Akutní leukémie

Kissová J.

Oddělení klinické hematologie

FN Brno

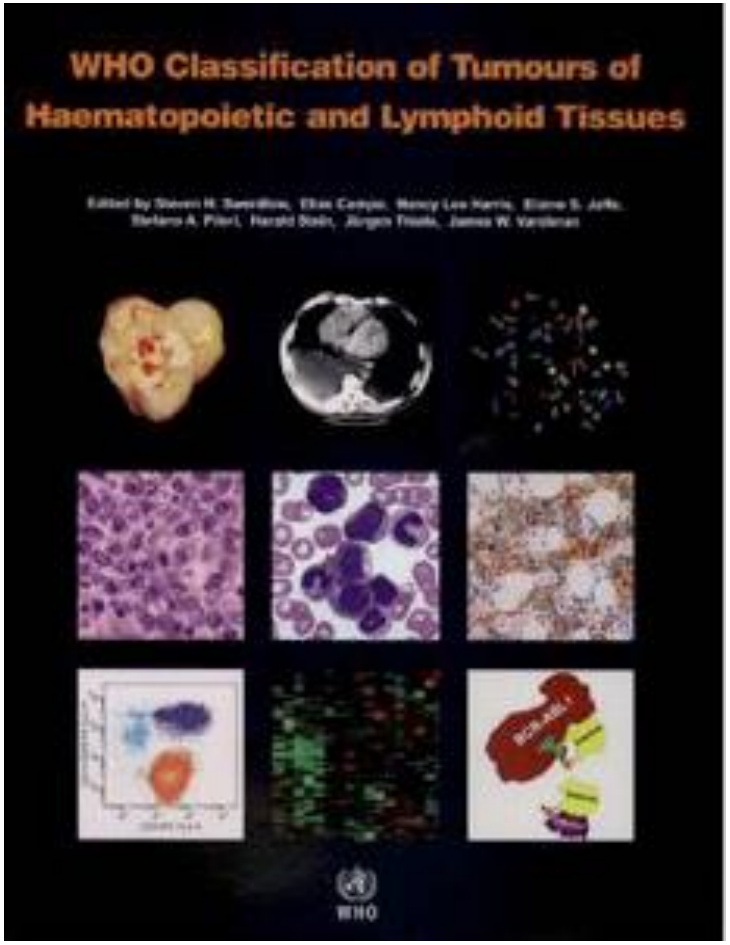
Akutní leukémie

heterogenní skupina maligních hematologických onemocnění, v níž je možné z pohledu dnešních poznatků vyčlenit řadu podskupin s různým klinickým i laboratorním nálezem, prognózou a odpovědí na terapii.

Klasifikace akutních leukémií

1. FAB 1976 - založená na morfologii a cytochemii, opakovaně revidována (1982, 1985, 1990)
2. MIC 1985 - Morphology, Immunology and Cytogenetic Cooperative Group
3. REAL 1994 - zařazeny leukémie z lymfatické řady
4. EGIL 1995 - European Group of immunofenotyping leukemia
5. WHO 2001 - revize všech klasifikací
6. WHO 2008 - revize předchozí klasifikace
7. WHO 2016 – opět revize
8. WHO 2022- poslední revize

WHO klasifikace



Akutní leukémie ve WHO klasifikaci

WHO klasifikace zahrnuje morfologickou, cytochemickou, imunofenotypickou, cytogenetickou a molekulárně genetickou identifikaci leukemických blastů.

Určení homogenních kategorií v heterogenní skupině akutních leukémií má umožnit přesnější nasměrování léčebné strategie.

Akutní myeloidní leukémie- porovnání FAB a WHO klasifikace

- *rozpočet pro stanovení procenta blastů*

  FAB klasifikace - počítán z nonerytroidních buněk

  (mimo erytropoezu kromě lymfocytů, plazmocytů, makrofágů a mastocytů)

  WHO - ze všech jaderných buněk dřeně (rozpočet na 500 buněk ve dřeni, na 200 buněk v periferní krvi)

- *počet blastů ve dřeni či periferní krvi (diagnostické kritérium pro akutní leukémii)*

  FAB klasifikace 30%, **WHO** 20%

- !!!!diagnóza AML může být ve WHO stanovena i u stavů s méně než 20% blastů ve dřeni či periferní krvi, je-li prokázána ***rekurentní genetická abnormita*** (AML s t(15,17), t(8,21), inv(16) nebo t(16,16))

Akutní leukémie- nálezy v periferní krvi

- obvykle anémie, trombocytopenie
- změny počtu bílých krvinek- leukopenie i leukocytóza
- blasty v periferní krvi

Vyšetření kostní dřeně

- **Aspirační biopsie-** sternální punkce, punkce z lopaty kosti kyčelní

  ⟶

  cytologie, cytochemie, imunofenotypizace, cytogenetika, histologie z koagula, molekulární genetika

- **Trepanobiopsie** ⟶

  kromě výše uvedeného histologie, imunohistochemie, otiskový preparát

Morfologie kostní dřeně- patologická populace (blasty a jejich ekvivalenty)

- **myeloblasty**

- velikost od bb. lehce větších než zralé lymfocyty až po bb. velikosti monocytů nebo i větších

- bazofilní nebo šedomodrá cytoplazma, úzký lem

- kulaté nebo oválné jádro s jemným jaderným chromatinem

- obvykle několik jadérek

- azurofilní granula (granulované) nebo bez granulí (negranulované myeloblasty)

- Auerova tyč- specifický nález pro myeloidní linii

Morfologie kostní dřeně- patologická populace (blasty a jejich ekvivalenty)

- **lymfoblasty**

- bb. velikosti zralých lymfocytů až k bb. větším než neutrofily

- min. množství středně bazofilní cytoplazmy, neobsahuje granula

- jaderný chromatin od jemně granulárního až po kondenzovaný

- nenápadná nebo až prominující jadérka

Morfologie kostní dřeně- patologická populace (blasty a jejich ekvivalenty)

- **patologické promyelocyty** u akutní promyelocytární leukémie (APL)

(normální promyelocyty – bb. s excentricky uloženým jádrem, Golgiho zónou, hrubším chromatinem, zachovalé zřetelné jadérko, početné granulace a nižší poměr N/C, cytoplazma vyjma Golgiho zóny je bazofilní)

- **monoblasty a promonocyty** u akutní myelomonocytární a monocytární a monoblastické leukémie

(- *monoblasty*- velké buňky s abundantní cytoplazmou, která může být světle šedá až tmavě modrá, jádro obvykle kulaté s jedním nebo více jadérky (obvyklá je silná pozitivita NSE, jen slabá poz. MPOX)

(- *promonocyty*- jádro konvolutované nebo se zářezem, jemný jaderný chromatin, jemně granulovaná cytoplazma)

Morfologie kostní dřeně- patologická populace (blasty a jejich ekvivalenty)

- **megakaryoblasty** u akutní megakaryocytární leukémie jsou považovány za ekvivalenty blastů pro účely stanovení dg. akutní leukémie

(- *megakaryoblasty* – malé až středně velké buňky, s kulatým, intendovaným nebo nepravidelným jádrem, jemným jaderným chromatinem a 1-3 jadérky, cytoplazma bazofilní, bez granulace, vykazuje cytoplazmatické výběžky „blebs“)

- **časné erytroidní prekurzory (proerytroblasty**) nejsou zahrnovány do počtu blastů vyjma vzácné čisté erytroidní leukémie

Cytochemická vyšetření

- průkaz substancí (Fe, glykogen) nebo přítomnosti enzymů pomocí mikroskopicky hodnotitelných reakcí (fixace, vlastní cytochemická reakce, dobarvování jader)
- užitečné k určení původu blastů (v některých laboratořích nahrazována flowcytometrií a imunohistochemií)

- Barvení železa
- Myeloperoxidáza (MPOX)
- Sudanová čerň B (SBB)- obdobně jako MPOX, ale méně specifická
- Nespecifická esteráza (NSE)
- PAS reakce
- Chloracetátesteráza

Cytochemická vyšetření u akutní leukémie ve FN Brno

- **myeloperoxidáza (MPOX)** – pozitivita ukazuje na myeloidní původ, ale chybění myeloidní původ nevylučuje (časné myeloblasty a monoblasty jsou negativní)

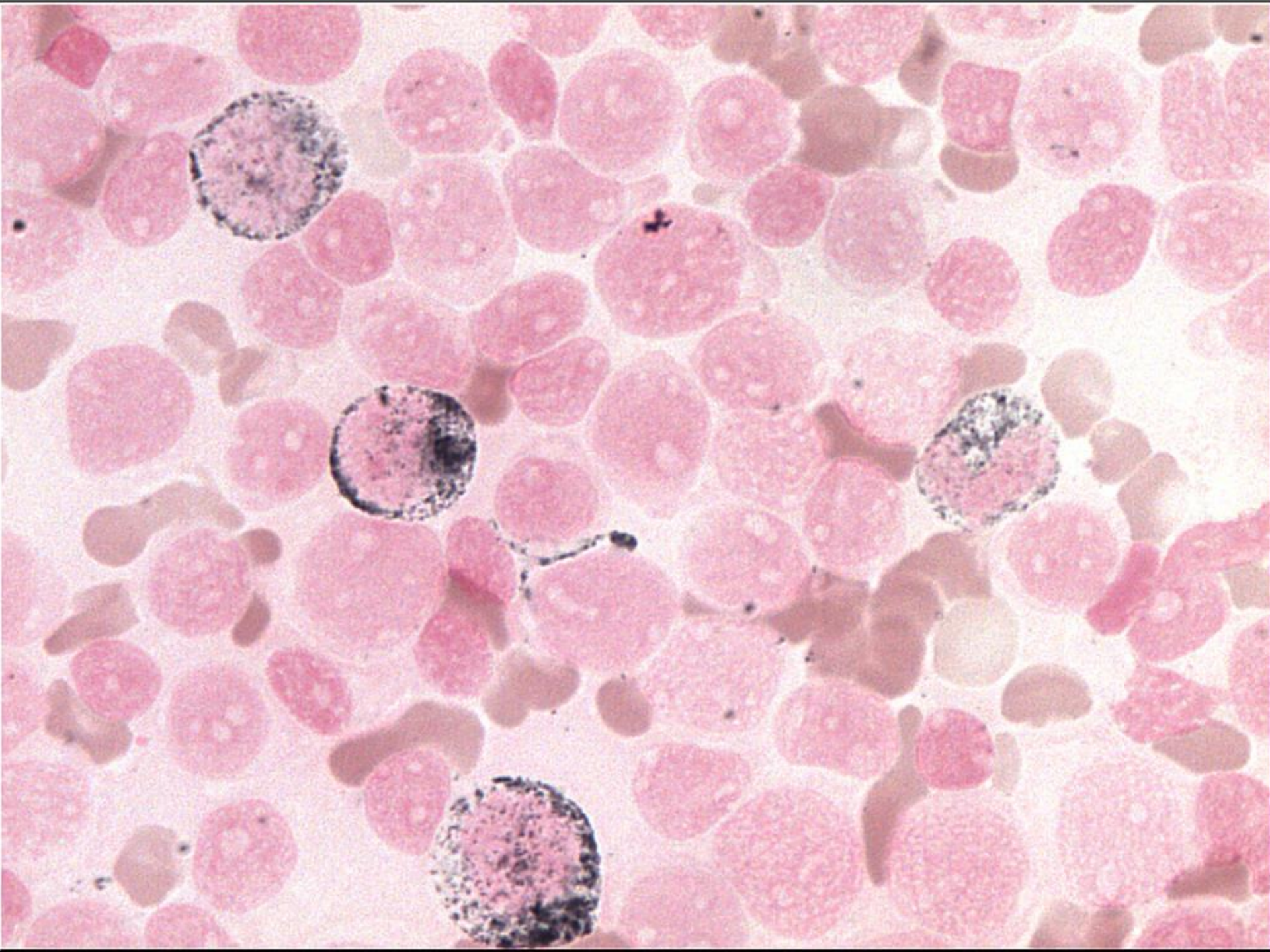
  …..odlišení AML od ALL či monoblastické leukémie

- **nespecifická esteráza (s blokádou fluoridem)** – k odlišení akutní myelomonocytární a monoblastické leukémie (AML M4-M5)

- **PAS reakce-** k odlišení akutní lymfoblastické leukémie (hrubší granula až bloková pozitivita bez difuzního pozadí)

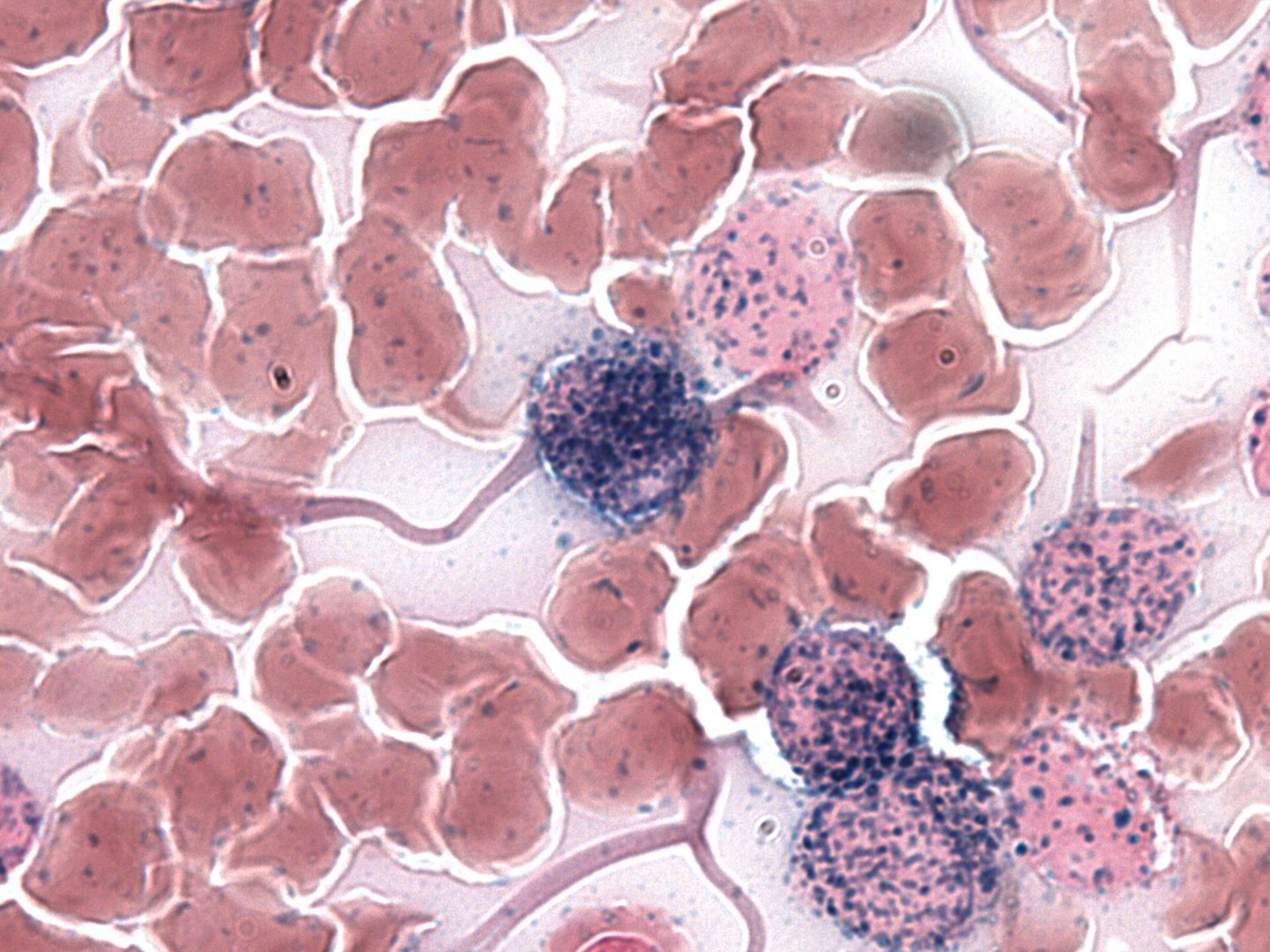
Cytochemie- MPOX

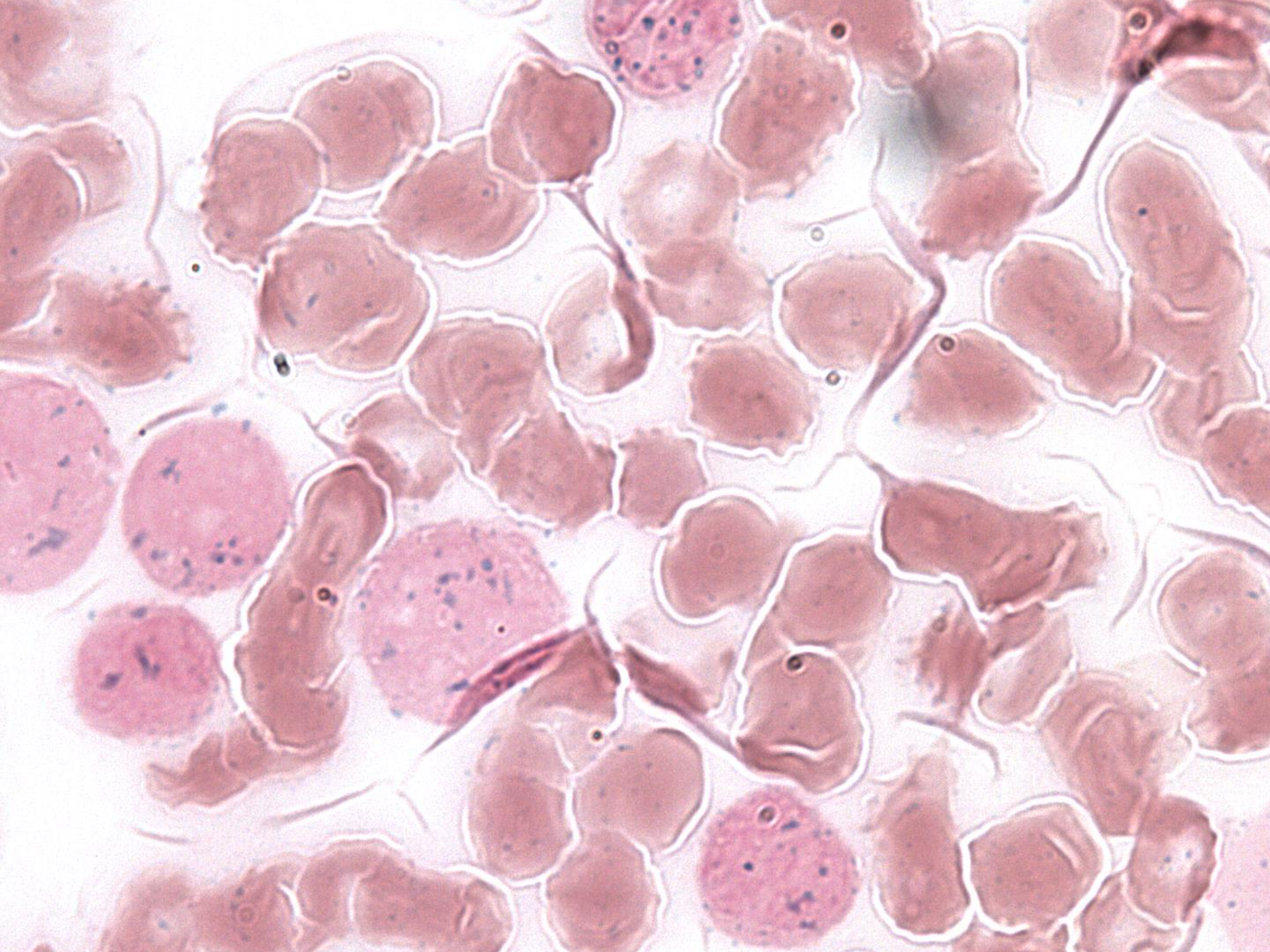
- specifická pro myeloidní diferenciaci
- myeloperoxidázová aktivita u myeloblastů je granulární a často koncentrovaná v Golgiho zóně
- monoblasty negativní nebo pozitivní s rozptýlenými jemnými granuly
- erytroblasty, lymfoblasty a megakaryoblasty- MPOX negativní



Cytochemie – nespecifická esteráza

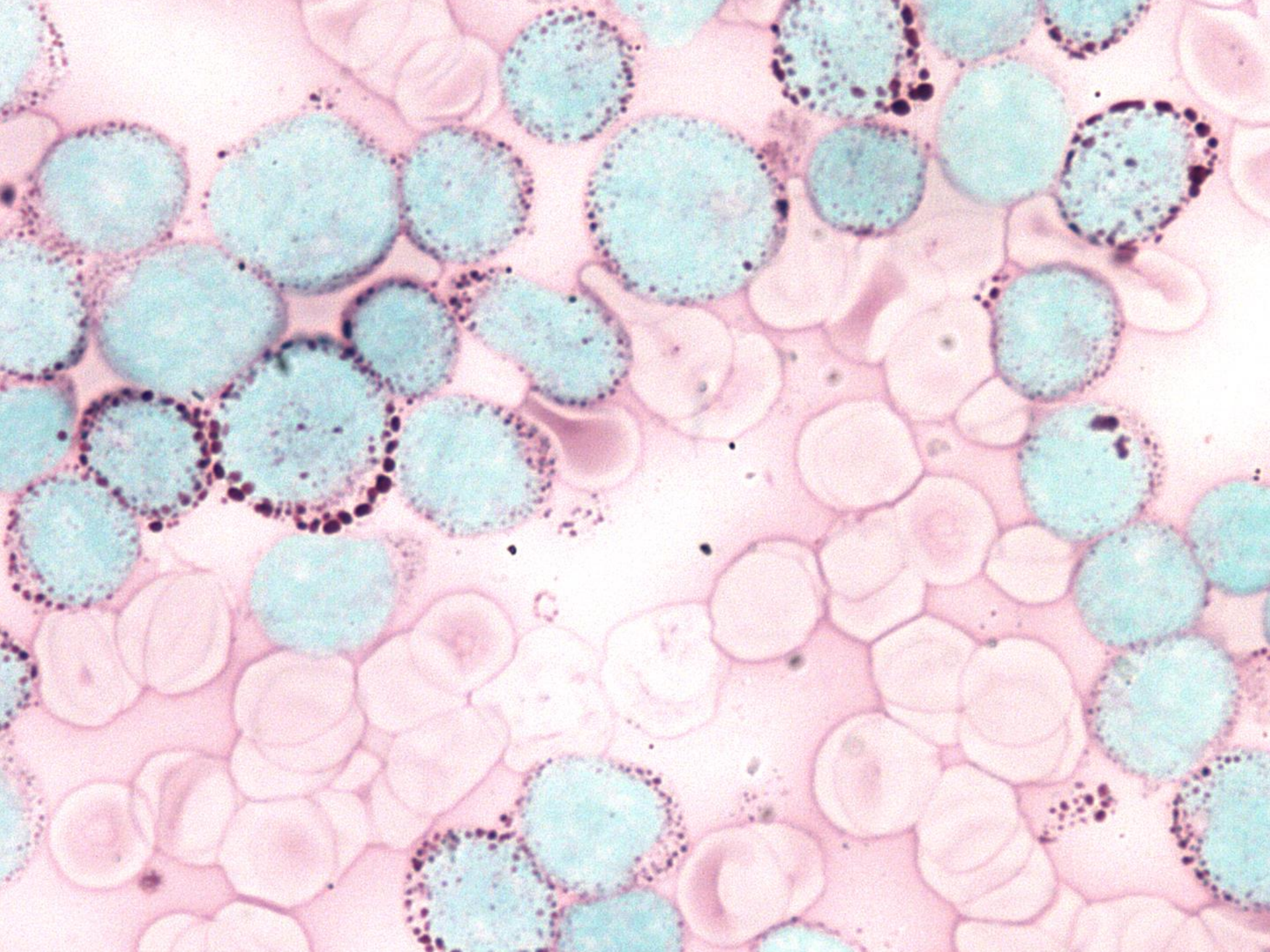
- difuzní cytoplazmatická pozitivita u monoblastů a monocytů
  - v těchto buňkách reakci inhibuje fluorid sodný (pozitivita je poté nulová nebo snížená)
- lymfoblasty, megakaryoblasty a erytroblasty- fokální pozitivita bez blokády
- erytroblasty slabě pozitivní reakce





Cytochemie- PAS

- reakce kys. jodisté se Schiffovým činidlem
- pozitivita téměř ve všech krevních buňkách vyjma erytroblastů
- pozitivita difuzní, granulární, bloková pozitivita
- lymfocyty mají hrubší granula až blokovou pozitivitu bez difuzního pozadí



Ostatní laboratorní vyš.metody u akutních leukémií

- **Imunofenotypizace**- charakterizuje určité populace buněk pomocí jejich specifických membránových či cytoplazmatických antigenů monokl. protilátkami

- **Cytogenetika**

- **Molekulární genetika**

Panel monoklonálních protilátek pro dg. akutní leukémie

- Prekurzory: CD34, CD117, CD33, CD13,HLA-DR
- Granulocytární znaky: CD65, cytoplazmatická MPO
- Monocytární znaky: CD14, CD36, CD64
- Megakaryocytární: CD41 (GPIIb/IIIa), CD61 (GPIIIa)
- Erytroidní znaky: CD235a (glycophorin A), CD36
- B-linie: CD19, CD 20, CD10, CD22, CD79a
- T-linie: CD3
- Myeloidní linie: MPO nebo monocytární diferenciace (CD11c,CD14, CD64, lysozym)

Akutní leukémie- epidemiologie

- incidence AL 4/100 000 obyvatel za rok
- 70% tvoří AML
- převážná většina AML vzniká u dospělých, medián věku 60 let
- ALL predominantně on. dětského věku
- 75% případů ALL obvykle pod 6 let věku

Akutní leukémie - etiologie

- genetické on. u 5% pac. s AL (Downův sy)
- viry- EBV, HIV, HTLV
- ionizační záření
- cytotoxická chemoterapie
- průmyslová expozice-benzen, pesticidy
- jen 1-2% diagnostikovaných je spojeno s těmito agens

Klinické projevy akutní leukémie

- krvácivé projevy- trombocytopenie, koagulopatie
- infekční komplikace
- projevy anemického syndromu
- lymfadenopatie
- hepatosplenomegalie
- jiné vyplývající z poruchy funkce postiženého orgánu

Akutní leukémie

- Akutní myeloidní leukémie
- Akutní leukémie nejasného původu
- Lymfoblastické leukémie/lymfomy

Akutní myeloidní leukémie

- je výsledkem klonální expanze myeloidních blastů v periferní krvi, kostní dřeni a jiných tkáních

- diagnostické kritérium pro AML je více než 20% myeloblastů, monoblastů/promonocytů a/nebo megakaryoblastů v PK nebo KD

Akutní myeloidní leukémie (AML) WHO 2016

- AML s rekurentní genetickou abnormalitou
- AML spojená s myelodysplázií
- AML související s léčbou (therapy-related)
- AML jinak neklasifikovatelné (AML, NOS)
- Myeloidní sarkom
- Myeloidní proliferace spojené s Downovým syndromem

AML s rekurentní genetickou abnormalitou

- vznik predominantně u mladších nemocných
- všeobecně spojeny s relativně příznivou odpovědí na terapii

AML s rekurentní cytogenetickou abnormalitou

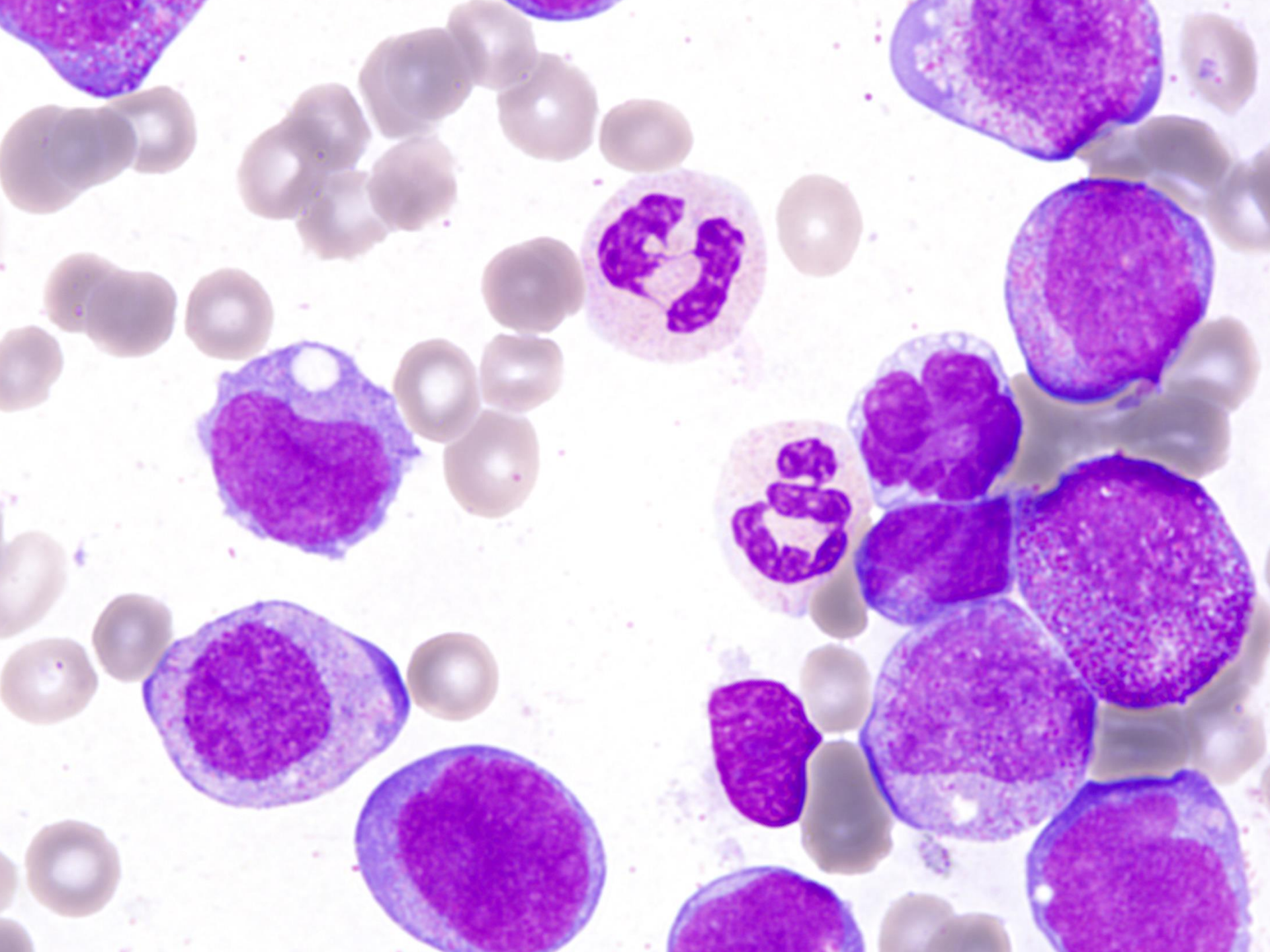
- AML s t(8;21)(q22;q22); *(RUNX1-RUNX1T1)*
- AML s inv(16)(p13,1q22) nebo t(16;16)(p13;q22); *(CBFB-MYH11)*
- Akutní promyelocytární leukémie - AML s t(15;17)(q22;q12); *(PML/RARα)* a varianty
- AML s t(9,11)(p21.3,q23.3), *(MLLT3-KMT2A)*
- AML s t(6,9)(p23,q34) *(DEK-NUP214)*
- AML s inv(3) nebo t(3,3)(q21,q26,2) *(GATA2, MECOM)*
- AML (megakaryocytární) s t(1,22)(p13,q13) *(RBM15-MKL1)*
- *Provizorní jednotka: AML s BCR/ABL1*

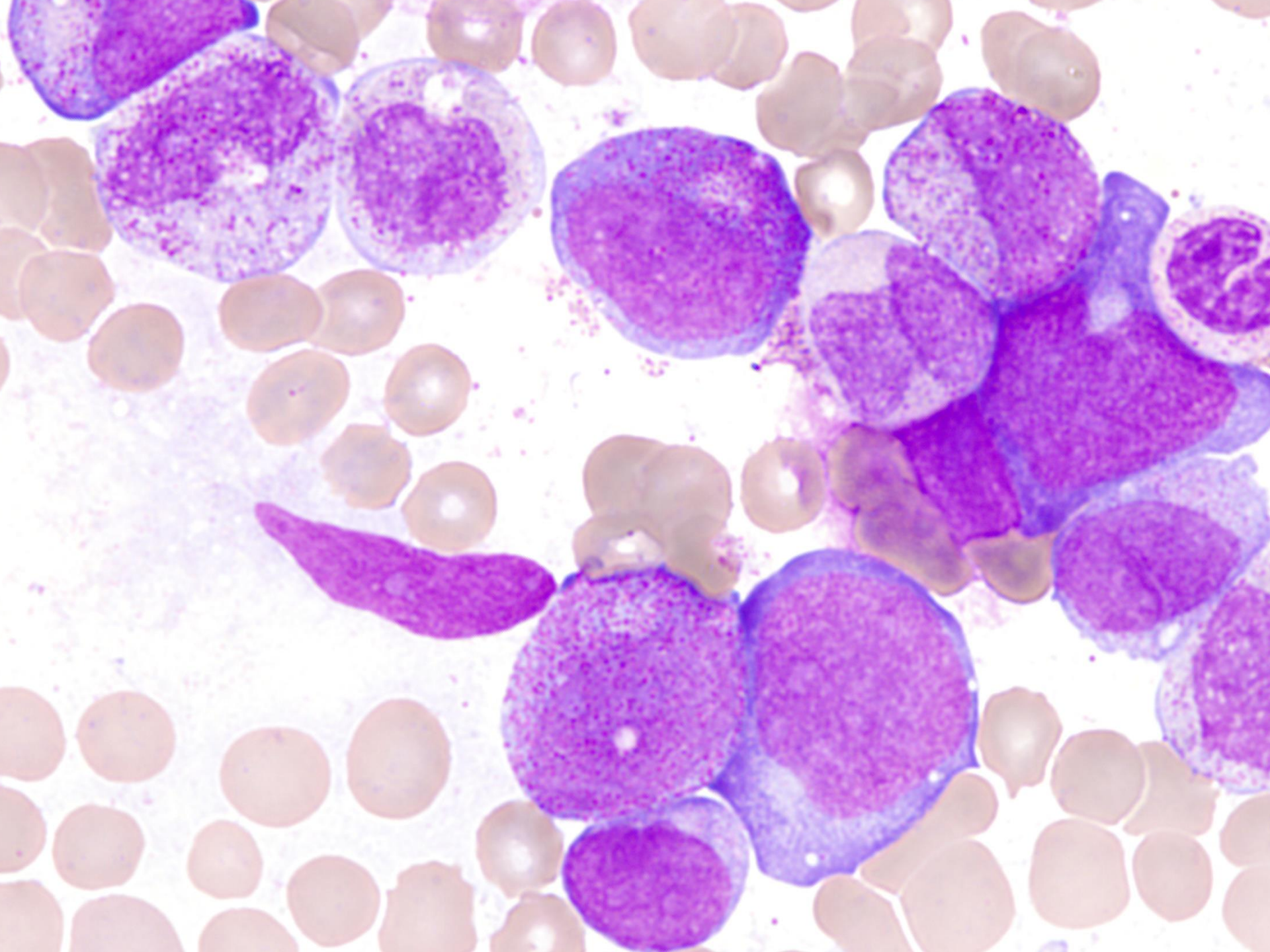
AML s t(8;21)(q22;q22)

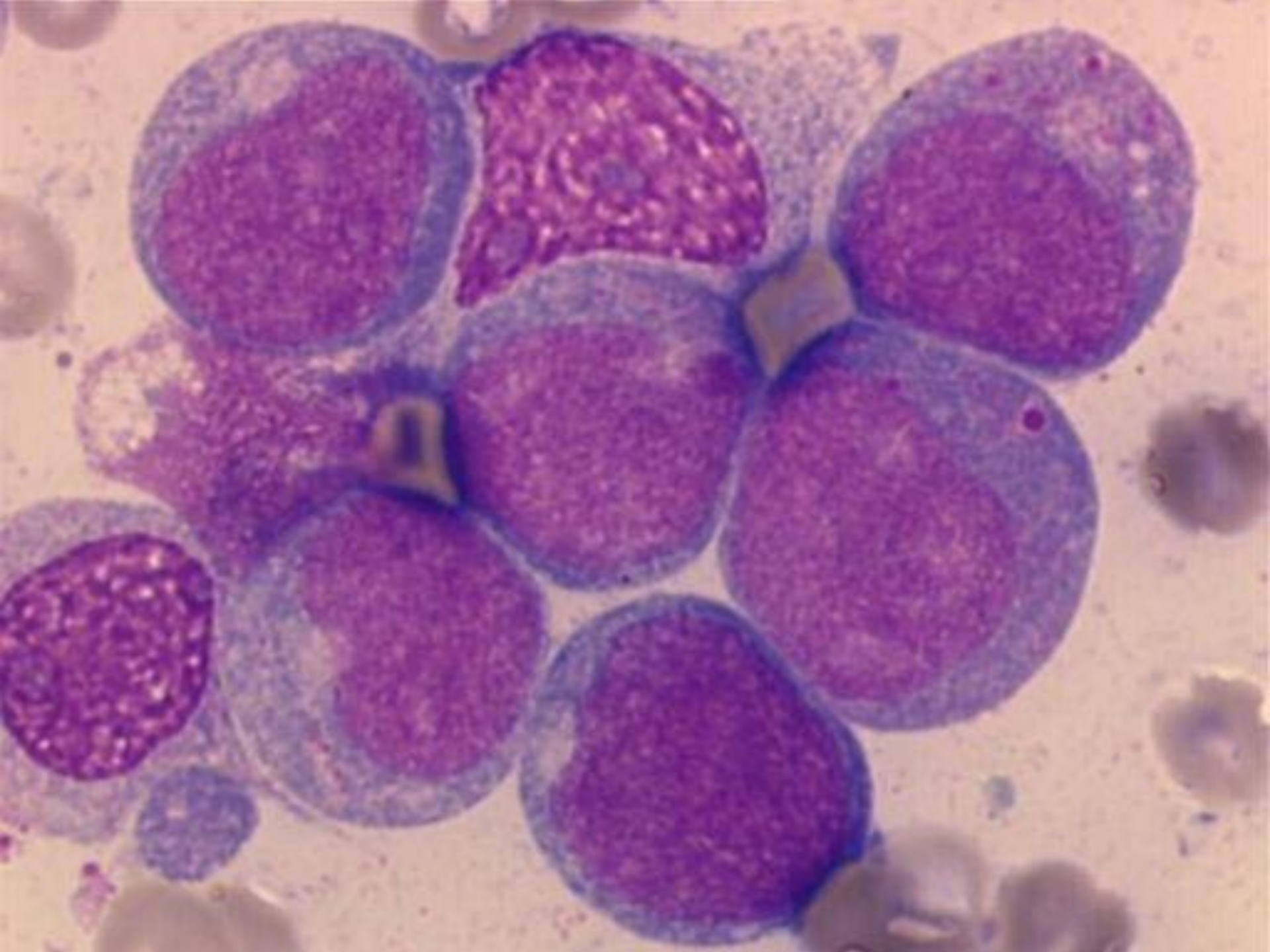
- 5-12% mezi AML
- cca 1/3 mezi AML s vyzráváním
- může být < 20% blastů v kostní dřeni nebo periferní krvi, je-li prokázána cytogenetická odchylka, uzavíráme jako AML ne jako RAEB
- někdy pod obrazem myeloidního (granulocytárního) sarkomu

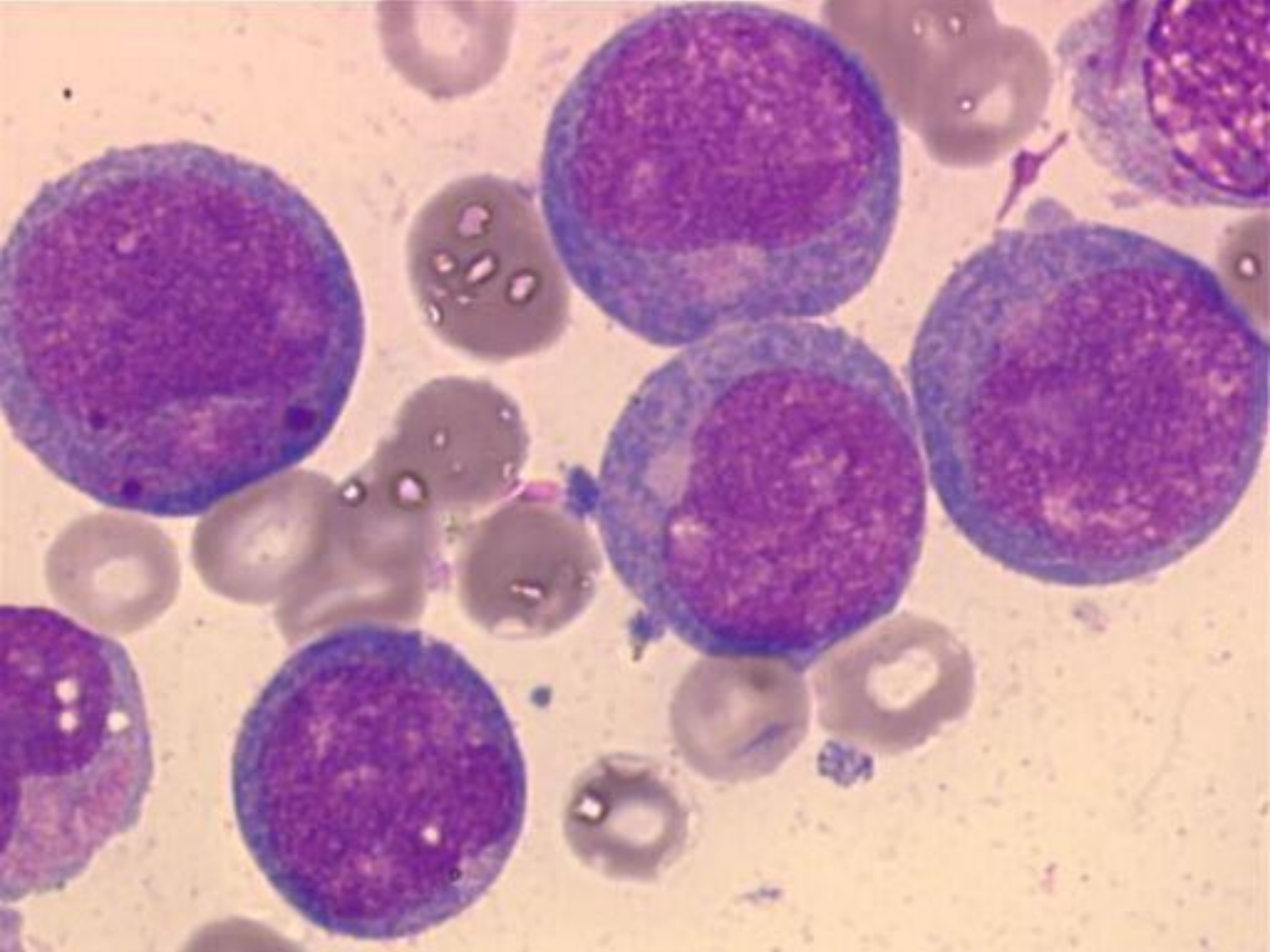
Morfologie – AML s t(8,21)

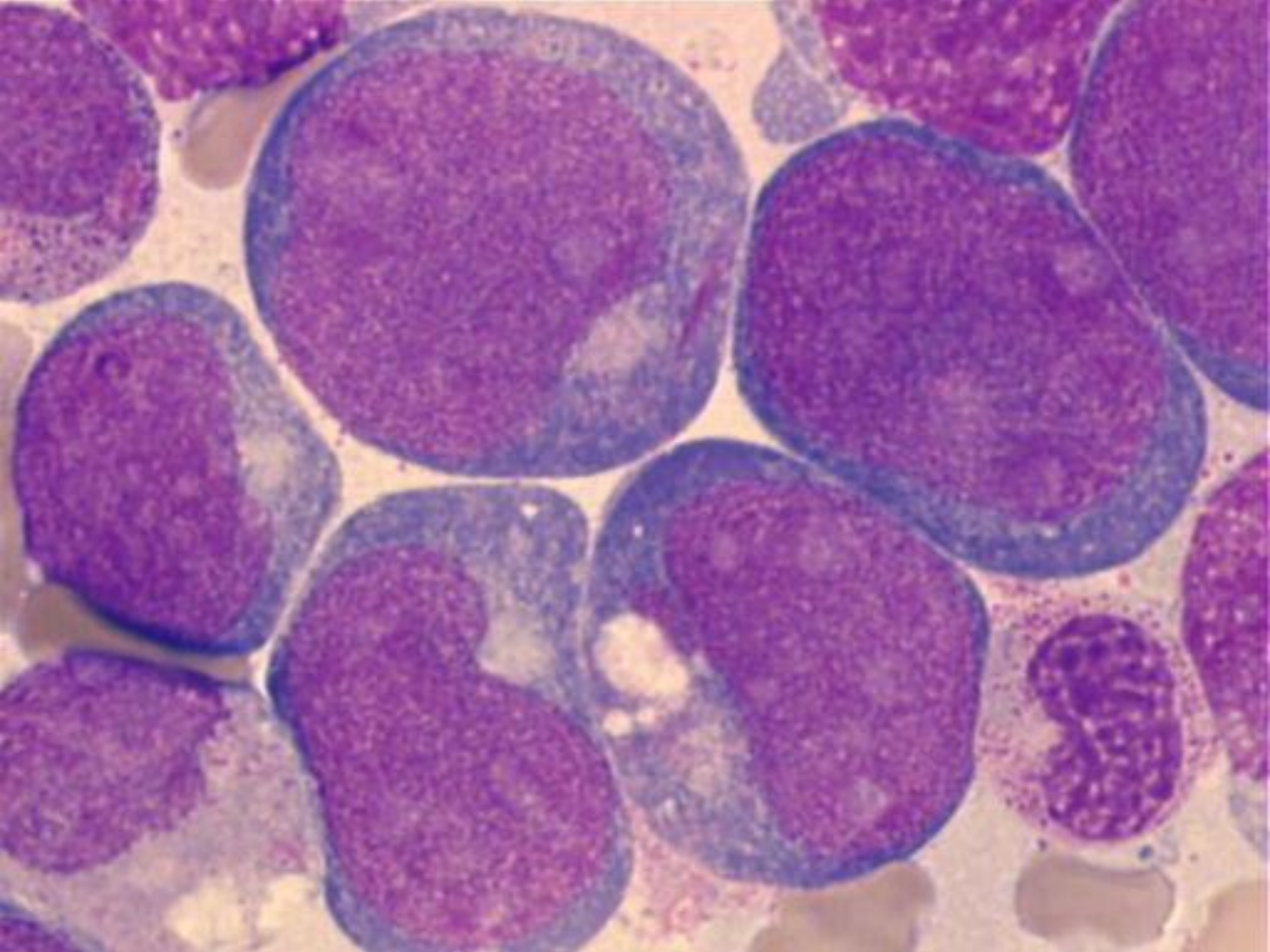
- větší blasty s bazofilní cytoplazmou
- četná azurofilní granula
- velká granula- pseudo Chediak-Higashiho granula
- Auerovy tyče- dlouhé a tenké se zahrocenými okraji (i ve zralých neutrofilech)
- některé malé blasty, hl. v periferní krvi
- dysplazie granulopoezy- pseudopelgeroidní anomálie, abnormality barvení cytoplazmy
- někdy zvýšení eozinofilů

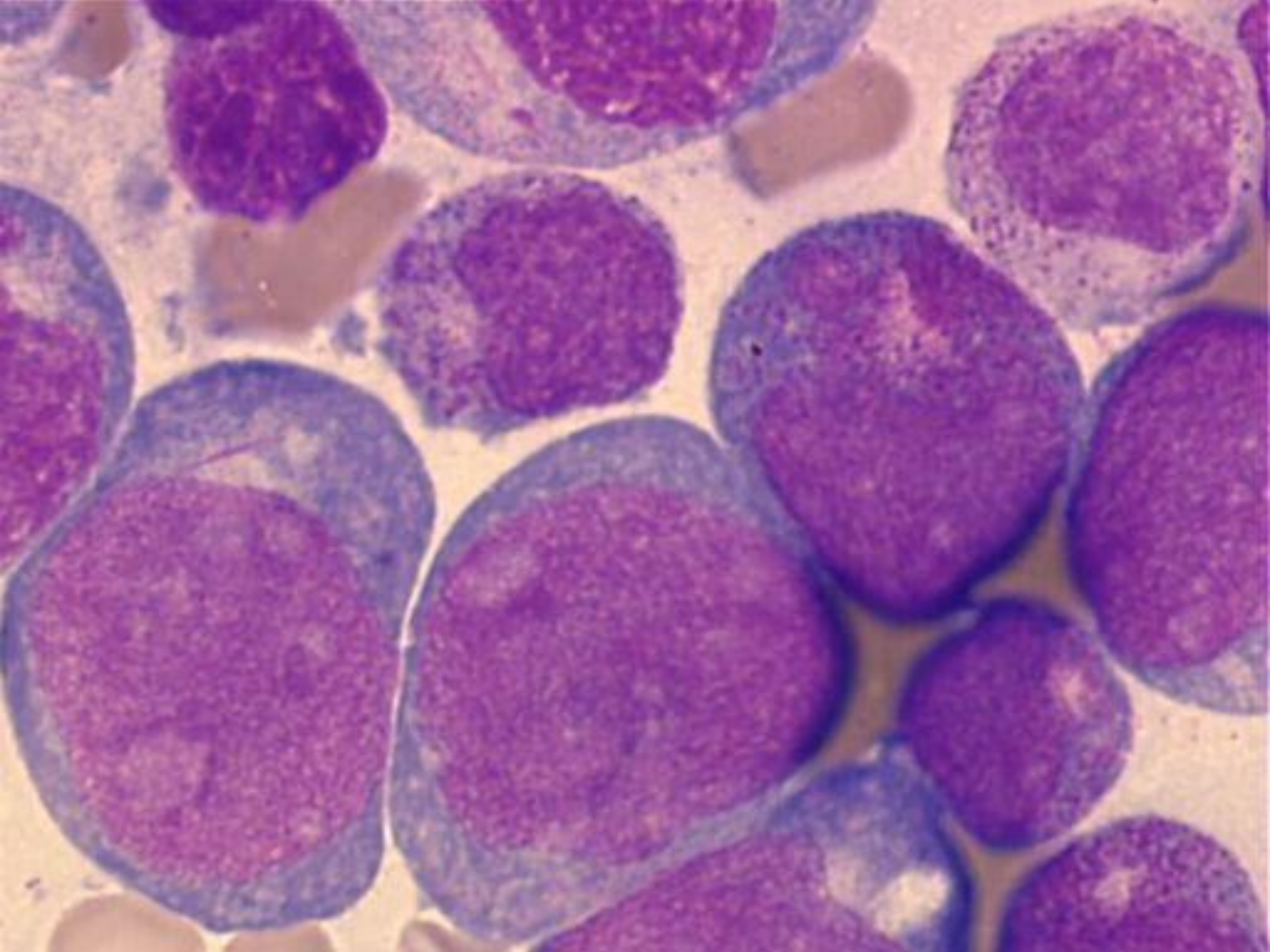












Imunofenotypizace

- pozitivita myeloidních markerů

  CD34 a CD33

- často ko-exprese lymfoidních markerů

  CD19, méně často CD56

Molekulární genetika

- Detekce fúzního transkriptu RUNX1-RUNX1T1

  RUNX1 (nebo runt –related transcription factor 1) lokalizovaný na 21q22

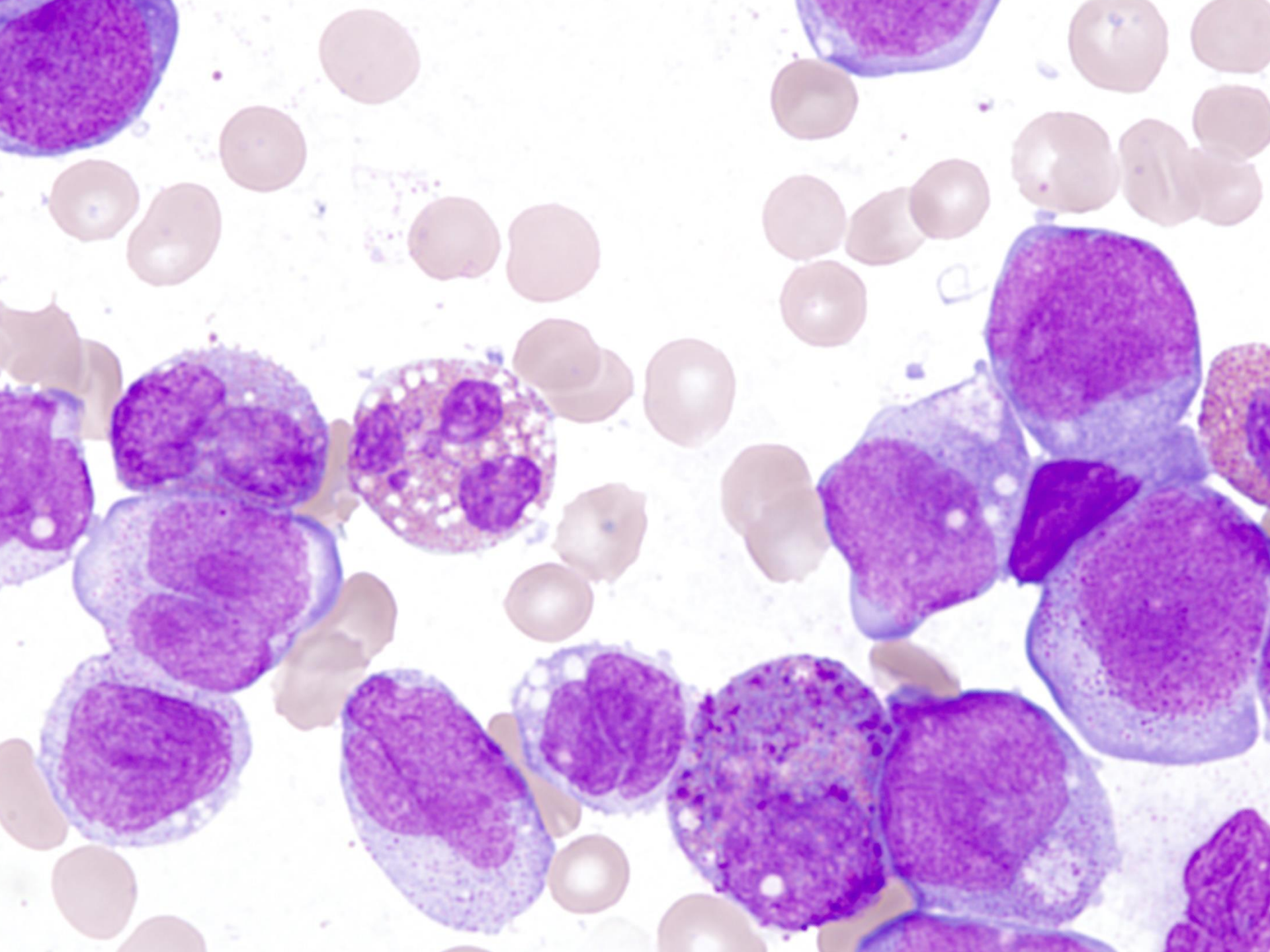
  RUNX1T1 lokalizovaný na 8q22

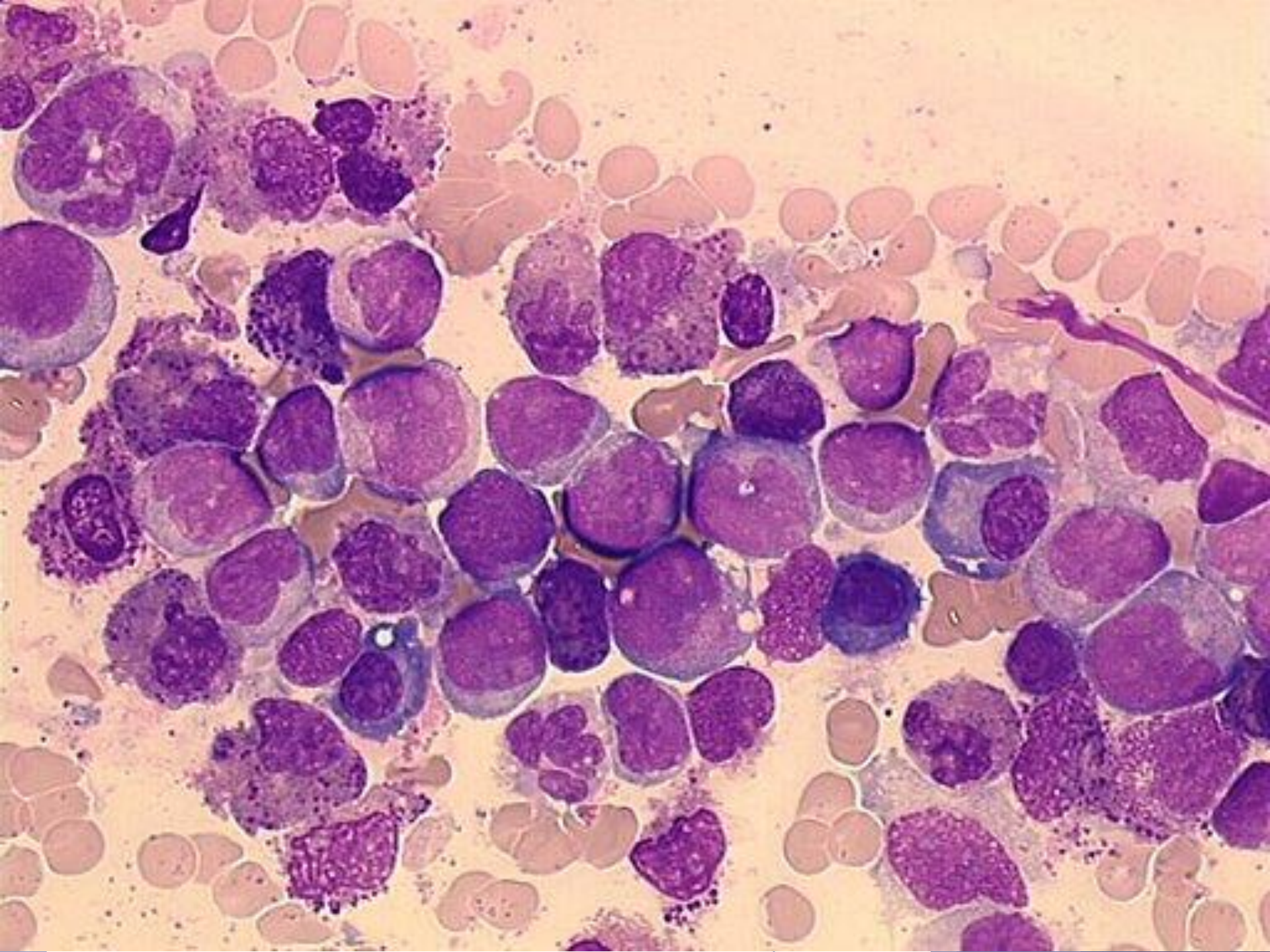
AML s inv(16)(p13q22) nebo t(16;16)(p13;q22)

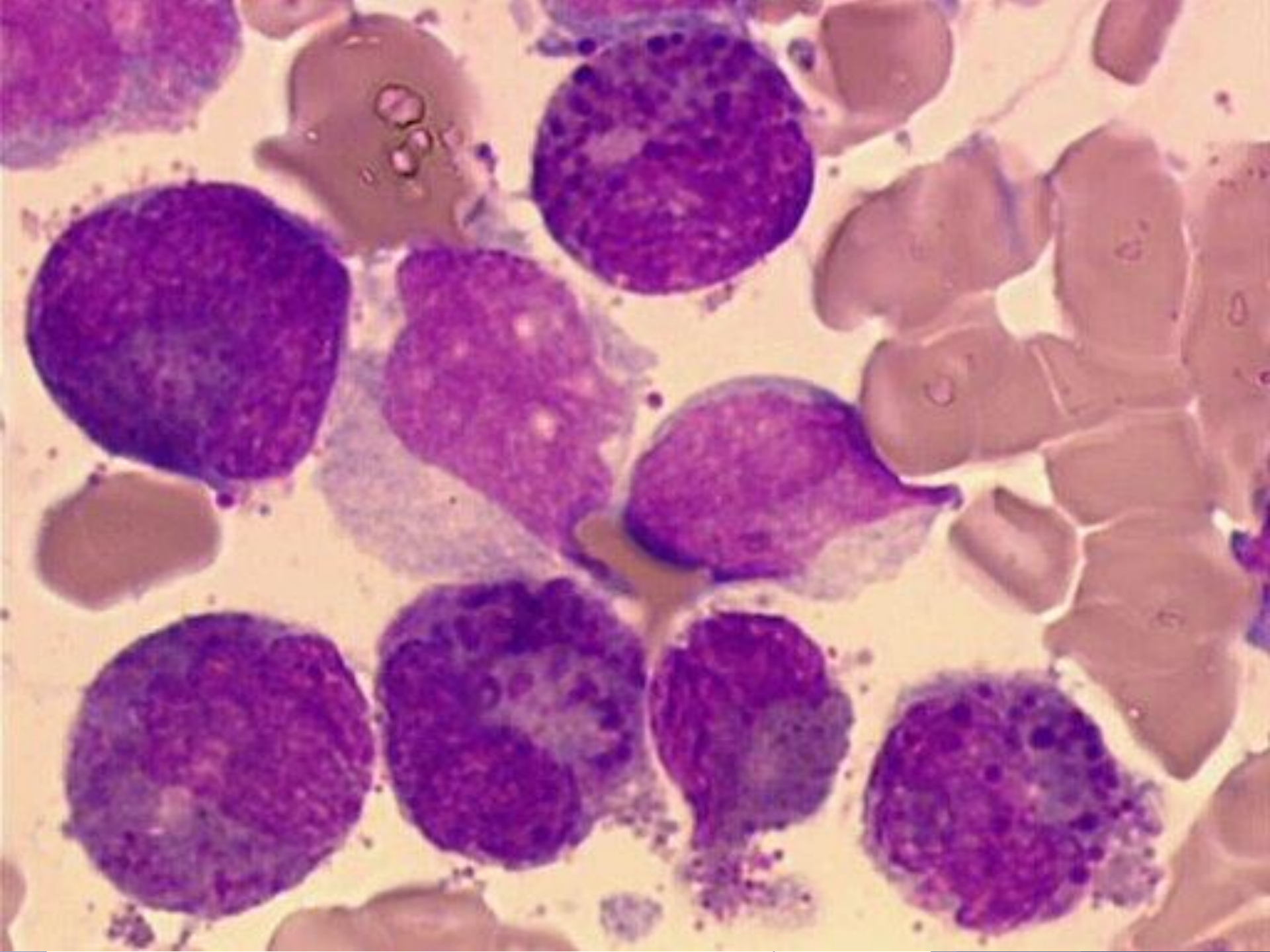
- vyzrává do monocytární a myeloidní linie, je přítomna abnormální eozinofilní komponenta
- nazývána akutní myelomonocytární leukémie s eozinofilií
- 10-12% AML
- predominantně u mladších pacientů

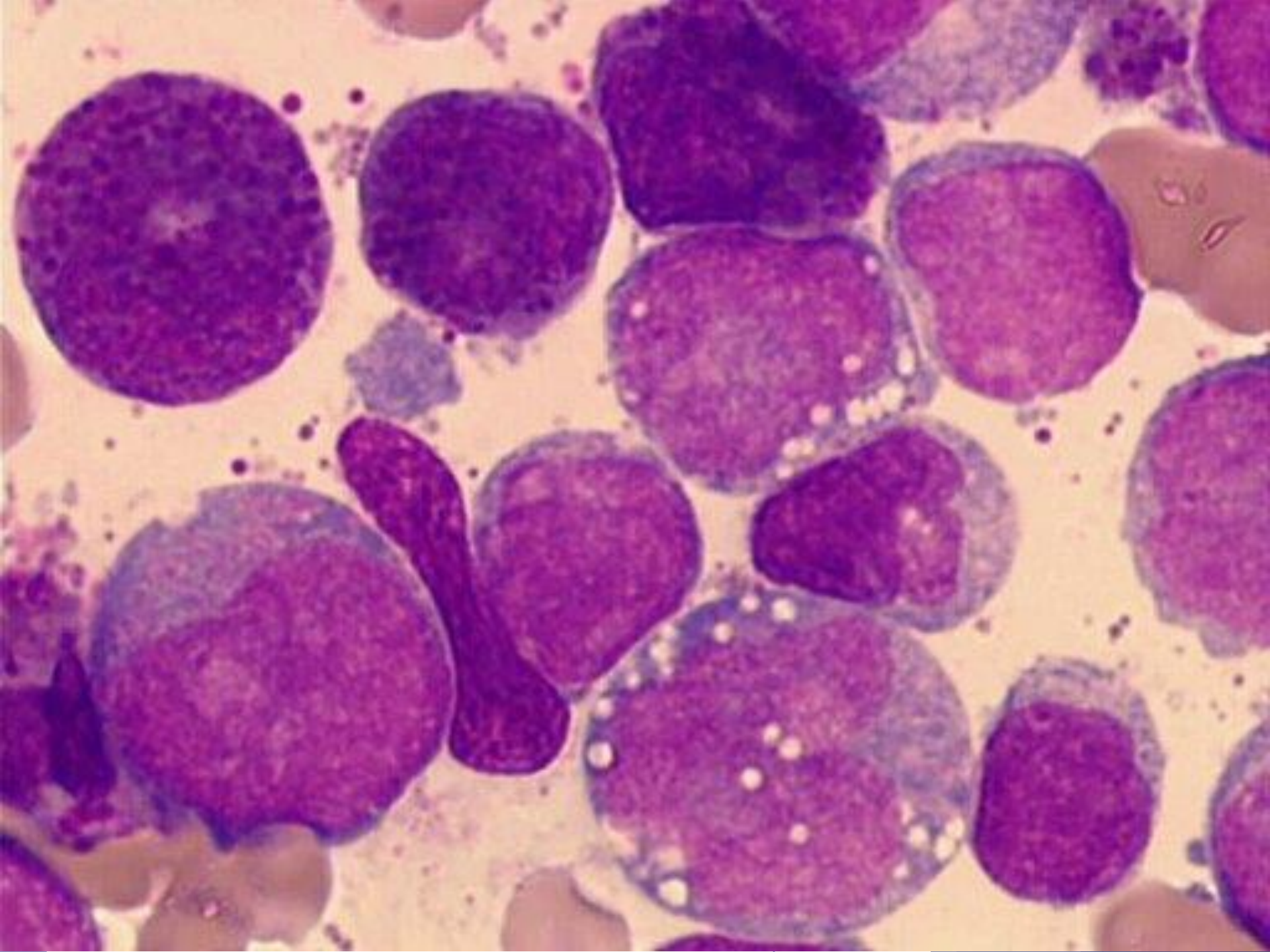
Morfologie AML s inv(16)

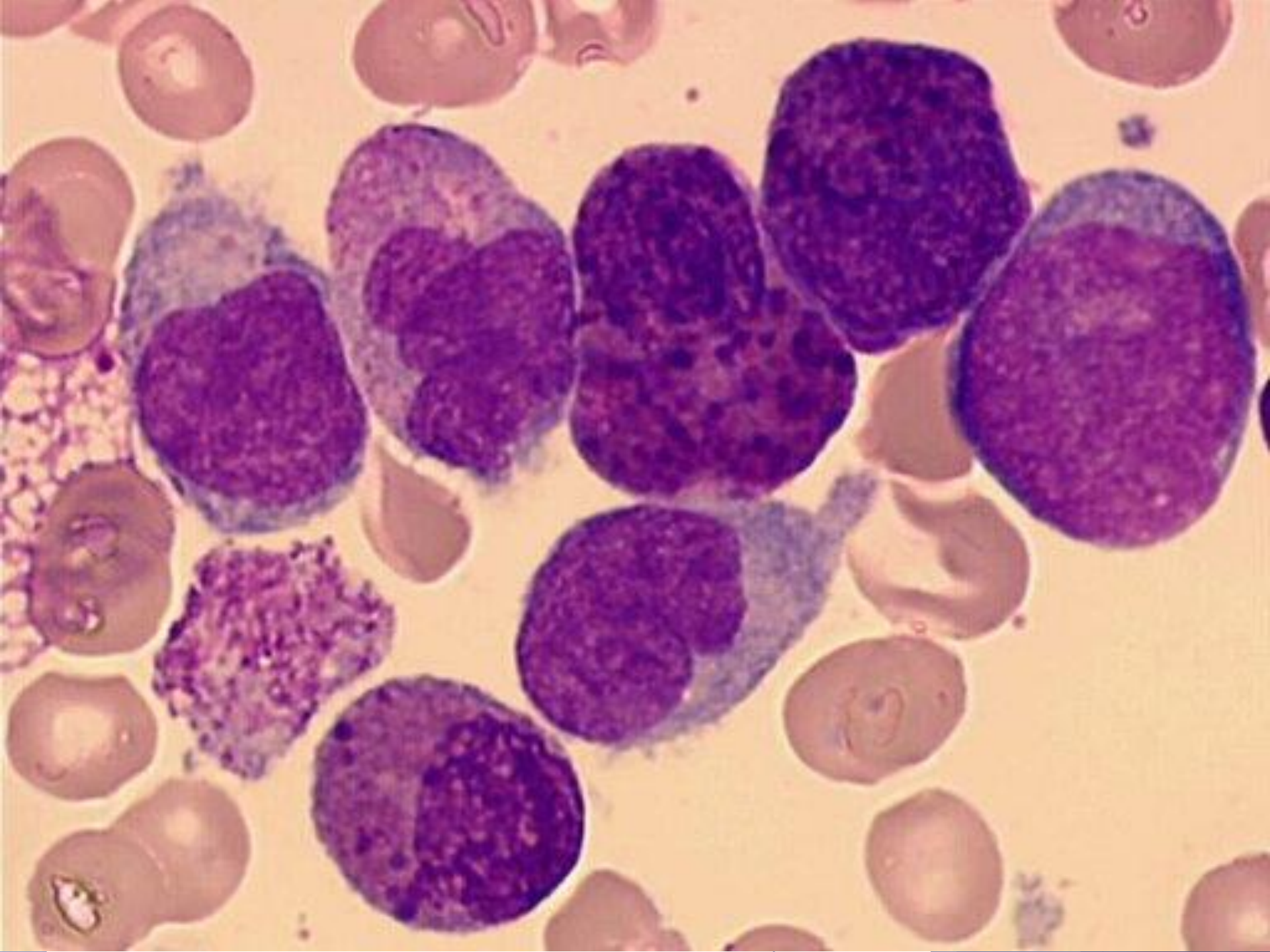
- morfologické znaky akutní leukémie myelomonocytární
- různý počet eozinofilů ve všech stádiích zrání
- nezralá eozinofilní granula, evidentní hl. u stádia promyelocytů a myelocytů
- eozinofilní granula jsou větší než normálně u nezralých eozinofilů
- zralé eozinofily- hyposegmentace jader











Imunofenotypizace

- pozitivita myeloidních markerů CD 13 a CD33
- není definován specifický marker monocytární linie, ale může být pozitivita CD14, CD15, CD4, CD11b a/nebo CD11c jako indikátor monocytární diferenciace
- prokázána ko-exprese CD2

Molekulární genetika

- Průkaz fúzního transkriptu CBFβ/MYH11

  CBFβ gen na 16q22 kódující Core Binding Factor beta podjednotku

  MYH11 - gen pro těžký řetězec myosinu na 16p13

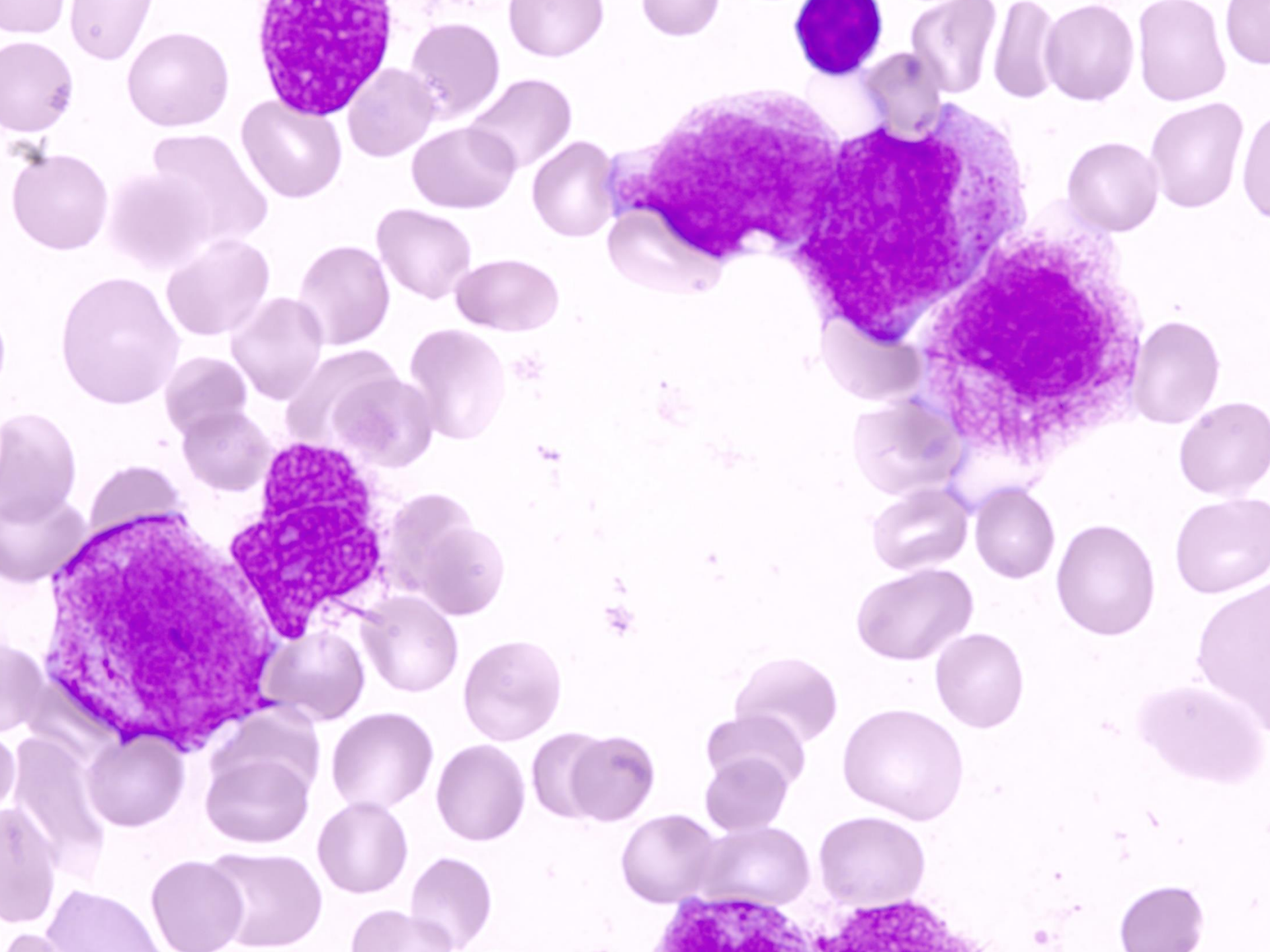
Akutní promyelocytární leukémie

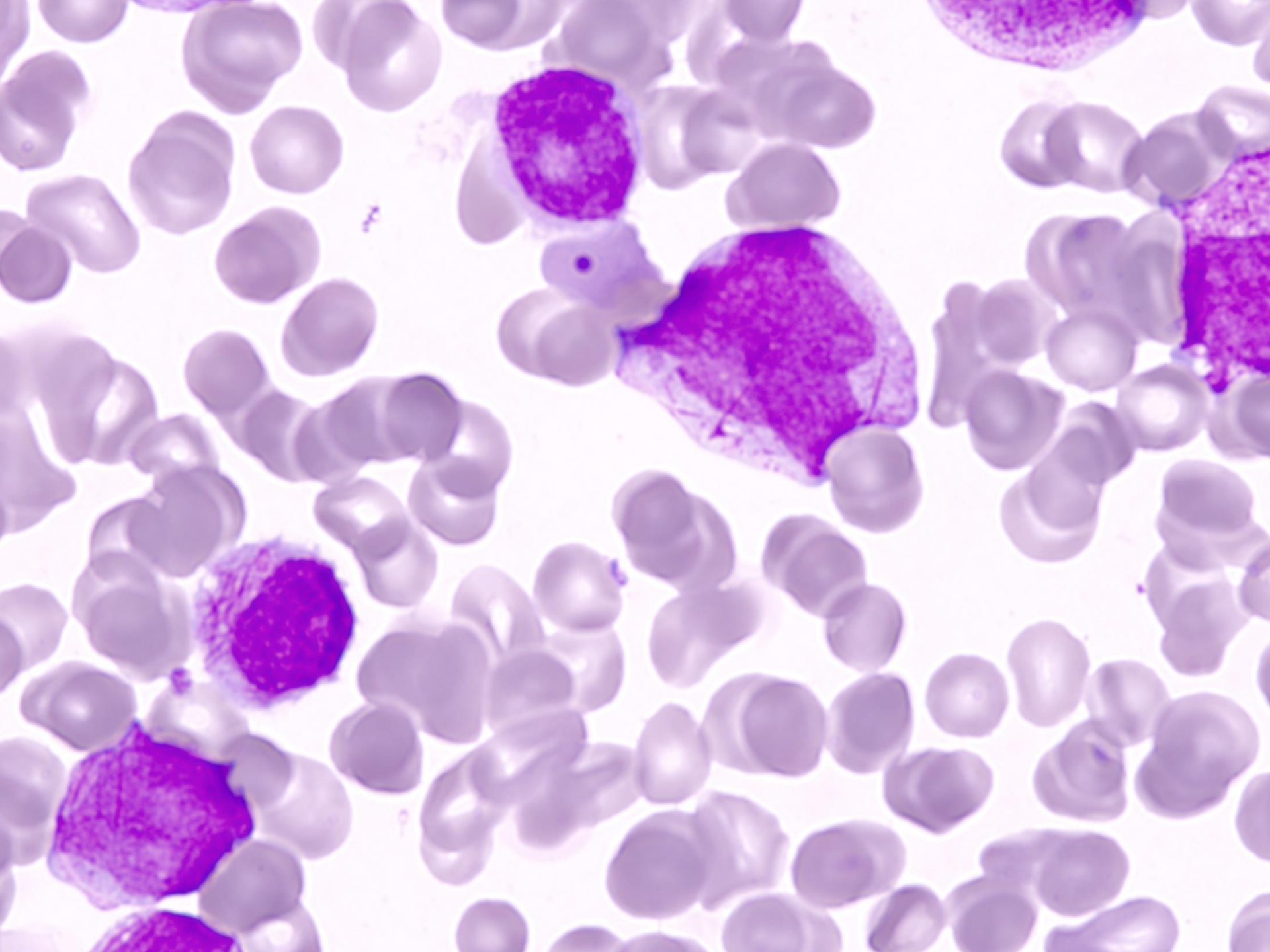
- 5-8% AML
- klasická a mikrogranulární (hypogranulární) varianta t(15;17)(q22;q12)
- variantní translokace:
  - t(11;17)(q23;q21)
  - t(5;17)(q32;q12)
  - t(11;17)(q13;q21)

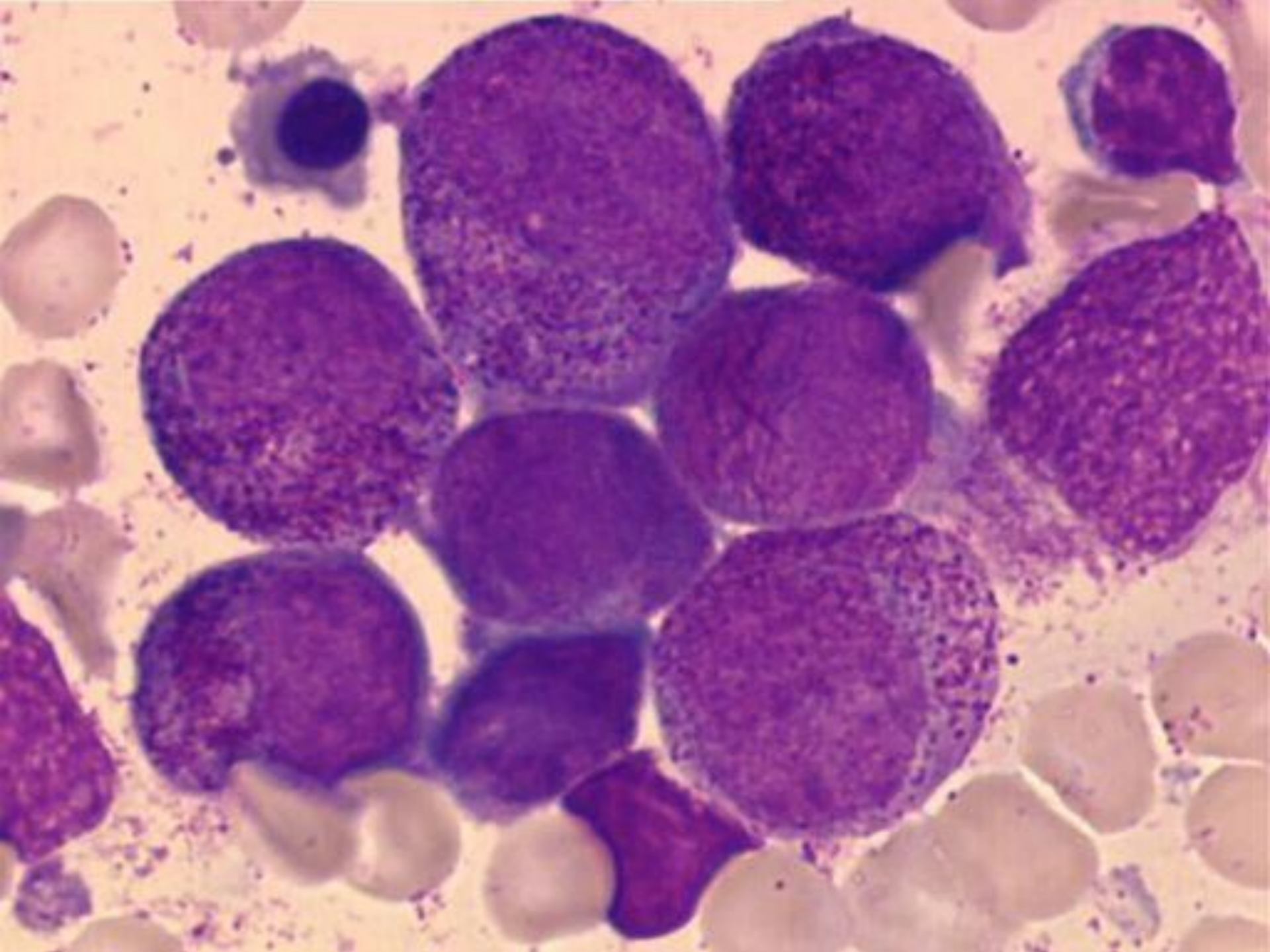
Morfologie akutní promyelocytární leukémie (klasická a mikrogranulární varianta)

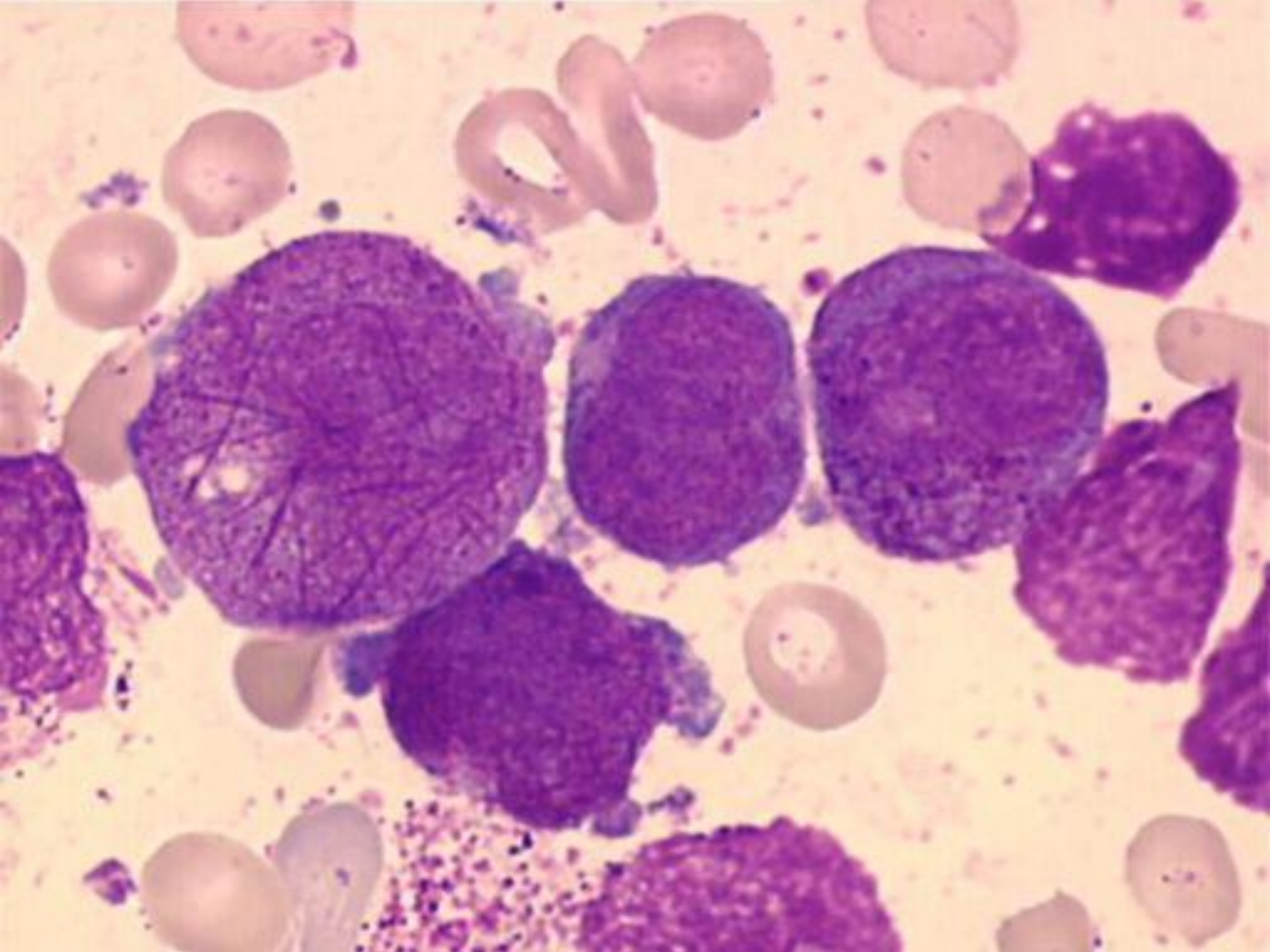
- atypické promyelocyty– velké elementy, jejichž cytoplazma je naplněna tmavě růžovými, červenými či purpurovými granuly
- není patrna Golgiho zóna
- jádro nepravidelné či štěpené
- snopce Auerových tyčí- „faggot cell“

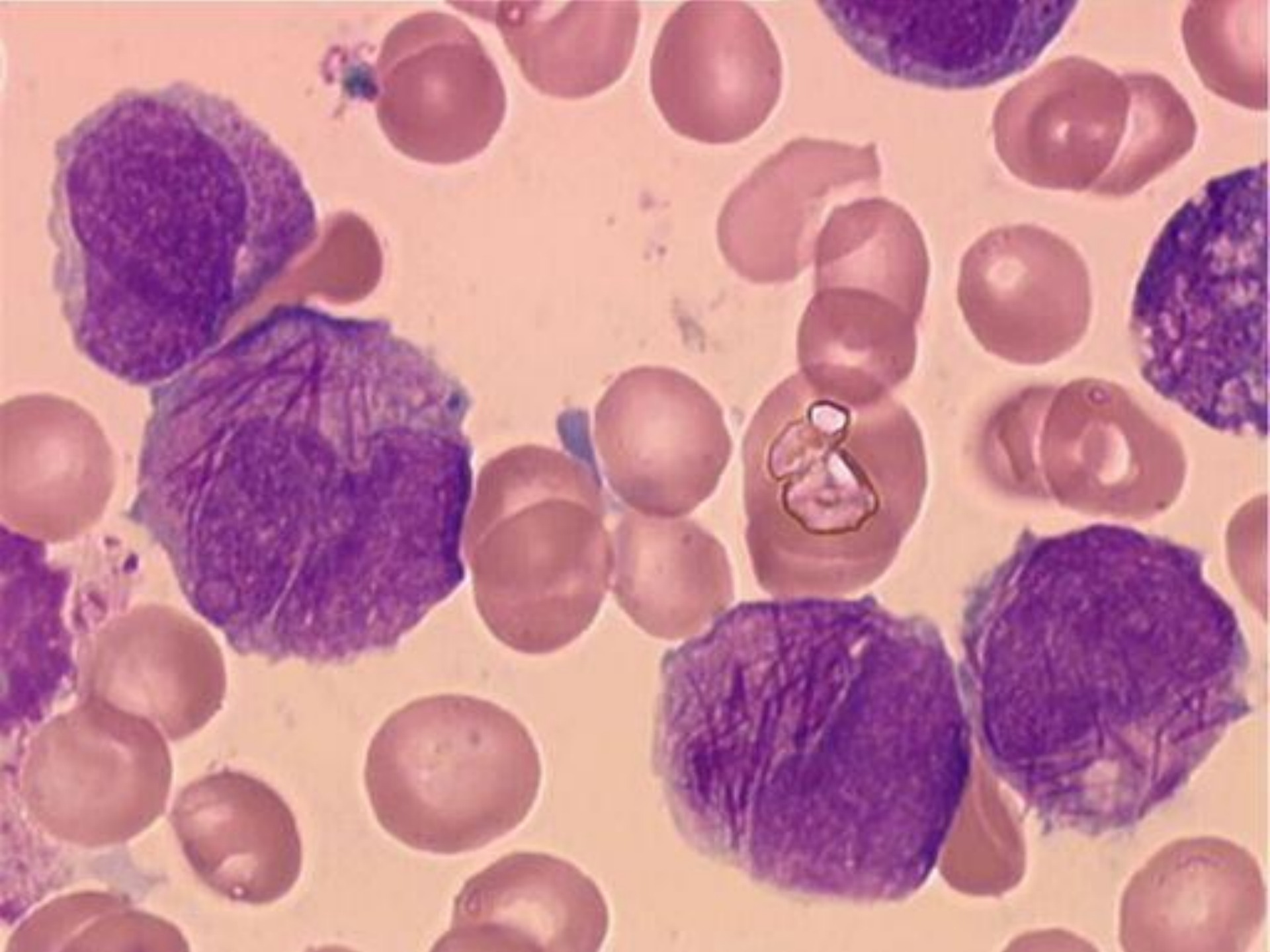
- mikrogranulární varianta-hluboce štěpená jádra, dvoulaločnaté segmenty, cytoplazma až agranulární

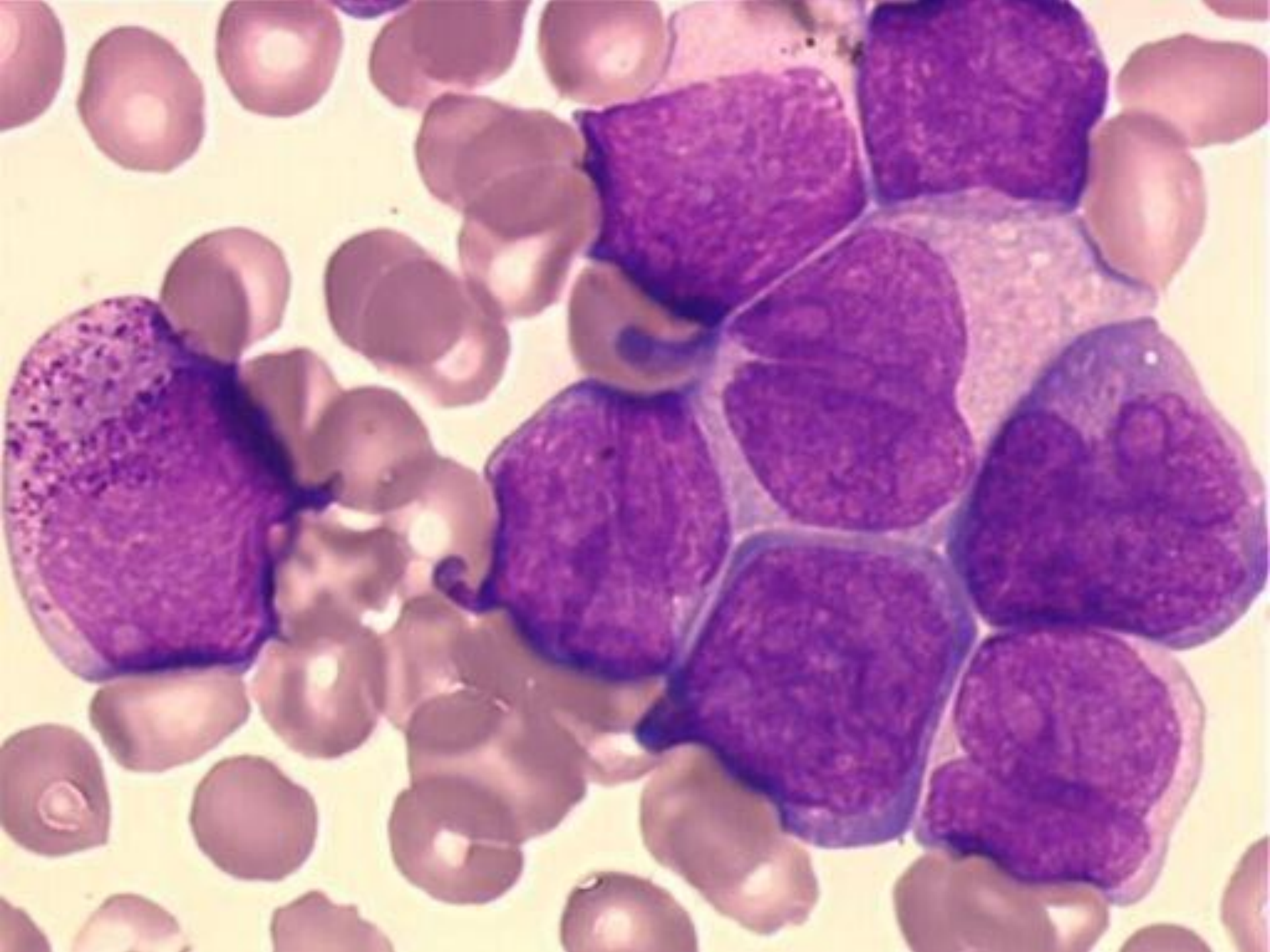


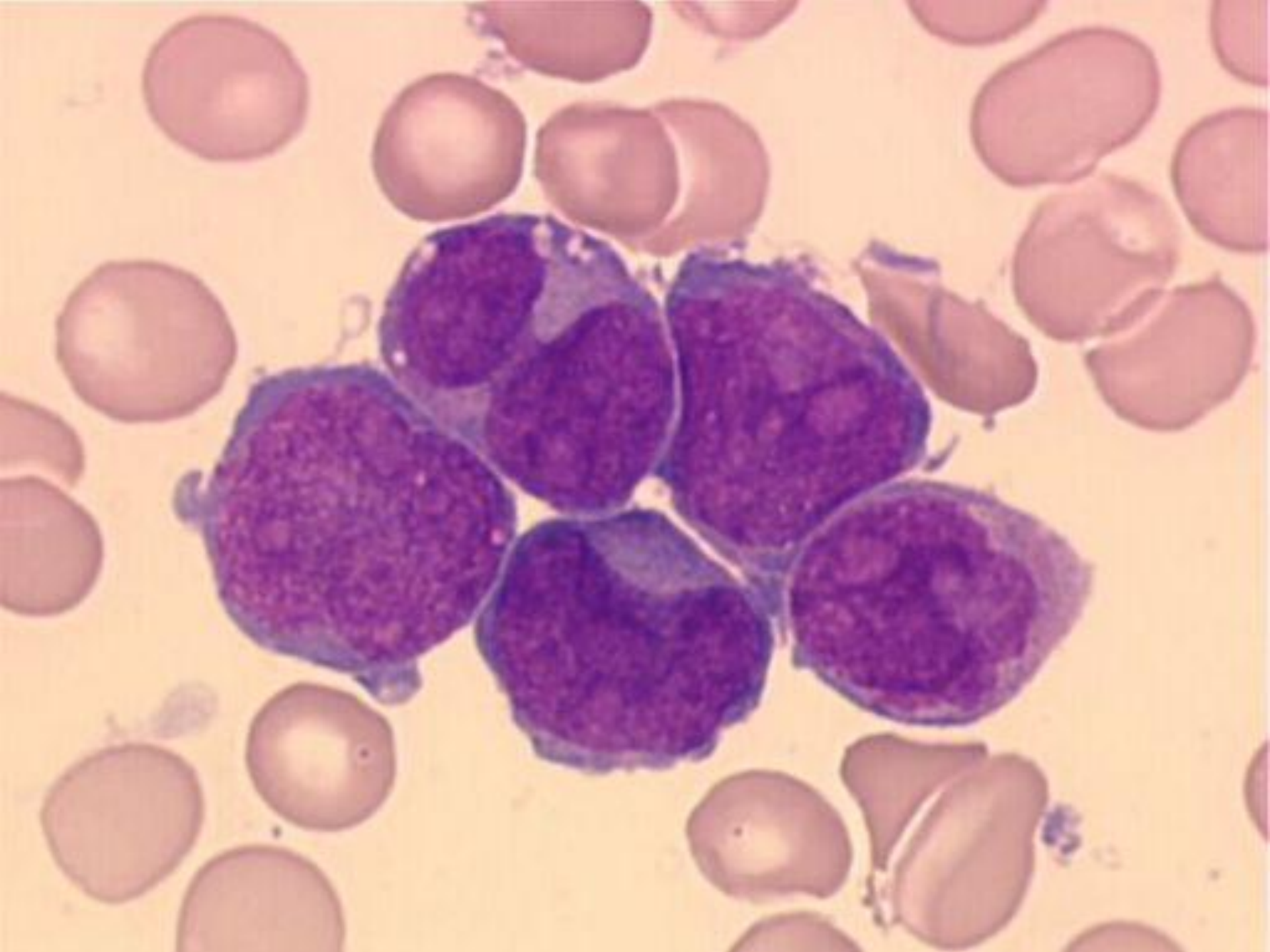


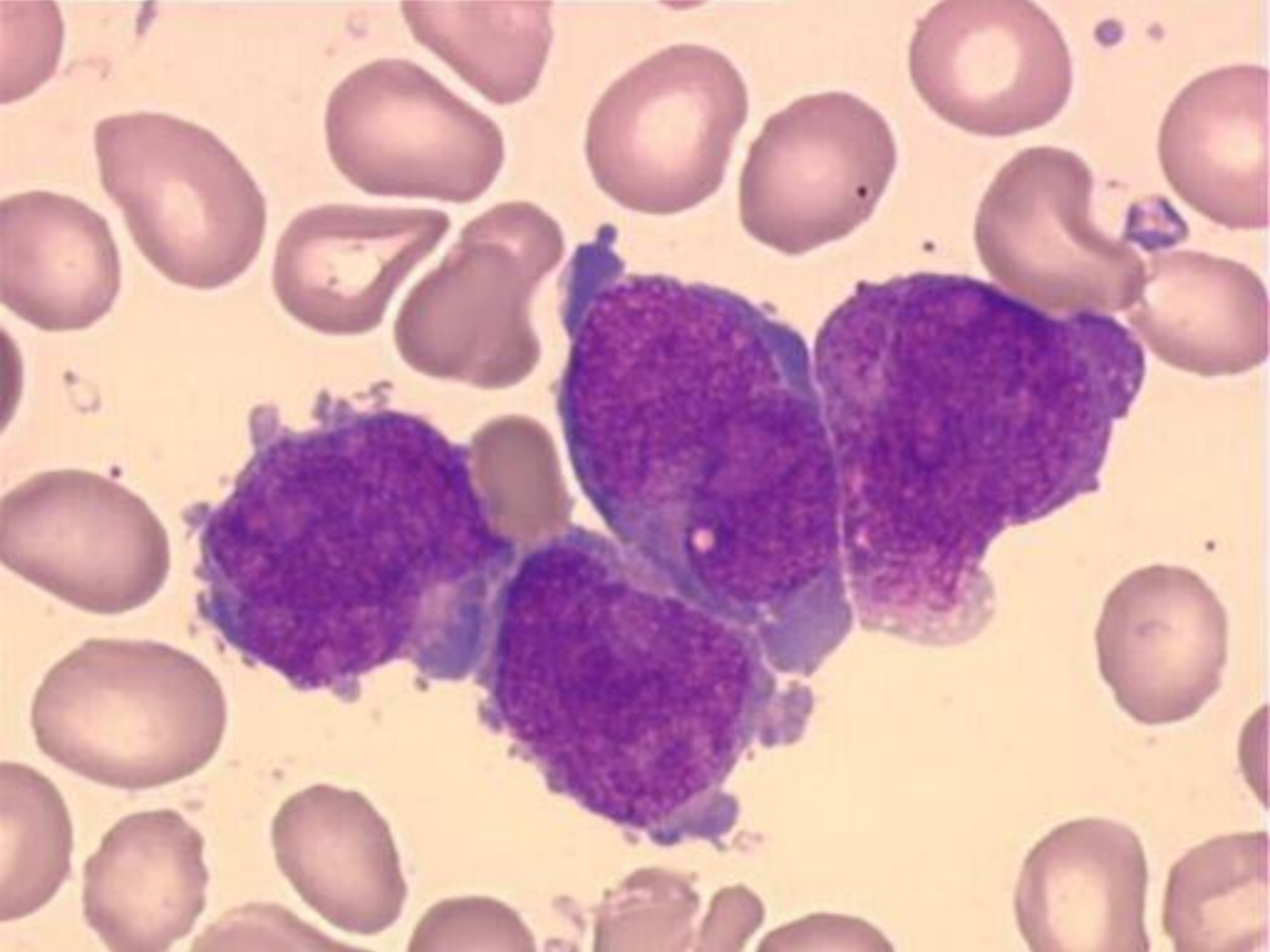












Imunofenotypizace

- pozitivita myeloidních markerů CD13 a CD33 bez nálezu CD34 a HLA-DR u klasické formy, u variantní formy s leukocytózou je CD34 pozitivní

- častý je přídatný nález pozitivity lymfoidních markerů CD2 a CD19, méně často CD16, výjimečně CD56

Molekulární genetika

- Fúzní genový produkt PML/RARα

  RARα gen pro α-receptor kyseliny retinové na 17q21

  PML - gen promyelocytární leukémie na 15q22

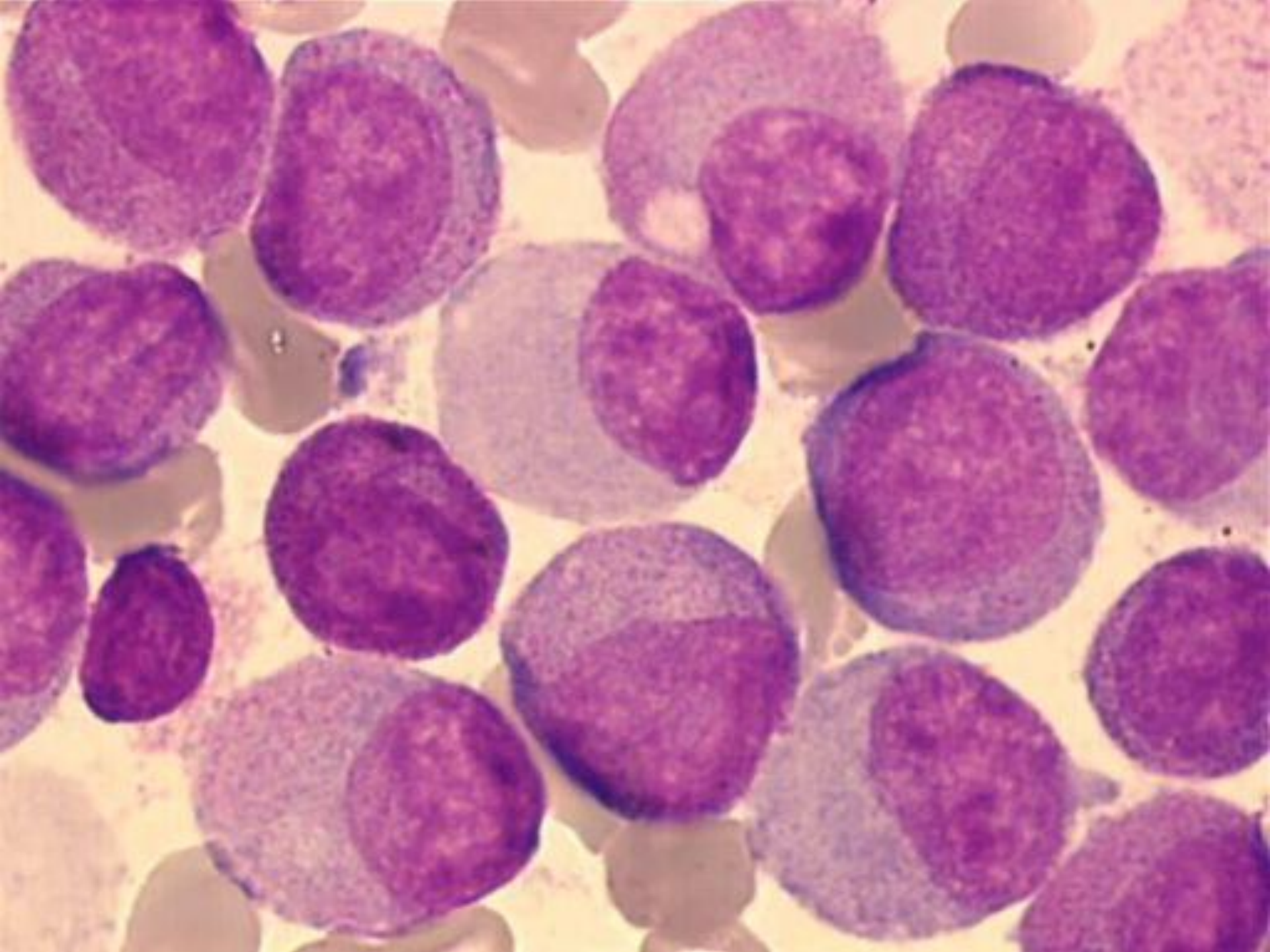
Morfologie variantní APL

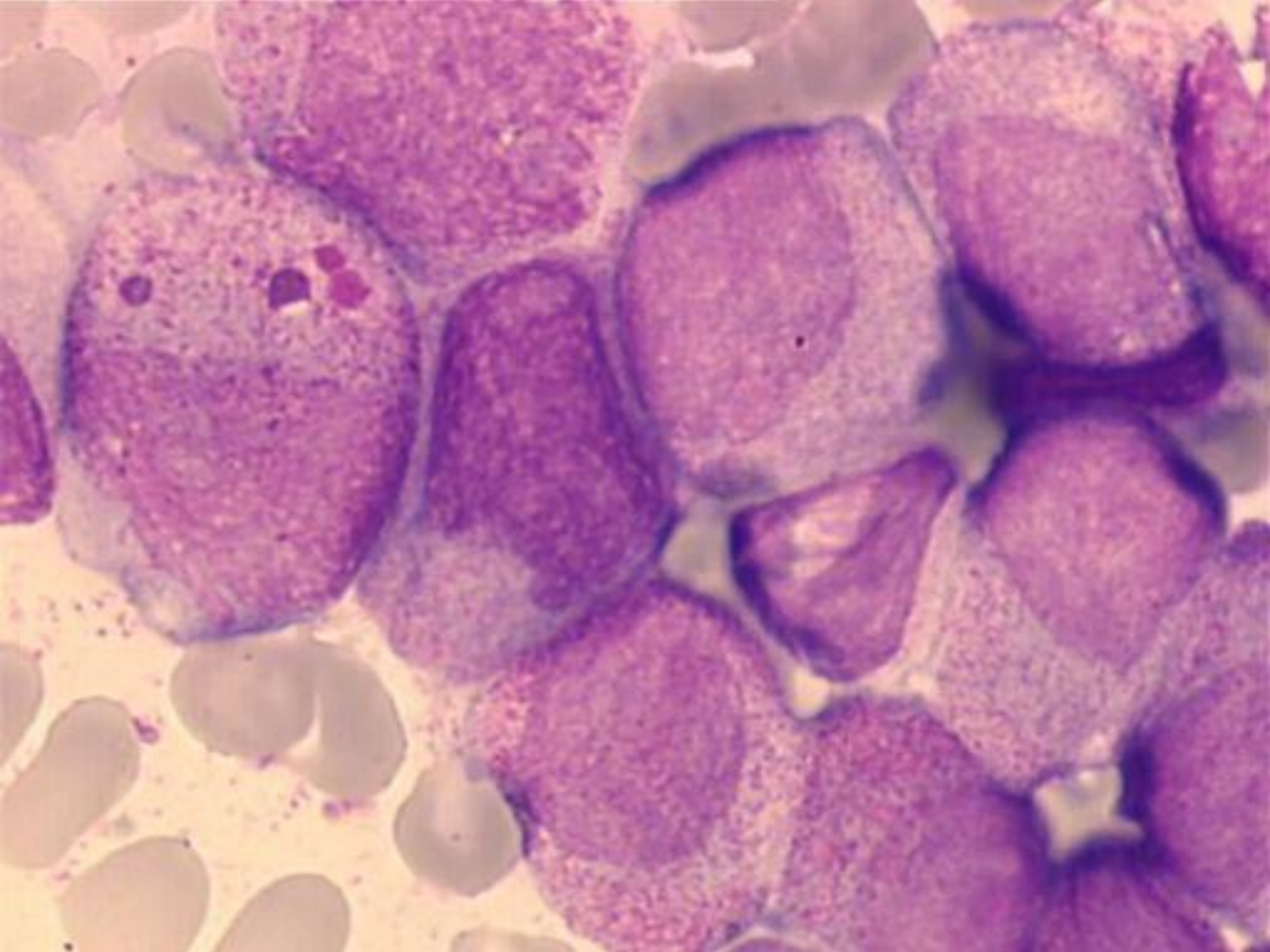
t(11,17)

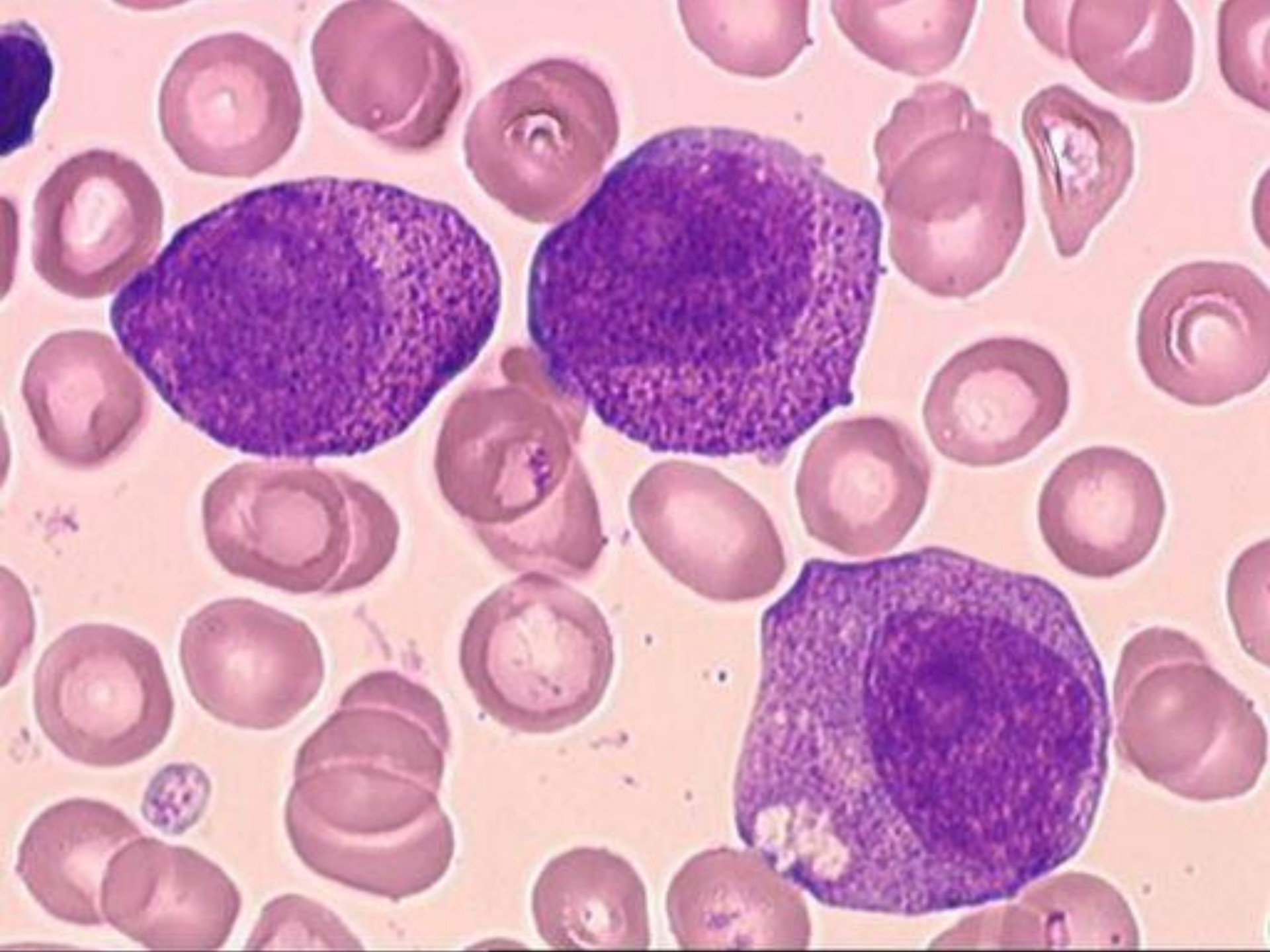
- blasty s pravidelnými jádry, mnoha granuly, obvykle absence Auerových tyčí
- zvýšené množství pseudopelgeroidních změn
- silná pozitivita MPO

t(5,17)

- hypergranulární promyelocyty, menší populace hypogranulárních promyelocytů







Imunofenotypizace

- pozitivita myeloidních markerů CD 33 a CD13 bez pozitivity CD34 a HLA Dr
- častá ko-exprese lymfoidních markerů CD56

Molekulární genetika

- Fúzní gen PLZF/RARα
  - gen „promyelocytic leukemia zinc finger“ na 11q23
  - RARα gen pro α-receptor kyseliny retinové na 17q21

Tento typ leukémie je rezistentní na ATRA in vitro i in vivo.

Akutní myeloidní leukémie

- AML s rekurentní genetickou abnormalitou
- AML spojená s myelodysplázií (AML s multilineární dysplázií)
- AML související s léčbou (therapy-related)
- AML jinak neklasifikovatelné
- Myeloidní sarkom
- Myeloidní proliferace spojené s Down. syndromem

AML spojená s myelodysplázií

- de novo
- vznikající z MDS nebo MDS/MPN
- nejméně 20% blastů a multilineární dysplázie (dysplázie ve dvou nebo více myeloidních liniích včetně megakaryocytů)
- hlavně u starších pacientů, zřídka u dětí

AML spojená s myelodysplázií

- dřívější název AML s multilineární dysplázií
  - dysplázie > 50% buněk dvou a více hematopoetických linií (universálně akceptovaná známka s myelodysplázií spojených rysů)
- nově navíc další MDS-like rysy
  - nepříznivý cytogenetický nález
  - dříve dokumentovaná myelodysplázie

Multilineární dysplázie

Definována dle standardních kriterií (> 50% buněk, nejméně dvě vývojové řady, většinou mgk!)

DysG: porucha granulace, hyposegmentace jader, bizardně segmentovaná jádra

DysE: megaloidie, karyorhexe, jaderná fragmentace a vícejadernost, prstenčité sideroblasty, PAS pozitivita

DysM: mikro-mgk, separovaná vícečetná jádra, nesegmentovaná jádra velkých mgk

Molekulární genetika

- často přídatné chromozomy nebo ztráty chromozomů: -7/del (7q), -5/del (5q), +8, +9, +11, del(11q), del(12p), -18, +19, del(20q), +21
- méně často specifické translokace t(2;11), t(1;7) a translokace zahrnující 3q21 a 3q26
- inv(3)(q21q26), t(3;3)(q21;q26) nebo ins (3;3) jsou spojeny se zvýšenou tvorbou trombocytů

Akutní myeloidní leukémie

- AML s rekurentní genetickou abnormalitou
- AML spojená s myelodysplázií
- AML související s léčbou (therapy-related)
- AML jinak neklasifikovatelné
- Myeloidní sarkom
- Myeloidní proliferace spojené s Down. syndromem

AML se vztahem k léčbě (therapy related)

- vznikají jako výsledek cytotoxické léčby nebo radiační terapie

S léčbou spojené myeloidní neoplázie

- nejsou rozlišovány subkategorie dříve určené
  - po alkylačních látkách
  - po inhibitorech topoizomerázy II
- obě látky jsou používány v chemoterapeutických režimech současně
- je-li současně zjištěna rekurentní cytogenetická abnormita, mají nemocní horší průběh, proto jsou kategorizovány oběma skutečnostmi např.
  - therapy-related AML s t(9°11)(p22;q23)

Akutní myeloidní leukémie

- AML s rekurentní genetickou abnormalitou
- AML s myelodysplasií příbuznými změnami (AML s multilineární dysplázií)
- AML související s léčbou (therapy-related)
- AML jinak neklasifikovatelné
- Myeloidní sarkom
- Myeloidní proliferace spojené s Down. syndromem

AML jinak neklasifikovatelné (AML NOS)

- nesplňují kritéria předchozích skupin
- prokázáno nejméně 20% blastů v periferní krvi nebo v kostní dřeni
- většina jednotek má řazení dle původní FAB klasifikace

AML jinak neklasifikovatelné

- AML s minimální diferenciací (dříve FAB AML M0)
- AML bez vyzrávání (FAB AML M1)
- AML s vyzráváním (FAB AML M2)
- Akutní myelomocytární leukémie (FAB AML M4)
- Akutní monoblastické leukémie a akutní monocytární leukémie (FAB AML M5)
- Čistá erytroidní leukémie (FAB AML M6)
- Akutní megakaryoblastická leukémie (FAB AML M7)
- Akutní bazofilní leukémie
- Akutní panmyelóza s myelofibrózou

WHO klasifikace AML dle morfologických kriterií

AML s minimální diferenciací	MP0X negativní blasty ve světelném mikroskopu imunofenotyp: negativní lymfoidní markery, pozitivní myeloidní
AML bez vyzrávání	blasty > 90% NEC, > 3% blastů je MPOX pozitivní
AML s vyzráváním	blasty > 20% ANC, ≥ 10% vyzrávající neutrofilní řady, > 3% blastů MPOX pozitivní
AML myelomonocytární	podobná M2, ale > 20% buněk je monocytárních a/nebo je více než 5 x 10^9/l z monocytární řady v periferní krvi
AML monoblastická a monocytární	80% leukemických buněk je z monocytární řady, neutrofilní řada < 20%
Čistá erytroidní leukémie	čistá erytroidní leukémie: nezralé bb. erytroidní linie>80% s více než 30% proerythroblastů
AML megakaryocytární	blasty > 20%, nad 50% z nich megakaryoblasty

ANC- all nucleated cells (všechny jaderné buňky dřeně, NEC- non erythroid cells (buňky nezahrnující vývojová stádia erytroidní řady), MPOX- myeloperoxidáza

Akutní myeloidní leukémie ke zkoušce

- **AML s rekurentní genetickou abnormalitou**
- **AML spojená s myelodysplastickými změnami**
- **AML související s léčbou (therapy-related)**
- **AML jinak neklasifikovatelné**
- Myeloidní sarkom
- Myeloidní proliferace spojené s Down. syndromem

Akutní leukémie nejasného původu

- akutní leukémie, u kterých morfologické, cytochemie a imunofenotypizační rysy proliferujících blastů nedovolují jasné přiřazení k myeloidní nebo lymfoidní linii
- mají morfologické a imunofenotypizační charakteristiky jak myeloidní,tak lymfoidní linie nebo jak B, tak i T lymfoidní linie

Akutní leukémie nejasného původu

Zahrnují:

- akutní nediferencovaná leukémie
- smíšený fenotyp (MPAL) akutní leukémie s t(9,22) (BCR/ABL1)
- smíšený fenotyp akutní leukémie s t(v,11q23)- KMT2A genem
- smíšený fenotyp akutní leukémie B/myeloidní, NOS
- smíšený fenotyp akutní leukémie T/myeloidní, NOS

Požadavky na hodnocení více než jedné linie blastické populace

- **Myeloidní linie**

  MPO(flowcytometrie, imunohistochemie nebo cytochemie)
  nebo
  monocytární diferenciace (nejméně 2 z násl.: NSE, CD11c,CD14,CD64, lysozym)
- **T-linie**

  cytoplazm. CD3 (flowcytometrie, imunohistochemie)
  nebo
  povrchový CD3
- **B-linie** (jsou vyžadovány vícečetné antigeny)

  silně CD19 s nejméně 1 z násl. silně exprim: CD79a, cytopl.CD22, CD10
  nebo
  slabě CD 19 s nejméně 2 z násl. silně exprimovaných: CD79a,
  cytoplazm. CD22, CD10

Akutní nediferencovaná leukémie

- neexprimuje znaky specifické pro lymfoidní nebo myeloidní linii.
- Morfologie: blasty nemají morfologii specifickou pro myeloidní linii
- Cytochemie: blasty MPO negativní
- Imunofenotypizace: chybí specifické markery pro T nebo myeloidní řadu (cCD3 a MPO) a nejsou exprimovány B- znaky (cCD22,cCD79a, CD19), též chybí specifické znaky megakyaryocytů nebo plazmacytoidních dendritických buněk.

Akutní lymfoblastické leukémie

- FAB klasifikace L1 - L3 nemá ve WHO klasifikaci žádnou analogii (termíny se ruší)
- jsou současně s lymfomy z prekurzorových buněk považovány za stejná onemocnění s různou klinickou manifestací (lymfomy mají primární manifestaci v lymfatických uzlinách nebo i extranodálně)

Akutní lymfoblastické leukémie

Rozlišujeme:

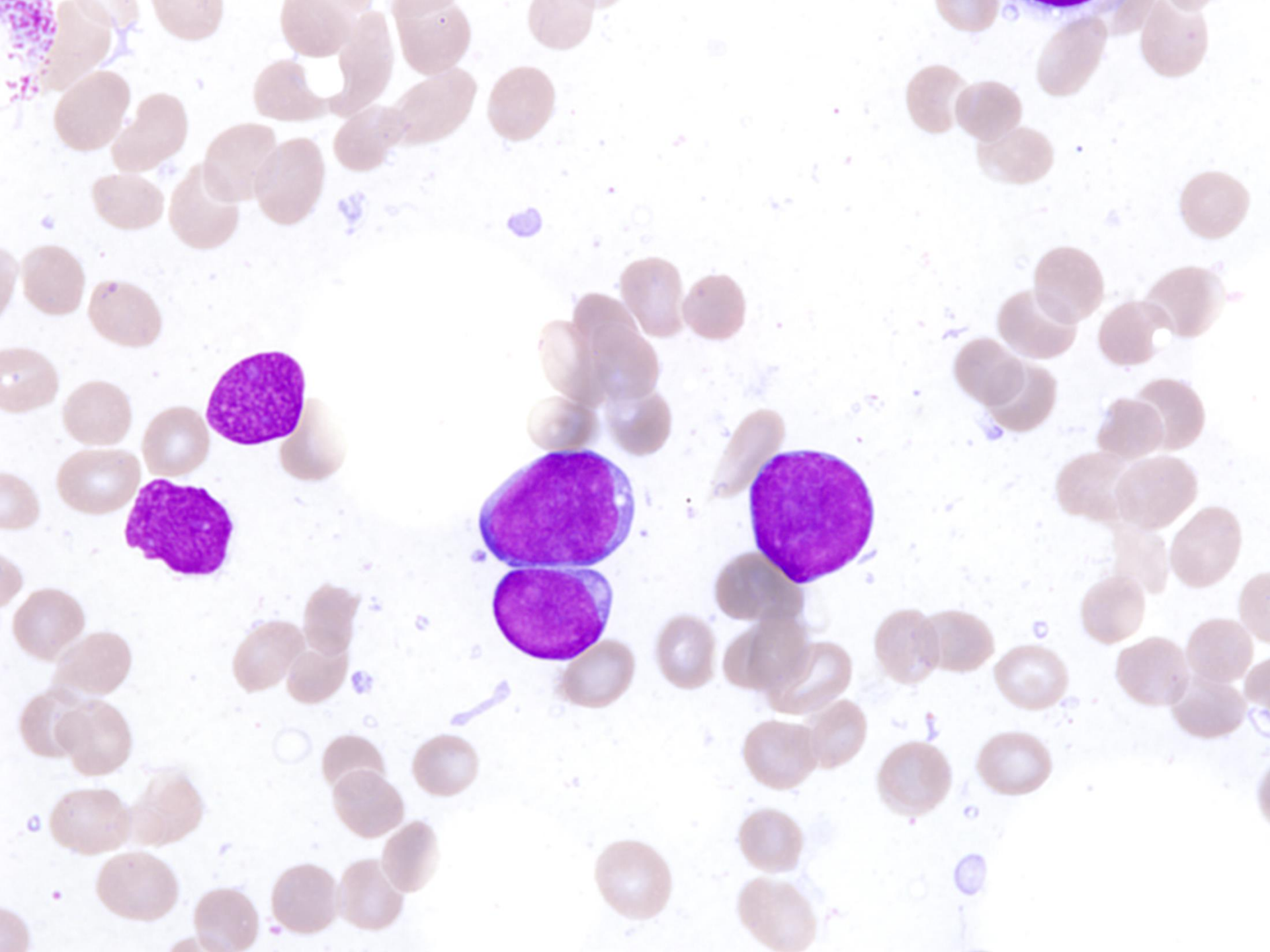
- B lymfoblastické leukémie resp. lymfoblastické lymfomy , jinak nespecifikované
- B lymfoblastické leukémie/lymfomy s rekurentní genetickou abnormalitou
- T lymfoblastické leukémie resp. lymfoblastické lymfomy

B-ALL/LBL - morfologie a cytochemie

- obraz kolísá od malých blastů s jasnou cytoplazmou, kondenzovaným jaderným chromatinem a nezřetelnými jadérky po velké buňky se středně bohatou světle modrou až šedomodrou cytoplazmou, příležitostně vakuolizovanou
- jemná azurofilní granula jsou přítomna v cytoplazmě u 10% případů
- MPOX je negativní, SBB většinou negativní výjimečně lehce pozitivní (slaběji než myeloblasty)

T-ALL/LBL - morfologie a cytochemie

- morfologie je obdobná jako u B-ALL/LBL, část případů je spojeno s eozinofilií a myeloidní hyperplazií
- negativní MPOX, častá je fokální pozitivita kyselé fosfatázy



Terapie akutní leukémie

- indukční léčba – úvodní (chemoterapeutické režimy)
- postindukční léčba- s cílem buď vyléčení či dlouhodobého udržení remise
- chemoterapie v konvenčním dávkování
- udržovací chemoterapie
- intenzivní chemoterapie
- vysokodávkovaná chemoterapie s podporou autologními či alogenními krvetvornými bb.
- imunoterapie

Kompletní remise

- Periferní krev:

  neutrofily >1x10 na 9/l

  trombocyty nad 100x 10na 9/l

  leukemické blasty nejsou přítomny

- Kostní dřeň:

  blasty méně než 5%

  není přítomnost Auerových tyčí

Parciální remise

- jsou naplněna všechna kriteria kompletní remise, ale blasty mezi 5-25%, snížení procenta blastů o 50% ve srovnání s počtem před léčbou

- blasty pod 5%, ale přítomnost Auerových tyčí

Relaps onemocnění

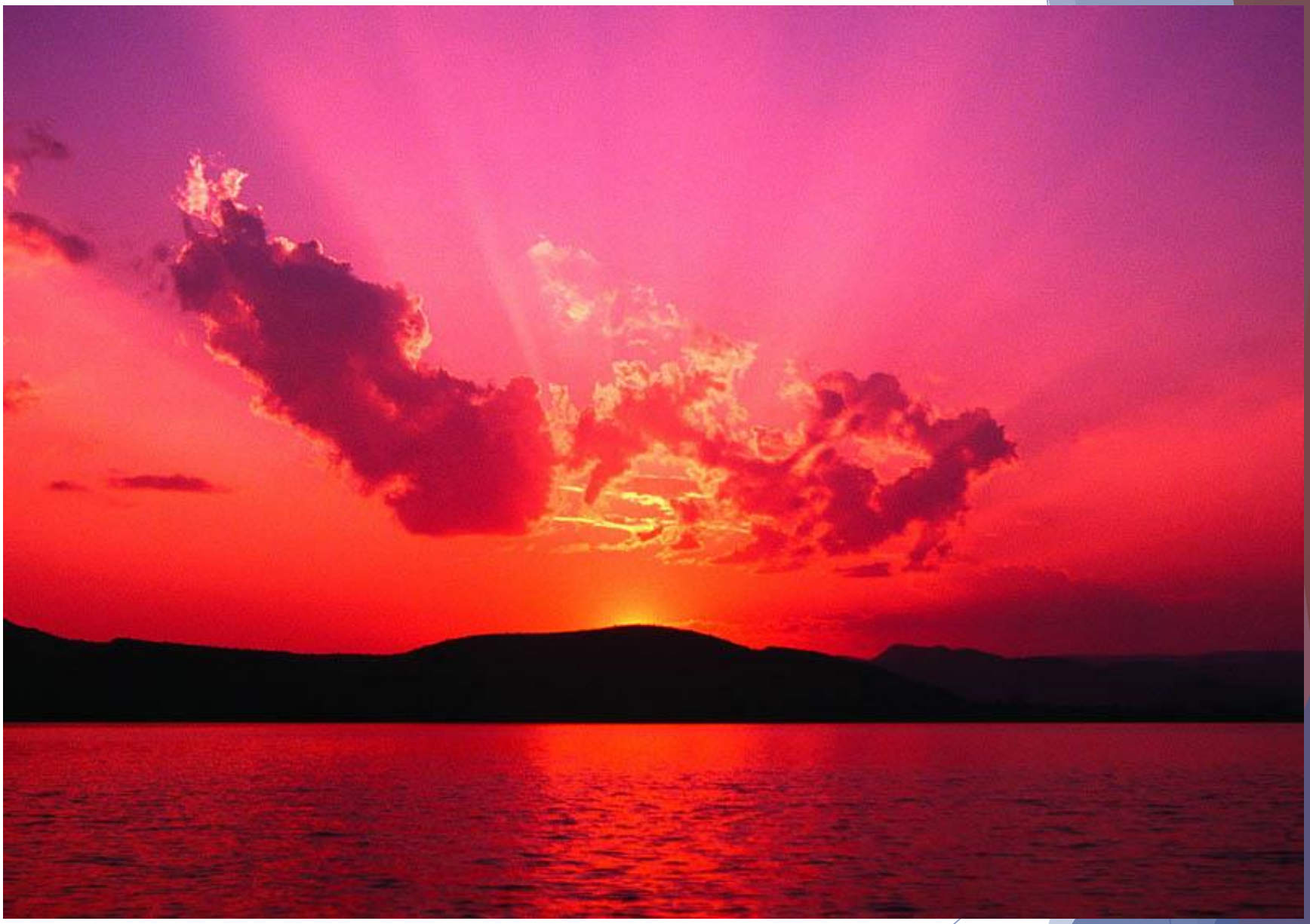
- Periferní krev:

  opětovný výskyt blastů

- Kostní dřeň:

  více než 5% blastů, které nelze vysvětlit jiným způsobem (regenerace dřeně)

- Výskyt extramedulární choroby



Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)