνση 10×. **A.** Απλαστικός μυελός. Μυελός:Λίπος =1:1. **B.** Υποπλαστικός μυελός M:Λ=2:1.



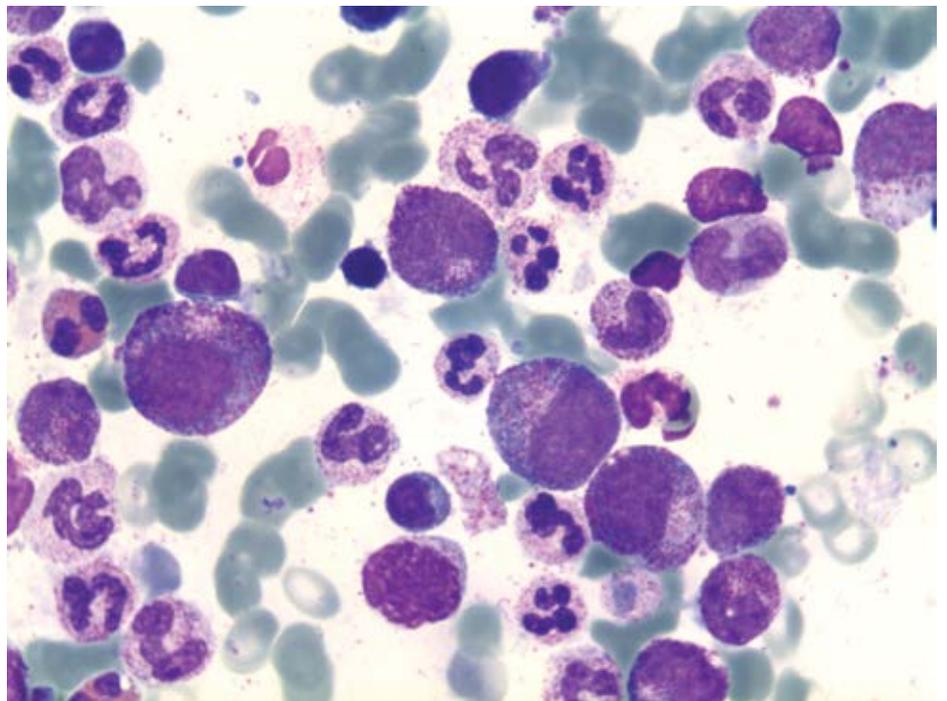
A. Αυξημένη κυτταροβρίθεια M:Λ=5:1. **B.** Παθολογικά αυξημένη κυτταροβρίθεια M:Λ=6:1.

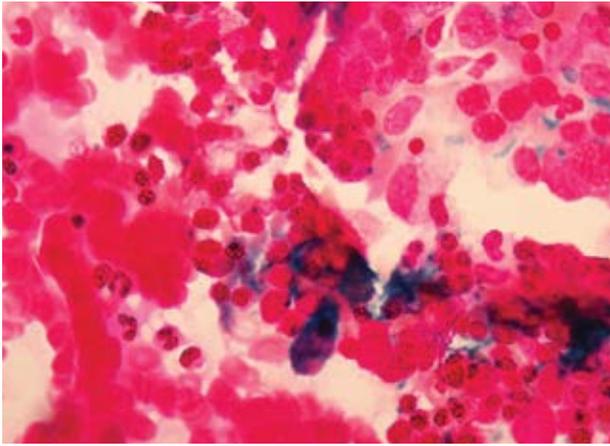
Μυελός φυσιολογικής
κυτταροβρίθειας (Μ:Λ = 3,5:1).
Οι σκούροι σχηματισμοί είναι
τα μεγακαρυοκύτταρα.



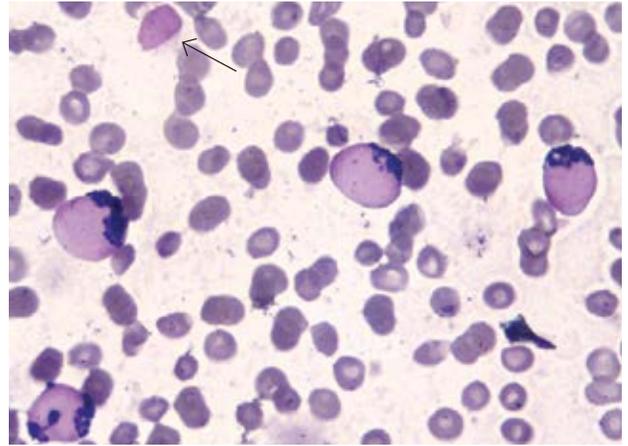
Χρώση May-Grunwald-Giemsa (MGG). **A.** Περιφερικό αίμα. Σε αυτό το μάλλον πυκνό πεδίο βλέπουμε τα ερυθρά με το γκρι-ροζέ χρώμα και τα τέσσερα είδη λευκοκυττάρων. **B.** Μυελός με όλη (σχεδόν) τη χρωματική παλέτα.

Σχεδόν φυσιολογικός
μυελός.
(Γενικά, σε αυτό το βιβλίο
οι περισσότεροι μυελοί
έχουν παθολογία, διότι
δεν συνηθίζουμε να
κάνουμε μυελογράμματα
σε υγιείς!).

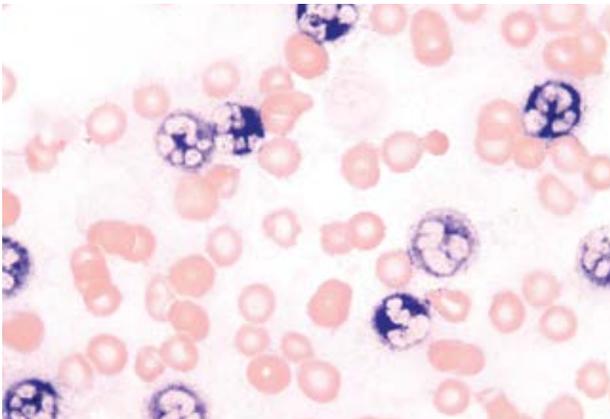




Χρώση σιδήρου Perl ή πρωσσικό μπλε. Ο σίδηρος μέσα στα μακροφάγα και τις ερυθροβλάστες βάφεται σκουροπράσινος.

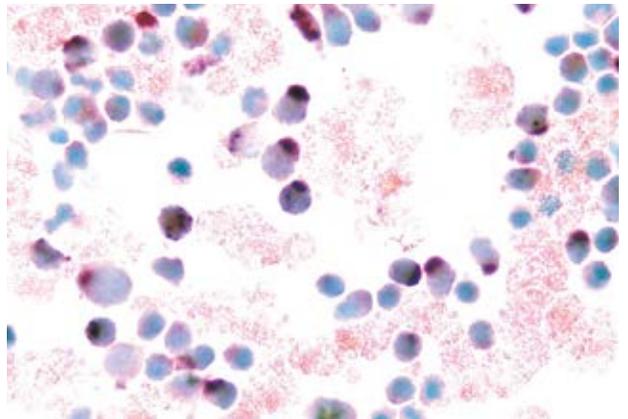


Η μυελούπεροξειδάση (MPO ή PER) είναι θετική στα μυελικά κύτταρα (βάφει σκούρο το κυτταρόπλασμα), ενώ δεν προσλαμβάνεται από τα λεμφοειδή (βελάκι). Πηγή: «ΓΝΑ Γεννηματάς»



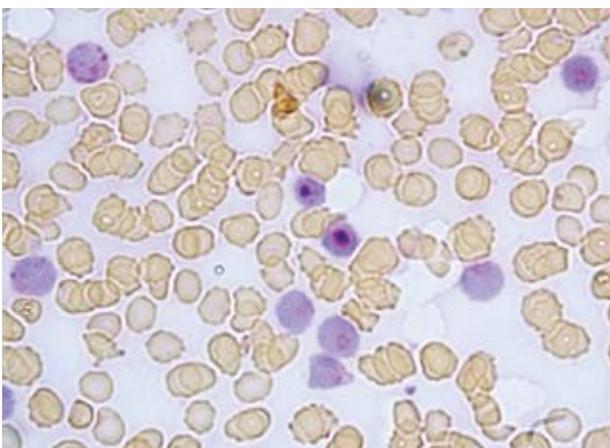
Αλκαλική φωσφατάση των λευκών (LAP ή NAP) σε φυσιολογικά ουδετερόφιλα. Τα πολυμορφοπύρνα της ΧΜΛ βάφονται ελάχιστα και το LAP score είναι πολύ χαμηλό.

Πηγή: «ΓΝΑ Γεννηματάς»



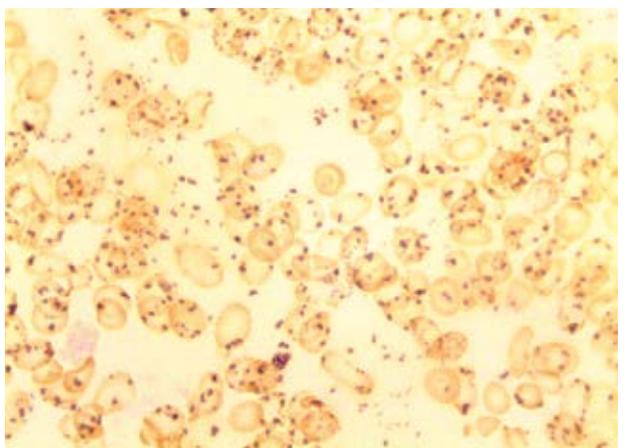
Μη ειδική εστεράση (ANAE) θετική στην κοκκιοκυτταρική και μονοκυτταρική σειρά.

Πηγή: «ΓΝΑ Γεννηματάς»



Όσινη φωσφατάση, θετική στην ΟΑΛ.

Πηγή: «ΓΝΑ Γεννηματάς»



Έμβια χρώση. Σωματία Heinz.

Πηγή: «ΓΝΑ Λαϊκό»