

Zespoły mielodysplastyczne – współczesna diagnostyka

Myelodysplastic syndromes – current diagnostics

Beata Celuch¹, Iwona Urbanowicz², Jadwiga Nowicka³, Wiesława Nahaczewska², Iwona Bil-Lula⁴

¹Uniwersytecki Szpital Kliniczny we Wrocławiu, Uniwersyteckie Centrum Diagnostyki Laboratoryjnej

²Katedra Analityki Medycznej, Zakład Hematologii Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁴Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Streszczenie

Zespoły mielodysplastyczne (MDS; *myelodysplastic syndromes*) są heterogenną grupą chorób nowotworowych układu krwiotwórczego charakteryzującą się nieefektywną hematopoezą, opornymi cytopeniami obwodowymi i zwiększonym ryzykiem transformacji do ostrej białaczki szpikowej. Mogą występować jako postaci pierwotne, którym najczęściej towarzyszą zmiany molekularne i cytogenetyczne lub postaci wtórne m.in. po chemioterapii lub w przebiegu innych chorób nowotworowych. Diagnostyka MDS jest wieloetapowa i czasochłonna. Obejmuje wielokierunkowe badanie krwi obwodowej i szpiku kostnego pod kątem cytomorfologii, cytogenetyki, zaburzeń molekularnych, immunohistopatologii oraz immunofenotypowania. Ewolucja zmian molekularnych w przebiegu MDS sprawia, że obraz kliniczny i parametry laboratoryjne zmieniają się w czasie, co wymaga stałej aktualizacji wiedzy medycznej oraz wysokich kompetencji od cytomorfologów i histopatologów. Rozwój diagnostyki hematologicznej zaowocował aktualizacją klasyfikacji MDS w 2016r. Starzenie się społeczeństwa niewątpliwie spowoduje wzrost zachorowania na zespoły mielodysplastyczne, które będą jednym z najbardziej wymagających problemów diagnostyczno-klinicznych dla hematologów i diagnostów laboratoryjnych w najbliższej przyszłości.

Summary

Myelodysplastic syndromes (MDS) are a heterogeneous group of hematopoietic neoplastic diseases characterized by inefficient hematopoiesis, resistant peripheral cytopenias and an increased risk of transformation to acute myeloid leukemia. They may exist as primary forms, which most often are accompanied by molecular and cytogenetic changes or secondary forms, among others after chemotherapy or other cancers. MDS diagnostics are multi-stage and time-consuming. Includes multidirectional examination of peripheral blood and bone marrow for cytomorphology, cytogenetics, molecular disorders, immunohistopathology and immunophenotyping. The evolution of molecular changes in the course of MDS makes the clinical picture and laboratory parameters change over time, which requires constant updating of medical knowledge and high competences from cytomorphologists and histopathologists. The development of hematological diagnostics resulted in updating the MDS classification in 2016. The aging population will undoubtedly increase the incidence of myelodysplastic syndromes, which will be one of the most demanding diagnostic and clinical problems for haematologists and laboratory diagnostics in the near future.

Słowa kluczowe: zespoły mielodysplastyczne, zmiany cytomorfologiczne, czynniki prognostyczne, klasyfikacja

Key words: myelodysplastic syndromes, cytomorphological changes, prognostic factors, classification

Wstęp

Zespoły mielodysplastyczne (MDS; *myelodysplastic syndromes*) są heterogenną grupą chorób hematopoetycznej komórki macierzystej szpiku. Charakteryzują się nieefektywnym krwiotworzeniem, opornymi cytopeniami obwodowymi takimi jak: niedokrwistość i/lub neutropenia i/lub małopłytkowość oraz zwiększonym ryzykiem transformacji do ostrej białaczki szpikowej. Rozwijają się w wyniku różnorodnych patogenetycznych zmian obejmujących między innymi nieprawidłowości cytogenetyczne i molekularne,

dysregulację epigenetyczną i dysfunkcję układu odpornościowego (pierwotna postać MDS). Skutkuje to cytomorfologicznymi zmianami widocznymi w rozmazach krwi obwodowej (PB; *peripheral blood*), aspiratach szpiku kostnego (BM; *bone marrow*) oraz zmianami histologicznymi w trepanobiopsatach. MDS może się rozwinąć także po chemioterapii lub radioterapii istniejącej wcześniej choroby nowotworowej. Jest to postać wtórna MDS. Zespoły mielodysplastyczne występują najczęściej u osób starszych, w szóstej i siódmej dekadzie życia, tylko u około 10% pa-

Tabela I. Cechy dysplazji we krwi obwodowej i szpiku kostnym w MDS [5, 26, 27].

Krew obwodowa:
<u>Granulocyty:</u>
<ul style="list-style-type: none"> • komórki o jądrze z niepełną segmentacją, • o kształcie jądra mielocyta lub dwupłatowe tzw. pseudo Pelgera–Hueta (inaczej: hyposegmentacja jąder neutrofilów), • nieprawidłowe zbrylanie chromatyny, • hypogranulacja/degranulacja/hypergranulacja cytoplazmy, • przesunięcie w lewo
<u>Erytrocyty:</u>
<ul style="list-style-type: none"> • anizocytoza: makrocyty okrągłe i owalne, • poikilocytoza: owalocyty, dimorficzne erytrocyty, erytrocyty w kształcie łez, • polichromatofilia, hipochromia, • nakropienia zasadochłonne, • obecność jądrzastych erytroidalnych prekursorów
<u>Płytki krwi:</u>
<ul style="list-style-type: none"> • olbrzymie płytki, • anizocytoza płytek krwi
Szpik kostny: komórkowość szpiku: głównie bogatokomórkowy (hyperplastyczny), ok. 15% przypadków MDS ubogokomórkowy
<u>Układ erytroblastyczny:</u>
<ul style="list-style-type: none"> • zmiany megaloblastoidalne, wielojądrzastość, pączkowanie jądrowe, mostki międzyjądrowe, nietypowe mitozy, • prekursor erytroidalny z dodatnią reakcją na obecność glikogenu, (wakuole w cytoplazmie), • syderoblasty pierścieniowe – barwienie metodą Perlsa
<u>Układ granulocytowy:</u>
<ul style="list-style-type: none"> • wzrost odsetka mieloblastów, obecne pałki Auera lub ciała Auera, • hipo- / degranulacja cytoplazmy, • komórki z jądrami pseudo-pelgerowskimi, nieprawidłowe zbrylanie chromatyny jądrowej, • niedobór mieloperoksydazy w badaniu cytoenzymatycznym, • wzrost odsetka i nieprawidłowość morfologiczna monocytów
<u>Układ płytkotwórczy:</u>
<ul style="list-style-type: none"> • mikromegakariocyty, • hypolobulacja jąder megakariocytów (jednojądrzaste megakariocyty), • wielojądrzastość z wieloma izolowanymi jądrami
Inne cechy: zwiększony odsetek komórek limfoidalnych i komórek plazmatycznych

cientów poniżej 50 lat [1]. W populacji ogólnej szacuje się ok. 5 przypadków zachorowania na MDS na 100 000 mieszkańców na rok. Częstość zachorowania na MDS zwiększa się istotnie z wiekiem. U chorych powyżej 60 r.ż. wynosi 20–50 przypadków, u osób w wieku powyżej 80 lat ponad 50 nowych przypadków na 100 000 osób rocznie. W Polsce odnotowuje się od 1 400–3 500 nowych zachorowań/rok. Biorąc pod uwagę postępujące starzenie się populacji europejskiej, liczba pacjentów z MDS będzie wzrastać w następnych dziesięcioleciach, a prawidłowe rozpoznanie i leczenie MDS będzie jednym z najbardziej wymagających problemów diagnostyczno-klinicznych w najbliższej przyszłości [2, 3, 4].

Podejrzenie MDS

Przyczyną podjęcia diagnostyki w kierunku MDS są najczęściej nieprawidłowości stwierdzone we krwi obwodowej u chorych bezobjawowych lub objawy wynikające z cytopenii. Wywiad hematologiczny pozwala na określenie czasu trwania niedokrwistości /lub granulocytopenii i/lub małopłytkowości; narażenia chorego na czynniki szkodliwe, w tym jatrogenne – wcześniejsze chemioterapie, a szczególnie leczenie środkami alkilującymi (np. cyklofosfamid, melfalan, chlorambucyl) lub inhibitorami topoizomery II (etopozyd), rzadziej antracykliny czy narażenia środowiskowe (benzen), występowanie rodzinne chorób nowotworowych szpiku

kostnego, posiadanie rodzeństwa (potencjalni dawcy szpiku).

Badanie morfologii krwi obwodowej jest podstawowym badaniem, które może ukierunkować diagnostykę na MDS. Stwierdzana cytopenia jedno-, dwu-, lub trzyliniowa (tzw. pancytopenia) jest wskazaniem do wykonania rozmazu krwi obwodowej i jego oceny w mikroskopie świetlnym.

MDS może być przyczyną również jednoliniowej cytopenii, niedokrwistości o charakterze makrocytowej i nieregenerującej (obecna retikulocytopenia), może mieć ona również charakter niedokrwistości normocytowej, szczególnie wówczas, gdy pacjent otrzymywał przetoczenia KKCz (koncentrat krwinek czerwonych), a w kontrolnym badaniu morfologii krwi stwierdza się nadal niedokrwistość, wówczas ma ona charakter normocytowy, gdyż przetoczone krwinki były prawidłowe. U około jednej trzeciej chorych występuje neutropenia i małopłytkowość, lecz rzadko bez współistniejącej niedokrwistości. Występowanie pancytopenii zawsze budzi podejrzenie MDS, który należy różnicować z aplazją szpiku czy ostrą białaczką.

Badania diagnostyczne

Kompetencja i doświadczenie diagnosty laboratoryjnego, który dokonuje weryfikacji mikroskopowej zarówno krwi obwodowej i szpiku kostnego oraz wiele innych badań diagnostycznych ma

niewątpliwie istotne znaczenie w prawidłowym procesie diagnostycznym (tab. II i III).

Rozmaz krwi obwodowej należy policzyć do 200 komórek jądrzastych układu leukocytowego, z uwzględnieniem odchyłeń ilościowych i jakościowych (obecność cech dysplazji, tab. I). W rozmazie krwi obwodowej można stwierdzić niewielki odsetek blastów, rzadko przekraczający 5%. W niektórych przypadkach np. w MDS niesklasyfikowanym (MDS-U; *myelodysplastic syndromes unclassified*) obecność 1% blastów we krwi obwodowej, powinna być zarejestrowana w co najmniej 2 oddzielnych leukogramach. W większości MDS nie obserwuje się leukocytozy w morfologii krwi ani niedojrzałych granulocytów w rozmazie krwi obwodowej, z wyjątkiem przewlekłej białaczki mielomonocytywnej (CMML; *chronic myelomonocytic leukemia*), zaliczanej do MDS wg klasyfikacji FAB z 1982 roku, a obecnie klasyfikowanej jako zespół mielodysplastyczno/mieloproliferacyjny (MDS/MPN; *Myelodysplastic/Myeloproliferative neoplasms*) i definiowanej przez obecność m.in. monocytozy powyżej $1 \times 10^9/l$.

Ocena szpiku kostnego jest podstawowym badaniem umożliwiającym rozpoznanie zespołów mielodysplastycznych. W 60-70% przypadków MDS, szpik kostny jest bogatokomórkowy (hyperplastyczny) i wykazuje cechy dysplastyczne w jednej lub kilku liniach mieloidalnych (tab. I). Udział procentowy blastów w szpiku (w tym blasty bezziańiste i mieloblastyczne, ale nie promielocytowe) powinien być oceniony spośród 500 jądrzastych komórek i stanowić maksymalnie 19%. W sytuacji gdy układ erytroblastyczny przekracza 50% wszystkich komórek jądrzastych, odsetek blastów powinien być interpretowany tylko w odniesieniu do pozostałych komórek linii mieloidalnych (nieerytroblastycznych) [5, 6]. Syderoblasty pierścieniowate (erytroblasty z nieprawidłową lokalizacją żelaza w mitochondriach wokół jądra), typowe dla niektórych

zespołów MDS, są identyfikowane po zabarwieniu błękitem pruskim, metodą Perlisa.

Zasadniczo dla rozpoznania MDS wystarczająca jest ocena mielogramu, ale wykonanie trepanobiopsji ma istotne znaczenie w ocenie stopnia zwłóknienia szpiku (występuje w ok. 15% przypadków MDS przy ubogokomórkowym szpiku, w tym około 10% przypadków MDS *de novo*) jak również wykazania, w sytuacji braku nadmiaru blastów w mielogramie, nieprawidłowej lokalizacji niedojrzałych prekursorów krwiotworzenia, tzw. cechy ALIP (*ALIP; atypical localization of immature precursors*), co wiąże się z gorszym rokowaniem. Ocena trepanobiopsji pozwala także na przeprowadzenie diagnostyki różnicowej zespołów mielodysplastycznych (wykluczenie niedokrwistości aplastycznej lub ostrej białaczki szpikowej) [7, 8, 9].

Proces diagnostyczny MDS obejmuje również badania cytogenetyczne i molekularne. Opisano wiele klonalnych aberracji chromosomowych, ale żadna z nich nie jest specyficzna dla MDS, ze względu na występowanie w innych nowotworach mieloidalnych [10]. Klonalne nieprawidłowości stwierdza się u ok. 50% chorych z pierwotnym MDS, u ponad 80% chorych z wtórnym MDS [11]. U pacjentów z prawidłowym kariotypem istnieje coraz więcej dowodów na obecność zmian submikroskopowych, takich jak mutacje punktowe, mikrodelecje, mikroamplifikacje, zmiany epigenetyczne mogące stanowić genetyczną podstawę rozpoznania choroby. Wszystkie anomalie cytogenetyczne i molekularne mają wspólną cechę – prowadzą do zmniejszenia albo całkowitej utraty funkcji czynników ochronnych (geny supresyjne) lub do promocji zezłośliwienia poprzez wzmocnienie informacji genetycznej onkogenów. Ostatnie dane sugerują, że MDS jest chorobą wielogenową. We wczesnych stadiach MDS w komórkach macierzystych występuje niewiele mutacji chromosomowych, natomiast

Tabela II. Badania krwi obwodowej i szpiku kostnego wymagane przy ustaleniu rozpoznania MDS zgodnie z zaleceniami European Leukemia Net (2013) [28].

Badanie krwi obwodowej	Badania szpiku kostnego
Morfologia krwi z retikulocytami i rozdziałem białych krwinek, wykonanie rozmazu krwi obwodowej w mikroskopie świetlnym (należy policzyć minimum 200 komórek).	Badanie cytomorfologiczne: wykonanie rozmazów szpiku i barwienie metodą May-Grunwalda – Giemsy i liczenie 500 komórek z uwzględnieniem co najmniej 100 erytroblastów i 30 megakariocytów [5, 28].
Badania biochemiczne: kwas foliowy, erytropoetyna, witamina B12, żelazo, całkowita zdolność wiązania żelaza, ferrytyna, dehydrogenaza mleczanowa (LDH), aminotransferazy (AST, ALT), fosfataza zasadowa (ALP), bilirubina, haptoglobina, bezpośredni test antyglobulinowy (BTA), białko C-reaktywne (CRP), proteinogram, albuminy, mocznik, kreatynina, kwas moczowy, beta-2 mikroglobulina, hormony tarczycy, elektroforeza hemoglobiny.	Barwienie cytochemiczne w kierunku złogów żelaza w makrofagach, obecności syderoblastów pierścieniowych (metoda Perlisa) [29].
Badania wirusologiczne: anty-HIV, anty –parwovirus B19, anty-CMV, dodatkowo u chorych zależnych od przetoczeń: antygen HBV, anty-HCV.	Badanie histopatologiczne szpiku w celu oceny komórkowości szpiku, oceny megakariocytów, blastów, wykluczenie innych przyczyn cytopenii. Nieprawidłowe rozmieszczenie prekursorów komórek mieloidalnych (ALIP, z ang. abnormal localization of immature precursors). Ponadto, w trepanobiopsji: ocena aktywności mielo-peroksydazy, glikoforyny A lub C, antygenu CD34, CD117, CD61 lub CD42b, CD68, CD68R, CD20, CD3 i barwienie solami srebra celem oceny zwłóknienia [2].
Inne badania: w kierunku nocnej napadowej hemoglobinurii, badania genetyczne w kierunku wrodzonych chorób szpiku kostnego u chorych adekwatnym wywiadem, mutacja JAK2.	Badania cytogenetyczne obejmują analizę kariotypu metodą klasyczną (ocena liczby i prawidłowości struktury) i metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) [30].
	Badania molekularne -mutacje genów występujące w przebiegu MDS.

Tabela III. Cechy stwierdzane we krwi obwodowej i szpiku kostnym w poszczególnych kategoriach MDS wg klasyfikacji WHO z 2016 r.

Nazwa jednostki chorobowej	Liczba dysplastycznych linii	Ilość cytopenii*	Syderoblasty pierścieniowate (%)	Blasty w		Konwencjonalna analiza cytogenetyczna kariotypu
				BM (%)	PB (%)	
MDS-SLD	1	1 lub 2	<15 / <5**	<5	<1 bez pałek Auera	Dowolne, chyba że spełnia wszystkie kryteria MDS z izolowanym del (5q)
MDS-MLD	2 lub 3	1-3	<15 / <5**	<5	<1 bez pałek Auera	Dowolne, chyba że spełnia wszystkie kryteria MDS z izolowanym del (5q)
MDS-RS						
MDS-RS-SLD	1	1 lub 2	≥15 / ≥5**	<5	<1 bez pałek Auera	Dowolne, chyba że spełnia wszystkie kryteria MDS z izolowanym del (5q)
MDS-RS-MLD	2 lub 3	1-3	≥15 / ≥5**	<5	<1 bez pałek Auera	Dowolne, chyba że spełnia wszystkie kryteria MDS z izolowanym del (5q)
MDS z izolowanym del (5q)	1-3	1-2	brak lub dowolny	<5	<1 bez pałek Auera	Tylko del (5q) lub z 1 dodatkową nieprawidłowością z wyjątkiem delecji 7 lub del (7q)
MDS-EB						
MDS-EB-1	0-3	1-3	brak lub dowolny	5-9	2-4	Dowolne
MDS-EB-2	0-3	1-3	brak lub dowolny	10-19	5-19 lub obecne pałki Auera	Dowolne
MDS-U						
Z 1% blastów we krwi	1-3	1-3	brak lub dowolny	<5	1*** bez pałek Auera	Dowolne
Z dysplazją pojedynczych linii i pancytopenią	1	3	brak lub dowolny	<5	<1 bez pałek Auera	Dowolne
Na podstawie zdefiniowanych cytogenetycznych nieprawidłowości	0	1-3	<15****	<5	<1 bez pałek Auera	MDS – określone nieprawidłowości
Oporna cytopenia dziecięca	1-3	1-3	brak	<5	<2	Dowolne

* Cytopenie zdefiniowane jako: hemoglobina < 10 g / dl; liczba płytek krwi, <100 x 10⁹ / l; i bezwzględna liczba neutrofilów <1,8 x 10⁹ / l. Rzadko MDS może występować z łagodną anemią lub małopłytkowością powyżej tych poziomów. Monocyty PB muszą wynosić <1 x 10⁹ / l

** Obecna mutacja SF3B1

*** Jeden procent blastów PB musi być zarejestrowany na co najmniej 2 oddzielnych liczeniach.

**** Przypadki z 15% sideroblastów pierścieniowatym z definicji mają znaczącą dysplazję erytroidalną i są klasyfikowane jako MDS-RS-SLD.

w późnych stadiach choroby mogą występować nawet dziesiątki lub setki mutacji [5]. Nieprawidłowości chromosomów 5, 7 i 8 stanowią łącznie do 70% wszystkich zmian cytogenetycznych. Niezrównoważone zmiany, głównie spowodowane utratą informacji genetycznej przez delecje ramienia długiego chromosomu 5q, 7q, 20q, delecje ramienia krótkiego 12p lub utrata całych chromosomów jak monosomia 7, utrata chromosomu Y, są typowymi i częstymi zmianami w MDS, w przeciwieństwie do zmian z powieleniem informacji takich jak trisomie +8, +11, +21, duplikacje (1q) lub rzadko występujące amplifikacje onkogenów takich jak MYC, MLL lub RUNX1 (tab. IV). W przeciwieństwie do ostrej białaczki szpikowej, zrównoważone nieprawidłowości, np.: odwrotne translokacje i inwersje występują tylko w ≤ 1% przypadków MDS [12]. Wśród nich najczęstszymi są inwersje lub translokacje obejmujące prążki chromosomowe 3q21 i/lub 3q26 często wpływające na

locus EVI1-onkogenu [2, 13]. Nieprawidłowe kariotypy wykazują związek ze zwiększonym odsetkiem blastów w szpiku i nasileniem zmian dysplastycznych, a tym samym z ciężkością przebiegu MDS [14]. Najczęściej występujące mutacje genetyczne dotyczą czynników transkrypcyjnych m.in. *TET2*, *SF3B1*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*. Mutacja *TP53* występuje często u chorych ze złożonym kariotypem i u chorych ze zmianą 5q-. Zmiany molekularne mogą być niezależnym czynnikiem prognostycznym, ale nie są obecnie rekomendowane w diagnostyce MDS, natomiast w wyjątkowych przypadkach mogą być pomocne w rozpoznaniu [15].

Kryteria rozpoznania

Aktualnie obowiązujące tzw. minimalne kryteria rozpoznania zespołów mielodysplastycznych zostały zdefiniowane przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) w 2016 roku (tab. V) [1, 12, 16, 17,

Tabela IV. Najczęstsze zmiany cytogenetyczne stwierdzane w MDS [12, 31].

Złożony kariotyp (3 lub więcej anomalii)
Nie zrównoważone anomalie:
• -7 / del (7q)
• del (5q) / t (5q)
• i(17q) / t (17p)
• -13 / del (13q)
• del (11q)
• del (12p) / t (12p)
• idic (X) (q13)
Zrównoważone anomalie
• t (11; 16) (q 23.3; p13.3)
• t (3, 21) (q 26.2; q22.1)
• t (1; 3) (p36.3; q21.2)
• t (2; 11) (p21; q23.3)
• t (5; 12) (q32; p13.2)
• t (5; 7) (q32; q11.2)
• t (5; 17) (q32; p13.2)
• t (5; 10) (q32; q21.2)
• t (3; 5) (q25.3; q35.1)

18]. We wczesnej fazie MDS przebiegającej jedynie z łagodnymi nieprawidłowościami morfologicznymi, postawienie prawidłowej diagnozy jest trudne. Często rozpoznanie opiera się na wykluczeniu innych schorzeń. Wyzwaniem diagnostycznym są pacjenci, którzy nie spełniają minimalnych kryteriów diagnostycznych, ale cierpią na ciągłą (>6 miesięcy) lub nawet postępującą cytope-

nię lub niewyjaśnioną dysplazję. W tej grupie pacjentów należy wielokrotnie powtórzyć badanie szpiku kostnego co umożliwi z większym prawdopodobieństwem rozpoznanie choroby podstawowej. Jeśli tak się nie stanie, należy ustalić wstępną diagnozę: u osób z wyraźną stałą cytopenią (stężenie hemoglobiny <11 g/dl i/lub liczba neutrofilów <1500×10⁹/l i/lub liczba płytek krwi <100 000×10⁹/l), bez cech dysplazji i z prawidłowym kariotypem rozpoznanie idiopatycznej cytopenii o nieokreślonym/niepewnym znaczeniu (ICUS; *idiopathic cytopenia of unknown significance*) może być brane pod uwagę. Rozpoznanie typowej dysplazji idiopatycznej o nieokreślonym/nieznanym znaczeniu (IDUS; *idiopathic dysplasia of unknown significance*) wymaga spełnienia następujących kryteriów: obecności łagodnej cytopenii (hemoglobina ≥11 g/dl, liczby neutrofilii ≥1500×10⁹/l, płytek krwi ≥100 000×10⁹/l), ale wyraźnie widoczna dysplazja (>10% komórek), obecne we krwi obwodowej formy pseudopelgerowskie, hipogranulowane neutrofile, niewyjaśniona makrocytoza [19]. W mielogramie obecne łagodne lub wyraźne objawy dysplazji w jednej lub więcej liniach komórkowych i/lub obecność >15% syderoblastów pierścieniowatych i/lub występowanie typowych zmian cytogenetycznych dla MDS. Uważa się, że IDUS jest potencjalną prefazą MDS lub zaburzeń nakładających się na rozwój MDS/MPN.

Kryteria prognostyczne

Heterogenny przebieg zespołów mielodysplastycznych (przeżycie pacjentów od kilku tygodni do wielu lat, z medianą 15-30

Tabela V. Minimalne kryteria rozpoznania MDS zgodne z wytycznymi WHO z 2016 r.

A. Kryteria wstępne (oba warunki muszą być spełnione)
1. Cytopenia* utrzymująca się (przez 4 miesiące) jednej lub więcej z poniższych linii komórkowych: erytroidalnej (hemoglobina <10g/dl); granulocytowej, (bezwzględna liczba neutrofilów <1,8 × 10 ⁹ /l); megakariocytowej (liczba płytek <100 × 10 ⁹ /l). Wyjątkiem może być obecność zwiększonej liczby blastów i obecność zmian cytogenetycznych związanych z MDS, wówczas rozpoznanie MDS można postawić bezzwłocznie.
2. Wykluczenie innych hematologicznych i niehematologicznych chorób jako pierwotnych przyczyn cytopenii/dysplazji. **
B. Kryteria swoiste dla MDS (przynajmniej 1 kryterium musi być spełnione)
1. Dysplazja co najmniej 10% komórek w szpiku kostnym w co najmniej w jednej z następujących linii komórkowych: erytroidalnej, granulocytowej lub megakariocytowej. *** – ≥15% pierścieniowatych syderoblastów lub obecność ≥5% syderoblastów pierścieniowych z obecnością mutacji SF3B1.
2. Obecność od 5-19% mieloblastów w rozmazach szpiku kostnego (lub od 2-19% mieloblastów w rozmazach krwi obwodowej).
3. Obecność typowych nieprawidłowości cytogetycznych w metodach konwencjonalnych lub FISH. ****
C. Kryteria dodatkowe (dla pacjentów niespełniających kryteriów A lub B, gdy obserwuje się obecność typowych cech klinicznych np. makrocytowej niedokrwistości transfuzjowej, dwa lub więcej z tych kryteriów musi być spełnionych, aby rozważyć wstępną diagnozę MDS):
1. Nieprawidłowości histologiczne i/lub histochemiczne wykryte podczas badania szpiku kostnego wzmacniające rozpoznanie MDS. ***
2. Nieprawidłowy immunofenotyp komórek szpiku potwierdzający monoklonalny charakter komórek linii erytroidalnej i/lub granulocytowej. Obecność klonalnej populacji mieloidalnej, stwierdzenie zmian molekularnych związanych z MDS. *****

Rozpoznanie MDS można ustalić, gdy spełnione są oba kryteria wstępne („A”) i co najmniej jedno kryterium główne („B”). Jeśli nie zostanie spełnione żadne główne kryterium, a pacjent cierpi prawdopodobnie na klonalną chorobę szpiku, należy zastosować kryteria dodatkowe („C”), co może być pomocne w postawieniu rozpoznania nowotworu mieloidalnego odpowiadającemu MDS lub na bazie którego rozwinie się MDS. W tym ustawieniu diagnostycznym może być konieczne powtórzenie badań szpiku kostnego podczas obserwacji, aby postawić ostateczną diagnozę MDS.

* cytopenia zdefiniowana przez określone wartości odniesienia.

** ponieważ coraz więcej pacjentów jest diagnozowanych z dwoma współistniejącymi nowotworami szpiku, ważne jest stwierdzenie, że w rzadkich przypadkach można rozpoznać MDS, nawet jeśli wykryto inną współistniejącą chorobę potencjalnie powodującą cytopenię.

*** przykłady: skupiska nieprawidłowo zlokalizowanych niedojrzałych prekursorów (ALIP); skupiska komórek blastycznych CD34(+); dysplastyczne mikromegakaryocyty wykrywane immunohistochemicznie (≥10% dysplastycznych megakariocytów).

**** typowe nieprawidłowości chromosomowe występujące u pacjentów z MDS (np. 5q-, -7) i uznawane przez WHO za wskazujące na MDS nawet przy braku morfologicznych kryteriów MDS.

***** wykrywanie mutacji zwykle obserwowanych w MDS (np. SF3B1) zwiększa prawdopodobieństwo, że pacjent cierpi na MDS lub rozwinie MDS.

Tabela VI. Aktualna klasyfikacja MDS i MDS/MPN wg WHO z 2016 roku.

Zespoły mielodysplastyczne – MDS
MDS z dysplazją pojedynczej linii (MSD-SLD)
MDS z pierścieniowymi sideroblastami (MDS-RS)
• MDS-RS i dysplazja pojedynczej linii (MDS-RS-SLD)
• MDS-RS i dysplazja wieloliniowa (MDS-RS-MLD)
MDS z dysplazją wieloliniową (MDS-MLD)
MDS z nadmiarem blastów (MDS-EB) w zależności od odsetka blastów:
• MDS-EB-1: 5%-9% w szpiku lub 2%-4% we krwi obwodowej bez obecności pałek Auera
• MDS-EB-2 10%-19% szpiku lub 5%-19% we krwi obwodowej lub obecne pałki Auera
MDS z izolowaną delecją 5 (5q-)
MDS nieklasyfikowany, (MDS-U)
• z obecnością 1% blastów we krwi obwodowej
• z dysplazją pojedynczej linii i pancytopenią
• w oparciu o zdefiniowane nieprawidłowości cytogenetyczne
Tymczasowa postać: oporna cytopenia dziecięca
Nowotwory mieloidalne z wrodzoną dziedziczną predyspozycją
Nowotwory mielodysplastyczne / mieloproliferacyjne – MDS/MPN
Przewlekła białaczka mielomonocytoza – CMML
Atypowa przewlekła białaczka szpikowa BCR-ABL1 ujemna (aCML <i>BRC-ABL1</i> , <i>BCR-ABL1 negative</i>)
Młodzieńcza postać białaczki mielomonocytozowej (JMML)
MDS/MPN z pierścieniowymi sideroblastami i trombocytozą (MDS/MPN-RS-T)
MDS/MPN nieklasyfikowalny MDS/MPN-U

tym standardem w diagnozowaniu i klasyfikacji MDS. W 1997 roku zespół hematologów i hematopatologów pod przewodnictwem WHO dokonał weryfikacji klasyfikacji nowotworów krwiotwórczych, podtrzymując klasyfikację MDS wg FAB [6, 22], jednakże kilka lat później, Komitet Doradczy ds. Klinicznych (CAC; *Clinical Advisory Committee*), składający się z blisko 100 klinicystów i naukowców z całego świata, wypracował kolejne wersje klasyfikacji (2001r., 2008r.) [6, 22]. Obecnie obowiązująca klasyfikacja WHO z 2016 roku zachowuje wiele ze struktury i myśli przewodniej klasyfikacji FAB. Jest bardziej rozbudowana i opiera się na wykorzystaniu wszystkich dostępnych informacji – klinicznych, morfologicznych, cytochemicznych, immunofenotypowych, genetycznych i innych ważnych cech biologicznych, w celu

miesiący), ryzyko progresji w ostrą białaczkę (25-30% w ciągu 5 lat) wymusił opracowanie indeksu oceny prognostycznej dla chorych na MDS. W 1997r. opublikowano (opracowany przez Petera Greenberga z zespołem) Międzynarodowy System Oceny Prognostycznej (IPSS; *International Prognostic Scoring System*), który uwzględnia odsetek blastów w szpiku, liczbę cytopenii we krwi obwodowej oraz specyficzne zmiany cytogenetyczne. Na tej podstawie stratyfikuje się chorych do grup niższego ryzyka (IPSS niskie, pośrednie -1) oraz wyższego ryzyka (IPSS pośrednie-2, wysokie) [20].

IPSS ma pewne ograniczenia: obejmuje tylko nowo zdiagnozowanych pacjentów, stosunkowo niewielkie znaczenie przypisuje się cytogenetyce i nie jest dość precyzyjny dla pacjentów w grupie niskiego ryzyka [21]. Obecnie jest wykorzystywany, zmodyfikowany IPSS-R (IPSS – *revised*), który dodatkowo uwzględnia 18 grup zmian cytogenetycznych, nasilenie niedokrwistości (stężenie hemoglobiny), neutropenii (liczbę neutrofilów) oraz małopłytkowości (liczbę płytek krwi). Dodatkowe zmienne, dostarczające informacji prognostycznych w MDS, to m.in.: aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH), stężenie ferrytyny i α 2-mikroglobuliny, stopień włóknienia szpiku. Natomiast ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) do czynników prognostycznych zalicza: wiek chorego, stan sprawności pacjenta, współistniejące choroby [21].

Klasyfikacja zespołów mielodysplastycznych

W 1982 roku grupa robocza francusko-amerykańsko-brytyjska (FAB; *french – american – british group*) wprowadziła pierwszą klasyfikację zespołów mielodysplastycznych, w oparciu o cechy cytomorfologiczne komórek krwi obwodowej i szpiku kostnego. Liczne późniejsze obserwacje potwierdziły znaczącą rolę morfologicznej klasyfikacji MDS w przewidywaniu rokowania chorych i progresji do ostrej białaczki mieloblastycznej (AML; *acute myeloid leukemia*). Wytyczne FAB stały się światowym zło-

wyodrębnienia konkretnych jednostek chorobowych o znaczeniu klinicznym (tab. VI).

Istotną modyfikacją w klasyfikacji WHO z 2001 roku było wyróżnienie zespołów mielodysplastyczno/mieloproliferacyjnych, obejmujących nowotwory mieloidalne (5 grup) o cechach klinicznych, laboratoryjnych i morfologicznych, które łączą cechy MDS i MPN (tab. VI) [23, 24]. W MDS/MPN kariotyp jest prawidłowy lub wykazuje nieprawidłowości wspólne dla MDS.

Rozpoznanie przewlekłej białaczki mielomonocytozowej wymaga stwierdzenia monocytoty $>1 \times 10^9/l$ we krwi obwodowej trwającej co najmniej 3 miesiące, a monocyty powinny stanowić $>10\%$ liczby białych krwinek (WBC; *white blood cells*). Opisano różnice molekularne i kliniczne między tzw. proliferacyjnym typem CMML (WBC $\geq 13 \times 10^9/l$) a typem dysplastycznym (WBC $< 13 \times 10^9/l$). Ponadto, odsetek blastów stanowi ważny czynnik prognostyczny co do długości przeżycia i ryzyka transformacji w ostrą białaczkę. Ze względu na blastozę, CMML można podzielić na 3 grupy:

1. CMML-0 $<2\%$ blastów w PB i $<5\%$ blastów w BM,
2. CMML-1 od 2% do 4% blastów w PB i / lub 5% do 9% blastów w BM
3. CMML-2 z odsetkiem 5% do 19% blastów w PB, a od 10% do 19% w BM z obecnymi lub bez pałek Auera [12, 25].

Zespół mielodysplastyczno/mieloproliferacyjny niesklasyfikowalny (MDS/MPN-U; *myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms unclassifiable*) obejmuje pacjentów z cechami zarówno dysplazji i mieloproliferacji, którzy nie spełniają kryteriów dla pozostałych MDS/MPN (tab. VI). MDS/MPN-U formalnie definiuje się u pacjentów bez wcześniejszej historii MDS lub MPN, którzy w ostatnim czasie nie przeszli terapii cytotoksycznej lub terapii czynnikiem wzrostu, u których nie stwierdzono w komórkach układu krwiotwórczego chromosomu Philadelphia, genów fuzyjnych *BCR-ABL1*, *PDGFRA*, *PDGFRB* lub izolowanej del (5q), t(3; 3) (q21; q26) lub inv(3) (q21q26). U tych pacjentów nie obserwuje się cech dys-

plastycznych w krwiotwórczych liniach komórkowych, nie posiadają znamiennej cech mieloproliferacji (tj. $PLT \geq 450 \times 10^9/l$ lub $WBC \geq 13 \times 10^9/l$, bez lub z występującą splenomegalią, stwierdza się mniej niż 20% blastów we krwi obwodowej i szpiku kostnym [24].

Podsumowanie

Różnorodność kliniczna zespołów mielodysplastycznych oraz ewoluowanie choroby w czasie stwarza konieczność wykonania i powtarzania szeregu badań specjalistycznych dla potwierdzenia lub wykluczenia MDS. Na każdym etapie procedury diagnostycznej istnieje wiele zmiennych, wymagających uwzględnienia podczas analizy PB i BM. Aktualna klasyfikacja MDS dokładnie charakteryzuje poszczególne jednostki chorobowe, wraz z towarzyszącymi im objawami i minimalnymi kryteriami rozpoznania. Pomimo, iż ocena zmian molekularnych w MDS odgrywa coraz większe znaczenie w diagnostyce i prognozowaniu przebiegu choroby, to jednak ocena cytomorfologiczna szpiku kostnego pozostaje kluczowym badaniem diagnostycznym. Dodatkowym jej atutem jest fakt, iż jest tania, szybka i powszechnie dostępna. W związku z tym uzasadnione jest ustawiczne szkolenie diagnostów laboratoryjnych w zakresie interpretacji mielogramów. Dość często, odchylenia w parametrach laboratoryjnych wyprzedzają objawy kliniczne, i tym samym mogą stanowić cenne narzędzie dla lekarza podejmującego decyzje terapeutyczne ważne dla zdrowia i życia pacjenta. Współpraca laboratorium – lekarz jest bezcenna i powinna być codzienną praktyką kliniczną.

Piśmiennictwo:

- Kata D, Kyrz-Krzemień S. Zespoły mielodysplastyczne – współczesna diagnostyka, klasyfikacja i leczenie Część I i II: Diagnostyka, klasyfikacja i stratyfikacja prognostyczna zespołów mielodysplastycznych. *Borgis – Postępy Nauk Medycznych*. 2011; 6: 499-503.
- Malcovati L, Hellstrom-Lindberg E, Bowen D, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood*. 2013; 122, 17.
- Pluta A, Krawczyńska A, Wierzbowska A. Standardy diagnostyczne zespołów mielodysplastycznych u osób dorosłych wg zaleceń European Leukemia Net. *Acta Haem Pol*. 2015; 46: 1-9.
- McQuilten ZK, Wood EM, et al. Underestimation of Myelodysplastic Syndrome Incidence by Cancer Registries. *Cancer* June, 2014; 1.
- Aristoteles G, Haase D, Morphology, cytogenetics and classification of MDS. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2013; 26: 337-353.
- Lowenthal RM, Chapter 1 The History of the Myelodysplastic Syndromes. In: Varkonyi J. *The myelodysplastic syndromes*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 2011.
- Ades L, Itzykson R, Fenaux P, et al. Myelodysplastic syndromes. *Lancet*. 2014; 383: 2239-52.
- Steensma DP. Myelodysplastic Syndromes: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc*. 2015; 90(7): 969-983.
- Horny HP, Valent P. Chapter 3 Myelodysplastic Syndromes/Neoplasms: Morphological and Immunohistochemical Features and Standard Evaluation. In Varkonyi J. *The myelodysplastic syndromes*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 2011.
- Nolte F, Hofmann WK. Chapter 6 Molecular Changes in Myelodysplastic Syndrome. In Varkonyi J. *The myelodysplastic syndromes*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 2011.
- Haase D, Ganster Ch, Steidl Ch, et al. Chapter 5 Cytogenetics of MDS. In Varkonyi J. *The myelodysplastic syndromes*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 2011.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016; 127, 20.
- Verburgh E, Achten R, Louw VJ, et al. A new disease categorization of low-grade myelodysplastic syndromes based on the expression of cytopenia and dysplasia in one versus more than one lineage improves on the WHO classification. *Leukemia*. 2007; 21: 668-677.
- Chung SS. Novel therapeutic strategies in myelodysplastic syndromes: do molecular genetics help? *Curr Opin Hematol*. 2016; 23:79-87.
- Mughal TI, Nicholas CPC, Patron E, et al. An International MDS/MPN Working Group's perspective and recommendations on molecular pathogenesis, diagnosis and clinical Characterization of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2015; 100; 9.
- Valent P, Wimazal F, Sperr WR, Horny HP. Chapter 4 Diagnostic Criteria and Classification of Myelodysplastic Syndromes. In Varkonyi J. *The myelodysplastic syndromes*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 2011.
- Valent P, Horny HP. Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from ICUS and IDUS: update and open questions. *Eur J Clin Invest* 2009; 39 (7): 548-553.
- Della Porta MG, Travaglino E. Minimal morphological criteria for defining bone marrow dysplasia: a basis for clinical implementation of WHO classification of myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2015; 29: 66-75.
- Valent P, Orazi A, Steensma DP, et al. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions. *Oncotarget*. 2017; 8(43): 73483-73500.
- Pfeilstöcker M. Prognostic Scoring in MDS in Myelodysplastic Syndrome. In Varkonyi J. *The myelodysplastic syndromes*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 2011.
- Meers S. The myelodysplastic syndromes: the era of understanding. *European Journal of Haematology*. 2014; 94: 379-390.
- Vardiman J. The classification of MDS: From FAB to WHO and beyond. *Leukemia Research*. 2012; 36: 1453-1458.
- Orazi A, Germing U. The myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms: myeloproliferative diseases with dysplastic features. *Leukemia*. 2008; 22: 1308-1319.
- DiNardo CD, Daver N, Jain N. Myelodysplastic / Myeloproliferative Neoplasms, Unclassifiable (MDS/MPN, U): Natural history and clinical outcome by treatment strategy. *Leukemia*. 2014; 28(4): 958-961.
- Schuler E, Schroeder M, Neukirchen J, et al. Refined medullary blast and white blood cell count based classification of chronic myelomonocytic leukemias. *Leuk Res*. 2014; 38(12): 1413-9.
- Germing U, Strupp C, Giagounidis A, et al. Evaluation of dysplasia through detailed cytomorphology in 3156 patients from the Düsseldorf Registry on myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research*. 2012; 36: 727- 734.
- Li W, Morrone K, Kambhampati S, et al. Thrombocytopenia in MDS: epidemiology, mechanisms, clinical consequences and novel therapeutic strategies. *Leukemia*. 2016; 30: 536-544.
- Lewandowski K, Szczepański T. Rekomendacje Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w Polsce (KMMLP) dotyczące wykonywania biopsji aspiracyjnej i oceny cytologicznej szpiku kostnego. *Acta Haem Pol*. 2015; 46: 254-261.
- Lewandowski K. Badania cytochemiczne. W Dmoszyńska A. *Wielka Interna Hematologia*. Medical Tribune Polska Warszawa. 2011.
- Haus O. Badania cytogenetyczne. W Dmoszyńska A, *Wielka Interna Hematologia*. Medical Tribune Polska Warszawa. 2011.

31. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *Blood*. 2012; 120,12.

Autor do korespondencji:

mgr Beata Celuch

Uniwersytecki Szpital Kliniczny

Uniwersyteckie Centrum Diagnostyki Laboratoryjnej

50-368 Wrocław, ul. Pasteura 2

Tel. +48 71 7842687

e-mail: beacel@wp.pl.

Otrzymano: 4.12.2018

Akceptacja do druku: 19.03.2019

Nie zgłoszono sprzeczności interesów