



HEMATO-MORPHOLOGY WORKSHOP

Dr. N.V.Shiran

Ph.D of Lab Hematology-SBMU



Histiocyte

Small Cells

Intermediate Cells

Large Cells



Small round
(Lymphocyte)



Small cleaved
(Centrocyte)



Plasmacytoid small lymph
(Immunocyte)



Monocytoid small lymph
(Monocytoid lymph)



Lymphoblast
(Convolutd Lymphoblast)



Small non-cleaved
(Burkitt's lymphoblast)

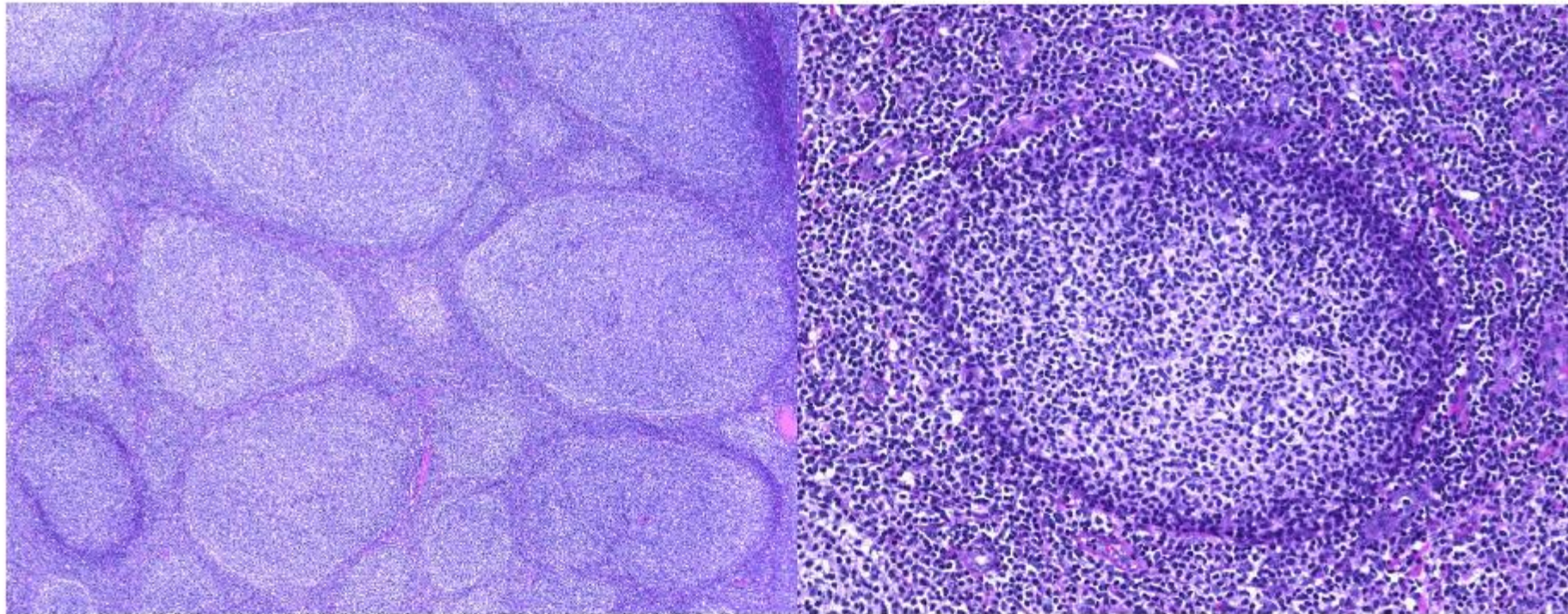


Large non-cleaved
(Centroblast)

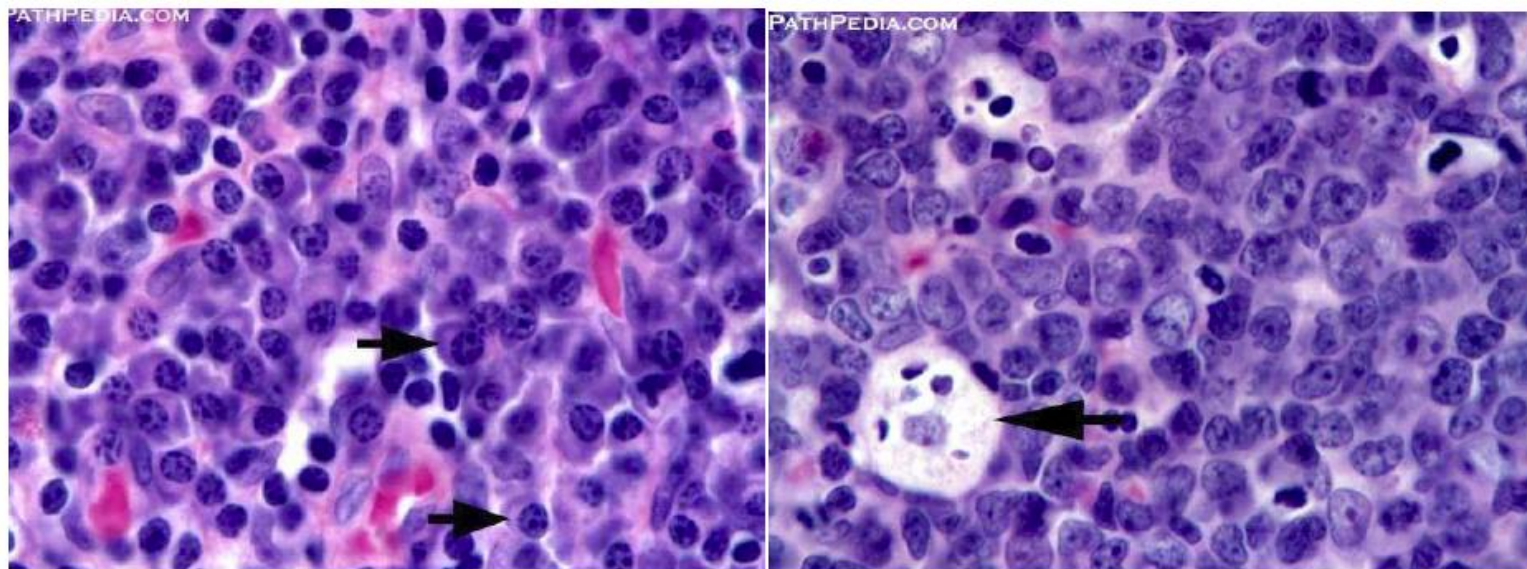


Immunoblast
(Immunoblast)

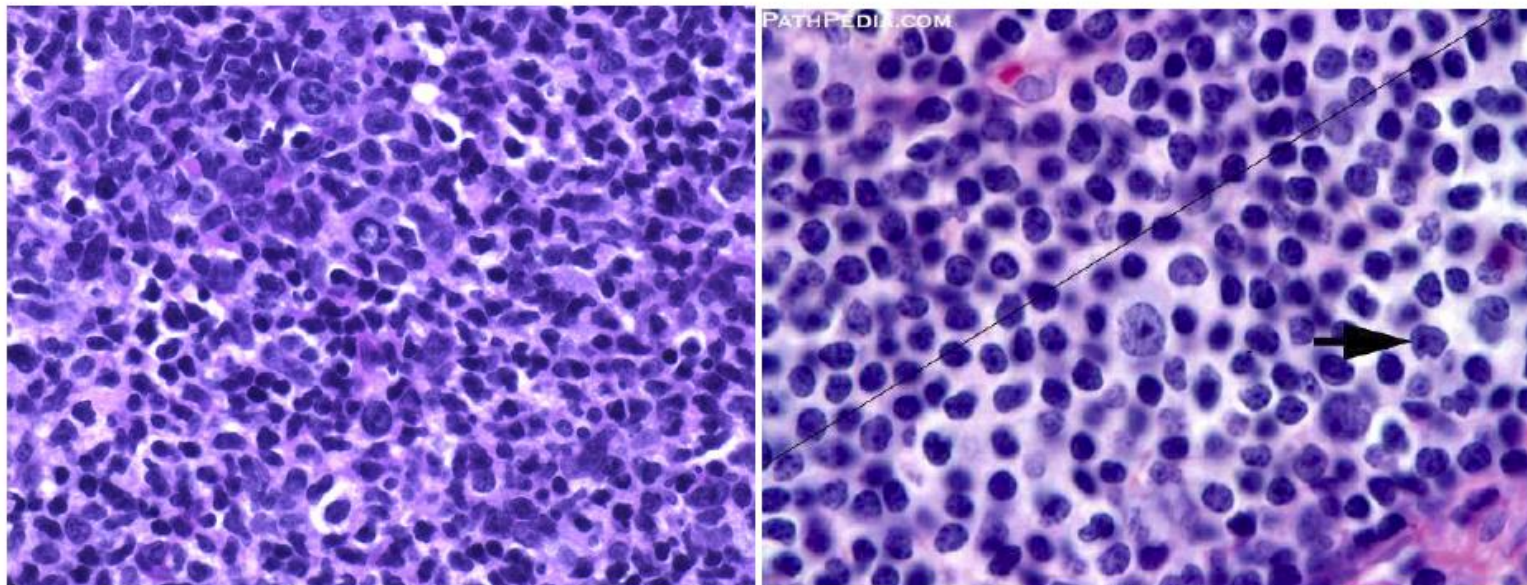
شکل ۳۳-۷۴: مورفولوژی انواع سلول‌های غدد لنفاوی (شامل سنتروبلاست، ایمونوبلاست، سنتروسیت، لنفوبلاست، لنفولاسماسیتوتید و...)



شکل ۳۶-۷۴: لنفوم فولیکولار رقیمی حدود ۴۰٪ از لنفوم بالغین را تشکیل می‌دهد که در آن الگوی رشد به صورت ندولار و در شرایط پروگنوزی بد، منتشره بوده و در آن ناحیه منتل و مارژینال، نواحی دارک‌زون و لایت‌زون و همچنین ماکروفاژهای Tingible-body از بین می‌روند. فاصله بین فولیکول‌ها نیز کم شده و در برخی نقاط به هم متصل می‌شوند.



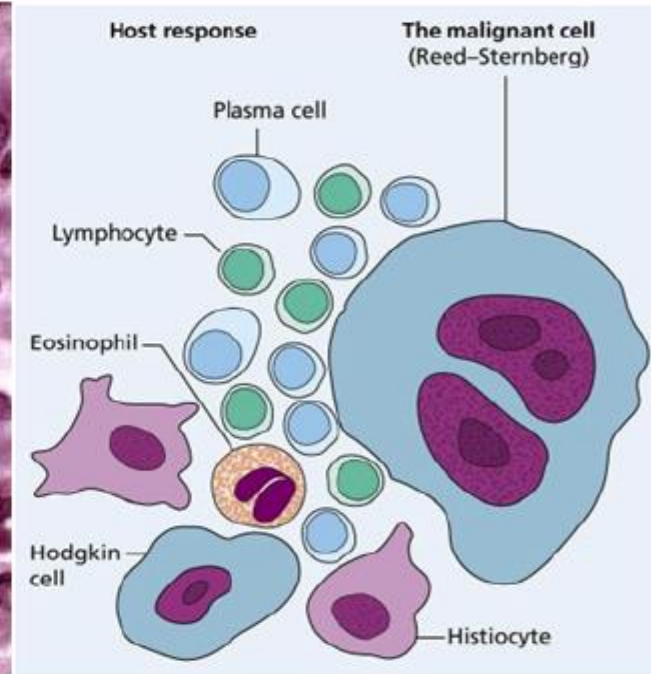
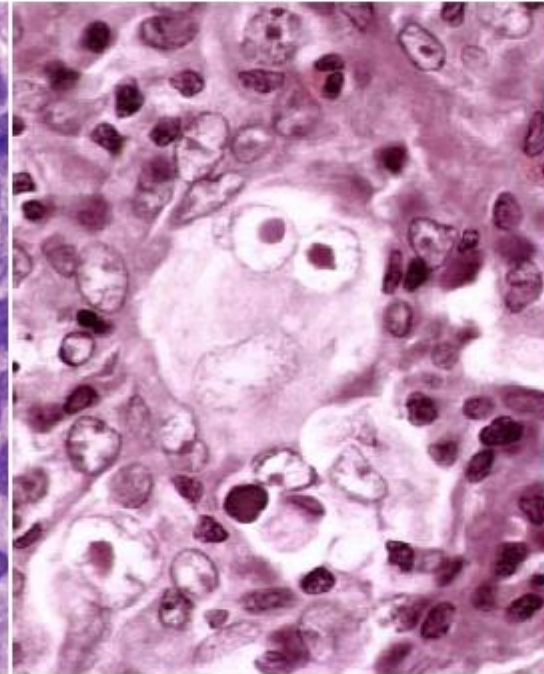
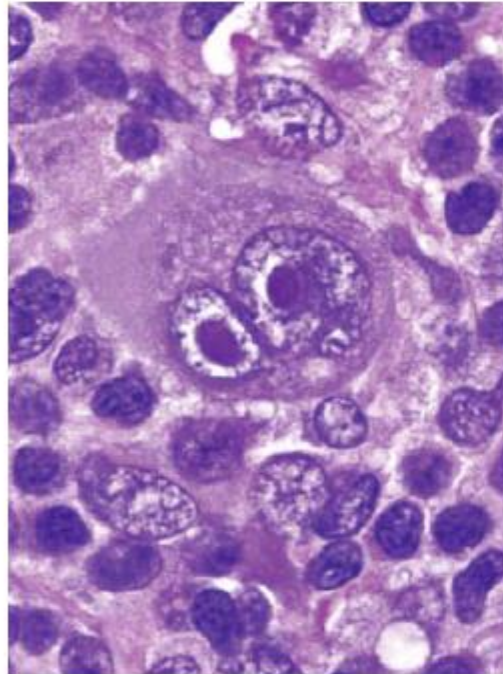
شکل ۳۴-۷۴: ناحیه مدولاری غدد لنفاوی که تعداد بالایی ماکروفاژ و پلاسماسل با هسته چرخ در شبکه ای (چپ) را نشان می دهد. ماکروفاژهای مذکور به دلیل فاگوسیتوز بقایای سلول های آپتوتیک کاملاً مورفولوژی ملموس و خاصی دارند که از این جهت به آنها MQ tangibl-body نیز گفته می شود.



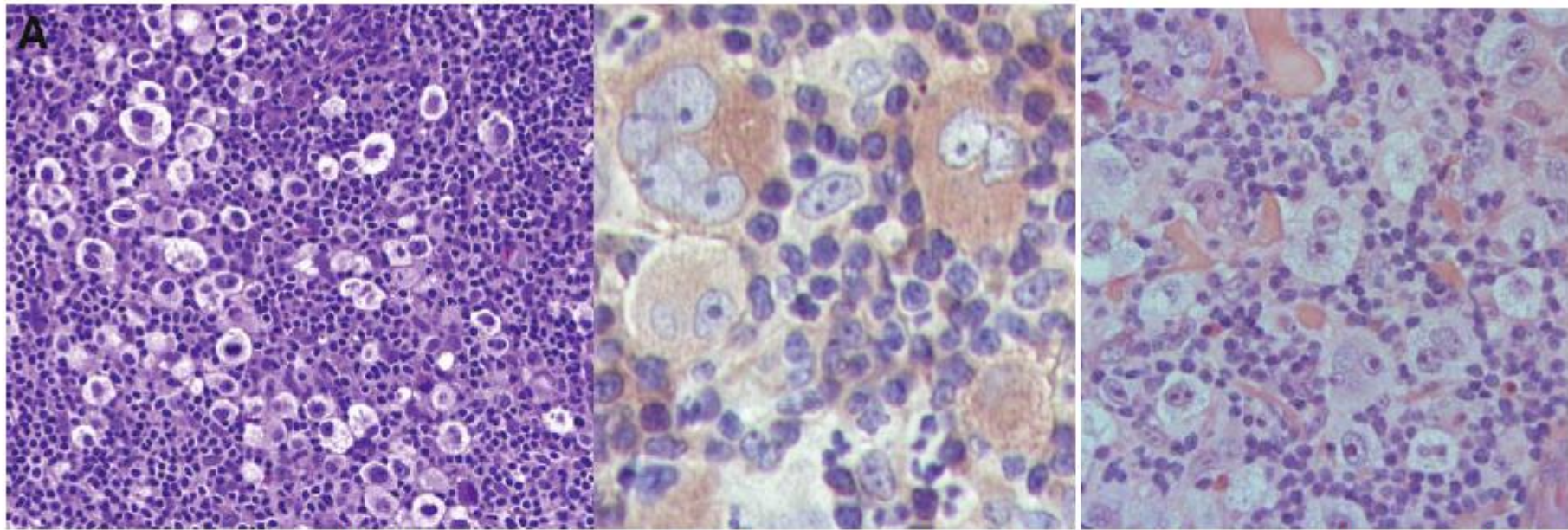
شکل ۳۵-۷۴: راست) B سل های مارژینال CD21+/- گاهی در سطح خارجی منتل زون دیده می شود که سلول های آن کوچک، گاهی شکاف دار و شبیه سنتروسیت بوده ولی در سطح خارجی (و نه داخلی) منتل قرار داشته و این لایه نیز همانند ناحیه منتل حالت متراکم دارد. این لایه در فولیکول های ثانویه و واکنشی دیده شده و اغلب از لنفوسیت هایی با سیتوپلاسم فراوان تر از B سل های منتل تشکیل می شوند. چپ) لنفوم فولیکولار با سلول های پلی مورفیک متشکل از سنترو بلاست ها و سنتروسیت های شکاف دار کوچک و بزرگ که رشد فولیکولار داشته و برخلاف سنتروسیت ها، سنترو بلاست ها می توانند همانند لنفوبلاست ها، هستک نیز داشته باشند. به سنترو بلاست گاهی ژرمینوبلاست و به سنتروسیت، ژرمینوسیت نیز گفته می شود.



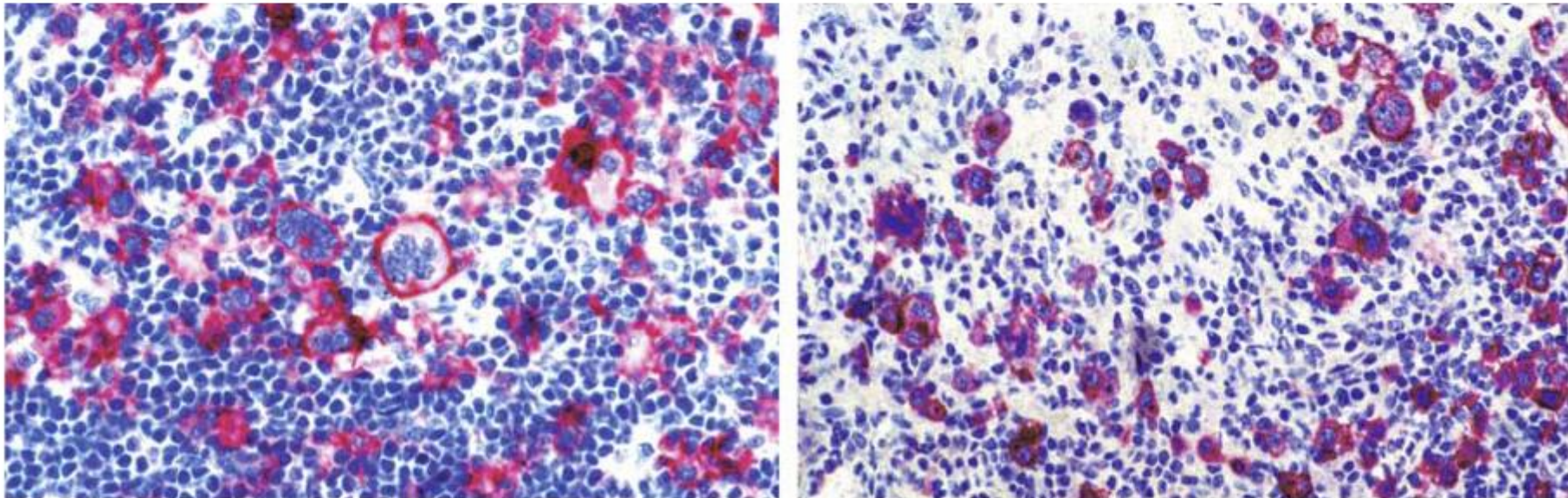
شکل ۳۷-۷۴: از راست به چپ: ۱) توماس هوچکین (Thomas Hodgkin)، ۲ و ۳) دوروتی ریید (Dorothy Mabel Reed mendenhal) و ۴) کارل اشتنبرگ (Carl Sternberg)



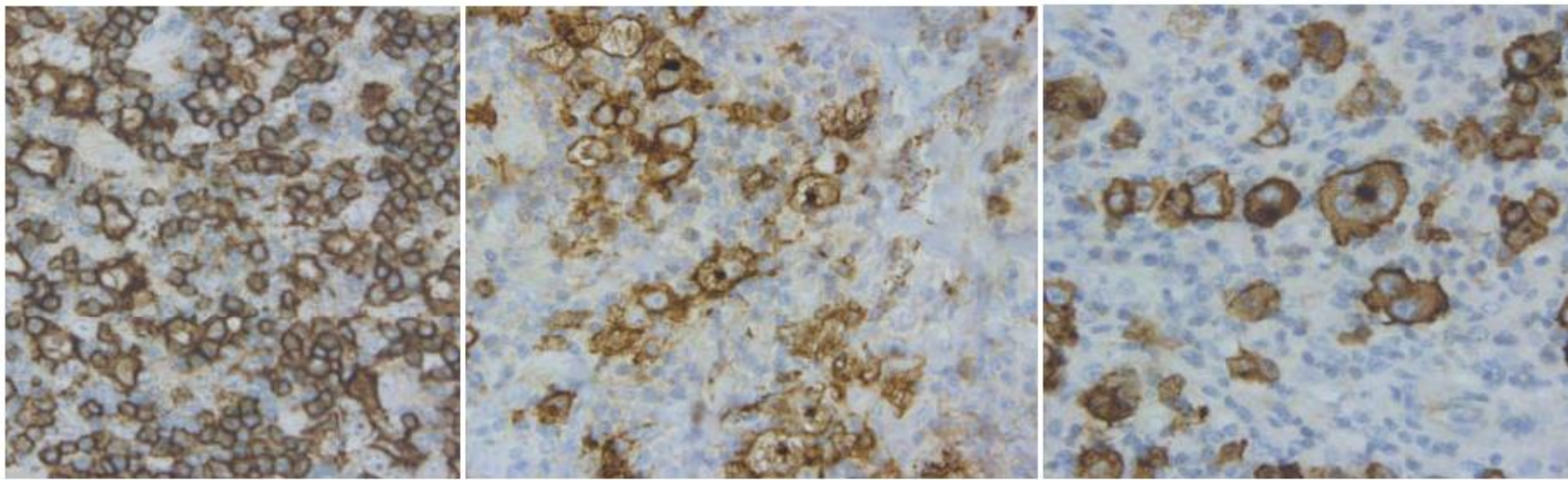
شکل ۳۸-۷۴: دیانگرمی از سلول‌های درگیر در لنفوم هوچکین که شامل سلول HRS، سلول لاکونار، انوزینوفیل، پلاسماسل، نوتروفیل، لنفوسیت کوچک و پلنومورف و هیستوسیت می‌باشد.



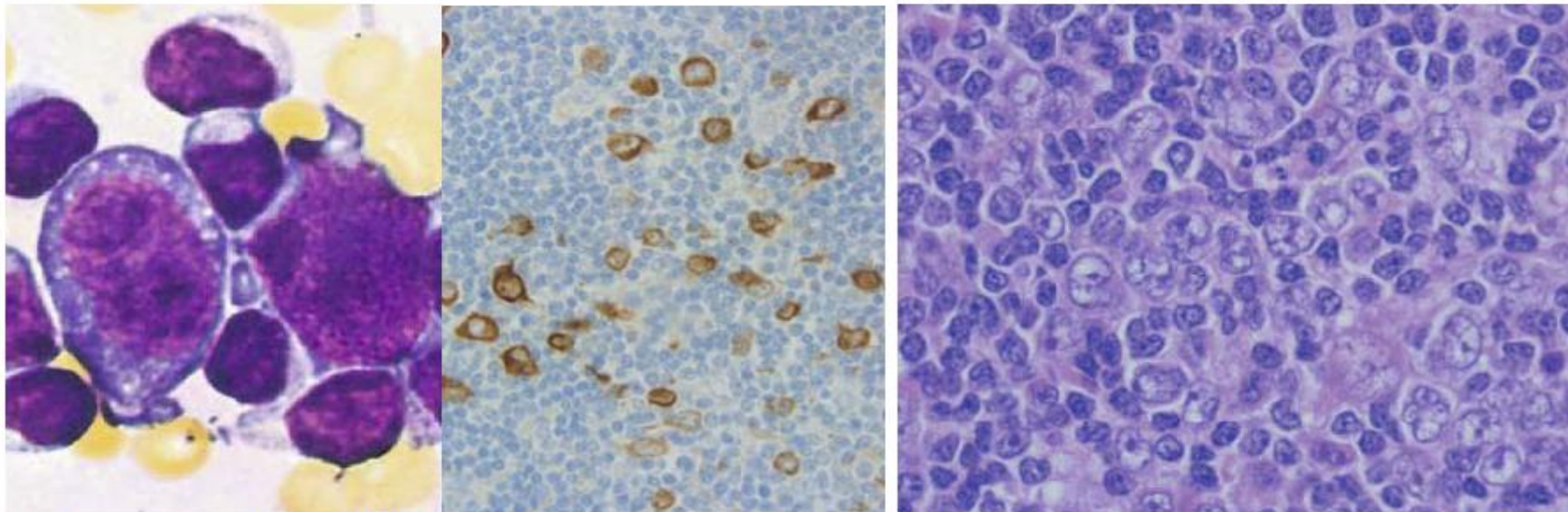
شکل ۷۴-۴۲: تصویر ۱ (۲) سلول‌های ریداشترنبرگ کلاسیک (دو هسته‌ای یا HRS)، تک هسته‌ای (HC) و چند هسته‌ای (MN) که در کنار لنفوسیت‌ها و به تعداد فراوان دیده می‌شوند (لنفوم هوچکین نوع مخلوط). در تصویر ۳ سلول‌ها به صورت لاکونار با سیتوپلاسم سفید در برش بافتی دیده می‌شوند (لنفوم هوچکین نوع ندولار اسکروز).



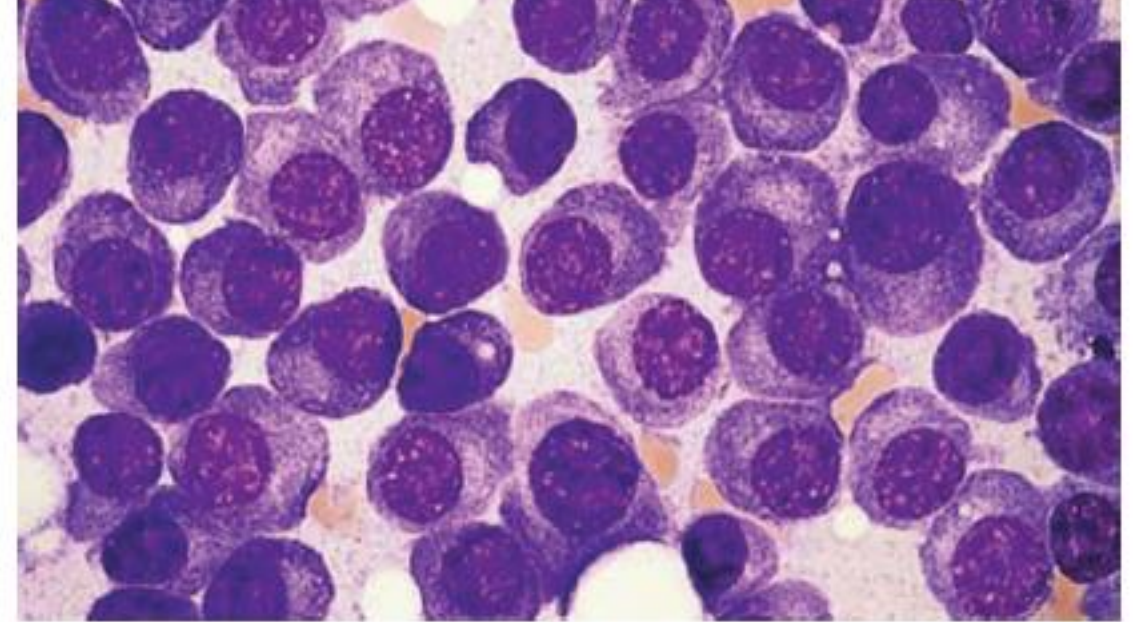
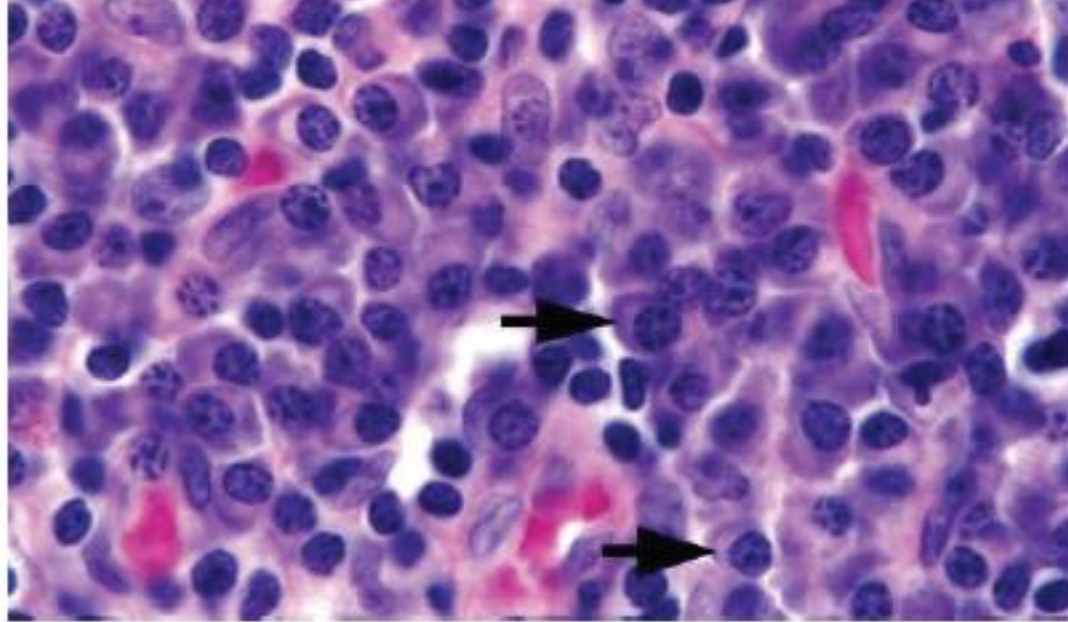
شکل ۷۴-۴۳: واکنش ایمونوسیتوشیمیایی مثبت سلول‌های ریداشترنبرگ به CD15 (راست) و CD30 (چپ)



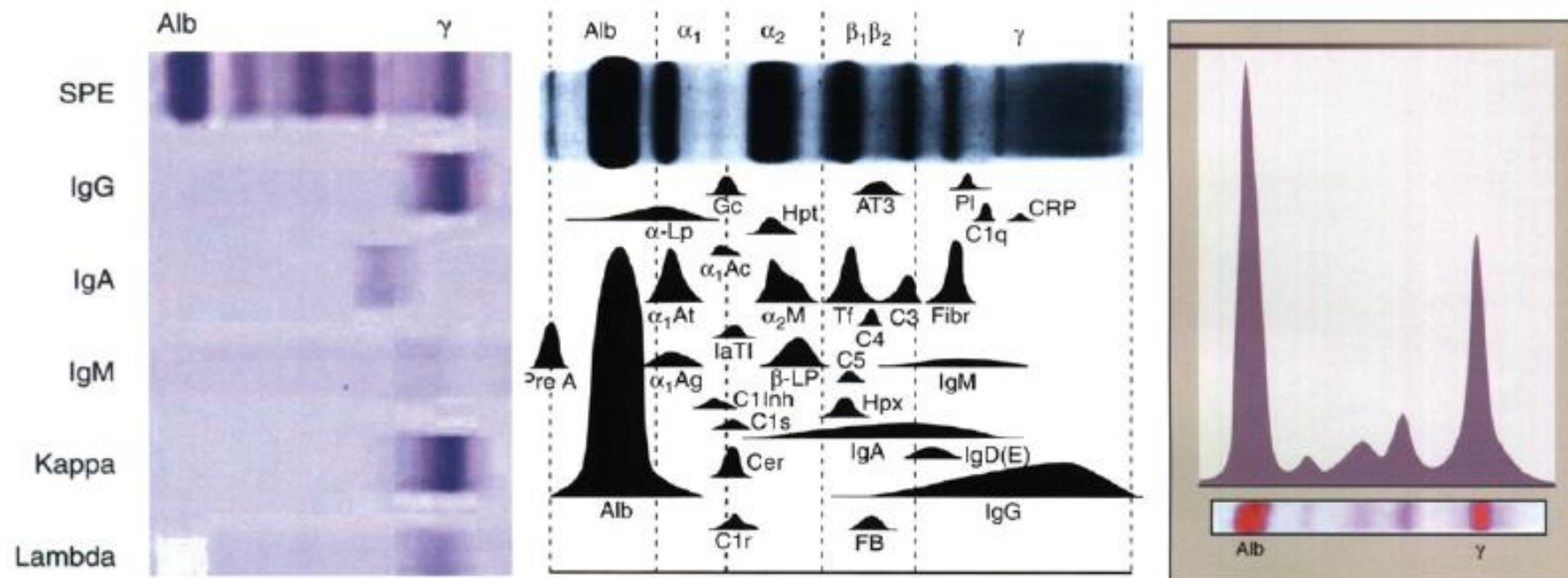
شکل ۴۴-۷۴: واکنش ایمونوسیتوشیمیایی مثبت سلول‌های ریداشترنبرگ به CD30 (راست) و CD15 (وسط) که هم آنها، هم لنفوسیت‌های B و هم لنفوهایستوسیت‌ها توسط T سل‌های CD20 منفی محصور می‌شوند (چپ). در این بیماری، لنفوسیت‌های B خود جزء کلون بدخیم بوده ولی هیستوسیت‌ها، T سل‌ها و انوزینوفیل‌ها به صورت واکنشی افزایش می‌یابند.



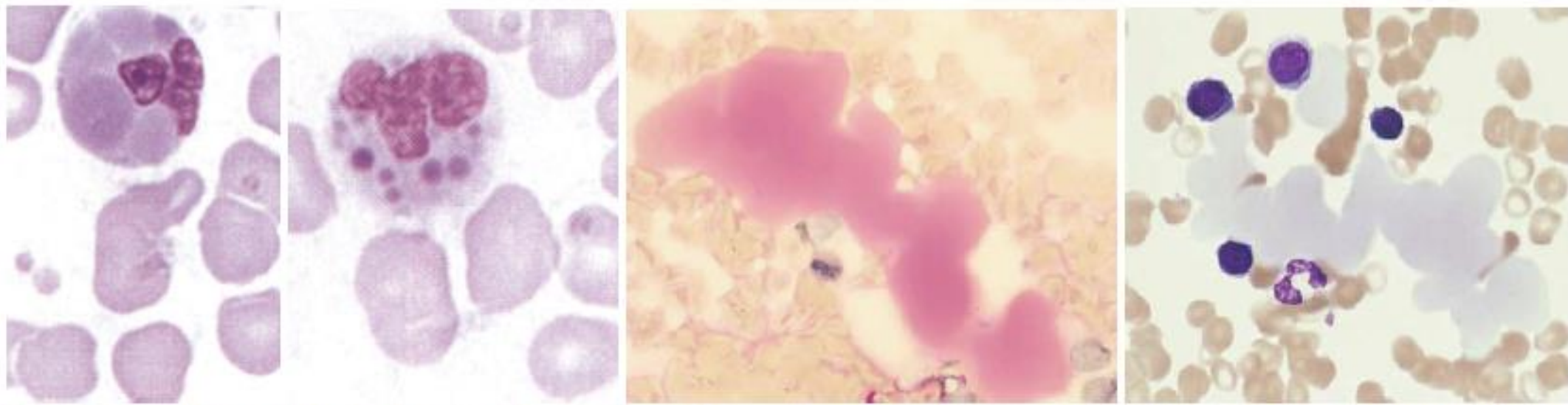
شکل ۴۵-۷۴: لنفوهایستوسیت‌های پاپ‌کورن مانند با هسته پیچ خورده و دنداندار (راست) که واکنش ایمونوسیتوشیمیایی مثبت آنها و B سل‌ها با Anti- γ chain (وسط) دلالت بر رده لنفوئیدی B آنها داشته و اغلب در لنفوم هوچکین نوع ندولار با غلبه لنفوسیتی (NLP) دیده می‌شود. در تصویر چپ یک سلول HRS-Like دیده می‌شود که در واقع یک ایمونوبلاست با ظاهر شبیه سلول هوچکین در مونوکلونوز عفونی می‌باشد.



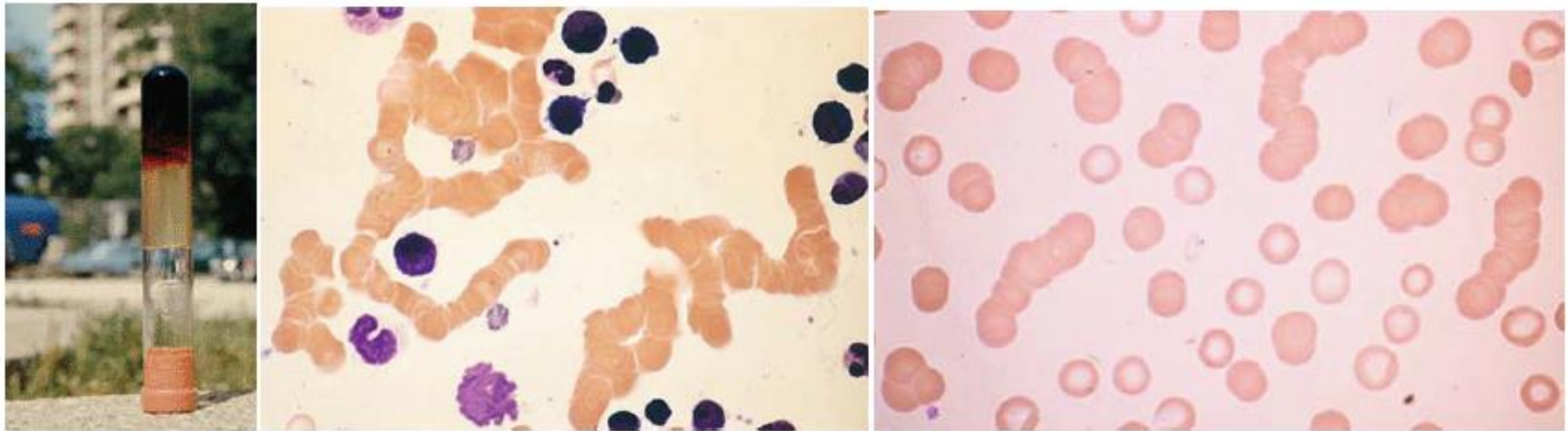
شکل ۳۴-۷۷: پلاسما سل‌های بالغ فراوان با زون گلژی و هستک‌های مشخص در BM (راست) و بافت لنفاوی (چپ) که منظره چرخ در شبکه‌ای آن توسط فلش نشان داده شده است.



شکل ۳۵-۷۷: الکتروفورز پروتئین سرم (SPE) در یک فرد سالم (تصویر سمت چپ و وسط) و مقایسه آن با پاراپروتئینی (پروتئین باند M) در یک بیمار مبتلا به MM



شکل ۵۴-۷۷: مشاهده پاراپروتئین‌های معلق در خون که به دلیل دربرداشتن کربوهیدرات و پروتئین، با PAS نیز مثبت می‌شود. پاراپروتئین‌ها گاهی توسط فاگوسیت‌ها اندوسیتوز می‌شوند و گاهی بسته به اندازه خود به عنوان پلاکت یا لکوسیت در دستگاه‌های سل‌کانتر شمرده می‌شوند. پاراپروتئین‌ها از ریسک انسداد عروق، ترومبوز و ایجاد زخم ساق پا برخوردار هستند.



شکل ۵۸-۷۷: تشکیل رولو در بیمار مبتلا به MM، چې) افزایش شدید IgA که باعث افزایش ویسکوزیته خون می‌شود، به طوری که خون سانتریفوژ شده در صورت سروته شدن نیز نمی‌ریزد.

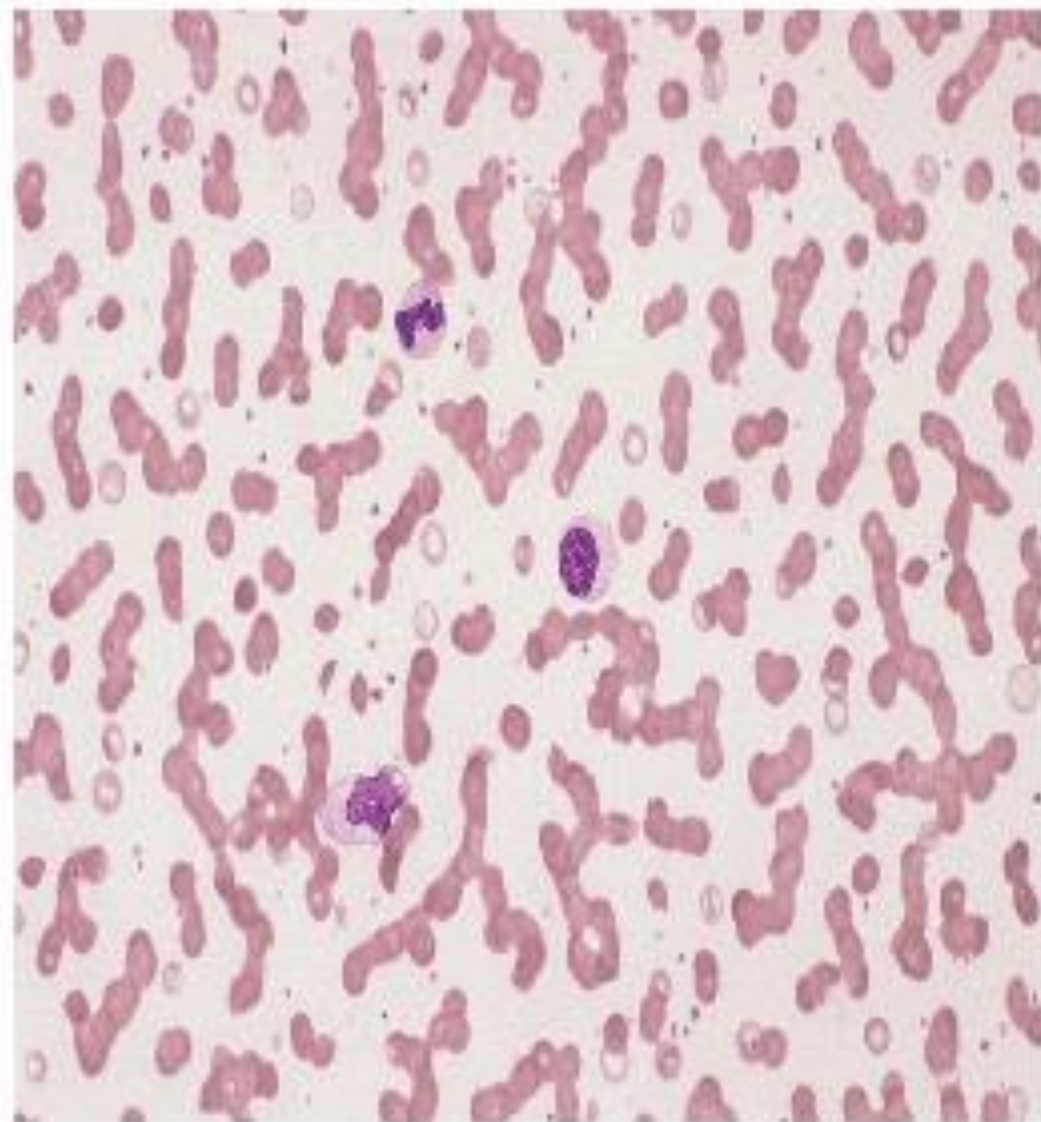


شکل ۶۱-۷۷: کرایوگلوبولینمی در گسترده خون محیطی و در پلاسمای بیمار که در شرایط In Vivo می‌تواند باعث جراحات پوستی شود. ESR بیمار نیز به بالای ۱۰۰ افزایش می‌یابد.

سلول‌های میلومایی برخلاف پلاسماسل نرمال به صورت سلول‌های $CD19^-$, $CD20^-$, $CD22^-$, $CD45^-$, $CD79a^+$, $CD38^+$, $CD56^+$, $CD138^+$, $CD54(ICAM-1)^+$, $HLA-DR^-$, $PCA1^+$, $PC1^+$, $CD24^+$, $CD27+/-$, $CD28^+$, $CD30^+$, $CD31^+$, $CD40^+$, $CD44 (HACAM)^+$ و $BCL2^+$ و $Ki67^+$ شناخته می‌شود ولی علاوه بر آن، مارکرهای پلاکتی مثل $CD41$ ، مارکر اریتروئیدی مثل $GP-A$ ، مارکر T سل مثل $CD10$ و $CD28$ و مارکرهای میلومونوسیتی مثل $CD11b$ ، $CD11c$ ، $CD13$ و $CD33$ را نیز بیان می‌کند. لذا به نظر می‌رسد که مالتیپل میلوما نیز همانند CML/CGL

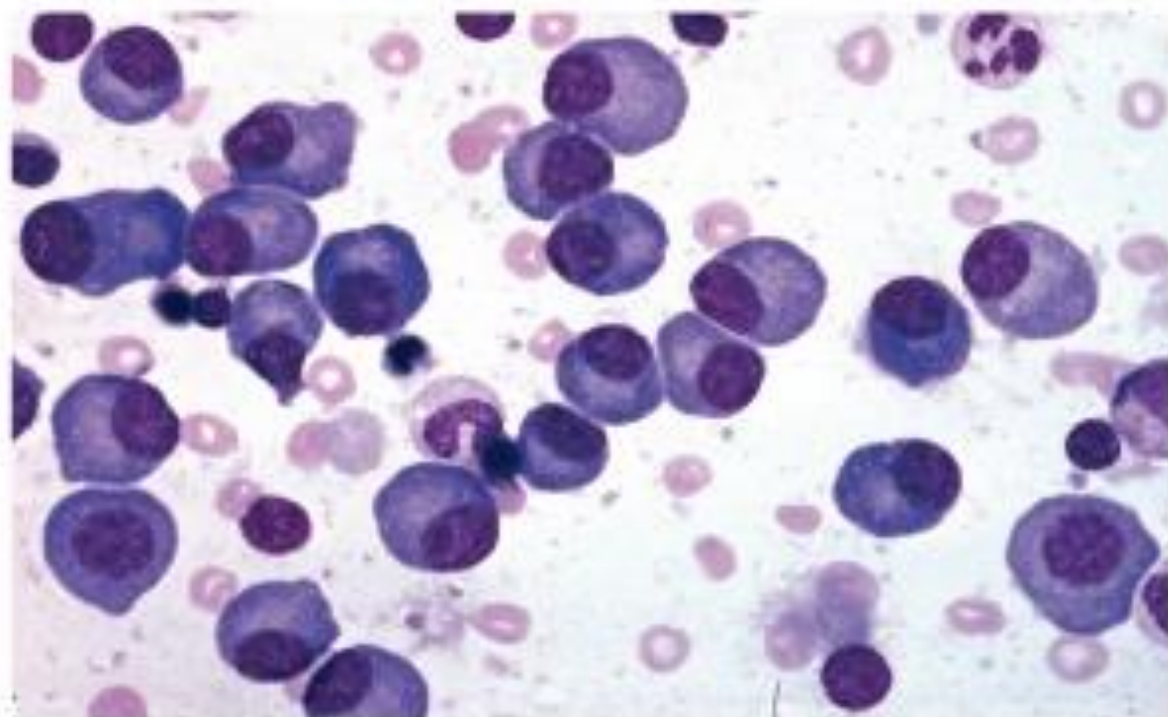
Blood Film morphology:

- A characteristic feature on PB smear is bluish background and red cell rouleaux formation due to hypergammaglobulinemia. Rouleaux formation may interfere with blood grouping.
- Differential count may show neutropenia with relative lymphocytic predominance and few plasma cells. In plasma cell leukemia, plasma cells are $\geq 20\%$ in PB.
- A leucoerythroblastic blood picture is observed in a minority of cases.



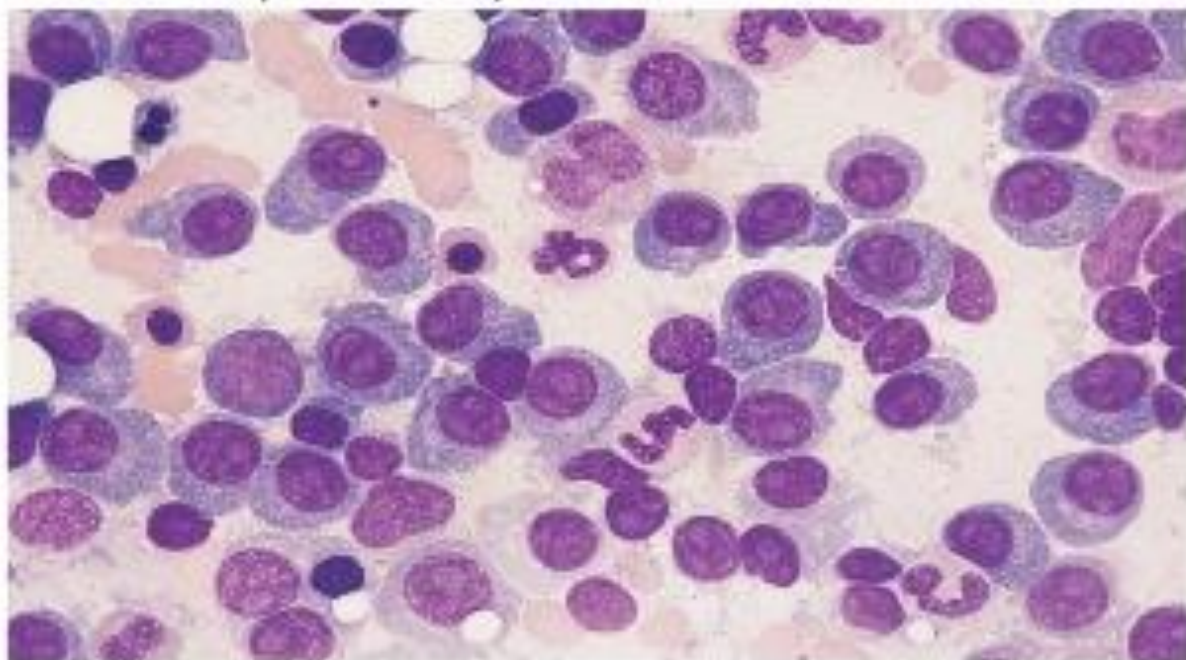
a. The mature-type myeloma:

- Cytoplasm: abundant, deeply basophilic cytoplasm with a perinuclear clear area or 'hof' representing Golgi zone.
- Nucleus: eccentrically-placed nucleus with coarse chromatin and no nucleoli.



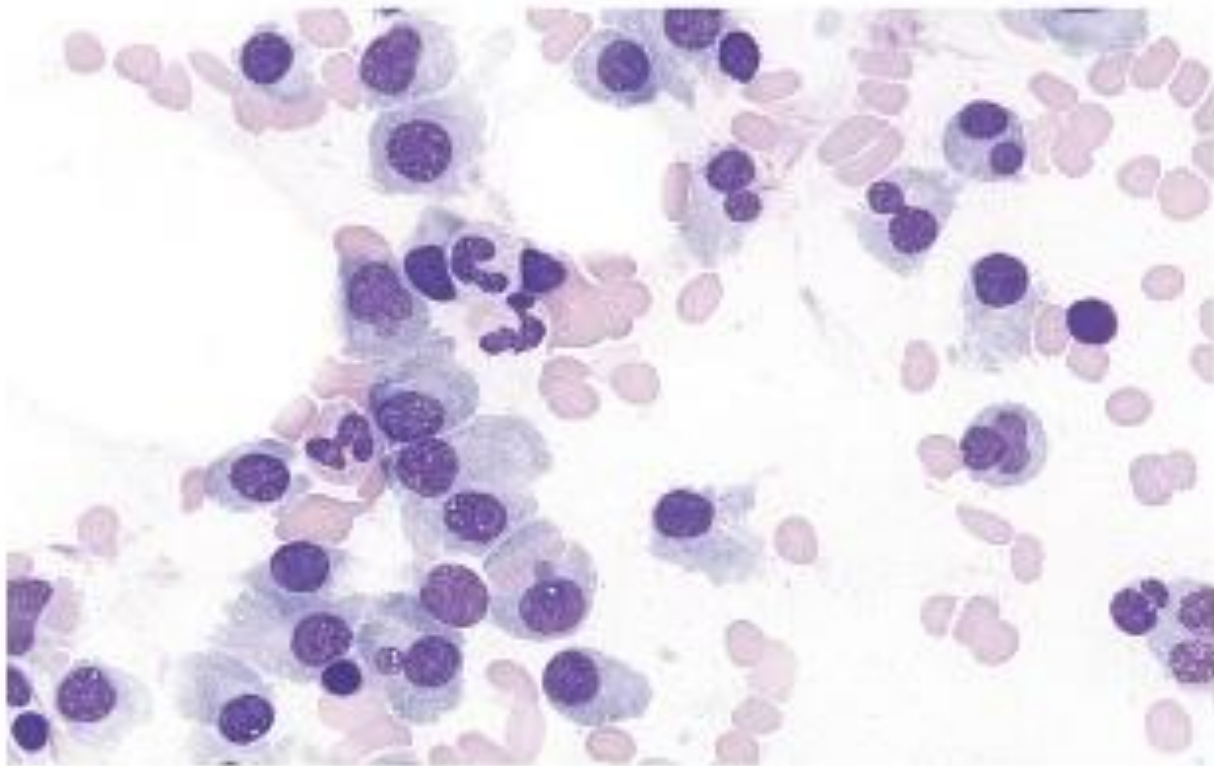
b. The immature-type myeloma:

- Size: Larger than typical plasma cells.
- Nucleus: Larger nucleus, which may be centrally or eccentrically located, finely dispersed nuclear chromatin, one or two prominent nucleoli. They may be bi-or multinucleated.
- Cytoplasm: Light blue cytoplasm.
- Pleomorphism may be seen.



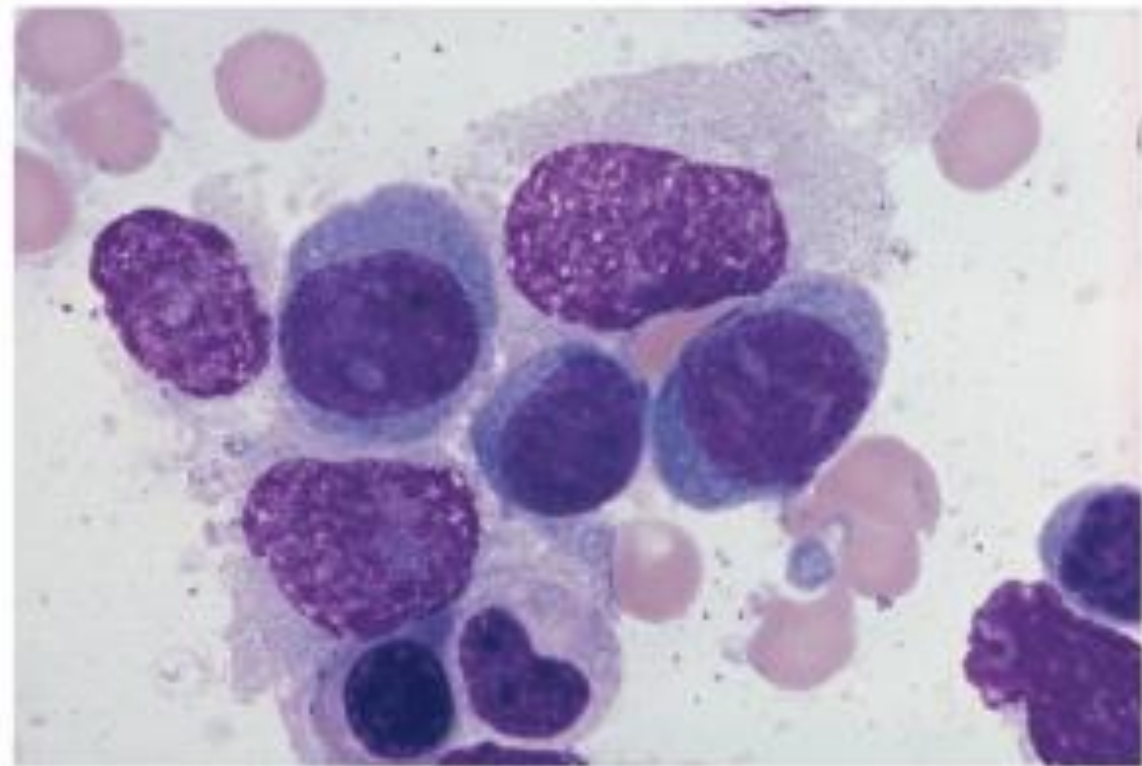
c. The intermediate-type myeloma:

- The plasma cells exhibit features intermediate between mature and immature types of myeloma.
- They have moderately dispersed chromatin and occasional small nucleoli; several have lobated nuclei, and two are binucleate.



d. The plasmablastic myeloma:

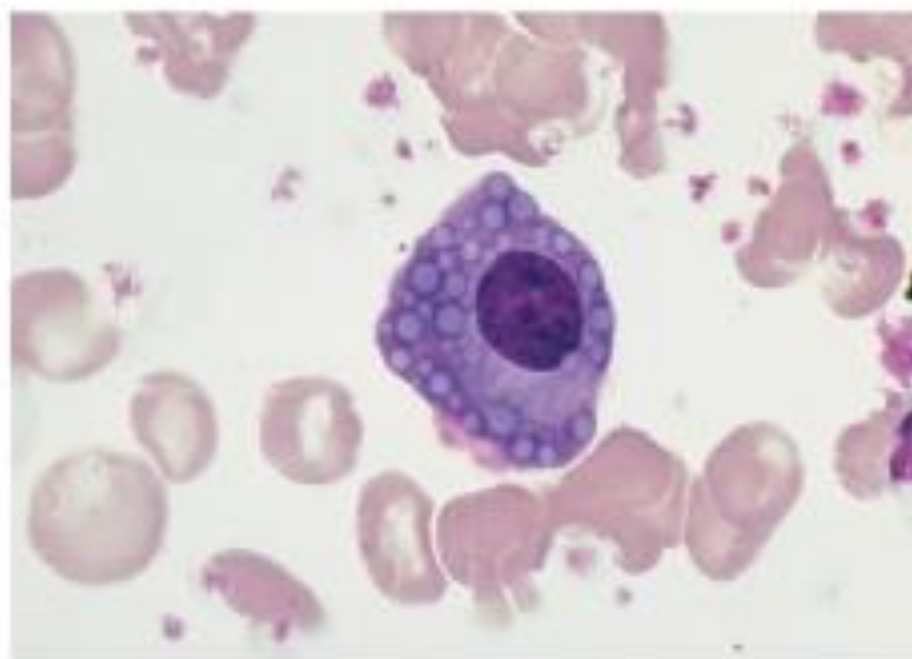
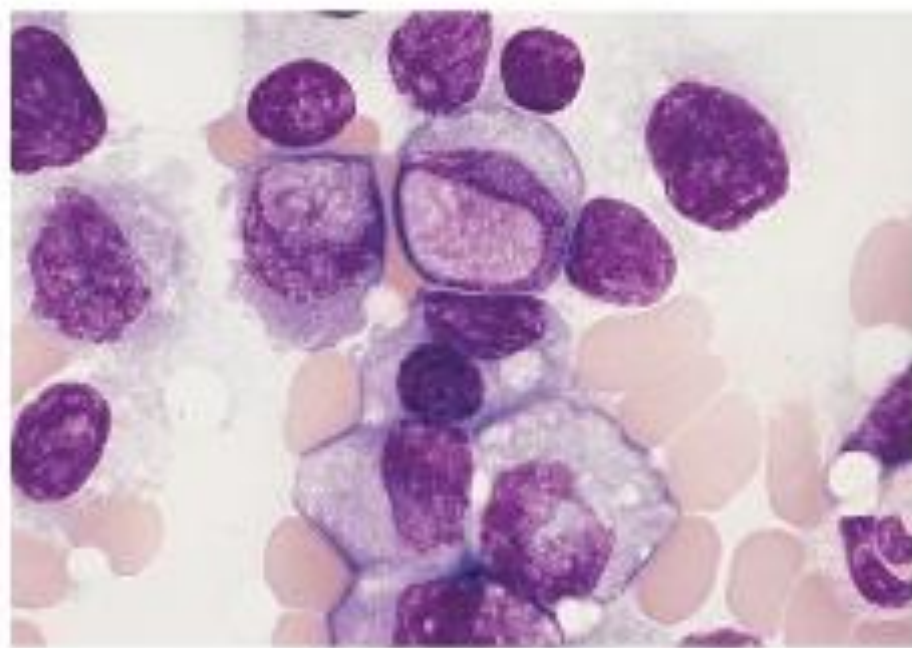
- Plasma cells are atypical with a high nuclear-to-cytoplasmic ratio.
- The nuclei have dispersed chromatin and contain small nucleoli.



- Intracellular accumulations of immunoglobulins may produce distinctive morphological features such as:

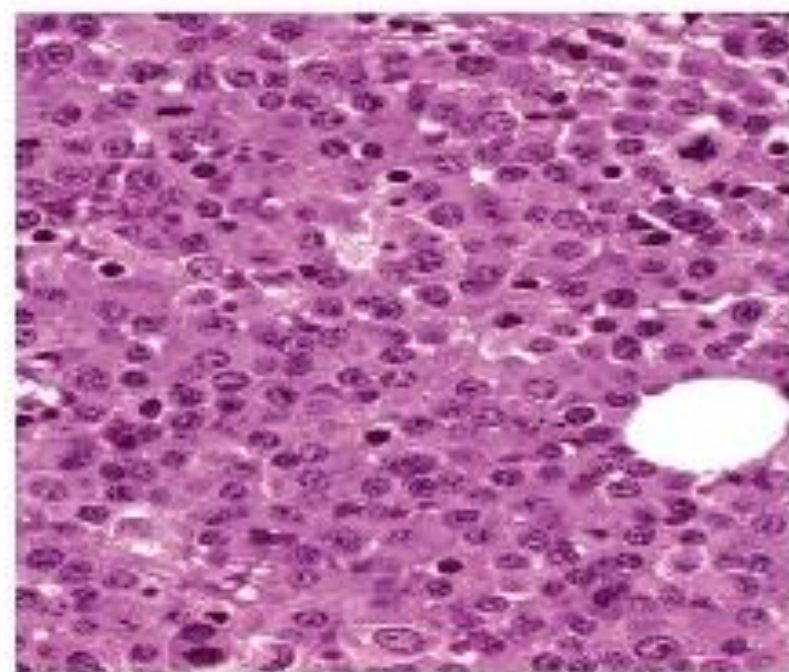
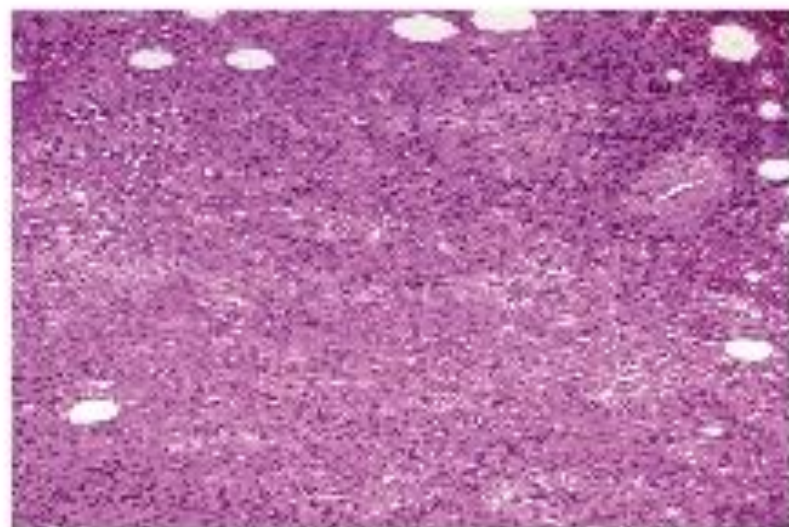
- Mott cells or morula cells (numerous 'grape-like' pale bluish cytoplasmic inclusions)
- Dutcher bodies.
- Russell bodies (round hyaline inclusions in cytoplasm).

- These features also occur in reactive plasmacytosis.



2. Bone marrow biopsy:

- Large clusters or sheets of plasma cells on BM biopsy are highly suggestive of a neoplastic rather than a reactive disorder.
- A staging system has been proposed based on percentage of marrow space replaced by myeloma in bone marrow trephine biopsies:
 - **Stage I:** Less than 20% of BM is replaced by plasma cells.
 - **Stage II:** 20 to 50% of BM is replaced by plasma cells.
 - **Stage III:** More than 50% of BM is replaced by plasma cells.
- The extent of involvement in BM biopsy sections usually reflects the overall tumor burden. There appears to be good correlation between histologic stage, clinical stage, and prognosis



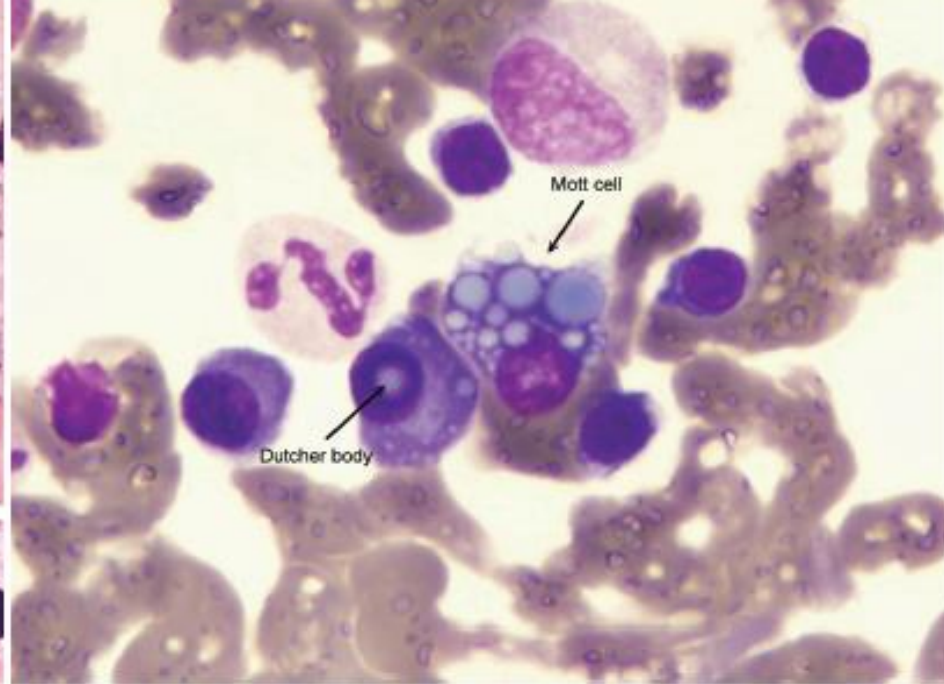
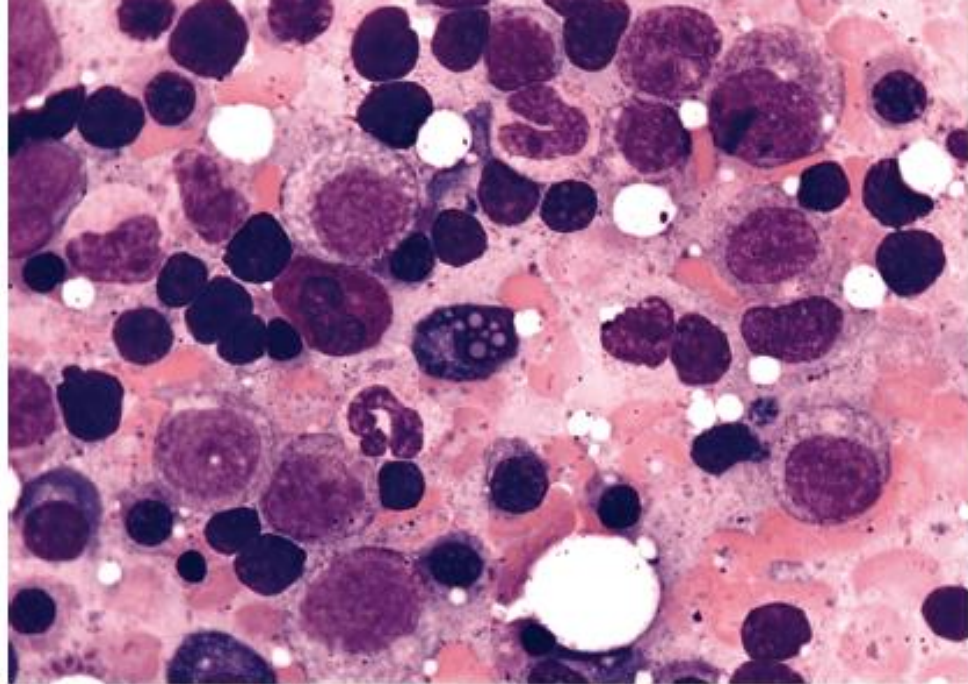
3. Immunophenotypic analysis:

Normal Plasma Cells:

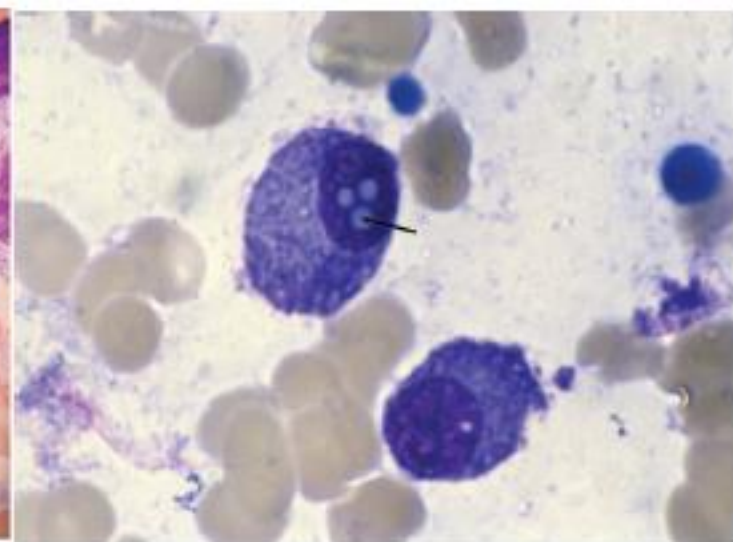
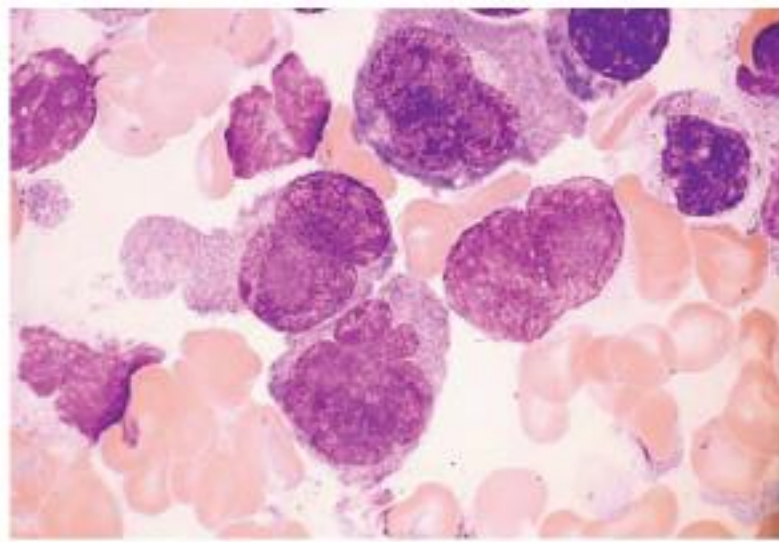
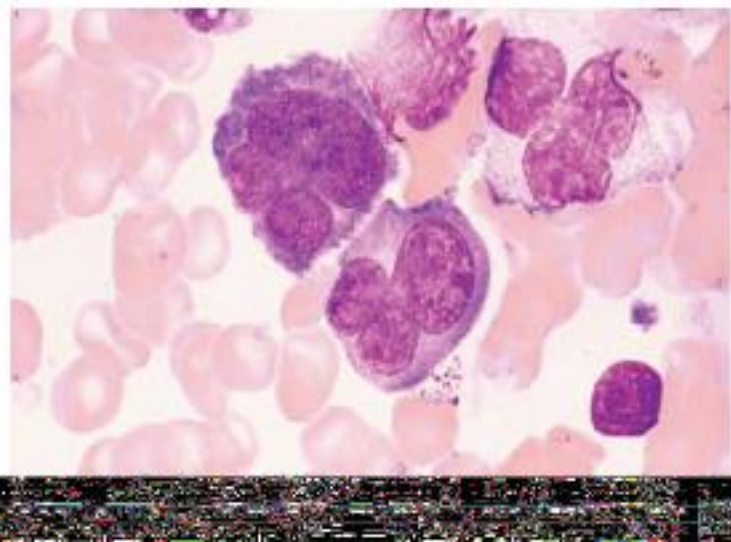
1. **Bright CD38 expression.** CD38 expression is not specific for plasma cells, as it is seen at various levels on virtually all other nucleated marrow subsets, but normal plasma cells express higher levels of CD38 than any other normal hematolymphoid cell population.
2. **Express CD138,** and this antigen is essentially specific for plasma cells among hematolymphoid cells.
3. **Positive** for **CD19** and **CD45**.
4. **Negative** for **CD20** and **CD56**.
5. Normal plasma cell populations express **polytypic cytoplasmic immunoglobulin**, with kappa: lambda ratios in the range of 1-2: 1, but occasionally as high as 4: 1 in reactive plasma cell proliferations.
6. Additional immunophenotypic findings in normal plasma cells include **bright expression** of **CD27** and **CD81** and **lack of CD28, CD117, and CD200**.

Neoplastic Plasma Cells:

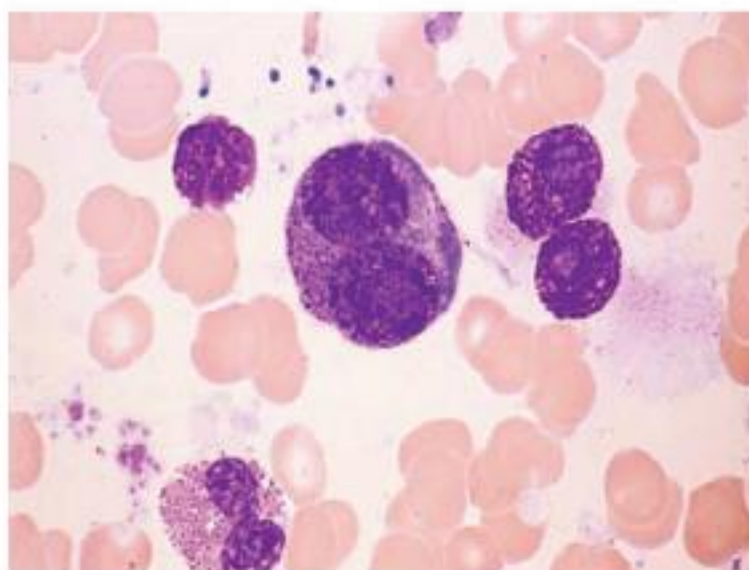
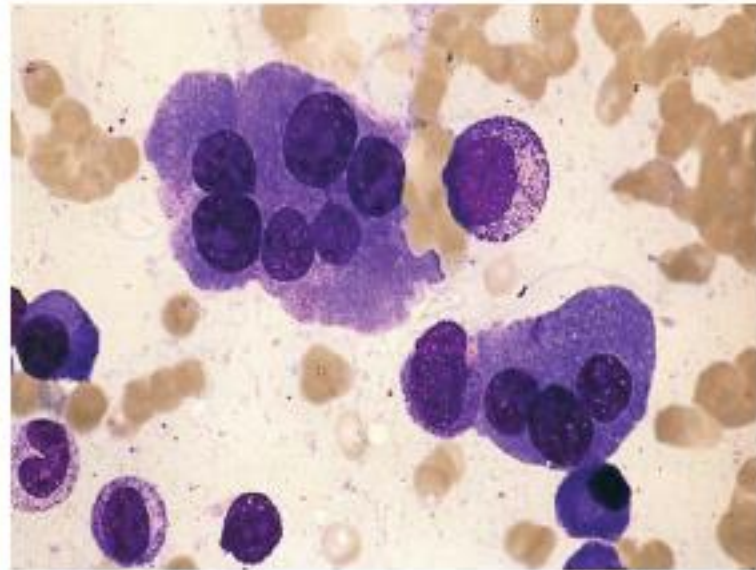
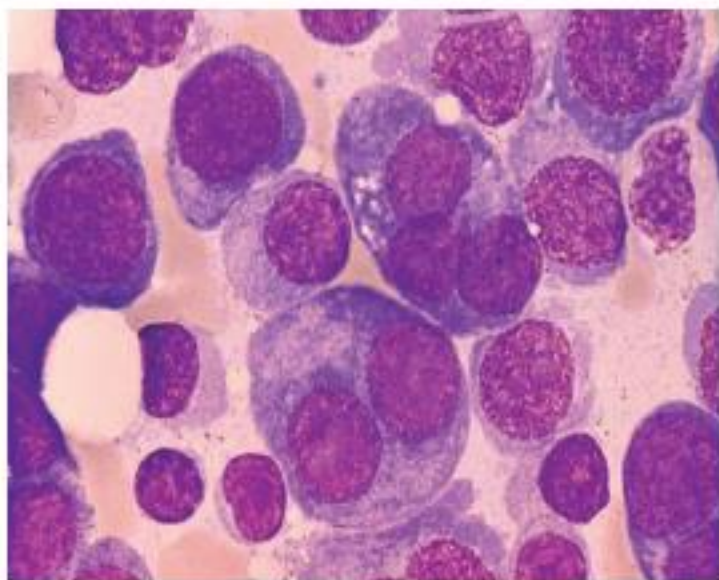
1. PCM cells express CD38 and CD138, but ***CD138 expression tends to be brighter*** and ***CD38 dimmer*** than in normal plasma cells.
2. ***CD19*** is absent in about 95% of PCM cases.
3. ***CD56*** is **positive** in 60% to 80%.
4. ***CD45*** decreases with maturation of plasma cells, and variability of CD45 expression is a common feature in myeloma; the plasma cells with the brightest CD45 represent the proliferative compartment.
5. **Monoclonal kappa or lambda** light chains
6. ***CD20*** is **expressed** in approximately 10% to 20% of PCMs.
7. ***CD117*** is **positive** in 30%.
8. ***CD200*** is **positive** in 60% to 75%.



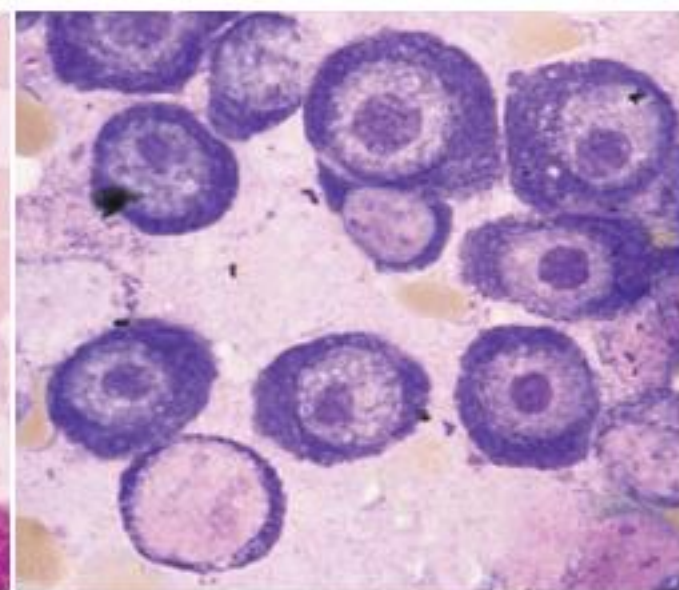
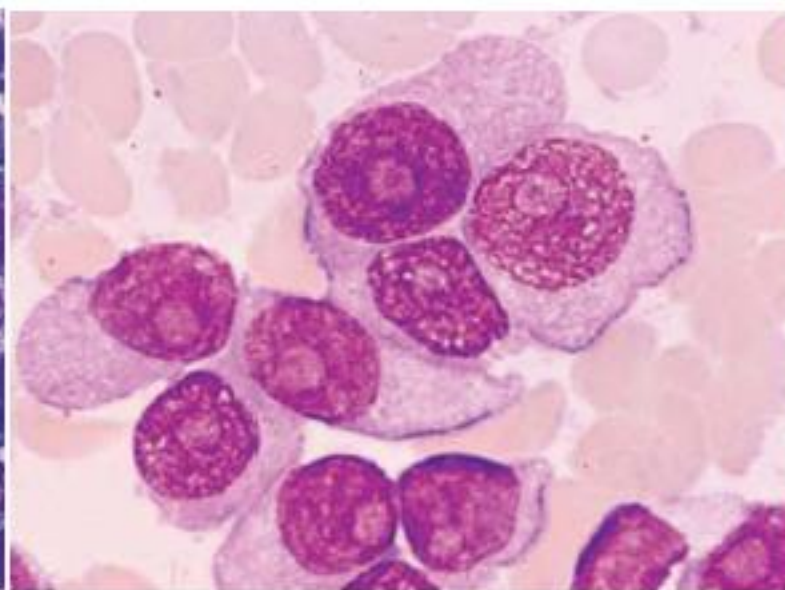
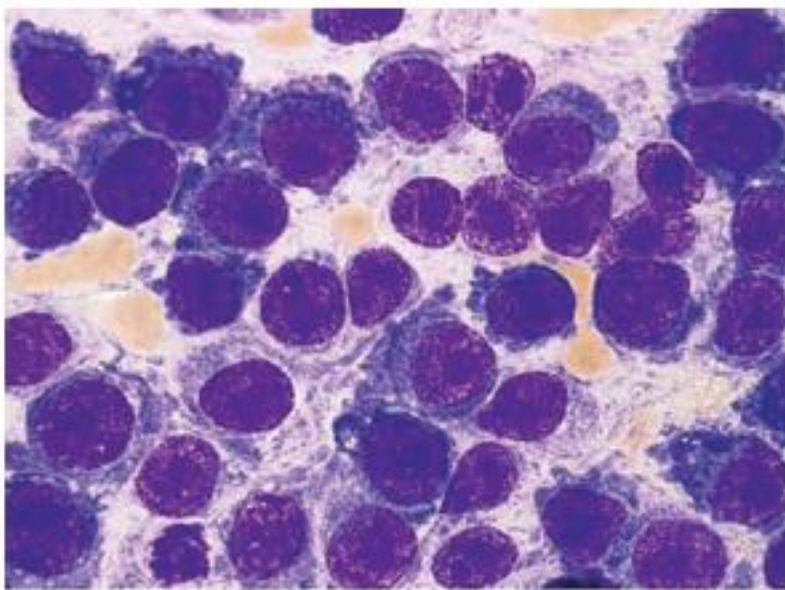
شکل ۶۵-۷۷: اجسام داچر در داخل هسته پلاسماسل های بدخیم



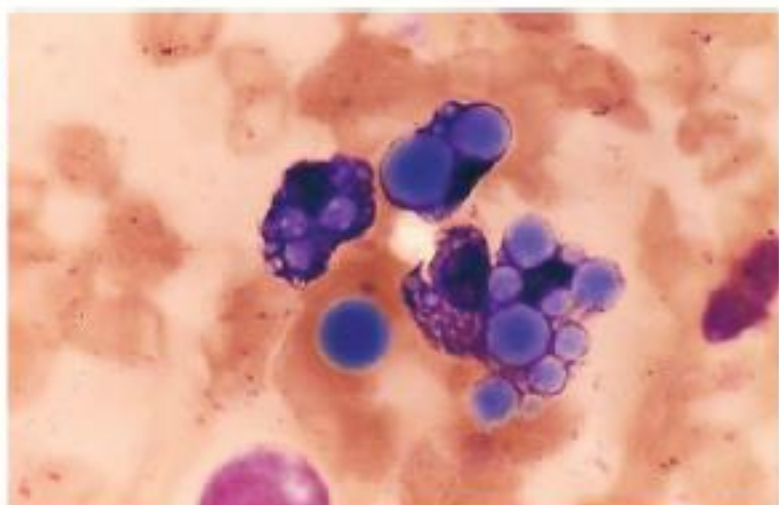
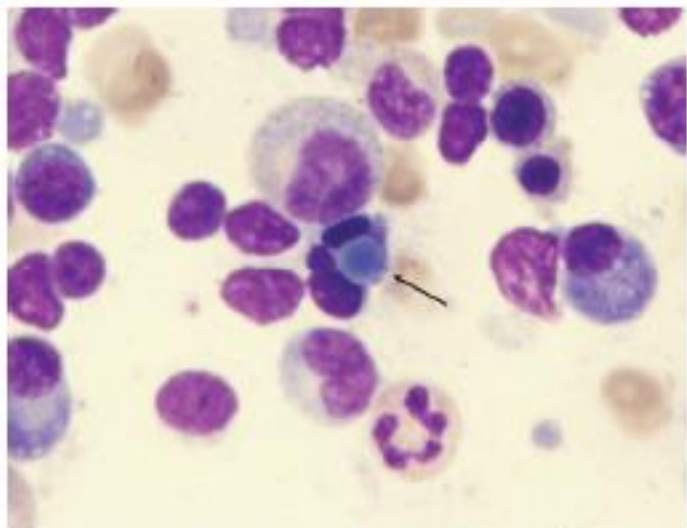
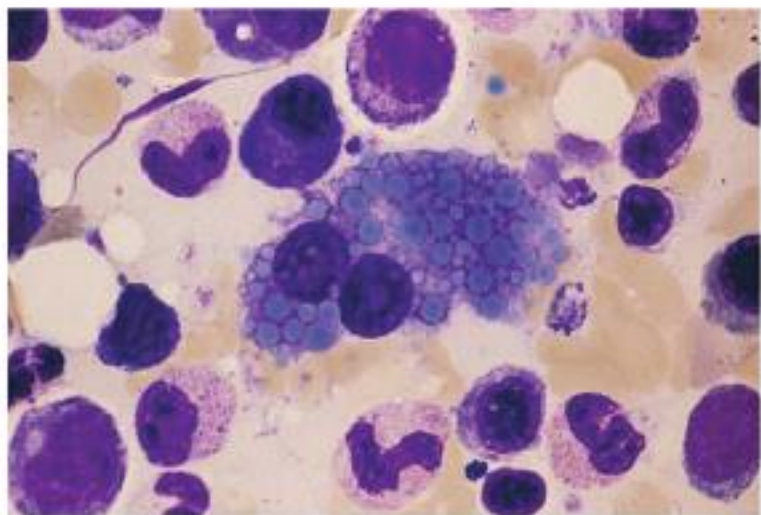
شکل ۶۸-۷۷: از راست به چپ: اجسام داچر در داخل هسته، هسته های لوبوله و شبیه مونوبلاست در پلاسماسل های نابالغ و بدخیم که نسبت N/C نامتناسبی را نشان داده و CD33+ هستند.



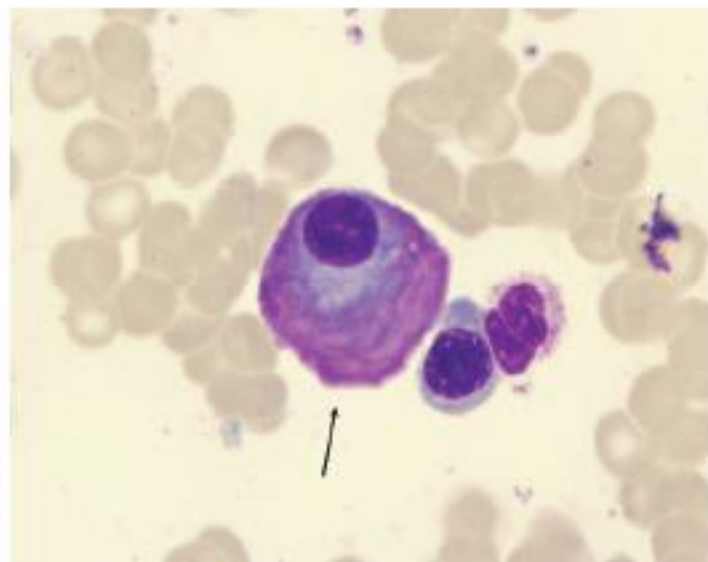
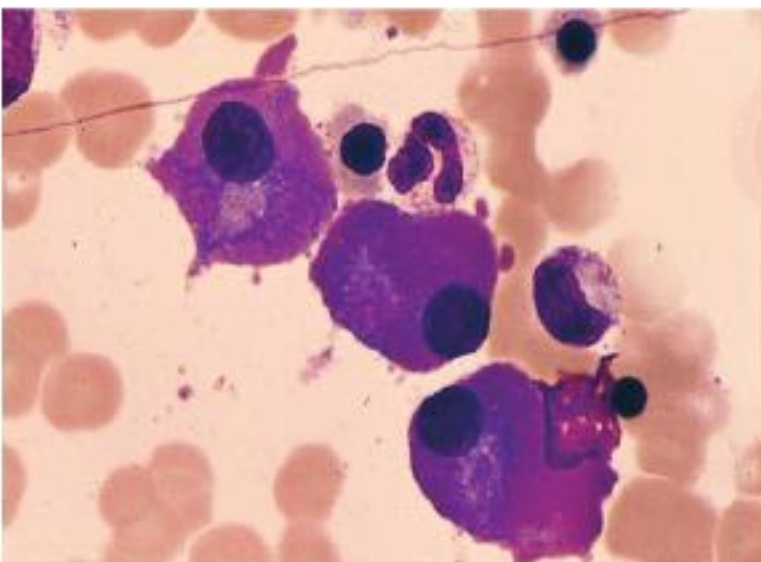
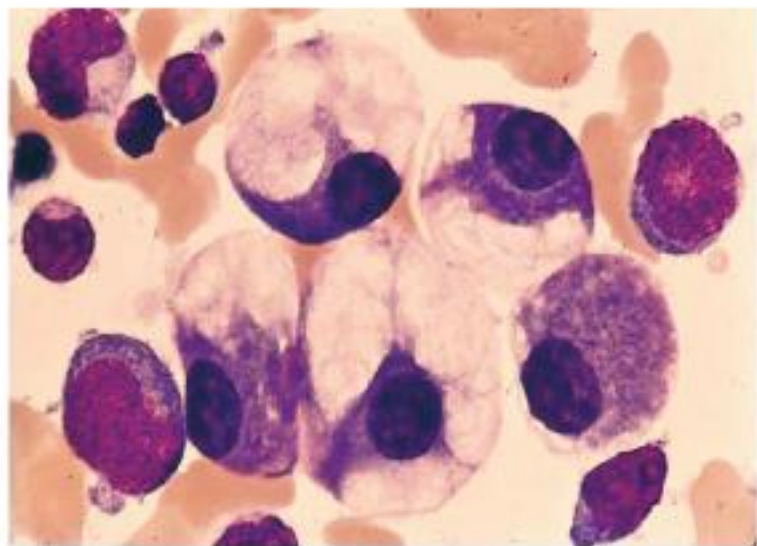
شکل ۶۶-۷۷: پلاسماسل‌های نابالغ، بدخیم و دیس‌مورفیک که به صورت دو یا چند هسته‌ای دیده می‌شوند. پلاسماسل در این حالت می‌تواند شبیه اوستئوکلاست دیده شود.



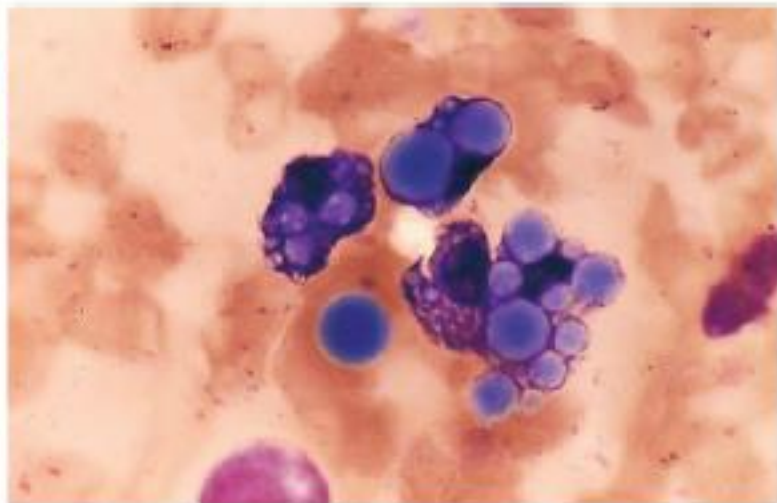
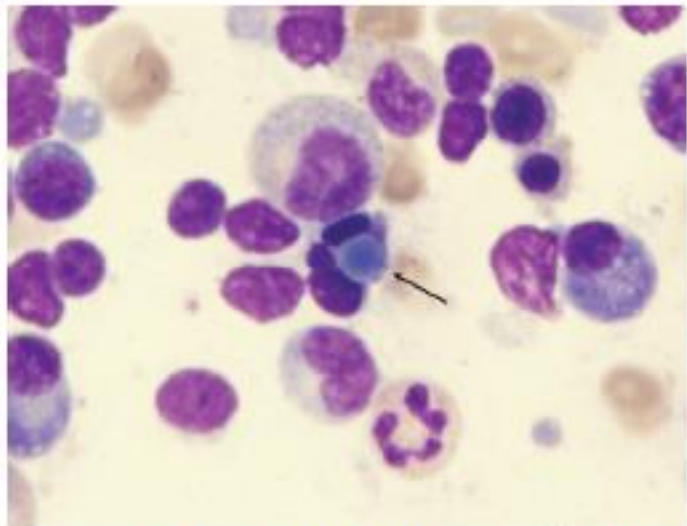
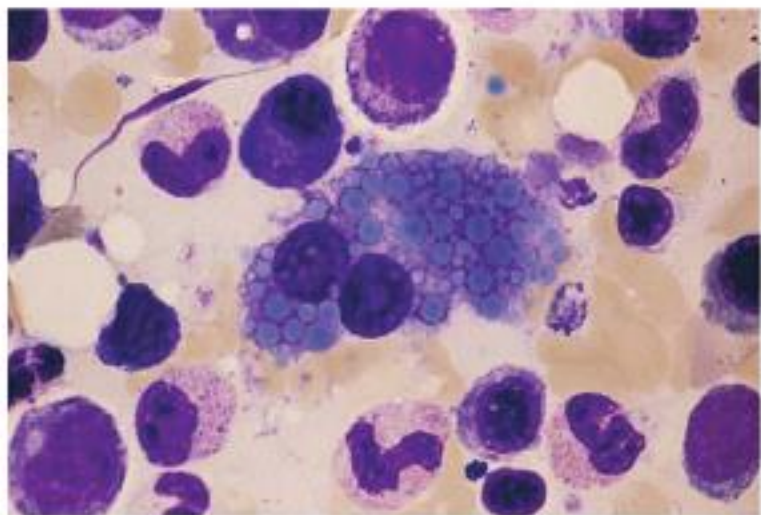
شکل ۶۷-۷۷: هستک‌های متمایز، بزرگ و منفرد در هسته پلاسماسل‌های میلومایی



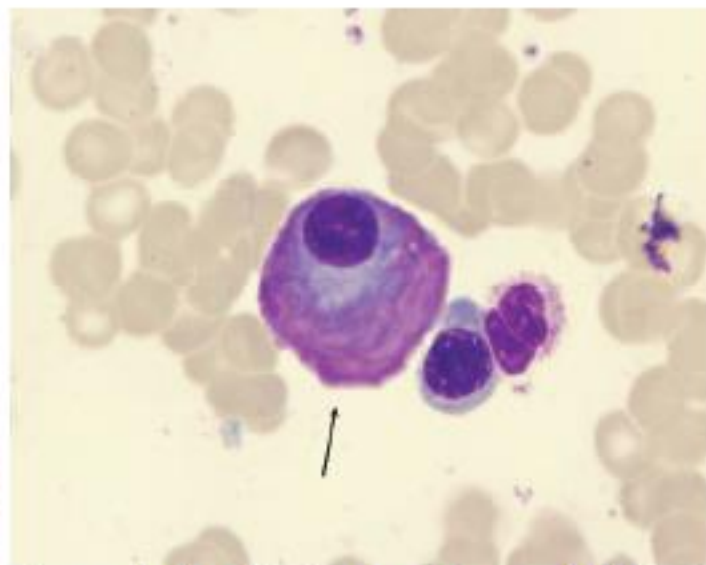
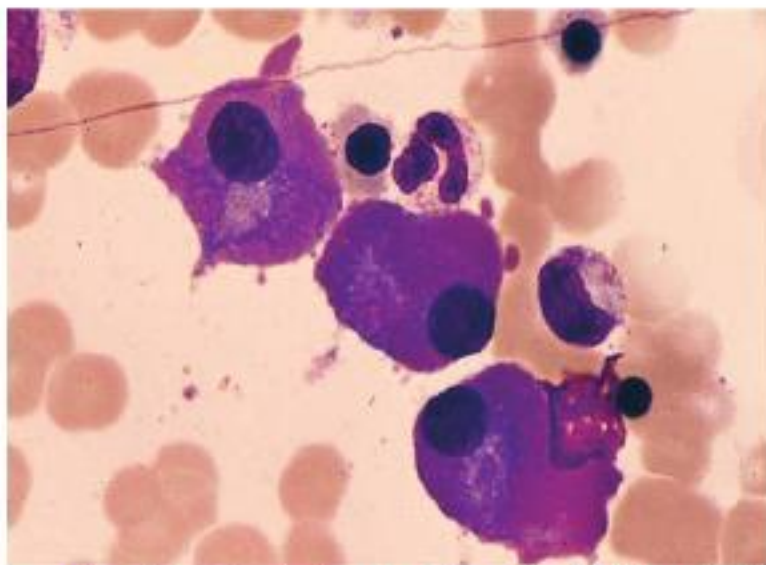
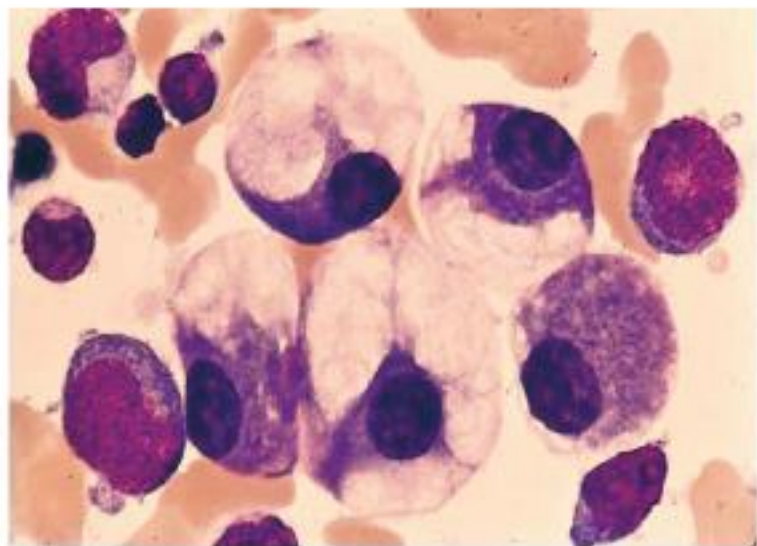
شکل ۷۰-۷۷: واکوئل‌های بزرگ راسل بادی در داخل پلاسماسل‌های میلومایی. گاهی برخی از راسل بادی‌ها می‌توانند از سلول خارج شده و در محیط آزاد شوند. اجسام راسل و داچر PAS+ هستند.



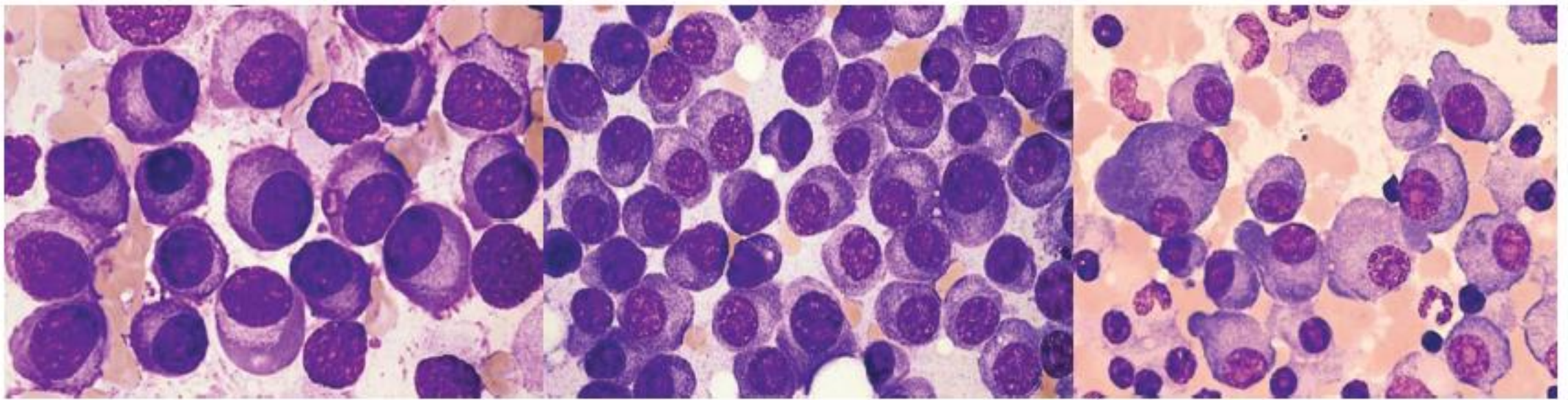
شکل ۷۱-۷۷: تصویر راست و وسط) سلول شعله‌مانند در یک بیمار MM:IgA که یک مورفولوژی خاص از پلاسماسل می‌باشد. تصویر چپ) پلاسماسل‌هایی با واکوئل درشت در یک بیمار میلومایی.



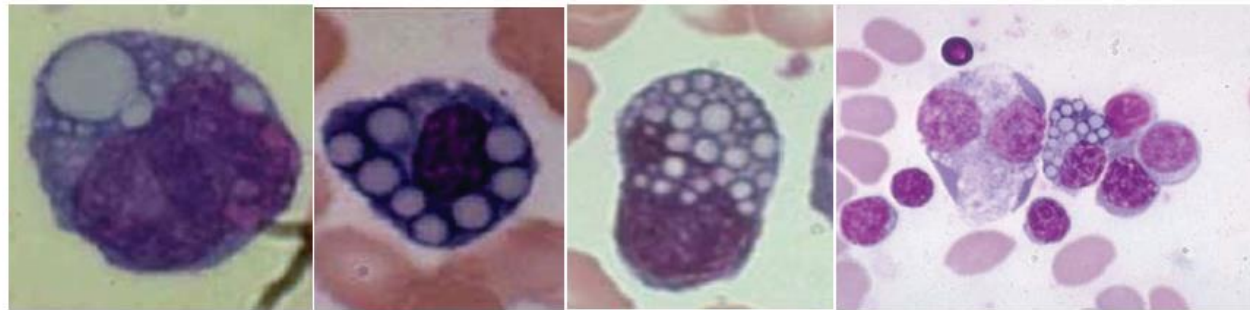
شکل ۷۰-۷۷: واکوئل‌های بزرگ راسل بادی در داخل پلاسماسل‌های میلومایی. گاهی برخی از راسل بادی‌ها می‌توانند از سلول خارج شده و در محیط آزاد شوند. اجسام راسل و داچر PAS+ هستند.



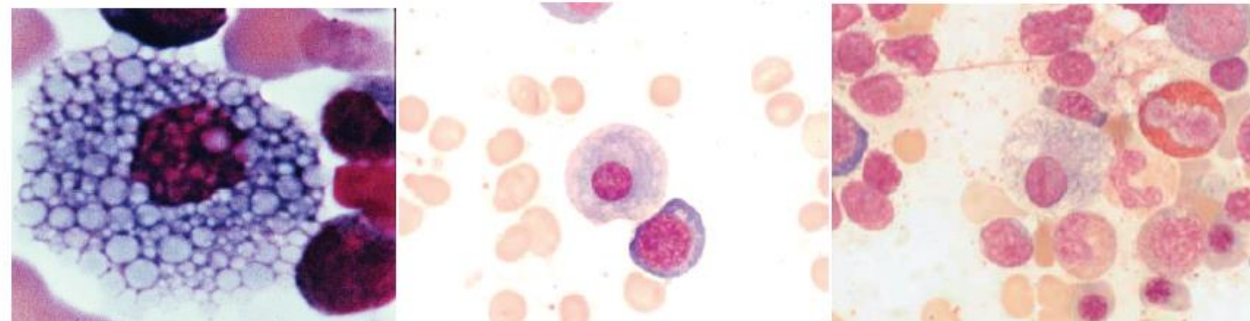
شکل ۷۱-۷۷: تصویر راست و وسط) سلول شعله‌مانند در یک بیمار MM:IgA که یک مورفولوژی خاص از پلاسماسل می‌باشد. تصویر چپ) پلاسماسل‌هایی با واکوئل درشت در یک بیمار میلومایی.



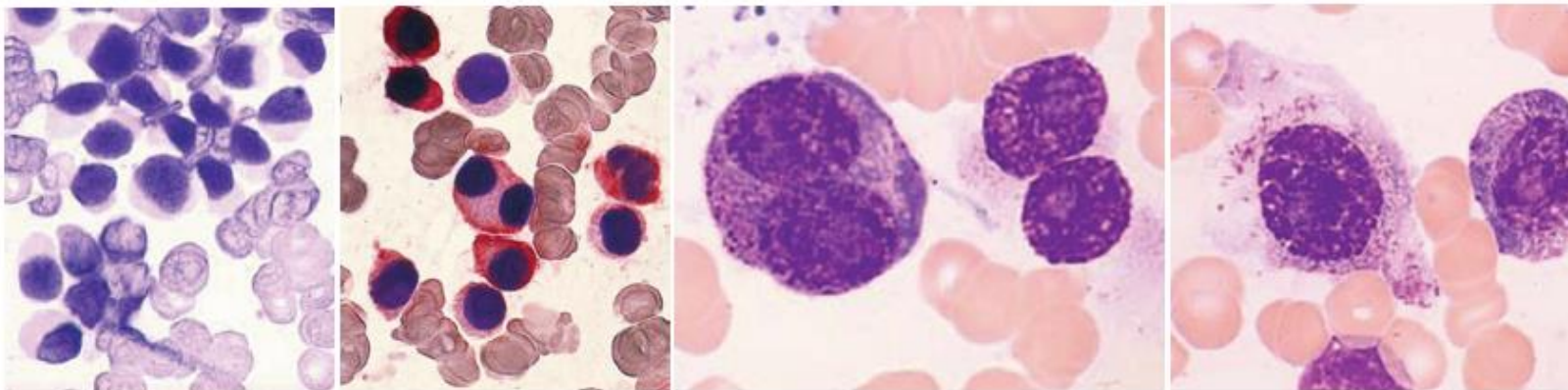
شکل ۷۲-۷۷: راست) پلاسماسل‌های نسبتاً پلئومورفیک توأم با هستک و یک پلاسماسل دوهسته‌ای. وسط) پلاسماسل‌های بالغ فراوان با زون گلژی و هستک‌های مشخص و چپ) پلاسماسل‌های حد واسطه فرم کلاسیک و فلیم سل (شعله‌ای)



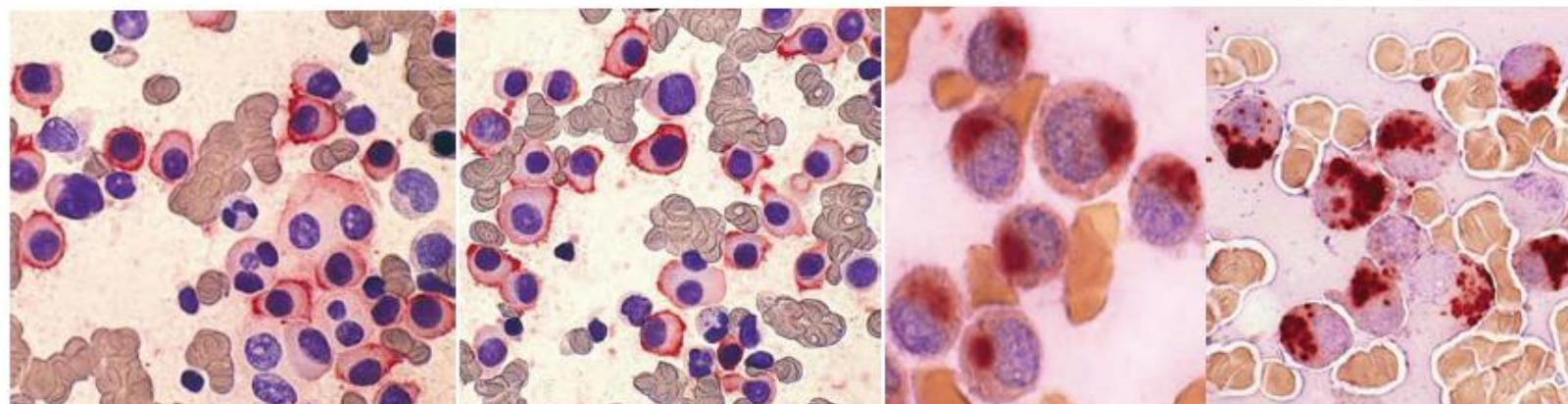
شکل ۷۳-۷۷: انواع موتسل (پلاسماسل انگوری شکل)



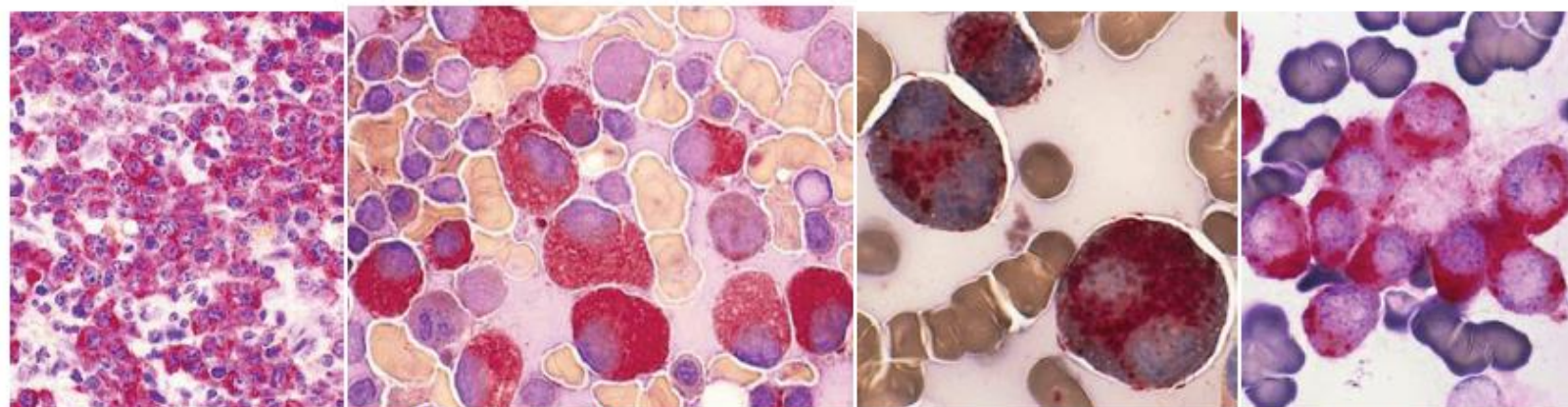
شکل ۷۴-۷۷: انواع سلول‌های تیزوروبیست (سلول‌های مغزنی شکل)



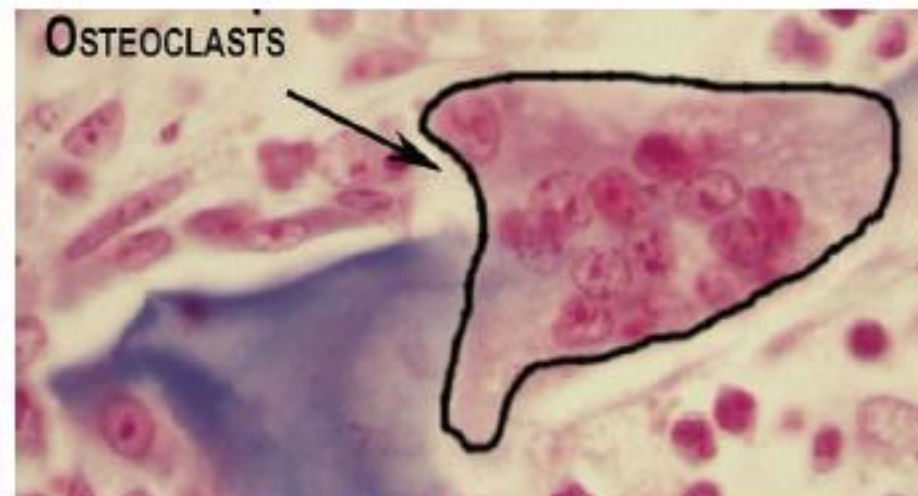
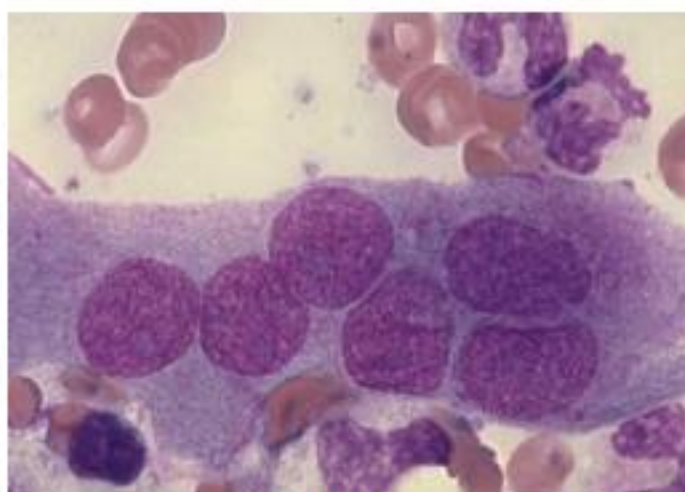
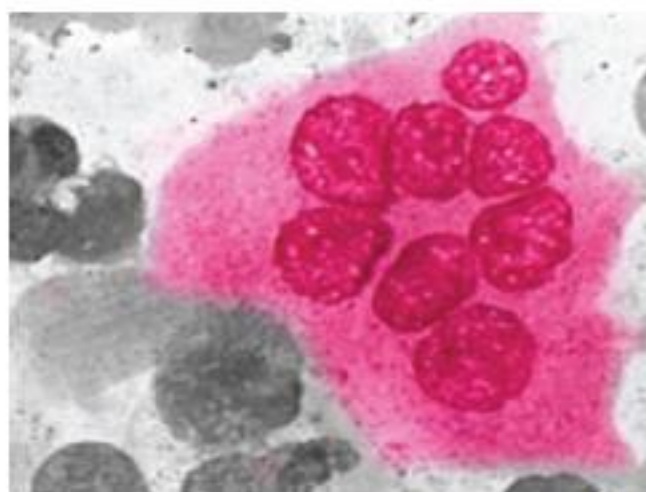
شکل ۷۷-۷۸: پلاسماسل‌های CD33+ گرانول‌دار که نسبت به mc-Ab ضد CD13 نیز واکنش قوی نشان داده ولی نسبت به CD19 منفی می‌باشند.



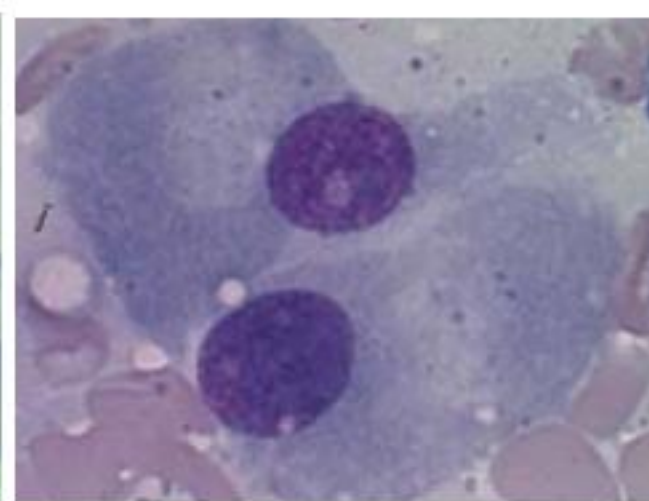
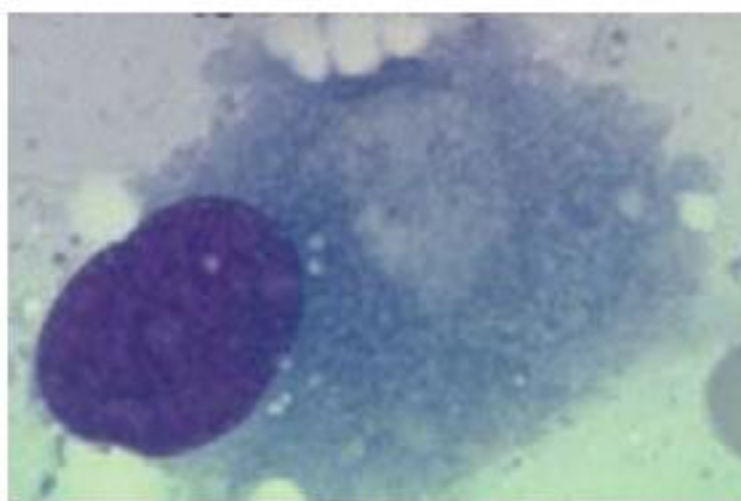
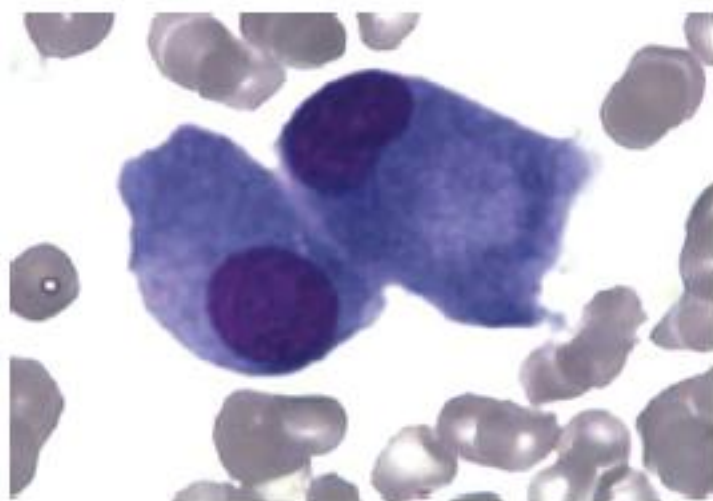
شکل ۷۷-۷۹: از راست به چپ) تصویر ۱: واکنش مثبت نسبت به ANAE، تصویر ۳: واکنش مثبت CD38+ و تصویر ۴: واکنش مثبت برای CD56 (پروگنوز بد)



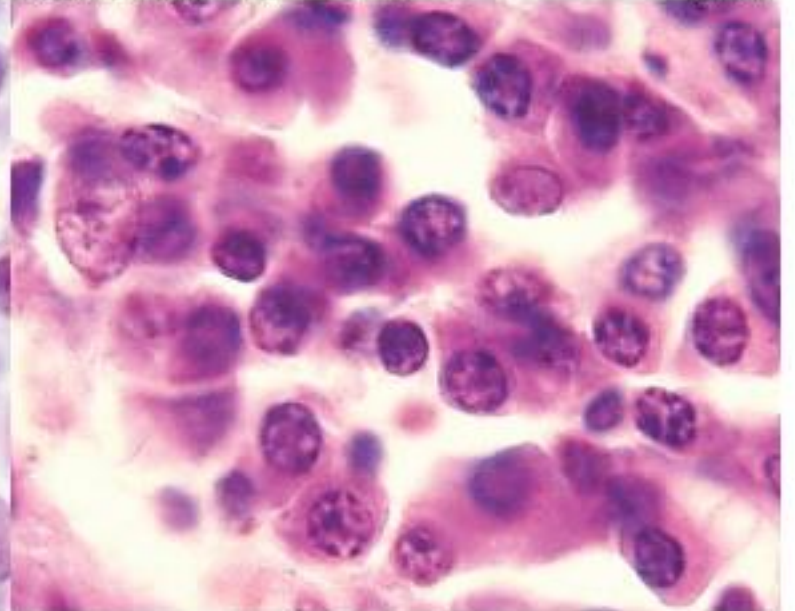
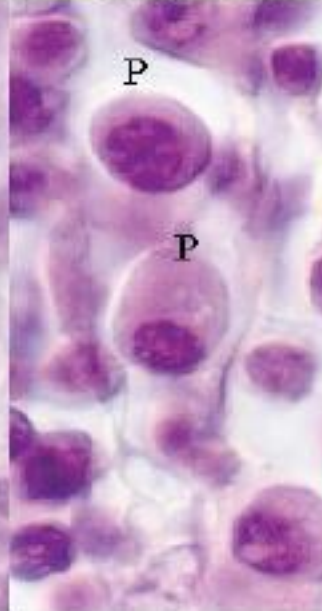
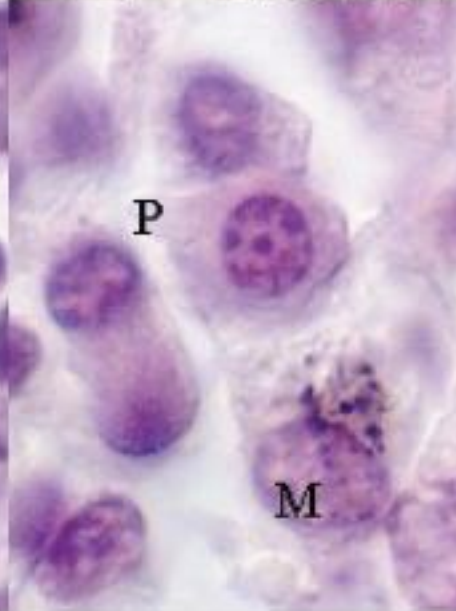
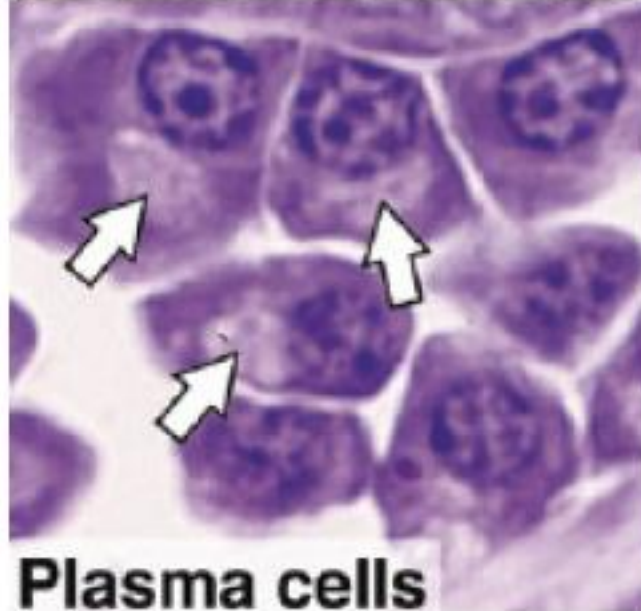
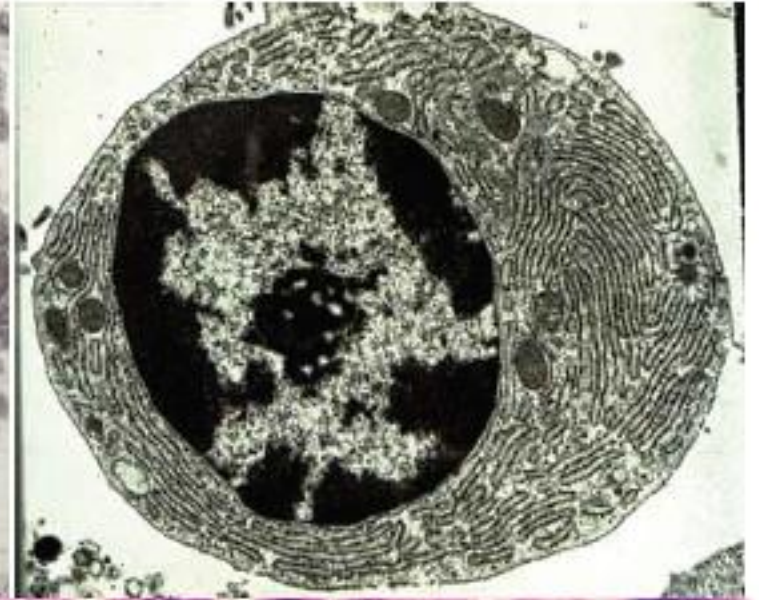
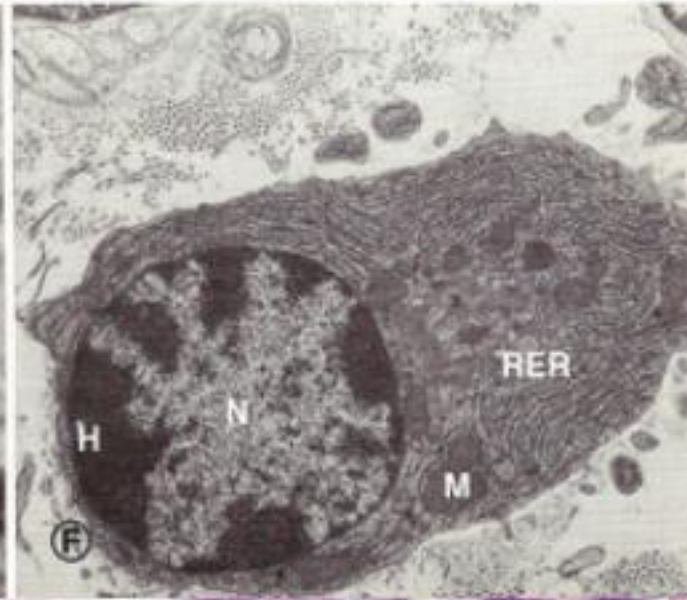
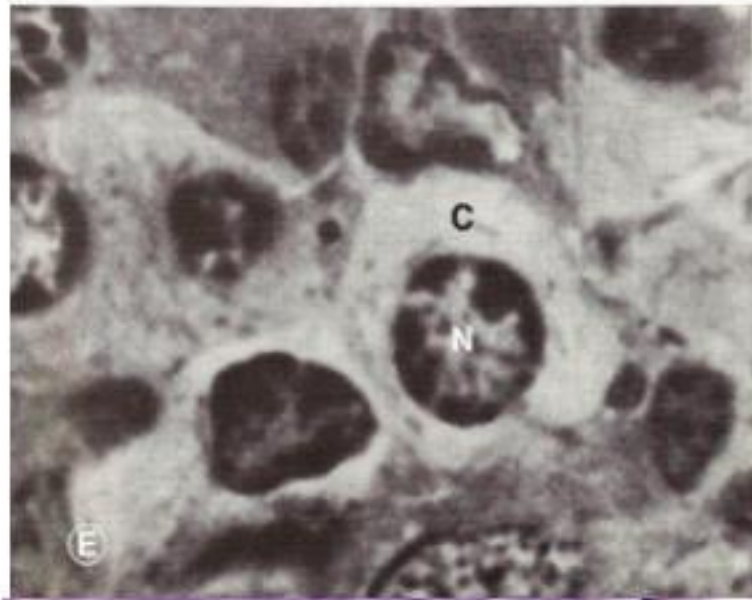
شکل ۷۷-۸۰: از راست به چپ) تصویر ۱: واکنش مثبت نسبت به ANAE، تصویر ۳: واکنش مثبت CD38+ و تصویر ۴: واکنش مثبت برای CD56 (پروگنوز بد)



شکل ۸۹-۷۷: اوستئوکلاست‌های چند هسته‌ای مشابه مگاکاریوسیت. این سلول‌ها فاقد پلاکت و پای کاذب در اطراف خود هستند.

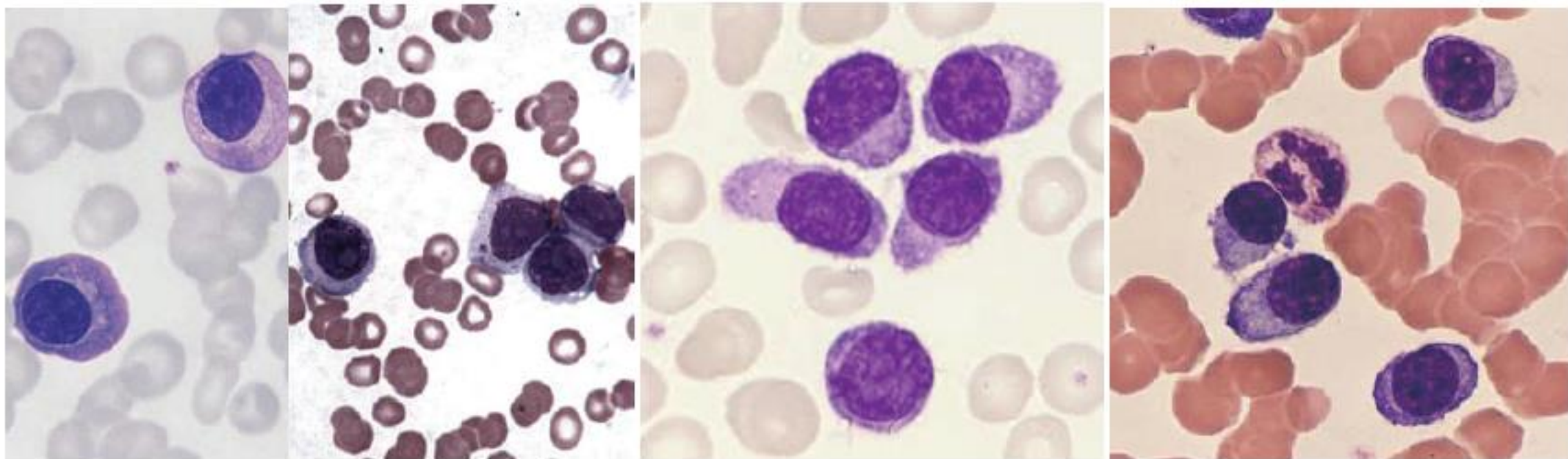


شکل ۹۰-۷۷: اوستئوبلاست‌های شبیه پلاسماسل که البته زون گلژی و هستک مشخص نداشته و به مراتب بزرگتر از PC می‌باشند.



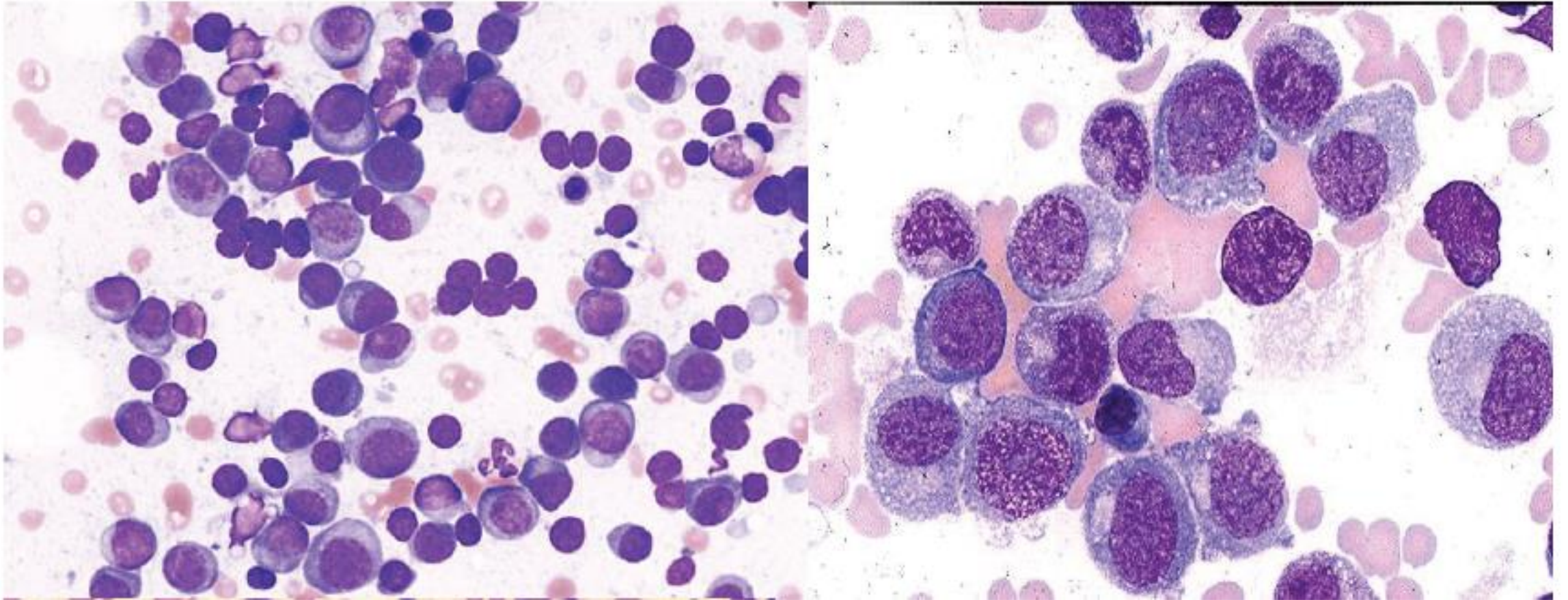
Plasma cells

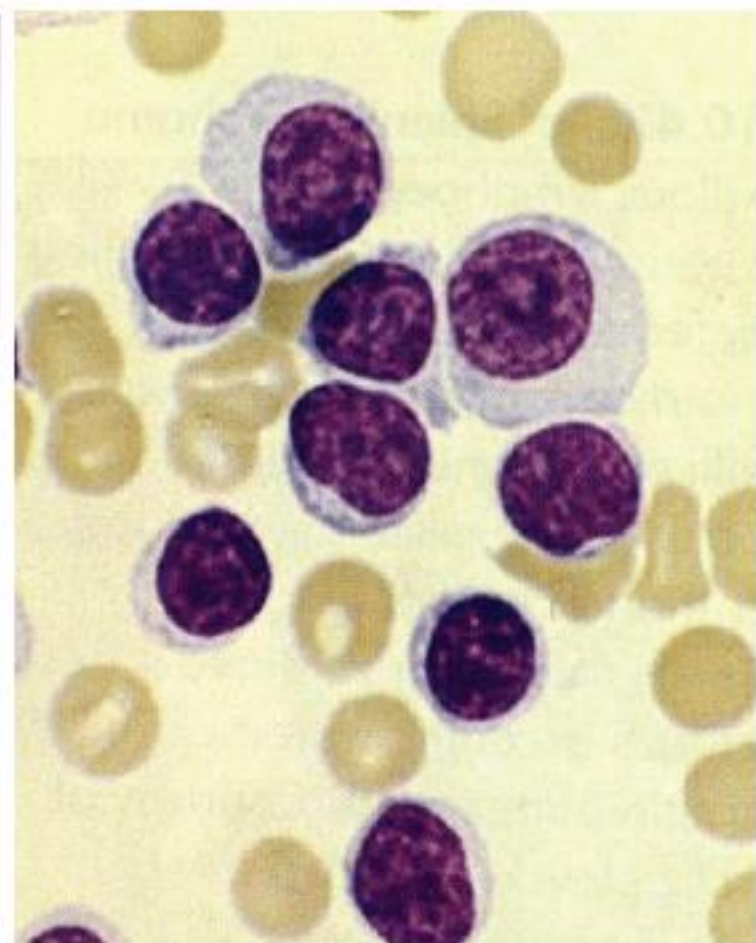
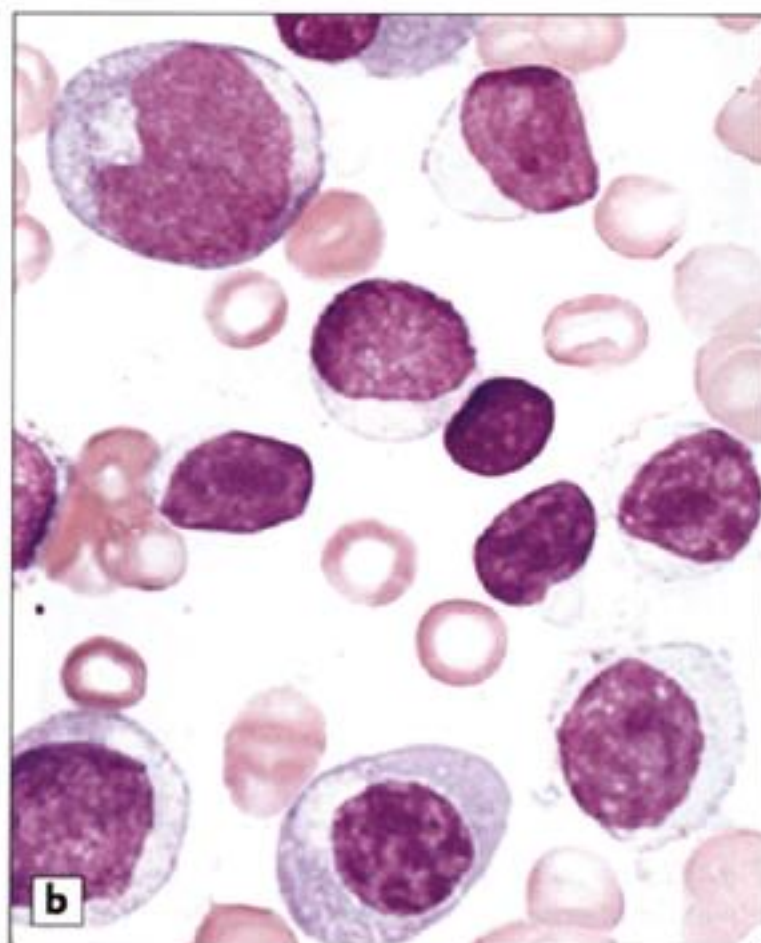
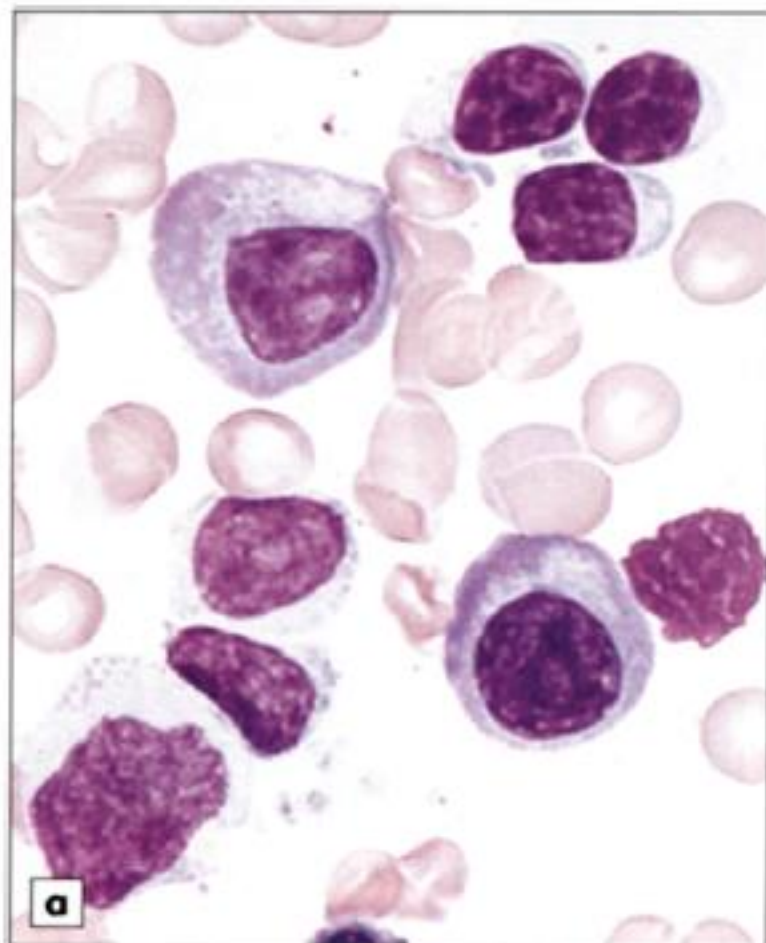
شکل ۱۵۸-۷۷: منظره چرخ درشکه‌ای پلاسماسل در برش بافتی از بیوپسی غده لنفاوی



شکل ۱۶۱-۷۷: لوسمی پلاسماسل به همراه سلول‌هایی که مشابه ایمونوبلاست هستند. به تشکیل رولو در گسترش خون محیطی بیماران توجه فرمایید.

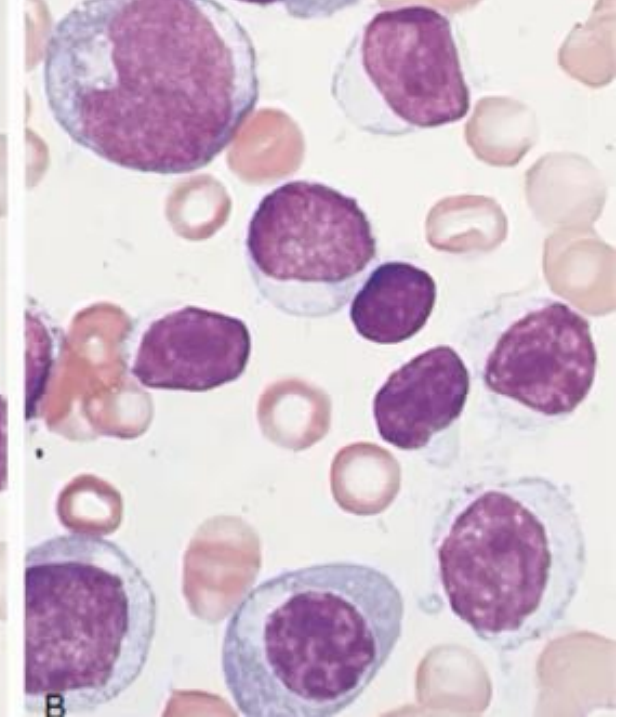
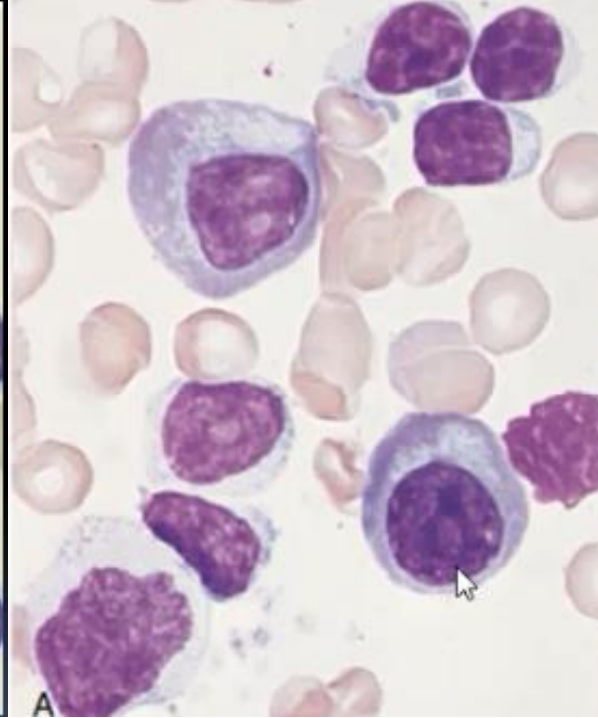
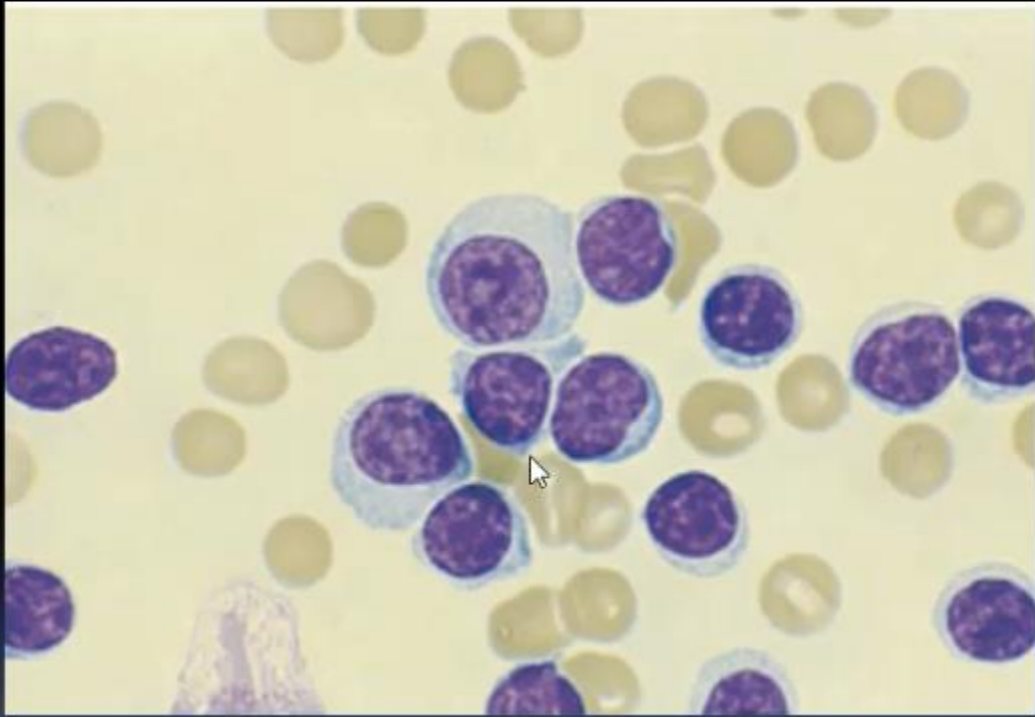
PCL

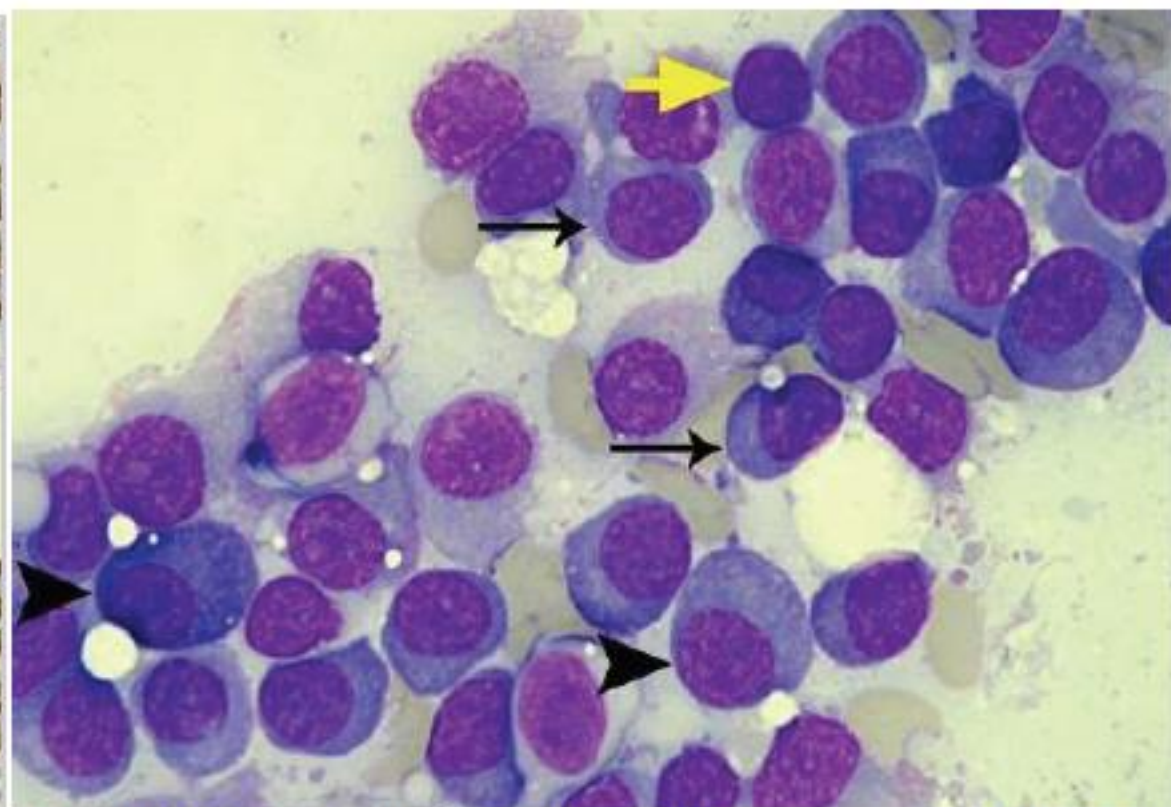
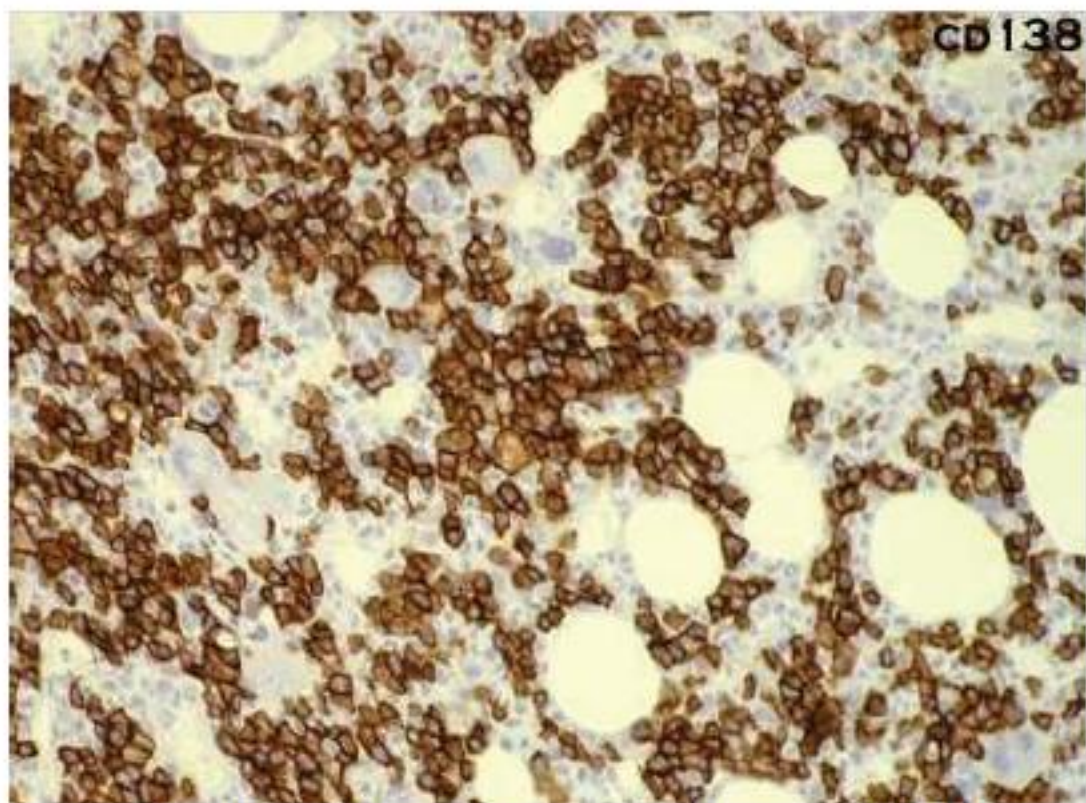




شکل ۱۹۶-۷۷: فاز لوسمیک در یک بیمار مبتلا به WM که در آن، خون و BM انبوهی از سلول‌های لنفوسیت و لنفوبلاسموئید را نشان می‌دهد، سلول‌های لنفوبلاسموسیتوئید خصوصیات توأم لنفوسیت و پلاسماسل را نشان می‌دهند.

Lymphoplasmacytic leukemia

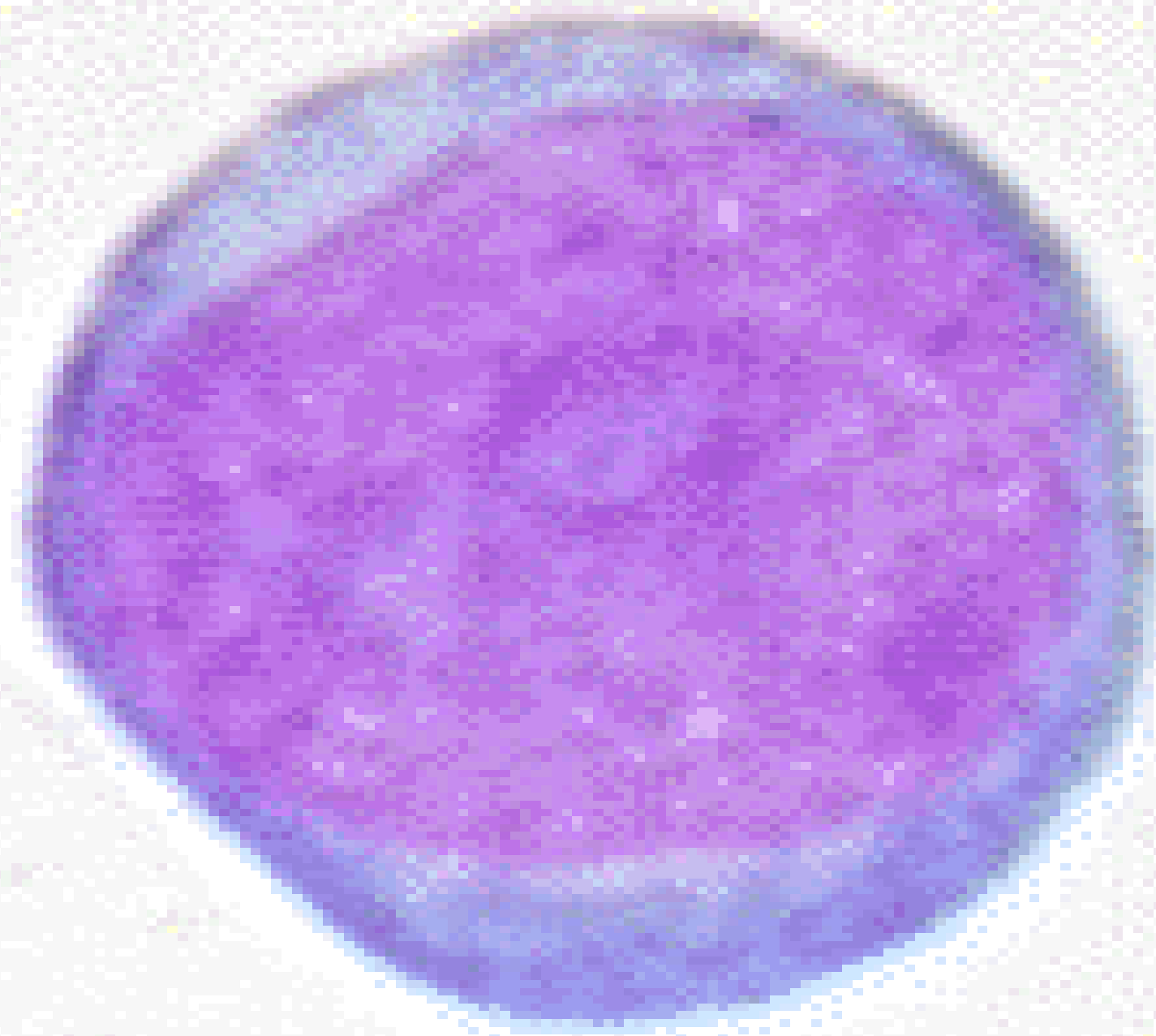


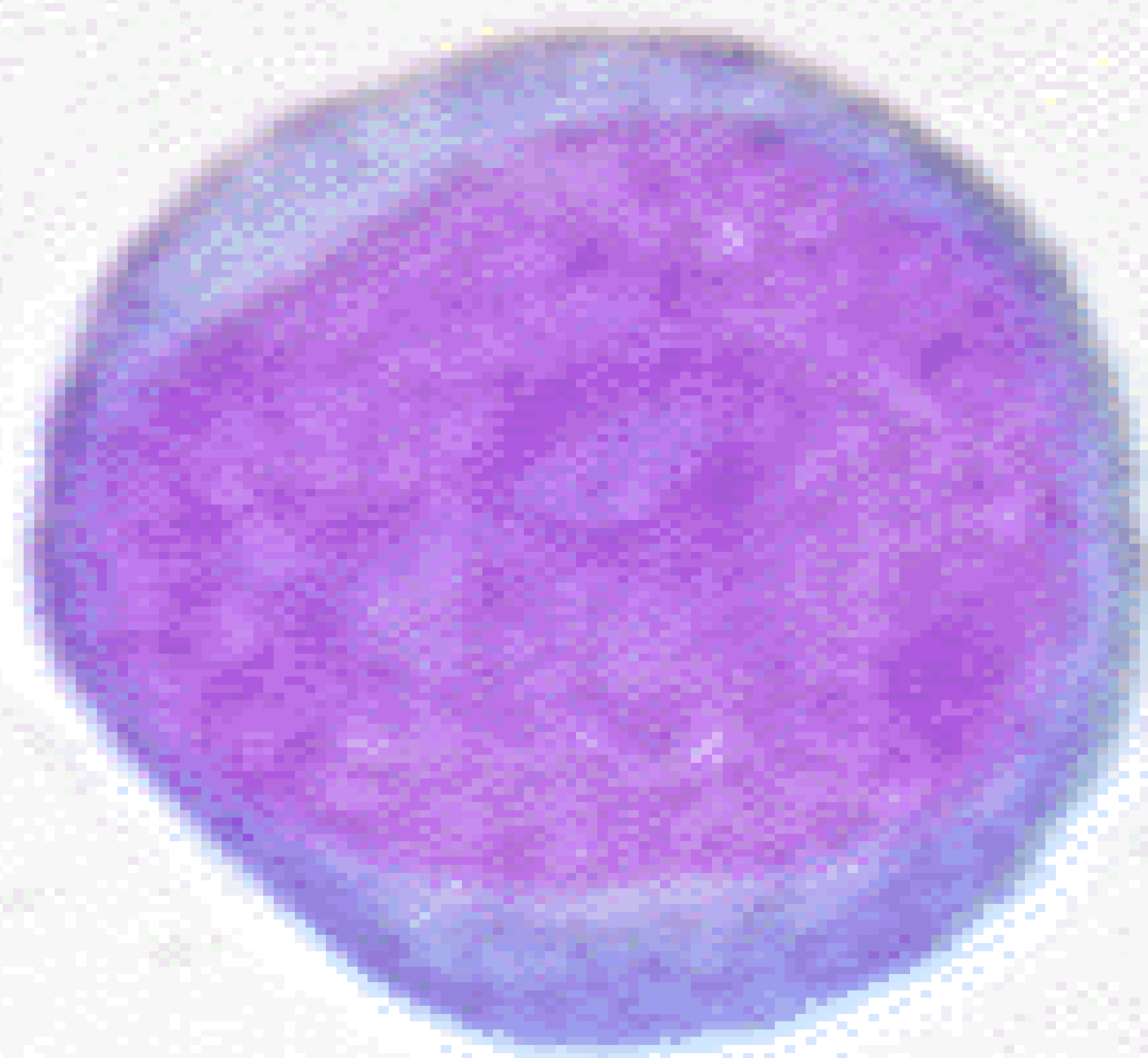


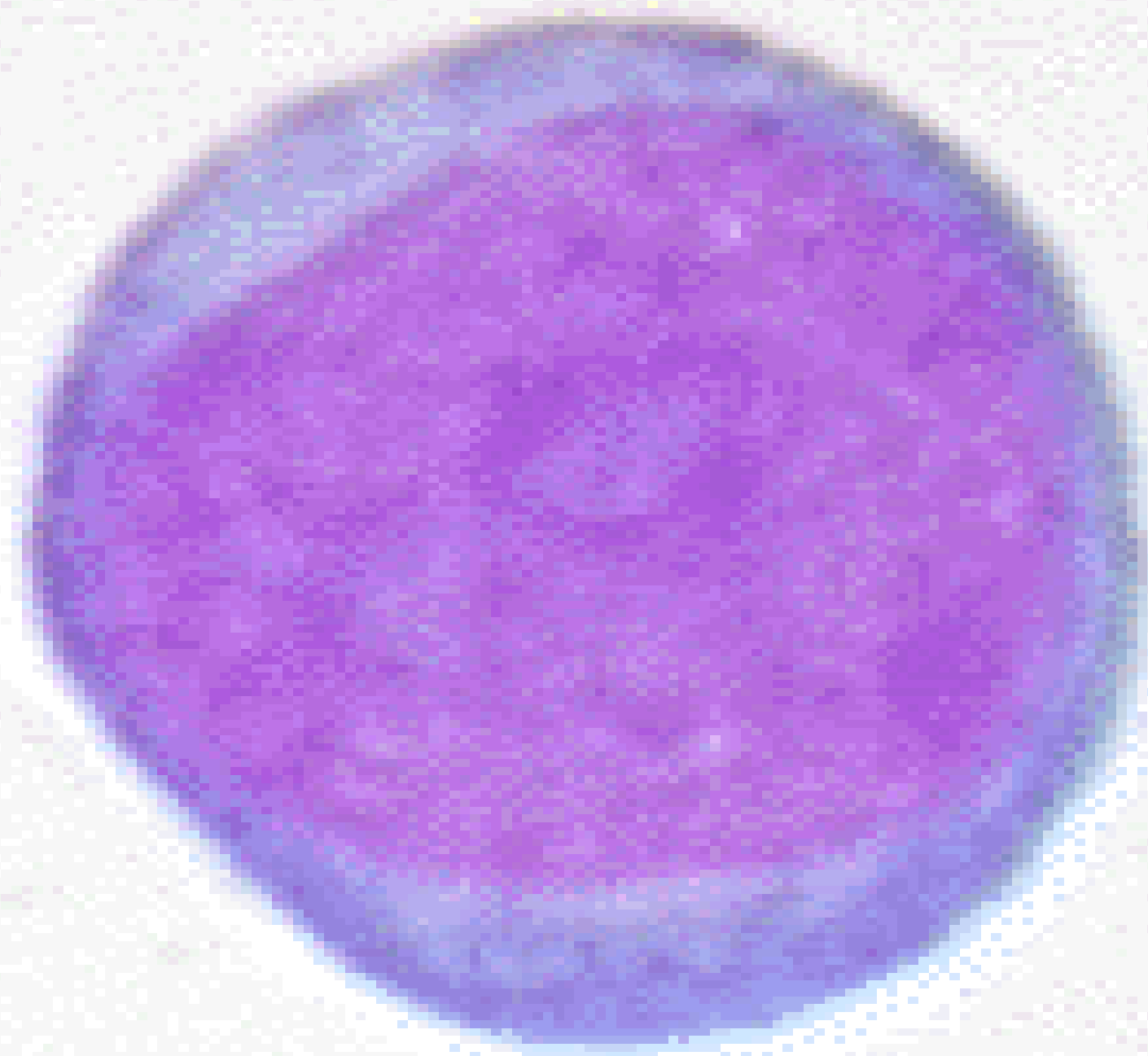
شکل ۱۹۷-۷۷: راست) بزرگنمایی از سلول‌های بیمار قبل که در آن لنفوسیت (پیکان زرد)، پلاسماسل (سرپیکان) و لنفوپلاسماسیتوئیدها (پیکان بلند) نشان داده شده است. چپ) رنگ آمیزی IHC یا ایمونوسیتوشیمی با CD138 که در آن عمده سلول‌ها واکنش مثبت نشان می‌دهند و اغلب به صورت کلاستر دیده می‌شوند.

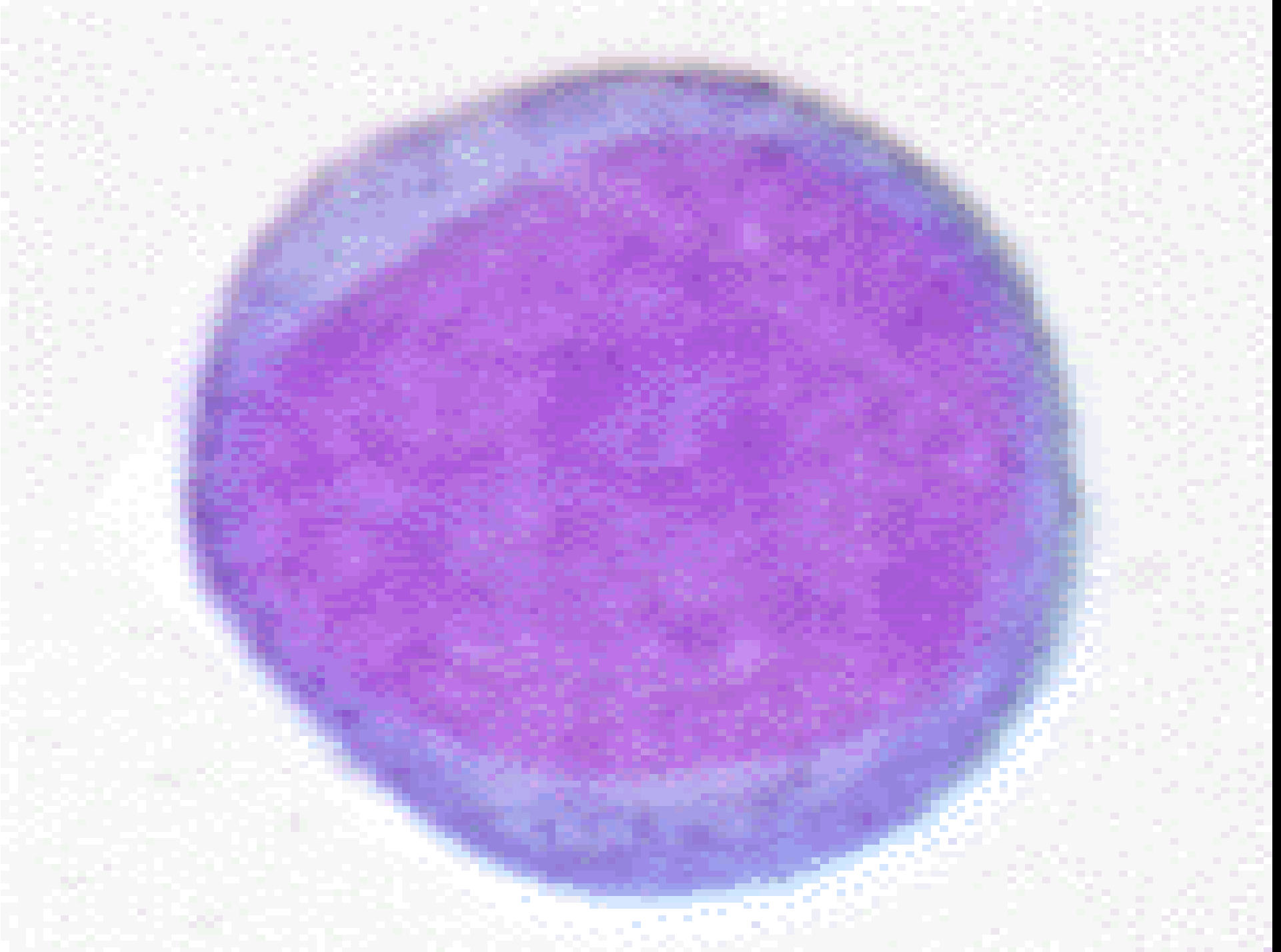
Myeloide Lineage

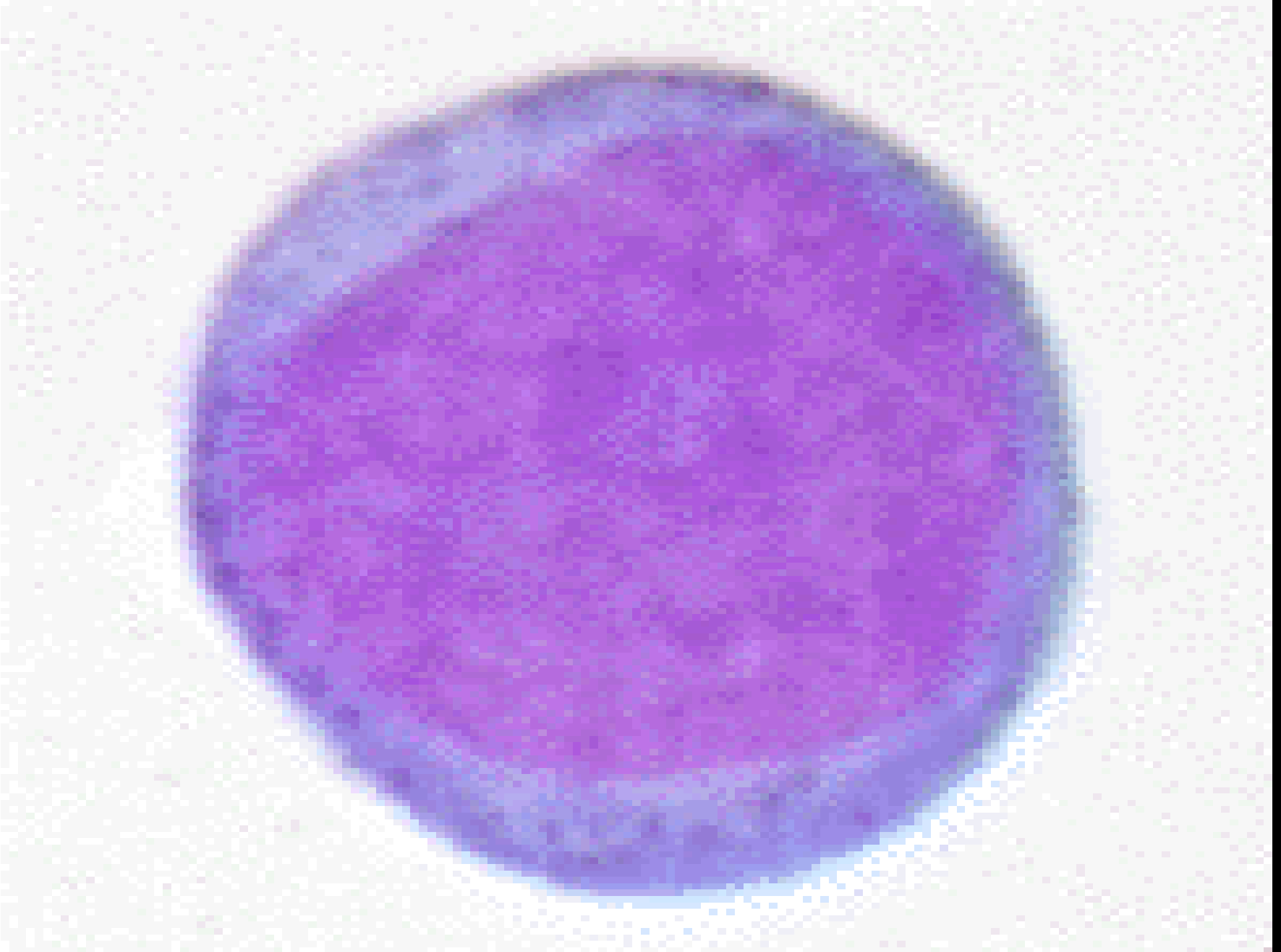
- ميلوبلاست

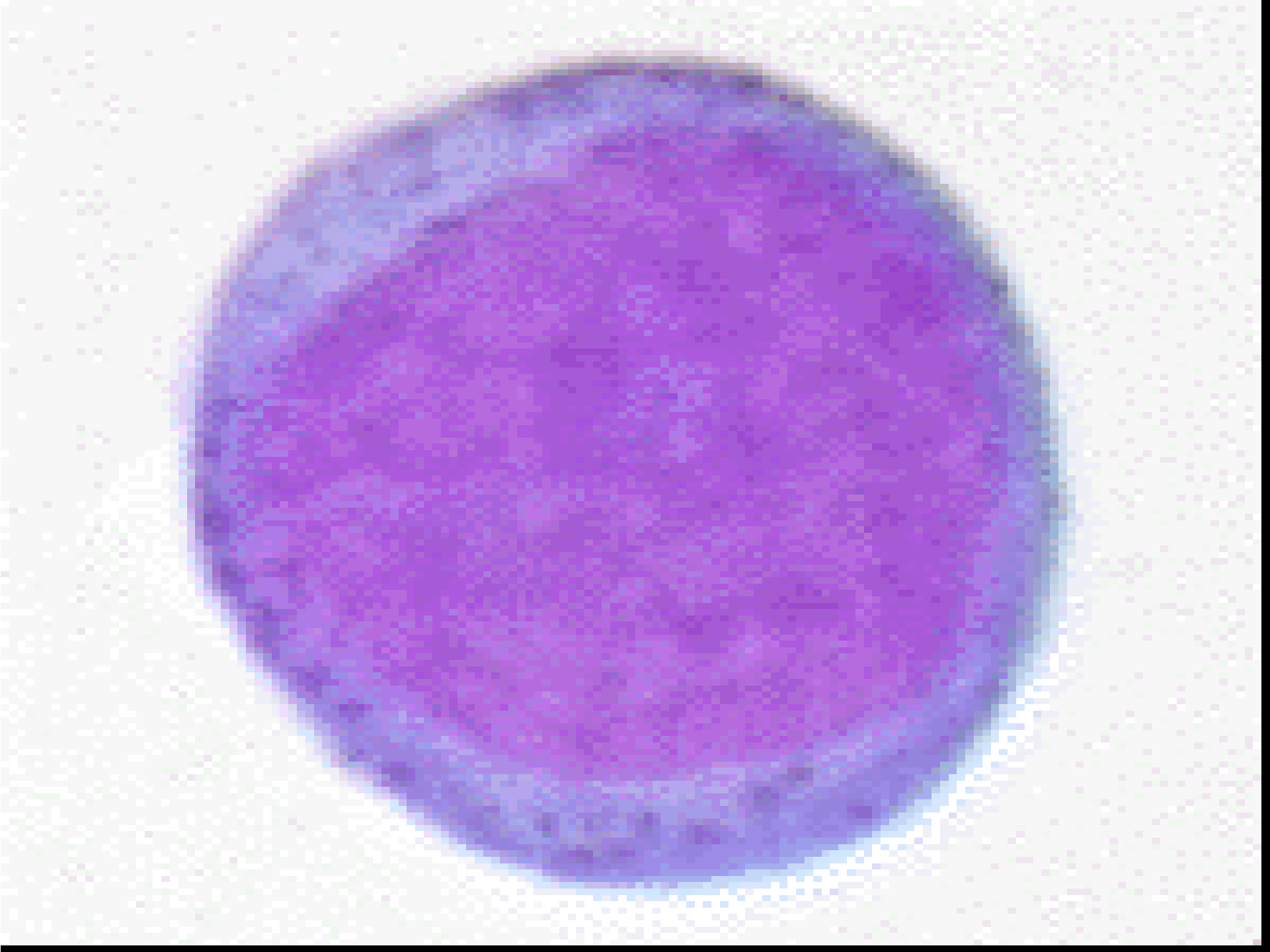


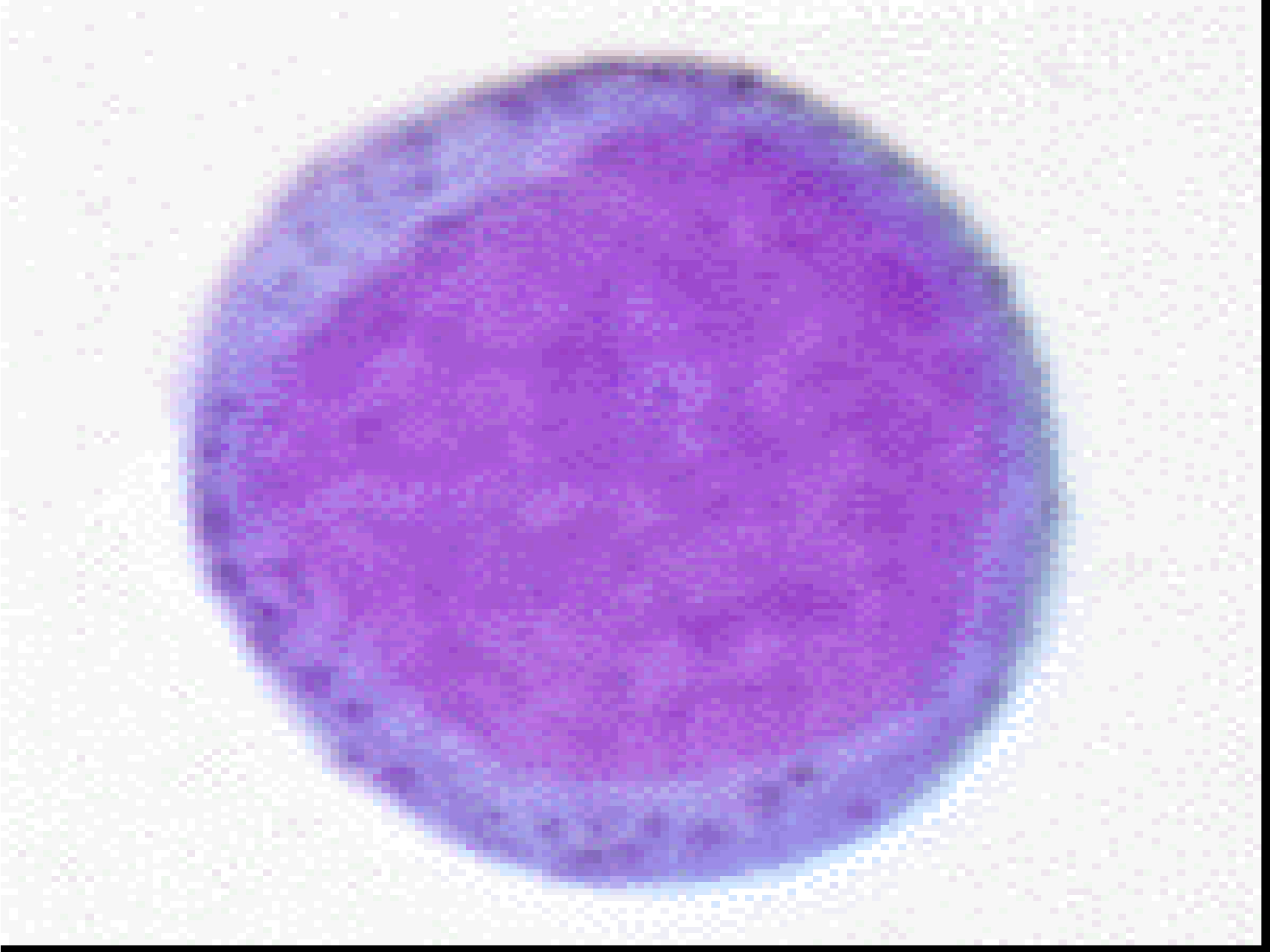


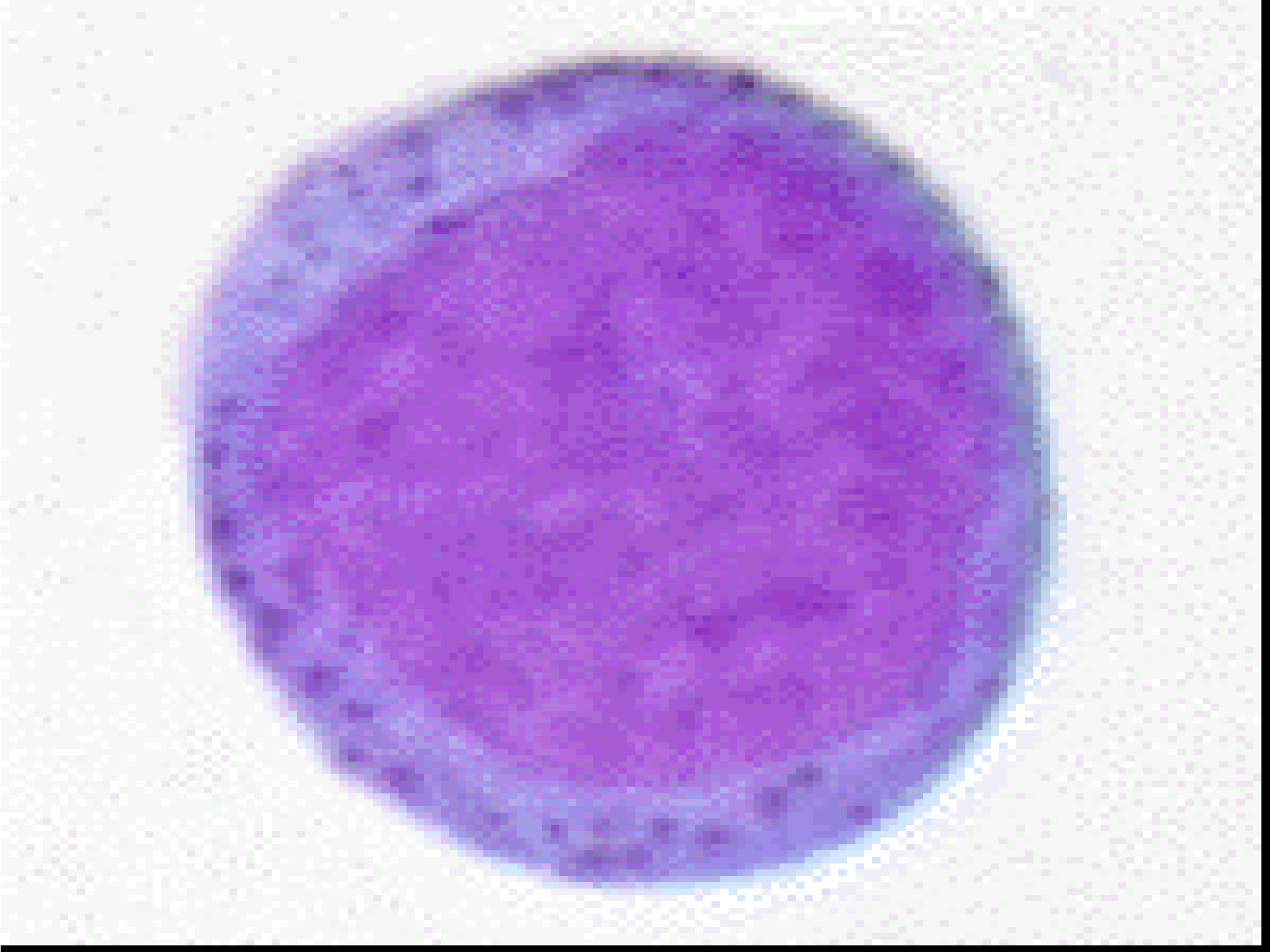


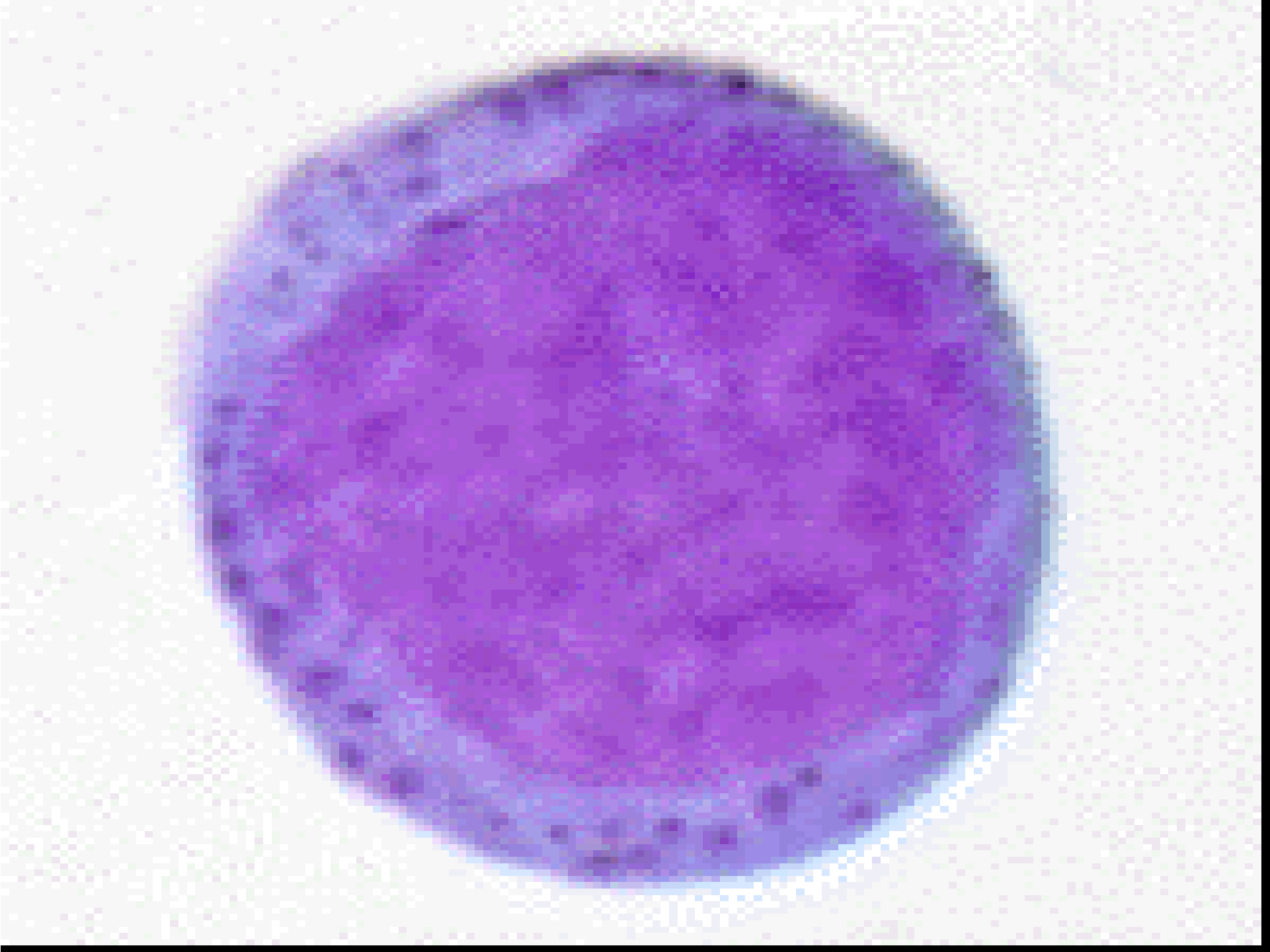


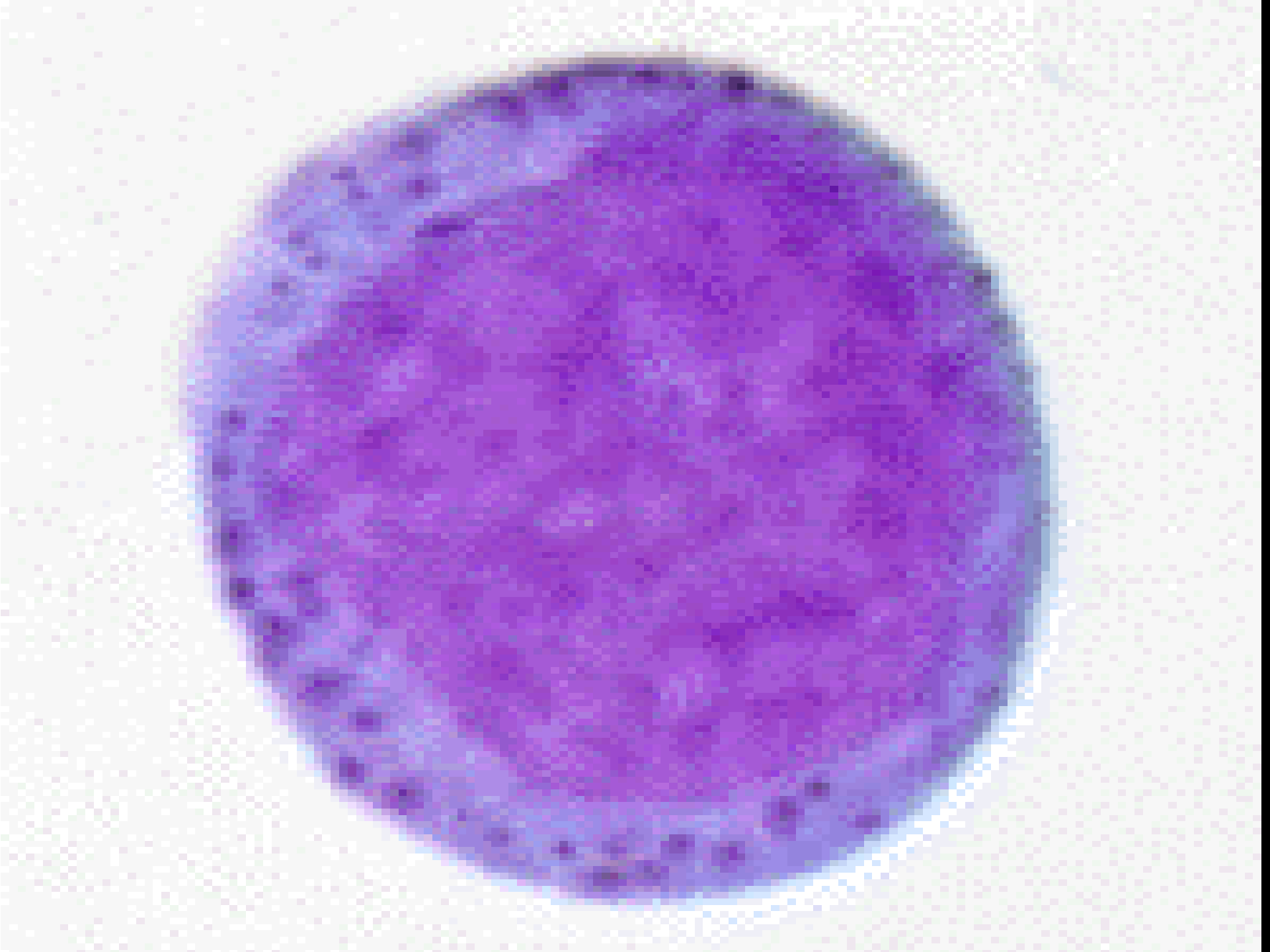


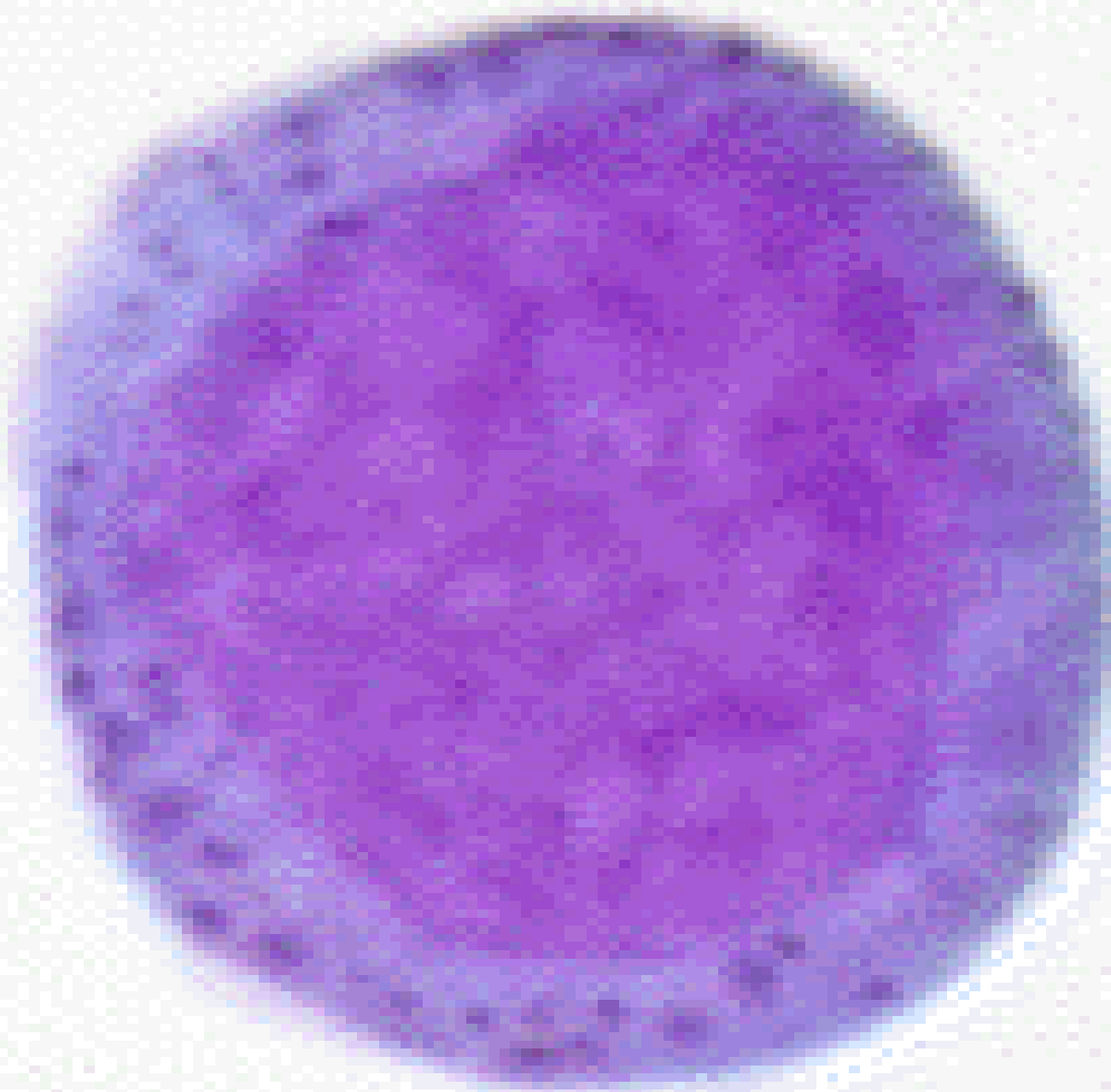


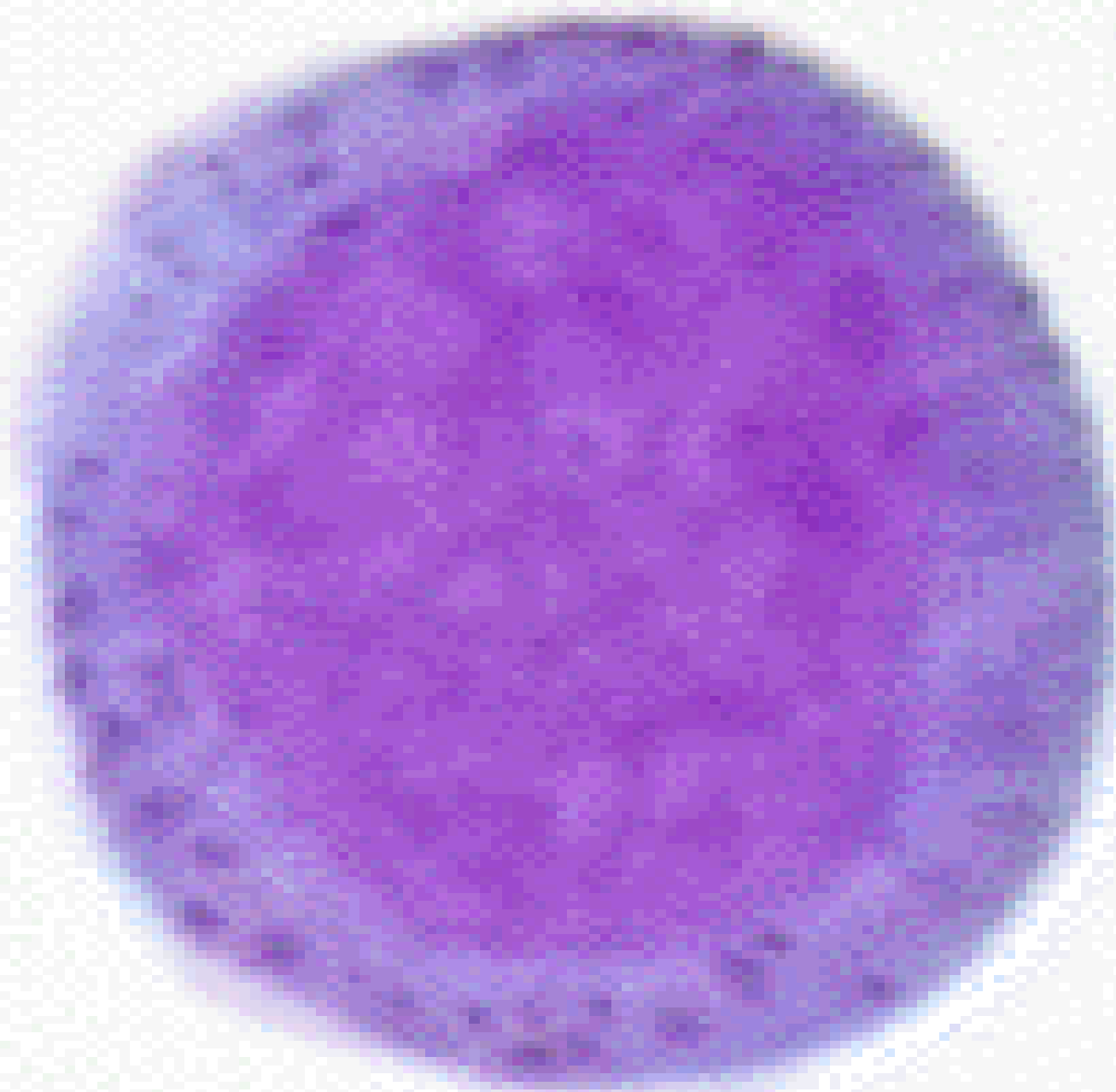


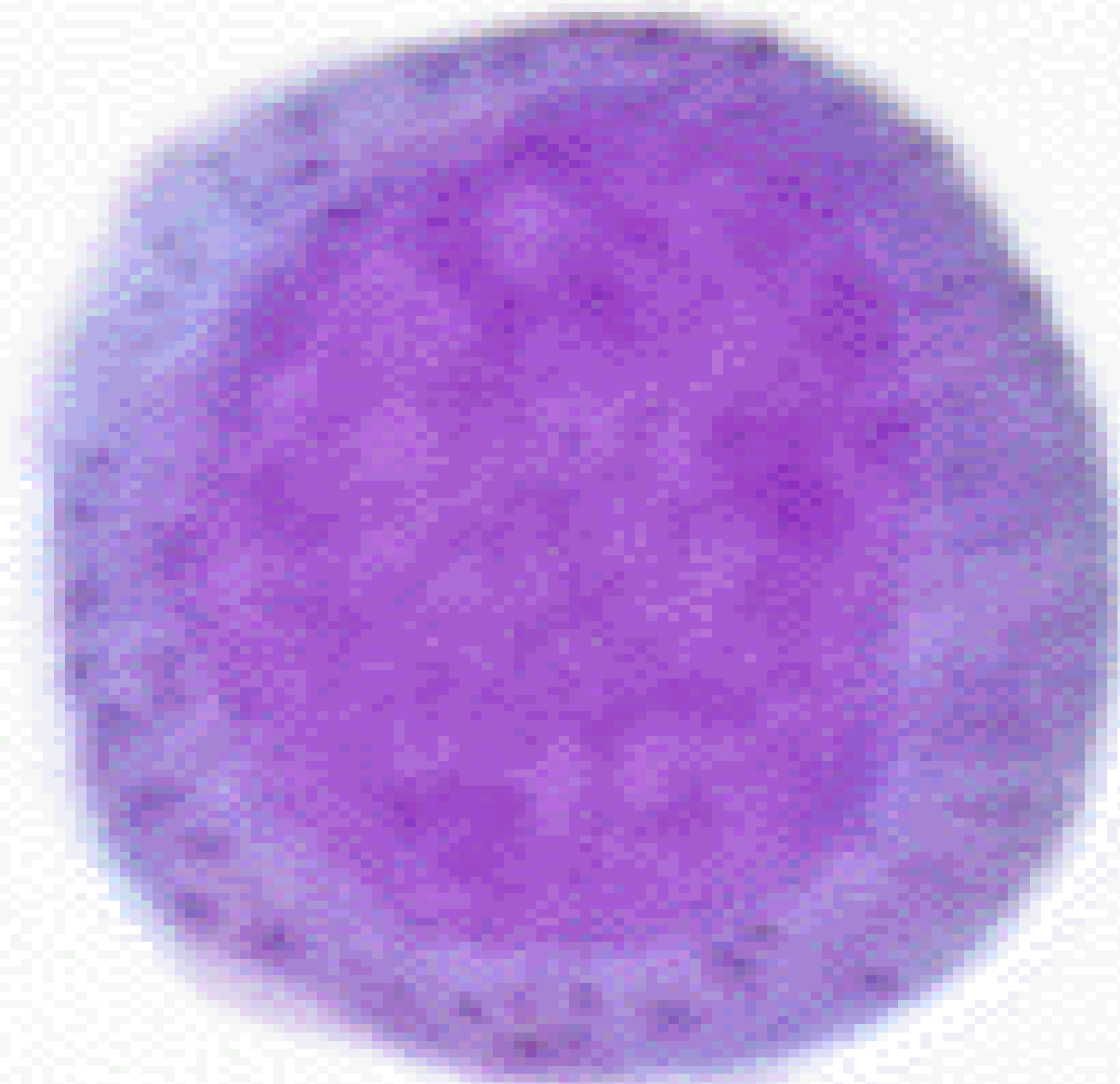


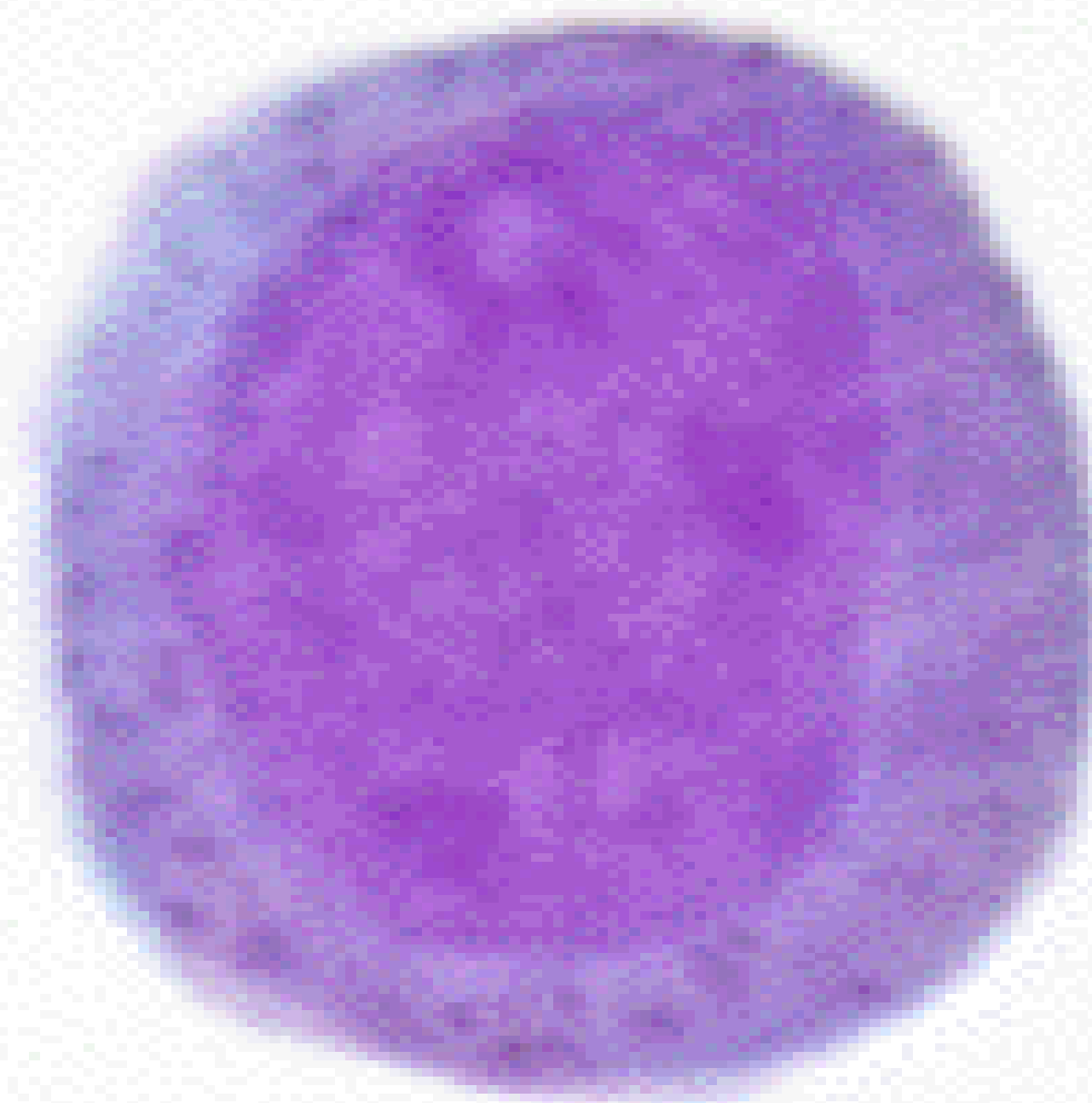


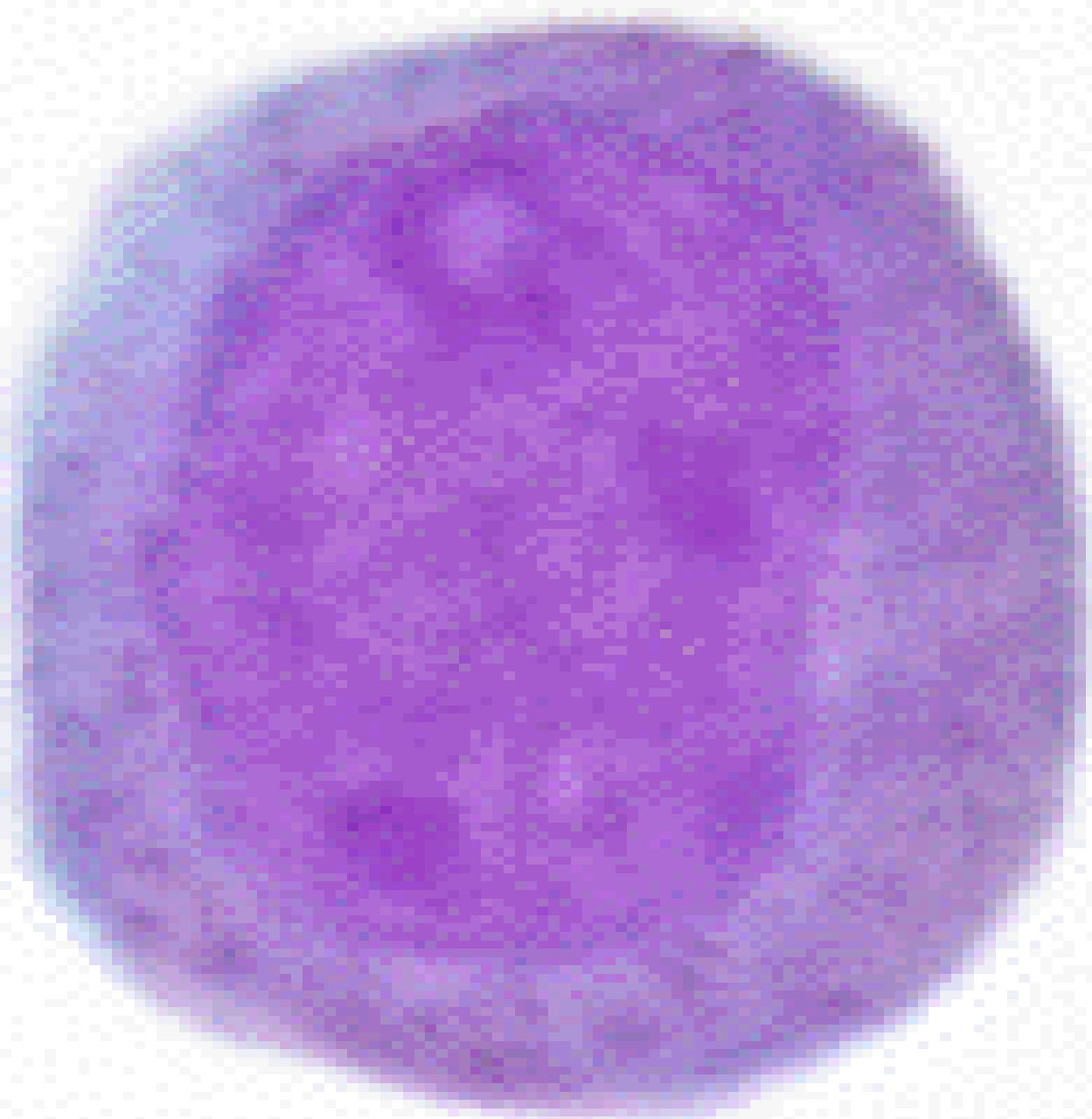


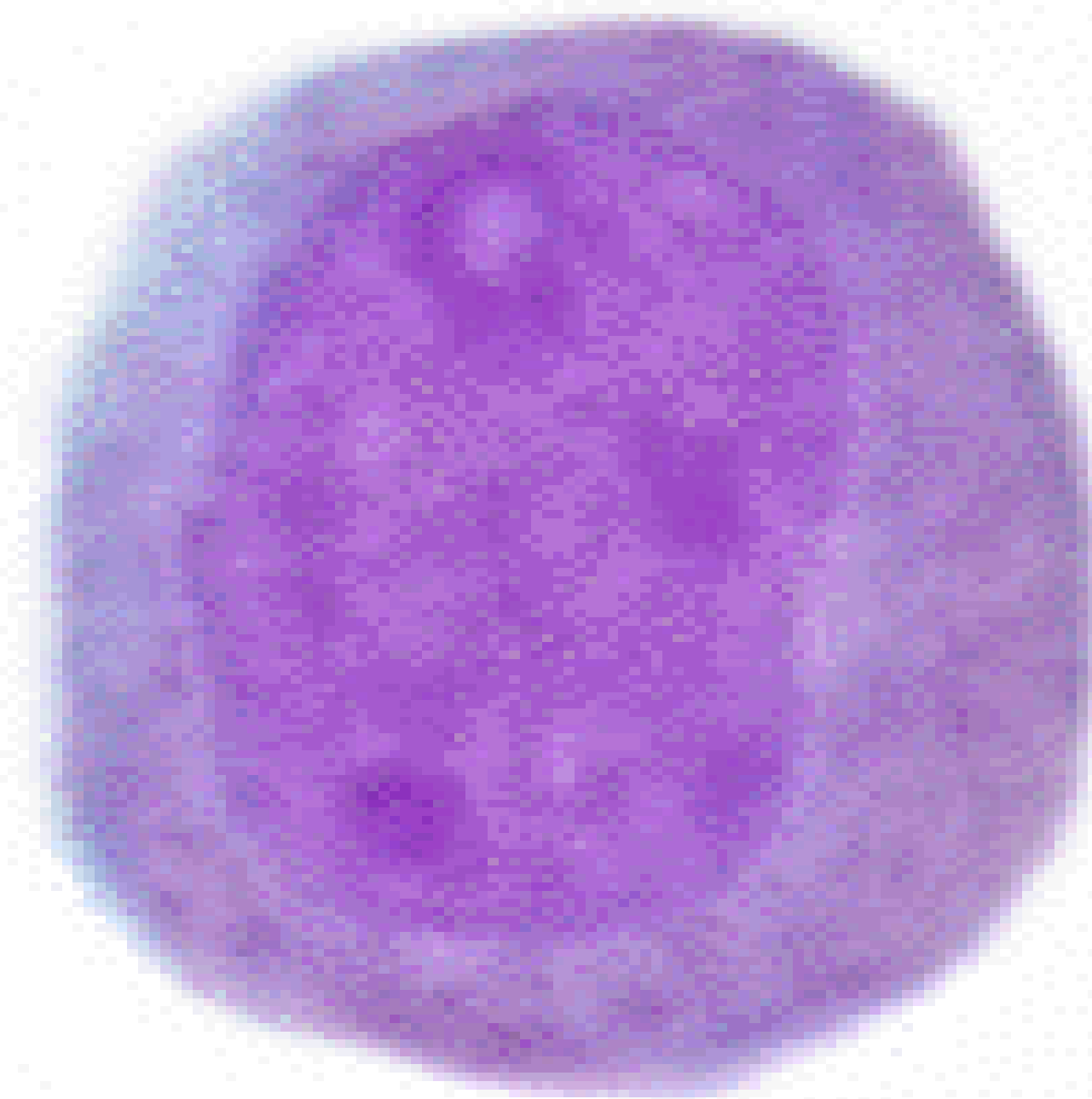


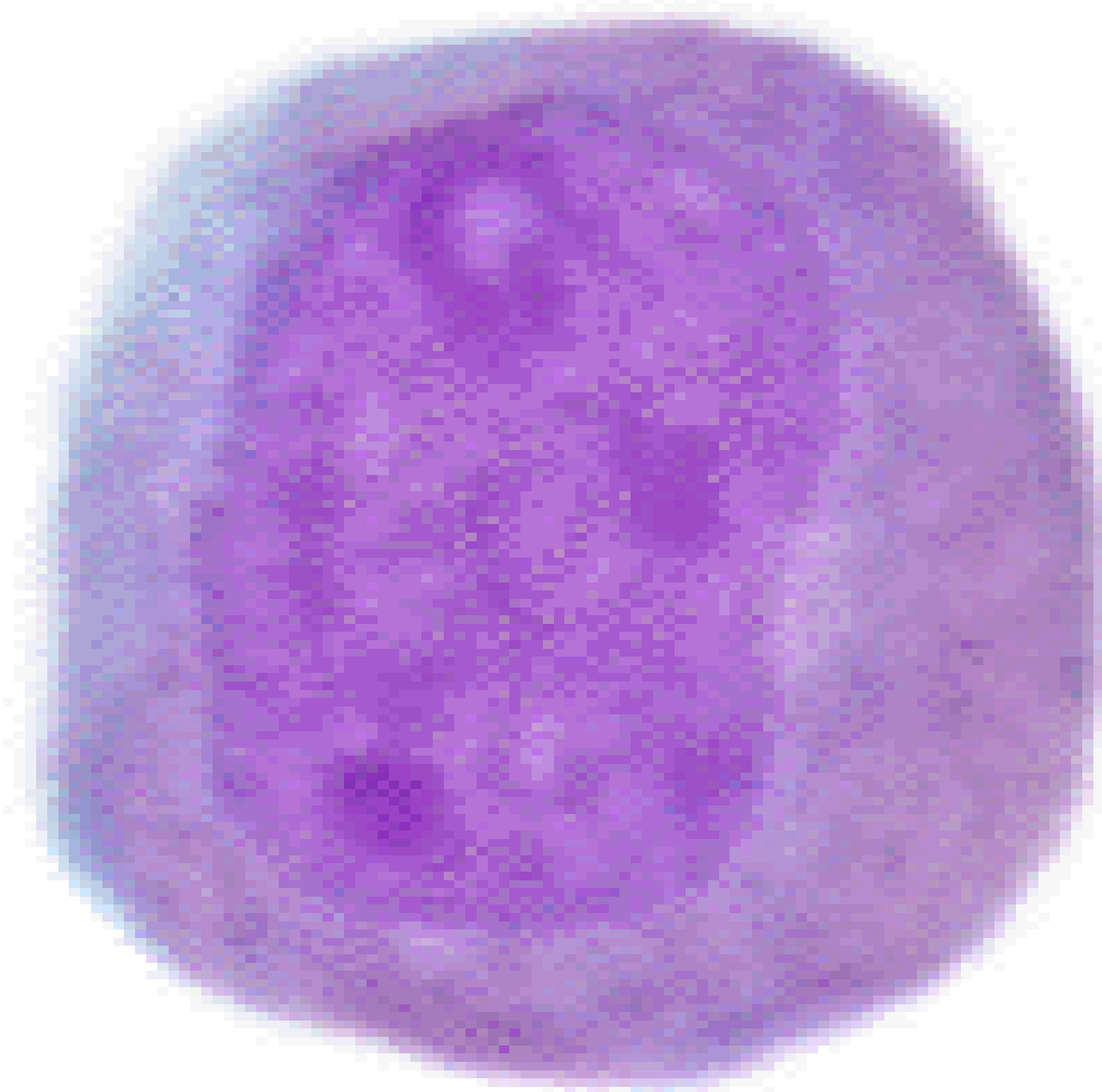


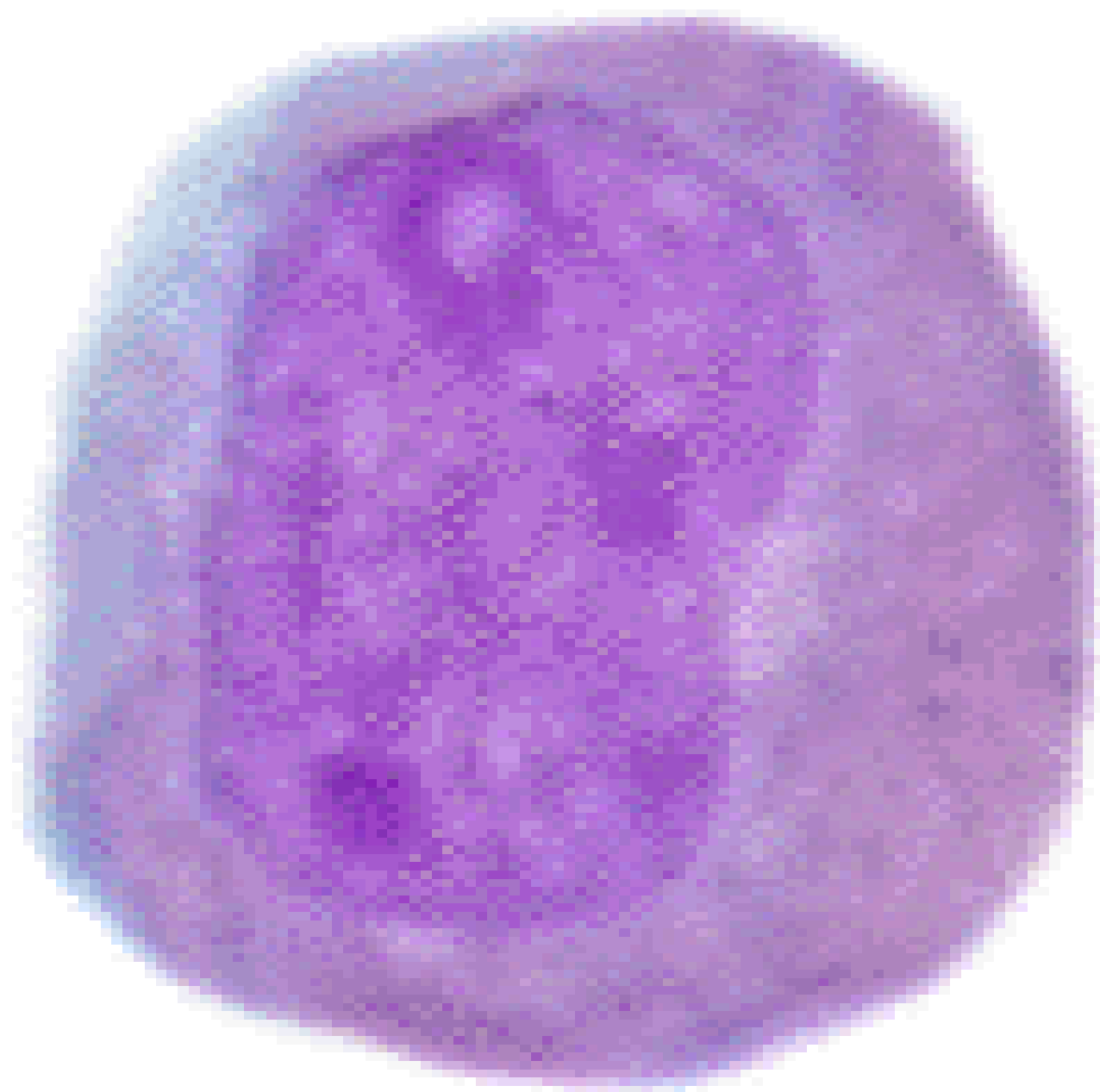


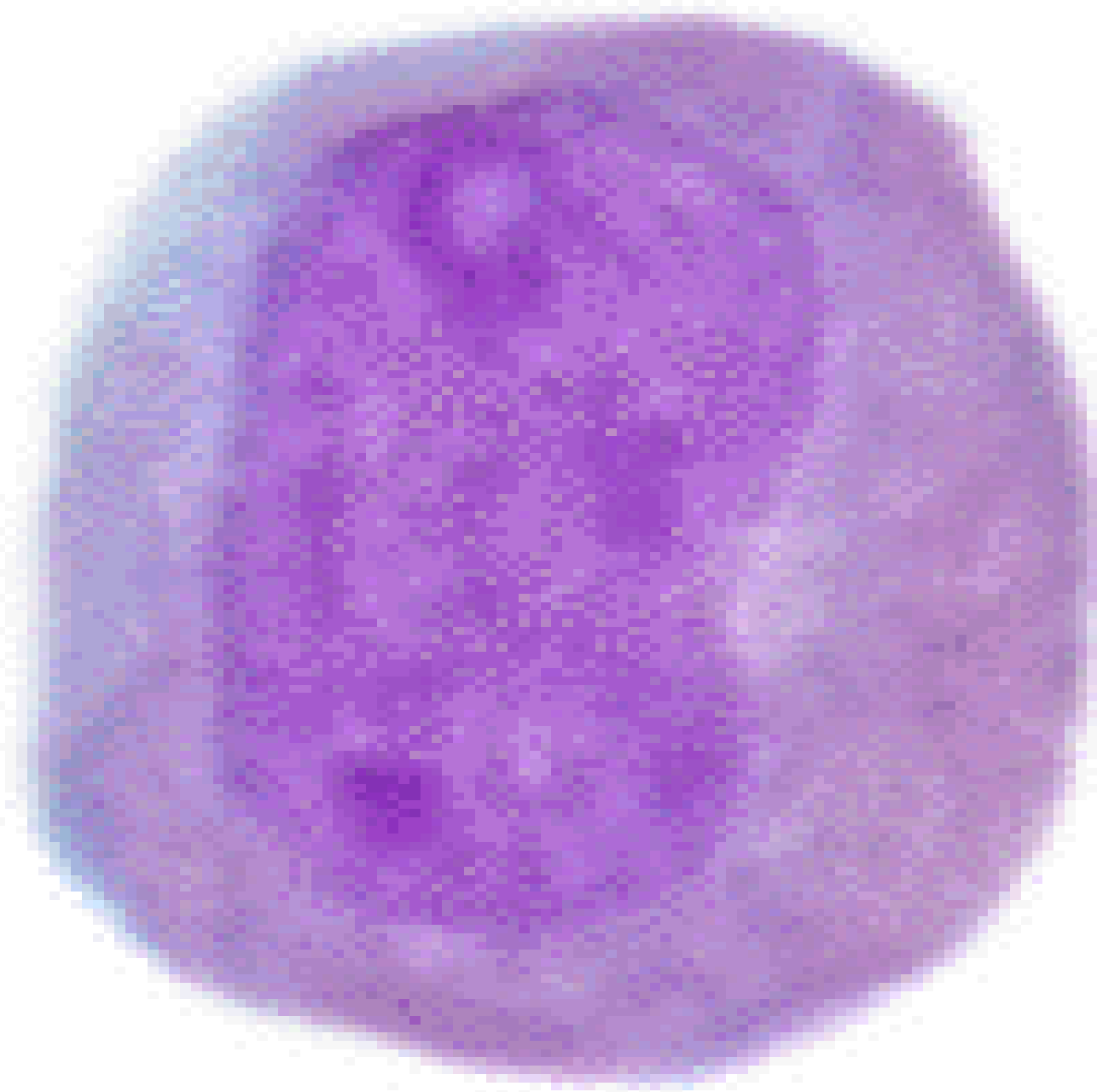


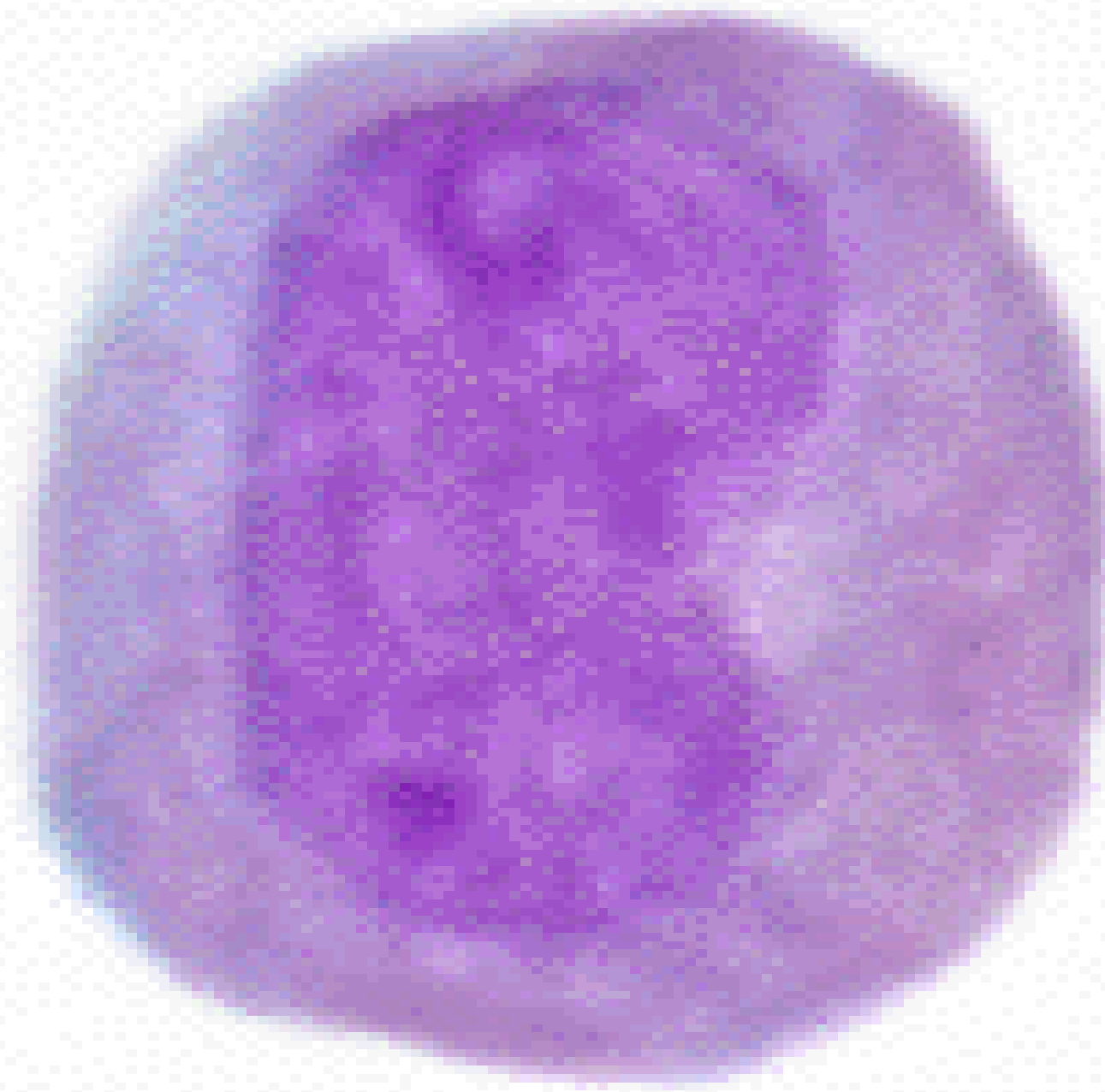


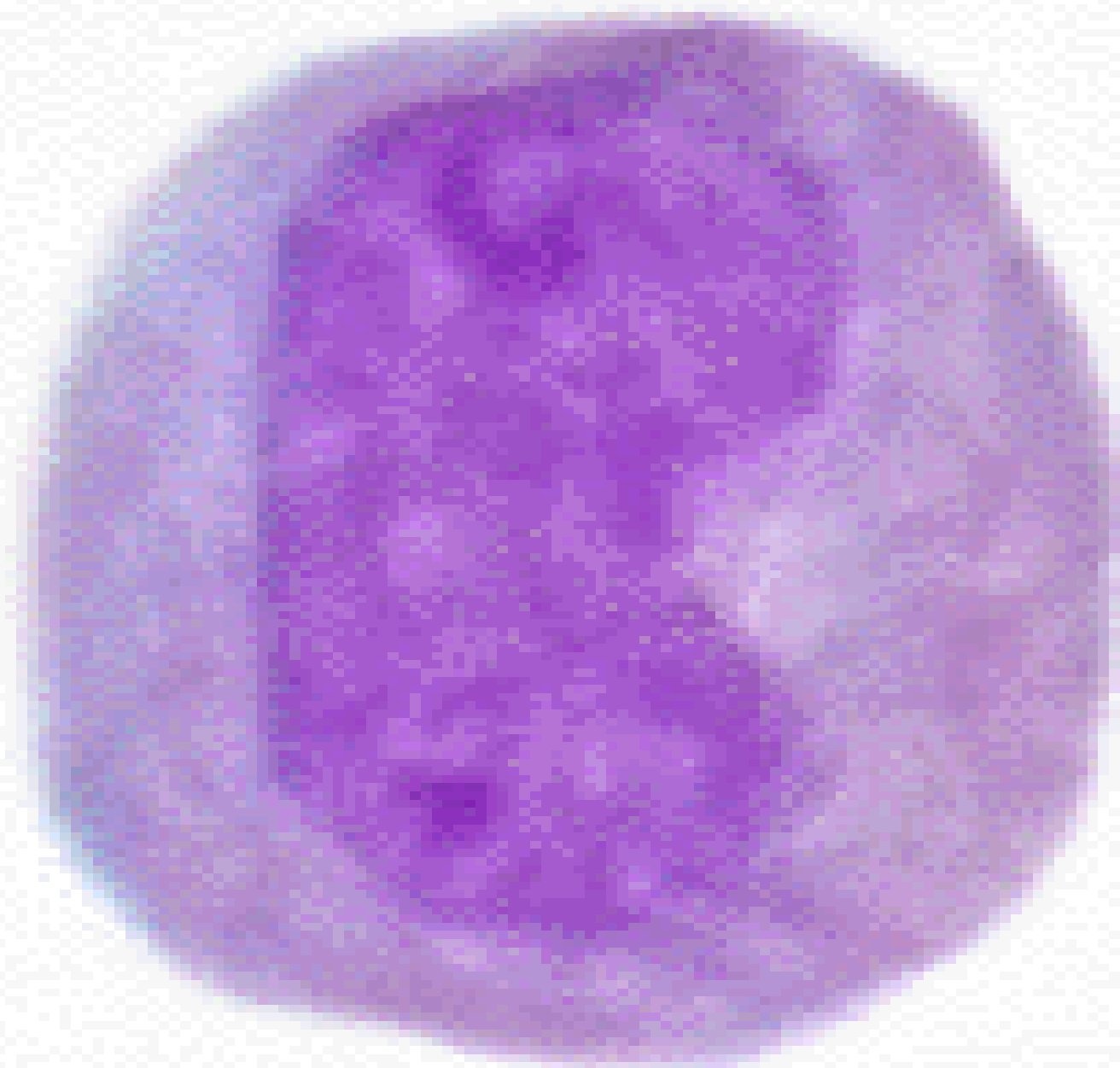


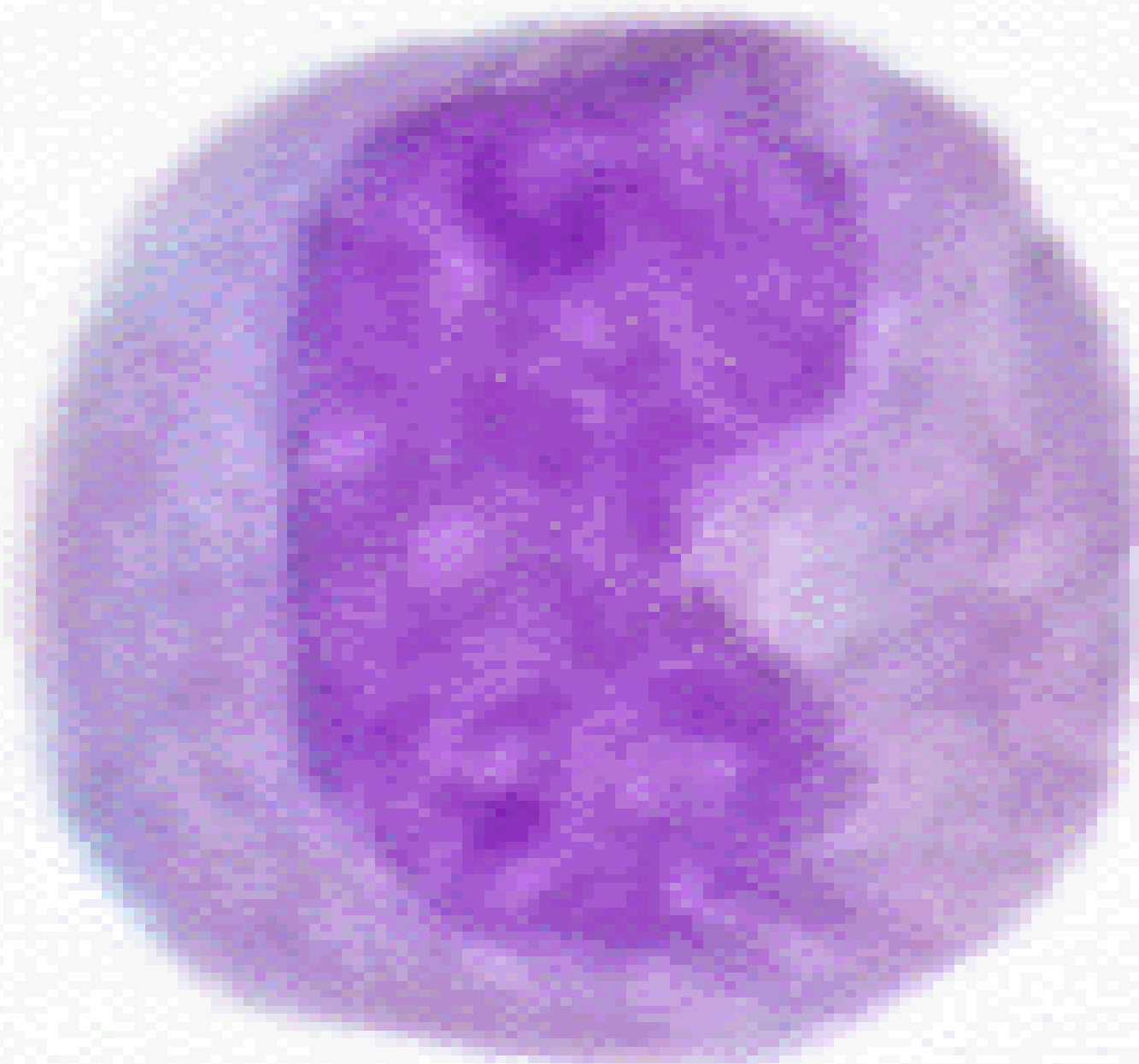


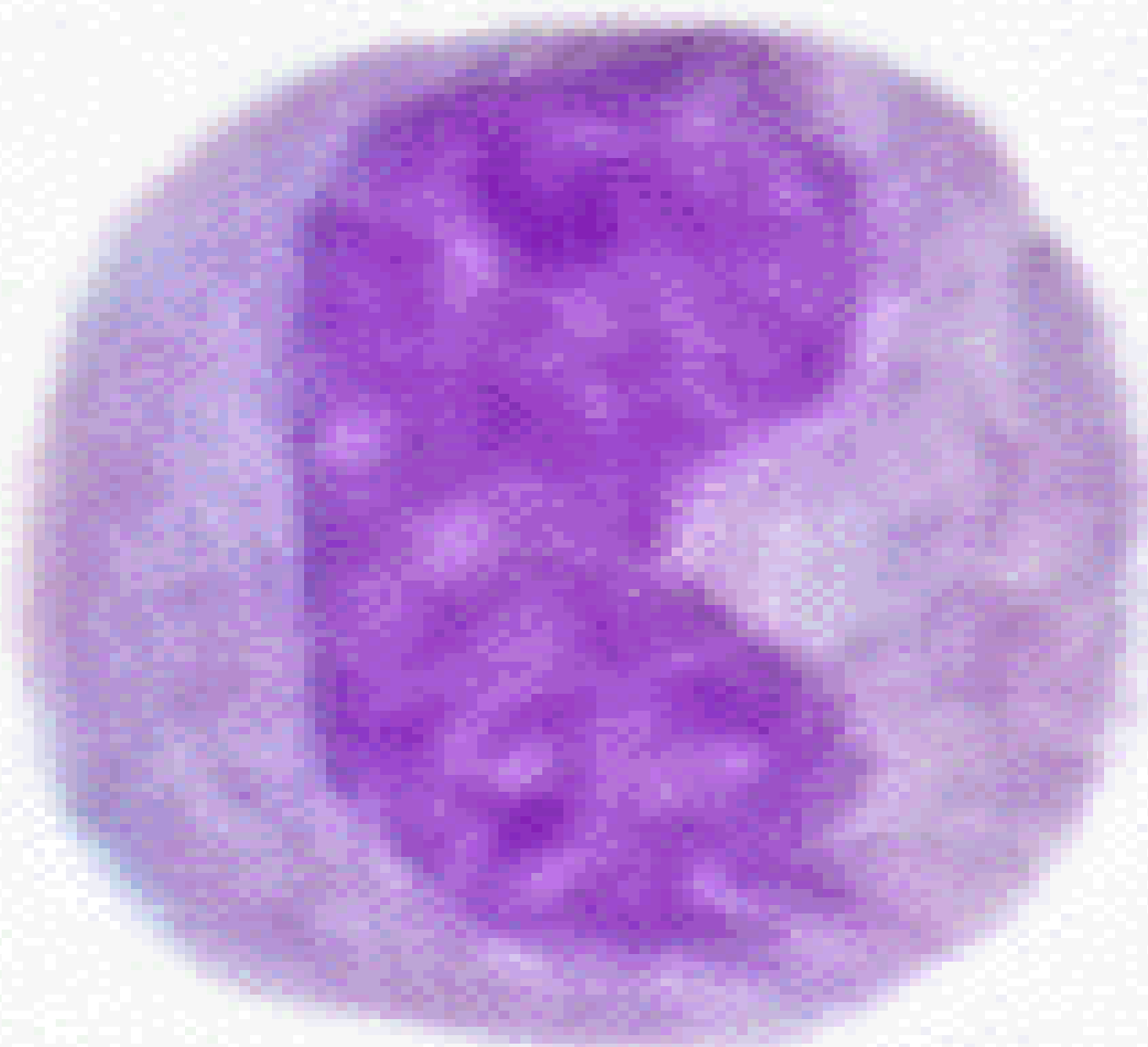






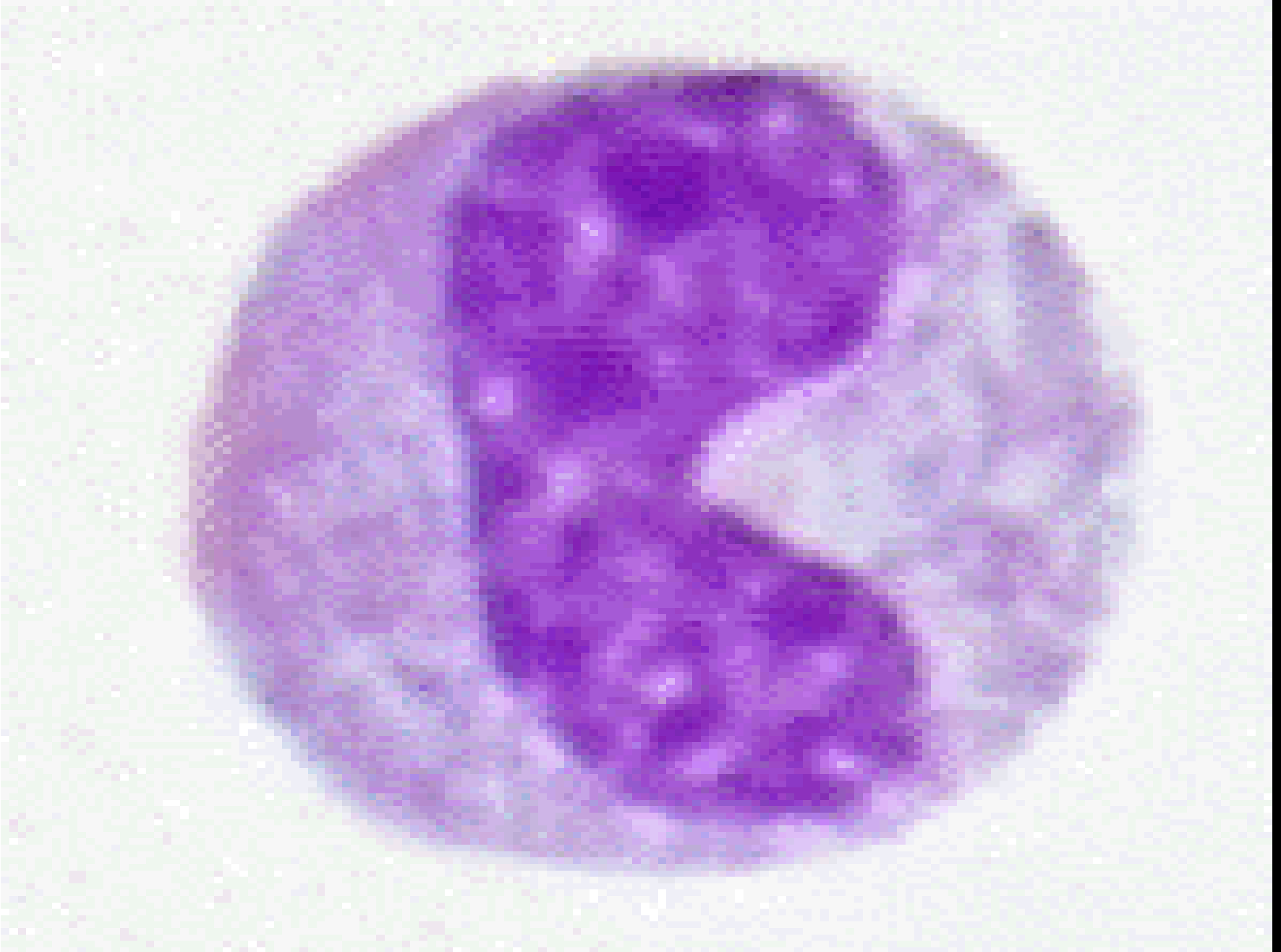






























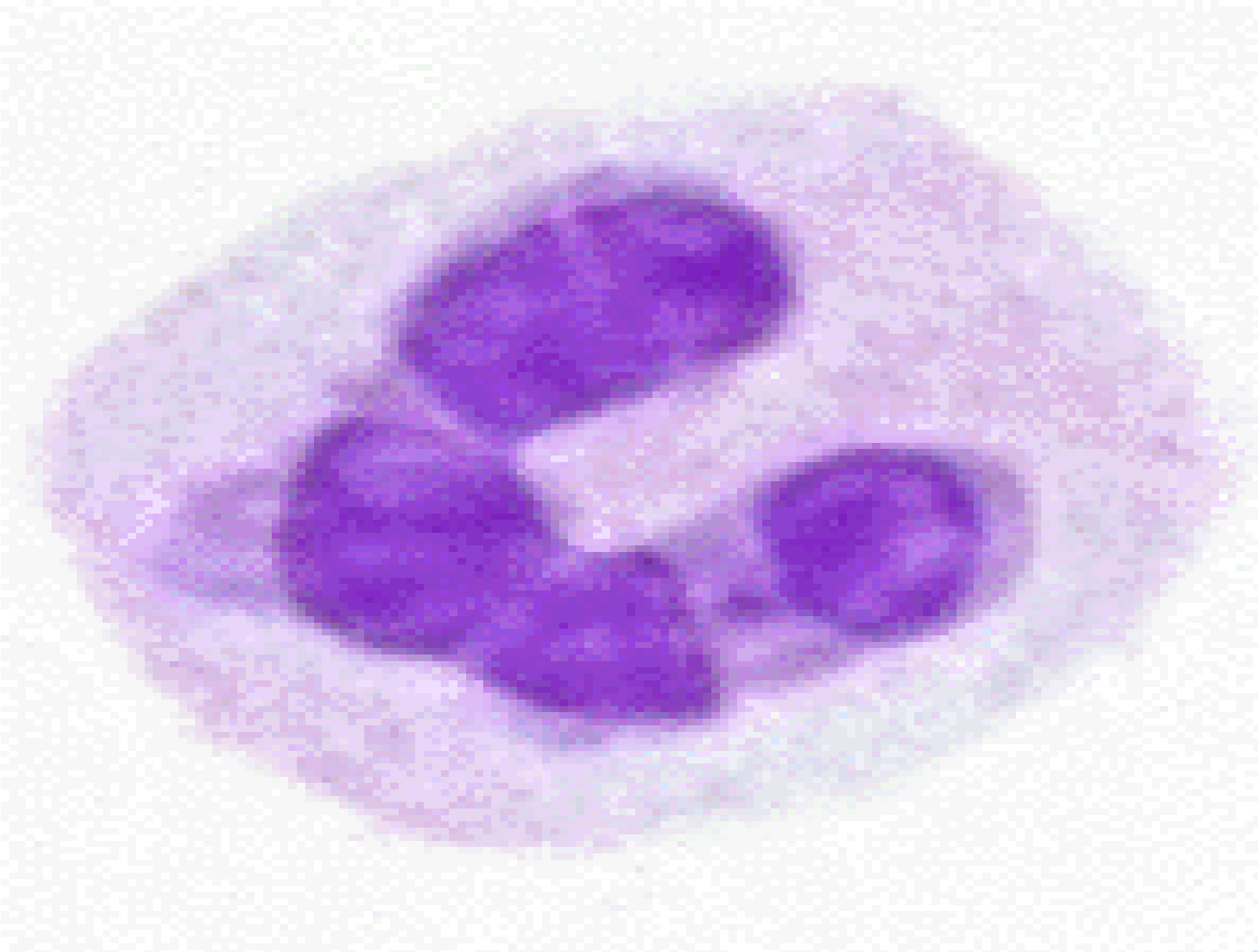


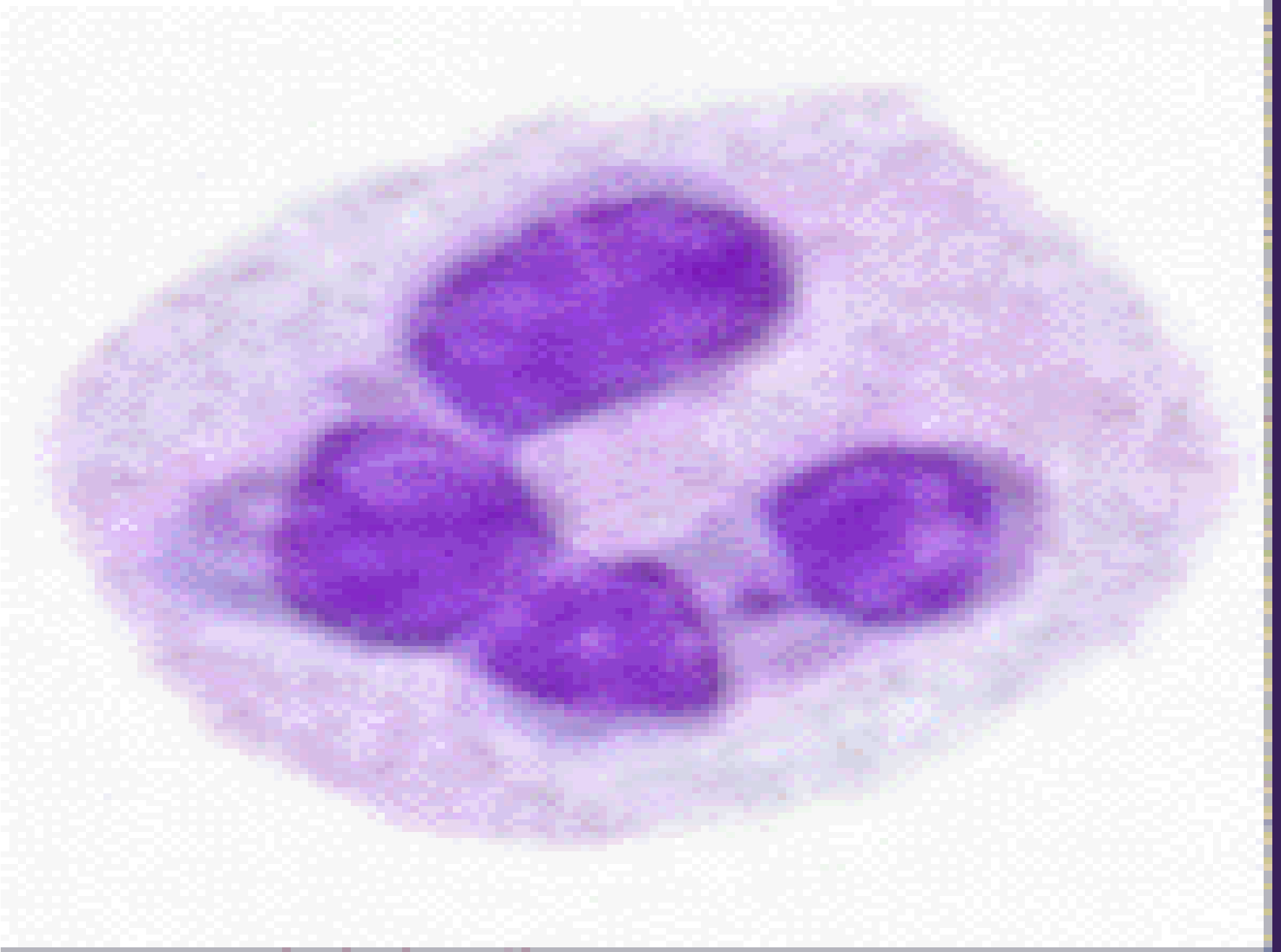


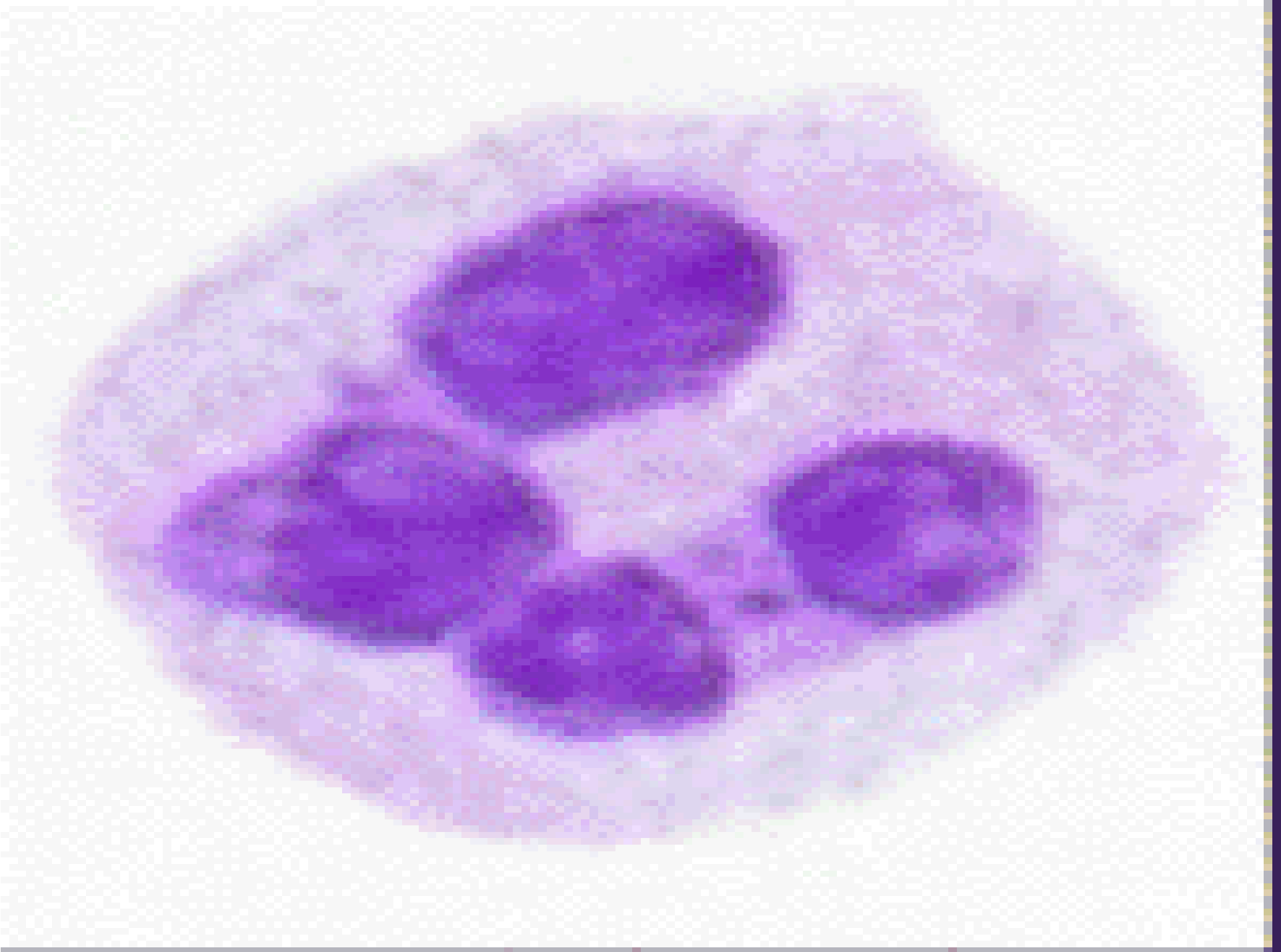


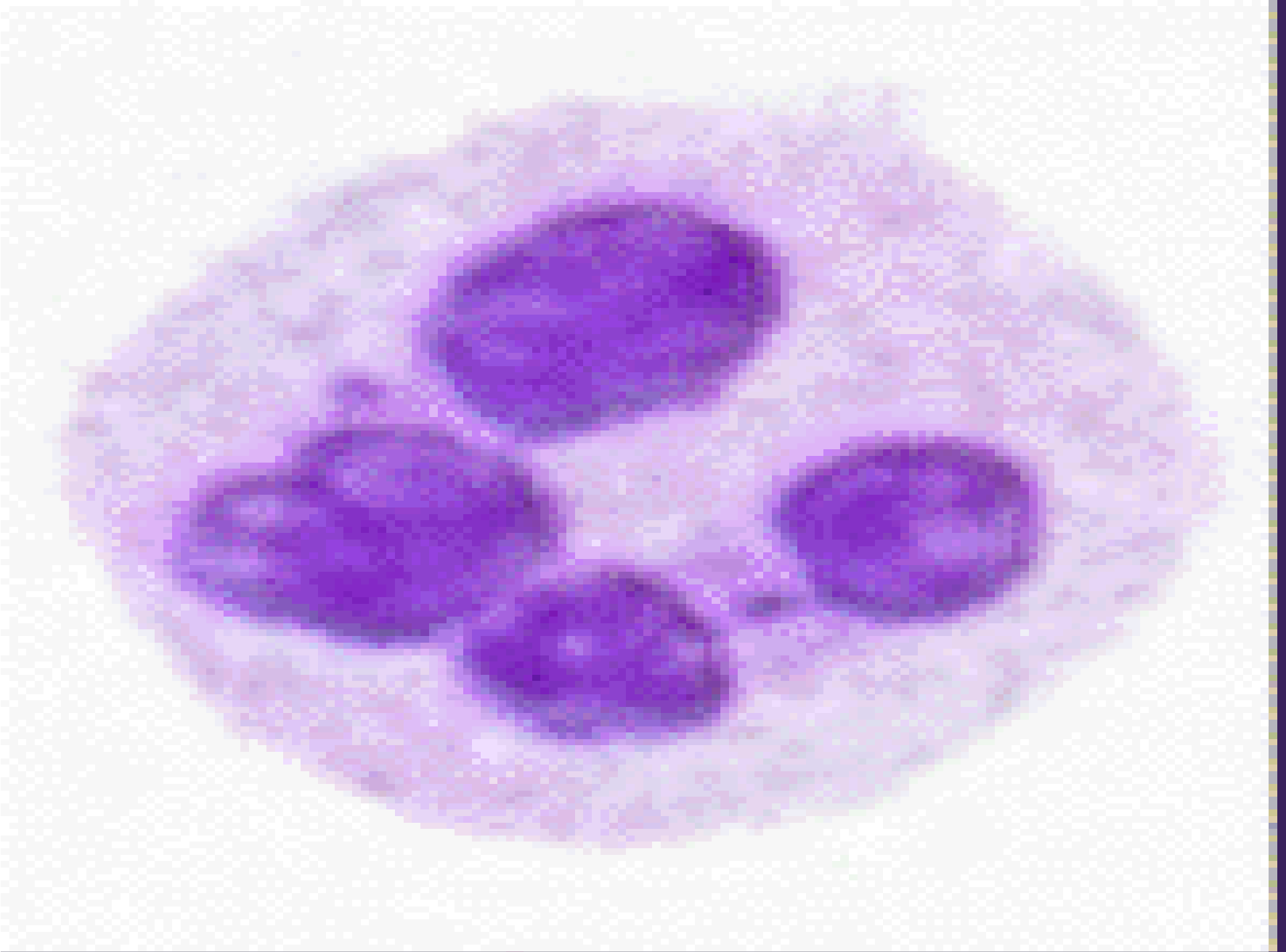


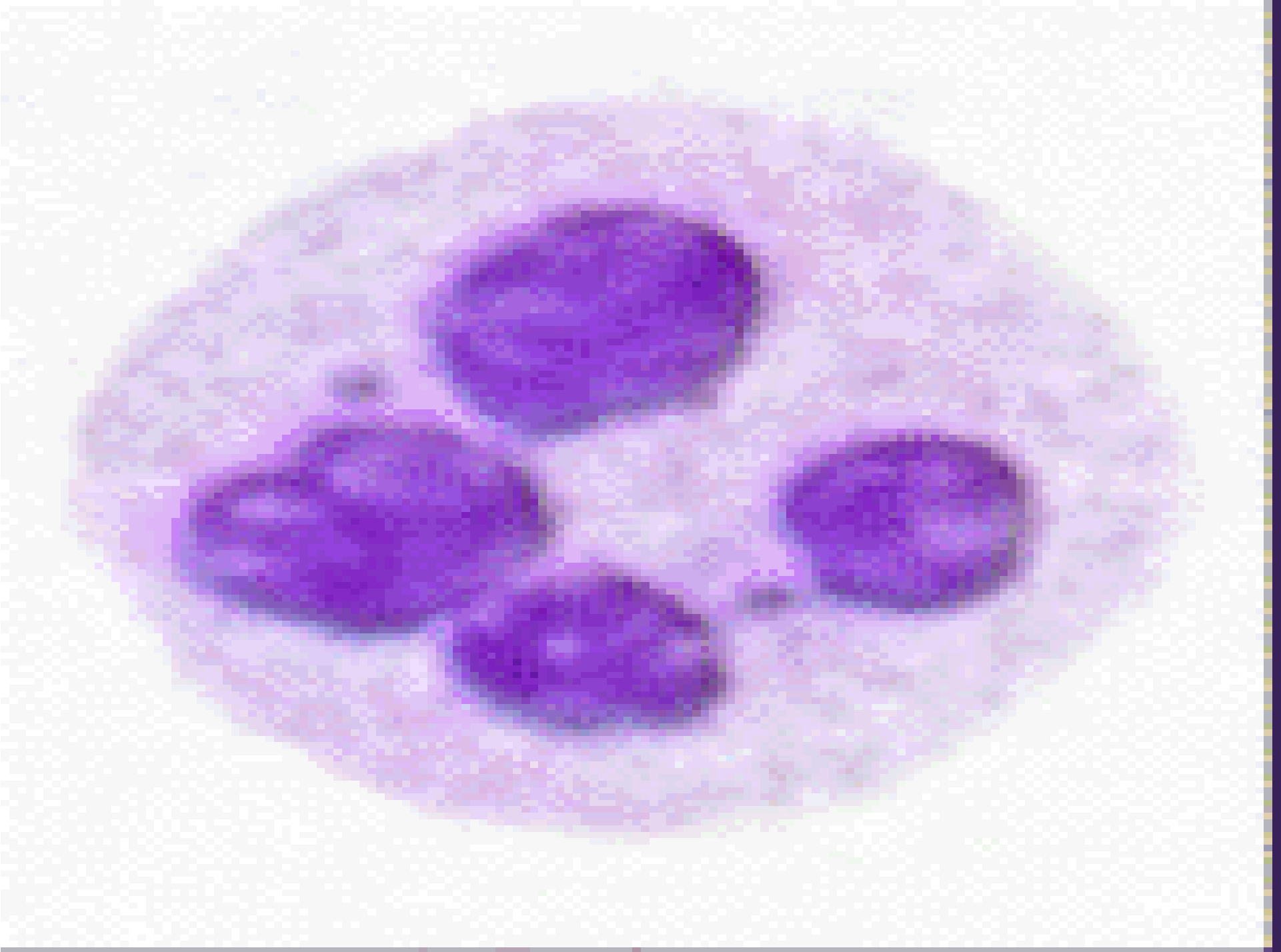


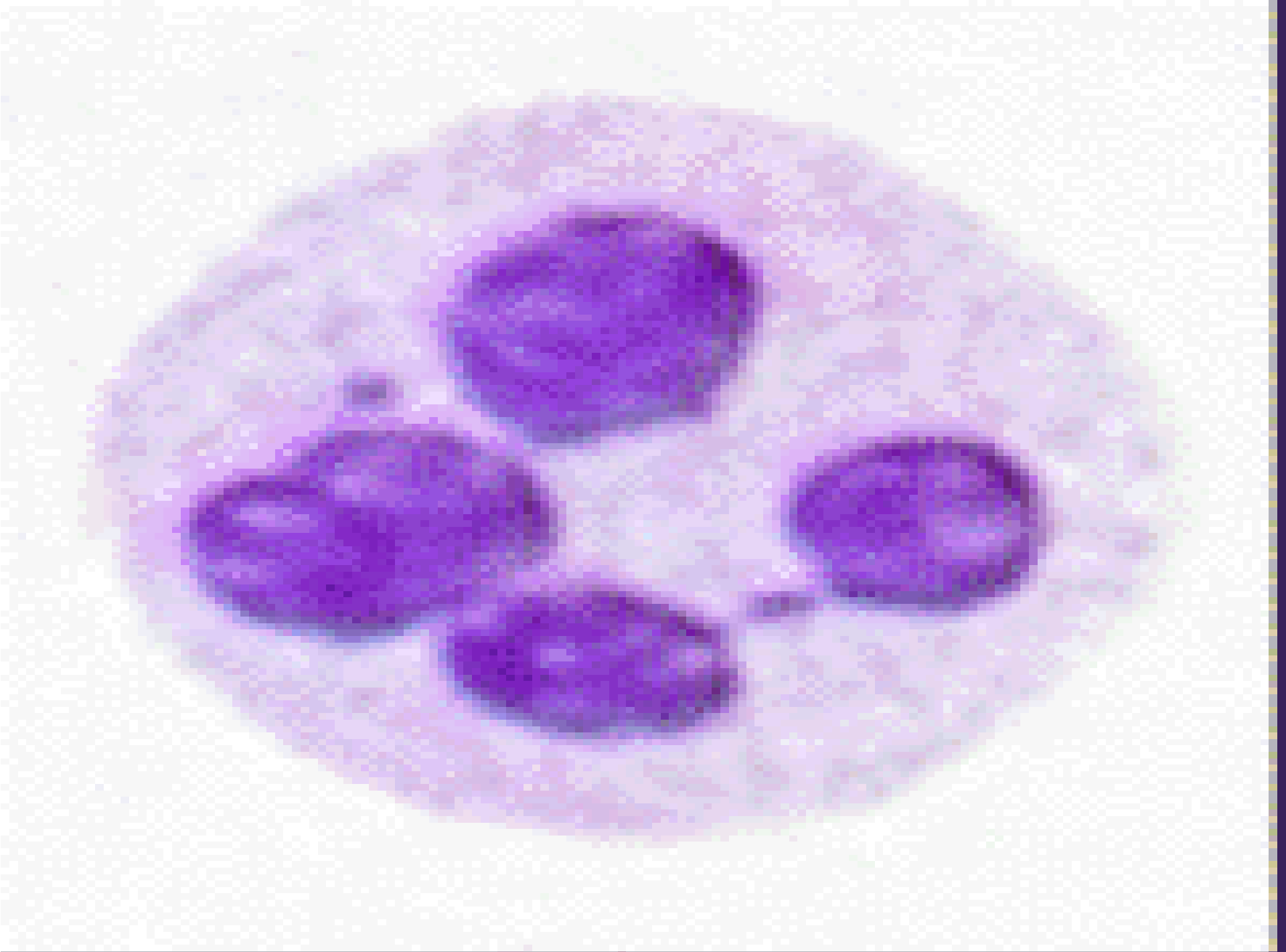








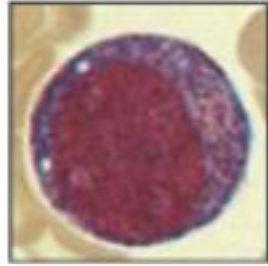




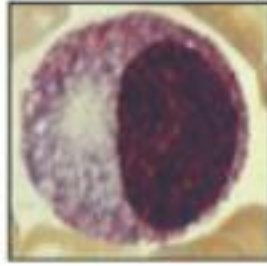
Myeloblast



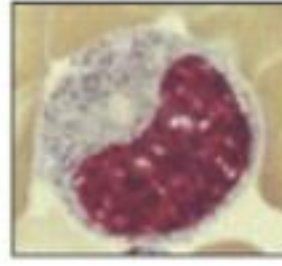
Promyelocyte



Myelocyte



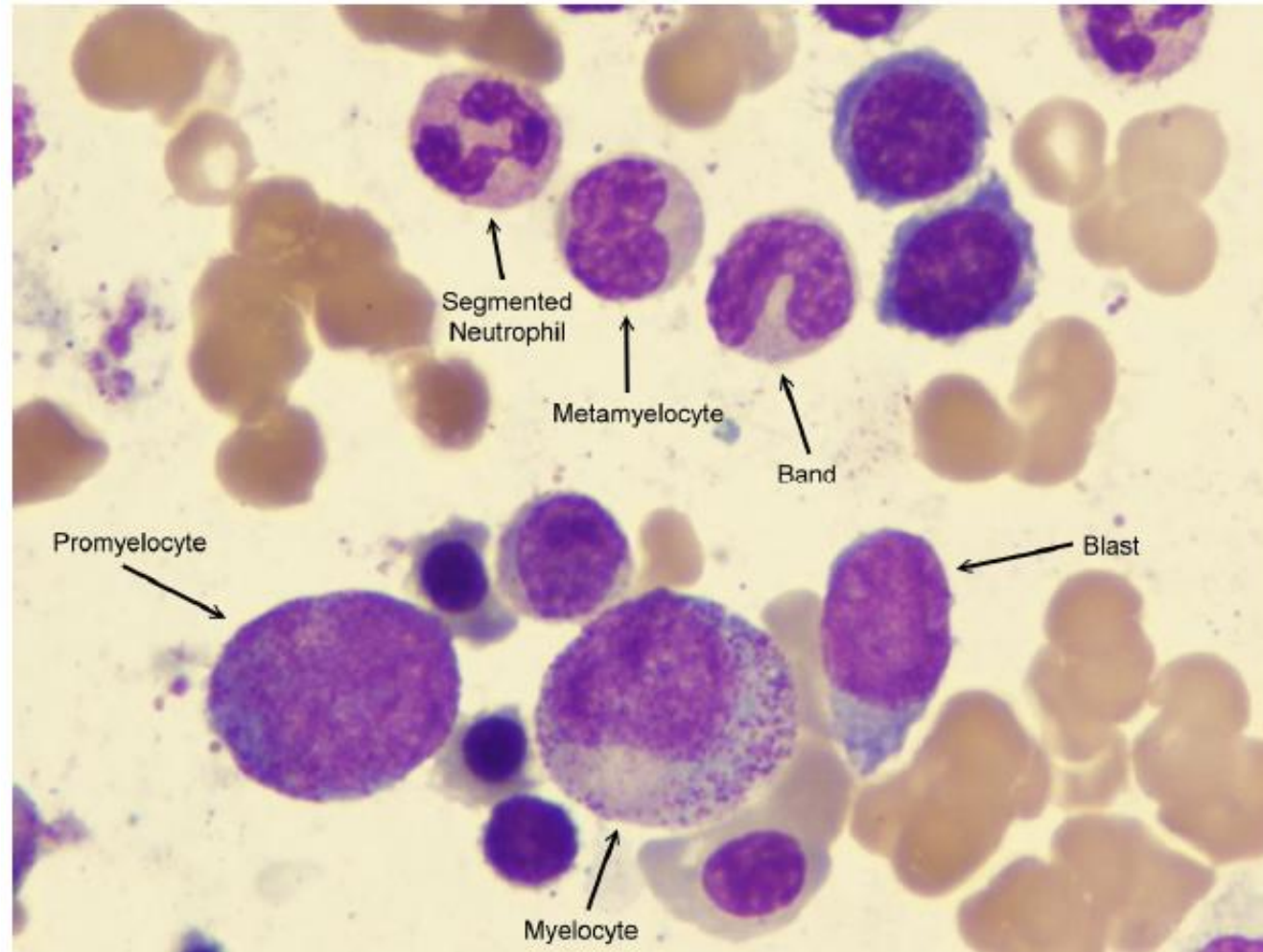
Metamyelocyte

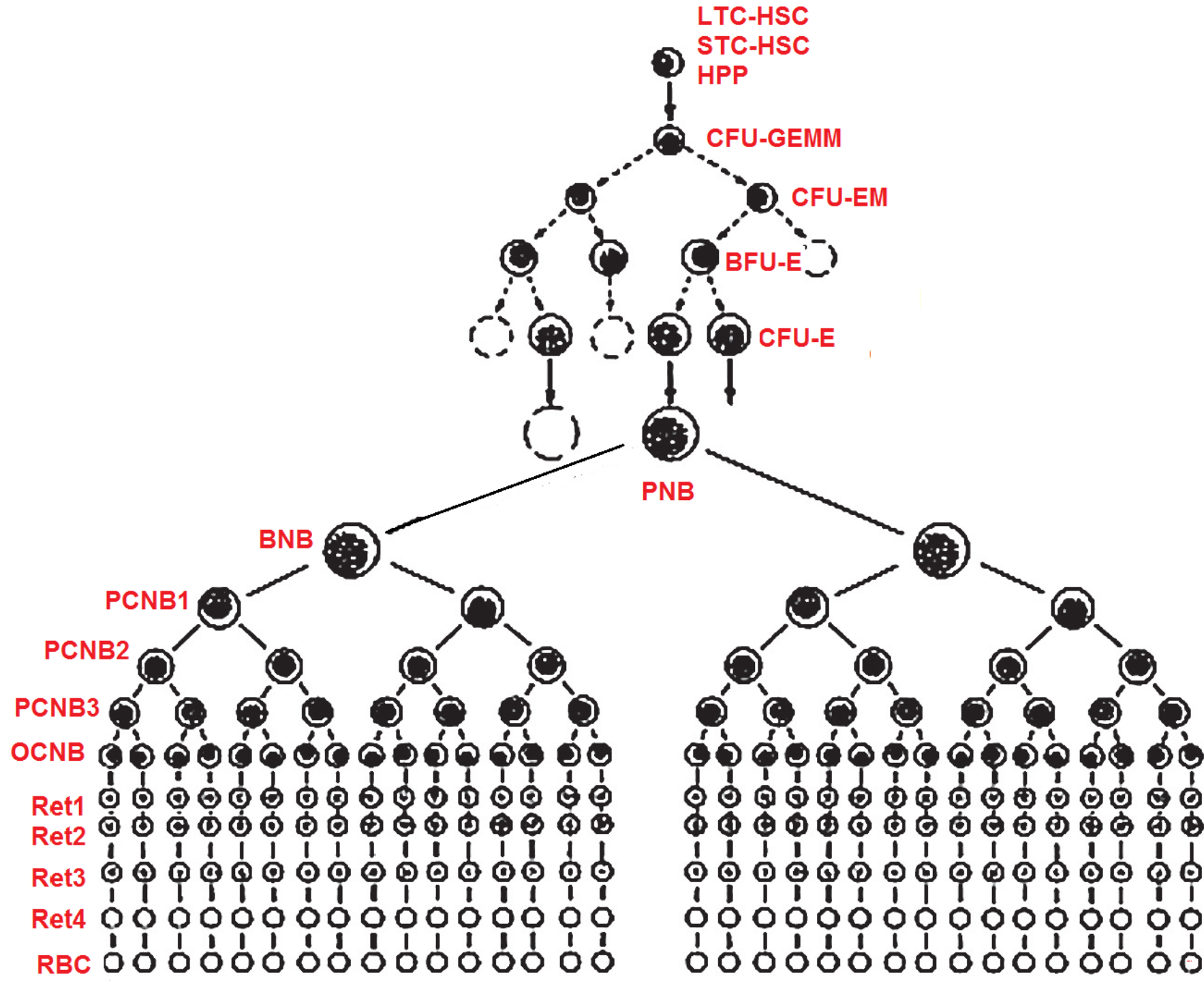


Band



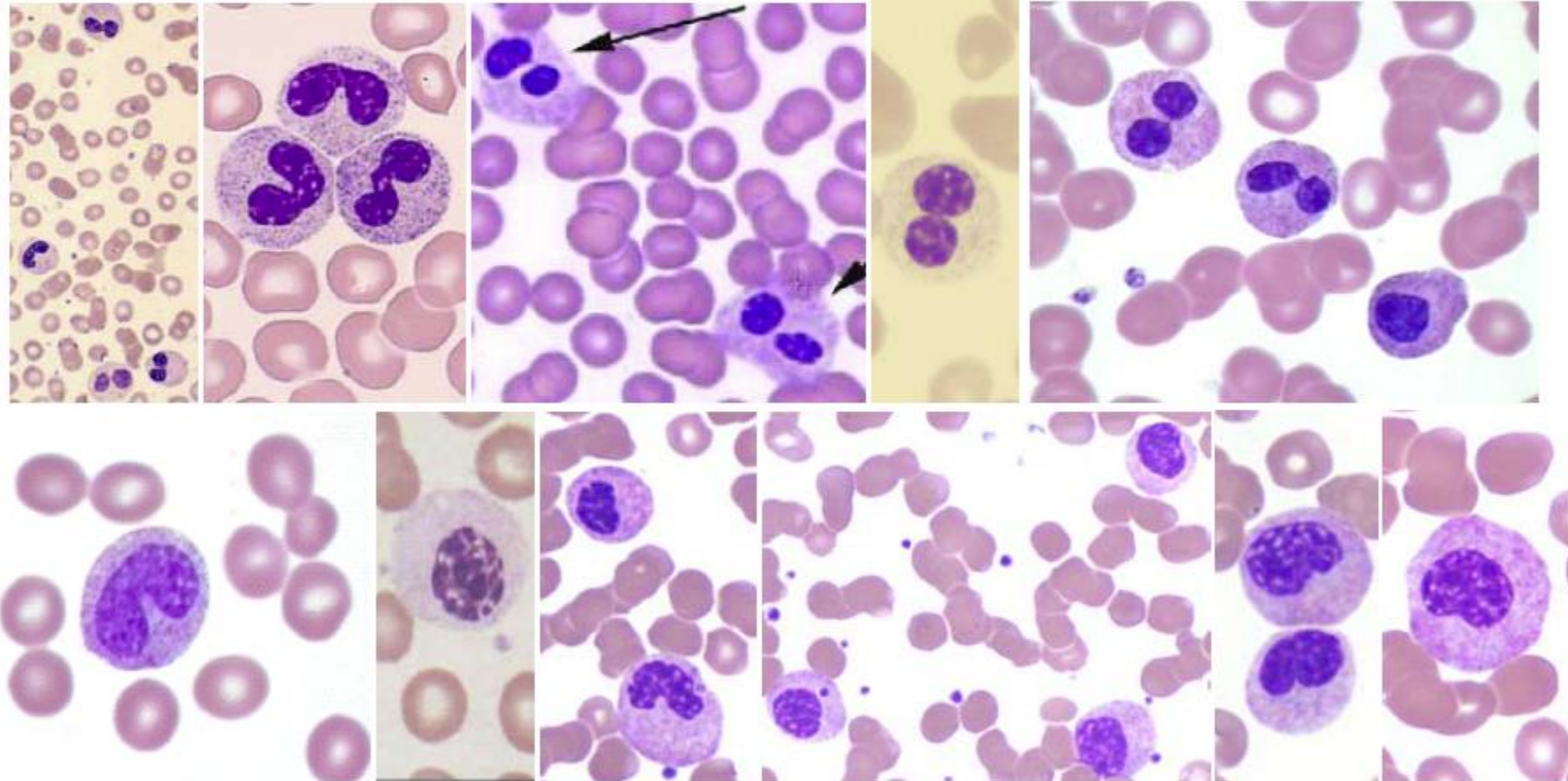
Segmented neutrophil





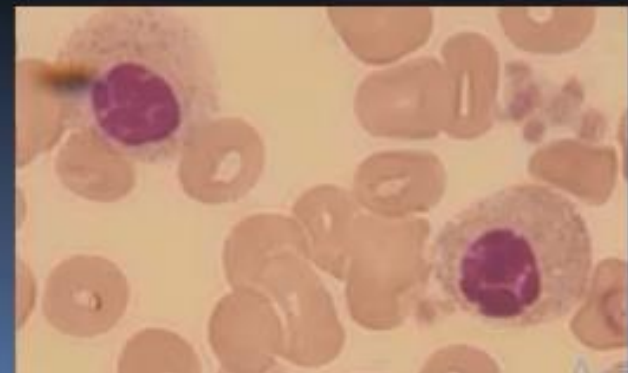
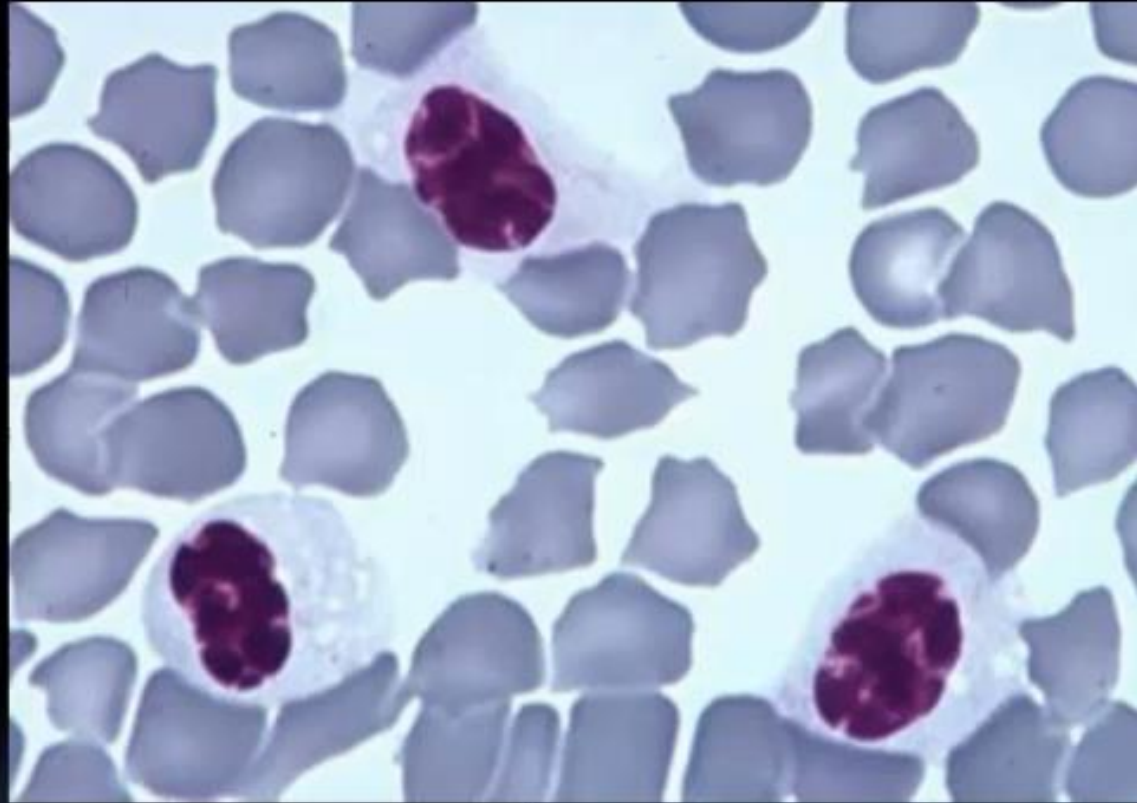
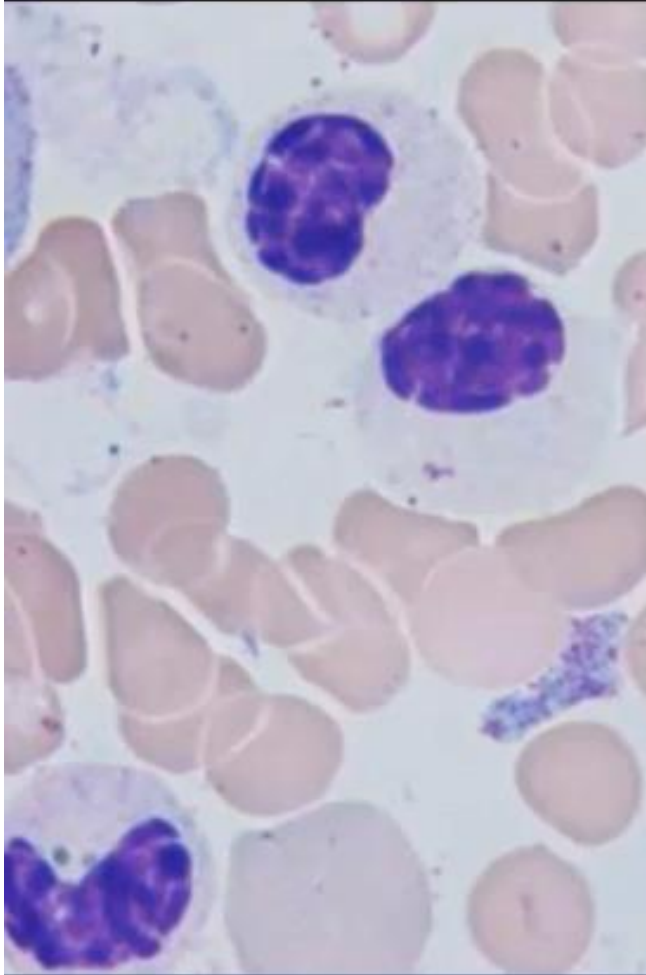


شکل ۳۶: شباهت عینک‌های پنسی یا پینس نز (عینک‌های مدل ۱۹۳۰-۱۸۷۰) به نوتروفیل‌های پلگر هیوت

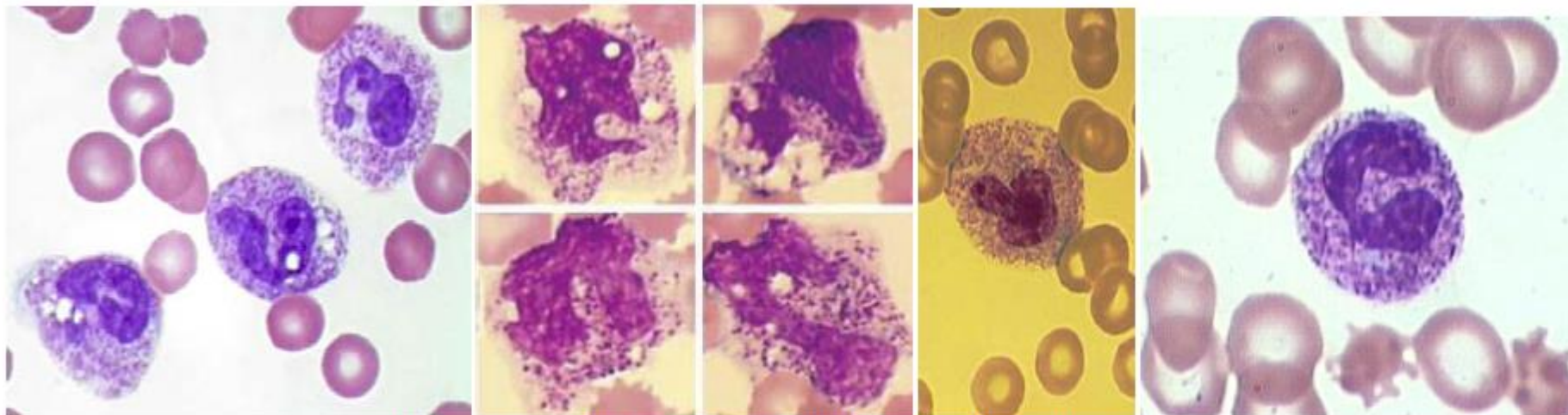


شکل ۳۷: ردیف بالا) پلگر-هیوت هتروزیگوت و ردیف پایین) چندین تصویر از پلگر-هیوت هموزیگوت به همراه یک متامیلوسیت (تصویر سمت چپ) که زون گلژی، سیتوپلاسم صورتی و هترو هسته فرورفته و غیرمتراکم آن را از پلگر هیوت هموزیگوت مجزا می‌کند.

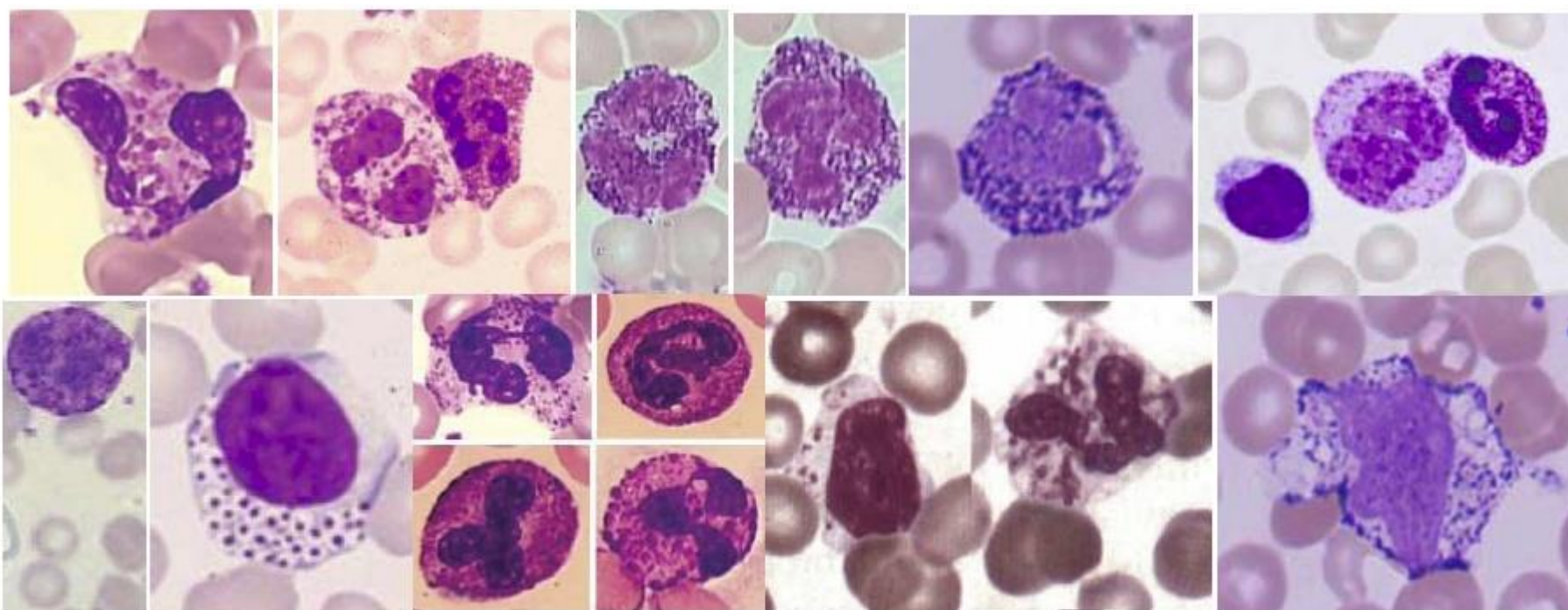
Homozygot pelger huet



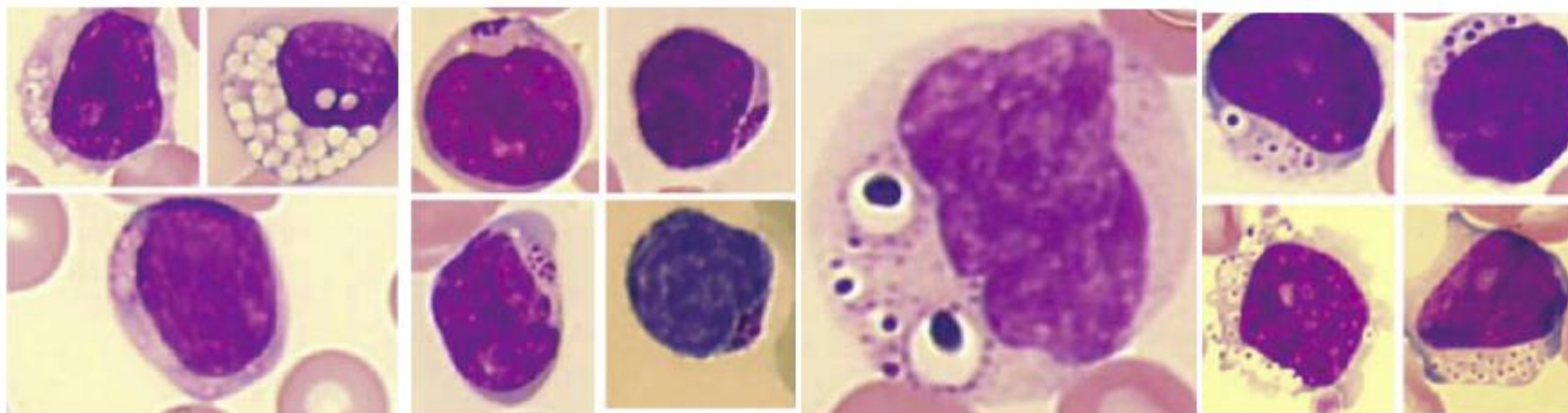
Name	Alternative Designation ^{2,3}	Enzymatic Defect	Urinary Metabolites
Mucopolysaccharidoses			
Hurler, Scheie,	MPS I	α -L-Iduronidase	Dermatan sulfate, heparan sulfate
Hunter	MPS II	Iduronate sulfatase	Dermatan sulfate, heparan sulfate
Sanfilippo A	MPS IIIA	Heparan sulfate <i>N</i> -sulfatase (sulfamidase)	Heparan sulfate
Sanfilippo B	MPS IIIB	α - <i>N</i> -Acetylglucosaminidase	Heparan sulfate
Sanfilippo C	MPS IIIC	Acetyltransferase	Heparan sulfate
Sanfilippo D	MPS IIID	<i>N</i> -Acetylglucosamine 6-sulfatase	Heparan sulfate
Morquio A	MPS IVA	Galactosamine 6-sulfatase	Keratan sulfate, chondroitin 6-sulfate
Morquio B	MPS IVB	β -Galactosidase	Keratan sulfate
Maroteaux-Lamy	MPS VI	<i>N</i> -Acetylgalactosamine 4- sulfatase (arylsulfatase B)	Dermatan sulfate
Sly	MPS VII	β -Glucuronidase	Dermatan sulfate, heparan sulfate, chondroitin 4-sulfate, chondroitin 6-sulfate
Mucolipidoses			
Sialidosis	M LI	Sialidase (neuraminidase)	Glycoprotein fragments
I-cell disease	ML II	UDP- <i>N</i> -acetylglucosamine: glycoprotein <i>N</i> -acetylglucosaminylphosphotransferase. thus Acid hydrolases lack phosphomannosyl residues.)	Glycoprotein fragments
Pseudo-Hurler polydystrophy	ML III	As for ML II but deficiency is incomplete	Glycoprotein fragments



شکل ۴۳: موارد مختلفی از واکنش توکسیک گرانولاسیون نوتروفیلی که گاهی با واکنش نیز همراه می‌باشند.



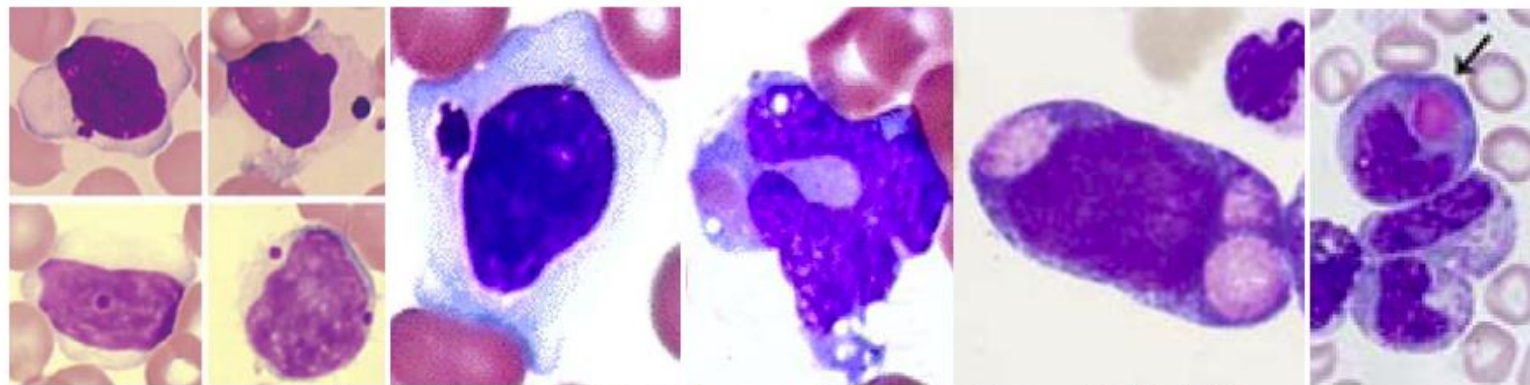
شکل ۴۴: ردیف بالا از راست به چپ) تصویر ۱، ۲، ۳ و ۴) نوتروفیل‌هایی با گرانول‌های درشت و آبی و شبیه توکسیک گرانولاسیون یا پرومیلوسیت یا بازوفیل، تصویر ۵ و ۶) نوزینوفیل‌های مبتلا به آلدو ریلی که گرانول‌های درشت بازوفیلی را نشان می‌دهند. ردیف پایین، از راست به چپ: ۱) مونوسیت، ۲) نوتروفیل، ۳) لنفوسیت، ۴) نوتروفیل، ۵) لنفوسیت گازدار یا Gasser Cell و ۶) نوزینوفیل مبتلا به آلدو-ریلی که در تصویر ۵ لنفوسیت‌هایی با گرانول‌های آبی متاکروماتیک با هاله روشن مشاهده می‌شوند.



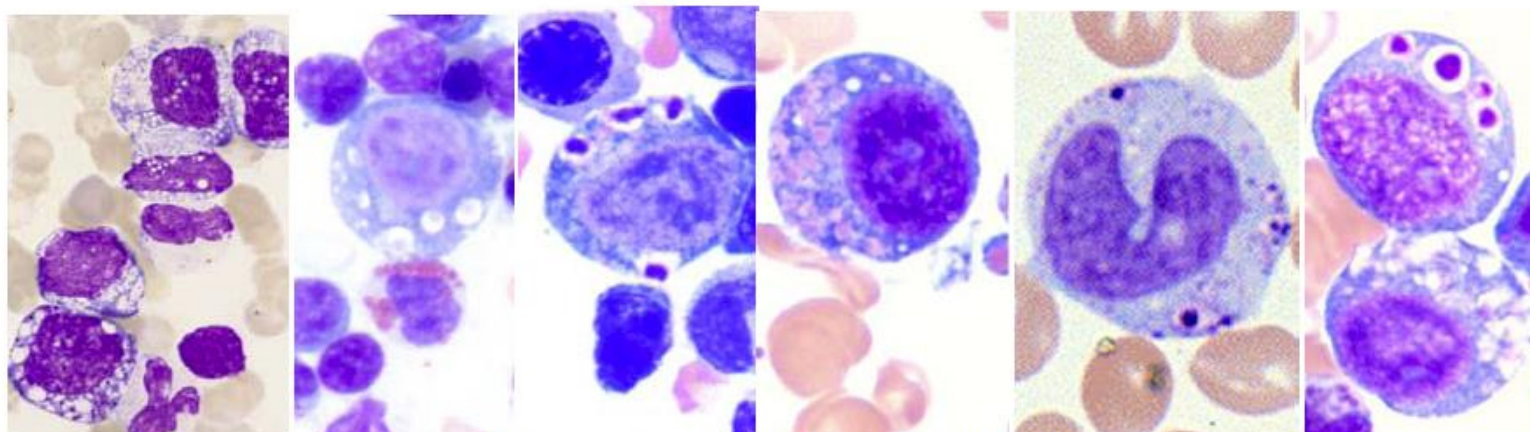
شکل ۴۹: تصویر ۱ و ۲) لنفوسیت‌های گازدار در بیماری سان فیلیپو که در صورت رنگ آمیزی با آبی تولوئیدن رنگ متاکروماتیکی را در سیتوپلاسم خود نشان می‌دهد (تصویر ۳). تصویر سمت چپ (۴) نیز واکونولاسیون لنفوسیت را در بیماری هانتز نشان می‌دهد.



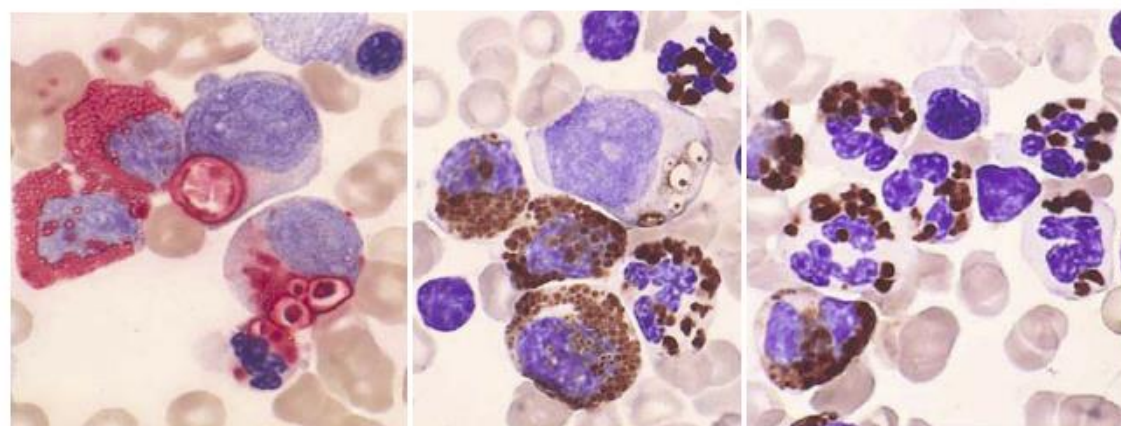
شکل ۴۵: علایم بالینی سندرم گارگوئیلیسم



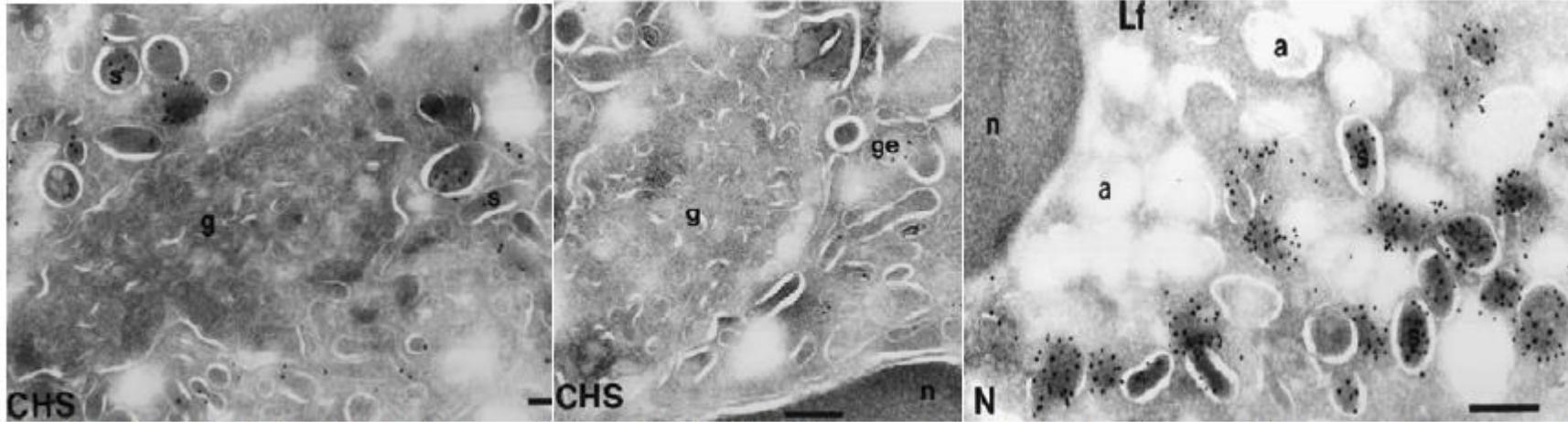
شکل ۵۲: گرانول‌های درشت، گرد و صورتی CHS در مونوسیت‌ها و گرانول‌های درشت و کم‌تعداد در انوزینوفیل



شکل ۵۳: گرانول‌های درشت CHS در میلوپلاست و میلوپیت‌های BM



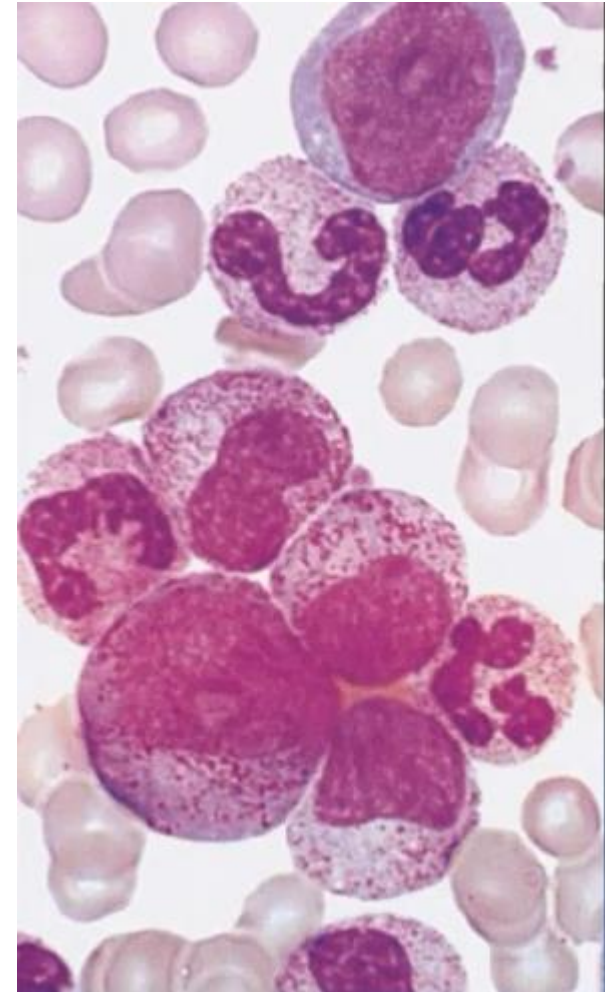
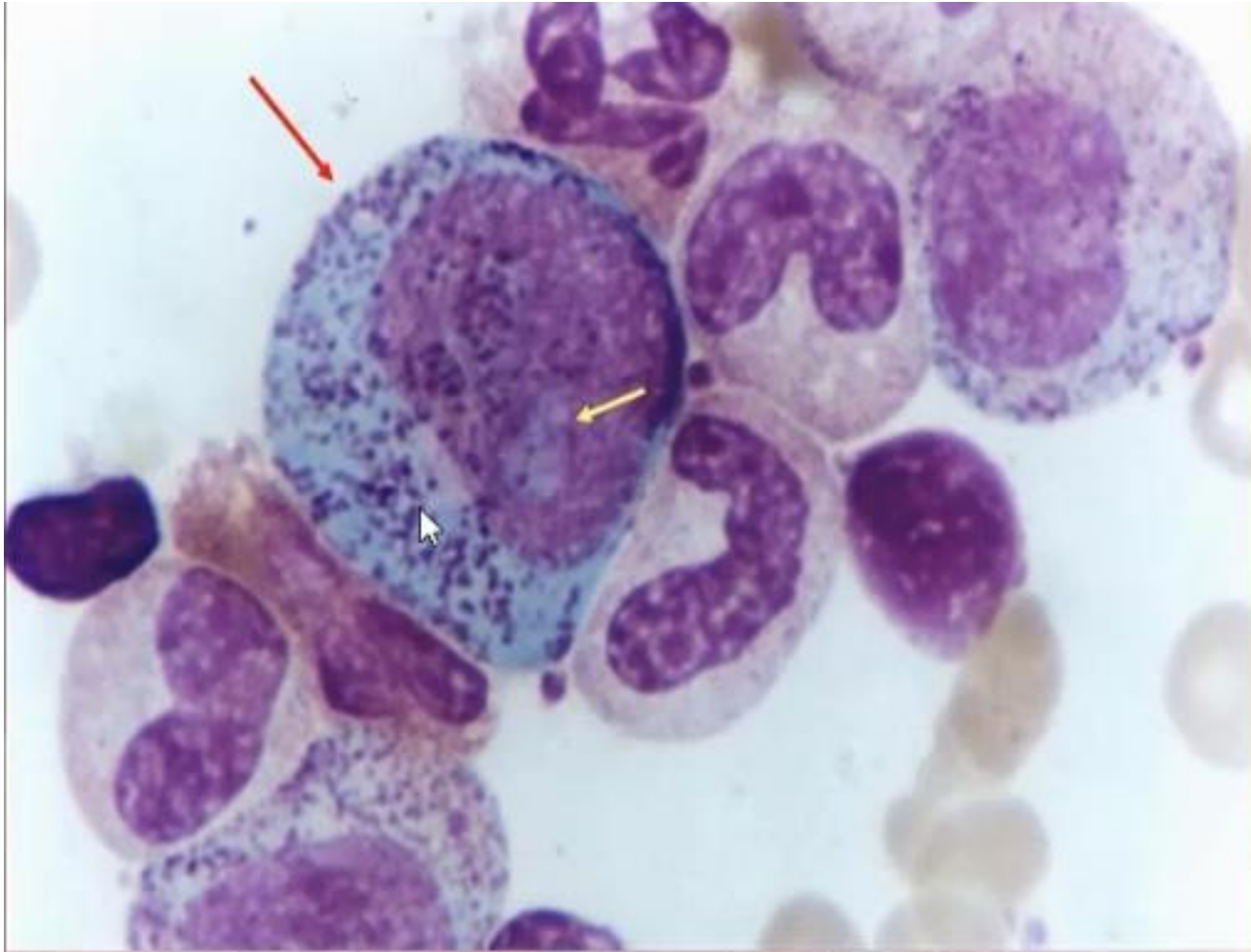
شکل ۵۴: واکنش مثبت گرانول‌های نوتروفیل و میلوپلاست به MPO (رنگ قهوه‌ای) و CAE (رنگ قرمز) در بیماری مبتلا به سندرم چدیاک-هیگاشی

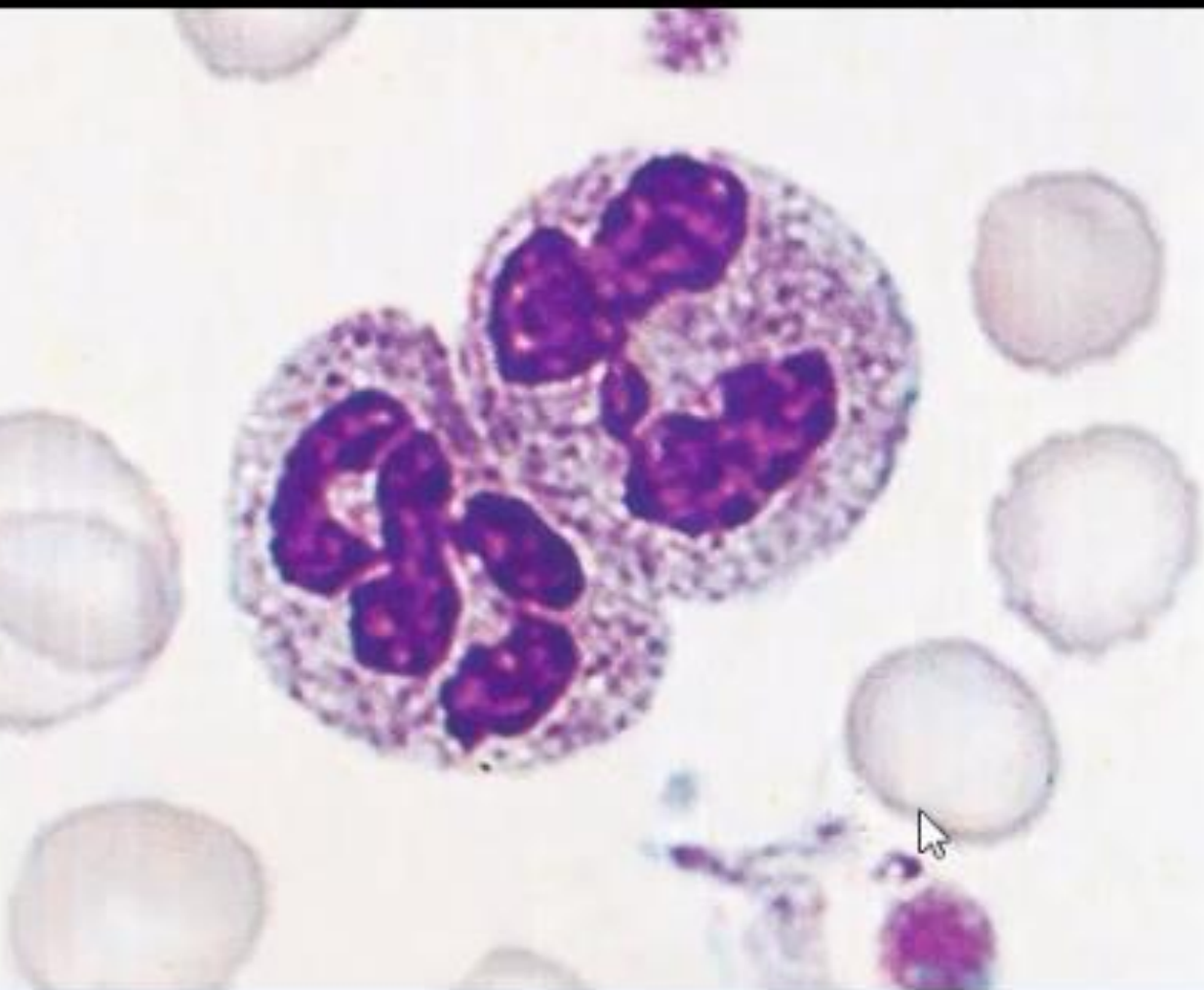


شکل ۵۵: تصویر سمت راست سیتوپلاسم یک نوتروفیل طبیعی را نشان می‌دهد که هر سه گرانول اولیه/آزروفیل (a)، ثانویه/اختصاصی (s) و ثالثیه/ژلاتیناز (ge) را با سایزهای طبیعی نشان می‌دهد در حالی که در سندرم چدیاک-هیگاشی گرانول‌های بزرگ و غول‌پیکر MPO+ (g) در سایزهای بسیار بزرگ و گرانول‌های S و ge در سایز طبیعی خود مشاهده می‌شوند. در اثر ادغام گرانول‌های آزور با یکدیگر، سایز آنها بزرگ ولی درمقابل، تعداد آنها در سیتوپلاسم کاهش می‌یابد. از این رو سیتوپلاسم شفاف‌تر از نوتروفیل‌های نرمال دیده می‌شود.

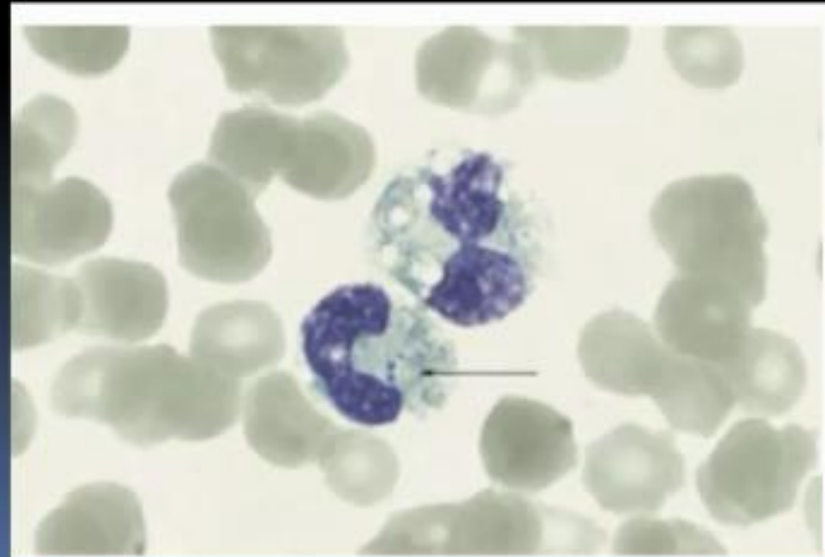
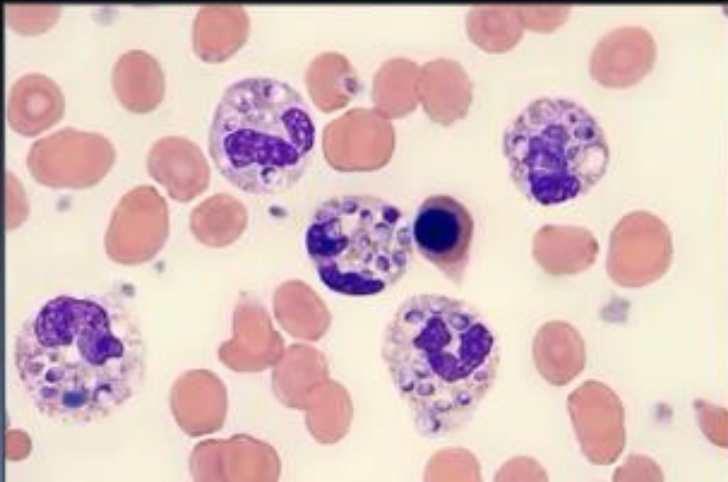
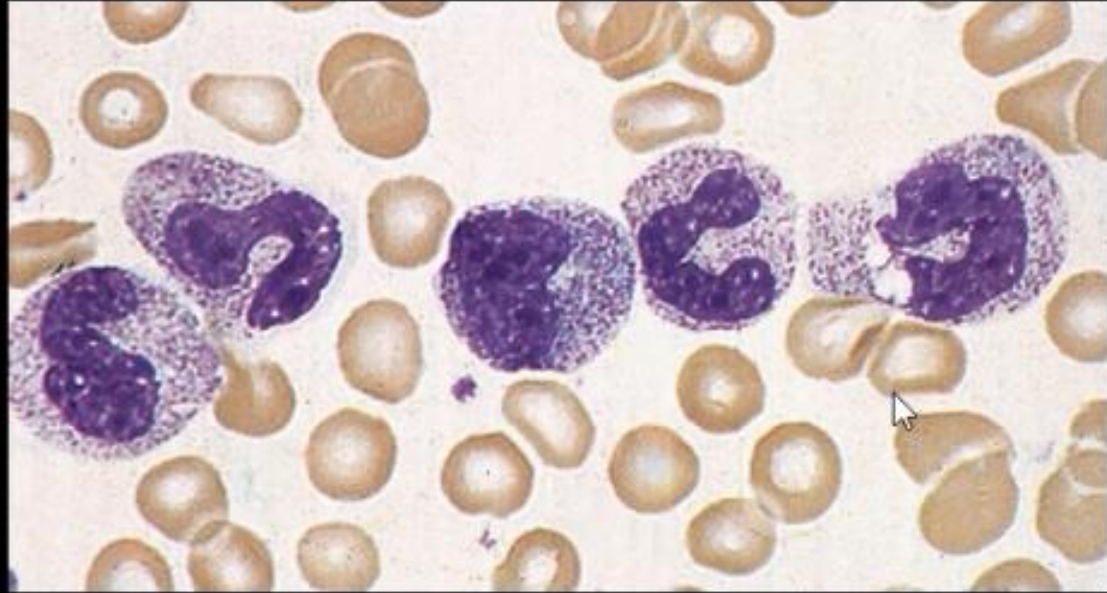
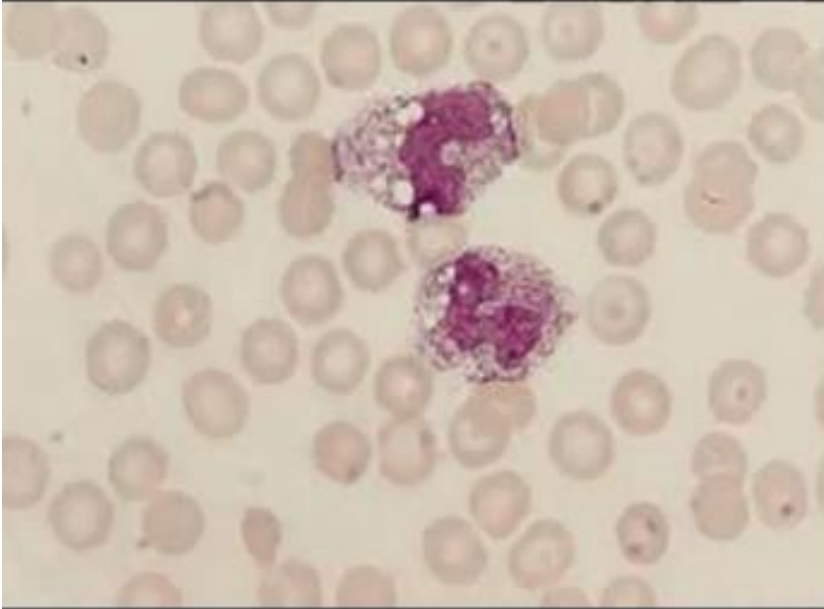


شکل ۵۶: آفت‌های دهانی ناشی از نوتروپنی و اختلال عملکرد نوتروفیل‌ها به همراه هیپویگمانتاسیون پوست و موی سر در بیمار مبتلا به CHS. نوتروفیل تیپیک سندرم نیز در خون همان بیمار نشان داده شده است. شدت آلپینیسیم متغیر بوده و در برخی از بیماران باعث زالی شدید و موهای نقره‌ای سفید می‌شود.

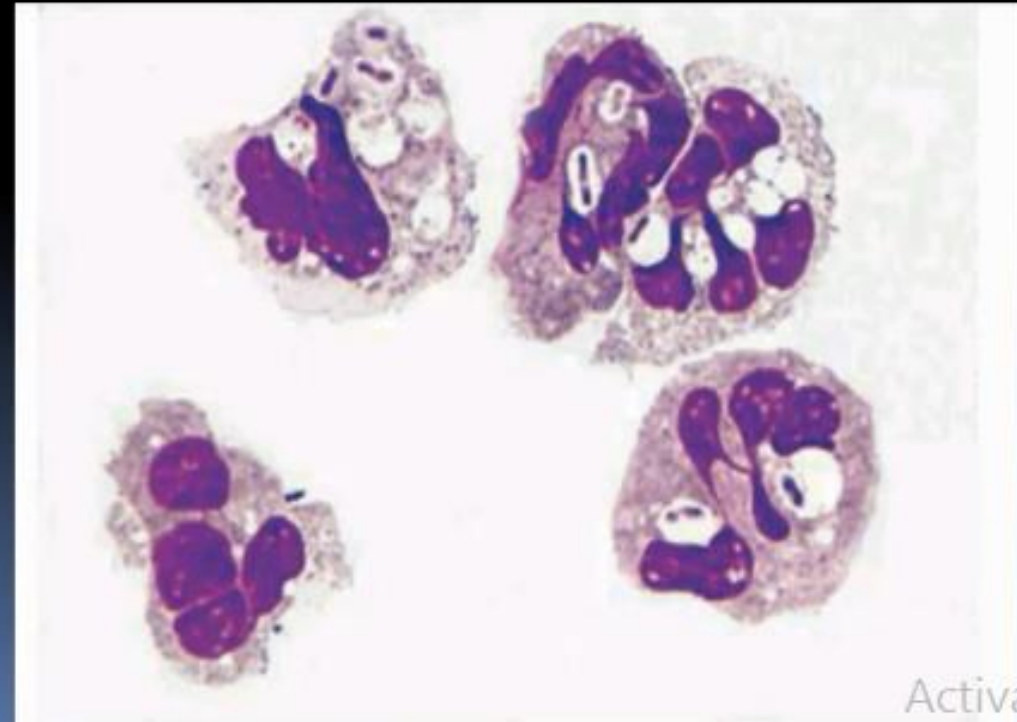
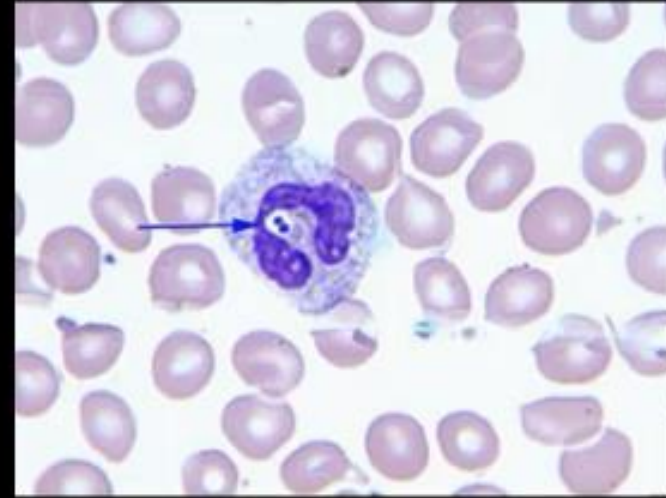
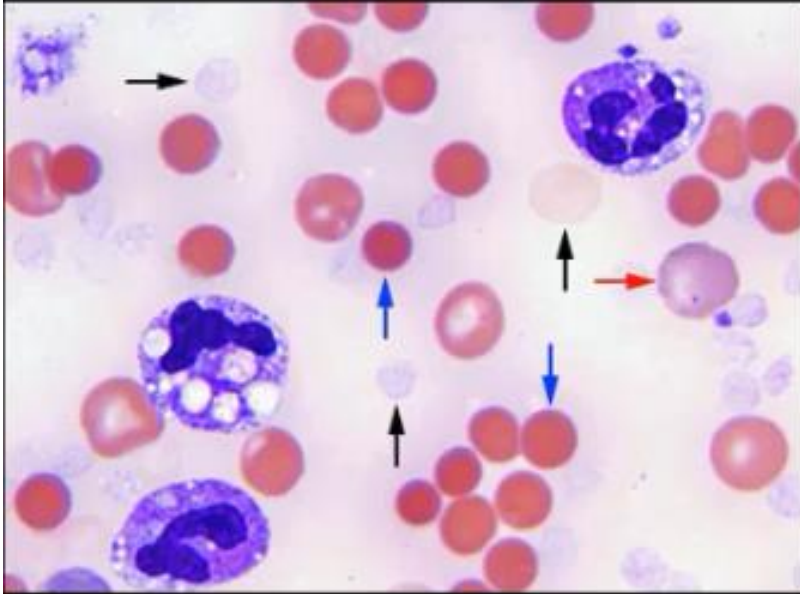




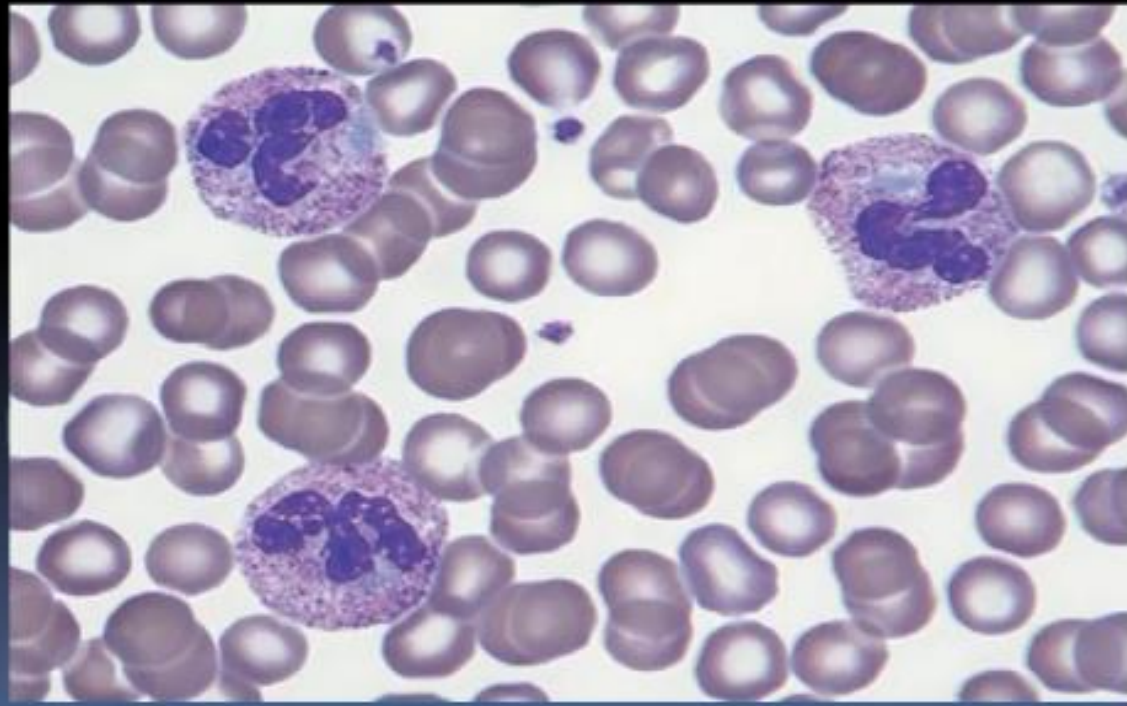
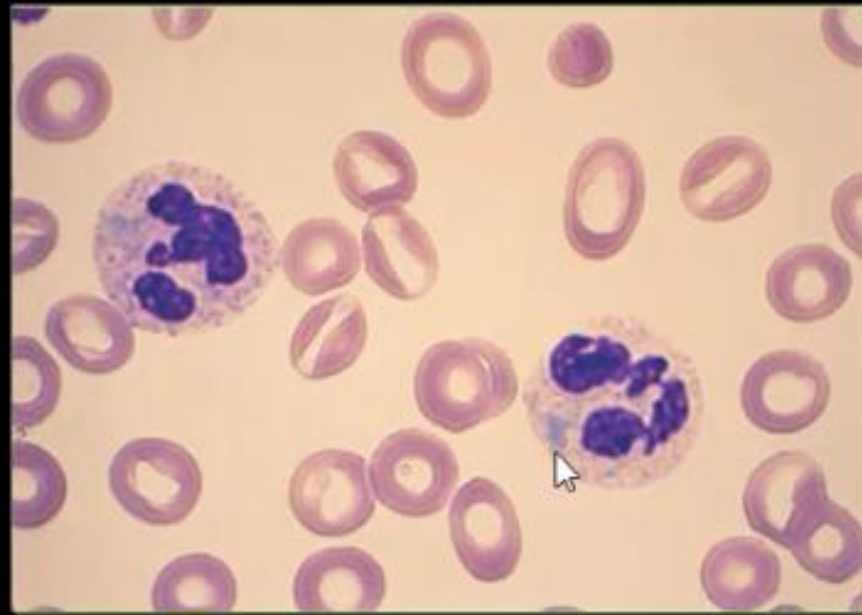
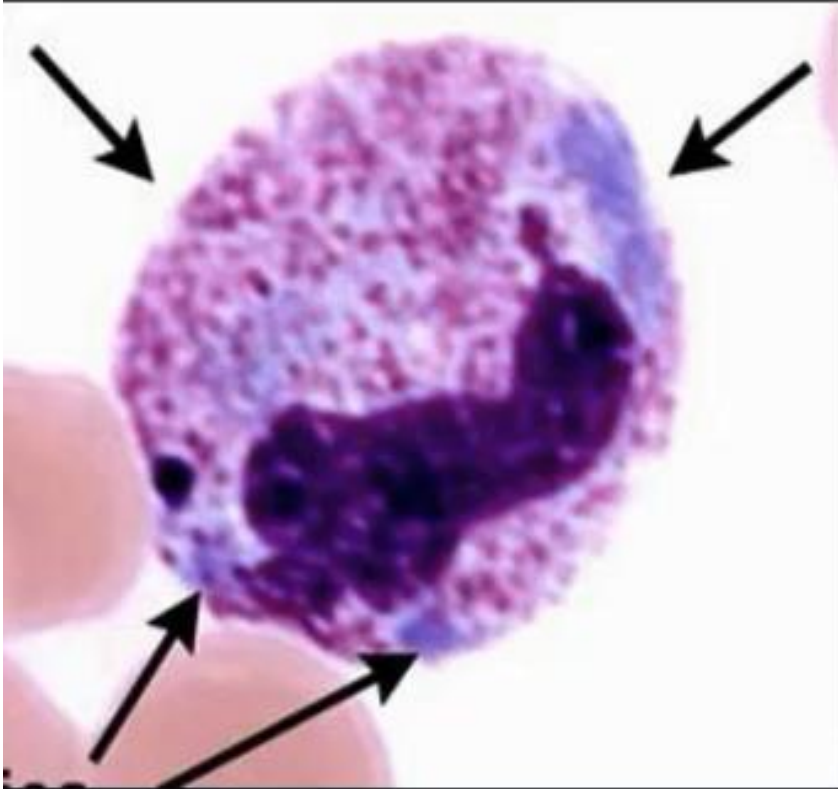
Toxic vacuolisation in sepsis



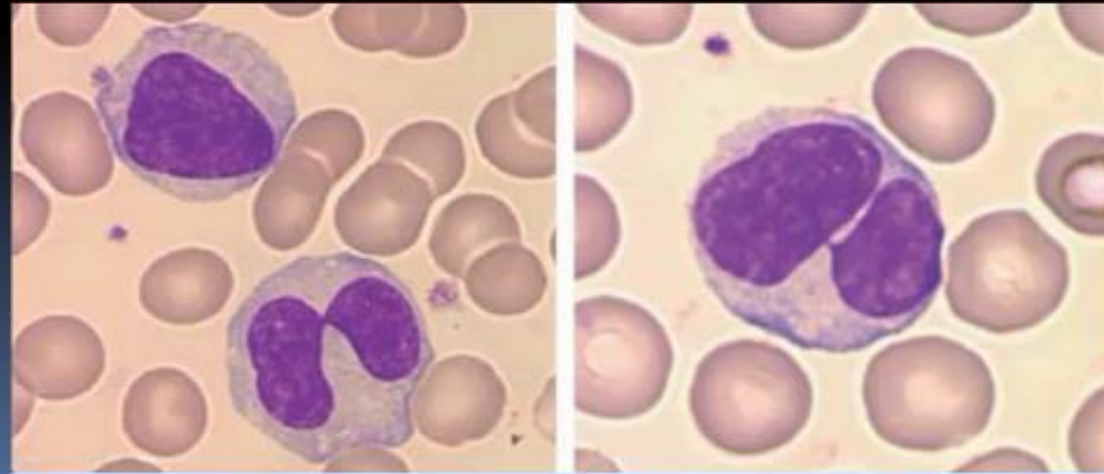
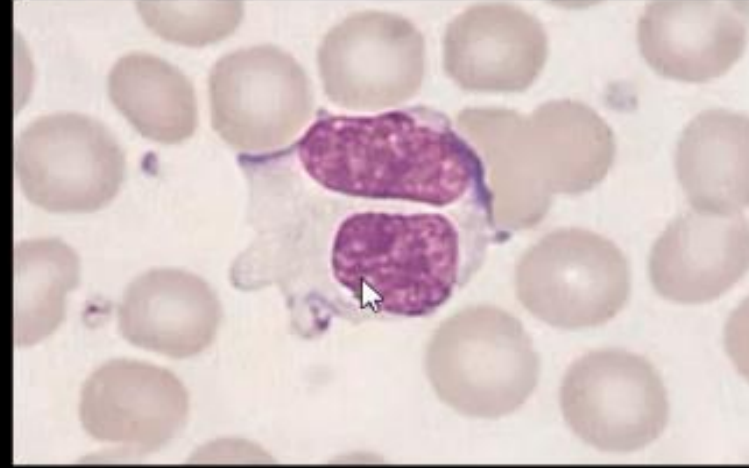
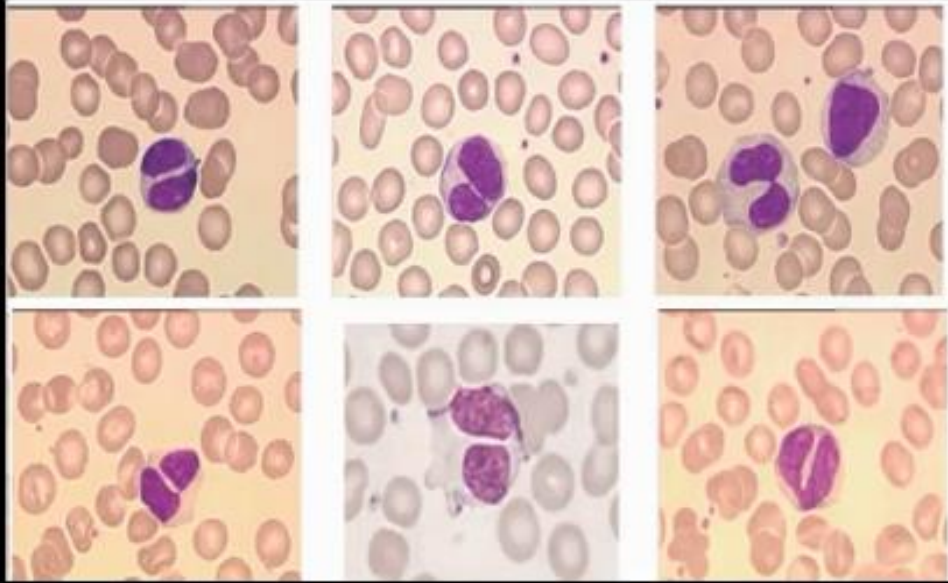
Toxic vacuolization



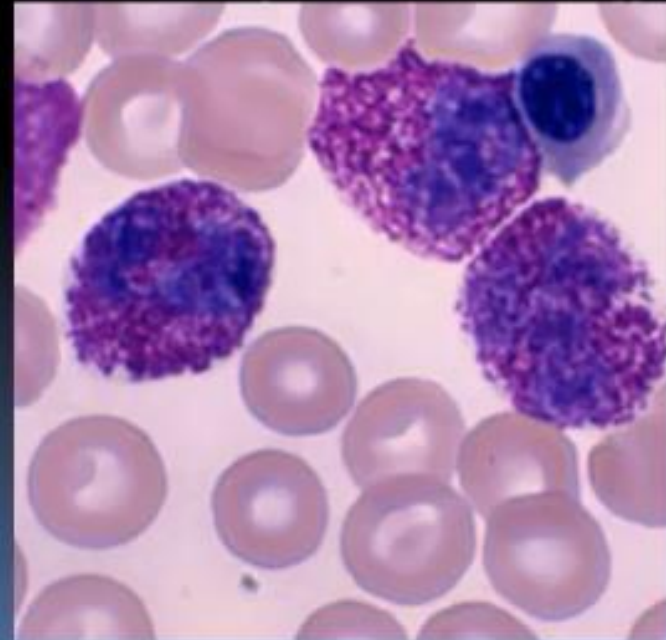
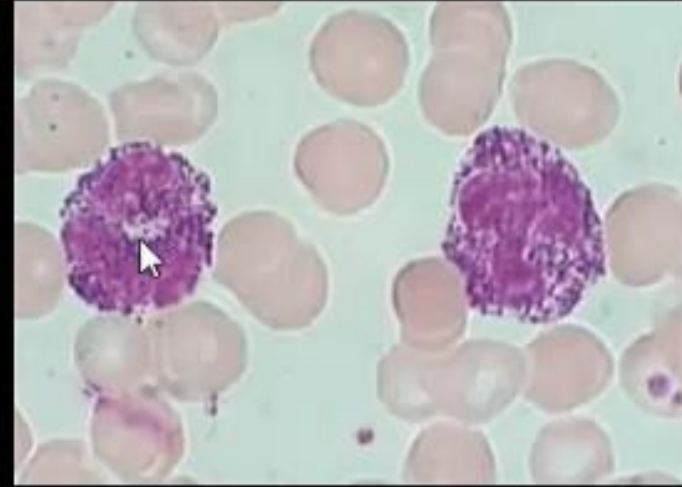
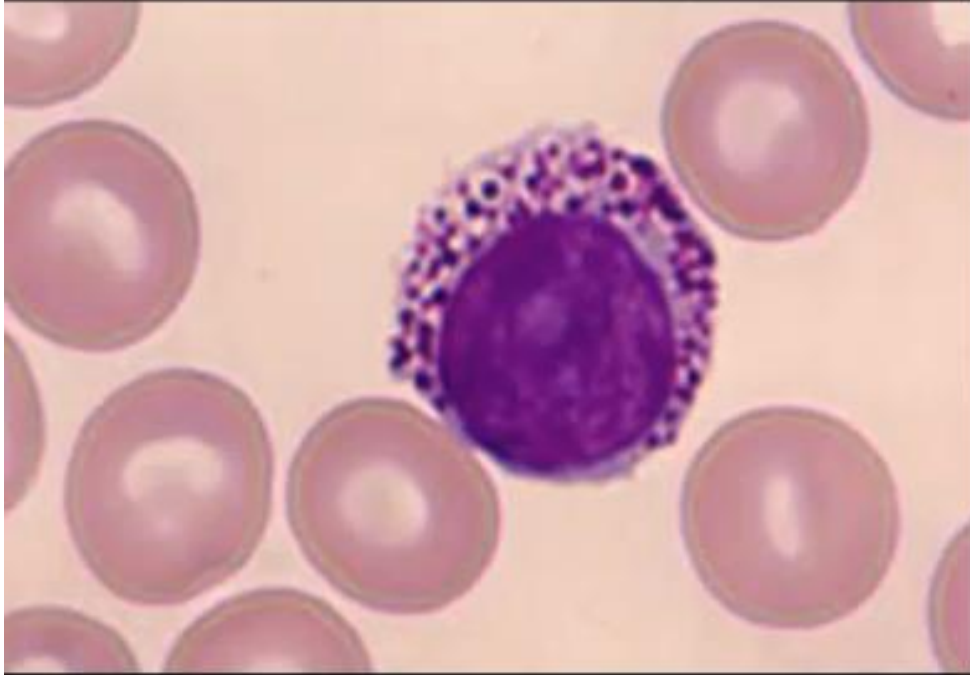
Dohle body



Binucleate lymphocyte



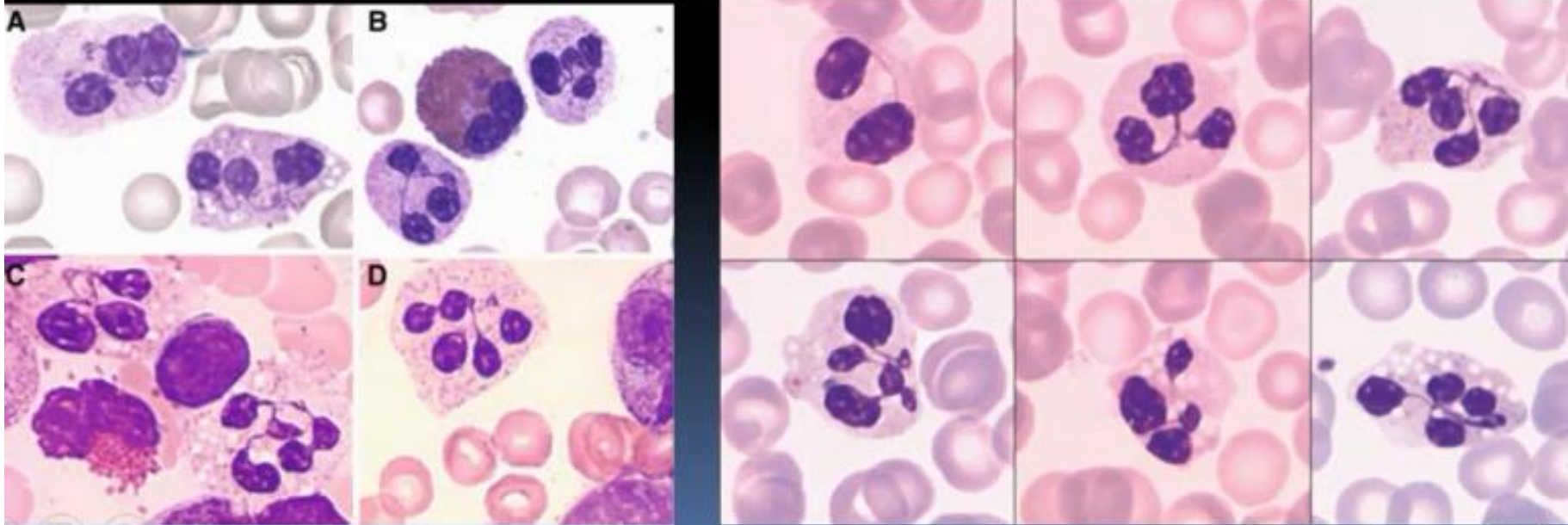
Alder reilly anomaly



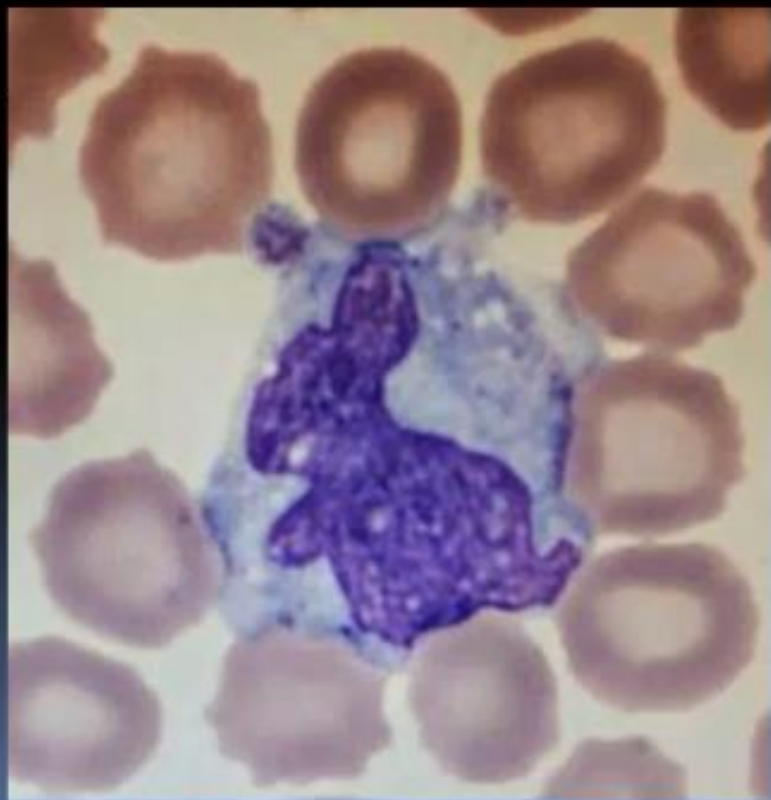
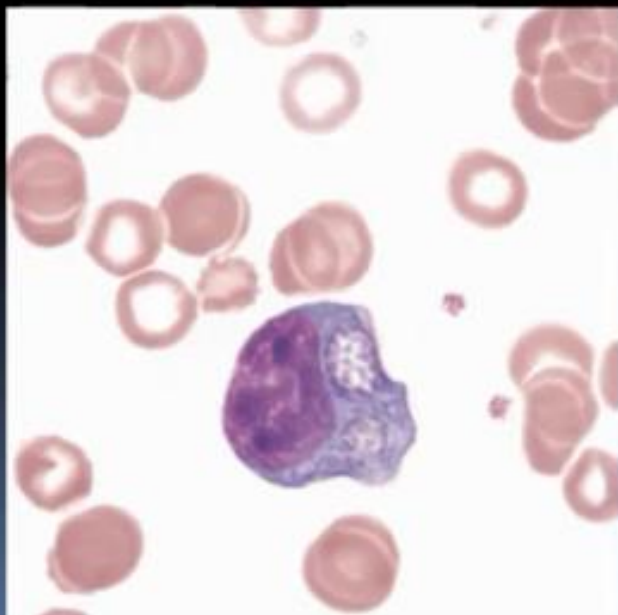
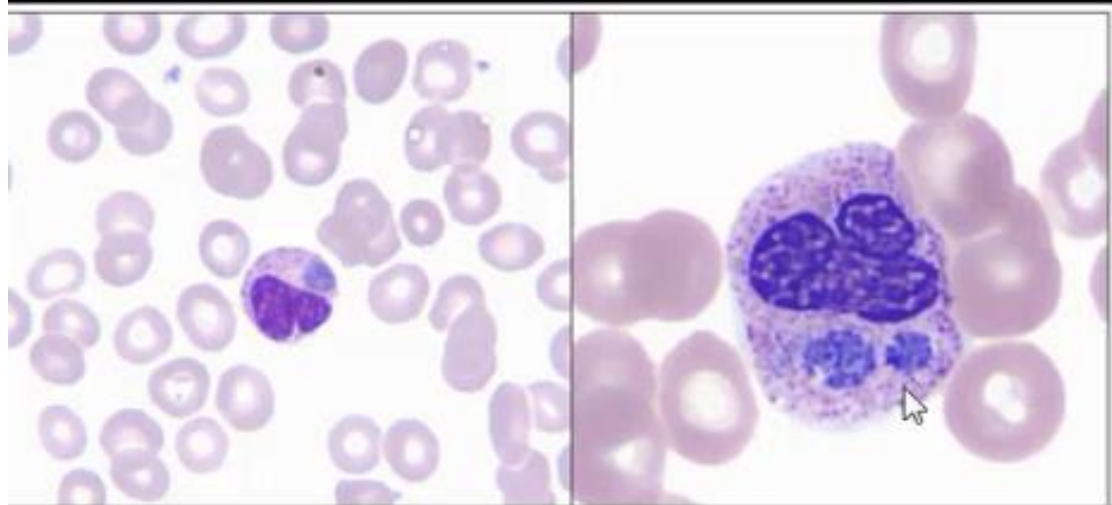
Alder reilly



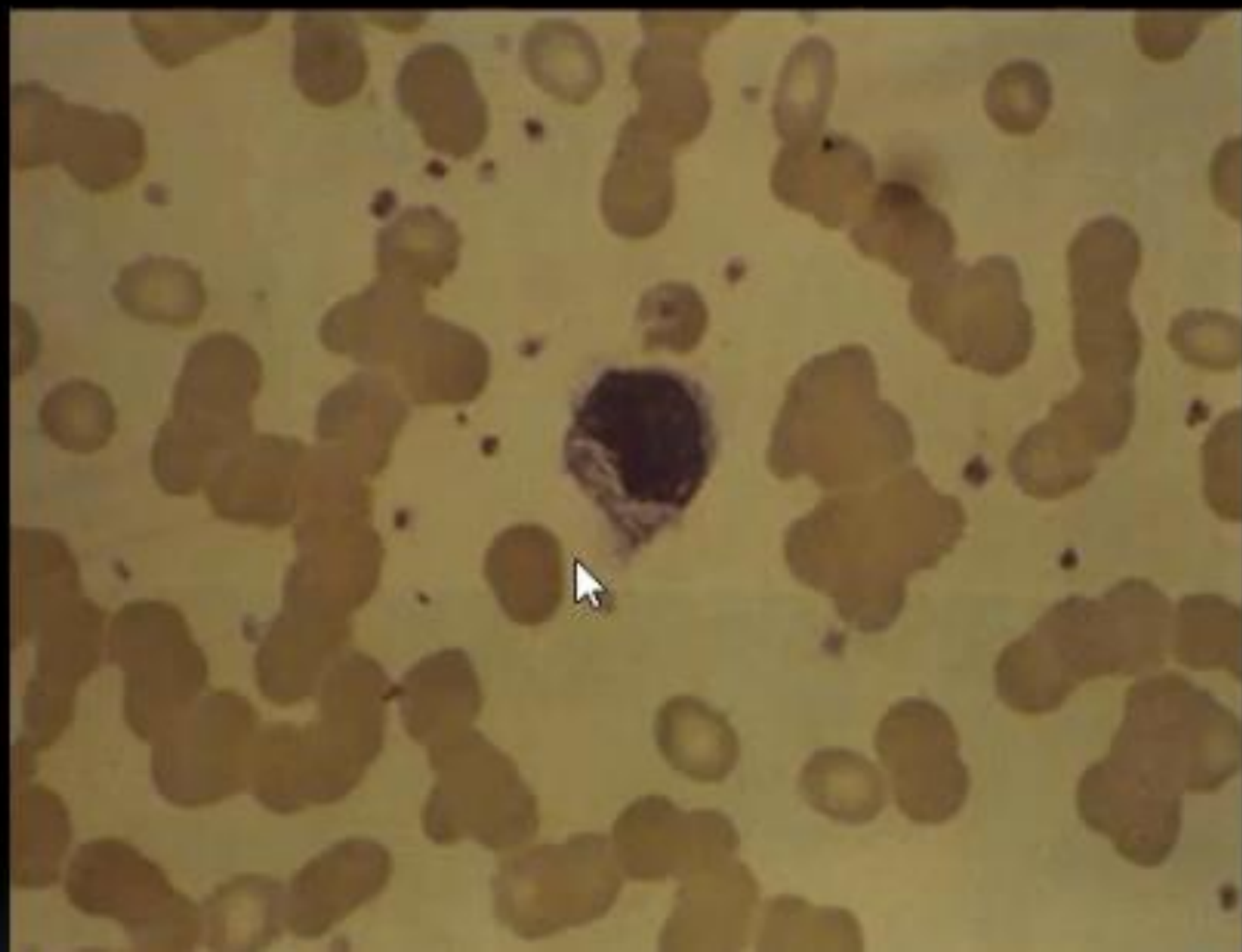
Whim syndrome



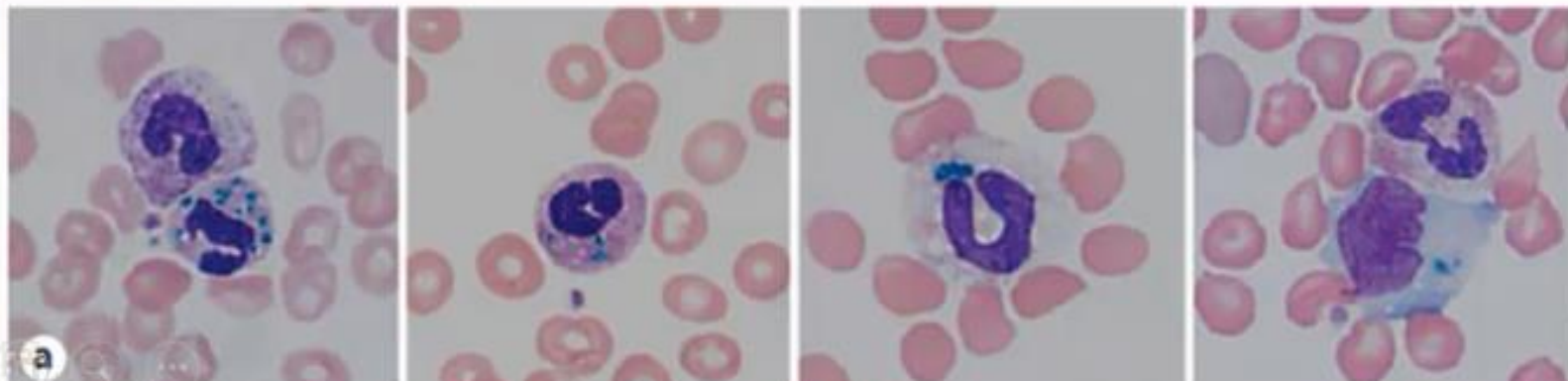
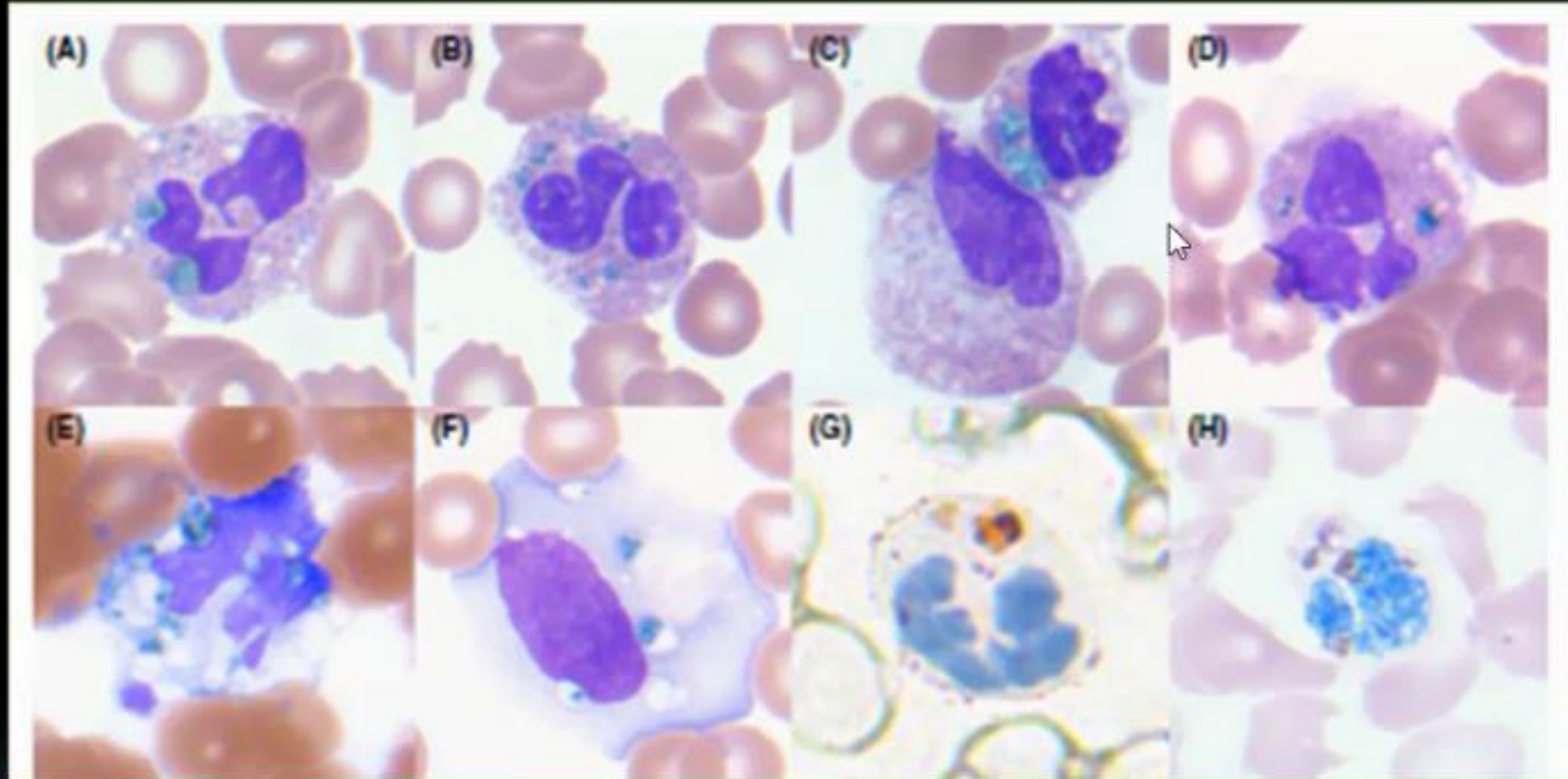
Ehrlichia

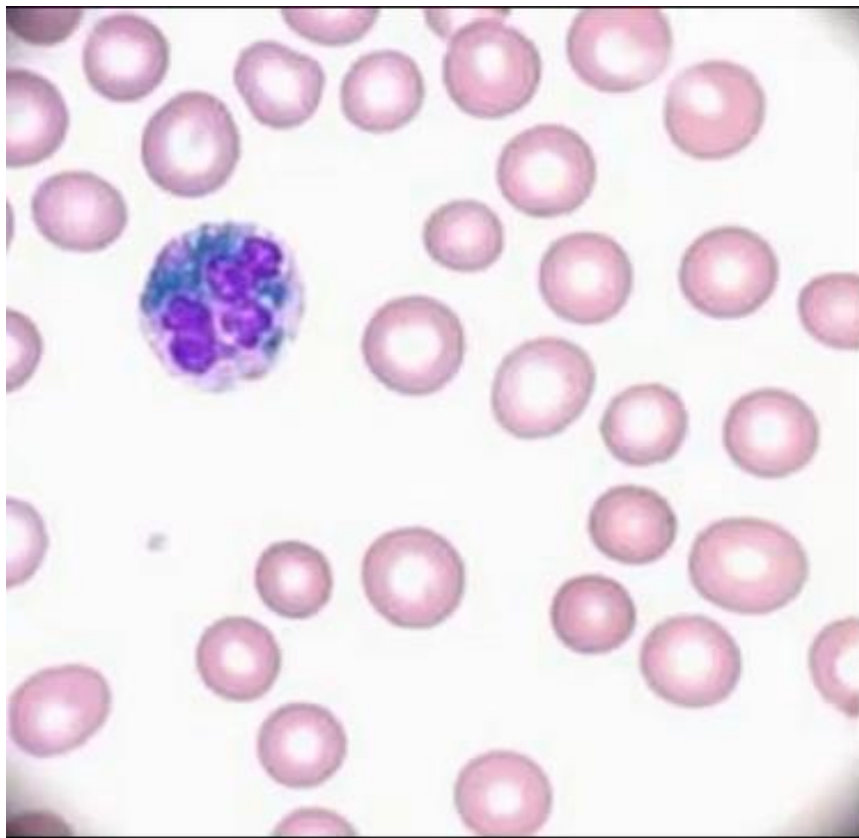


Negative image



Death inclusion





Green Neutrophilic Inclusions are Frequently Associated With Liver Injury and May Portend Short-Term Mortality in Critically Ill Patients FREE



Key steps in diagnosis of AML:

1. Evaluation of an abnormal CBC for possible AML (usually step 1 for the pathologist):

- Confirm HP failures, assess for blasts/blast equivalents (see step 2), and dysplasia.

i. WBC: non-specific; in AML can be low, normal, or high.

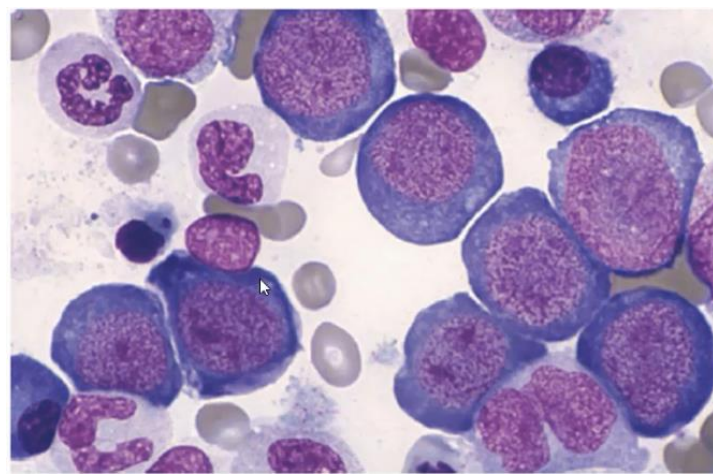
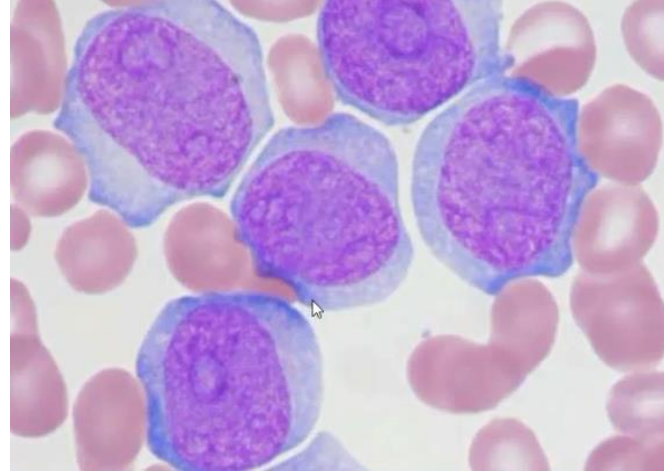
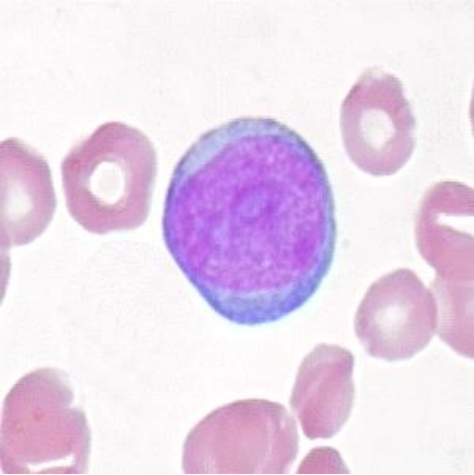
- ANC: severe neutropenia characteristic of HP failure; typical in AML, but exceptions occur.
- Circulating blasts: variable number and percent in AML, but key feature to assess in blood.

ii. RBC features: severe anemia characteristic of HP failure, an expected feature of AML.

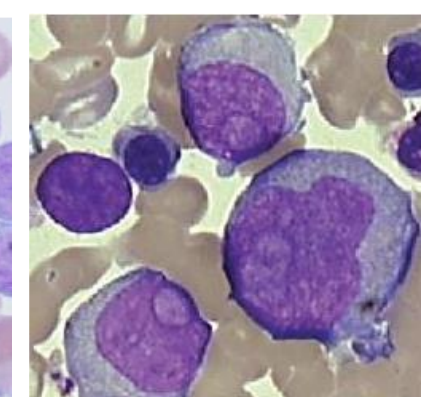
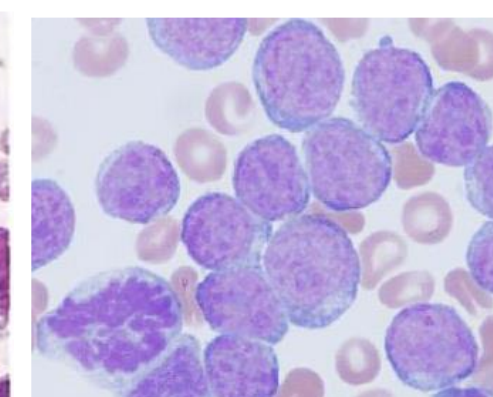
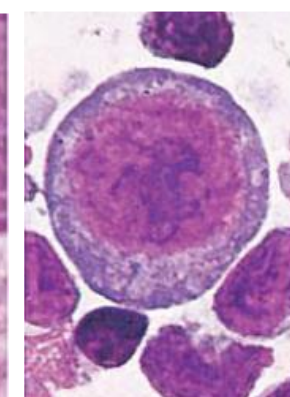
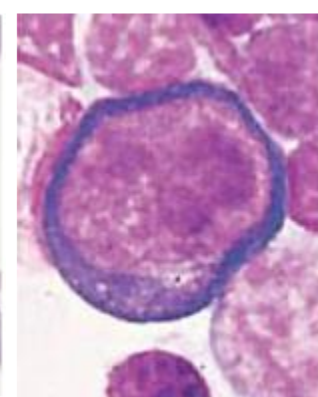
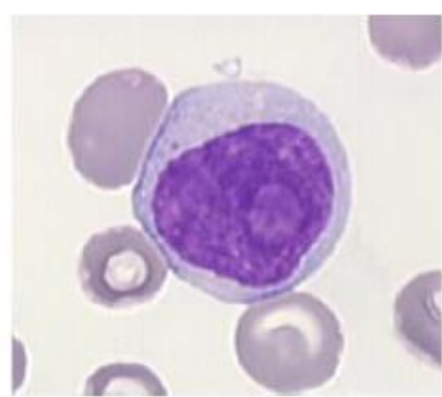
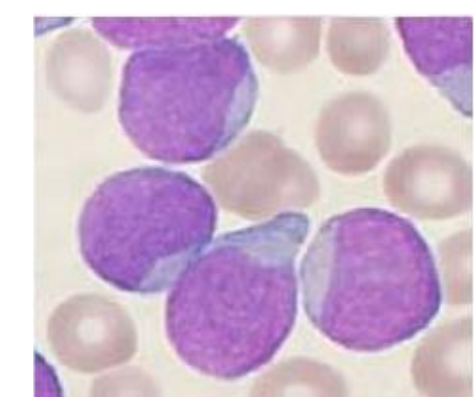
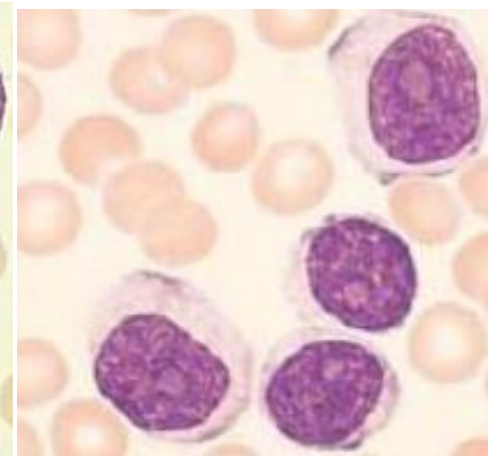
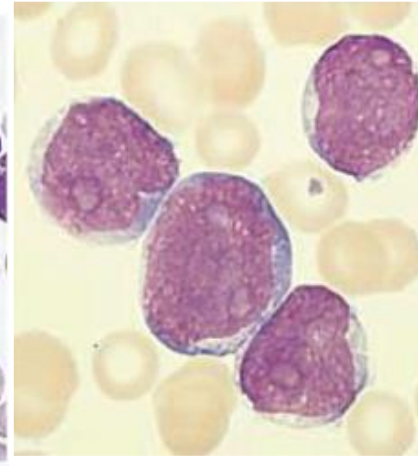
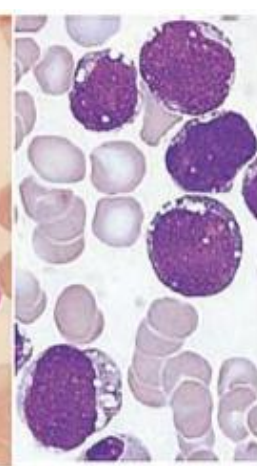
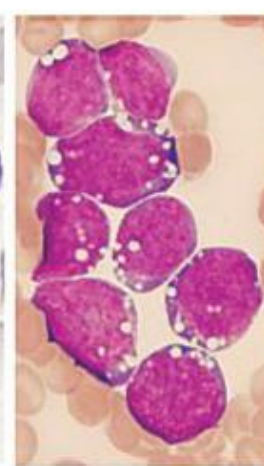
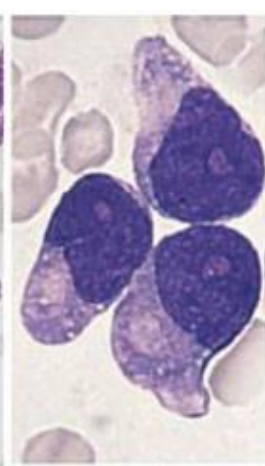
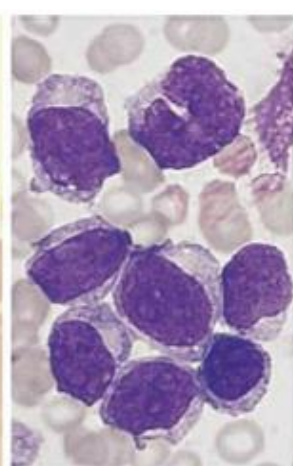
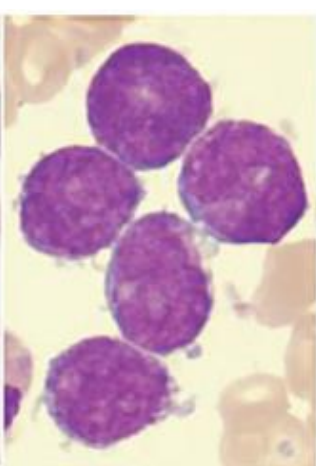
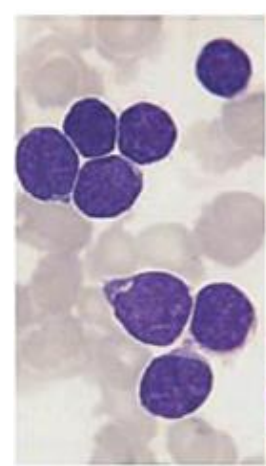
iii. Platelets: severe thrombocytopenia characteristic of HP failure

2. Identify morphologic blasts and blast equivalents in blood (and subsequent bone marrow, if performed):

- Morphologic assessment of nuclear features key for “blast” designation.
- Distinguish from blast look-alikes and other immature hematopoietic cells.
- Consider APL specifically; alert clinician if suspected based on morphology of immature cells and CBC data.
- Cytochemistry, flow cytometric immunophenotyping, genetics can all be performed on blood as needed.



Nagasaki Univ.



3. Bone marrow examination: often performed to address differential diagnoses from blood assessment or for protocol requirements.

4. Determine lineage of blasts/blast equivalents:

- Morphology (nucleus and cytoplasm).
- Cytochemistry.
- Immunophenotype.
- Consider APL specifically and alert clinician if suspected.

5. Enumeration of blasts/blast equivalents by morphology and differential cell count:

- Blood (percentage; threshold $\geq 20\%$)
- Bone marrow (percentage; threshold $\geq 20\%$): blast count $< 20\%$, but Auer rods or other distinctive morphology suggests AML
- Unique situations compromising blast count:
 - Fibrosis and/or necrosis.
 - Predominance ($\geq 50\%$) of erythroid lineage.
 - Marked hypocellularity.
 - Technically poor specimen.

6. Assess all lineages for dysplasia: (core biopsy better for megakaryocyte assessment).

7. Identify biologic subtypes of AML based on:

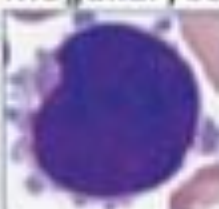
- Distinctive morphologic features (eg, multilineage dysplasia).
- Recurrent cytogenetic subtypes.
- Molecular assessment for NPM1 , CEBPA , and FLT3.
- Prior chemotherapy/radiation.
- Antecedent hematologic disorder.
- Constitutional disorder (eg, Down syndrome or other constitutional disorders).

8. For cases lacking diagnostic biologic features, exclude other differential diagnostic possibilities.

9. Lineage-based classification for AML, NOS cases lacking identifiable biologic features.

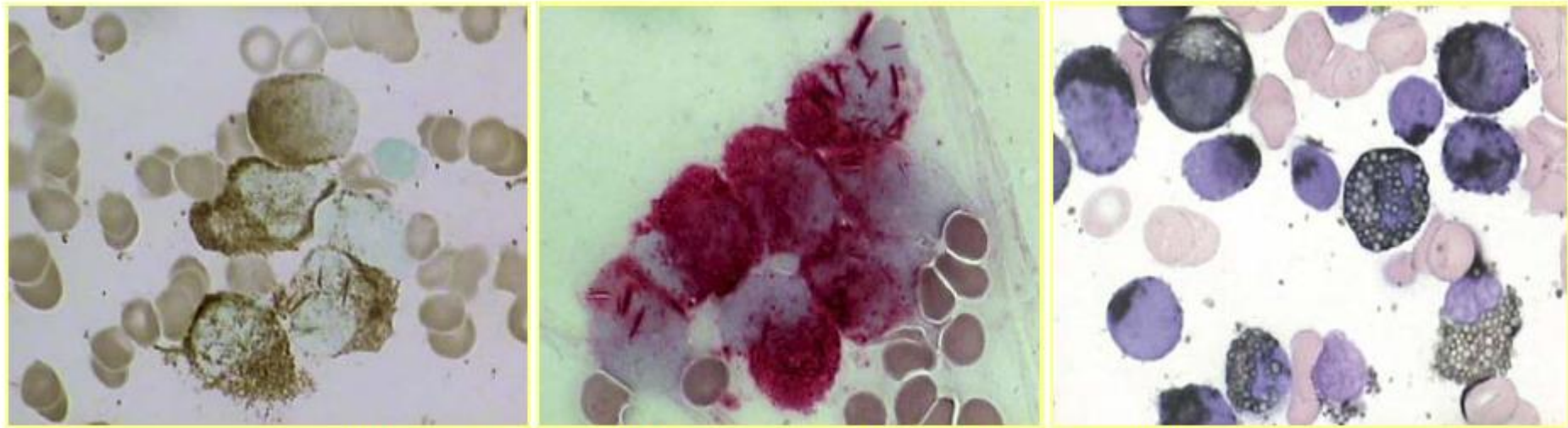
t18.4 Blasts, Blast Equivalents, Other Immature Cells in Blood and Bone Marrow

Cell Type	Key Morphologic Features	Cytochemistry	Immunophenotype/Comments*
Myeloblast 	Large nucleus with finely dispersed chromatin and variably prominent nucleoli Relatively high nuclear/cytoplasmic ratio Variable number of cytoplasmic granules, may be concentrated in limited portion of cytoplasm	MPO+	CD34+, CD13+, CD33+, MPO+, HLA-DR+, vCD11c+, wCD45+, CD117 usually +
Promyelocyte 	Nuclear chromatin slightly condensed; nucleoli variably prominent; nucleus often eccentric, and Golgi zone may be apparent Numerous cytoplasmic granules that may be more dispersed throughout cytoplasm Blast equivalent in APL <i>only</i> In APL, intense cytoplasmic granularity usually present Nuclear configuration variable, but nuclear folding and lobulation characteristic of microgranular variant of APL	Strong, uniform MPO+	CD13+, CD33+, MPO+, wCD45+, CD34-, HLA-DR- Loss of HLA-DR and acquisition of strong CD15 and CD11c associated with maturation Gradual loss of CD33 also characterizes successive maturation stages CD34 usually negative in hypergranular variant; often positive in microgranular variant
Monoblast 	Moderate to low nuclear to cytoplasmic ratio, nuclear chromatin finely dispersed with variably prominent nucleoli; nuclei round to folded Abundant, slightly basophilic cytoplasm containing fine granulation and occasional vacuoles	NSE+	CD34-, HLA-DR+, CD13+, CD33 bright +, CD36/CD64 coexpression, vCD4+, CD11c+, wCD45+ Usually CD34- Occasional cases moderate CD45+

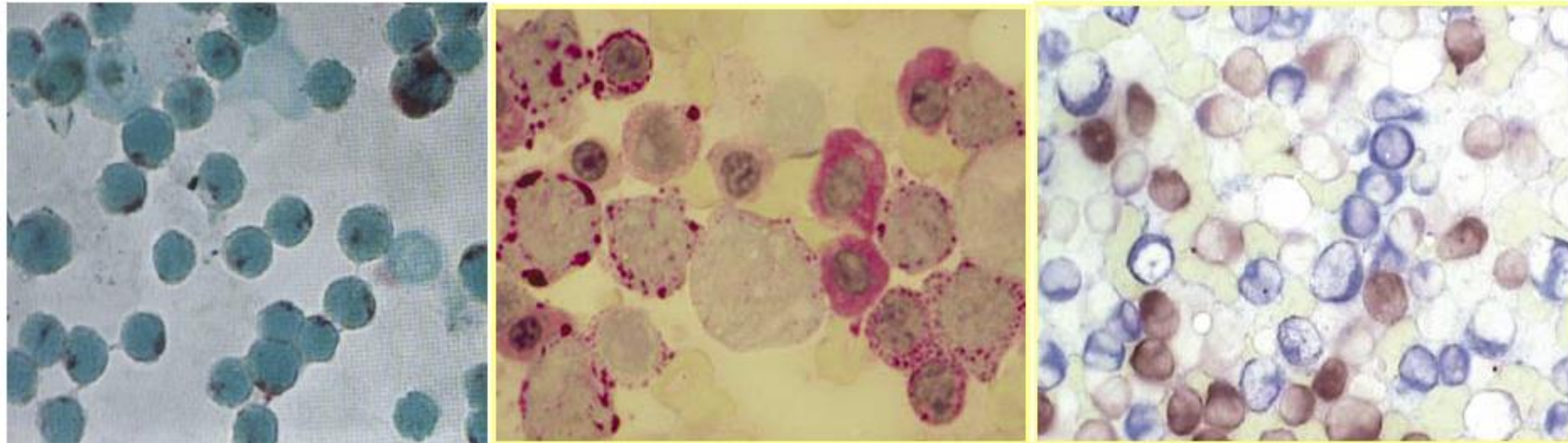
Promonocyte 	Slightly condensed nuclear chromatin; variably prominent nucleoli Abundant finely granular blue/gray cytoplasm that may be vacuolated Very monocytic appearance with nuclear immaturity Consistent blast equivalent in AML	NSE+	CD36/CD64 coexpression, HLA-DR+, CD13+, CD33 bright +, vCD14+, CD4+, CD11c+, CD45+
Erythroblast 	Relatively high nuclear/cytoplasmic ratio Nucleus round with slightly condensed chromatin; nucleoli variably prominent Moderate amounts of deeply basophilic cytoplasm that may be vacuolated Included in blast percentage <i>only</i> in acute erythroid leukemia	PAS+	Glycophorin A+, hemoglobin A+, CD71+, CD34-, CD45-, MPO-, myeloid antigens negative CD117 often positive
Megakaryoblast 	Highly variable morphologic features; often not recognizable without special studies May be lymphoid-appearing with high nuclear to cytoplasmic ratio Nuclear chromatin fine to variably condensed Cytoplasm may be scant to moderate, is usually agranular or contains a few granules; blebbing or budding of cytoplasm may be evident Blasts may form cohesive clumps	NA	CD34-, CD41+, CD61+, CD33 bright +, CD13-, HLA-DR- (or dim) Progressive maturation characterized by loss of CD34 and acquisition of CD42 and von Willebrand factor
Blastic plasmacytoid dendritic cell^a 	Variable morphology; not identified in either normal bone marrow or AML Often not recognizable without immunophenotyping May be lymphoid-appearing May show cytoplasmic tadpoles	MPO-	CD4+, CD56+, CD123+, CD43+, CD45+, HLA-DR+, vTdT+ CD123 not specific; seen in subset of AMLs (Discussed in detail in Chapter 19)

جدول ۱-۶۸: خصوصیات رنگ آمیزی سیتوشیمی در نئوپلاسم‌های مختلف خونی

رنگ سیتوشیمی	خصوصیات
MPO	باعث رنگ شدن گرانول اولیه و ثانویه و آنئوررادهای سلول‌های رده نوتروفیلی، گرانول‌های ائوزینوفیل (به صورت توپر) و گرانول‌های مونوسیت می‌شود. گرانول‌های یک بازوفیل نرمال با MPO رنگ نمی‌گیرد. معرف این رنگ در واقع سوبسترای است که در حضور آنزیم MPO به رنگ قهوه‌ای در می‌آید.
SBB	باعث رنگ شدن گرانول اولیه و ثانویه و آنئوررادهای سلول‌های رده نوتروفیلی، گرانول‌های ائوزینوفیل (به صورت گرانول حاوی کریستال) و گرانول‌های مونوسیت می‌شود. گرانول‌های یک بازوفیل نرمال معمولاً با MPO رنگ نمی‌گیرد ولی گاهی به صورت متاکروماتیک (قرمز/بنفش) رنگ می‌شود. این رنگ دیواره لیپیدی گرانول‌ها را رنگ می‌کند.
NASD-CAE	باعث رنگ شدن گرانول ماست سل و نوتروفیل می‌شود، بجز در AML نوع M2:t(8;21) و M3:t(15;17) آنئوررادهای معمولاً با این رنگ منفی می‌شوند.
ANAE	باعث رنگ شدن مونوسیت، ماکروفاژ، مگاکاریوسیت، پلاکت، اکثریت T سل‌ها و برخی لنفوبلاست‌ها می‌شود.
ANBE	باعث رنگ شدن مونوسیت، ماکروفاژ و موارد خاصی از T سل‌ها می‌شود (ولی متغیر).
PAS	تمامی سلول‌های رده نوتروفیلی (به صورت گرانول که با بلوغ سلول، بیشتر و منتشرتر می‌شود)، پرومیلوسیت‌های لوسمیک (به صورت منتشره)، سیتوپلاسم ائوزینوفیل (نه گرانول‌ها)، سیتوپلاسم بازوفیل (به صورت بلوک)، مونوسیت‌ها (به صورت گرانول در سیتوپلاسم منتشره)، نورموبلاست‌های لوسمیک (به صورت بلوک)، برخی از لنفوسیت‌های B و T و اکثر لنفوبلاست‌های لوسمیک (به صورت بلوک و در $T < B$) با معرف Schiff مثبت می‌شوند که این رنگ اغلب ذخایر گلیکوژنی را رنگ می‌کند.
Acid-P	نوتروفیل، اکثر T سل‌ها، لنفوبلاست‌های T (به صورت فوکال) و درجاتی از ائوزینوفیل، مونوسیت و پلاکت را رنگ می‌کند. این رنگ ماکروفاژ، پلاسماسل، مگاکاریوسیت و برخی مگاکاریوبلاست‌های لوسمیک را نیز رنگ می‌کند.
Toluidin Blue	گرانول‌های بازوفیل و ماستوسیت
Perl's	هموسیدرین‌های نورموبلاست‌ها، ماکروفاژها (سیدروفاژها) و گاهی پلاسماسل را رنگ می‌کند.



شکل ۸-۶۸: از راست به چپ: (۱) رنگ آمیزی SBB (سیاه)، (۲) رنگ آمیزی CAE (قرمز) و (۳) رنگ آمیزی MPO (قهوه‌ای)

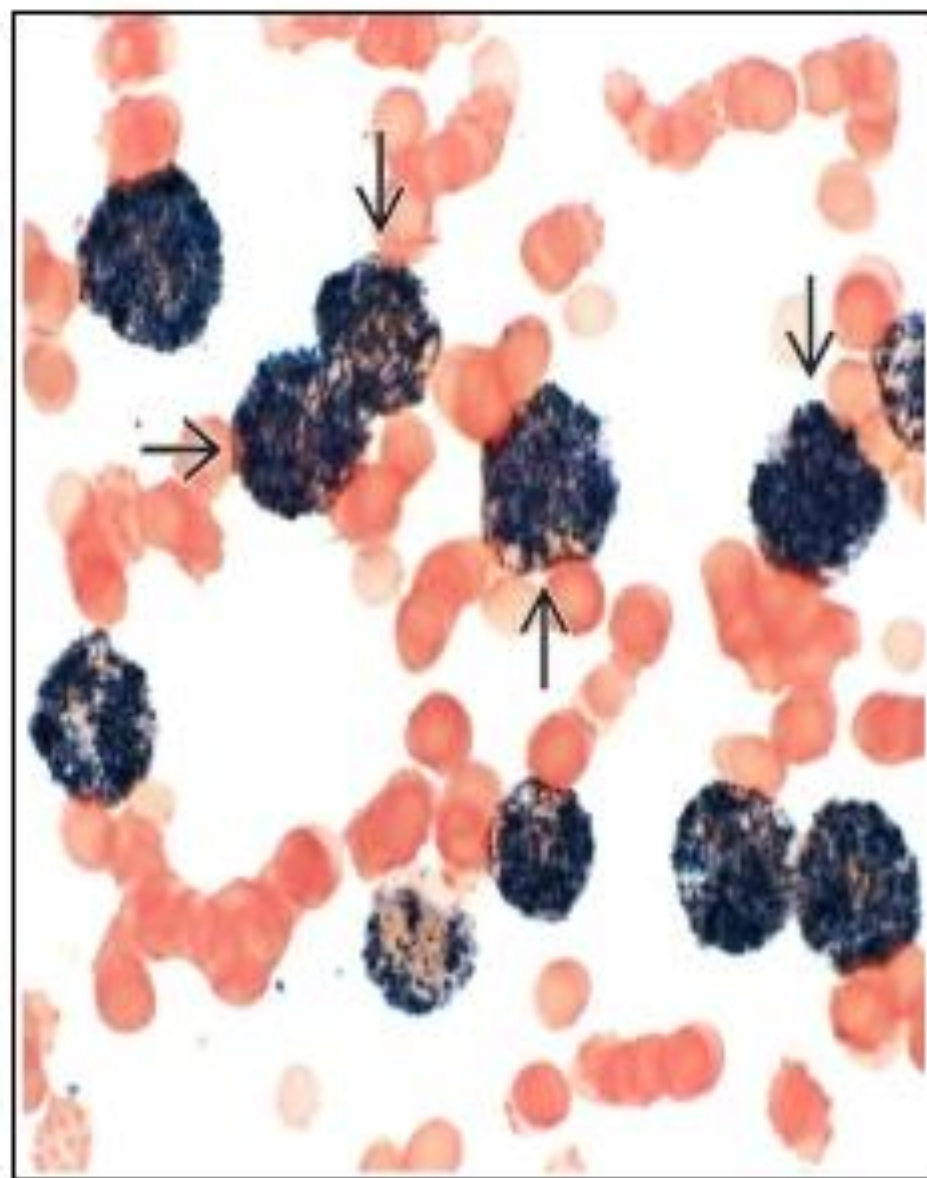


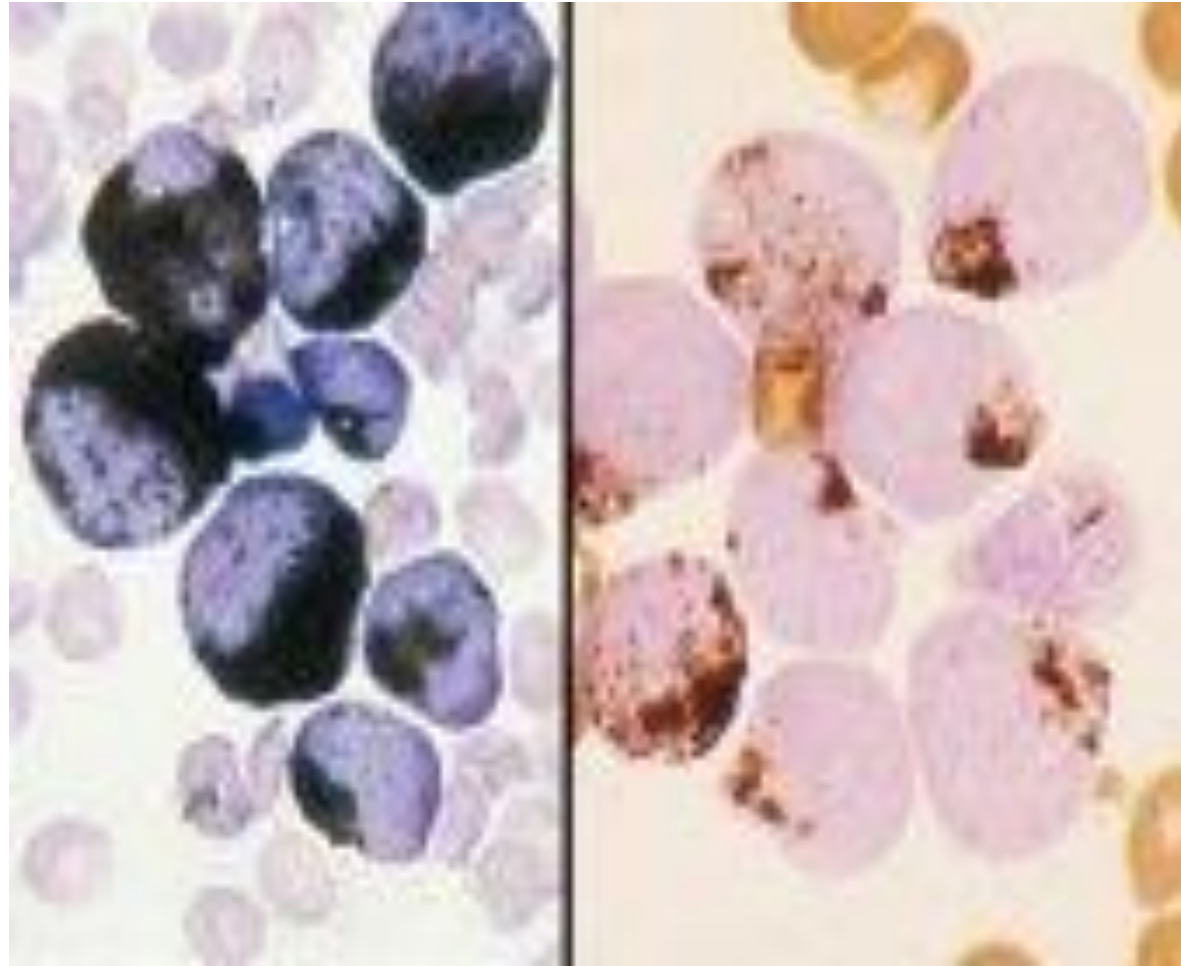
شکل ۹-۶۸: از راست به چپ: (۱) رنگ آمیزی دوپل استراز CAE+ANAE (قهوه‌ای+آبی)، (۲) رنگ آمیزی PAS (قرمز گرانول و بلوک و منتشر) و (۳) رنگ آمیزی Acid-P فوکال (قهوه‌ای)

2. Cytochemistry:

i. Myeloperoxidase (MPO):

- Myeloperoxidase is an enzyme located in the azurophil (primary) granules of myeloid cells.
- MPO positivity appears as coloured granules in the cytoplasm of cells mainly at the site of enzyme activity (Golgi zone).
- All the stages of neutrophil series show MPO positivity.
- In monocyte series azurophil granules are smaller and MPO activity stains less strongly and appears late during maturation.
- MPO is never seen in lymphoblasts.
- The main use of MPO is to distinguish AML from ALL.
- MPO is positive in AML subtypes M1, M2, M3 (strong positivity), and M4

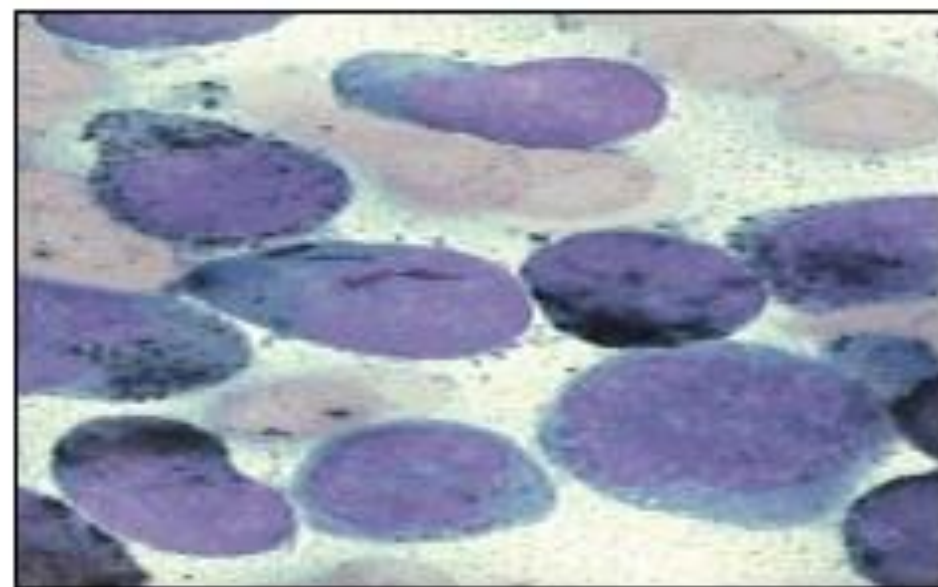




MPO (right) & Sudan black (left)
showing intense localised positivity
in blasts

ii. Sudan black B (SBB):

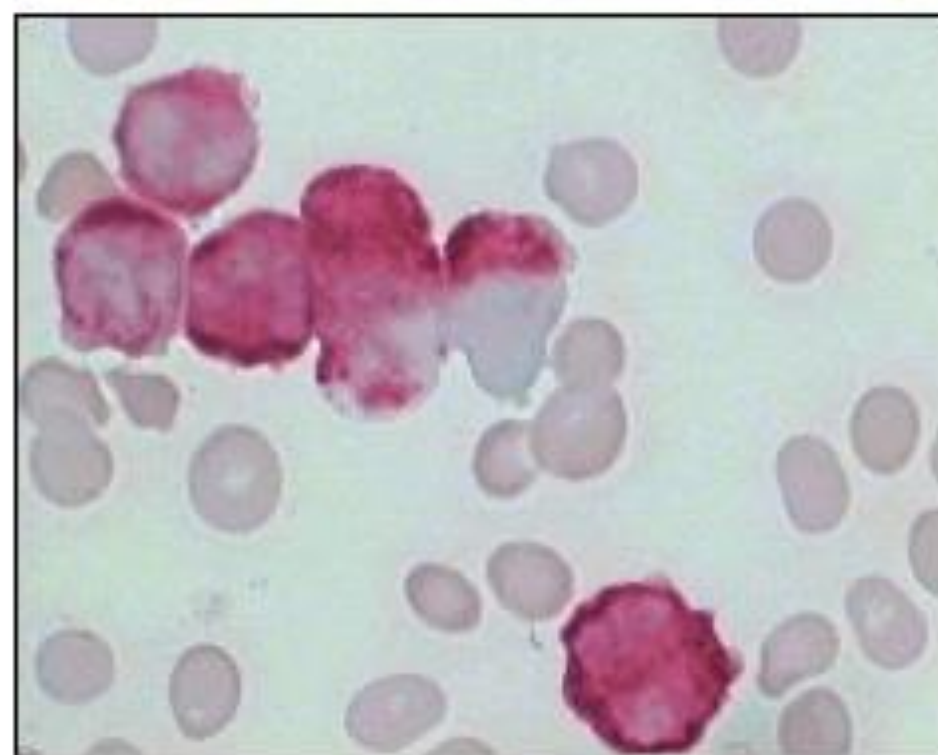
- Phospholipids in the membrane of neutrophil granules are stained by SBB. SBB positivity parallels that of MPO in neutrophil series.



iii. Estrases:

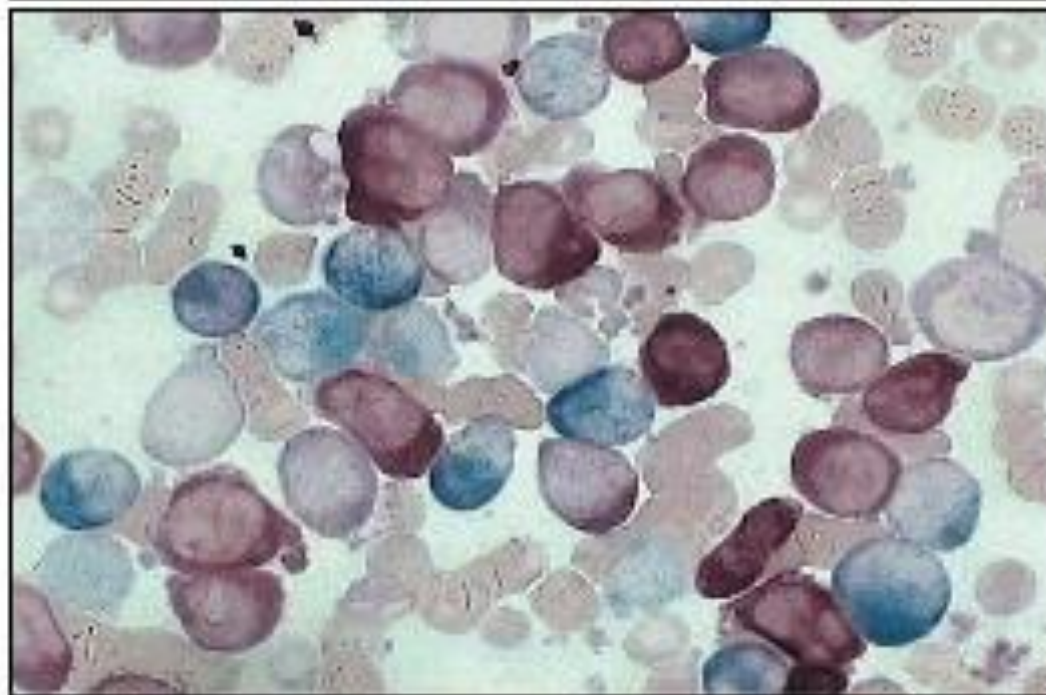
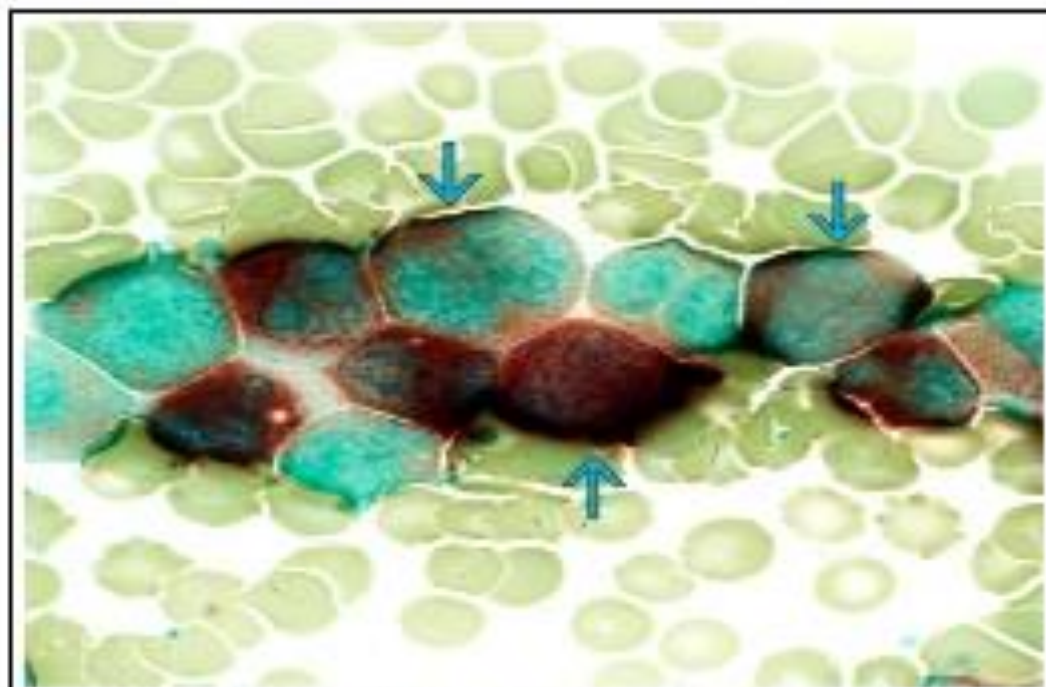
1. Chloroacetate esterase (CAE) (a.k.a. specific esterase):

- The reaction is present in all cells of neutrophil series (though less sensitive than MPO and SBB) and is negative in monocyte series.
- It is commonly used in combination with non-specific esterase (NSE) for diagnosis of leukemia with both myeloid and monocyte components (AML M4). Both esterases (CAE for myeloid and NSE for monocytic components) can be demonstrated in the same blood film; this is called as combined or double esterase reaction.



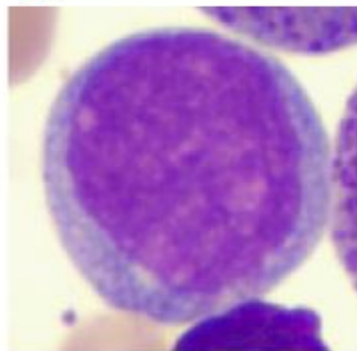
2. Non-specific esterase (NSE) reaction (usually demonstrated by ANAE or ANBE):

- α -naphthyl acetate esterase is an enzyme that is present in large quantities in monocytic cells.
- It is present in small amounts in myeloid and lymphoid cells.
- The non-specific esterase reaction is intensely and diffusely positive in monocyte series and is sensitive to sodium fluoride.
- ANAE/NASDA gives a characteristically strong diffuse reaction in monocytic leukemias (M4 & M5) and gives a localized pattern in M6 & M7.
- Esterase reaction is sensitive to inhibition by sodium fluoride in monocytes. It is partially inhibited in M4 and totally inhibited in M5.

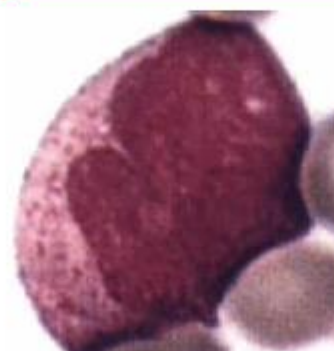


کلاس	نام دیگر	خصوصیات	درصد شیوع
M0	AML	AML بدون تمایز میلوئیدی و بدون بلوغ	۲-۳
M1		AML توأم با تمایز و بدون بلوغ (بدون حضور سلول های بالغ)	۱۵-۲۰
M2		AML توأم با بلوغ و حضور سلول های بالغ	۳۰
M3	APL	AML توأم با تمایز پرومیلوسیتی	۵-۱۰
M4	AMML	AML توأم با تمایز میلو بلاستی و مونو بلاستی	۱۵-۲۰
M5	AMoL	AML توأم با تمایز مونو بلاستی	۱۵
M6	AEL	AML توأم با تمایز میلو بلاستی و اریترو بلاستی	۳-۴
M7	AMegL	AML توأم با تمایز میلو بلاستی و مگا کاریو بلاستی	۱-۲
M8	ABL	AML توأم با تمایز میلو بلاستی و بازوفیلی	نادر

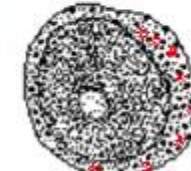
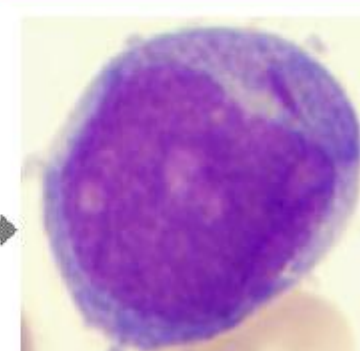
Agranular Blast



Myeloblast Type-I



Myeloblast Type-II



Myeloblast Type-III

granular Blasts

شکل ۱۲-۶۸: انواع بلاست های گرانولار و آگرانولار

BLAST CLASSIFICATION

Type 1

Typical myeloblast with open chromatin and prominent nucleoli, immature deep blue cytoplasm without granules.

Type 2

Similar to type one + presence of up to 20 discrete azurophilic granules.

Type 3

Similar to type one + numerous azurophilic granules.



Classification of AML:

I. FAB classification:

Category	Features
M0: Minimally differentiated AML	<3% of blasts have MPO or SBB staining, but there is expression of myeloid antigens on flow cytometry
M1: AML without maturation	>90% of myeloid cells are blasts; >3% of blasts positive for MPO or SBB
M2: AML with maturation	>10% of myeloid cells have maturation to promyelocytes or later stage; $\geq 30\%$ myeloblasts
M3: Acute promyelocytic leukemia	- <u>Hypergranular (75%)</u>: Predominant cell is abnormal promyelocyte with large cytoplasmic granules or numerous Auer rods. - <u>Microgranular (25%)</u>: Abnormal promyelocytes with small granules and folded nuclei.
M4: Acute myelomonocytic leukemia (AMML)	Monocytosis in blood; $\geq 20\%$ of marrow cells are monocytic. - <u>M4Eo</u> : Abnormal eosinophils with large basophilic granules present in marrow.
M5: Acute monocytic leukemia	- <u>M5A</u>: >80% of marrow cells are monoblasts. - <u>M5B</u>: Predominance of promonocytes.
M6: Acute erythroleukemia	>50% of nucleated marrow cells are erythroid precursors; >30% of nonerythroid cells are myeloblasts.
M7: Acute megakaryocytic leukemia	>50% of myeloblasts express megakaryocytic markers by flow cytometry.

IV. AML, NOS

AML with minimal differentiation

AML without maturation

AML with maturation

Acute myelomonocytic leukemia

Acute monoblastic/monocytic leukemia

Pure erythroid leukemia

Acute megakaryoblastic leukemia

Acute basophilic leukemia

Acute panmyelosis with myelofibrosis

V. Myeloid sarcoma

VI. Myeloid proliferations related to Down syndrome

Transient abnormal myelopoiesis (TAM)

Myeloid leukemia associated with Down syndrome

II. The 2016 revision of the WHO classification:

I. AML with recurrent genetic abnormalities

AML with t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1

AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22);CBFB-MYH11

APL with PML-RARA

AML with t(9;11)(p21.3;q23.3);MLLT3-KMT2A

AML with t(6;9)(p23;q34.1);DEK-NUP214

AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM

AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3);RBM15-MKL1

Provisional entity: AML with BCR-ABL1

AML with mutated NPM1

AML with biallelic mutations of CEBPA

Provisional entity: AML with mutated RUNX1

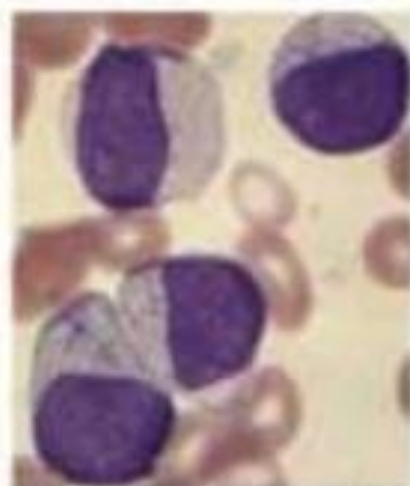
II. AML with myelodysplasia-related changes (AML-MRC)

III. Therapy-related myeloid neoplasms

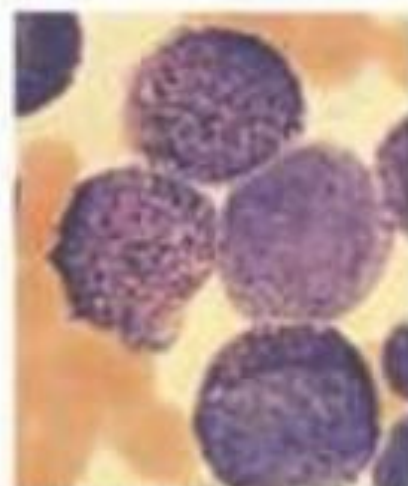
Acute myeloid leukemia with recurrent genetic abnormalities

- AML with t(8;21)(q22;q22): RUNX1-RUNX1T1
 - AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22) CBF β -MYH11
 - APL with t(15;17)(q22;q23): PML-RARA
 - AML with t(9;11)(p22;q23): MLLT3-MLL
 - AML with t(6;9)(p23;q34): DEK-NUP214
 - AML with inv(3)(q21;q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2): RPN1-EVI1
 - AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13): RBM15-MKL1
 - Provisional entity: AML with mutated NPM1
 - Provisional entity: AML with mutated CEBPA
-

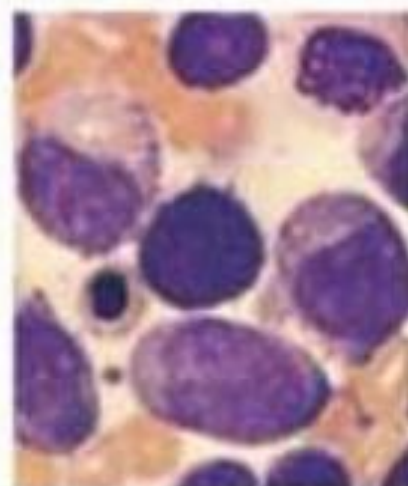
ACUTE MYELOID LEUKEMIA



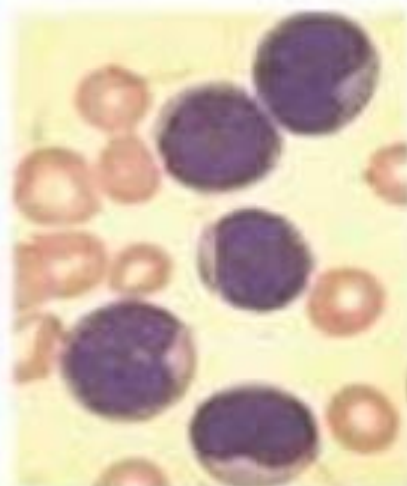
Myeloblastic



Promyelocytic



Myelomonocytic



Monocytic

t(8;21)	t(15;17)	t(8;21)	t(9;11)
AML1 ETO	PML RAR α	AML1 ETO	MLL AF9
t(6;9)	t(11;17)	inv(16)/t(16;16)	inv (8)
DEK CAN	PLZF RAR α	CBFb MYH11	MOZ TIF2
	t(5;17)	t(8;16)	t(8;16)
	NPM RAR α	MOZ CBP	MOZ CBP
	t(11;17)	t(6;9)	
	NuMA RAR α	DEK CAN	
	t(17;17)		
	(Stat)b5 RAR α		

Pathogenesis of Leukemogenesis

Accumulation of multiple genetic hits:

Class I and class II mutations (**Double hit hypothesis**)

Class I: Pro-proliferative signal e.g., FLT3, JAK2, KIT

Class II: Impairment of cellular maturation e.g., PML-RARA, CEBPA, RUNX1-RUNX1T1

118.2 Class I and Class II Mutations in AML

Class I Mutations
(Proliferation)

FLT3

KIT

RAS

PTPN11

JAK2

Class II Mutations
(Impaired Differentiation)

PML-RARA

RUNX1-RUNX1T1

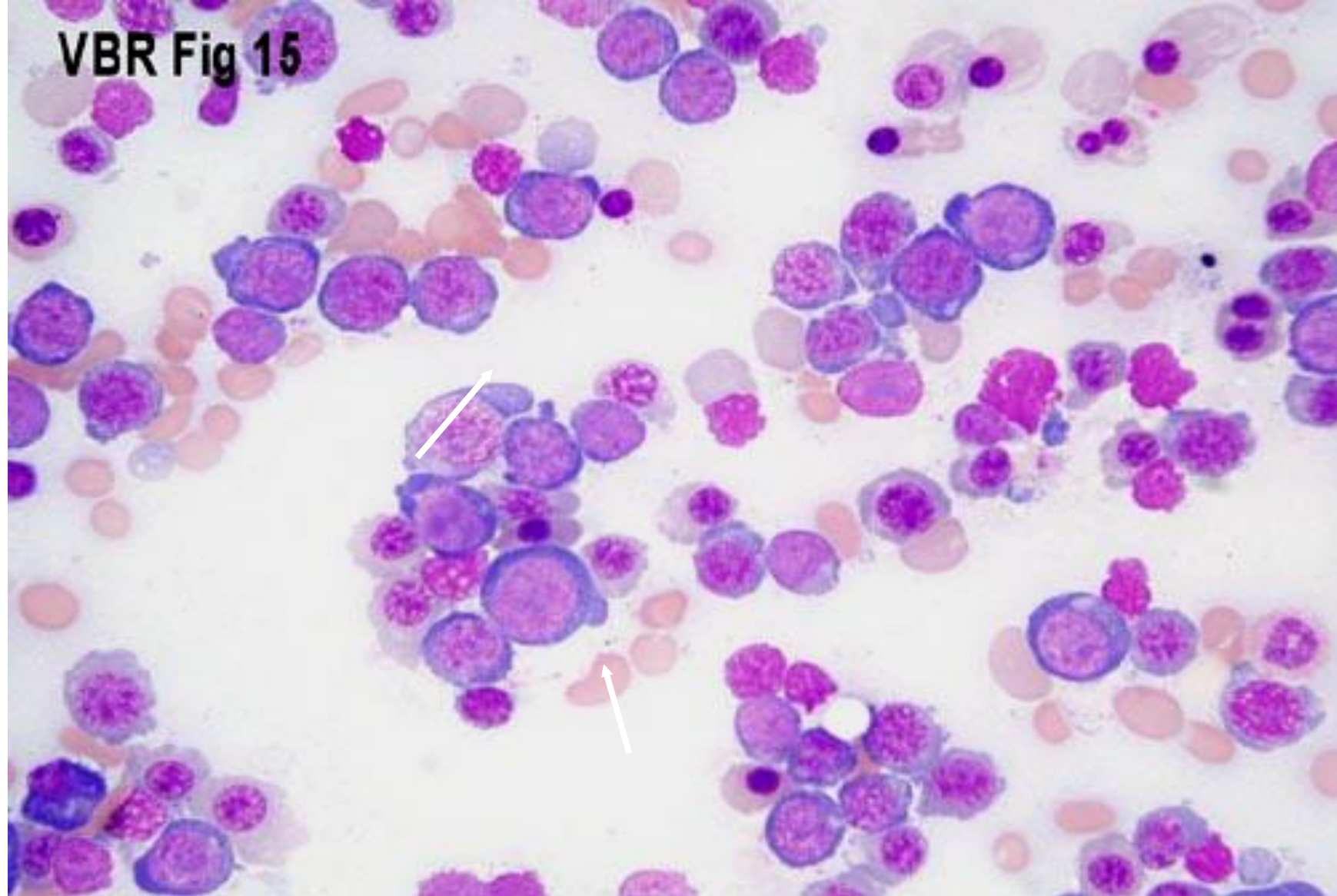
CBFB-MYH11

MLL fusions

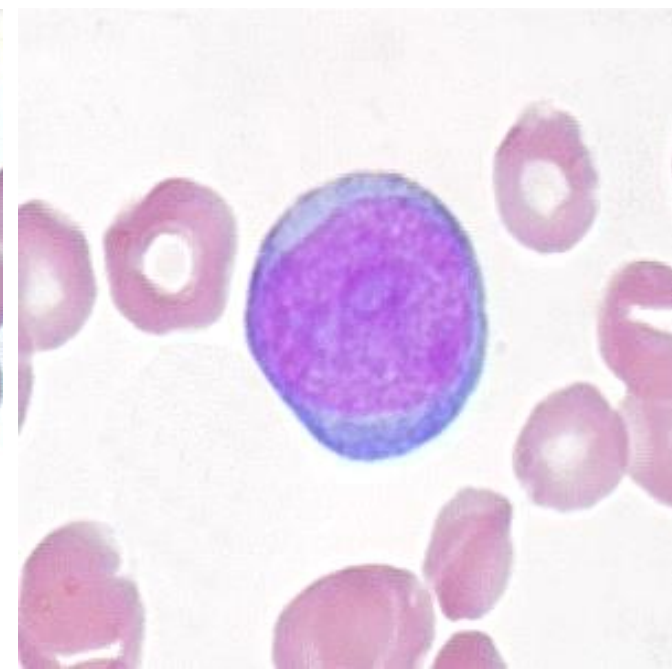
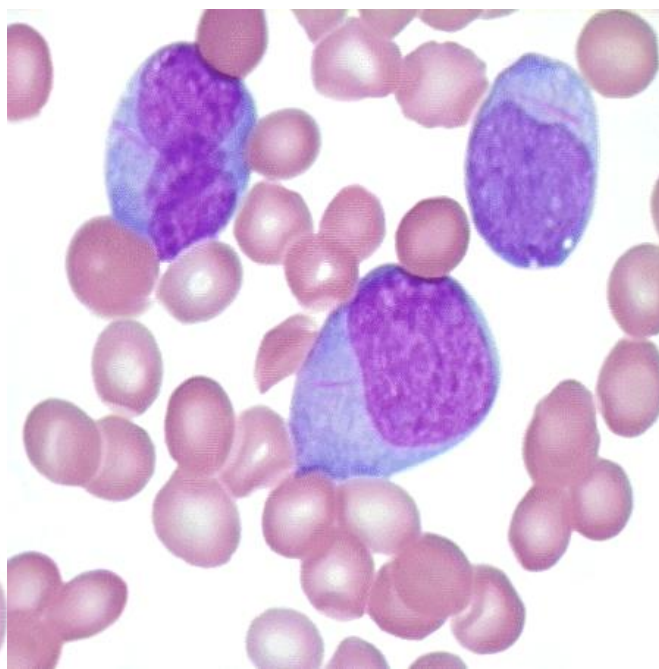
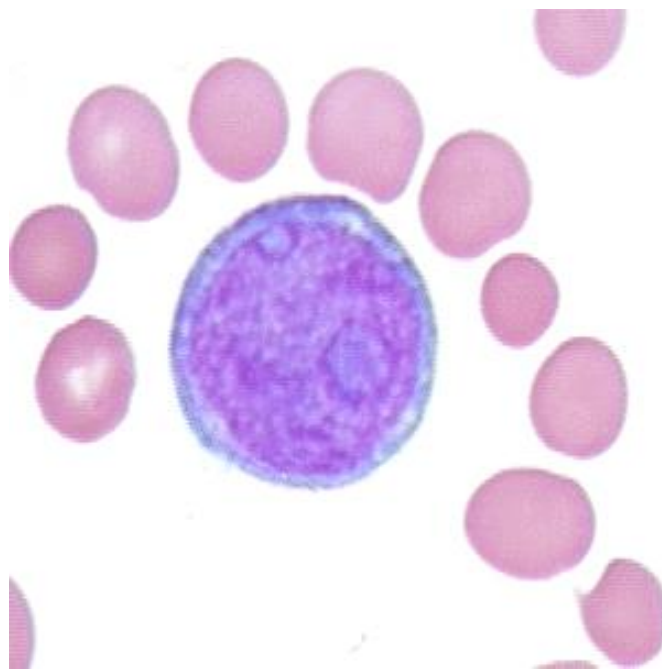
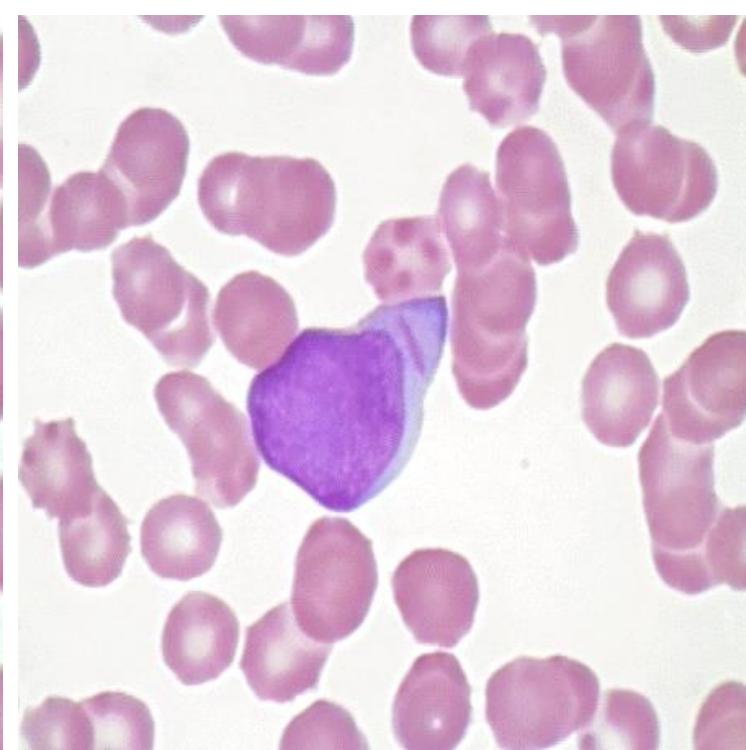
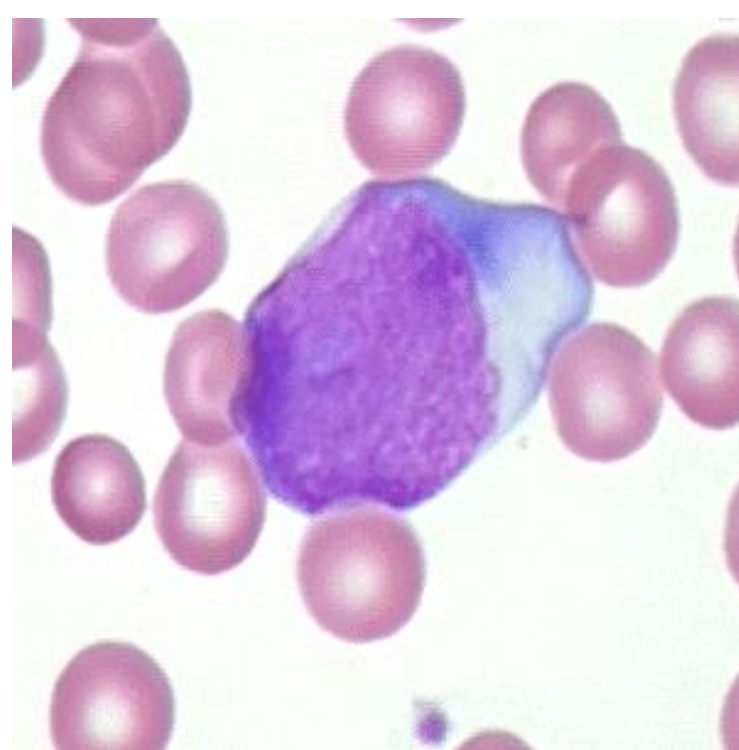
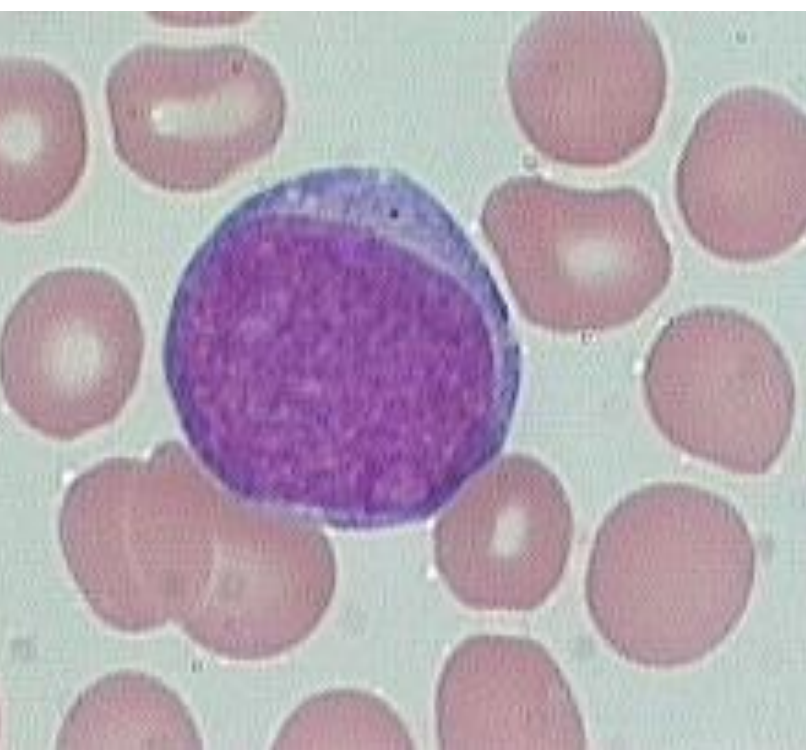
CEBPA

*The mechanism of leukemogenesis for *NPM1* mutations remains somewhat unclear

Reference: [Vardiman 2008b]

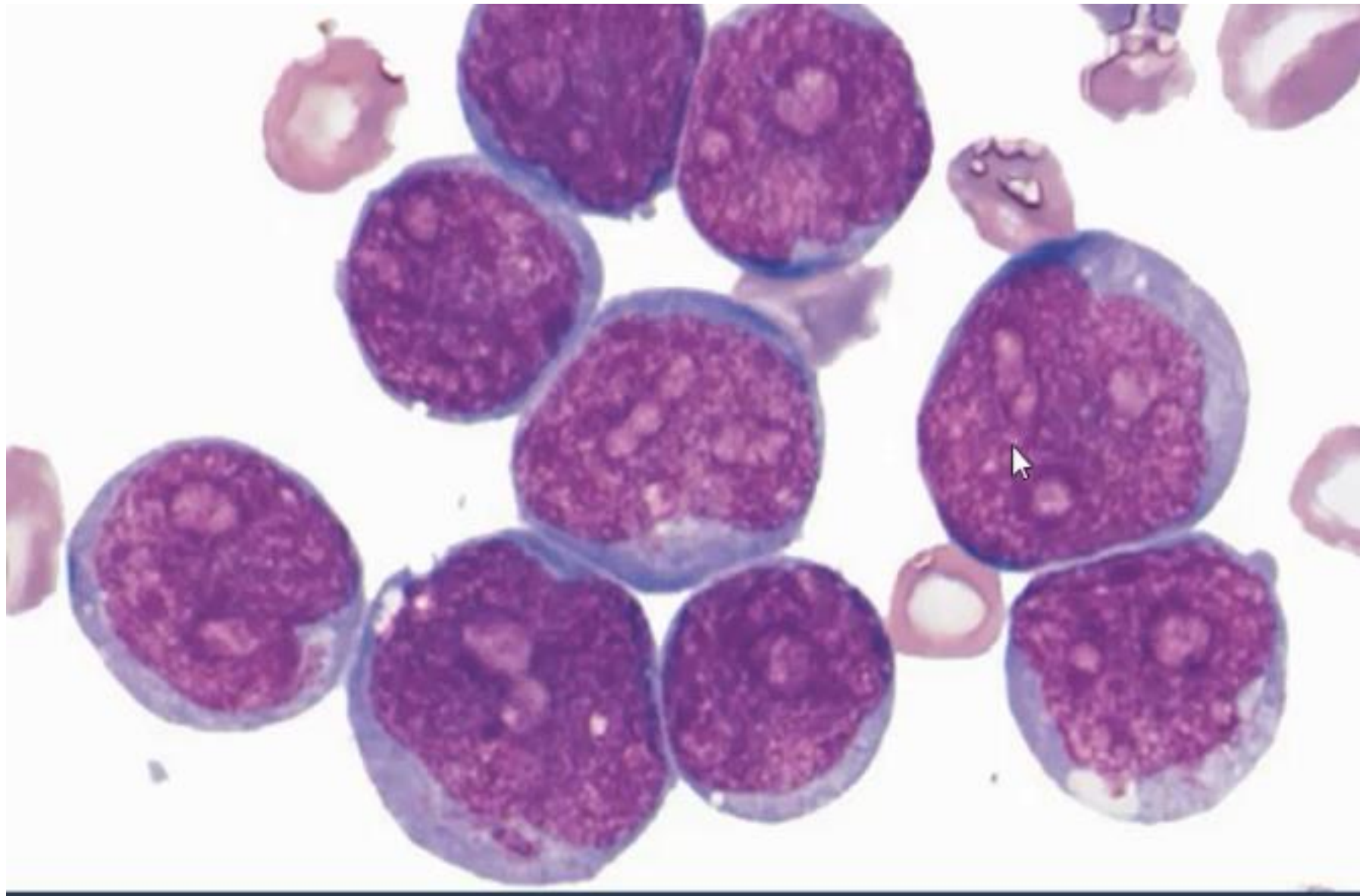


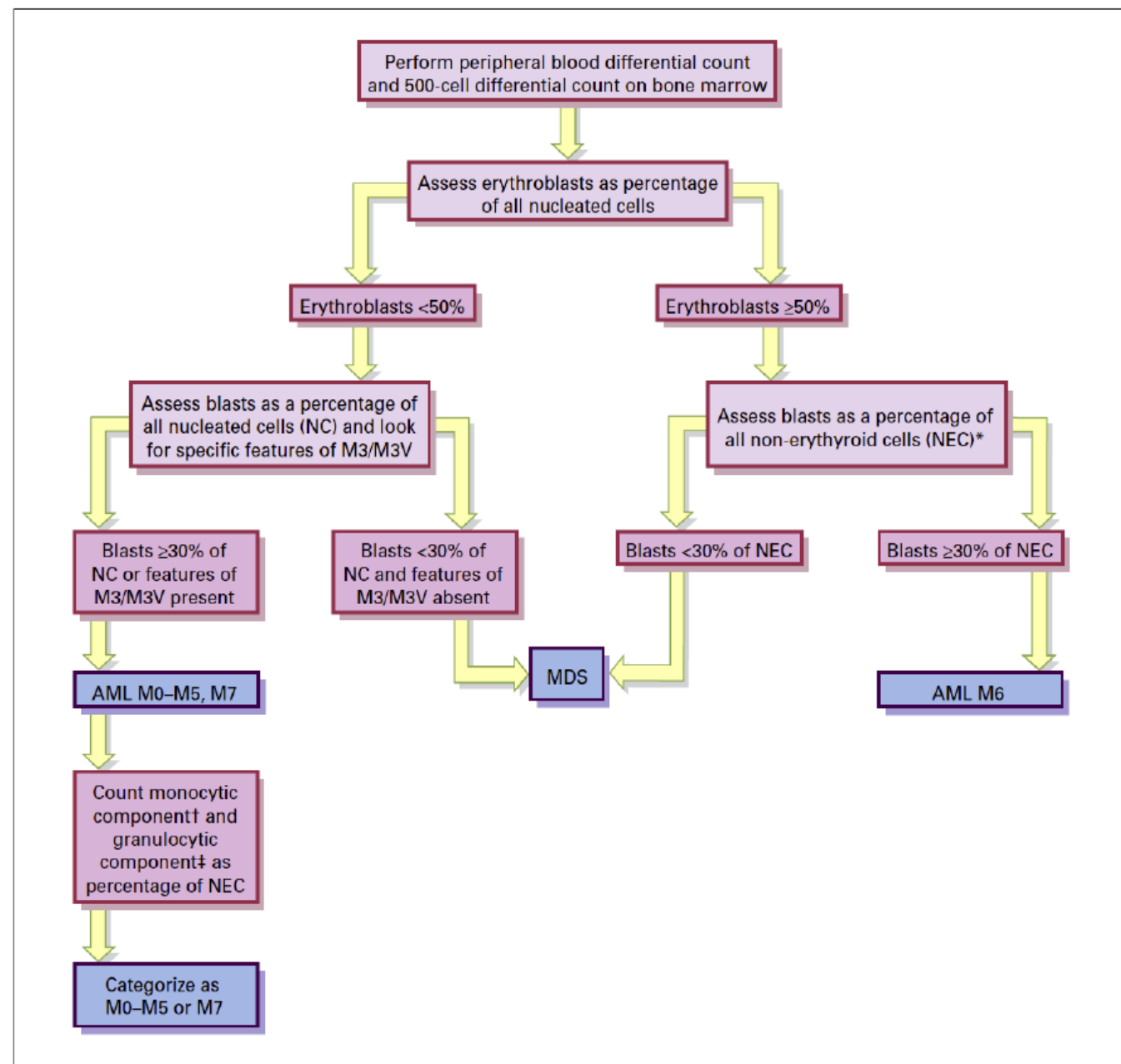
P. Smear AML



Myeloblast with auer rod







شکل ۱۱-۶۸: پروسه تشخیص AML و تشخیص افتراقی آن از MDS

* لنفوسیت‌ها، پلاسماسل‌ها، ماست‌سل‌ها و ماکروفاژها نیز از این دسته مستثنی می‌شوند. همچنین در طبقه‌بندی‌های امروز تعداد بلاست ۳۰٪ به ۲۰٪ کاهش پیدا کرده است.

+ مونوبلاست تا مونوسیت

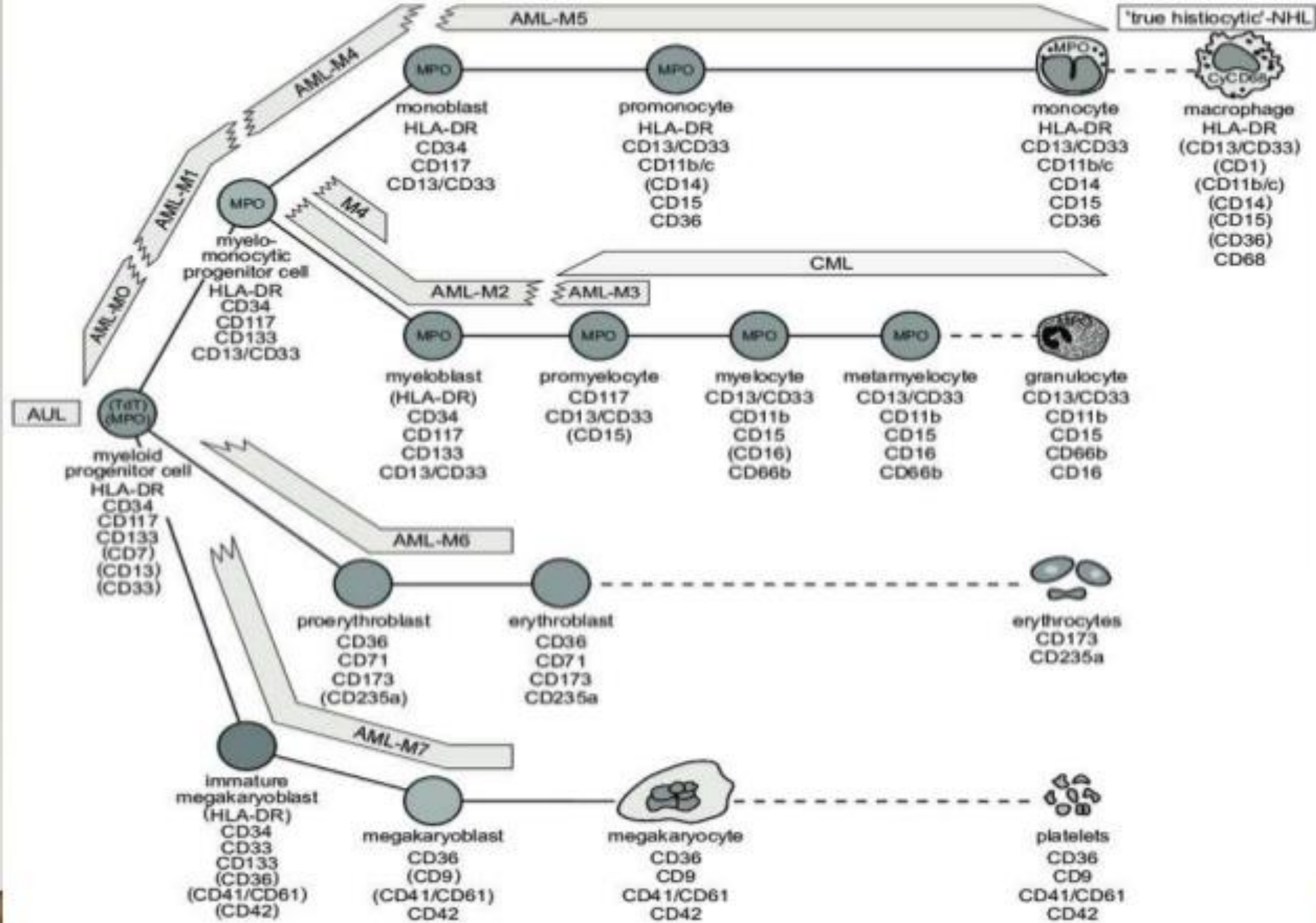
++ میلوپلاست تا لکوسیت‌های پلی‌مورفونوکلنار

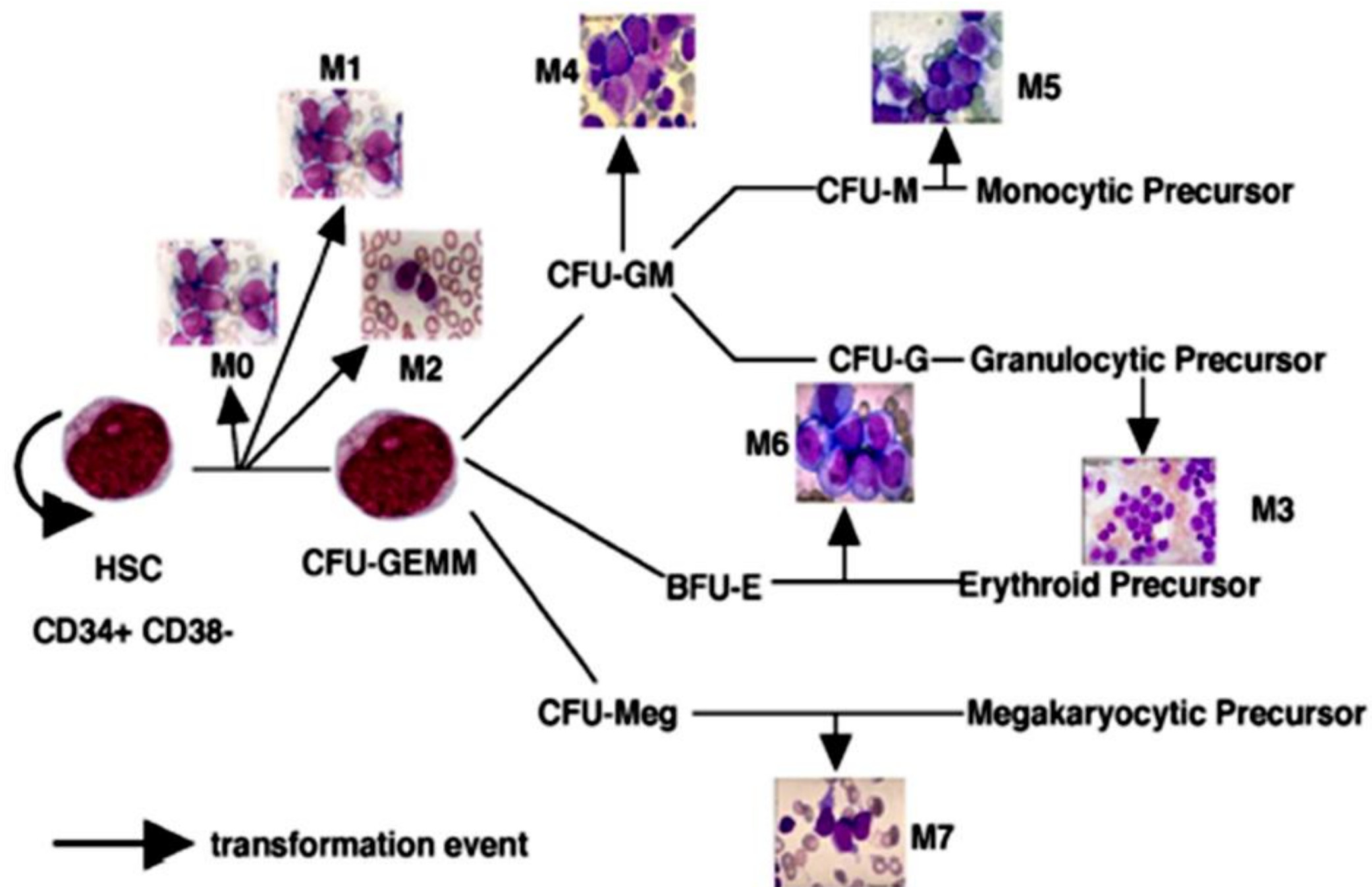
شکل ۶۰-۶۷: مارکرهای سطح سلولی در مراحل مختلف تمایز پره کورسوری رده نوتروفیلی

	Blast	Promyelocyte	Myelocyte	Metamyelocyte	Band	Neutrophil
CD45						
CD34						
CD117						
CD13						
CD33						
CD66b						
CD64						
CD15						
CD65						
CD11b						
CD11c						
CD66a						
CD24						
CD16						
CD35						
CD87						
CD14						
CD10						
CD157						

شکل ۶۱-۶۷: مارکرهای سطح سلولی در مراحل مختلف تمایز پره کورسوری رده مونوسیتی

	Blast	Promonocyte	Monocyte
CD45			
CD34			
CD13			
CD33			
HLA-DR			
CD64			
CD15			
CD11b			
CD36			
CD4			
CD14			
CD16			





FAB	Immunological marker
AML with minimally differentiated	CD13, CD34 , HLA-DR , CD33, CD117, CD2, CD7, TdT
AML without maturation	CD13, CD14, CD33, CD34
AML with maturation and with t(8;21)	CD34 , CD56
Acute promyelocytic leukemia	CD13, CD33, HLA-DR absent , CD34 negative
Acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils and inversion 16	CD13, CD34 , CD11b, CD11c, CD14, CD33
Acute monocytic leukemia and 11q23 abnormalities	CD14, CD4, CD36, CD64
Erythroleukemia	Glycophorin 7, Transferrin receptor CD71
Acute Megakaryocytic leukemia	cCD41, cCD42b, cCD61



	Markers of precursor cells			Myeloid markers			Monocyte markers		
	TdT*	HLA-DR†	CD34‡	CD13	CD33	CD117	CD15	CD11b	CD14
M0	Pos. or neg.	Pos.	Pos.	Mainly pos.	Pos. or neg.	Often pos.	Mainly neg.	Mainly neg.	Mainly neg.
M1	Pos. or neg.	Pos.	Mainly pos.	Mainly pos.	Pos.	Often pos.	Mainly neg.	Pos. or neg.	Mainly neg.
M2	Neg.	Pos.	Mainly neg.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Pos. or neg.	Mainly neg.
M3§	Neg.	Neg.	Neg.	Pos.	Pos.	Pos. or neg.	Pos. or neg.	Mainly neg.	Mainly neg.
M4	Mainly neg.	Pos.	Pos. or neg.	Mainly pos.	Pos.	Pos. or neg.	Pos.	Pos.	Often pos.
M5	Mainly neg.	Pos.	Pos. or neg.	Pos. or neg.	Pos.	Pos. or neg.	Pos.	Pos.	Often pos.
M6**	Neg.	Pos. or neg.	Pos. or neg.	Pos. or neg.	Pos. or neg.	Pos.	Mainly neg.	Pos. or neg.	Mainly neg.
M7††	Neg.	Mainly pos.	Mainly pos.	Mainly neg.	Pos. or neg.	Often pos.	Mainly neg.	Neg.	Neg.
AML overall	10–20% pos.	About 70% pos.	30–40% pos.	60–90% pos.	70–90% pos.	60–70% pos.	40–70% pos.	50–60% pos.	15–40% pos.

*Also positive in acute lymphoblastic leukaemia (ALL) with the exception of the minority of cases with mature-B phenotype.

†Also positive in ALL of B lineage and in occasional cases of T-lineage ALL.

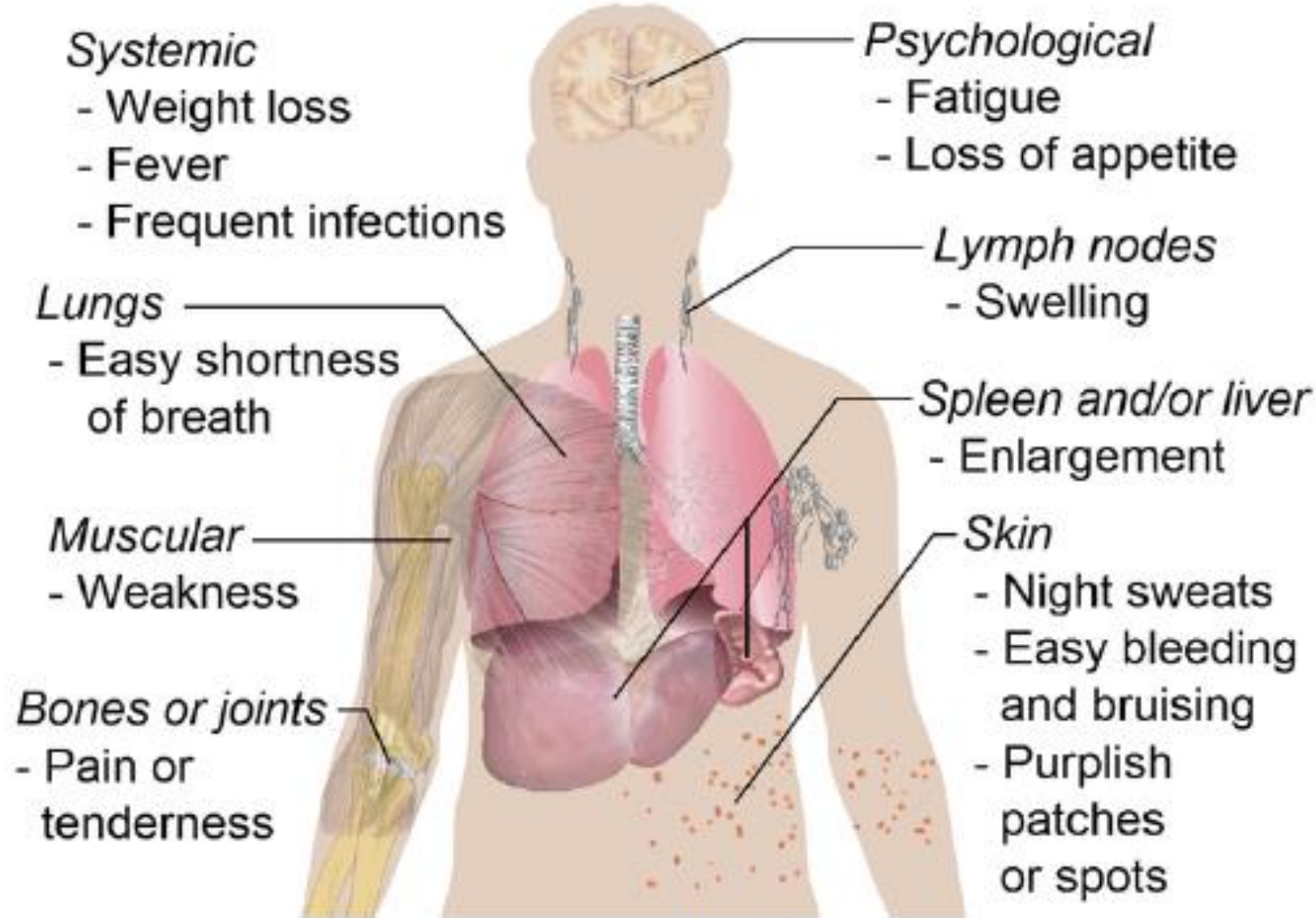
‡Also positive in many B-lineage ALL but not mature B-ALL.

§CD9 positive.

**CD36 and anti-glycophorin positive.

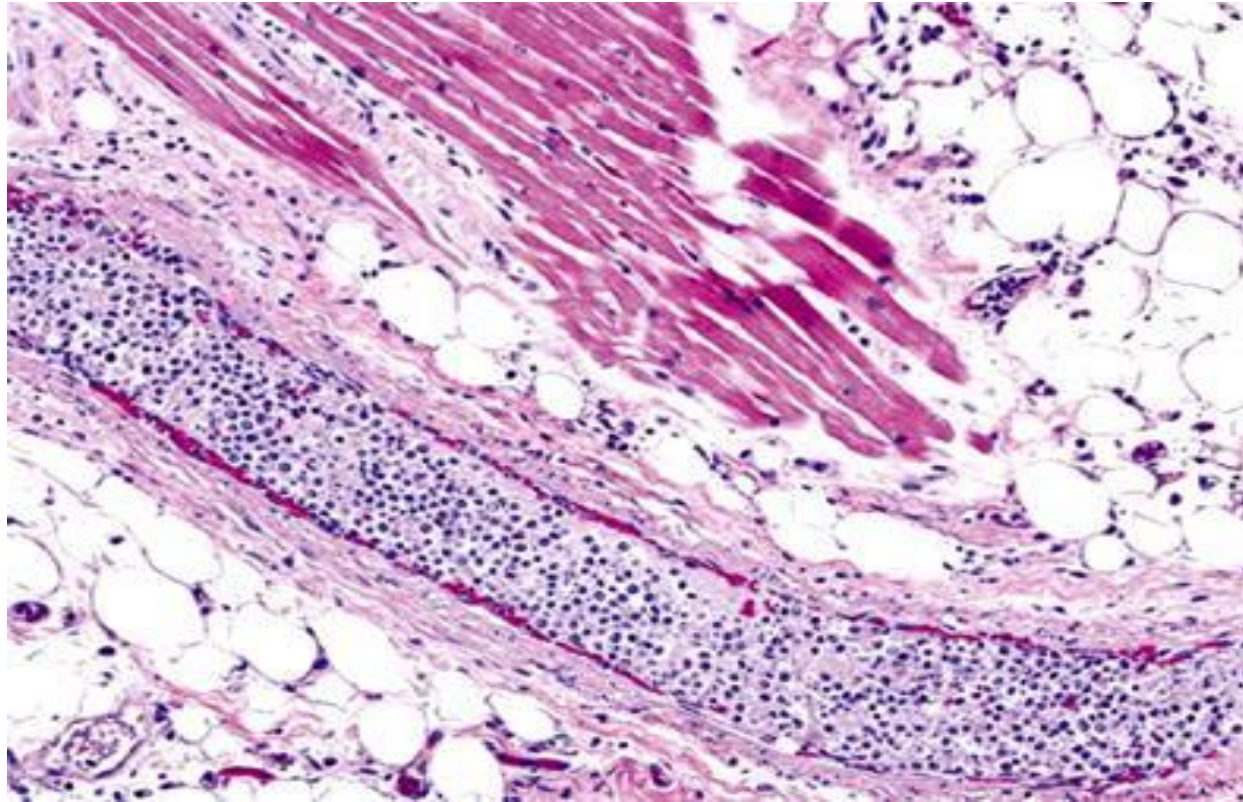
††CD9, CD36, CD41, CD42a, CD42b, CD61 positive.

Common symptoms of
Leukemia



شكل ١٦-٦٩: علائم عمومی لوسمی ها

Leukostasis in AML



Thornton, KA, Levis, M. FLT3 Mutation and Acute Myelogenous Leukemia with Leukostasis. N Engl J Med 2007; 357:1639. Copyright ©2007 Massachusetts Medical Society

CYTOCHEMICAL FEATURES OF AML

SUBTYPE	MPO/SBB	SE	NSE
AML-M0	—	—	—
AML-M1	+	+	—
AML-M2	+	+	—
AML-M3	+	+	—
AML-M4	+	+	+
AML-M5a	—	—	+
AML-M5b	—	—	+
AML-M6	+	—	+/_
AML-M7	—	—	Strongly + using acetate as substrate

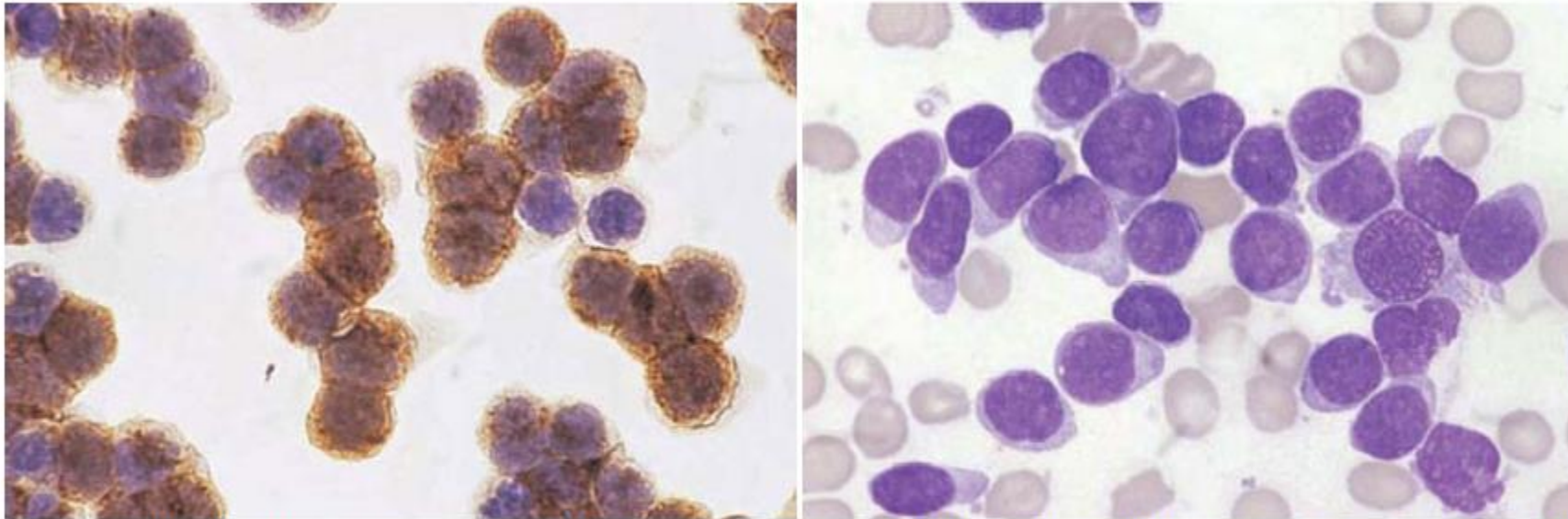
Blasts $\geq 30\%$ of bone marrow nucleated cells

Blasts $\geq 30\%$ of bone marrow non-erythroid cells*

$< 3\%$ of blasts positive for Sudan black B or for myeloperoxidase by light microscopy

Blasts demonstrated to be myeloblasts by immunological markers or by ultrastructural cytochemistry

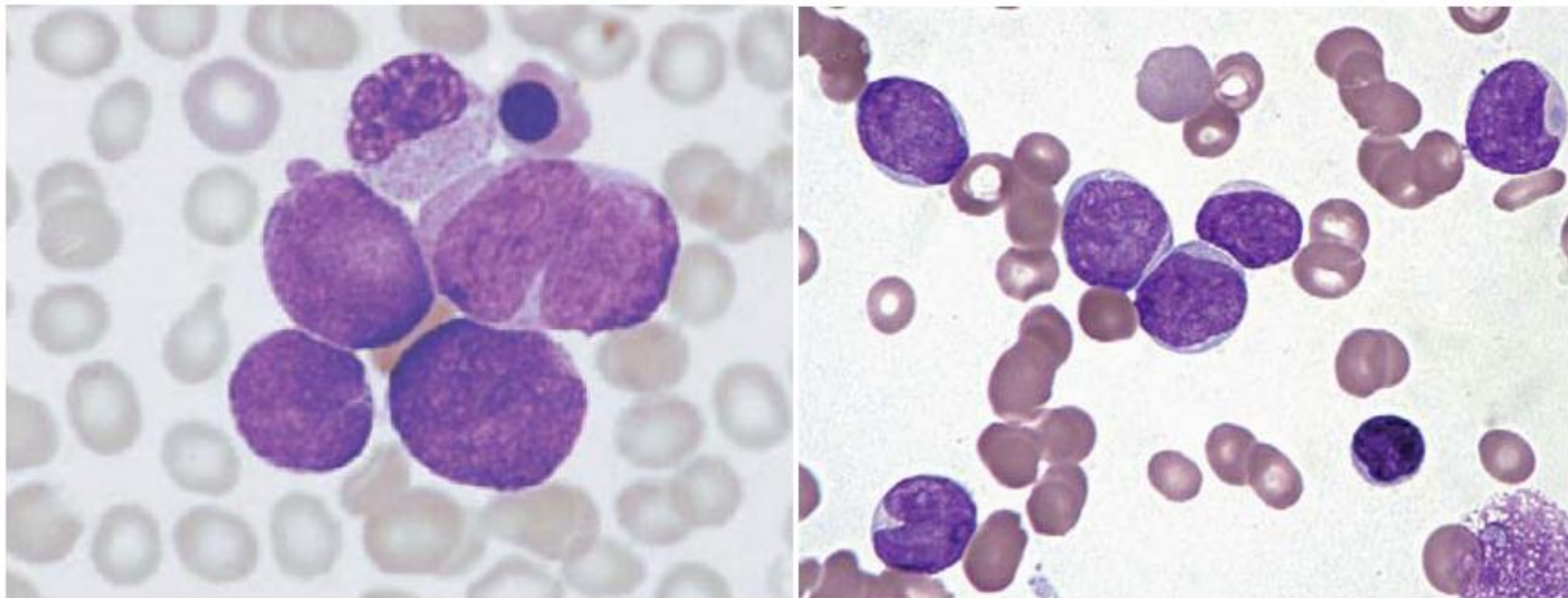
*Exclude also lymphocytes, plasma cells, macrophages and mast cells from the count.



شکل ۱۵-۶۹: راست) گستره BM یک بیمار مبتلا به M0-AML که با رنگ MGG رنگ شده و بلاست‌های آگرانولار را نشان می‌دهد. چپ) واکنش ایمونوپراکسیداز سلول‌های خون محیطی با یک آنتی‌بادی مونوکلونال ضد CD13 که بلاست‌های قویاً مثبتی را نشان می‌دهد. بلاست‌ها همچنین برای CD34، HLA-DR و TdT مثبت هستند.

واکنش‌های سیتوشیمیایی در AML-M0:

طبق تعریف، کمتر از ۳٪ بلاستها برای MPO، CAE و SBB مثبت هستند و چنانچه میزان موارد مثبت، بیشتر شود ($>3\%$) بیمار تحت عنوان AML-M1 طبقه بندی می شود. سلول‌های بلاست هیچ گونه فعالیتی در مورد NSE نشان نمی‌دهد چرا که اگر مثبت بود، جزء M5-AML طبقه بندی می‌شد. سلول‌های میلوئیدی در حال بلوغ ممکن است یک نقص پراکسیداز یا واکنش مثبت نابجا برای هر دوی CAE و NSE (ANAE و ANBE) ^۲ نشان بدهند.



شکل ۱۴-۶۹: میلو بلاست‌های توأم با عدم تمایز و عدم بلوغ در AML-M0 (وجود یک نوتروفیل در کنار بلاست‌ها می‌تواند نشانگر تمایز نوتروفیلی باشد). لازم به ذکر است در این لوسمی بلاست‌ها پلئومورفیک، آگرانولار و دارای N/C بالا هستند.

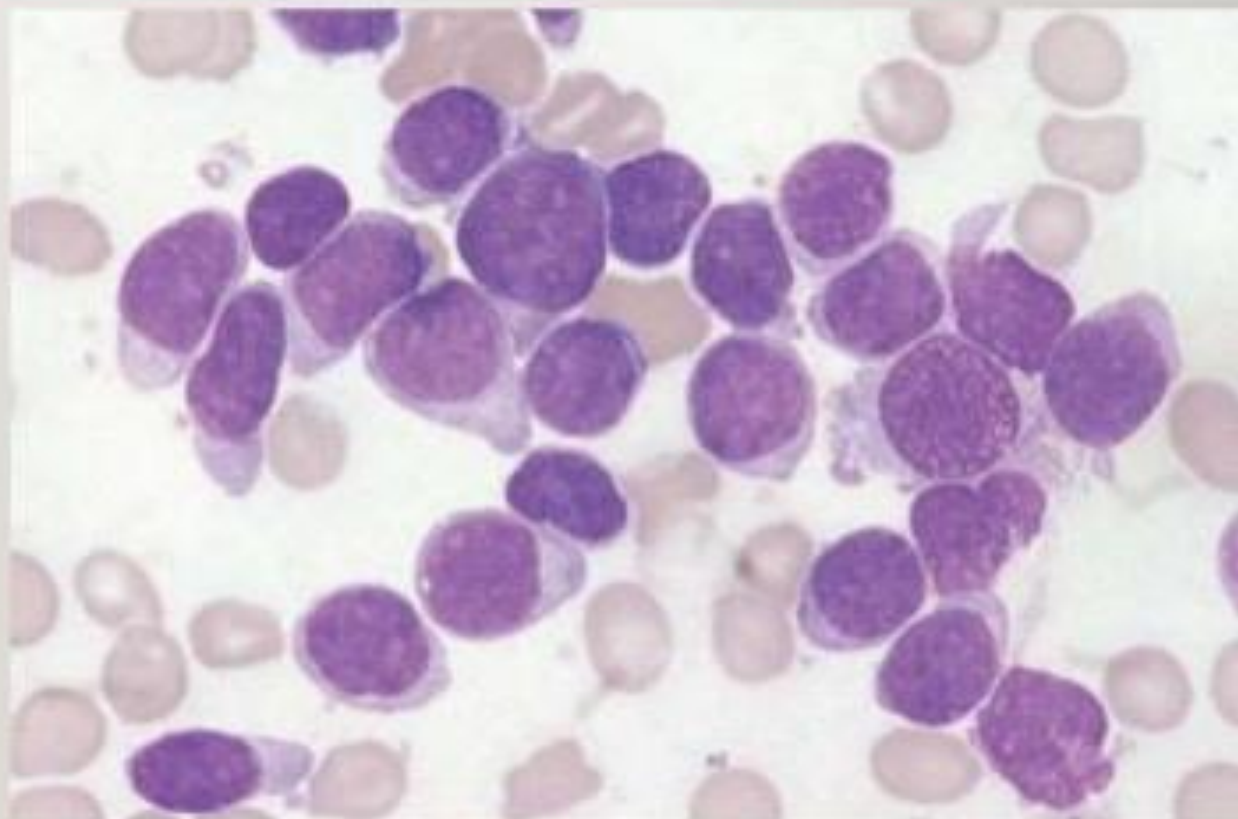
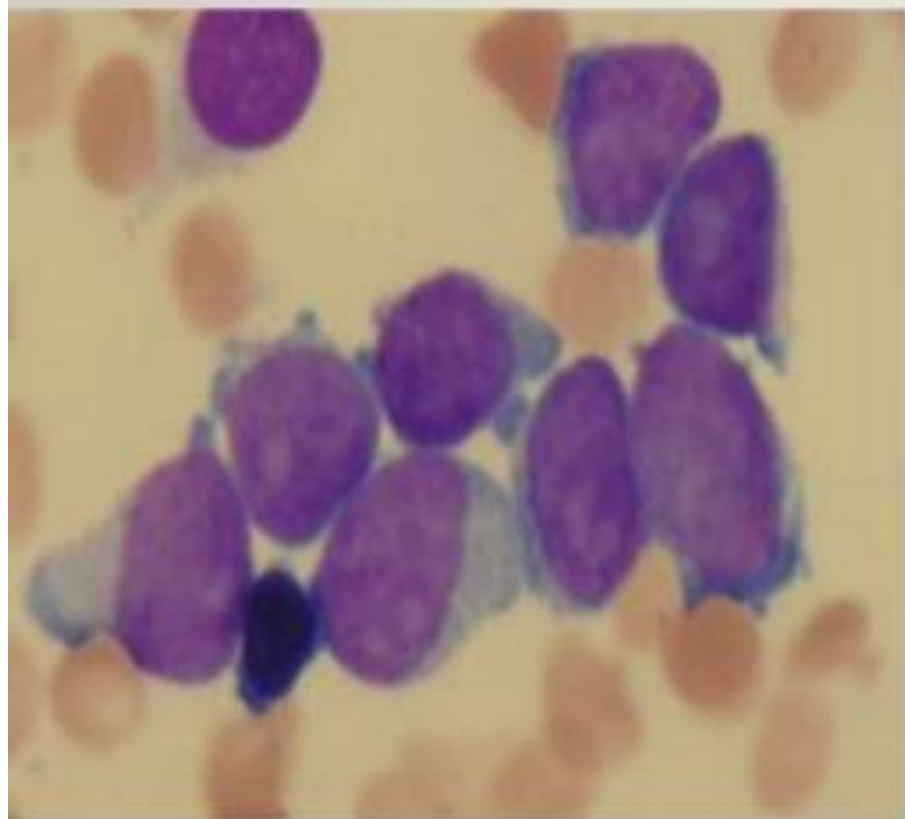
AML-M^O (M0: MINIMALLY DIFFERENTIATED)

-
- Distinguished by absence of visible granules in cytoplasm of blast.
 - Negative –ve reactions with cytochemical stains.
 - Positive +ve for myeloid lineage markers.

CD13 CD33.

Tarveer Tara SUIT

M0 AML

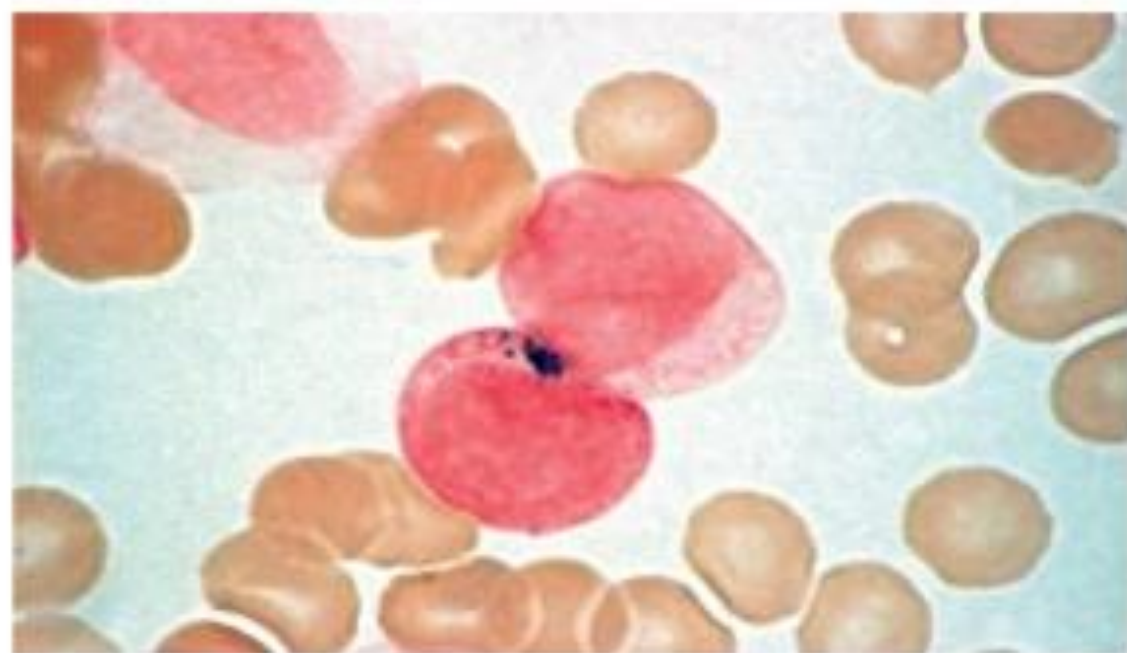
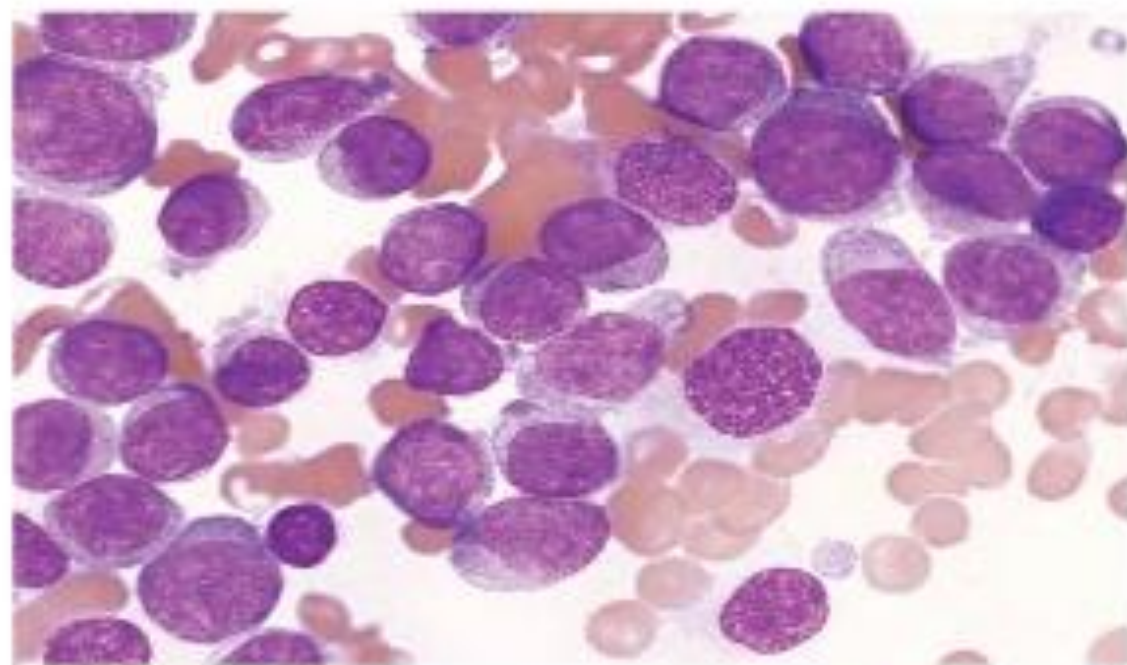


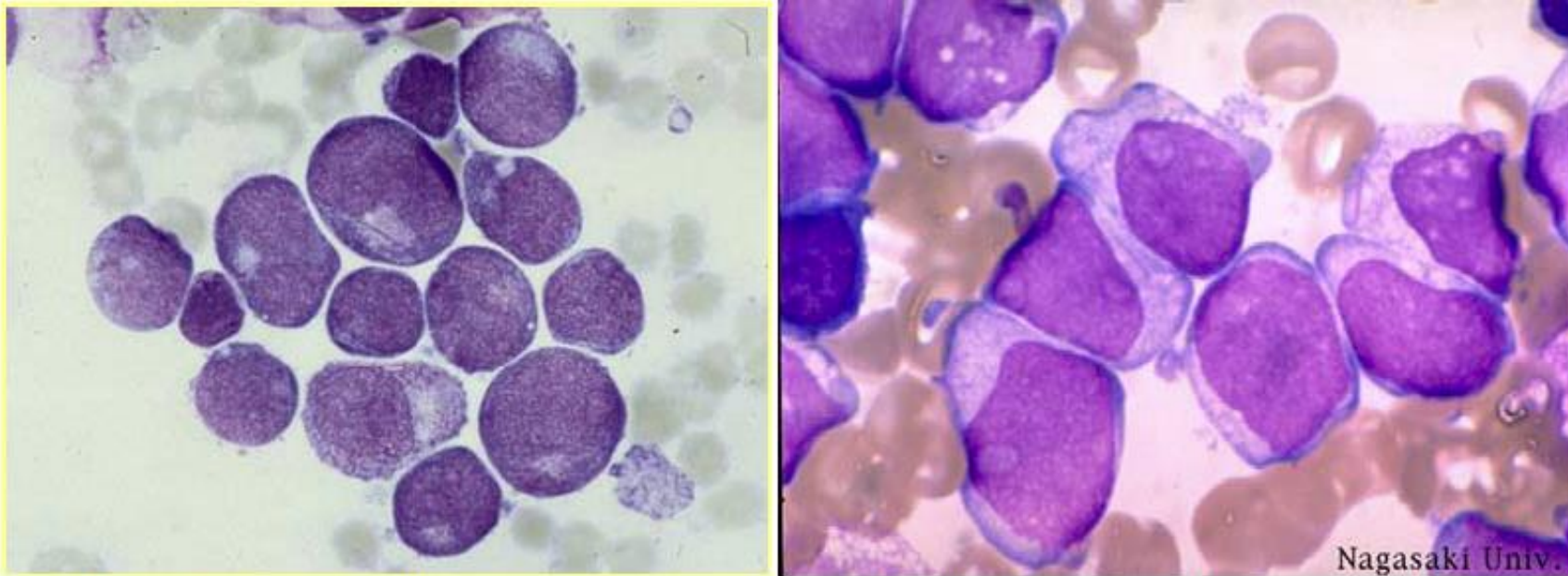
AML-M1 (AML WITHOUT MATURATION)

- AML variant and is most common in adults and in infants less than 1 year.
- 50% cases show leucocytosis.
- Lack of cellular maturation.
- Predominant cell in peripheral blood is poorly differentiated myeloblast.
- Vacuoles may be present.
- Platelets are generally decreased.
- A few blasts may have scanty azurophilic granules or Auer rod is present.

2. AML without Maturation:

- FAB type: AML-M1.
- Blasts exhibit myeloid features by morphology (granules, Auer rods) and/ or cytochemistry (MPO+).
- The blast percentage exceeds 90%, and there is no significant maturation of these leukemia cells (maturation < 10%).
- Myeloid lineage confirmed by flow cytometric immunophenotyping. Aberrant features are common.
- No recurrent cytogenetic abnormalities





شکل ۱۷-۶۹: تصویری از میلو بلاست‌ها در AML-M1 که حضور آنور راد و تعدادی گرانول، تشخیص را به سمت میلوئیدی سوق می‌دهد ولی عدم حضور رده نوتروفیلی بالغ و حضور بالای ۹۰٪ بلاست تشخیص M2 را رد نموده و در مقابل مشاهده گرانول و آنور راد تشخیص M0 را رد می‌کنند، لذا بدین ترتیب تشخیص AML-M1 (تمایز میلوئیدی بدون بلوغ) تأیید می‌شود.

جدول ۵-۶۹: معیارهای تشخیصی M1-AML (لوسمی میلوئید حاد بدون بلوغ)

Blasts $\geq 30\%$ of bone marrow cells

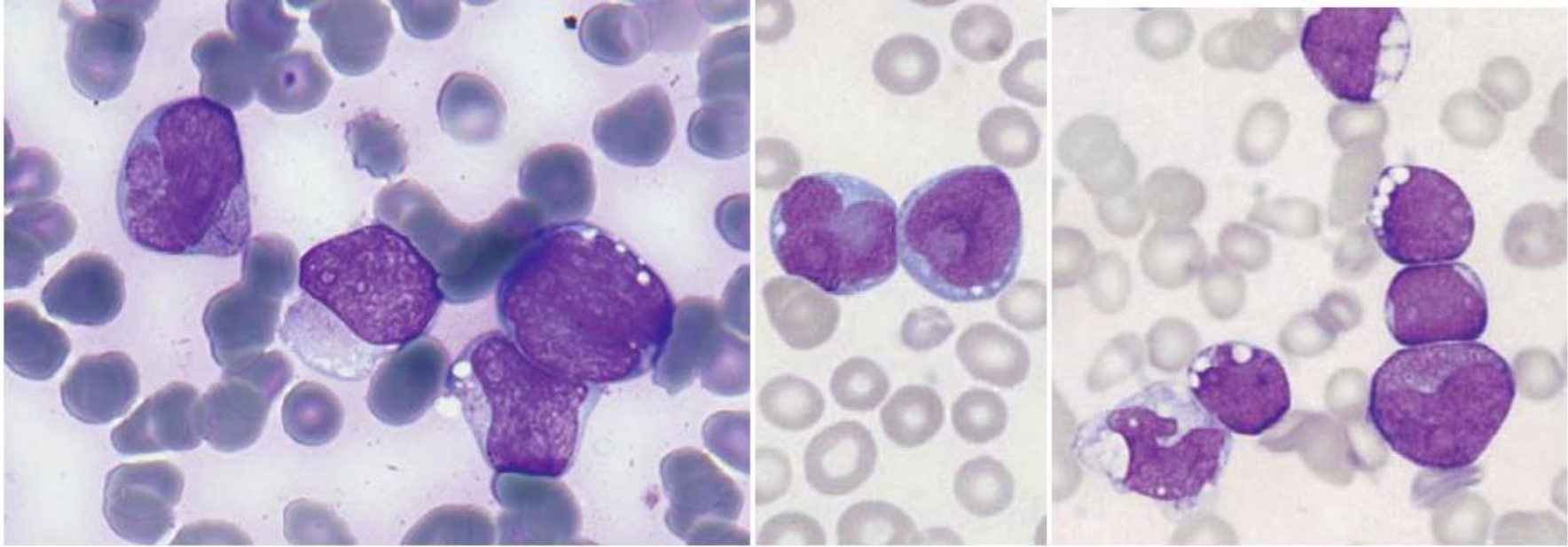
Blasts $\geq 90\%$ of bone marrow non-erythroid cells*

$\geq 3\%$ of blasts positive for peroxidase or Sudan black B

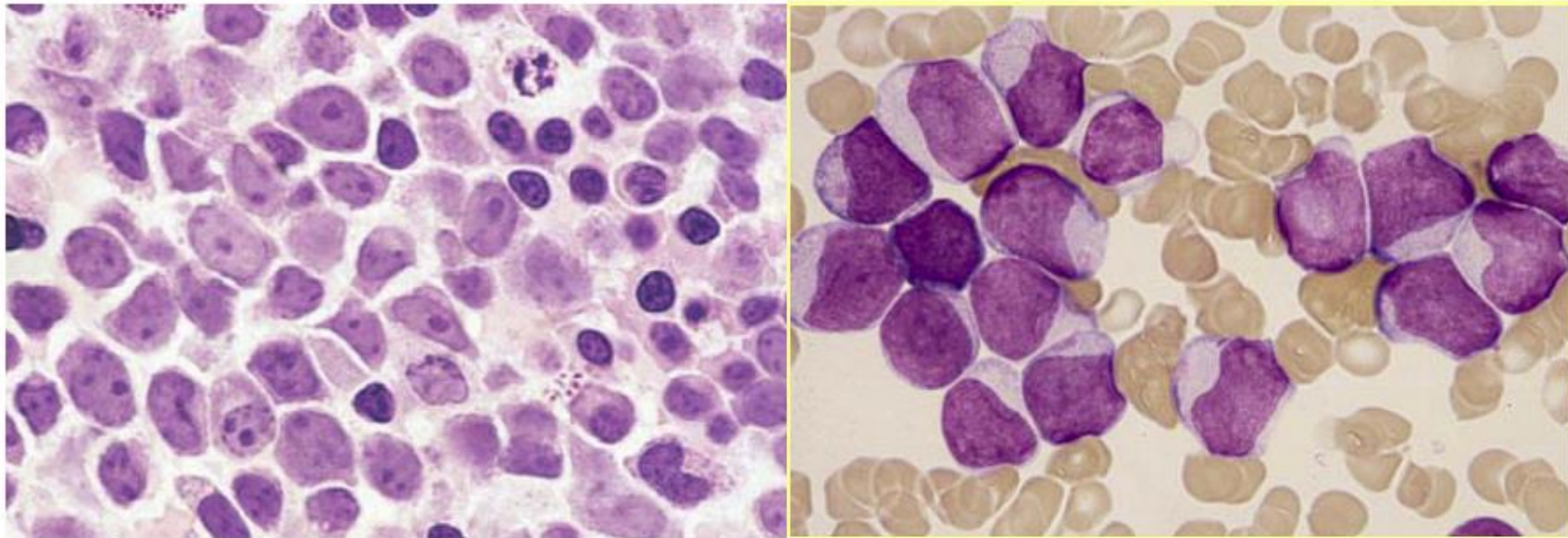
Bone marrow maturing monocytic component (promonocytes to monocytes) $\leq 10\%$ of non-erythroid cells

Bone marrow maturing granulocytic component (promyelocytes to polymorphonuclear leucocytes) $\leq 10\%$ of non-erythroid cells

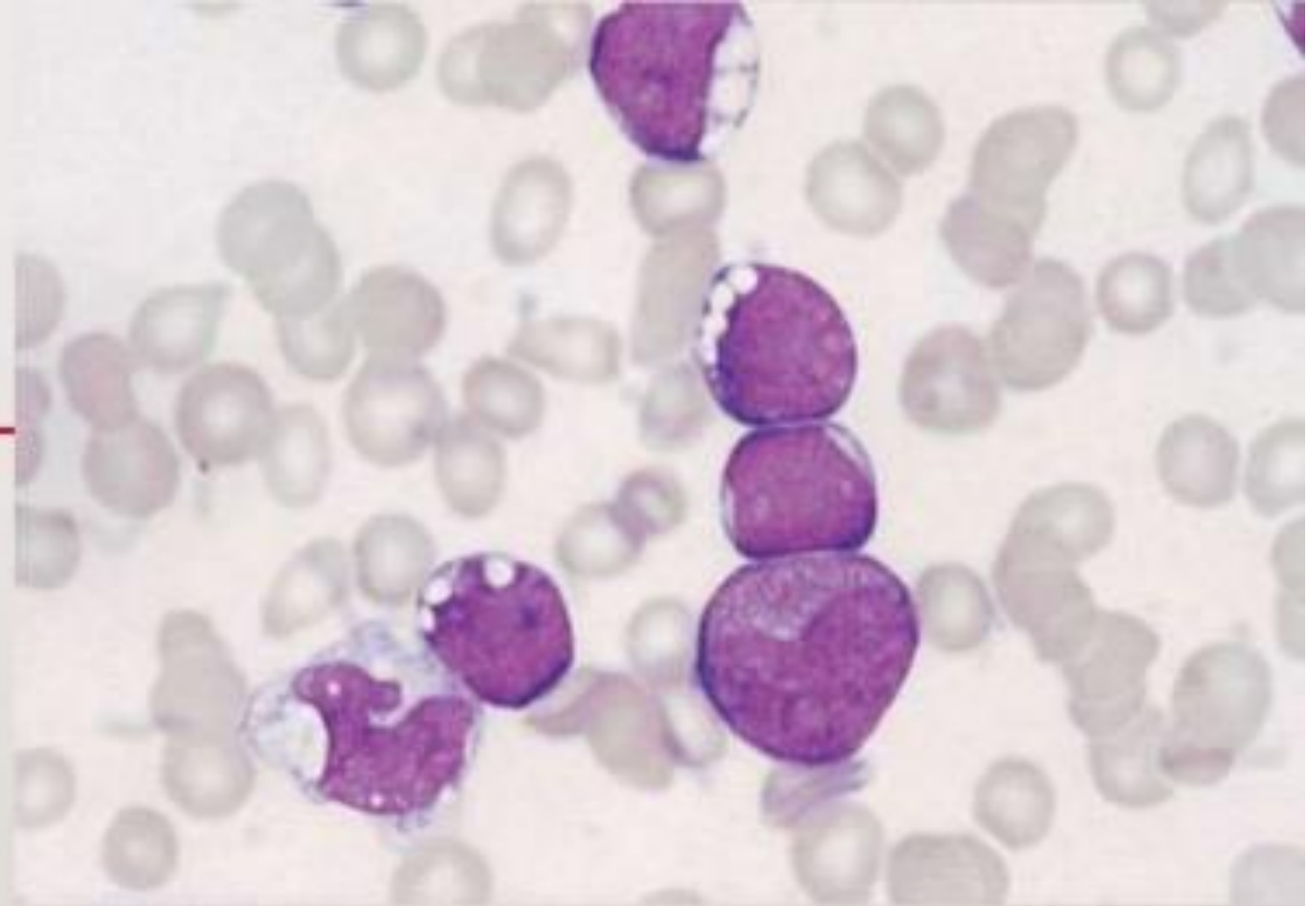
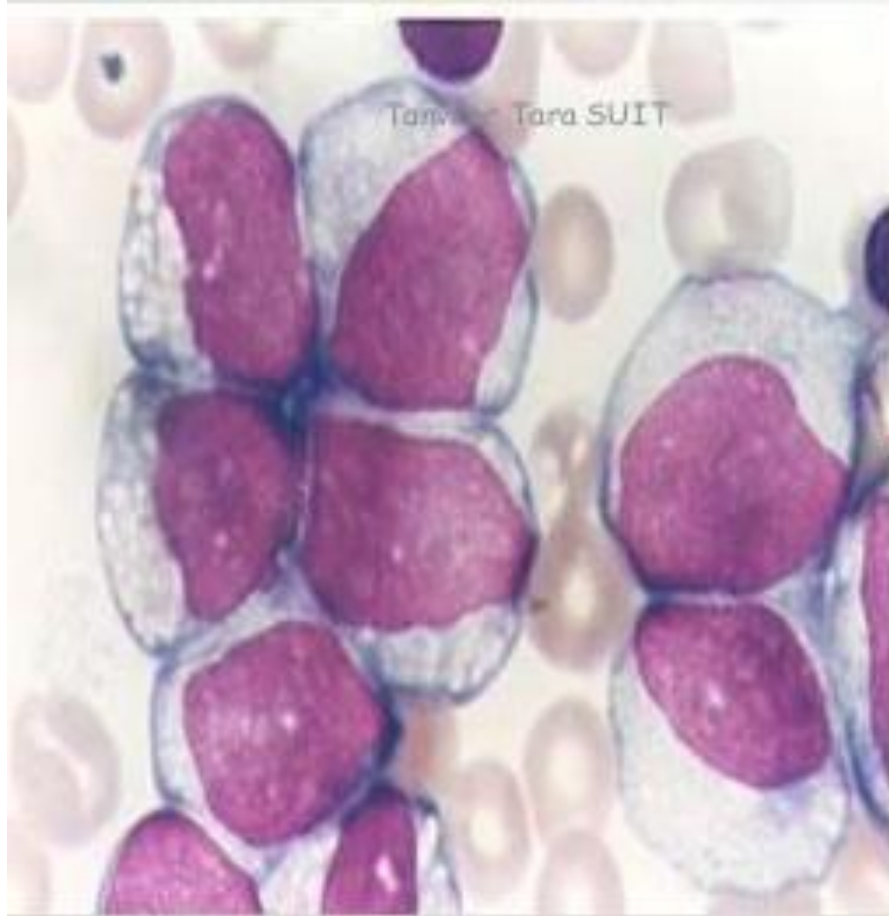
*Exclude also lymphocytes, plasma cells, macrophages and mast cells from the count.



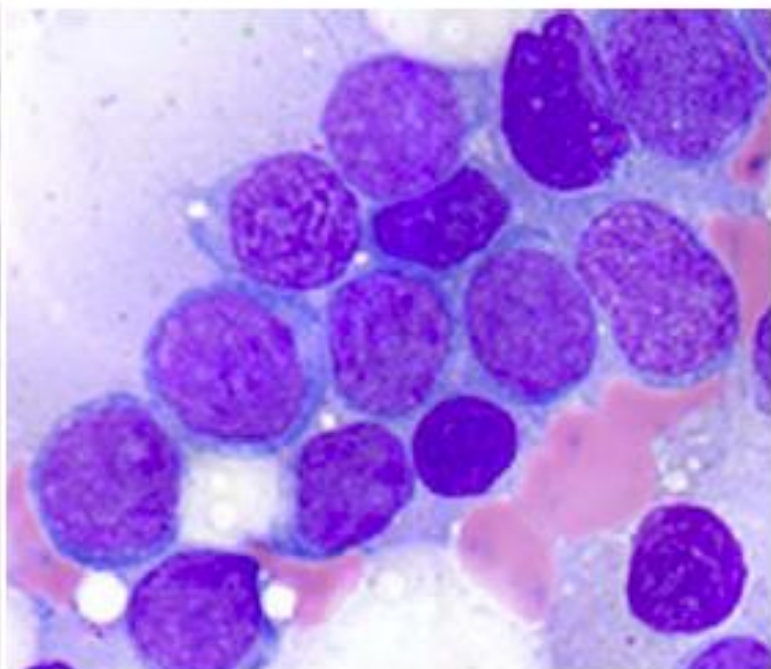
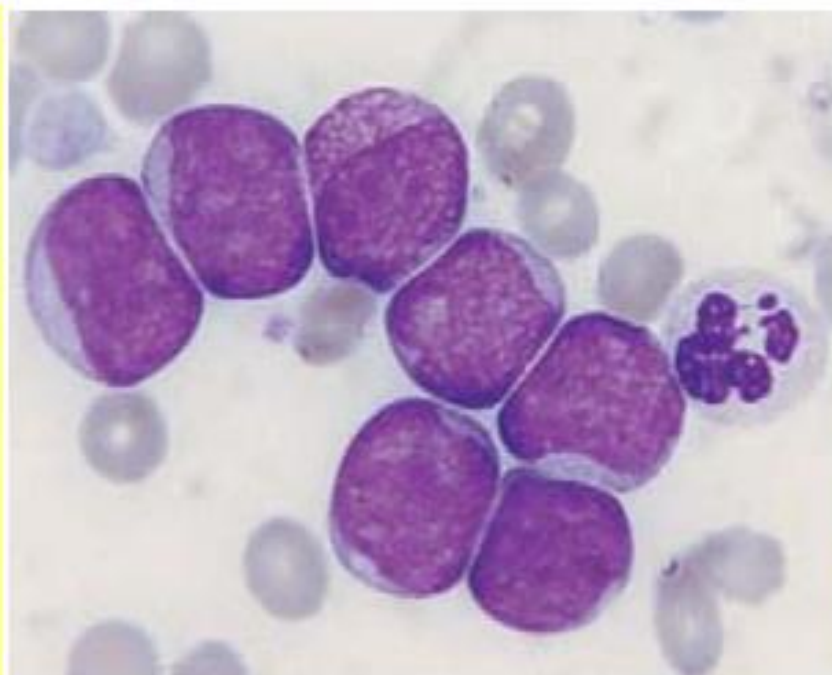
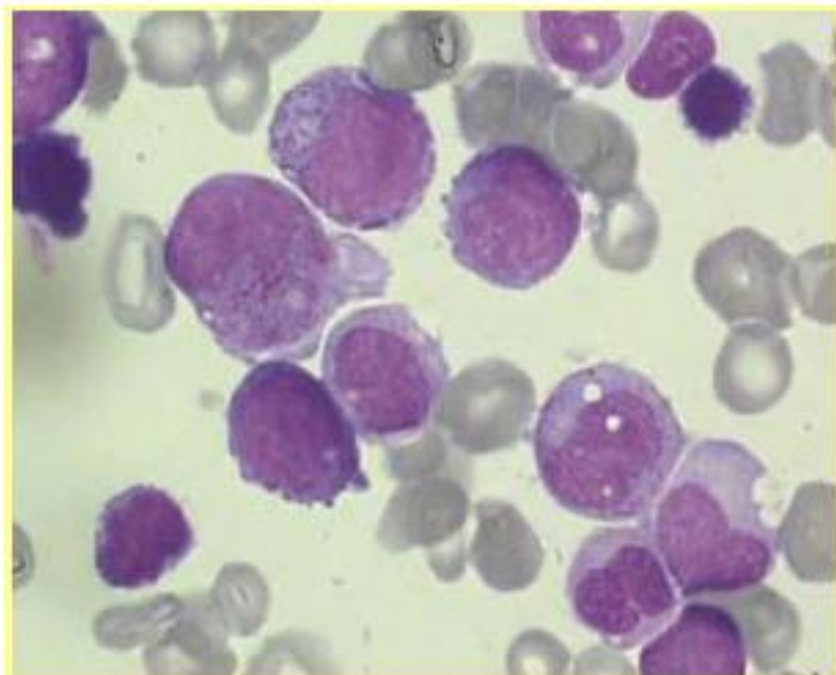
شکل ۱۸-۶۸: لام خون محیطی بیمار مبتلا به M1-AML که بلاست‌های نوع I با واکنش‌های سیتوپلاسمیک و لوپلاسیون هسته‌ای را نشان می‌دهد. در تصویر راست یک پرومیلوسیت، در تصویر وسط یک میلو بلاست تیپ I لوپوله و در تصویر سمت چپ یک بلاست لوپوله حاوی آنور راد نیز مشاهده می‌شود.



شکل ۱۹-۶۸: لام خون محیطی (راست) و بیوپسی مغز استخوان (چپ) بیمار مبتلا به M1-AML که بلاست‌های نوع I با چند جسم فی را نشان می‌دهد. در برش پاتولوژی از بیوپسی ترفین، عمده سلول‌های حاضر بلاست بوده، N/C بالو هستک مشخصی دارند و تعدادی اریتروبلاست نیز مشاهده می‌شود.



PB film of a patient with M1 AML showing blasts, some of which are heavily vacuolated



شکل ۲۰-۶۹: تفاوت میلو بلاست های M0، M1 و M2 (به ترتیب) که به ترتیب بر میزان تمایز و بلوغ بلاست ها افزوده می شود.

AML توأم با بلوغ M2-AML:

زیرگروه M2 حدود ۳۰٪ از مواد ANLL را تشکیل می‌دهد. در این لوسمی میلو بلاست‌ها ۸۹-۲۰٪ از سلول‌های NEC و سلول‌های درحال بلوغ گرانولوسیتی بالای ۱۰٪ از سلول‌های NEC را تشکیل می‌دهد. سلول‌هایی که در گروه سلول‌های گرانولوسیتی درحال بلوغ قرار می‌گیرند شامل پرومیلوسیت‌ها، میلوسیت‌ها، متامیلوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و سلول‌هایی هستند که از لحاظ سیتولوژی با پرومیلوسیت‌های طبیعی متفاوت بوده و به علت گرانوله شدن زیاد و شدید، در گروه بلاست قرار نمی‌گیرند. برخلاف M3، پرومیلوسیت‌ها در این لوسمی معادل بلاست در نظر گرفته نمی‌شوند و برخلاف M1، بلاست‌ها اغلب از نوع II و III هستند. آئوررادی در برخی موارد دیده می‌شود که در کودکان با پیش‌آگهی مطلوب همراه بوده و احتمالاً به علت ارتباط و همراهی بین آئوررادی و t(8;21) می‌باشد. خصوصیات دیس‌پلاستیک مثل هیپو یا هیپرگرانولاسیون، پلگرهوت کاذب (هیپولوبولاسیون) و نوتروفیل‌های هیپرگرانولار تا حدودی شایع بوده و ممکن است در جمعیت در حال تمایز گرانولوسیتی دیده شوند. بلوغ میلو بلاست‌ها به پرومیلوسیت‌ها در هر دو گروه M2 و M3 رخ می‌دهد و در برخی از بیماران M2 نیز، پرومیلوسیت‌ها جمعیت غالب را تشکیل می‌دهند ولی از آنجا که برخی از ویژگی‌های M3 در M2 وجود ندارد، این دو قابل تشخیص از هم خواهند بود که در ادامه به آنها اشاره می‌شود. در M2 جمعیت مونوسیتی مغز استخوان کمتر از ۲۰٪ سلول‌های NEC را تشکیل داده و دیگر شواهد تمایز مونوسیتیک نیز در آن دیده نمی‌شود، لذا از M4 هم قابل افتراق می‌باشد. پدیده بلوغ در بیشتر موارد M2 در مسیر نوتروفیلی دیده شده و کمتر شاهد بلوغ ائوزینوفیلی و بازوفیلی هستیم که در هر حال وجود این پدیده در رده ائوزینوفیلی را تحت عنوان M2-Eo و در رده بازوفیلی را M2-Baso می‌نامیم.

جدول ۶-۶۹: معیارهای تشخیص M2-AML (لوسمی میلوئیدی حاد توأم با بلوغ)

Blasts $\geq 30\%$ of bone marrow cells

Blasts 30–89% of bone marrow non-erythroid cells

Bone marrow maturing granulocytic component (promyelocytes to polymorphonuclear leucocytes) $> 10\%$ of non-erythroid cells

Bone marrow monocytic component (monoblasts to monocytes) $< 20\%$ of non-erythroid cells and other criteria for M4 not met

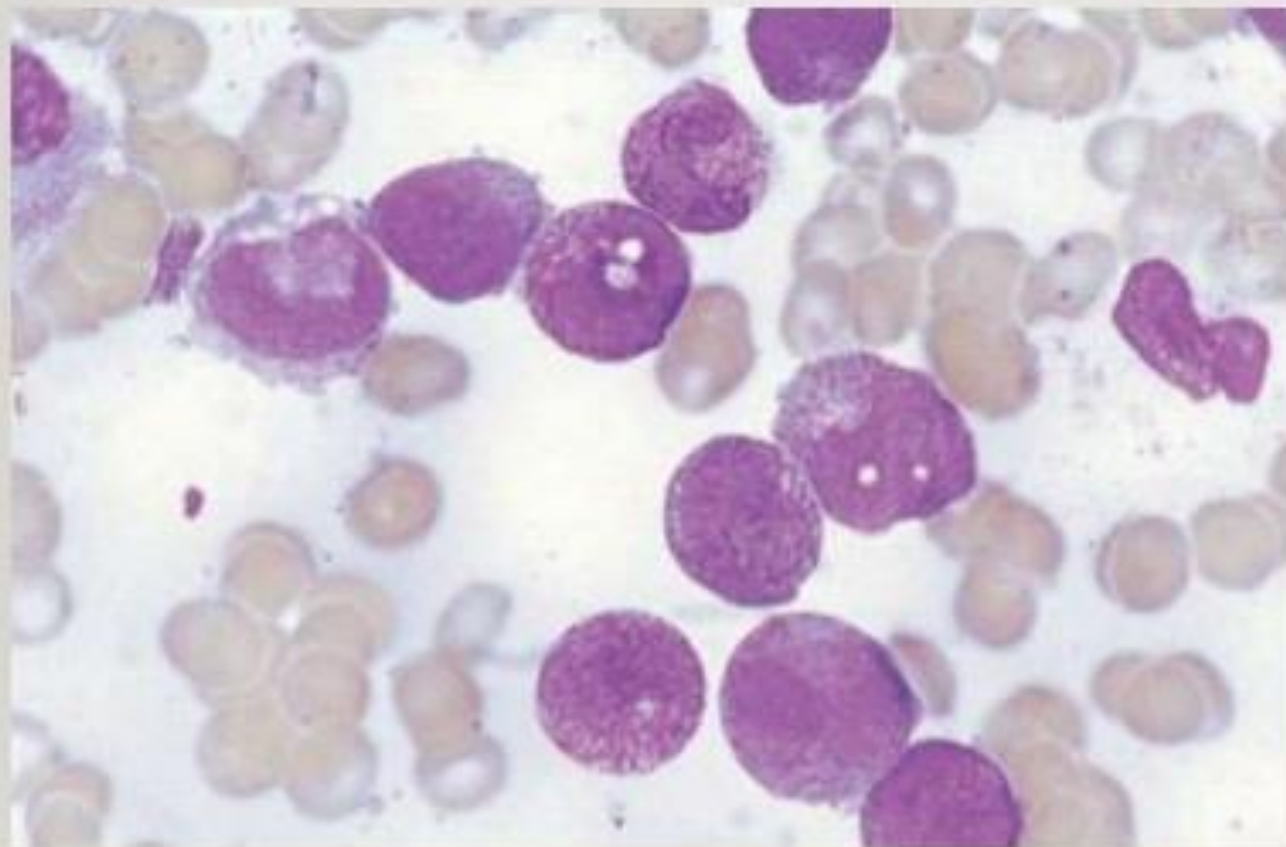
AML-M2 (MYELOBLASTIC LEUKEMIA WITH MATURATION)

- Presence of more differentiated cells in the bone marrow with maturation.
- Condition is more common in adults.
- Leucocytosis in 50% of cases.
- Thrombocytopenia
- Myeloblast are predominant cell type in peripheral blood.
- Bone marrow is hypercellular.
- Azurophilic granules in variable amount.
- Auer rods a azurophilic granules are common.

Phi bodies:

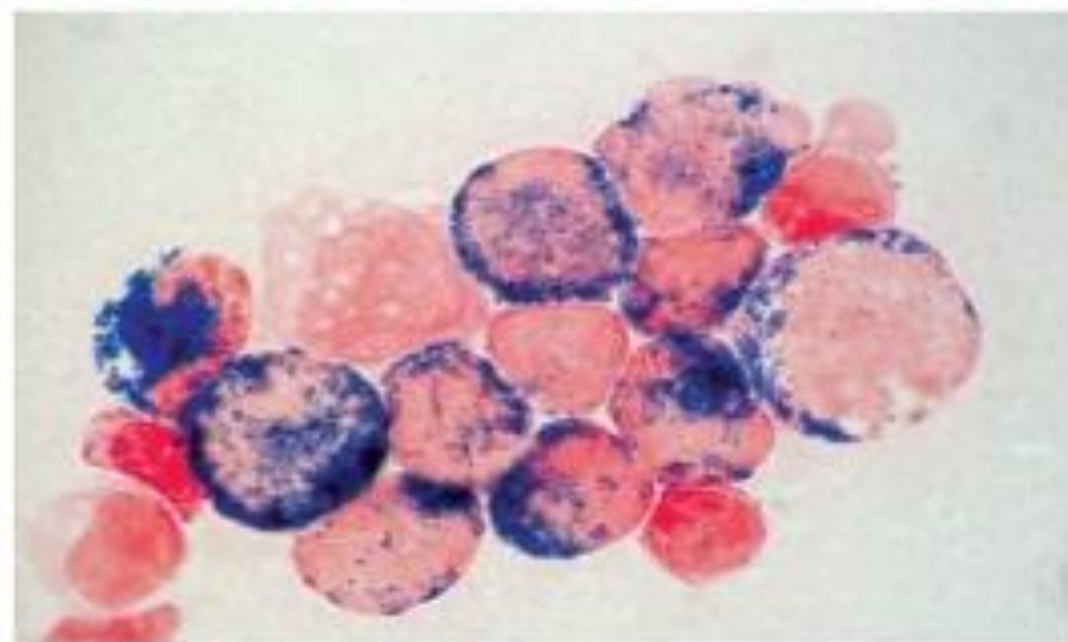
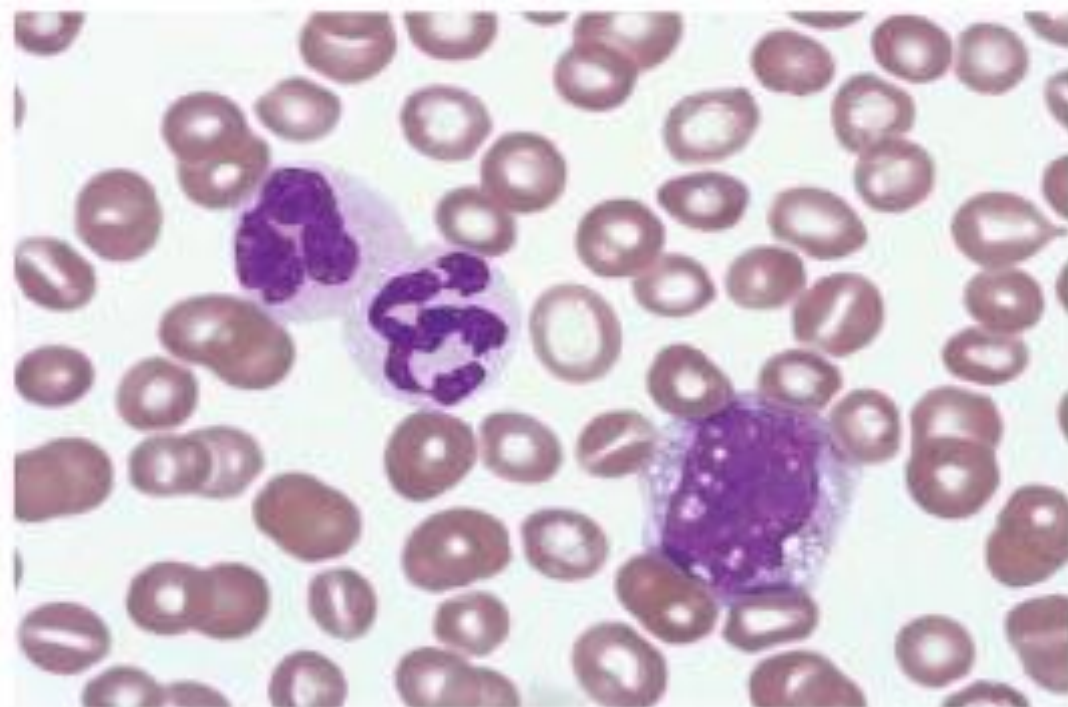
Phi bodies are variant of auer rods but are smaller and not necessarily in rod shaped.

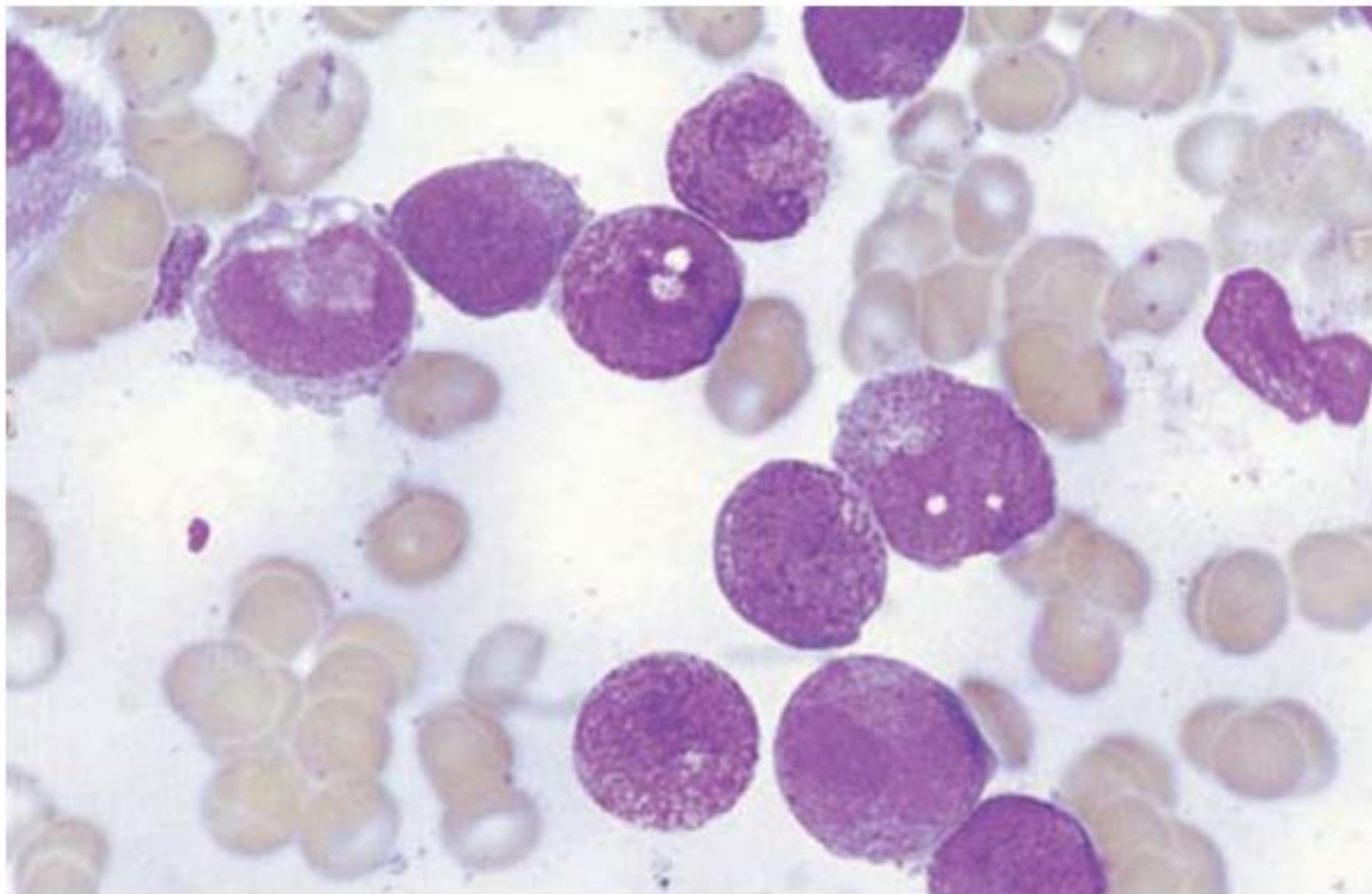
BM film of a patient with M2 AML showing unusually heavy granulation of neutrophils and precursors



3. AML with Maturation:

- FAB type: AML-M2.
- $\geq 20\%$ blast threshold.
- $\geq 10\%$ of cells are promyelocytes, myelocytes, metamyelocytes, or neutrophils.
- Monocytic component $< 20\%$.
- Although dysplasia is common in AML with maturation, both the extent of dysplasia and the cytogenetic findings cannot fulfill AML with MDS-related changes criteria.
- Key differential diagnostic considerations are: MDS with excess blast -2 and AMML.





شکل ۲۷-۶۹: لام مغزاستخوان یک بیمار مبتلا به M2-AML که گرانولاسیون شدید غیر معمول نوتروفیل‌ها و پیش سازهای آن را نشان می‌دهد.

