

## 1.2. Klasyfikacja i kryteria diagnostyczne nowotworów układu krwiotwórczego

Monika Prochorec-Sobieszek

### 1.2.1. Wprowadzenie

Podstawą podziału nowotworów układu krwiotwórczego jest klasyfikacja Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2016 roku. Definiuje ona poszczególne jednostki histokliniczne z uwzględnieniem cech morfologicznych, immunofenotypowych, genetycznych i innych biologicznych oraz obrazu klinicznego. Dzięki temu stanowi algorytm dla lekarza klinicysty i patologa/diagnosty pracujących w wielodyscyplinarnych zespołach w celu ustalenia rozpoznania u chorych z podejrzeniem nowotworów układu krwiotwórczego. Każda z wymienionych cech może mieć inne znaczenie w poszczególnych jednostkach histoklinicznych. Ocena morfologicznych, cytochemicznych i immunofenotypowych cech komórek nowotworowych pozwala na ustalenie ich pochodzenia liniowego i stopnia dojrzałości. Ponadto określa, czy proliferacja komórkowa jest cytologicznie prawidłowa, czy wykazuje cechy dysplazji, co wiąże się z jej efektywnością na obwodzie [1, 2].

W klasyfikacji WHO nowotwory układu krwiotwórczego pochodzące z różnych linii krwiotworzenia podzielono na nowotwory z komórek prekursorowych (blastów) bez cech dojrzewania lub z minimalnym różnicowaniem, na przykład ostre białaczki szpikowe (AML, *acute myeloid leukemia*), oraz takie, w których występuje dojrzewanie zarówno efektywne, jak i nieefektywne — odpowiednio nowotwory mieloproliferacyjne (MPN, *myeloproliferative neoplasms*) i zespoły mielodysplastyczne (MDS, *myelodysplastic syndromes*). Odsetek komórek blastycznych we krwi obwodowej, szpiku i innych tkankach zajętych procesem chorobowym ma duże znaczenie praktyczne w klasyfikacji nowotworów układu

krwiotwórczego i ocenie ich progresji. Nowotwory układu krwiotwórczego z obecnością ponad 20% komórek blastycznych są klasyfikowane jako AML. Mogą powstawać *de novo* lub jako transformacja blastyczna wcześniej zdiagnozowanych MDS, MPN lub nowotworów mielodysplastyczno-mieloproliferacyjnych (MDS/MPN, *myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms*) [1, 2].

Obecnie badania dotyczące nowotworów skupiają się na poznaniu ich cech genetycznych i nieprawidłowości molekularnych, które mogą się stać celami terapeutycznymi. Dlatego nowe doniesienia dotyczące struktury genetycznej i molekularnej nowotworów są włączane do algorytmów diagnostycznych i nazewnictwa w klasyfikacji WHO. W ciągu kilku lat poprzedzających aktualizację czwartej edycji klasyfikacji WHO odkryto wiele znaczących zaburzeń genetycznych w nowotworach układu krwiotwórczego, które przyczyniły się do zdefiniowania nowych jednostek histoklinicznych oraz określenia nowych kryteriów diagnostycznych istniejących już jednostek. Dotyczy to szczególnie podtypów AML oraz m.in. grupy nowotworów mieloidalnych i limfoidalnych z eozynofilią i rearanzacją *PDGFR $\alpha$*  (*platelet-derived growth factor receptor alpha*), *PDGFR $\beta$*  (*platelet-derived growth factor receptor beta*), *FGFR1* (*fibroblast growth factor receptor 1*) i *PCM1-JAK2* [1]. Badania cytogenetyczne i molekularne wymagane są w rozpoznaniu nie tylko w celu określenia genetycznie zdefiniowanych jednostek histoklinicznych, ale i przyczyniają się do oznaczenia czynników prognostycznych i ewentualnych celów terapeutycznych. Charakterystyczne zaburzenia genetyczne stanowią również punkt wyjściowy do monitorowania remisji i progresji choroby. Rozpoznanie nowotworów układu krwiotwórczego powinno być ustalone przed włączeniem leczenia. W tabeli 1.2.1 zestawiono nowotwory układu krwiotwórczego znajdujące się w klasyfikacji WHO z 2016 roku z uwzględnieniem nazwy polskiej, angielskiej i skróconej nazwy jednostki, z zaleceniem zastosowania tego schematu w rutynowych raportach diagnostycznych [1]. W tabeli 1.2.2 przedstawiono podgrupy nowotworów układu krwiotwórczego i ich główne cechy diagnostyczne [3].

W dalszej części rozdziału krótko scharakteryzowano podgrupy nowotworów układu krwiotwórczego. Kryteria diagnostyczne poszczególnych jednostek histoklinicznych przedstawiono w kolejnych rozdziałach.

## 1.2.2. Zalecenia diagnostyczne

Rozpoznanie nowotworów układu krwiotwórczego wymaga przeanalizowania danych: klinicznych, morfologicznych, immunofenotypowych oraz genetycznych przez klinicystę i patologa. Mimo dużego znaczenia w diagnostyce nowoczesnych badań immunofenotypowych i genetycznych morfologia komórek nowotworowych jest nadal kluczowym elementem rozpoznania. Jeśli badana próbka jest nieadekwatna do oceny morfologicznej, to powinna być pobrana powtórnie. Ważne są również prawidłowe zabezpieczenie i odpowiednie przygotowanie techniczne materiału z krwi/szpiku do badań morfologicznych, histopatologicznych, cytogenetycznych i molekularnych [3, 4].

### 1.2.2.1. Materiał

Ocena zmian w szpiku w chorobach nowotworowych układu krwiotwórczego wymaga integracji wielu informacji uwzględniających pełne dane kliniczne i wyniki badań labo-

**Tabela 1.2.1. Nowotwory układu krwiotwórczego według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2016 roku**

<b>Nieokreślony typ histologiczny (<i>histologic type cannot be assessed</i>)</b>
<b>Nowotwory mieloproliferacyjne (MPN, <i>myeloproliferative neoplasms</i>)</b>
Przewlekła białaczka szpikowa <i>BCR-ABL1</i> -dodatnia (CML <i>BCR-ABL1+</i> , <i>chronic myelogenous leukemia, BCR-ABL1 positive</i> )
Przewlekła białaczka neutrofilowa (CNL, <i>chronic neutrophilic leukemia</i> )
Czerwieńca prawdziwa (PV, <i>polycythemia vera</i> )
Pierwotna mielofibroza (PMF, <i>primary myelofibrosis</i> ) — Przedwłóknieniowa/wczesna faza PMF (PMF, <i>prefibrotic/early stage</i> )* — Włóknieniowa faza PMF (PMF, <i>overt fibrotic stage</i> )*
Nadpłytkowość samoistna (ET, <i>essential thrombocythemia</i> )
Przewlekła białaczka eozynofilowa, bliżej nieokreślona (CEL, NOS, <i>chronic eosinophilic leukemia, not otherwise specified</i> )
Nieklasyfikowalny nowotwór mieloproliferacyjny (MPN, U, <i>myeloproliferative neoplasm, unclassifiable</i> )
<b>Mastocytoza (<i>mastocytosis</i>)*</b>
Mastocytoza skórna (CM, <i>cutaneous mastocytosis</i> )
Układowa mastocytoza (SM, <i>systemic mastocytosis</i> ) — Indolentna układowa mastocytoza (ISM, <i>indolent systemic mastocytosis</i> ) — Tłąca się układowa mastocytoza (SSM, <i>smoldering systemic mastocytosis</i> )* — Układowa mastocytoza z towarzyszącą chorobą hematologiczną (SM-AHN, <i>systemic mastocytosis with an associated hematological neoplasm</i> )* — Agresywna układowa mastocytoza (ASM, <i>aggressive systemic mastocytosis</i> )
Białaczka z komórek tucznych (MCL, <i>mast cell leukemia</i> )
Mięsak z komórek tucznych (MCS, <i>mast cell sarcoma</i> )
<b>Nowotwory mieloidalne lub limfoidalne z eozynofilią i rearanzacją <i>PDGFRα</i>, <i>PDGFRβ</i> lub <i>FGFR1</i>, lub <i>PCM1-JAK2</i> (<i>myeloid and lymphoid neoplasms with eosinophilia and rearrangement of <i>PDGFRα</i>, <i>PDGFRβ</i> or <i>FGFR1</i>, or with <i>PCM1-JAK2</i></i>)*</b>
Nowotwór mieloidalny lub limfoidalny z rearanzacją <i>PDGFRα</i> ( <i>myeloid or lymphoid neoplasm with <i>PDGFRα</i> rearrangement</i> )
Nowotwór mieloidalny lub limfoidalny z rearanzacją <i>PDGFRβ</i> ( <i>myeloid or lymphoid neoplasm with <i>PDGFRβ</i> rearrangement</i> )
Nowotwór mieloidalny lub limfoidalny z rearanzacją <i>FGFR1</i> ( <i>myeloid or lymphoid neoplasm with <i>FGFR1</i> rearrangement</i> )
Nowotwór mieloidalny lub limfoidalny z rearanzacją <i>PCM1-JAK2</i> ( <i>myeloid or lymphoid neoplasm with <i>PCM1-JAK2</i> rearrangement</i> )*
<b>Nowotwory mielodysplastyczno-mieloproliferacyjne (MDS/MPN, <i>myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms</i>)</b>
Przewlekła białaczka mielomonocytoza (CMML, <i>chronic myelomonocytic leukemia</i> ) — CMML-0* — CMML-1 — CMML-2

**Tabela 1.2.1. cd. Nowotwory układu krwiotwórczego według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2016 roku**

Atypowa przewlekła białaczka szpikowa <i>BCR-ABL1</i> -ujemna (aCML <i>BCR-ABL1</i> <sup>-</sup> , <i>atypical chronic myelogenous leukemia, BCR-ABL1 negative</i> )
Młodzieńcza postać białaczki mielomonocytovej (JMML, <i>juvenile myelomonocytic leukemia</i> )
Nowotwór mielodysplastyczno-mieloproliferacyjny z obecnością pierścieniowatych syderoblastów i nadpłytkowością (MDS/MPN-RS-T, <i>myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis</i> )*
Nieklasfikowalny nowotwór mielodysplastyczno-mieloproliferacyjny (MDS/MPN, U, <i>myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm, unclassifiable</i> )
<b>Zespoły mielodysplastyczne (MDS, <i>myelodysplastic syndromes</i>)</b>
Zespół mielodysplastyczny z jednoliniową dysplazją (MDS-SLD, <i>myelodysplastic syndrome with single lineage dysplasia</i> )*
Zespół mielodysplastyczny z obecnością pierścieniowatych syderoblastów (MDS-RS, <i>myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts</i> )* — MDS-RS z jednoliniową dysplazją (MDS-RS-SLD, <i>MDS-RS and single lineage dysplasia</i> )* — MDS-RS z wieloliniową dysplazją (MDS-RS-MLD, <i>MDS-RS and multilineage dysplasia</i> )*
Zespół mielodysplastyczny z wieloliniową dysplazją (MDS-MLD, <i>myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia</i> )*
Zespół mielodysplastyczny z nadmiarem blastów (MDS-EB, <i>myelodysplastic syndrome with excess of blasts</i> )* — MDS-EB1, <i>myelodysplastic syndrome with excess of blasts 1</i> )* — MDS-EB2, <i>myelodysplastic syndrome with excess of blasts 2</i> )*
Zespół mielodysplastyczny związany z izolowaną delecją chromosomu 5q ( <i>myelodysplastic syndrome associated with isolated del[5q]</i> )
Nieklasfikowalny zespół mielodysplastyczny (MDS, U, <i>myelodysplastic syndrome, unclassifiable</i> )
Cytopenia oporna na leczenie wieku dziecięcego (RCC, <i>refractory cytopenia of childhood</i> )
<b>Nowotwory mieloidalne związane z predyspozycjami dziedzicznymi (<i>myeloid neoplasms with germ line predisposition</i>)*</b>
Nowotwory mieloidalne związane z predyspozycjami dziedzicznymi bez wcześniej istniejących chorób i dysfunkcji narządowej ( <i>myeloid neoplasms with germ line predisposition without a preexisting disorder or organ dysfunction</i> )*
Nowotwory mieloidalne związane z predyspozycjami dziedzicznymi i wcześniej istniejącymi chorobami płytek ( <i>myeloid neoplasms with germ line predisposition and preexisting platelet disorders</i> )*
Nowotwory mieloidalne związane z predyspozycjami dziedzicznymi i inną dysfunkcją narządową ( <i>myeloid neoplasms with germ line predisposition and other organ dysfunction</i> )*
<b>Ostra białaczka szpikowa i pokrewne nowotwory (AML, <i>acute myeloid leukemia and related neoplasms</i>)</b>
<b>Ostra białaczka szpikowa z powtarzalnymi nieprawidłowościami cytogenetycznymi (AML with recurrent genetic abnormalities)</b>
AML z t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> [AML with t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> ]

**Tabela 1.2.1. cd. Nowotwory układu krwiotwórczego według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, World Health Organization) z 2016 roku**

AML z inv(16)(p13.1q22) lub t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> [AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16) (p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> ]
Ostra białaczka promielocytowa z <i>PML-RARA</i> [acute promyelocytic leukemia with <i>PML-RARA</i> ]
AML z t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> [AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> ]
AML z t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> [AML with t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> ]
AML z inv(3)(q21.3q26.2) lub t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM</i> [AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM</i> ]
AML (megakarioblastyczna) z t(1;22)(p13.3;q13.1); <i>RBM15-MKL1</i> [AML (megakaryoblastic) with t(1;22) (p13.3;q13.1); <i>RBM15-MKL1</i> ]
AML z rearanzacją <i>BCR-ABL1</i> (AML with <i>BCR-ABL1</i> )*
<b>Ostra białaczka szpikowa z mutacjami genowymi (AML with gene mutation)</b>
AML z mutacją <i>NPM1</i> (AML with mutated <i>NPM1</i> )
AML z białeliczną mutacją <i>CEBPA</i> (AML with biallelic mutation of <i>CEBPA</i> )
AML z mutacją <i>RUNX1</i> (AML with mutated <i>RUNX1</i> )*
<b>Ostra białaczka szpikowa z cechami zależnymi od mielodysplazji (acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes)</b>
Z wieloliniową dysplazją (multilineage dysplasia)
Poprzedzona zespołem mielodysplastycznym (prior myelodysplastic syndrome)
Współistniejące nieprawidłowości genetyczne związane z mielodysplazją (myelodysplasia-related cytogenetic abnormalities)
<b>Nowotwory mieloidalne zależne od terapii (t-MN, therapy-related myeloid neoplasms)</b>
Ostra białaczka szpikowa zależna od terapii (t-AML, therapy-related AML)
Zespół mielodysplastyczny zależny od terapii (t-MDS, therapy-related myelodysplastic syndrome)
Nowotwór mielodysplastyczno-mieloproliferacyjny zależny od terapii (t-MDS/MPN, therapy-related myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm)
<b>Ostra białaczka szpikowa bliżej nieokreślona (AML, NOS, acute myeloid leukemia, not otherwise specified)</b>
AML z minimalnym różnicowaniem (AML with minimal differentiation)
AML bez cech dojrzewania (AML without maturation)
AML z cechami dojrzewania (AML with maturation)
Ostra białaczka mielomonocytowa (acute myelomonocytic leukemia)
Ostra białaczka monoblastyczna/monocytowa (acute monoblastic/monocytic leukemia)
Białaczka czystoczerwonokrwinkowa (pure erythroid leukemia)*
Ostra białaczka megakarioblastyczna (acute megakaryocytic leukemia)
Ostra białaczka bazofilowa (acute basophilic leukemia)
Ostra panmielozja z mielofibrozą (acute panmyelosis with myelofibrosis)

**Tabela 1.2.1. cd. Nowotwory układu krwiotwórczego według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2016 roku**

<b>Mięsak mieloidalny (<i>myeloid sarcoma</i>)</b>
<b>Mieloprolifernacje związane z zespołem Downa (<i>myeloid proliferations related to Down syndrome</i>)</b>
Przemijająca nieprawidłowa mielopojeza ( <i>transient abnormal myelopoiesis</i> )
Białaczka szpikowa związana z zespołem Downa ( <i>myeloid leukemia associated with Down syndrome</i> )
<b>Nowotwór blastyczny z plazmacytoidnych komórek dendrytycznych (BPDCN, <i>blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm</i>)</b>
<b>Ostra białaczka o nieokreślonym pochodzeniu liniowym (<i>acute leukemias of ambiguous lineage</i>)</b>
Ostra białaczka niezróżnicowana ( <i>acute undifferentiated leukemia</i> )
Ostra białaczka o mieszanym fenotypie z t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> [ <i>mixed phenotype acute leukemia with t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1</i> ]
Ostra białaczka o mieszanym fenotypie z t(v;11q23.3); rearanżacja <i>KMT2A</i> [ <i>mixed phenotype acute leukemia with t(v;11q23.3); KMT2A rearranged</i> ]
Ostra białaczka o mieszanym fenotypie, B/szpikowa, bliżej nieokreślona ( <i>mixed phenotype acute leukemia, B/myeloid, NOS</i> )
Ostra białaczka o mieszanym fenotypie, T/szpikowa, bliżej nieokreślona ( <i>mixed phenotype acute leukemia, T/myeloid, NOS</i> )
Ostra białaczka o mieszanym fenotypie bliżej nieokreślona, rzadkie podtypy ( <i>mixed phenotype acute leukemia, NOS, rare types</i> )

Jednostki tymczasowe oznaczono kolorem; \*zmiany względem klasyfikacji WHO z 2008 r.

ratoryjnych, takich jak morfologia krwi obwodowej oraz prawidłowo wykonane rozmazy krwi obwodowej i szpiku. W większości przypadków wymagane są równoległe badania: rozmazów krwi obwodowej i aspiratu szpiku oraz trepanobiopsji. Badania krwi obwodowej i szpiku powinny być wykonane przed włączeniem leczenia. Klasyfikacja WHO zaleca ocenę minimum 200 i 500 komórek odpowiednio w rozmazach z krwi obwodowej i biopsji aspiracyjnej szpiku, co zapewnia możliwość właściwej oceny zawartych w rozmazach elementów morfotycznych. Często konieczne jest przekazanie materiału uzyskanego za pomocą biopsji aspiracyjnej szpiku do immunofenotypowania metodą cytometrii przepływowej oraz badań genetycznych — metodami cytogenetyki klasycznej (kariotyp), fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH, *fluorescent in situ hybridization*) oraz genetyki molekularnej (RT-PCR, *reverse transcriptase polymerase chain reaction*). Materiał do badań cytogenetycznych powinien być pobrany do probówki z heparyną litową, natomiast do badań molekularnych i immunofenotypowych metodą cytometrii przepływowej — do probówki z antykoagulantem EDTA (*ethylenediaminetetraacetic acid*). Trepanobiopsja szpiku powinna mieć co najmniej 1,5 cm długości i jeśli to możliwe, powinna być pobrana pod kątem prostym w stosunku do kości korowej. Trepanobiopsyaty wymagają odpaw-

**Tabela 1.2.2. Nowotwory układu krwiotwórczego według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, World Health Organization) z 2016 roku — główne podgrupy i charakterystyczne cechy diagnostyczne**

Choroba	Obraz krwi obwodowej	Komórkowość szpiku	Blasty w szpiku (%)	Dojrzałość	Morfologia komórek/dysplazja	Hematopoeza	Organomegalia
MPN	Różnorodny, zwykle zwiększona liczebność jednej lub większej liczby linii krwiotworzenia	Zwykle zwiększona, w ET często prawidłowa	< 10 w fazie przewlekłej	Obecne	Linia granulocytowa i czernonokrwinkowa zwykle prawidłowe Megakariocyty nieprawidłowe: od małych w CML, pleomorficznych w PMF do bardzo dużych w ET	Efektywna	Często
Nowotwory mieloidalne lub limfoidalne z eozynofilią i rearanżacją <i>PDGFR<math>\alpha</math></i> , <i>PDGFR<math>\beta</math></i> lub <i>FGFR1</i> , lub <i>PCM1-JAK2</i>	Eozynofilia $\geq 1,5$ G/l	Zwiększona	< 20*	Obecne	Morfologia komórek zwykle prawidłowa u chorych z eozynofilią w przewlekłej fazie choroby	Efektywna	Często
MDS	Cytopenia(-e) w jednej lub większej liczbie linii krwiotworzenia	Zwiększona, czasami prawidłowa, rzadko zmniejszona	< 20	Obecne	Dysplazja w jednej lub więcej linii krwiotworzenia	Nieefektywna	Rzadko



**Tabela 1.2.2. cd. Nowotwory układu krwiotwórczego według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, World Health Organization) z 2016 roku — główne podgrupy i charakterystyczne cechy diagnostyczne**

Choroba	Obraz krwi obwodowej	Komórkowość szpiku	Blasty w szpiku (%)	Dojrzawanie	Morfologia komórek/dysplazja	Hematopoeza	Organomegalia
MDS/MPN	Różnorodny, liczba WBC często zwiększona, zwykle niedokrwistość, różnorodność na liczba PLT	Zwiększona	< 20	Obecne	Dysplazja zwykłe	Różnie, w jednej lub większej liczby linii krwiotworzenia; w JMML często minimalna dysplazja w zależności od linii	Często
AML	Liczba WBC różnorodna, zwykle niedokrwistość i małopłytkowość	Zwykle zwiększona	≥ 20, z wyjątkiem przypadków ze specyficznymi nieprawidłowościami cytogenetycznymi	Różnie, zwykle minimalne	Blasty mogą mieć cechy różnych linii krwiotworzenia i może występować dysplazja w jednej lub większej liczbie linii	Nieefektywna lub efektywna	Rzadko

\*Okolo 50% chorych z rearanizacją FGFR1 ma chłoniaka/białaczkę limfoblastyczną MPN (myeloproliferative neoplasms) — nowotwór mieloproliferacyjny; ET (essential thrombocythemia) — nadpłytkowość samoistna; CML (chronic myelogenous leukemia) — przewlekła białaczka szpikowa; PMF (primary myelofibrosis) — pierwotna mielofibroza; PDGFR $\alpha$  (platelet-derived growth factor receptor alpha) — receptor tytkopochodnego czynnika wzrostu typu alfa; PDGFR $\beta$  (platelet-derived growth factor receptor beta) — receptor tytkopochodnego czynnika wzrostu typu beta; FGFR1 (fibroblast growth factor receptor 1) — receptor fibroblastycznego czynnika wzrostu 1; MDS (myelodysplastic syndromes) — zespół mielodysplastyczny; WBC (white blood cells) — krwinki białe; PLT (platelets) — płytki krwi; JMML (juvenile chronic myelomonocytic leukaemia) — nitodzianca postać przewlekłej białaczki mielomonocytovej; AML (acute myeloid leukemia) — ostra białaczka szpikowa



nienia, ze szczególnym zwróceniem uwagi na zapewnienie optymalnego czasu, ponieważ zarówno zbyt długi, jak i zbyt krótki czas odwapnienia mogą niekorzystnie wpłynąć na jakość otrzymanych preparatów i możliwość uzyskania wiarygodnych barwień immunohistochemicznych [4, 5].

### 1.2.2.2. Barwienia cytochemiczne

W ocenie rozmazów krwi i szpiku w przypadku nowotworów układu krwiotwórczego używane są barwienia cytochemiczne. Podstawowe są barwienie May-Grunwalda-Giemsy lub podobne barwienia. W diagnostyce MDS i niektórych MPN w rozmazach krwi/szpiku wykorzystuje się barwienie błękitem pruskim na obecność żelaza. W rozpoznawaniu nowotworów układu krwiotwórczego w celu określenia przynależności liniowej komórek nowotworowych stosuje się barwienia cytochemiczne mające na celu oznaczenie aktywności mieloperoksydazy (POX, *myeloperoxidase*), oznaczenie aktywności nieswoistej esterazy (NE) z użyciem octanu alfa-naftyłu oraz oznaczenie zawartości glikogenu (reakcja PAS [*periodic acid schiff*]). Obecnie w większości tych nowotworów wykorzystanie barwień cytochemicznych nie jest konieczne ze względu na stosowanie immunofenotypowania metodą cytometrii przepływowej i immunohistochemii w ocenie przynależności liniowej komórek. Barwienie włókien retikuliny metodą Gomoriego w trepanobiopsji w celu oceny włóknienia podścieliska szpiku jest niezbędne w różnicowaniu MPN [3–5].

### 1.2.2.3. Immunofenotypowanie

Immunofenotypowanie można wykonywać metodą cytometrii przepływowej lub immunohistochemii, a każda z nich ma swoje zalety i wady. W diagnostyce AML rekomenduje się użycie co najmniej 3-kolorowej cytometrii przepływowej. Panel przeciwciał powinien być wystarczający do określenia pochodzenia liniowego nowotworu, jak również nieprawidłowego profilu antygenowego komórek nowotworowych, który potem jest wykorzystywany w ocenie choroby resztkowej. Immunohistochemia wykonywana w trepanobiopsji szpiku może być pomocna w diagnostyce nowotworów układu krwiotwórczego, ponieważ obecnie jest dostępnych wiele przeciwciał do rozpoznawania antygenów mieloidalnych i limfoidalnych. Niemniej jednak cytometria przepływowa, ze względu na to, że jest metodą szybką (pozwala na uzyskanie wyniku w ciągu kilku godzin), ilościową i jakościową oraz pozwala na równoczesną ocenę wielu antygenów, stanowi metodę z wyboru w diagnostyce ostrych białaczek. Szczegółowe immunofenotypy dla poszczególnych nowotworów układu krwiotwórczego są łatwo dostępne w wielu publikacjach hematopatologicznych, w tym w klasyfikacji WHO z 2016 roku [1, 2, 4].

### 1.2.2.4. Ocena komórek blastycznych

Badania rozmazów krwi i szpiku mają decydujące znaczenie w ocenie liczby blastów. Liczba blastów, takich jak mieloblasty, monoblasty, promonocyty i megakarioblasty (ale nie dysplastyczne megakariocyty), decyduje o rozpoznaniu AML lub transformacji blastycznej. Ekwiwalentem blastów w ostrej białaczce promielocytowej jest liczba nieprawidłowych promielocytów. Proerytoblasty nie są liczone jako blasty, z wyjątkiem rzadkich przypadków ostrej białaczki czystoczerwonokrwinkowej.

Ocena komórek blastycznych CD34+ metodą cytometrii przepływowej nie jest rekomendowana i nie powinna zastępować oceny liczby blastów w rozmazach krwi i szpiku. Nie wszystkie blasty wykazują ekspresję CD34, a domieszka krwi obwodowej i artefakty związane z obróbką materiału mogą być przyczyną złej interpretacji właściwej liczby tych komórek. Jeśli jednak liczba blastów CD34+ w badaniu cytometrii przepływowej jest większa niż w rozmazach krwi i szpiku, wymagana jest powtórna ocena obu badań w celu wyjaśnienia przyczyn różnicy. Gdy aspiraty są niediagnostyczne z powodu włóknienia lub wybitnie bogatokomórkowego szpiku, pomocne w ocenie liczby blastów może być immunohistochemiczne barwienie trepanobiopsji antygenem CD34 (jeśli blasty są CD34+) [3].

### 1.2.2.5. Badania cytogenetyczne i molekularne

W klasyfikacji WHO z 2016 roku nowotworów układu krwiotwórczego szczególnie zaakcentowano wartość badań cytogenetycznych i molekularnych. Bardziej niż kiedykolwiek przedtem wyniki analiz cytogenetycznych są przydatne w rozpoznawaniu poszczególnych nowotworów. Ponadto w niektórych jednostkach nieprawidłowości molekularne stanowią cel terapeutyczny. W praktyce większość AML definiuje się na podstawie cytogenetycznych nieprawidłowości. Świadomość znaczenia badań cytogenetycznych i molekularnych oraz znajomość techniki tych badań (kariotyp, FISH, reakcja polimerazy łańcuchowej [PCR, *polymerase chain reaction*]) pozwalają na zabezpieczenie możliwości ich wykonania równoległe z pobieraniem materiału biopsyjnego szpiku. Badania metodą FISH można również wykonywać z materiału pochodzącego z wysuszonych na powietrzu, nieutrwalonych rozmazów, natomiast do odzyskania DNA należy zeszkrobać część takiego preparatu. Ocena kariotypu wymaga założenia hodowli komórek, dlatego materiał do tego badania musi być świeży. Ocenia się co najmniej 20 metafaz z hodowli komórek szpiku. Wskazana jest ocena kariotypu z komórek szpiku przy pierwszym rozpoznaniu. Ponowne badania kariotypu pozwalają na ocenę odpowiedzi na leczenie lub obserwację ewolucji genetycznej. Dodatkowe badania genetyczne, takie jak FISH, RT-PCR, należy wykonywać, kierując się wynikami kariotypu i w przypadku podejrzenia określonego rozpoznania na podstawie danych klinicznych, wyników badań morfologicznych i immunofenotypowych. Rekomendowane są badanie duplikacji *FLT3-ITD*, genów fuzyjnych charakteryzujących podtypy AML, oraz analiza mutacji w genach *NPM1*, *CEBPA* i *RUNX1* we wszystkich AML bez zaburzeń cytogenetycznych. Obecność mutacji *JAK2 V617F* oraz *CALR* i *MPL W515L* (przy braku mutacji *JAK2 V617F*) należy oceniać we wszystkich MPN *BCR-ABL1*-ujemnych. Ocena stanu mutacji genów *KIT*, *NRAS*, *PTNP11* i innych powinna mieć kliniczne uzasadnienie [3, 4].

### 1.2.2.6. Raport diagnostyczny

Ze względu na konieczność wielodyscyplinarnego rozpoznawania i klasyfikacji nowotworów układu krwiotwórczego zaleca się, aby różne badania diagnostyczne były skorelowane z wynikami badań klinicznych i odnotowane w jednym zintegrowanym raporcie (załącznik 1). Jeśli nie można rozpoznać danej jednostki chorobowej, raport powinien wskazywać przyczyny i sugerować dalsze badania dodatkowe, które doprowadzą do prawidłowej diagnozy. W celu zapewnienia wysokiej jakości diagnostyki nowotworów układu

krwiotwórczego konieczna jest współpraca w wielodyscyplinarnym zespole doświadczonego patomorfologa specjalizującego się w hematopatologii z hematologiem prowadzącym danego pacjenta [4, 5].

### 1.2.3. Nowotwory mieloproliferacyjne

Nowotwory mieloproliferacyjne są klonalnymi chorobami komórek macierzystych szpiku, które charakteryzują się proliferacją jednej lub więcej linii krwiotworzenia: granulocytowej, czerwonekwinowej, megakariocytowej lub komórek tłuszczowych. Grupa ta obejmuje następujące jednostki histokliniczne: przewlekłą białaczkę szpikową (CML, *chronic myelogenous leukemia*), przewlekłą białaczkę neutrofilową (CNL, *chronic neutrophilic leukemia*), czerwienicę prawdziwą (PV, *polycythemia vera*), pierwotną mielofibrozę (PMF, *primary myelofibrosis*), nadpłytkowość samoistną (ET, *essential thrombocythemia*) i przewlekłą białaczkę eozynofilową (CEL, *chronic eosinophilic leukemia*) [1]. W początkowych fazach MPN szpik jest bogatokomórkowy i cechuje się efektywnym rozrostem komórek poszczególnych linii krwiotworzenia, które wykazują zachowane dojrzewanie. Powoduje to zwiększenie liczby granulocytów, krwinek czerwonych i/lub płytek krwi we krwi obwodowej. Często występuje powiększenie śledziony i wątroby. Nowotwory mieloproliferacyjne mogą ulegać stopniowej progresji, która polega na włóknieniu podścieliska szpiku, nieefektywnej hematopoezie i transformacji blastycznej. Obecność 10–19% blastów we krwi obwodowej lub szpiku świadczy o fazie akceleracji MPN, a występowanie więcej niż 20% komórek blastycznych odpowiada rozpoznaniu fazy blastycznej [3].

Przewlekłą białaczkę szpikową można uznać za modelowy nowotwór, w którym w pełni zastosowano założenia klasyfikacji WHO. Jest ona rozpoznawana na podstawie obrazu klinicznego, wyników badań laboratoryjnych i cech morfologicznych oraz jest konsekwentnie związana ze specyficznym zaburzeniem genetycznym — obecnością chromosomu Filadelfia [t(9;22)(q34;q11)] — i genem fuzyjnym *BCR-ABL1*. Produktem powstałego w wyniku translokacji genu fuzyjnego *BCR-ABL1* jest białko fuzyjne BCR-ABL1 o aktywności kinazy tyrozynowej, które różnymi szlakami komórkowymi wpływa na proliferację, przeżycie i różnicowanie komórek nowotworowych. Kinaza tyrozynowa BCR-ABL1 stanowi cel terapeutyczny i zastosowanie jej inhibitorów pozwala na wydłużenie życia chorych na CML. Zgodnie z rekomendacjami klasyfikacji WHO rozpoznanie CML nie może opierać się tylko na jednym parametrze, ponieważ inne białaczki szpikowe mogą przypominać klinicznie i morfologicznie CML, a gen fuzyjny *BCR-ABL1* współwystępuje również w niektórych przypadkach ostrej białaczki limfoblastycznej i AML o mieszanym fenotypie [6].

Nowotwory mieloproliferacyjne *BCR-ABL1*-ujemne, takie jak PV, PMF i ET, rozpoznawane są na podstawie kryteriów obejmujących obraz kliniczny, badania laboratoryjne, cechy morfologiczne i histopatologiczne (morfologia i topografia megakariocytów, zmiany w podścielisku i identyfikacja linii komórkowych ulegających proliferacji). Mutacje genu *JAK2* V617F lub rzadziej podobne nieprawidłowości genetyczne, takie jak mutacja *JAK2* w eksonie 12., mutacje *MPL* W515L/K, potwierdzają nowotworowy charakter proliferacji i znacznie ułatwiają diagnostykę w większości przypadków PV oraz w około 50% PMF i ET. W ostatnich badaniach podkreśla się rolę diagnostyczną mutacji somatycznych genu kodującego kalretikulinę (*CALR*, *calreticulin*), które występują w 70–84% przypadków PMF

i ET bez mutacji *JAK2* oraz bez mutacji *MPL* [7]. Zwraca się również uwagę na potencjalne znaczenie diagnostyczne mutacji innych genów, takich jak *TET2* (*methylcytosine dioxygenase 2*), *IDH1* (*isocitrate dehydrogenase 1*), *IDH2*, *ASXL1* (*additional sex combs-like 1*), *EZH2* (*enhancer of zeste homologue 2*) i *DNMT3A* (*DNA methyltransferase 3A*) w patogenezie *BCR-ABL1*-ujemnych MPN [8]. Chociaż te 3 jednostki mają wiele wspólnych cech patogenetycznych, takich jak między innymi mutacje w obrębie genu *JAK2* oraz nakładające się cechy morfologiczne, to różnią się rokowaniem, ryzykiem progresji do mielofibrozy i transformacji do AML oraz sposobem postępowania terapeutycznego.

Rozpoznanie przewlekłej białaczki eozynofilowej jest rozpoznaniem z wykluczenia (brak zaburzeń *PDGFR $\alpha$* , *PDGFR $\beta$* , *FGFR1*, *PCM1-JAK2* i genu *BCR-ABL1*). W przypadku braku tych zaburzeń genetycznych oraz nieobecności genu fuzyjnego *BCR-ABL1* należy rozpoznać CEL, NOS, która dalej jest klasyfikowana w grupie MPN.

Przewlekła białaczka neutrofilowa jest silnie związana z mutacją w genie *CSF3R* [9].

W części MPN nadal nie są znane charakterystyczne zaburzenia genetyczne, a rozpoznanie opiera się na kryteriach klinicznych i morfologicznych. Podsumowując, można stwierdzić, że algorytm diagnostyczny poszczególnych MPN obejmuje: obraz kliniczny, wyniki badań laboratoryjnych, cechy histopatologiczne oraz w większości przypadków — obecność nieprawidłowości genetycznych. Niewątpliwie kryteria te będą się zmieniały w przyszłości wraz z postępowaniem w badaniach nad patogenezą MPN [10].

## 1.2.4. Mastocytoza

W nowej klasyfikacji WHO 2016 mastocytoza nie będzie już podgrupą MPN, ze względu na swoje unikatowe cechy kliniczne i patomorfologiczne. Będzie stanowić oddzielną kategorię obejmującą następujące jednostki histokliniczne: mastocytozę skórną (CM, *cutaneous mastocytosis*), mastocytozę układową (SM, *systemic mastocytosis*) z podziałem na indolentną układową mastocytozę (ISM, *indolent systemic mastocytosis*), tłącą się układową mastocytozę (SSM, *smoldering systemic mastocytosis*), układową mastocytozę z towarzyszącą chorobą hematologiczną (SM-AHN, *systemic mastocytosis with an associated hematological neoplasm*), agresywną układową mastocytozę (ASM, *aggressive systemic mastocytosis*) i białaczkę z komórek tucznych (MCL, *mast cell leukemia*) oraz mięsaka z komórek tucznych (MCS, *mast cell sarcoma*). Mastocytoza niemal zawsze jest związana z mutacją D816V w genie *KIT* [11].

## 1.2.5. Nowotwory mieloidalne lub limfoidalne z eozynofilią i nieprawidłowościami *PDGFR $\alpha$* , *PDGFR $\beta$* lub *FGFR1*, lub *PCM1-JAK2*

Nowotwory te obejmują 4 bardzo rzadko występujące grupy chorób, które są wynikiem zaburzeń genetycznych prowadzących do powstania genów fuzyjnych kodujących nieprawidłowe kinazy tyrozynowe. Nowotwory związane z rearanżacją *PDGFR $\alpha$*  i *FGFR1* pochodzą ze zmutowanej pluripotencjalnej (limfoidalno-mieloidalnej) komórki macierzystej; najprawdopodobniej dotyczy to również nowotworów związanych z zaburzeniami *PDGFR $\beta$* . Wydzielenie tej jednostki miało aspekt praktyczny, ponieważ chorzy z rearanża-

cją *PDGFR $\alpha$* , *PDGFR $\beta$* , *PCM1-JAK2* (ale nie *FGFR1*) charakteryzują się wrażliwością na leczenie inhibitorami kinaz tyrozynowych. Wszystkie 4 choroby mają obraz kliniczny i cechy morfologiczne MPN, rzadziej jest to chłoniak/białaczka limfoblastyczna. Eozynofilia jest cechą charakterystyczną, ale nie występuje we wszystkich przypadkach. Obraz kliniczny i morfologiczny zależą również od typu rearanżacji.

Rearanżacje *PDGFR $\alpha$*  stwierdzano w chorobach o cechach CEL z wyraźną proliferacją komórek tucznych i sporadycznie linii granulocytowej, a także w przypadkach diagnozowanych poprzednio jako zespół hipereozynofilowy. Rzadziej obserwowano AML lub chłoniaka limfoblastycznego z komórek T ze współistniejącą eozynofilią i proliferacją z komórek tucznych. Rearanżacje *PDGFR $\beta$*  po raz pierwszy stwierdzono w przypadkach diagnozowanych jako przewlekła białaczka mielomonocytoza (CMML, *chronic myelomonocytic leukemia*) z eozynofilią lub jako CEL. Rearanżacje *FGFR1* zidentyfikowano w mieloproliferacjach ze znaczną eozynofilią, takich jak zespół mieloproliferacyjny z translokacją 8p11.2, a także u chorych z początkowo rozpoznawaną białaczką/chłoniakiem limfoblastycznym z komórek B lub T związanych z eozynofilią, które następnie transformowały w nowotwory mieloidalne z eozynofilią i *vice versa* [2]. Nowotwór mieloidalny lub limfoidalny z translokacją t(8;9)(p22;p24.1); *PCM1-JAK2* jest nową, tymczasową jednostką histokliniczną w tej grupie charakteryzującą się eozynofilią i zmianami w szpiku obejmującymi hiperplazję odmłodzonej linii czerwonekrwinkowej i często włóknienie szpiku przypominające PMF. Jednostka ta rzadko ma prezentację kliniczną białaczki limfoblastycznej T- lub B-komórkowej [12]. Rozpoznanie choroby związanej z rearanżacją *PDGFR $\alpha$*  wymaga badań molekularnych pozwalających na wykrycie mikrodelecji chromosomu 4q12 obserwowanej w większości przypadków; w chorobach związanych z rearanżacją *PDGFR $\beta$*  i *FGFR1* wystarczającą jest ocena kariotypu.

Wyjaśnienie znacznej, stale utrzymującej się eozynofilii (> 1,5 G/l) we krwi obwodowej zazwyczaj stanowi wyzwanie diagnostyczne ze względu na szeroki krąg różnicowy obejmujący zarówno choroby nowotworowe, jak i stany reaktywne. W przebiegu eozynofilii granulocyty kwasochłonne mogą być komórkami klonalnymi i wtedy stanowią element takich jednostek chorobowych, jak CEL, CML, CMML, AML lub opisane wcześniej jednostki. Eozynofilia może być również reaktywna i pojawiać się w przebiegu zakażeń pasożytniczych, alergii, chorób płuc (zespół Loefflera), układowych chorób tkanki łącznej i choroby Kimury. Ponadto reaktywna eozynofilia przypominająca CEL może stanowić odczyn na nieprawidłowe cytokiny uwalniane w przebiegu chłoniaków z komórek T, chłoniaka Hodgkina, ostrej białaczki limfoblastycznej i układowej mastocytozy. U części chorych nie można wyjaśnić przyczyny eozynofilii ani wykazać klonalności procesu. Takie przypadki powinny być klasyfikowane jako idiopatyczny zespół hipereozynofilowy [13].

### 1.2.6. Nowotwory mielodysplastyczno-mieloproliferacyjne

Nowotwory mielodysplastyczno-mieloproliferacyjne są rzadko występującymi klonalnymi nowotworami układu krwiotwórczego, które w momencie rozpoznania wykazują cechy zarówno dysplazji, jak i proliferacji, co uniemożliwia ich jednoznaczne zakwalifikowanie do MDS lub MPN. Do MDS/MPN zalicza się: CMML, atypową przewlekłą białaczkę szpikową (aCML, *atypical chronic myelogenous leukemia*) *BCR-ABL1*-ujemną, młodzieńczą

postać białaczki mielomonocytovej (JMML, *juvenile myelomonocytic leukemia*) i nowotwór mielodysplastyczno-mieloproliferacyjny z obecnością pierścieniowatych syderoblastów i nadpłytkowością (MDS/MPN-RS-T, *myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis*) [1].

Nowotwory mielodysplastyczno-mieloproliferacyjne zwykle charakteryzują się obrazem bogatokomórkowego szpiku z proliferacją jednej lub więcej linii krwiotworzenia; jeśli proliferacja jest efektywna, stwierdza się zwiększenie liczby odpowiednich elementów morfotycznych we krwi obwodowej. Jednocześnie jedna linia krwiotworzenia lub więcej linii mogą się charakteryzować nieefektywną proliferacją i dysplazją skutkującą cytopenią. Większość jednostek w tej kategorii odznacza się leukocytozą, niedokrwistością i małopłytkowością oraz zmiennie wyrażonymi cechami morfologicznej dysplazji. Odsetek komórek blastycznych jest zawsze mniejszy niż 20%. Często występuje powiększenie śledziony i wątroby. Cechy kliniczne i wyniki badań laboratoryjnych nie są stałe i mogą przypominać zarówno MPN, jak i MDS. Na przykład niektóre przypadki CMML przebiegają z leukopenią i nieznacznie podwyższoną liczbą monocytów we krwi obwodowej; są to cechy przemawiające bardziej za MDS. Natomiast u części chorych na CMML obserwuje się cechy typowe dla MPN, między innymi znaczną leukocytozę, organomegalię i włóknienie szpiku. Do kategorii MDS/MPN nie powinny być zaliczane przypadki z obecnością genu fuzyjnego *BCR-ABL1* lub rearanżacją *PDGFRβ*, *PDGFRα*, *FGFR1* i *PCM1-JAK2* (w tym CMML z eozynofilią). Rzadkie przypadki CMML z eozynofilią bez tych rearanżacji są klasyfikowane w kategorii MDS/MPN. Nie powinno się także klasyfikować w tej jednostce chorych z wcześniej zdiagnozowanym MPN, w którego przebiegu pojawiła się dysplazja lub nieefektywna hematopoeza jako wynik progresji choroby lub leczenia chemioterapią [14].

W około 80% przypadków CMML występują mutacje genów *SRSF2*, *TET2* i/lub *ASXL1*. Mutacje genów *SETBP1*, *NRAS*, *KRAS*, *RUNX1*, *CBL* i *EZH2* są rzadziej obserwowane. W więcej niż 1/3 przypadków aCML opisano mutacje *SETBP1* i/lub *ETNK1*; mutacje *CSF3R* występują bardzo rzadko. W JMML niemal 90% chorych wykazuje wzajemnie wykluczające się mutacje genów *PTPN11*, *NRAS*, *KRAS*, *CBL* lub *NF1*, które aktywują ścieżkę sygnałową zależną od *RAS/MAPK*. Nieklasyfikowalny MDS/MPN (MDS/MPN,U) jest jednostką, w której w chwili rozpoznania spełnione są kryteria MDS/MPN polegające na nakładaniu się cech proliferacji i dysplazji oraz jednocześnie wykluczone są CMML, aCML, JMML i MDS/MPN-RS-T. Nowotwór mielodysplastyczno-mieloproliferacyjny z obecnością pierścieniowatych syderoblastów i nadpłytkowością (MDS/MPN-RS-T) uznano w klasyfikacji WHO 2016 za jednostkę histokliniczną; wcześniej była to jednostka tymczasowa w grupie MDS/MPN, U. Zgodnie z najnowszymi danymi występują w nim genetycznie kombinacje mutacji *SF3B1* i *JAK2V617F* lub rzadziej *SF3B1* i *CALR*, lub *MPL*, co stanowi biologiczne wyjaśnienie hybrydowej natury tego rzadkiego nowotworu [15].

### 1.2.7. Zespoły mielodysplastyczne

Stanowią heterogenną grupę klonalnych chorób nowotworowych z komórek macierzystych szpiku, które charakteryzują się cytopeniami obwodowymi (niedokrwistość, małopłytkowość i/lub granulopenia), dysplazją w jednej lub większej liczbie linii krwiotworzenia, nieefektywną hematopoezą i skłonnością do transformacji w AML. Według nowej



klasyfikacji WHO 2016 w zależności od wartości odsetkowej blastów we krwi obwodowej i szpiku, liczby i rodzaju linii komórkowych wykazujących cechy dysplazji, obecności syderoblastów pierścieniowatych, pałeczek Auera i w wybranych przypadkach charakterystycznych zaburzeń genetycznych MDS dzieli się na: zespół mielodysplastyczny z jednoliniową dysplazją (MDS-SLD, *myelodysplastic syndrome with single lineage dysplasia*), zespół mielodysplastyczny z obecnością pierścieniowatych syderoblastów (MDS-RS), zespół mielodysplastyczny z wieloliniową dysplazją (MDS-MLD, *myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia*), zespół mielodysplastyczny z nadmiarem blastów (MDS-EB, *myelodysplastic syndrome with excess of blasts*) i zespół mielodysplastyczny związany z izolowaną delecją chromosomu 5q [*myelodysplastic syndrome associated with isolated del(5q)*]. W zaktualizowanej klasyfikacji WHO wprowadzono zmiany dotyczące nazewnictwa MDS — określenie „niedokrwistość i cytopenia oporna na leczenie” zastąpiono sformułowaniem „zespół mielodysplastyczny” [1, 16].

W MDS obserwuje się jednocześnie nieefektywną proliferację i apoptozę komórek układu krwiotwórczego, czego wynikami są szpik bogatokomórkowy lub o prawidłowej komórkowości i obwodowe cytopenie. Rozpoznanie MDS można w większości przypadków ustalić na podstawie charakterystycznych cech klinicznych i morfologicznych, takich jak występowanie cytopenii, której towarzyszy morfologiczna dysplazja komórek układu krwiotwórczego oraz w części przypadków zwiększona liczba blastów we krwi obwodowej i szpiku. U około 50% chorych obserwuje się zmiany cytogenetyczne, które charakteryzują się najczęściej utratą materiału genetycznego. Niemniej jednak rozpoznanie MDS jest trudne i stanowi największe wyzwanie w diagnostyce nowotworów układu krwiotwórczego, głównie ze względu na możliwość występowania nienowotworowych wtórnych dysplazji morfologicznie podobnych do MDS. Rozpoznanie wtórnej mielodysplazji należy szczególnie rozważyć, gdy dysplazja jest niewielka i dotyczy jednej linii krwiotworzenia. Wtórna lub przejściowa dysplazja morfologicznie przypominająca MDS może wynikać z: niedoborów żywieniowych, działania leków, czynników wzrostu, substancji toksycznych oraz towarzyszy zapaleniom lub infekcjom. Znajomość danych klinicznych jest kluczowa w różnicowaniu wtórnej dysplazji z procesem nowotworowym. Ponadto w przebiegu MDS szpik może być ubogokomórkowy lub charakteryzować się zwłókniałym podścieliskiem; obraz ten sugeruje rozpoznanie hipoplazji/aplazji szpiku lub mielofibrozy i może być przyczyną błędnej diagnozy.

W zaktualizowanej klasyfikacji WHO oprócz sformułowania minimalnych diagnostycznych kryteriów morfologicznych MDS, do kryteriów jednostek wprowadzono nowe mutacje genetyczne. Występowanie korzystnej rokowniczo mutacji *SF3B1* umożliwia rozpoznanie MDS-RS przy mniejszym niż 15% odsetku pierścieniowatych syderoblastów. Przyczyną wprowadzenia tej zmiany jest związek między występowaniem pierścieniowatych syderoblastów a mutacją *SF3B1* [17]. Utrzymano tymczasową jednostkę: tak zwaną cytopenię oporną na leczenie wieku dziecięcego (RCC, *refractory cytopenia of childhood*). Dotyczy ona dzieci z MDS, u których potwierdzono cytopenię, wieloliniową dysplazję, mniej niż 2% blastów we krwi obwodowej i poniżej 5% blastów w szpiku. W odróżnieniu od MDS z opornymi na leczenie cytopeniami u dorosłych większość przypadków MDS dziecięcych charakteryzuje się ubogokomórkowym szpikiem, co stanowi przyczynę trudności diagnostycznych w różnicowaniu z niedokrwistością aplastyczną i wrodzonymi zespołami

niewydolności szpiku. Wszystkie inne przypadki MDS u dzieci klasyfikowane są według schematu stosowanego u dorosłych [18].

### 1.2.8. Nowotwory mieloidalne związane z predyspozycjami dziedzicznymi

Nowotwory mieloidalne związane z predyspozycjami dziedzicznymi są nową kategorią w klasyfikacji WHO 2016, która obejmuje przypadki MDS, MDS/MPN i AML rozwijające się na podłożu dziedzicznych mutacji. Większość mutacji germinalnych u tych chorych jest podobna do mutacji nabytych w przebiegu MDS, MDS/MPN i AML. Obecność mutacji germinalnych powinna być odnotowana w raporcie diagnostycznym i stanowić podstawę do badania przesiewowego rodzin chorych w celu wykrycia genetycznych predyspozycji zachorowania na te nowotwory [19].

### 1.2.9. Ostre białaczki szpikowe

Ostre białaczki szpikowe są grupą nowotworów polegających na klonalnej proliferacji i kumulacji morfologicznie i czynnościowo niedojrzałych mieloidalnych komórek blastycznych we krwi obwodowej, szpiku i innych tkankach. Choroby te są heterogenne klinicznie, morfologicznie i genetycznie, a rozrost może dotyczyć jednej lub wszystkich linii krwiotworzenia. Podstawą rozpoznania AML jest obecność co najmniej 20% blastów (mieloblastów i/lub monoblastów/promonocytów, i/lub megakarioblastów) we krwi obwodowej lub szpiku. Rozpoznanie mięsaka mieloidalnego, pozaszpikowego guza zbudowanego z mieloidalnych komórek blastycznych, jest równoznaczne z rozpoznaniem AML niezależnie od liczby blastów we krwi obwodowej lub szpiku. Ostrą białaczkę szpikową można również rozpoznać, jeśli odsetek blastów we krwi i/lub szpiku jest mniejszy niż 20%, ale występują następujące nieprawidłowości chromosomalne:  $t(8;21)(q22;q22)$ ,  $inv(16)(p13.1q22)$ ,  $t(16;16)(p13.1;q22)$  lub  $t(15;17)(q22;q12)$  [3].

W klasyfikacji WHO z 2016 roku zmiany genetyczne obejmujące translokacje i mutacje chromosomalne są skorelowane z charakterystycznymi cechami morfologicznymi i obrazem klinicznym, tworząc jednostki kliniczno-patologiczno-genetyczne. Rearanżacje lub mutacje genów, które w prawidłowych warunkach kodują czynniki transkrypcyjne ważne dla różnicowania i dojrzewania komórek szpikowych, takie jak *RUNX1*, *RARA*, *CBFB* lub *NPM1*, mogą zaburzać dojrzewanie i różnicowanie komórek białaczkowych, podczas gdy mutacje genów związanych ze szlakami przekazywania sygnału, takie jak *FLT3*, *JAK2*, *RAS* lub *KIT*, mogą być odpowiedzialne za nieprawidłową proliferację lub przeżycie komórek nowotworowych. Często kombinacje tych nieprawidłowości prowadzą do rozwoju AML z odrębnymi cechami klinicznymi i morfologicznymi oraz z określonym czasem przeżycia. Badania dotyczące roli mutacji genetycznych mają szczególne znaczenie w największej podgrupie chorych na AML charakteryzujących się prawidłowym kariotypem. Zaburzenia genetyczne w AML są podstawą ich klasyfikacji, dostarczają informacji dotyczących rokowania i sposobu leczenia oraz najprawdopodobniej będą prowadzić do rozwoju nowych, bardziej skutecznych terapii celowanych [20, 21].

Zmiany względem poprzedniej klasyfikacji WHO dotyczą między innymi aktualizacji nazw genów (zmiana nazwy *MLL* na *KMT2A*), nazw jednostek (zmiana APL z  $t(15;17)$



(q22;q12); *PML-RARA* na APL z *PML-RARA* oraz AML z inv(3)(q21q26.2) lub t(3;3)(q21;q26.2); *RPN1-EVI1* na AML z inv(3)(q21.3q26.2) lub t(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2*, *MECOM*), co wynika z lepiej poznanej biologii tych nowotworów. Wprowadzono jednostki tymczasowe AML z *BCR-ABL1* i AML z mutacją *RUNX1*, w celu zwrócenia uwagi na możliwość leczenia inhibitorami kinaz tyrozynowych w pierwszym przypadku i odrębność biologiczną związaną również z gorszym rokowaniem w drugiej jednostce. Ponadto z kategorii AML, NOS została usunięta erytroleukemia (*erythroid/myeloid*); jedynym podtypem AML z rozrostem linii czerwonych w nowej klasyfikacji jest białaczka czystoczerwono-krwinkowa [1].

W klasyfikacji AML według WHO różne cechy mogą mieć znaczenie przy definiowaniu jednostek w jednej podgrupie chorób. W AML z powtarzalnymi nieprawidłowościami genetycznymi kluczem są morfologia i zaburzenia genetyczne. W AML z cechami zależnymi od mielodysplazji morfologia, historia choroby i cytogenetyka mają równorzędne znaczenie w definiowaniu jednostek. W AML zależnej od terapii najważniejszym czynnikiem kwalifikującym do tej grupy nowotworów jest wywiad wskazujący na wcześniejsze leczenie cytotoksyczne. Ostra białaczka szpikowa bliżej nieokreślona (AML, NOS, *acute myeloid leukemia, not otherwise specified*) obejmuje heterogenną grupę chorób i jest klasyfikowana głównie na podstawie morfologii; nie ma tu jednostek diagnozowanych na podstawie odrębnych cech klinicznych, immunofenotypowych lub genetycznych. Najprawdopodobniej grupa ta będzie coraz mniejsza dzięki rozwojowi wiedzy i definiowaniu nowych specyficznych genetycznie podtypów AML [3].

### 1.2.10. Ostre białaczki o nieokreślonym pochodzeniu liniowym

Do grupy tych nowotworów należą białaczki, których nie można zaliczyć do nowotworów wywodzących się z mielopoety lub z limfopoety. Klasyfikacja WHO określa kryteria diagnostyczne dla ostrej białaczki o mieszanym fenotypie (MPAL, *mixed phenotype acute leukemia*). Obecnie zdefiniowane są genetyczne pogrupy MPAL z podkreśleniem biologicznego i klinicznego znaczenia rearanżacji *BCR-ABL1* i *KMT2A* w tych chorobach [1].

#### Załącznik 1. Raport synoptyczny — nowotwory układów krwiotwórczego i chłonnego zajmujące szpik (zmodyfikowano wg *College of American Pathologists*)

<b>I. Procedura</b>
Biopsja aspiracyjna szpiku Trepanobiopsja szpiku Inne: ...
<b>II. Materiał</b>
Rozmaz krwi obwodowej Rozmaz szpiku Aspirat szpiku ( <i>cell block</i> ) Trepanobiopsja szpiku (histopatologia) Trepanobiopsja szpiku ( <i>imprint</i> ) Inne: ...



**Załącznik 1. cd. Raport synoptyczny — nowotwory układów krwiotwórczego i chłonnego zajmujące szpik (zmodyfikowano wg *College of American Pathologists*)**

<b>III. Miejsce pobrania (aspirat)</b>
Prawy kolec biodrowy Lewy kolec biodrowy Mostek Inne: ...
<b>IV. Miejsce pobrania (biopsja)</b>
Prawy kolec biodrowy Lewy kolec biodrowy Inne: ...
<b>V. Typ histologiczny nowotworów układu krwiotwórczego i chłonnego według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, <i>World Health Organization</i>) z uwzględnieniem nazwy polskiej, angielskiej i skróconej</b>
...
<b>VI. Barwienia cytochemiczne</b>
Wykonywano, <i>patrz</i> oddzielny raport Rodzaje barwień i podsumowanie wyników ... Nie wykonywano: ...
<b>VII. Immunofenotypowanie (immunohistochemia, cytometria przepływowa)</b>
Wykonywano, <i>patrz</i> oddzielny raport Metoda i podsumowanie wyników ... Nie wykonywano: ...
<b>VIII. Badania cytogenetyczne</b>
Wykonywano, <i>patrz</i> oddzielny raport Metoda i podsumowanie wyników ... Nie wykonywano: ...
<b>IX. Fluorescencyjna hybrydyzacja <i>in situ</i></b>
Wykonywano, <i>patrz</i> oddzielny raport Metoda i podsumowanie wyników ... Nie wykonywano: ...
<b>X. Badania molekularne:</b>
Wykonywano, <i>patrz</i> oddzielny raport Metoda i podsumowanie wyników ... Nie wykonywano: ...
Uwagi: ...

Uwaga! Wskazane jest zastosowanie rozpoznania wstępnego — ostra białaczka szpikowa bliżej nieokreślona (AML, NOS, *acute myeloid leukemia, not otherwise specified*) lub białaczka/chłoniak limfoblastyczny z komórek B, bliżej nieokreślony (B-ALL/ /LBL, NOS, *B lymphoblastic leukemia/lymphoma, not otherwise specified*) przed uzyskaniem wyników badań genetycznych, jeśli przypadki nie spełniają kryteriów innych podtypów ostrych białaczek

## Piśmiennictwo

1. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R. i wsp. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127: 2391–405.
2. Swerdlow S., Campo E., Harris N. i wsp. (red.). WHO Classification of tumours of haemato- poietic and lymphoid tissues. Revised 4<sup>th</sup> ed. IARC Press, Lyon 2017.
3. Jaffe E.S., Harris N.L., Vardiman J.W. i wsp. (red.). Hematopathology. Saunders/Elsevier, Philadelphia 2016.
4. Hussong J.W., Arber D.A., Bradley K.T. i wsp. Protocol for the examination of specimens from patients with hematopoietic neoplasms involving the bone marrow. W: Reporting on cancer specimens: case summaries and background documentation. college of american pathologists. Protocol web posting date 2012.
5. Prochorec-Sobieszek M., Jesionek-Kupnicka D., Rymkiewicz G. Nowotwory układu chłonnego i krwiotwórczego. *Pol. J. Pathol.* 2015; 66 (suplement 1): 68–74.
6. Hochhaus A., O'Brien S.G., Guilhot F. i wsp. Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2009; 23: 1054–1061.
7. Klampfl T., Gisslinger H., Harutyunyan A.S. i wsp. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369: 2379–2390.
8. Shih A.H., Abdel-Wahab O., Patel J.P. i wsp. The role of mutations in epigenetic regulators in myeloid malignancies. *Nat. Rev. Cancer* 2012; 12: 599–612.
9. Gotlib J., Maxson J.E., George T.I., Tyner J.W. The new genetics of chronic neutrophilic leukemia and atypical CML: implications for diagnosis and treatment. *Blood* 2013;122: 1707–1711.
10. Lewandowski K. Diagnostyka różnicowa przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych Philadelphia-ujemnych. *Hematologia* 2010; 1: 59–70.
11. Valent P., Horny H.P., Escribano L. i wsp. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk. Res.* 2001; 25: 603–625.
12. Patterer V., Schnittger S., Kern W. i wsp. Hematologic malignancies with PCM1-JAK2 gene fusion share characteristics with myeloid and lymphoid neoplasms with eosinophilia and abnormalities of PDGFRA, PDGFRB, and FGFR1. *Ann Hematol.* 2013; 92: 759–769.
13. Bain B.J., Fletcher S.H. Chronic eosinophilic leukemias and the myeloproliferative variant of the hypereosinophilic syndrome. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 2007; 27: 377–388.
14. Prochorec-Sobieszek M. Nowotwory mielodysplastyczno-mieloproliferacyjne — nowości i problemy diagnostyczne. *Hematologia* 2010; 3: 185–194.
15. Mughal T.I., Cross N.C., Padron E. i wsp. An International MDS/MPN Working Group's perspective and recommendations on molecular pathogenesis, diagnosis and clinical characterization of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 2015; 100: 1117–1130.
16. Maassen A., Strupp C., Giagounidis A. i wsp. Validation and proposals for a refinement of the WHO 2008 classification of myelodysplastic syndromes without excess of blasts. *Leuk. Res.* 2013; 37: 64–70.
17. Malcovati L., Karimi M., Papaemmanuil E. i wsp. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood* 2015; 126: 233–241.
18. Hasle H., Niemeyer C.M., Chessells J.M. i wsp. A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia* 2003; 17: 277–282.
19. West H., Godley L.A., Churpek J.E. Familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia syndromes: a review and utility for translational investigations. *Ann. NY Acad. Sci.* 2014; 1310: 111–118.
20. Kelly L.M., Gilliland D.G. Genetics of myeloid leukemias. *Annu Rev. Genomics Hum. Genet.* 2002; 3: 179–198.
21. Cancer Genome Atlas Research Network: Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368: 2059–2074.