

Nowotwory mielodysplastyczne/mieloproliferacyjne — nowości i problemy diagnostyczne

Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms — recent advances and diagnostic issues

Monika Prochorec-Sobieszek

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

Streszczenie

Nowotwory mielodysplastyczne/mieloproliferacyjne (MDS/MPN) to rzadko występujące klonalne rozrosty mieloidalne, które charakteryzują się współistnieniem cech mielodysplazji i mieloproliferacji. Większość przypadków MDS/MPN jest pod względem klinicznym i histopatologicznym bardziej podobna do klasycznych nowotworów mieloproliferacyjnych, dlatego nazywa się je „chorobami mieloproliferacyjnymi z cechami dysplastycznymi”. W grupie tej znajdują się trzy główne jednostki chorobowe: przewlekła białaczka mielomonocytoza, atypowa przewlekła białaczka szpikowa i młodzieńcza białaczka mielomonocytoza. Zalicza się do niej również kilka mniej sprecyzowanych chorób określanymi jako nieklasyfikowalne MDS/MPN, wśród których najlepiej poznana jest niedokrwistość oporna na leczenie z obecnością pierścieniowatych syderoblastów i nadpłytkowością. Mimo znacznego postępu w rozumieniu molekularnej oraz genetycznej patogenezы nowotworów mieloidalnych właściwe rozpoznanie MDS/MPN nadal wymaga dokładnych, wielokierunkowych badań morfologicznych i immunofenotypowych krwi obwodowej i szpiku oraz uwzględnienia obrazu klinicznego i cech genetycznych.

Słowa kluczowe: mieloproliferacyjne, mielodysplastyczne, nowotwory, rozpoznanie, klasyfikacja

Hematologia 2010; 1, 3: 185–194

Abstract

Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN) are rare clonal myeloid neoplasms characterized by the simultaneous presence of both myelodysplastic and myeloproliferative features. Most MDS/MPN cases are clinically and histopathologically more closely related to the classical myeloproliferative diseases, they are therefore called “myeloproliferative diseases with dysplastic features”. This group includes three main entities: chronic myelomonocytic leukemia, atypical chronic myeloid leukemia and juvenile myelomonocytic leukemia. It also includes several less defined entities determined as unclassifiable myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms, the most well known of which is refractory anemia with ring sideroblasts and thrombocytosis. Despite considerable progress in molecular and genetic understanding of myeloid

neoplasm pathogenesis, correct MDS/MPN diagnosis still requires accurate and multidirectional clinical, morphological and immunophenotypical peripheral blood and bone marrow studies as well as genetic testing.

Key words: myeloproliferative, myelodysplastic, neoplasms, diagnosis, classification

Hematologia 2010; 1, 3: 185–194

Wprowadzenie

Nowotwory mielodysplastyczne/mieloproliferacyjne (MDS/MPN, *myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm*) są rzadko występującymi klonalnymi rozrostami układu krwiotwórczego, które w momencie rozpoznania wykazują zarówno cechy dysplazji, jak i proliferacji, co uniemożliwia ich zakwalifikowanie zarówno do grupy zespołów mielodysplastycznych (MDS, *myelodysplastic syndromes*), jak i nowotworów mieloproliferacyjnych (MPN, *myeloproliferative neoplasms*) [1]. W chorobach tych cechy spotykane w MPN, takie jak leukocytoza i związany z nią bogatokomórkowy szpik z różnie nasilonym włóknieniem podścieliska, nadpłytkowość i/lub powiększenie śledziona, współistnieją z objawami nasuwającymi podejrzenie MDS, w tym cytopenie (głównie niedokrwistość) oraz zmiany dysplastyczne, które mogą dotyczyć każdej linii układu krwiotwórczego [2]. Tefferi i wsp. [3] podkreślili, że mimo „hybrydowego” charakteru MDS/MPN większość przypadków jest klinicznie i histopatologicznie bardziej podobna do klasycznych nowotworów mieloproliferacyjnych niż do MDS i zasługuje na określenie „atypowe choroby mieloproliferacyjne”.

W klasyfikacji rozrostów mieloidalnych *French-American-British* (FAB) z 1994 roku nie wydzielono jednostek o nakładających się cechach MDS i MPN [4]. Przewlekłą białaczkę mielomonocytową (CMML, *chronic myelomonocytic leukemia*) zaliczono do zespołów mielodysplastycznych. Kategoria chorób mielodysplastycznych/mieloproliferacyjnych (MDS/MPD, *myelodysplastic/myeloproliferative disorder*) została wprowadzona po raz pierwszy w klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2001 roku [1]. W nowej klasyfikacji WHO [5] zmieniono nazwę „choroby mielodysplastyczne/mieloproliferacyjne” (MDS/MPD, *myelodysplastic/myeloproliferative disorders*) na „nowotwory mielodysplastyczne/mieloproliferacyjne” (MDS/MPN). Nieznacznie zmodyfikowano definicję CMML, wykluczając przypadki z rearanżacją genów *PDGFRA* (*alpha-type platelet-derived growth factor receptor*) i *PDGFRB* (*beta-type platelet-derived growth factor receptor*), którym towarzyszy eozynofilia. Obecnie znajdują się one w grupie nowo-

Tabela 1. Nowotwory mielodysplastyczne/mieloproliferacyjne w klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2008 roku (źródło: [5])

Table 1. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms in World Health Organization (WHO) 2008 classification (source: [5])

Przewlekła białaczka mielomonocytowa (CMML, <i>chronic myelomonocytic leukemia</i>)
Atypowa przewlekła białaczka szpikowa (aCML, <i>atypical chronic myeloid leukemia</i>)
Młodzieńcza białaczka mielomonocytowa (JMML, <i>juvenile myelomonocytic leukemia</i>)
Nieklasfikowalny MDS/MPN (MDS/MPN, U, <i>myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms, unclassifiable</i>)

tworów mieloidalnych i limfoidalnych przebiegających z eozynofilią i nieprawidłowościami dotyczącymi genów *PDGFRA*, *PDGFRB* lub *FGFR1* (*fibroblast growth factor receptor 1*). Definicje młodzieńczej białaczki mielomonocytowej (JMML, *juvenile myelomonocytic leukemia*) i nieklasfikowalnego MDS/MPN (MDS/MPN, U, *myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms, unclassifiable*) pozostały niezmienione. Wyróżnione w klasyfikacji WHO z 2008 roku [5] nowotwory MDS/MPN wymieniono w tabeli 1.

Mimo znacznego postępu w zrozumieniu molekularnej i genetycznej patogenezy nowotworów mieloidalnych nie określono charakterystycznych dla tych jednostek zaburzeń genetycznych [6]. Najlepiej poznaną nieprawidłowością w CMML i aCML są mutacje genów *NRAS* i *KRAS*, które występują w około 1/3 przypadków. Chociaż odkryto je wiele lat temu, niejasne pozostaje ich znaczenie w patogenezie i rokowaniu tych chorób. Ostatnio przeprowadzone badania mikromacierzy DNA pozwoliły na identyfikację u znacznej liczby chorych na MDS/MPN nowych onkogenów i genów supresorowych, takich jak *TET2*, *RUNX1*, *ASXL1* i *CBL* [6]. Należy podkreślić, że właściwe rozpoznanie MDS/MPN nadal wymaga dokładnych, wielokierunkowych badań morfologicznych i immunofenotypowych krwi obwodowej i szpiku oraz uwzględnienia cech genetycznych i obrazu klinicznego [2].

Przewlekła białaczka mielomonocytoza

Przewlekła białaczka mielomonocytoza to MDS/MPN charakteryzujący się proliferacją linii monocytowej we krwi i szpiku oraz dysplazją jednej lub więcej linii układu krwiotwórczego. Głównym objawem jest monocytoza we krwi obwodowej. Mogą jej towarzyszyć niedokrwistość i małopłytkowość, wynikające z nieskutecznego krwiotworzenia związanego z dysplazją [7, 8]. Brak charakterystycznych nieprawidłowości genetycznych oraz konieczność różnicowania z chorobami o podobnych cechach kliniczno-patologicznych, takimi jak przewlekła białaczka szpikowa (CML, *chronic myeloid leukemia*), aCML, ostra białaczka monocytowa i odczynowa monocytoza, jest przyczyną trudności diagnostycznych [8]. Choroba występuje głównie u mężczyzn w starszym wieku. Ze względu na brak wiarygodnych danych epidemiologicznych częstość jej występowania nie jest znana [2, 7].

Liczba krwinek białych (WBC, *white blood cells*) we krwi obwodowej stała się podstawą wyróżnienia dwóch podtypów CMML — mieloproliferacyjnego z WBC większą lub równą $13 \times 10^9/l$ i mielodysplastycznego z mniejszą liczbą WBC [9, 10]. W obu podtypach równie często pojawiają się zmiany dysplastyczne, a w podtypie mieloproliferacyjnym częściej występuje powiększenie śledziony. Znaczenie prognostyczne wyróżnienia podtypów CMML jest kontrowersyjne [10, 11]. Do innych objawów klinicznych zalicza się zmęczenie, utratę masy ciała, poty nocne, nawracające zakażenia i krwawienia spowodowane małopłytkowością [7]. Kryteria diagnostyczne CMML według klasyfikacji WHO z 2008 roku zestawiono w tabeli 2.

Do rozpoznania CMML konieczne jest stwierdzenie przetrwałej monocytozy we krwi obwodowej przekraczającej $1 \times 10^9/l$; odsetek monocytów większy niż 10% WBC [7]. Monocyty są najczęściej prawidłowe, chociaż mogą charakteryzować się dziwnymi jądrami i cytoplazmatycznymi ziarnistościami (ryc. 1.A). Promonocyty, uważane za ekwiwalent blastów, i monoblasty zwykle nie występują lub stanowią mniej niż 5% komórek krwi obwodowej. We krwi obwodowej mogą się pojawić cechy dysgranulopoezy i nieprawidłowe płytki, chociaż zdarza się, że zmiany dysplastyczne są niewielkie. Mimo że zwiększona liczba monocytów we krwi obwodowej jest niezbędna do rozpoznania CMML, nie powinno się diagnozować tej jednostki bez badania szpiku. Niektóre przypadki ostrej białaczki szpikowej (AML, *acute myeloid leukemia*) z obecnością monoidealnych blastów mogą wykazywać zmiany we krwi obwodowej podobne do spotykanych w CMML

Tabela 2. Kryteria diagnostyczne przewlekłej białaczki mielomonocytozowej (WHO 2008) (źródło: [7])

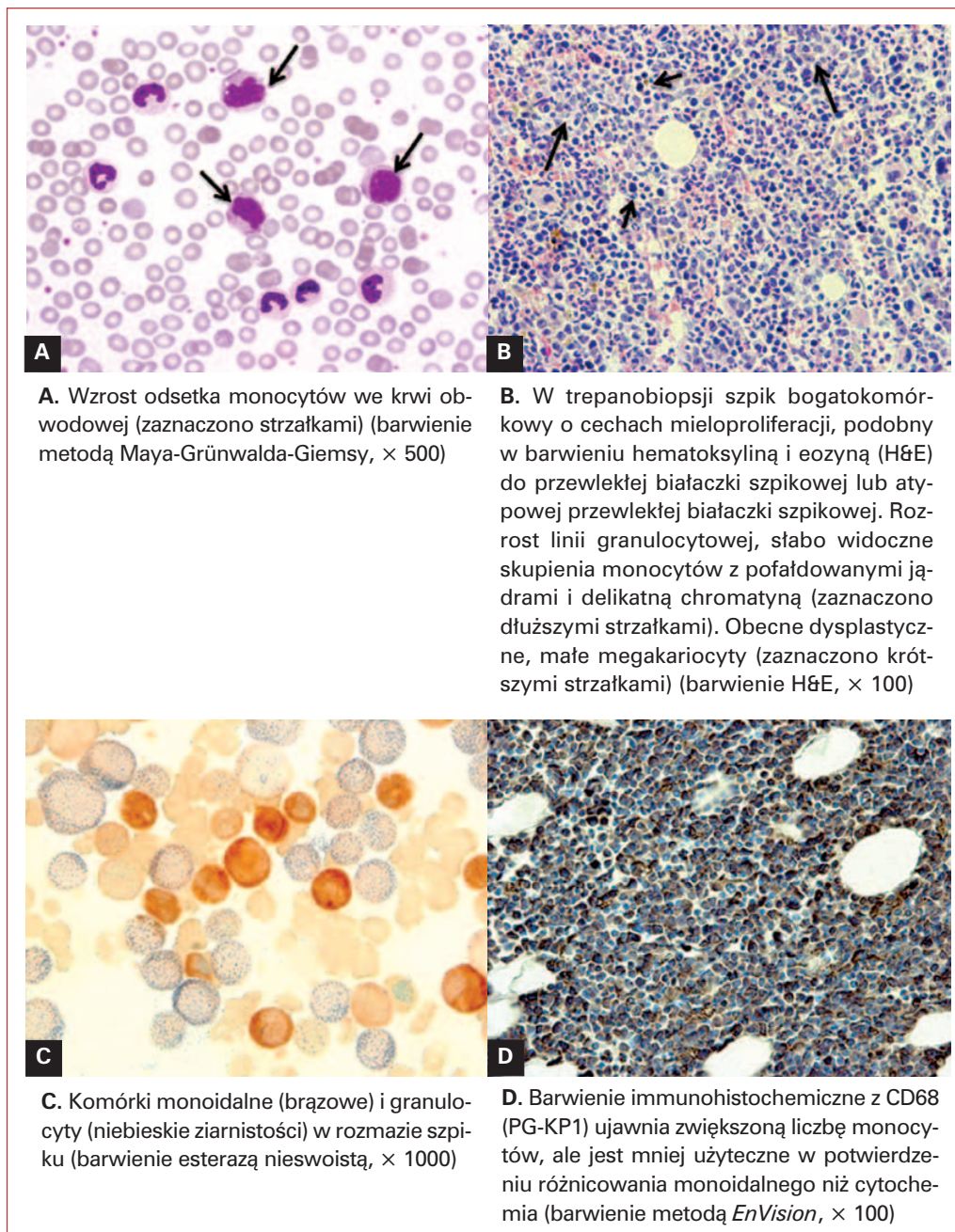
Table 2. Diagnostic criteria for chronic myelomonocytic leukemia (WHO 2008) (source: [7])

Przetrwała monocytoza we krwi obwodowej $> 1 \times 10^9/l$
Brak chromosomu Ph i genu fuzyjnego <i>BCR-ABL1</i> oraz rearanżacji genów <i>PDGFRA</i> i <i>PDGFRB</i> (szczególnie w przypadkach z towarzyszącą eozynofilią)
Poniżej 20% blastów we krwi i szpiku (mieloblastów, monoblastów i promonocytów)
Spełnienie co najmniej jednego z następujących kryteriów:
<ul style="list-style-type: none"> • dysplazja jednej lub więcej linii układu krwiotwórczego • klonalne nieprawidłowości cytogenetyczne i molekularne w komórkach krwiotwórczych • monocytoza utrzymująca się przez co najmniej 3 miesiące, po wykluczeniu innych jej przyczyn

WHO (*World Health Organization*) — Światowa Organizacja Zdrowia; Ph — Philadelphia; PDGFRA — *alpha-type platelet-derived growth factor receptor*; PDGFRB — *beta-type platelet-derived growth factor receptor*

z powodu cytologicznego dojrzewania komórek blastycznych we krwi obwodowej [2].

Szpic w CMML jest zwykle bogatokomórkowy i częściej charakteryzuje się hiperplazją linii granulocytowej niż „jawną” monocytozą [7, 12–14]. Jeżeli przeważa linia granulocytowa, niekiedy trudno jest odróżnić nieprawidłowe monocyty od mielocytów (ryc. 1.B). Barwienia cytochemiczne polegające na oznaczaniu aktywności esterazy nieswoistej pozwalają na uwidocznienie zwiększonej liczby monocytów (ryc. 1.C). Badania krwi i szpiku metodą cytometrii przepływowej z użyciem przeciwciał CD14, CD11c i CD64 oraz barwienia immunohistochemiczne w trepanobiopsji szpiku z użyciem przeciwciał CD68 (KP-1), CD68R (PG-M1) i CD163 są również przydatne w ujawnianiu komórek monoidealnych (ryc. 1.D) [13–16]. W cytometrii przepływowej można wykazać charakterystyczne zaburzenia ekspresji antygenów na białaczkowych monocytach polegające na zwiększonej ekspresji CD56, nieprawidłowej ekspresji CD2 oraz zmniejszonej ekspresji HLA-DR, CD13, CD14 i CD15, CD64 i/lub CD36 [15, 16]. Zaburzenia ekspresji antygenów zwykle nie występują na odczynowych monocytach, co pozwala na różnicowanie między odczynową monocytozą i CMML. Muszą być jednak interpretowane ostrożnie i w kontekście innych cech kliniczno-patologicznych. Antygen CD56 może bowiem występować na monocytach również w niektórych stanach odczynowych, w tym w okresie regeneracji układu krwiotwórczego po chemioterapii [15, 17].



Rycina 1. Przewlekła białaczka mielomonocytowa — typ mieloproliferacyjny

Figure 1. Chronic myelomonocytic leukemia — myeloproliferative type

W szpiku, podobnie jak we krwi obwodowej, występuje dysgranulopoeza. Może jej towarzyszyć dyserytropoeza i w większości przypadków dysplastyczne megakariocyty, w tym mikromegakariocyty i/lub megakariocyty z nieprawidłowymi lobulacjami jąder. U niektórych chorych obserwuje się zwiększoną liczbę syderoblastów pierścieniowatych.

W klasyfikacji WHO wyróżniono dwie kategorie CMML w zależności od liczby blastów we krwi

obwodowej i szpiku. Różnią się one rokowaniem i stopniem ryzyka transformacji w ostrą białaczkę. W CMML typu 1 (CMML-1) liczba blastów jest mniejsza niż 5% we krwi lub mniejsza niż 10% w szpiku. Przewlekła białaczka mielomonocytowa typu 2 (CMML-2) charakteryzuje się obecnością 5–19% blastów we krwi lub 10–19% w szpiku [1]. Zastosowanie barwienia immunohistochemicznego z CD34 w trepanobiopsji szpiku uwidacznia zwięks-

szoną liczbę blastów i ich nieprawidłową lokalizację w postaci skupień. Może to pomóc w rozpoznawaniu przypadków wczesnej transformacji w AML [13, 18]. Należy jednak zaznaczyć, że antygen CD34 występuje zmiennie na komórkach blastycznych. Barwienie immunohistochemiczne z CD123 uwiadcza skupienia plazmacytoidnych komórek dendrytycznych, które choć nie są specyficzne, częściej występują w CMML niż w innych nowotworach mieloidalnych i wiążą się z gorszym rokowaniem [13, 19]. U około 60% chorych na CMML obserwuje się niewielkie lub o średnim nasileniu włóknienie retikulino-podścieliska [14].

Klonalne nieprawidłowości cytogenetyczne występują u 20–40% chorych na CMML, ale żadna z nich nie jest specyficzna. Najczęściej występują +8, -7/del(7p) i nieprawidłowości strukturalne 12p [7]. Mutacje genów *NRAS* i *KRAS* wykrywa się w około 1/3 przypadków. Jednak niejasne jest ich znaczenie w patogenezie i rokowaniu oraz są nieprzydatne w diagnostyce tej jednostki [6]. Mutacje *TET2* występują u więcej niż 40% chorych, natomiast mutacje *RUNX1* i *ASXL1* — w mieloproliferacyjnym podtypie CMML. Mutacja genu *CBL* pojawia się w 10% przypadków [6]. Brak chromosomu *Philadelphia* (Ph) i genu fuzyjnego *BCR-ABL1* pozwala wykluczyć CML. Mutacje *JAK2* V617F są rzadko spotykane w CMML [20]. Przypadki poprzednio rozpoznawane jako CMML z eozynofilią (spełnione kryteria CMML, ale dodatkowo liczba eozynofili $> 1,5 \times 10^9/l$) są obecnie klasyfikowane w molekularnie zdefiniowanej grupie nowotworów mieloidalnych i limfoidalnych przebiegających z eozynofilią i nieprawidłowościami dotyczącymi genów *PDGFRA*, *PDGFRB* lub *FGFR* [5]. W tej grupie znajdują się również rzadkie przypadki przypominające CMML związane z translokacją t(5;12)(q33;p13) [21].

Różnicowanie między CMML i aCML jest stosunkowo łatwe na podstawie obrazu krwi obwodowej, ale są pewne cechy nakładające się (tab. 3). Diagnostyka różnicowa może być trudna, ale ma znaczenie praktyczne, ponieważ chorzy z aCML charakteryzują się gorszym rokowaniem niż chorzy z CMML [22, 23]. Liczba monocytów może być nieznacznie zwiększona w aCML, ale zwykle nie przekracza 10%, natomiast w CMML liczba monocytów z definicji jest wyższa niż 10%. Stopień dysplazji granulocytów w CMML jest zwykle nie tak wyraźny jak w aCML. W aCML obserwuje się zwiększoną liczbę (do 20% we krwi obwodowej) niedojrzałych granulocytów, w tym blastów, promielocytów i mielocytów. W CMML te komórki prawie zawsze stanowią mniej niż 10% komórek krwi obwodowej. Trudności może też sprawiać różnicowanie między

Tabela 3. Kryteria diagnostyczne atypowej przewlekłej białaczki szpikowej (WHO 2008) (źródło: [24])

Table 3. Diagnostic criteria for atypical chronic myeloid leukemia (WHO 2008) (source: [24])

Leukocytoza we krwi obwodowej $\geq 13 \times 10^9/l$ spowodowana zwiększoną liczbą neutrofilów i ich prekursorów z wyraźną dysgranulopoezą
Brak chromosomu Ph i genu fuzyjnego <i>BCR-ABL1</i> oraz rearanżacji genów <i>PDGFRA</i> i <i>PDGFRB</i>
Prekursory neutrofilów (promielocyty, mielocyty, metamielocyty) $\geq 10\%$ leukocytów; bazofile $< 2\%$ leukocytów; monocyty $< 10\%$ leukocytów
Bogatokomórkowy szpik z proliferacją i dysplazją granulocytów oraz z dysplazją lub bez cech zaburzeń dojrzewania linii czerwono-krwinkowej i megakariocytów
Poniżej 20% blastów we krwi obwodowej i szpiku

WHO (World Health Organization) — Światowa Organizacja Zdrowia; Ph — Philadelphia; PDGFRA — alpha-type platelet-derived growth factor receptor; PDGFRB — beta-type platelet-derived growth factor receptor

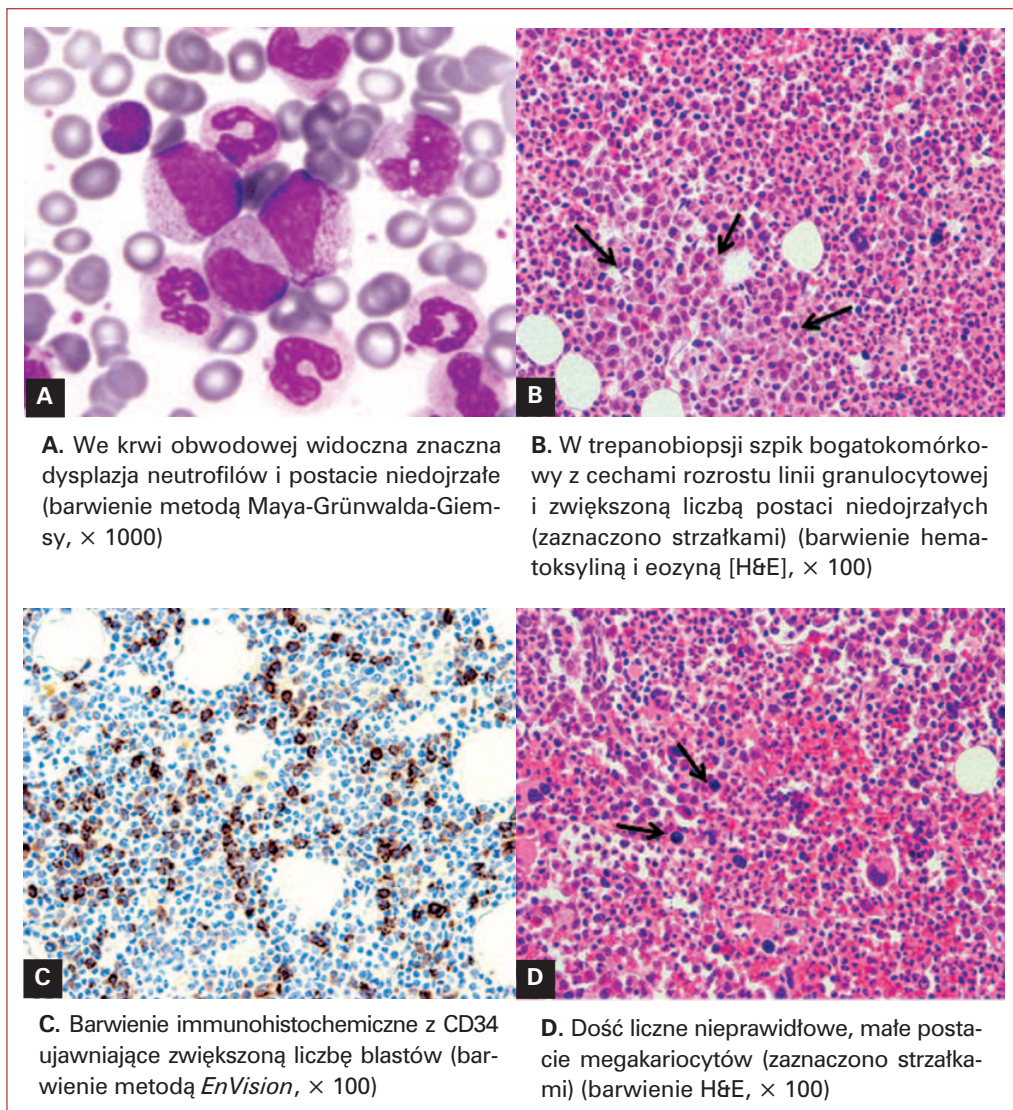
CMML-2 i ostrą białaczką monocytową. Decyduje ocena liczby blastów w szpiku, która może być utrudniona przez włóknienie podścieliska [2].

Średni czas przeżycia chorych na CMML wynosi 20–40 miesięcy. Najważniejszym czynnikiem rokowniczym jest liczba blastów we krwi obwodowej i szpiku. Progresja do AML pojawia się u 15–30% chorych [7, 11].

Atypowa przewlekła białaczka szpikowa

Atypowa CML jest rzadką postacią MDS/MPN. Proliferacji ulega linia granulocytowa, która często wykazuje również zaburzenia dojrzewania. Objawami dysplazji i wynikającego z niej nieskutecznego krwiotworzenia są niedokrwistość i małopłytkowość [8, 24]. Kryteria diagnostyczne aCML według klasyfikacji WHO z 2008 roku zestawiono w tabeli 3.

Choroba występuje głównie u osób starszych, z podobną częstością u kobiet i u mężczyzn. Jeden do dwóch przypadków aCML przypadają na każde 100 zachorowań na CML [24–26]. W obrazie klinicznym aCML występują niektóre cechy CML, takie jak zwiększona WBC z przewagą neutrofilów (średnie wartości $24\text{--}96 \times 10^9/l$), umiarkowana niedokrwistość oraz powiększenie śledziony [23, 25, 27]. Jednak komórki nowotworowe w aCML nie mają chromosomu Ph ani genu fuzyjnego *BCR-ABL1*. Główną cechą, która odróżnia aCML od CML, jest często występująca znaczna dysgranulopoeza. Obraz białokrwinkowy charakteryzuje „przesunięcie



Rycina 2. Atypowa przewlekła białaczka szpikowa

Figure 2. Atypical chronic myelomonocytic leukemia

w lewo”, z obecnością blastów, promielocytów, mielocytów, które stanowią 10–20% WBC krwi obwodowej. W neutrofilach obserwuje się pseudoanomalię Pelgera-Huëta, hiposegmentację jąder i/lub nieprawidłową kondensację chromatyny oraz zmniejszenie uziarninowania cytoplazmy (ryc. 2.A). Choć niektóre nieprawidłowości segmentacji jąder granulocytów mogą występować w CML, szczególnie w fazie akceleracji, aCML charakteryzuje się bardziej typowymi zmianami dysplastycznymi. W przeciwieństwie do CML, w przebiegu aCML nie ma wybitnej bazofilii, zaś granulocyty zasadochłonne stanowią mniej niż 2% WBC krwi obwodowej. Monocyty stanowią zwykle mniej niż 10% WBC, co odróżnia aCML od CMML [8, 14, 22–24, 28].

Szpik jest bogatokomórkowy i w trepanobiopsji morfologicznie podobny do spotykanego w CML i CMML (ryc. 2.B). Obserwuje się zwiększoną liczbę neutrofilów i ich prekursorów oraz zwiększony odsetek blastów (zawsze $< 20\%$). Można je uwidocznić za pomocą barwienia immunohistochemicznego z CD34 (ryc. 2.C). Oprócz dysgranulopoezy często występują także dyserytropoeza i dysplazja megakariocytów. Przeważają mikromegakariocyty i megakariocyty z hipolobulacją jąder (ryc. 2.D). Może się pojawiać, zwykle umiarkowane, włóknienie podścieliska szpiku. Badania immunofenotypowe nie są przydatne w diagnostyce tej choroby, z wyjątkiem określenia liczby blastów (CD34⁺) i monocytów (CD68R⁺) [2, 24, 26, 29].

Badania cytogenetyczne i molekularne mają duże znaczenie w diagnostyce aCML, ponieważ w wielu przypadkach rozpoznanie aCML jest rozpoznaniem z wykluczenia. Należy wykluczyć występowanie genu fuzyjnego *BCR-ABL1* i t(9;22) charakterystycznych dla CML oraz rearanżacje genów *PDGFRA* i *PDGFRB*. Nieprawidłowości kariotypu pojawiają się u około 80% chorych, ale typowe dla aCML zaburzenia cytogenetyczne nie są znane. Najczęściej występują del(20q) i trisomia 8, chociaż opisywane są nieprawidłowości dotyczące chromosomów 12, 13, 14, 17 i 19 [24]. Rzadko chorzy z obecnością isochromosomu 17q jako jedyną anomalią chromosomalną mogą mieć cechy kliniczne aCML, chociaż większość tych przypadków spełnia kryteria dla CMML lub MDS/MPN, U [30]. W ostatnich badaniach wykazano brak mutacji genu *JAK2-V617F* w aCML [31].

Atypowa CML ma bardziej agresywny przebieg kliniczny niż CML lub CMML. Średni czas przeżycia wynosi około 2 lat. U większości chorych przyczyną zgonu są powikłania związane z niewydolnością szpiku; u części rozwija się AML [25].

Młdzieńcza białaczka mielomonocytoza

Młdzieńcza białaczka mielomonocytoza jest klonalną chorobą wywodzącą się z wielopotencjalnej komórki macierzystej, występującą głównie u niemowląt i małych dzieci. Pojawia się rzadko i stanowi 2–3% białaczek dziecięcych. U 10% chorych na JMML wykazano związek z neurofibromatozą typu 1 i w niewielkim odsetku przypadków z zespołem Noonana.

Klinicznie u chorych na JMML występują powiększenie wątroby, śledziony i węzłów chłonnych, plamisto-grudkowa wysypka skóry twarzy oraz gorączka połączona z zapaleniem oskrzeli lub migdałków. Podobnie do CMML, JMML charakteryzuje się rozrostem linii granulocytowej i monoidalnej. W badaniach laboratoryjnych, poza leukocytozą i monocytozą we krwi obwodowej, obserwuje się małopłytkowość oraz niekiedy niedokrwistość. Liczba krwinek białych wynosi 25–30 × 10⁹/l. Obecne są postacie niedojrzałe (promielocyty i mielocyty), ale liczba blastów (w tym promonocytów) jest zwykle mniejsza niż 5% oraz zawsze stanowią one mniej niż 20% komórek krwi obwodowej i szpiku. Zmiany dysplastyczne nie są wyraźne. Szpik jest zwykle bogatokomórkowy, ale jest to norma u dzieci poniżej 2. roku życia. Przeważa linia granulocytowa. Zmiany dysplastyczne w szpiku, podobnie jak we krwi obwodowej, są niewielkie. Inną cechą JMML jest podwyższone w stosunku do wieku stężenie hemoglobiny płodowej [32, 33]. Kryteria dia-

Tabela 4. Kryteria diagnostyczne młodzieńczej białaczki mielomonocytozy (WHO 2008) (źródło: [32])

Table 4. Diagnostic criteria for juvenile myelomonocytic leukemia (WHO 2008) (source: [32])

-
- Monocytoza we krwi obwodowej > 1 × 10⁹/l
 - Poniżej 20% blastów (mieloblastów, monoblastów i promonocytów) we krwi i szpiku
 - Brak chromosomu Ph i genu fuzyjnego *BCR-ABL1*
 - Spełnienie co najmniej dwóch z następujących kryteriów:
 - zwiększone wartości hemoglobiny płodowej w stosunku do wieku
 - niedojrzałe granulocyty we krwi obwodowej
 - liczba WBC > 10 × 10⁹/l
 - klonalne nieprawidłowości chromosomalne
 - nadwrażliwość mieloidalnych komórek prekursorowych na GM-CSF *in vitro*
-

WHO (World Health Organization) — Światowa Organizacja Zdrowia; Ph — Philadelphia; WBC (white blood cells) — krwinki białe; GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulation factor) — granulocytarno-makrofagowy czynnik wzrostu

gnostyczne JMML według klasyfikacji WHO z 2008 roku zestawiono w tabeli 4.

W przebiegu JMML nie występuje gen fuzyjny *BCR-ABL1*. Mieloidalne komórki prekursorowe charakteryzują się nadwrażliwością na granulocytarno-makrofagowy czynnik wzrostu (GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony stimulation factor*), co jest skutkiem zaburzeń regulacji ścieżki sygnałowej zależnej od Ras/MAPK. Ścieżka ta reguluje odpowiedź proliferacyjną komórek na GM-CSF, gdy jest on związany z powierzchnią komórki. Zaburzenia w ścieżce sygnałowej Ras/MAPK są wynikiem mutacji w zakresie genów *Ras*, *PTPN11* (kodującego białko SHP-2, które przekazuje sygnały z receptorów czynnika wzrostu do Ras) i *NF1* (kodującego białko neurofibrominę, która inaktywuje Ras) [34, 35]. U 1/3 chorych na JMML bez towarzyszącego zespołu Noonana występują mutacje genu *PTPN11*, natomiast mutacje genu *NF1* (u chorych bez neurofibromatozy typu 1) i mutacje *Ras* — w 15–20% przypadków [34–37]. Ponadto badania cytogenetyczne wykazują monosomię 7 u 25% chorych, inne nieprawidłowości (np. trisomię 8 i 21) — u 10% i prawidłowy kariotyp — w 65% przypadków [33].

Dysregulacja ścieżki zależnej od Ras/MAPK prowadzi do znacznej nadwrażliwości mieloidalnych komórek prekursorowych na GM-CSF i następnie do klonalnego rozrostu białaczkowego. Mechanizm ten wykorzystuje się w badaniach nad terapią celowaną, chociaż metodą z wyboru leczenia chorych z JMML wciąż pozostaje allogeniczne przeszczepienie macierzystych komórek krwiotwórczych [38–40].

W diagnostyce różnicowej JMML należy uwzględnić odczyny białaczkowe i inne nowotwory mieloidalne. Podobne cechy kliniczne i laboratoryjne występują u dzieci z zakażeniem wirusem Epsteina-Barr, cytomegalowirusem i ludzkim wirusem opryszczki 6. Decydują badania cytogenetyczne świadczące o klonalności rozrostu i wirusologiczne wykluczające zakażenia wirusowe. Badania cytogenetyczne pozwalają też wykluczyć CML, która niekiedy występuje u dzieci. Podstawą różnicowania między JMML i ostrą białaczką mielomonocytową powinna być właściwa ocena liczby blastów i promonocytów [8, 33].

Przebieg kliniczny i czas przeżycia są różnorodne. Do niekorzystnych czynników rokowniczych zalicza się wiek chorych do 2 lat, wysokie stężenie hemoglobiny płodowej i małą liczbę płytek. Transformacja w AML występuje u 10–15% chorych [33].

Nieklasyfikowalny MDS/MPN

Nieklasyfikowalny MDS/MPN to heterogenna grupa chorób, w przebiegu których w momencie rozpoznania spełnione są kryteria MDS/MPN (nakładanie się cech proliferacji i dysplazji) oraz jednocześnie wykluczono CMML, aCML i JMML [41]. Jedną z takich tymczasowo utworzonych jednostek jest niedokrwistość oporna na leczenie z obecnością pierścieniowatych syderoblastów i nadpłytkowością (RARS-T, *refractory anemia with ringed sideroblasts and thrombocytosis*). Charakteryzuje się ona występowaniem odpornej na leczenie niedokrwistości z obecnością pierścieniowatych syderoblastów, które stanowią 15% lub więcej prekursorów linii czerwonych, podobnie jak w przebiegu MDS typu RARS (*refractory anemia with ring sideroblasts*). Towarzyszy jej nadpłytkowość ($\geq 450 \times 10^9/l$) związana z obecnością nieprawidłowych dużych megakariocytów, typowo występujących w nadpłytkowości samoistnej (ET, *essential thrombocythemia*) lub we wczesnej fazie mielofibrozy [42]. Nie jest do końca jasne, czy RARS-T jest rzeczywiście odrębną jednostką, czy też reprezentuje wtórne zmiany w przebiegu MDS lub MPN. W ostatnio opublikowanej pracy, w której podsumowano wyniki badań klinicznych, morfologicznych i molekularnych, autorzy przekonująco udowadniają, że RARS-T może być wariantem ET [43].

Choroba występuje u osób starszych i charakteryzuje się stosunkowo dobrym rokowaniem, chociaż gorszym niż ET [42]. Szpik jest bogatokomórkowy, z obecnością dużych postaci megakariocytów. W diagnostyce ważne jest barwienie na żelazo ze względu na konieczność ujawnienia pierścienio-

watych syderoblastów [42]. W większości przypadków RARS-T występuje mutacja *JAK2* V617F lub rzadziej mutacja *MPL* W515K/L, co potwierdza mieloproliferacyjny charakter tej choroby [44, 45]. Wyniki klasycznych badań cytogenetycznych są zwykle prawidłowe.

Niedokrwistość oporna na leczenie z obecnością pierścieniowatych syderoblastów i nadpłytkowością wymaga różnicowania z innymi chorobami przebiegającymi z niedokrwistością i nadpłytkowością, między innymi z MDS o typie zespołu $5q^-$ lub RARS oraz nowotworami mieloproliferacyjnymi *BCR-ABL1(-)*. W pierwszym przypadku różnicowanie jest łatwe, ponieważ w MDS $5q^-$ występuje charakterystyczna aberracja genetyczna ($del5q^-$) i inna jest morfologia megakariocytów. W MDS $5q^-$ występują formy z hipolobulacją jąder, a w RARS-T — postaci duże. Natomiast diagnostyka różnicowa między RARS-T i nowotworami mieloproliferacyjnymi *BCR-ABL1(-)* może sprawiać trudności. W nowotworach mieloproliferacyjnych nierzadko mogą występować pierścieniowate syderoblasty, natomiast cechy morfologiczne megakariocytów są w obu jednostkach takie same. Jednak do rozpoznania RARS-T konieczna jest nie tylko sama obecność pierścieniowatych syderoblastów, ale również dyserytropoeza o nasileniu obserwowanym w RARS [2]. U chorych na MDS RARS może występować nadpłytkowość, ale megakariocyty są morfologicznie prawidłowe.

Inną jednostką chorobową zaliczaną do MDS/MPN, U jest atypowa choroba mieloproliferacyjna związana z obecnością izochromosomu 17q jako jedyną anomalią cytogenetyczną [30]. Pojawia się głównie u mężczyzn i charakteryzuje się neutrofilią z jednoczesną dysplazją, polegającą na znacznej hiposegmentacji jąder granulocytów oraz zmienną monocytosą. W bogatokomórkowym szpiku obserwuje się ponadto liczne dysplastyczne megakariocyty i zmienne włóknienie podścieliska. Przebieg kliniczny jest agresywny, z częstą transformacją do AML [30].

Kolejną, rzadko pojawiającą się jednostką chorobową zaliczaną do MDS/MPN, U jest atypowa choroba mieloproliferacyjna $5q^-/JAK2^+$. Charakteryzuje się izolowaną delecją $5q^-$ i niedokrwistością oraz cechami mieloproliferacji z podwyższoną liczbą płytek i WBC oraz występowaniem mutacji genu *JAK2-V617F* [46].

Podziękowania

Serdecznie dziękuję Panu dr. n. med. Krzysztofowi Lewandowskiemu z Kliniki Hematologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za udostępnienie zdjęć rozmazów krwi obwodowej i szpiku.

Piśmiennictwo

- Vardiman J.W. Myelodysplastic/myeloproliferative diseases: introduction. W: Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2001: 47–48.
- Orazi A., Germing U. The myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms: myeloproliferative diseases with dysplastic features. *Leukemia* 2008; 22: 1308–1319.
- Tefferi A., Elliott M.A., Pardanani A. Atypical myeloproliferative disorders: diagnosis and management. *Mayo Clin. Proc.* 2006; 81: 553–563.
- Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T. i wsp. The chronic myeloid leukaemias: guidelines for distinguishing chronic granulocytic, atypical chronic myeloid, and chronic myelomonocytic leukaemia. Proposals by the French-American-British Cooperative Leukaemia Group. *Br. J. Haematol.* 1994; 87: 746–754.
- Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008.
- Reiter A., Invernizzi R., Cross N.C., Cazzola M. Molecular basis of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 2009; 94: 1634–1638.
- Orazi A., Bennett J.M., Germing U., Brunning R.D., Bain B.J., Thiele J. Chronic myelomonocytic leukemia. W: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008: 76–79.
- Anastasi J. Myeloproliferative and “overlap” myelodysplastic/myeloproliferative diseases. W: Hsi E.D. (red.). Hematopathology. Elsevier, Philadelphia 2007: 483–485.
- Onida F., Beran M. Chronic myelomonocytic leukemia: myeloproliferative variant. *Curr. Hematol. Rep.* 2004; 3: 218–226.
- Germing U., Gattermann N., Minning H., Heyll A., Aul C. Problems in the classification of CMML-dysplastic versus proliferative type. *Leuk. Res.* 1998; 22: 871–878.
- Fenaux P., Beuscart R., Lai J.L., Jouet J.P., Bautres F. Prognostic factors in adult chronic myelomonocytic leukemia: an analysis of 107 cases. *J. Clin. Oncol.* 1988; 6: 1417–1424.
- Thiele J., Vykoupil K.F., Georgii A. Chronic myelomonocytic leukemia: light and electron microscopy of the bone marrow. *Blut.* 1979; 39: 177–190.
- Orazi A., Chiu R., O'Malley D.P. Chronic myelomonocytic leukemia: the role of bone marrow biopsy immunohistology. *Mod. Pathol.* 2006; 19: 1536–1545.
- Ngo N.T., Lampert I.A., Naresh K.N. Bone marrow trephine morphology and immunohistochemical findings in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2008; 141: 771–781.
- Xu Y., McKenna R.W., Karandikar N.J., Pildain A.J., Kroft S.H. Flow cytometric analysis of monocytes as a tool for distinguishing chronic myelomonocytic leukemia from reactive monocytosis. *Am. J. Clin. Pathol.* 2005; 124: 799–806.
- Lacronique-Gazaille C., Chaury M.P., Le Guyader A., Faucher J.L., Bordessoule D., Feuillard J. A simple method for detection of major phenotypic abnormalities in myelodysplastic syndromes: expression of CD56 in CMML. *Haematologica* 2007; 92: 859–860.
- Dunphy C.H., Orton S.O., Mantell J. Relative contributions of enzyme cytochemistry and flow cytometric immunophenotyping to the evaluation of acute myeloid leukemias with a monocytic component and of flow cytometric immunophenotyping to the evaluation of absolute monocytoses. *Am. J. Clin. Pathol.* 2004; 122: 865–874.
- Soligo D.A., Oriani A., Annaloro C. i wsp. CD34 immunohistochemistry of bone marrow biopsies: prognostic significance in primary myelodysplastic syndromes. *Am. J. Hematol.* 1994; 46: 9–17.
- Chen Y.C., Chou J.M., Letendre L., Li C.Y. Clinical importance of bone marrow monocytic nodules in patients with myelodysplasia: retrospective analysis of 21 cases. *Am. J. Hematol.* 2005; 79: 329–331.
- Johan M.F., Goodeve A.C., Bowen D.T., Frew M.E., Reilly J.T. JAK2 V617F mutation is uncommon in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2005; 130: 968.
- 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.
- Galton D.A. Haematological differences between chronic granulocytic leukaemia, atypical chronic myeloid leukaemia, and chronic myelomonocytic leukaemia. *Leuk. Lymphoma* 1992; 7: 343–350.
- Martiat P., Michaux J.L., Rodhain J. Philadelphia-negative (Ph-) chronic myeloid leukemia (CML): comparison with Ph+ CML and chronic myelomonocytic leukemia. *The Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. Blood* 1991; 78: 205–211.
- Vardiman J.W., Bennett J.M., Bain B.J., Brunning R.D., Thiele J. Atypical chronic myeloid leukaemia, *BCR-ABL1*-negative. W: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008: 80–81.
- Breccia M., Biondo F., Latagliata R., Carosino I., Mandelli F., Alimena G. Identification of risk factors in atypical chronic myeloid leukemia. *Haematologica* 2006; 91: 1566–1568.
- Oscier D. Atypical chronic myeloid leukemias. *Pathol. Biol (Paris)* 1997; 45: 587–593.
- Kurzrock R., Bueso-Ramos C.E., Kantarjian H. i wsp. BCR rearrangement-negative chronic myelogenous leukemia revisited. *J. Clin. Oncol.* 2001; 19: 2915–2926.
- Oscier D.G. Atypical chronic myeloid leukaemia, a distinct clinical entity related to the myelodysplastic syndrome? *Br. J. Haematol.* 1996; 92: 582–586.
- Hernández J.M., del Cañizo M.C., Cuneo A. i wsp. Clinical, hematological and cytogenetic characteristics of atypical chronic myeloid leukemia. *Ann. Oncol.* 2000; 11: 441–444.
- McClure R.F., Dewald G.W., Hoyer J.D., Hanson C.A. Isolated isochromosome 17q: a distinct type of mixed myeloproliferative disorder/myelodysplastic syndrome with an aggressive clinical course. *Br. J. Haematol.* 1999; 106: 445–454.
- Fend F., Horn T., Koch I., Vela T., Orazi A. Atypical chronic myeloid leukemia as defined in the WHO classification is a JAK2 V617F negative neoplasm. *Leuk. Res.* 2008; 32: 1931–1935.
- Baumann I., Bennett J.M., Niemeyer C.M., Thiele J., Shannon K. Juvenile myelomonocytic leukemia. W: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008: 82–84.

33. Niemeyer C.M., Arico M., Basso G. i wsp. Chronic myelomonocytic leukemia in childhood: a retrospective analysis of 110 cases. European Working Group on Myelodysplastic Syndromes in Childhood (EWOG-MDS). *Blood* 1997; 89: 3534–3543.
34. Kratz C.P., Niemeyer C.M., Castleberry R.P. i wsp. The mutational spectrum of PTPN11 in juvenile myelomonocytic leukemia and Noonan syndrome/myeloproliferative disease. *Blood* 2005;106: 2183–2185.
35. Side L.E., Emanuel P.D., Taylor B. i wsp. Mutations of the NF1 gene in children with juvenile myelomonocytic leukemia without clinical evidence of neurofibromatosis, type 1. *Blood* 1998; 92: 267–272.
36. Loh M.L., Vattikuti S., Schubert S. i wsp. Mutations in PTPN11 implicate the SHP-2 phosphatase in leukemogenesis. *Blood* 2004; 103: 2325–2331.
37. Flotho C., Valcamonica S., Mach-Pascual S. i wsp. RAS mutations and clonality analysis in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML). *Leukemia* 1999; 13: 32–37.
38. Emanuel P.D., Snyder R.C., Wiley T., Gopuram B., Castleberry R.P. Inhibition of juvenile myelomonocytic leukemia cell growth in vitro by farnesyltransferase inhibitors. *Blood* 2000; 95: 639–645.
39. Locatelli F., Nöllke P., Zecca M. i wsp. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML): results of the EWOG-MDS/EBMT trial. *Blood* 2005; 105: 410–419.
40. Korthof E.T., Snijder P.P., de Graaff A.A. i wsp. Allogeneic bone marrow transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: a single center experience of 23 patients. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 455–461.
41. Vardiman J.W., Bennett J.M., Bain B., Baumann I., Thiele J., Orazi A. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. W: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008: 85–86.
42. Shaw G.R. Ringed sideroblasts with thrombocytosis: an uncommon mixed myelodysplastic/myeloproliferative disease of older adults. *Br. J. Haematol.* 2005; 131: 180–184.
43. Wardrop D., Steensma D.P. Is refractory anaemia with ring sideroblasts and thrombocytosis (RARS-T) a necessary or useful diagnostic category? *Br. J. Haematol.* 2009; 144: 809–817.
44. 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.
45. Zipperer E., Wulfert M., Germing U., Haas R., Gattermann N. MPL 515 and JAK2 mutation analysis in MDS presenting with a platelet count of more than $500 \times 10^9/l$. *Ann. Hematol.* 2008; 87: 413–415.
46. Ingram W., Lea N.C., Cervera J. The JAK2 V617F mutation identifies a subgroup of MDS patients with isolated deletion 5q and a proliferative bone marrow. *Leukemia* 2006; 20: 1319–1321.