

zikový faktor), skupina 2 se středním rizikem (2 rizikové faktory), skupina s vysokým rizikem (3 a více rizikových faktorů). Medián přežití v jednotlivých skupinách byl 135, 95, 48 a 27 měsíců ( $P < 0,001$ ). Jiné variabilní analyzované faktory: U pacientů s vyšetřeným karyotypem ( $n = 409$ ) byla přítomnost cytogenetických abnormalit sdružena s hemoglobinem pod 10 g/dl ( $P < 0,001$ ) a vykazala signifikantní vazbu s kratší dobou přežití i v rámci prognostického skóre ( $P = 0,01$ ). Autoři poznamenávají, že přítomnost abnormálního karyotypu přispěla k prognóze, ale pouze ve skupině 2 středního rizika a nikoliv ve skupině s nízkým rizikem a skupině s vysokým rizikem. U pacientů vyšetřených na mutaci *JAK2* byl zjištěn signifikantní vztah mezi

přítomnou mutací a věkem přes 65 roků ( $P = 0,002$ ), ale nikoliv sdružení mezi *JAK2* a prognostickým skóre nebo dobou přežití. U pacientů s vyšetřeným CD34+ při diagnóze koreloval tento parametr s počtem blastů větším nebo rovným 1 %, ale nikoliv s prognostickým skóre nebo dobou přežití. Autoři závěrem práce soudí, že nový prognostický systém pro PMF má významný praktický dopad pro oprávněný způsob léčby dle rizikových skupin. Samozřejmě doporučované léčebné postupy právě tak jako navrhovaný systém stratifikace nemocných jsou otevřeny ke změnám podloženým další novou informací.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.

### Molecular and clinical features of refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis

Luca Malcovati, Matteo G. Della Porta, Daniela Pietra, et al.

Departments of Hematology Oncology and Human Pathology, University of Pavia & Fondazione Istituto Di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) Policlinico San Matteo, Pavia, Italy, Leukaemia Research Fund Molecular Haematology Unit, John Radcliffe Hospital, Oxford, United Kingdom, Department of Medicine, University of Pavia & Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italy, et al.

*Blood*, 22 October 2009, Vol. 114, Number 17, pp. 3538-3545

Práce vychází z mezinárodní klasifikace myelodysplastických syndromů (MDSs) v rámci myeloidních neoplazií. Pro jednotlivé typy MDS je charakteristická inefektivní erytropoéza a periferní cytopenie, zatímco myeloproliferativní neoplazie (MPNs) jsou typicky spjaty s nadprodukcí zralých krevních buněk. Existují však onemocnění, u nichž se oba tyto hlavní znaky překrývají. WHO klasifikace hematopoetických a lymfoidních tkání zahrnuje kategorii myelodysplastických MPNs (Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al WHO Classification Of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC, 2008). Tato kategorie zahrnuje chronickou myelomonocytární leukemii, atypickou chronickou myeloidní leukemii (*BCR-ABL1*/negativní), juvenilní myelomonocytární leukemii, myelodysplastické / MPNs, a nezařaditelné (MDS/MPN, U). Tyto formy byly definovány jako klonální onemocnění, která mají v době iniciální presentace některé znaky podporující diagnózu MDS a jiné patří k MPN. Jedna z nich je prozatímní jednotka definovaná jako refrakterní anémie s věnečkovitými sideroblasty a výraznou trombocytózou (RARS-T, Vardiman JW, Bennett JM, Bain BJ, et al. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms, unclassifiable. In: Swerdlow SH, et al., eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC, 2008: 85–86 ).

**Cílem práce** bylo získat hlubší pohled do patofyziologie RARS-T studiem souboru pacientů s myeloidními neoplaziami a zkoumat vztah mezi trombocytózou, věnečkovitými sideroblasty, mutacemi *JAK2* nebo *MPL* a profily genové exprese v buňkách CD 34+. *Soubor a metody*: Celá studie zahrnovala 187 pacientů s myeloidními neoplaziami diagnostikovanými na oddělení hematologie a onkologie University v Pavii v letech 2001–2006. Po klinickém

vyšetření a začlenění podle WHO klasifikace z r. 2008 bylo 94 pacientů zařazeno do skupiny MDS, 66 do MPN a 27 do MDS/MPN (19 případů RARS-T; 5 případů do MDS/MPN, U bez prstenčitých sideroblastů; 3 případy chronické myelomonocytární leukemie). U 5 případů byl MDS provázen reaktivní trombocytózou při zánětlivé komplikaci, která později ustoupila. *Podskupina RARS-T* byla definována podle následujících WHO kritérií: (1) refrakterní anémie spojená s erytroidní dysplazií a věnečkovitými sideroblasty v 15 % nebo více, (2) méně než 5 % blastů v kostní dřeni, (3) počet destiček  $450 \times 10^9/l$  nebo více, (4) přítomnost velkých atypických megakaryocytů, podobných jako jsou pozorovány u *BCR/ABL1*-negativní MPN, a (5) chybění del(5q), t(3;3)(q21;q26) nebo inv(3)(q21q26). V rámci molekulárně genetických vyšetření byla provedena analýza mutací *JAK 2* (V617F) v cirkulujících granulocytech, skenování mutace *MPL*, klonová analýza hematopoetických buněk, profily genové exprese, stanovení hematopoetických progenitorů – růst kolonií CFU-E, BFU-E, CFU-GM, stanovení počtu cirkulujících buněk CD34+ cytofotometrickou metodou.

**Výsledky a diskuse.** Ze 24 pacientů s věnečkovitými sideroblasty v kostní dřeni a trombocytózou splňovalo 16 kritéria pro diagnózu RARS-T. 3 pacienti s RARS měli nízký až normální počet destiček při diagnóze, avšak počty destiček se v průběhu dalšího sledování zvýšily spolu s objevením velkých atypických megakaryocytů a splňovaly tak kritéria pro RARS-T. Proto autoři v tomto souboru pacientů identifikovali celkem 19 pacientů s RARS-T. Klinické charakteristiky těchto 19 pacientů pak srovnali se 24 pacienty s RARS bez zvýšeného počtu destiček. Medián věku u skupiny RARS-T byl 59 roků (rozmezí 27–90), u skupiny RARS 67 roků (33–84). Medián počtu destiček u RARS-T byl  $688 \times 10^9/l$  (roz-

mezi 475–1420 ), u RARS byl  $271 \times 10^9/l$  (113–471),  $P < 0,001$ . Medián počtu leukocytů u RARS-T byl  $6,8 \times 10^9/l$  (rozmezí 2,9 – 13,0), u RARS byl  $5,0 \times 10^9/l$  (rozmezí 2,9 – 7,8),  $P < 0,001$ . Podíl abnormálních megakaryocytů u RARS-T byl 15 /19 (79 %), u RARS 1/24 (4 %),  $P < 0,001$ . Podíl mutací *JAK2/MPL* u RARS-T byl 11/19 (58 %), u RARS 0/24 (0 %),  $P < 0,001$ . Autoři srovnali klinický průběh u pacientů s RARS, RARS-T a s refrakterní cytopenií s dysplázií ve více řadách a věnečkovitými sideroblasty, zahrnutými do této studie. Nejistili signifikantní rozdíl v celkovém přežití a přežití bez leukemie mezi těmito skupinami. Provedli dále srovnání s ohledem na progresi k pokročilejšímu MDS nebo vývoji do akutní leukemie nebo úmrtí či selhání. Nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi skupinami RARS a RARS-T, zatímco přežití do selhání (EFS) bylo signifikantně kratší u pacientů s refrakterní cytopenií s dysplázií ve více řadách a s věnečkovitými sideroblasty při srovnání s ostatními skupinami ( $P < 0,05$ ). Tři pacienti s MPN (všichni postižení primární myelofibrózou) měli věnečkovité sideroblasty ( $\geq 15$  %) a trombocytózu (počet destiček  $\geq 450 \times 10^9/l$ ) U těchto pacientů nebyly identifikovány žádné zvláštní klinické projevy ve srovnání s ostatními pacienty s primární myelofibrózou.

Mutace *JAK2* (V617F) byla zjištěna u 10 pacientů z 19 pacientů (53 %) s RARS-T a u 2 z 5 pacientů s MDS/MPN, U. Medián procenta mutovaných alel u pacientů s RARS-T byl roven 10,4 % (rozmezí 1,1–27,7 %). Pacienti s RARS-T byli také testováni na *JAK2* exon 12 a mutace *MPL* pomocí přímého sekvenování. Dva pacienti nesoucí mutace *JAK2* (V617F), 5,8 %, resp. 10,2 % mutovaných alel) měli také mutaci *MPL* (W515L) (přibližně 20 %, resp.

25 % mutovaných alel). Jeden pacient, negativní na *JAK2* (V617F), byl zjištěn jako nosič *JAK2* delE543D544, což je mutace *JAK2* exonu 12, přibližně s 10 % mutovaných alel. Dva pacienti s iniciální diagnózou RARS (počet destiček  $\geq 55$  a  $398 \times 10^9/l$ , resp.) byli negativní na mutace *JAK2* a *MPL* při klinickém začátku. Vykázali progresivní zvýšení počtu destiček za 18, resp. 32 měsíců po diagnóze. Nové vyšetření na *JAK2* (V617F) bylo v této době pozitivní s 0,4 % a 1,5 % mutovaných alel. U prvního pacienta došlo při dalším vyšetření za 8 měsíců k jasné pozitivitě (21 % mutovaných alel). To bylo spojeno s dalším vzestupem počtu destiček a dovolilo uzavřít diagnózu jako RARS-T. Celkem tedy u 11 pacientů z 19 pacientů (58 %) s RARS-T byly zjištěny mutace *JAK2* nebo *MPL*, zatímco tyto somatické mutace nebyly zjištěny u žádného pacienta s RARS. U ženských pacientů s RARS-T představovaly granulocyty nesoucí mutaci *JAK2* (V17F) jen frakci klonálních granulocytů. Při studiu profilů genové exprese byly zjištěny rozdíly mezi pacienty s RARS-T a RARS, uvedeno 10 genů s nejsignifikantněji vyjádřenými rozdíly v genové expresi.

**Závěr:** Autoři uzavírají svou studii tím, že RARS-T je myeloidní neoplazie se znaky jak myelodysplastickými (RARS-like) tak myeloproliferativními (essential thrombocythemia-like) na úrovni molekulární a klinické. RARS-T může vzniknout z preexistující RARS získáním somatických mutací *JAK2*, *MPL* nebo jiných dosud neznámých genů. Biologickou podstatu RARS-T tak přesněji odráží zařazení do rámce MDS/MPN. Z klinického pohledu je důležité odlišení RARS-T od esenciální trombocytémie.

*Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.*