

Diagnostyka różnicowa przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych Philadelphia-ujemnych

Differential diagnosis of Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms

Krzysztof Lewandowski

Katedra i Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego,
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Streszczenie

W 2008 roku Międzynarodowa Organizacja Zdrowia (WHO) wprowadziła wiele zmian do wcześniej obowiązującej klasyfikacji przewlekłych chorób mieloproliferacyjnych (CMPD), nazywanych w nowej klasyfikacji przewlekłymi nowotworami mieloproliferacyjnymi (MPN). Zmiany te w sposób szczególny dotyczą przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych Philadelphia-ujemnych oraz klonalnych schorzeń przebiegających z eozynofilią. Stało się to możliwe dzięki zrozumieniu związku między obecnością określonych zaburzeń cytogenetycznych i molekularnych a wystąpieniem objawów charakterystycznych dla poszczególnych postaci MPN, szczególnie u pacjentów z czerwienicą prawdziwą, nadpłytkowością samoistną, pierwotną mielofibrozą oraz nowotworami mieloproliferacyjnymi przebiegającymi z eozynofilią.

Słowa kluczowe: przewlekłe choroby mieloproliferacyjne Ph-ujemne, kryteria diagnostyczne, defekty molekularne, aberracje cytogenetyczne

Hematologia 2010; 1: 59–70

Abstract

In 2008 World Health Organization (WHO) introduced numerous changes into previously used classification of chronic myeloproliferative diseases (CMPD); revised name in new classification is chronic myeloproliferative neoplasms (MPN). Changes especially concerns Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms and clonal disorders associated with eosinophilia. It was possible due to understanding the relation between specific cytogenetic and molecular aberrations and occurrence of characteristic symptoms of MPN, especially in patients with polycythaemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis and myeloproliferative neoplasms associated with eosinophilia.

Key words: Philadelphia-negative chronic myeloproliferative diseases, diagnostic criteria, molecular defects, cytogenetic aberrations

Hematologia 2010; 1: 59–70

Adres do korespondencji: dr hab. n med. Krzysztof Lewandowski, Katedra i Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, ul. Szamarzewskiego 84, 60–659 Poznań, tel.: 61 854 93 45, e-mail: krzysztof.lewandowski@sk1.am.poznan.pl

Wstęp

Przewlekłe choroby mieloproliferacyjne (CMPD, *chronic myeloproliferative disorders*) od ponad 50 lat są przedmiotem zainteresowania klinicystów, patologów oraz biologów molekularnych. Wszystkie, jak dotąd, zidentyfikowane postaci CMPD prawdopodobnie są wynikiem klonalnego krwiotworzenia wywodzącego się z podobnie zmienionej komórki macierzystej [1]. Różnorodność fenotypowa poszczególnych postaci CMPD wydaje się rezultatem obecności dodatkowych, odmiennych zaburzeń molekularnych, istotnie zmieniających sposób przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego poprzez kinazy tyrozynowe i inne cząsteczki powiązane z nimi funkcjonalnie [2, 3].

Odkrycie w 2005 roku mutacji V617F genu *JAK2*, wraz z poznaniem struktury egzonów 12 i 14 genu *JAK2* oraz mutacji genu *MPL*, znacząco przyczyniło się do poznania patogenezы CMPD. Wstępne wyniki badań laboratoryjnych sugerowały, że objawy CMPD są inicjowane w chwili pojawienia się mutacji V617F genu *JAK2*. Wkrótce jednak okazało się, że inne defekty poprzedzają lub ułatwiają nabycie mutacji V617F genu *JAK2* [4, 5]. Jednym z kluczowych dowodów potwierdzających to spostrzeżenie było wykazanie u chorych z małą masą guza (zawartość allelu V617F genu *JAK2* < 25%) obecności w granulocytach z nieobecną mutacją V617F genu *JAK2* innych defektów przemawiających za klonalnym charakterem granulopoetyzy [6]. Hipotezę o „wtórnym” charakterze mutacji potwierdziło także wykazanie endogennego wzrostu kolonii erytroidalnych u osób z CMPD z „dzikim” typem genu *JAK2* oraz wrodzoną predyspozycją do „nabycia” mutacji V617F genu *JAK2* wykazanej w badaniach rodzinnych [7, 8]. Potwierdzeniem ewolucyjnego charakteru CMPD było między innymi wykazanie obecności u tego samego chorego, w obrębie jednej kolonii prowadzonej w warunkach *in vitro*, komórek z mutacją V617F (egzon 14) oraz komórek z mutacjami w obrębie egzonu 12 genu *JAK2* [7]. Innym dowodem sekwencyjnego charakteru klonalnej ewolucji CMPD jest jednoczesowe stwierdzenie w dwóch różnych komórkach progenitorowych u tego samego chorego obecności mutacji V617F genu *JAK2* i mutacji egzonu 12 genu *JAK2* oraz mutacji V617F genu *JAK2* i mutacji receptora dla trombopoetyny, W515K/L *MPL* [9]. Ciekawym spostrzeżeniem jest także udowodnienie, że mutacja V617F genu *JAK2* występuje preferencyjnie w jednym z chromosomów pary 9, w którym jest obecny haplotyp z charakterystyczną serią polimorfizmów jednonukleotydowych w obrębie genu *JAK2*

— haplotyp 46/1, zwany także haplotypem CCGG [10, 11].

W 2008 roku Międzynarodowa Organizacja Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) wprowadziła liczne zmiany do wcześniej obowiązującej klasyfikacji CMPD, nazwanych odtąd przewlekłymi nowotworami mieloproliferacyjnymi (MPN, *chronic myeloproliferative neoplasms*). Zmiany te dotyczą szczególnie przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych *BCR-ABL*-ujemnych [12–19] oraz schorzeń klonalnych przebiegających z eozynofilią [20–23].

W porównaniu z poprzednio obowiązującą klasyfikacją CMPD z 2001 roku według WHO [24] wprowadzono dwie zasadnicze zmiany. Określenie „przewlekłe schorzenia mieloproliferacyjne” zastąpiono określeniem „przewlekłe nowotwory mieloproliferacyjne”. Drugą zmianą jest wprowadzenie do kategorii MPN mastocytozy (MCD, *mast cell disease*) oraz zastąpienie uprzednio wyodrębnionej podgrupy CMPD — *chronic eosinophilic leukemia* (CEL)/*hypereosinophilic syndrome* (HES) przez trzy grupy schorzeń, w tym zespół HES, CEL niesklasyfikowaną inaczej (CEL-NOC, *CEL not otherwise categorized*) oraz nowotwory mieloproliferacyjne przebiegające z eozynofilią i zaburzeniami w zakresie receptora dla płytkopochodnego czynnika wzrostu alfa (PDGFRA, *platelet-derived growth factor receptor alpha*) i beta (PDGFRB) oraz receptora dla fibroblastycznego czynnika wzrostu (FGFR1, *fibroblast growth factor receptor*). Obecnie obowiązującą klasyfikację nowotworów mieloidalnych przedstawiono w tabeli 1 [25].

Kryteria diagnostyczne czerwienicy prawdziwej, nadpłytkowości samoistnej oraz pierwotnej mielofibrozy

Wprowadzone w 2008 roku zmiany w klasyfikacji MPN są istotnie powiązane z odkryciem związku między obecnością mutacji punktowych genu kinazy tyrozynowej *JAK2* (np. V617F w obrębie egzonu 12 genu *JAK2* u chorych na czerwienicę prawdziwą [PV, *polycythemia vera*]) w komórkach hematopoetycznych a rozwojem nowotworów mieloproliferacyjnych [4, 26–27]. Wydaje się, że mutacja *JAK2*V617F jest defektem specyficznym dla nowotworów mieloidalnych i nie występuje w innych schorzeniach prowadzących do policytemii [28–29]. Jej obecność potwierdzono u 95% chorych z PV i u około 50% chorych z nadpłytkowością samoistną [ET, *essential thrombocytopenia*] [30–35], pierwotną mielofibrozą [PMF, *primary myelofibrosis*] [36–37] oraz niedokrwistością oporną na leczenie

Tabela 1. Klasyfikacja nowotworów mieloproliferacyjnych według kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2008 roku [25]

Table 1. Classification of myeloproliferative neoplasms according to the 2008 criteria of World Health Organization (WHO) [25]

1. Ostra białaczka szpikowa
2. Zespoły mielodysplastyczne (MDS)
3. Nowotwory mieloproliferacyjne (MPN)
 - 3.1. Przewlekła białaczka szpikowa (CML)
 - 3.2. Czerwieńca prawdziwa (PV)
 - 3.3. Nadpłytkowość samoistna (ET)
 - 3.4. Pierwotne zwłóknienie szpiku (PMF)
 - 3.5. Przewlekła białaczka neutrofilowa (CNL)
 - 3.6. Przewlekła białaczka eozynofilowa niesklasyfikowana inaczej (CEL-NOC)
 - 3.7. Zespół hipereozynofilowy (HES)
 - 3.8. Mastocytoza (MCD)
 - 3.9. MPN niesklasyfikowane
4. MDS/MPN
 - 4.1. Przewlekła białaczka mielomonocytoza
 - 4.2. Młodzieńcza postać białaczki mielomonocytozowej
 - 4.3. Atypowa przewlekła białaczka szpikowa
 - 4.4. MPN/MDS niesklasyfikowany
5. Nowotwory mieloproliferacyjne przebiegające z eozynofilią i zaburzeniami *PDGFRA*, *PDGFRB* lub *FGFR1*
 - 5.1. Nowotwory mieloproliferacyjne przebiegające z eozynofilią i rearanacją *PDGFRA*
 - 5.2. Nowotwory mieloproliferacyjne przebiegające z eozynofilią i rearanacją *PDGFRB*
 - 5.3. Nowotwory mieloproliferacyjne przebiegające z eozynofilią i rearanacją *FGFR1* (zespół mieloproliferacyjny 8p11)

MDS — *myelodysplastic syndrome*; MPN — *myeloproliferative neoplasms*; CML — *chronic myeloid leukemia*; PV — *polycythemia vera*; ET — *essential thrombocytopenia*; PMF — *primary myelofibrosis*; CNL — *chronic neutrophilic leukemia*; CEL-NOC — *CEL not otherwise categorized*; HES — *hypereosinophilic syndrome*; MCD — *mast cell disease*

z obecnością pierścieniowatych syderoblastów i nadpłytkowością (RARS-T, *refractory anemia with ringed sideroblasts and thrombocythemia*) [38–41]. Defekt ten jest wyjątkowo rzadki w innych niż wymienione nowotworach mieloidalnych. Co ciekawe, nie opisano — jak dotąd — występowania mutacji V617F genu *JAK2* w nowotworach limfoidalnych [42–44].

Przydatność stosowanych obecnie testów do wykrywania obecności mutacji w obrębie egzonu 12 lub 14 genu *JAK2* jest ograniczona brakiem ich standaryzacji oraz możliwością uzyskania zarówno wyników fałszywie dodatnich, jak i fałszywie ujemnych. Jest to szczególnie istotne w przypadku wykonywania oznaczeń bardzo czułymi metodami dia-

gnostycznymi (np. za pomocą allospecyficznego PCR) lub w przypadkach, gdy materiałem diagnostycznym są komórki jednojądrowe krwi obwodowej (mała masa guza) [45–46].

Między innymi z tego powodu nowa klasyfikacja MPN wymaga wykonania badania histopatologicznego szpiku, którego wynik ułatwia różnicowanie między ET, PMF oraz *JAK2* negatywnymi przypadkami PV. W celu wzmocnienia kryteriów rozpoznania wymienionych chorób w aktualnej klasyfikacji MPN wprowadzono także małe kryteria, uwzględniające specyficzne dla poszczególnych jednostek parametry laboratoryjne i kliniczne (tab. 2) [25].

W porównaniu z wcześniej obowiązującymi kryteriami rozpoznania PV według *Polycythemia Vera Study Group* (PVSG) w diagnostyce różnicowej MPN zrezygnowano z oceny masy krwinek czerwonych przy różnicowaniu między PV i nadkrwiistościami objawowymi, rekomendując oznaczanie obecności mutacji V617F genu *JAK2* w komórkach jądrzastych krwi obwodowej. Zachęcono jednocześnie do oceny stężenia erytropoetyny (Epo, *erythropoietin*) w surowicy krwi w celu zminimalizowania wpływu na rozpoznanie ostateczne fałszywie dodatniego lub ujemnego wyniku badania molekularnego. Wyjątkowo rzadko w przypadkach PV stwierdza się bowiem jednocześnie nieobecność mutacji V617F genu *JAK2* i prawidłowe lub podwyższone stężenie Epo w surowicy krwi [47]. Podobnie u chorych z nadpłytkowością i zwłóknieniem szpiku oznaczanie obecności mutacji V617F genu *JAK2* ma określoną wartość praktyczną. Pozwala na wykluczenie reaktywnego charakteru zmian w przypadkach V617F *JAK2*-pozytywnych. W przypadkach niewykazania obecności defektu nie można jednak wykluczyć MPN. Podobnie jak w przypadku chorych z PV, w przypadkach różnicowania ET oraz PMF ze zmianami reaktywnymi nie zaleca się stosowania bardzo czułych testów na obecność defektu molekularnego. Występowanie mutacji V617F genu *JAK2* w bardzo niskim mianie stwierdzono u osób zdrowych [46]. Także ocena morfologiczna szpiku kostnego jest bardzo przydatna u osób *JAK2*-pozytywnych oraz *JAK2*-negatywnych przy różnicowaniu PMF i ET [48]. U osób V617F *JAK2*-negatywnych z klinicznym podejrzeniem ET lub PMF należy również wykluczyć przewlekłą białaczkę szpikową (CML, *chronic myeloid leukemia*). W części przypadków początkowe objawy choroby mogą być bardzo podobne do siebie [49–50]. Typowe obrazy mikroskopowe rozmazu krwi obwodowej i szpiku najczęstszych przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych Philadelphia-ujemnych przedstawiono na rycinie 1.

Tabela 2. Kryteria diagnostyczne rozpoznania czerwienicy prawdziwej (PV), nadpłytkowości samoistnej (ET) oraz pierwotnej mielofibrozy (PMF); kryteria zrewidowane Światowej Organizacji Zdrowia z 2008 roku [25]**Table 2.** Diagnostic criteria for polycythaemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF); the 2008 revised criteria of World Health Organization [25]

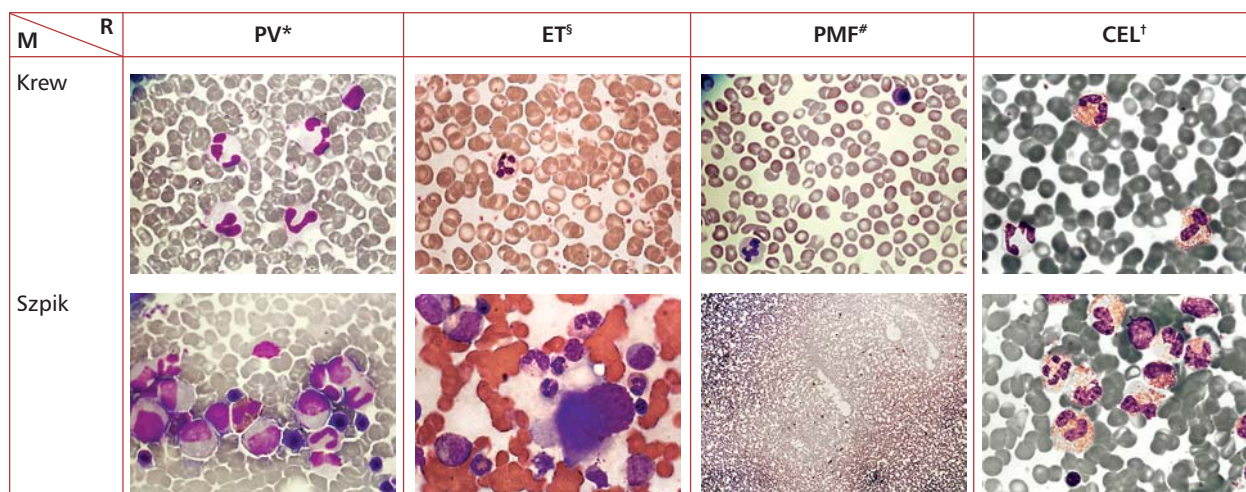
Kryteria	Czerwieńca prawdziwa ^a	Nadpłytkowość samoistna ^a	Pierwotna mielofibroza ^a
Większe	<ol style="list-style-type: none"> Hb > 18,5 g/dl (mężczyźni) > 16,5 g/dl (kobiety) lub Hb albo Ht > 99. percentyla wartości dla określonego wieku, płci lub wysokości przybywania nad poziomem morza lub Hb > 17 g/dl (mężczyźni), > 15 g/dl (kobiety), jeśli jednocześnie stwierdza się przyrost Hb \geq 2g/dl w porównaniu z wartością wyjściową niepowiązaną z leczeniem stanu niedoboru żelaza lub wzrost masy krwinek czerwonych > 25% ponad przewidzianą średnią wartość normalną Obecność mutacji V617F genu <i>JAK2</i> lub defektu o podobnym znaczeniu czynnościowym 	<ol style="list-style-type: none"> Liczba płytek \geq 450 G/l Cechy proliferacji w linii megakariocytarnej z obecnością dużych form i dojrzałych megakariocytów. Brak lub słabo wyrażone cechy proliferacji w liniach granulocytarnej i czerwono krwinkowej Brak odpowiadających kryteriom WHO objawów rozpoznania CML, PV, PMF, MDS lub innych nowotworów mieloproliferacyjnych Wykazanie obecności mutacji V617F genu <i>JAK2</i> lub innego markera wzrostu klonalnego lub brak objawów nadpłytkowości odczynowej 	<ol style="list-style-type: none"> Cechy proliferacji oraz atypii^b w obrębie linii megakariocytarnej z jednoczesnym występowaniem włóknienia retikulino-wego i/lub kolagenowego albo w przypadku braku włóknienia retikulino-wego zmiany w linii megakariocytarnej muszą być powiązane ze zwiększoną komórkowością szpiku, cechami proliferacji w linii granulocytarnej, często z supresją erytropoezy (np. w przedwłóknieniowej fazie PMF) Brak odpowiadających kryteriom WHO objawów rozpoznania CML, PV, PMF, MDS lub innych nowotworów mieloproliferacyjnych Wykazanie obecności mutacji V617F genu <i>JAK2</i> lub innego markera wzrostu klonalnego lub brak objawów reaktywnego włóknienia w szpiku
Mniejsze	<ol style="list-style-type: none"> Cechy trójukładowej choroby mieloproliferacyjnej w szpiku Stężenie Epo w surowicy poniżej normy Endogenny wzrost kolonii erytroidalnych 		<ol style="list-style-type: none"> Leukoerytoblastoza Wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej Niedokrwistość Splenomegalia w badaniu przedmiotowym

^aRozpoznanie czerwienicy prawdziwej wymaga obecności obu kryteriów dużych i jednego kryterium mniejszego lub pierwszego dużego i dwóch kryteriów mniejszych. Rozpoznanie nadpłytkowości samoistnej wymaga spełnienia wszystkich czterech kryteriów dużych. Rozpoznanie pierwotnej mielofibrozy wymaga spełnienia wszystkich trzech kryteriów dużych oraz dwóch kryteriów małych; ^bod małych do dużych megakariocytów z nieprawidłowym stosunkiem jądrowo/cytoplazmatycznym, hiperchromatycznym i nieregularnym jądrem oraz obecnością „gęstych” klastrow megakariocytarnych; Hb (*haemoglobin*) — hemoglobina; Ht (*hematocrit*) — hematokryt; Epo (*erythropoietin*) — erytropoetyna; WHO (*World Health Organization*) — Światowa Organizacja Zdrowia; CML (*chronic myeloid leukemia*) — przewlekła białaczka szpikowa; PV (*polycythemia vera*) — czerwienica prawdziwa; PMF (*primary myelofibrosis*) — pierwotna mielofibroza; MDS (*myelodysplastic syndrome*) — zespół mielodysplastyczny

Kryteria diagnostyczne nowotworów mieloproliferacyjnych Ph-ujemnych

Niezbędnym warunkiem rozpoznania nieklasycznej postaci MPN, w tym przewlekłej białaczki neutrofilowej (CNL, *chronic neutrophilic leukemia*), HES, CEL-NOC, MCD i MPN niesklasyfikowanego, wymaga stwierdzenia braku: genu fuzyjnego *BCR-ABL*, cech dyserytropoezy, zmian dysplastycznych w układzie granulocytarnym lub monocytozy ($\geq 1 \times 10^9/l$). Przewlekłą białaczkę neutrofilową cechuje leukocytoza we krwi obwodowej większa lub równa 25 G/l z obecnością ponad 80% segmentów i pałek obojętnochłonnych, mniej niż

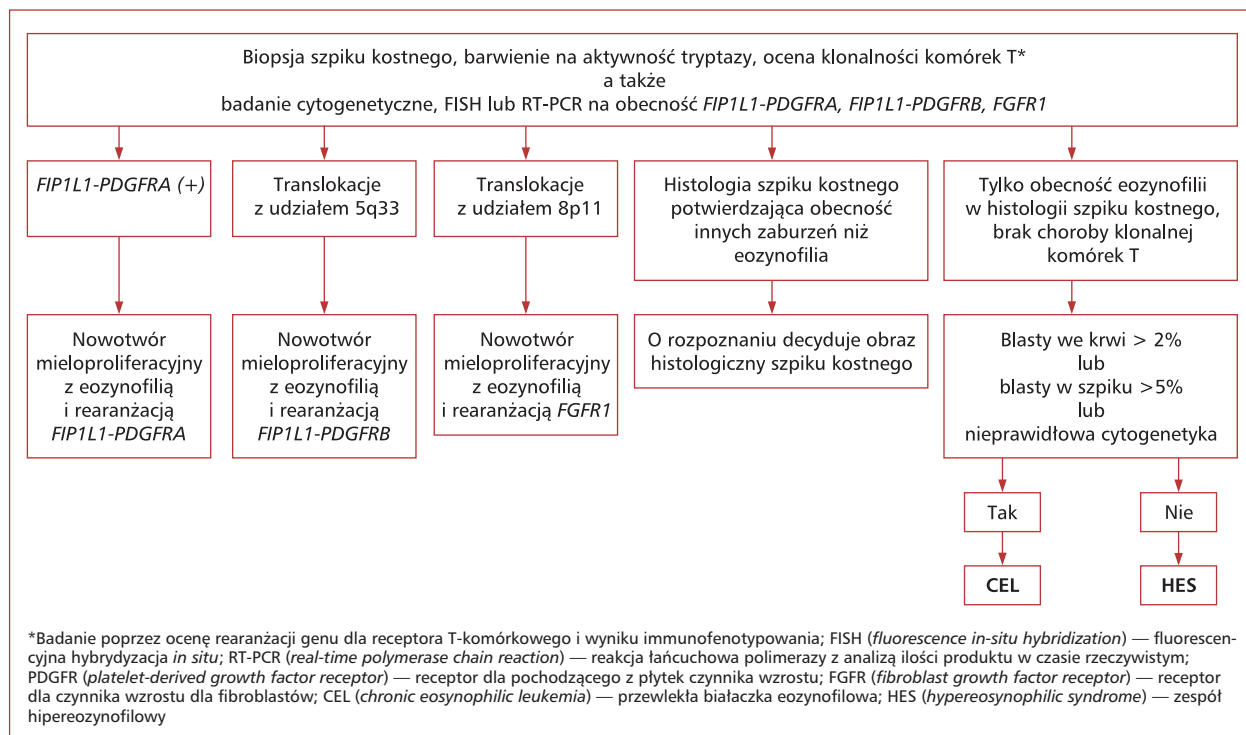
10% niedojrzałych granulocytów i poniżej 1% blastów we krwi obwodowej (< 5% w szpiku) [51]. W przypadkach podejrzenia MCD należy wykonać badanie szpiku z barwieniem na aktywność tryptazy, cytometrię szpiku z oceną obecności fenotypowo nieprawidłowych komórek tucznych (CD25⁺) i, jeśli to możliwe, badanie w kierunku występowania mutacji *KIT* D816V. Znaczenie ma także wykazanie w ocenie morfologicznej szpiku obecności agregatów złożonych z nieprawidłowych komórek tucznych [52]. Niesklasyfikowaną postać MPN należy rozpoznać w przypadkach niespełniających kryteriów diagnostycznych klasycznych i nieklasycznych postaci MPN. Schemat diagnostyki różnicowej eozynofilii przedstawiono na rycinie 2 [25].



*PV 400 × — przypadek czerwienicy prawdziwej JAK2 V617F-pozytywnej; zwraca uwagę obecność jedynie dojrzałych form granulocytów obojętnochłonnych oraz zwiększona liczba płytek krwi; w badaniu szpiku brak przesunięcia w lewo we wzorze dojrzewania krwinek białych oraz nieznaczne zwiększenie liczby komórek układu erytroidnego (erytroblastów polichromatofilnych oraz kwasochłonnych); ^sET 400 × — przypadek nadpłytkowości samoistnej JAK2 V617F-pozytywnej; zwraca uwagę bardzo znaczne zwiększenie liczby nieprawidłowych morfologicznie płytek krwi, a w badaniu szpiku — obecność „małych” megakariocytów; [#]PMF, krew obwodowa 400 ×, szpik 50 × — przypadek pierwotnego zwłóknienia szpiku; w rozmazie krwi obwodowej zwraca uwagę obecność niedojrzałych postaci erytroblastów oraz krwinek czerwonych w kształcie łez; w badaniu szpiku preparat ubogokomórkowy, z obecnymi pojedynczymi komórkami z układu granulocytarnego oraz limfocytami; [†]CEL 400 × — przypadek przewlekłej białaczki eozynofilowej z rearanżacją *FIP1L1-PDGFR* wskutek del(4)(q12); w rozmazie krwi obwodowej widoczne liczne dojrzałe formy zmienionych jakościowo (obszary beziarniste, wakuolizacja cytoplazmy) granulocytów kwasochłonnych, a w badaniu szpiku — znaczna eozynofilia; M — materiał; R — rozpoznanie

Rycina 1. Typowe obrazy rozmazu krwi obwodowej i szpiku chorych z czerwienią prawdziwą (PV), nadpłytkowością samoistną (ET), pierwotną mielofibrozą (PMF) i przewlekłą białaczką eozynofilową (CEL)

Figure 1. Typical pictures of peripheral blood and bone marrow smears of patients with polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), primary myelofibrosis (PMF) and chronic eosinophilic leukemia (CEL)



Rycina 2. Diagnostyka różnicowa eozynofilii we krwi obwodowej ($\geq 1,5 \times 10^9/l$). Zmodyfikowano według [25]

Figure 2. Diagnostic algorithm for peripheral blood eosinophilia ($\geq 1,5 \times 10^9/l$). Modified according to [25]

Obraz kliniczny wybranych przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych

Podobny obraz kliniczny może stwarzać duże trudności w rozróżnieniu poszczególnych postaci MPN. Szczególne problemy mogą się wiązać z rozróżnieniem MPN przebiegających z eozynofilią oraz schyłkowych postaci PV, ET oraz PMF. Poniżej przedstawiono typowe zmiany w badaniu klinicznym i wynikach badań laboratoryjnych u pacjentów z wybranymi postaciami MPN.

Czerwienica prawdziwa

U większości chorych można wykazać obecność mutacji V617F genu *JAK2*, co prowadzi do nasilonej proliferacji w obrębie układu erytroidalnego, granulocytarnego i płytkotwórczego. U części chorych w badaniu histologicznym szpiku można wykazać śladowe lub niewielkie włóknienie retikulino-
we. Rzadko obserwuje się przejście choroby w mielofibrozę z krwiotworzeniem pozaszpikowym, zespół mielodysplastyczny lub ostrą białaczkę szpikową [53–54]. Czerwienica prawdziwa jest chorobą o charakterze ewolucyjnym. W chwili wystąpienia pierwszych objawów część z pacjentów nie spełnia kryteriów rozpoznania choroby, szczególnie w odniesieniu do wartości hemoglobiny oraz hematokrytu [55–57]. U części chorych pierwszym objawem choroby są powikłania zakrzepowo-zatorowe [53].

W badaniu histologicznym szpiku kostnego, wykonanym w fazie prepolicytemicznej i pełnoobjawowej choroby, stwierdza się cechy trzyliniowej proliferacji, z różną proporcją układu granulocytarnego do erytroblastycznego oraz obecność licznych megakariocytów, często zmienionych morfologicznie [58–60]. Typową cechą jest obecność różnej wielkości megakariocytów — od dużych do gigantycznych. Objawu tego nie stwierdza się w przypadkach nadkrwistości wtórnych [61]. W schyłkowych okresach choroby występują objawy metaplastacji szpikowej, z leukoerytoblastozą we krwi obwodowej i organomegalią (mielofibroza po policytemii [*post PV-MF*]). Typową cechą tej postaci choroby jest obecność znaczącego włóknienia o charakterze retikulino-
wym i kolagenowym w szpiku kostnym [62].

Większość objawów klinicznych PV jest związana z nadciśnieniem tętniczym lub zmianami naczyniowymi wtórnymi do wzrostu masy krwinek czerwonych. W około 20% przypadków obserwuje się epizody zatorowości tętniczej (udar mózgu, zawał serca), żylną (np. w obrębie żyły wrotnej, śledzionowej) czy też objawy zespołu Budda-Chiariego. Do typowych objawów choroby należą również zawroty głowy, zaburzenia widzenia, świąd

skóry, parestezje i erytromelalgia. W pełnoobjawowej fazie choroby zwraca uwagę bardzo nasilone zaczerwienienie skóry twarzy (*plethora*), obecne u prawie wszystkich pacjentów, oraz splenomegalia (70%) lub/i powiększenie wątroby (40%). Średnie przeżycie w tej grupie pacjentów przekracza 10 lat. Podkreśla się jednak znaczenie obecności innych niż wiek czynników prognostycznych na przeżycie indywidualne [63–64]. Większość chorych umiera z objawami zakrzepicy lub krwawienia, a 20% — z powodu transformacji do zespołu mielodysplastycznego lub ostrej białaczki szpikowej [65].

Pierwotne zwłóknienie szpiku

Także tę postać MPN cechuje powolna progresja objawów choroby — od fazy początkowej, przedzwłóknieniowej z bogatokomórkowym szpikiem i nieobecnym lub minimalnym włóknieniem retikulino-
wym w szpiku, do fazy ze znacznym włóknieniem retikulino-
wym lub kolagenowym, a często także z osteosklerozą. W początkowym okresie cechy proliferacji są szczególnie widoczne w liniach megakariocytarnej oraz granulocytarnej. W miarę upływu czasu wraz z postępującym włóknieniem w obrębie jam szpikowych dochodzi do nasilenia objawów krwiotworzenia pozaszpikowego (metaplastji). W fazie pełnoobjawowej choroby stwierdza się bardzo znaczne powiększenie śledziony o wzmoczonej konsystencji, leukoerytoblastozę we krwi obwodowej i obecność krwinek czerwonych w kształcie łez [66].

Początkowo w badaniu szpiku stwierdza się cechy mieloproliferacji (faza hipercełularna), szczególnie w układach granulocytarnym i płytkotwórczym, z jednoczesnym zahamowaniem dojrzewania i zmniejszeniem odsetka komórek z układu erytroblastycznego. W badaniu histologicznym szpiku zwraca uwagę nieprawidłowa lokalizacja megakariocytów, wykazujących bardzo nasilone zmiany jakościowe (zmienna wielkość od form małych do olbrzymich, zaburzone tworzenie płatów jądra, nieprawidłowy stosunek jądra do cytoplazmy oraz obecność nagich jąder megakariocytów) [67–69].

U 65% chorych obserwuje się progresję objawów z fazy przedfibrotycznej do pełnoobjawowej (faza fibroosteosklerotyczna) [70]. Około 30% pacjentów nie zgłasza dolegliwości w chwili stwierdzenia splenomegalii, niedokrwistości, leukocytozy i/lub nadpłytkowości. Do najczęstszych objawów klinicznych PMF należy zaliczyć: zmęczenie, duszność, zmniejszenie masy ciała, poty nocne, nieznaczny wzrost temperatury ciała, powikłania krwotoczne i zakrzepowe. W fazie nasilonego zwłóknienia u około 50% chorych stwierdza się obecność mutacji V617F genu *JAK2*. Rokowanie zależy od fazy,

w której rozpoznano chorobę. Średnie przeżycie wynosi 3–7 lat u osób w fazie nasilonego zwłóknienia szpiku i 10 lat u chorych, u których rozpoznano ustalono w fazie przedzwłóknieniowej [63, 71].

Nadpłytkowość samoistna

Znaczna nadpłytkowość jest charakterystyczną cechą ET. W przypadkach ET płytki krwi wykazują wiele zaburzeń morfologicznych, w tym anizocytosę z obecnością form olbrzymich, z wypustkami lub bezziańnistych. Liczba krwinek białych we krwi obwodowej oraz ich wzór odsetkowy zwykle są prawidłowe. W badaniu histologicznym szpiku kostnego nie stwierdza się nieprawidłowej lokalizacji megakariocytów, a także nasilonego tworzenia klastrów. W większości przypadków zwiększa się liczba równomiernie rozproszonych megakariocytów, o prawidłowej cytoplazmie i nadmiernie podzielonym jądrze. W „prawdziwej” ET włóknienie retikulino- jest minimalne lub nieobecne, a włóknienie kolagenowe nie występuje.

Objawy kliniczne ET obejmują epizody przemijających ataków niedokrwiennych mózgu, palców, występowanie parestezji, a także martwicy. U chorych na ET obserwuje się także zakrzepicę dużych naczyń tętniczych lub żylnych. Paradoksalnie, u części z nich dochodzi również do powikłań krwotocznych, głównie z błon śluzowych przewodu pokarmowego oraz dróg oddechowych. Defekt ten jest prawdopodobnie wynikiem nabytej postaci choroby von Willebranda, wskutek zużycia znacznych ilości endogenego czynnika von Willebranda w procesie spontanicznej agregacji płytek w krążeniu. Jak dotąd, nie opisano żadnej specyficznej dla ET aberracji cytogenetycznej. U około 40–50% pacjentów stwierdza się obecność mutacji V617F genu *JAK2* lub defektu o podobnym znaczeniu czynnościowym [73].

Choroba ma przebieg powolny, z długotrwałymi okresami bez dolegliwości i epizodycznie występującymi powikłaniami krwotocznymi lub zakrzepowymi. U niewielkiego odsetka pacjentów, po wielu latach trwania choroby, dochodzi do zwłóknienia w szpiku z cechami metaplastji pozaszpikowej [74].

Przewlekła białaczka neutrofilowa

Rozpoznanie tej postaci MPN następcza dużo trudności interpretacyjnych i wymaga wykluczenia zmian reaktywnych [51, 73, 75]. W około 20% przypadków neutrofilia jest związana z obecnością innego nowotworu, nierzadko szpiczaka plazmocyto- [76–78]. W 90% przypadków CNL nie stwierdza się zmian w badaniu cytogenetycznym. W pozostałych przypadkach zaburzenia o charakterze klonalnym są związane z obecnością +8, +9, +21, del(20q),

del(11q) i del(12p) [51, 79–80]. W dostępnej literaturze opisano pojedyncze przypadki przebiegające z mutacją *JAK2* [81–82].

U większości pacjentów liczba leukocytów przekracza 25 G/l, a w rozmazie obecne są dojrzałe granulocyty segmentowane. Obserwuje się też znaczący wzrost liczby pałek, a niedojrzałe formy granulocytów obojętnochłonnych zwykle stanowią mniej niż 10% przy braku mieloblastów we krwi obwodowej [83–84]. W badaniu szpiku kostnego zwraca uwagę znaczny wzrost liczby komórek linii granulocytarnej i iloraz odsetkowej zawartości granulocytów do erytoblastów nawet do powyżej 20:1. Nie obserwuje się też wzrostu liczby mieloblastów w szpiku, cech dysplazji oraz znaczącego zwłóknienia.

W badaniu klinicznym stwierdza się obecność splenomegalii, często z równoczesnym powiększeniem wątroby. W wywiadzie u niektórych pacjentów można odnotować epizody krwawień z przewodu pokarmowego. Przebieg kliniczny cechuje powolna progresja objawów choroby. Opisano jednak przypadki CNL przebiegające z objawami mielodysplazji oraz transformację CNL do ostrej białaczki szpikowej [83, 85].

Przewlekła białaczka eozynofilowa niesklasyfikowana inaczej

Przewlekła białaczka eozynofilowa niesklasyfikowana inaczej jest klonalną proliferacją prekursorów eozynofili prowadzącą do wzrostu ich ilości w szpiku, we krwi obwodowej oraz w innych tkankach. Przeżycie w tej grupie chorych jest bardzo różnorodne (5-letnie u ok. 80% osób). W diagnostyce różnicowej powinno się uwzględniać HES, w którym także dochodzi do wzrostu liczby eozynofili we krwi ($\geq 1,5$ G/l, utrzymujący się przez co najmniej 6 miesięcy), zajęcia organów wewnętrznych oraz objawów choroby układowej. W odróżnieniu od CEL-NOS w HES nie występują cechy klonalnej proliferacji ani objawy innej choroby współwystępującej, związanej z eozynofilią [86–87]. Najbardziej charakterystycznym objawem CEL jest eozynofilia większa lub równa 1,5 G/l związana z obecnością we krwi obwodowej dojrzałych postaci rozwojowych eozynofili. Eozynofile może cechować obecność zmian morfologicznych, takich jak: zmniejszenie ilości ziarnistości kwasochłonnych prowadzące do powstania obszarów bezziańnistych w cytoplazmie, wakuolizacja cytoplazmy, hipo- lub hipersegmentacja jąder komórkowych czy też obecność form olbrzymich. Niestety, zmiany te mogą występować także w HES. Szpik w ocenie morfologicznej jest bogatokomórkowy, z wyraźną dominacją komórek linii granulocytarnej o zachowanym dojrzewaniu

i kwasochłonnym torze dojrzewania. W części komórek stwierdza się obecność kryształów Charcot-Leyden. W niektórych przypadkach można wykazać nasilone włóknienie retikulino-wne [88]. Jak dotąd, nie wykazano związku żadnej aberracji cytogenetycznej ani molekularnej z tą postacią choroby. U dużej części chorych eozynofilia ma charakter bezobjawowy. U części pacjentów dochodzi jednak do poważnych zmian narządowych związanych z obecnością nacieków białaczkowych lub aktywnością cytokin i enzymów uwalnianych w dużych ilościach z eozynofili. Do najcięższych objawów związanych z CEL-NOS należą zwłóknienie *endo- i myocardium* prowadzące do kardiomiopatii restrykcyjnej, zakrzepica wewnątrzsercowa i zatorowość płucna. Do innych objawów, związanych z aktywnością choroby, należy zaliczyć neuropatię obwodową oraz objawy wynikające z uszkodzenia płuc, tkanek miękkich i stawów [89].

Nowotwory mieloproliferacyjne przebiegające z eozynofilią i zaburzeniami *PDGFRA*, *PDGFRB* lub *FGFR1*

Nasilenie eozynofilii w tej grupie chorych jest zmienne [90–94]. Objawy choroby w poszczególnych postaciach molekularnych wynikają z patologicznej aktywności kinazy tyrozynowej powstałej w wyniku obecności genów fuzyjnych — *PDGFRA*, *PDGFRB* lub *FGFR1*. W tej bardzo rzadkiej postaci MPN najczęstszą aberracją jest obecność genu fuzyjnego *FIP1L1-PDGFRA* powstałego w wyniku *del(4)(q12)* lub *t(4;10)(q12;p11)* [20–21, 90]. Objawy kliniczne choroby często przypominają CEL, czasem ostrą białaczkę szpikową lub chłoniaka limfoblastycznego z linii T [91–92]. W typowych przypadkach stwierdza się znaczną bezwzględną eozynofilię, a liczba blastów we krwi obwodowej i szpiku nie przekracza 20%. Niewykrywalny jest także gen fuzji *BCR-ABL1*. Eozynofile we krwi obwodowej i szpiku mogą wykazywać zmiany morfologiczne, takie jak zagregowane ziarnistości cytoplazmatyczne, obecność obszarów przezroczystych cytoplazmy, a także zaburzenia segmentacji jąder. W badaniu szpiku stwierdza się znaczącą eozynofilię ze zwiększeniem odsetka komórek prekursorowych. W nielicznych przypadkach stwierdza się zaburzenia procesu dojrzewania. W badaniu histopatologicznym szpiku można wykazać obecność martwicy komórkowej, a także obecność cieni komórkowych. Mogą być także obecne kryształy Charcot-Leyden. W badaniu szpiku można również stwierdzić zwiększony odsetek komórek tucznych, często wykazujących zmiany morfologiczne [70].

Objawy kliniczne CEL z rearanżacją *PDGFRA* dotyczą wielu narządów i obejmują występowanie świądu skóry, objawów ze strony układu sercowo-naczyniowego lub przewodu pokarmowego. Liczba eozynofili we krwi obwodowej przekracza 1,5 G/l. U większości chorych stwierdza się splenomegalię. Rzadziej występują objawy kardiomiopatii restrykcyjnej, zakrzepicy wewnątrzsercowej, zatorowości płucnej, a także duszność związana z procesem włóknienia tkanki płucnej. W części przypadków stwierdza się wzrost aktywności tryptazy i stężenia witaminy B₁₂ w surowicy krwi. Rokowanie w tej grupie pacjentów uległo znacznej poprawie po wprowadzeniu do terapii inhibitorów kinazy tyrozynowej (TKI, *tyrosine kinase inhibitor*). W przypadkach opornych na imatynib (u chorych z mutacją T674I) poprawę można uzyskać po zastosowaniu inhibitorów II generacji [95–96].

Przewlekła białaczka eozynofilowa z rearanżacją *PDGFRB* charakteryzuje się obecnością specyficznej aberracji cytogenetycznej *t(5;12)* i występowaniem odpowiadającej jej zmiany molekularnej — genu fuzyjnego *ETV6-PDGFRB* [22, 97]. Możliwe jest również występowanie innej aberracji genetycznej, także prowadzącej do pojawienia się aktywności nieprawidłowej kinazy tyrozynowej. Obraz kliniczny choroby może przypominać przewlekłą białaczkę mielomonocytową, CEL lub niesklasyfikowany MPN z eozynofilią [98]. Także ta postać choroby odpowiada na leczenie za pomocą TKI [99]. W morfologii krwi liczba leukocytów jest podwyższona, ze zmiennym zwiększeniem liczby neutrofilii, eozynofili, monocytów, a także form mniej dojrzałych. Szpik jest bogatokomórkowy, z dominacją neutrofilii i eozynofili. Można także wykazać zwiększony odsetek komórek tucznych oraz obecność włóknienia retikulino-wnego w badaniu histopatologicznym szpiku. W badaniu przedmiotowym u większości pacjentów stwierdza się splenomegalię, a u nielicznych, dodatkowo, powiększenie wątroby. Opisano także przypadki zajęcia skóry i niewydolności serca w przebiegu nacieków chorobowych. U pacjentów z rearanżacją *PDGFRB* w przebiegu MPN może nie występować eozynofilia ani monocytopenia. Z tego powodu badanie molekularne i cytogenetyczne ma szczególną wartość przy podejmowaniu decyzji terapeutycznej [100–101].

W przebiegu CEL z rearanżacją *FGFR1* opisano wiele zaburzeń cytogenetycznych obejmujących translokacje dotyczące chromosomu 8 (z punktem złamania 8p11) i licznych chromosomów partnerskich. Produktem tych aberracji jest powstanie genów fuzyjnych, których częścią jest *FGFR1* [102–103].

Manifestacja kliniczna choroby jest bardzo różnorodna i może odpowiadać MPN, zwykle z obrazem transformacji blastycznej, ostrej białaczki szpikowej, chłoniaka/białaczki limfoblastycznej T- lub B-komórkowej lub bifenotypowej białaczki szpikowej [104–105]. U chorych w fazie przewlekłej stwierdza się eozynofilię, neutrofilie i, wyjątkowo, monocytosę. U większości pacjentów występują objawy ogólne, w tym: gorączka, zmniejszenie masy ciała i poty nocne. Rokowanie w tej grupie osób jest złe. Nie potwierdzono skuteczności TKI u osób z nowotworami mieloproliferacyjnymi przebiegającymi z eozynofilią i rearanżacją *FGFR1*. W części przypadków odnotowano remisję cytogenetyczną po zastosowaniu interferonu α [106].

Podsumowanie

Aktualnie obowiązująca klasyfikacja MPN to kolejna próba uporządkowania chorób o podobnym obrazie klinicznym i nie do końca poznanej patogenie. Dzięki identyfikacji części defektów molekularnych, występujących w poszczególnych nowotworach mieloproliferacyjnych, możliwe jest ich bardziej precyzyjne różnicowanie. Znaczący postęp w tej dziedzinie jest wynikiem przede wszystkim zastosowania w diagnostyce technik biologii molekularnej, umożliwiających identyfikację defektów specyficznych dla poszczególnych postaci MPN, w tym mutacji genu *JAK2* u chorych na PV oraz rearanżacji/translokacji chromosomowych typowych dla określonych chorób przebiegających z eozynofilią. Przedstawiona klasyfikacja MPN umożliwia także identyfikację chorych, u których zastosowanie leków celowanych molekularnie, w tym inhibitorów kinaz tyrozynowych, może znacząco poprawić rokowanie.

Piśmiennictwo

- Fialkow P.J. Cell lineages in hematopoietic neoplasia studied with glucose-6-phosphate dehydrogenase cell markers. *J. Cell Physiol. Suppl.* 1982; 1: 37–43.
- Tefferi A., Gilliland D.G. Oncogenes in myeloproliferative disorders. *Cell Cycle* 2007; 6: 550–566.
- De Keersmaecker K., Cools J. Chronic myeloproliferative disorders: a tyrosine kinase tale. *Leukemia* 2006; 20: 200–205.
- Levine R.L., Belisle C., Wadleigh M. i wsp. X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617F assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. *Blood* 2006; 107: 4139–4141.
- Nussenzweig R.H., Swierczek S.I., Jelinek J. i wsp. Polycythemia vera is not initiated by JAK2V617F mutation. *Exp. Hematol.* 2007; 35: 32–38.
- Kralovics R., Teo S.S., Li S. i wsp. Acquisition of the V617F mutation of JAK2 is a late genetic event in a subset of patients with myeloproliferative disorders. *Blood* 2006; 108: 1377–1380.
- Li S., Kralovics R., De Libero G., Theocharides A., Gisslinger H., Skoda R.C. Clonal heterogeneity in polycythemia vera patients with JAK2 exon12 and JAK2-V617F mutations. *Blood* 2008; 111: 3863–3866.
- Bellanne-Chantelot C., Chaumarel I., Labopin M. i wsp. Genetic and clinical implications of the Val617Phe JAK2 mutation in 72 families with myeloproliferative disorders. *Blood* 2006; 108: 346–352.
- Beer P.A., Jones A.V., Bench A.J. i wsp. Clonal diversity in the myeloproliferative neoplasms: independent origins of genetically distinct clones. *Br. J. Haematol.* 2009; 144: 904–908.
- Jones A.V., Chase A., Silver R.T. i wsp. JAK2 haplotype is a major risk factor for the development of myeloproliferative neoplasms. *Nat. Genet.* 2009; 41: 446–449.
- Olcaydu D., Harutyunyan A., Jäger F.R. i wsp. A common JAK2 haplotype confers susceptibility to myeloproliferative neoplasms. *Nat. Genet.* 2009; 41: 450–454.
- Baxter E.J., Scott L.M., Campbell P.J. i wsp. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; 365: 1054–1061.
- Levine R.L., Wadleigh M., Cools J. i wsp. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005; 7: 387–397.
- Kralovics R., Passamonti F., Buser A.S. i wsp. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 1779–1790.
- James C., Ugo V., Le Couedic J.P. i wsp. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434: 1144–1148.
- Scott L.M., Tong W., Levine R.L. i wsp. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356: 459–468.
- Pardanani A., Lasho T.L., Finke C., Hanson C.A., Tefferi A. Prevalence and clinicopathologic correlates of JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leukemia* 2007; 21: 1960–1963.
- Pikman Y., Lee B.H., Mercher T. i wsp. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med.* 2006; 3: e270.
- Pardanani A.D., Levine R.L., Lasho T. i wsp. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006; 108: 3472–3476.
- Cools J., DeAngelo D.J., Gotlib J. i wsp. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 1201–1214.
- Pardanani A., Brockman S.R., Paternoster S.F. i wsp. FIP1L1-PDGFR fusion: prevalence and clinicopathologic correlates in 89 consecutive patients with moderate to severe eosinophilia. *Blood* 2004; 104: 3038–3045.
- Golub T.R., Barker G.F., Lovett M., Gilliland D.G. Fusion of PDGF receptor beta to a novel ets-like gene, tel, in chronic myelomonocytic leukemia with t(5;12) chromosomal translocation. *Cell* 1994; 77: 307–316.
- Xiao S., Nalabolu S.R., Aster J.C. i wsp. FGFR1 is fused with a novel zinc-finger gene, ZNF198, in the t(8;13) leukaemia/lymphoma syndrome. *Nat. Genet.* 1998; 18: 84–87.

24. Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W. World Health Organization Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press, Lyon 2001: 1–351.
25. Tefferi A., Vardiman J.W. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008; 22: 14–22.
26. Tefferi A., Strand J.J., Lasho T.L. i wsp. Bone marrow JAK2V617F allele burden and clinical correlates in polycythemia vera. *Leukemia* 2007; 21: 2074–2075.
27. Tefferi A. JAK2 mutations in myeloproliferative disorders — molecular mechanisms and clinical applications. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356: 444–445.
28. Melzner I., Weniger M.A., Menz C.K., Moller P. Absence of the JAK2 V617F activating mutation in classical Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B-cell lymphoma. *Leukemia* 2006; 20: 157–158.
29. McClure R.F., Hoyer J.D., Mai M. The JAK2 V617F mutation is absent in patients with erythrocytosis due to high affinity hemoglobin variants. *Hemoglobin* 2006; 30: 487–489.
30. Antonioli E., Guglielmelli P., Pancrazzi A. i wsp. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005; 19: 1847–1849.
31. Wolanskyj A.P., Lasho T.L., Schwager S.M. i wsp. JAK2 mutation in essential thrombocythemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br. J. Haematol.* 2005; 131: 208–213.
32. Vizmanos J.L., Ormazabal C., Larrayoz M.J., Cross N.C., Calasanz M.J. JAK2 V617F mutation in classic chronic myeloproliferative diseases: a report on a series of 349 patients. *Leukemia* 2006; 20: 534–535.
33. Campbell P.J., Scott L.M., Buck G. i wsp. Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005; 366: 1945–1953.
34. Kittur J., Knudson R.A., Lasho T.L. i wsp. Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythemia. *Cancer* 2007; 109: 2279–2284.
35. Heller P.G., Lev P.R., Salim J.P. i wsp. JAK2V617F mutation in platelets from essential thrombocythemia patients: correlation with clinical features and analysis of STAT5 phosphorylation status. *Eur. J. Haematol.* 2006; 77: 210–216.
36. Tefferi A., Lasho T.L., Schwager S.M. i wsp. The JAK2 tyrosine kinase mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: lineage specificity and clinical correlates. *Br. J. Haematol.* 2005; 131: 320–328.
37. Campbell P.J., Griesshammer M., Dohner K. i wsp. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. *Blood* 2006; 107: 2098–2100.
38. Szpurka H., Tiu R., Murugesan G. i wsp. Refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis (RARS-T), another myeloproliferative condition characterized by JAK2 V617F mutation. *Blood* 2006; 108: 2173–2181.
39. Ceesay M.M., Lea N.C., Ingram W. i wsp. The JAK2 V617F mutation is rare in RARS but common in RARS-T. *Leukemia* 2006; 20: 2060–2061.
40. Wang S.A., Hasserjian R.P., Loew J.M. i wsp. Refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis harbors JAK2 mutation and shows overlapping myeloproliferative and myelodysplastic features. *Leukemia* 2006; 20: 1641–1644.
41. Renneville A., Quesnel B., Charpentier A. i wsp. High occurrence of JAK2 V617 mutation in refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. *Leukemia* 2006; 20: 2067–2070.
42. Fiorini A., Farina G., Reddiconto G. i wsp. Screening of JAK2 V617F mutation in multiple myeloma. *Leukemia* 2006; 20: 1912–1913.
43. Levine R.L., Loriaux M., Huntly B.J. i wsp. The JAK2V617F activating mutation occurs in chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia, but not in acute lymphoblastic leukemia or chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005; 106: 3377–3379.
44. Sulong S., Case M., Minto L., Wilkins B., Hall A., Irving J. The V617F mutation in Jak2 is not found in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2005; 130: 964–965.
45. Verstovsek S., Silver R.T., Cross N.C., Tefferi A. JAK2V617F mutational frequency in polycythemia vera: 100%, > 90%, less? *Leukemia* 2006; 20: 2067.
46. Sidon P., El Housni H., Dessars B., Heimann P. The JAK2V617F mutation is detectable at very low level in peripheral blood of healthy donors. *Leukemia* 2006; 20: 1622.
47. Tefferi A., Sirhan S., Lasho T.L. i wsp. Concomitant neutrophil JAK2^{V617F} mutation screening and *PRV-1* expression analysis in myeloproliferative disorders and secondary polycythemia. *Br. J. Haematol.* 2005; 131: 166–171.
48. Thiele J., Kvasnicka H.M. Hematopathologic findings in chronic idiopathic myelofibrosis. *Semin. Oncol.* 2005; 32: 380–394.
49. Lorand-Metze I., Vassallo J., Souza C.A. Histological and cytological heterogeneity of bone marrow in Philadelphia-positive chronic myelogenous leukaemia at diagnosis. *Br. J. Haematol.* 1987; 67: 45–49.
50. Michiels J.J., Berneman Z., Schroyens W. i wsp. Philadelphia (Ph) chromosome-positive thrombocythemia without features of chronic myeloid leukemia in peripheral blood: natural history and diagnostic differentiation from Ph-negative essential thrombocythemia. *Ann. Hematol.* 2004; 83: 504–512.
51. Elliott M.A., Hanson C.A., Dewald G.W. i wsp. WHO-defined chronic neutrophilic leukemia: a long-term analysis of 12 cases and a critical review of the literature. *Leukemia* 2005; 19: 313–317.
52. Tefferi A., Pardanani A. Systemic mastocytosis: current concepts and treatment advances. *Curr. Hematol. Rep.* 2004; 3: 197–202.
53. Gruppo Italiano Studio Policitemia. Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years. *Ann. Intern. Med.* 1995; 123: 656–664.
54. Finazzi G., Caruso V., Marchioli R. i wsp. Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study. *Blood* 2005; 105: 2664–2670.
55. Pearson T.C. Evaluation of diagnostic criteria in polycythemia vera. *Semin. Hematol.* 2001; 38: 21–24.
56. Najean Y., Triebel F., Dresch C. Pure erythrocytosis: reappraisal of a study of 51 cases. *Am. J. Hematol.* 1981; 10: 129–136.
57. Westwood N., Dudley J.M., Sawyer B. i wsp. Primary polycythemia: diagnosis by non-conventional positive criteria. *Eur. J. Haematol.* 1993; 51: 228–232.
58. Georgii A., Vykoupil K.F., Buhr T. i wsp. Chronic myeloproliferative disorders in bone marrow biopsies. *Pathol. Res. Pract.* 1990; 186: 3–27.
59. Thiele J., Kvasnicka H.M., Fischer R. Histochemistry and morphology on bone marrow biopsies in chronic myeloproliferative disorders: aids to diagnosis and classification. *Ann. Hematol.* 1999; 78: 495–506.

60. Thiele J., Kvasnicka H.M. Diagnostic impact of bone marrow histopathology in polycythemia vera (PV). *Histol. Histopathol.* 2005; 20: 317–328.
61. Thiele J., Kvasnicka H.M., Zankovich R. i wsp. The value of bone marrow histology in differentiating between early stage polycythemia vera and secondary (reactive) polycythemias. *Haematologica* 2001; 86: 368–374.
62. Thiele J., Kvasnicka H.M., Vardiman J. Bone marrow histopathology in the diagnosis of chronic myeloproliferative disorders: a forgotten pearl. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2006; 19: 413–437.
63. Kvasnicka H.M., Thiele J. The impact of clinicopathological studies on staging and survival in essential thrombocythemia, chronic idiopathic myelofibrosis, and polycythemia rubra vera. *Semin. Thromb. Hemost.* 2006; 32: 362–371.
64. Passamonti F., Rumi E., Pungolino E. i wsp. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am. J. Med.* 2004; 117: 755–761.
65. Marchioli R., Finazzi G., Landolfi R. i wsp. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 2224–2232.
66. Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 1255–1265.
67. Thiele J., Kvasnicka H.M., Diehl V. i wsp. Clinicopathological diagnosis and differential criteria of thrombocythemias in various myeloproliferative disorders by histopathology, histochemistry and immunostaining from bone marrow biopsies. *Leuk. Lymphoma* 1999; 33: 207–218.
68. Thiele J., Kvasnicka H.M., Zankovich R. i wsp. Clinical and morphological criteria for the diagnosis of prefibrotic idiopathic (primary) myelofibrosis. *Ann. Hematol.* 2001; 80: 160–165.
69. Thiele J., Hoepfner B., Zankovich R. i wsp. Histomorphometry of bone marrow biopsies in primary osteomyelofibrosis/-sclerosis (agnogenic myeloid metaplasia): correlations between clinical and morphological features. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.* 1989; 415: 191–202.
70. Thiele J. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative disease. *Am. J. Clin. Pathol.* 2009; 132: 261–280.
71. Kvasnicka H.M., Thiele J., Werden C. i wsp. Prognostic factors in idiopathic (primary) osteomyelofibrosis. *Cancer* 1997; 80: 708–719.
72. Tefferi A., Thiele J., Orazi A. i wsp. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 2007; 110: 1092–1097.
73. You W., Weisbrot I.M. Chronic neutrophilic leukemia: report of two cases and review of the literature. *Am. J. Clin. Pathol.* 1979; 72: 233–242.
74. Barosi G., Mesa R.A., Thiele J. i wsp. Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Leukemia* 2008; 22: 437–438.
75. Shepherd P.C., Ganesan T.S., Galton D.A. Haematological classification of the chronic myeloid leukaemias. *Baillieres Clin. Haematol.* 1987; 1: 887–906.
76. Standen G.R., Jasani B., Wagstaff M. i wsp. Chronic neutrophilic leukemia and multiple myeloma; an association with lambda light chain expression. *Cancer* 1990; 66: 162–166.
77. Cehreli C., Undar B., Akkoc N. i wsp. Coexistence of chronic neutrophilic leukemia with light chain myeloma. *Acta Haematol.* 1994; 91: 32–34.
78. Dincol G., Nalcaci M., Dogan O. i wsp. Coexistence of chronic neutrophilic leukemia with multiple myeloma. *Leuk. Lymphoma* 2002; 43: 649–651.
79. Matano S., Nakamura S., Kobayashi K. i wsp. Deletion of the long arm of chromosome 20 in a patient with chronic neutrophilic leukemia: cytogenetic findings in chronic neutrophilic leukemia. *Am. J. Hematol.* 1997; 54: 72–75.
80. Froberg M.K., Brunning R.D., Dorion P. i wsp. Demonstration of clonality in neutrophils using FISH in a case of chronic neutrophilic leukemia. *Leukemia* 1998; 12: 623–626.
81. Mc Lornan D.P., Percy M.J., Jones A.V. i wsp. Chronic neutrophilic leukemia with an associated V617F JAK2 tyrosine kinase mutation. *Haematologica* 2005; 90: 1696–1697.
82. Kako S., Kanda Y., Sato T. i wsp. Early relapse of JAK2 V617F-positive chronic neutrophilic leukemia with central nervous system infiltration after unrelated bone marrow transplantation. *Am. J. Hematol.* 2007; 82: 386–390.
83. Zittoun R., Rea D., Ngoc L.H. i wsp. Chronic neutrophilic leukemia: a study of four cases. *Ann. Hematol.* 1994; 68: 55–60.
84. Bohm J., Schaefer H.E. Chronic neutrophilic leukaemia: 14 new cases of an uncommon myeloproliferative disease. *J. Clin. Pathol.* 2002; 55: 862–864.
85. Hasle H., Olesen G., Kerndrup G. i wsp. Chronic neutrophil leukaemia in adolescence and young adulthood. *Br. J. Haematol.* 1996; 94: 628–630.
86. Weller P.F., Buble G.J. The idiopathic hypereosinophilic syndrome. *Blood* 1994; 83: 2759–2779.
87. Bain B.J. Eosinophilic leukaemias and the idiopathic hypereosinophilic syndrome. *Br. J. Haematol.* 1996; 95: 2–9.
88. Flaum M.A., Schooley R.T., Fauci A.S. i wsp. A clinicopathologic correlation of the idiopathic hypereosinophilic syndrome. I: Hematologic manifestation. *Blood* 1981; 58: 1012–1020.
89. Bain B.J., Fletcher S.H. Chronic eosinophilic leukemias and the myeloproliferative variant of the hypereosinophilic syndrome. *Immunol Allergy North Am.* 2007; 27: 377–388.
90. Tashiro H., Shirasaki R., Noguchi M. i wsp. Molecular analysis of chronic eosinophilic leukemia with t(4;10) showing good response to imatinib mesylate. *Int. J. Hematol.* 2006; 83: 433–438.
91. Metzgeroth G., Walz C., Score J. i wsp. Recurrent finding of the FIP1L1-PDGFR α fusion gene in eosinophilia-associated acute myeloid leukemia and lymphoblastic T-cell lymphoma. *Leukemia* 2007; 21: 1183–1188.
92. Vandenberghe P., Wlodarska I., Michaux L. i wsp. Clinical and molecular features of FIP1L1-PDFGRA (+) chronic eosinophilic leukemias. *Leukemia* 2004; 18: 734–742.
93. Klion A.D., Robyn J., Akin C. i wsp. Molecular remission and reversal of myelofibrosis in response to imatinib mesylate treatment in patients with the myeloproliferative variant of hypereosinophilic syndrome. *Blood* 2004; 103: 473–478.
94. Maric I., Robyn J., Metcalfe D.D. i wsp. KIT D816V-associated systemic mastocytosis with eosinophilia and FIP1L1/PDGFR α -associated chronic eosinophilic leukemia are distinct entities. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007; 120: 680–687.
95. Cools J., Stover E.H., Boulton C.L. i wsp. PKC412 overcomes resistance to imatinib in a murine model of FIP1L1-PDGFR α -induced myeloproliferative disease. *Cancer Cell.* 2003; 3: 459–469.
96. Lierman E., Folens C., Stover E.H. i wsp. Sorafenib is a potent inhibitor of FIP1L1-PDGFR α and the imatinib-resistant FIP1L1-PDGFR α T674I mutant. *Blood* 2006; 108: 1374–1376.

97. Keene P., Mendelow B., Pinto M.R. i wsp. Abnormalities of chromosome 12p13 and malignant proliferation of eosinophils: a nonrandom association. *Br. J. Haematol.* 1987; 67: 25–31.
98. Steer E.J., Cross N.C. Myeloproliferative disorders with translocations of chromosome 5q31-35: role of the platelet-derived growth factor receptor beta. *Acta Haematol.* 2002; 107: 113–122.
99. Apperley J.F., Gardembas M., Melo J.V. i wsp. Response to imatinib mesylate in patients with chronic myeloproliferative diseases with rearrangements of the platelet-derived growth factor receptor beta. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 481–487.
100. Curtis C.E., Grand F.H., Waghorn K. i wsp. A novel ETV6-PDGFRB fusion transcript missed by standard screening in a patient with an imatinib responsive chronic myeloproliferative disease. *Leukemia* 2007; 21: 1839–1841.
101. David M., Cross N.C., Burgstaller S. i wsp. Durable responses to imatinib in patients with PDGFRB fusion gene-positive and BCR-ABL-negative chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2007; 109: 61–64.
102. Walz C., Chase A., Schoch C. i wsp. The t(8;17)(p11;q23) in the 8p11 myeloproliferative syndrome fuses MYO18A to FGFR1. *Leukemia* 2005; 19: 1005–1009.
103. Yamamoto K., Kawano H., Nishikawa S. i wsp. A biphenotypic transformation of 8p11 myeloproliferative syndrome with CEP1/FGFR1 fusion gene. *Eur. J. Haematol.* 2006; 77: 349–354.
104. Macdonald D., Reiter A., Cross N.C. The 8p11 myeloproliferative syndrome: a distinct clinical entity caused by constitutive activation of FGFR1. *Acta Haematol.* 2002; 107: 101–107.
105. Vizmanos J.L., Hernández R., Vidal M.J. i wsp. Clinical variability of patients with the t(6;8)(q27;p12) and FGFR1OP-FGFR1 fusion: two further cases. *Hematol. J.* 2004; 5: 534–537.
106. Martinez-Climent J.A., Vizcarra E., Benet I. i wsp. Cytogenetic response induced by interferon alpha in the myeloproliferative disorder with eosinophilia, T cell lymphoma and the chromosomal translocation t(8;13)(p11;q12). *Leukemia* 1998; 12: 999–1000.