

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Acta Haematologica Polonica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/achaem

Kazuistyka/Case report

Nietypowy przebieg czerwienicy prawdziwej – opis przypadku

Unusual clinical course of polycythemia vera – case report

Lidia Chmielewska-Gorycka*, Witold Prejzner, Aleksandra Leszczyńska, Andrzej Hellmann

Katedra i Klinika Hematologii i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Kierownik: prof. dr hab. med. Andrzej Hellmann, Gdańsk, Polska



INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 01.03.2013

Zaakceptowano: 10.09.2013

Dostępne online: 19.09.2013

Słowa kluczowe:

- czerwienica prawdziwa
- mutacja JAK2
- trombofilia

Keywords:

- Polycythemia vera
- JAK 2 mutation
- Thrombophilia

ABSTRACT

Polycythemia vera is mainly diagnosed in the age of 40–80. In people under 20 years of age, it is very rare. A typical marker for confirmation of the diagnosis of polycythemia vera is a mutation of gene *JAK 2* in exon 14, in position 617, which is found in about 95% of patients with this diagnosis.

Patients without the mutation require additional examination to state the final diagnosis. A search for the mutations in other exons due to the diversity of mutations and the related complexity of molecular testing is not applicable in routine laboratory diagnostics. Here we present a case of polycythemia vera diagnosed in a patient aged 19 without typical mutation of gene *JAK 2* in exon 14. Conducted additional tests revealed presence of the mutation in exon 12 of gene *JAK 2*. The most common complication of polycythemia vera is the arterial and venous thrombosis, which could be the result of not only an increased hematocrit, but also coexisting congenital disorders leading to thrombophilia, as occurred in the presented case.

© 2013 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Urban & Partner Sp. z o.o. All rights reserved.

Wstęp

Poliglobulia u osób młodych jest najczęściej objawem chorób układu krążenia, chorób płuc lub choroby nowotworowej. Czerwienica prawdziwa (PV; *Polycythemia vera*) występuje rzadko, zachorowalność wynosi 2,3–2,8 przypadku na 100 000 mieszkańców, a zachorowania najczęściej występują pomiędzy 40. a 80. rokiem życia. Zaliczana jest do grupy przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych Philadelphia-ujemnych. Etiologia choroby nie jest do końca

poznana, jej istotą jest klonalna proliferacja wielopotencjalnej komórki macierzystej hematopoezy, co powoduje nadmierną proliferację linii granulocytarnej, megakariocytarnej, a przede wszystkim erytroidalnej.

U około 95% chorych stwierdza się mutację genu *JAK 2* V617F, co potwierdza klonalną proliferację u chorych z PV. Dlatego też, wg WHO (2008 r.), obecność tej mutacji jest jednym z podstawowych kryteriów diagnostycznych PV.

W niniejszej pracy przedstawiono przypadek czerwienicy prawdziwej zdiagnozowanej u młodej kobiety, u której nie stwierdzono obecności typowej mutacji genu *JAK 2*,

* Adres do korespondencji: Klinika Hematologii i Transplantologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, ul. Dębinki 7, 80-952 Gdańsk, Polska. Adres email: lidiagorycka@mp.pl (L. Chmielewska-Gorycka).

dotąd dodatkowo powikłanej incydentem zakrzepowym będącym konsekwencją wielu czynników ryzyka.

Opis przypadku

19-letnia pacjentka została skierowana na początku czerwca 2008 roku do Kliniki Hematologii i Transplantologii UCK w Gdańsku z podejrzeniem nadkrwistości. W morfologii krwi, zleconej przez lekarza pierwszego kontaktu z powodu krwawienia z dziąseł, stwierdzono stężenie hemoglobiny 22 g/dl, hematokryt 69% i liczbę krwinek czerwonych 7,3 T/l. Wartość leukocytów i płytek krwi była w normie. Z wywiadu wiadomo, że pacjentka dotychczas nie chorowała, sporadycznie występowały bóle głowy, ma zdrowe rodzeństwo. W badaniu przedmiotowym stwierdzono powiększenie śledziony 2 cm poniżej łuku żebrowego. Podczas pierwszej wizyty wykonano upust krwi i rozpoczęto diagnostykę w kierunku czerwienicy prawdziwej. W dodatkowych badaniach laboratoryjnych odnotowano:

- podwyższone wartości bilirubiny całkowitej (1,6 mg/dl), dehydrogenazy mleczanowej (419 U/l), witaminy B12 (1434 pg/ml), obniżony poziom erytropoetyny (1,8 mU/ml),
- saturację krwi tlenem w 94%.

W czerwcu 2008 roku otrzymano negatywny wynik na obecność mutacji V617F w genie JAK 2. Analizę mutacji przeprowadzono z wykorzystaniem metody łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). W ramach dalszej diagnostyki dokonano oceny szpiku – w trepanobiopsji obraz odpowiadał rozpoznaniu PV, badanie cytologiczne i cytogenetyczne szpiku okazały się niediagnostyczne, wykluczono również obecność transkryptu BCR-ABL. Mimo negatywnego wyniku mutacji genu JAK 2 rozpoznano czerwienicę prawdziwą i od 12.06.2008 rozpoczęto terapię hydroksykarbamidem, początkowo w dawce 1 g/d, następnie 1,5 g/d, z przerwami w okresach 23.06.2008–29.08.2008 i 14.07.2008–22.07.2008 z powodu obserwowanej leukopenii z neutropenią.

Od 22.07.2008 pacjentka przyjmowała 0,5 g hydroksykarbamidu co 2. dzień. W tym okresie, tj. od 12 czerwca do 22 września wykonano w sumie 4 upusty krwi. W kontrolnych badaniach obserwowano zmniejszenie Hb do 15,3 g/dl, RBC do 5,0 T/l i HCT do 47%, obniżenie liczby płytek (PLT 113 G/l) oraz leukopenię (WBC 3,6 G/l) z neutropenią (NEUT 1,7 G/l). W lipcu zostały przeprowadzone badania HLA, które wykazały brak zgodnego rodzeństwa. We wrześniu 2008 roku, z uwagi na wzrost Hb do 18 g/dl, RBC do 6,0 T/l, HCT do 56%, przy prawidłowych wartościach leukocytów i płytek krwi zwiększono dawkowanie hydroksykarbamidu do 1 g/d. W początkowym okresie leczenia chora zgłaszała nadal utrzymujące się krwawienia z dziąseł, uczucie zmęczenia i senność. Nie występował świąd skóry, w badaniu fizykalnym śledziona była niewyczuwalna. Od października 2008 roku pacjentka przekazana została pod opiekę Poradni Hematologicznej. W badaniach kontrolnych wartości Hb utrzymywały się w granicach 14–17 g/dl, liczba erytrocytów 3,4–7 T/l, HCT 44–59%, LDH 280–500 U/l, poziom erytropoetyny 2,55–1,0 mU/l. We wrześniu i grudniu 2009 roku zostały wykonane 2 upusty krwi. Ze względu na ujemny wynik mutacji V617F genu JAK 2 w eksonie 14 zdecydowano o przeprowadzeniu badania molekularnego w kierunku obecności

mutacji w obrębie eksonu 12. Badanie wykonano techniką klonowania fragmentów PCR i sekwencjonowania z wykorzystaniem znakowanych fluorescencyjnie ddNTPs (Applied Biosystems). Produkty reakcji sekwencjonowania rozdzielono przy użyciu elektroforezy kapilarnej w aparacie ABI Prism 3130 DNA analyser (Applied Biosystems) [1]. Badanie wykazało mutację H538-K539delinsL w eksonie 12 genu JAK 2.

18 marca 2010 roku pacjentka była hospitalizowana w Klinice Hematologii i Transplantologii z powodu ostrej zakrzepicy żyłnej kończyny dolnej lewej. Dwa dni wcześniej chora zgłosiła się na Oddział Ratunkowy Szpitala Specjalistycznego w Gdańsku z powodu uczucia drętwienia podudzia kończyny dolnej lewej. Przedmiotowo stwierdzono zwiększone ucieplenie tej okolicy z dodatnim objawem Homansa. W wykonanych badaniach laboratoryjnych stężenie Hb wynosiło 15,1 g/dl, RBC 5,62 T/l, HCT 48,6%, stężenie D-dimeru 510 ng/ml (norma 50–255 ng/ml), CRP 29,33 mg/l. Liczba płytek krwi i leukocytów była prawidłowa. Badaniem USG dopplerowskim potwierdzono zakrzepicę żyły podkolanowej i proksymalnego odcinka żyły udowej kończyny dolnej lewej. W trakcie hospitalizacji, w okresie 18.03.2010–23.03.2010 stosowano leczenie heparyną drobnocząsteczkową w dawce 12 500 j, antybiotykoterapię klindamycyną, hydroksykarbamid w dawce 0,5 g co 2. dzień. Na podstawie wywiadu ustalono, że dodatkowym czynnikiem ryzyka zakrzepicy, poza nowotworem mieloproliferacyjnym, była stosowana przez pacjentkę doustna antykoncepcja. Pogłębiona diagnostyka w kierunku trombofilii ujawniła mutację Leiden w genie czynnika V i niedobór białka S. Po wypisie z Kliniki ambulatoryjnie kontynuowano terapię heparyną drobnocząsteczkową i hydroksykarbamidem w dawce 0,5 g.

Ze względu na brak pełnej odpowiedzi na leczenie hydroksykarbamidem pacjentkę zakwalifikowano do terapii interferonem α , którą prowadzono w okresie 31.01.2011–02.05.2012 roku, w dawce 3 mln j. podskórnym, 3 razy w tygodniu, nie uzyskując efektu. W badaniach laboratoryjnych stężenie Hb wynosiło 16 g/dl, RBC 8 T/l, HCT 59%, w badaniu fizykalnym stwierdzono powiększenie śledziony (3 cm poniżej łuku żebrowego), erytromelalgję. Powrócono do leczenia hydroksykarbamidem w dawce 0,5 g/dobę, które jest kontynuowane do chwili obecnej.

Omówienie

Mediana wieku chorych na PV wynosi około 60 lat. Choroba ta stosunkowo rzadko występuje u młodych osób. Szacuje się, że 1% stanowią osoby poniżej 25. r.ż., a zaledwie 0,1% poniżej 20. r.ż. [2]. Rozpoznanie PV w tak młodym wieku wiąże się ze skróceniem przeżycia w porównaniu ze zdrową populacją. Wynika to głównie z transformacji do mielofibrozy (7%), ostrej białaczki (7%) i powikłań zakrzepowych (6%). Badania retrospektywne wykazały, że mediana przeżycia u pacjentów z PV <50. r.ż. wynosiła 23 lata. U żadnego z tych pacjentów nie doszło do wystąpienia transformacji w ciągu 9 lat od rozpoznania [3].

Odkrycie w 2005 roku mutacji genu JAK 2 V617F jako cennego markera przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych przyczyniło się do ustanowienia nowych kryteriów

Tabela I – Kryteria rozpoznania czerwienicy prawdziwej wg WHO 2008
Table I – The 2008 WHO diagnostic criteria for polycythemia vera

Kryteria większe	Kryteria mniejsze
1. Hb > 18,5 g/dL (mężczyźni), > 16,5 g/dL (kobiety) lub Hb albo Ht > 99. percentyla wartości dla określonego wieku, płci i wysokości nad poziomem morza lub Hb > 17 g/dL (mężczyźni), > 15 g/dL (kobiety), jeśli jednocześnie stwierdza się przyrost Hb \geq 2 g/dL w porównaniu z wartością wyjściową niepowiązany z leczeniem stanu niedoboru żelaza lub wzrost masy krwinek czerwonych > 25% ponad średnią przewidzianą wartość prawidłową 2. mutacja V617F JAK2 lub inne funkcjonalnie podobne mutacje (np. w eksonie 12)	1. stwierdzenie w biopsji bogatokomórkowego szpiku z rozrostem linii erytroidalnej, neutrofilowej i megakariocytowej 2. stężenie EPO w surowicy poniżej normy 3. samoistny wzrost kolonii erytoidalnych

rozpoznania czerwienicy prawdziwej w zmienionej przez WHO klasyfikacji (Tab. I) [4]. Mutację V617F JAK 2 (w eksonie 14) stwierdza się w około 95% przypadków czerwienicy prawdziwej, w pozostałych 3–4% występuje mutacja w eksonie 12 genu JAK 2. Badania wykazały, że w przypadku mutacji w eksonie 12 charakterystyczne jest występowanie u chorych z PV izolowanej erytrocytozy i młodszego wieku zachorowania [5]. Dlatego też w przypadku podejrzenia czerwienicy prawdziwej u osób młodych, gdzie nie stwierdzono obecności mutacji V617F JAK 2, istotna jest bardzo wnikliwa diagnostyka różnicowa i wykonanie dodatkowych badań wg kryteriów diagnostycznych WHO (kryteria mniejsze PV), które pozwolą na postawienie ostatecznej diagnozy.

Badanie mutacji V617F JAK 2 jest technicznie stosunkowo prostą metodą, wykonywaną w oparciu o łańcuchową reakcję polimerazy ze starterami specyficznymi do badanych alleli. Natomiast, z uwagi na liczbę i rodzaj różnych mutacji stwierdzonych w obrębie eksonu 12, nie ma uniwersalnej metody do badania tych zmian. Bezpośrednie sekwencjonowanie DNA, z powodu niskiej czułości i trudności w analizie sekwencji zmian kilkunukleotydowych, również nie jest optymalną techniką. W związku z tym, w opisanym przypadku wykonano najpierw klonowanie amplifikowanych fragmentów PCR, a następnie sklonowane fragmenty eksonu 12 poddano sekwencjonowaniu. Zaznaczyć jednak należy, że z uwagi na stopień złożoności, wieloetapowość i pracochłonność opisywanych badań, technika ta nie znajduje zastosowania w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej. Jednakże w opisywanym przypadku podjęto badanie z wykorzystaniem wyżej wymienionej procedury i stwierdzono mutację H538-K539delinsL w eksonie 12 genu JAK 2. Potwierdziło to rozpoznanie PV u tej chorej. Opisywany przypadek wskazuje na istotność badania pod kątem obecności mutacji w eksonie 12 genu JAK2 u chorych z podejrzeniem PV JAK 2 V617F ujemnych.

Objawem patognomicznym u chorych z PV jest świąd skóry nasilający się po gorącej kąpieli. Innymi objawami są: zawroty głowy, zaburzenia widzenia, erytromelalgia. W pełnoobjawowej fazie choroby pojawia się zaczerwienienie twarzy (plethora), splenomegalia (u około 80%) i/lub powiększenie wątroby (u około 40%) [6]. Często pierwszym i wyprzedzającym diagnozę PV objawem są powikłania zakrzepowo-zatorowe pod postacią zakrzepicy tętniczej, którą obserwuje się u około 70% chorych, lub rzadziej

zakrzepicy żyłnej występującej u około 30% chorych [7, 8]. Powikłania zakrzepowo-zatorowe są główną przyczyną zgonów u chorych z PV. W grupie chorych młodszych stwierdzono mniejszą częstość powikłań zakrzepowych w porównaniu z grupą osób powyżej 20. roku życia (5 vs 20%). U znacznego odsetka chorych z PV poniżej 20. roku życia stwierdzono natomiast dodatkowe zaburzenia prowadzące do trombofilii (m.in. mutacja Leiden, mutacja genu protrombiny), co może zwiększać częstość powikłań zakrzepowych w grupie tych chorych [9]. Czynniki zwiększające ryzyko powikłań zakrzepowych przedstawiono w tabeli II. Leukocytozę obecnie uważa się za niezależny czynnik powikłań naczyniowych, zwłaszcza zawału serca [10].

Brak odpowiedzi na terapię u chorych z PV jest złym czynnikiem prognostycznym. Podstawowymi parametrami mówiącymi o odpowiedzi na leczenie jest normalizacja hematokrytu, liczby płytek krwi i leukocytów, co związane jest ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia powikłań zakrzepowych. W opisanym przypadku znaczenie w rozwoju powikłań zakrzepowych miały nie tylko podwyższona wartość HCT, ale również obecność mutacji Leiden, niedobór białka S oraz stosowanie antykoncepcji.

Celem terapii chorych z PV jest obniżenie HCT poniżej 45%, tak aby zmniejszyć ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych do ryzyka populacji osób zdrowych [11]. Osiągane jest to poprzez krwioupuściny lub terapię cytostatyczną – najczęściej hydroksykarbamidem. Alternatywą leczenia osób młodych z rozpoznaniem PV jest terapia interferonem α lub krwioupuściami, z uwagi na skuteczność oraz brak potencjału leukemogenego. Leczenie często jest przerywane ze względu na działania niepożądane i uciążliwy schemat podawania leku (3 \times w tygodniu), a pegylowana forma interferonu nie jest zarejestrowana do leczenia PV w Polsce.

Tabela II – Czynniki ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych u chorych z czerwienicą prawdziwą
Table II – Risk factors for thromboembolic complications in patient with polycythemia vera

Wiek > 60. r.ż.
Wcześniejsze epizody zakrzepowo-zatorowe
Klasyczne czynniki ryzyka chorób układu krążenia

W opisywanym przypadku zastosowana terapia interferonem α nie przyniosła normalizacji parametrów układu czerwono krwinkowego. Obecnie stosowany jest hydroksykarbamid, dzięki któremu uzyskano odpowiedź na leczenie. Pacjentka objęta jest również opieką Poradni Zaburzeń Hemostazy i przyjmuje doustne antykoagulanty (warfin pod kontrolą INR). Mimo braku dawcy rodzinnego, ale z uwagi na bardzo młody wiek pacjentki rozważana jest w przyszłości allogeniczna transplantacja komórek progenitorowych.

Przełomem w leczeniu PV mogą stać się inhibitory kinaz JAK 1 i JAK 2, które aktualnie znajdują się w fazie badań klinicznych. Ruxolitnib zalecany jest u pacjentów opornych lub nietolerujących hydroksykarbamidu. W grupie 34 chorych otrzymujących ruxolitnib u 97% wykazano zmniejszenie HCT <45%, co najmniej 50-procentową redukcję wielkości śledziony u 80%, normalizację leukocytozy w 73%, a normalizację liczby płytek krwi w 69% przypadków [12].

Reasumując, w celu potwierdzenia czerwienicy prawdziwej, przy braku obecności mutacji V617F JAK 2 w eksonie 14, warto przeprowadzić badanie eksonu 12. W grupie chorych z mutacją eksonu 12 genu JAK 2, z reguły nie obserwuje się zwiększenia liczby leukocytów i płytek krwi, a także rzadziej notuje się powikłania zakrzepowe wynikające z nadkrwiistości. Przebieg kliniczny opisywanej choroby dowodzi, że w przypadku stwierdzenia zakrzepicy warto u tych chorych poszukiwać innych przyczyn i przeprowadzać badania w kierunku trombofilii.

Wkład autorów/Authors' contributions

LC-G – zebranie i interpretacja danych, przygotowanie pracy, przygotowanie literatury. WP – zebranie i interpretacja danych. AL – interpretacja danych. AH – koncepcja pracy.

Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

PIŚMIENNICTWO/REFERENCES

- [1] Leszczyńska A, Prejzner W, Bieniaszewska M, Hellmann A. Molecular methods in myeloproliferative neoplasms. *Molecular Aspects of Hematologic Malignancies*. W: Witt M, et al., reds. Principles and Practice. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2012. p. 451–461.
- [2] Cario H, McMullin MF, Pahl HL. Clinical and hematological presentation of children and adolescents with polycythemia vera. *Ann Hematol* 2009;88:713–719.
- [3] Passamonti F, Malabarba L, Orlandi E, et al. Polycythemia vera in young patients: a study on the long-term risk of thrombosis, myelofibrosis and leukemia. *Haematologica* 2003;88:13–18.
- [4] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC; 2008: 40–43.
- [5] Schnittger S, Bacher U, Haferlach C, et al. Detection of JAK2 exon 12 mutations in 15 patients with JAK2V617F negative polycythemia vera. *Hematologica* 2009;94:414–418.
- [6] Frydecka I. Czerwienica prawdziwa. W: Gajewski P, red. *Interna Szczeklika*. Kraków: Wydawnictwo Medycyna Praktyczna; 2012. p. 1630–1633.
- [7] Gruppo Italiano Studio Policitemia. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. *Ann Intern Med* 1995;123:656–664.
- [8] Papadakis E, Hoffman R, Brenner B. Thrombohemorrhagic complications of myeloproliferative disorders. *Blood Reviews* 2010;24:227–232.
- [9] Giona F, Teofili L, Moleti ML, et al. Thrombocytopenia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biologic features, treatment, and long-term outcome. *Blood* 2012;119:2219–2227.
- [10] Finazzi G, Barbui T. How I treat patients with polycythemia vera. *Blood* 2007;109:5104–5111.
- [11] Hellmann A, Prejzner W, Bieniaszewska M. Nowotwory mieloproliferacyjne. W: Krzakowski M, Jędrzejczak WW, Kowalczyk JR, reds. *Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych 2011 rok*. Gdańsk: Wydawnictwo Via Medica; 2012 p. 595–611.
- [12] Passamonti F. How I treat polycythemia vera. *Blood* 2012;120:275–284.