

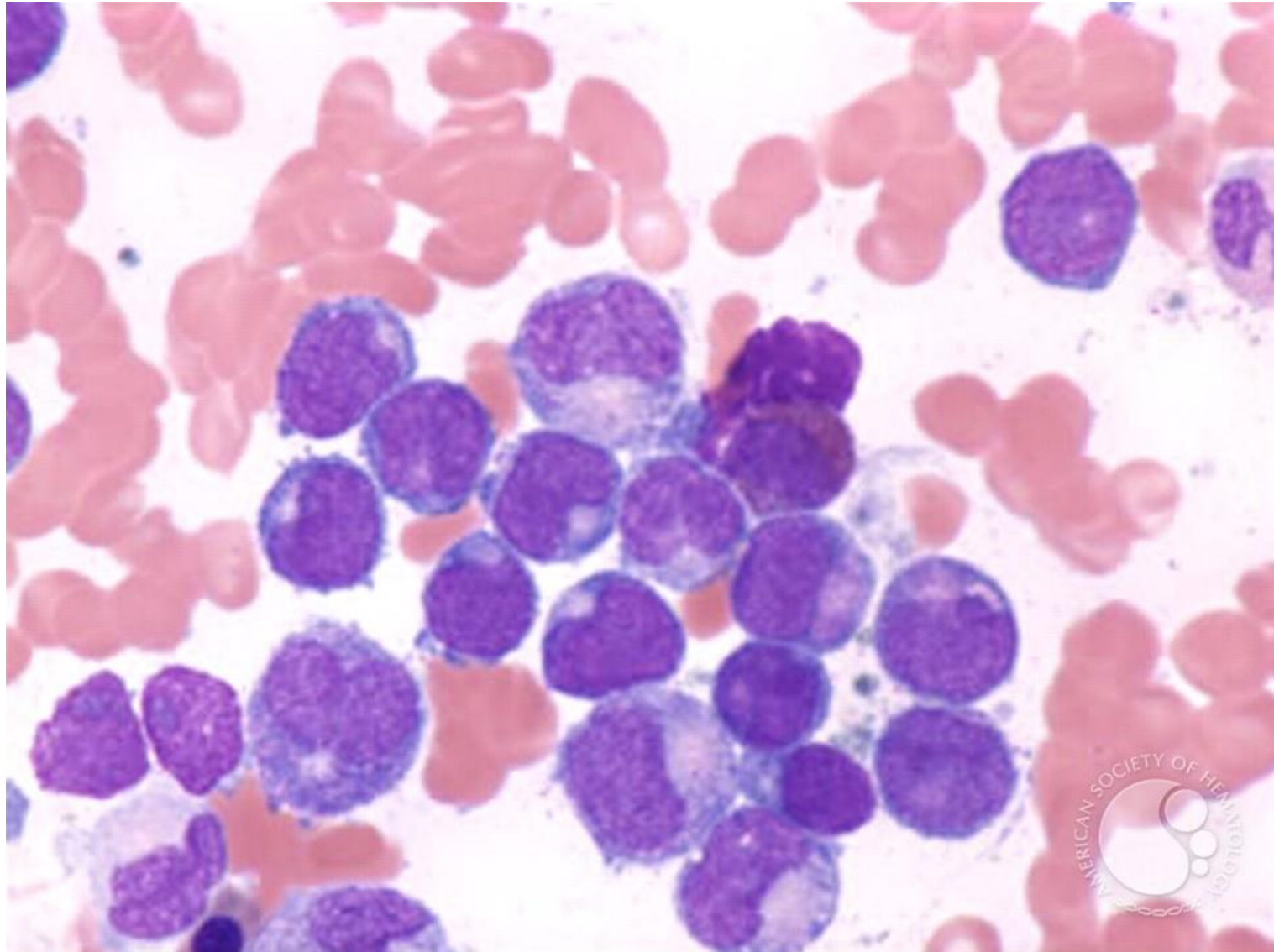


HEMATO-MORPHOLOGY WORKSHOP

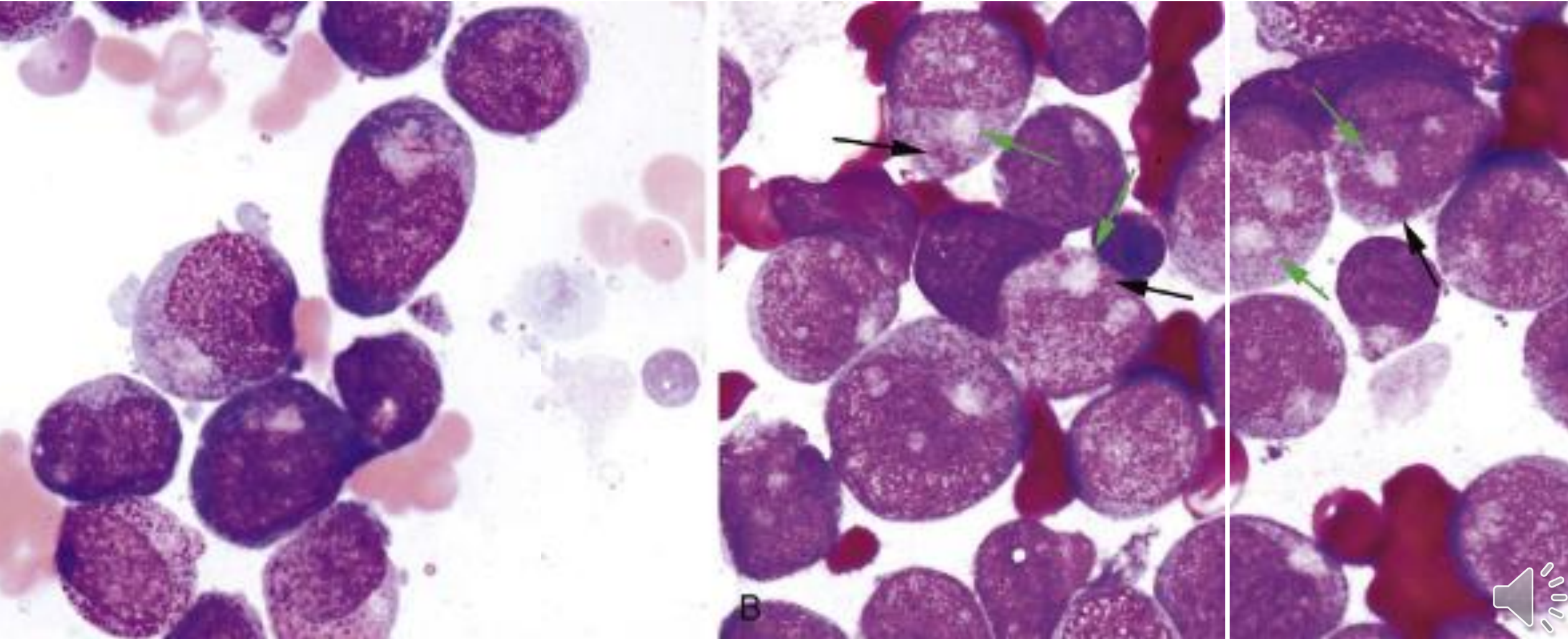
Dr. N.V.Shiran

Ph.D of Lab Hematology-SBMU

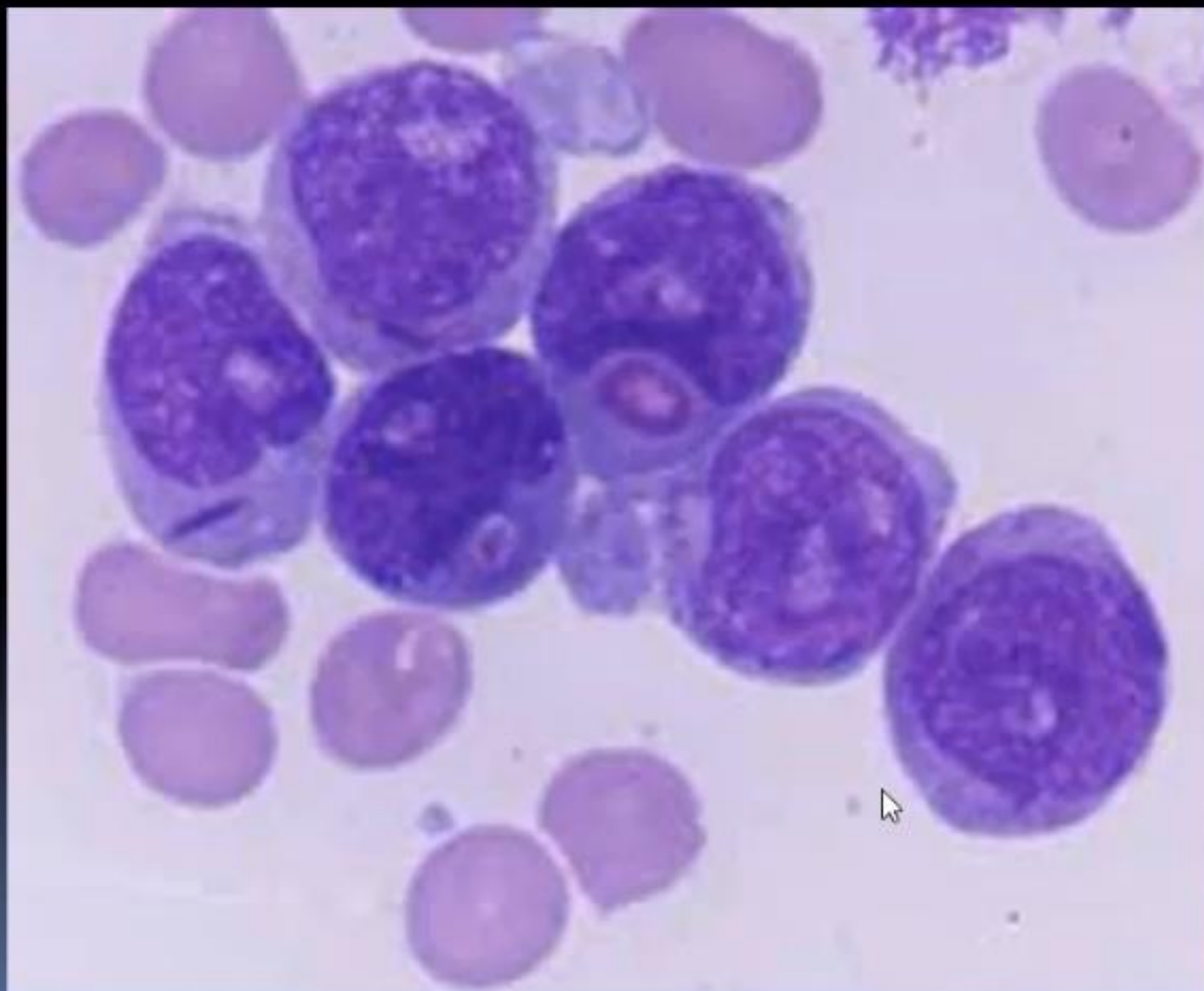
Centrosomes are evidence of myeloid differentiation

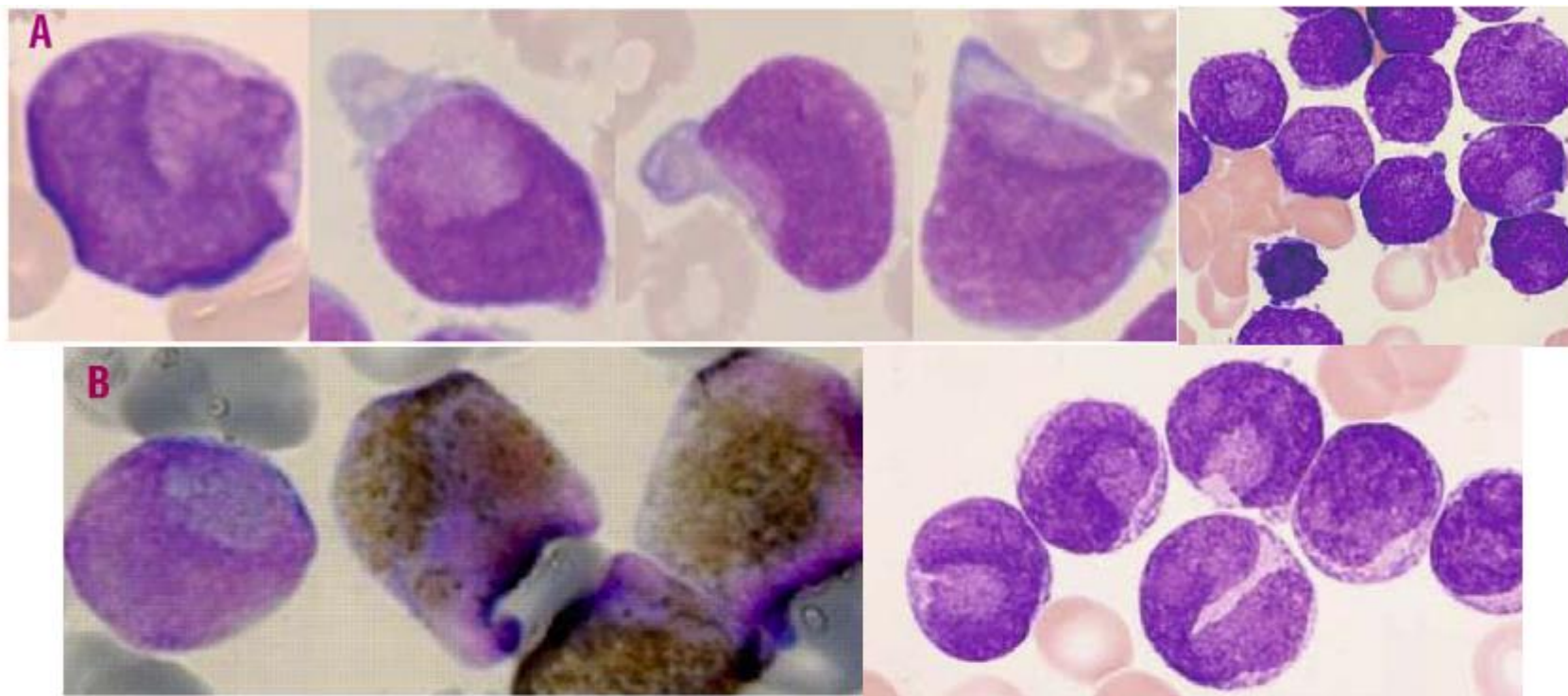


Acute myeloid leukemia with t(8;21)A, Blasts show a variable number of granules, suggesting cell maturation. One blast contains thin Auer rods. B, Perinuclear hofs (green arrows) and large pink granules (black arrows) are characteristic features of this type of AML.

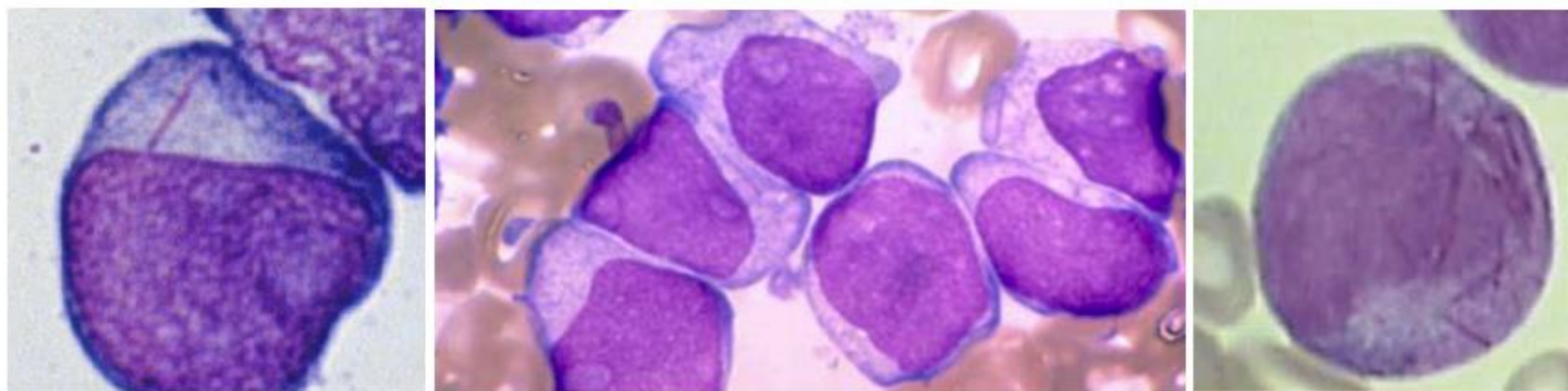


Myeloblast with pseudochediak

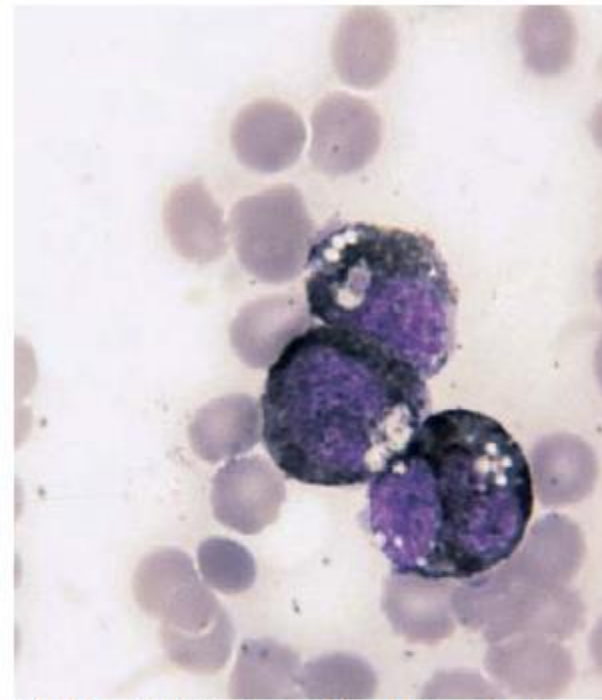
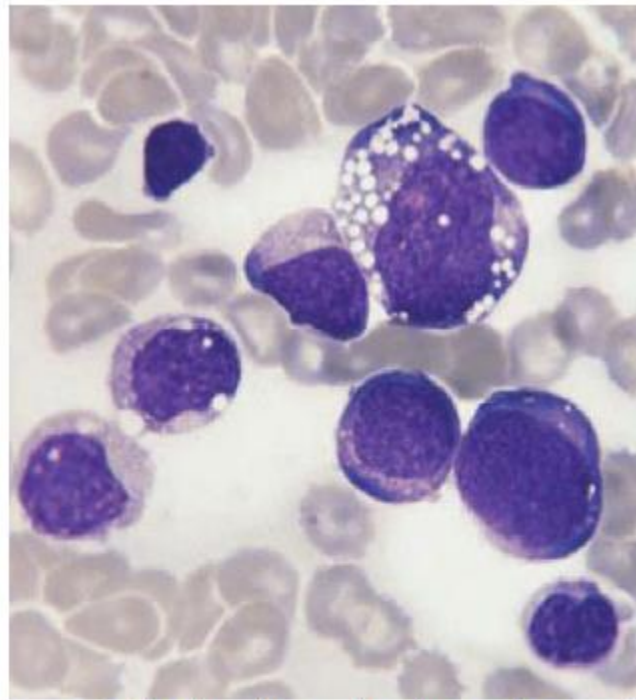




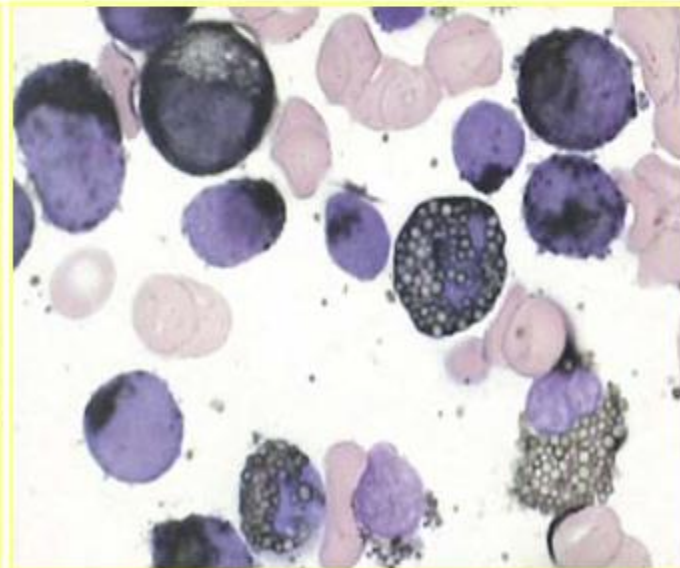
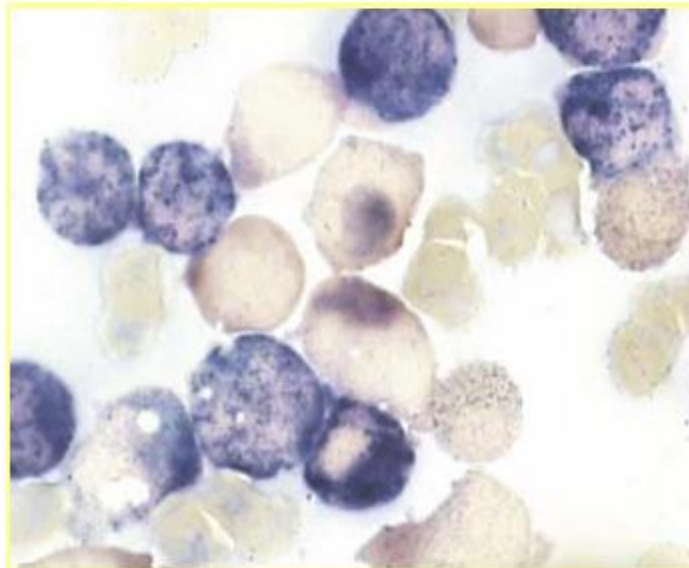
شکل ۱۳-۶۸: مورفولوژی فنجان مانند بلاست‌های سرطانی که ۲۵٪ از قطر هسته را ناحیه فنجان مانند تشکیل می‌دهد (A). بیمار به AML-M1 مبتلا بوده و قسمت عمده‌ای از میلو بلاست‌های وی MOP(-) می‌باشند (B).



شکل ۱۴-۶۸: بلاست‌های سرطانی حاوی آنوراد در AML



شکل ۲۵-۶۹: لام مغزاستخوان یک بیمار مبتلا به M2-AML که توسط (a) MGG و (b) SBB رنگ آمیزی شده است. در این بیمار هر دو بلاست‌ها و سلول‌های در حال بلوغ شدیداً واکونوله هستند.



شکل ۲۶-۶۹: واکنش مثبت SBB در دو بیمار M2Eo (راست) و M2 کلاسیک (چپ)

SEQ# 0009061 ()
 TIME 15:56 29/06/90
 SYS# 000

ID

CEC

H	72.57*	$\times 10^9/L$	WBC
L	3.58	$\times 10^{12}/L$	RBC
L	10.8	g/dL	HGB
L	.357		HCT
H	99.9	fL	MCV
	30.1	pg	MCH
L	30.1	g/dL	MCHC
H	15.2	%	RDW
	2.51	g/dL	HDW
L	37*	$\times 10^9/L$	PLT
L	4.2*	fL	MPV
H	80.4*	%	PDW
L	.02*	%	PCT

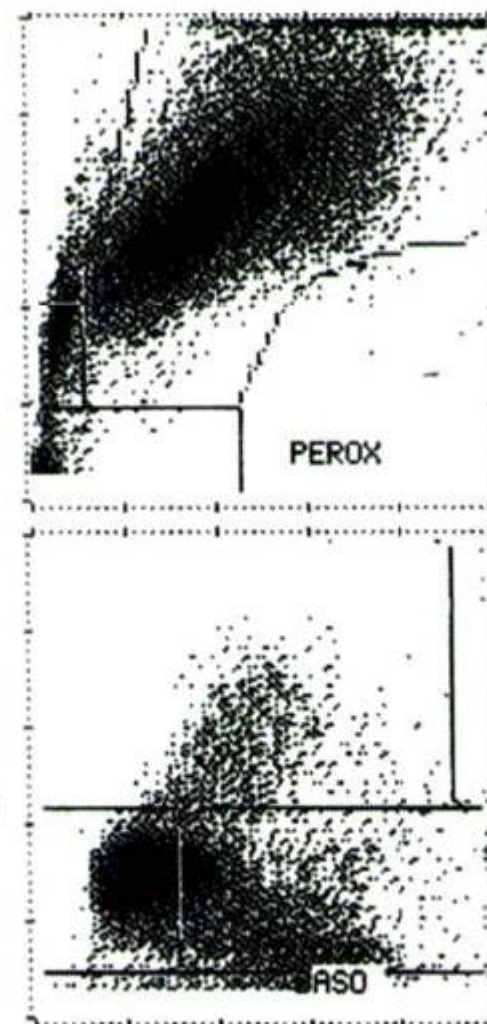
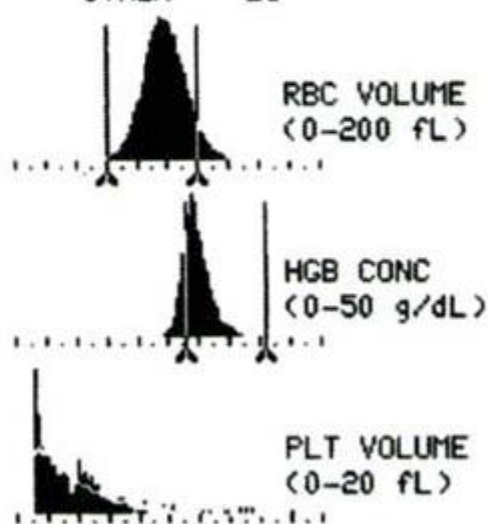
RBC FLAGS 0206

%	DIFF	$\times 10^9/L$
H 90.4*	NEUT	H 65.63*
L 7.1*	LYMP	5.15*
L .0*	MONO	L .00*
.1*	EOS	.08*
H 3.2*	BASO	H 2.32*
2.3*	LUC	H 1.70*
LI		L 1.33*
MPXI		L -31.3

F WBC FLAGS 4200

MORPHOLOGY FLAGS
 PARAMETER SUSP VERIFY

ANISO
 MICRO
 MACRO ++
 VAR
 HYPO ++
 HYPER
 L SHIFT +
 ATYP
 BLASTS +
 OTHER
 OTHER IG



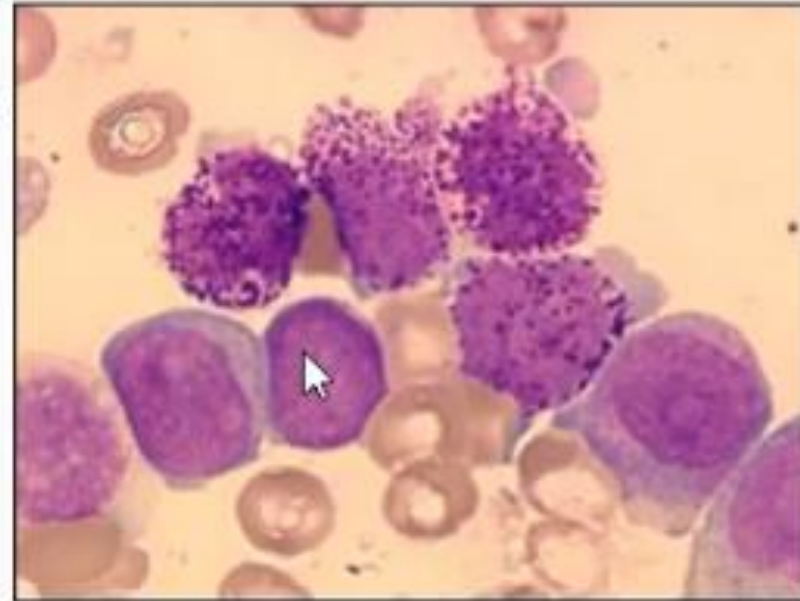
شکل ۲۸-۶۹: سیتوگرام بیمار مبتلا به AML-M2 در دستگاه سل کانتر H1: در M2 بلاست‌ها فعالیت پراکسیداز بسیار بالایی را نشان می‌دهد که نسبت به M1 بسیار واضح‌تر بوده و پراکندگی هیستوگرام پراکسیداز، بیشتر به سمت راست متمایل می‌شود. در کانال بازوفیل یک حالت پهن توسعه یافته از بلاست‌ها در ناحیه تک هسته‌ای‌ها (MN) وجود دارد که منحنی آن به سمت چپ متمایل نشان داده و یک حالت بازوفیلی کاذب نیز در ناحیه بازوفیلی (بالای خط افقی) دیده می‌شود. ترومبوسیتونی نیز وجود دارد. در برخی از بیماران به دلیل خصوصیات دیس‌پلاستیک و بروز سودوگریگناشی (فقر MPO) کلاستر نوتروفیلی به سمت چپ میل کرده و در زون مونوسیت و LUC قرار می‌گیرد. البته در گراف فوق نیز کاهش MPXI به 31- و درجانی از میل سیتوگرام به سمت چپ مشهود است.

AML with recurrent genetic abnormalities

m2

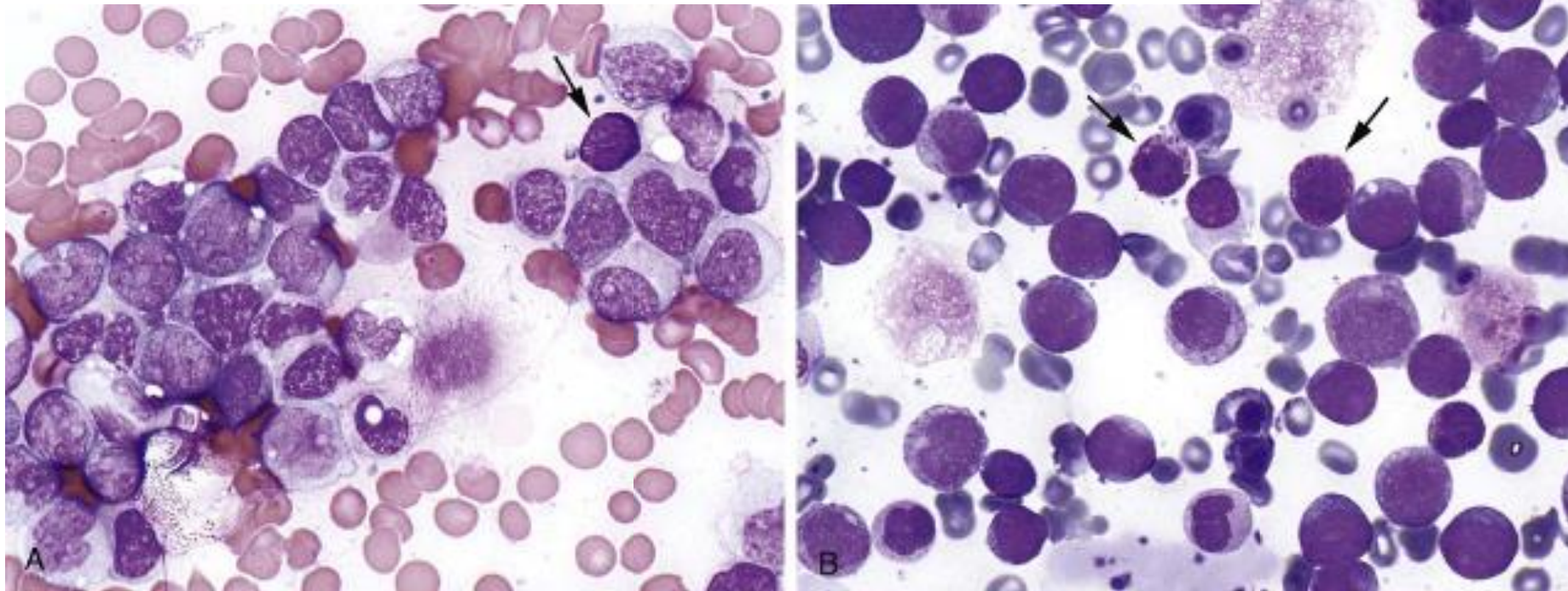
5. AML with t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214

- AML with or without monocytic features that is often associated with basophilia and multilineage dysplasia
- 0.7-1.8% cases; both children and adults affected
- Usually presents with anemia and thrombocytopenia
- AML with maturation and AMML (FAB)
- Auer rods in 30% cases
- MPO positive and NSE negative
- IPT: MPO, CD13, CD33, CD38, HLA-DR



Acute myeloid leukemia with t(6;9)

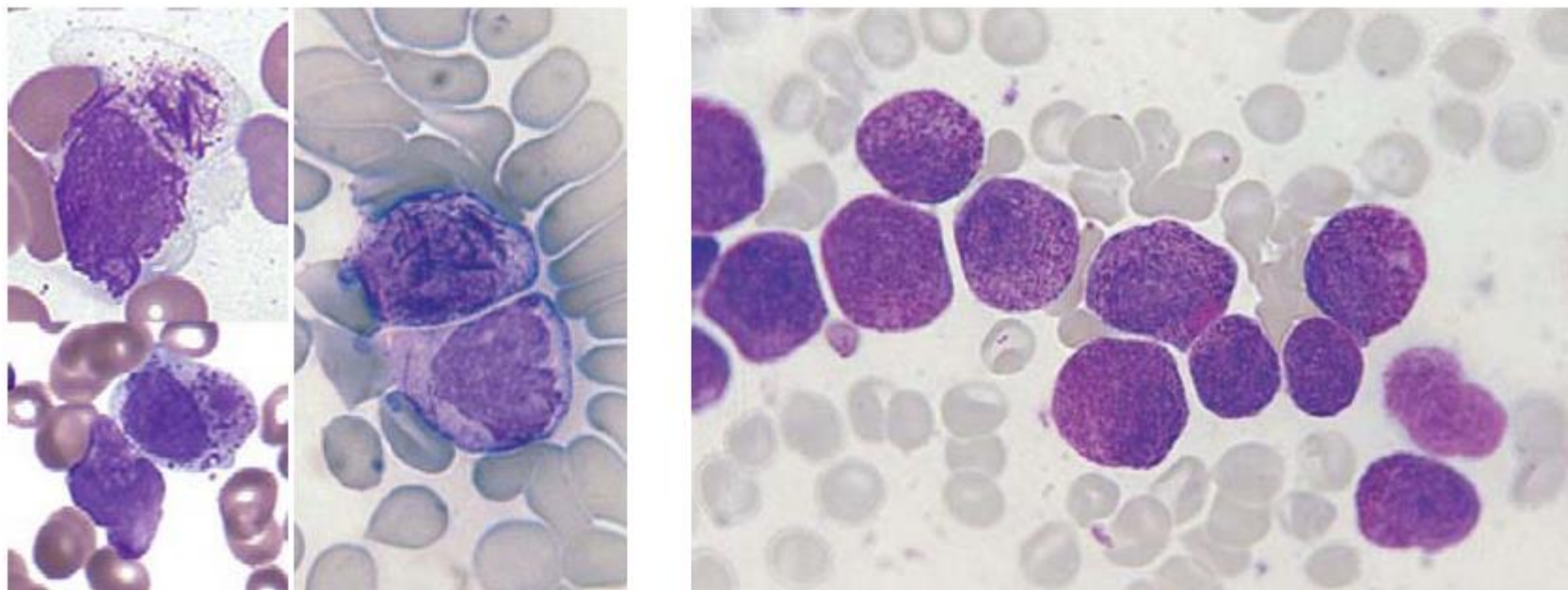
Blast cells exhibit variable morphology but are often associated with admixed basophils (arrows). A, Blasts with monocytic features. B, Myeloblasts without maturation and dysplastic erythroid precursors.



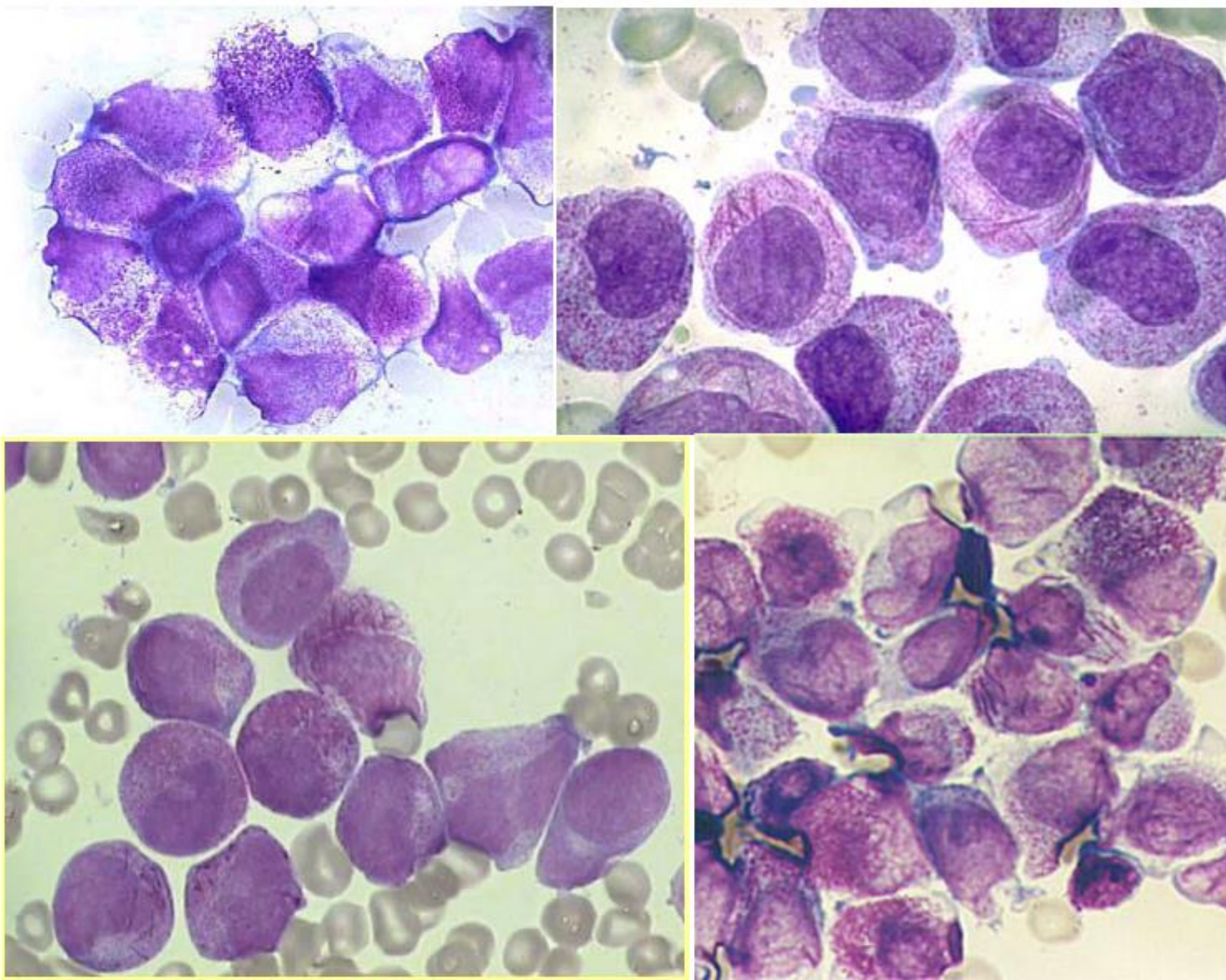
AML-M3(HYPER GRANULAR PROMYELOCYTIC LEUKEMIA)

- Typically seen in young adults.
- Sudden and severe progression.
- Cause acute DIC.
- DLC shows predominance of promyelocytes.
- Nucleus is very delicate sometime show foldings.
- Most common clinical finding is bleeding.

زمانی که هسته به صورت واضح و در لابه‌لای گرانول‌ها رویت می‌شود، غالباً شکل کلیه مانند یا نعل اسبی^۱، پیچ خورده و یا دولوبوله (که لوب‌های آن با یک پل بسیار باریک به هم متصلند) به خود می‌گیرد. شکل هسته در برش‌های بافتی، وضوح بیشتری نیز نشان می‌دهد (شکل ۳۱-۶۹). آئوررادها بسیار شایع بوده، به‌طوری‌که در یک مطالعه حدود ۵۰٪ از بیماران حاوی آئورراد بودند ولی در یک مطالعه دیگر، هرچند در تعداد کمی از سلول‌ها ولی تقریباً تمامی بیماران حاوی آئورراد بودند. به‌جز آئور راد و اجسام فی، در برخی از موارد نیز گرانول‌های غول آسا یا آئوررادهای چندتایی مشاهده می‌شوند که اغلب به صورت هیزم یا فاگوت‌آدر سلول تجمع می‌یابند (فاگوت سل یا سلول سلطان). در اکثر بیماران M3، تعداد اندکی سلول وجود دارند که فاقد گرانول بوده یا دارای گرانول‌های پراکنده و کم پشت‌آمی‌باشند، یا اینکه حاوی گرانول‌های غبار مانند قرمز^۲ یا قهوه‌ای زرد رنگ ریز^۳ هستند و برخلاف پرومیلوسیت‌های کلاسیک، کمتر دارای گرانول‌های خشن و واضح هستند. گاهی نیز سلول‌هایی وجود دارند که فاقد گرانول بوده ولی سیتوپلاسم غنی از مواد هیالین و صورتی شفاف دارند. در M3 علاوه بر تمایز شدید نوتروفیلی، تمایز بازوفیلی هم دیده شده است. معمولاً تغییرات دیسپلاستیک بجز در رده نوتروفیلی، در رده‌های اریتروئیدی و مگاکاریوسیتی دیده نمی‌شود.



شکل ۲۹-۶۹: گستره مغزاستخوان (راست) و خون محیطی (چپ) از یک بیمار مبتلا به M3-AML که پرومیلوسیت‌های هیپرگرانولار را نشان می‌دهد، دو مورد از سلول‌ها دارای گرانول غول آسای قرمز رنگ در سیتوپلاسم خود هستند. در تصویر سمت چپ نیز دو فاگوت سل دیده می‌شود.



شکل ۳۰-۶۹: تصویری از انواع پرومیلوسیت‌ها و فاگوت سل‌های لوسمیک در بیماران مبتلا به AML-M3

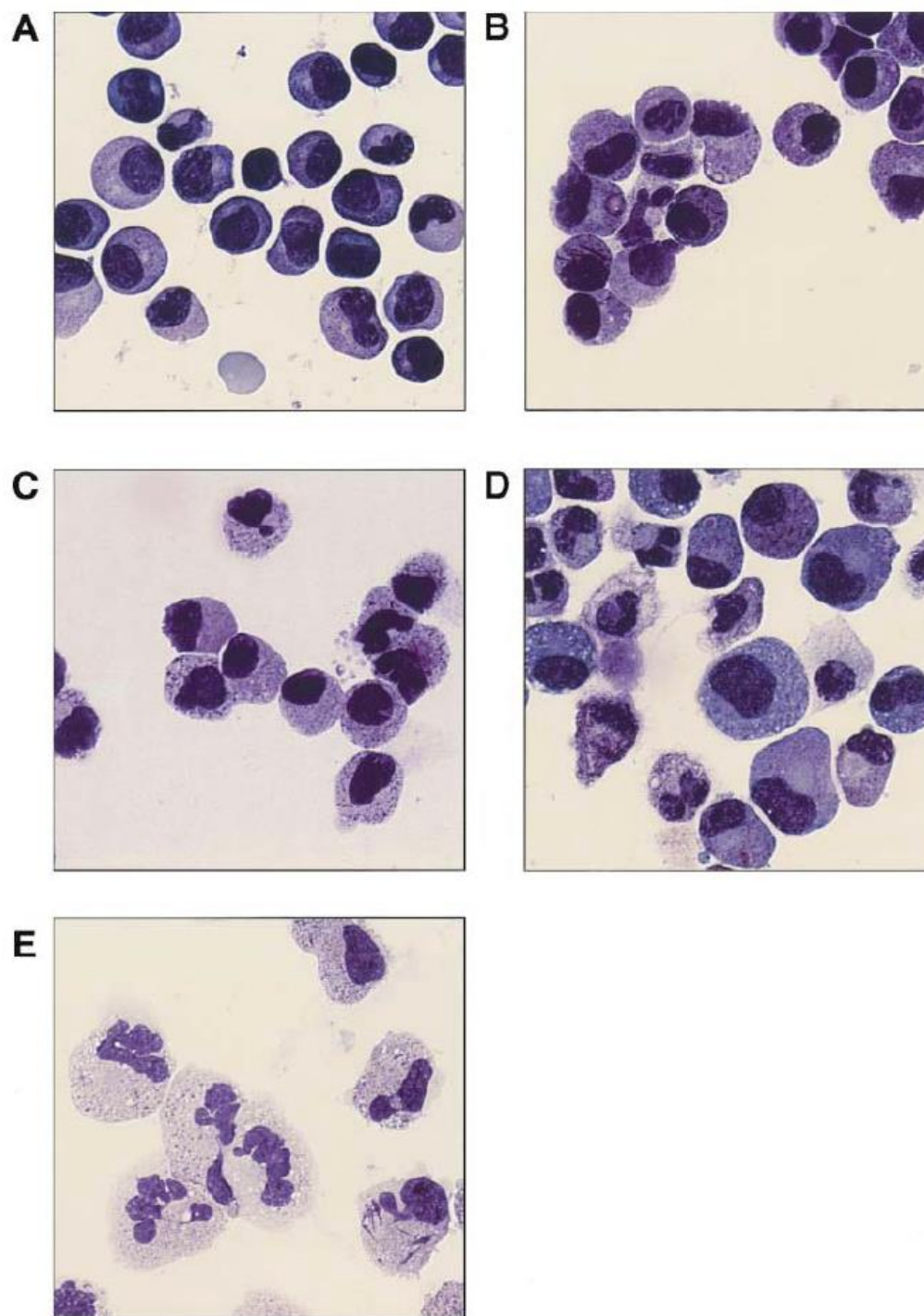
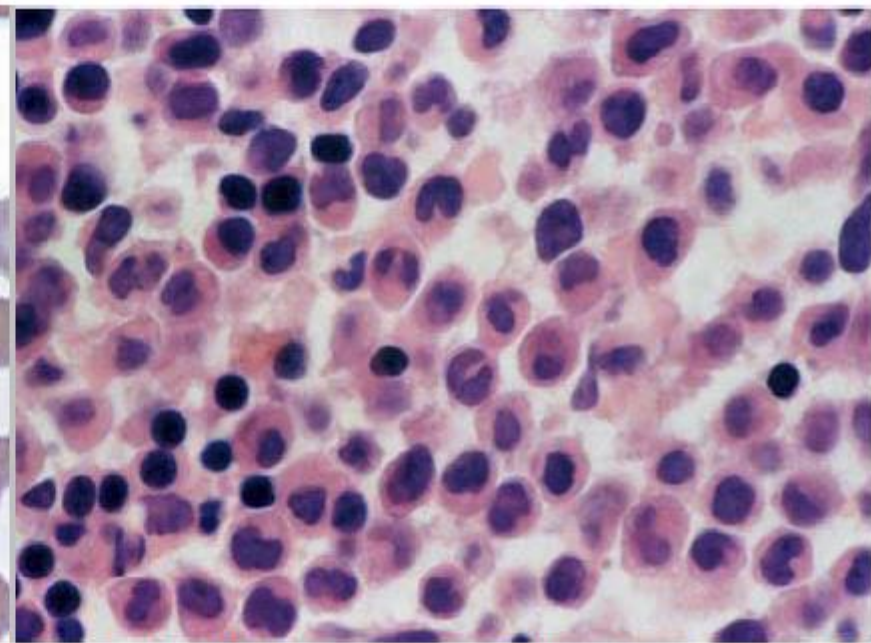
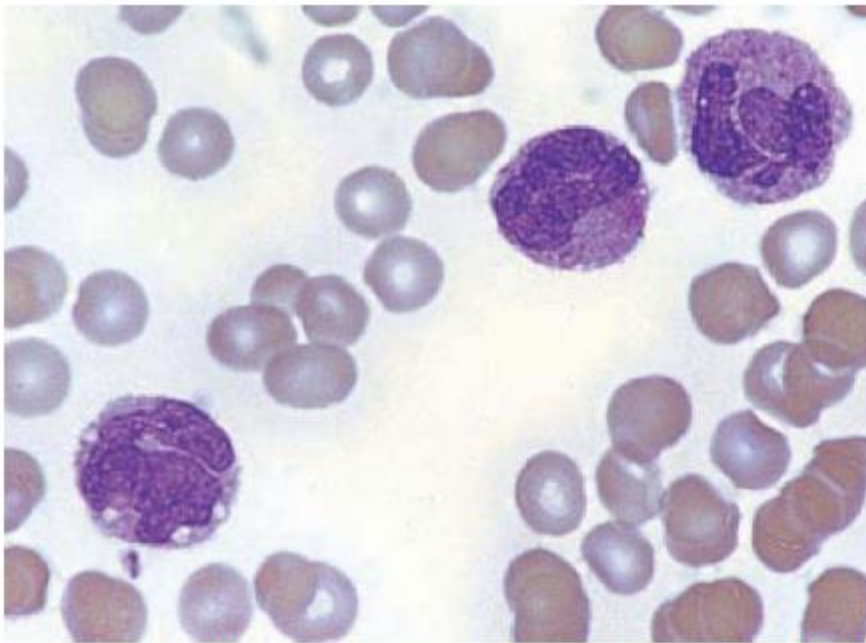
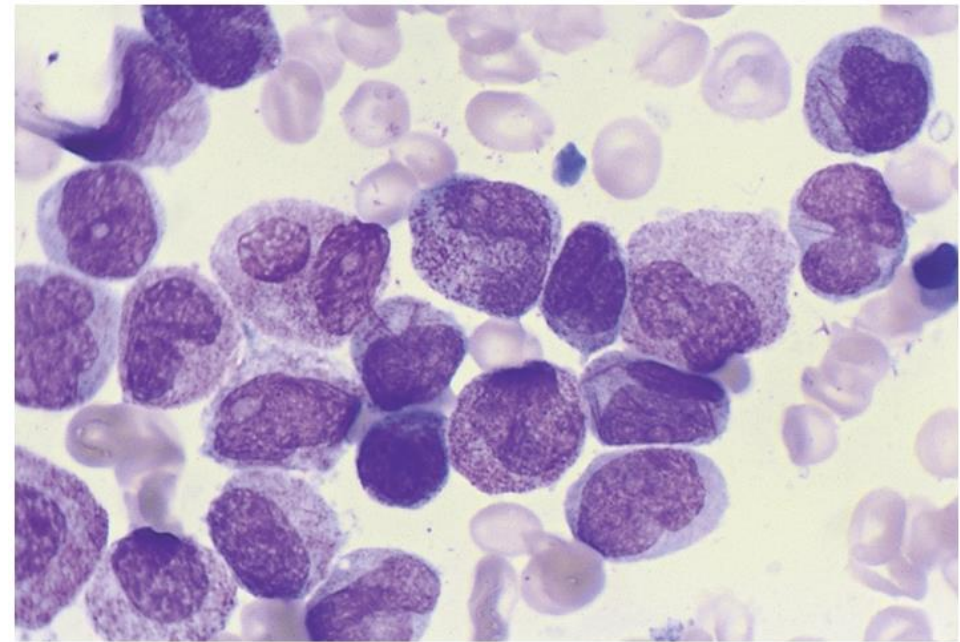
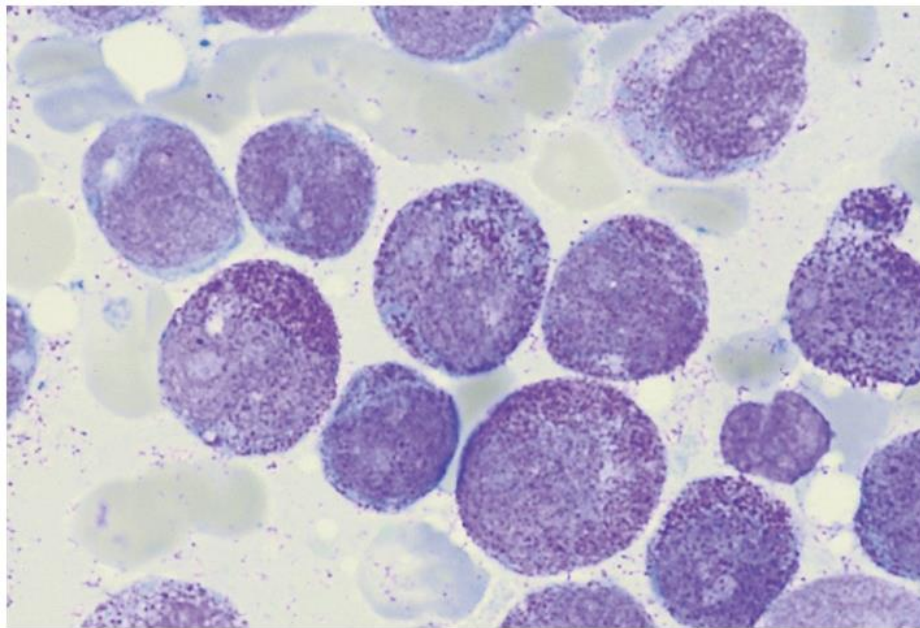


Fig 2. Morphology of t(11;17) positive leukemia cells cultured with G-CSF and ATRA. Mononuclear cells, consisting of more than 90% of leukemic cells, were isolated from the blood at first diagnosis and cultured under various conditions for up to 14 days. Cytopins were made after various time intervals and stained with May-Grünwald-Giemsa. Depicted are uncultured cells (A) and cells that were grown for 1 week in medium (B), 10^{-4} mol/L ATRA (C), $0.1 \mu\text{g/mL}$ G-CSF (D), and ATRA and G-CSF (E).

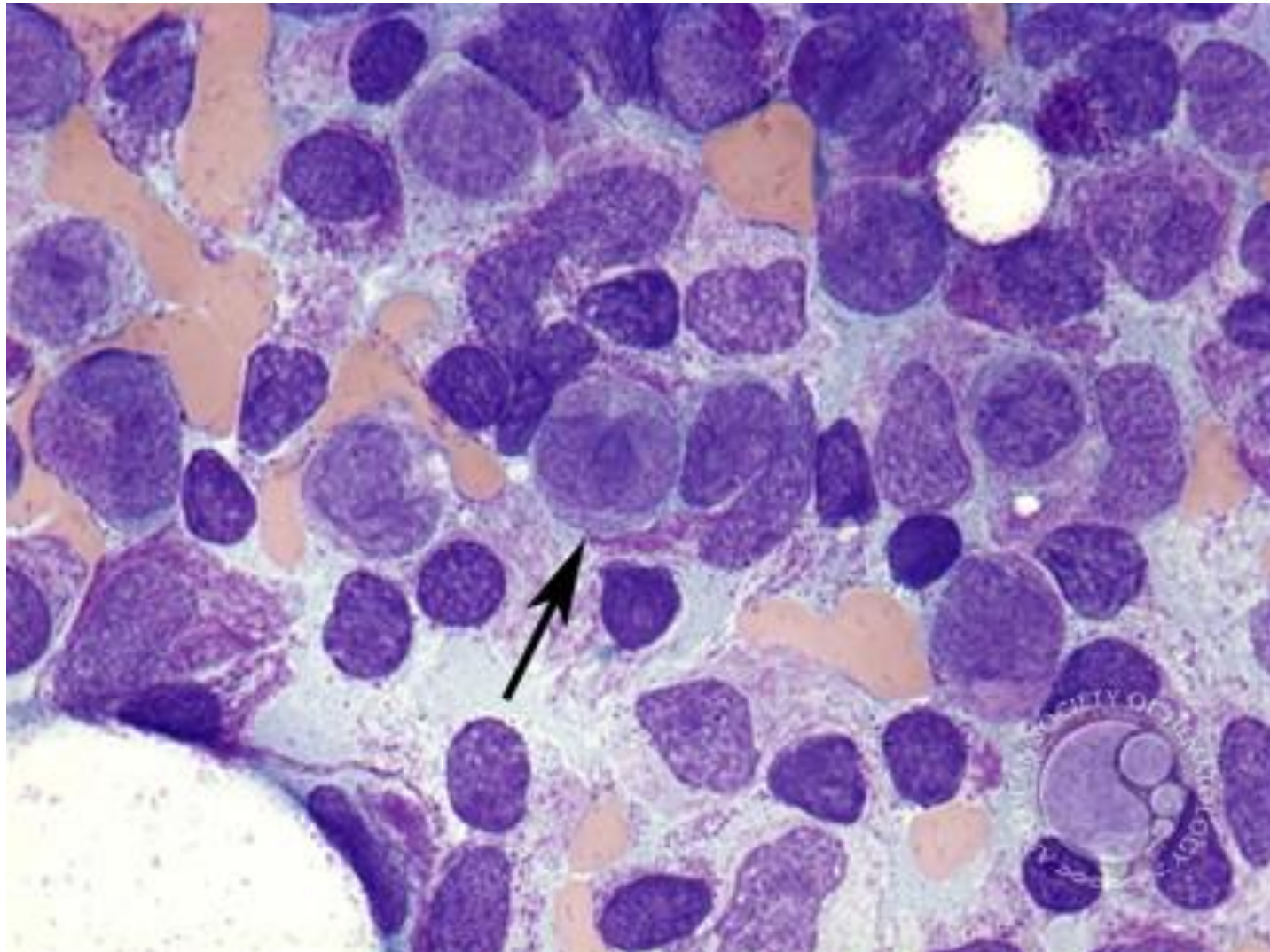


شکل ۳۲-۶۹: برش بافت شناسی از یک بیوپسی ترفین در بیمار M3-AML که در آن سلول‌ها حالت نعل اسبی، پیچ خورده و نامنظمی را نشان می‌دهند. چپ) لام خون محیطی از بیمار مبتلا به M3-AML تحت درمان با ATRA و G-CSF که در آن پرومیلوسیت‌های لوسیک، درحال تمایز و بلوغ به سلول‌های شدیداً غیرنرمال بالغ هستند.



APL

Some abnormal promyelocytes have a distinct folding pattern to the nucleus as shown by the cell marked with the arrow.

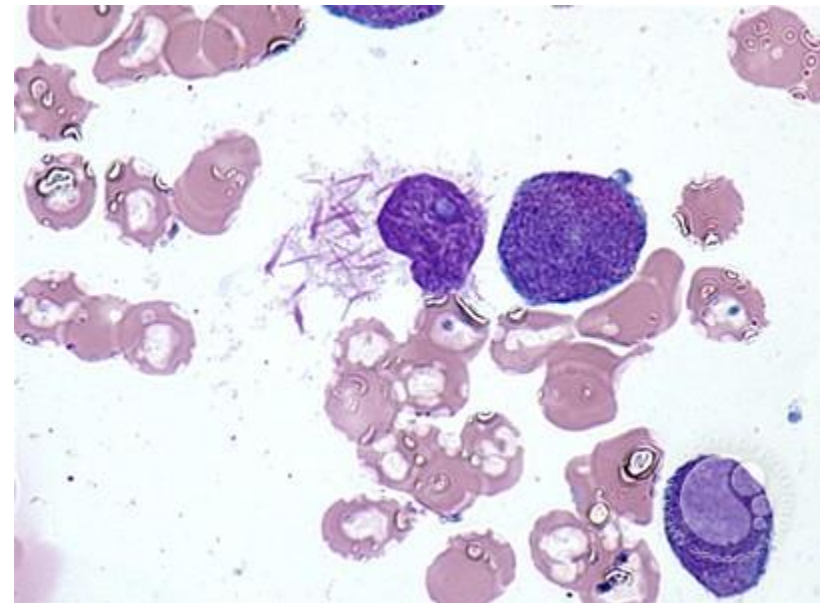
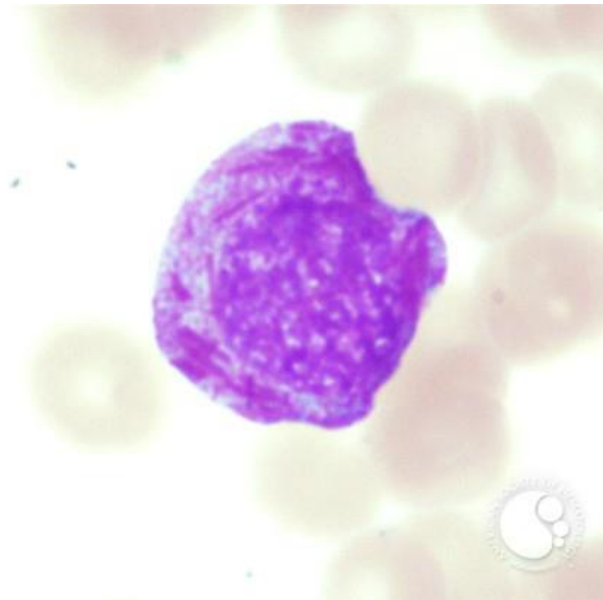


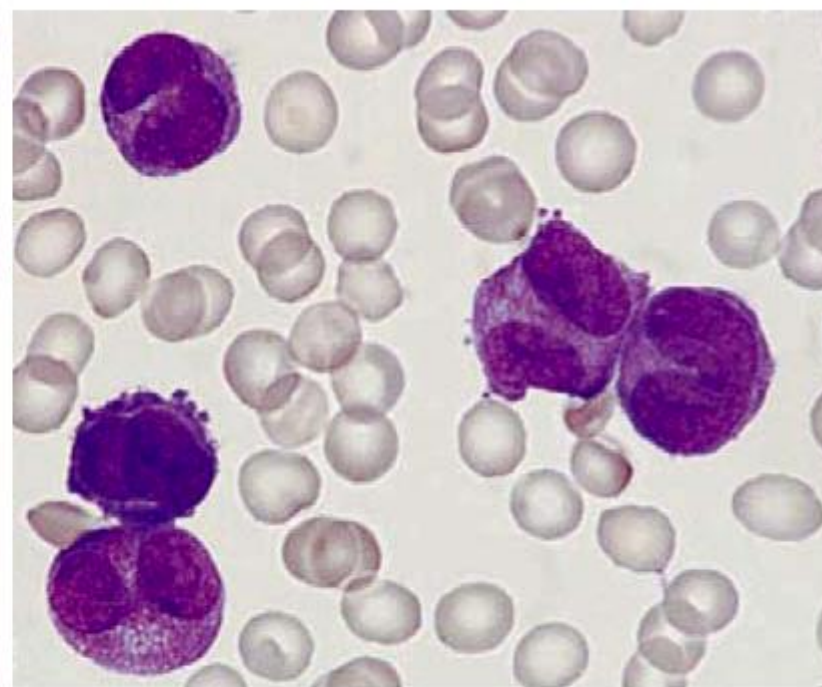
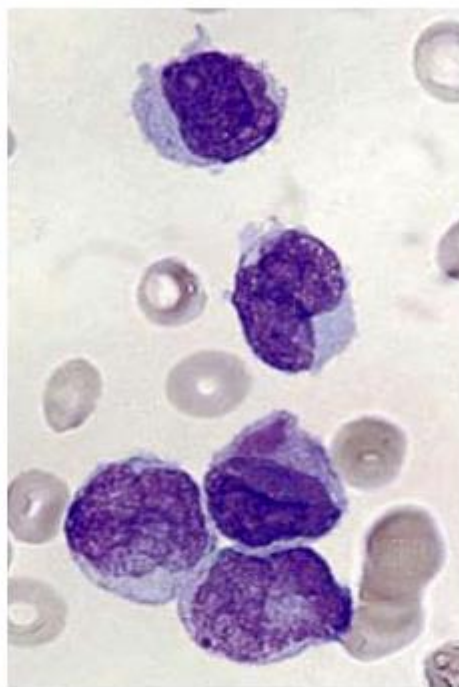
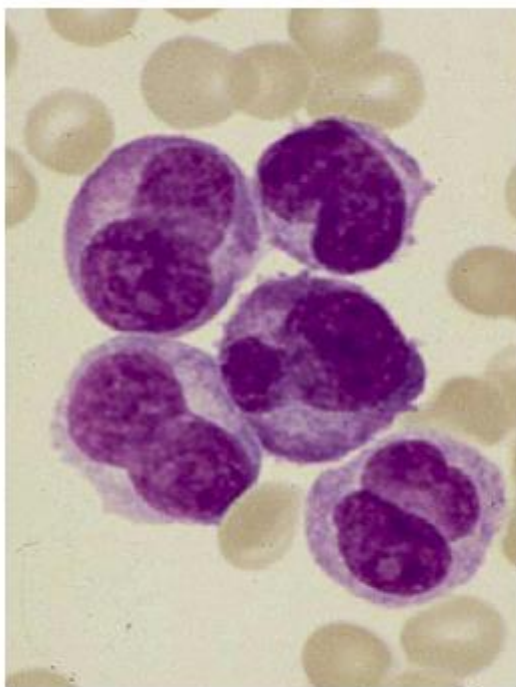
Faggot" cell in acute promyelocytic leukemia

A "faggot" cell present on the peripheral smear from a patient with acute promyelocytic leukemia is shown. The cytoplasm contains multiple Auer rods, singly and in bundles.

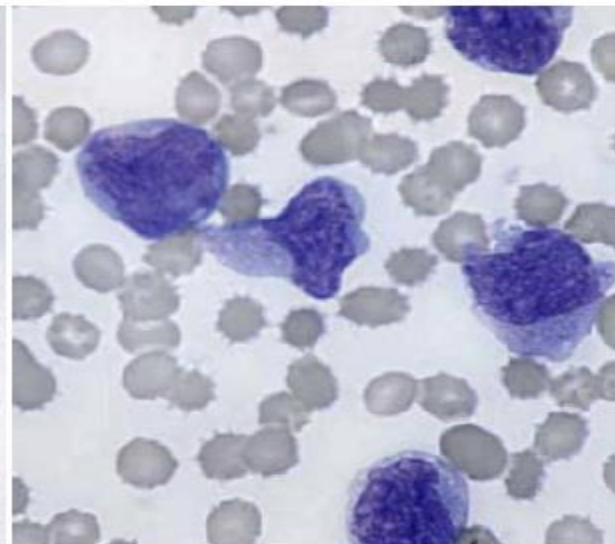
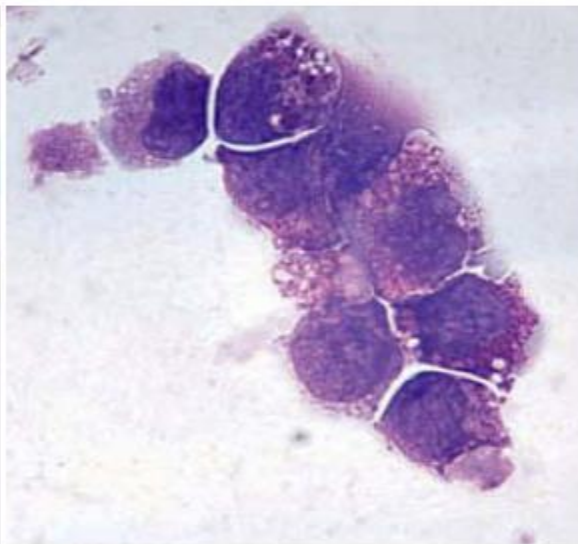
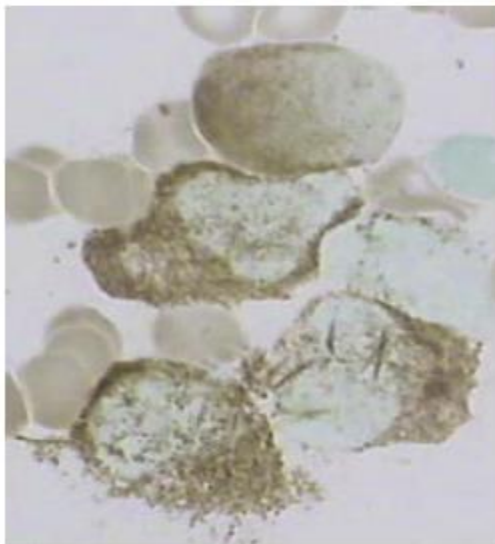
"Flaming" promyelocyte .

Abnormal promyelocyte with disintegrating cytoplasm which, in turn, liberates Auer rods and granules into the surrounding marrow. These "flaming" promyelocytes are one of the characteristic cells found in APL.

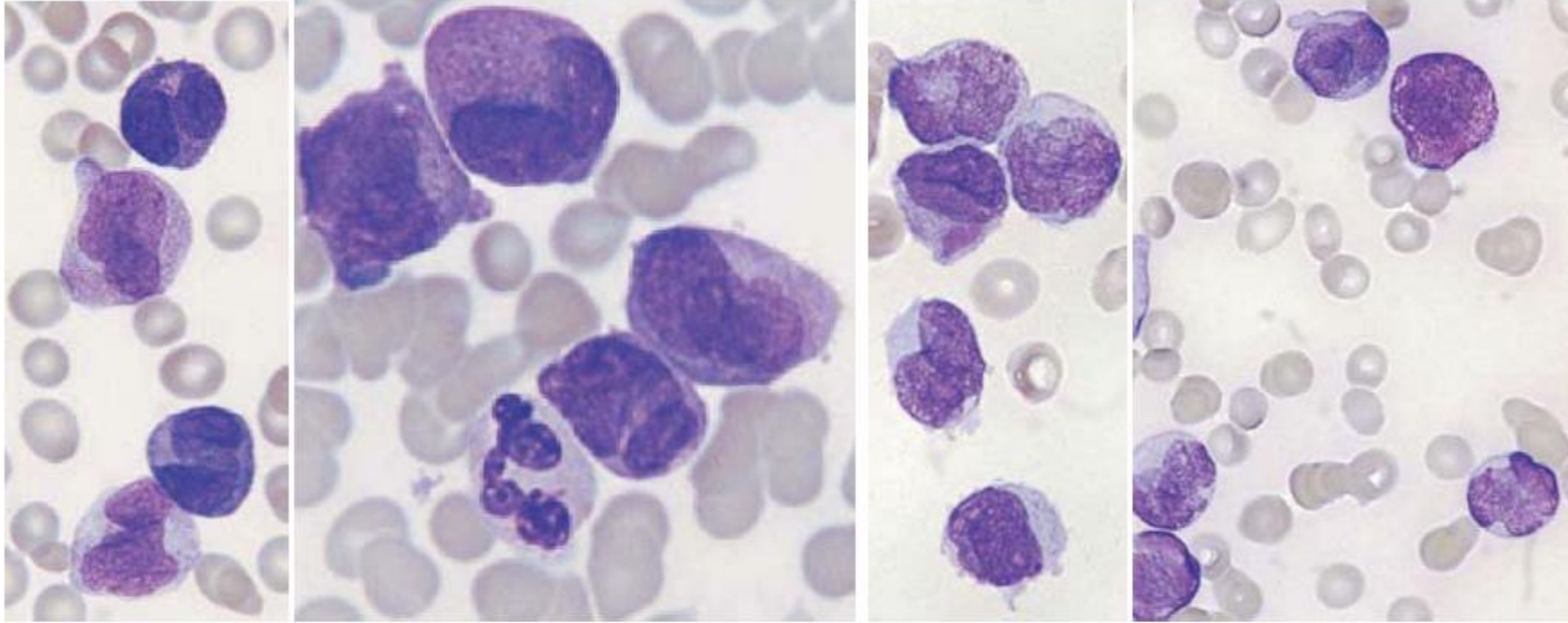




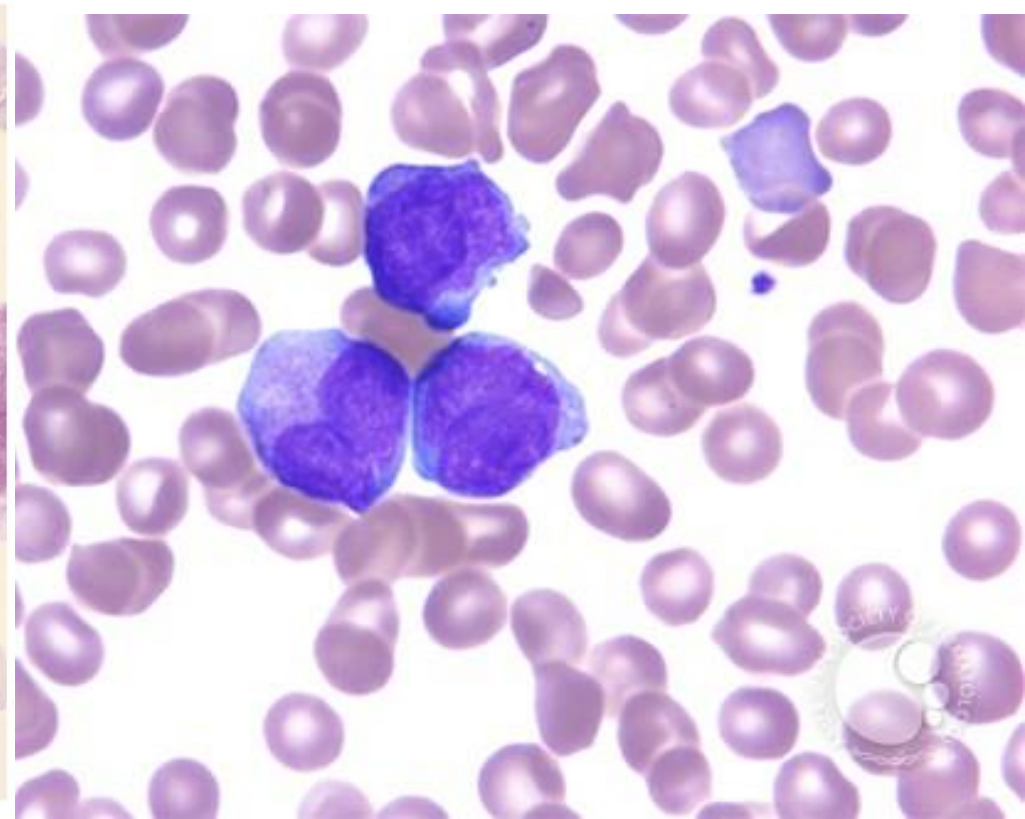
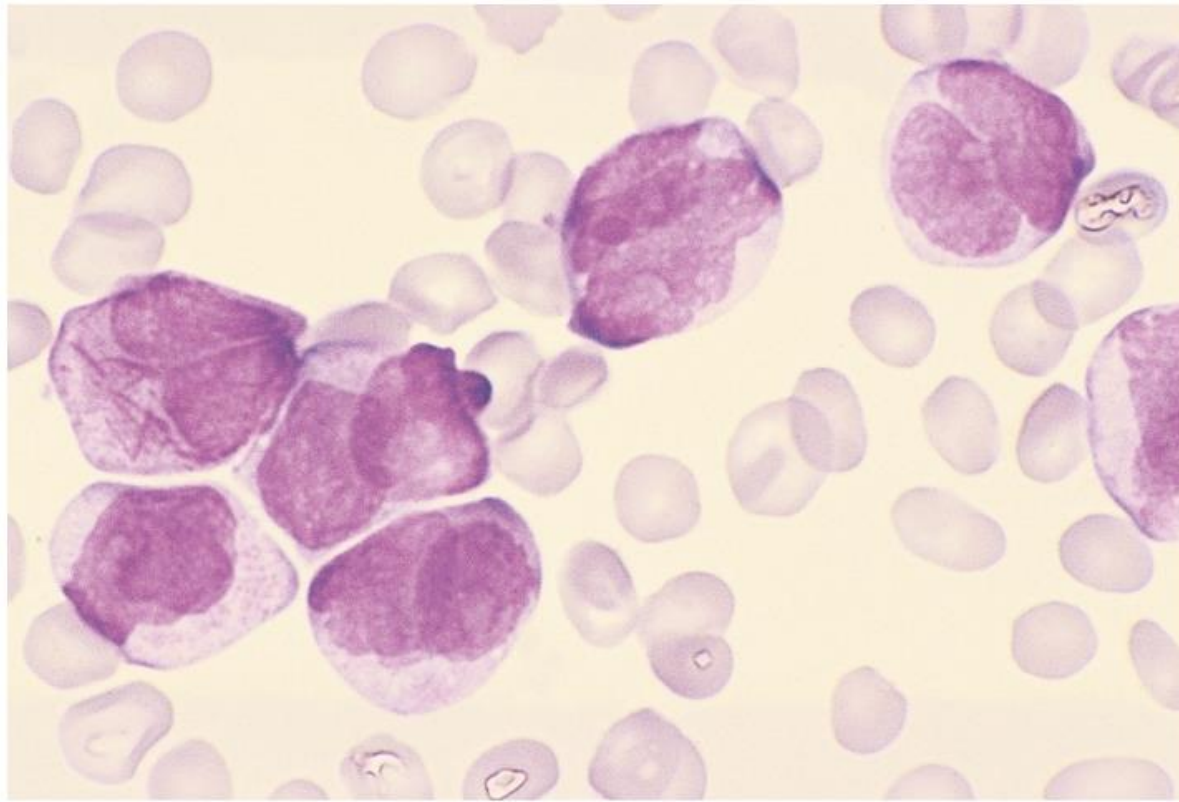
شکل ۳۳-۶۹: پرومیلوسیت‌های دولوبه با هسته دمبلی یا کلیوی شکل که برخی دارای شرایط هیپرگرانوله (راست)، برخی دارای گرانول‌های غول‌آسا (وسط) و برخی دارای شرایط هیپولوبوله (چپ) می‌باشند. در بسیاری از این نوع سلول‌ها، زواید سیتوپلاسمی کوچکی نیز دیده می‌شوند.



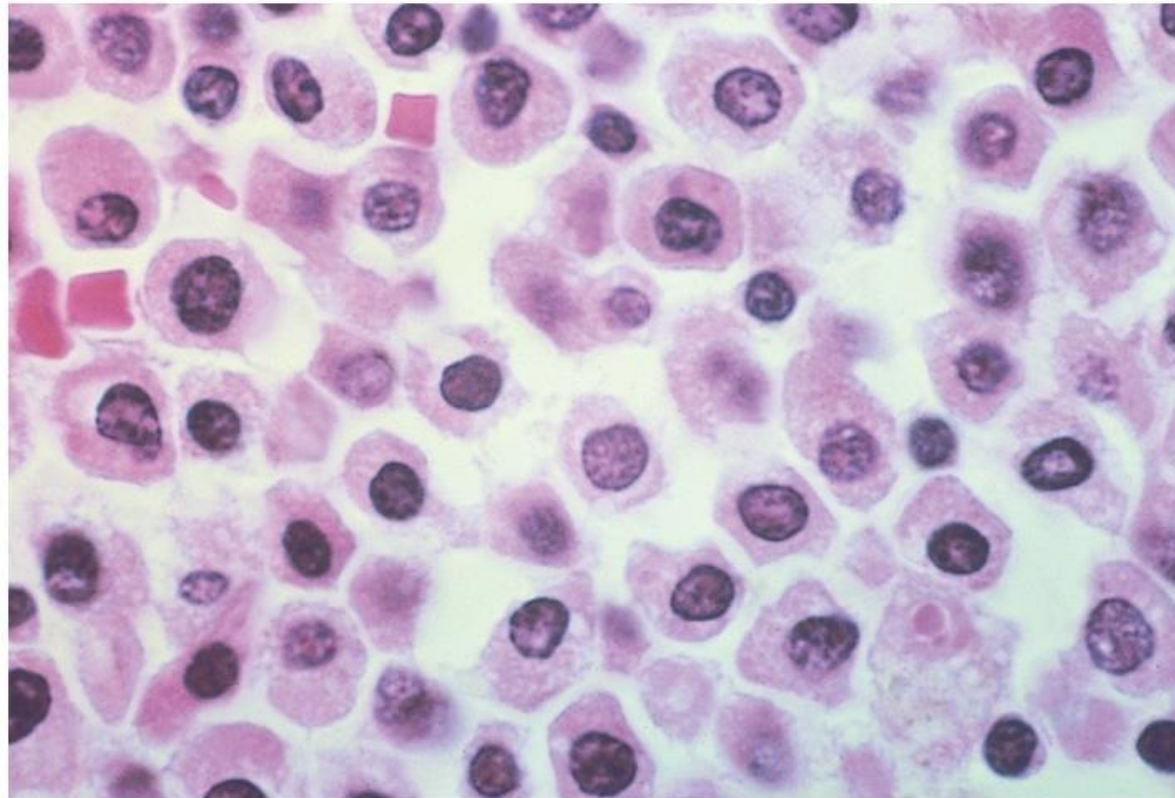
شکل ۳۵-۶۹: (۱) لام خون محیطی و (۲) لام سلول‌های لوسیک کشت داده شده مشتق از بیمار مبتلا به M3V-AML که طی کشت سلولی، دچار اکتساب گرانول شده است. (۳) این تصویر واکنش مثبت قوی SBB را در پرومیلوسیت‌ها نشان می‌دهد.



شکل ۳۴-۶۹: (۱) لام خون محیطی یک بیمار M3V-AML که سلول‌های آگرانولار دو هسته‌ای غالب و نیز یک سلول هیپرگرانولار تیپیک را نشان می‌دهد. (۲) این تصویر سلول‌های آگرانولار دو هسته‌ای و یک سلول حاوی انکلوژیون بزرگ آزروفیلیک را نشان می‌دهد. خصوصیات رنگ آمیزی گرانول‌های M3 همچون خصوصیات گرانول‌های اولیه (آزور) است. پرومیلوسیت‌های تیپیک هیپرگرانولار، اقلیت اندکی از سلول‌های لوسمیک را در خون محیطی تشکیل می‌دهند ولی با این وجود در مغزاستخوان با وفور بیشتری نسبت به خون محیطی دیده می‌شوند. شمارش لکوسیتی معمولاً بالاتر از M3C هستند. (۳و۴) در این تصاویر نیز پرومیلوسیت‌های کوچک، هیپوگرانول و دولوبه عمده سلول‌های بیمار را تشکیل می‌دهند.



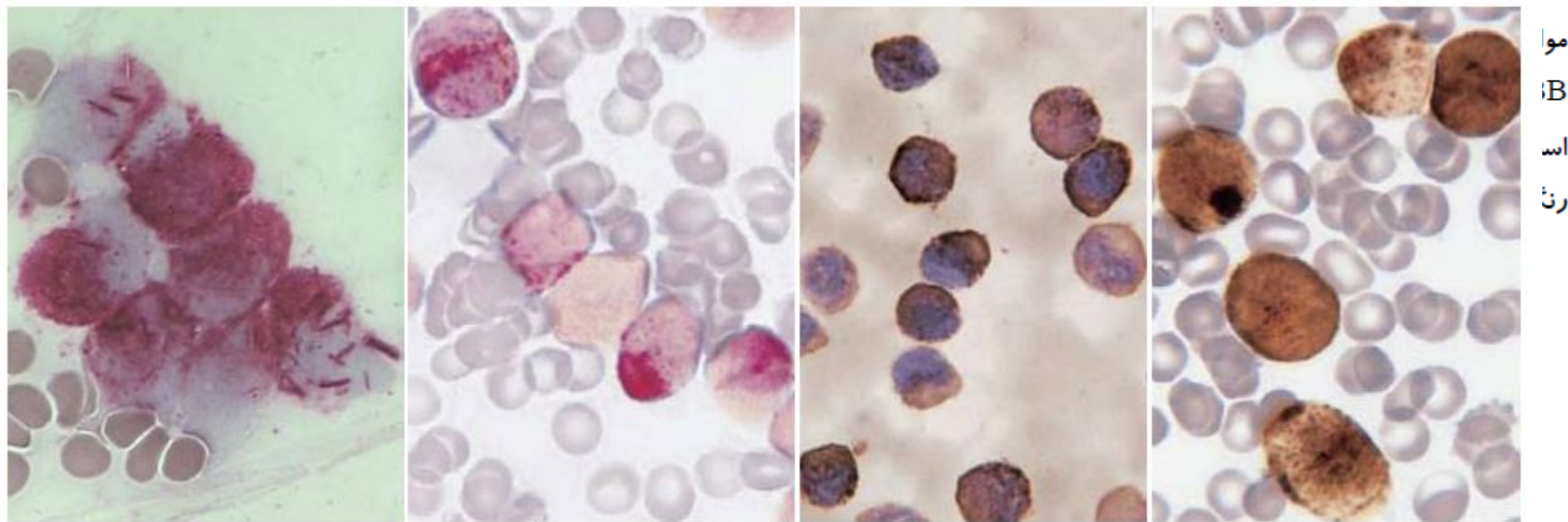
Acute promyelocytic leukemia (FAB M3), bone marrow clot. The marrow is replaced by a diffuse infiltrate of blasts with abundant, heavily granulated cytoplasm.



Copyright © 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

واکنش‌های سیتوشیمیایی در M3C و M3V:

پرومیلوسیت‌های هیپرگرانولار معمولاً با MPO، SBB و CAE شدیداً مثبت بوده و واکنش PAS نیز معمولاً یک قرمزی سیتوپلاسمی^۱ به صورت منتشره یا غبارمانند نشان می‌دهد که معمولاً قوی‌تر از واکنش مربوطه در M1 و M2 می‌باشد. معمولاً اریتروبلاست‌های PAS مثبت، دیده نمی‌شوند. واکنش با اسید فسفاتاز شدیداً مثبت است. البته معمولاً در M3V نیز واکنش‌های سیتوشیمیایی مشابهی مشاهده می‌شوند ولی گاهی اوقات ضعیف‌تر از M3C هستند. یک واکنش سیتوشیمیایی بسیار گمراه کننده در هر دوی M3V و M3C، فعالیت مثبت کاذب NSE است که یک شاخص مونوسیتی محسوب می‌شود. ANAE، ANBE و NASDA ممکن است واکنش مثبت نشان بدهند که همانند رده مونوسیتی، واکنش نسبت به فلوراید حساس^۱ می‌باشد، البته این واکنش نسبت به واکنش مونوسیت‌ها ضعیف‌تر بوده و ایزوآنزیم‌های مشخصه رده مونوسیتی نیز وجود ندارند (NSE در ۳۰-۵۰٪ موارد مثبت بوده و تقریباً در ۵۰-۳۰٪ موارد نیز نسبت به فلوراید حساس می‌باشد). برخی از سلول‌ها در مقابل NSE و CAE رنگ دوگانه‌ای را به خود می‌گیرند (واکنش دابل استراز یا استراز ترکیبی). مواردی که با ANAE واکنش مثبت می‌دهند، تمایل به واکنش ضعیف‌تری با CAE دارند و در این موارد، واکنش با MPO نیز به طور غیرمنتظره‌ای ضعیف می‌شود. تعداد اندکی از مواردی که نسبت به NSE مثبت هستند، از لحاظ مورفولوژیکی، یافته‌های هماتولوژیکی یا سیتوژنتیکی و همچنین از لحاظ پیش‌آگهی، تفاوتی را با سایر موارد نشان نمی‌دهند.



واکنش
B
اس
رنگ

شکل ۳۶-۶۹: واکنش سیتوشیمیایی در بیمار M3V-AML: سلول‌ها در مغزاستخوان، علی‌رغم هیپرگرانولار بودن، قویاً نسبت به 1 MPO، 2 SBB، 3 و 4 CAE مثبت هستند.

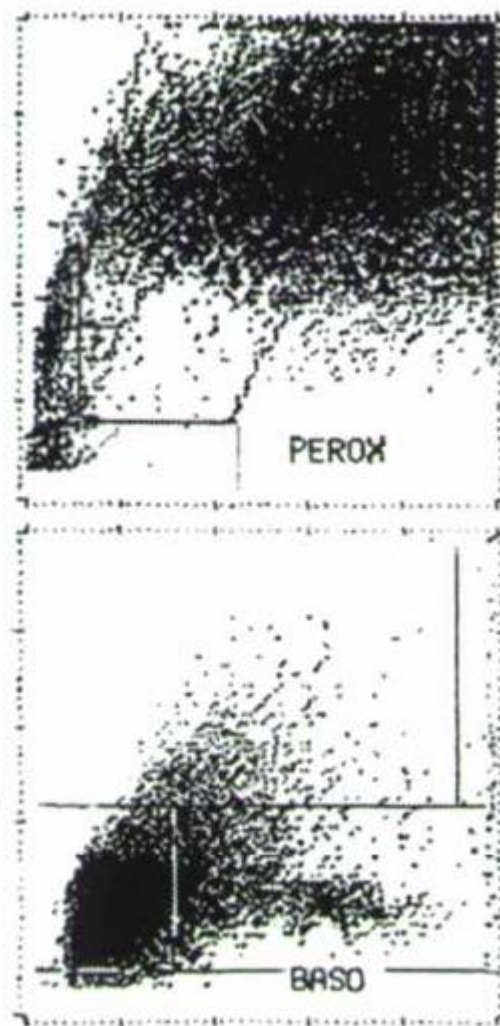
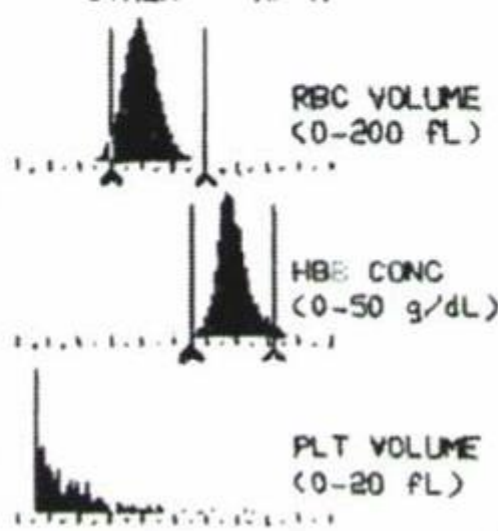
SEQ# 0000902
TIME 16:15 11/05/89
SYS# 001

ID

CBC			
H	---	$\times 10^9/L$	WBC
L	2.97	$\times 10^{12}/L$	RBC
L	8.0*	g/dL	HGB
L	.239		HCT
L	80.7	fL	MCV
L	26.9	pg	MCH
	33.3	g/dL	MCHC
H	16.4	%	RDW
	2.79	g/dL	HDW
L	27*	$\times 10^9/L$	PLT
L	3.9*	fL	MPV
H	81.3*	%	PDW
L	.02*	%	PCT
RBC FLAGS		1300	

%	DIFF	$\times 10^9/L$
92.3*	NEUT H	---
.0*	LYMP L	.00*
4.1*	MONO H	4.72*
1.6*	EOS H	1.06*
2.0*	BASO H	2.31*
.0*	LUC	.00*
LI	L	1.33*
MPXI		.0*
WBC FLAGS		4200

MORPHOLOGY FLAGS		
PARAMETER	SUSP	VERIFY
ANISO	+	
MICRO	+	
MACRO		
VAR		
HYPO		
HYPER		
L SHIFT	++	
ATYP		
BLASTS	+	
OTHER		
OTHER	NF H	

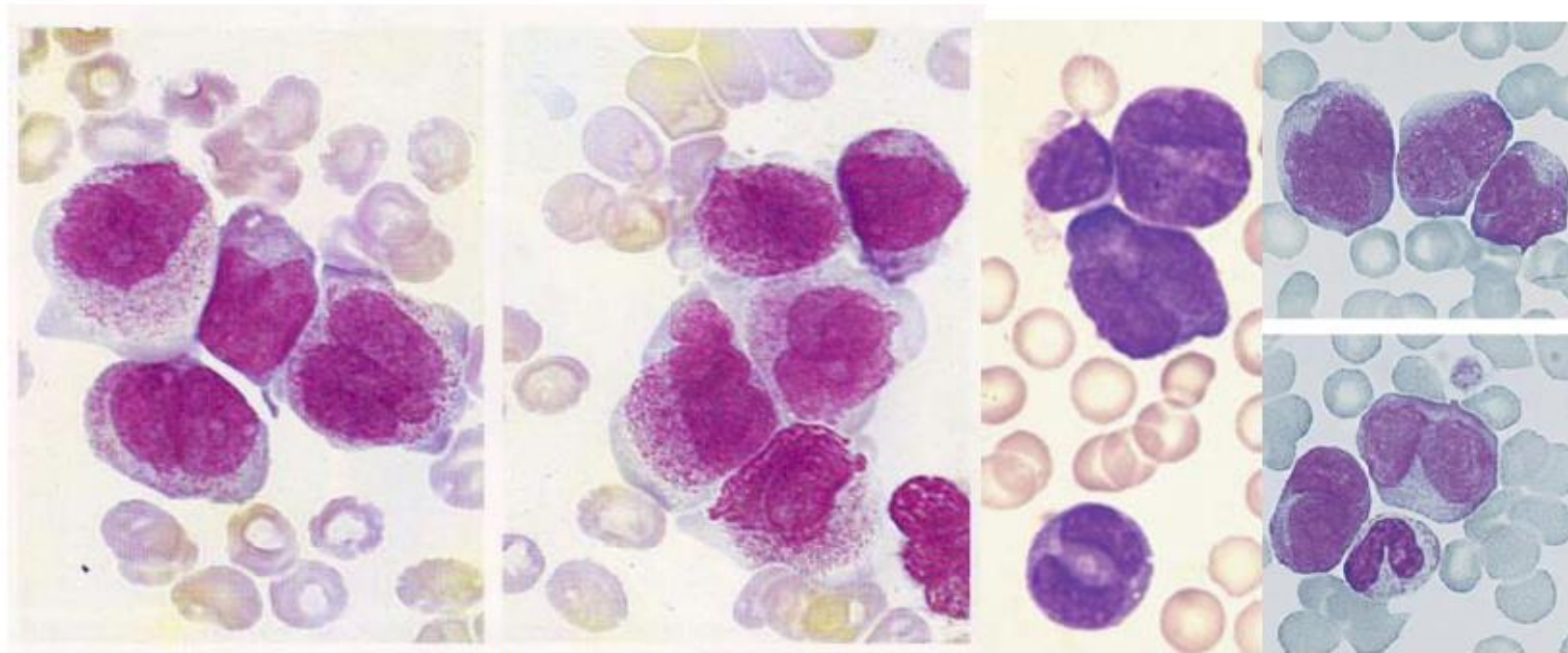


شکل ۳۷-۶۹: نتایج CBC بیمار مبتلا به M3 توسط سل کانتر تکنیکون H2 در M3V. پرومیلوسیت‌های غیرنرمال به میزان شدید و قوی پراکسیداز مثبت بوده و یک کلاستر ۳ گوش و مثلثی شکلی را در قسمت بالا و راست نمودار به وجود می‌آورد. یک بازوفیلی کاذب، کاهش LI و MPXI، آنمی و ترومبوسیتوپنی نیز در آن مشخص است. در M3 نیز حالت مشابهی با M3V دیده می‌شود.

	Classical APL	Microgranular APL
CD13 Heterogeneous	34/34 (100)	16/16 (100)
One major blast cell population	32/34 (94)	16/16 (100)
Typical CD15/CD34 pattern	30/33 (91)	15/16 (94)
Negativity for HLA-DR	33/34 (97)	15/16 (94)
CD33 homogeneous	26/34 (76)	16/16 (100)

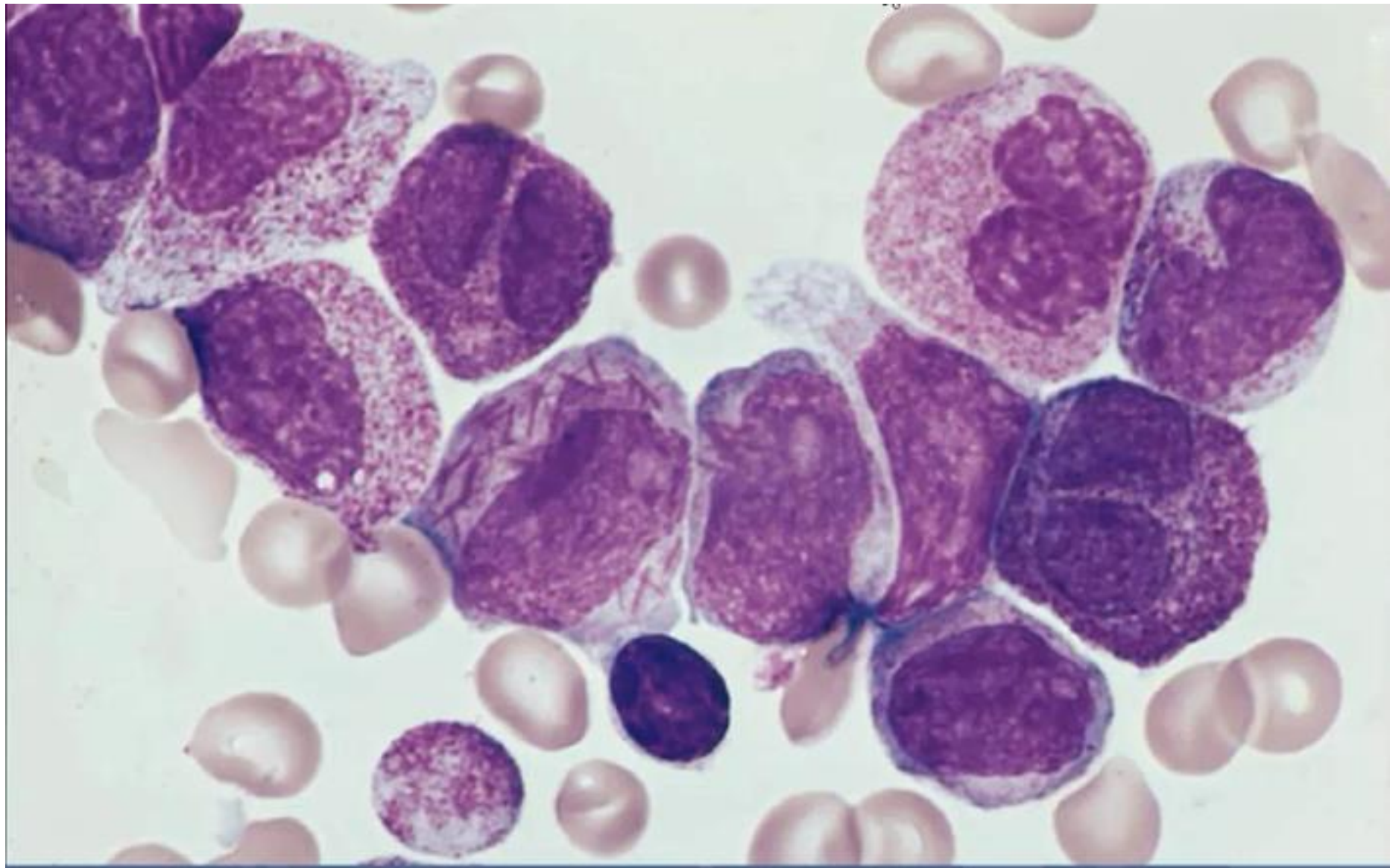
*Values in parentheses represent percentages.

^aN/A, not applicable.



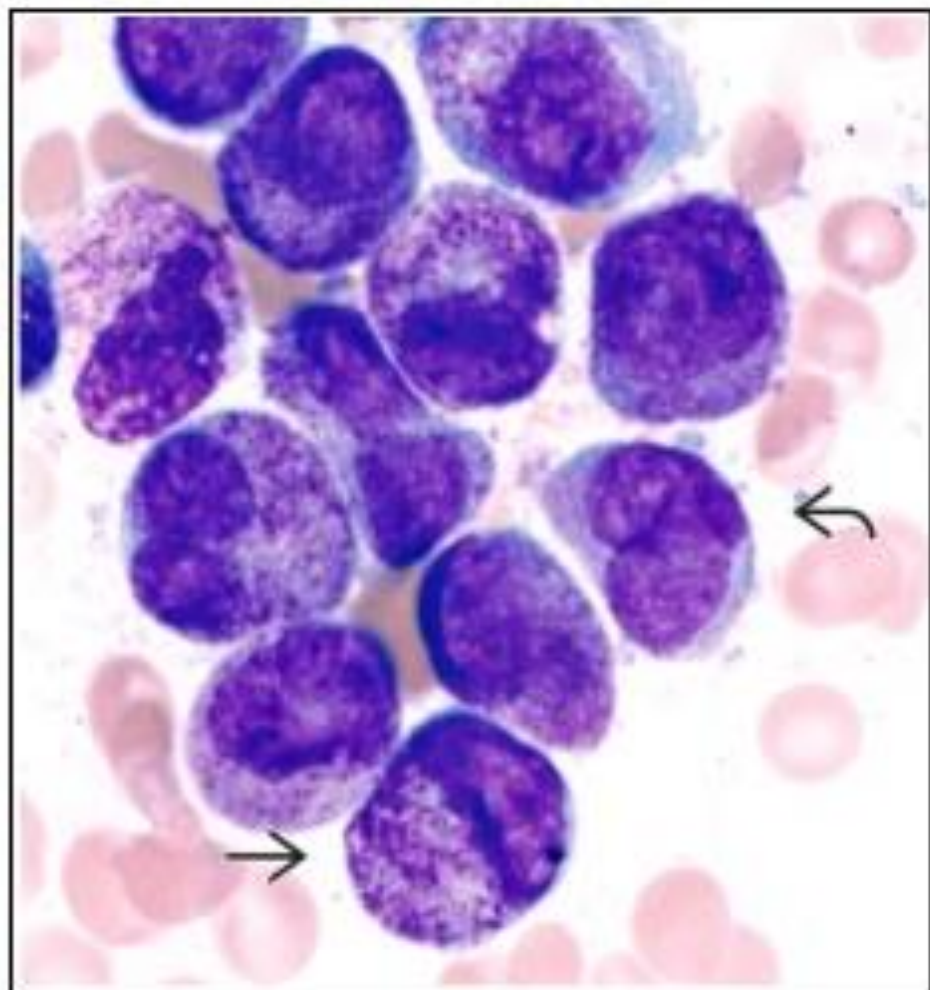
شکل ۳۸-۶۹: خصوصیات مورفولوژیک M3V و تفاوت آن با واریانت M3-like فوق

^aN/A, not applicable.



3. Abnormal promyelocytes:

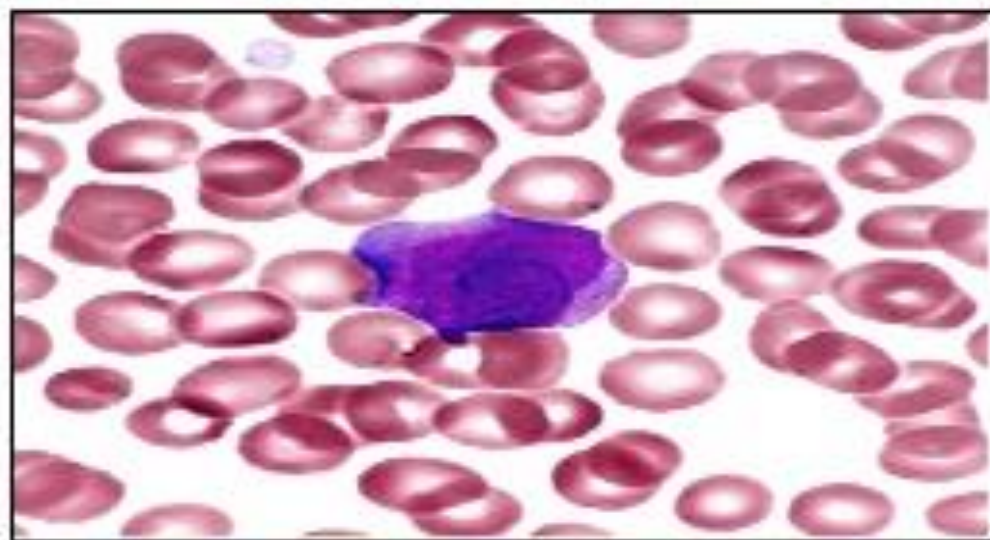
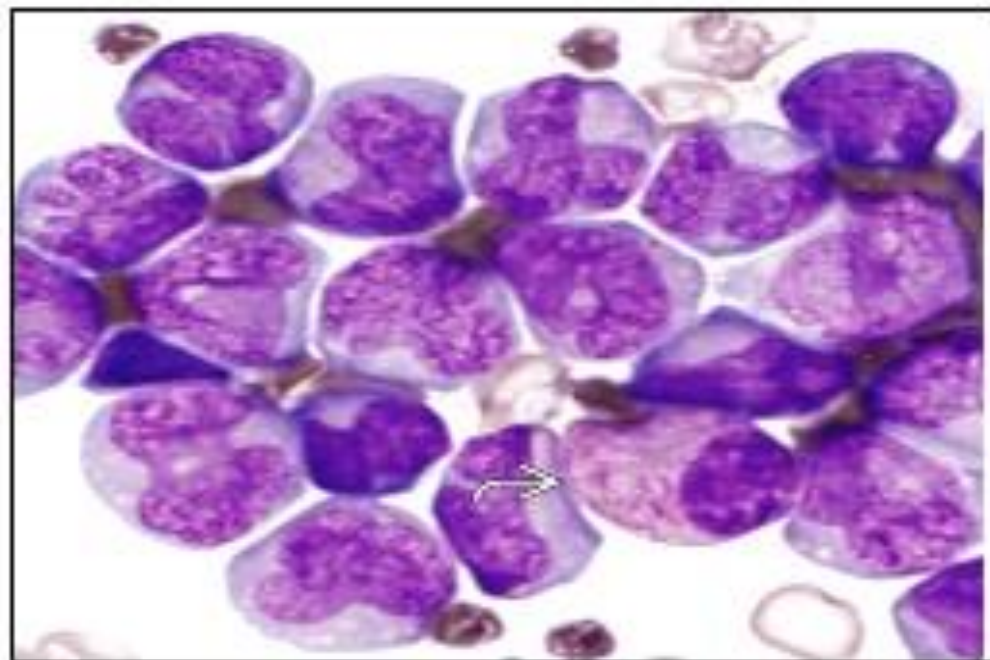
- Blast equivalent in acute promyelocytic leukemia.
- Has 2 variants:
 - a). Typical (Hypergranular) variant:
 - Abnormal promyelocytes with irregular and often bilobed nuclei.
 - Numerous large intracytoplasmic granules and granules covering nuclei.
 - Abnormal cells with numerous Auer rods (faggot cells) can be identified in majority of cases.



Hypergranular APL

b). Microgranular (Hypogranular) variant:

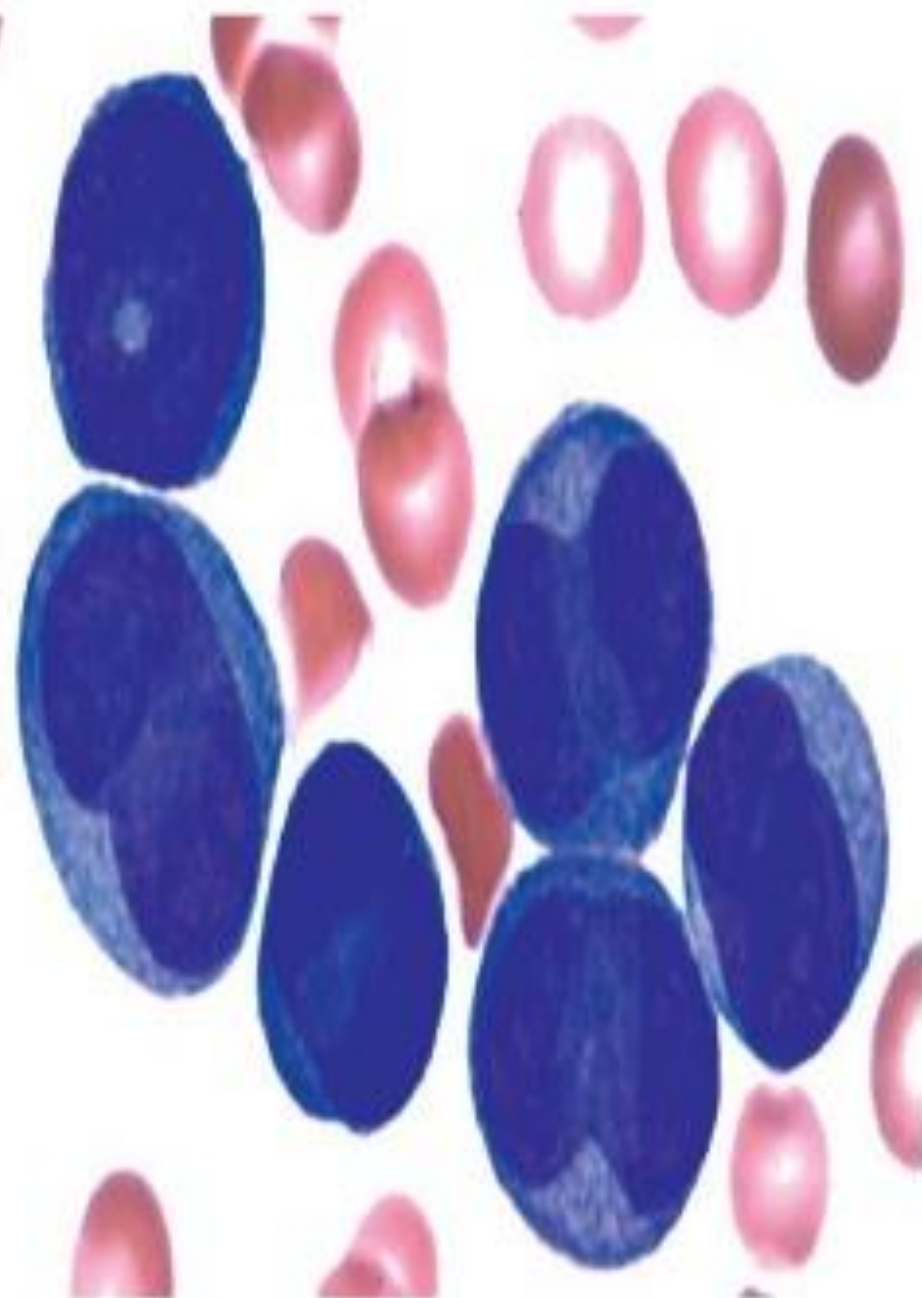
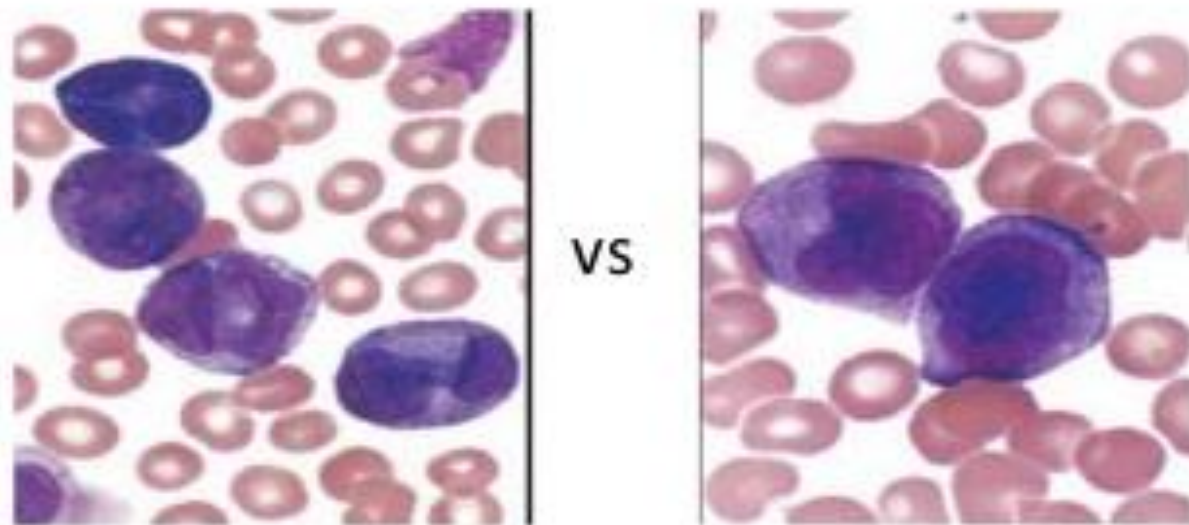
- Absent or scant cytoplasmic granules by light microscopy.
- Presence of abundant submicroscopic granules highlighted by strong myeloperoxidase reactivity.
- Frequent bilobed nuclei (sliding plates).
- Rare faggot cells present in most cases.



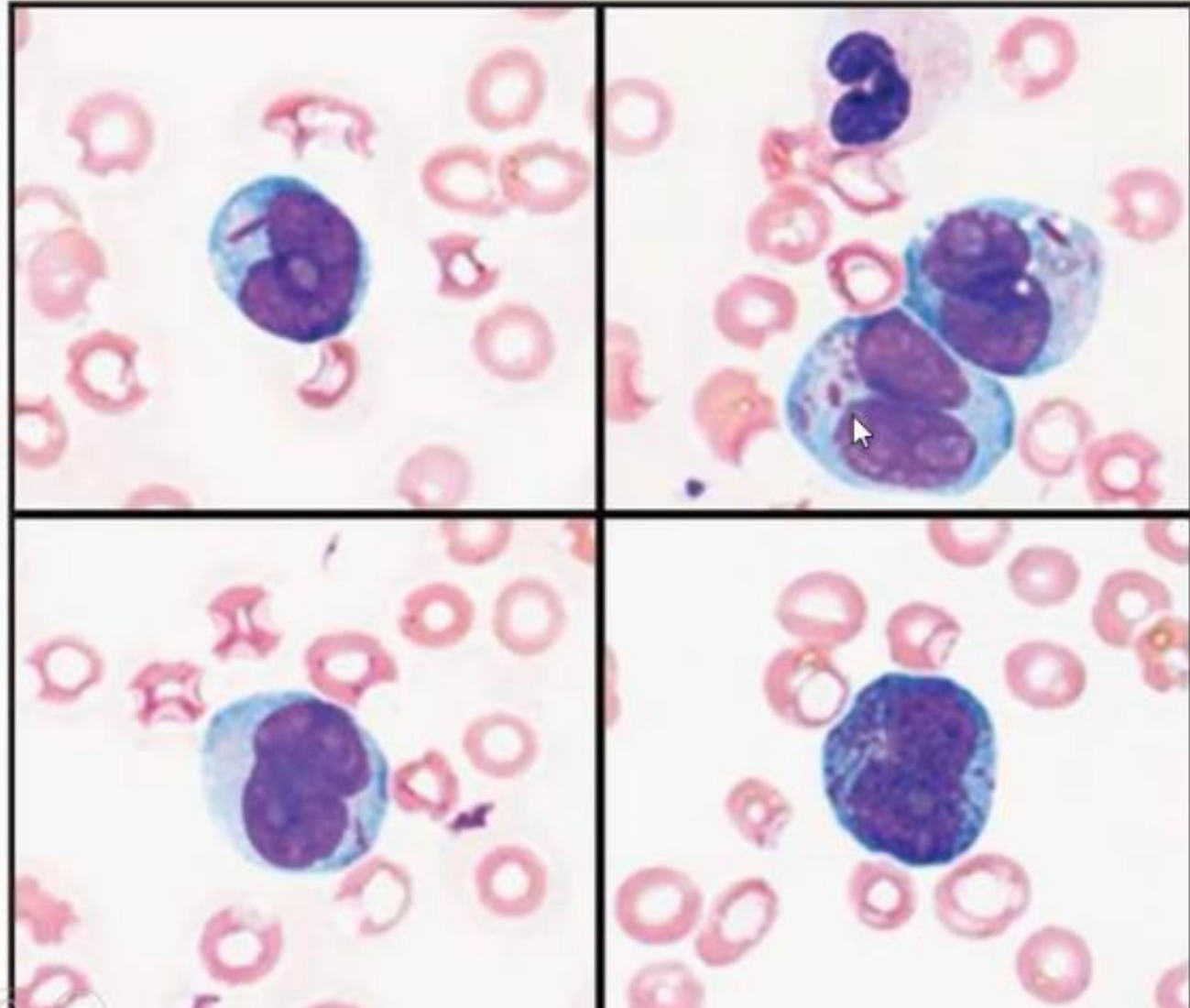
Microgranular APL

Hypogranular (Microgranular) APL:

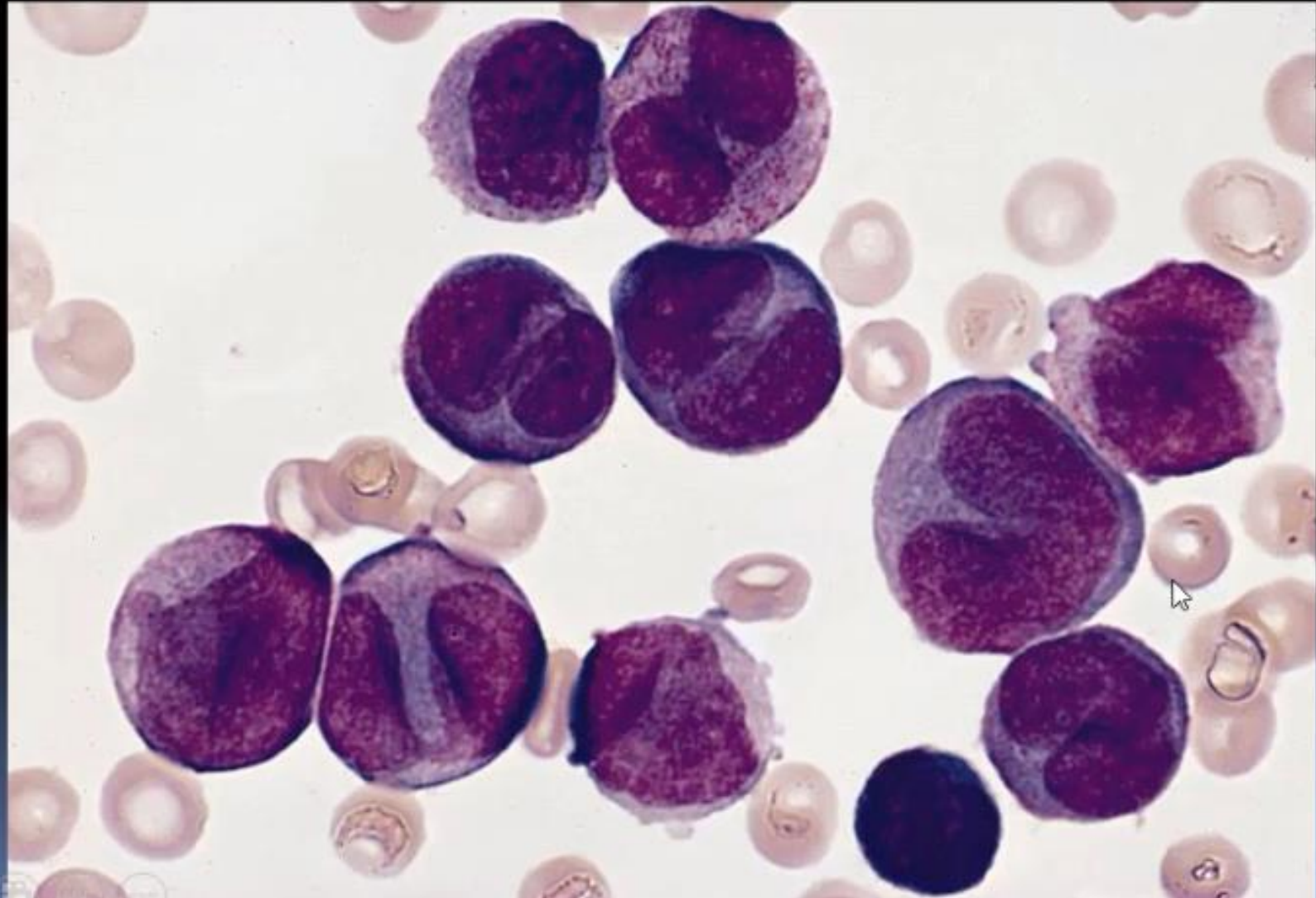
- Frequent high white blood cell count.
- Blasts with frequent bilobed nuclei and absent cytoplasmic granules.
- Morphologic overlap with acute monocytic leukemia.
- Rare faggot cells detected in most cases with extensive search.



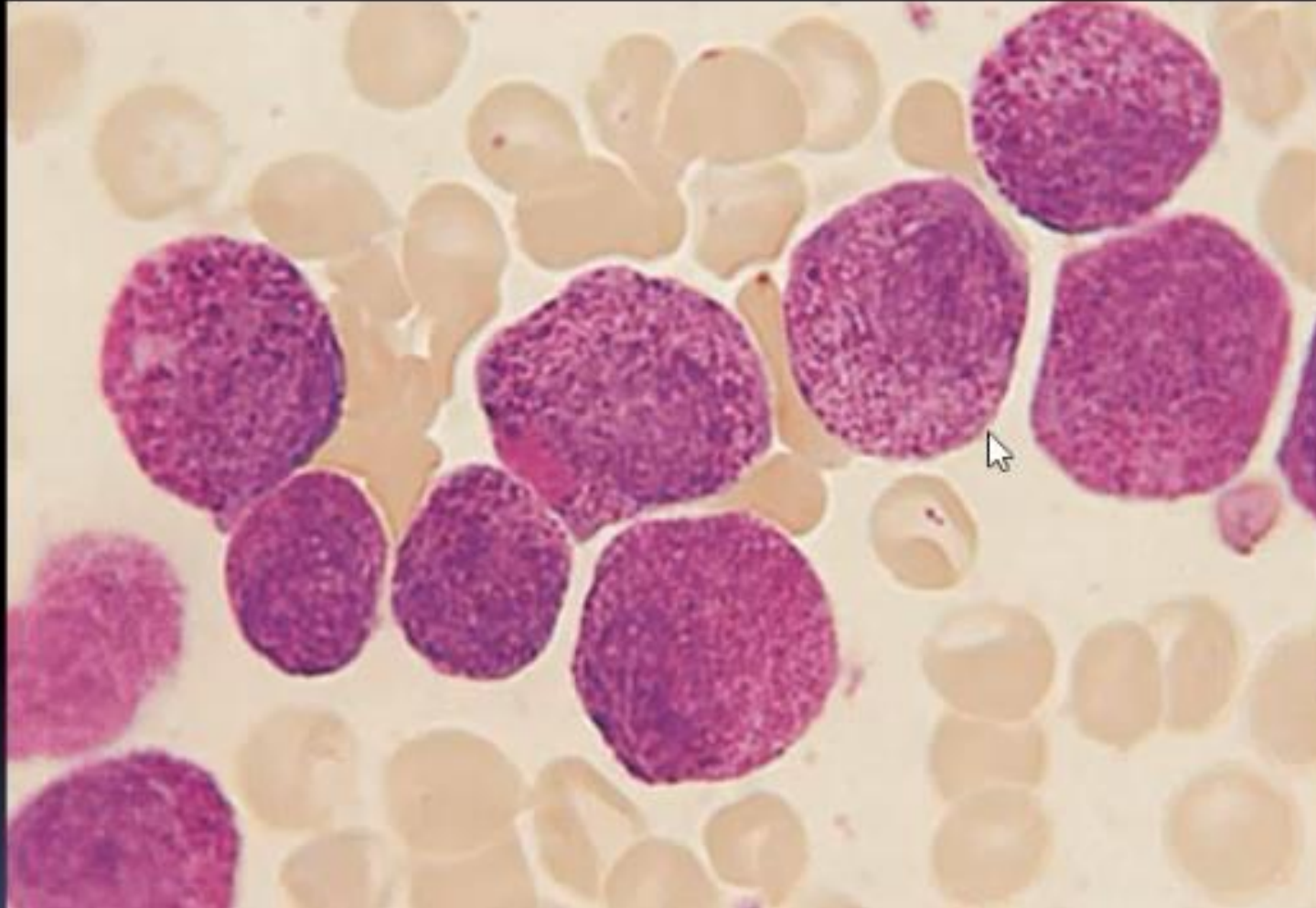
Promyelocytic leukemia



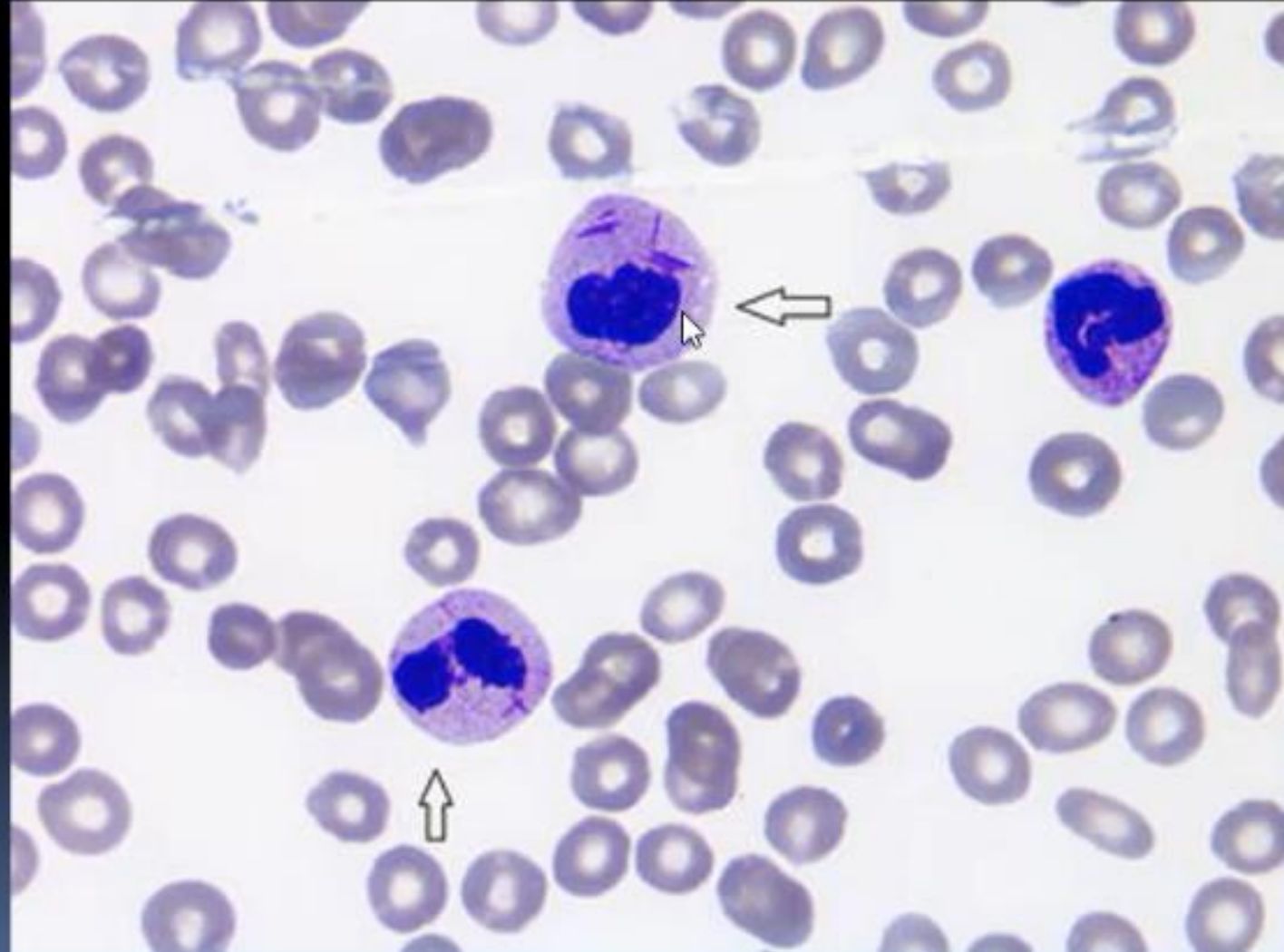
Microgranular promyelocytic leukemia



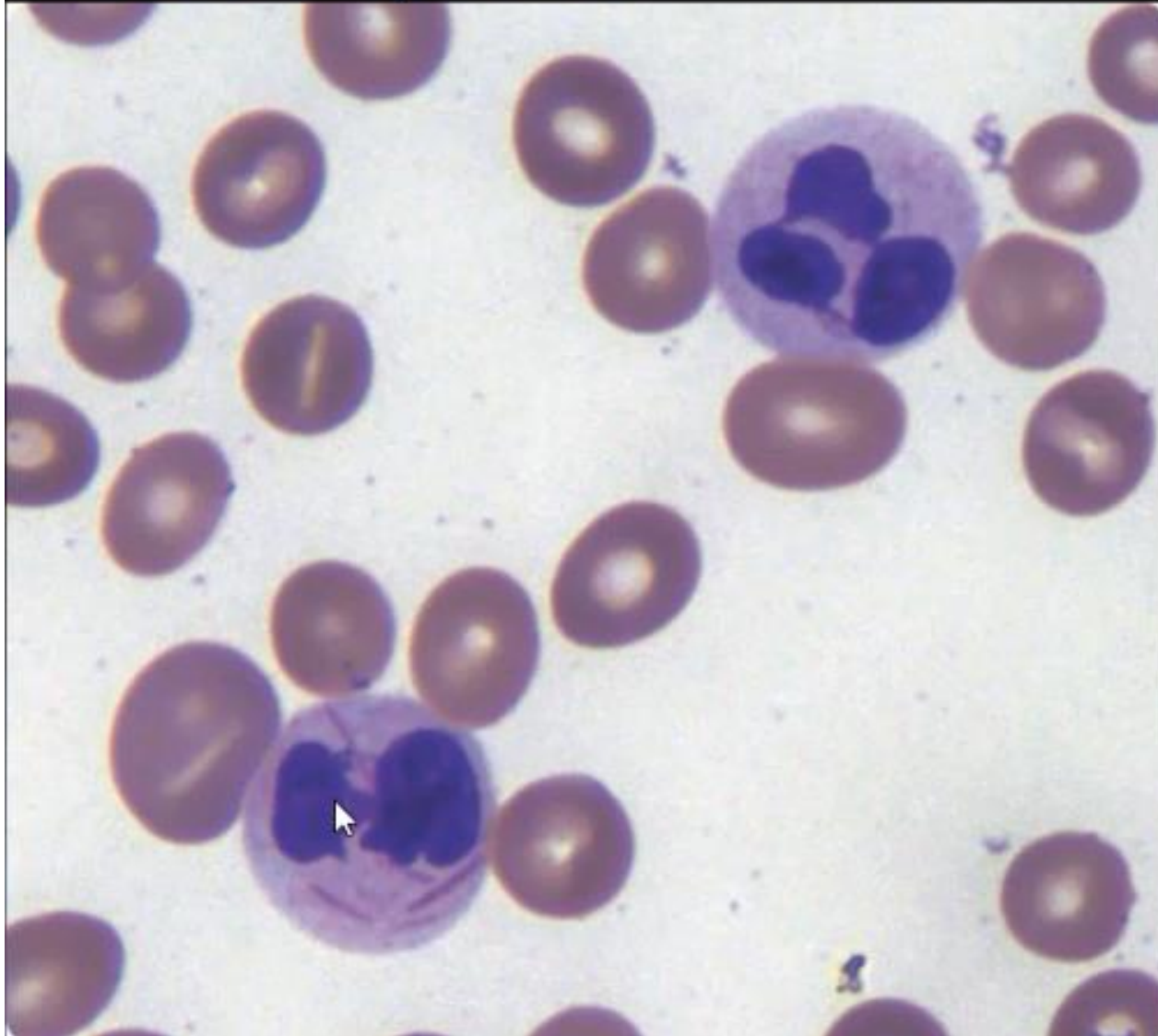
Hypergranulocytic PML AML M3



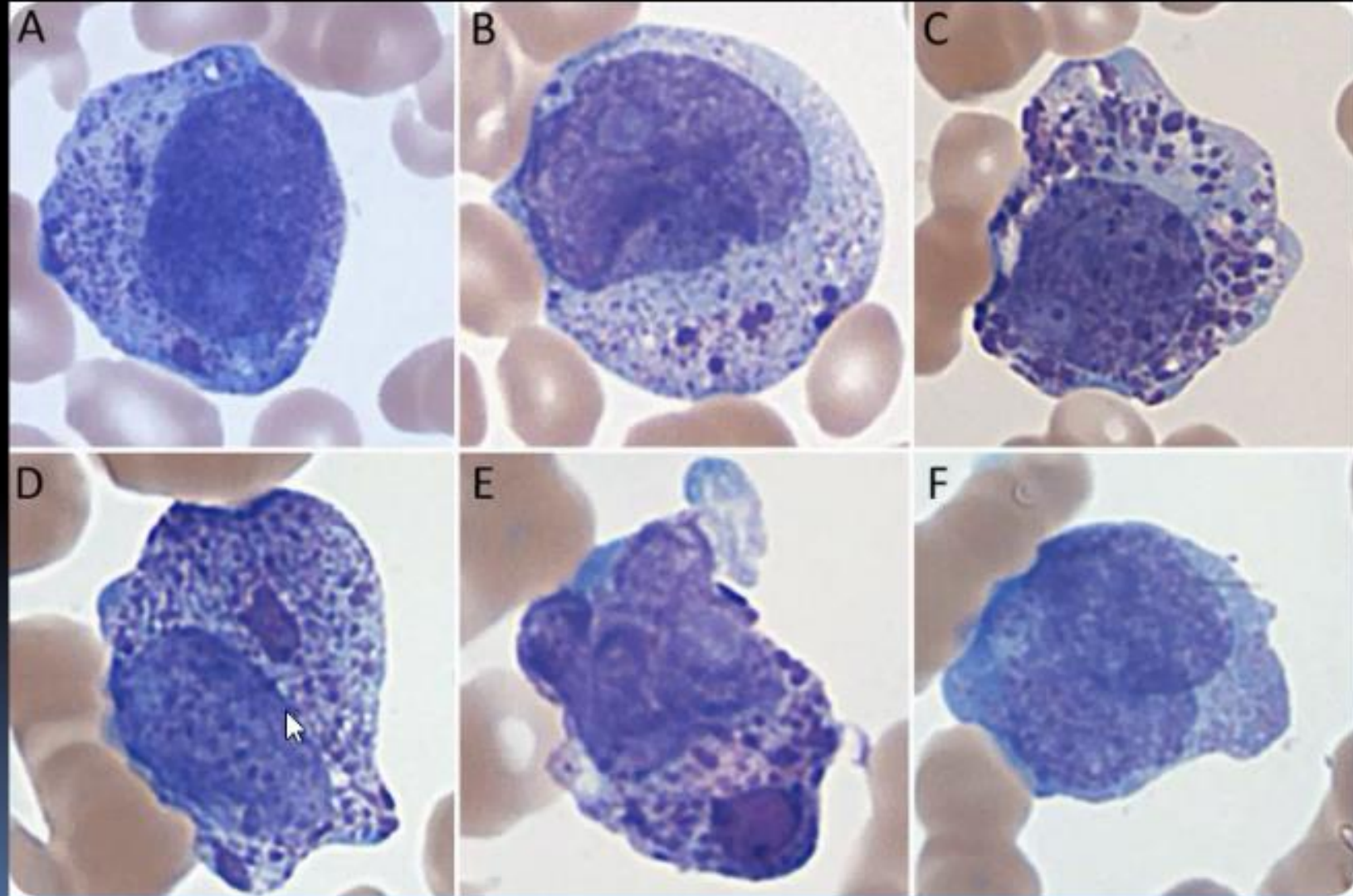
AML m3 Following atra treatment



Auer rods in mature neutrophils



Promyelocytic leukemia with pseudochediak

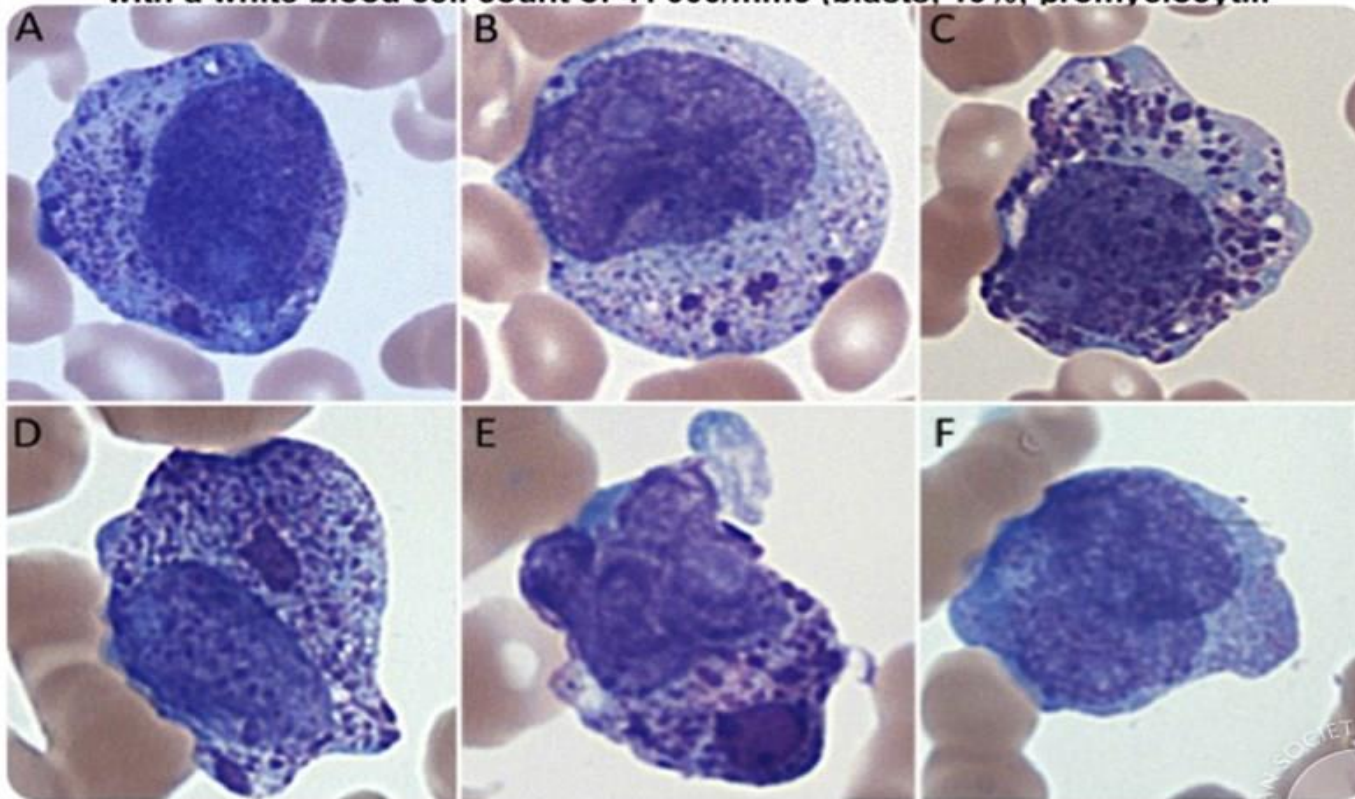


Chediak-Higashi-like granules

blood

JOURNAL OF
THE AMERICAN
SOCIETY OF
HEMATOLOGY

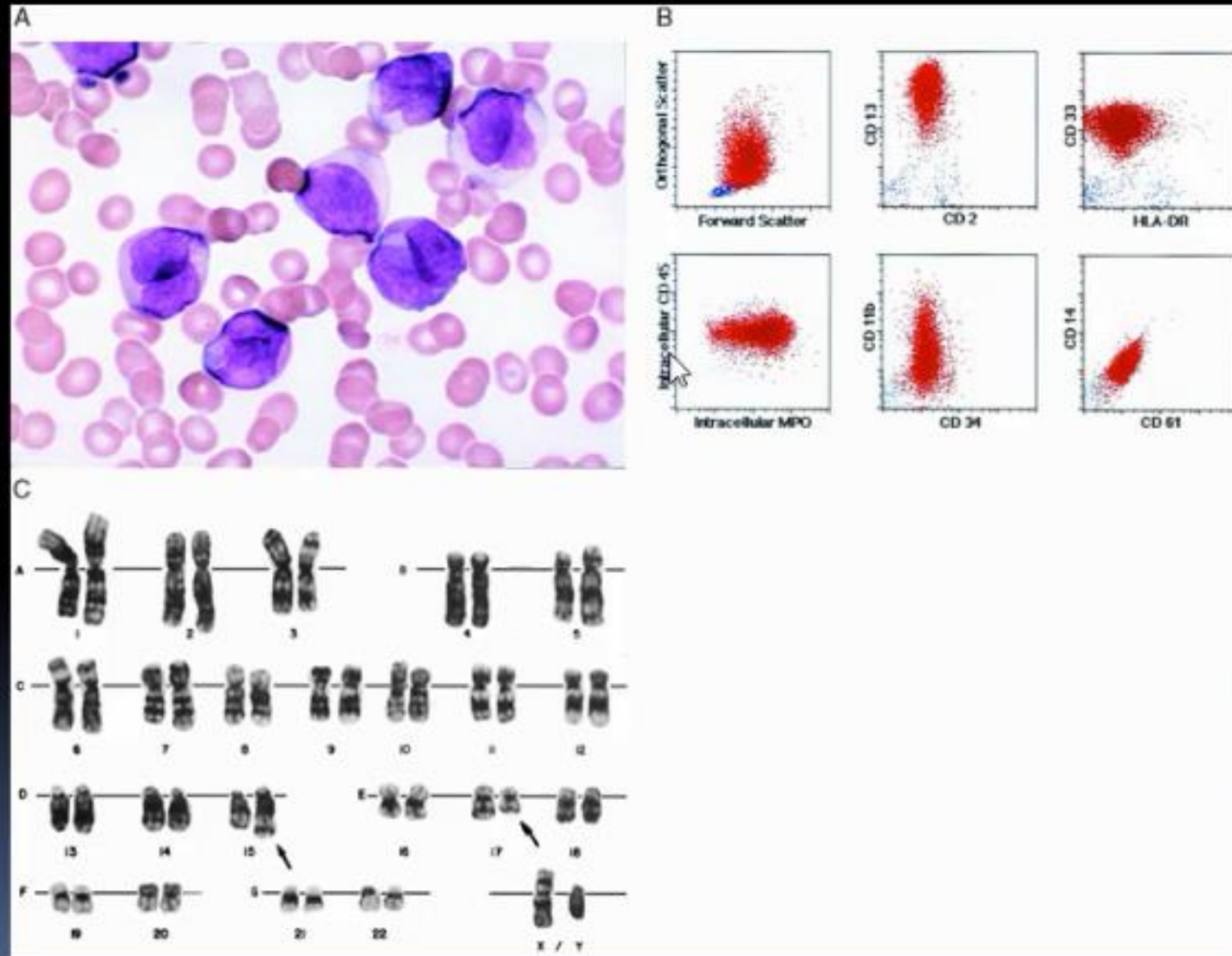
59-year-old woman with disseminated intravascular coagulation was transferred after a dose growth factor for "leukopenia." Laboratory studies showed elevated d-dimer (201 934 ng/mL), with a white blood cell count of 41 000/mm³ (blasts, 19%; promyelocyt...



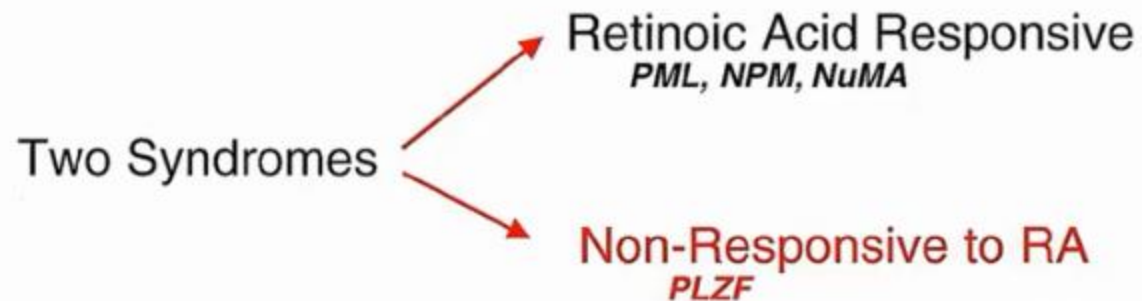
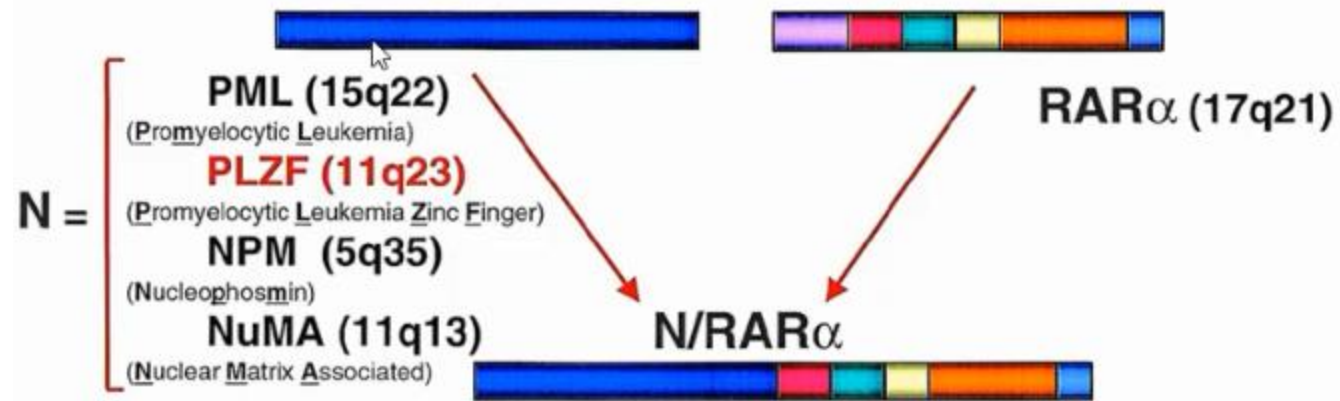
Sojitra P , and Venkataraman G Blood 2013;122:3250



Morphology, flowcytometry, cyto genetic of AML m3



Molecular Pathogenesis of APL

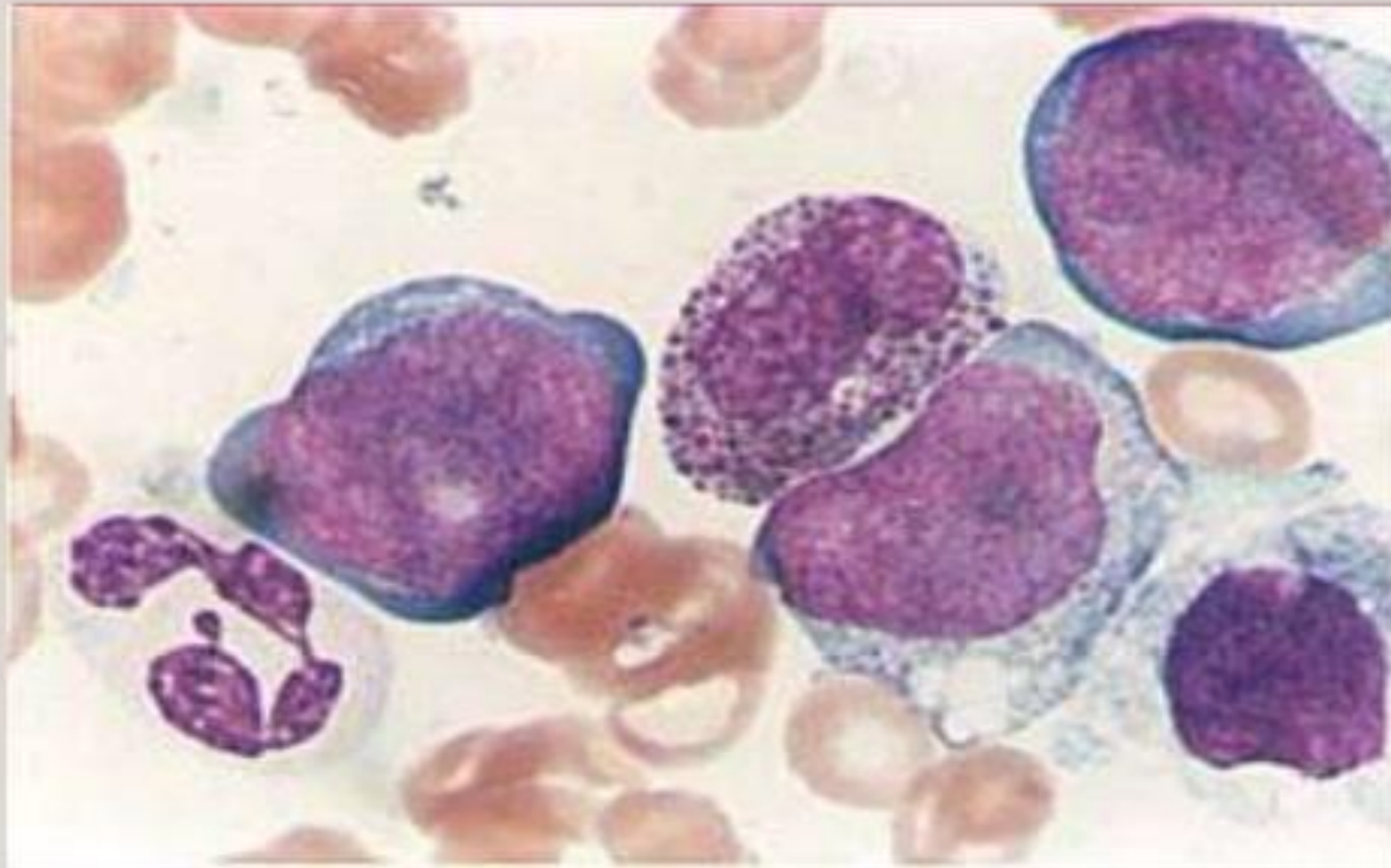


AML-M4 (MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA)

Tanveer Tara SUIT

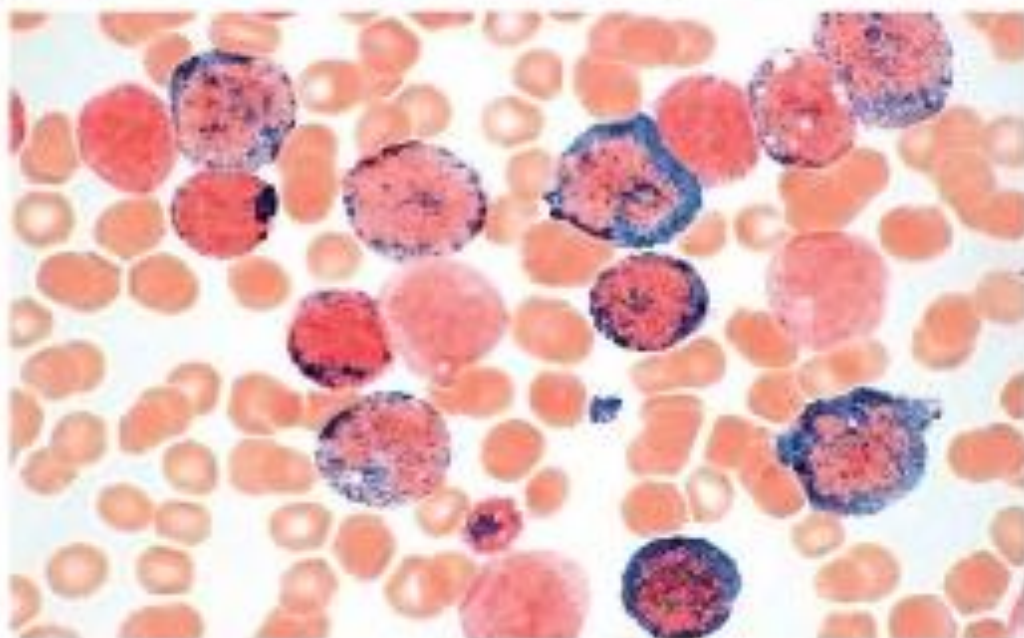
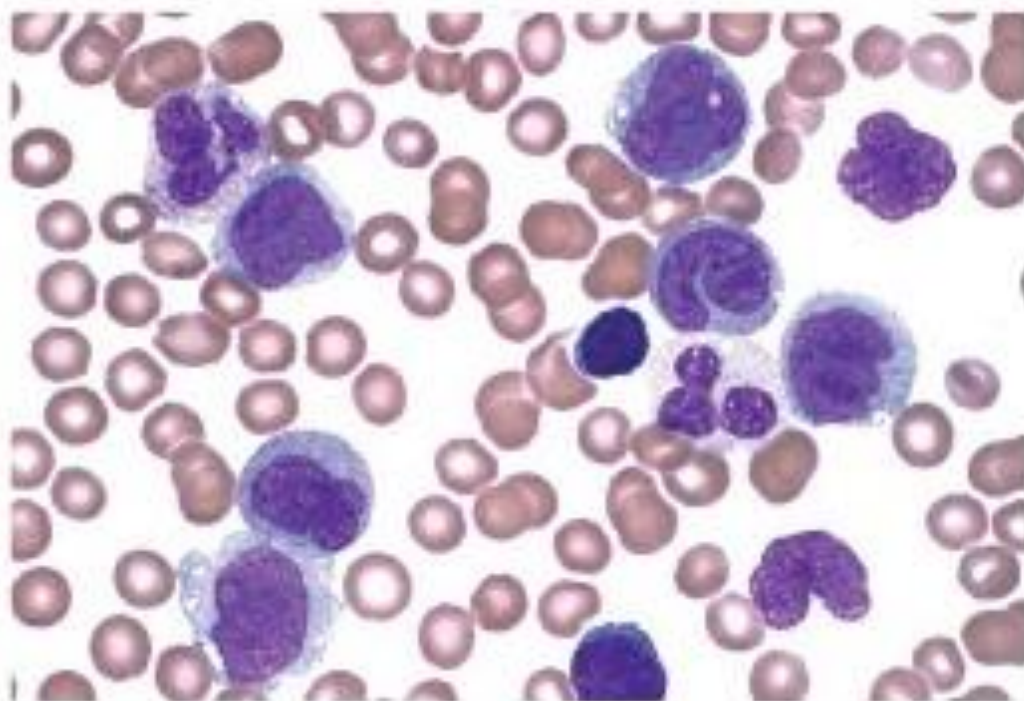
- Both myelocytic and monocytic cells are present in peripheral blood and bone marrow.
- Infiltration of leukemic cells in extramedullary sites is more common.
- Serum and urine level of neuramidase are usually elevated because of monocytic proliferation.
- Anemia
- Thrombocytopenia
- Cytochemical stains will demonstrate two cells population in bone marrow.

AML-M4



4. Acute Myelomonocytic Leukemia (AMML):

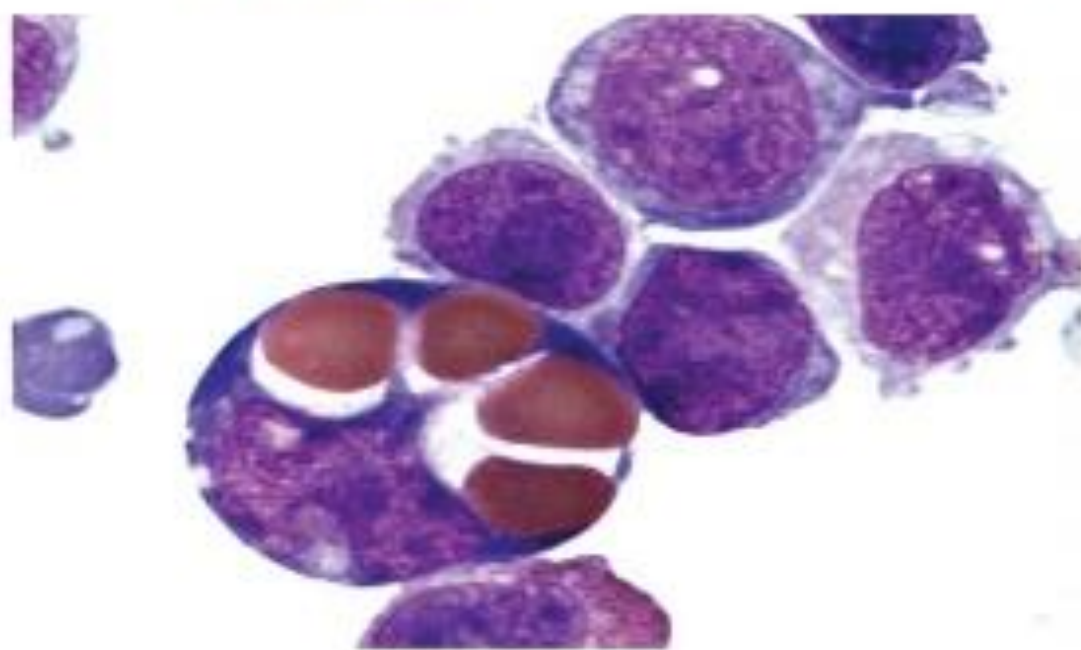
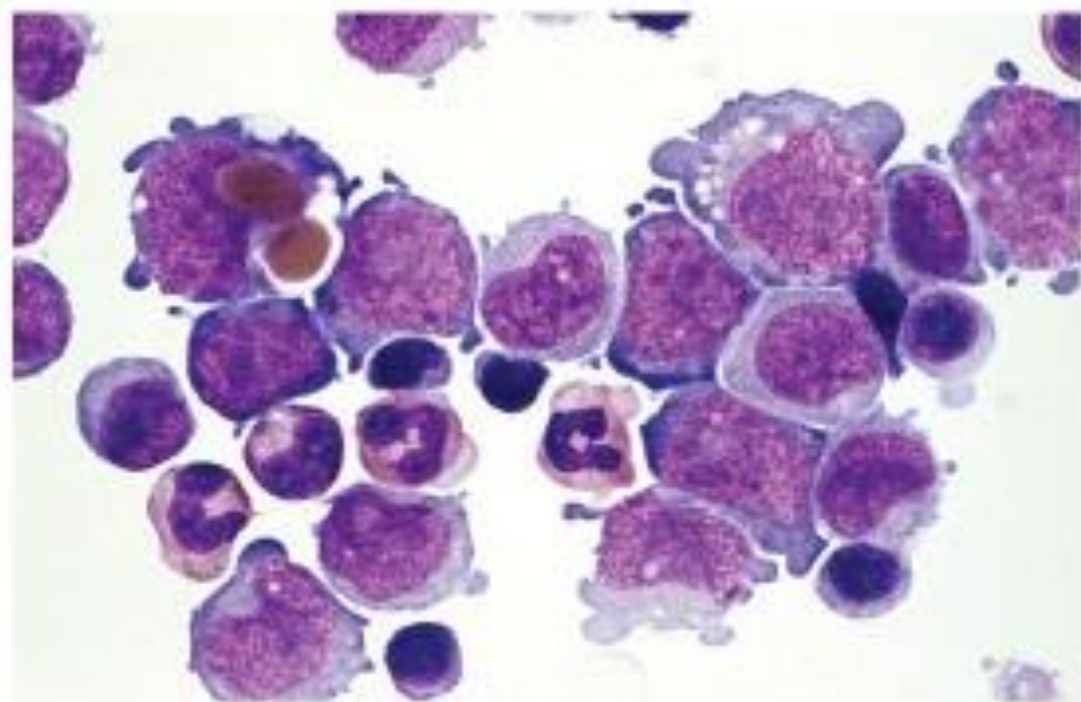
- FAB type: AML-M4.
- Blasts and blast equivalents (promonocytes) $\geq 20\%$ in blood or bone marrow.
- $\geq 20\%$ maturing granulocytic lineage cells.
- $\geq 20\%$ monocytic lineage cells.
- Blood picture may closely resemble CMML. Therefore, blast enumeration is very important.
- Cytochemical stains MPO+ and NSE+.
- Myelomonocytic lineage is confirmed by flow cytometry; aberrant features common.
- No recurrent cytogenetic abnormalities.
- Key differential diagnoses include: CMML, AMoL and AML with maturation, and microgranular APL.

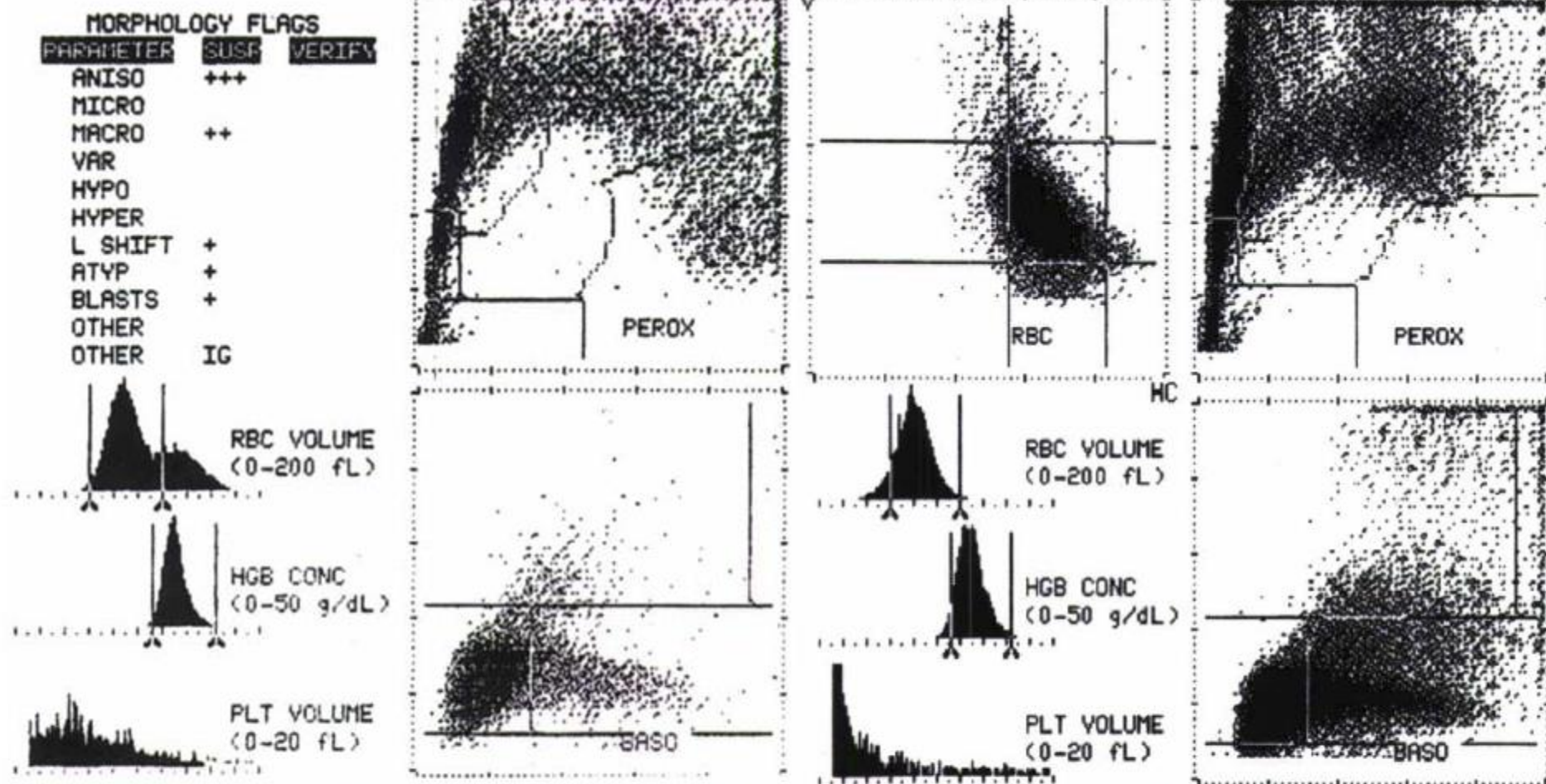


AMML with t(8;16)(p11;p13); MYST3-CREBBP:

A very rare subtype of AMML has distinctive genetic and morphologic features:

- Features of AMML.
- Cases of AML with t(8;16)(p11;p13) show prominent **erythrophagocytosis by blasts**, prominent cytoplasmic granulation, and frequent extramedullary disease.
- Cytochemical NSE and MPO positivity are present, supporting a granulocytic and monocytic lineage despite the more monocytoïd appearance of the blasts.
- The incidence of t(8;16) is low (0.2%-0.4% of de novo AML).
- These patients have a poor prognosis





شکل ۳۹-۶۹: سیتوگرام سمت راست) نتایج CBC بیمار مبتلا به M4 توسط سل کانتر تکنیکون H2 در M4 دو جمعیت از بلاست‌ها حضور دارند. مونوبلاست‌های پراکسیداز منفی که در LUC قرار می‌گیرند و میلو بلاست‌های پراکسیداز مثبت که ابر بزرگ و غیرنرمالی را در منطقه نوتروفیلی تشکیل می‌دهد. بازوفیلی کاذب و ترومبوسیتونی نیز دیده می‌شود. البته بلاست‌های موجود در LUC نسبت به آنچه که در M1 دیده می‌شود، گرایش بیشتری به بالا دارد که دلیل بر وجود بلاست‌های بزرگتر است. در کانال بازوفیل نیز تعداد بسیار زیادی از بلاست به حالت متراکم در ناحیه MN قرار دارد که مثل یک گلوله آتش در حال حرکت، دنباله پراکنده آن در قسمت PMN و بازوفیل قرار دارد. سیتوگرام سمت چپ) نمودار پراکندگی پراکسیداز در M4-EO همانند M4 است ولی یک گرایش به ناحیه انوزینوفیلی و پایین در آن دیده می‌شود. حالت سودو-بازوفیلی و ترومبوسیتونی نیز در آن دیده می‌شود. حالت دو جمعیتی که در هیستوگرام RBC دیده می‌شود در نتیجه انتقال خون اخیر می‌باشد که بیمار دارای سلول‌های ماکروسیست بوده ولی در اثر ترانسفوزیون خون نرمال به صورت دو جمعیتی دیده می‌شود. برخلاف M4، در کانال بازوفیل دم آتشین گلوله تقریباً دو شاخه است که علت آن تمایل به حالت انوزینوفیلی در قسمت PMN است.

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

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

Bone marrow granulocytic component (myeloblasts to polymorphonuclear leucocytes) $\geq 20\%$ of non-erythroid cells

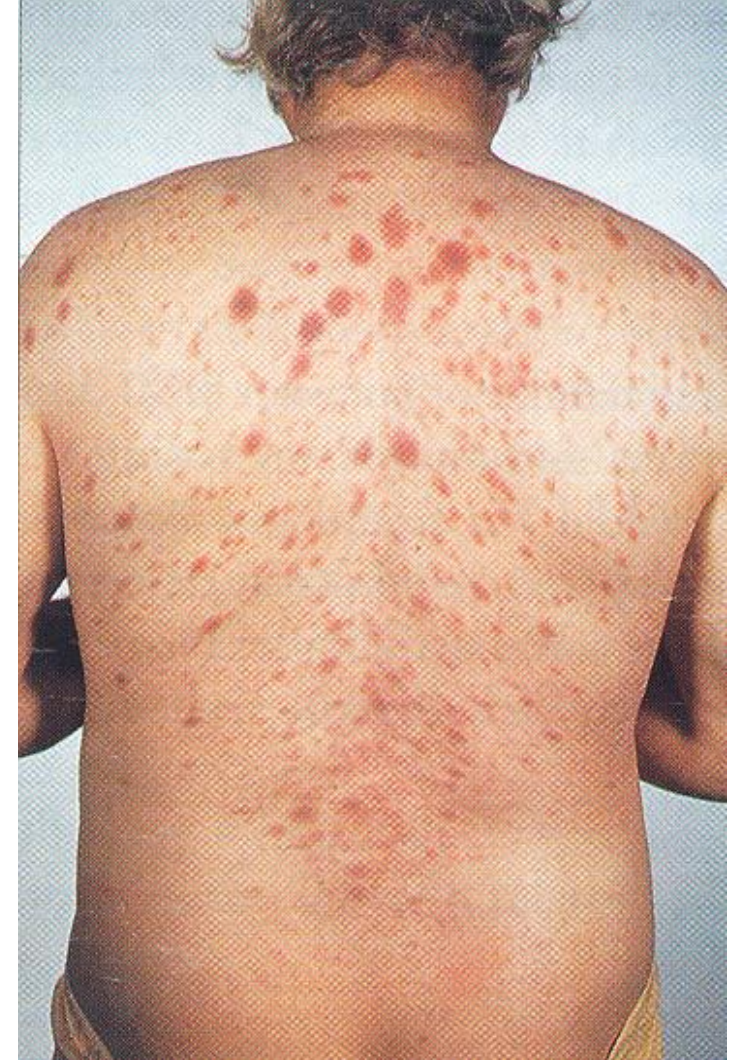
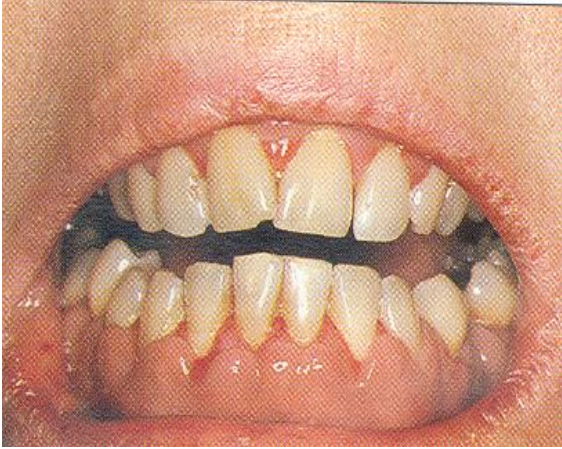
Significant monocytic component as shown by one of the following:

- Bone marrow monocytic component (monoblasts to monocytes) $\geq 20\%$ of non-erythroid cells and peripheral blood monocytic component $\geq 5 \times 10^9/l$, *or*
- Bone marrow monocytic component (monoblasts to monocytes) $\geq 20\%$ of non-erythroid cells and confirmed by cytochemistry or increased serum or urinary lysozyme concentration, *or*
- Bone marrow resembling M2 but peripheral blood monocyte component $\geq 5 \times 10^9/l$ and confirmed by cytochemistry or increased serum or urinary lysozyme concentration



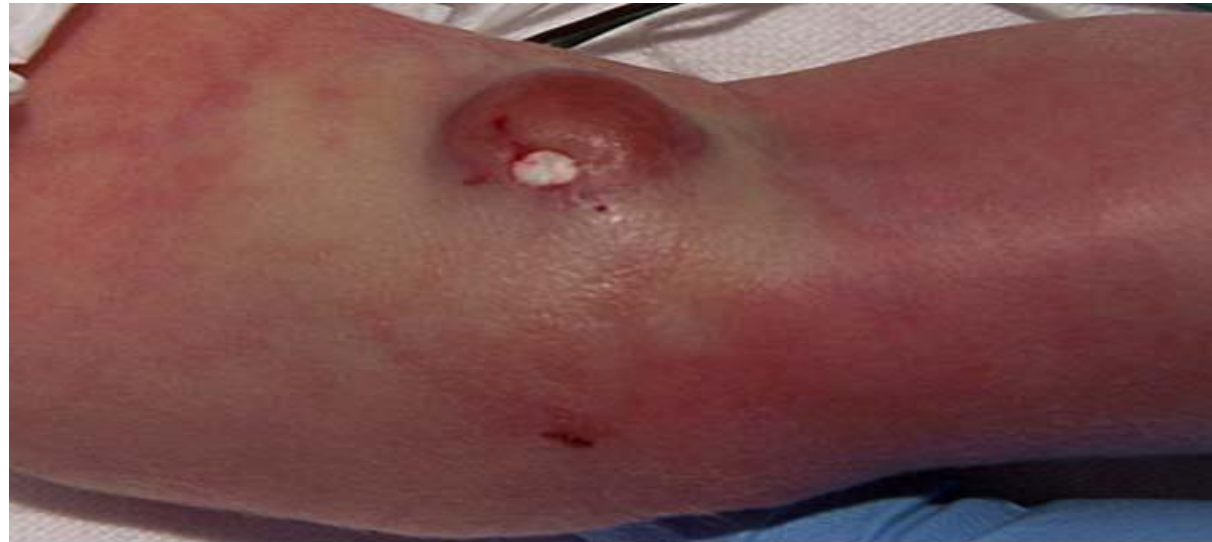
شکل ۴۶-۶۹: هیپرتروفی لثه در لوسمی های حاد مونوسیتی

Gingival Infiltration in Monocytic (AML M4 eos) Variant of AML

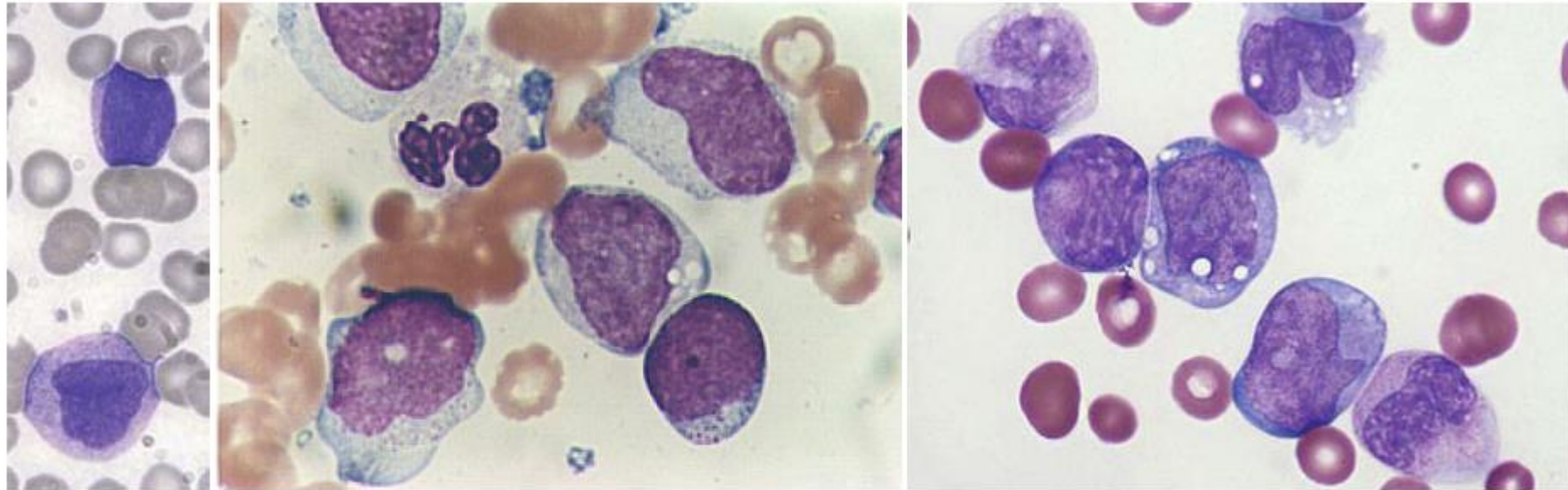


Clinical symptoms/Physical Findings

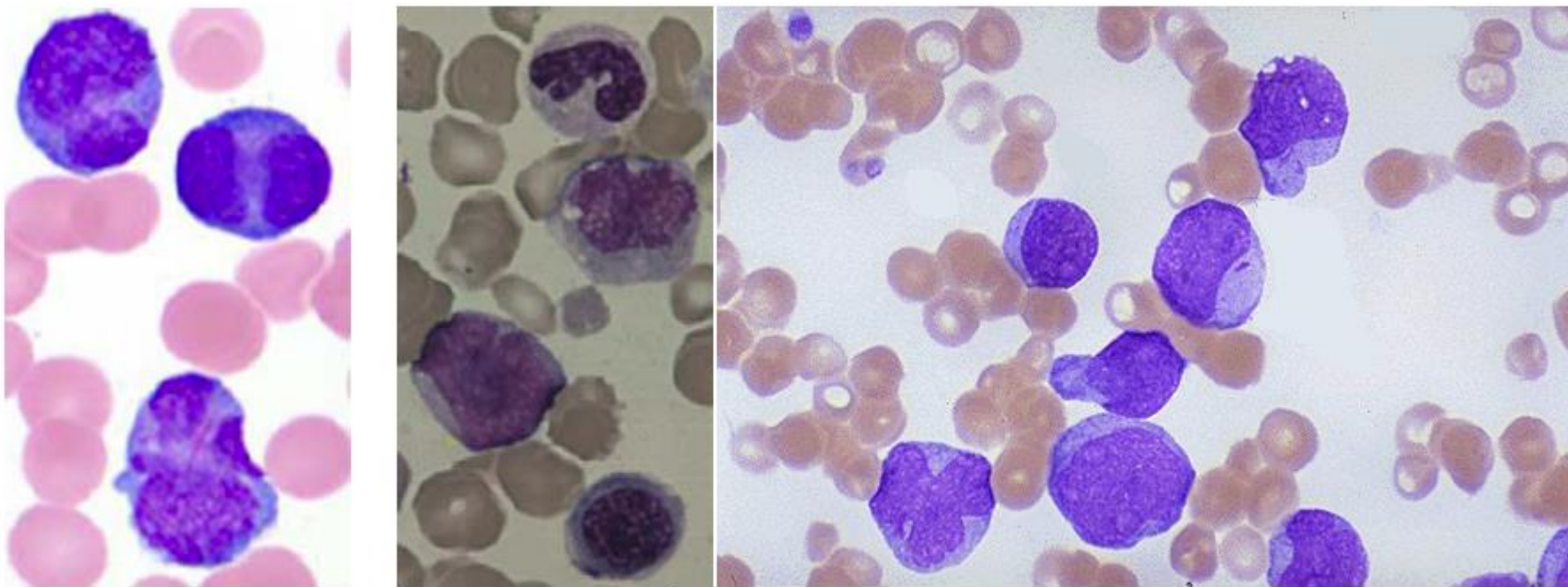
- Extramedullary disease (ie, myeloid sarcoma)
 - Can also have involvement of lymph nodes, intestine, mediastinum, ovaries, uterus



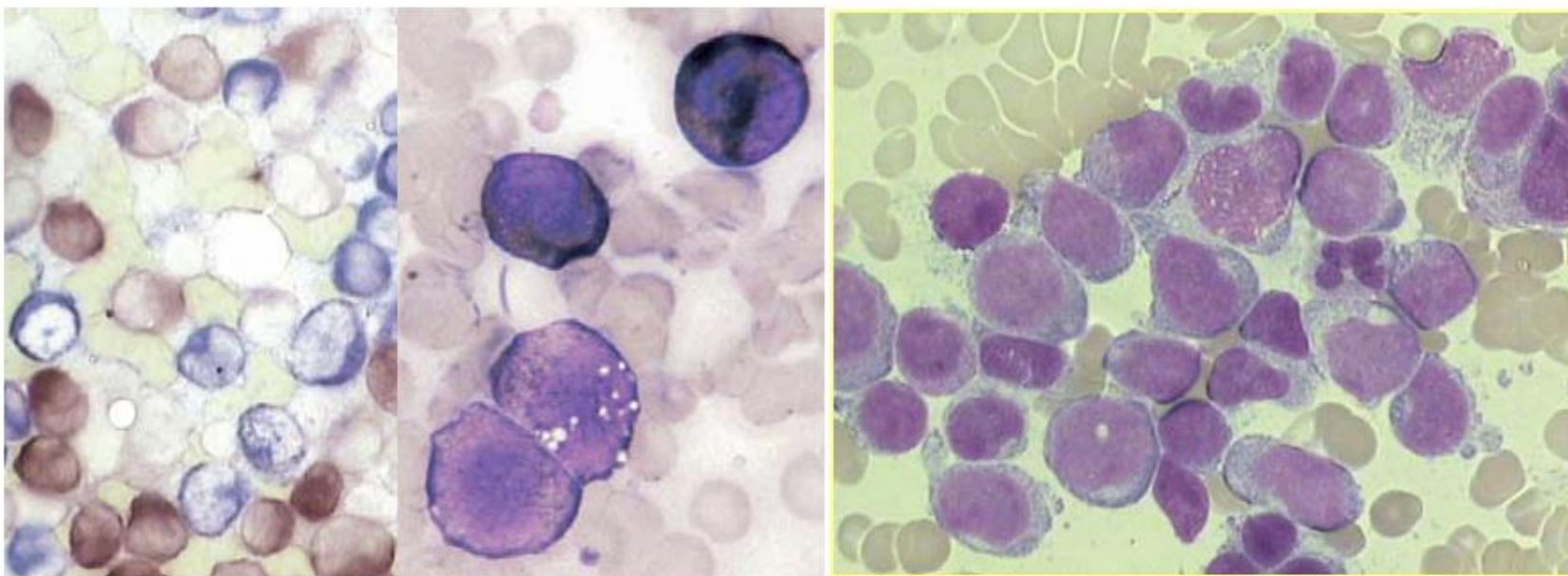
Source: Lichtman MA, Shafer MS, Felgar RE, Wang N:
Lichtman's Atlas of Hematology: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



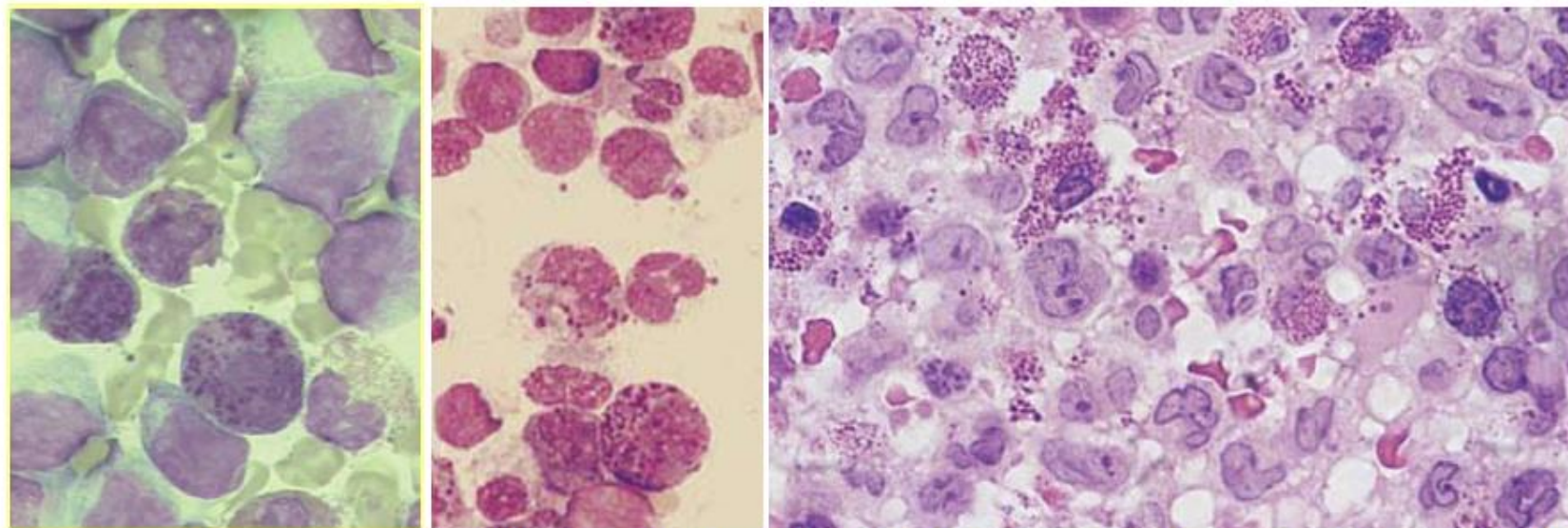
شکل ۴۰-۶۹: مشاهده همزمان میلو بلاست و مونو بلاست با هسته برگ شبدری، لوپوله یا گاهاً واکوئوله



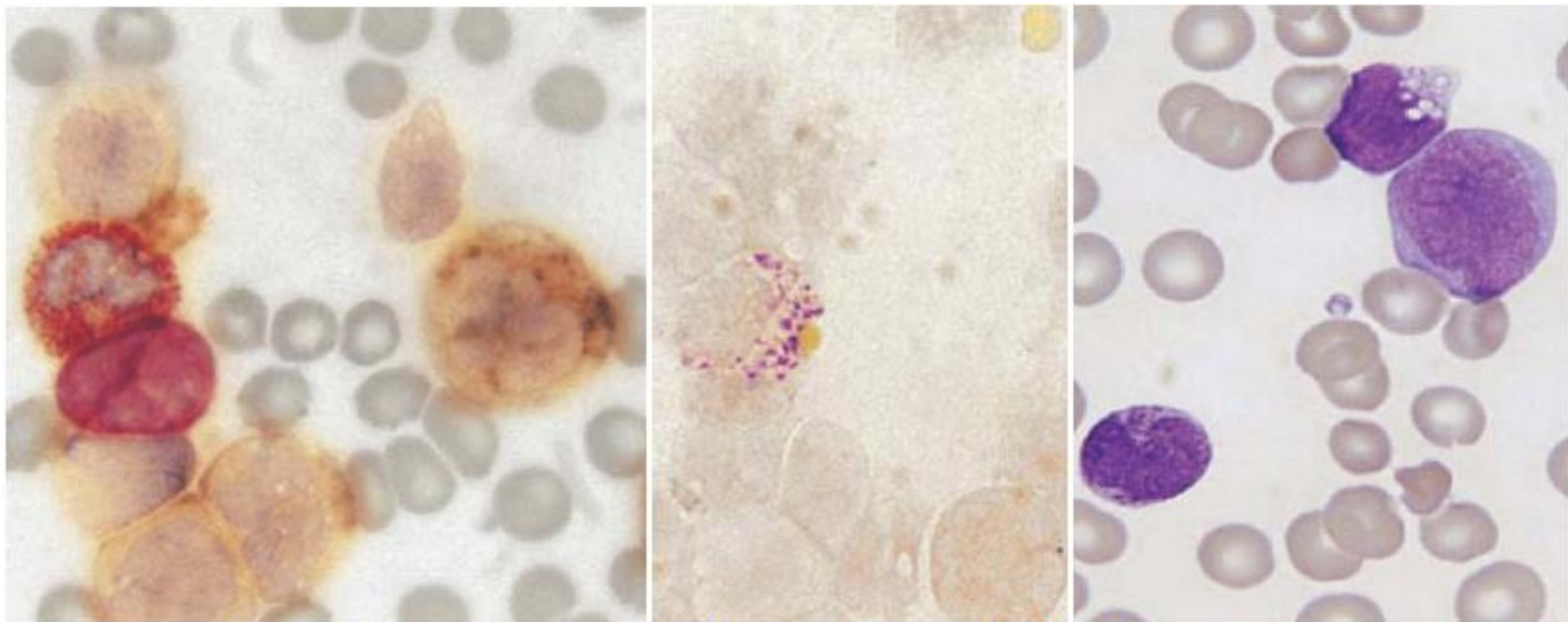
شکل ۴۱-۶۹: مشاهده همزمان میلو بلاست (حاوی آنور راد) و مونو بلاست (با هسته برگ شبدری و لوپوله) یا گاهاً واکوئوله (شکل وسط) که گاهی ممکن است با پرومیلوسیت های M3V (شکل سمت چپ) اشتباه شود.



شکل ۴۲-۶۹: ۱) لام خون محیطی بیمار M4-AML که چندین میلو بلاست (با سایز متوسط و N/C بالا) و تعدادی مونوبلاست (که بزرگتر بوده، سیتوپلاسم فراوان تر و یک هسته تاخوردۀ با الگوی کروماتینی باز دارد) را نشان می دهد. ۲) مغزاستخوان همان بیمار که با SBB رنگ شده است، دو مونوبلاست با واکنش ضعیف گرانولار و دو سلول از ردۀ گرانولوسیتی با واکنش بسیار قوی را نشان می دهد. ۳) واکنش مثبت میلو بلاست ها به MPO (سلول قهوه ای) در کنار واکنش منفی مونوبلاست ها

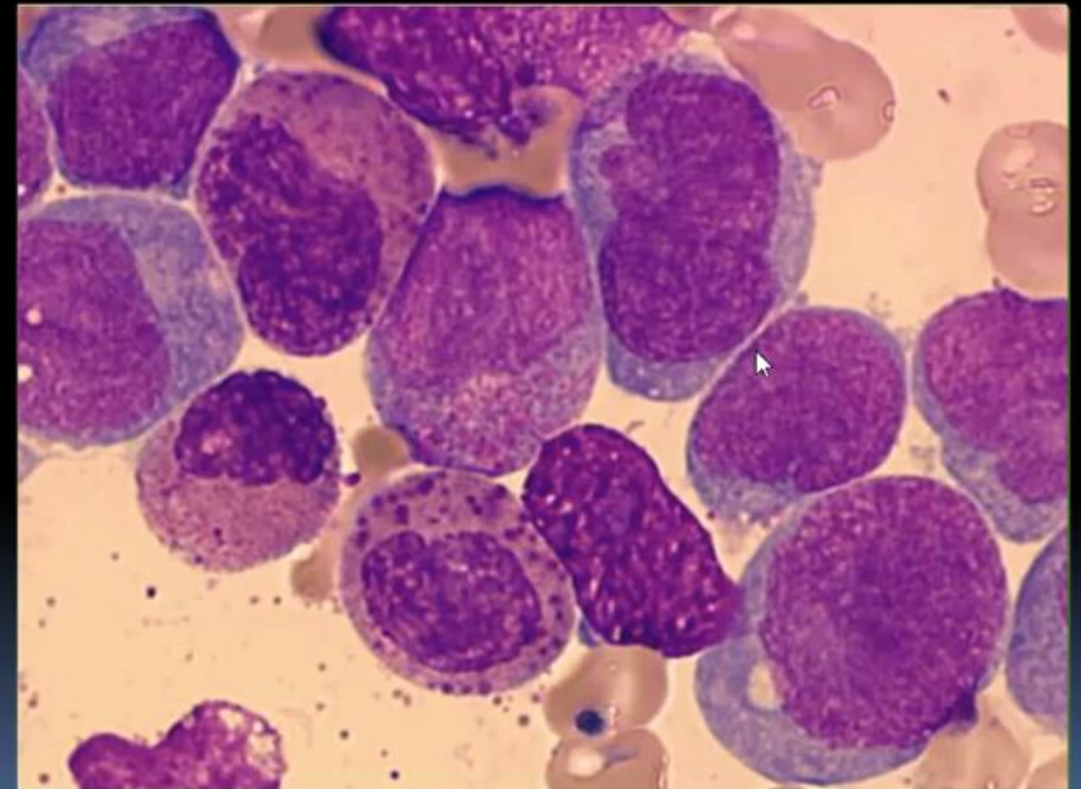
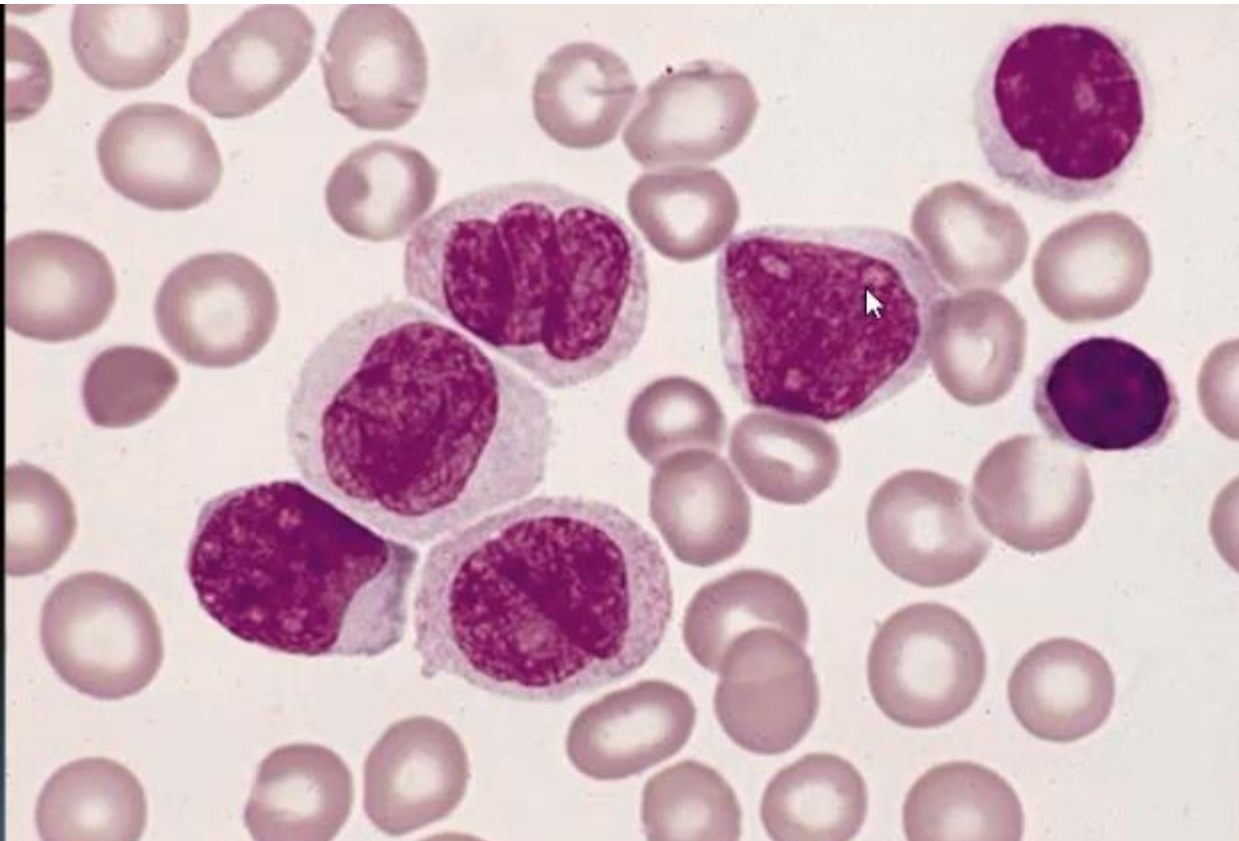


شکل ۴۳-۶۹: راست) برش پاتولوژی یک بیوپسی ترفین از بیمار M4Eo-AML که در آن سلول ها هم شامل انوزینوفیل ها و هم مونوبلاست ها هستند که به صورت سلول های بزرگ با هسته لوبوله و هستک مشخص و بزرگ مشخص می شوند (برش آمایش شده با پلاستیک و رنگ شده با H&E). وسط) همان گستره با رنگ آمیزی MGG (چپ) لام خون محیطی از همان لوسمی

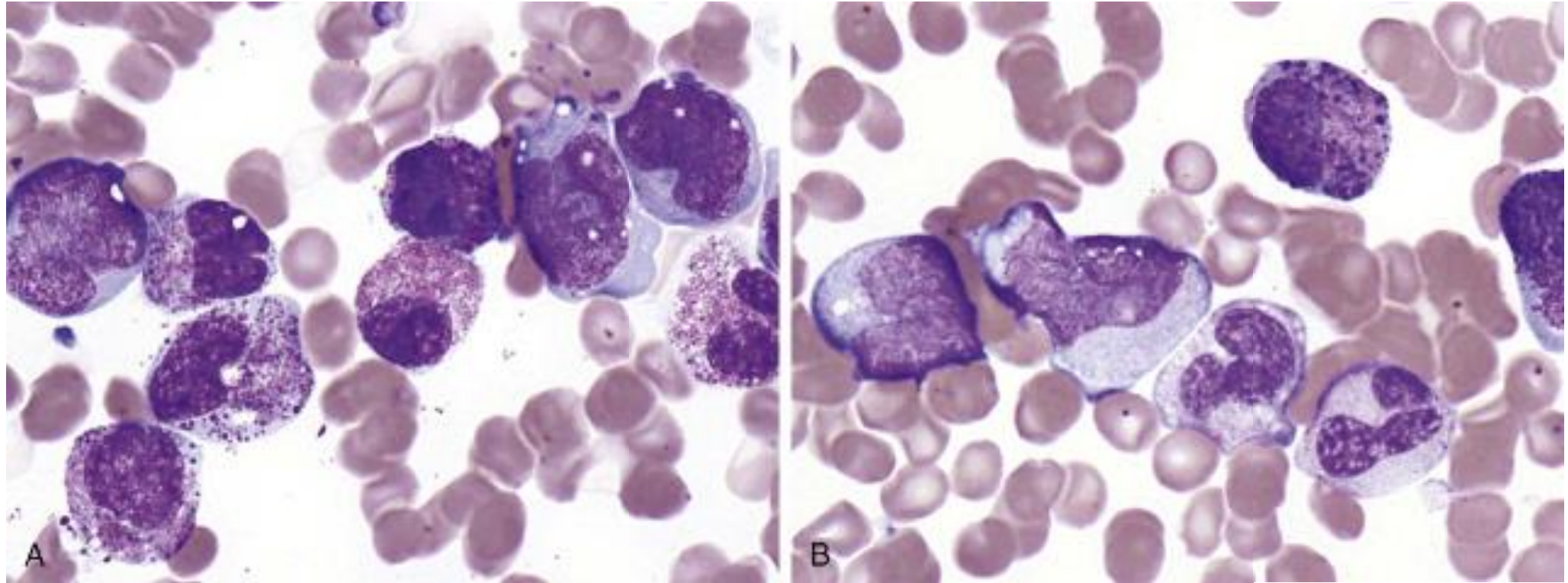


شکل ۴۴-۶۹: لام خون محیطی بیمار M4-AML/ M4Eo-AML/inv(16) که هم دارای تمایز ائوزینوفیلی و هم بازوفیلی است، (۱) یک سلول بلاست و دو سلول ابتدایی حاوی گرانول‌های بازوفیل که یکی از آنها نیز واکوئوله است، (۲) رنگ آمیزی تولوئیدن بلو که رنگ آمیزی متاکروماتیک پیش‌سازهای بازوفیل را نشان می‌دهد، (۳) رنگ آمیزی دوبل استراز که یک واکنش مثبت CAE (قرمز) نسبت به رده گرانولوسیتی و یک واکنش مثبت αNAE (قهوه‌ای - سیاه) نسبت به رده مونوسیتی نشان می‌دهد.

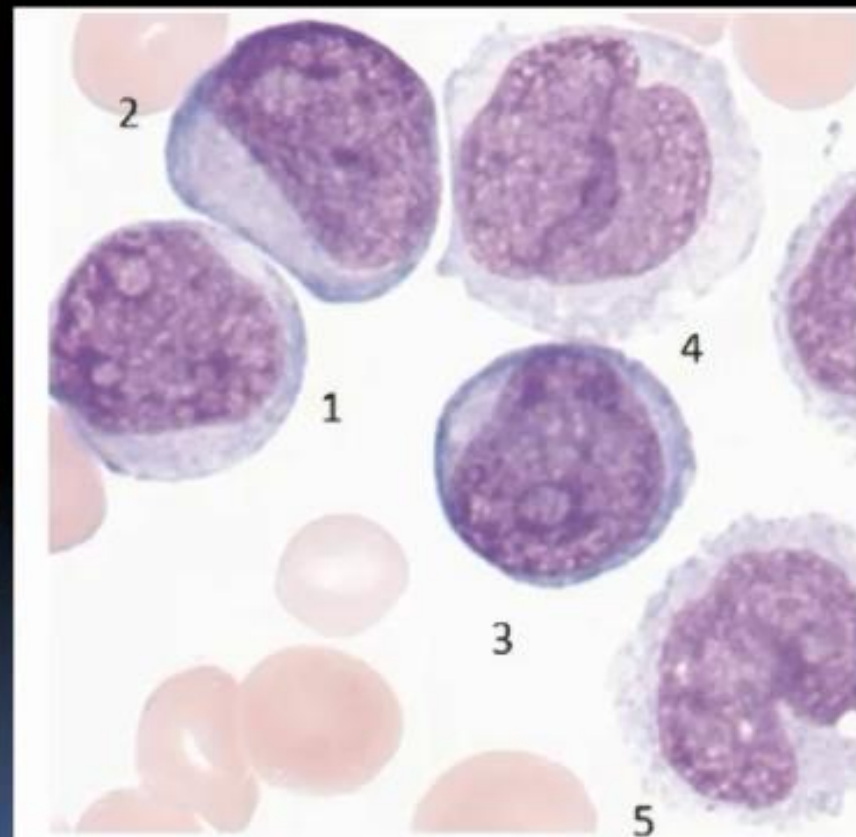
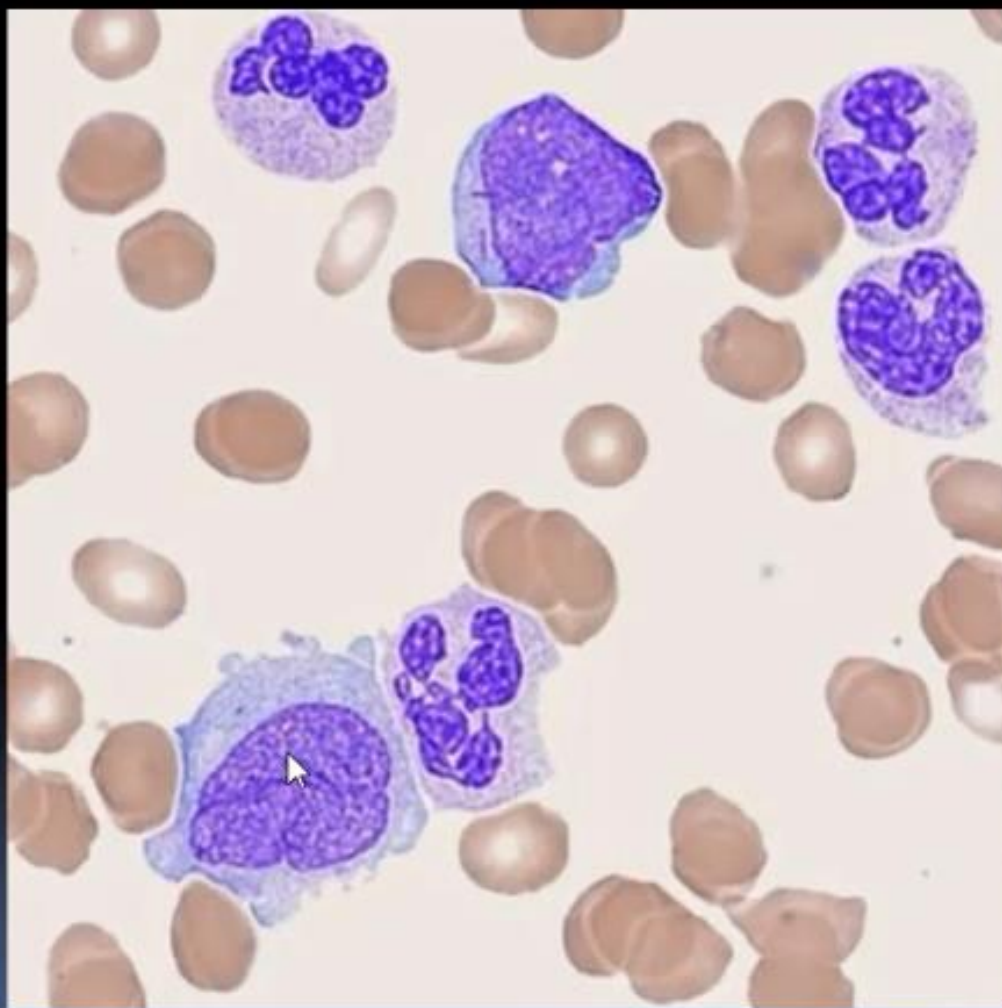
AML M4E



Acute myeloid leukemia with inv(16): A and B, Both cases show blasts with monocytoid nuclear features and abundant cytoplasm. One leukemia (A) exhibits numerous eosinophil precursors, some of which have the characteristic large basophilic granules. The other (B) shows only one abnormal eosinophil.

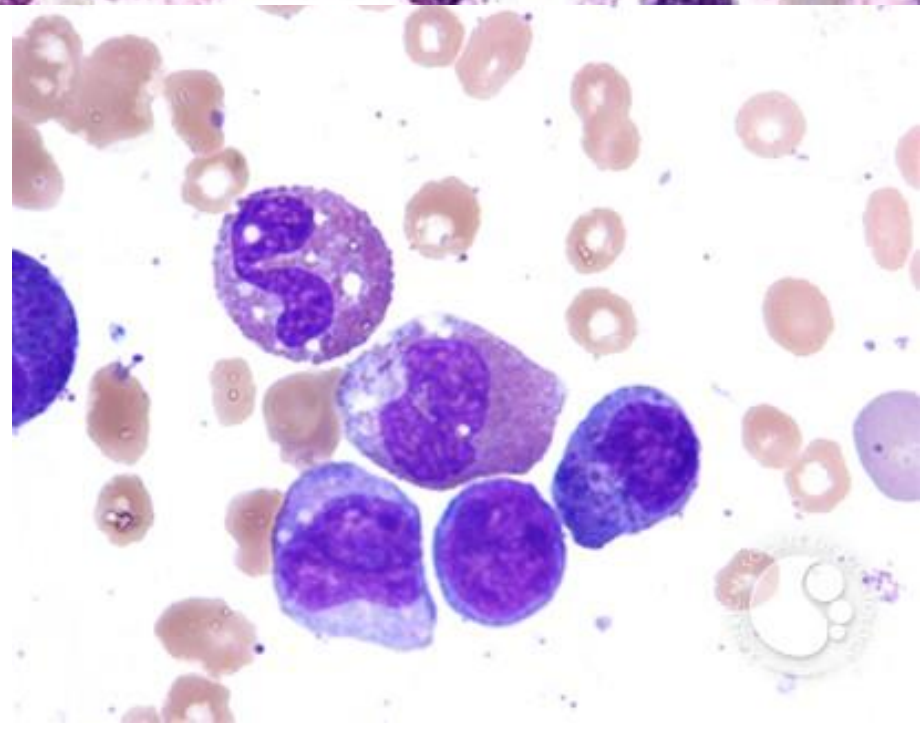
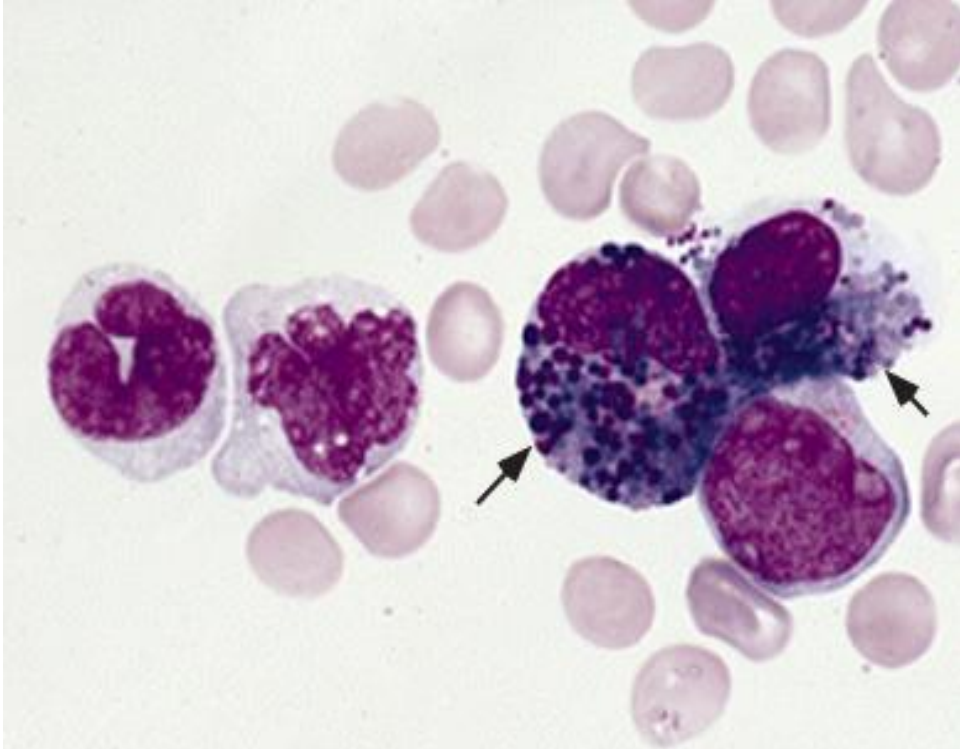
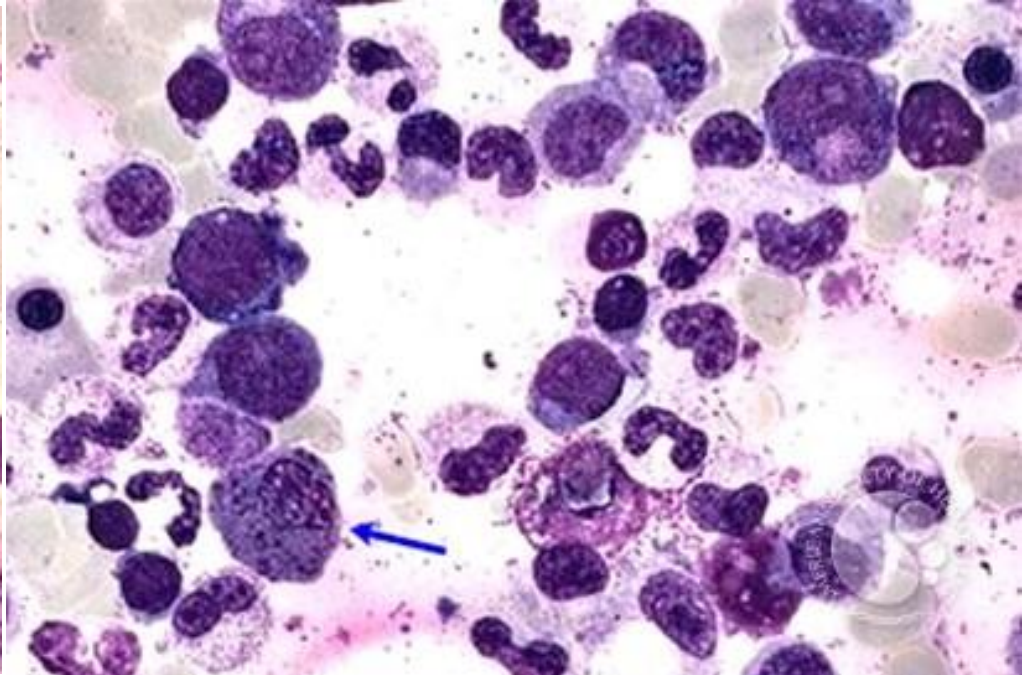
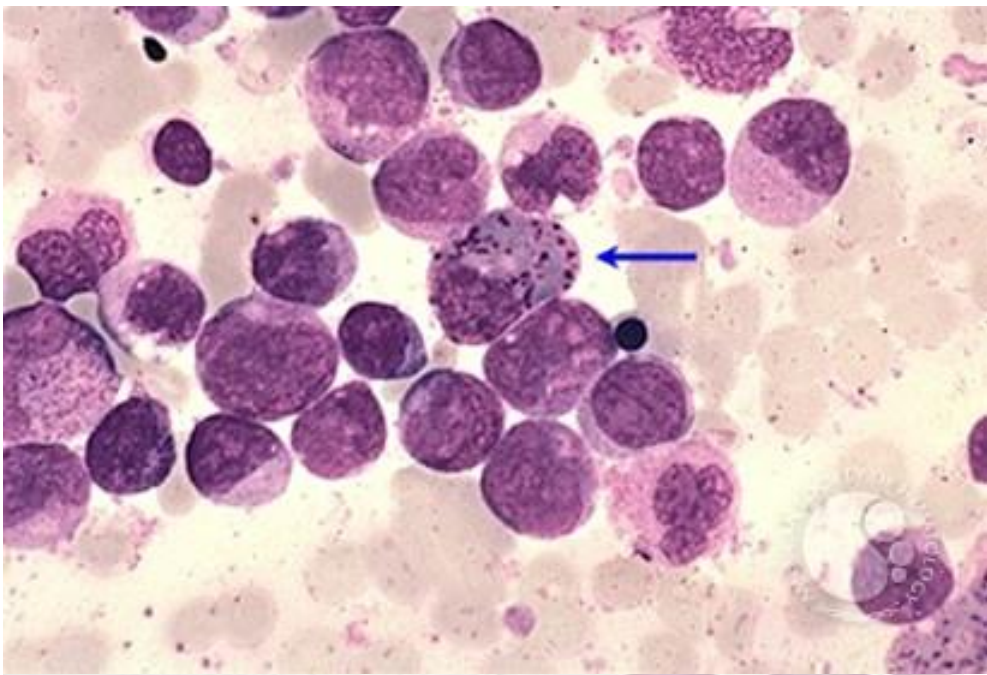


Myelomonoblastic leukemia M4



سلول‌های ۱ و ۲ مایلو بلاست، سلول‌های ۳ و ۴ مایلو بلاست (روداک، ۱۳۰۲: ۱۵۴)

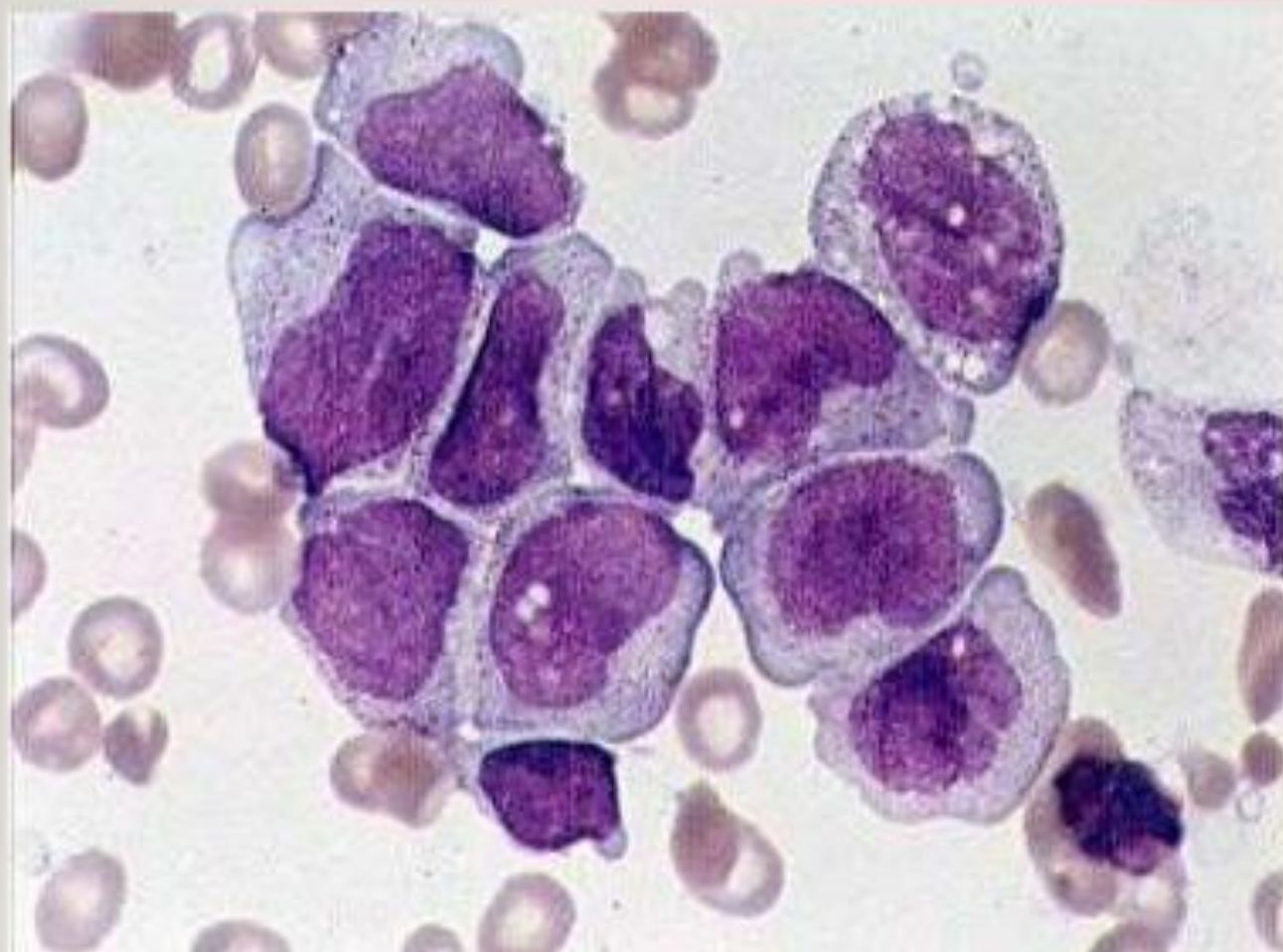
AML M4 eos



AML-M5 (MONOCYTIC LEUKEMIA)

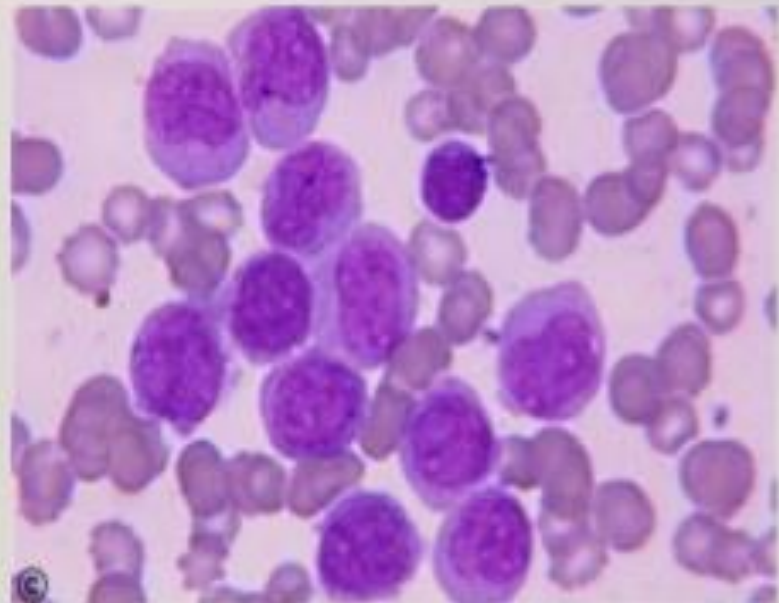
-
- Usually seen in children and young adults.
 - Degree of gum hypertrophy ,lymph node ,CNS and extra medullary infiltrates seen.
 - Occasional episodes of DIC.
 - Moderately elevated serum and urine muramidase.
 - More than 80% of non erythroid cells seen in BM are monocytic .

AML-M5 (M5A & M5B)



AML-M5A

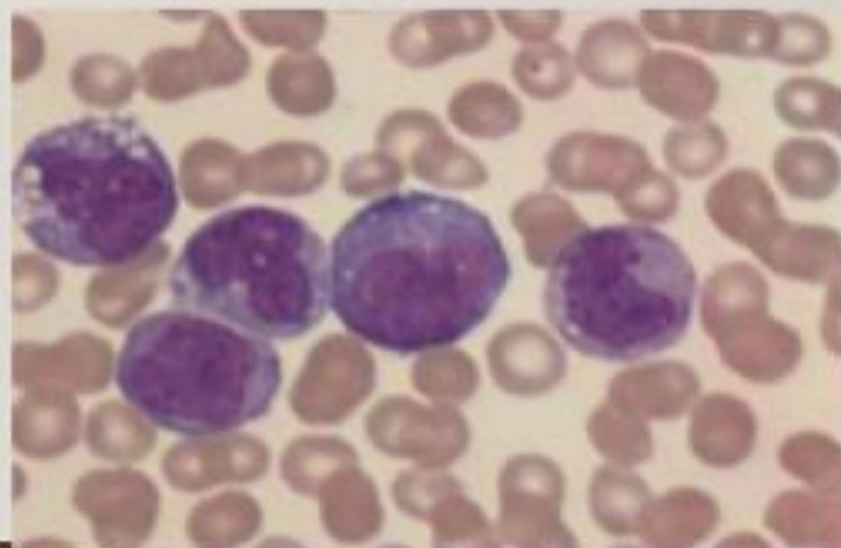
- Poorly differentiated.
- Monoblast account for 80% or more of all monocytic cells.
- Remaining 20% are monocytes.
- The monoblast are larger.
- Azurophilic granules may be present.



AML-M5B

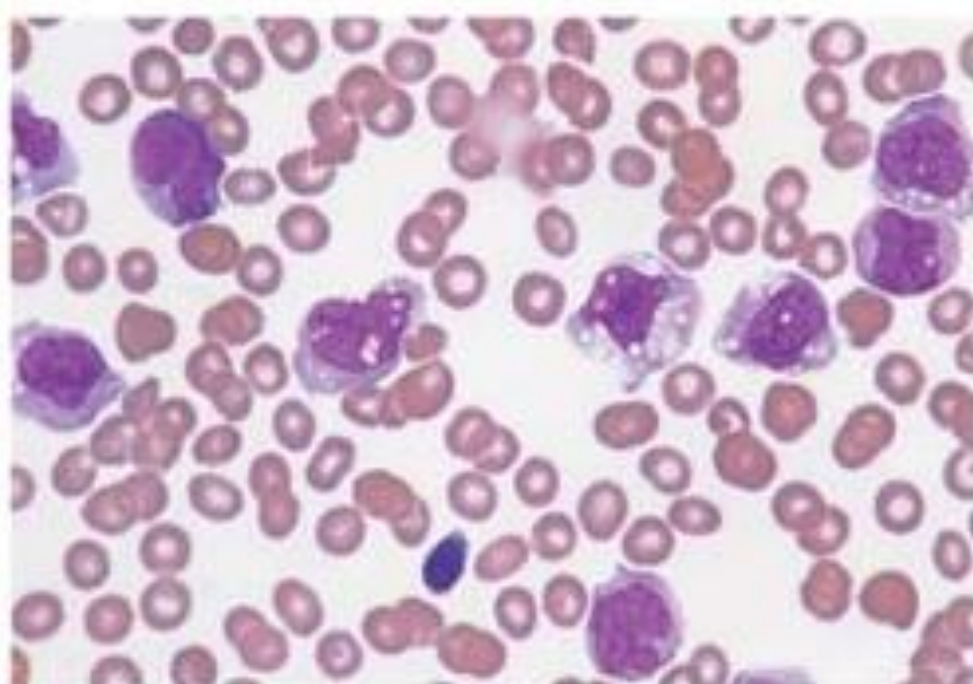
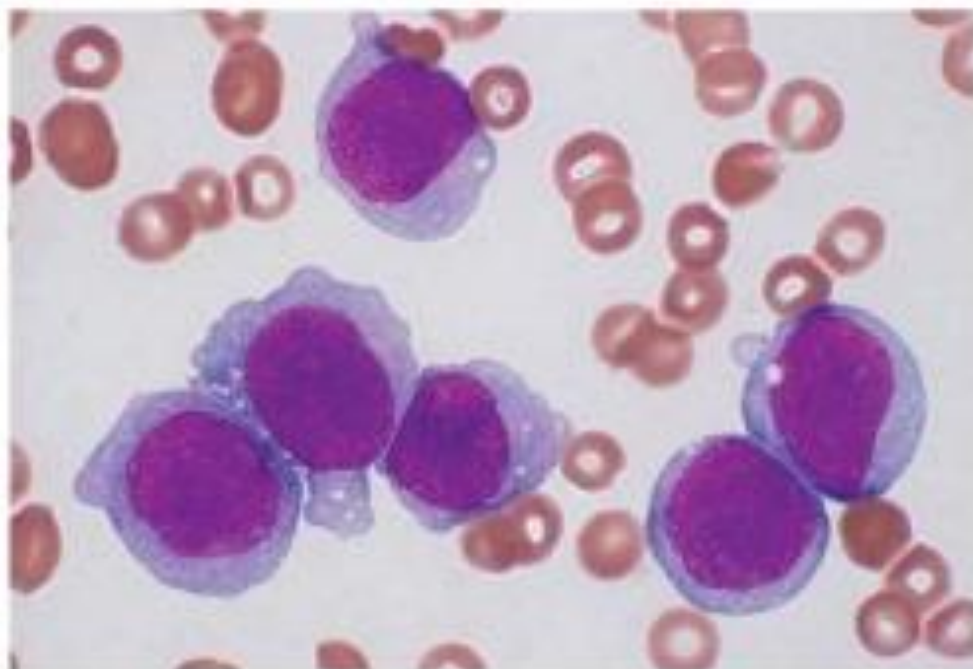
Tanveer Tara SUIT

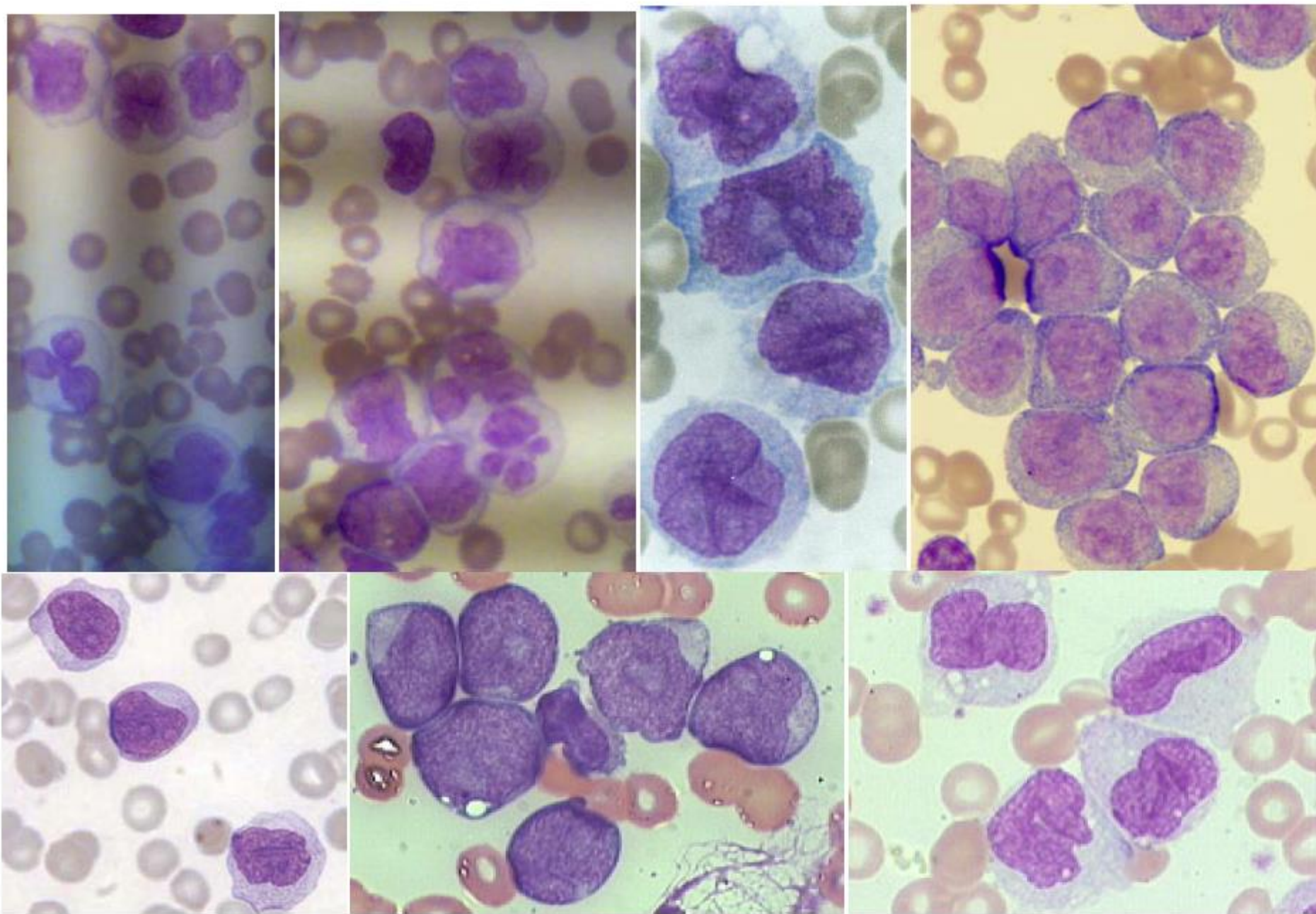
- Well differentiated.
- More than 80% of monocytic cells in nonerythroid marrow.
- The remaining cells are promonocytic or monocytic.
- The percentage of blast is less than 30%.
- Fine azurophilic granules are present.



5. Acute Monocytic Leukemias:

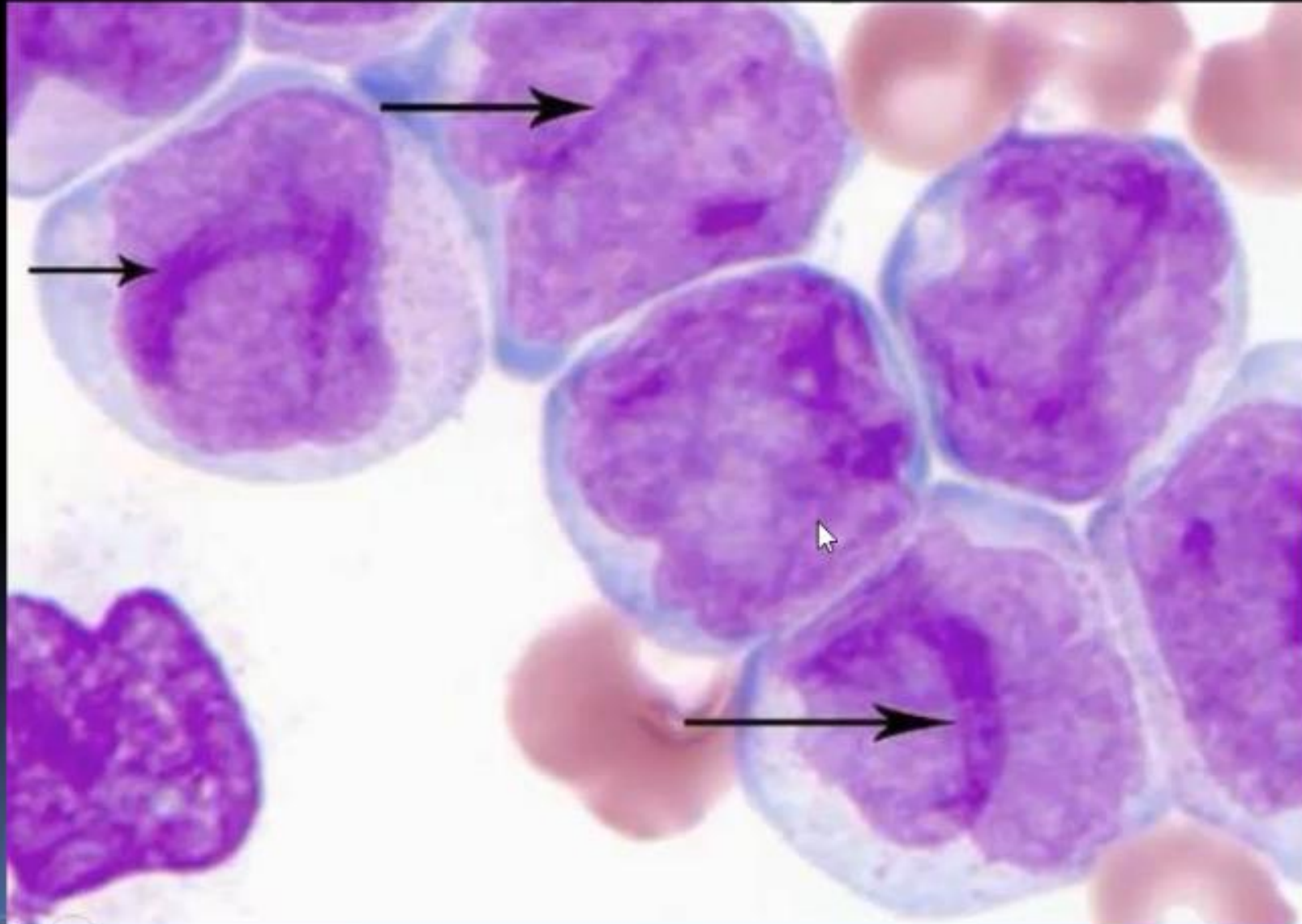
- FAB type: AML-M5.
- Immature monocytic cells predominate in this AML, NOS type.
- $\geq 80\%$ monocytic lineage cells.
- $\leq 20\%$ neutrophilic lineage cells.
 - If **monoblasts** predominate, termed acute monoblastic leukemia.
 - If **promonocytes** predominate, termed acute monocytic leukemia.
- Very rare acute monocytic leukemias can exhibit histiocytic differentiation.
- Both cytochemical NSE staining and flow cytometric immunophenotyping can be used to document monocytic differentiation, but NSE stains may be negative or weak in up to 20% of cases.
- Extramedullary disease is common in acute monoblastic/monocytic leukemias (Skin, Gingiva, CNS).
- Key differential diagnostic considerations include: CMML, microgranular APL, and AMML.

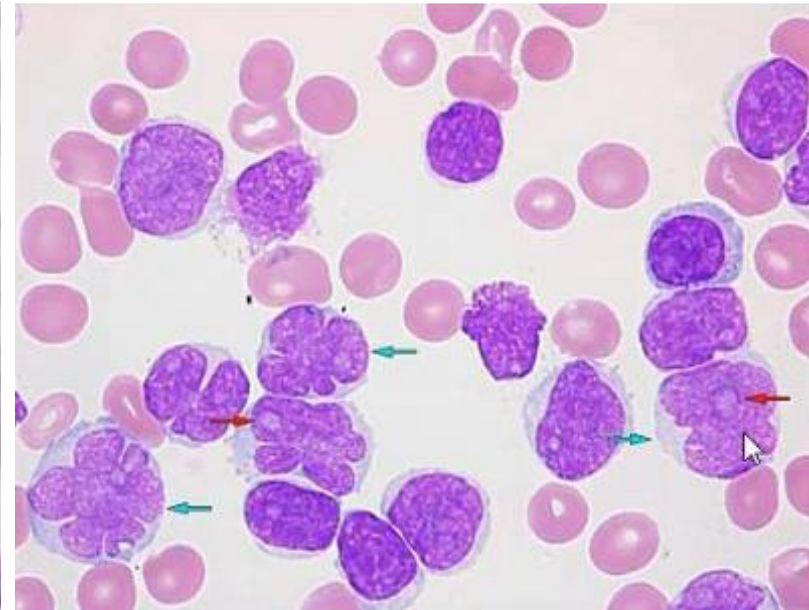
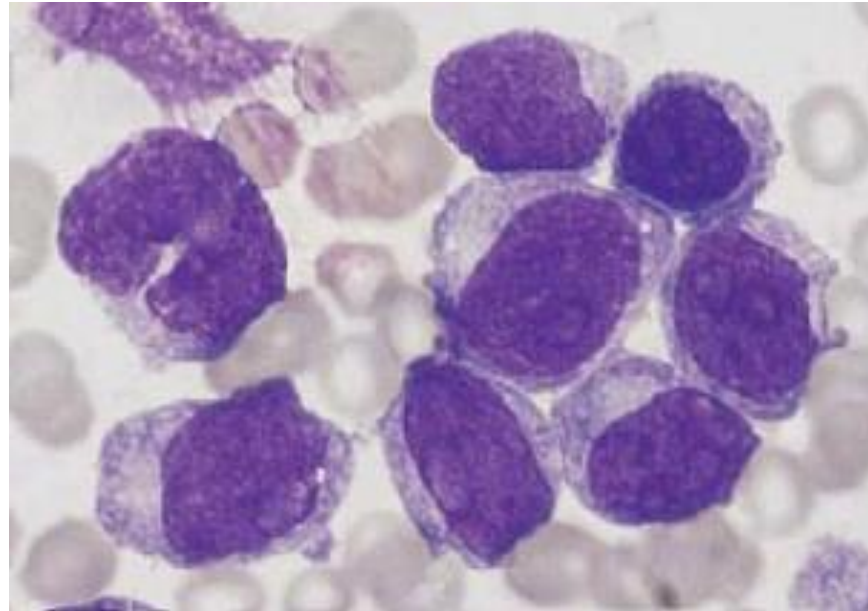
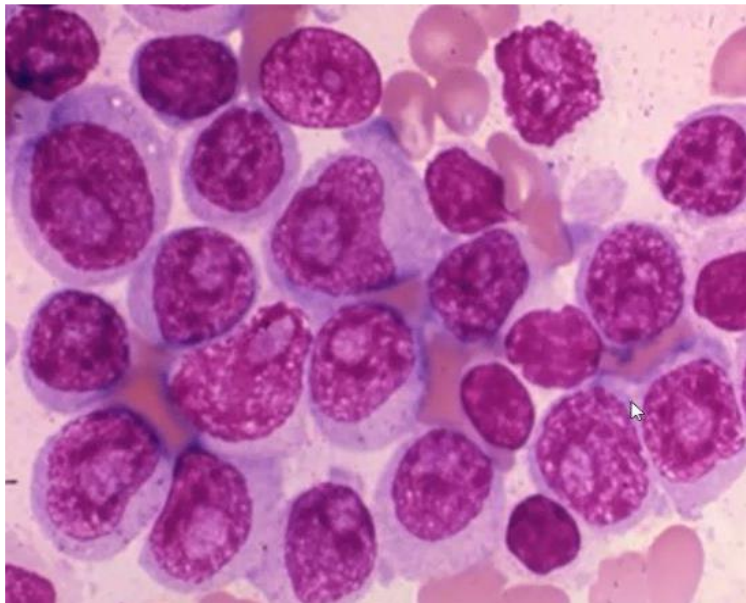
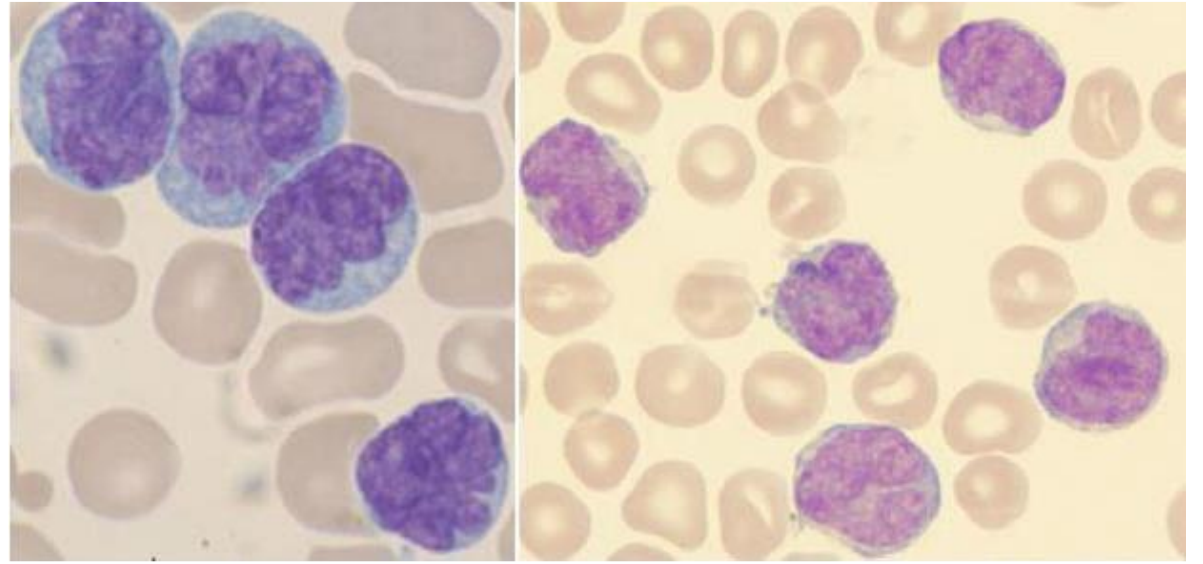
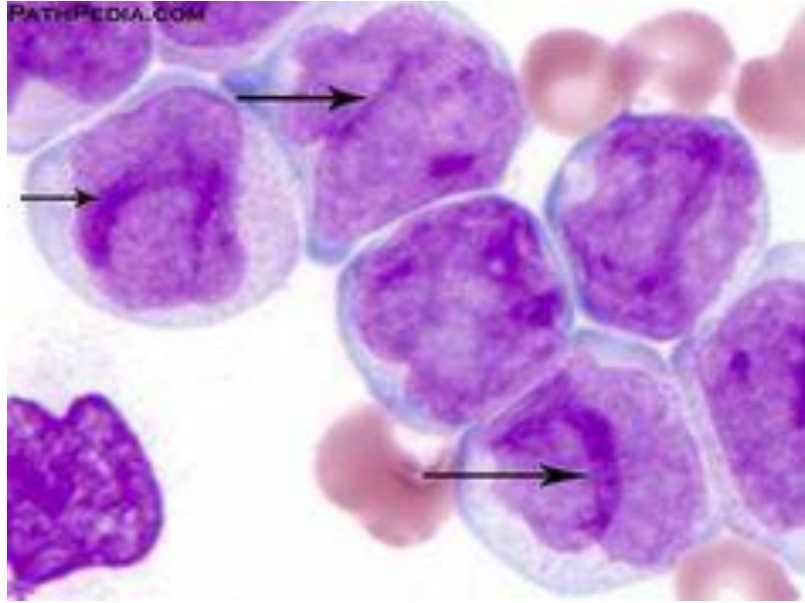


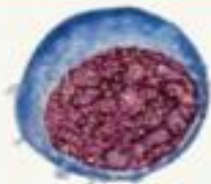


شکل ۴۵-۶۹: مونوبلاست‌هایی با سیتوپلاسم بزرگ، خاکستری، واکوئوله و غیرگرانوله و هسته دنداندار، لوبوله، برگ شبدری، تاخورده و پیچ خورده در M5a

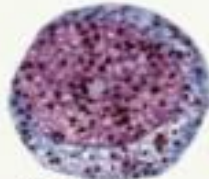
Monoblast with folded nucleus



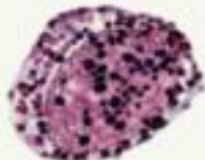




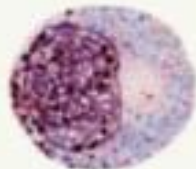
1A. Myeloblast



1B. Promyelocyte
(Progranulocyte)



1C. Basophilic myelocyte



1G. Neutrophilic
myelocyte



1K. Eosinophilic
myelocyte



1D. Basophilic metamyelocyte



1H. Neutrophilic
metamyelocyte



1L. Eosinophilic
metamyelocyte



1E. Basophilic band



1I. Neutrophilic band



1M. Eosinophilic band



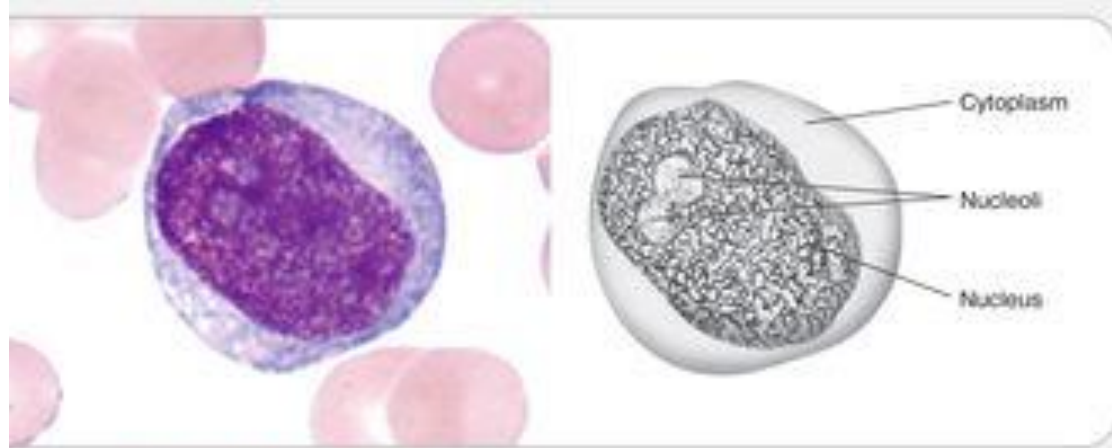
1F. Basophilic segmented



1J. Neutrophilic segmented



1N. Eosinophilic
segmented



Monoblast

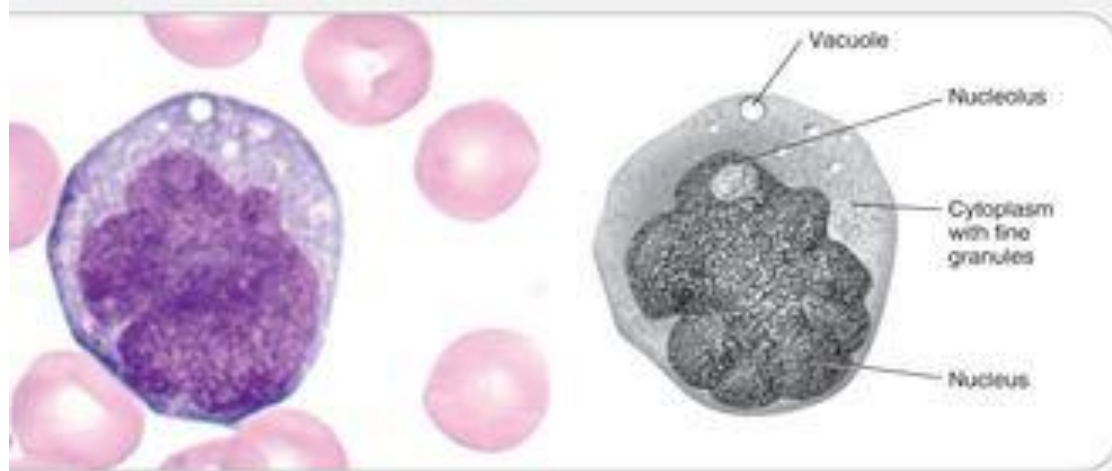
Nucleus: Round to oval; may be irregularly shaped

Nucleoli: 1-2; may not be visible

Chromatin: Fine

Cytoplasm: Light blue to gray

Granules: None



Promonocytes

Nucleus: Irregularly shaped; folded; may have brain-like convolutions

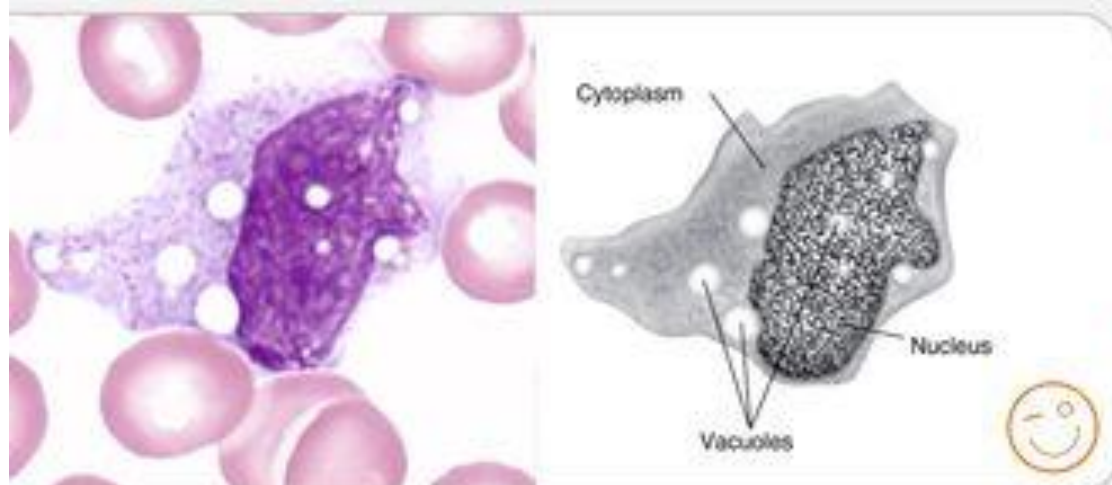
Nucleoli: May or may not be visible

Chromatin: Fine to lacy

Cytoplasm: Light blue to gray

Granules: Fine azurophilic

Vacuoles: May be present



Monocytes

Nucleus: Variable; may be round, horseshoe shaped,; often has folds producing "brainlike" convolutions

Nucleoli: Not visible

Chromatin: Lacy

Cytoplasm: Blue-gray; may have pseudopods

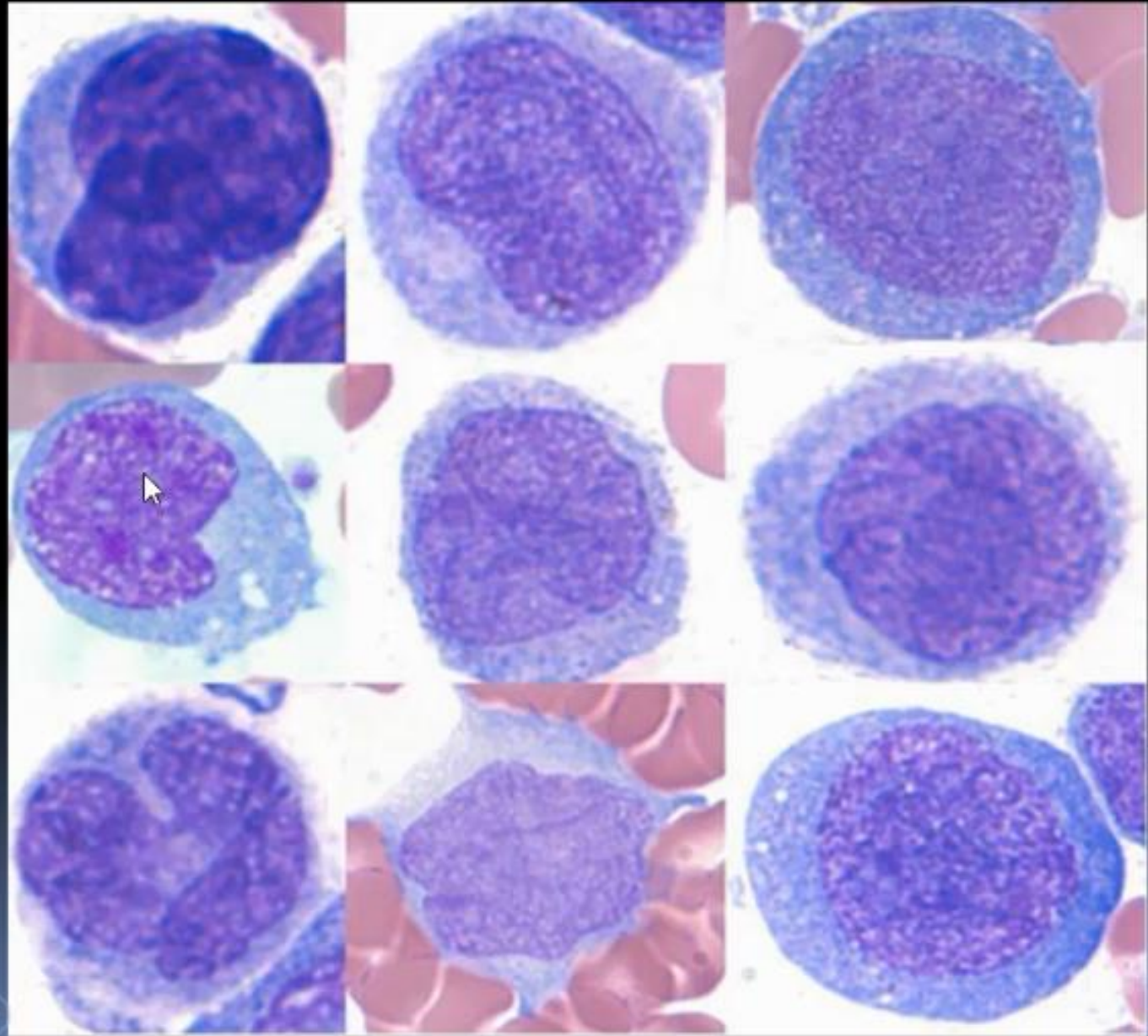
Granules: Many fine granules giving the appearance of ground glass

Vacuoles: Absent to numerous

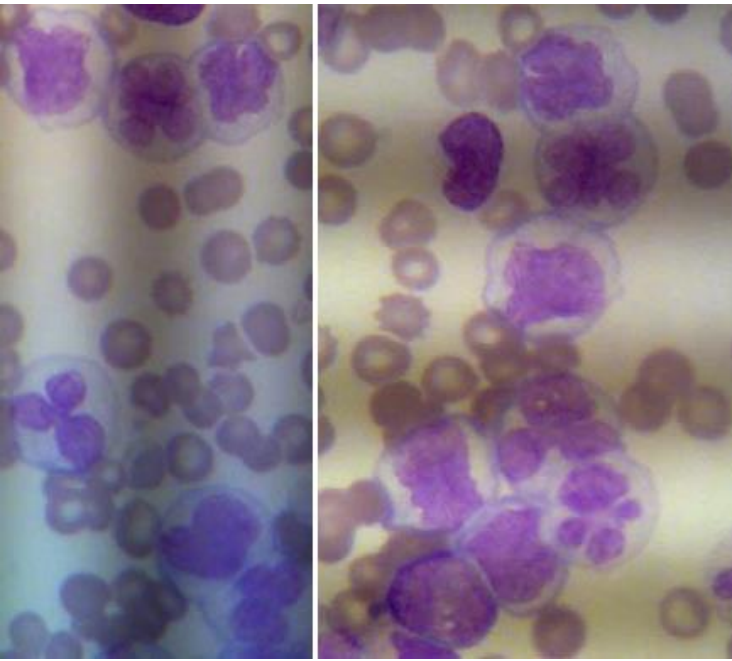
2. Monoblasts vs Promonocytes:

Criteria	Monoblast	Promonocyte
Size:	Large.	Intermediate to large.
Nucleus:	<ul style="list-style-type: none">○ Round nuclear contours.○ Fine chromatin.○ Prominent nucleolus.	<ul style="list-style-type: none">○ Smaller, variably prominent nucleoli.○ Gently lobulated nuclei with delicate nuclear folding.○ More even/dispersed chromatin pattern than typical monocyte.
Cytoplasm:	<ul style="list-style-type: none">○ Abundant variably basophilic cytoplasm.○ Fine cytoplasmic azurophilic granules.○ No Auer rods.○ May see cytoplasmic vacuoles.	<ul style="list-style-type: none">○ Abundant, lightly basophilic cytoplasm.

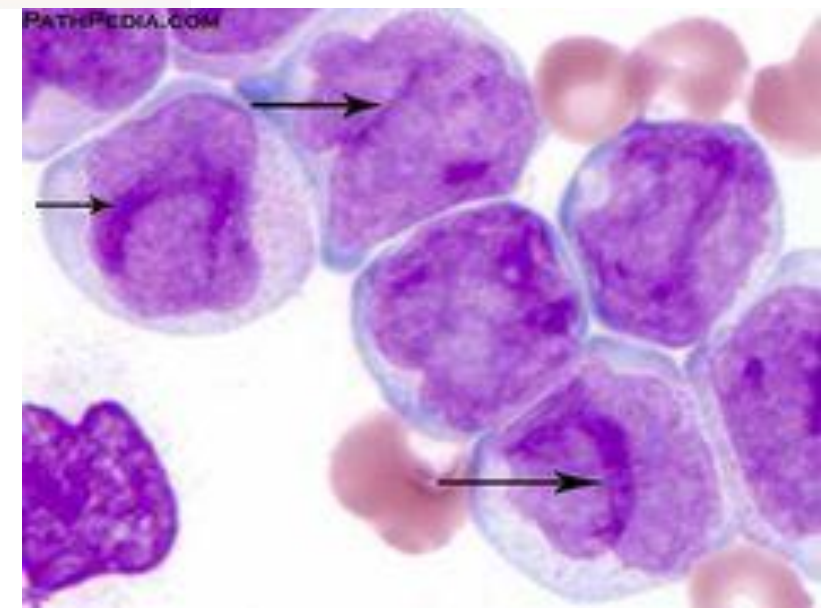
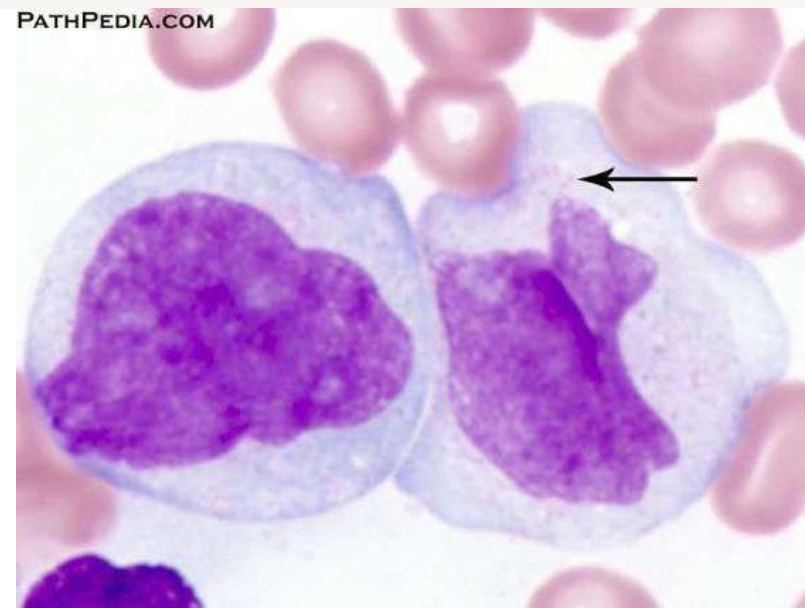
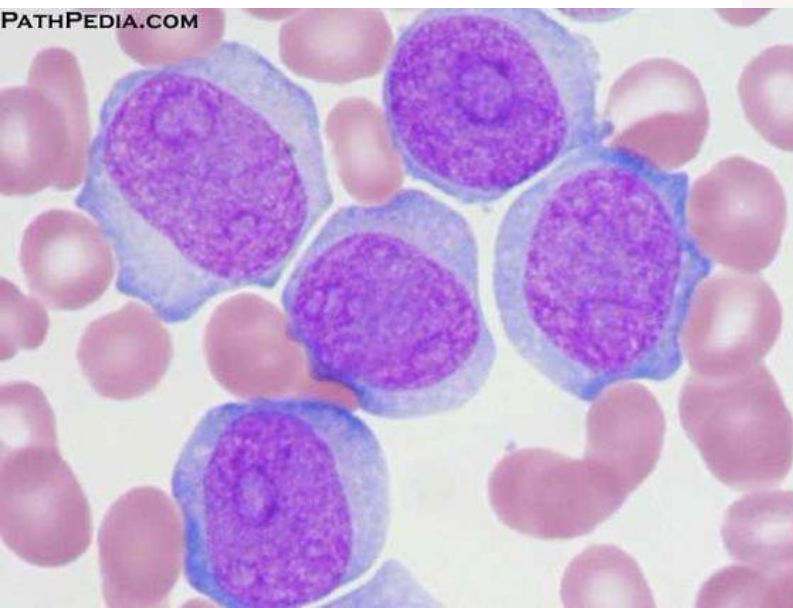
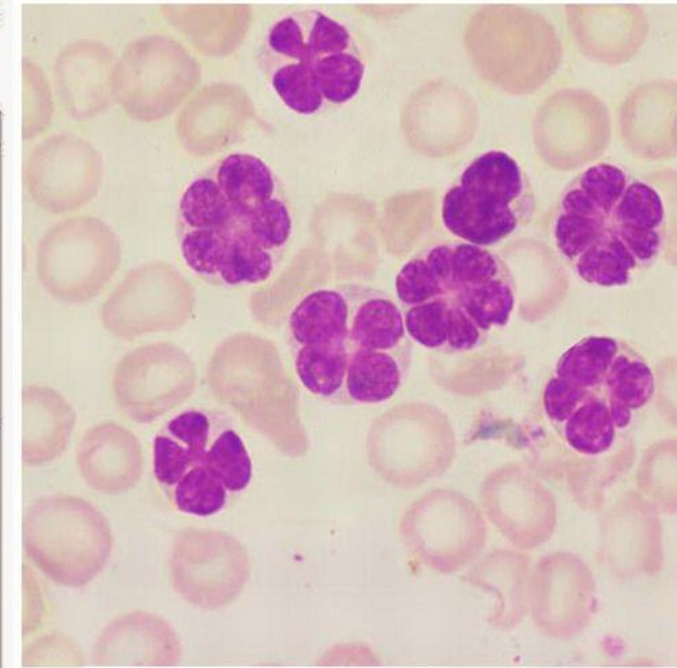
Promonocytes



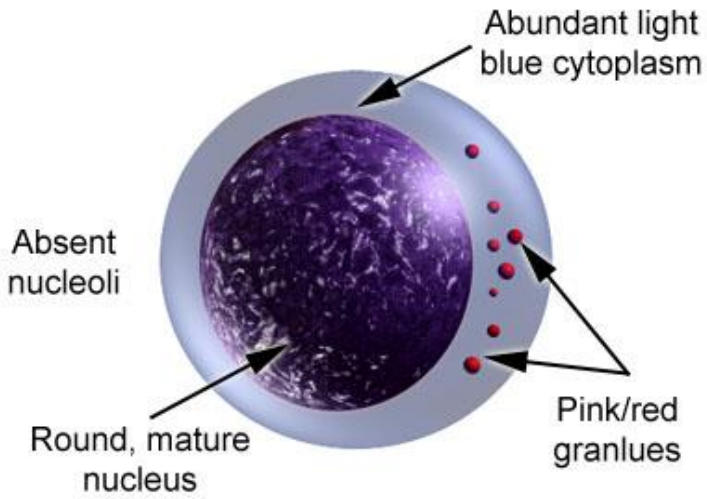
Morphological evaluation of monocytes



Monocyte	Immature	Promonocyte	Monoblast



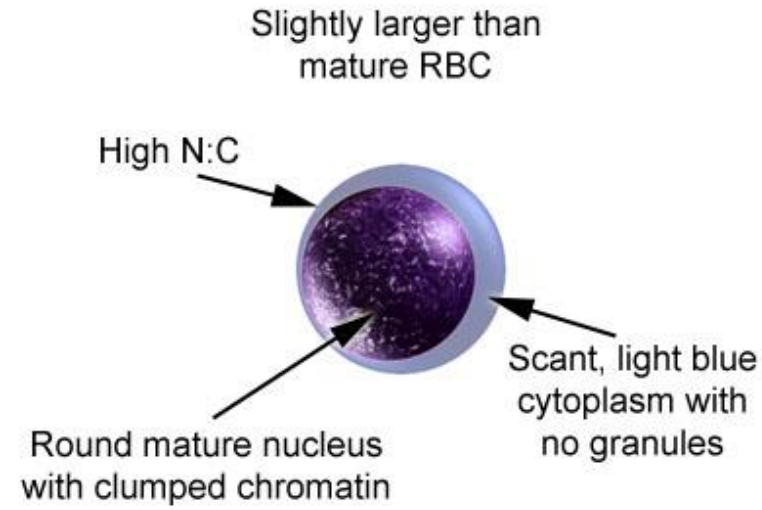
LARGE GRANULAR LYMPHOCYTE



10 μ m

Rashidi H MD, Nguyen J MD et al. HematologyOutlines.com

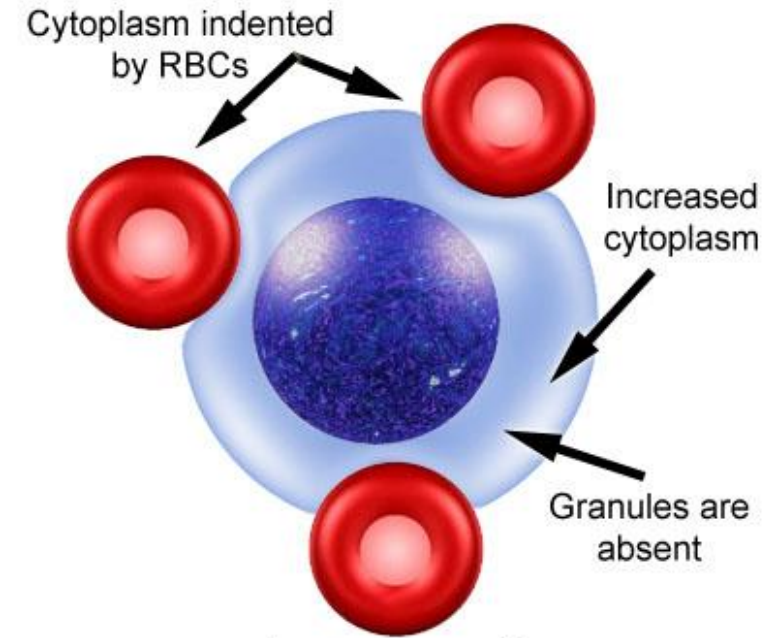
LYMPHOCYTE



10 μ m

Rashidi H MD, Nguyen J MD et al. HematologyOutlines.com

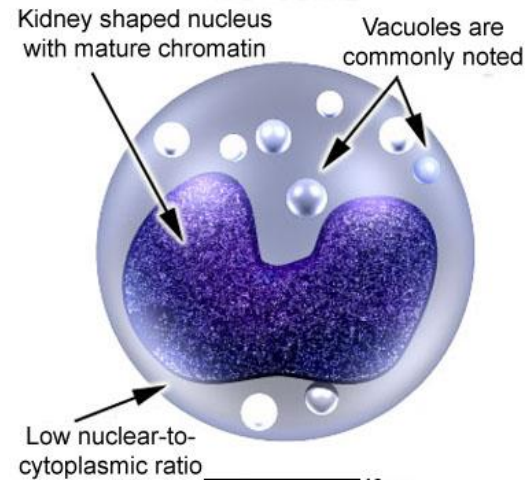
REACTIVE LYMPHOCYTE



10 μ m

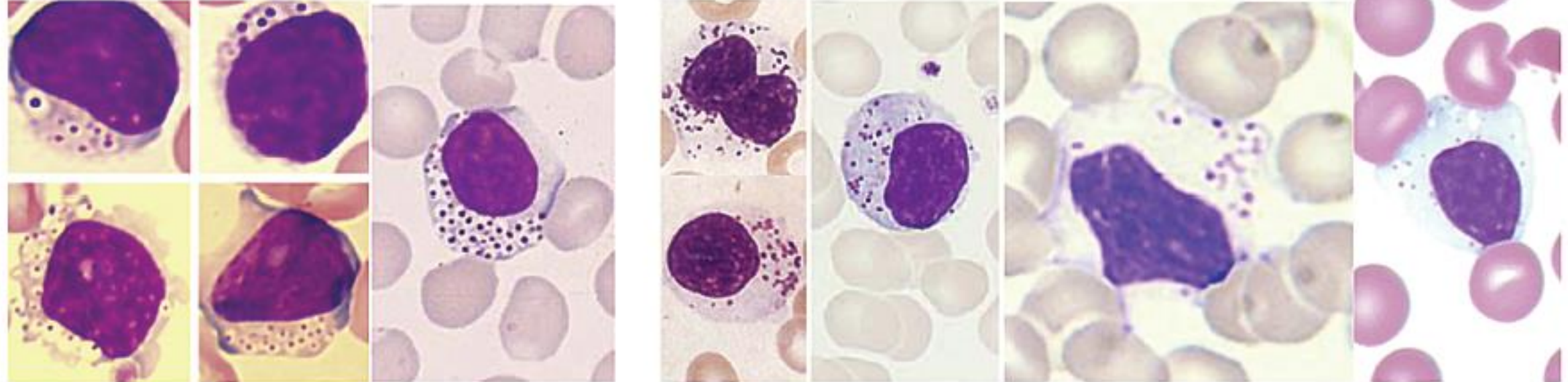
Rashidi H MD, Nguyen J MD et al. HematologyOutlines.com

MONOCYTE

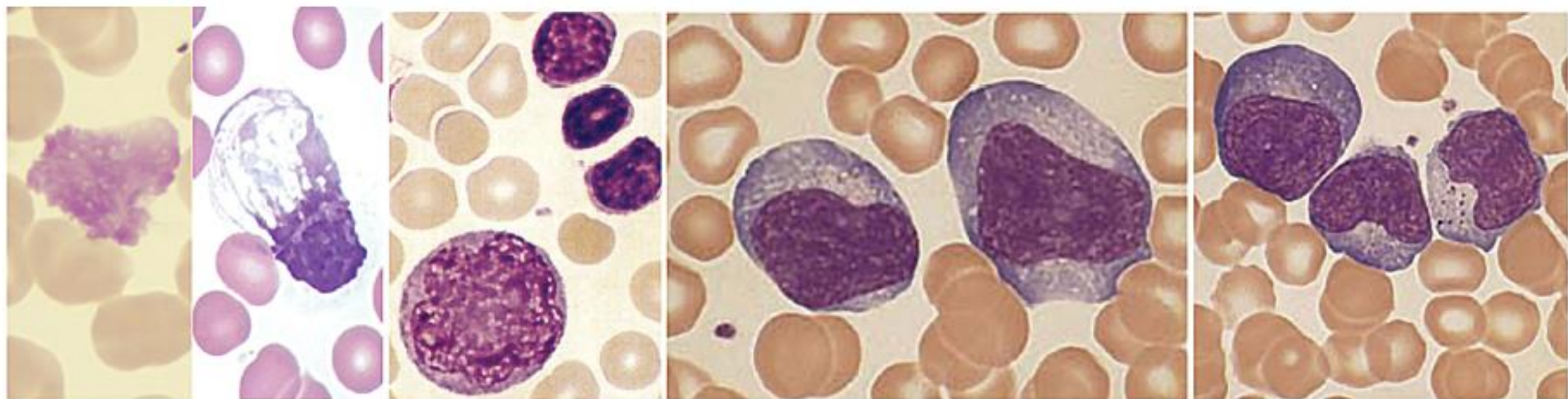


10 μ m

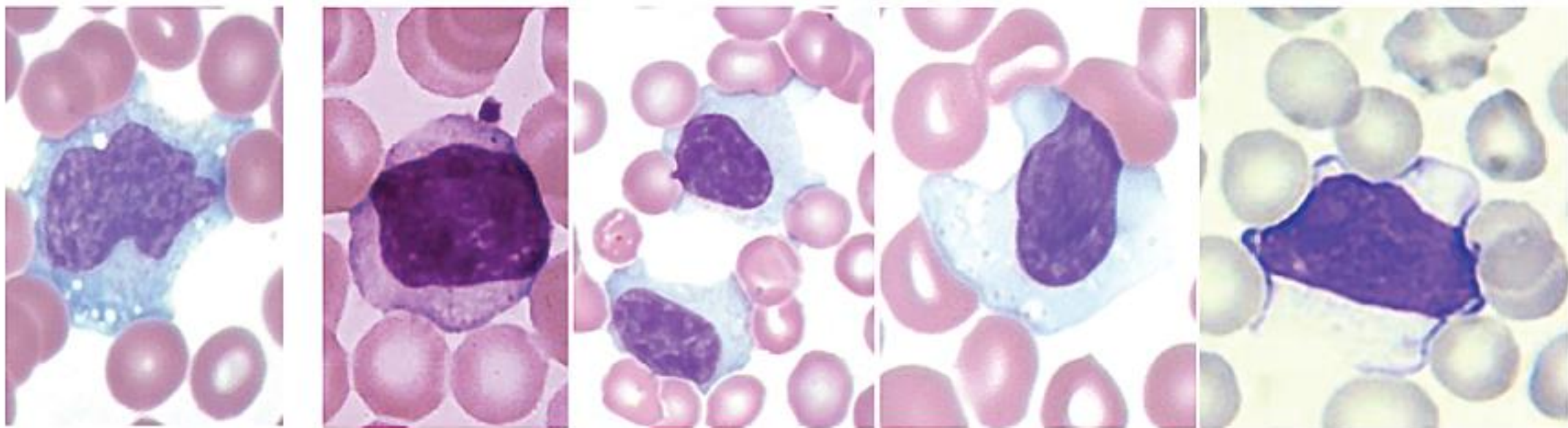
Rashidi H MD, Nguyen J MD et al. HematologyOutlines.com



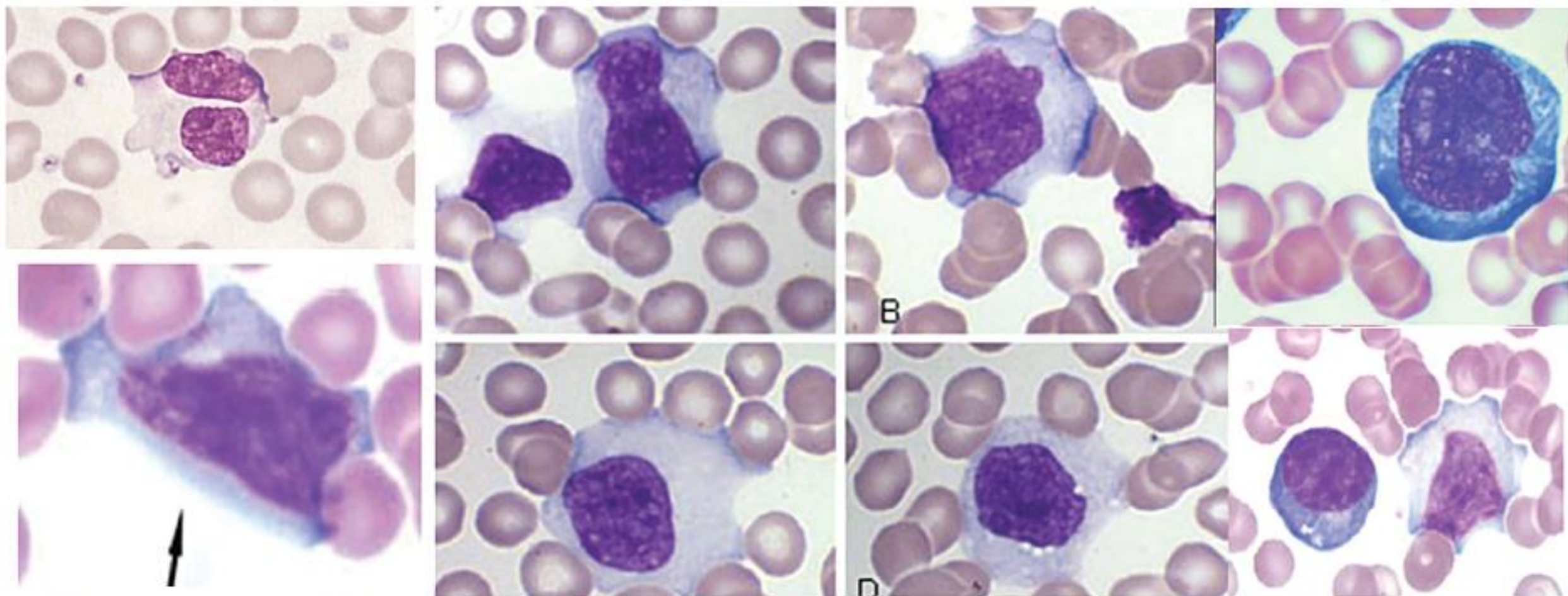
شکل ۸۸-۲۱: لنفوسیت‌های بزرگ و گرانول دار NK سل یا LGL که شباهت بالایی با لنفوسیت‌های گازدار (Gasser Cell) ناشی از سندرم آلدو-ریلی و سندرم گارگوئیلیسم دارند [۲۵].



شکل ۸۹-۲۱: از راست به چپ) لنفوسیت‌های آتیپیک دائونی I (پلاسماسیتوئید)، دائونی II (مونوسیتوئید) و دائونی III (بلاستوسیتوئید). حضور این سلول‌ها دلیل بر استحال و ترانسفورمیشن سلول‌های لنفوئیدی در پاسخ به تحریک آنتی ژنی می‌باشد. تصویر ۴ یک بسکت سل (لنفوسیت سبدمانند) و تصویر ۵ یک اسماج سل (لنفوسیت له شده) را نشان می‌دهند [۲۵].

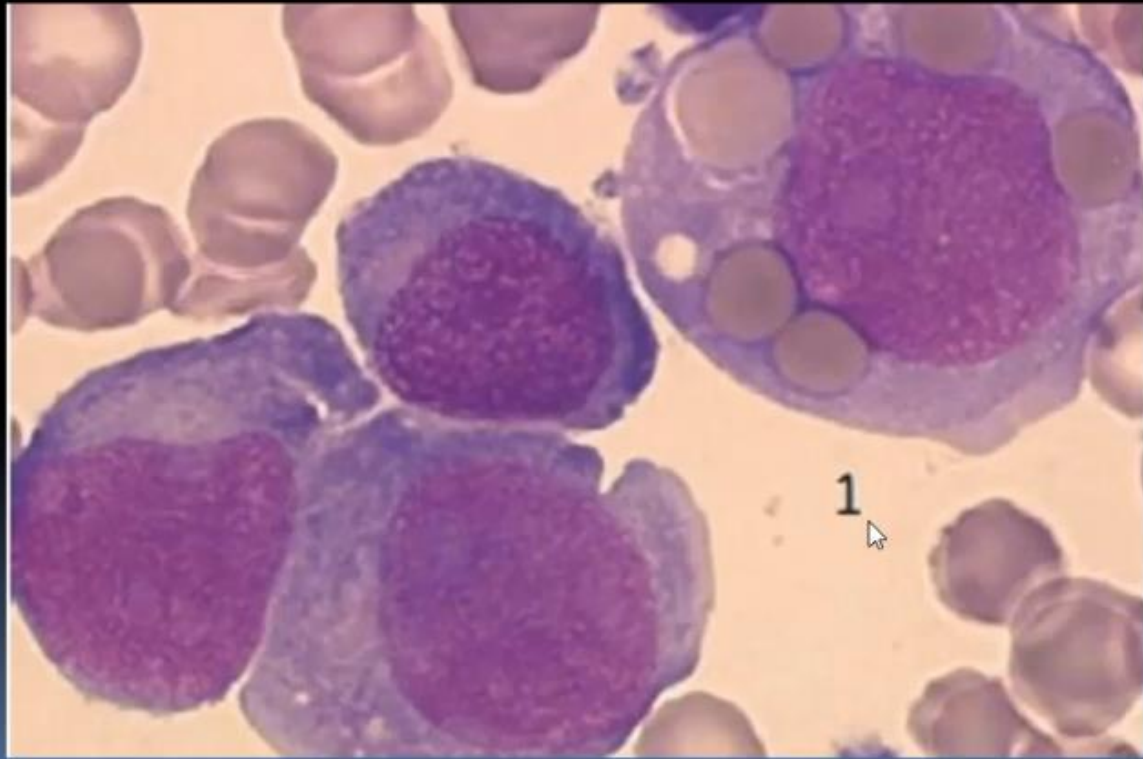


شکل ۸۷-۲۱: لنفوسیت‌های بزرگ با سیتوپلاسم بزرگ، کمرنگ، کم تراکم و شل که توسط سلول‌های اطراف شکل گرفته و به صورت دندان‌دار در آمده اند. اگر در کنار این سلول، طیفی از لنفوسیت‌های آتیپیک یا واریانت مشاهده شود، از این سلول‌ها تحت عنوان لنفوسیت آتیپیک دانونی II (مونوسیتوئید) یاد می‌شود. برخلاف لنفوسیت بزرگ، در مونوسیت‌ها (شکل سمت چپ) واکوئل سیتوپلاسمی، سیتوپلاسم کدر و خاکستری، ذرات گرد و غبارمانند، پاهای کاذب و کروماتین ظریف مشاهده می‌شود [۲۵].



شکل ۱۰۸-۵۹: نهایت تنوع در شکل و اندازه لنفوسیت‌های آتیپیک مشاهده می‌شود توجه داشته باشید که سلول‌های سرطانی بر خلاف لنفوسیت‌های آتیپیک تقریباً یکدست بوده و در غالب موارد با کم خونی و ترومبوسیتوپنی همراه می باشند.

Monoblastic leukemia with
erythrophagocytosis

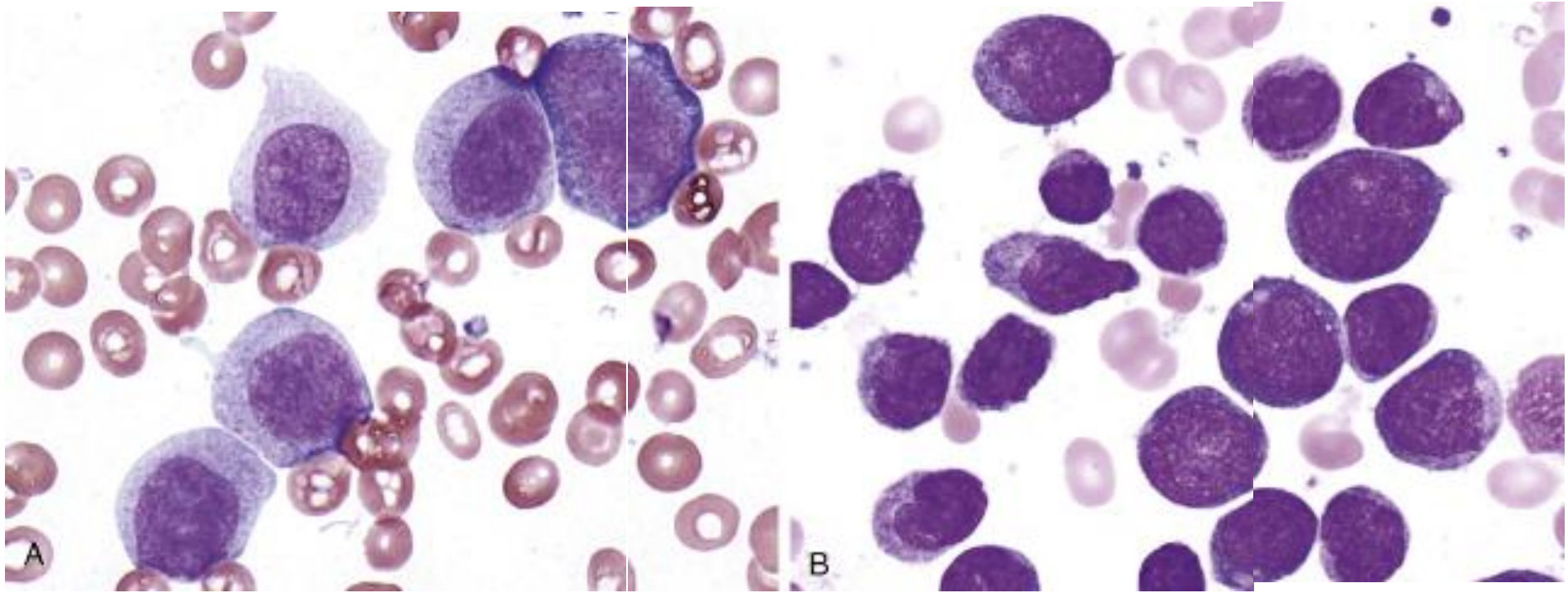


Undifferentiated monoblast
M5a

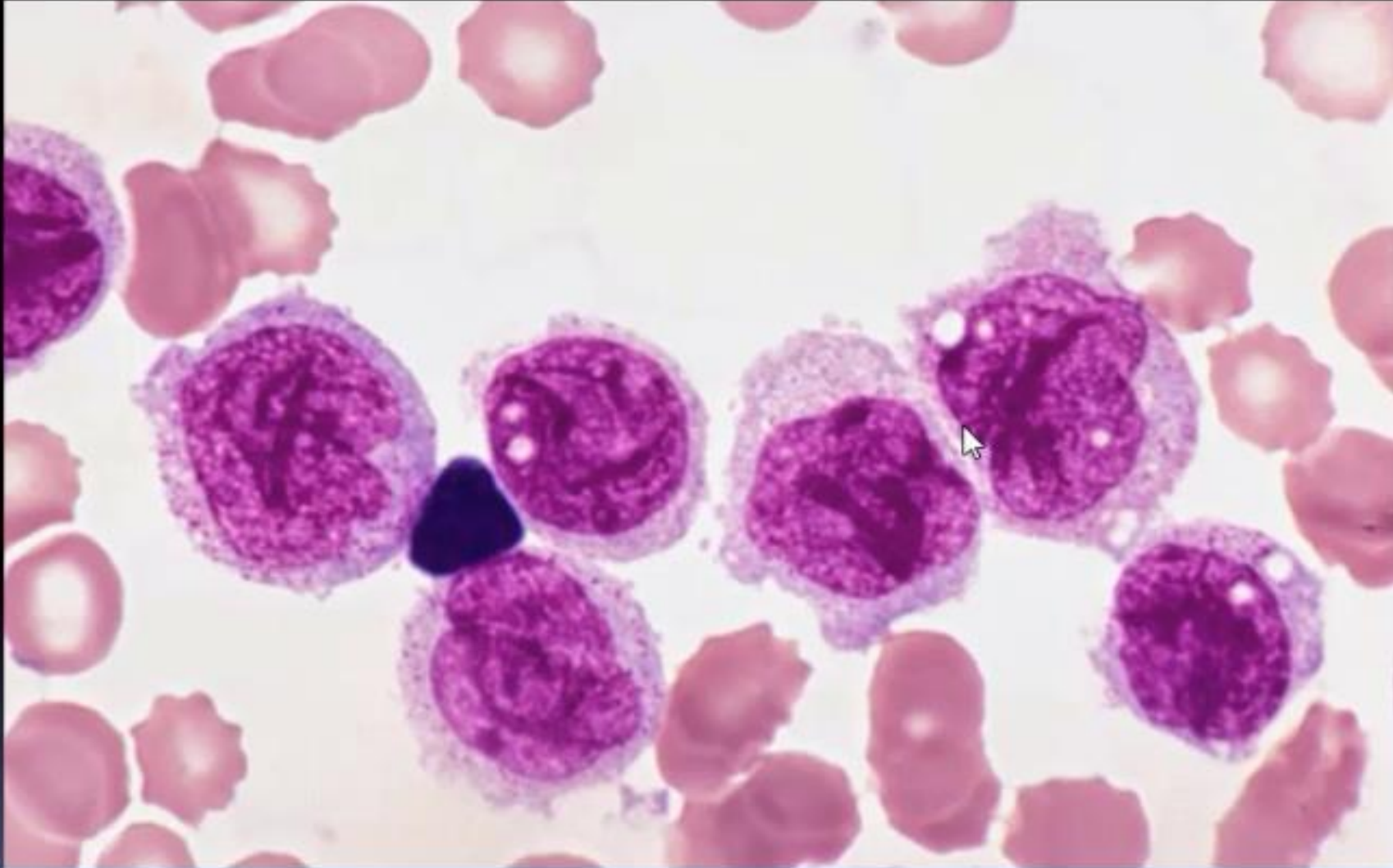


Acute myeloid leukemia with t(9;11)

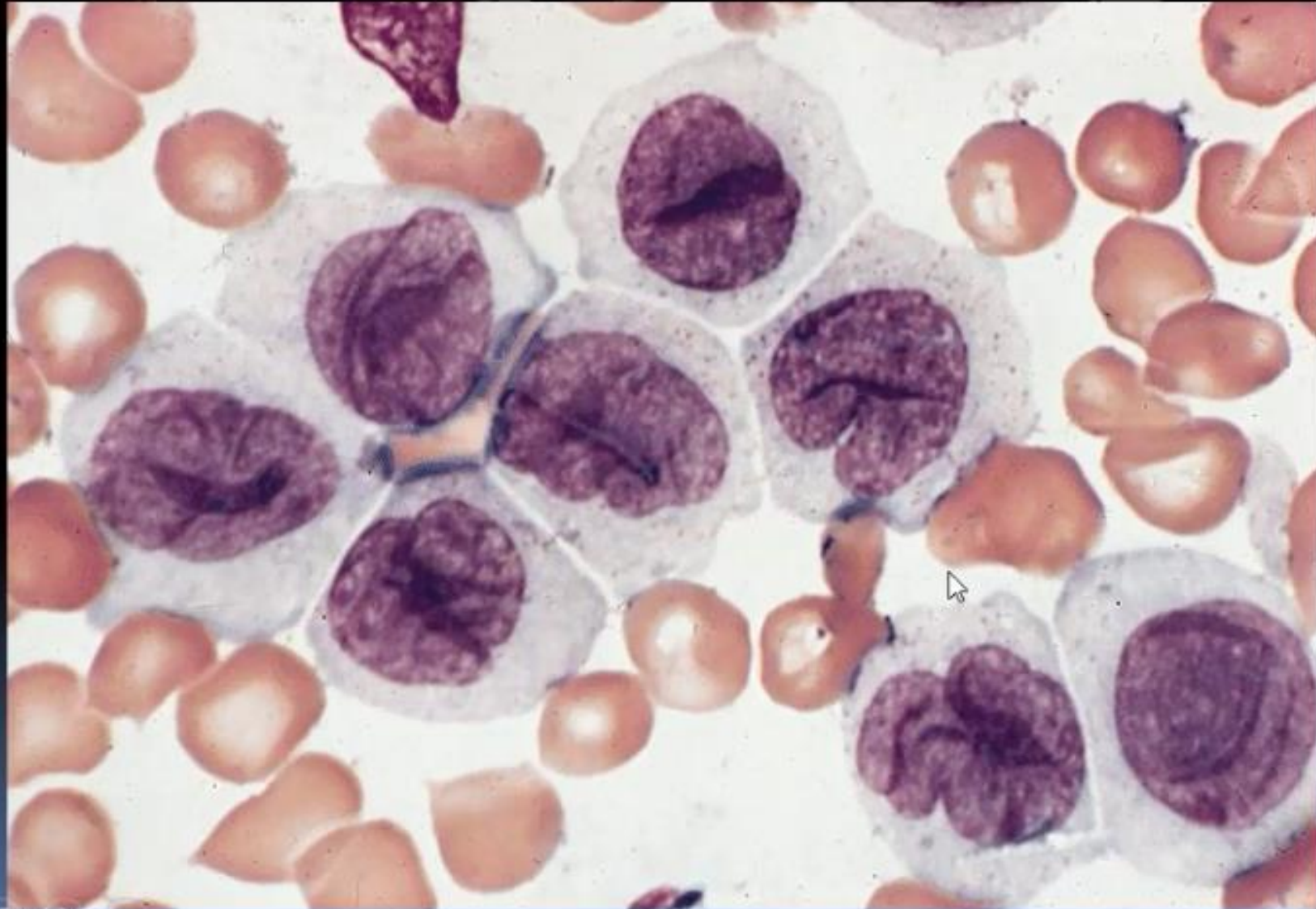
The morphologic appearance is variable. A, This case shows abundant basophilic cytoplasm, suggestive of monocytic differentiation. B, This case shows blasts with a more myeloblastic appearance, including some cells with granules. Although myelomonocytic or monocytic features are most common, **there are no specific morphologic features of this translocation.**



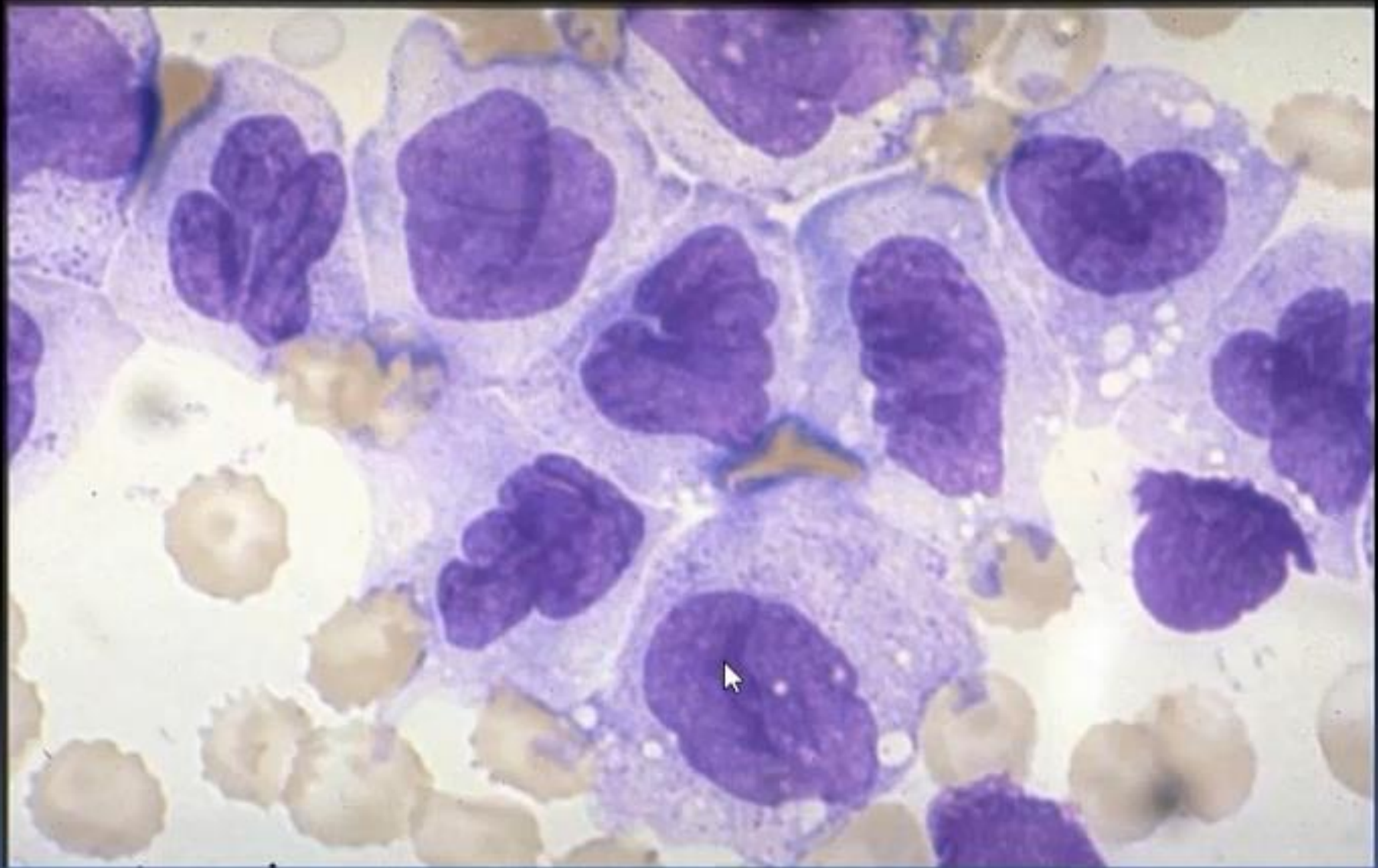
Diffrentiated monoblast M5b



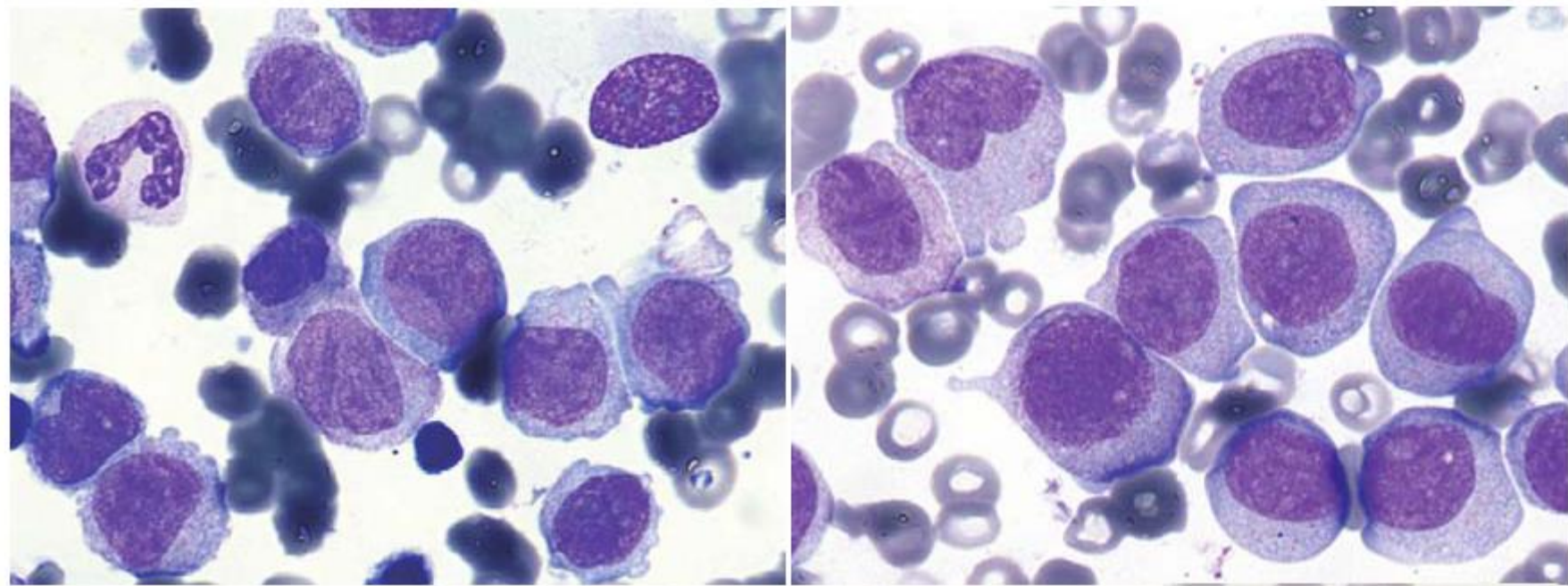
Monoblastic leukemia am1 m5b



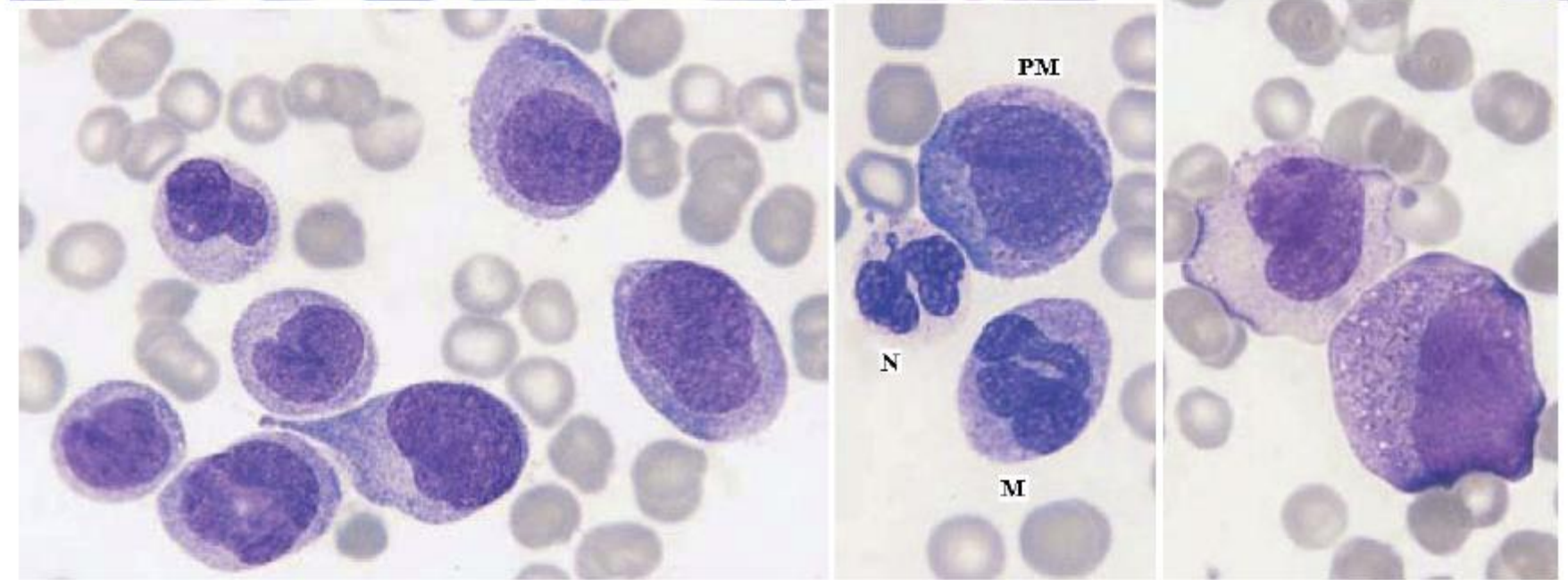
AML M5b



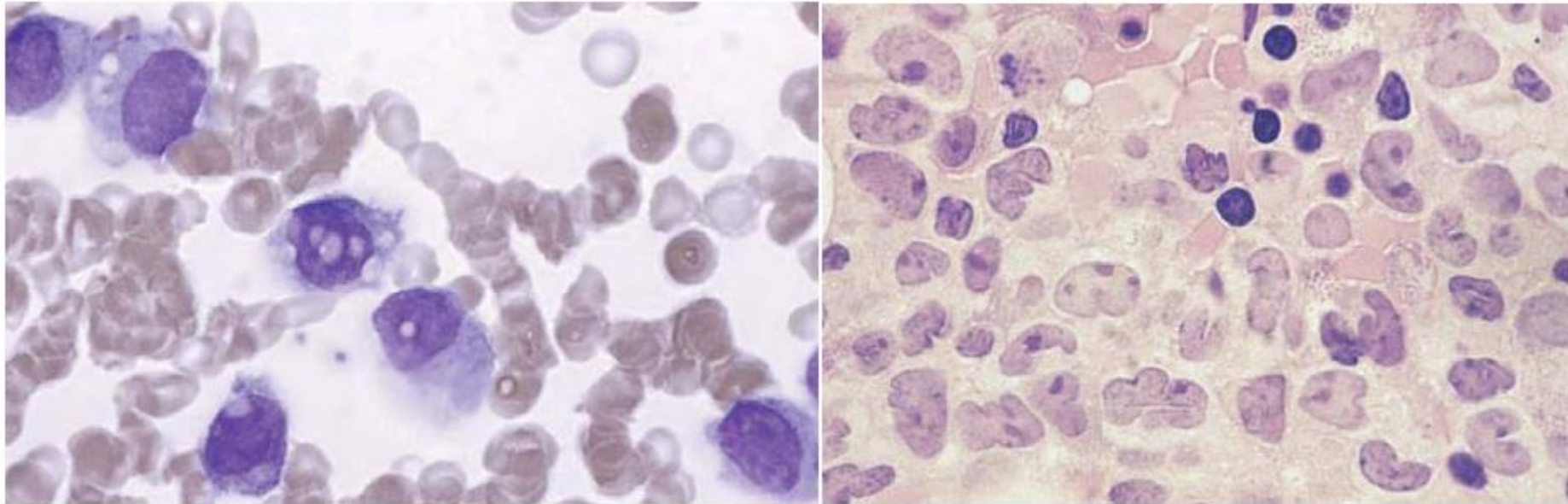
و
ای
ای
نته
به
رد



می‌ت
تصد
گرا
در
باشد
عنوان
ML



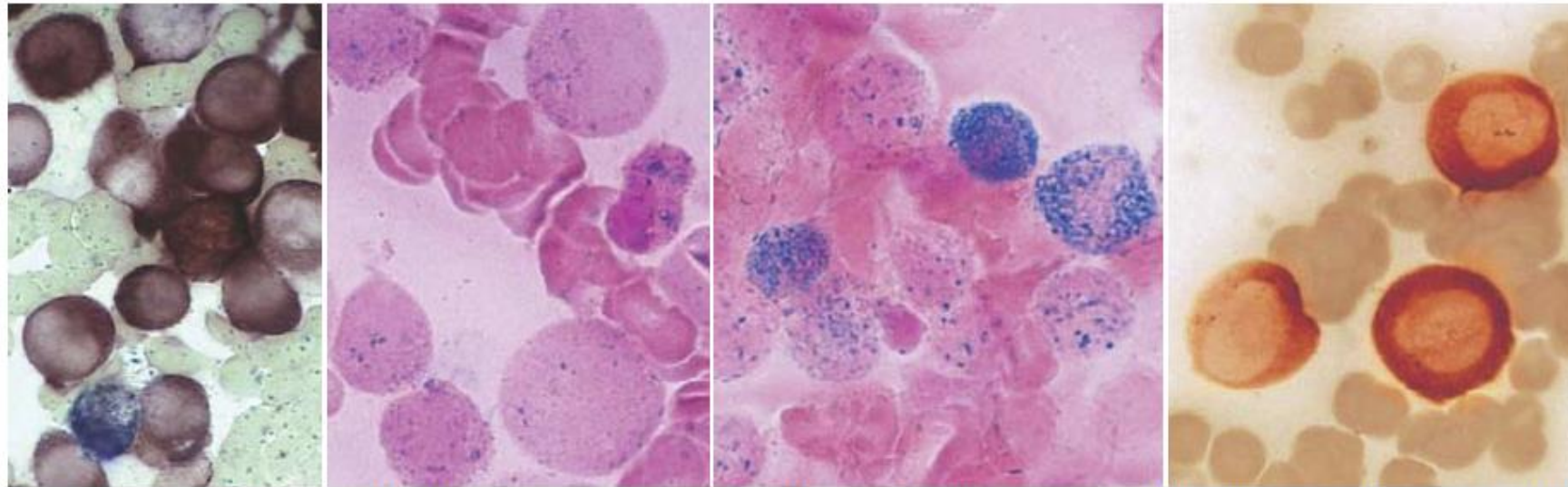
شکل ۴۷-۶۹: گستره خون محیطی از M5b که در آن تعداد زیادی پرومونیوسیت گرانوله با گرانول‌های آزر قرمز دیده می‌شود.



شکل ۴۸-۶۹: راست) برش پاتولوژیکی از پیوسی ترفین بیمار مبتلا به M5b-AML توأم با میلودیسپلازی. مونوبلاست‌ها و مونوسیت‌ها قابل شناسایی هستند. مونوبلاست‌ها سلول‌هایی هستند بزرگ با هسته گرد یا لوبوله. الگوی کروماتینی باز و هستک مشخص، ولی مونوسیت‌ها کوچکتر بوده. هسته لوبوله داشته و کروماتین کلامپ‌تری دارند. سلول‌های حاوی هسته کوچک تیره، اریتوبلاست‌ها هستند که یکی از آنها هسته ای با شکل غیرطبیعی دارد. چپ) لام مغزاستخوان بیمار مبتلا به لوسمی M5 که مورفولوژی و تمایز متفاوت دارد (M5c).

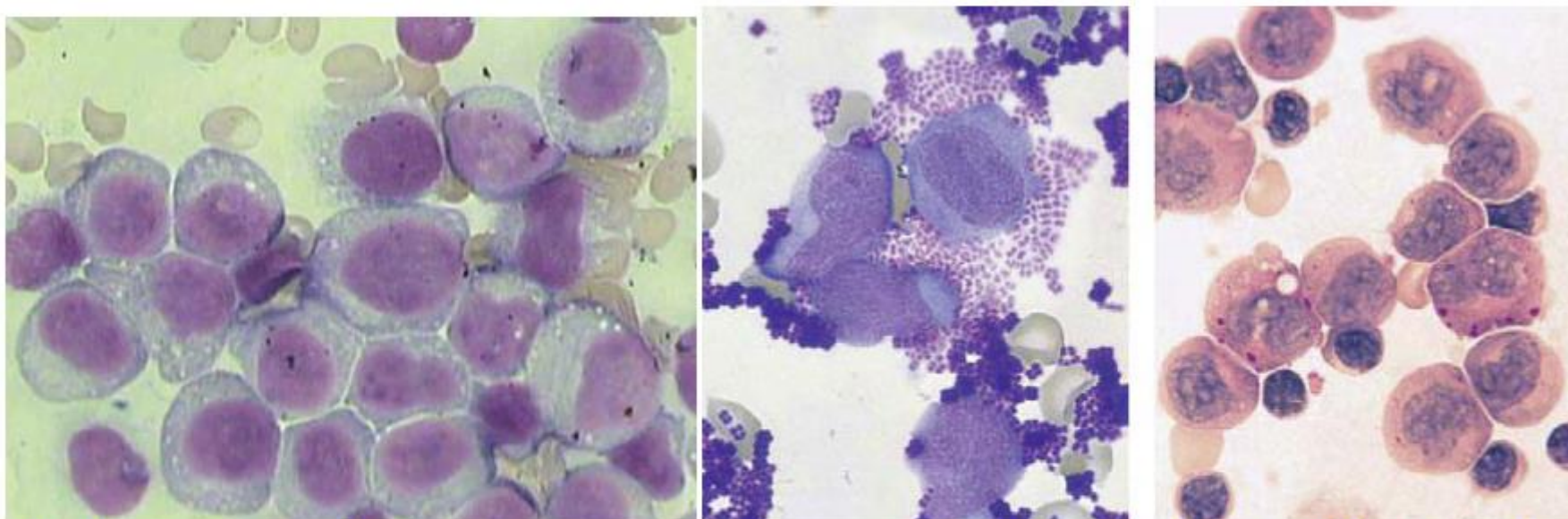
واکنش‌های سیتوشیمیایی در M5-AML:

معمولاً واکنش‌های MPO و SBB در M5a منفی بوده، هر چند تعدادی گرانول ریز با واکنش مثبت نیز ممکن است در سلول‌ها دیده شود. واکنش با CAE نیز منفی یا بسیار ضعیف است. همان‌طور که ذکر شد، هاپهو و کواگلینو دریافتند که رنگ SBB نسبت به MPO در آشکارسازی تمایز مونوسیتی حساستر عمل می‌کند، آنها متوجه شدند که هنگام رنگ‌آمیزی با SBB، گرانول‌های مونوبلاست‌ها معمولاً حالت پراکنده و ریز داشته در حالی که در میلوبلاست‌ها، واکنش رنگی یا متمرکز و لوکالیزه بوده و یا کل سیتوپلاسم را پر کرده و می‌پوشاند. مونوبلاست‌ها به طور مشخص نسبت به MPO منفی بوده ولی با NSE‌ها مثل ANAE، ANBE و NASDA (NASA) واکنش شدیداً مثبتی می‌دهد که البته تمام این فعالیت‌های استرازی توسط فلوراید مهار می‌شود. ولی فقط در مورد انجام تست NASDA است که حضور و فقدان فلوراید برای نشان دادن اختصاصیت واکنش ضروری است. در رابطه با ANAE و ANBE، واکنش در سلول‌های رده گرانولوسیتی منفی یا ضعیف است. البته گاهی نیز واکنش‌های استرازی نابجا و گمراه‌کننده‌ای دیده می‌شود، به طوری که در برخی موارد واکنش در برابر NSE منفی می‌شود یا در برخی موارد که واکنش برای NSE بسیار قوی و شدید است، با CAE نیز واکنش مثبت می‌دهد. مونوبلاست‌ها فعالیت اسیدفسفاتازی منتشره‌ای دارند که به نظر می‌رسد همانند فعالیت NSE از نظر زمانی نسبت به SBB و MPO مقدم‌تر بوده و قبل از این دو واکنش آن مثبت می‌شود.



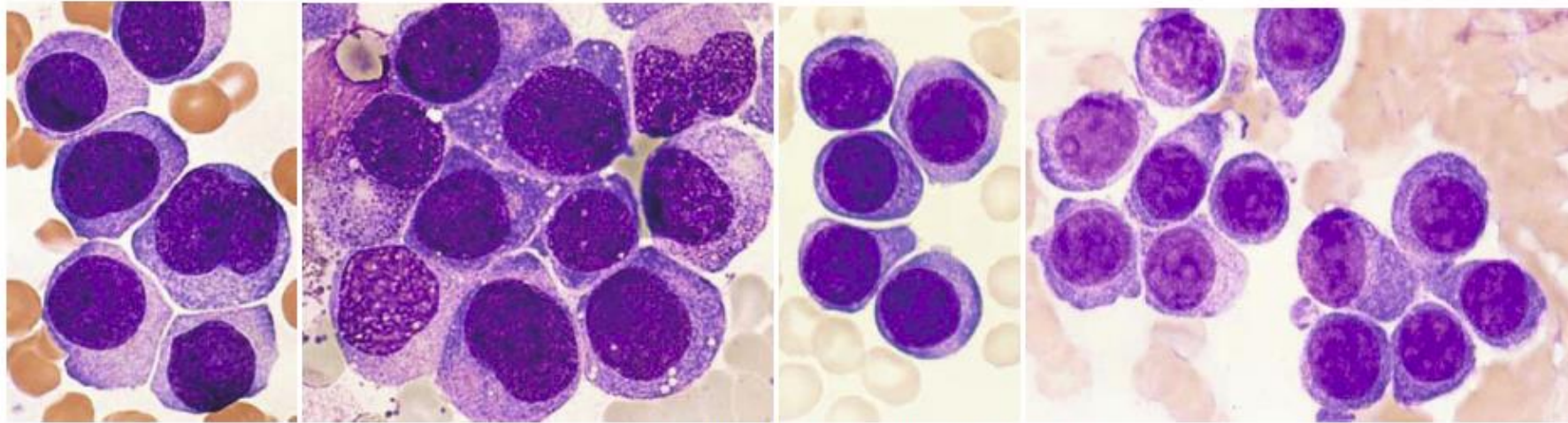
شکل ۴۹-۶۹: (۱) مغزاستخوان یک بیمار مبتلا به M5a-AML که برای α NAE رنگ‌آمیزی شده است، (۲ و ۳) مغزاستخوان بیمار مبتلا به M5b-AML که برای NASA رنگ‌آمیزی شده است که (۲) بدون فلوراید و (۳) همراه فلوراید مهارکننده می‌باشد (مهار فعالیت NASA توسط فلوراید مشهود است). (۴) واکنش دابل استراز که در آن یک عدد نوتروفیل با CAE (آبی) واکنش داده و بقیه سلول‌ها که مونوبلاست هستند، با یک NSE (قهوه‌ای) واکنش داده‌اند.

فعالیت لیزوزیمی را نیز می‌توان به وسیله سیتوشیمی نشان داد که تقریباً این فعالیت به طور همزمان با فعالیت MPO بروز می‌کند. در این تست سلول‌های لوسمیک بیمار را با باکتری میکروکوکوس لیزودئیکتیکوس^۱ مجاورت می‌دهند، برخی از سلول‌های لوسمیک که لیزوزیم ترشح می‌کنند، باکتری مجاور را لیز نموده و لذا این باکتری‌ها در مقایسه با دیگر باکتری‌های دست نخورده، رنگ پریده‌تر و کمرنگ‌تر دیده می‌شود. واکنش PAS در مونوبلاست‌ها یا منفی و یا مثبت منتشره است که در روی آن گرانول‌های ریز یا درشت PAS قرار می‌گیرد، یا به طور اتفاقی و در چند نقطه، بلوک‌های PAS مثبت در زمینه منتشره مثبت دیده می‌شود (به عبارتی، زمینه یا بک‌گراند به صورت منفی یا مثبت ضعیف منتشره است که بر روی آن بلوک‌ها یا گرانول‌های ریز یا درشت مثبت قرار گرفته است). معمولاً در M5 عیار NAP در حد نرمال یا بالا است در حالی که در AML‌هایی که در آنها بلوغ گرانولوسیتی وجود دارد، عیار NAP پایین بوده و حالت عکس دارد.

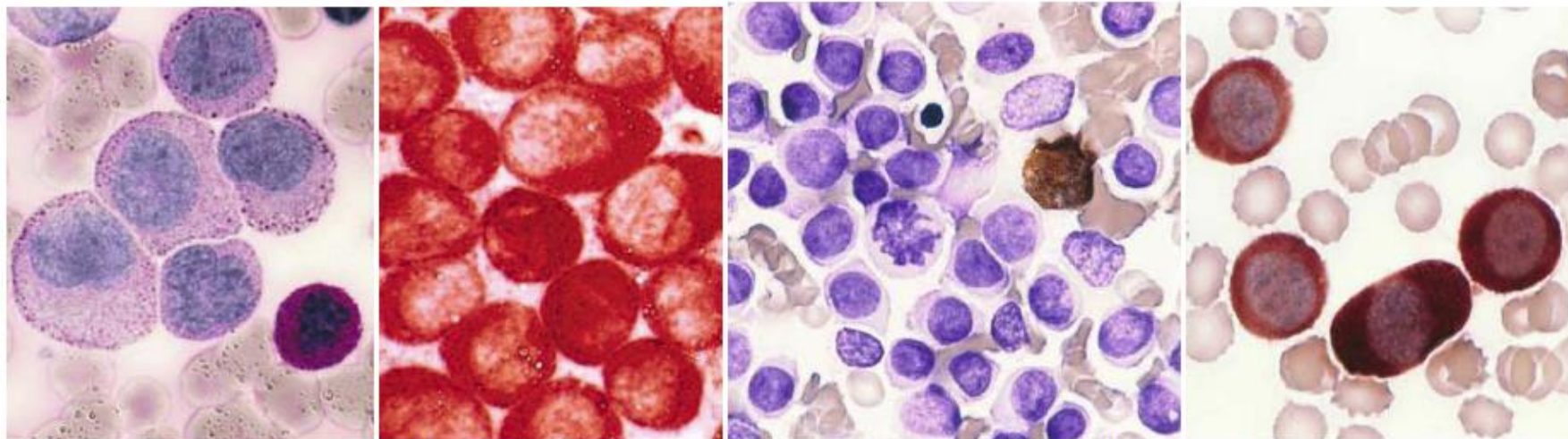


شکل ۵۰-۶۹: ۱) رنگ آمیزی PAS خون محیطی بیمار M5a-AML که بلوک‌ها گرانول‌های مثبتی را روی زمینه‌ای منتشر نشان می‌دهد. ۲) بررسی فعالیت لیزوزیم در یک بیمار M5b-AML که در آن، سلول‌های لوسمیک را با سوسپانسیونی از باکتری میکروکوکوس لیزودئیکتیکوس مخلوط می‌کنند، برخی از سلول‌های لوسمیک که لیزوزیم ترشح نموده و باکتری‌های مجاور خود را لیز می‌کنند، کمرنگ‌تر از دیگر باکتری‌های دست نخورده مشاهده می‌شوند. ۳) مونوبلاست‌های ابتدایی خون محیطی در بیمار مبتلا به M5a

باید توجه داشت که در برخی از موارد M5a به دلیل نارس بودن شدید مونوبلاست‌ها، همه واکنش‌های MPO، NSE و SBB منفی می‌شود که چنین مواردی را تنها زمانی به عنوان مونوبلاستیک به حساب می‌آوریم که خصوصیات سیتولوژیکی آنها با استفاده از روش‌های ایمونوفنوتایپ (مثل بررسی CD14، CD68 و CD11) بررسی و تأیید شده باشد (روش MIC یا MIC-M)، چراکه اگر از روش FAB استفاده شود، چنین مواردی تحت عنوان M0 طبقه‌بندی خواهند شد، از این رو می‌توان گفت که تشخیص موارد M5a به رویکردهای جدیدتر نیاز دارد.

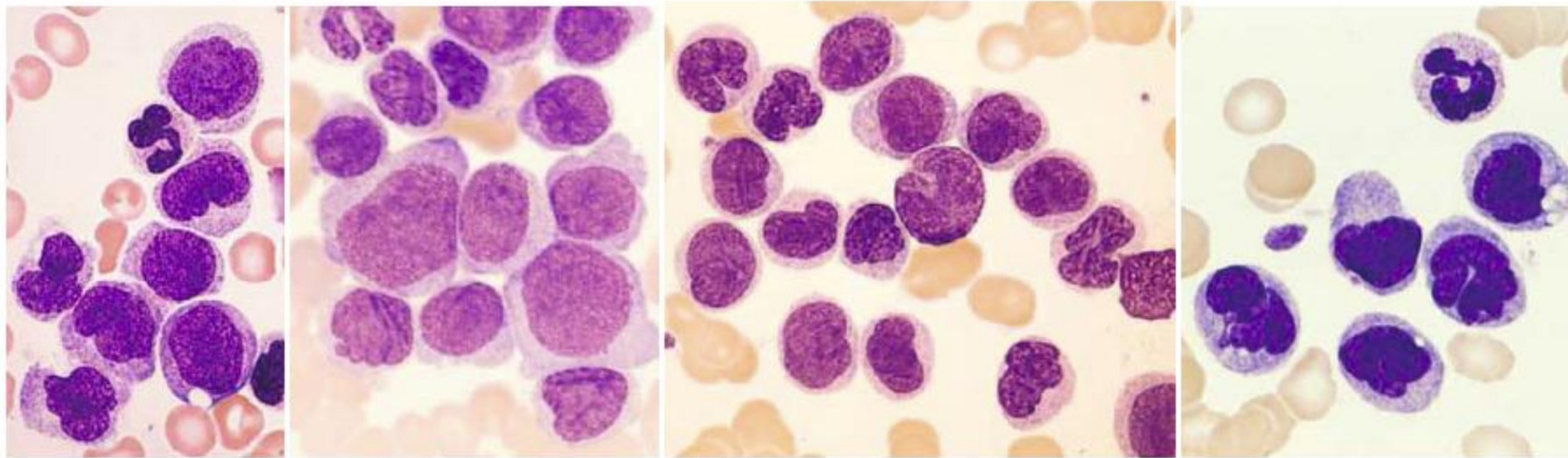


شکل ۵۱-۶۹: تصویر انواع مونوبلاست‌ها در M5a با بیش از ۸۰٪ مونوبلاست

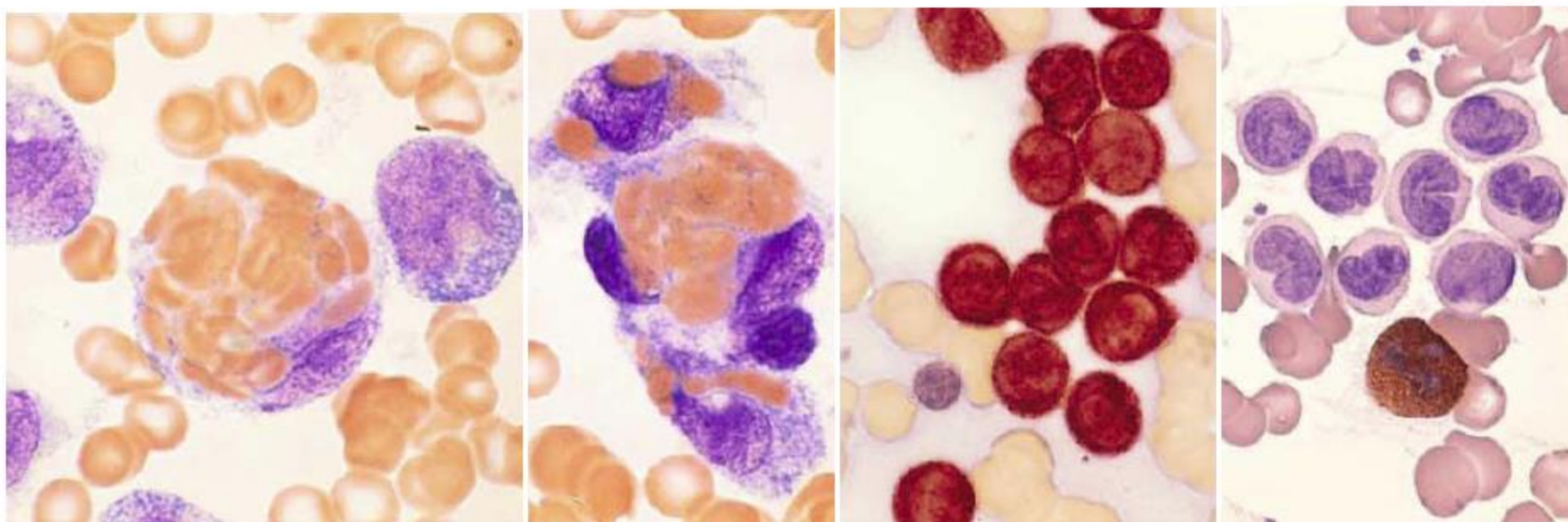


شکل ۵۱-۶۹: تصویر (۱) مونوبلاست با واکنش ANAE+ (۲) یک نوتروفیل MPO+ و ده‌ها مونوبلاست MPO- (۳) مونوبلاست‌های شدیداً ANAE+ و (۴) نوتروفیل با PAS+ منتشره و مونوبلاست-

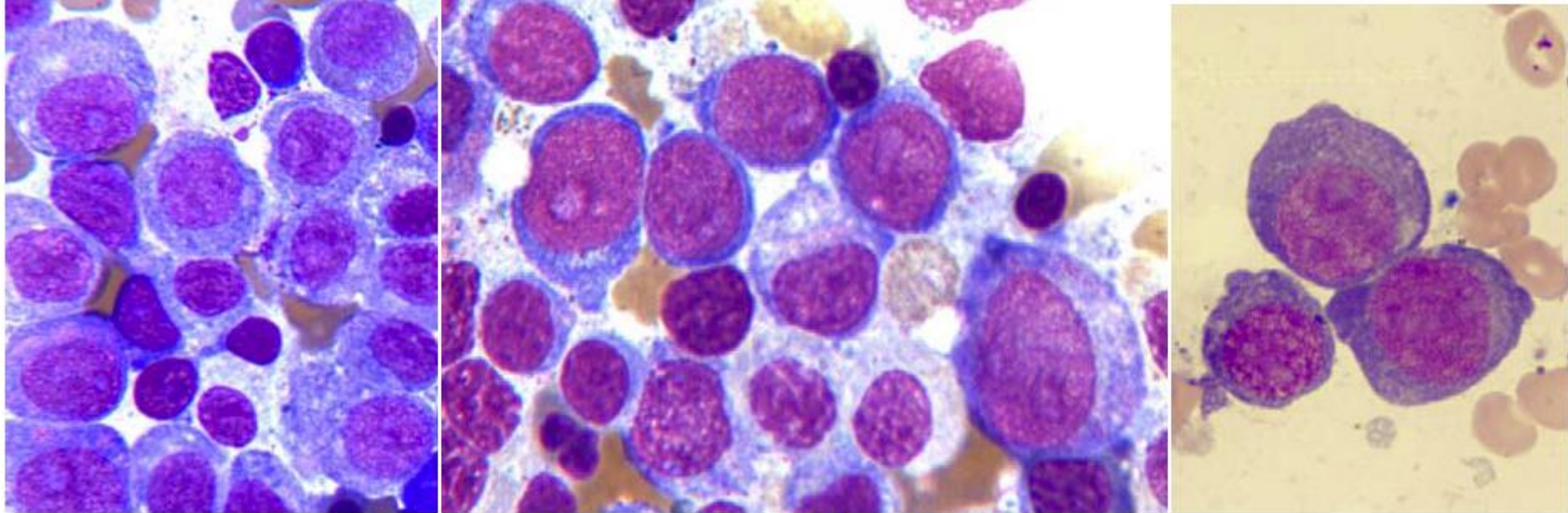
ها با PAS+ منتشره ضعیف و گرانول‌های PAS+ حاشیه‌ای در M5a



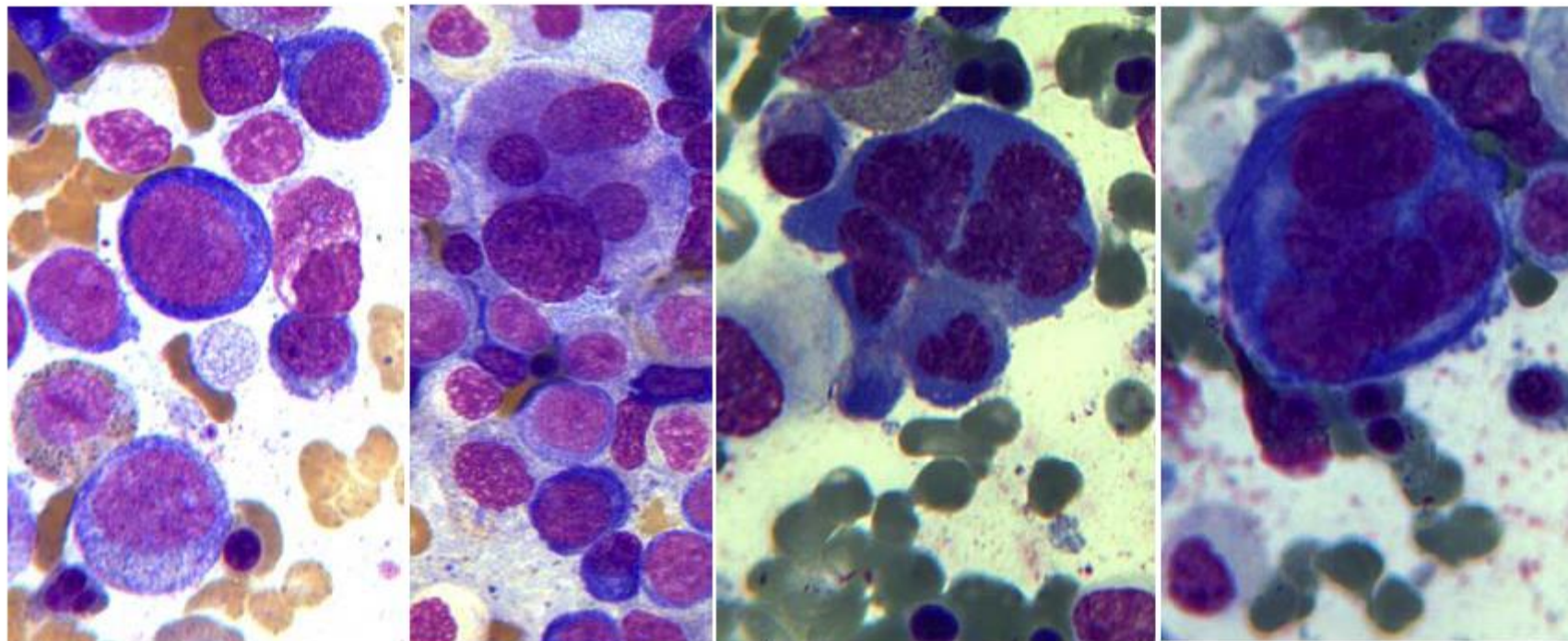
شکل ۵۲-۶۹: تصویر انواع مونوبلاست‌ها و پرومونوسیت‌ها در M5b با کمتر از ۸۰٪ مونوبلاست



شکل ۵۳-۶۹: تصویر (۱) یک نوتروفیل MPO+ و ۸ مونوبلاست MPO-، (۲) مونوبلاست‌های شدیداً ANAE+ و (۳) اریتروفاگوسیتوز در M5b



شکل ۵۴-۶۹: پرونورموبلاست‌ها و بازوفیلیک نورموبلاست‌های غالب در BM بیمار مبتلا به AML-M6



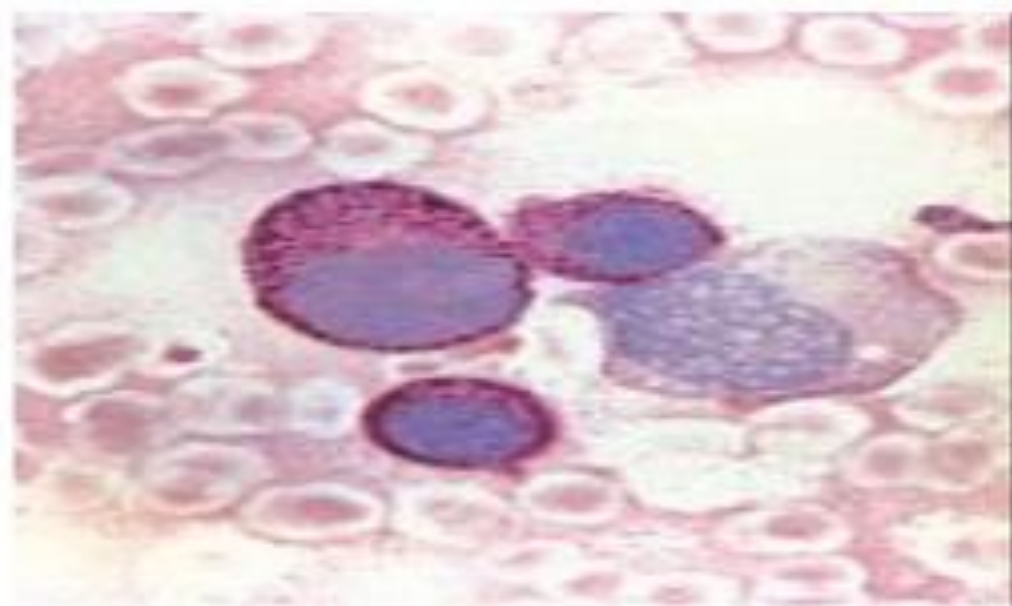
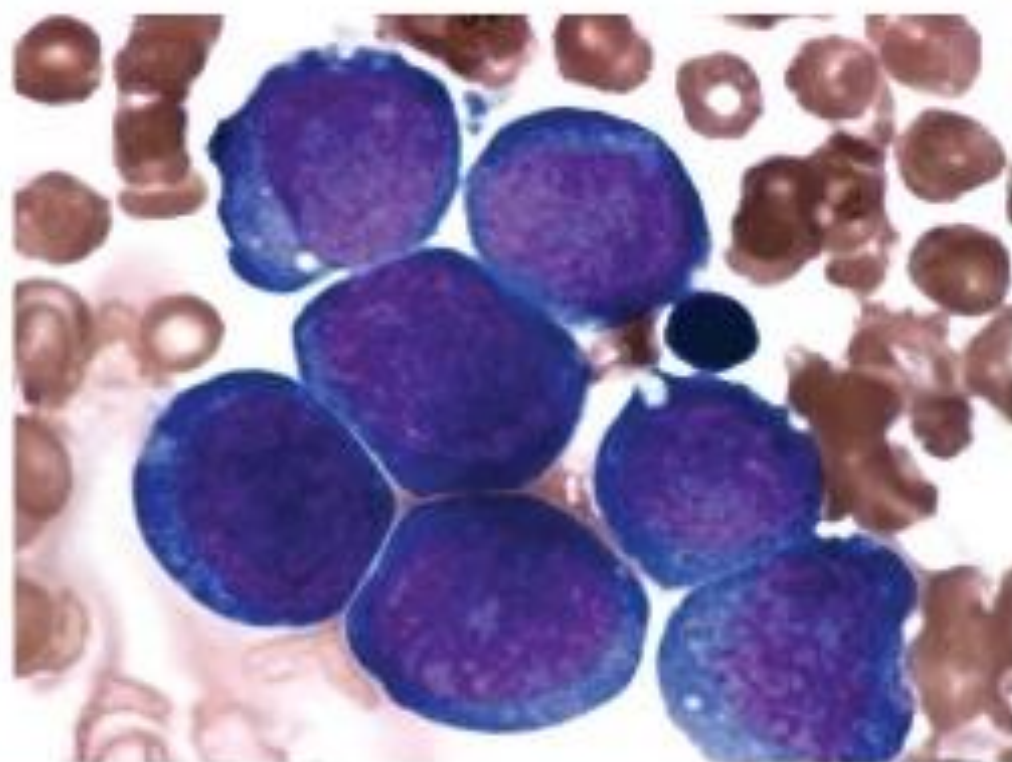
شکل ۵۵-۶۹: گستره BM بیمار مبتلا به AML-M6 که هیپرپلازی اریتروئیدی توأم با دیسپلازی ۲-۳ رده‌ای با غالبیت دیسپلازی اریتروئیدی را نشان می‌دهد.

AML-M6 (ERYTHROLEUKEMIA)

-
- Predominant cells in the bone marrow is erythroblast.
 - Predominant feature is anemia with striking poikilocytosis and anisocytosis.
 - The diagnosis of erythroleucaemia can be done if more than 50% of bone marrow cells are erythroid and 30% of remaining are blast.
 - True erythro leukemia occurs when BM is replaced by proliferating normoblast showing no maturation beyond basophilic normoblasts.

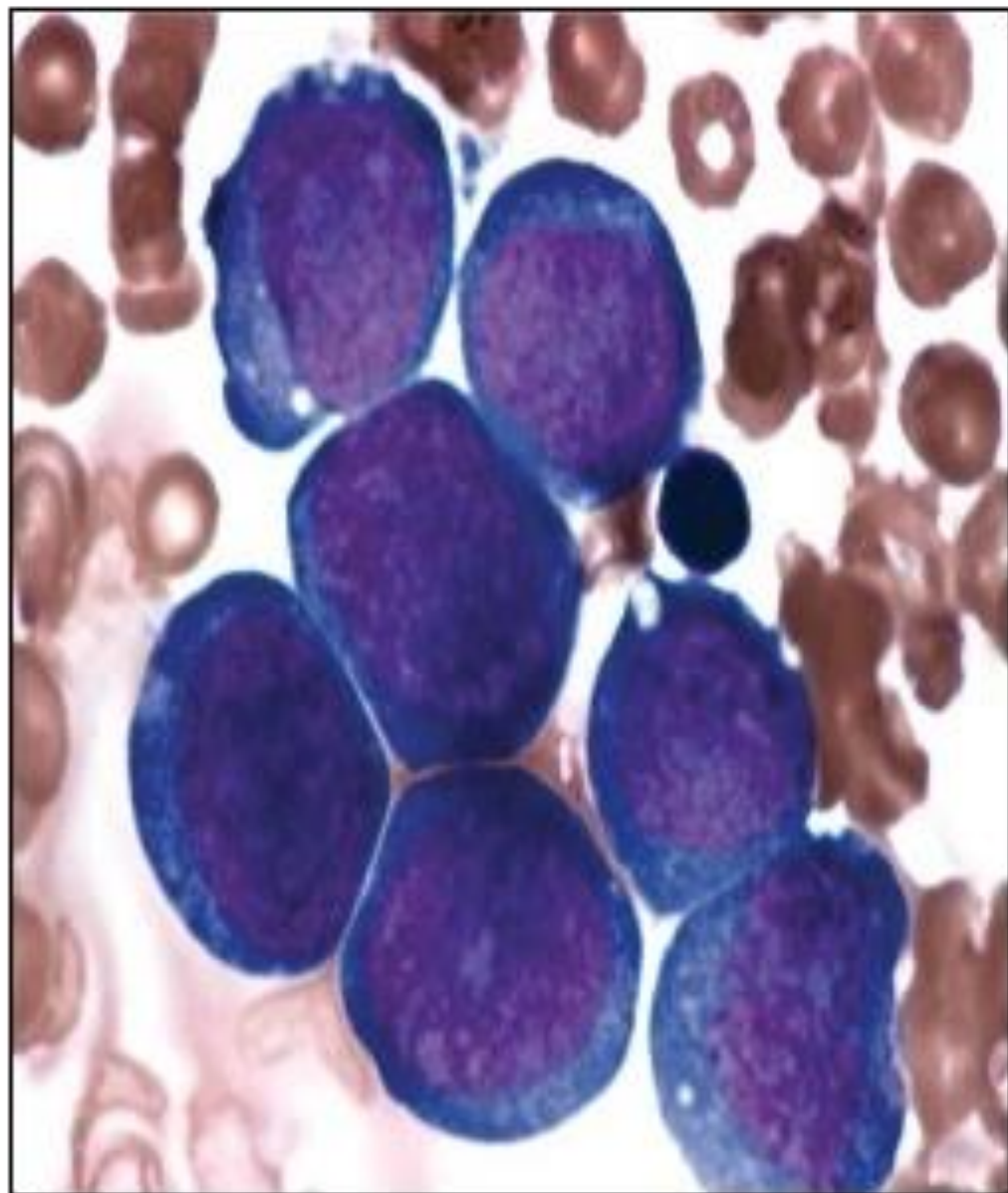
6. Pure erythroid leukemia:

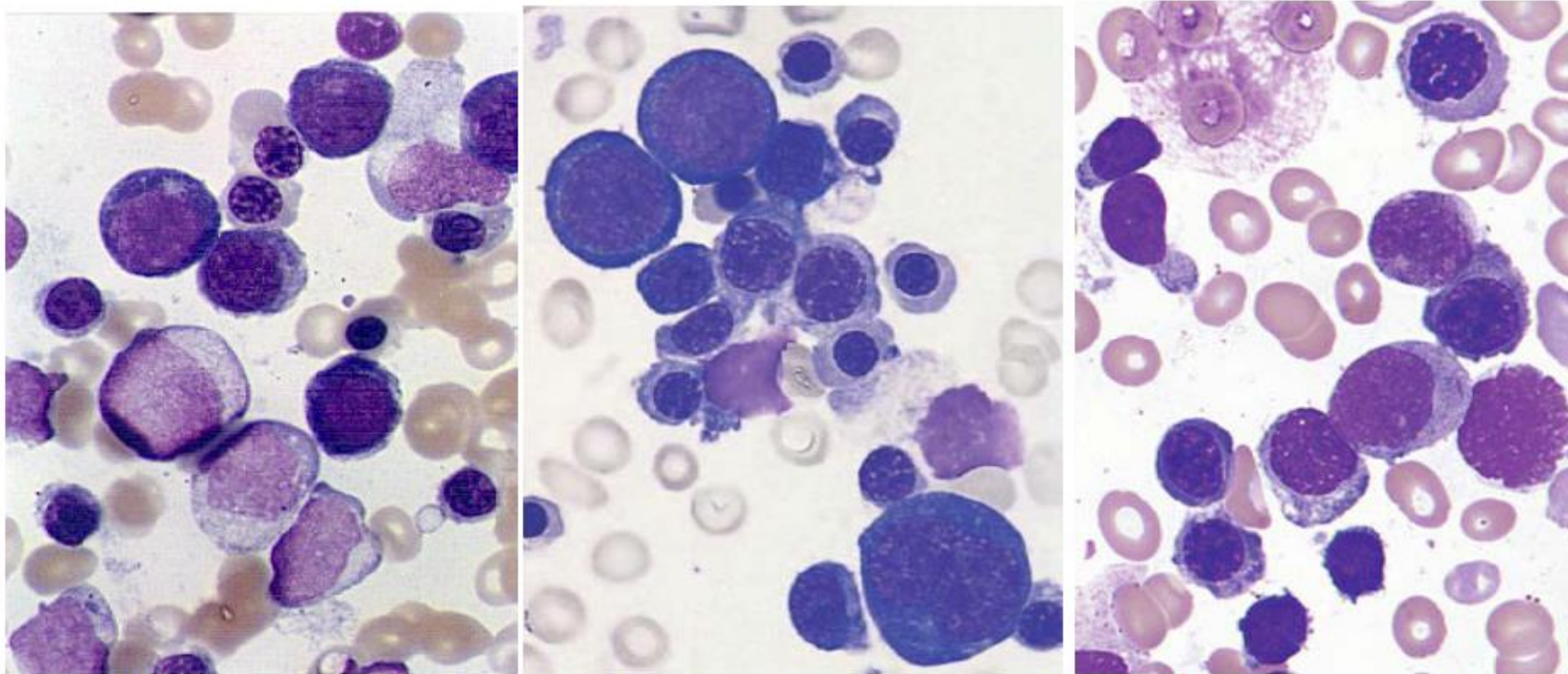
- FAB type: AML-M6.
- > 80% of the bone marrow cells are erythroid, with $\geq 30\%$ proerythroblasts), with no evidence of a significant myeloblastic component.
- Cases previously classified as erythroleukemia (erythroid/myeloid type) on the basis of counting myeloblasts as a percentage of non-erythroid cells when erythroid precursor cells constituted $\geq 50\%$ of the marrow cells are now classified **on the basis of the total bone marrow or peripheral blood blast cell count:**
 - If blasts constitute < 20% of all marrow or blood cells: MDS with excess blasts.
 - If blasts constitute $\geq 20\%$ of the cells: acute myeloid leukemia (AML) with myelodysplasia-related changes.
- Key differential diagnosis include: Burkitt lymphoma, megaloblastic anemia.



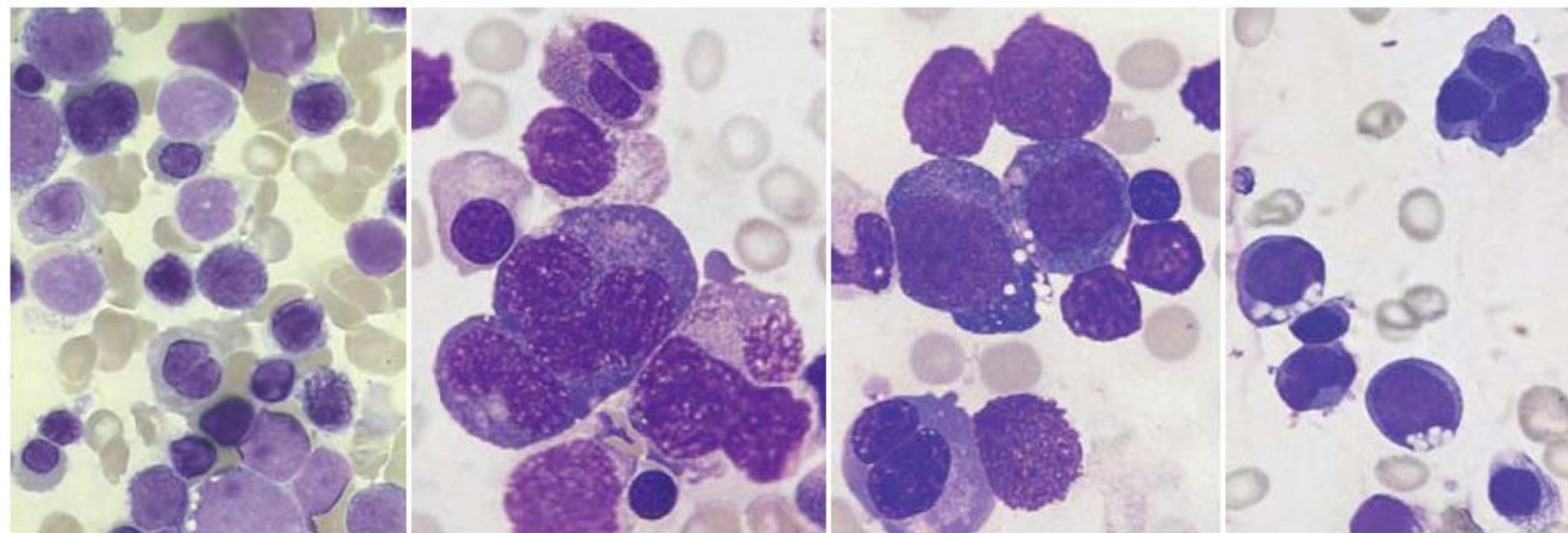
4. Erythroblasts:

- Blast equivalent in pure erythroid leukemia.
- Size: Variably sized, small to large.
- Nucleus:
 - Round nucleus.
 - Fine/immature chromatin.
 - Prominent nucleolus.
- Cytoplasm:
 - Deeply basophilic cytoplasm.
 - Cytoplasmic vacuoles.



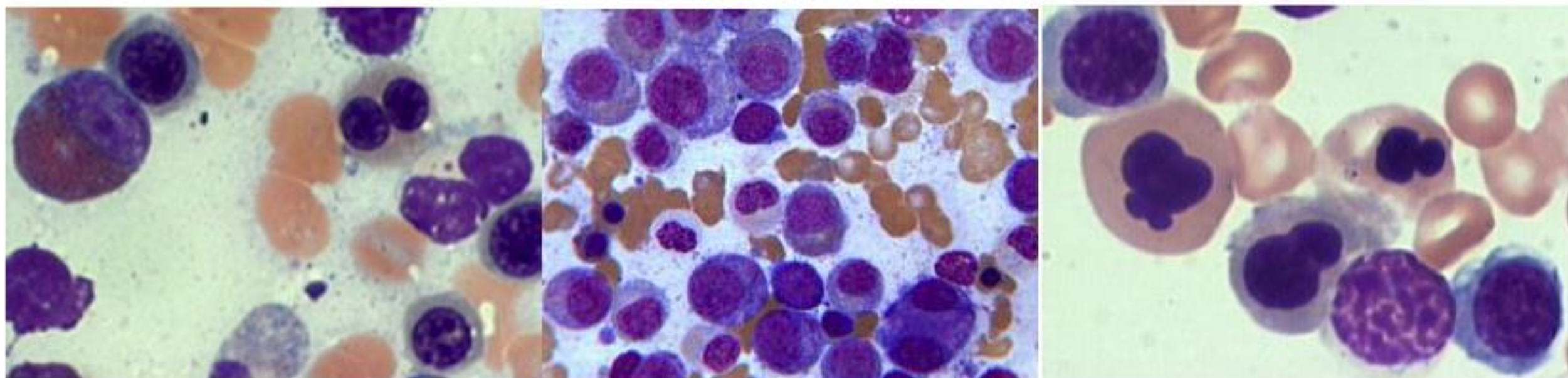


شکل ۵۶-۶۹: مشاهده نورموبلاست‌ها و میلو بلاست‌ها (با غالبیت نورموبلاست‌ها) به همراه دیسپلازی اریتروئیدی در لوسمی M6. یک آتور راد نیز در میلو بلاست تصویر | مشاهده می‌شود.

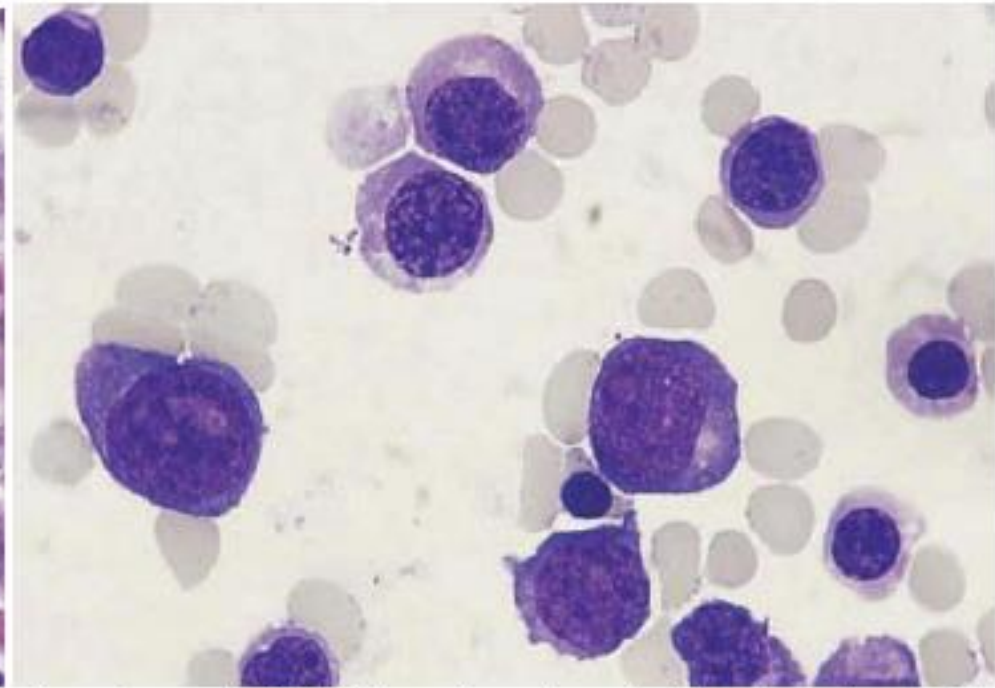
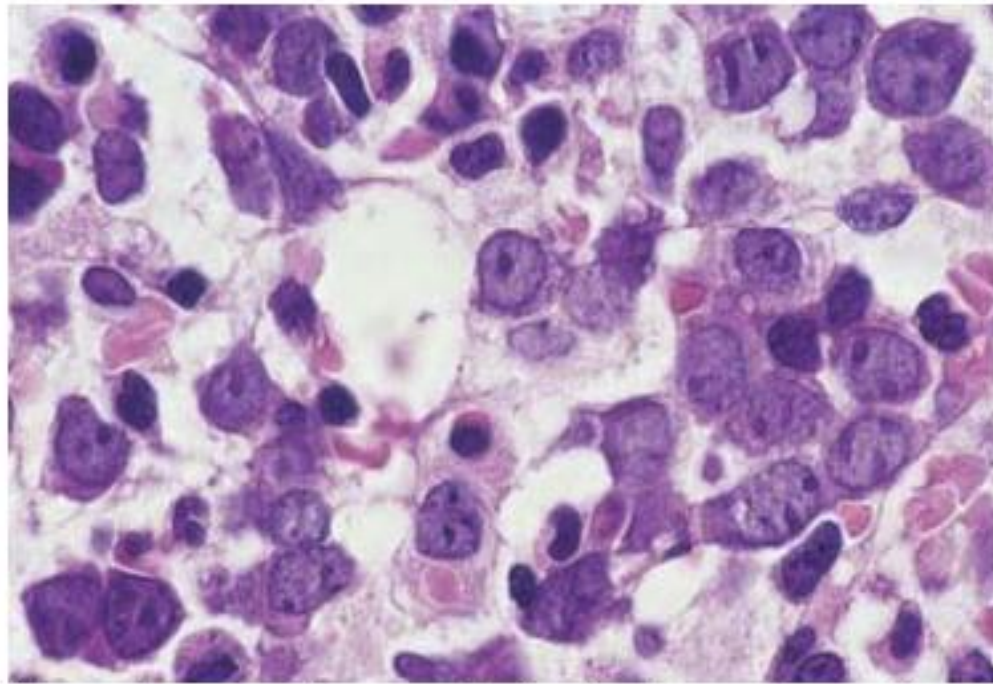


شکل ۵۷-۶۹: مشاهده نورموبلاست‌ها و میلو بلاست‌ها (با غالبیت نورموبلاست‌ها) به همراه هیپرپلازی و دیسپلازی شدید اریتروئیدی (نورموبلاست‌های چند هسته‌ای، جایانت و واکوئول PAS مثبت)

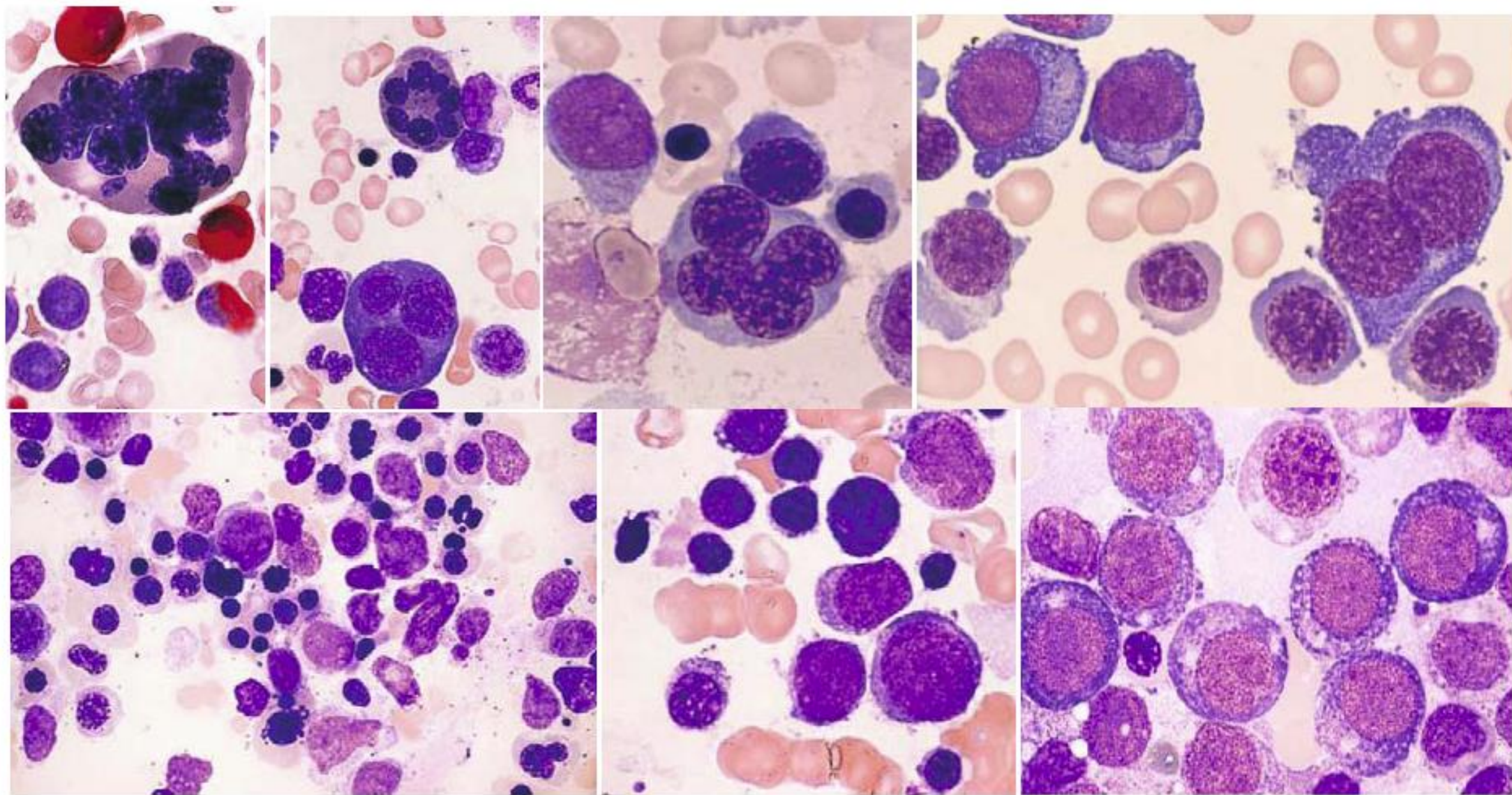
در لوسمی M6



شکل ۵۸-۶۹: دیسپلازی شدید اریتروئیدی در لوسمی M6 که شامل کاریورکسی، نورموبلاست دوهسته‌ای، میکرومگاکاریوسیت و میتوزهای ناقص می‌باشد.

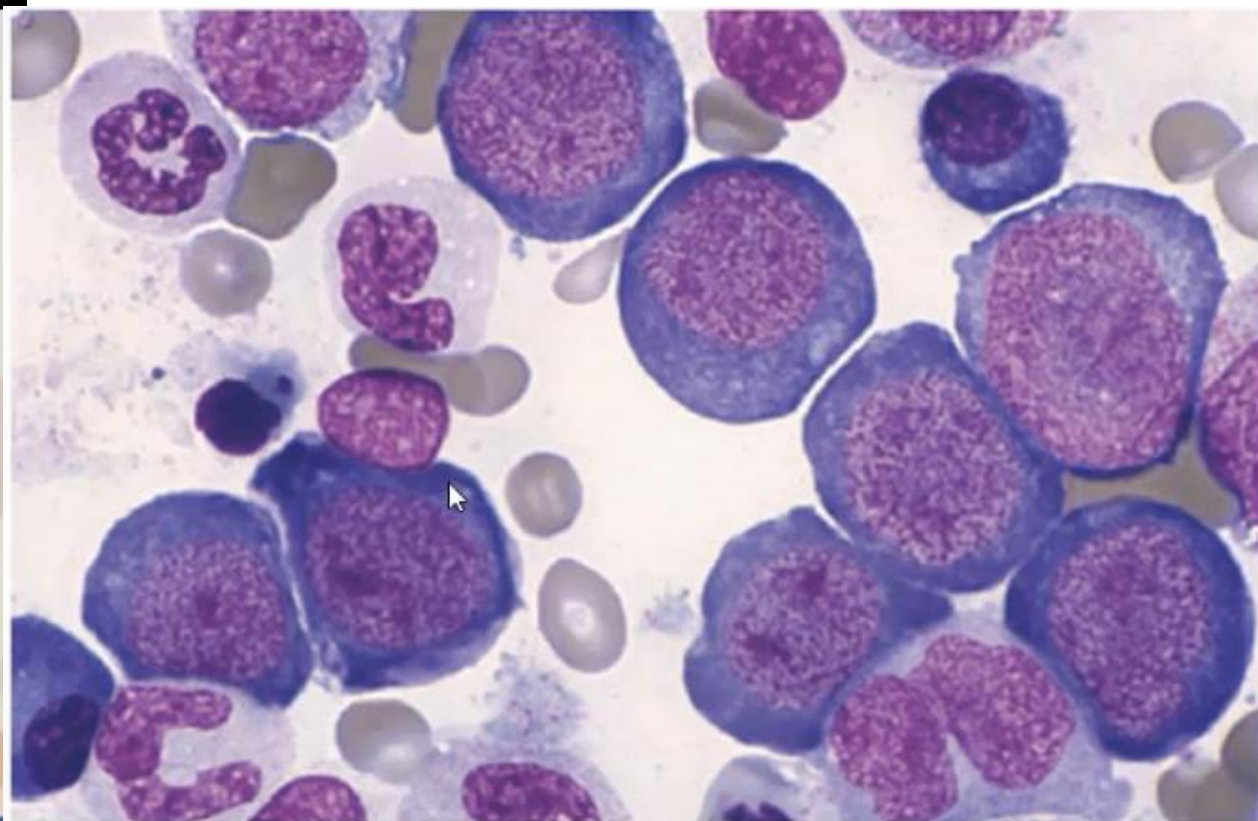
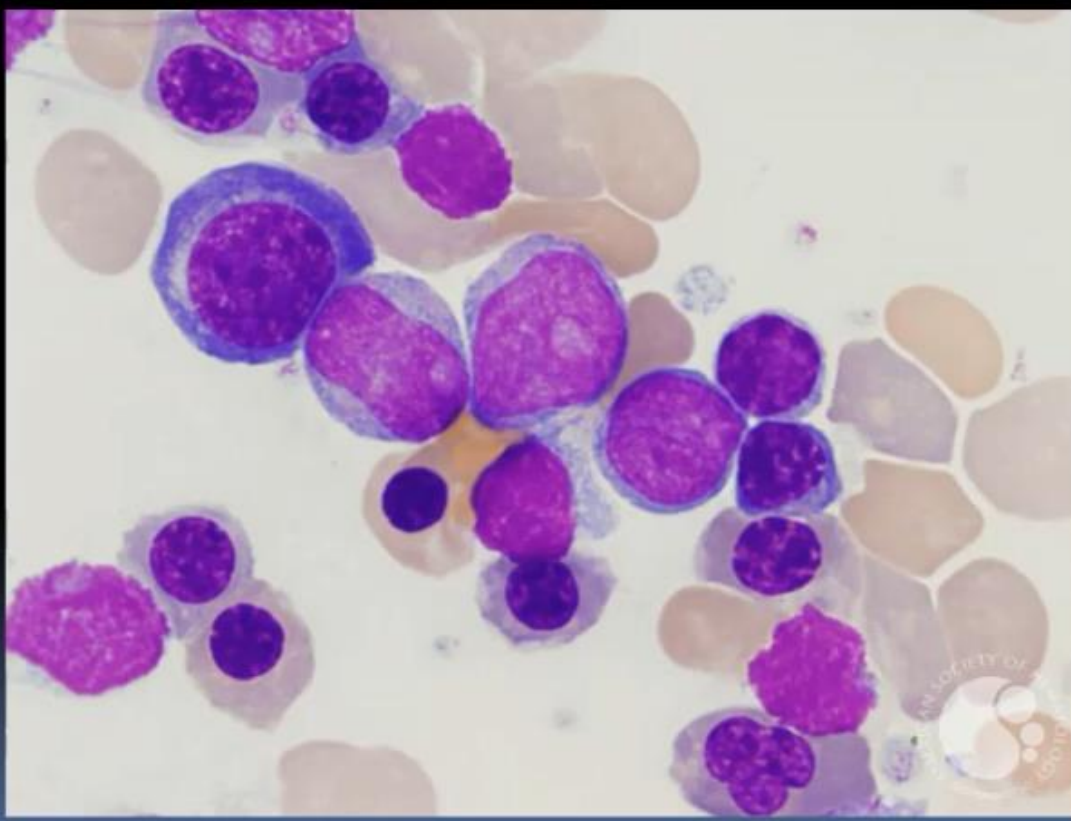


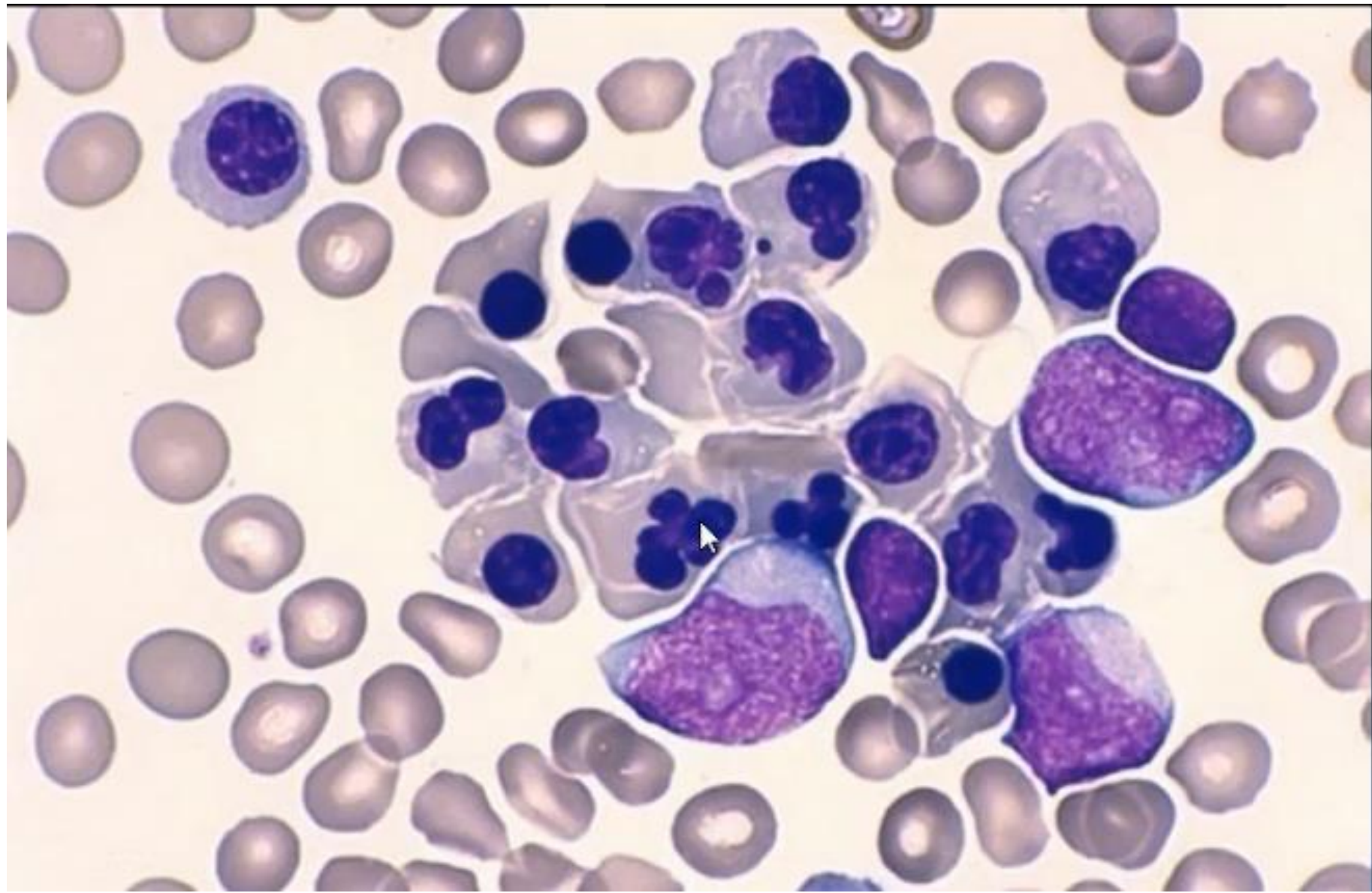
شکل ۵۹-۶۹: راست) یک سیتواسپین از سلول‌های مغزاستخوان بیمار M6V که اریتروبلاست‌های تمایز یافته و سه بلاست تمایز نیافته را نشان می‌دهد. واکنش مثبت بلاستها با Mc-Ab گلیکوفورین A نشان می‌دهد که این سلول‌ها، بلاست‌های اریتروئیدی ابتدایی هستند، لذا از جمعیت NEC کاسته شده و باعث می‌شوند مرز بلاست‌های NEC به ۳۰٪ نرسد. چپ) بیوپسی ترفین در یک بیمار M6-AML که سلول‌های اریتروئیدی اولیه را با رنگ آمیزی H&E نشان می‌دهد. می‌توان این سلول‌ها را از پیش‌سازهای گرانولوسیتی از طریق هستک طولی و کشیده آنها تفکیک داد. برخی از آنها نیز از طریق غشاء هسته ای و یا سیتوپلاسم بازوفیلیک خود شناسایی می‌شوند.



شکل ۶۰-۶۹: تصویری از دیسپلازی اریثروئیدی در M6 که در تصویر بالا-چپ، یک نورموبلاست CAE- در حضور نوتروفیل‌های CAE+ دیده می‌شود. تصویر پایین-راست، نورموبلاست‌های ابتدایی و بدن تمایز در M6a و مقایسه آن با دو تصویر وسط و چپ که لوسمی M6b را با تعداد بالای نورموبلاست‌های بالغ‌تر و متمایزتر (PCNB و OCNB) نشان می‌دهد.

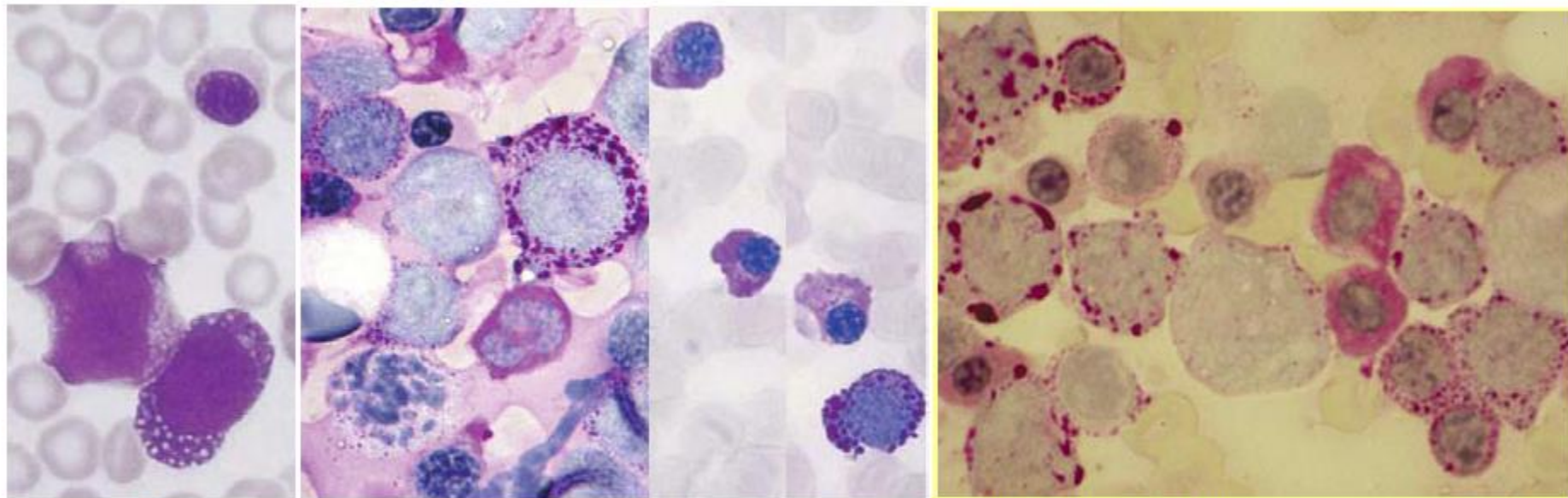
Erythrolukemia AML m6





واکنش‌های سیتوشیمیایی در M6-AML:

در M6 میلوبلاست‌ها و آنوررادها واکنش سیتوشیمیایی مشابه سایر گروه‌های AML نشان می‌دهند. میزان رنگ‌پذیری و فعالیت NAP ممکن است کاهش یا افزایش داشته باشد. ممکن است یک جمعیت از نوتروفیل‌های فاقد فعالیت SBB و MPO نیز وجود داشته باشد. اریترو بلاست‌ها در رنگ‌آمیزی با PAS یک واکنش مثبت منتشره یا گرانولار ریز نشان می‌دهند که ممکن است در کنار آنها، گرانول‌ها یا بلوک‌های خشن PAS مثبت نیز وجود داشته باشد یا نباشد (هایهو و کواگلینو، رنگ‌پذیری PAS مثبت گرانول‌ها در اریترو بلاست‌های اولیه را به صورت گرانولار یا بلوک و در اریترو بلاست‌های بالغ‌تر و برخی اریتروسیت‌ها به صورت منتشره و ریز توصیف کردند). البته حالت PAS مثبت منحصر به M6 نبوده و در آنمی فقر آهن، آنمی همولیتیک شدید، تالاسمی ماژور و گاهی اوقات در برخی موارد آنمی مگالوبلاستیک نیز دیده می‌شود. مثبت بودن PAS در MDS و دیگر گروه‌های AML نیز دیده می‌شود (به طور کلی در حدود ۲۰٪ موارد) و نشان می‌دهد که اریترو بلاست‌ها حتی زمانی که کمتر از ۵۰٪ سلول‌های هسته‌دار مغزاستخوان را تشکیل می‌دهند، باز بخشی از جمعیت کلون لوسمیک یا میلودیسپلاستیک را تشکیل می‌دهد. اریترو بلاست‌ها در M6 ممکن است فعالیت اسید فسفاتازی کانونی^۱ داشته باشد که اغلب در زون گلژی متمرکز می‌شود. اریترو بلاست‌ها معمولاً برای ANAE و ANBE مثبت می‌باشند که این واکنش‌ها، اریترو بلاست‌های M6 را از

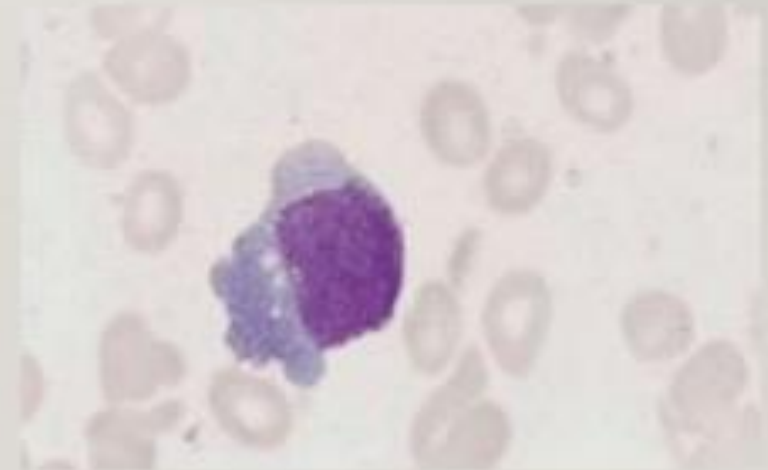


شکل ۶۱-۶۹: آسپیراسیون مغزاستخوان در M6-AML که واکنش PAS مثبت منتشره‌ای را در اریترو بلاست‌های تمایز یافته و واکنش مثبت بلوک‌فرمی را در اریترو بلاست‌های اولیه نشان می‌دهد (به عبارتی دیگر، با افزایش بلوغ نورموبلاست‌ها، واکنش مثبت بلوک به فرم گرانول و سپس به فرم منتشر تبدیل می‌شود). البته رنگ آمیزی همزمان با MGG نیز واکوئولاسیونی را در اریترو بلاست اولیه نشان می‌دهد که تشکیل واکوئول‌ها را می‌توان به حل شدن گلیکوژن داخل آن طی رنگ‌آمیزی نسبت داد. تصویر چپ رنگ‌آمیزی MGG از نورموبلاست‌های واکوئوله را نشان می‌دهد.

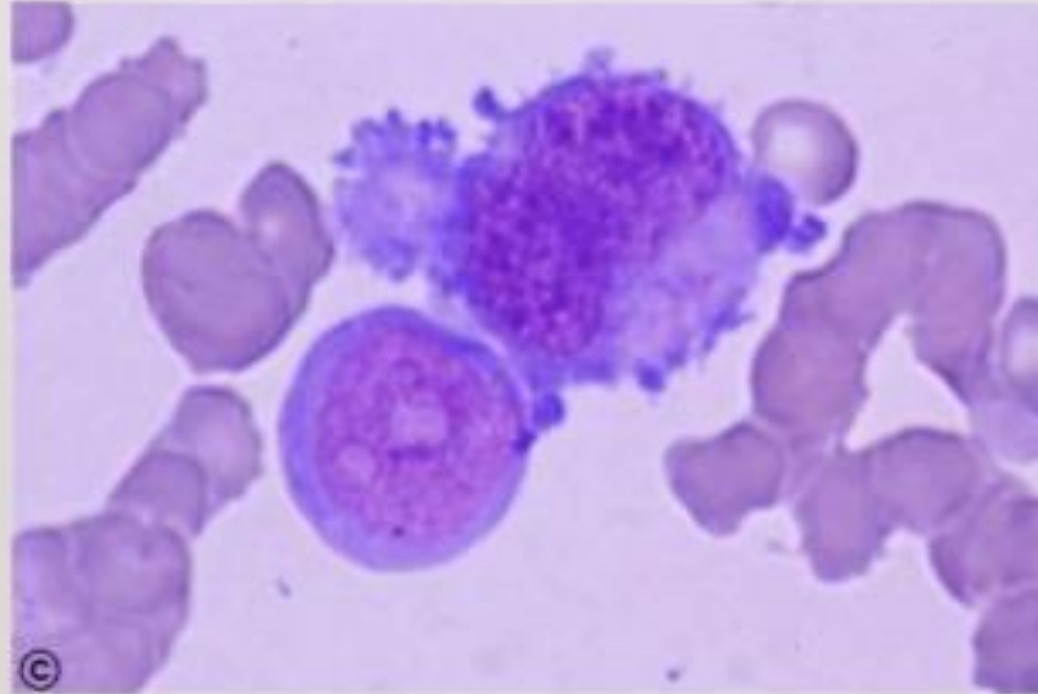
AML-M7

Tarveer Tara SUIT

- ▶ Peripheral blood pancytopenia.
- ▶ High peripheral blood blast count.
- ▶ Micro megakaryocytes and undifferentiated blast.
- ▶ Bone marrow reveals increased fibroblast.
- ▶ Showing cytoplasmic budding.

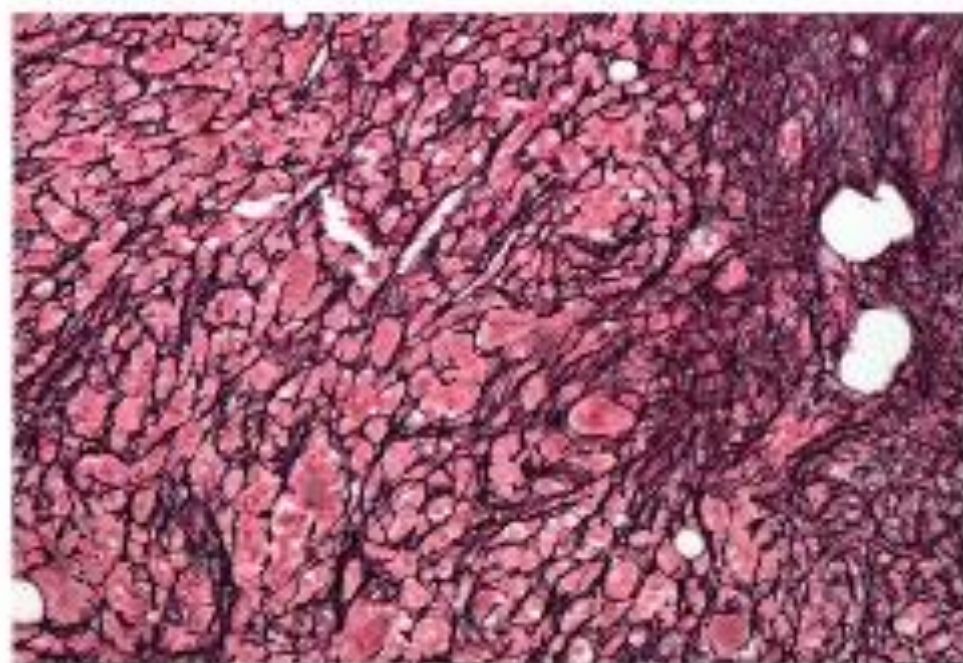
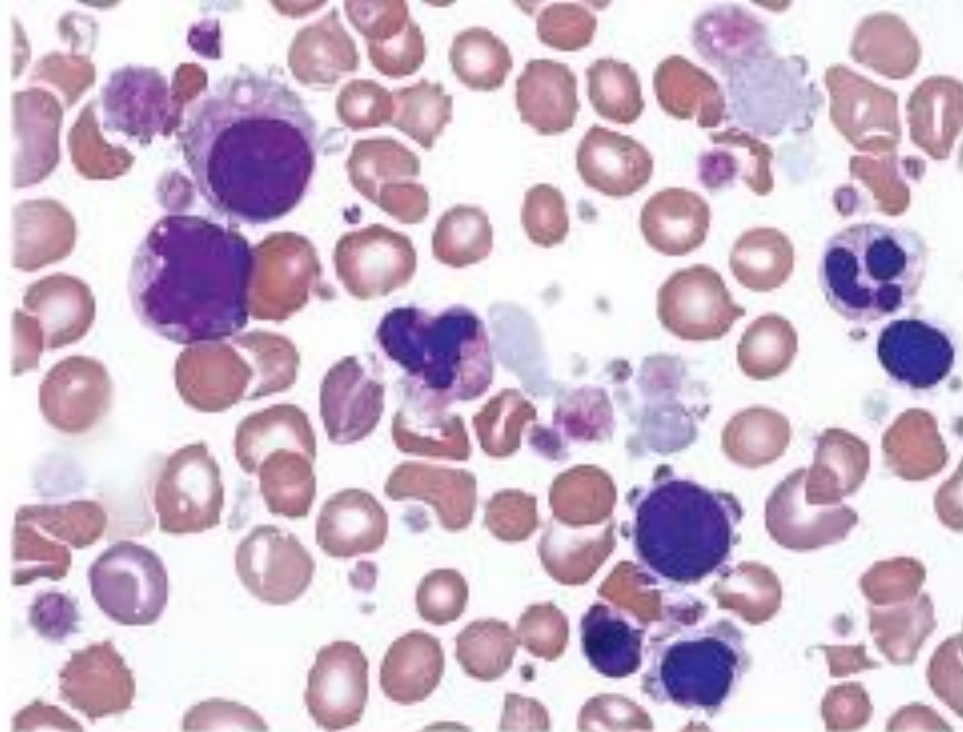


AML-M7 (MEGAKARYOBLASTIC LEUKEMIA)



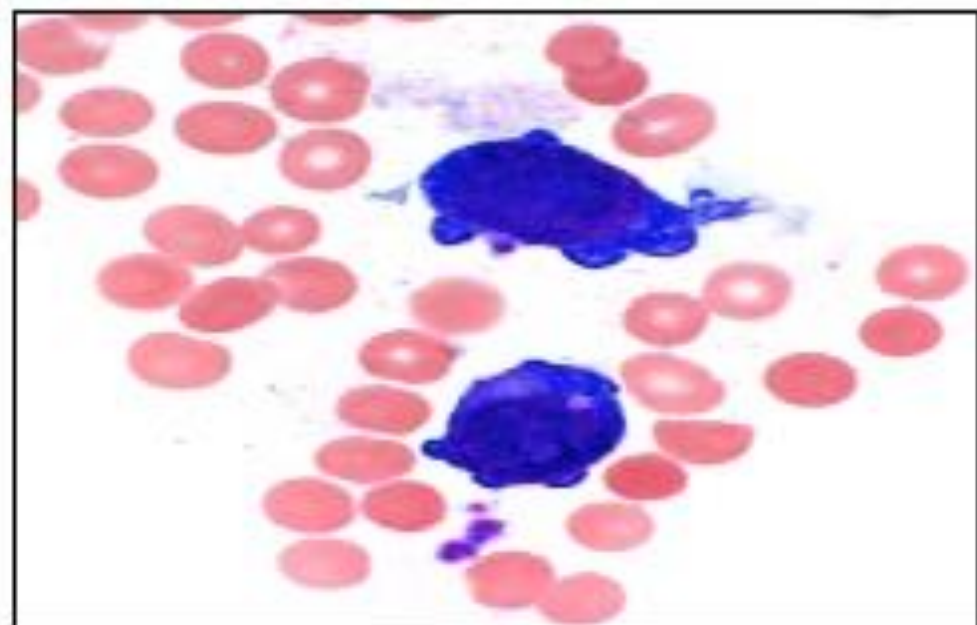
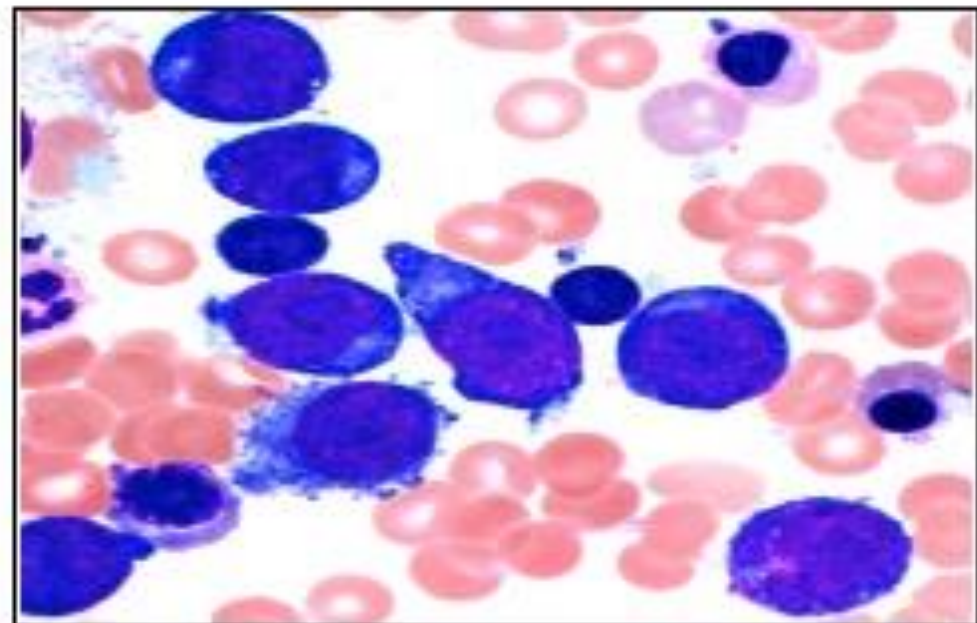
7. Acute Megakaryoblastic Leukemia:

- $\geq 20\%$ blasts in blood and / or BM.
- $> 50\%$ of blasts are megakaryoblasts.
- Clumps (pseudometastasis).
- Variable cytological features.
- Pure megakaryoblastic vs multilineage.
- Fibrosis is common and it can preclude aspiration for morphology and flow cytometric immunophenotyping.
- Micromegakaryocytes not included in blast percentage
- Cases of acute megakaryoblastic leukemia linked to biologic genetic features such as Down syndrome or $t(1;22)$ are not included in this AML, NOS category.
- Acute megakaryoblastic leukemia is more common in children than adults.
- Pediatric cases of this leukemia show a similar favorable outcome regardless of whether or not they are linked to Down syndrome.
- Outcome in adults is unfavorable.
- The differential diagnosis includes: other acute leukemias as well as diverse disorders associated with bone marrow fibrosis, including MPNs and metastatic lesions.



5. Megakaryoblasts:

- **Size**: They are of medium to large size
- **Nucleus**: Nucleus is round, slightly irregular or indented with fine reticular chromatin and one to three nucleoli.
- **Cytoplasm**: The cytoplasm is basophilic, agranular and may show **distinct blebs** or **pseudopod formation**.
- In some cases blasts are predominantly small with high nuclear cytoplasmic ratio resembling L1 lymphoblasts. Large & small blasts may be present in the same patient.

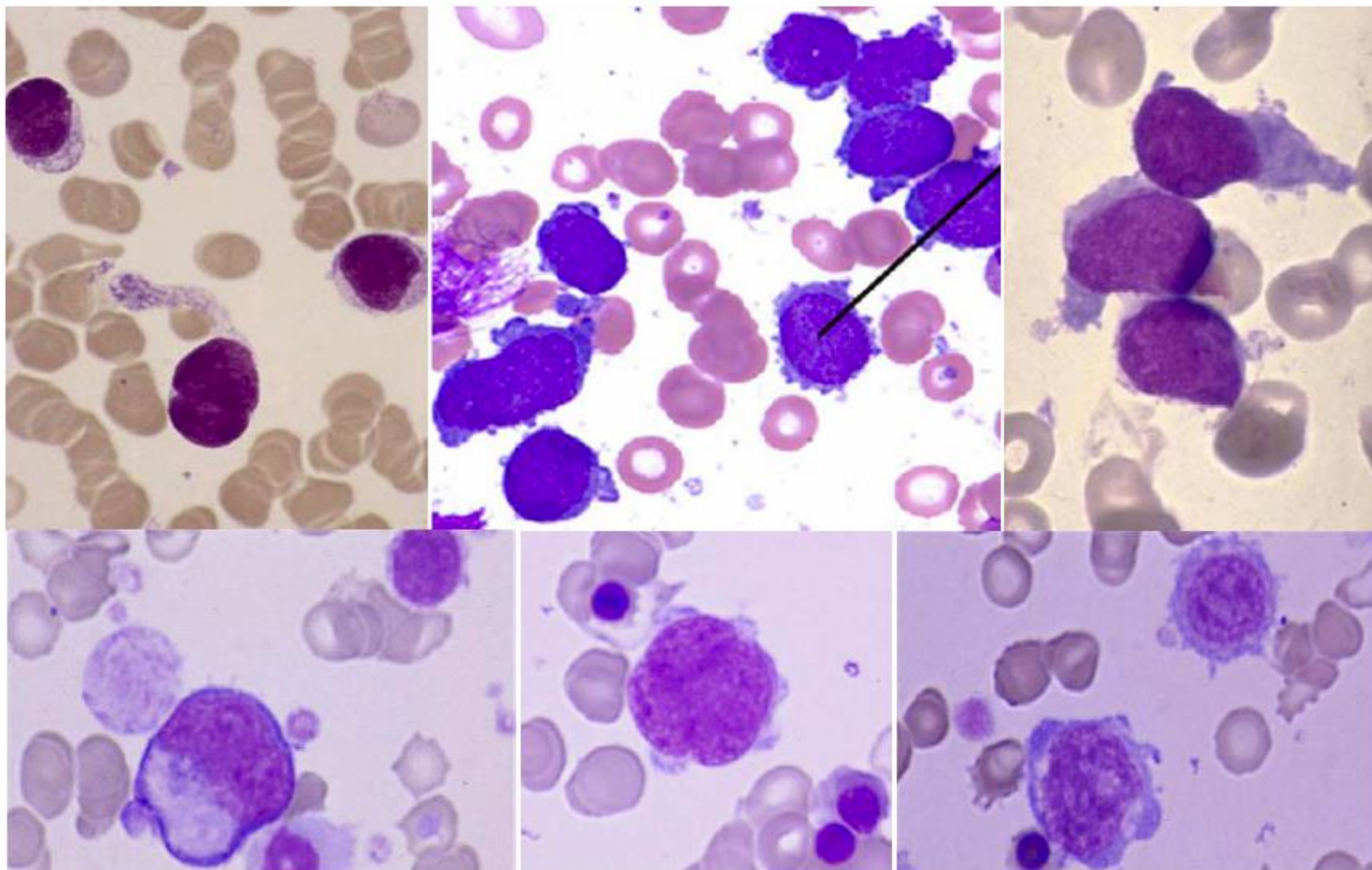


لوسمی حاد مگاکاریوبلاستیک (M7-AML):

این نوع لوسمی در دسته‌بندی اولیه FAB وجود نداشت ولی به دنبال کشف ایمونوتایپیک این موضوع که در برخی از بیماران AML، بلاست‌های ابتدایی و ظاهراً تمایز نیافته در واقع مگاکاریوبلاست بودند، این گروه نیز به FAB افزوده شد. به جز ایمونوفونتایپ، مطالعات فراساختاری با TEM و بررسی PPO نیز نقش بالایی در تشخیص و طبقه‌بندی M7 دارند. مطالعات، شیوع بالایی از بروز M7-AML را در کودکان مبتلا به سندرم داون نشان می‌دهد. همچنین ممکن است M7 با اطفال و کودکان دارای $t(1;22)(p13;q13)$ در ارتباط باشد و در بالغین نیز نسبت قابل توجهی از بیماران با ناهنجاری‌های کروموزوم ۳ همراه هستند.

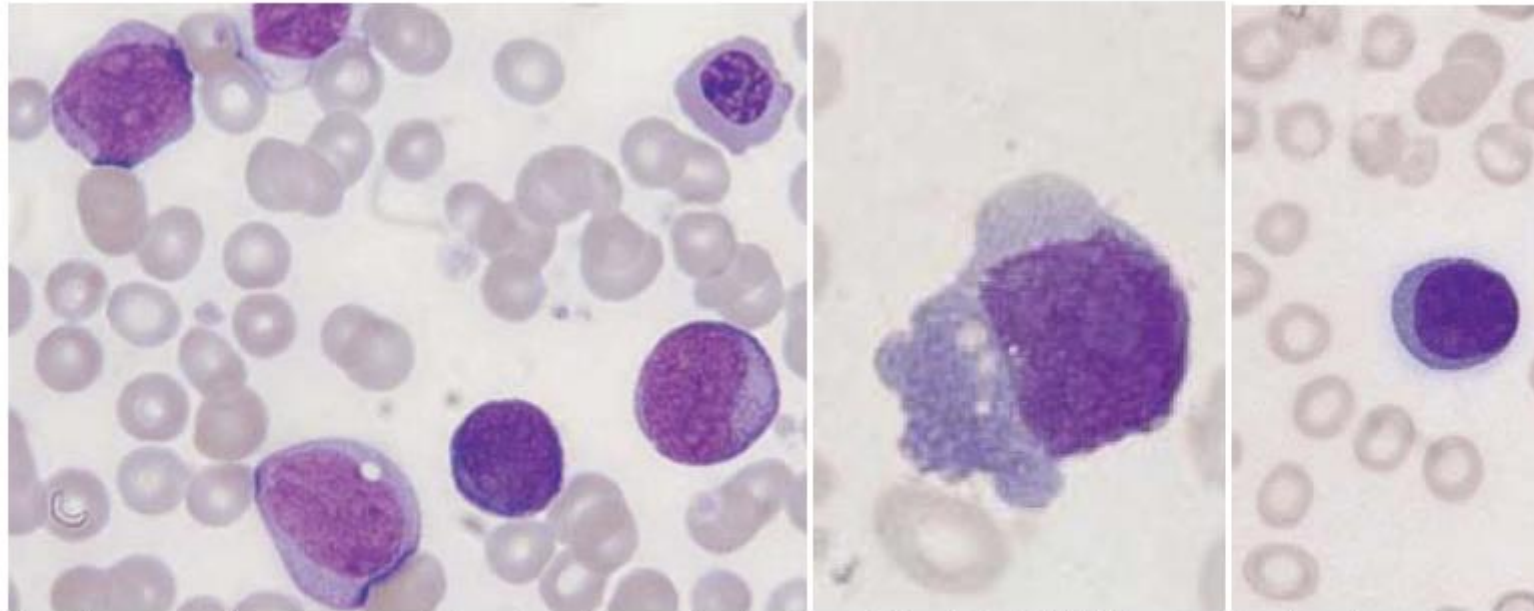
جدول ۱۲-۶۹: معیارهای تشخیص M7-AML (لوسمی حاد مگاکاریوبلاستیک)

Blasts $\geq 30\%$ of bone marrow nucleated cells
Blasts demonstrated to be megakaryoblasts by immunological
markers, ultrastructural examination or ultrastructural
cytochemistry



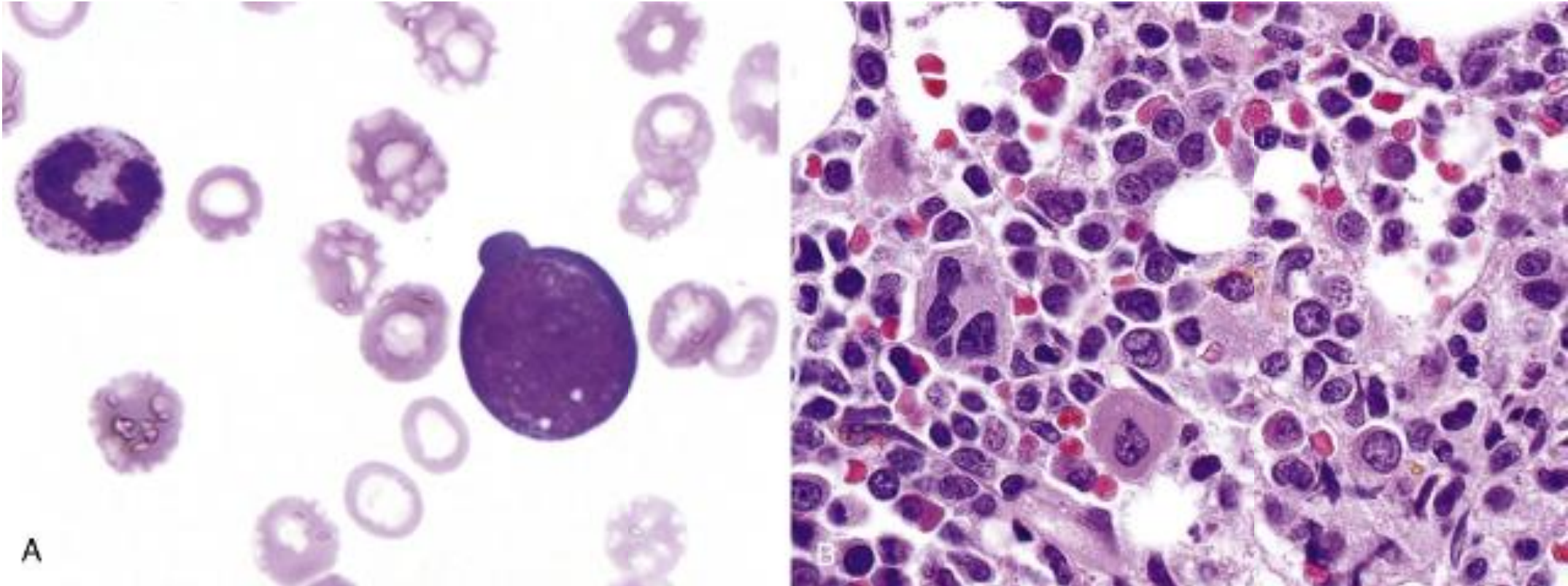
شکل ۶۲-۶۹: لام خون محیطی از بیماران مبتلا به AML-M7 که در آن مگاکاریوبلاست‌هایی با زواید پلاکتی، N/C بالا، ستلاتیسم پلاکتی و کروماتین لانه زنبوری مشاهده می‌شوند.

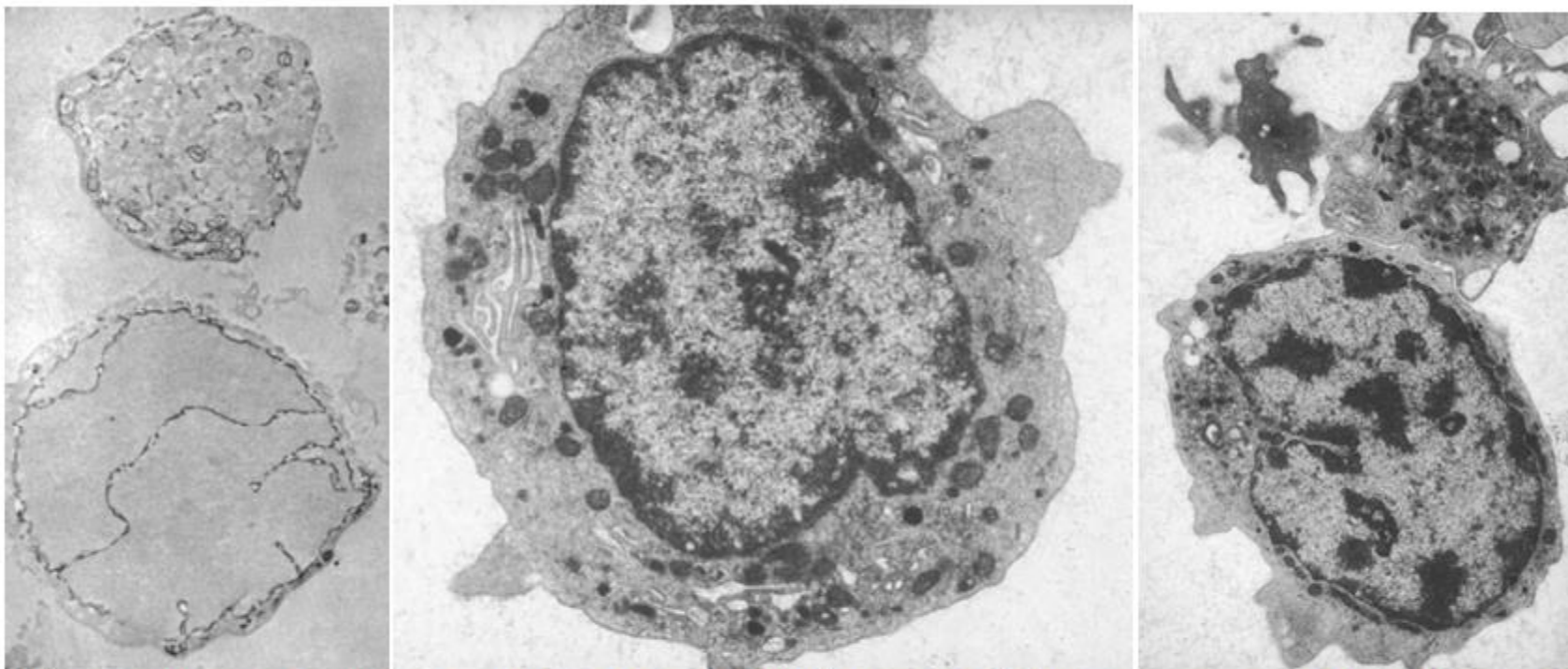
در اغلب موارد مگاکاریوبلاست‌های لوسمیک شدیداً پلئومورفیک بوده و دارای هستک بزرگ، مشخص و چندتایی و سیتوپلاسم بازوفیلیک هستند. از شاخص‌های معمول و تیپیک M7 می‌توان به وجود حالت دو هسته‌ای و تجمع سلول‌های بلاست اشاره کرد. در برخی موارد می‌توان از روی خصوصیات سیتولوژیکی مثل برجستگی‌های سیتوپلاسمیک که گاهی هم شبیه صفحه ساعت دیده می‌شود، وجود هسته‌های به ظاهر برهنه در کنار بلاست‌ها، پلاکت‌های عجیب و غریب، ستلاتیسم مختصر پلاکتی در اطراف بلاست و یا سلول‌های بالغ‌تری که تمایز مگاکاریوسیتی بیشتری از خود نشان می‌دهند، به این لوسمی مشکوک شد. در سایر موارد، افتراق دادن مگاکاریوبلاست‌ها از میلوبلاست ممکن نبوده و یا امکان دارد با لنفوبلاست‌ها نیز اشتباه گرفته شوند، چرا که اندازه کوچکی با نسبت هسته به سیتوپلاسم بالا داشته و در برخی از مناطق هسته، با کروماتین متراکم همراه می‌باشند. در اغلب موارد، شمارش WBC کاهش داشته (نه افزایش) و تعداد کمی از مبتلایان نیز بجای ترومبوسیتوپنی، دچار ترومبوسیتوز هستند، البته می‌توان ماهیت و خصوصیات مگاکاریوبلاستی آنها را از روی الگوی واکنش سیتوشیمیایی نیز مشخص کرد، ولی در هر حال شناسایی قطعی آنها نیاز به مطالعات فراساختاری و ایمونوفنوتایپینگ (مثل CD41, CD51, CD61 و CD42) دارد که در مطالعات فراساختاری، هم می‌توان واکنش‌های سیتوشیمیایی و هم ایمونوفنوتایپینگ سلول را مورد بررسی



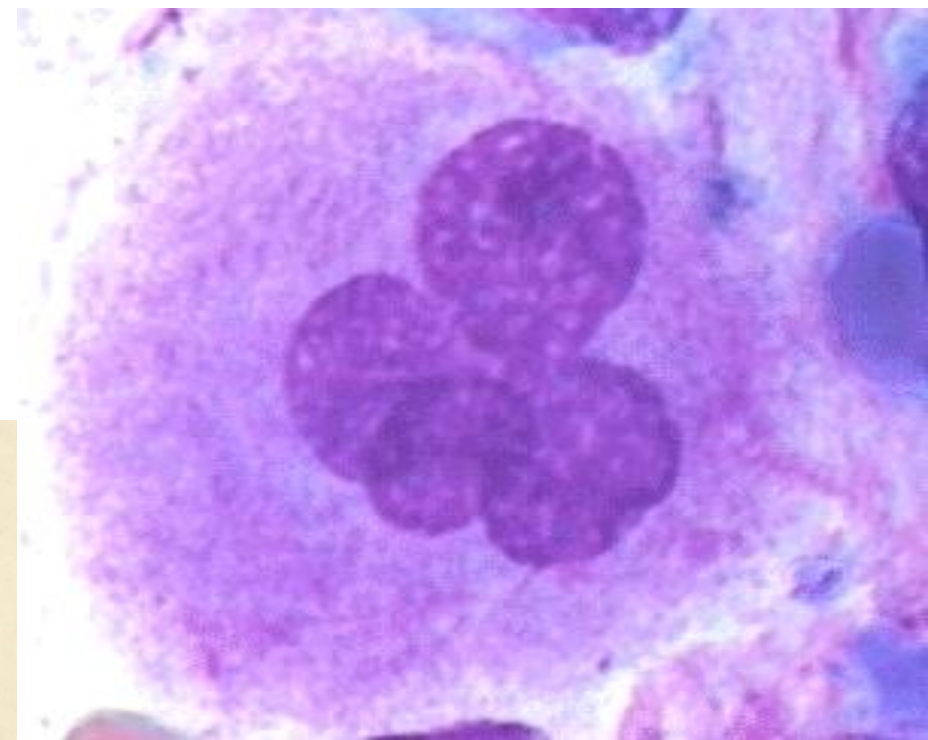
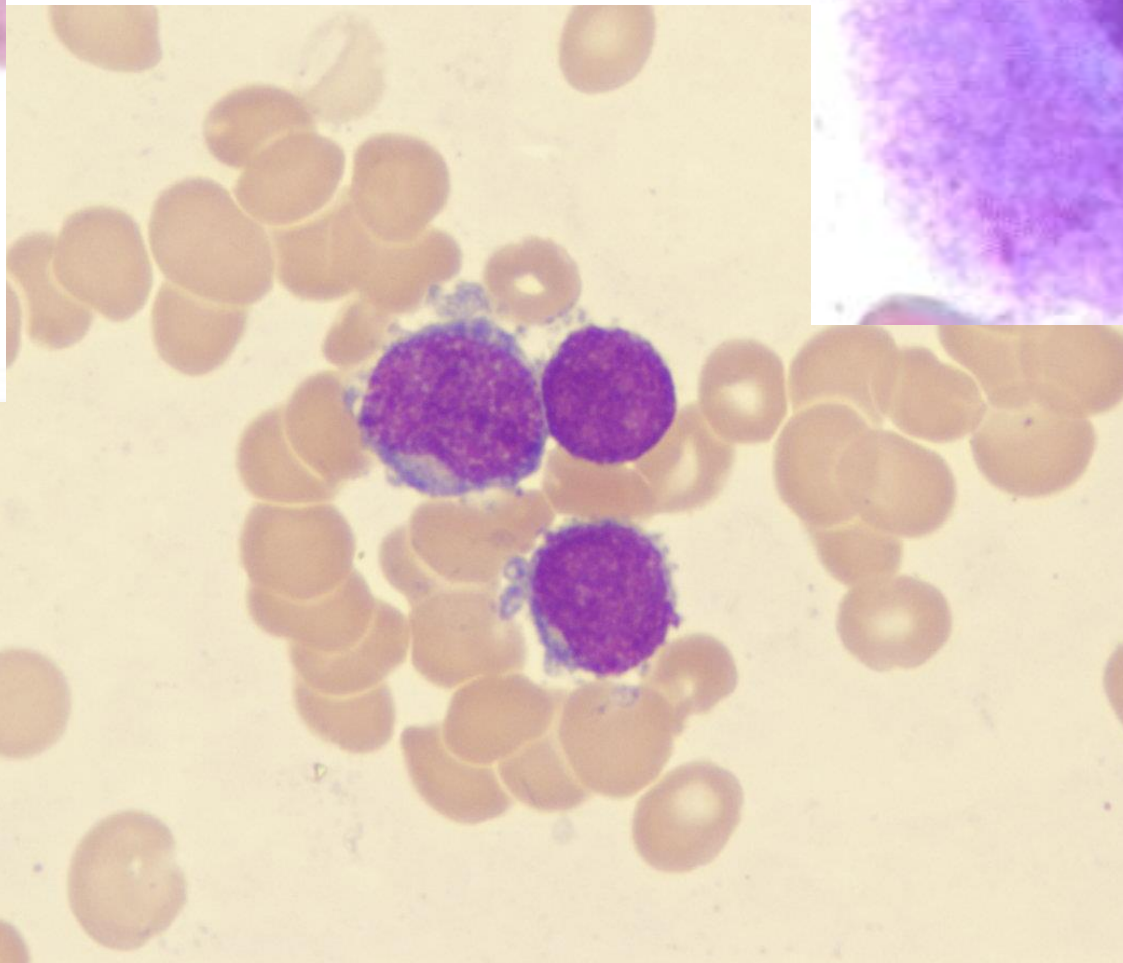
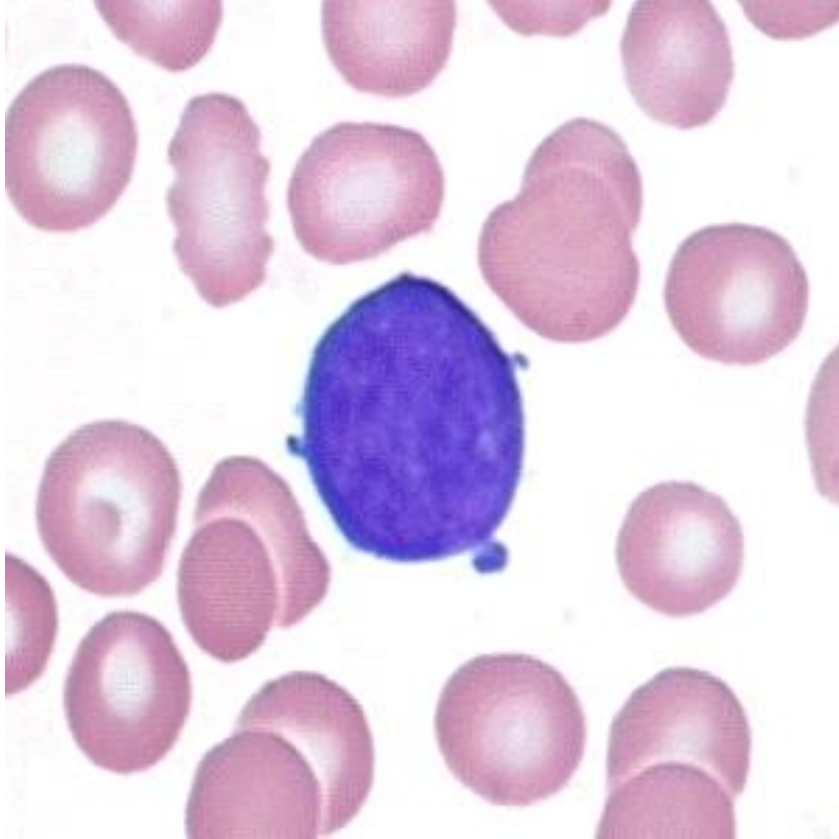
شکل ۶۳-۶۹: لام خون محیطی و مغزاستخوان بیمار مبتلا به M7-AML که با یک میلو فیروز حاد مراجعه کرده بود. ماهیت لوسمی از طریق واکنش مثبت آن نسبت به پراکسیداز پلاکتی مشخص شده است. (۱) لام خون محیطی آنیزوسیتوزیس خفیف و یک سلول بلاست که ویژگی مشخصه خاصی ندارد را نشان می‌دهد (۲) لام مغزاستخوان که یک مگاکاریوبلاست را نشان می‌دهد. (۳) لام خون محیطی بیمار مبتلا به سندرم داوون و M7-AML: بلاست‌ها ابتدایی، پلئومورفیک، چندشکلی و هتروژن بوده، ویژگی مشخصه خاصی ندارند. ماهیت لوسمی از طریق واکنش مثبت نسبت به Mc-Ab ضد CD61 (گلیکوفورین پلاکتی IIb/IIIa) مشخص شده است.

Acute myeloid leukemia (megakaryoblastic) with t(1;22).
A, Hemodilute aspirate shows rare blasts with basophilic cytoplasm and blebbing. B, Core biopsy shows blasts and atypical megakaryocytes.



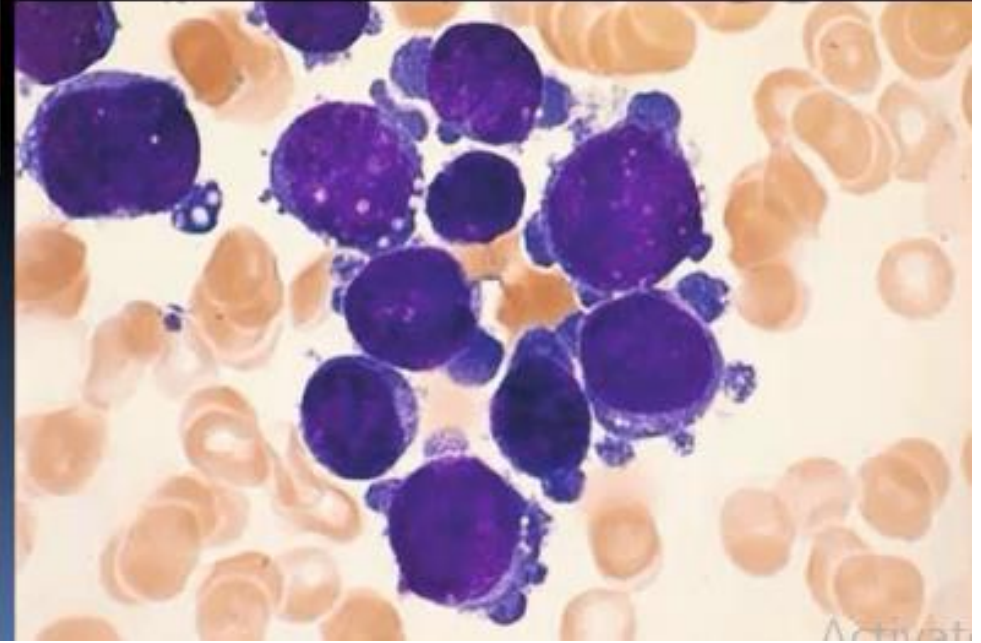
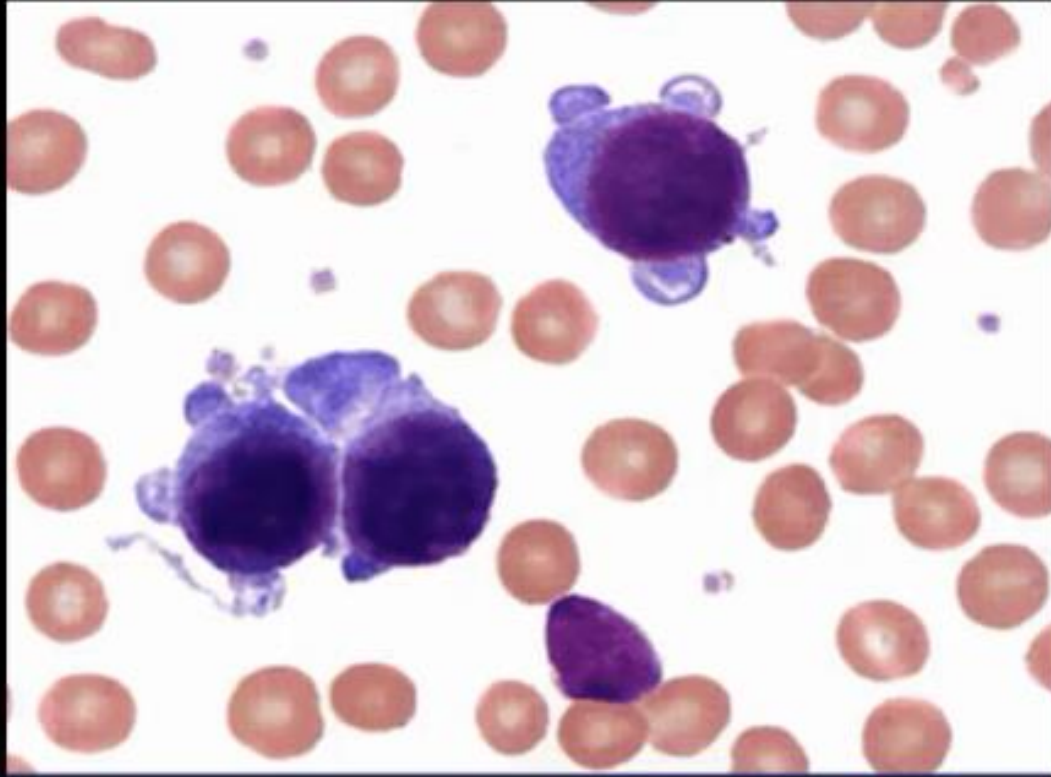


شکل ۶۴-۶۹: بررسی فراساختاری سلول‌های خون محیطی یک بیمار CGL مبتلا به استحالہ مگاکاریوبلاستیک. که (۱) یک سلول بلاست و یک جایانت پلاکت را نشان می‌دهد. مگاکاریوبلاست گرانول‌های مشخصی دارد که عمدتاً گرانول‌های چشم‌گاوی (δ) آنها هستند. (۲) یک مگاکاریوبلاست را با زواید پلاکتی نشان می‌دهد. (۳) سیتوشیمی فراساختاری سلول‌های بلاست که یک واکنش مثبت پراکسیداز پلاکتی را نشان می‌دهد.

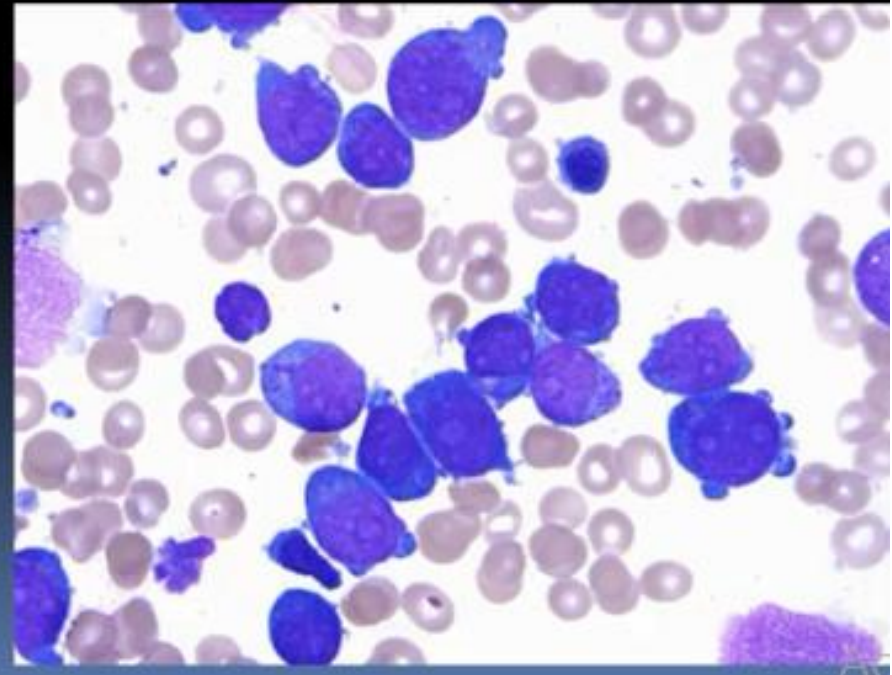
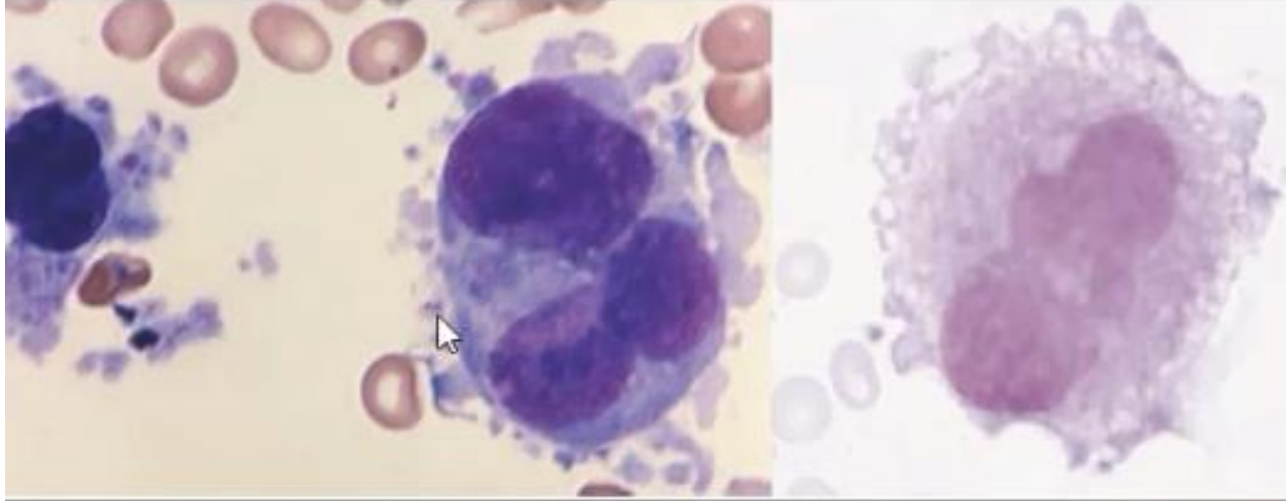




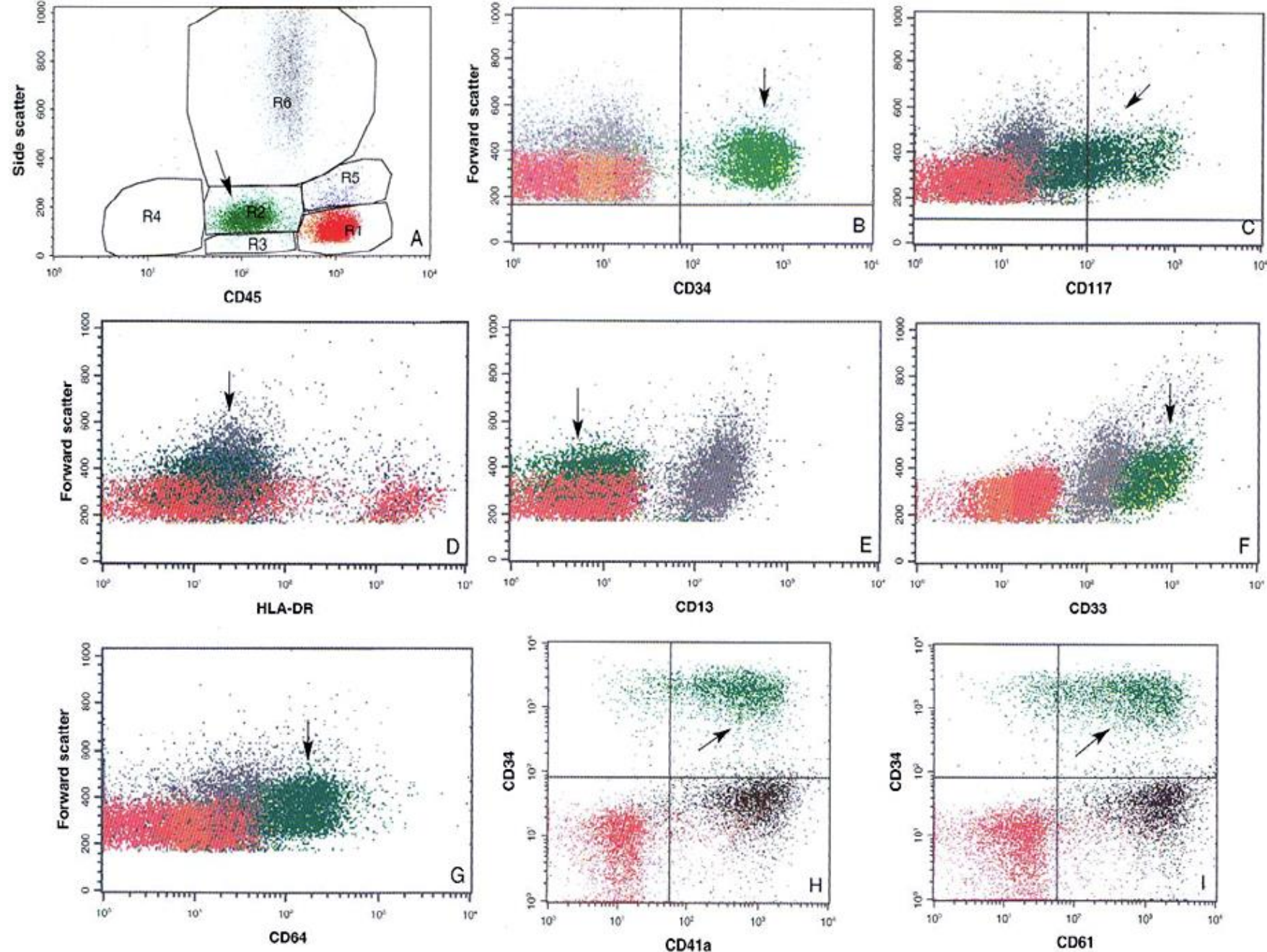
Megakaryoblastic leukemia



Megakaryoblastic leukemia



NS
تی،
PA
اشیه
های
لمری
ست-
کتی
وژن

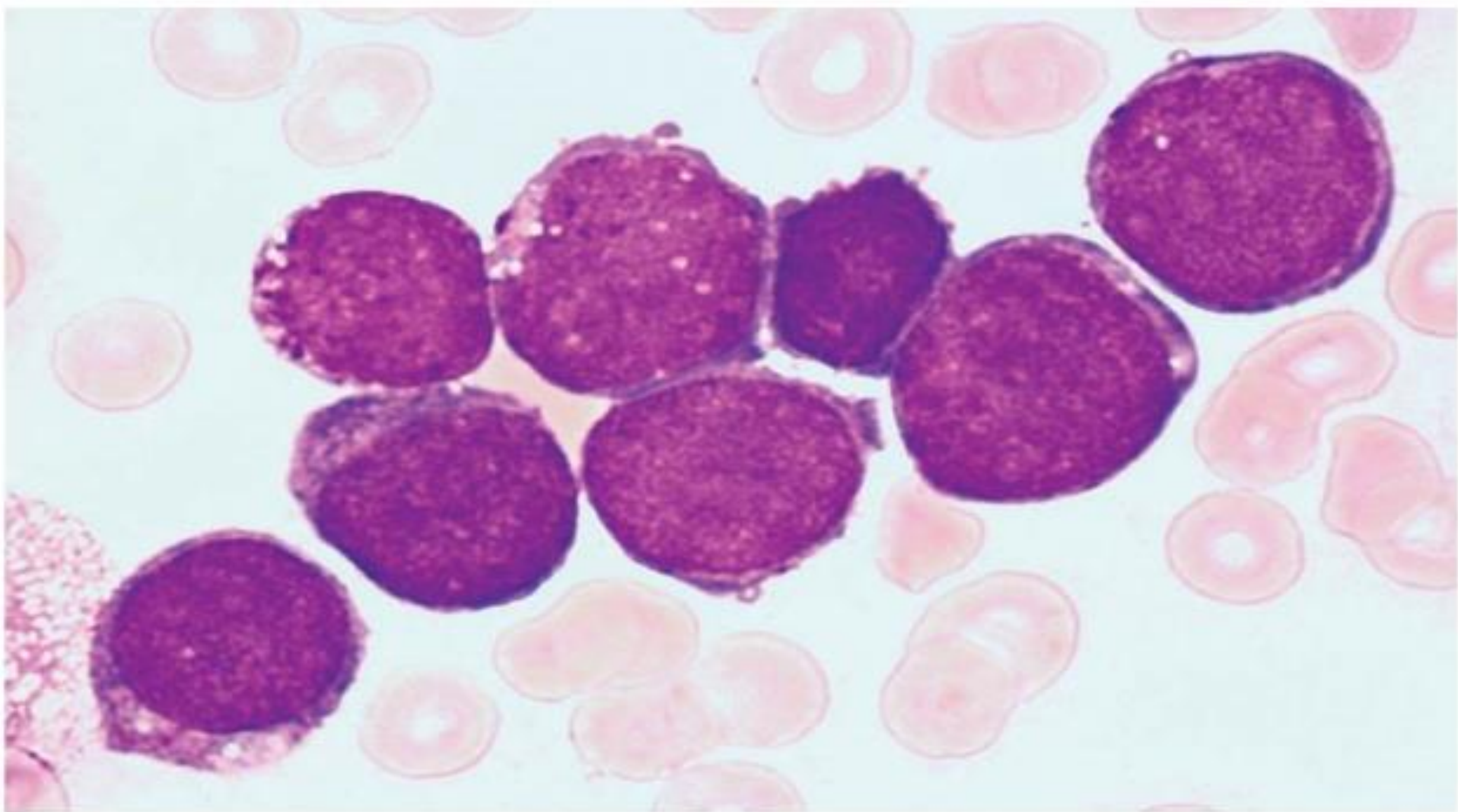


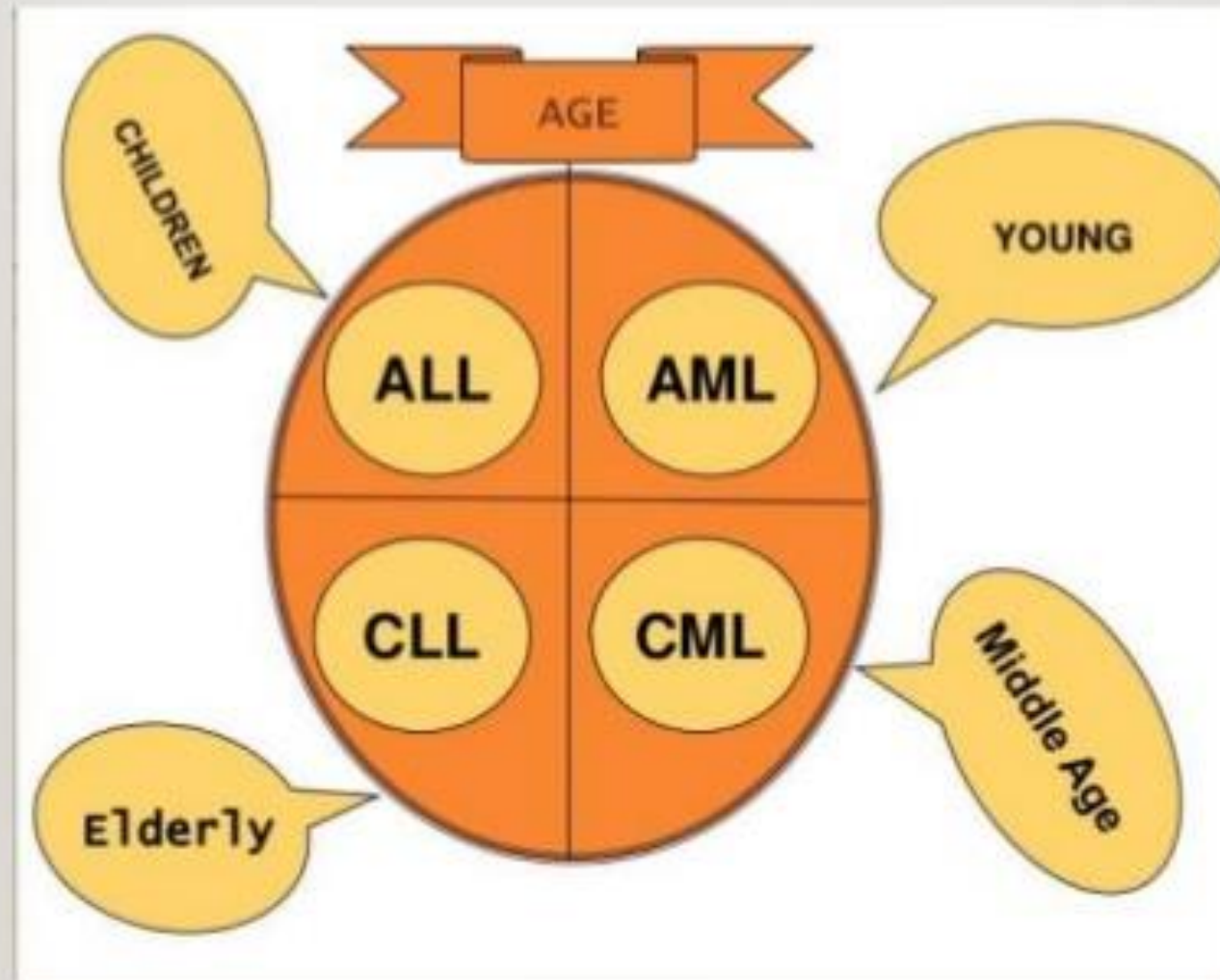
شکل ۶۶-۶۹: فلوسایتمتری از بیمار مبتلا به M7 که دارای SSC پایین (A)، CD34 مثبت (B)، CD117 منفی (C)، HLA-DR منفی (D)، CD13 منفی (E)، CD33 مثبت واضح (F)، CD64 مثبت (G)، CD41 مثبت (H) و CD61 مثبت (I) می باشد.

Myeloid Proliferations related to Down Syndrome:

- The example of AML that is defined by the clinical setting in which it arises is myeloid leukemia associated with Down syndrome (MLADS), which is very often the sequela to an unusual phenomenon, specific to neonates with Down syndrome, called “transient abnormal myelopoiesis” (TAM, aka transient myeloproliferative disorder).
- Immunophenotypically, morphologically, and clinically, TAM is essentially indistinguishable from acute myeloid leukemia, but it shows the unique and mysterious property of **spontaneous regression**.

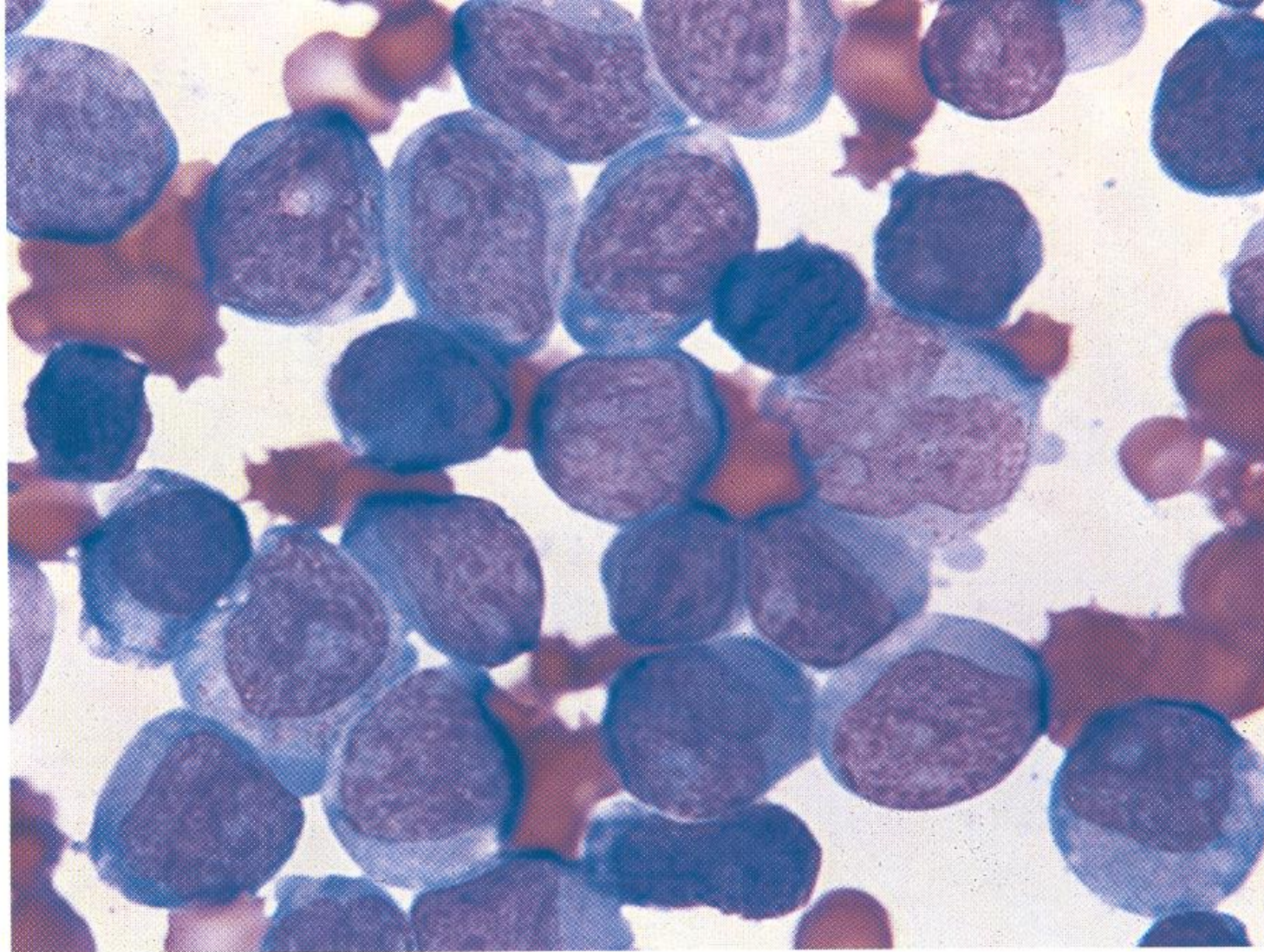
	Transient abnormal myelopoiesis (TAM)	Myeloid leukemia associated with Down Syndrome (MLADS)
Clinical Features:	<ul style="list-style-type: none"> - Diagnosis of Down Syndrome (including mosaic cases). - Neonates with spontaneous remission at the age of 3 months. - Possible co-morbidities include cardiopulmonary failure, hyperviscosity, and hepatic fibrosis. - If occurs in utero, hydrops fetalis occurs. - 20% progress to AML. 	<ul style="list-style-type: none"> - Diagnosis of Down Syndrome (including mosaic cases). - Infant/young child (usually < 4 - 5 yrs of age). - MLADS is extremely chemosensitive with an overall survival in excess of 80%.
CBC/Blood morphology:	<ul style="list-style-type: none"> - Blasts are morphologically indistinguishable from those in MLADS. - Basophilia may be present. - Possible thrombocytopenia with leukocytosis. 	<ul style="list-style-type: none"> - Blasts have megakaryoblastic features, with basophilic cytoplasm, coarse basophilic granules, and cytoplasmic blebbing. - Erythroid precursors, marked anisopoikilocytosis. - Giant platelets may be seen. - Often cytopenias.
BM examination:	<ul style="list-style-type: none"> - Blasts have megakaryoblastic features, with basophilic cytoplasm, coarse basophilic granules, and cytoplasmic blebbing. - Dyserythropoiesis and dysgranulopoiesis. - Blast % may be lower than blood blast count 	
Immunophenotyping:	<ul style="list-style-type: none"> - Positive for CD34, CD56, CD13, CD33, CD7, CD4, CD41, CD61, CD42b. 	<ul style="list-style-type: none"> - In contrast to TAM, blasts are CD34- in ~50% of cases. - CD56 and CD41 also more likely to be negative
Cytogenetics:	GATA1 mutation	GATA1 mutation



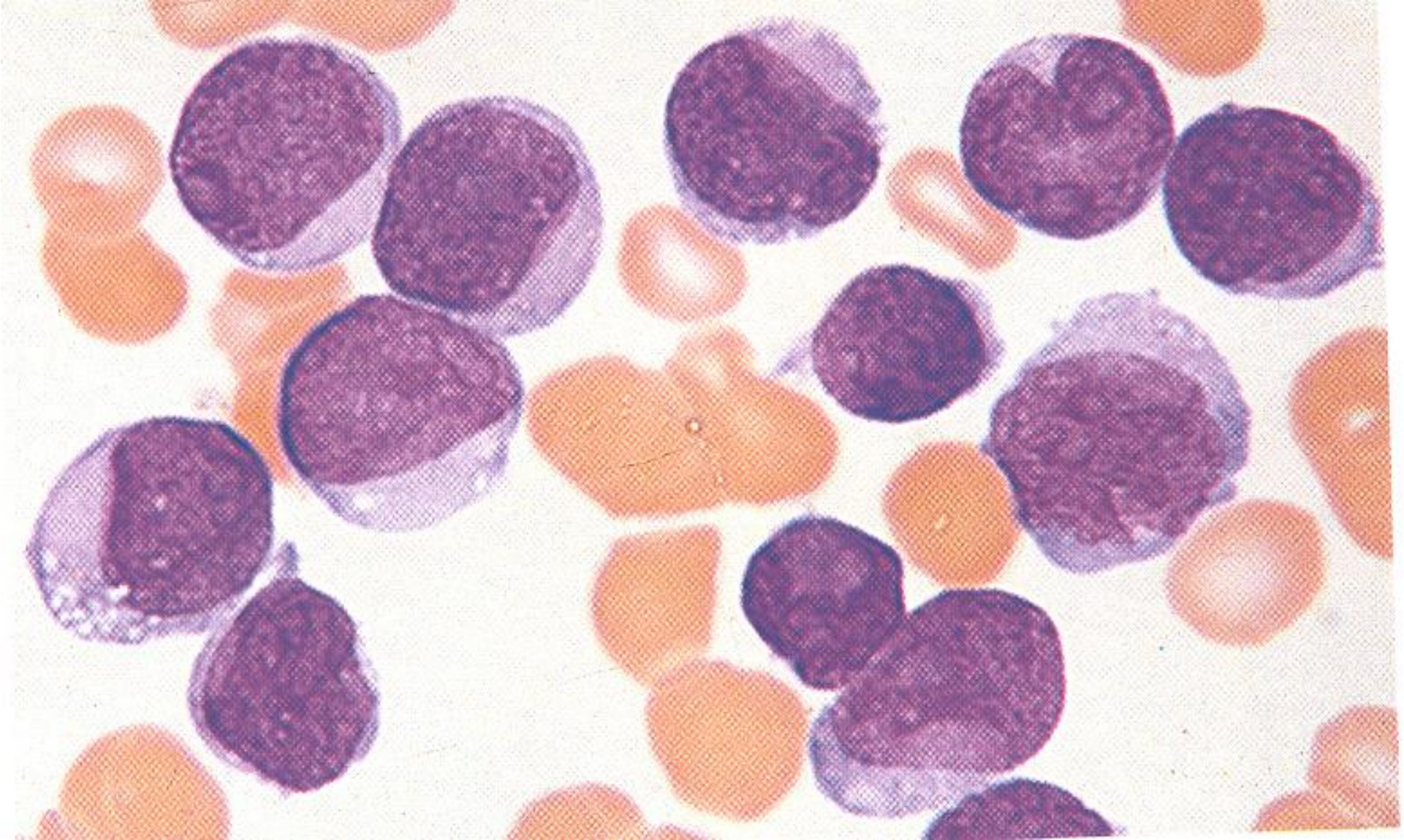


یک مرور

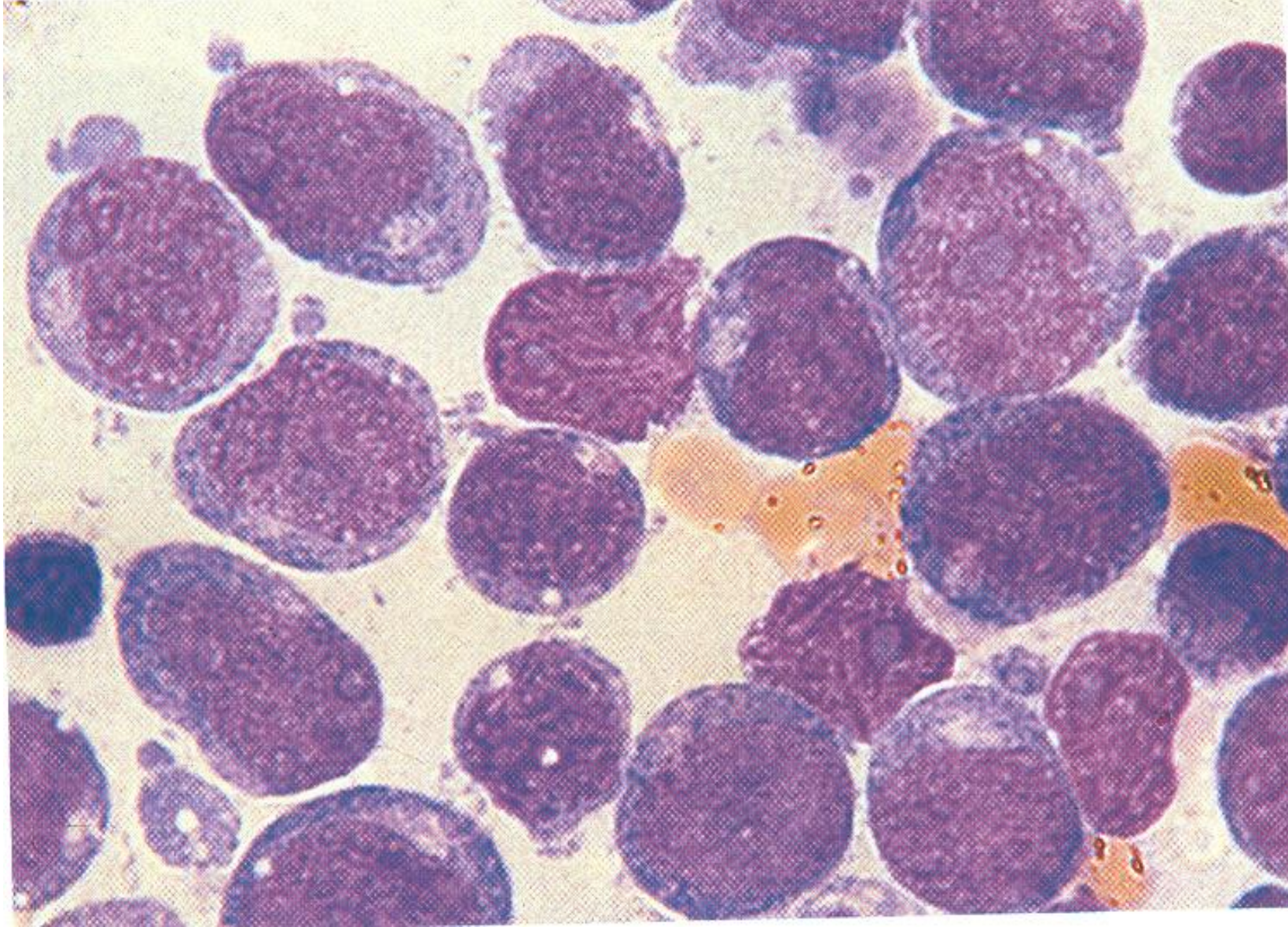
Acute Myeloblastic leukemia with minimal differentiation-M0



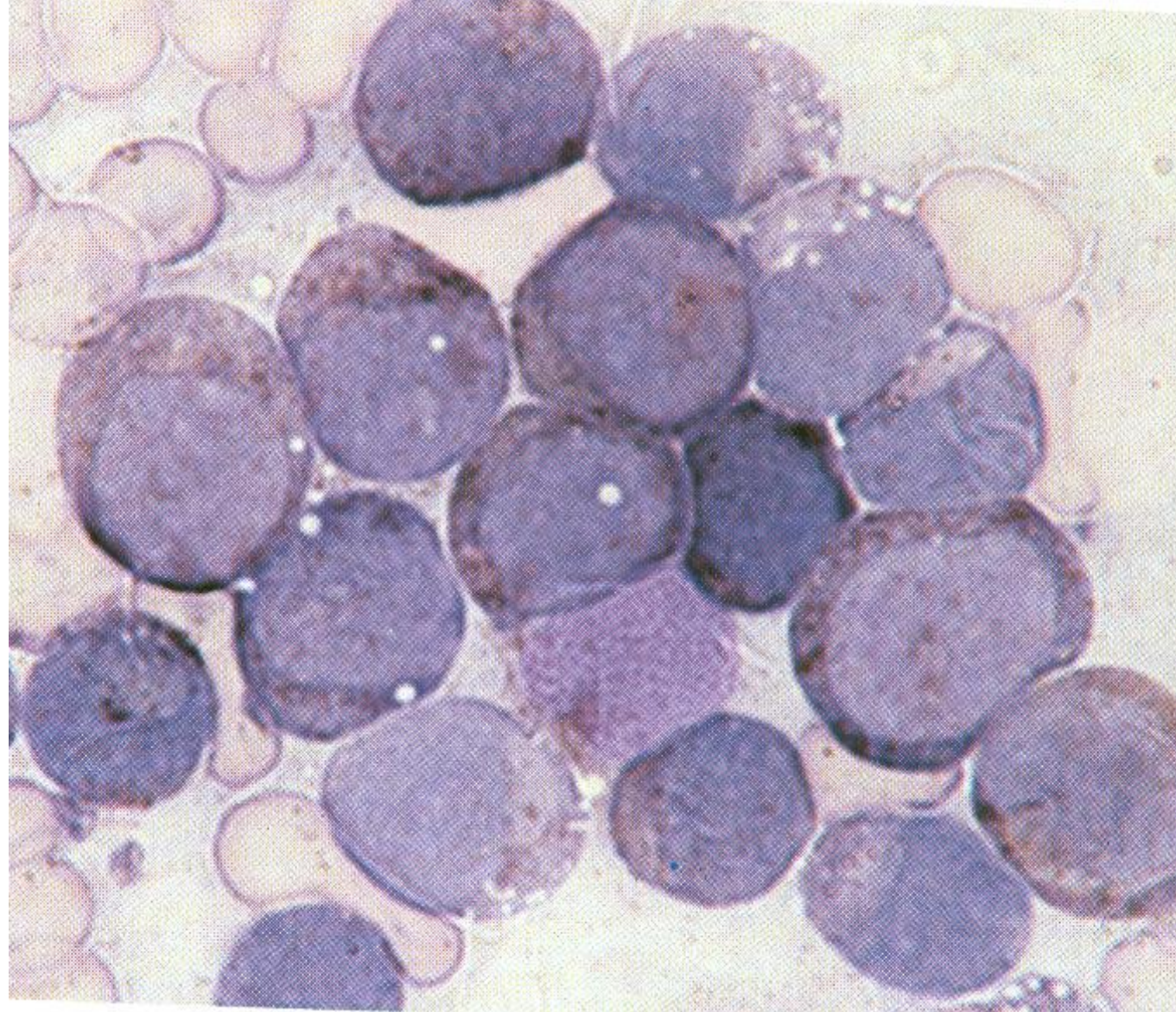
Blood Film M1



Marrow Film M1

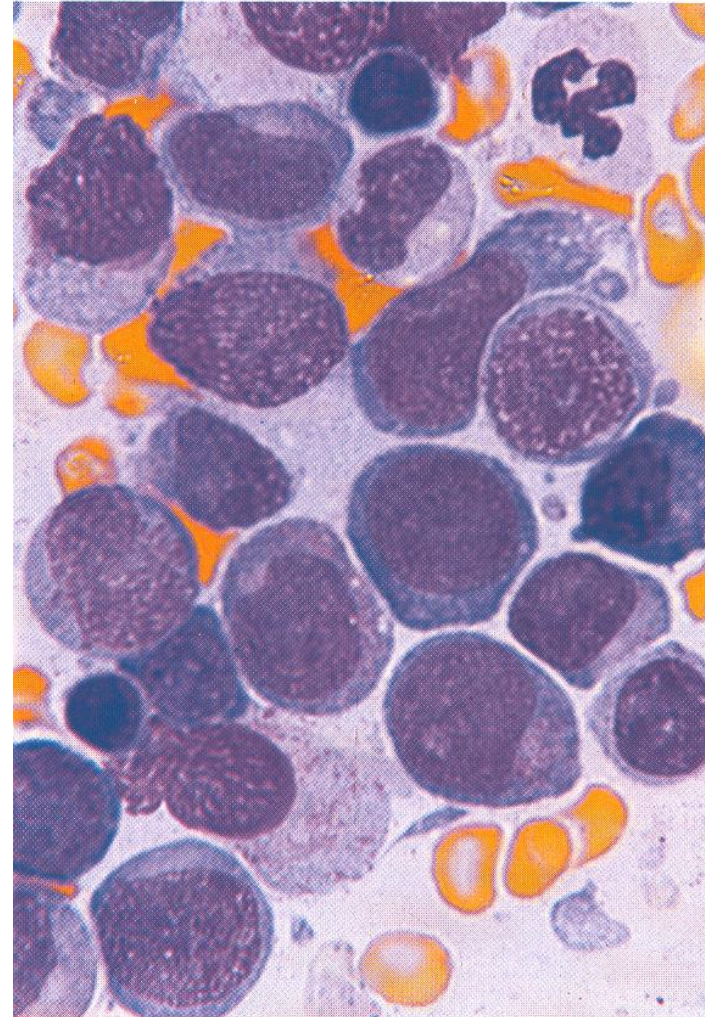


Marrow Film M1- SBB

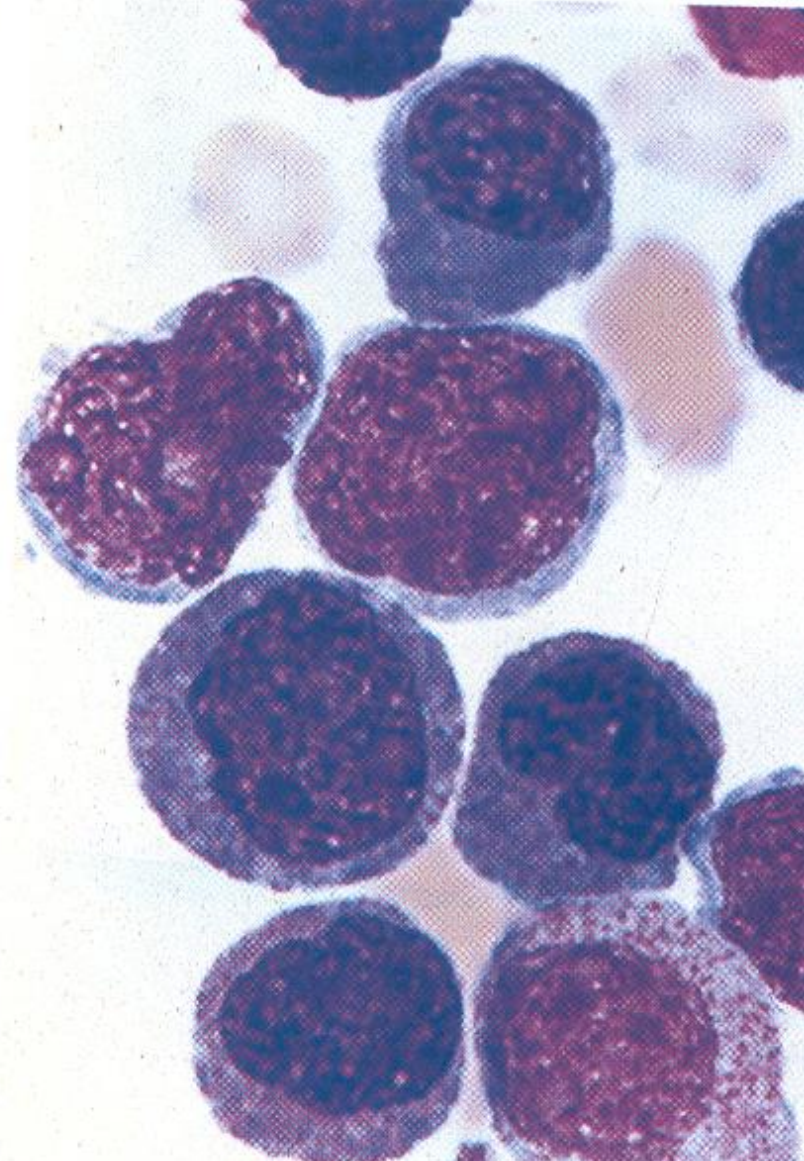
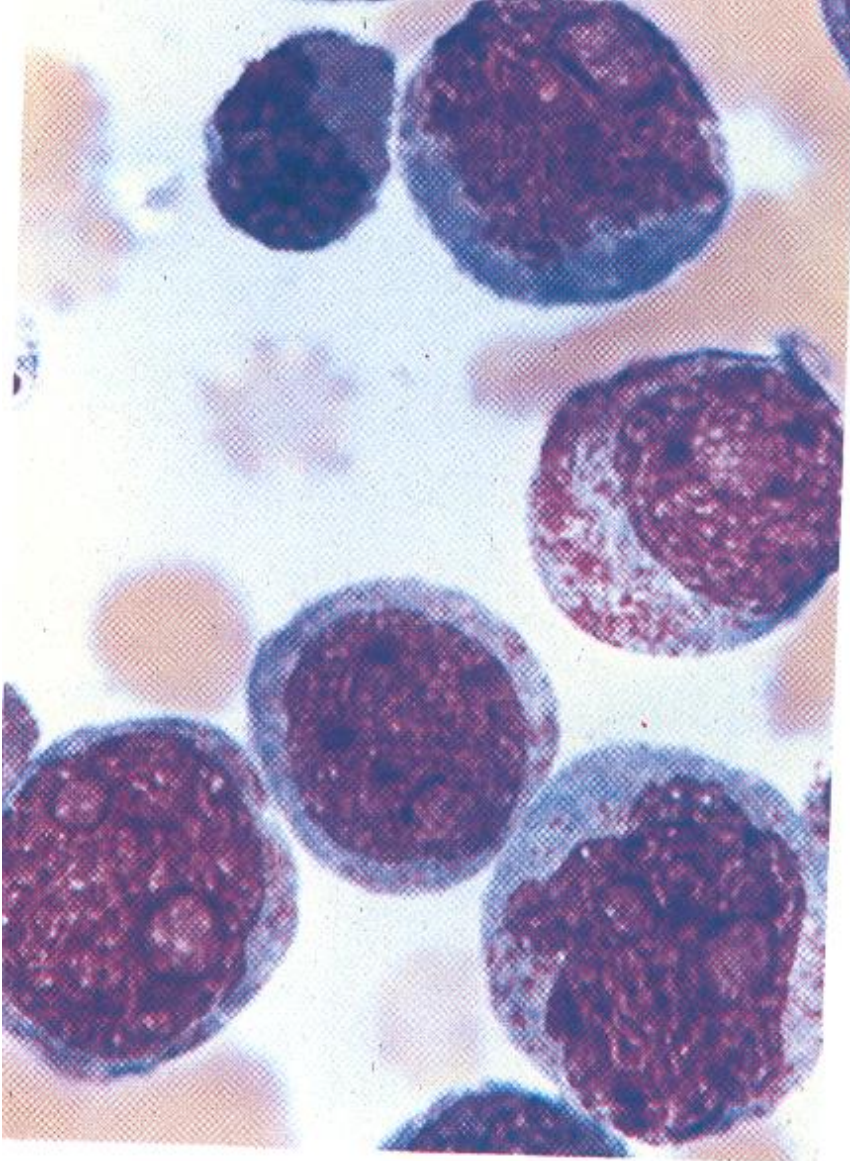


Acute Myeloblastic Leukemia With Maturation-M2

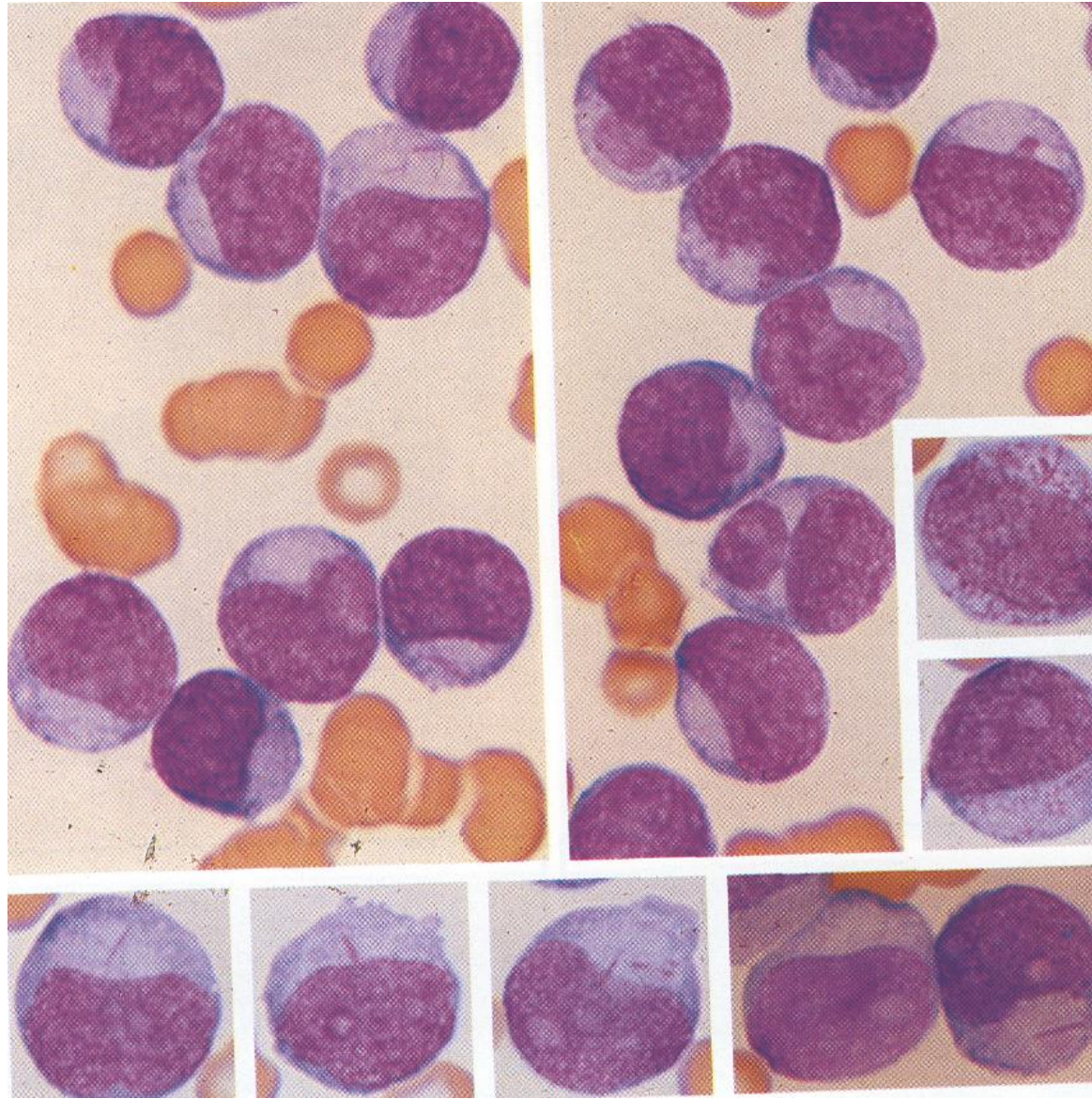
- > 30 % of ANC are type I and type II blasts
- < 90 % of NEC are blasts
- > 10 % Of NEC are promyelocytes or more mature granulocyte
- < 20 % of NEC are of monocytic lineage
- > 85 % of Blasts are positive for Px/SBB



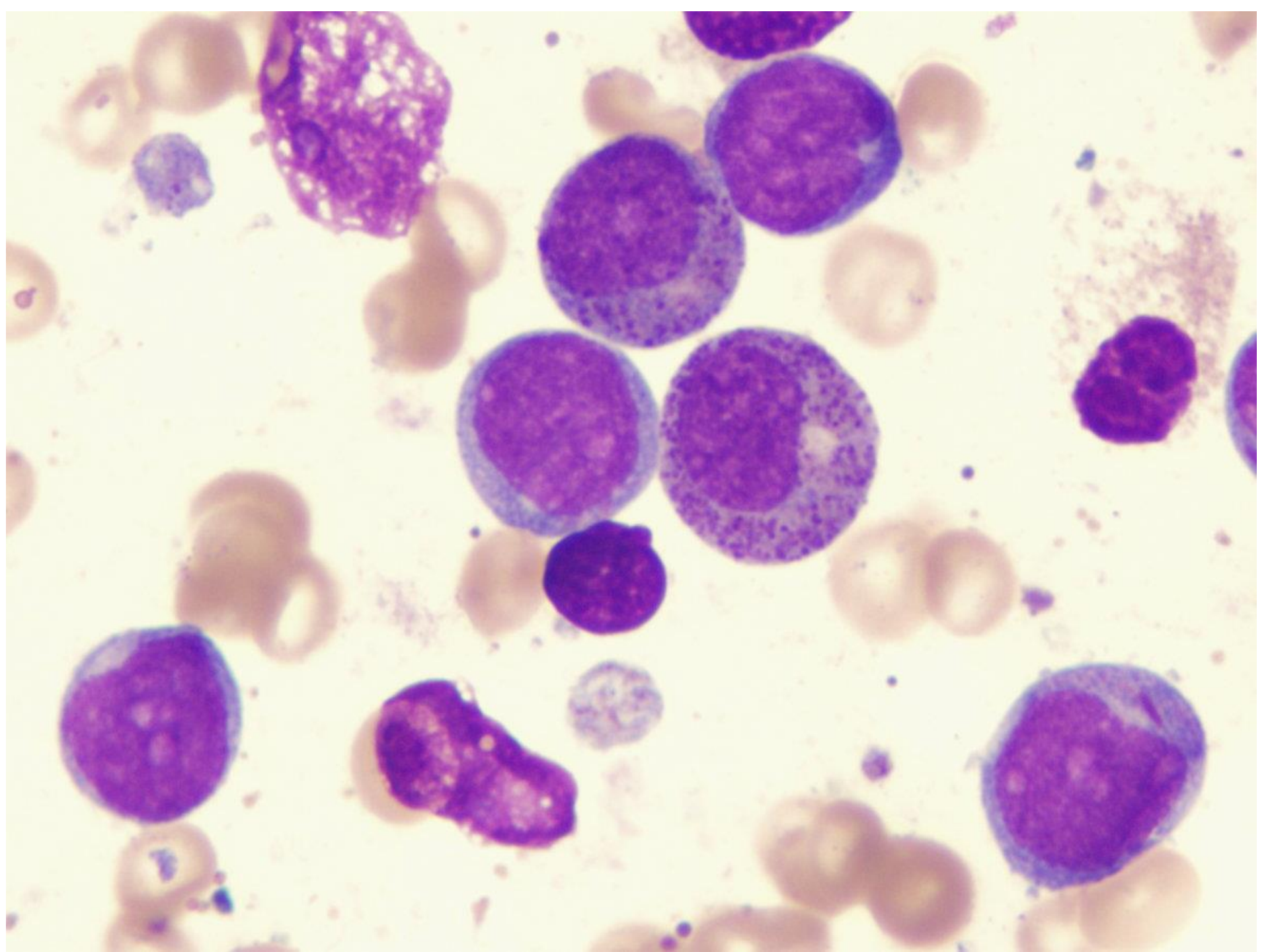
Blood Film M2



Blood Film Aure rods M2



M2



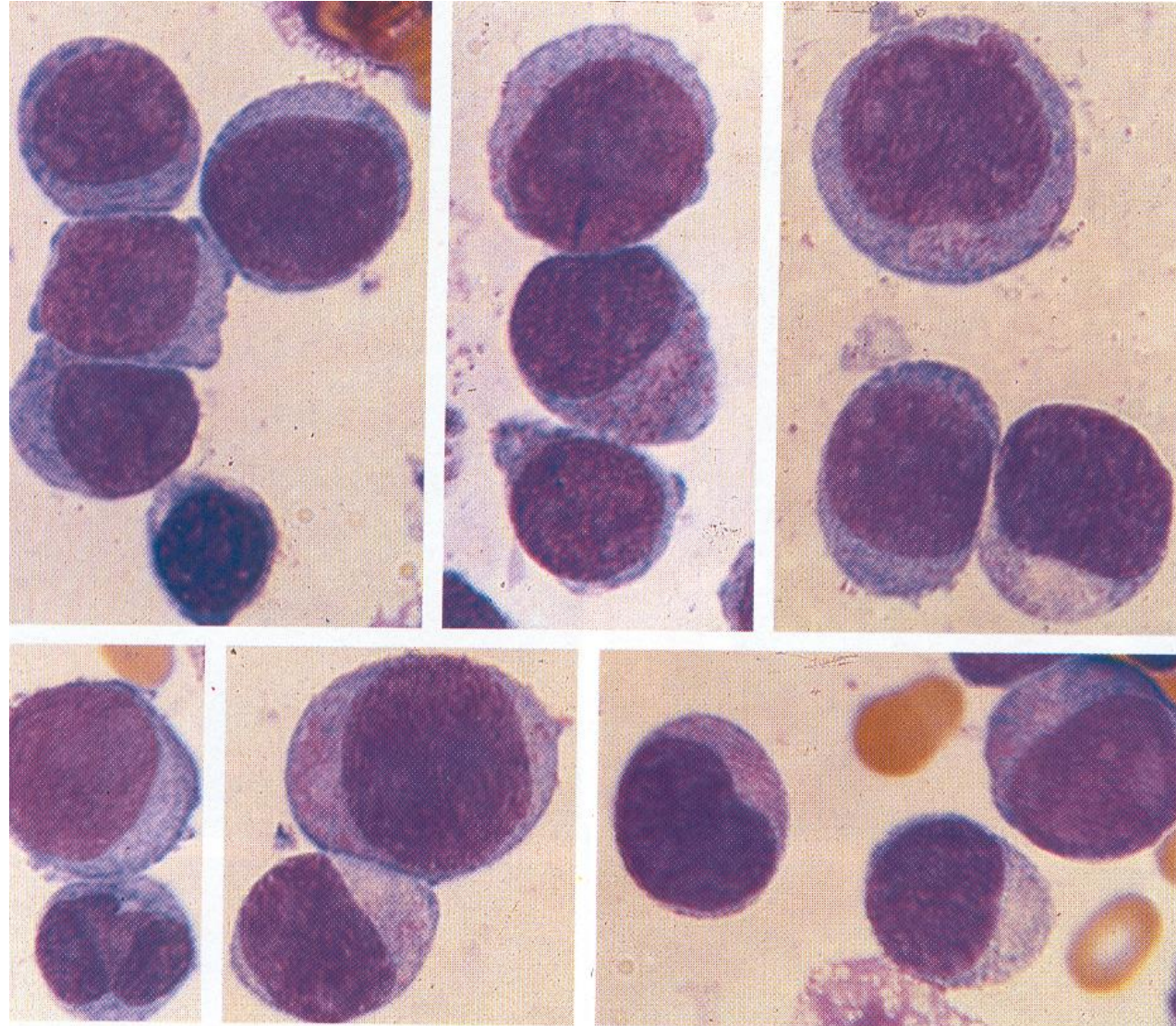
M2 AML with maturation

30% - 90% are myeloblasts
~ 15% with t(8:21)

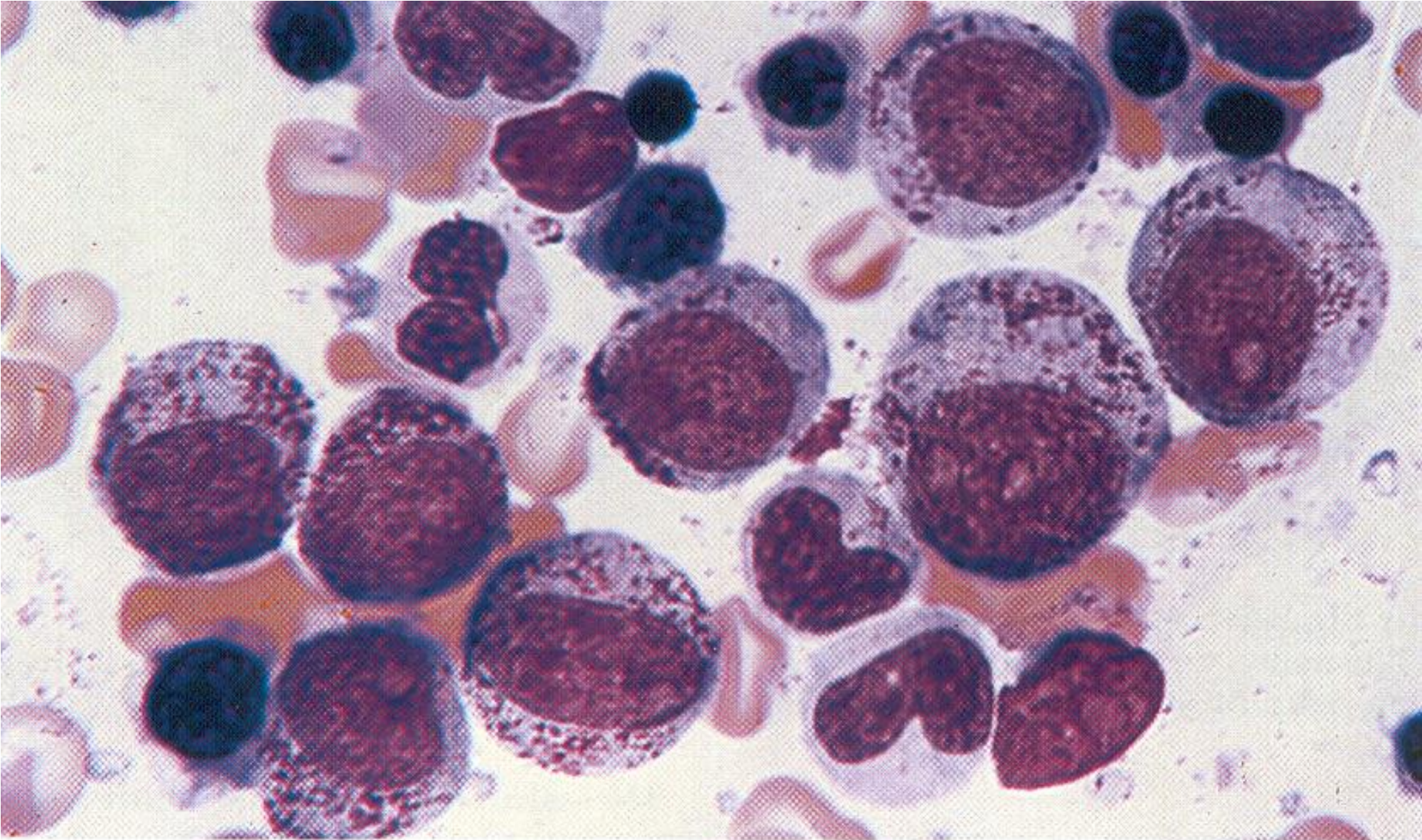
30 - 40%



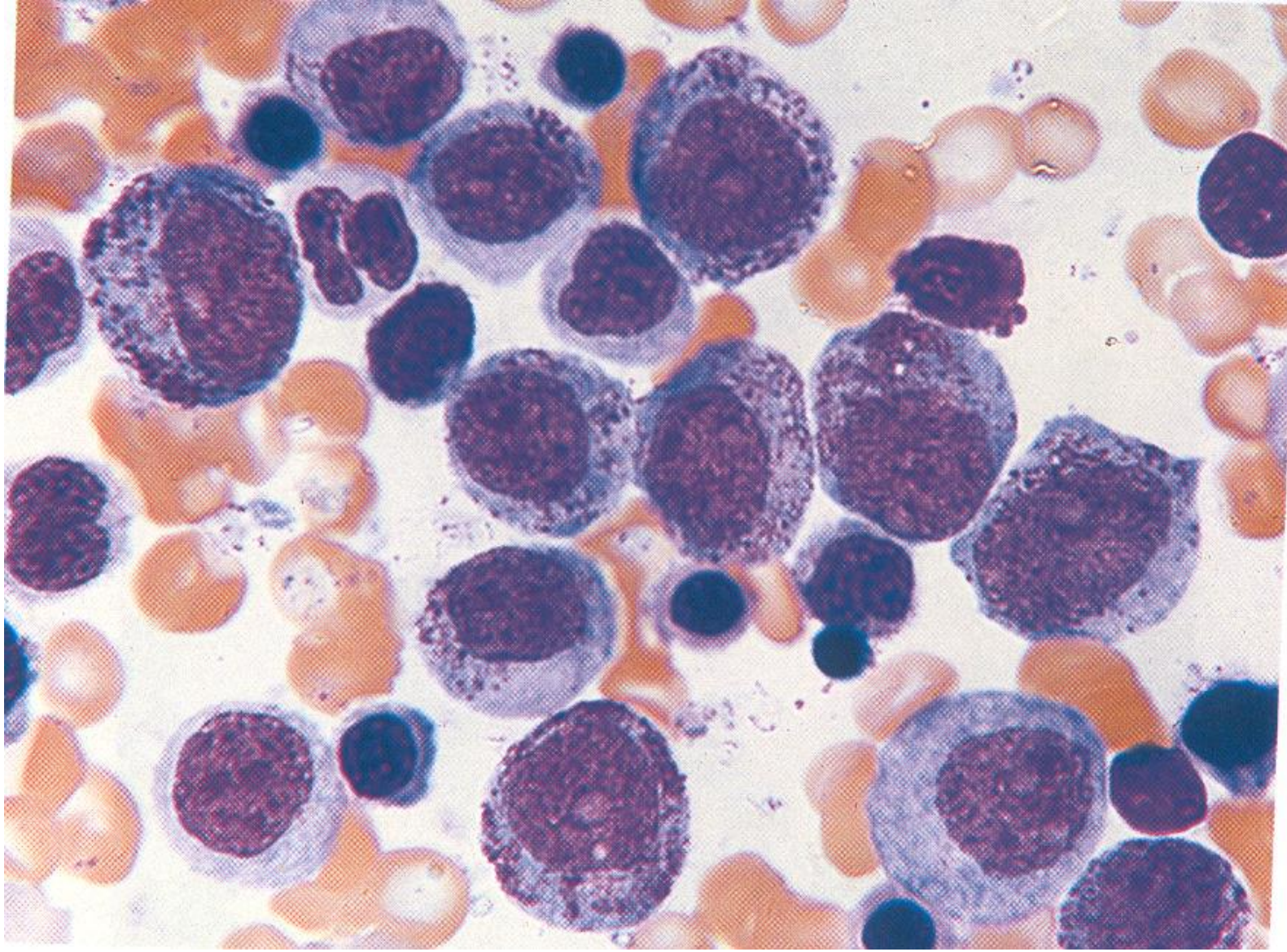
Acute Myeloid Leukemia-M2



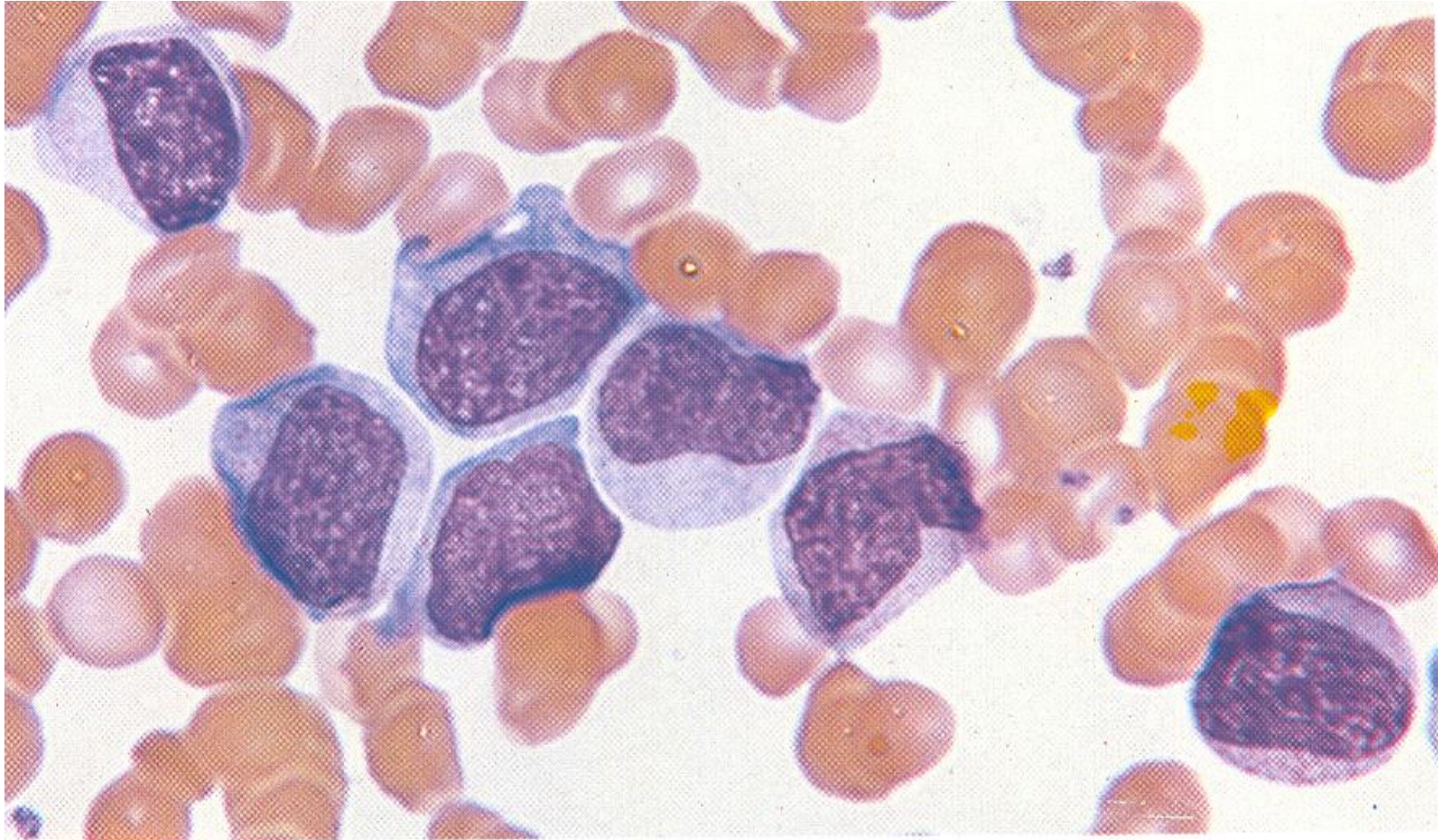
Acute Myeloid Leukemia-M3



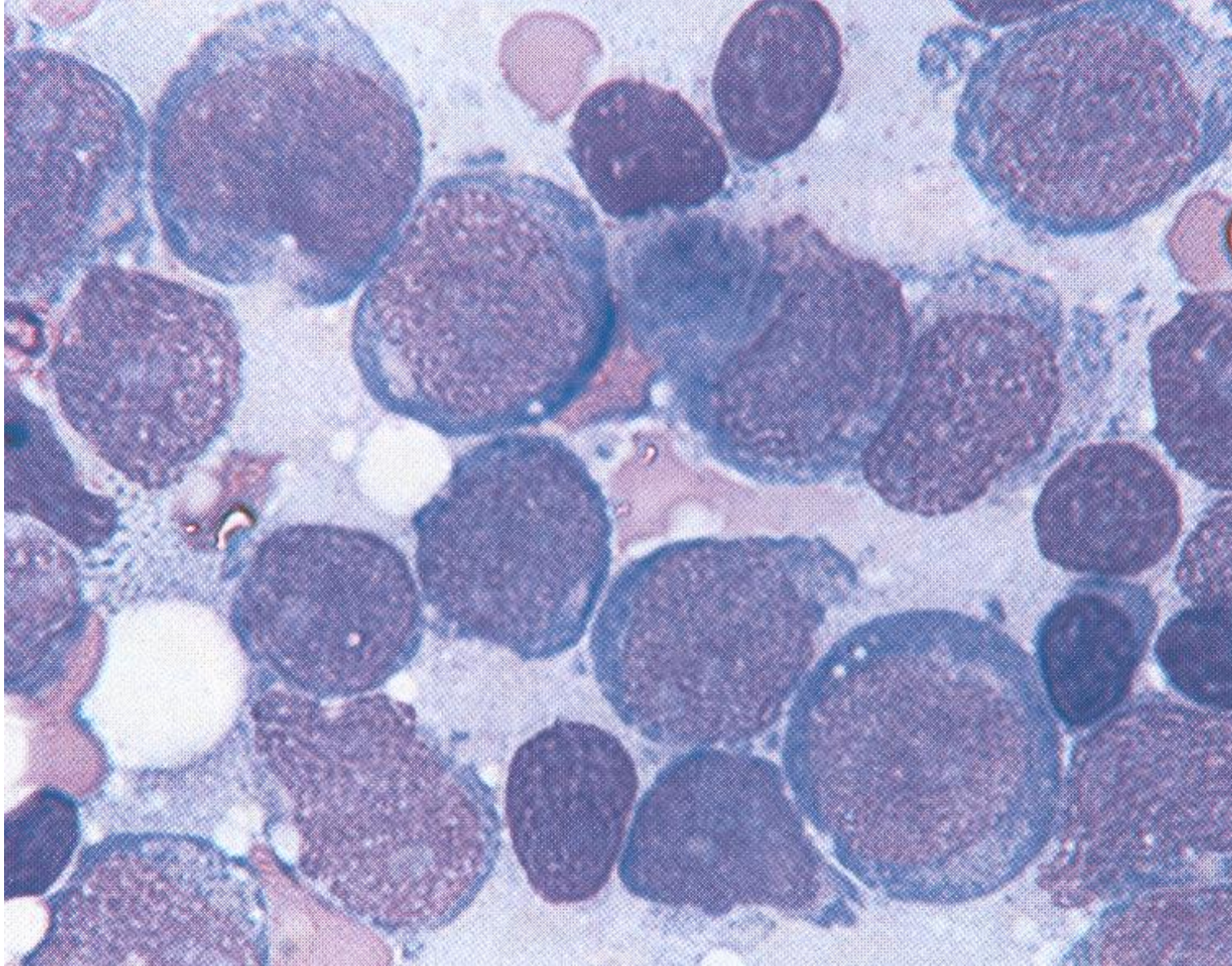
Marrow Film M3



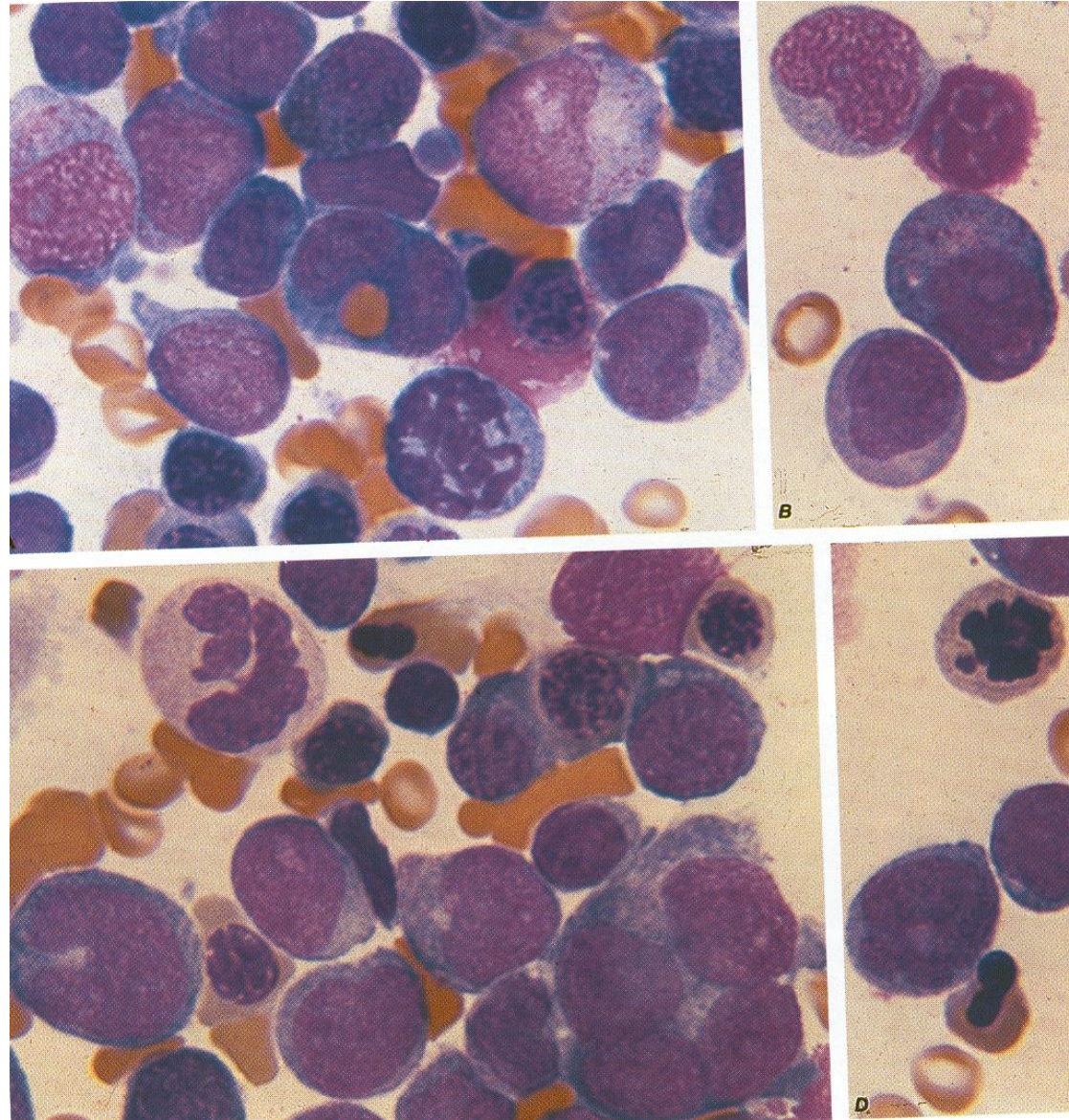
Blood Film M4



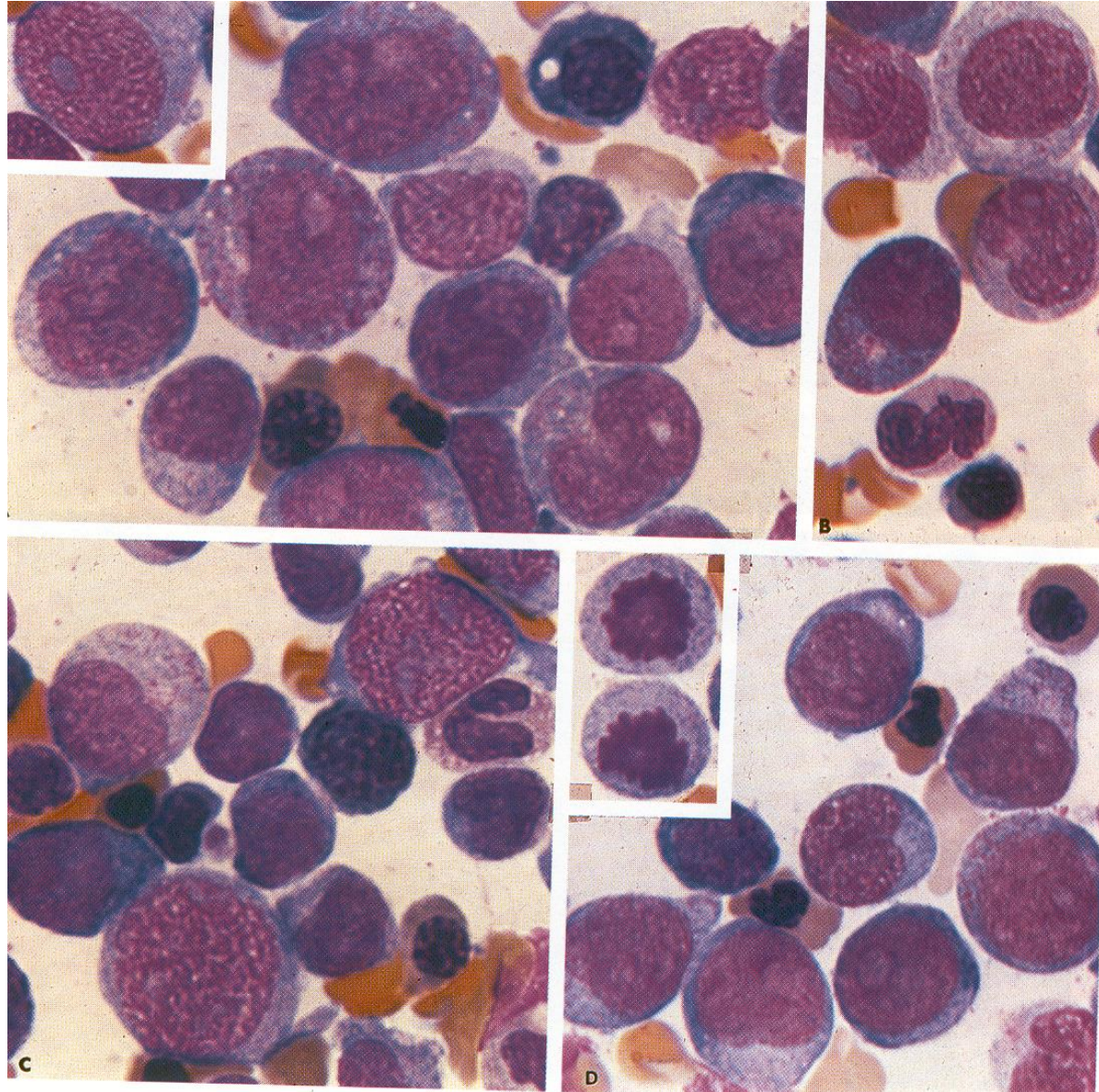
Marrow Film M4



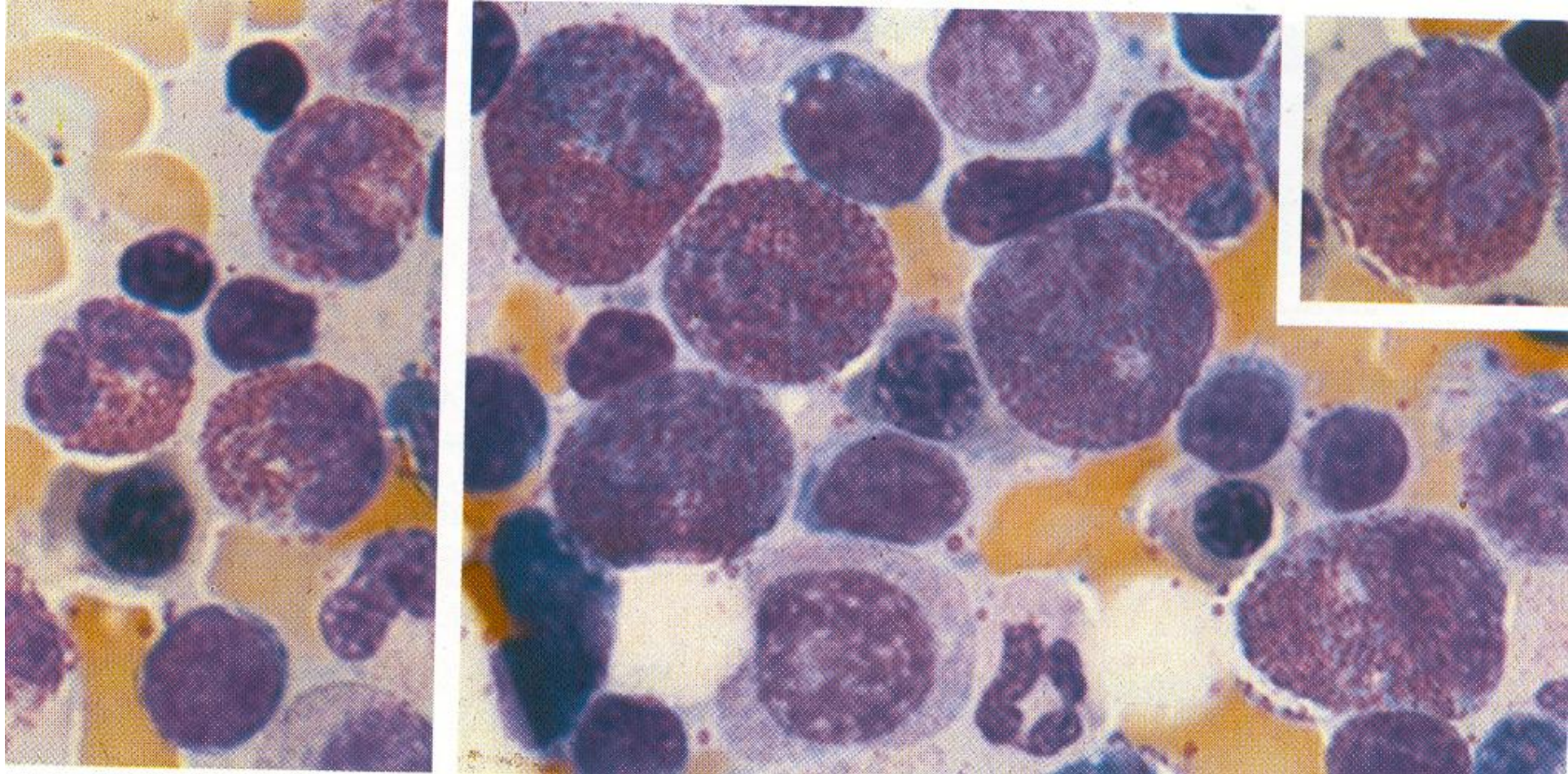
Marrow Film M4



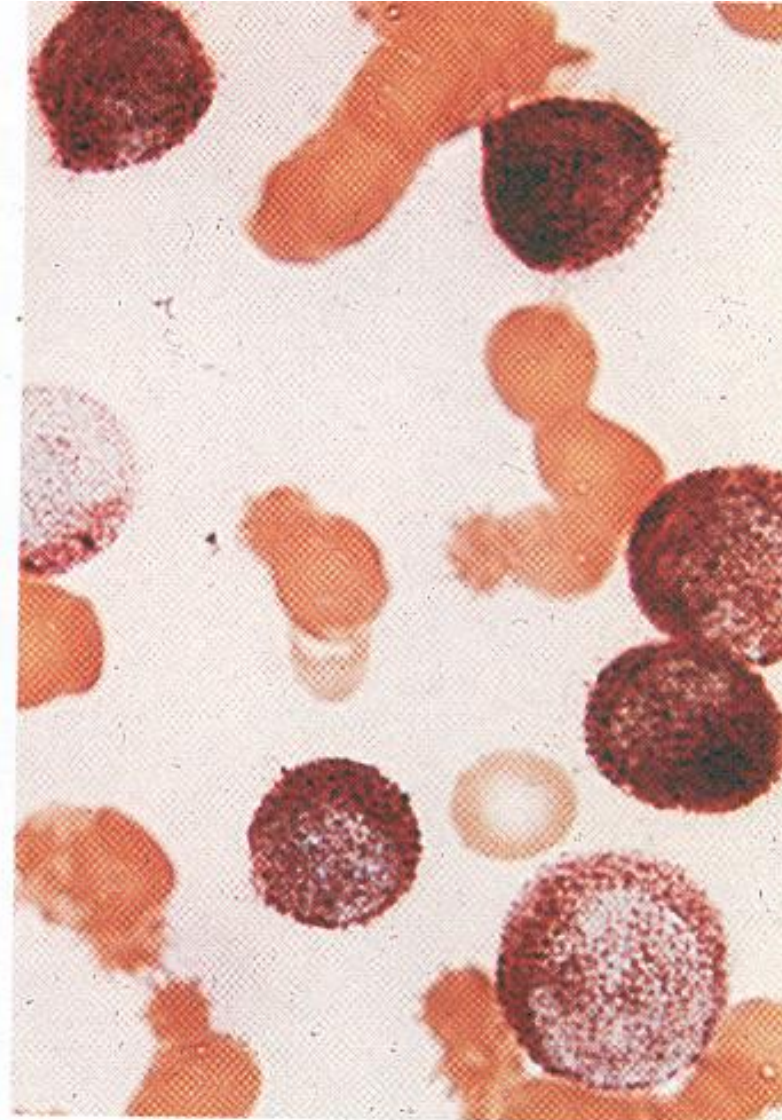
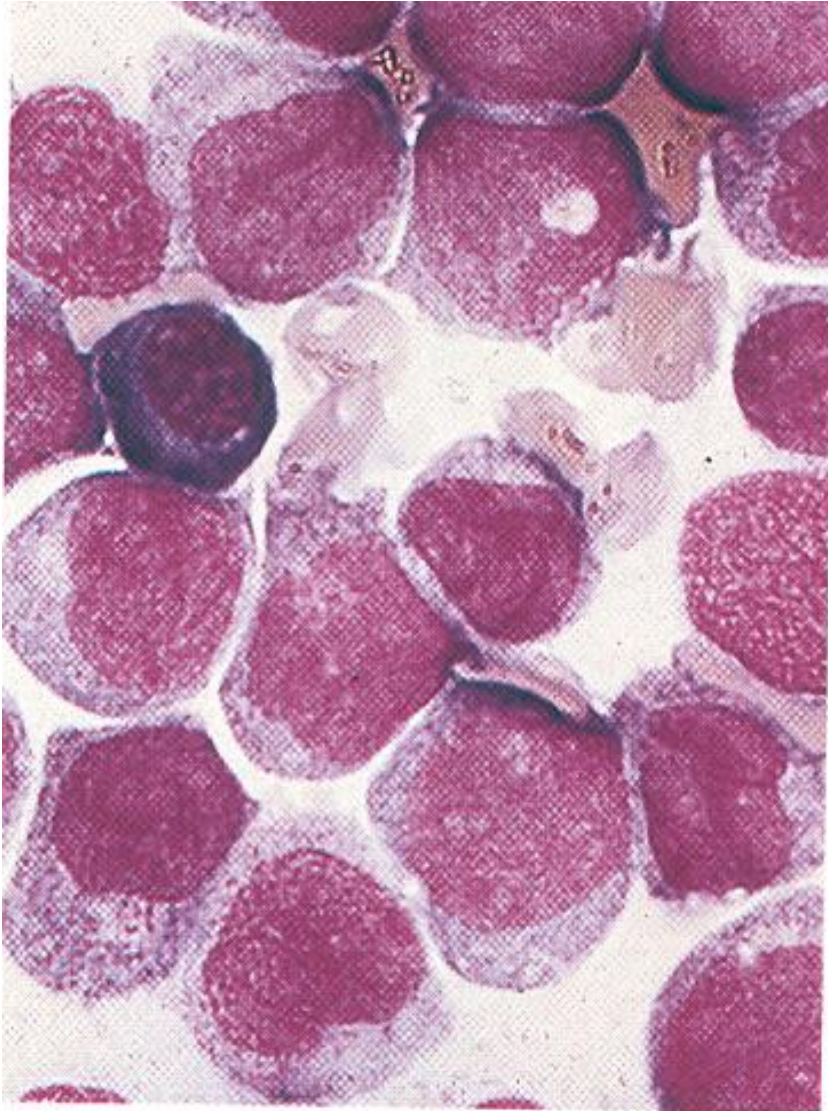
Marrow Film M4



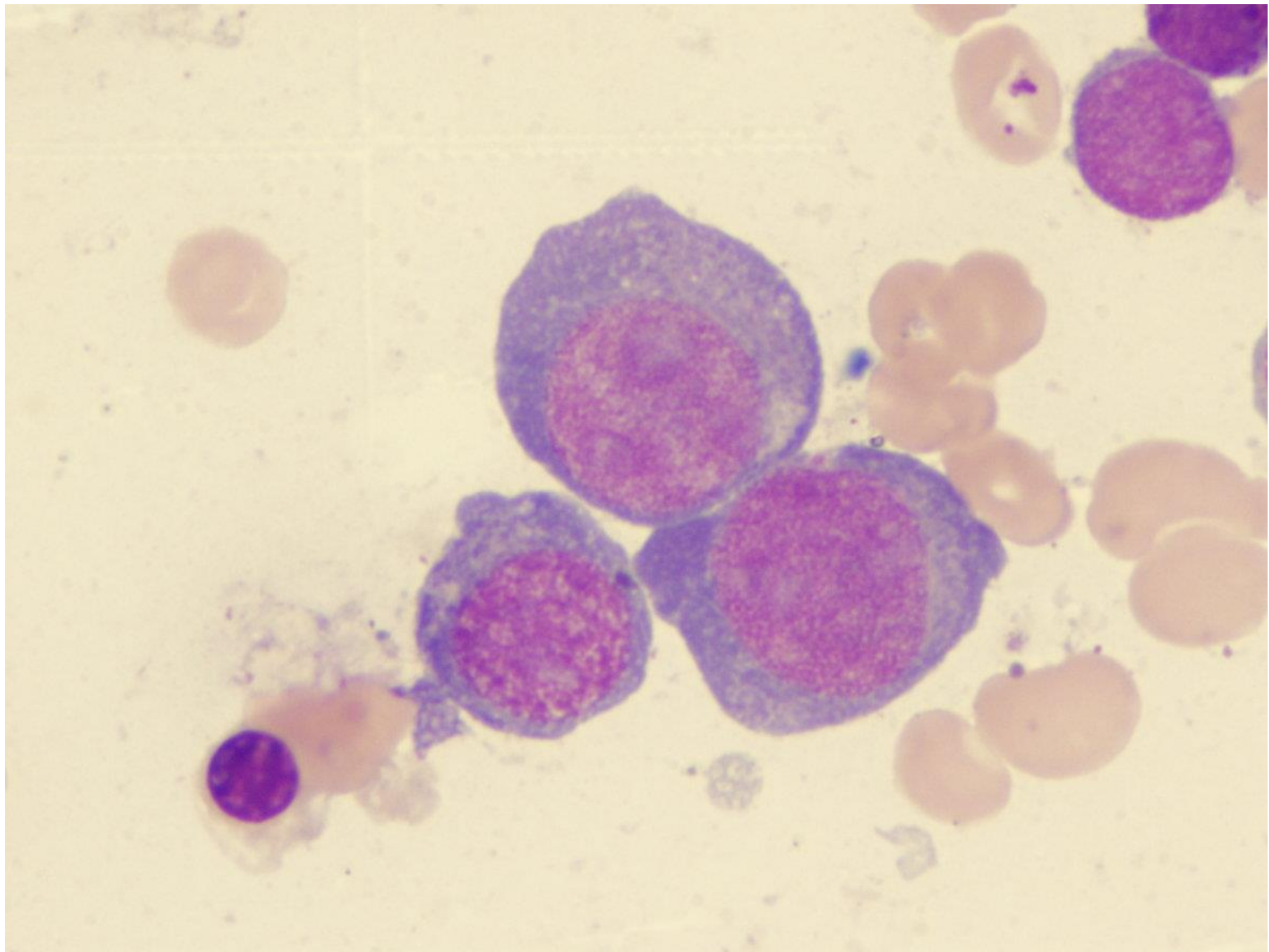
Bone Marrow AML-M4E



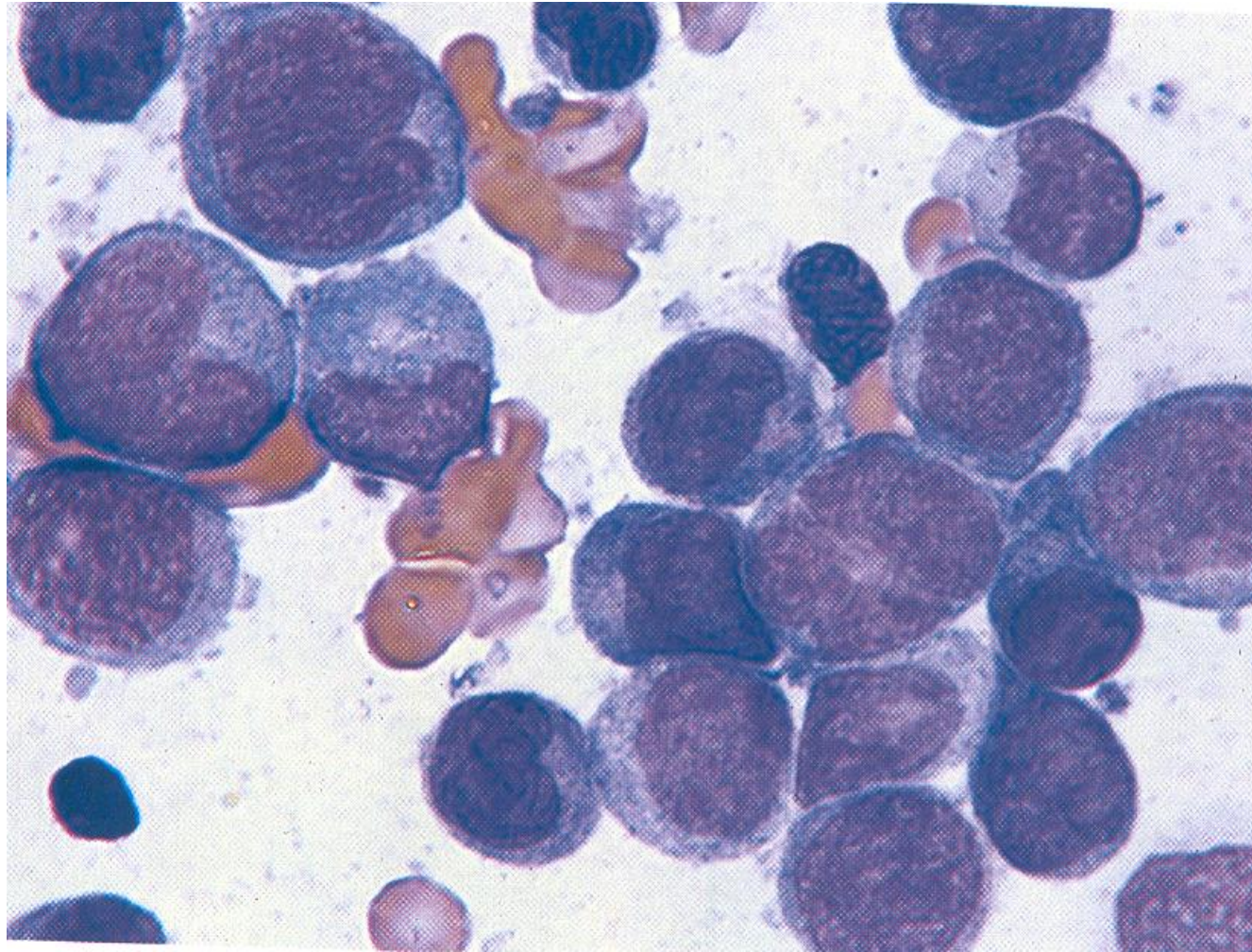
Marrow Film:AML-M5(a)



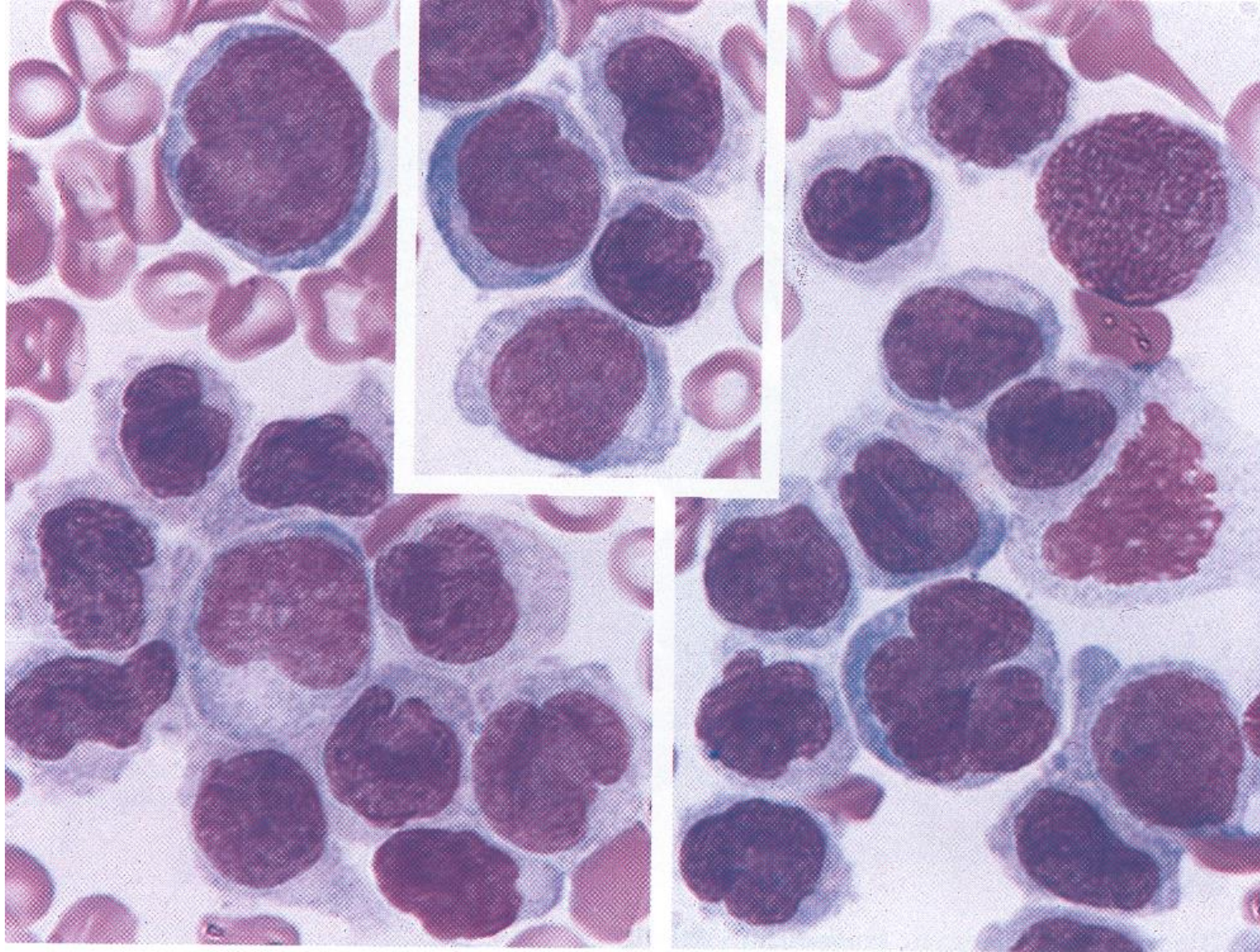
M5



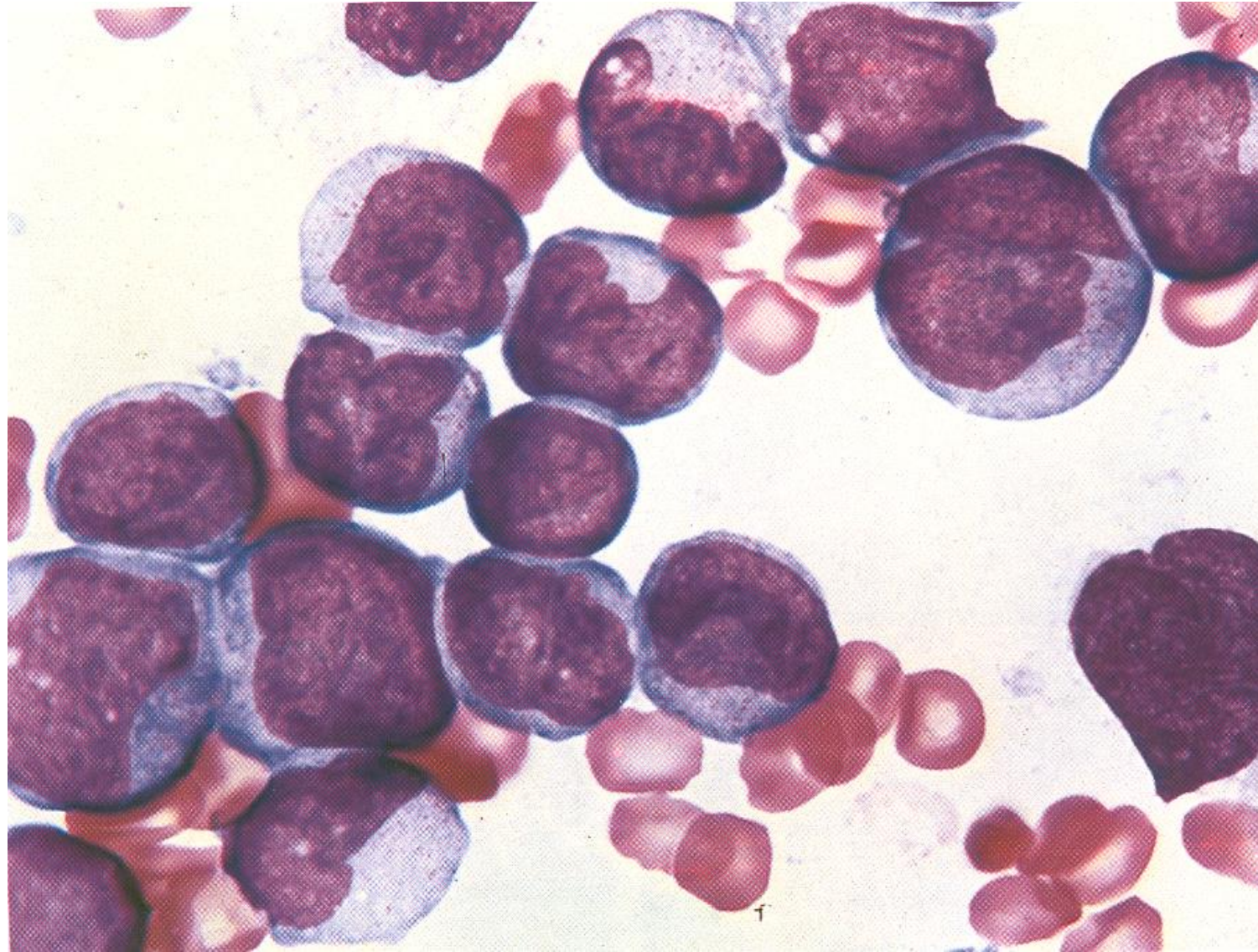
Acute Monoblastic Leukemia-M5(b)



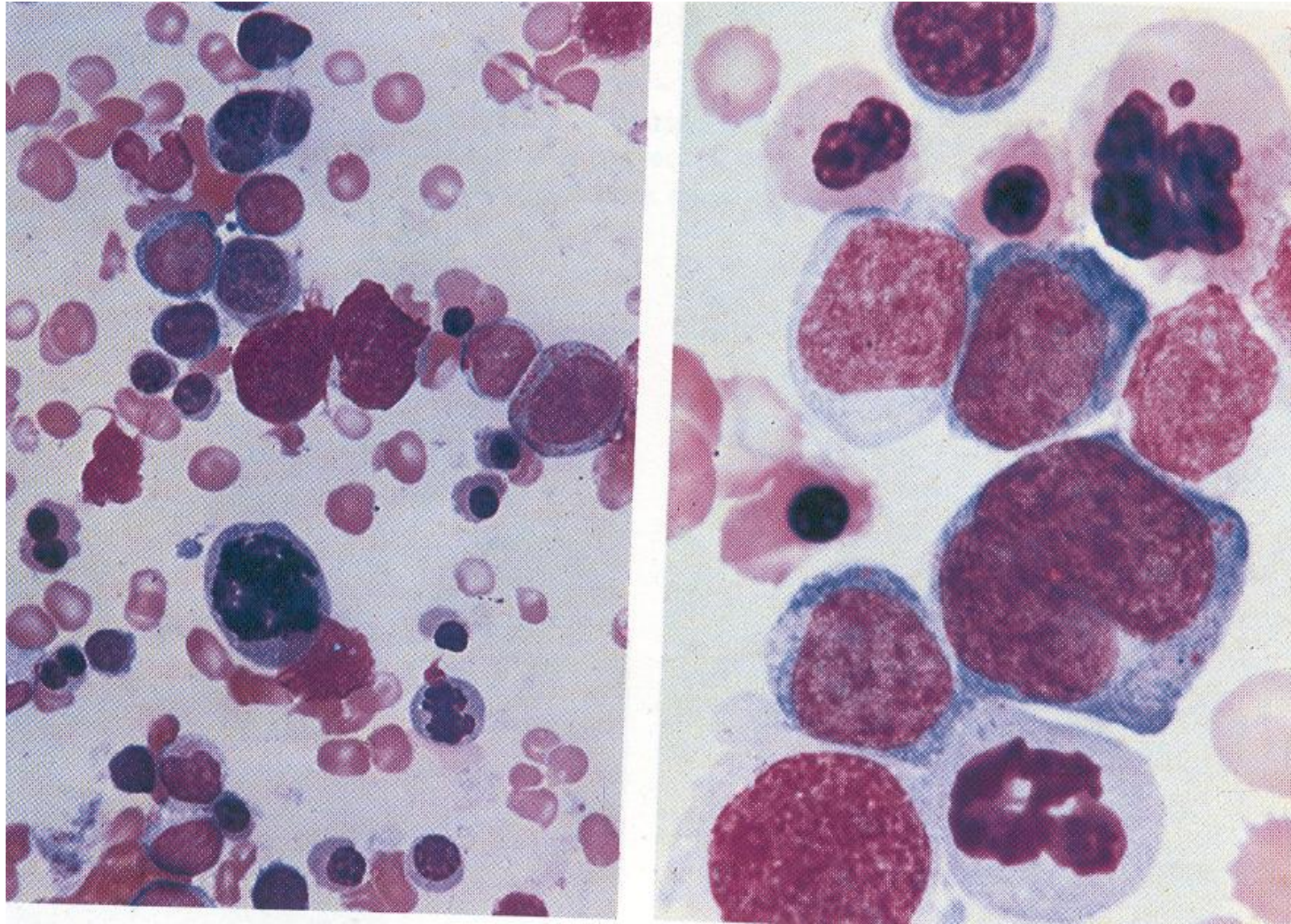
Marrow Film: Monocytic Leukemia-M5(b)

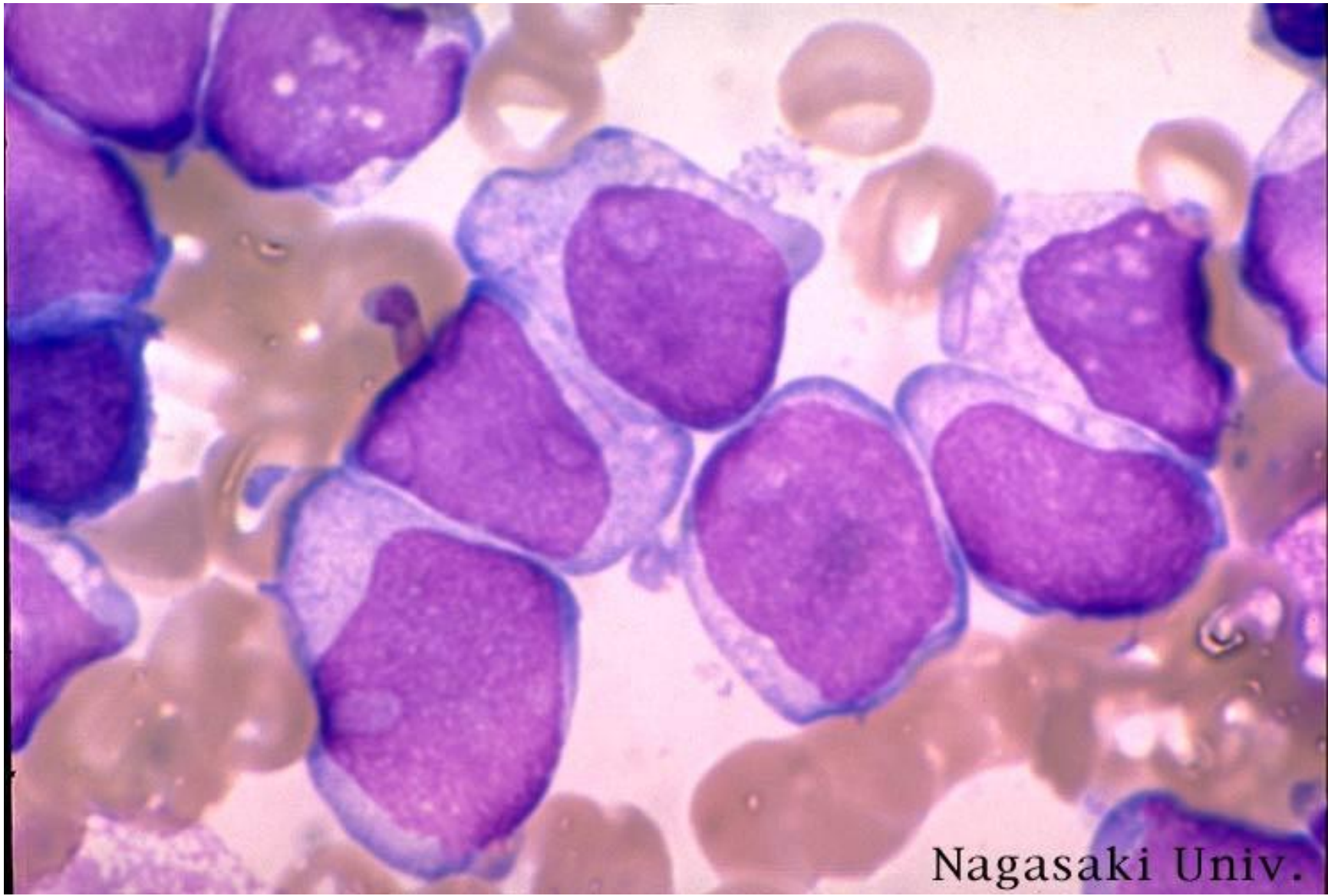


Blood Film:AML-M5(b)



Erythroleukemia -M6

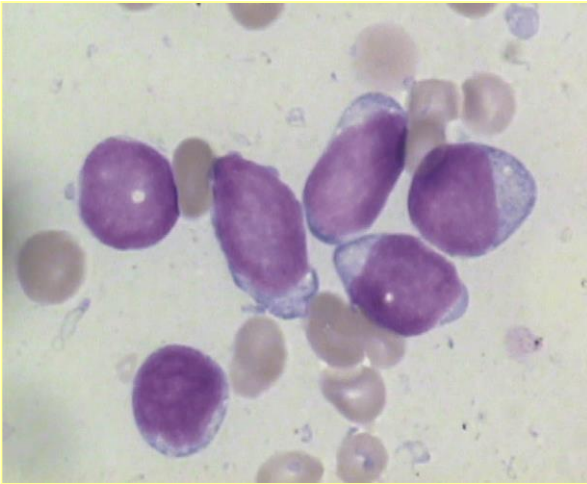




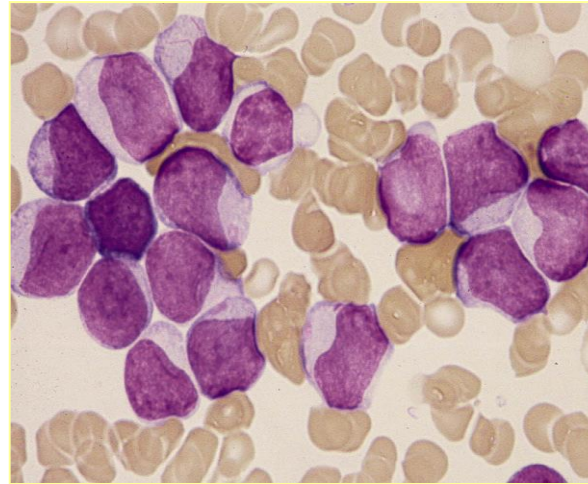
Nagasaki Univ.

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

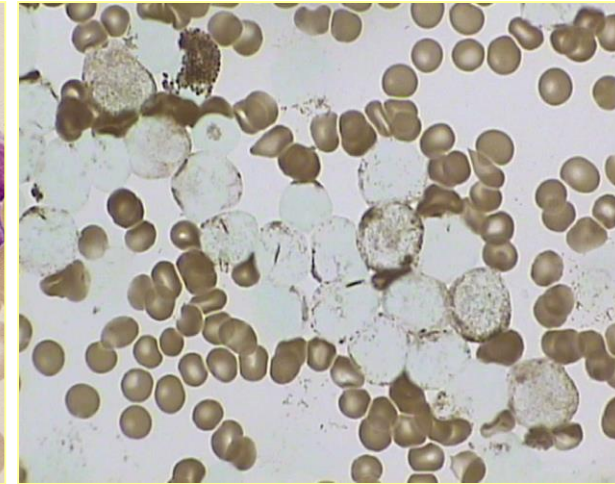
AML not otherwise categorised



AML minimally differentiated (FAB **M0**): Bone marrow MGG stain. Small undifferentiated blasts. Cytochemistry negative. CD34+, CD13+, CD33+.



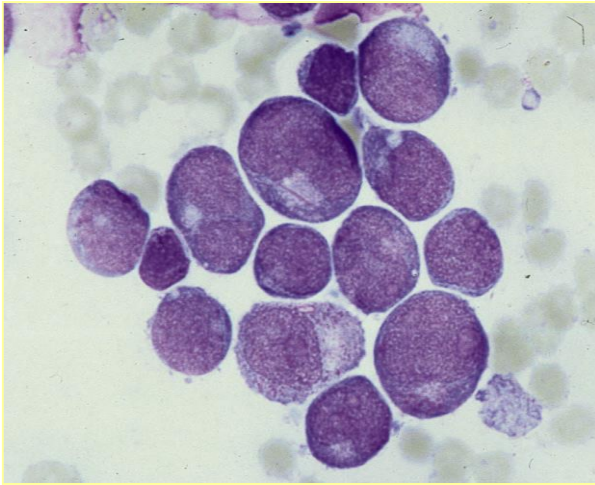
AML, without maturation (FAB **M1**). Bone marrow MGG stain. The marrow is replaced by agranular blast cells. Fine Auer rods are present.



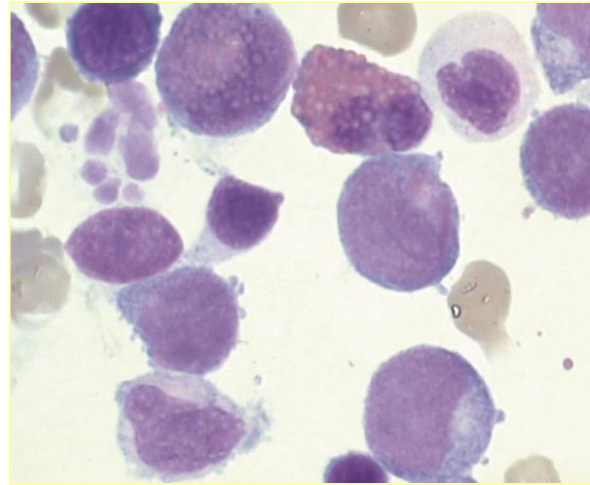
AML without maturation (FAB **M1**): Bone marrow Myeloperoxidase stain. Majority of blasts positive, frequent Auer rods present.

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

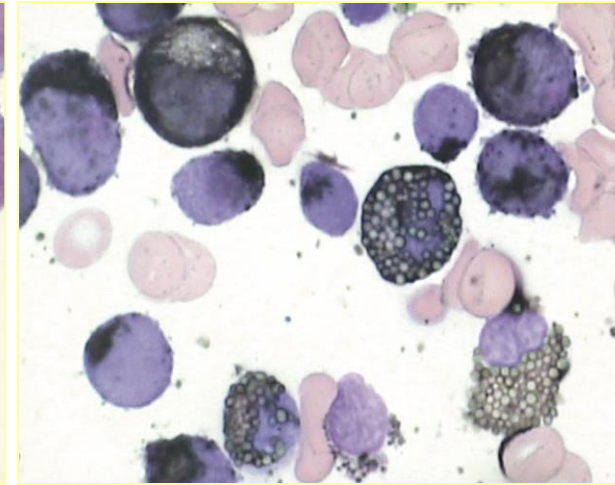
AML with recurrent cytogenetic translocations



t(8;21): Marrow, MGG stain. Mainly blast cells, minimal maturation (FAB **M1**). Note prominent Golgi region, indented nuclei and long slender Auer rod.



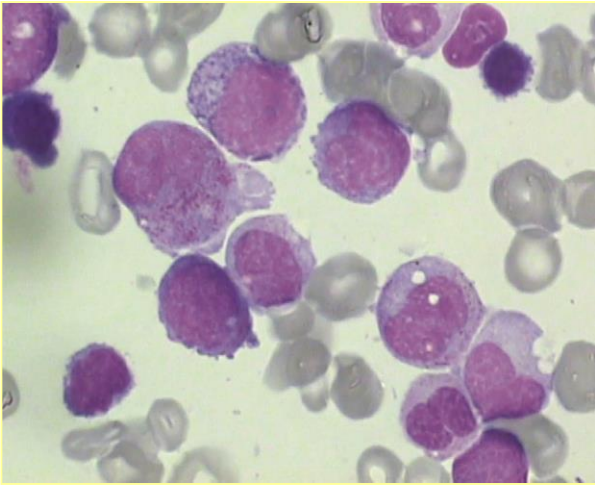
t(8;21): Marrow, MGG stain. **M2** type. Blasts show prominent Golgi regions. One long Auer rod present. Note dysplastic granulocytes and abnormal eosinophils.



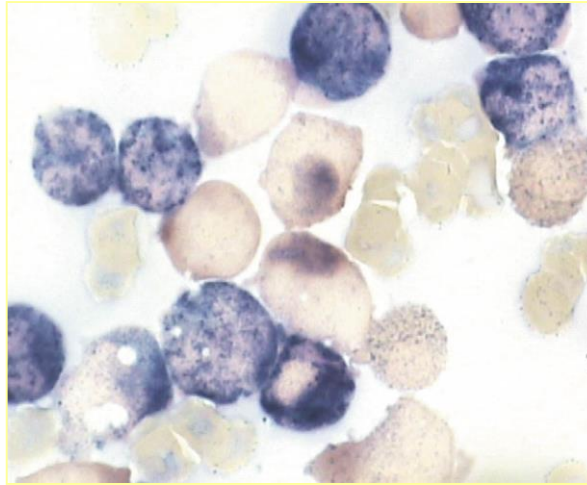
t(8;21): Marrow, Sudan Black B stain. **M2** type. Note intense localised staining in the blasts, heavy staining of maturing cells and abnormal eosinophil granules.

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

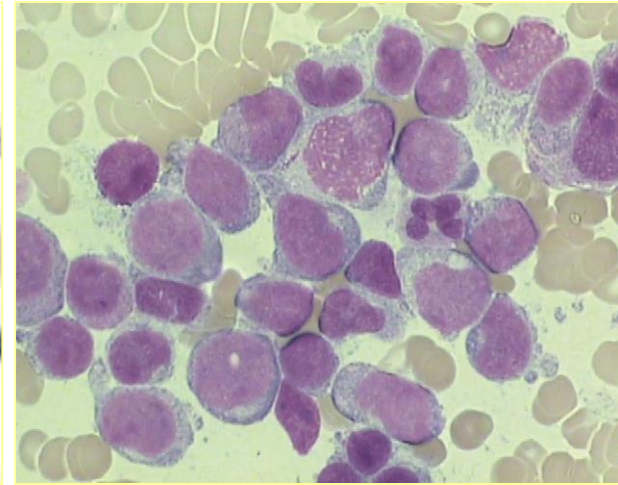
AML not otherwise categorised



AML with maturation (FAB **M2**):
Bone marrow MGG stain.
Note abnormal promyelocytes
and dysplastic metamyelocyte
and neutrophil.



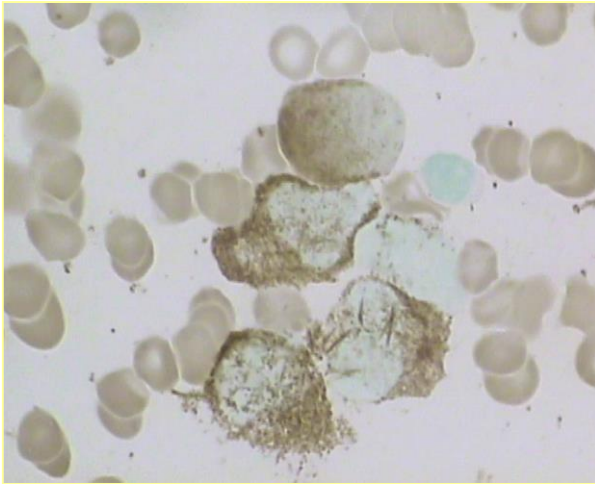
AML with maturation (FAB **M2**):
Bone marrow combined
esterase stain. The blue
(chloroacetate esterase) staining
confirms maturing granulocytes.



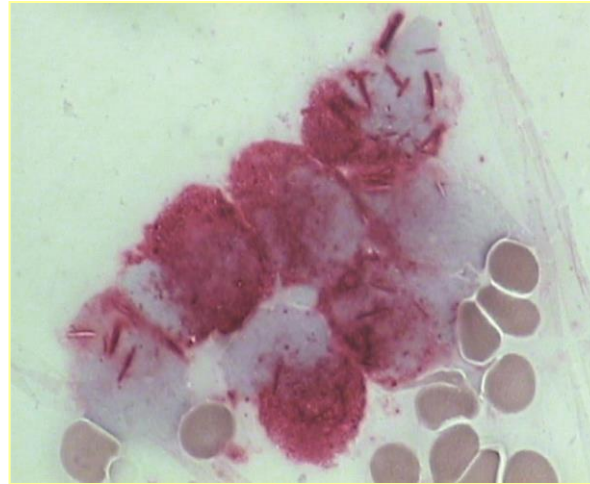
AML, myelomonocytic (FAB **M4**):
Bone marrow, MGG stain.
Note variation in blast size and
nuclear/cytoplasmic ratio.

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

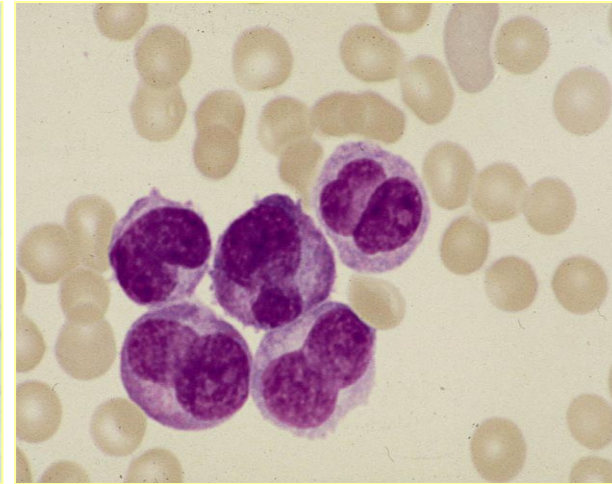
AML with recurrent cytogenetic translocations



Acute promyelocytic leukaemia, hypergranular type (**M3**): Bone marrow MPO stain. Characteristic heavy cytoplasmic staining and multiple Auer rods shown.



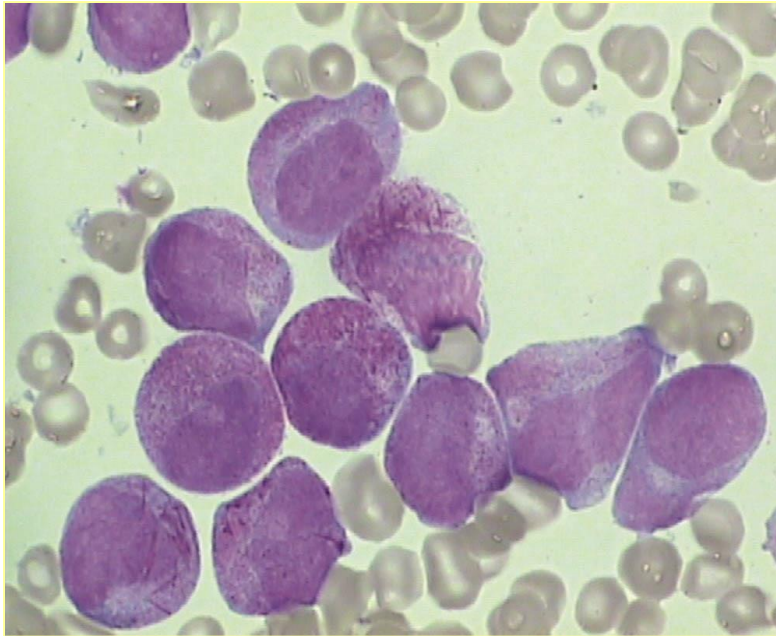
Acute promyelocytic leukaemia, hypergranular variant (**M3**): Bone marrow **chloroacetate esterase** stain. Heavy staining confirms maturation beyond the blast stage. Note multiple Auer rods.



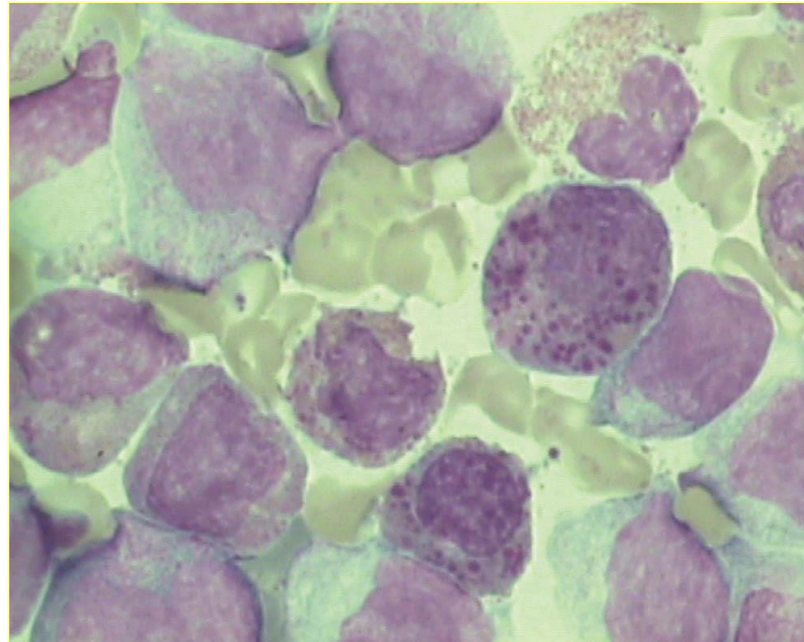
Acute promyelocytic leukaemia, hypogranular variant (**M3v**): Bone marrow MGG stain. Characteristic bilobed nuclei and basophilic agranular cytoplasm.

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

AML with recurrent cytogenetic translocations



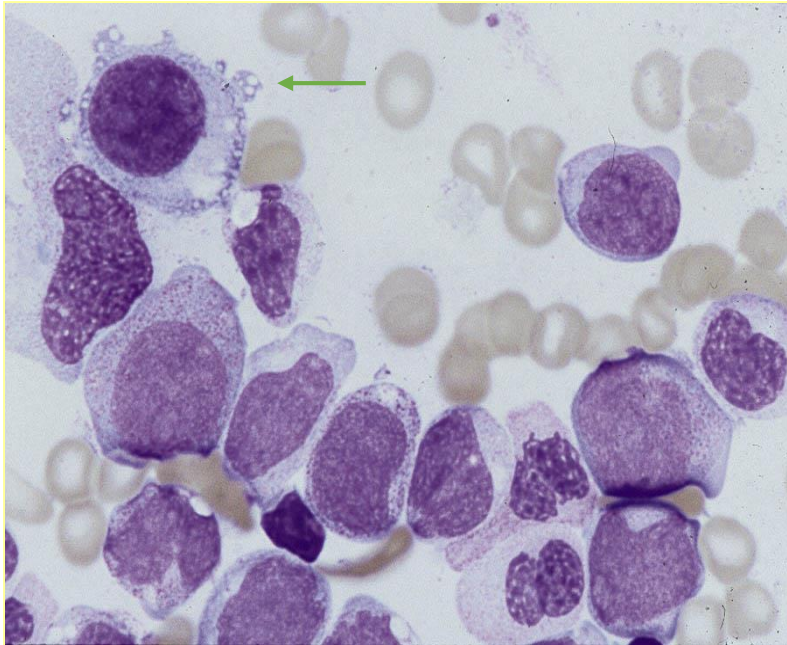
Hypergranular acute promyelocytic leukaemia (FAB **M3**): Bone marrow MGG stain. Two cells show multiple Auer rods. Variable purple granules in the other cells.



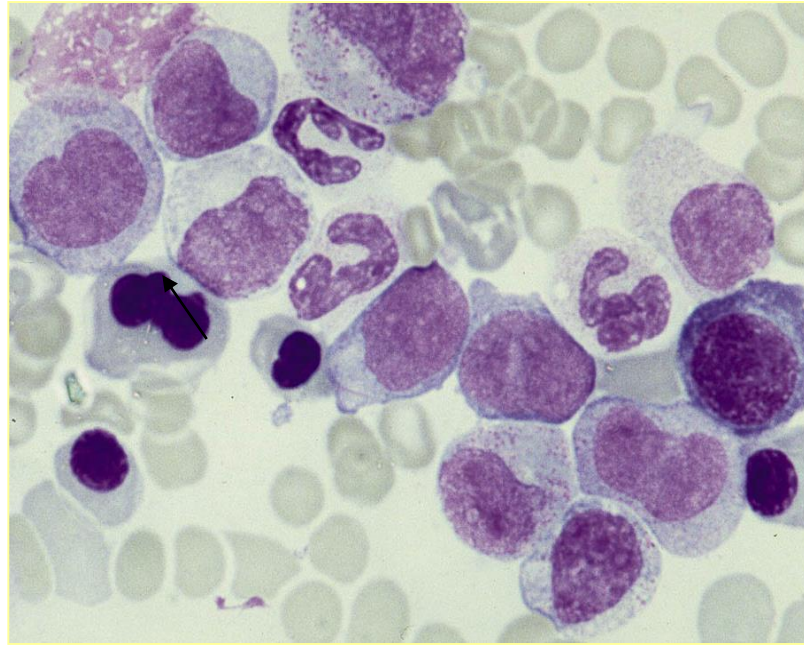
Inv(16), (FAB **M4EO**). Bone marrow MGG stain. Myelomonocytic leukaemia with abnormal eosinophils and diagnostic cells with prominent blue/black granules.

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

AML with multilineage dysplasia



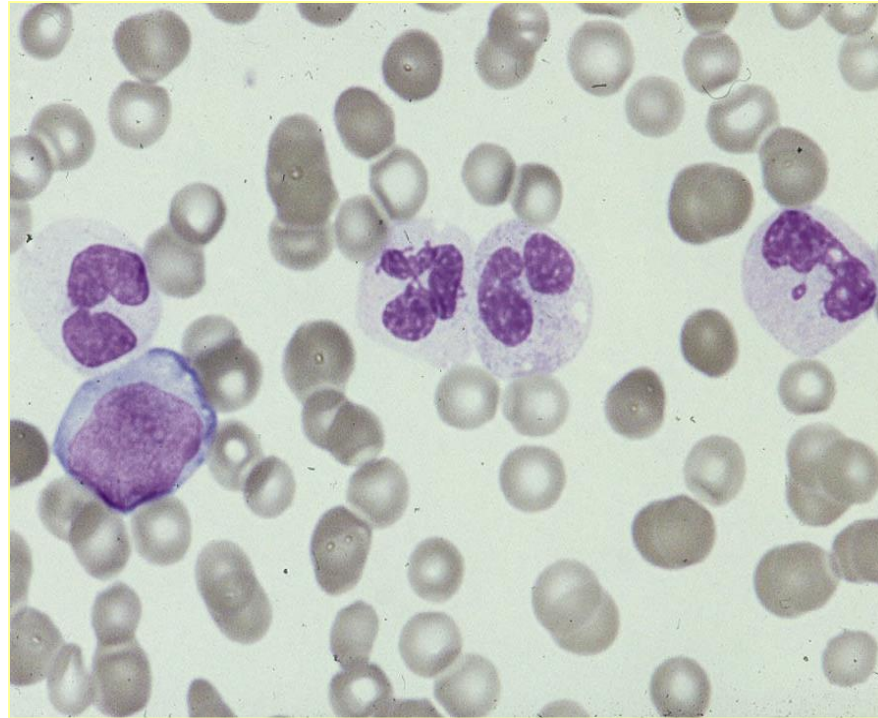
AML with multilineage dysplasia: Marrow MGG stain. Note small mononuclear **megakaryocyte** (arrow) and **hypogranular** poorly segmented neutrophils.



AML with multilineage dysplasia: Marrow MGG stain. **Dyserythropoiesis** (arrow) and hypogranular neutrophils.

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

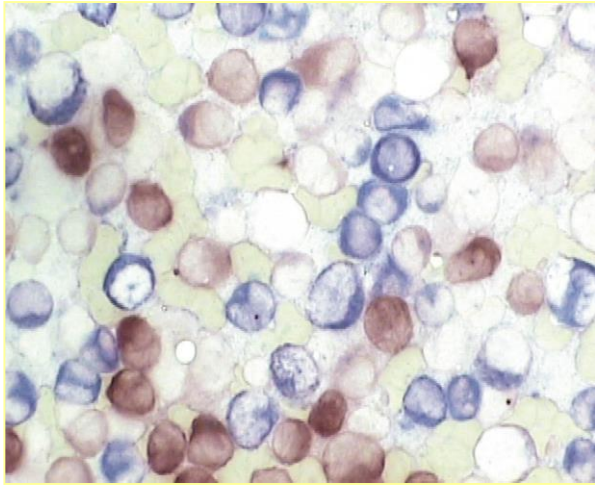
AML therapy-related



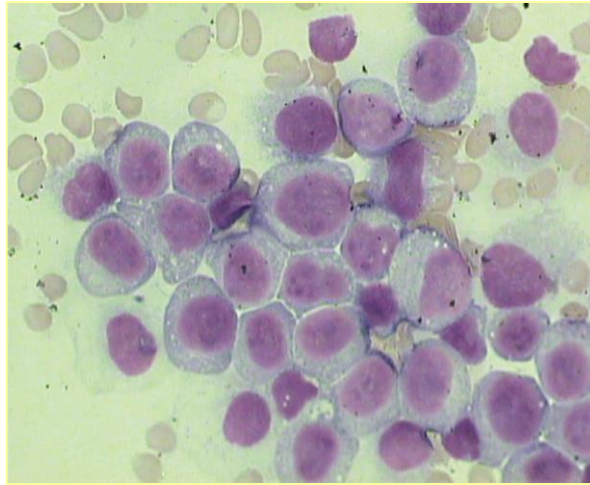
**AML, alkylating agent-related: Peripheral blood MGG stain.
Dysplastic neutrophils, large undifferentiated blast cell.**

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

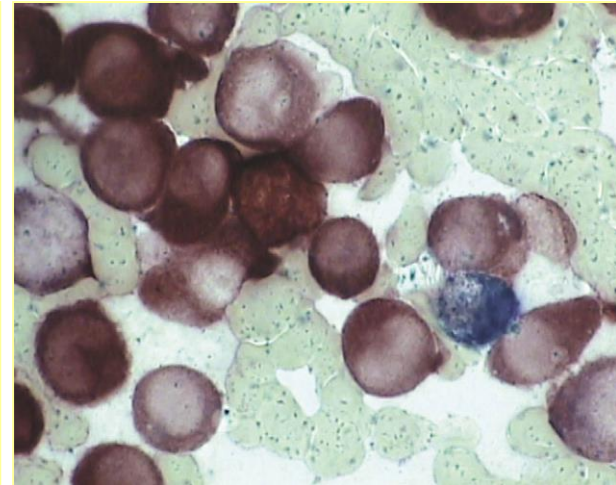
AML not otherwise categorised



AML, Myelomonocytic,
combined esterase stain.
Granulocyte component blue
(chloroacetate esterase),
monocyte component brown
(non-specific esterase).



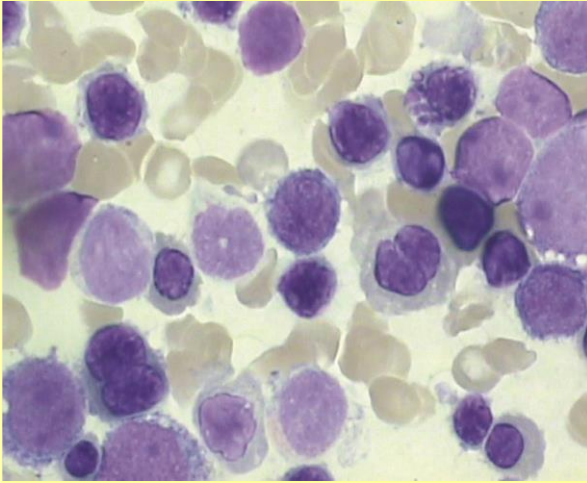
AML, monocytic (FAB **M5**): Bone
marrow MGG stain.
Monoblasts are large with
rounded central nuclei and
abundant cytoplasm.



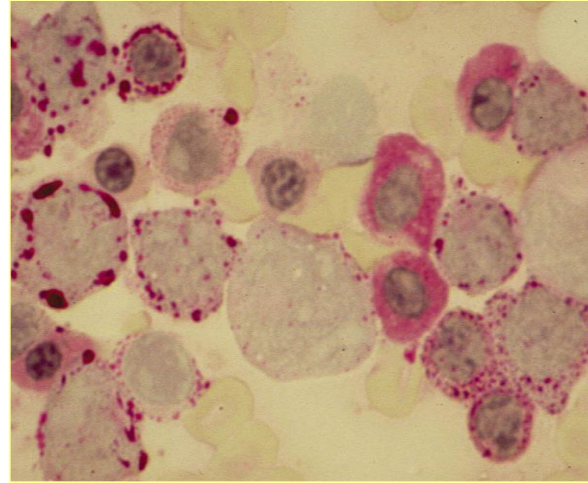
AML, monocytic (FAB **M5**): Bone
marrow combined esterase
stain. Monoblasts staining
brown (non-specific esterase).
One neutrophil is blue
(chloroacetate).

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

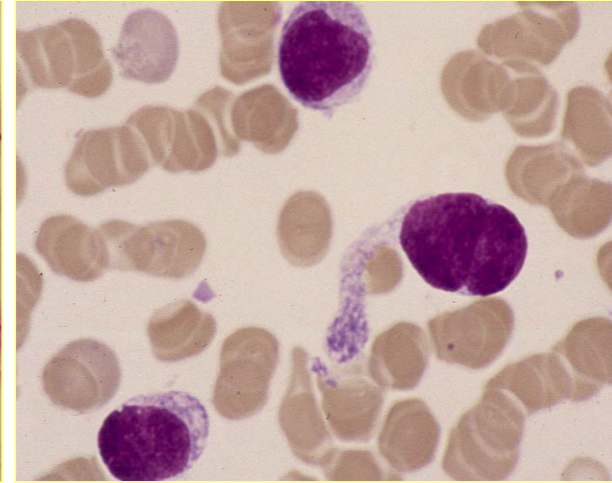
AML not otherwise categorised



AML, erythroid (FAB M6): Bone marrow MGG stain. Majority of cells are abnormal erythroid precursors.



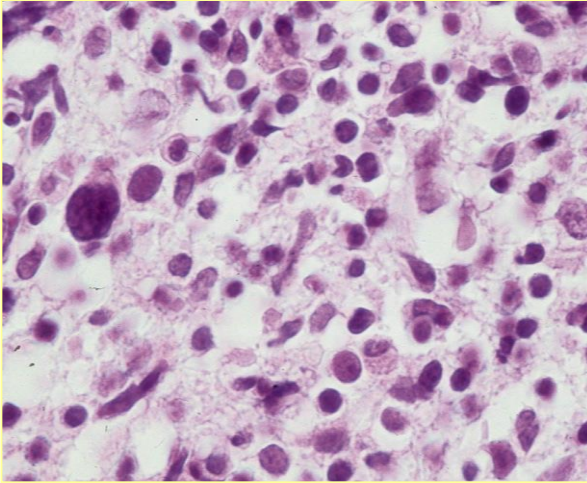
AML, erythroid (FAB M6): Bone marrow PAS stain. All the erythroid precursors contain glycogen (red), which is never present in normal red cell precursors.



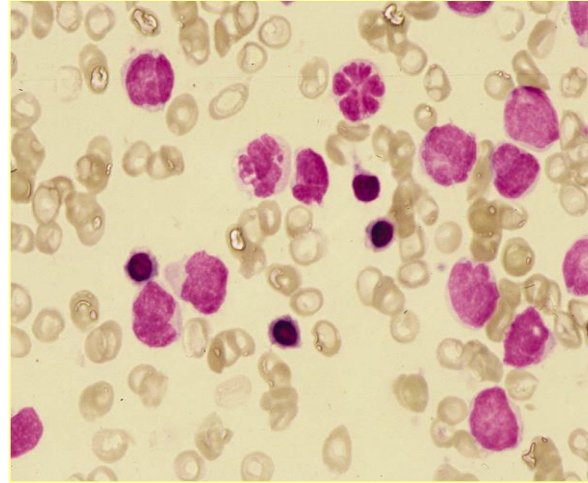
AML, megakaryoblastic (FAB M7): Bone marrow MGG stain. Shows blasts with dense chromatin and reticulated cytoplasm. Blasts CD61 positive.

Acute Myeloid Leukaemia (AML)

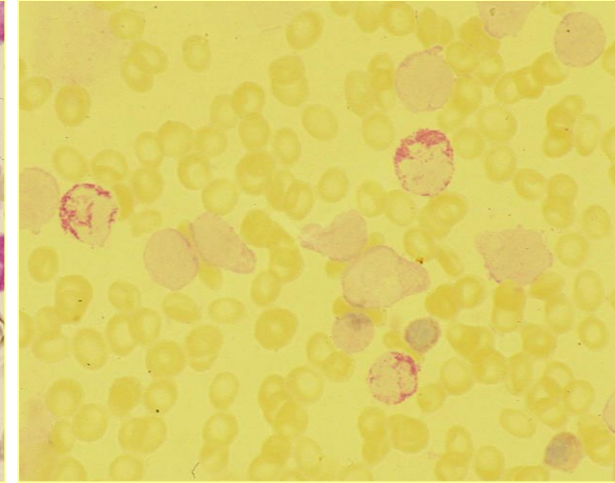
AML not otherwise categorised



AML megakaryoblastic: Bone marrow trephine H&E stain. Atypical small megakaryocytes, fibrosis and megakaryoblasts with dense nuclei.



AML, basophilic: Bone marrow MGG stain. Abnormal basophils are agranular with bizarre nuclei showing overlapping nuclear segments.



Acute basophilic leukaemia: Bone marrow toluidine blue stain. Three abnormal basophils show bright red metachromatic granules.

FAB type	Granulocytopoiesis [%]	Monocytopoiesis [%]	Erythropoiesis [%]	Immune markers
M 0	< 10 POX < 3	< 20	< 50	Lymphoid neg. Myeloid pos.
M 1	< 10 POX > 3	< 20	< 50	
M 2	> 10	< 20	< 50	
M 3	Hypergranular, Auer rods	< 20	< 50	HLA-DR neg.
M 3v	Microgranular, monocytoid nuclei	< 20	< 50	HLA-DR neg.
M 4	> 20	> 20	< 50	
M 4Eo	> 20 Abnormal Eo	> 20	< 50	
M 5a	< 20	> 80, immature	< 50	
M 5b	< 20	> 80, mature	< 50	
M 6	> 30% of NEC are blasts; variable	Variable	> 50	
M 7	> 30 megakaryoblasts	Variable	< 50	CD 41 / CD 61 pos.

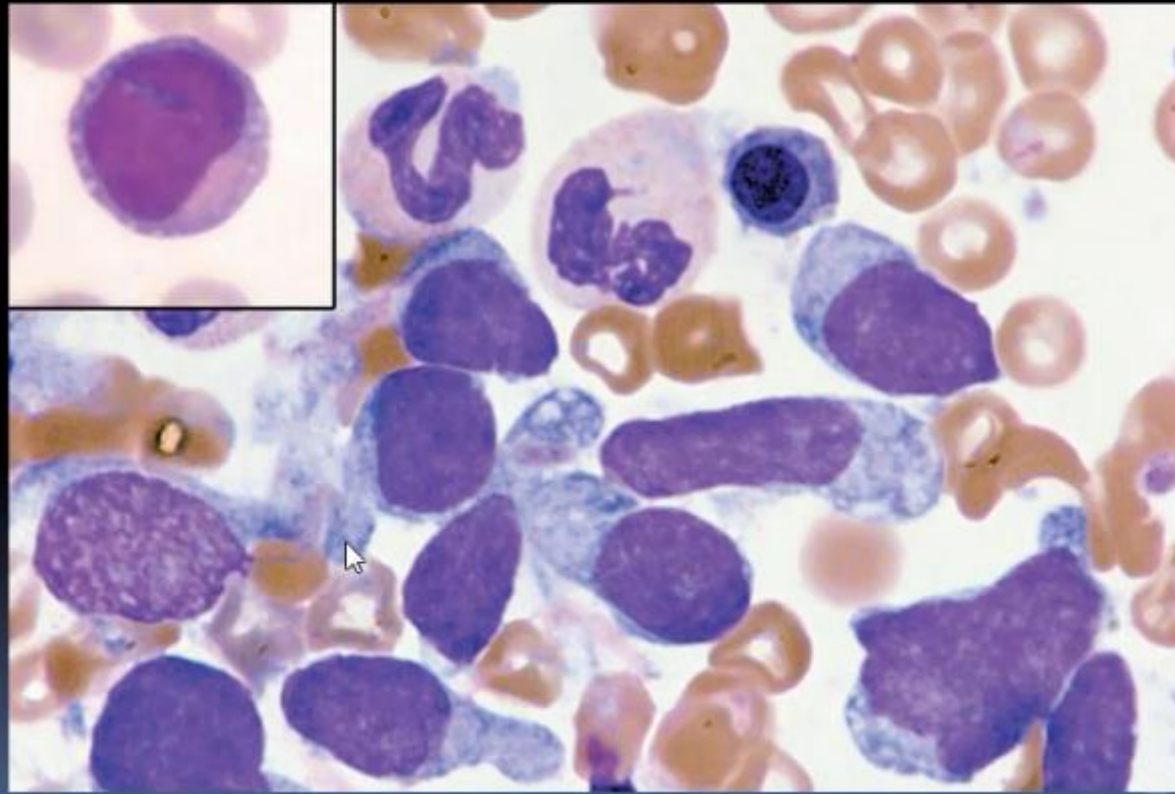
 characteristic results

**Blastic
Plasmacytoid
Dendritic Cell
Neoplasm
(BPDCN)**

۱۷.۱۵. لوسمی بلاستیک پلاسماستیک دندریتیک سل

نئوپلاسم بلاستیک پلاسماستیک دندریتیک سل (BPDCN) سرطان نادر بدخیم و مهاجم خونی است که به صورت شایع با علائم پوستی و درگیری سیستمیک با سلول‌های سرطانی نمایان می‌شود. WHO در سال ۲۰۰۸ این بدخیمی را در گروه لوسمی‌های حاد طبقه‌بندی کرد. این سرطان بدخیم پیش‌تر با عناوین نئوپلاسم هماتودرمیک^۱ یا لنفوم بلاستیک سلول‌های NK (CD_4^+ , CD_{56}^+) نامگذاری شده بود. تمایل سلول‌های سرطانی به سلول‌های پلاسماستیتوئید دندریتیک است که از پیش‌سازهای سلول‌های دندریتیک در بخش پاراکورتکس غدد لنفاوی است و سهمی فراوان در تولید اینترفرون آلفا دارد. سلول‌های بدخیم مارکرهای CD_{123} یا گیرنده‌ی اینترلوکین ۳، CD_4 ، CD_{68} و تعدادی مارکر CD_{56} دارد (۹ و ۱۴).

Blastic plasmacytoid dendritic neoplasm



Flowcytometry of BPDCN

