

Diagnostyka różnicowa nadpłytkowości samoistnej

Differential diagnosis of essential thrombocythemia

Monika Prochorec-Sobieszek, Anna Szumera-Ciećkiewicz, Olga Szymańska-Giemza

Pracownia Patomorfologii, Zakład Diagnostyki Hematologicznej,
 Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Nadpłytkowość samoistna (ET) to przewlekły nowotwór mieloproliferacyjny dotyczący pierwotnie linii megakariocytowej. W związku z tym, że nadpłytkowość jest często występującym zaburzeniem hematologicznym i, jak do tej pory, nie określono specyficznego genetycznego i biologicznego markera dla ET, podczas diagnostyki muszą być wykluczone inne odczynowe i nowotworowe przyczyny nadpłytkowości. Największe trudności sprawia różnicowanie ET z wczesną przedpolicytemiczną fazą czerwienicy prawdziwej i wczesną przedwłóknieniową fazą pierwotnej mielofibrozy. Przyczyną tych trudności są podobne wyniki badań laboratoryjnych, między innymi nadpłytkowość bez wyraźnej nadkrwistości lub niedokrwistości oraz leukocytozy. Zbliżony jest również obraz cytomorfologiczny i histopatologiczny szpiku, charakteryzujący się proliferacją megakariocytów przy braku wyraźnego włóknienia oraz cech proliferacji linii granulocytowej i czerwonoekrwinkowej. W tych przypadkach histopatologiczna ocena trepanobiopsji szpiku, zgodnie z kryteriami Światowej Organizacji Zdrowia z 2008 roku, ze szczególnym uwzględnieniem morfologii i rozmieszczenia megakariocytów, jest cennym narzędziem diagnostycznym. Różnicowanie między tymi jednostkami jest ważne klinicznie, ze względu na odmienny sposób postępowania, różnice dotyczące przeżycia chorych, częstości występowania progresji choroby polegającej na postępującym włóknieniu szpiku i transformacji w ostrą białaczkę.

Słowa kluczowe: nadpłytkowość samoistna, diagnostyka różnicowa, klasyfikacja WHO 2008

Hematologia 2012; 3, 3: 201–210

Abstract

Essential thrombocythemia (ET) is a chronic myeloproliferative neoplasm that involves primarily the megakaryocytic lineage. Thrombocytosis is a common hematologic finding and the ET lacks of specific genetic or biologic hallmark therefore the differential diagnosis includes several reactive and neoplastic megakaryocytic proliferations. Similar laboratory findings (thrombocytosis not associated with leucocytosis, polycythemia nor anemia) as well as cyto- and histologic characteristics (proliferation of the megakaryocytic lineage, without significant fibrosis, neutrophil granulopoiesis nor erythropoiesis) make difficult to distinct ET from the pre-polycythemic stage of polycythemia vera and the prefibrotic and early stage of primary myelofibrosis. An evaluation of the bone marrow biopsy meeting 2008 World Health Organization (WHO) diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms complying with

Adres do korespondencji: Monika Prochorec-Sobieszek, Pracownia Patomorfologii, Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, e-mail: monika.prochorec@interia.pl

distinctive megakaryocyte morphology and distribution is diagnostic necessity. The differential diagnosis of ET is clinically important because of distinct treatment options, prognosis and disease progression such as myelofibrosis or transformation into acute myeloid leukemia.

Key words: essential thrombocythemia, 2008 WHO classification, differential diagnosis

Hematologia 2012; 3, 3: 201–210

Wprowadzenie

Nadpłytkowość jest częstym zaburzeniem hematologicznym, które może być przyczyną trudności diagnostycznych. Towarzyszy licznym nowotworom wywodzącym się z układu krwiotwórczego oraz nowotworom litym. Występuje również w stanach nienowotworowych, takich jak niedokrwistość z niedoboru żelaza, oraz w przebiegu chorób zapalnych i infekcyjnych (tab. 1). U większości takich chorych z liczbą płytek krwi (PLT, *platelets*) przekraczającą nawet 1000 G/l nadpłytkowość jest wynikiem odczynowej proliferacji megakariocytów i ustępuje po włączeniu odpowiedniego leczenia choroby podstawowej [1]. W części przypadków nadpłytkowość wynika z klonalnej proliferacji megakariocytów niezależnej od mechanizmów kontrolujących wytwarzanie płytek. Ten typ proliferacji charakteryzuje przewlekłe nowotwory mieloproliferacyjne, jak również niektóre typy zespołów mielodysplastycznych (MDS, *myelodysplastic syndrome*) nowotworów mielodysplastycznych/mieloproliferacyjnych oraz rzadki podtyp ostrej białaczki szpikowej (AML, *acute myeloid leukemia*) (tab. 2). O rozpoznaniu poszczególnych jednostek chorobowych decydują dane kliniczne, wyniki badań laboratoryjnych, obraz szpiku i ewentualne nieprawidłowości genetyczne.

Tabela 1. Przyczyny wtórnej (odczynowej) nadpłytkowości (źródło [3])

Table 1. Causes of secondary (reactive) thrombocytosis (source [3])

Stany utraty krwi lub przewlekłego niedoboru żelaza
Zakażenia
Przewlekłe choroby zapalne tkanki łącznej oraz przewlekła zapalna choroba jelit
Rozsiane nowotwory niehematologiczne
Leki (winkrystyna, epinefryna)
Hipospłenizm lub wrodzony brak śledziony
Stan po splenektomii
Anemia hemolityczna
Regeneracja szpiku po chemioterapii

Nadpłytkowość samoistna (ET, *essential thrombocythemia*) to choroba, w której wiodącym objawem jest znacznie podwyższona liczba PLT. Niemniej jednak również inne przewlekłe nowotwory mieloproliferacyjne (MPN, *myeloproliferative neoplasms*), takie jak przewlekła białaczka szpikowa (CML, *chronic myeloid leukemia*), czerwienica prawdziwa (PV, *polycythemia vera*) i pierwotna mielofibroza (PMF, *primary myelofibrosis*), mogą się objawiać znaczną nadpłytkowością z liczbą PLT przekraczającą 1000 G/l [2]. Opisuje się również nadpłytkowość rodzinną związaną z mutacjami genów *TPO*, *MPL* lub innych, dotychczas nieznanymi [3].

Definicja nadpłytkowości samoistnej

Nadpłytkowość samoistna jest rzadko występującym przewlekłym nowotworem mieloproliferacyjnym dotyczącym pierwotnie linii megakariocytowej. Charakteryzuje się większą niż 450 G/l liczbą PLT we krwi obwodowej, która utrzymuje się przewlekłe, bez wyraźnej przyczyny. W szpiku obserwuje się zwiększoną liczbę dużych, dojrzałych megakariocytów, a klinicznie występują epizody zakrzepowe i/lub krwawienia. Mutacja *JAK2V617F* występuje u około 50% chorych, a *MPLW515K/L* — u 1–2%. Wymienione mutacje prowadzą do konstytutywnej aktywacji dróg sygnałowych, które stymulują proliferację megakariocytów i wytwarzanie płytek. Przyczyna proliferacji megakariocytów w pozostałych przypadkach pozostaje nieznaną. Obec-

Tabela 2. Nowotwory mieloidalne przebiegające z nadpłytkowością (źródło [2])

Table 2. Myeloid neoplasms associated with thrombocytosis (source [2])

Nowotwory mieloproliferacyjne: czerwienica prawdziwa, pierwotna mielofibroza, przewlekła białaczka szpikowa
Zespół mielodysplastyczny z izolowaną delecją chromosomu 5q
Niedokrwistość oporna na leczenie z pierścieniowatymi sideroblastami i nadpłytkowością
Zespół mielodysplastyczny lub ostra białaczka szpikowa z translokacją t(3;3)(q21;q26) lub inwersją inv(3)(q21q26)

Tabela 3. Kryteria diagnostyczne nadpłytkowości samoistnej (ET) z 2008 roku według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) (źródło [4])**Table 3.** World Health Organization (WHO) 2008 diagnostic criteria for essential thrombocythemia (ET) (source [4])

Przetrwiała liczba płytek ≥ 450 G/l

W szpiku cechy proliferacji głównie linii megakariocytowej, ze zwiększoną liczbą dużych, dojrzałych megakariocytów; brak wyraźnej proliferacji lub przesunięcia w lewo w liniach granulocytowej i czerwonej

Brak kryteriów diagnostycznych WHO dla czerwienicy prawdziwej*, pierwotnej mielofibrozy**, przewlekłej białaczki szpikowej***, zespołów mielodysplastycznych**** lub innych nowotworów mieloidalnych przebiegających z nadpłytkowością (patrz tab. 2)

Wykazanie obecności mutacji V617F genu *JAK2* lub innych markerów klonalności; w przypadku ich braku — wykluczenie nadpłytkowości odczynowej (patrz tab. 1).

Do rozpoznania ET jest wymagane spełnienie wszystkich 4 kryteriów

*Brak diagnostycznych dla czerwienicy prawdziwej wartości hemoglobiny (Hb) i hematokrytu; należy wykluczyć wzrost wartości Hb po leczeniu żelazem; **brak istotnego włóknienia retikulowanego i włóknienia kolagenowego szpiku, leukoerytoblastozy we krwi obwodowej lub wyraźnie bogatokomórkowego szpiku z obecnością megakariocytów o morfologii typowej dla pierwotnej mielofibrozy; ***brak genu fuzyjnego *BCR-ABL1*; ****brak cech dyserytropoezy i dysgranulopoezy

ność genu fuzyjnego *BCR-ABL*, charakterystycznego dla CML, wyklucza rozpoznanie ET. Ze względu na brak specyficznego, genetycznego i biologicznego, markera ET trzeba wykluczyć inne odczynowe i nowotworowe przyczyny nadpłytkowości. Rozpoznanie ET jest więc diagnozą z wykluczenia [4]. Kryteria diagnostyczne ET według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2008 roku zestawiono w tabeli 3.

Obraz krwi obwodowej i szpiku

W rozmazie krwi obwodowej obserwuje się przede wszystkim znaczne zwiększenie liczby PLT. Płytki krwi często wykazują anizocytozę od małych form do atypowych dużych i olbrzymich. Liczba krwinek białych i ich dojrzewanie są prawidłowe, chociaż może występować graniczny wzrost neutrofilów [1]. Badanie trepanobiopsji szpiku ma podstawowe znaczenie w odróżnieniu ET od innych MPN, szczególnie przedwłóknieniowej PMF, a także odczynowej nadpłytkowości. Zgodnie z założeniami klasyfikacji WHO w ET nie obserwuje się wzrostu komórkowości szpiku i znaczącego przesunięcia w lewo linii granulocytowej. Każdy przypadek z niewielką lub średniego stopnia proliferacją linii granulocytowej lub czerwonej i obniżonym poniżej normy stężeniem erytropoetyny jest podejrzany o występowanie przedpolicytemicznej PV przypominającej ET. Należy pamiętać, że po krwawieniach w ET może wystąpić proliferacja linii czerwonej, jak również PV może towarzyszyć niedobór żelaza. Najważniejszą cechą ET jest wzrost liczby i wielkości megakariocytów. Megakariocyty są zwykle rozproszone, z nieznaczną tendencją do tworzenia luźnych skupień. Przeważają

formy duże i olbrzymie z hipersegmentacją jąder, tak zwane *stag-horn-like*, które są otoczone przez dojrzałą cytoplazmę. Znacząca populacja megakariocytów o atypowych, hiperchromatycznych jądrach, ze zwiększonym stosunkiem jądra do cytoplazmy, oraz megakariocytów z hipolobulacją jąder typu *cloud-like* i *bulbous* lub znaczący polimorfizm postaci nie są spotykane w ET. Nie obserwuje się także dużych nieprawidłowości w ich rozmieszczeniu w szpiku, tj. częstej lokalizacji w okolicach beleczek kostnych i/lub występowania megakariocytów w gęstych skupieniach. Obecność powyższych cech morfologicznych i rozmieszczenia megakariocytów wskazuje raczej na rozpoznanie PMF niż ET. Nie obserwuje się zwiększenia liczby blastów i cech mielodysplazji. W chwili rozpoznania ET nie ma wyraźnego zwiększenia rysunku włókien retikulowanych, a włóknienie kolagenowe nigdy nie występuje [1, 5]. W badaniach w dużych grupach chorych minimalne i niewielkie włóknienie retikulowane obserwowano u 3% z nich [6]. Transformacja ET w mielofibrozę występuje rzadko, w około 1% przypadków ET [7]. Kryteria diagnostyczne transformacji ET w mielofibrozę według WHO zestawiono w tabeli 4. Należy zaznaczyć, że samo włóknienie retikulowane, nawet w stopniach 2. i 3., nie oznacza transformacji ET w mielofibrozę. Włóknieniu szpiku muszą towarzyszyć co najmniej dwa podane w kryteriach diagnostycznych objawy kliniczne i nieprawidłowości laboratoryjne.

Diagnostyka różnicowa nadpłytkowości samoistnej

W diagnostyce różnicowej nadpłytkowości kluczowe jest rozstrzygnięcie, czy ma ona charakter

Tabela 4. Kryteria diagnostyczne transformacji nadpłytkowości samoistnej (ET) w mielofibrozę według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2008 roku (źródło [4])

Table 4. World Health Organization (WHO) 2008 diagnostic criteria for post-essential thrombocythemia myelofibrosis (ET) (source [4])

Wymagane kryteria
Wcześniej rozpoznane ET
Włóknienie szpiku 2–3 (skala 0–3), 3–4 (skala 0–4)
Kryteria dodatkowe (≥ 2)
Niedokrwistość lub obniżenie stężenia Hb o ≥ 2 g/dl względem wartości wyjściowej
Leukoerythroblastoza w rozmazie krwi obwodowej
Nowa, wykryta palpacyjnie, splenomegalia lub zwiększenie wymiarów śledziony ≥ 5 cm
Zwiększona aktywność LDH
Pojawienie się co najmniej 1 z 3 objawów ogólnych, tj.: zmniejszenia masy ciała $> 10\%$ w ciągu 3 miesięcy, potów nocnych, niewyjaśnionych gorączek ($>37,5$ °C)

Hb — hemoglobina; LDH (*lactate dehydrogenase*) — dehydrogenaza mleczanowa

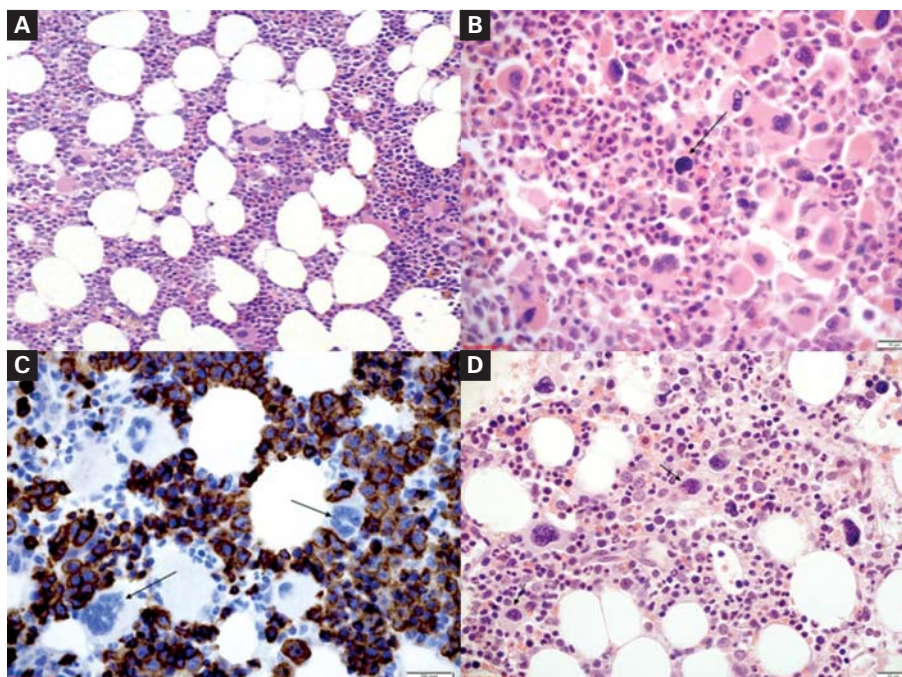
odczynowy czy też jest spowodowana klonalnym nowotworem mieloidalnym. Dane z wywiadu klinicznego, badania przedmiotowego oraz odpowiednich badań laboratoryjnych i obrazowych zwykle są wystarczające do różnicowania między odczynową i nowotworową przyczyną nadpłytkowości. Informacje o przewlekłej nadpłytkowości, epizodach zakrzepicy lub krwawień oraz występowanie splenomegalii przemawiają raczej za rozpoznaniem ET, zaś brak tych cech oraz występowanie na przykład podwyższonego stężenia białka C-reaktywnego wskazuje raczej na nadpłytkowość wtórną. Jeżeli istnieją trudności w ustaleniu wtórnej przyczyny nadpłytkowości, należy przeprowadzić badania mutacji genu *JAK2* V617F oraz trepanobiopsję szpiku [2]. W odczynowej nadpłytkowości liczba PLT jest zwykle niższa niż 1000 G/l. W szpiku obserwuje się zwiększoną liczbę megakariocytów, które są zwykle większe od prawidłowych, ale nie są to formy olbrzymie, nie gromadzą się w skupieniach i nie występują w okolicach beleczek kostnych (ryc. 1A) [8]. Należy pamiętać, że w około 50% przypadków ET nie występują zaburzenia genetyczne potwierdzające klonalność procesu i wtedy trzeba wykluczyć nadpłytkowość odczynową [9].

Przedpolicytymiczna i policytymiczna faza PV oraz przedwłóknieniowa faza PMF są nowotworami mieloidalnymi przebiegającymi z nadpłytkością, które sprawiają największe trudności w diagnostyce różnicowej ET. Kryteria diagnostyczne WHO dla

każdej z tych chorób przedstawiono w tabelach 5 i 6. We wczesnej fazie PV i przedwłóknieniowej fazie PMF występują istotne podobieństwa do ET obejmujące wyniki badań laboratoryjnych, takie jak nadpłytkowość bez wyraźnej nadkrwistości bądź niedokrwistości oraz zwiększonej leukocytozy. Zbliżone są również obraz cytomorfologiczny i obraz histopatologiczny szpiku charakteryzujący się proliferacją megakariocytów przy braku wyraźnego włóknienia oraz cech proliferacji linii granulocytowej i czerwonej krwi. Wymienione jednostki chorobowe mają nie tylko zbliżone cechy kliniczne i histopatologiczne, ale są ze sobą związane patogenezy, między innymi ze względu na podobne mutacje genów *JAK2*V617F, rzadziej *MPL* i *TET2* [4]. Mimo wielu wymienionych podobieństw dotyczących wczesnej fazy PV i PMF, w dalszym przebiegu tych chorób występują różnice dotyczące głównie przeżycia chorych oraz częstości progresji polegającej na postępującym włóknieniu szpiku i transformacji w AML. Nadpłytkowość samoistna jest chorobą o stabilnym i łagodnym przebiegu, natomiast w PV i PMF częściej obserwuje się progresję do mielofibrozy i ostrej białaczki [4]. Cennym narzędziem diagnostycznym w różnicowaniu, szczególnie wczesnych etapów tych chorób, jest histopatologiczna ocena trepanobiopsji szpiku z uwzględnieniem różnic w morfologii i rozmieszczeniu megakariocytów [10, 11]. Różnicujące cechy histopatologiczne szpiku wyszczególniono w tabeli 7 i zobrazowano na rycinie 2A–H.

W klasyfikacji WHO podstawą rozpoznania przewlekłych MPN są kryteria morfologiczne w połączeniu z kryteriami klinicznymi. Według Gianelli i wsp. [12] ocena histopatologiczna szpiku wraz z danymi kliniczno-laboratoryjnymi (graniczny wzrost liczby krwinek czerwonych, palpacyjnie wyczuwalna powiększona śledziona, niskie stężenie erytropoetyny oraz obecność mutacji genu *JAK2*) są najważniejsze w różnicowaniu wczesnej, przedpolicytymicznej fazy PV ze znaczną nadpłytkością od ET.

Największy problem diagnostyczny stanowi odróżnienie ET od przedwłóknieniowej PMF. Wiąże się to z często spotykanymi trudnościami we właściwej interpretacji obrazu histopatologicznego szpiku oraz koniecznością włączenia do rozpoznania, zgodnie z klasyfikacją WHO z 2008 roku, mniejszych kryteriów klinicznych lub gdy kryteria te mają wartości graniczne. Zdarza się, że u chorych z wczesną, przedwłóknieniową PMF nie występują leukoerythroblastoza, niedokrwistość, splenomegalia ani podwyższona aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH, *lactate dehydrogenase*). Mimo charakterystycznego obrazu histopatologicznego, brak mniejszych kryteriów klinicznych powoduje ko-



Rycina 1. Histopatologiczne cechy szpiku w odczynowej nadpłytkowości i innych nowotworach mieloidalnych przebiegających z nadpłytkowością: **A.** Odczynowa nadpłytkowość. Widać liczne megakariocyty o różnorodnej wielkości, ale nie są to formy olbrzymie, nie gromadzą się w skupieniach i nie występują okołobeleczkowo (barwienie hematoksyliną i eozyną [H&E], $\times 400$); **B.** Przewlekła białaczka szpikowa. Szpik bogatokomórkowy z powodu proliferacji granulocytów; liczne megakariocyty, mniejsze od prawidłowych; obecne mikromegakariocyty (strzałka) (barwienie H&E, $\times 400$); **C.** Niedokrwistość oporna na leczenie z obecnością pierścieniowatych sideroblastów i nadpłytkowością. Szpik o zwiększonej komórkowości z proliferacją linii czerwonokrwinkowej (CD71+) i dyserytropoezą. Liczne megakariocyty przypominające spotykane w nadpłytkowości samoistnej (strzałka) (barwienie *EnVision*, $\times 400$); **D.** Zespół mielodysplastyczny z izolowaną delecją chromosomu 5. Widać liczne megakariocyty o różnej wielkości z hipolobulacjami jąder (strzałka) (barwienie H&E, $\times 400$)

Figure 1. Morphological features in reactive thrombocytosis and others myeloid disorders that present with sustained thrombocytosis: **A.** Reactive thrombocytosis. Numerous megakaryocytes vary in size, but they are not giant forms, clustered or in paratrabeular distribution (hematoxylin and eosin [H&E] staining, $\times 400$); **B.** Chronic myeloid leukemia. The bone marrow core biopsy reveals hypercellularity due to granulocytic proliferation. Abundant megakaryocytes are smaller than normal and some of them have hypolobated nuclei — “dwarf megakaryocytes” (arrow) (H&E staining, $\times 400$); **C.** Refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis (RARS-T). The bone marrow biopsy demonstrates hypercellularity due to marked erythropoiesis (CD71+) with erythroid lineage dysplasia. Numerous megakaryocytes resembling those in ET (*En Vision* staining, $\times 400$); **D.** Myelodysplastic syndrome with isolated del(5q). Bone marrow biopsy shows numerous megakaryocytes vary in size with hypolobated nuclei (arrow) (H&E staining, $\times 400$)

nieczność diagnozowania tych przypadków jako nieklasyfikowalne MPN i dalszej obserwacji do momentu ujawnienia się wszystkich, koniecznych do rozpoznania, cech klinicznych PMF. Różnicowanie ET i wczesnej PMF ma duże znaczenie kliniczne, ponieważ obie choroby cechują znamienne różnice czasu przeżycia. W ET 15-letnie przeżycie wynosi 84% natomiast w PMF, także rozpoznanej we wczesnym okresie choroby, tylko 55–65% [13].

Zależność czasu przeżycia i progresji ET od zgodnego z kryteriami WHO z 2008 roku rozpoznania histopatologicznego z biopsji szpiku zaprezentowano w pracy Barbui i wsp. [7]. Autorzy przed-

stawili analizę rozpoznania u 891 chorych na ET i 180 z przedwłóknieniową PMF. Zgodność rozpoznania patomorfologicznych na podstawie kryteriów WHO przy różnicowaniu między ET a przedwłóknieniową PMF wynosiła 81%. W ET obserwowano dłuższe 10-letnie przeżycia niż we wczesnej PMF (89% v. 76%), rzadziej stwierdzano transformację w ostrą białaczkę (0,7% v. 5,8%) oraz progresję w mielofibrozę (0,8% v. 12,3%).

W wielośrodkowym badaniu Thiele i wsp. [14] powtarzalność rozpoznania w różnicowaniu ET z wczesną PMF wynosiła 89%. Warto podkreślić, że w tej pracy uwzględniono jedynie kryteria histo-

Tabela 5. Kryteria diagnostyczne czerwonicy prawdziwej według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2008 roku (źródło [4])

Table 5. World Health Organization (WHO) 2008 diagnostic criteria for polycythemia vera (source [4])

Większe
Stężenie Hb > 18,5 g/dl u mężczyzn oraz > 16,5 g/dl u kobiet lub zwiększenie masy krwinek czerwonych > 25% powyżej normy
Obecność mutacji <i>JAK2V617F</i> lub zmian o podobnym znaczeniu czynnościowym, np. mutacji genu <i>JAK2</i> w eksonie 12
Mniejsze
Cechy trójklądowej proliferacji szpiku — linii erytroidalnej, granulocytarnej i megakariocytarnej (<i>panmyelosis</i>)
Stężenie erytopoetyny w surowicy poniżej normy
Endogenny wzrost kolonii erytroidalnych <i>in vitro</i>
Do rozpoznania konieczne jest spełnienie 2 większych kryteriów i 1 mniejszego lub pierwszego większego i 2 mniejszych

Hb — hemoglobina

Tabela 6. Kryteria diagnostyczne pierwotnej mielofibrozy (PMF) według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2008 roku (źródło [4])

Table 6. World Health Organization (WHO) 2008 diagnostic criteria for primary myelofibrosis (PMF) (source [4])

Większe
Proliferacja i atypia megakariocytów, zwykle z włóknieniem retikuliny i/lub kolagenowym lub, w przypadku braku wyraźnego włóknienia retikuliny, zmiany w megakariocytach muszą być powiązane ze zwiększoną komórkowością szpiku, proliferacją linii granulocytarnej, często z supresją erytropoezy (np. w przedwłóknieniowej/wczesnej fazie PMF)
Brak kryteriów WHO dla PV, CML, MDS lub innych nowotworów mieloidalnych
Wykazanie obecności mutacji <i>JAK2V617F</i> lub innego markera wzrostu klonalnego (np. <i>MPLW515L/K</i>), a w przypadku braku markera klonalności — wykluczenie włóknienia szpiku z powodu choroby zapalnej lub innej nowotworowej
Mniejsze
Leukoerytroblastoza
Zwiększenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej
Niedokrwistość
Splenomegalia w badaniu przedmiotowym
Rozpoznanie wymaga spełnienia 3 dużych i 2 małych kryteriów. We wczesnej PMF mniejsze kryteria są najczęściej graniczne

PV (*polycytemia vera*) — czerwonica prawdziwa; CML (*chronic myeloid leukemia*) — przewlekła białaczka szpikowa; MDS (*myelodysplastic syndrome*) — zespół mielodysplastyczny

patologiczne WHO z 2008 roku. U żadnego z 646 przebadanych chorych z wczesną PMF nie stwierdzono leukoerytroblastozy, niemal w połowie przypadków nie wykazano niedokrwistości ani splenomegalii, natomiast aktywność LDH była jedynie nieznacznie podwyższona.

Wyniki badaczy z *European Bone Marrow Working Group* [15] istotnie się różnią od wyników w przytoczonych wyżej pracach. W przeanalizowanych 102 trepanobiopsjach szpiku bez włóknienia od chorych z przewlekłą nadpłytkowością zgodność rozpoznania histopatologicznych między 6 patologami wynosiła 63%. Po uwzględnieniu mniejszych kryteriów WHO odsetek nieklasyfikowalnych MPN wzrósł z 2% do 23%. Równocześnie częstość rozpoznania PMF zmniejszyła się z 23% do 7%; wska-

zuje to na fakt, że większość pacjentów z pierwotnie rozpoznaną histologicznie PMF nie spełniała wszystkich kryteriów choroby. Podsumowując, w badanej grupie chorych w ponad 50% przypadków nie uzyskano pełnej zgodności rozpoznania bądź przypadki te określono jako nieklasyfikowalne MPN. Na podstawie uzyskanych wyżej wyników można stwierdzić, że kryteria WHO różnicujące między ET i wczesną PMF są powtarzalne w średnim stopniu, a ich pełne zastosowanie przyczynia się do rozpoznawania większej liczby nieklasyfikowalnych MPN. Autorzy twierdzą, że kryteria te nie są zadowalające w przypadku stosowania w rutynowej diagnostyce, a także przy kwalifikacji pacjentów do badań klinicznych. Najprawdopodobniej brak zgodności wyników między grupami badaczy wynika z różnic w interpre-

Tabela 7. Histopatologiczne cechy szpiku przydatne w różnicowaniu nadpłytkowości samoistnej z innymi przewlekłymi nowotworami mieloproliferacyjnymi (źródło [10])**Table 7.** Bone marrow histopathological features that may be of use in distinguishing essential thrombocythemia from other myeloproliferative neoplasms (source [10])

	Nadpłytkowość samoistna	Czerwieńca prawdziwa	Przedwłóknieniowa faza pierwotnej mielofibrozy	Włóknieniowa faza pierwotnej mielofibrozy
Komórkowość	Zwykle prawidłowa lub nieznacznie zwiększona; liczne megakariocyty; granulopoeza i erytropoeza może być nieznacznie zwiększona	Zwiększona; zwiększona erytropoeza, często rozrost trzech linii krwiotworzenia	Zwiększona; zwiększone granulopoeza i liczba megakariocytów	Ogniskowo zwiększona, prawidłowa lub zmniejszona; liczba megakariocytów często ciągle zwiększona
Megakariocyty — wielkość, cechy cytologiczne i rozmieszczenie	Luźne skupienia lub rozproszone, mogą przylegać do beleczek kostnych; głównie formy duże i olbrzymie z hiperlobulacją jąder typu <i>staghorn-like</i> ; mniejszy polimorfizm megakariocytów niż w czerwienicy prawdziwej i wczesnej pierwotnej mielofibrozie	Luźne skupienia; mogą przylegać do beleczek kostnych; różnice wielkości — od mniejszych do większych niż prawidłowe; jądra większe niż prawidłowe; różnice w lobulacji — od hipolobulacji do hiperlobulacji	Gęste skupienia; niektóre przylegające do beleczek kostnych lub w świetle sinusoid; znaczna atypia — formy typu <i>cloud-like</i> i <i>balloon-like</i> lub hiperchromatyczne jądra; zwiększony stosunek jądra do cytoplazmy	Duże skupienia lub pola atypowych megakariocytów; liczniejsze małe megakariocyty; obecne formy wydłużone; wyraźnie hiperchromatyczne jądra
Włóknienie retikulino- we	Brak lub niewielkie	Brak lub niewielkie	Brak lub niewielkie	Znacznie zwiększone
Włóknienie kolageno- we	Brak	Zwykle brak	Brak	Zwykle obecne

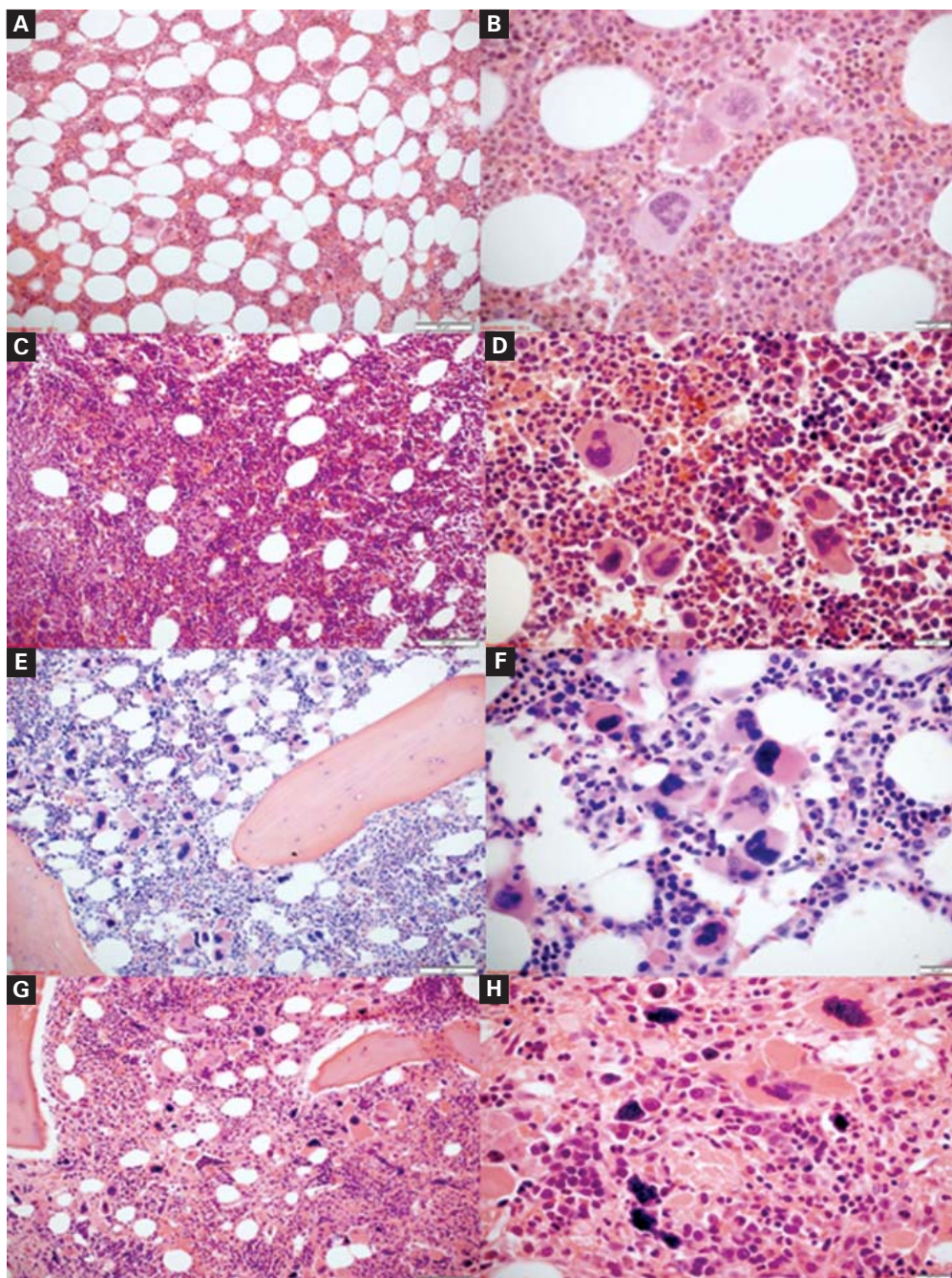
tacji mniejszych kryteriów PMF [16]. Niedoskonałość tej klasyfikacji, być może, zostanie niebawem poprawiona dzięki wprowadzeniu nowych, molekularnych markerów progresji w mielofibrozę.

Diagnostyka różnicowa nadpłytkowości dotyczy również innych przewlekłych MPN, MDS, nowotworów mielodysplastycznych/mieloproliferacyjnych i AML. Niektóre przypadki CML, szczególnie z obecnością onkoproteiny p230, mogą w początkowej fazie choroby charakteryzować się znaczną nadpłytkowością i minimalną leukocytozą, dlatego w diagnostyce nadpłytkowości powinno się wykonywać badania cytogenetyczne lub molekularne w celu wykluczenia występowania genu fuzyjnego *BCR-ABL* [2]. W badaniu trepanobiopsji szpiku megakariocyty w CML mają inną niż w ET morfologię — występują formy małe (mikromegakariocyty, megakariocyty z hipolobulacją jąder komórkowych) (ryc. 1B).

Oporna na leczenie niedokrwistość z obecnością pierścieniowatych sideroblastów i nadpłytkowością (RARS-T, *refractory anemia with ring sideroblasts*

and thrombocytosis) to jednostka tymczasowa, która przypomina ET ze względu na liczbę PLT większą niż 450 G/l i proliferację megakariocytów o morfologii typowej dla ET w szpiku. Jednak RARS-T różni się między innymi nieefektywną proliferacją linii czerwono-krwinkowej z dyserytropoezą i pierścieniowatymi sideroblastami, które stanowią więcej niż 15% prekursorów linii erytroidalnej (ryc. 1C). W połowie przypadków stwierdza się mutację *JAK2V617*. Trwa dyskusja, czy RARS-T jest oddzielną jednostką czy nowotworem mieloproliferacyjnym, w przebiegu którego pojawiły się pierścieniowate sideroblasty, czy raczej MDS, w którym wystąpiły dodatkowe nieprawidłowości genetyczne charakterystyczne dla MPN [4].

Nadpłytkowość nie jest cechą charakterystyczną MDS i AML, ale w pewnych przypadkach tych chorób, takich jak MDS z izolowaną delecją chromosomu 5 (MDS 5q-, *myelodysplastic syndrome with isolated del(5q)*) i MDS lub AML z translokacją t(3;3) (q21;q26) lub inwersją inv(3)(q21q26), obserwuje się znacznego stopnia nadpłytkowość. W MDS 5q-,



Rycina 2. Różnicowanie nadpłytkowości samoistnej z innymi przewlekłymi nowotworami mieloproliferacyjnymi na podstawie cech histopatologicznych w trepanobiopsji szpiku. Nadpłytkowość samoistna: **A.** W trepanobiopsji widać szpik o prawidłowej komórkowości z licznymi dużymi i olbrzymimi postaciami megakariocytów, występującymi w luźnych skupieniach; brak proliferacji linii czerwonych i granulocytowej (barwienie hematoksyliną i eozyną [H&E], $\times 100$); **B.** Widać duże i olbrzymie megakariocyty z hiperlobulacją jąder typu *stag-horn like*; megakariocyty mniej pleomorficzne niż w czerwienicy prawdziwej (barwienie H&E, $\times 400$). Czerwienica prawdziwa; **C.** Szpik o zwiększonej komórkowości ze zwiększonym odsetkiem komórek linii czerwonych i granulocytowej i licznymi megakariocytami tworzącymi luźne skupienia (barwienie H&E, $\times 100$); **D.** Megakariocyty różnej wielkości — od mniejszych do większych niż prawidłowe (pleomorfizm); obserwuje się różną lobulację jąder — od hipo- do hiperlobulacji (barwienie H&E, $\times 400$); przedwłóknieniowa faza pierwotnej mielofibrozy; **E.** Komórkowość szpiku zwiększona, liczne megakariocyty, zwiększona granulopoeza, linia czerwonych relatywnie uboższa; megakariocyty w gęstych skupieniach przylegające do beleczek; brak włóknienia retikulinozowego (barwienie H&E, $\times 100$); **F.** Megakariocyty wykazują atypię — hiperchromatyczne jądra *cloud-like*, *balloon-like* (barwienie H&E, $\times 400$); **G.** Włóknieniowa faza pierwotnej mielofibrozy. Szpik o zwiększonej komórkowości; liczne megakariocyty tworzące duże

skupienia; widoczna hemopoeza wewnątrznaczyniowa i włóknienie podścieliska (barwienie H&E, × 100); **H.** Megakariocyty z cechami atypii i „hiperchromatycznymi” jądrami; dość liczne małe megakariocyty (barwienie H&E, × 400)

Figure 2. Differential diagnosis of essential thrombocytemia and others myeloproliferative neoplasms based on morphological findings in the bone marrow biopsy. Essential thrombocytemia: **A.** The bone marrow trephine biopsy displays a normal cellularity with increased number of large and giant form of megakaryocytes, loosely clustered. No significant erythroid or granulocytic proliferation (hematoxylin and eosin [H&E] staining, × 100); **B.** Enlarged and giant megakaryocytes with hyperlobulated “stage-horn-like” nuclei. The megakaryocytes exhibit lower pleomorphism comparing to those in polycythemia vera (H&E staining, × 400). Polycythemia vera; **C.** The bone marrow core biopsy shows hypercellularity with increased proliferation in the erythroid, granulocytic lineages and numerous megakaryocytes, loosely clustered (H&E staining, × 100); **D.** The megakaryocytes differ in size (pleomorphism) and they demonstrate varying degrees of nuclear lobulation (from hypolobated to hyperlobated forms) (H&E staining, × 400). Prefibrotic primary myelofibrosis; **E.** Hypercellular bone marrow with numerous megakaryocytes, increased granulopoiesis and relatively reduced erythropoiesis. The megakaryocytes show dense clustering and adherence to the bone trabeculae. Absences of reticulin fibrosis (H&E staining, × 100); **F.** Atypical megakaryocytes display hyperchromatic nuclei with abnormal patterns of chromatin clumping (“cloud-like” or “balloon-shaped” nuclei) (H&E staining, × 400). Fibrotic primary myelofibrosis; **G.** Hypercellular bone marrow with numerous megakaryocytes occurring in large clusters. There is intrasinusoidal hematopoiesis and fibrosis (H&E staining, × 100); **H.** Atypical megakaryocytes with hyperchromatic nuclei, note quite a few small form of megakaryocytes (H&E staining, × 400)

w przeciwieństwie do dużych megakariocytów z hiperlobulacjami jąder charakterystycznych dla ET, występują mniejsze megakariocyty z hipolobulacjami jąder (ryc. 2D). W MDS lub AML z t(3;3) lub inv(3) występują liczne mikromegakariocyty [2, 4].

Podsumowanie

- Zgodnie z klasyfikacją WHO z 2008 roku histopatologiczne cechy szpiku, takie jak morfologia i rozmieszczenie megakariocytów, są ważne w diagnostyce nowotworów mieloproliferacyjnych z nadpłytkowością. W rozpoznaniu należy uwzględnić stan ilościowy i jakościowy innych linii krwiotworzenia, jak również dane kliniczne, wyniki badań laboratoryjnych oraz genetycznych.
- Kryteria WHO z 2008 roku, dzięki uwzględnieniu charakterystycznych cech histopatologicznych, w przeważającym odsetku przypadków umożliwiają odróżnienie ET od przedwłóknieniowej fazy PMF. Jest to ważne klinicznie ze względu na odmienne podejście terapeutyczne, różnice dotyczące czasu przeżycia chorych, progresji w mielofibrozę i transformacji w ostrą białaczkę.
- W przypadku rozpoznania ET, zgodnie z kryteriami WHO z 2008 roku, ryzyko rozwoju ostrej białaczki i klinicznie objawowej mielofibrozy jest mniejsze niż 1%.

Piśmiennictwo

- Buss D.H., O'Connor M.L., Woodruff R.D. i wsp. Bone marrow and peripheral blood findings in patients with extreme thrombocytosis. A report of 63 cases. Arch. Pathol. Lab. Med. 1991; 115: 475–480.
- Jaffe E.S., Harris N.L., Vardiman J.W., Campo E., Arber D.A. Hematopathology. Elsevier, St. Louis 2011.
- Beer P.A., Erber W.N., Campbell P.J., Green A.R. How I treat essential thrombocythemia? Blood 2011; 117: 1472–1482.
- Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008.
- 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.
- Thiele J., Kvasnicka H.M., Schmitt-Graeff A., Zankovich R., Diehl V. Follow-up examinations including sequential bone marrow biopsies in essential thrombocythemia (ET): a retrospective clinicopathological study of 120 patients. Am. J. Hematol. 2002; 70: 283–291.
- Barbui T., Thiele J., Passamonti F. i wsp. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. J. Clin. Oncol. 2011; 29: 3179–3184.
- Thiele J., Fischer R. Megakaryocytopoiesis in haematological disorders: diagnostic features of bone marrow biopsies. An overview. Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol. 1991; 418: 87–97.
- Bain B., Clark D.M., Wilkins B.S. Bone marrow pathology. Wiley-Blackwell, Oxford 2010.
- Thiele J., Kvasnicka H.M. Diagnostic differentiation of essential thrombocythaemia from thrombocythaemias associated with chronic idiopathic myelofibrosis by discriminate analysis of bone marrow features — a clinicopathological study on 272 patients. Histol. Histopathol. 2003; 18: 93–102.
- Thiele J., Kvasnicka H.M. Chronic myeloproliferative disorders with thrombocythemia: a comparative study of two classification systems (PVSG, WHO) on 839 patients. Ann. Hematol. 2003; 82: 148–152.
- Gianelli U., Iurlo A., Vener C. i wsp. The significance of bone marrow biopsy and JAK2V617F mutation in the differential diagnosis between the “early” prepolycythemic phase of polycythemia vera and essential thrombocythemia. Am. J. Clin. Pathol. 2008; 130: 336–342.

13. 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.
14. Thiele J., Kvasnicka H.M., Müllauer L. i wsp. Essential thrombocythemia versus early primary myelofibrosis: a multicenter study to validate the WHO classification. *Blood* 2011; 117: 5710–5718.
15. Buhr T., Hebeda K., Kaloutsi V. i wsp. European Bone Marrow Working Group trial on reproducibility of World Health Organization criteria to discriminate essential thrombocythemia from pre-fibrotic primary myelofibrosis. *Haematologica* 2012; 97: 360–365.
16. Thiele J., Orazi A., Kvasnicka H.M. i wsp. European Bone Marrow Working Group trial on reproducibility of World Health Organization criteria to discriminate essential thrombocythemia from pre-fibrotic primary myelofibrosis. *Haematologica* 2012; 97: 360–365.