

Biopsia kostnej drene pri myeloproliferatívnych neopláziách – potreba či prežitok?

Juraj Marcinek^{1,3}, Tatiana Burjanivová², Lukáš Plank^{1,3}

¹Ústav patologickej anatómie JLF UK a UNM, Konzultačné centrum biopctickej diagnostiky ochorení krvotvorby v SR

²Ústav molekulyvej biológie JLF UK, Martin, Slovenská republika

³Martinské biopctické centrum, s. r. o. Martin, Slovenská republika

Klasifikácia SZO (2008) je jediná celosvetovo akceptovaná a v praxi používaná klasifikácia nádorových ochorení kostnej drene (KD), ktorá definuje aj postavenie a význam biopsie KD v diagnostickom algoritme. Myeloproliferatívne neoplázie (MPN) tvoria pestrú skupinu ochorení s variabilne dynamickým rozvojom z počiatočných štádií, cez štádiá s plno rozvinutou klinicko-laboratórnou manifestáciou až do pokročilých štádií – fibrotickej, resp. blastovej transformácie, sprevádzaných zmenami morfológie a laboratórneho obrazu. V počiatočných štádiách je určenie typu MPN len na základe klinicko-laboratórných údajov pre podobnosť ich klinickej manifestácie nespoľahlivé. Dôkaz pre MPN typických genetických mutácií potvrdzuje klonalitu ochorenia, ale jeho typizačný význam je limitovaný. Naopak, biopctické vyšetrenie KD v kontexte dostatočných klinických informácií, výsledkov laboratórných vyšetrení a s podporou genetických vyšetrení umožňuje okrem potvrdenia MPN aj bližšiu typizáciu, ktorá je prognosticky relevantná a ovplyvňuje aj voľbu terapie. Zároveň umožňuje odlíšenie reaktívnych zmien hemopoézy, zhodnotenie prognosticky významných morfológických znakov (stupeň myelofibrózy, množstvo blastov) a sledovanie progresie ochorenia do fibrotickej, resp. blastovej transformácie. V týchto pokročilých štádiách a po terapii nie je však typizácia MPN len na základe morfológie KD možná. Výpovedná hodnota biopsie závisí od kvality a kvantity vzorky drene, hodnotenie morfológie KD závisí aj od vedomostí a skúseností vyšetrujúceho patológa.

Kľúčové slová: myeloproliferatívne neoplázie, Ph1 negatívne myeloproliferácie, pravá polycytémia, esenciálna trombocytémia, primárna myelofibróza, biopsia kostnej drene.

Bone marrow biopsy in myeloproliferative neoplasms – the need or the anachronism?

WHO classification (2008) is the only world-wide accepted and in routine praxis used classification of bone marrow (BM) neoplasms defining also the importance of BM biopsy within the diagnostic algorithm. Myeloproliferative neoplasias (MPN) represent a heterogenous group of disorders with variable dynamic transformational potential from initial into advanced stages such as blast crisis or myelofibrotic transformation. Because of similar manifestations, the typing of MPN in their initial stages based on clinical and laboratory parameters is not optimal. The finding of MPN-typical genetic mutations proves the disease clonality, but not a diagnosis of individual MPN types. In contrast, the BM biopsy verifies both the diagnosis and MPN type. It helps also to discriminate MPN from reactive hematopoietic changes, to evaluate prognostically relevant BM features (e.g. grade of myelofibrosis, blasts number) and the follow-up to terminal stages. However, the MPN typing in terminal and posttherapeutical stages based on morphology alone is not sufficient. The diagnostic value of BM biopsy depends on specimen's quality, the objectivity of BM morphology evaluation depends on pathologist's training and experiences. A correct BM biopsy interpretation should be done within the context of sufficient clinical and laboratory data and with support of genetical analyses.

Key words: myeloproliferative neoplasms, Ph1 negative myeloproliferation, polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis, bone marrow biopsy.

Onkologie 2012; 6(3): 138–142

Úvod

Primárne nádorové ochorenia (tzv. myeloidné nádory) kostnej drene (ďalej KD) predstavujú veľkú skupinu klinicky a biologicky pomerne heterogénnych ochorení, ktoré spája základný etiopatogenetický princíp ich vzniku: vznikajú klonálnou transformáciou kmeňovej krvotvornej bunky s variabilným postihom jednotlivých základných hemopoetických radov v zmysle zvýšenej proliferácie a porúch maturácie, a to v rôznych možných kombináciách. Napriek uvedenej heterogenite možno v rámci myeloidných nádorov KD v súlade s platnou klasifikáciou SZO z r. 2008 (1) identifikovať tri základné skupiny

ochorení: myelodysplastické syndrómy (ďalej MDS), myeloproliferatívne neoplázie (nádory ďalej MPN) a akútne myeloblastické leukémie (ďalej AML). Jednotlivé skupiny a ani v nich definované ochorenia nie sú navzájom od seba ostro ohraničené, naopak, ich prejavy sa často prelínajú. Aj preto existuje relatívne veľa ochorení na rozhraní medzi týmito skupinami (napr. MDS/MPN) (2). Klasifikácia SZO z r. 2008 (1) je dnes, napriek niektorým námietkam (3, 4) jediná medzinárodne všeobecne akceptovaná a aj v bežnej klinickej aj biopctickej praxi používaná klasifikačná a diagnostická norma diagnostiky nádorových ochorení KD. Je založená na tzv.

multiparametrickom princípe, ktorého podstatou je korelácia morfológie nádorových buniek s klinickými údajmi, klinickou manifestáciou ochorenia a s výsledkami laboratórných a genetických vyšetrení. Súčasne táto klasifikácia definuje množstvo klinickou praxou akceptovaných nozologických jednotiek, čo umožňuje spoľahlivo diagnostikovať a klasifikovať takmer všetky prípady myeloidných neoplázií (2, 5).

Dynamický rozvoj nášho poznania genetických, resp. molekulárne-biologických zmien pri vzniku a rozvoji MPN sa veľmi rýchlo premietol do roviny praktického využitia týchto poznatkov. To vo veľkej miere prispelo ku skvalitneniu ich

diagnostiky a vytvoreniu diagnostických algoritmov s použitím tzv. veľkých a malých kritérií, medzi ktoré patrí tak biopsia KD, ako aj genetické testy. Súčasne je žiadúce dodať, že význam genetiky v bližšej typizácii MPN je do istej miery limitovaný (2, 6). Dôkaz Ph1 chromozómu, resp. BCR/ABL fúzneho génu je kľúčový na potvrdenie diagnózy chronickej myeloidnej leukémie (ďalej CML) a na monitorovanie jej priebehu. V skupine Ph1 negatívnych MPN je častý výskyt mutácie JAK2^{V617F}, ktorej prítomnosť potvrdzuje klonalitu ochorenia. Vzhľadom na jej (aj keď z hľadiska frekvencie rozdielny) výskyt pri všetkých Ph1-MPN, ako aj pri niektorých iných myeloidných neopláziách, je najmä diferenciálne diagnostický význam tejto mutácie obmedzený (7). Navyše pomerne veľká časť Ph1-MPN, s výnimkou pravej polycytémie (PV), je bez prítomnosti JAK2^{V617F}, takže neprítomnosť tejto mutácie nevylučuje diagnózu MPN. Okrem mutácie JAK2^{V617F}, príp. mutácie exonu 12 pozorujeme pri Ph1-MPN aj iné genetické mutácie, ich výskyt je z hľadiska frekvencie podstatne nižší a tiež nie je jednoznačne typovo špecifický (8).

V predloženej práci sa v kontexte celého čísla časopisu sústredíme na význam správnej interpretácie morfológického obrazu KD a tým na potrebu bioptického vyšetrenia KD pri MPN, a to najmä BCR/ABL (Ph1) negatívnych MPN. Ambíciou tejto práce nie je podať ucelený prehľad morfológických nálezov v biopsii KD pri jednotlivých MPN – v tomto smere odkazujeme čitateľa na kvalitný výklad podaný v iných textoch (2, 4). Naším cieľom bolo poukázať na niektoré významy a prínosy biopsie KD pre dennú klinickú prax v procese diagnostiky a sledovania priebehu MPN.

Všeobecné poznámky k významu bioptického vyšetrenia KD pri MPN

MPN tvoria pestrú skupinu ochorení, ktorá sa vyznačuje pomalým, resp. aj dynamickým rozvojom z počiatočných štádií so zvýšeným množstvom krvných elementov v periférnej krvi do terminálnych štádií fibrotickej, resp. blastovej transformácie. Konkrétny morfológický a laboratórny obraz týchto ochorení, ako aj ich klinická manifestácia preto závisia od štádia, v ktorom je toto ochorenie zachytené (1).

Bioptické vyšetrenie KD u pacientov s MPN je významné z viacerých aspektov, ktoré možno sumarizovať takto:

- najdôležitejšou úlohou je potvrdenie dg. MPN, t. j. neoplastickej (klonálnej) povahy myeloproliferácie a vylúčenie prípadných reaktívnych zmien hemopoézy, ktoré klinicky môžu obraz MPN imitovať (9, 10),

- morfológický obraz KD je kľúčový pre typizáciu MPN, t. j. pre diferenciálno-diagnostické odlišenie jednotlivých typov MPN. To môže byť obzvlášť významné najmä v skorých štádiách Ph1 negatívnych MPN, v ktorých je klinická manifestácia často nešpecifická a ochorenie diagnostikované len na základe podrobnejšieho vyšetrenia pre náhodný zachyt trombocytózy, resp. anémie (9),
- bioptické vyšetrenie umožňuje zhodnotenie prognosticky významných morfológických znakov KD, ktoré sú neraz kľúčové pre správnu terapiu pacienta. Tu ide najmä o stupeň myelofibrózy (ďalej MF) v KD a množstvo blastov (2), ktorých zmnoženie pozorujeme najmä v prípadoch primárnej myelofibrózy (ďalej PMF), menej často aj v pokročilej fáze pravej polycytémie (ďalej PV). Len celkom ojedinele sa možno stretnúť aj s terminálnou, fibrotickou transformáciou esenciálnej trombocytémie (ET), zvyčajne však po dlhoročnom priebehu ochorenia (11). V prípadoch fibrotickej transformácie MPN je úloha biopsie KD potenciovaná skutočnosťou, že punkcia KD je často neúspešná a neumožňuje spoľahlivé posúdenie stupňa MF ani zhodnotenie množstva blastov v KD,
- bioptickým spracovaním trepanobioptického materiálu KD zároveň získavame materiál, z ktorého je možné úspešne izolovať DNA pre genetickú analýzu nielen mutácií BCR/ABL, JAK2^{V617F}, ale aj iných, zriedkavejších typov mutácií (12). Platí to obzvlášť pre prípady, v ktorých sa ochorenie klinicky v čase odberu trepanobiopsie KD neprejavovalo ako MPN, a preto nebol súčasne odobratý materiál aj na genetickú analýzu,
- biopsia KD z archívu bioptického registra umožňuje aj prípadné prehodnotenie diagnózy v čase odstupe, ak sa pozoruje nesúlad klinickej manifestácie ochorenia s morfológicky stanovenou diagnózou. V neposlednom rade možno využiť archívny materiál aj na retrospektívne štúdium, či už v zmysle bližšej analýzy morfológie KD pri MPN, alebo realizácie podrobnejších genetických analýz, čo v konečnom dôsledku prispieva k rozvoju poznatkov a skvalitneniu diagnostiky týchto ochorení.

Príspevok biopsie kostnej drene k typizácii MPN a sledovaniu priebehu ochorenia

Staršie štúdie jednoznačne potvrdili význam morfológickej analýzy KD pri diferenciálnej diagnostike MPN (13), ktorá je dnes štandardnou sú-

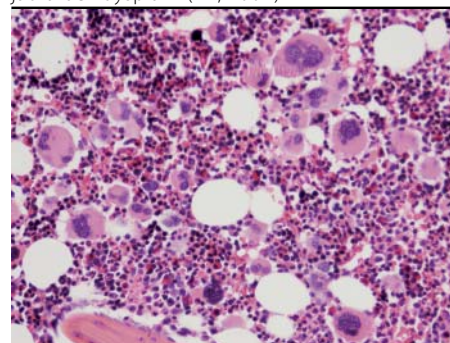
časťou diagnostických kritérií MPN podľa WHO (2, 5). Výsledný morfológický obraz jednotlivých typov MPN možno prirovnať k mozaike, lebo je tvorený viacerými morfológickými znakmi, z ktorých sú najdôležitejšie:

- stupeň celularity KD,
- pomer jednotlivých radov hemopoézy v zmysle ich aktivácie alebo redukcie,
- morfológia megakaryocytového radu a
- stromálna zložka KD, kde patrí najmä stupeň MF, ale aj depozity železitého pigmentu a prípadné zápalové zmeny strómy KD.

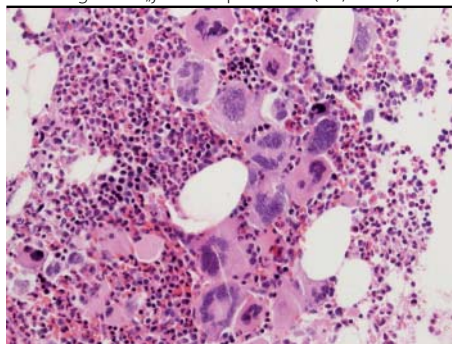
Viacero autorov sa zhoduje v názore, že kľúčovú úlohu v diferenciálnej diagnostike MPN zohráva práve spôsob distribúcie a morfológia megakaryocytov, pričom jednotlivé typy MPN sa vyznačujú aj charakteristickou morfológiou elementov megakaryocytového radu (2, 4, 9, 14). Táto je relatívne konštantná, takže ju nachádzame tak v skorých, ako aj v rozvinutých štádiách jednotlivých typov MPN.

V prípadoch **PV** nachádzame hypercelulárnu KD s trilineárnou aktiváciou hemopoézy a nápadným zmnožením prevažne rozptýlených megakaryocytov, ktoré miestami môžu tvoriť riedke zhluky (minimálne 3 megakaryocyty oddelené bunkami hemopoézy, bez vzájomného tesného kontaktu) (14, 15). Cytomorfologicky ide o zmes pestrých bunkových foriem, zahŕňajúcu malé, stredne veľké až veľké megakaryocyty s mierne hyperlobulizovanými jadrami (obraz 1) (10, 14). Často nachádzame aj prímies malých megakaryocytov s hypolobulizovanými, denznými jadrami – tzv. „nahé jadrá“ megakaryocytov (obraz 4) (10, 15), ktoré sú prejavmi apoptózy megakaryocytov a nesmú byť mylne interpretované ako dysplastické megakaryocyty, ktoré sa v skorých štádiách PV nevyskytujú. V časti prípadov možno v čase diagnózy ochorenia pozorovať ľahkú retikulínovú fibrózu, zvyčajne je však KD bez známk MF (11). Typickým znakom PV je absencia zásob železitého pigmentu v KD,

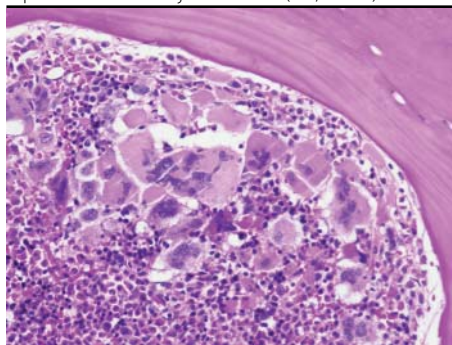
Obraz 1. PV: malé až veľké (pleomorfné) megakaryocyty s tvorbou riedkych zhlukov, hyperlobulizované jadrá bez dysplázií (HE, 200x)



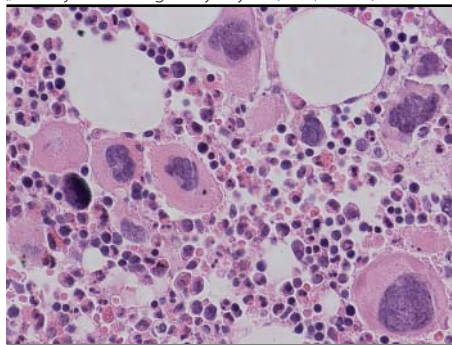
Obraz 2. ET: riedke zhľuky stredných až obrovských megakaryocytov s výrazne hyperlobulizovanými jadrami morfológie tzv. „jeleních parohov“ (HE, 200x)



Obraz 3. PMF: tesný zhľuk stredne veľkých až obrovských megakaryocytov s hyperlobulizovanými, atypicky lobulizovanými a dysplastickými jadrami v paratrabekulárnej lokalizácii (HE, 200x)



Obraz 4. PMF: veľké megakaryocyty s objemnými, hypolobulizovanými jadrami – tzv. „obláčikovitité“ megakaryocyty. V ľavej časti obrazu zachytené „nahé jadro“ megakaryocytu (PAS, 400x)



ktorý je spotrebovaný zvýšenou tvorbou erytrocytov (2, 14). Výnimočne, asi u 1 % pacientov, sa PV s mutáciou v JAK2 exóne 12 môže prejavovať ako čistá erytrocytóza. (16).

Pri **ET** je KD typicky normocelulárna, resp. len ľahko hypercelulárna s dominujúcou monolínárnou aktiváciou megakaryocytového radu s tvorbou riedkych zhľukov, pričom megakaryocyty majú charakteristickú morfológiu v zmysle veľkých foriem s hyperlobulizovanými, hlboko lobulizovanými jadrami, ktoré sa prirovnávajú k „jelením parohom“ (obraz 2) (10, 14). Aj keď v kontexte ostatných znakov KD (najmä celularita, stupeň MF) je táto morfológia špecifická pre ET, treba zdôrazniť, že megakaryocyty s identickou morfológiou možno pozorovať aj

v prípadoch PV (2, 15), ako aj PMF (17), najmä ak sú sprevádzané výraznou trombocytózou v periférnej krvi. Ojedinele možno aj pri ET pozorovať prímies spomínaných „nahých jadier“ megakaryocytového radu, avšak závažnejšie poruchy maturácie megakaryocytov v zmysle dysplázií nenachádzame (18). V prípadoch ET je KD takmer vždy bez známk MF, avšak v časti prípadov možno pozorovať ľahké zmnoženie retikulínových vlákien (11, 19).

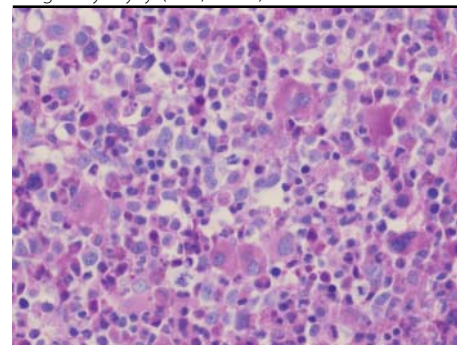
PMF je najdynamickejšie a prognosticky najhoršie ochorenie zo spektra Ph1- MPN, a preto sa tiež vyznačuje najvariabilnejším obrazom hemopoézy v KD. Ten je odlišný v iniciálnych, rozvinutých a terminálnych štádiách ochorenia, pričom morfológické zmeny sú sprevádzané príslušnými zmenami klinickej a laboratórnej manifestácie ochorenia (17). V počiatočných, prefibrotických štádiách bez prítomnosti MF, resp. s len ľahkou, retikulínovou MF nachádzame obraz normocelulárnej KD so zmnožením megakaryocytov tvoriacich riedke zhľuky (19). Podľa Wilkinsovej a spol. (20), na rozdiel od názorov Thieleho a spol. vyjadrených v klasifikácii SZO (1), v súčasnosti nie je možné spoľahlivo morfológicky identifikovať prefibrotickú fázu PMF definovanú kritériami SZO (1). V týchto prípadoch morfológia KD aj klinická manifestácia môžu verne imitovať ET (13). Hranica medzi tzv. „pravou“ ET a „prefibrotickým“ štádiom PMF nie je jasná a definitívne doriešenie tejto problematiky bude vyžadovať ďalšie štúdie (21). V časti prípadov skorých štádií a najmä v rozvinutej fáze ochorenia sa však stretávame s obrazom hypercelulárnej KD pri aktivácii bieleho a megakaryocytového radu a redukcii erytropoézy, pričom megakaryocyty často tvoria riedke aj tesné zhľuky (3 a viac megakaryocytov v tesnej blízkosti – obraz 3), resp. megakaryocyty sú dislokované ku kostným trabekulám (obraz 3). V skorých, prefibrotických, ako aj rozvinutých fázach dominujú veľké megakaryocyty s hyperlobulizovanými, atypicky lobulizovanými jadrami s črtami dysplázií (obraz 3) (2, 10), ktoré sa v iniciálnych štádiách ET ani PV nevyskytujú. Častým nálezom sú aj „nahé jadrá“ megakaryocytov, avšak charakteristickou morfológiou megakaryocytového radu typickou pre PMF sú formy s objemnými, hypolobulizovanými jadrami a svetlým chromatinom (tzv. „obláčikovitité“ jadrá – obraz 4), ktoré sa pri PV ani pri ET nevyskytujú (19). Typickým sprievodným znakom v iniciálnych, ako aj rozvinutých štádiách PMF je MF, ktorej stupeň narastá s rozvojom ochorenia. Dynamika tohto procesu je u jednotlivých pacientov variabilná, vo väčšine prípadov však časom dochádza k transformácii do terminálneho fibrotického štádia (17).

Aj keď v čase modernej genetiky je kľúčovým diagnostickým znakom **CML** prítomnosť BCR/ABL fúzneho génu, aj toto ochorenie má typický histomorfologický obraz v zmysle hyperaktívacie bieleho radu s redukciiu erytropoézy. Megakaryocyty môžu byť normálne zastúpené (tzv. granulocytový podtyp), alebo zreteľne zmnožené (tzv. granulocyto-megakaryocytový podtyp), pričom morfológicky ide o stredne veľké a malé formy s hypolobulizovanými jadrami – tzv. „trpasličie“ megakaryocyty (obraz 5) (22).

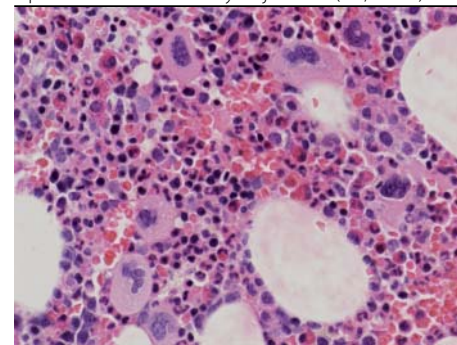
Do skupiny MPN podľa klasifikácie SZO (1) zaraďujeme aj ďalšie ochorenia zo spektra mastocytóz, chronickú eozinofilnú leukémiu, chronickú neutrofilnú leukémiu a bližšie netyrizovateľné MPN (2), avšak ich bližší opis sa vymýka rozsahu tejto publikácie, a preto od neho upúšťame.

Reaktívne zmeny hemopoézy môžu imitovať najmä ET alebo PV, pričom v oboch prípadoch je biopsia KD spoľahlivou diskriminačnou metódou. V prípade reaktívnych zmien hemopoézy (reaktívna trombocytóza alebo polyglobúlia) nachádzame rozptýlené, stredne veľké a menšie megakaryocyty s primerane lobulizovanými jadrami (obraz 6), bez morfológie typickej pre ET alebo PV. Celularita KD je normálna, v prípadoch reaktívnej polyglobúlie môže byť aj mierne zvýšená aktiváciou erytropoézy, stróma KD vykazuje zápalové zmeny

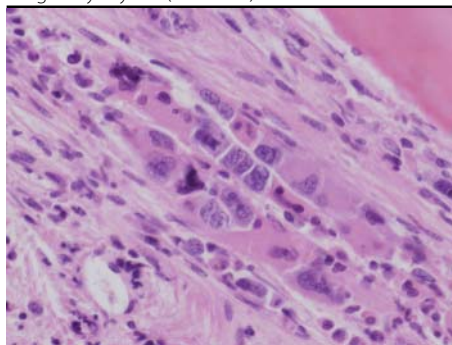
Obraz 5. CML: proliferácia vyzrievajúcej granulopoézy a malých megakaryocytov s hypolobulizovanými jadrami bez dysplázií – tzv. „trpasličie“ megakaryocyty (PAS, 400x)



Obraz 6. Reaktívna myeloproliferácia: ľahko zmnožené, rozptýlené megakaryocyty normálnej veľkosti s primerane lobulizovanými jadrami (HE, 400x)



Obraz 7. Terminálne, fibrotické štádium ET: redukcia hemopoézy ťažkou kolagénovou fibrózou, tesné zhluky malých atypických, dysplastických megakaryocytov (HE 400x)



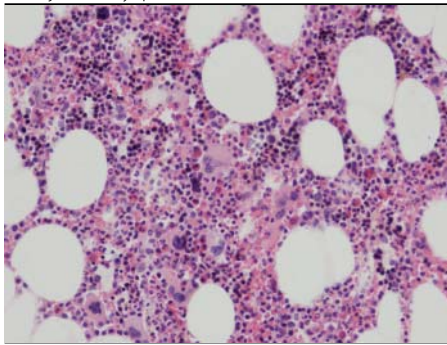
v zmysle zmnoženia plazmocytov, makrofágov, eozinofilov a zásob železitého pigmentu (10, 15). Pri histologickom odlíšení PMF a sekundárnej MF nenádorových ochorení možno využiť vo väčšine prípadov pacientov s PMFaj molekulárne-genetické analýzy, a to najmä prítomnosť mutácií JAK2^{V617F}, MPL^{W515L/K} alebo cytogenetických abnormalít. V prípade ich absencie musia byť klinicky a biopticky vylúčené iné nádorové alebo zápalové ochorenia, ktoré môžu viesť k rozvoju MF v KD (6).

Aj keď **rozvoj myelofibrózy** je typický sprievodný znak PMF, tak s fibrotickou transformáciou MPN sa stretávame aj u 20 % pacientov s PV (tzv. „spent“ fáza PV) a celkom ojedinele aj v prípadoch ET (11). V rozvinutých štádiách myelofibrózy dochádza k závažnej zmene pôvodného morfológického obrazu ochorenia, či už ide o progresiu MF v rámci PMF, alebo o fibrotickú transformáciu PV, resp. ET. Pôvodná hemopoéza je výrazne redukovaná na úkor zmnoženia väziva, zároveň dochádza aj k postupnému nárastu počtu dysplastických megakaryocytov, ktoré patofyziologicky súvisia s progresom MF. Často pozorujeme aj tvorbu tesných zhlukov a paratrabekulárnu dislokáciu megakaryocytového radu (obraz 7). Výsledkom týchto zmien je, že v terminálnych fibrotických štádiách MPN je odlíšenie rozvinutých štádií PMF od fibrotickej transformácie PV alebo ET nemožné (2, 19). Zároveň často pozorujeme postupný nárast množstva myeloblastov v KD, ktoré predstavujú transformáciu MPN z chronického štádia (bez zmnoženia blastov) do akcelerovanej fázy (10 – 19 % myeloblastov v KD), alebo až blastovej fázy (20 % a viac myeloblastov v KD).

Bioptický obraz KD pacientov s MPN v stave po liečbe

K závažným zmenám morfológie MPN dochádza aj po terapii, pričom charakter a intenzita týchto zmien závisia od dĺžky a konkrétneho typu

Obraz 8. ET po cytoredukčnej terapii: rozptýlené, stredne veľké a malé megakaryocyty s variabilnou lobulizáciou jadier vrátane denzných jadier pripomínajúcich dysplázie (HE 200x)



použitej terapie. Už len samotné venepunkcie u pacientov s PV spôsobujú zvýšenie celularity KD a zmnoženie a zväčšenie objemu megakaryocytového radu (23). Závažnejšie dôsledky na morfológiu KD má však vplyv cytoredukčnej terapie (busuphan, hydroxyurea, interferón), kedy pozorujeme redukciu celularity KD najmä v zmysle útlu erytropoézy a pokles množstva megakaryocytov, sprevádzaný redukciami lobulizácie jadier až vznik hypolobulizovaných megakaryocytov s denznými jadrami pripomínajúcimi dysplázie (obraz 8) (24, 25). Anagrelid spôsobuje selektívnu zástavu maturácie v megakaryocytovom rade (blokáda vyzrievania, lobulizácie, tvorby trombocytov a hyperlobulizovaných „staghorn like“ megakaryocytov), avšak na rozdiel od iných cytoredukčných látok nemá za následok akumuláciu dysplázií (25). Najzávažnejší vplyv na morfológiu MPN má transplantácia KD, avšak pre pestrý obraz týchto zmien od ich bližšieho opisu upúšťame. Všetky uvedené zmeny sú zvyčajne natoľko závažné, že znemožňujú bližšiu typizáciu MPN v postterapeutickej fáze (23, 24).

Spôľahlivosť výpovednej hodnoty biopsie KD

Morfológia KD a najmä megakaryocytového radu je vysoko spoľahlivá metóda diagnostiky MPN vrátane ich odlíšenia od iných myeloidných neoplázií, resp. reaktívnych zmien hemopoézy. Výpovedná hodnota bioptického vyšetrenia je však do veľkej miery závislá od kvality a kvantity vyšetřovaného materiálu, pričom reprezentatívna bioptická vzorka KD má byť aspoň 1,5 cm dlhá a obsahovať prinajmenej 10 intertrabekulárnych priestorov (1). Časť autorov tvrdí, že morfológický obraz jednotlivých typov MPN je natoľko charakteristický, že umožňuje ich diagnostiku len na základe morfológického obrazu KD (19). Avšak morfológia KD vrátane megakaryocytového radu sú variabilné a môžu byť ovplyvnené celým radom vonkajších či vnútorných patologických

činiteľov (27). Často sa ozývajú oprávnené názory, že interpretácia jednotlivých morfológických znakov KD a najmä morfológie megakaryocytového radu je subjektívna, ovplyvnená množstvom vedomostí a najmä praktických skúseností vyšetřujúceho patológa (20). Aj keď samotní tvorcovia WHO klasifikácie opakovanne deklarujú efektívnosť a spoľahlivosť interpretácie WHO kritérií MPN (27, 28), u niektorých pacientov je morfológický obraz MPN natoľko zložitý, že neumožňuje ich bližšiu typizáciu (2). V týchto prípadoch správnu diagnózu potvrdí až klinická manifestácia a priebeh ochorenia, alebo sa odporúča opakované bioptické vyšetrenie KD s časovým odstupom (4).

Záverom je vhodné uviesť, že bioptická diagnostika myeloidných neoplázií všeobecne je zložitá oblasť hematopatológie, ktorá si zvyčajne vyžaduje centralizáciu prípadov do špecializovaných pracovísk s príslušným laboratórnym vybavením a možnosťou realizácie genetických vyšetrení. V každom prípade morfológická diagnostika MPN je len jedným z krokov pri diagnostike MPN a správna interpretácia morfológického nálezu biopsií KD nie je možná bez základných klinických informácií (anamnéza pacienta, sprievodné ochorenia, terapia) a výsledkov laboratórných a molekulárno-genetických vyšetrení. Výsledná diagnóza MPN je preto vždy výsledkom multidisciplinárnej spolupráce patológa, klinika a ďalších špecialistov v laboratórnej medicíne.

Podakovanie: Práca bola podporená grantovými projektmi Centra excelencie CEPV II (IMTS 26220120036) a MBRKM (IMTS 26220220113) na JLF UK v Martine, ktoré sú spolufinancované z prostriedkov EÚ.

Vyhlásenie: Vyšetrenia biopsie kostnej drene boli realizované v súlade s princípmi Helsinskej deklarácie a po schválení v Etickej komisii JLF UK v Martine.

Literatúra

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. Health Organization Classification of Tumours of Haemopoietic and Lymphoid Tissues. 4th. Ed., IARC Press, Lyon 2008: 439.
2. Vardiman JW. Myelodysplastic syndromes, chronic myeloproliferative diseases, and myelodysplastic/myeloproliferative diseases. Semin Diagn Pathol 2003; 20: 154–179.
3. Schwarz J, Penka M, Indrák K et al. The WHO 2008 classification of Ph-myeloproliferative disorders: statement of the Czech MPD Working Group. Leukemia 2008; 22: 2118–2119.
4. Campr V. Histologická diagnostika Ph-negatívnych myeloproliferatívnych neoplázií. Česko-slov. Patol 2011; 47(3): 84–93.
5. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Health Organization Classification of Tumours, Pathology & Genetics, Tumours of Haemopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press Lyon 2001: 351.
6. Tefferi A, Thiele J, Vardiman JE. The 2008 WHO diagnostic criteria for PV, ET, and primary myelofibrosis: a paradigm of

effective collaboration among clinicians, pathologists, and scientists. *Blood* 2008; 111: 1742.

7. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *New Engl J Med* 2005; 332: 1499–1502.

8. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, Bernard OA. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2011; 118: 1723–1735.

9. Thiele J, Kvasnicka HM, Diehl V, Fischer R, Michiels JJ. Clinicopathological Disorders and Differential Criteria of Thrombocythemia in Various Myeloproliferative Disorders by Histochemistry and Immunostaining from Bone Marrow Biopsies. *Leuk Lymphoma* 1999; 33: 207–218.

10. Thiele J, Kvasnicka HM, Orazi A. Bone marrow histopathology in myeloproliferative disorders – current diagnostic approach. *Semin Hematol* 2005; 42: 184–195.

11. Kreft A, Buche G, Ghalibafian M, Buhr T, Fischer T, Kirkpatrick CJ. The Incidence of Myelofibrosis in Essential Thrombocythemia, Polycythemia Vera and Chronic Idiopathic Myelofibrosis: A Retrospective Evaluation of Sequential Bone Marrow Biopsies. *Acta Haematol* 2005; 113: 137–144.

12. Burjanivova T, Marcinek J, Minarik G, et al. Our experience with detection of JAK2 mutations in paraffin-embedded thephine bone marrow biopsies of patients with chronic myeloproliferative disorders. *Cesk Patol* 2011; 47: 115–117.

13. Thiele J, Kvasnicka HM. Chronic Myeloproliferative Disorders with Thrombocythemia: a Comparative Study of Two Classification Systems (PVSG, WHO) on 839 Patients. *Ann Hematol* 2003; 82: 148–152.

14. Georgii A, Choritz H, Büsche G, Kref A, Buhr T. Histopathologie der Ph1- Negativen Chronischen Myeloproliferativen Erkrankungen. *Pathologie* 1995; 16: 62–69.

15. Thiele J, Kvasnicka HM. Polyglobuly versus polycythemia vera. *Pathologie* 2000; 21: 24–30.

16. Passamonti F, Elena C, Skoda RC, et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood* 2011; 117: 2813–2816.

17. Thiele J, Hoepfner B, Zankovich R, Fischer R. Histomorphometry of Bone Marrow Biopsies in Primary Osteomyelofibrosis/-sclerosis (Agnogenic Myeloid Metaplasia) – Correlations Between Clinical and Morphological Features. *Wirschow Archiv A Pathol Anat* 1989; 415: 191–202.

18. Thiele J, Kvasnicka HM, Fischer R. Histochemistry and Morphometry on Bone Marrow Biopsies in Chronic Myeloproliferative Disorders – Aids to Diagnosis and Classification. *Ann Hematol* 1999; 78: 495–506.

19. Georgii A, Buhr T, Büsche G, Kreft A, Choritz H. Classification and Staging of Ph-negative Myeloproliferative Disorders by Histopathology from Bone Marrow Biopsies. *Leuk Lymphoma* 1996; 22: 15–29.

20. Wilkins BS, Erber WN, Bareford D, et al. Bone marrow pathology in essential thrombocythemia: interobserver reliability and utility for identifying disease subtypes. *Blood* 2008; 111: 60–70.

21. Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3179–184.

22. Thiele J, Kvasnicka HM, Schmitt-Gräeff A, et al. Bone marrow features and clinical findings in chronic myeloid leukemia – a comparative, multicenter, immunohistological and morphometric study on 614 patients. *Leuk Lymphoma* 2000; 36: 295–308.

23. Kreft A, Reimann J, Chhoritz H. Fibre Content and Cellularity of the Bone Marrow of the Iliac Crest, Vertebral Column and Sternum in Chronic Myeloproliferative Disorders. *Leuk Lymphoma* 2000; 38: 165–174.

24. Thiele J, Kvasnicka HM, Schmitt-Gräeff A, Hulsemann R, Diehl V. Therapy-related changes of the bone marrow in chronic idiopathic myelofibrosis. *Histol Histopathol* 2004; 19: 239–250.

25. Thiele J, Kvasnicka HM, Ollig S, Schmitt-Gräeff A. Anagrelide does not exert a myelodysplastic effect on megakaryopoiesis: a comparative immunohistochemical and morphometric study with hydroxyurea. *Histol Histopathol* 2005; 20: 1071–1076.

26. Rebar AH. General responses of the bone marrow to injury. *Toxicol Pathol* 1993; 21: 118–129.

27. Thiele J, Kvasnicka HM, Diehl V. Standardization of bone marrow features – does it work in hematopathology for histological discrimination of different disease patterns? *Histol Histopathol* 2005; 20: 633–644.

28. Thiele J, Kvasnicka HM, Müllauer L, Buxhofer-Ausch V, Gisslinger B, Gisslinger H. Essential thrombocythemia versus early primary myelofibrosis: a multicenter study to validate the WHO classification. *Blood* 2011; 117: 5710–5718.

Článek přijat redakcí: 11. 5. 2012

Článek přijat k publikaci: 13. 6. 2012

MUDr. Juraj Marcinek, PhD.

ÚPA JLF UK a UNM

Kollárova 2, 036 01 Martin

marcinek@fmed.uniba.sk
