

# Mijeloproliferativni zloćudni tumori

---

**Kapetanović, Edo**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2015**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:945014>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-11**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**

**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

**Edo Kapetanović**

**MIJELOPROLIFERATIVNI ZLOĆUDNI TUMORI**

**Diplomski rad**

**Rijeka, 2015.**

**SVEUČILIŠTE U RIJECI**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**

**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

**Edo Kapetanović**

**MIJELOPROLIFERATIVNI ZLOĆUDNI TUMORI**

**Diplomski rad**

**Rijeka, 2015.**

Mentor rada: Prof.dr.sc. Antica Duletić - Načinović, dr.med.

Diplomski rad ocijenjen je dana \_\_\_\_\_ u/na \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

3. \_\_\_\_\_

Rad sadrži 41 stranica, 0 slika, 0 tablica, 21 literaturnih navoda.

## **ZAHVALA**

Diplomski rad „Mijeloproliferativni zloćudni tumori“ izrađen je krajem Integriranog preddiplomskog i diplomskog sveučilišnog studija medicine na Klinici za hematologiju Kliničkog Bolničkog Centra Rijeka.

Zahvaljujem mentorici Prof.dr.sc. Antici Duletić - Načinović na pomoći i savjetima prilikom pisanja diplomskog rada.

Veliko hvala mojim roditeljima koji su sa olakšanjem i srećom dočekali ovaj dan.

Hvala Ediju Kapetanoviću što je uvijek sa mnom bez obzira na vremenske zone i kilometre između nas. Hvala ti brate.

Zahvaljujem Roberti Kobale na podršci kad mi je ona najpotrebnija. Hvala ti što si pratila i čitala ovaj diplomski rad.

Hvala svim ljudima koji su bili dio mog života i koji su moje uspomene na studij medicine ispunili lijepim i sretnim trenucima.

Edo Kapetanović

## **SADRŽAJ**

<b>1. UVOD U MIJELOPROLIFERATIVNE NEOPLAZME (MPN)</b>	<b>1</b>
<b>2. SVRHA RADA</b>	<b>3</b>
<b>3. KRONIČA MIJELOIČNA LEUKEMIJA (KML)</b>	<b>4</b>
<b>4. POLICITEMIJA VERA</b>	<b>14</b>
<b>5. ESENCIJALNA TROMBOCITEMIJA (ET)</b>	<b>21</b>
<b>6. PRIMARNA MIJELOFIBROZA (PM)</b>	<b>27</b>
<b>7. RASPRAVA</b>	<b>33</b>
<b>8. ZAKLJUČCI</b>	<b>34</b>
<b>9. SAŽETAK</b>	<b>38</b>
<b>10. SUMMARY</b>	<b>39</b>
<b>11. LITERATURA</b>	<b>40</b>
<b>12. ŽIVOTOPIS</b>	<b>41</b>

## POPIS SKRAĆENICA

MPN - mijeloproliferativne neoplazme

KML - kronična mijeloična leukemija

PV - policitemija rubra

ET - esencijalna trombocitoza

PMF - primarna mijelofibroza

AML - akutna mijeloična leukemija

Ph/Ph1- Philadelphia kromosom

BCR- *eng. Breakpoint cluster region*

ABL/ABL1 - *eng. Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*

SZO - Svjetska zdravstvena organizacija (*eng. WHO- World Health Organization*)

JAK2 - Janus kinaza 2 (*eng. Janus kinase 2*)

CEBPA - *eng. CCAAT/ enhancer binding protein (C/EBP), alpha*

mRNA - glasnička RNA (*eng. messenger RNA*)

FISH - fluorescentna in situ hibridizacija (*eng. fluorescence in situ hybridization*)

RT- PCR - reverzna transkriptaza polimeraza lančane reakcije (*eng. reverse transcription polymerase reaction*)

MAPK - mitogenom aktivirana proteinska kinaza (*eng. mitogen- activated protein kinase*)

ALL - akutna limfocitna leukemija

APL - alkalna fosfataza u leukocitima

EUTOS - *eng. European Treatment and Outcome Study*

TKI - tirozin kinazni inhibitori

ATP - adenzin trifosfat

PDGF(R) - *eng. platelet derived growth factor (receptor)*

ELN - *eng. European Leukemia Net*

HLA - humani leukocitni antigen (*eng. human leukocyte antigen*)

EPO - eritropoetin

TPO - trombopoetin

IPSET - *eng. International Prognostic Score for Essential Trombocytopenia*

MMP - matriks metaloproteinaza

TIMP - tkivni inhibitori MMP

CALR - kalretikulinski gen

LDH - laktat dehidrogenaza

DIPSS - *eng. Dynamic International Prognostic Scoring System*

mTOR - *eng. mammalian target of rapamycin*



## 1. UVOD U MIJELOPROLIFERATIVNE NEOPLAZME (MPN)

Kronični mijeloični poremećaji mogu se podijeliti na one koji pokazuju (mijelodisplastični sindrom) i one koji ne pokazuju (mijeloproliferativne bolesti) značajni stupanj dismijelopoeze (1). U klasičnu skupinu mijeloproliferativnih bolesti spadaju kronična mijeloična leukemija (KML), policitemija vera (PV), esencijalna trombocitoza (ET) i primarna mijelofibroza (PMF). Navedene bolesti su klonalni poremećaji na razini progenitorne krvotvorne stanice koji rezultiraju stvaranjem i nakupljanjem mijeloidnih stanica: eritrocita, trombocita, granulocita, monocita, a ponekad (kod KML) i limfocita. Terminalna diferencijacija i maturacija stanica u kroničnim mijeloproliferativnim neoplazmama nije zahvaćena. Neoplastična matična stanica ima sposobnost cirkulacije i udomaćenja, poglavito u slezeni gdje započinje ektramedularna hematopoeza s posljedično varijabilnim stupnjem splenomegalije. Svaka od navedenih bolesti ima mogućnost prirodne progresije sa završetkom u potrošnoj fazi razvitkom fibroze koštane srži i periferne citopenije. Drugi smjer progresije predstavlja prelazak u akutnu mijeloičnu leukemiju (AML). Različiti postotak pacijenata koji boluju od navedenih bolesti transformira u AML, a samo KML to čini uvijek ako se ne liječi (2). Ove bolesti pokazuju znatnu razinu preklapanja kliničkih i laboratorijskih nalaza poglavito na početku bolesti, kako međusobno tako i s nekim reaktivnim stanjima koji izazivaju hiperplaziju koštane srži pa njihovo razlikovanje može biti dijagnostički izazov (3). Citogenetička i molekularna analiza razlikuje KML od ostalih MPN jer je za njegovu dijagnozu neophodan dokaz Philadelphia kromosoma (Ph1) ili BCR-ABL1 translokacije (4). Ostale spadaju u skupinu Ph negativnih mijeloproliferativnih neoplazmi i razlikuju se u svojim histološkim značajkama s obzirom na stupanj zahvaćenosti mijeloidne loze, prisutnost retikulina, fibroze te izgledu megakariocita. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) razlikuje dodatne kliničke entitete u ovoj skupini zloćudnih tumora granulocita i monocita, a to su: kronična eozinofilna leukemija, mastocitoza, kronična granulocitna leukemija i

neklasificirana kronična mijeloproliferativna bolest (5). Ovaj diplomski rad sadržajno ne obrađuje navedene entitete, već je posvećen klasičnoj (kroničnoj) skupini mijeloproliferativnih neoplazmi.

## 1. SVRHA RADA

1951. William Dameshek opisuje koncept mijeloproliferativnih poremećaja povezujući kroničnu mijeloičnu leukemiju, esencijalnu trombocitozu, policitemiju veru i primarnu mijelofibrozu u jedinstvenu skupinu bolesti. Pretpostavio je podliježuću trolinijsku proliferaciju kao njihovu zajedničku patogenezu. Janet Rowley sa Sveučilišta u Chicagu godine 1972. prva otkriva Philadelphia kromosom i BCR/ABL1 translokaciju kao uzrok kronične mijeloične leukemije. Bio je to pionirski dokaz da genetske i kromosomske promjene utiru put kancerogenezi. Prije 15 godina Brian Ducker otkriva malu molekulu imatiniba koji inhibira funkciju ABL1 gena s iznimnim terapijskim učinkom na kroničnu mijeloičnu leukemiju. 2005. godine otkrivena je JAK2 mutacija u BCR-ABL1 negativnih MPN otvarajući nadu u djelotvornost terapije slične onoj koja se primjenjuje u pacijenata s KML (6). Nastavlja se intenzivan rad na otkrivanju uzroka i ostalih specifičnosti ovih bolesti.

Svrha ovog diplomskog rada jest pobliže opisati i objasniti klasične mijeloproliferativne bolesti i najnovija saznanja o njihovoj patogenezu, terapijskim mogućnostima i sudbini života pacijenata opterećenih MPN dijagnozom.

## 2. KRONIČNA MIJELOIČNA LEUKEMIJA (KML)

Kronična mijeloična leukemija (KML), BCR/ABL pozitivna, poznata je i pod nazivima kronična granulocitna leukemija, kronična mijeloza i kronična mijelocitična leukemija. Za razliku od drugih klasičnih mijeloproliferativnih neoplazmi kod kojih dolazi do klonalne preobrazbe na razini multipotentne krvotvorne matične stanice, kod KML se radi o zloćudnoj transformaciji na razini pluripotentne progenitorske stanice koja ima sposobnost diferencijacije i u mijeloidnu i u limfoidnu matičnu stanicu (2). Temeljna značajka ove mijeloproliferativne bolesti koja ju odjeljuje od ostalih je derivirani kromosom 22 zvan Philadelphia kromosom. Radi se o karakterističnoj recipročnoj translokaciji koja uključuje BCR gen na kromosomu 9 i ABL1 gen kromosoma 22. Rezultirajući BCR-ABL fuzijski gen kontrolira sintezu fuzijskog proteina s tirozin kinaznom aktivnošću čija aktivnost, za razliku od normalnog ABL1, nije strogo kontrolirana, već je elevirana i konstitutivna zahvaljujući BCR dijelu fuzijskog gena. Navedena disregulacija tirozin kinazne aktivnosti implicira onkogeni potencijal translokacije i osnova je patogeneze kronične mijeloične leukemije (7).

**Epidemiologija.** Kronična mijeloična leukemija primarno je bolest odrasle dobi između 25 i 60 godina s najvećom zastupljenošću u 4. i 5. desetljeću života. KML je odgovorna za 15% do 20% leukemija u odrasloj populaciji s incidencijom u Hrvatskoj i u svijetu od 1-2 novooboljelih godišnje na 100 000 stanovnika (3).

**Etiologija.** Osim izloženosti ionizirajućem zračenju i benzenu (za koje postoji jasna uzročna posljedična veza) niti jedan drugi faktor rizika nije poznat. Iako nije utvrđena familijarna dispozicija za razvoj KML, pretpostavlja se da osobe s genetskim varijantama na dva kromosomska lokusa, 6q25.1 i 17p11.1, imaju veću vjerojatnost da razviju KML (8).

**Fiziologija i patofiziologija.** Svi pacijenti sa kroničnom mijeloičnom leukemijom imaju dokazan ili Philadelphia kromosom, BCR-ABL1 fuzijski gen/protein, ili BCR-ABL1 fuzijsku mRNA genetičkim metodama kao što su kariotipizacija, in situ fluorescentna hibridizacija (FISH) i lančana reakcija reverzne transkriptaza - polimeraze (RT-PCR) (3). U velikoj većini (u 90% do 95% slučajeva) konvencijalnom citogenetičkom analizom (kariotipizacijom) otkriva se Philadelphia (Ph) kromosom, t(9;22)(q34;q11.2). Ipak, u 5% do 10% slučajeva, genska rekombinacija je složena ili citogenetički kriptirana. Složene varijante translokacije uključuju i druge kromosome npr. t(9;14;22) pa je t(9;22) maskirana. Kriptirane translokacije 9q34 i 22q11.2 nazivaju se „Ph negativne“ jer se ne mogu utvrditi rutinskom citogenetičkom obradom (kariotipizacijom) i zahtijevaju metafaznu ili interfaznu FISH analizu za identifikaciju BCR-ABL1 gena ili RT-PCR za otkrivanje BCR-ABL1 fuzijske mRNA. Klinička obilježja ovih podskupina KML-a su vrlo slična pozitivnim nositeljima Philadelphia kromosoma. Pacijenti kojima nije dokazana BCR-ABL1 translokacija niti FISH niti RT-PCR metodom nemaju kroničnu mijeloičnu leukemiju (7).

BCR i ABL geni pojedinačno nemaju onkogeni potencijal i o njihovoj fiziološkoj funkciji zna se vrlo malo, ali BCR-ABL, njihov zajednički produkt, esencijalan je za razvoj KML. BCR-ABL je kimerični gen nastao stečenom somatskom mutacijom gdje mjesto gena c-sis na kromosomu 22 zauzima gen c-abl s kromosoma 9. Taj novi hibridni gen ovisno o mjestu cijepanja BCR regije kontrolira sintezu hibridnih onkoproteina 190, 210 ili 230 kDa. U sva tri navedena proteina nalazi se cijeli c-abl1 (bez prvog egzonskog slijeda) sa cjelokupnom ABL tirozin kinaznom katalitičkom domenom, a razlikuju se u veličini BCR sekvence na N terminalnom dijelu. Najčešći onkoprotein kod KML pacijenata je protein veličine 210 kDa nastao hibridizacijom na egzonu 13 ili 14 na BCR genu koji se još nazivaju egzon b2 ili b3. Spojem s ABL1 genom na egzonu a2 nastaju fuzije poznate kao e13a2, e14a2 ili alternativno nazivane b2a2 odnosno b3a2. Spomenuti p210 BCR/ABL1 protein ima leukemogeni

potencijal s povišenom i konstitutivno aktiviranom tirozin kinaznom aktivnosti, a ista svojstva pokazuju i fuzijski proteini veličine 230kDa i 190kDa koji se rjeđe pojavljuju u kroničnoj mijeloičnoj leukemiji. Onkoprotein p230 zastupljen je u manje od 1% KML slučajeva kao produkt e19a2 fuzije i često je prisutan u kroničnoj neutrofilnoj leukemiji. Protein p190 BCR-ABL1 koji pokazuje najveću intrinzičnu tirozin kinaznu aktivnost produkt je e1a2 hibridnog gena. Prisutan je u malim količinama u pacijenata sa klasičnim p210 transkriptom kao forma alternativnog prekrajanja BCR gena. Povezan je s dvije trećine Ph pozitivnih akutnih B-staničnih limfolbalstičnih leukemija (ALL). U preostale trećine javlja se p210 (9).

Aktivnost tirozin kinaza je normalno regulirana ligandom posredovanom dimerizacijom nakon koje slijedi aktivacija mnogih signalnih putova koji kontroliraju preživljavanje i proliferaciju stanica. Dokazano je da BCR potpomaže dimerizacijskoj domeni u autofosforilaciji i aktivaciji nizvodnih signalnih putova čime dolazi do gubitka osjetljivosti na regulatore koji kontroliraju staničnu proliferaciju. Ukupni rezultat ovih događaja je dioba stanica i inhibicija apoptoze neovisna o vezanju liganda. BCR/ABL1 gen primarno ima mitotsku aktivnost i potiče kinaza ovisne i neovisne stanične signalne putove. Iako mnogi signalni putovi sudjeluju u patogenezi KML-a, MAP kinaza (MAPK) signalni put pokazuje centralnu ulogu u promociji nekontrolirane proliferacije. Prisutan je i nesklad u sazrijevanju jer ravnoteža diferencijacija/samoobnavljanje ide u korist diferencijaciji. KML stanice imaju promijenjeni citoskelet i smanjenu adheziju sa mikrookolišem što rezultira neprikladnom ekspanzijom odjeljka mijeloidnih stanica (2).

KML u klonalnoj ekspanziji zahvaća neutrofile, bazofile, monocite, megakariocite, eritroblaste, eozinofile i limfocite B. To je indolentna bolest koja može prijeći u akutnu leukemiju naglo (blastičnom krizom) ili postepenim pogoršanjem laboratorijskih nalaza i terapijskog učinka (faza ubrzanja). Za progresiju kronične mijeloične leukemije u akutnu fazu potrebna je dodatna alteracija genetskog materijala. Za akutnu fazu nije utvrđena

karakteristična abnormalnost (3). Neophodno je pojačanje ekspresije BCR-ABL1 tirozinske kinaze, diferencijacijski stop posredovan supresijom transkripcijskih faktora, dodatne kromosomske promjene i inaktivacija tumor supresorskih gena. Vidljiv je porast BCR/ABL1 proteina zbog pojačane transkripcije ali i usporene razgradnje. Diferencijacijski stop ili pomak prema nezrelim staničnim oblicima posljedica je supresije CEBPA faktora za mijeloidnu diferencijaciju; delecije Ikaros (IKZF1) gena u 80% Ph+ B- ALL koji je potreban za normalni razvoj limfoidne loze i translokacija t(3;21) koja zahvaća transkripcijske faktore AML1 i EVI1. Stopu diferencijacije i progresiju bolesti pomaže i poremećaj DNA metilacije (metilacija kalcitoninskog gena, M-bcr regije i c-ABL1 promotorskog dijela). U 80% slučajeva prisutne su i dodatne kromosomske promjene u uznapredovaloj fazi. Najčešće se radi o trisomijama 8 i 19, duplikaciji Ph1 kromosoma i izokromosomu 17q. Također, citogenetske abnormalnosti u RNA-vezujućim proteinima, Lin 28 i Musashi, moguće pridonose progresiji KML u nekih pacijenata, ali u tom smjeru su potrebna dodatna istraživanja. Progresiju aktivira i gubitak tumor supresorskih gena. Mijeloidne blastične krize su 20% do 30% posljedica je gubitka p53 koji se nalazi na p kraku kromosoma 17 koji nestaje prilikom stvaranja izokromosoma 17q. Amplifikacija c-MYC na kromosomu 8 i delecija RB1 ili CDKN2A je česta u progresiji Ph+B-ALL (limfoidne blastične krize). Delecija CDKN2A je loš prognostički faktor. Velike delecije deriviranog kromosoma 9 pronađene su u 15% do 20% pacijenata. Gubitak nastaje prilikom Ph translokacije i povezan je s brзом progresijom bolesti zbog delecije jednog ili više tumor supresorskog gena u blizini 9q34.1 lokusa (7).

**Klinička slika.** Početak KML je podmukao. Klinička prezentacija varira s obzirom na stadij bolesti prilikom dijagnoze. 20% do 50% pacijenata je asimptomatsko s postavljanjem sumnje na bolest nakon rutinskog vađenja krvi. Simptomatski pacijenti prezentiraju se umorom, slabošću, gubitkom na težini, profuznim znojenjem i anoreksijom zbog hipermetabolizma povećanog broja stanica i epizodama krvarenja kao posljedice disfunkcije trombocita. Splenomegalija je prisutna u 90% slučajeva, a nekad je prvi simptom bolesti osjećaj povlačenja u abdomenu uzrokovan ekstremnom splenomegalijom koja ispunjava cijelu lijevu polovicu trbuha ili akutni napad boli u lijevom gornjem kvadrantu zbog spleničnog infarkta praćenog perispleničkim trenjem (3).

KML ima trifazični ili bifazični tijek bolesti. *Kronična faza* prisutna je u 85% bolesnika prilikom dijagnoze; *akcelerirana faza* je faza u kojoj diferencijacija neutrofila postaje oštećena i broj leukocita se teže kontrolira terapijom; *blastična kriza* je stanje koje izgleda kao akutna leukemija u kojoj se mijeloidni ili limfoidni blasti nekontrolirano umnožavaju. Faza blastične transformacije u 70% pacijenata ima sliku akutne mijeloidne leukemije (AML), a u 30% oboljelih radi se o akutnoj limfocitnoj leukemiji (ALL), najčešće B-limfocitnog podrijetla (B-ALL). Prijelaz kronične faze direktno u blastičnu krizu češći je s limfoidnim blastima.

U perifernoj krvi broj leukocita je između  $50$  i  $200 \times 10^9/L$ , a u razmazu periferne krvi je medijan leukocita 100 000 po mikrolitru. I u koštanoj srži i u perifernoj krvi dominira izrazito povećana granulocitopoeza sa svim stanicama neutrofilne linije, od mijeloblasta do zrelih neutrofila. Granulociti su u kroničnoj fazi morfološki normalni, ali su citokemijski promijenjeni i naginju diferencijaciji što se naziva diskordantna maturacija ili nesklad u sazrijevanju. Biopsija koštane srži pokazuje 100 postotnu celularnost u odnosu na normalno stanje kad ju u 50% ispunjavaju stanice, a 50% masno tkivo. Granulocitno-eritroidni odnos povećan je na  $10 - 50 : 1$  (normalno je  $2 - 5 : 1$ ). Karakterističan je i nalaz razbacanih histiocita



sa smežuranom, zeleno-plavom citoplazmom (sea-blue histiocytes) i smanjenih patuljastih megakariocita koji nisu mali kao displastični mikromegakariociti. Tipično je i odlaganje retikulinskih vlakana kao znak fibroze, ali ne na početku bolesti. Prisutnost većeg broja blasta i zrelih neutrofila bez intermedijarnih formi („hiatus leukaemicus“) klasičan je dio slike KML, iako ne u kroničnoj fazi. Broj blasta i promijelocita ne prelazi više od 20%, jer bi to upućivalo na razvoj blastične transformacije. Apsolutna bazofilija je univerzalni nalaz u razmazu krvi, a apsolutna eozinofilija vidljiva je u 90% slučajeva. Apsolutna monocitoza (više od 1000 po mikrolitru) nije rijedak nalaz iako je postotak monocita ispod 3% (2). Pacijenti s rijetkim alternativnim lomom na kromosomu 22, koji proizvodi p190 imaju istaknutiju monocitozu i nizak neutrofil/monocit omjer u perifernoj krvi. Anemija je česta, normocitna i normokromna. Može biti i makrocitna ako dolazi do deplecije folata u proizvodnji leukemijskih stanica. Trombociti su povišeni u polovice bolesnika i to je jedina leukemija s trombocitozom, no u kroničnoj fazi nema tromboza i hemoragičnih komplikacija. Ako je broj trombocita nizak, obično znači odmaklu bolest, ali treba razmišljati i o drugim dijagnozama kao što su mijelodisastični sindromi. Zastupljenost plazma stanica je redovito smanjena što pomaže u razlikovanju od reaktivnih stanja. Benigni leukociti imaju normalan skor alkalne fosfataze u leukocitima (APL) koji se boduje prema jačini bojenja i iznosi normalno od 20-100. Neoplastični granulociti su citokemijski promijenjeni i pokazuju sniženu aktivnost ili apsolutni nedostatak APL aktivnosti. Moguće se niske vrijednosti i u nekim slučajevima idiopatske mijelofibroze, u paroksizmalnoj noćnoj hemoglobinuriji i hipofosfatemiji nakon liječenja androgenima, no ta se stanja jasno razlikuju od kronične mijeloične leukemije. APL je povišen u leukemoidnoj reakciji i služi za razlikovanje benignog reaktivnog povišenja leukocita zbog infekcije i KML (10).

**Dijagnoza.** Sumnja na KML se postavlja iz tipičnih nalaza krvi (leukocitoza) i koštane srži (hipercelularnost) te se potvrđuje citogenetičkim metodama. Philadelphia kromosom nije patognomoničan za KML i pojavljuje se i u drugim leukemijama (npr. B-ALL). Dokaz fuzijskog gena BCR/ABL1 je najosjetljiviji i najspecifičiji test za KML. Ipak, ima pacijenata koji su Ph<sup>-</sup> i BCR/ABL1<sup>-</sup>, a pokazuju sliku kronične mijeloične leukemije bez poznate molekularne promjene (uz čest nalaz displazije u neutrofilnoj lozi) i onih s jasnim translokacijama na drugim mjestima, t(5;12)(q33;p13) i t(8;13)(p11;q12), koji razvijaju KML preko tirozin kinaza na sličan način kako to čini BCR/ABL1 onkoprotein (3).

**Tijek bolesti.** Prirodan tijek KML je spora progresija s očekivanim medijanom preživljenja od 4 - 5 godina neovisno o medicinskoj intervenciji. Nakon tog perioda nastupa u oko 50% pacijenata akcelerirana faza koja se očituje pojačanom anemijom i trombocitopenijom i ponekad veoma izraženom bazofilijom (više od 20%) u perifernoj krvi. Ubrzana faza završava povećanjem broja promijelocita i blasta u perifernoj krvi ili koštanoj srži (u ovoj fazi njihov broj iznosi 10 - 19%). Povećanje blasta iznad 20% zajedno s ekstramedularnom proliferacijom blasta kriterij je za dijagnozu transformacije u akutnu leukemiju. 50% pacijenata putem blastične krize direktno ulazi u ovu fazu bez intermedijarnog akceleriranog razdoblja. Simptomi pacijenata su umor, temperatura, noćno znojenje, gubitak težine i bolovi u kostima (10). Prisutna je i organomegalija i ekstramedularni mijeloblastični tumori (kloromi, mijeloblastomi ili granulocitni sarkomi). U stanicama se događaju već spomenute dodatne genetičke i kromosomske promjene. Blastična je faza zbog toga heterogena. U 70% slučajeva razvija se slika neke od mijeloidnih leukemija (M1 do M7), a u 30% slučajeva blasti sadrže enzim TdT i ekspimiraju rane markere B-limfocitne linije kao što su CD10 i CD19 (3).

**Prognoza.** Najvažniji prognostički pokazatelj za kroničnu mijeloičnu leukemiju jest faza bolesti. Dok se preživljenje u kroničnoj fazi mjeri u godinama, pacijenti s blastičnom krizom prežive još nekoliko mjeseci. Uzroci smrti su infekcije i krvarenja kao posljedice neutropenije i trombocitopenije. Tri su prognostička sustava (Sokal, Euro i EUTOS) za pacijente u kroničnoj fazi KML koji određuju mali, srednji i veliki rizik za nepovoljnu progresiju bolesti. Sokal prognostički skor uključuje 4 varijable: veličinu slezene, postotak blasta, godine i broj trombocita  $> 700\ 000/\text{mikrolitru}$ . Euro (Hasford) skor dodaje bazofiliju i eozinofiju u izračun i razvio se za pacijente koji su koristili interferon. EUTOS je razvijen nakon primjene imatiniba i ima bolju prediktivnu moć kliničkog odgovora na lijek pa tako i prognoze bolesti od njegovih prethodnika. Jednostavniji je i bazira se samo na postotku bazofilije i veličini slezene. Pacijenti se dijele u dvije skupine: visokog i niskog rizika (Euro i Sokal imaju i srednji rizik). Za tirozin kinazne inhibitore (TKI) druge generacije nije ispitana prediktivna moć scoring sustava (10).

**Terapija.** Otkriće molekularne patogeneze kronične mijeloične leukemije dovelo je do razvoja lijekova koji inhibiraju BCR/ABL signalne putove i dovode do kompletne hematološke remisije u 90% pacijenata. To je skupina tirozin kinaznih inhibitora s imatinib mesilatom kao prvim predstavnikom. Dolaskom ere TKI ostali lijekovi u liječenju KML nisu više u upotrebi, osim hidroksiureje u samom početku liječenja, ne dulje od 8 tjedana, radi brzog i efikasnog smanjenja broja leukocita na željene vrijednosti (između  $10$  i  $30 \times 10^9/\text{L}$ ). Tirozin kinazni inhibitori blokiraju inicijaciju BCR/ABL1 signalnog puta. Mnogi TKI utječu i na druge signalne putove. Te razlike u mjestu djelovanja odgovorne su i za različiti klinički učinak na tumor i za različiti mehanizam rezistencije. Imatinib kompetitivno blokira ATP vežuće mjesto u inaktivnoj konfiguraciji BCR/ABL1 protein tirozinske kinaze i time sprječava konformacijsku promjenu u aktivnu formu. Sprječava staničnu proliferaciju bez indukcije apoptoze. Ne inhibira rast ne-tumorskih stanica. Imatinib inhibira i trombocitni

faktor rasta i c-kit, ali ne i Src obitelj kinaza. Druga generacija TKI potisnula je imatinib s mjesta prvog izbora pokazavši značajno bolji antileukemijski učinak od imatiniba. TKI druge generacije inhibiraju i BCR/ABL1 i druge signalne putove. Dasatinib i bosutinib BCR/ABL1 i SRC kinaze, a nilotinib BCR/ABL1, c-kit i PDGFR. Nilotinib i dasatinib su in vitro 100 puta potentniji od imatiniba i postižu veći, brži i dublji molekularni odgovor te su u mnogim zemljama prva terapijska linija (3). Imatinib se primjenjuje u početnoj dnevnoj dozi od 400 mg per os, a u slučaju nepotpunog odgovora doza se može povisiti do 800 mg dnevno. Oko 90% bolesnika liječenih imatinibom preživi 5 godina. Učinak lijekova prati se kontinuirano, svakih 3 ili 6 mjeseci. Prema European Leukemia Net (ELN) terapijski odgovor procjenjuje se na temelju hematološkog, citogenetskog, i molekularnog odgovora. Za prognozu je važna brzina terapijskog odgovora, ali najvažniju ulogu ima molekularni odgovor na terapiju. Postizanjem kompletnog molekularnog odgovora (negativan nalaz BCR-ABL mRNA prijepisa temeljem analize kvantitativnim ili nested Rt-PCR-om u dva mjerenja) očekuje se sve veći broj pacijenata u kojih će liječenje biti prekinuto. Ako se razvije primarna ili sekundarna rezistencija prvo treba biti siguran da pacijent redovito uzima TKI. Imatinib, dasatinib, nilotinib i ponatinib metabolizira CYP3A4 sustav i mogu inhibirati druge citokrom P450 putove. Kao takvi imaju mnoge interakcije s lijekovima, posebice s varfarinom čiju koncentraciju u krvi treba strogo monitorirati. Hypericum perforatum, rifampin, karbamazepin, fenitoin i fenobarbital suprimiraju učinak TKI, a grejp, diltiazem i drugi lijekovi koji inhibiraju CYP3A4, povećavaju učinak ovih lijekova. Ove interakcije treba izbjeći ako je ikako moguće. Mutacija T315I praćena je rezistencijom na sve TKI osim ponatinib. Ako je rezistencija na TKI razlog promjene lijeka, potrebno je na temelju mutacije izabrati lijek. Ako se primjenom druge linije terapije ne postigne zadovoljavajući terapijski odgovor u bolesnika u kojih postoji HLA-podudarni davatelj preporuča se provesti liječenje alogenom transplantacijom. (10). U terapiji ubrzane faze i blastične transformacije

primjenjuju se TKI sa ili bez kemoterapije. Kad se postigne kontrola KML treba što prije provesti alogenu transplantaciju. Prognoza bolesnika u transformaciji uvijek je loša (2). Veliki broj bolesnika umire u prvoj godini nakon transplantacije zbog osnovne bolesti ili komplikacija liječenja. Alogena transplantacija može postići izvrsnu dugotrajnu kontrolu KML, posebice u pacijenata mlađih od 50 godina koji prime presadak u prvoj godini od dijagnoze. Kao i sa svim alogenim transplantatima postoji znatan rizik od toksičnosti, infekcije i reakcije transplantata protiv domaćina. Smrtnost u prvih 100 dana nakon transplantacije je između 10% i 20% kod idealne HLA kompatibilnost između primaoca i davaoca. Zbog visoke smrtnosti potrebno je stratificiranje bolesnika i primjena transplantacije primarno u bolesnika s predvidivo lošom prognozom ili pacijenata s rezistencijom na TKI. U mlađih pacijenata ovo je favorizirana metoda liječenja i njih 75% bude izliječeno ako se pronađe kompatibilan davatelj (3).

### 3. POLICITEMIJA VERA (PV)

Policitemija vera (PV), koja se naziva i policitemija rubra vera i Vaquezova bolest, pripada skupini Ph negativnih klasičnih mijeloproliferativnih neoplazmi. PV nastaje iz multipotentne matične stanice koju karakterizira panmijeloza - nekontrolirana proizvodnja eritrocita, megakariocita i granulocita u koštanoj srži. U perifernoj krvi dominira povećana masa eritrocita (eritrocitoza, policitemija), koja samostalno nije dovoljan kriterij za postavljanje dijagnoze jer se pojavljuje i u drugim stanjima kao što su primjerice kronična hipoksija i paraneoplastično tumorsko lučenje eritropoetina. Nalazi se i umjerena trombocitoza i leukocitoza. PV je bolest kroničnog i progresivnog tijeka koja vrlo rijetko prelazi u akutnu mijeloičnu leukemiju, a s vremenom katkada prelazi u fazu iscrpljenja koja nalikuje idiopatskoj mijelofibrozi (10).

**Epidemiologija.** PV se pojavljuje kod starije populacije, od 50. do 60. godine, s incidencijom od 2 oboljela na 100 000 stanovnika. Treba naglasiti da se PV također može pojaviti u ranoj odrasloj dobi kao i u djece i adolescenata (3).

**Etiologija** bolesti nije poznata.

**Fiziologija i patofiziologija.** Policitemija vera nema tipične citogenetičke promjene iako su u 20% pacijenta pri dijagnozi prisutne određene kariotipske promjene, a njihova se pojavnost povećava s progresijom bolesti. Najčešće su trisomije 8, 1q, 9 ili 9p, del20q, 13q ili intersticijske delecije 13 i 20. Mutacija Janus kinaza 2 (JAK2) gena na kratkom kraku kromosoma 9 (9p), iako prisutna i u ostalim klasičnim Ph negativnim MPN (idiopatskoj mijelofibrozi, esencijalnoj trombocitozi), pojavljuje se u gotovo 100% bolesnika s policitemijom verom. U 95% do 97% bolesnika radi se o zamjeni aminokiseline valina s fenilalaninom na položaju 617 (V617F) na egzonu 14 JAK2 gena (3). Prisutnost ove mutacije isključuje mogućnost da se radi o pacijentu sa sekundarnom policitemijom. Navedena

mutacija se nalazi u 50% slučajeva idiopatske mijelofibroze i esencijalne trombocitemije. Mutacijom je spriječena inhibicija aktivnosti JAK2 enzima koji se veže za membranski receptor i time uzrokuje stalnu fosforilaciju STAT signalnog puta potičući stanicu na diobu. Za djelovanje disreguliranog JAK2 enzima na receptor potrebne su male ili nikakve količine eritropoetina. U PV često pomoću procesa rekombinacije dolazi do duplikacija alela i uspostavlja se homozigotno stanje za JAK2 V617F. Ova stečena mutacija nastaje na 46/1 JAK2 haplotipu sa specifičnim predisponiranim mjestom za homozigotnu mutaciju i za rijetku mutaciju na području egzona 12 odgovornog za 2% do 4% slučajeva policitemije vere. Usporedba između homozigota i heterozigota nije pokazala signifikantne razlike u trajanju bolesti i incidencije tromboze i krvarenja. Ipak, homozigotni pacijenti imaju povišene razine hemoglobina, veću pojavnost pruritusa, veći udio fibrozne transformacije, i veći PRV-1 transkript u granulocitima periferne krvi nego heterozigoti (11). Kliničkom slikom PV dominira eritrocitoza (policitemija). Matične eritroidne stanice autonomno, neovisno o EPO, proliferiraju i rastu. Superoksija i bubrežna insuficijencija ne smanjuju, a opetovana flebotomija i hipoksija ne stimuliraju neoplastičnu eritrocitopoezu. Izražena je pretjerana ekspresija antiapoptotičkog proteina Bcl-x1 što čini stanice otporne na apoptozu pri odsutnosti eritropoetina i daje im prednost nad normalnim neklonalnim stanicama (12). Pacijenti s PV imaju reducirane razine trombopoetin (TPO) receptora c-mlp u trombocitima i megakariocitima za razliku od normalnih vrijednosti u sekundarnoj eritrocitozi. Proliferacija trombocita može biti i neovisna o TPO stimulaciji. Pretjerana ekspresija PRV-1 gena u granulocitima periferne krvi pronađena je u PV, u esencijalnoj trombocitemiji i primarnoj mijelofibrozi, ali ne u sekundarnoj eritrocitozi i sekundarnoj trombocitozi (10). Ove razlike nisu pronađene prilikom analize stanica koštane srži. Koštana srž je oko 80% celularna (hipercelularna), ali je uvijek vidljivo rezidualno masno tkivo. U vrijeme dijagnoze oko 10% pacijenata pokazuje srednje do izraženu prisutnost retikulinskih vlakana (2).

**Klinička slika.** Simptomi koji se pojavljuju većinom su posljedica povećanog broja eritrocita i povišenog hematokrita. Najčešći početni simptomi uključuju slabost, glavobolju, pruritus, vrtoglavice znojenje, gastrointestinalne simptome i hipertenziju. Povećani hematokrit praćen je apsolutnim povećanjem volumena krvi. Zajedno podupiru abnormalan tijek krvi posebice u venoznom cirkulacijskom dijelu gdje prevladava nizak tlak te dolazi do proširenja venskog bazena. Pacijenti su izrazito crvenog lica, kože (pletora) i sluznica, a donekle i cijanotični zbog stagnacije i deoksigenacije krvi. U distalnim dijelovima ekstremiteta gdje je protok krvi najsporiji zbog kongestije dolazi do cijanoze. Akvageni pruritus se pojavljuje u 70% pacijenata s policitemijom verom i često se navodi kao simptom koji se najteže podnosi. Može se pojaviti u prosjeku 3 godine prije postavljanja dijagnoze. Zbog nakupina mastocita u koži prilikom doticaja tople vode unutar 10 minuta dolazi do otpuštanja histamina bez vidljivih promjena na vanjskoj površini kože i neugodne senzacije koja se najčešće opisuje kao svrbež. Najčešće svrbe prsa, leđa, medijalna strana gornjih i ventralna strana donjih ekstremiteta. Zbog povoljnog djelovanja aspirina kod nekih pacijenata, vjeruje se da prostaglandini također igraju ulogu u patogenezi navedenog pruritusa. Eritromijalgija, paleća bol u stopalima i rukama, zajedno sa eritemom, bljedilom i cijanozom s prisutnošću palpabilnog pulsa i akralnom parestezijom smatraju se patognomoničnim mikrovaskularnim trombotičnim komplikacijama karakterističnim za policitemiju veru i esencijalnu trombocitozu. Pojavljuju se kad je broj trombocita veći od 400.000/mikrolitru. Odlično reagiraju na terapiju aspirinom i smanjenje trombocita u krvi. Tromboza se u prosjeku pojavljuje u oko jedne trećine pacijenata, a između 12% i 49% slučajeva to je ujedno i prvi znak bolesti. Abnormalnost u viskoznosti i trombocitima dovodi do povećanog rizika od velikih hemoragijskih i trombotičkih epizoda (13). U 20% do 40% bolesnika tromboza je uzrok smrti. Najčešće se radi o moždanom udaru, ali pojavljuju se i miokardijalni infarkti i duboke venske tromboze. Arterijske tromboze učestalije su od venskih. Venske su tromboze,



učestalije kod žena, najčešće su cerebralne i intraabdominalne, a mogu uzrokovati i plućnu emboliju. Portalna hipertenzija i hipersplenizam mogu maskirati povećani broj eritrocita, te ova stanja moraju pobuditi sumnju na PV pogotovo u žena mlađih od 45 godina. Tromboza hepatične vene uzrokuje Budd-Chiarijev sindrom, mezenterične vene intestinalni infarkt, a venoznih sinusa u mozgu hemoragijski moždani udar. Također su prisutne i manje hemoragije kao epsitaksa i krvarenje iz desni. Životno ugrožavajuće hemoragije pojave se u 5% do 10% slučajeva kao posljedica povećane mase eritrocita ili stečene von Willenbrandove bolesti zbog trombocitoze. Gastrointestinalni simptomi posljedica su alteracije protoka krvi u gastričnoj mukozni, povećanog lučenja histamina iz bazofila koji potiče stvaranje želučane kiseline, a jedna studija navodi i utjecaj *Helicobacter pylori* bakterije. Česte komplikacije su peptički ulkus i gastroduodenalne erozije. Zbog pojačanog katabolizma i razgradnje nukleinskih kiselina povećano je oslobađanje purina, a time raste koncentracija mokraćne kiseline. Simptomatski giht je prisutan u 5% do 10% bolesnika (3).

Prilikom fizikalnog pregleda uočava se organomegalija, prvenstveno splenomegalija i hepatomegalija. Za dijagnozu veoma je indikativna i pletora lica. U postavljanju sumnje pomaže konjunktivalna injekcija i natečene vene optičkog fundusa, ekskoriacije na koži koje upućuju na jak svrbež, tofi i urični artritis te tranzitorni vidni poremećaji kao što je prolazan gubitak vida na jednom oku (amaurosis fugax).

**Laboratorijski nalazi.** Laboratorijski nalazi pokazuju hematokrit > 48 u žena i > 52 u muškaraca, koncentraciju hemoglobina iznad 16.5 (žene) i 18.5 g/dL (muškarci) te znatno povišenu masu eritrocita u svih pacijenata. Od navedenih nalaza broj eritrocita najrjeđe se koristi za potvrdu policitemije. Pacijenti s talasemijom minor koji su često i umjereno anemični mogu imati povećani broj malih i slabo hemoglobiniranih eritrocita stoga ovaj test ima slabu dijagnostičku vrijednost. Kao i u esencijalnoj trombocitemiji karakteristična je abnormalnost agregacije trombocita potaknuta epinefrinom. Vrijednost trombocita je

povišena, nekada i više od  $1000 \times 10^9/L$  (3). Kronična krvarenja i učestale venepunkcije mogu dovesti do sniženog željeza, niskog feritina i povišenog UIBC-a što odgovara nalazima sideropenične anemije. Broj eritrocita tada je nerazmjerno velik u odnosu na hematokrit i hemoglobin koji nisu bitno povišeni. Nakon što je utvrđena povišena razina hemoglobina (HGB) ili hematokrita (HCT) test se ponavlja za potvrdu rezultata i isključenja moguće laboratorijske greške. Ako je hemoglobin izrazito povećan, a pronađe se i JAK2 V617F mutacija radi se o sigurnoj dijagnozi PV. Česte su sekundarne policitemije uzrokovane hipoksijom zbog bolesti pluća. Važno je obratiti pozornost na moguće simptome plućne bolesti kao što su dispneja, kronični kašalj, hipersomnija i povijest cijanoze. Snižena serumska koncentracija eritropoetina (EPO) ispod normalnih vrijednosti najspecifičniji je laboratorijski nalaz koji upućuje na policitemiju veru pogotovo ako su mutacije JAK2 V617F na egzonu 14 i JAK2 mutacije na egzonu 12 negativne. EPO je danas sastavni dio dijagnostičkih algoritama. Njegove povišene razine su neobične za PV i u 98% slučajeva radi se o sekundarnoj eritrocitozi. Koštana srž također je važan dijagnostički kriterij (13). U koštanoj srži pacijenta s PV prisutna je panhiperplazija. Nakupine megakariocita različitih veličina i oblika su bez znakova poremećaja sazrijevanja. Alkalna fosfataza u leukocitima (APL) i vrijednost vitamina B<sub>12</sub> su povišene za razliku od njihovih sniženih vrijednosti u kroničnoj mijeloičnoj leukemiji. Autonomni rast eritroidnih kolonija u in vitro kulturi bez stimulacije eritropoetinom jasno razlikuje neoplastične stanice u policitemiji veri od nalaza u sekundarnoj i relativnoj eritrocitozi. Revidirani kriteriji Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) za dijagnozu policitemije vere uključuju 2 velika i 3 mala kriterija. Dva velika su povišena razina hemoglobina u vrijednostima navedenim ranije u tekstu i dokaz povećanog broja eritrocita i prisutnost JAK2 mutacije. Tri mala kriterija uključuju tipične spomenute nalaze u aspiraciji/biopsiji koštane srži, nisku razinu EPO i opisan in vitro rast eritrocitnih kolonija. Konačna dijagnoza policitemije vere zahtijeva prisutnost oba velika kriterija i

jednog malog ili prisutnost visokih razina hemoglobina i dva mala kriterija. Ovi kriteriji su prihvatljivi samo ako je provedena adekvatna dijagnostička procjena kojom su isključeni sekundarni uzroci policitemije (3).

**Tijek bolesti i prognoza.** Inicijalna faza PV može trajati od 6 do 18 mjeseci bez primjene terapije do 20 godina ako se razina eritrocita održava na normalnim vrijednostima. U ovoj fazi ozbiljne komplikacije koje dovode do smrtnih ishoda su krvarenja i trombocitoza. Oko 10% pacijenata 10 godina nakon dijagnoze ulazi u fazu sekundarne mijelofibroze ili fazu iscrpljenja. Koštana srž je tada obliterirana mijelofibrozom, a prisutna je i ekstenzivna ekstramedularna hematopoeza posebice u slezeni koja se znatno povećava. Patogeneza progresije u fazu iscrpljenja nije razjašnjena. Moguće je da se radi o prirodnom tijeku bolesti, o posljedicama komplikacija i djelovanja alkilirajućih i drugih citostatika primjenjivanih u terapiji (14). Dodatne komplikacije tijeka bolesti su anemija, trombocitopenija, a moguće je i povećanje broja trombocita. Uzroci anemije mogu biti brojni, od kemoterapije, deficita vitamina i željeza do razvoja druge bolesti. U dijela bolesnika faza iscrpljenja je reverzibilna, dok je u drugih trajna i jedina moguća terapija je povremena primjena transfuzije eritrocita i suportivna terapija koja ublažava simptome bolesti. U malog broja bolesnika (oko 2%), zbog posljedica primjene terapije, moguća je transformacija bolesti u akutnu leukemiju. Danas, uz dobru kontrolu policitemije vere s venepunkcijom, hidroksurejom i interferonom kao standardnim liječenjem, životni vijek bolesnika ne mora biti kraći od očekivanog (10).

**Terapija.** Venepunkcija se koristi kao početna terapija za smanjivanje broja eritrocita. U odrasle osobe evakuira se 450 - 500 ml krvi u razmacima 2 - 4 dana. Ako bolesnik pokazuje znakove srčanog zatajivanja preporučuju se manje ali češće evakuacije. Ovim postupkom održava se nizak hematokrit neovisan o broju eritrocita što pomaže smanjenju viskoznosti krvi. Hematokrit mora biti manji od 0,45 za muškarce, manji od 0,42 za žene i manji od 0,36 za trudnice. Preporučuje se i acetilsalicilna kiselina, 100 mg dnevno, osim kada postoji kontraindikacija. Mijelosupresivna terapija je indicirana kod velikog broja trombocita (više od  $1500 \times 10^9$ ) radi smanjenja rizika krvarenja (anagrelid za simptomatsku kontrolu trombocitoze), ako se dvjema venepunkcijama mjesečno ne može kontrolirati hematokrit te prilikom snažnog pruritusa. Najprikladniji lijek koji se preporuča kao kontinuirana terapija je hidroksiureja koja ne povećava incidenciju leukemijske transformacije te ona ostaje ista kao kod samostalne primjene venepunkcije u terapiji. Interferon alfa daje se mlađim bolesnicima i trudnicama da se izbjegne toksičan učinak hidroksiureje. Pruritus bez obzira na dobru kontrolu bolesti još uvijek može značajno opterećivati kvalitetu života bolesnika s policitemijom verom. Izbjegavanje provocirajućih čimbenika (kupanje), fotokemoterapija psoralenom, UV zrakama i alfa-interferon mogu pomoći. Antihistaminici se nisu pokazali učinkovitima u smirivanju ovog simptoma (3).

#### 4. ESENCIJALNE TROMBOCITEMIJA (ET)

Esencijalna (primarna) trombocitemija je Ph negativna mijeloproliferativna neoplazma poglavito okarakterizirana povećanom proliferacijom megakariocita s trombocitozom koja premašuje  $450 \times 10^9/L$  (2). ET nije citogenetički niti morfološki definiran entitet. Trombocitoza je dio kliničke slike i ostalih kroničnih mijeloproliferativnih neoplazmi te se dijagnoza esencijalne trombocitemije u nedostatku kliničkih i laboratorijskih kriterija postavlja isključivanjem uzroka sekundarne trombocitoze i ostalih MPN (3).

ET je klonalni poremećaj multipotentne hematopoetske progenitorne stanice. Patogeneza bolesti je nepoznata.

**Epidemiologija.** Godišnje se registrira do 2,5 nova slučaja esencijalne trombocitoze na 100 000 stanovnika. S obzirom da bolesnici imaju dug očekivani životni vijek prevalencija je procijenjena na ukupno 24 slučaja na 100 000 stanovnika. Bolest se najčešće prezentira u starijoj životnoj dobi, iznad 60 godina, ali čak 20% pacijenata je i mlađe od 40 godina (15).

**Fiziologija i patofiziologija.** Treba razlikovati esencijalnu trombocitemiju od reaktivnih trombocitoza primjerice kod kroničnog gubitka krvi, trauma, postoperacijskih stanja, upalnih stanja, infekcija, hemolitičke anemije i različitih zloćudnih bolesti (3). Sve tri stanične loze u ET su u određenom stupnju zahvaćene, ali najviše abnormalnosti pokazuje odjeljak megakariocitnih matičnih stanica u koštanoj srži, što nije slučaj kada se radi o sekundarnoj trombocitozi. Megakariocitne stanice pokazuju autonoman rast u in vitro kulturi stanica bez potrebe za faktorima rasta. Ključni hormon u regulaciji megakariocitne proliferacije i diferencijacije je trombopoetin (TPO). Svoju ulogu u povećanju broja trombocita pokazali su i interleukini IL-6 i IL-11. Za razliku od policitemije vere gdje je stimulirajući faktor eritropoetin snižen, u esencijalnoj trombocitemiji, kao i kod sekundarnih trombocitoza, trombopoetin je povišen. Esencijalna trombocitemija i reaktivna trombocitoza razlikuju se po

tome što u ET dolazi do regulatorne promjene trombopoetinskog receptora na megakariocitima, ali i po moguće povišenoj stromalnoj TPO proizvodnji. Dolazi do snižene ekspresije c-Mpl receptora za trombopoetin što je razlog poremećaja vezivanja trombopoetina i njegovih visokih razina u serumu. Megakariociti postaju dodatno osjetljivi na njegovo djelovanje, što dovodi do pojačane proliferacije i pretjerane produkcije trombocita s trombocitozom često i višom od  $1000 \times 10^9/L$ . Važno je razumjeti da niti trombopoetin niti njegov receptor (c-Mpl) ne impliciraju etiologiju esencijalne trombocitemije. Mutacije u c-Mpl genu su rijetko identificirane (1 - 4 % bolesnika) i nemaju veće prognostičko značenje, a endogena autonomna proliferacija nije ovisna o autokrinom TPO stimulaciji (16). JAK2 V617F mutacija pozitivna je u 50% slučajeva esencijalne trombocitemije i jasna je razlika od reaktivne trombocitoze. Ista mutacija prisutna je i u policitemiji veri i primarnom mijelofibrozi stoga taj nalaz nema diferencijalno dijagnostičku vrijednost u navedene tri klasične mijeloproliferativne neoplazme (3). Pregled koštane srži pokazuje blago do srednje povećanu celularnost. Megakariociti su veliki i povećanog broja, a prisutna može biti i depozicija retikulinskih vlakana, ali ne u mjeri kao kod primarne mijelofibroze. U razmazu periferne krvi otkrivaju se neočekivano veliki trombociti s poremećajem morfologije i načina nakupljanja praćeni blagom leukocitozom. 50% pacijenata prezentira se neoplastičnom organomegalijom jetre i slezene zbog ekstramedularne hematopoeze (2).

**Klinička slika.** Esencijalna trombocitoza rijetko uzrokuje opće simptome prisutne u drugim mijeloproliferativnim neoplazmama. Često se otkrije slučajno prilikom rutinske obrade pregledom krvne slike i čak polovica pacijenata je u potpunosti asimptomatska na početku bolesti. Druga polovica pacijenata žali se na vazomotorne simptome ili se manifestiraju trombohemoragijskim komplikacijama. Za razliku od policitemije vere pruritus nije signifikantan i vrlo je rijedak s pojavom u oko 5% pacijenata. Ultrazvuk može otkriti zadebljanja i vegetacije slične trombotičnom endokarditisu. Vazomotorni simptomi uključuju

glavobolju, sinkopu, atipičnu bol u grudima, akralne parestezije, ljubičasto prošaranu kožu (livedo reticularis), eritromijalgiju (paleća bol ruku i nogu s eritemom i toplinom; histološki se vidi okluzija zbog proliferacije intime malih krvnih žila i trombocitnih agregata) i prolazne vidne poremećaje (npr. amaurosis fugax, scintilirajući skotom ili oftalmičku migrenu). Zbog mikrovaskularne ishemije koja u početku može nalikovati Raynaudovom fenomenu na periferiji može doći do vaskularne insuficijencije koja u krajnjem slučaju završava gangrenom i nekrozom prstiju. Vazomotorni simptomi nisu opasni koliko su iritirajući za pacijenta. Obično se dobro kontroliraju malim ili standardnim dozama acetilsalicilne kiseline. Ipak, u nekih pacijenata vazomotorni simptomi mogu biti rezistentni na antitrombocitnu terapiju i mogu zahtijevati uvođenje citoreduktivne terapije. Glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u pacijenata s esencijalnom trombocitozom su krvarenja i tromboze koje reflektiraju kvantitativan i kvalitativan poremećaj trombocita (10). Krvarenja se pojavljuju relativno često pogotovo kod pacijenata s ekstremnom trombocitozom s više od  $1500 \times 10^9/L$  trombocita te onih sa stečenom von Willebrandovom bolesti. Pojavljuju se spontano ili nakon manje traume. Tipična mjesta krvarenja su gastrointestinalni trakt, potkožna krvarenja, krvarenja u sluznice i genitourinarni trakt. Konkomitantno se zbog krvarenja pojavljuje i nedostatak željeza. Trombotični događaji najčešće zahvaćaju arterije cerebrovaskularnog, koronarnog i perifernog žilja s odgovarajućim kliničkim slikama. Trombotični događaji zahvaćaju i duboke vene nogu, portalnu i hepatičnu venu (Budd- Chiarijev sindrom) i miokard, isto kao što se to događa u policitemiji veri. Multiple tromboze placente tijekom trudnoće mogu dovesti do insuficijencije placente i infarkta što rezultira opetovanim spontanim pobačajima ili oštećenjem ploda. Polovica trudnica s esencijalnom trombocitemijom razvija navedene komplikacije (3).

Tipična slika ET nekada genetski krije Ph kromosom ili BCR/ABL translokaciju bez klinički vidljivih znakova koji bi upućivali na kroničnu mijeloičnu leukemiju. Ipak, ovi bolesnici imaju tipičan tijek bolesti za KML sa blastičnom transformacijom te zahtijevaju terapiju kao i ostali bolesnici s tipičnom slikom KML. Unatoč promjenama u trombocitima, koagulogram najčešće ne pokazuje bitne poremećaje, a ako ih ima, onda su raznoliki i nekarakteristični. Najtipičniji nalaz su trombociti nereaktivni na agregaciju prilikom primjene epinefrina.

**Dijagnoza.** Za dijagnozu ET koriste se kriteriji Svjetske zdravstvene organizacije koji uključuju broj trombocita (veći od  $450 \times 10^9/L$ ), histološki nalaz (promjene broja i morfologije u megakariocitnoj lozi bez značajnih proliferacija eritrocitne i granulocitne loze), odsustvo kriterija za policitemiju veru i primarnu mijelofibrozu, negativan nalaz Ph1 kromosoma i BCR/ABL1 prijepisa i znakova sindroma mijelodisplazije ili drugih mijeloidnih malignih tumora i nepostojanje znakova za reaktivnu trombocitozu i dokaz JAK2 mutacije ili nekog drugog klonalnog markera (17).

Policitemija vera s niskim nalazom eritrocita, zbog nedostatka željeza, i povećanim brojem trombocita može predstavljati dijagnostički problem. Terapija željezom rasvijetliti će nedoumicu jer će doći do brzog podizanja broja eritrocita u pacijenata s PV. Sekundarno povećanje trombocita kao reaktivni proces također treba razlikovati od esencijalne trombocitoze. Ako je vidljiva klinička slika neke sistemne bolesti, uz nepostojanje ishemijske prstiju, cerebrovaskularnog infarkta, arterijskih ili venskih tromboza, ako nema krvarenja i splenomegalije, a razmaz periferne krvi pokazuje normalne trombocite s normalnim nalazom megakariocita u koštanoj srži, tada se sa velikom sigurnosti radi o sekundarnoj, a ne o esencijalnoj trombocitozi (3).



**Tijek bolesti.** ET je bolest kroničnog tijeka koja rijetko prelazi u drugu mijeloproliferativnu bolest, a svega 5% slučajeva progredira u akutnu leukemiju. Unatoč ranijim opažanjima, koja su sugerirala životni vijek bez značajnije razlike u odnosu na zdravu populaciju, najnovija istraživanja pokazuju da je preživljenje kraće od očekivanog. IPSET (International Prognostic Score for Essential Thrombocythemia) identificira neovisne rizike za preživljenje bolesnika s esencijalnom trombocitozom. Rizik je dob starija od 60 godina i nosi 2 boda, broj leukocita veći ili jednak  $11 \times 10^9/L$  1 bod i pozitivna anamneza na tromb 1 bod. Tri su kategorije, malog, intermedijarnog i visokog rizika, svaka sa različitim medijanom preživljenja. Pacijenti sa skorom nula (niskog rizika) nisu dosegli medijan preživljenja, sa skorom 1 ili 2 (intermedijarnog rizika) u prosjeku žive 17 godina, a oni sa skorom 3 ili 4 (visokog rizika) 13.8 godina. IPSET kategorije ne predviđaju ulazak pacijenta u fazu mijelofibroze (15). Iako broj trombocita ne korelira direktno s komplikacijama tromboze, dobra regulacija tromboze citoreduktivnim lijekovima smanjuje njihovu pojavnost. Iz tog razloga primjena mijelosupresivne terapije ovisi o riziku za pojavu tromboze i indicirana je u bolesnika s visokim rizikom, a u intermedijarnih prvo treba ocijeniti kardiovaskularne faktore rizika i uspostaviti njihovu kontrolu. Trombotički događaji u pacijenata niskog rizika su prerijetki da bi opravdali dugotrajnu primjenu citoreduktivne terapije u asimptomatskih bolesnika i njihova profilaktična primjena nije testirana (10).

**Terapija.** Najdjelotvorniji lijek je hidroksiureja koja se daje u dnevnoj terapijskoj dozi do 10 do 30 mg/kg na dan i pokazuje brzi učinak. Bolesnici s esencijalnom trombocitozom i kliničkom slikom cerebrovaskularne ishemije i ishemijom prstiju zahtijevaju brzu i agresivnu citoreduktivnu terapiju. U hitnim slučajevima kao privremena terapija može pomoći trombocitofereza. Citoreduktivno, osim hidroksiureje, djeluju i interferon-alfa i anagrelid. Anagrelid je novi lijek koji može biti alternativan izbor liječenja, ali 30% pacijenata zbog kardiovaskularnih nuspojava (aritmije, palpitacije, popuštanje srca) ne podnosi anagrelid. Osobito se to odnosi na pacijente starije životne dobi. Anagrelid nije leukemogen, preporučena početna doza mu je 2 mg, a maksimalna dnevna 10 mg. Doza se može povećavati svakih 7 dana za pola miligrama dok se ne postigne željena vrijednost trombocita u krvi. Interferon-alfa preporuča se mlađim pacijentima jer je najsigurniji lijek za snižavanje trombocita. Učinak je odgođen (mjesec dana), ali dugotrajan i može se povremenim (3 puta na tjedan) ili nižim dozama održavati godinama. Primjenjuje se subkutano u početnoj dozi od 3 internacionalne jedinice na dan. Moguće su nuspojave poput gripe. Jedini je lijek preporučan za žene u generativnoj dobi. Aspirin (100 mg na dan) je koristan lijek u liječenju vazomotornih simptoma u većine bolesnika, ali ga treba izbjegavati u bolesnika s ekstremnom trombocitozom i stečenim nedostatkom von Willebrandovog faktora zbog visokog rizika od krvarenja, poglavito gastrointestinalnog kad je primijenjen u dozi većoj od 325 mg/dan. Svrha terapije je smanjiti abnormalne kliničke, fizikalne i laboratorijske nalaze te umanjiti dugotrajne komplikacije esencijalne trombocitoze (tromboze, krvarenja, mijelofibrozu, akutnu leukemiju i drugih neoplazmi) (3).

## 5. PRIMARNA MIJELOFIBROZA (PM)

Glavno obilježje primarne mijelofibroze (mijelofibroze s mijeloidnom metaplazijom /agnogene mijeloidne metaplazije slezene s mijelofibrozm/ kronične idiopatske mijelofibroze) jest brz razvoj obliterativne fibroze koštane srži. Histološki je jednaka fazi iscrpljenja koja se povremeno pojavljuje u ostalim mijeloproliferativnim neoplazmama (2). Mijelofibroza suprimira hematopoezu u koštanoj srži i dovodi do citopenije u perifernoj krvi s opsežnom ekstramedularnom neoplastičnom hematopoezom u slezeni, jetri, limfnim čvorovima, ali i drugim organima. Hematopoeza izvan koštane srži nije efektivna i zato u kliničkoj slici perzistira citopenija. Monoklonalnom zloćudnom tumoru pripadaju stanice eritroidne, granulocitne i megakariocitne loze, a izraženija je leukocitoza i trombocitoza. Tipično se prezentira izraženom splenomegalijom, progresivnom anemijom i općim simptomima. Rijetko se pojavljuje prije 50. godine života (medijan oko 67 godina), osim ako joj prethodi policitemija vera (PV) ili esencijalna trombocitoza (ET). ET i PV prelaze u post-ET (manje od 5% ET bolesnika) i post-PV mijelofibrozu (10% do 20% PV bolesnika) nakon 10 do 20 godina trajanja bolesti. Primarna mijelofibroza, post-ET MF i post PV MF sve spadaju pod termin mijelofibroze (MF) (18).

**Epidemiologija.** Incidencija primarne mijelofibroze jednaka je u oba spola s 1-2 oboljela na 100 000.

**Etiologija** bolesti je nepoznata, ali je pojavnost bila povišena kod primjene torij dioksida kao radiološkog kontrastnog sredstva kao i u pojedinaca koji su bili izloženi visokim koncentracijama zračenja u Hiroshimi. Prijavljeni su i slučajevi primarne mijelofibroze nakon izloženosti toluenu, benzenu i ionizirajućem zračenju, ali jasna povezanost vanjskog agensa s ovim kliničkim entitetom nije utvrđena (3).

**Fiziologija i patofiziologija.** Najizraženiji nalaz PM je fibroza koštane srži. Fibroza je rezultat neklonalne proliferacije stromalnih fibroblasta koji su potaknuti na hiperaktivnost zbog prekomjernog lučenja citokina koji stimuliraju fibroblaste. Fibroblasti nisu dio zloćudnog procesa, već reaktivno stanje strome koštane srži inducirano glikoproteinom TGF-beta (transformirajući faktor rasta) kao vodećim citokinom kojeg luče endotelne stanice, stanice monocitno-makrofagnog sustava i megakariociti. Fibroblasti u mijelofibrozi morfološki i funkcionalno odgovaraju normalnim fibroblastima te su također poliklonalni (18). Pod utjecajem TGF- beta poglavito je povećano lučenje kolagena III, IV i I iz fibroblasta. Retikularni matriks je poremećen ekscesivnim depozitima kolagena. Uglavnom se i u serumu mogu pronaći povišene razine ovog citokina. PDGF (platelet-derived growth factor) također je mitogen za fibroblaste, a za angiogenezu koja se može vidjeti u koštanoj srži odgovoran je već spomenuti TGF-beta. Brojna istraživanja sugeriraju da TPO i/ili njegov receptor (c-Mpl) imaju važnu ulogu u mijelofibrozi, poglavito u patogenezi fibroze koštane srži. Upravo je broj displastičnih megakariocita, potaknut djelovanjem TPO, usko povezan sa stupnjem fibroze. Fibrozna reakcija ovisi i o matriks metaloproteinazama (MMP) i tkivnim inhibitorima MMP (TIMP). Poremećaj balansa u korist TIMP-a moguće je ključan dio formiranja fibroze. Pretpostavlja se da je u primarnoj mijelofibrozi znatno prisutan proces emperipoleze (prolazak hematopoetskih stanica kroz citoplazmu megakariocita) kao posljedica abnormalne lokalizacije i povećane ekspresije P-selektina na megakariocitima. Neutrofili i eozinofili koji tako budu progutani i izbačeni, oštećeni su i otpuštaju litičke granule. Litičke granule progresivno destruiraju megakariocite i njihove alfa granule što dovodi do otpuštanja faktora rasta i prepoznatljive fibroze (10). Genetske promjene prisutne su u 50% do 60% pacijenata s primarnom mijelofibrozom. Nejasno je koliko je tih promjena prisutno u temeljnom PMF klonu i niti jedna promjena nije specifična. Najčešće, odgovorne za 50% do 65% promjena kariotipa, su delecije segmenta kromosoma koji nosi gen za

retinoblastom (-13p), zatim -20q i parcijalna trisomija 1q. Pacijenti s navedenim citogenetičkim modelima imaju nepovoljniju prognozu. Nepovoljan ishod sa smanjenim ukupnim preživljenjem na svega 9 mjeseci do dvije godine pokazuju i trisomija 8 (+8), monosomalni kariotipi (-7/q-; -5/5q; 12p-), inverzije 3 i 9, preustroj 11q23 i izokromosom i(17q). Istraživanja navode da geni na malom kromosomu 9 igraju ključnu ulogu u patogenezi MPF-a. Najinteresantnija je mutacija JAK2 gena na kraku 9p koja se nalazi u 50% pacijenata i najčešća je mutacija koja sugerira bitnu ulogu JAK/STAT signalnog puta u patogenezi primarne mijelofibroze. Mutacije kalretikulinskog gena (CALR) pronađene su samo u pacijenata sa esencijalnom trombocitozom i primarnom mijelofibrozom, a nisu pronađene u pacijenata s policitemijom verom i pacijenata s JAK2 i MPL mutacijom. Mutacije gena za trombopoetinski receptor (MPL) W515L i W515K također mogu aktivirati JAK/STAT signalni put i odgovorne su za 5% slučajeva primarne mijelofibroze. Promjene u MPL genu određuju sudbinu megakariocita, a one u JAK genu više određuju sudbinu eritroidne loze (19).

**Klinička slika.** Nespecifični simptomi koji oblikuju kliničku prezentaciju primarne mijelofibroze posljedica su velikog broja stanica i hipermetabolizma, a uključuju malaksalost, umor, gubitak težine, temperaturu iznad 38 stupnjeva celzijusa (u uznapredovaloj fazi), noćno znojenje, bol u kostima (kosti osjetljive na pritisak), dispneju, palpitacije, rani osjećaj sitosti zbog pritiska uvećane slezene na želudac i osjećaj težine pod lijevim rebrenim lukom. Akutna bol u području slezene i lijevom ramenu posljedica je infarkta slezene i perisplenitisa. Od svih simptoma najviše pacijenata se žali na umor (50% do 70% njih). Otprilike 15% do 30% pacijenata je asimptomatsko, a dijagnoza se postavlja obradom splenomegalije (koja se pojavljuje u 90% pacijenata, a u trećine je masivna) ili hepatomegalije (prisutne u 40 do 70% bolesnika) ili drugih abnormalnih nalaza u krvi. Povećana jetra i slezena posljedica su ekstramedularne hematopoeze čiji mehanizam nastanka nije u potpunosti razjašnjen. Slezena

može težiti i do 400 grama (normalna težina je oko 150 grama). Distribucija hematopoetskog tkiva odgovara onom u fetusa. Žarišta hematopoeze mogu se naći u tjelesnim šupljinama, mekom tkivu, koži (neutrofilna dermatosa), seroznim površinama (uzrokuju izljeve), središnjem živčanom sustavu i drugdje po tijelu. Na tim mjestima može sličiti tumoru fibroznog ili krvotvornog organa i često uzrokuje opstruktivne simptome, posebice intrakranijski. Dodatno se ta mjesta mogu povećati nakon splenektomije, vjerojatno zbog gubitka filtracijske uloge slezene. Ova hematopoeza rijetko je efektivna te pacijent bez obzira na sva žarišta koja proizvode krvne stanice ispoljavaju pancitopeniju (10). Scintigrafija s CD 67 obilježenim tehnecijem-99m otkriva ekstramedularnu hematopoezu pokazujući difuzno oslabljeno nakupljanje radiofarmaka u koštanoj srži, a povećano nakupljanje u jetri i slezeni. Portalna hipertenzija razvija se zbog izrazitog spleno-portalnog protoka i smanjenog protoka krvi kroz jetru s ascitesom, varikozitetima jednjaka i encefalopatijom kao uobičajenim posljedicama. Većina bolesnika u kasnom stadiju bolesti konverzijom fibroznog prostora u koštani razvija osteosklerozu koja je vidljiva na histološkim preparatima i radiološkim slikama. Nalazi se i humoralni poremećaj s razvojem antiertirocitnih, antinuklearnih i drugih protutijela (2).

**Dijagnoza.** Biopsija koštane srži temeljni je postupak u postavljanju dijagnoze primarne mijelofibroze. U početku bolesti, biopsija koštane srži pokazuje hipercelularnost (80%) zbog povećane maturacije stanica svih linija. Morfološki, ertirodini i granulocitni prekursori su normalni, a megakariociti su veliki, displastični i abnormalno nakupljeni. U ovoj celularnoj fazi fibroza je minimalna. S progresijom bolesti srž postaje hipocelularna i difuzno fibrozna, a retikulinska vlakna se bojenjem po Gomryu boje crno. I u ovoj fazi mogu se naći nakupine atipičnih megakariocita. Na perifernom razmazu vidljiva je prisutnost eritrocitnih i granulocitnih prekursora što se naziva leukoeritroblastoza. Fibroza oštećuje eritrocitne stanice te se pojavljuju u obliku suza (dakrociti), a vidljive su i druge morfološke promjene

(anizocitoza, pokilocitoza). Navedeni nalazi, kao ni bazofilija ni abnormalno veliki trombociti, nisu karakteristični za mijelofibrozu već se pojavljuju i u drugim infiltrativnim bolestima koštane srži (npr. metastatski tumori) (18).

Laboratorijski nalazi pokazuju srednje do jaku normokromnu anemiju popraćenu leukoeritroblastozom. Anemija s hemoglobinom nižim od 10 g/L javlja se u 50% pacijenata, a u 20% hemoglobin je manji od 8 g/L. Progresivni pad koncentracije hemoglobina zahtijevat će opetovane transfuzije eritrocita. Aspiracijska punkcija često ne uspijeva dobiti stanice zbog fibroze koštane srži, ali to nije dijagnostičko sredstvo. Kod trećine bolesnika broj trombocita je izrazito povišen (iznad  $1000 \times 10^9/L$ ), ali morfološki promijenjeni trombociti uvijek su prisutan nalaz, bez obzira na njihov ukupan broj. U razlikovanju od ostalih stanja, kako što su KML, MDS i dr., pomaže citogenetička analiza stanica. Ne postoji zlatni standard za postavljanje dijagnoze primarne mijelofibroze (3). Prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) iz 2008. godine dijagnoza zahtijeva 3 velika kriterija i istovremeno prisutna 2 mala kriterija. Veliki kriteriji su: nepostojanje, prema WHO, kriterija za PV, KML (BCR/ABL1), mijelodisplastični sindrom i druge maligne mijeloidne tumore, proliferacija atipičnih megakariocita s fibrozom, dokaz mutacije JAK2 V617F ili nekog drugog klonalnog biljega, odnosno nepostojanje sekundarne fibroze ako se klonalni biljeg ne može utvrditi. Mali kriteriji uključuju anemiju, splenomegaliju, leukoeritroblastozu i povišenu razinu laktat dehidrogenaze (LDH) u serumu. U PMF nema specifičnog citogenetskog poremećaja što ga prilikom dijagnoze razlikuje od KML, a fibroza u PV nikad nije toliko opsežna. Akutna panmijeloza s mijelofibrozom kao vrsta akutne leukemije može nalikovati primarnoj mijelofibrozi, ali nema organomegalije i leukoeritroblastoze u perifernoj krvi (18).

**Tijek bolesti i prognoza.** Uzrok smrti u bolesnika s primarnom mijelofibrozom su infekcije, srčano zatajivanje, komplikacije poslije splenektomije, tromboze i krvarenja te transformacija u AML (20% pacijenata u 10 godina od dijagnoze PMF). Preživljenje bolesnika s ovom

kroničnom i progresivnom bolesti uvelike varira s rasponom između jedne i 15 godina. Medijan je preživljenja između 3 i 6 godina. Smjer ove bolesti teško je predvidjeti. Predloženo je nekoliko internacionalnih prognostičkih bodovnih skala (IPSS) koje uzimaju u obzir ove čimbenike: starost iznad 70 godina, hemoglobin ispod 100 g/L, više od 2% mijeloblasta, leukocitozu veću od  $20 \times 10^9/L$ , trombocitopeniju s manje od  $300 \times 10^9/L$  trombocita, izražene konstitucionalne simptome, citogenetske poremećaje, više od 2% ertiro-normoblasta u krvi i masivnu splenomegaliju. DIPSS ili dinamička skala u obzir uzima kronologiju prognostičkih pokazatelja, a DIPSS plus dodaje još tri pokazatelja (kromosomske aberacije, trombocitopeniju i potrebu transfuzije eritrocita) (20).

**Terapija.** Procjena rizika utječe na agresivnost terapije koja će se primjeniti. Asimptomatski pacijenti (koji čine većinu pacijenata), bez anemije i općih simptoma, ne trebaju specifičnu terapiju i preživljavaju preko 10 godina. Za kontrolu trombocitoze, organomegalije, leukocitoze i poboljšanje hematoloških nalaza, lijek izbora je hidroksiureja. Anemija se katkad može smanjiti primjenom androgena (danazol). Trećina pacijenata reagira na terapiju hemolize glukokortikoidima (pronison). Splenektomija nosi brojne komplikacije, a indicirana je kod refraktorne simptomatske splenomegalije, portalne hipertenzije, potrebe za čestim transfuzijama zbog teško kontrolirane anemije i trombocitopenije (18). Za bolesnike koji ne mogu biti splenektomirani (25% pacijenata), koristi se terapija zračenjem (50 do 200 cGy) koja se može ponavljati, a zračiti se mogu i mjesta fibrozno-krvotvornih tumora. Kod kromosomske promjene 5q-, lenalidomid je pokazao iznimno dobar učinak. Korištenje JAK2 inhibitora u terapiji prognostički lošije skupine bolesnika pokazalo je da, osim što smanjuje opće simptome i splenomegaliju, poboljšava i preživljenje te zbog dobre kontrole bolesti omogućuje pacijentima liječenje alogenom transplantacijom koštane srži koje može dovesti do izlječenja. Trenutno se klinički ispituje djelotvornost mTOR kinaza inhibitora (everolimus) i inhibitor histonske deacetilaze (panobinostat) (10).



## 6. RASPRAVA

Mijeloproliferativne bolesti dobro su znani medicinski entiteti, ali usprkos dugoj povijesti istraživanja, njihova etiologija je nepoznata, a time je onemogućena njihova primarna prevencija. Iako molekularne i citogenetičke metode ubrzano napreduju, još nisu otkrivene sve genetske varijante i njihov prognostički učinak. Tek je zagrebana površina u razumijevanju signalnih putova koje one aktiviraju. Fiziološki mehanizmi istih nisu razjašnjeni pa je razumijevanje patoloških događanja dodatno otežano. Osim KML, za čiju dijagnozu treba dokazati Philadelphia kromosom ili BCR/ABL1 prijepis, niti jedan drugi pripadnik ove skupine nema citogenetsku promjenu koja joj je svojstvena. Dijagnosticiraju se na temelju većeg broja manje specifičnih pokazatelja koji bi zajedno trebali povećati vjerojatnost da se radi o određenom kliničkom entitetu. Dijagnoza esencijalne trombocitopenije postavlja se metodom isključivanja što je daleko od težnji moderne medicine da svaka bolest ili poremećaj ima jedinstven i ne dvosmislen citogenetski i molekularni biljeg. Mnogo se radi na terapiji. Lijekovi koji su se prije koristili poput busulfana i klorambucila danas više nisu u uporabi. Zamijenila ih je ciljana terapija na receptore i specifična mjesta signalnih putova koja su patološki aktivna. Novi, specifični i pametni lijekovi razvijaju se s ciljem bolje kontrole bolesti i bolje podnošljivosti terapije s manje nuspojava. Alogena transplantacija koštane srži otvorila je novi pogled na liječenje bolesti koštane srži. Razvoj tehnologije i produbljivanje medicinskog znanja o transplantacijskim mogućnostima i terapijskim prednostima transplantacije već sada u nekih pacijenata omogućuje potpuno izlječenje od maligne mijeloproliferativne bolesti.

## 7. ZAKLJUČCI

- Kronične mijeloproliferativne bolesti ne pokazuju značajan stupanj dismijelopoeze.
- Zajedničke karakteristike ove skupine bolesti su splenomegalija, mogućnost prelaska u mijelofibrozu (faza iscrpljenja) ili transformacija u akutnu leukemiju.
- Kronična mijeloična leukemija klonalna je transformacija na razini pluripotentne progenitorske stanice.
- Primarno je bolest odrasle dobi između 25 i 60 godina.
- Sumnja na KML se postavlja iz tipičnih nalaza krvi (leukocitoza) i koštane srži (hipercelularnost) i mora se potvrditi citogenetičkim metodama.
- Svi pacijenti sa kroničnom mijeloičnom leukemijom imaju dokazan ili Philadelphia kromosom, BCR-ABL1 fuzijski gen/protein, ili BCR-ABL1 fuzijsku mRNA.
- KML u klonalnoj ekspanziji zahvaća neutrofile, bazofile, monocite, megakariocite, eritroblaste, eozinofile i limfocite B.
- Preživljenje u kroničnoj fazi mjeri se u godinama, a u akutnoj u mjesecima.
- Uzroci smrti su infekcije i krvarenja kao posljedice neutropenije i trombocitopenije.
- TKI primarna su linija liječenja bolesnika s KML.
- Transplantacija alogenom koštanom srži u mladih pacijenata u 75% slučajeva dovodi do izlječenja.
- Policitemija vera nastaje iz multipotentne matične stanice.
- PV je bolest kroničnog i progresivnog tijeka, a s vremenom katkad prelazi u fazu iscrpljenja koja nalikuje idiopatskoj mijelofibrozi.
- PV se pojavljuje kod starije populacije, od 50. do 60. godine.
- 95% do 97% bolesnika nosi mutaciju JAK2 (V617F).

- Simptomi koji se pojavljuju većinom su posljedica povećanog broja eritrocita i hematokrita.
- Početni simptomi uključuju slabost, glavobolju, pruritus, vrtoglavice znojenje, gastrointestinalne simptome i hipertenziju.
- Akvageni pruritus se pojavljuje u 70% pacijenata sa PV i često se navodi kao simptom koji se najteže podnosi.
- Venepunkcija se koristi kao početna terapija za smanjivanje broja eritrocita.
- Najprikladniji lijek koji se preporuča kao kontinuirana terapija je hidroksiureja.
- Esencijalna (primarna) trombocitemija je Ph negativna mijeloproliferativna neoplazma okarakterizirana povećanom proliferacijom megakariocita s trombocitozom koja premašuje  $450 \times 10^9/L$ .
- Bolest se najčešće prezentira u starijoj životnoj dobi, iznad 60 godina, ali čak 20% pacijenata je i mlađe od 40 godina.
- JAK2 V617F mutacija pozitivna je u 50 % slučajeva esencijalne trombocitemije.
- Često se otkrije slučajno prilikom rutinske obrade, a polovica pacijenata nema simptome prilikom postavljanja dijagnoze bolesti.
- Glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u pacijenata s esencijalnom trombocitozom su krvarenja i tromboze koje reflektiraju kvantitativan i kvalitativan poremećaj trombocita.
- Najdjelotvorniji lijek je hidroksiureja.
- Primarna mijelofibroza okarakterizirana je brzim razvojem obliterativne fibroze koštane srži.
- Hematopoeza izvan koštane srži nije efektivna i u kliničkoj slici perzistira citopenija.
- Prezentira se splenomegalijom, progresivnom anemijom i općim simptomima.

- Fibroblasti nisu dio zloćudnog procesa, već reaktivno stanje strome koštane srži inducirano glikoproteinom TGF- beta (transformirajući faktor rasta).
- Fibroza oštećuje eritrocitne stanice te se oni pojavljuju u obliku suza (dakrociti), a vidljive su i druge morfološke promjene (anizocitoza, pokilocitoza).
- Aspiracijska punkcija često ne uspijeva dobiti stanice zbog fibroze koštane srži.
- Ne postoji zlatni standard za postavljanje dijagnoze primarne mijelofibroze.
- Uzrok smrti u bolesnika s primarnom mijelofibrozom su infekcije, srčano zatajivanje, komplikacije poslije splenektomije, tromboze i krvarenja te transformacija u AML.
- Smjer ove bolesti teško je predvidjeti.
- Za kontrolu trombocitoze, organomegalije, leukocitoze i poboljšanje hematoloških nalaza lijek izbora je hidroksiureja.
- Dokazan je povoljan terapijski učinak JAK2 inhibitora.

## 8. SAŽETAK

U klasičnu skupinu mijeloproliferativnih bolesti spadaju kronična mijeloična leukemija (KML), policitemija vera (PV), esencijalna trombocitoza (ET) i primarna mijelofibroza (PMF). One su klonalni poremećaji na razini progenitorne krvotvorne stanice koji rezultiraju stvaranjem i nakupljanjem mijeloidnih stanica. Pokazuju znatnu razinu preklapanja kliničkih i laboratorijskih nalaza poglavito na početku bolesti.

KML nastaje od pluripotentne stanice i odgovoran je za 15% do 20% leukemija u odrasloj populaciji. BCR/ABL1 translokacija specifična je genetska podloga kronične mijeloične leukemije. Tirozin kinazni inhibitori (TKI) revolucionirali su terapijski pristup ovoj bolesti.

U policitemiji veri (PV) dominira povećana masa eritrocita i povećan hematokrit koji su zajedno odgovorni za sve kliničke manifestacije ove bolesti. Snižena serumska koncentracija eritropoetina (EPO) ispod normalnih vrijednosti i nalaz koštane srži važni su dijagnostički kriteriji. Venepunkcija se koristi kao početna terapija za smanjivanje broja eritrocita.

Esencijalna trombocitemija nije niti citogenetički niti morfološki definiran entitet. U razmazu periferne krvi otkrivaju se neočekivano veliki trombociti s poremećajem morfologije i načina nakupljanja, praćeni blagom leukocitozom. Glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u pacijenata s esencijalnom trombocitozom su krvarenja i tromboze.

Fibroza u primarnoj mijelofibrozi suprimira hematopoezu u koštanoj srži i dovodi do citopenije u perifernoj krvi s opsežnom ekstramedularnom neoplastičnom hematopoezom.

Usprkos dugoj povijesti istraživanja, etiologija ovih bolesti ostaje nepoznata, a time je onemogućena i mogućnost njihove prevencije.

**Ključne riječi:** kronična mijeloična leukemija, policitemija vera, esencijalna trombocitoza, primarna mijelofibroza

## 9. SUMMARY

Classical group of myeloproliferative diseases is made of chronic myeloid leukemia (CML), polycythemia vera (PV), essential thrombocytosis (ET) and primary myelofibrosis (PMF). These are clonal disorders of hematopoietic progenitor cells that result in formation and accumulation of myeloid cells. They show a significant level of overlap in clinical and laboratory findings, especially at the beginning of the disease.

CML arises from pluripotent cells and is responsible for 15 to 20 percent of leukemia in the adult population. BCR / ABL1 translocation is a specific genetic mark of chronic myeloid leukemia. Tyrosine kinase inhibitors (TKI) revolutionized the therapeutic approach to CML.

In polycythemia vera (PV) increased mass of red blood cells and increased hematocrit are dominant, which together are responsible for all clinical manifestations of PV. Reduced serum erythropoietin (EPO) below normal values and bone-marrow analysis are important diagnostic criteria. Venipuncture is used as initial therapy to reduce the number of red cells.

Essential thrombocytosis is neither a cytogenetic or morphologically defined entity. Peripheral blood smear reveals unexpectedly large platelets with impaired morphology and modes of accumulation followed by mild leukocytosis. The main cause of morbidity and mortality in patients with essential thrombocytosis is bleeding and thrombosis.

Fibrosis in primary myelofibrosis suppresses hematopoiesis in bone marrow and leads to peripheral blood cytopenia with extensive extramedullary neoplastichematopoiesis.

Despite the long history of research, the etiology of these diseases remain unknown, and so do possible ways of their prevention.

**Key words:** chronic myeloid leukemia, polycythemia vera, essential thrombocytosis, primary myelofibrosis

## 10. LITERATURA

1. Tefferi A. Chronic myeloid disorders: Classification and treatment overview. *Semin Hematol* 2001; 38:1.
2. Kumar V., Abass K. A., Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease, Volume 1 Edition 7. Elsevier Saunders; 2005. Chapter 14, Diseases of White Blood Cells, Lymph Nodes, Spleen, and Thymus; p. 696- 701.
3. Labar B, Hauptmann E i sur. Hematolgija. Školska knjiga; Zagreb, 2007. Poglavlje 13, Zloćudni tumori granulocita i monocita; str. 178-199.
4. Verfaillie CM. Biology of chronic myelogenous leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998; 12:1.
5. Vardiman JW. The World Health Organization (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues: an overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chem Biol Interact.* 2010; 184: 16- 20.
6. Tefferi A. The history of myeloproliferative disorders: before and after Dameshek. *Leukemia* 2008; 22:3.
7. Deininger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000; 96:3343.
8. Kim DH, Lee ST, Won HH, et al. A genome-wide association study identifies novel loci associated with susceptibility to chronic myeloid leukemia. *Blood* 2011; 117:6906.
9. Li S, Ilaria RL Jr, Million RP, et al. The P190, P210, and P230 forms of the BCR/ABL oncogene induce a similar chronic myeloid leukemia-like syndrome in mice but have different lymphoid leukemogenic activity. *J Exp Med* 1999; 189:1399.
10. Kasper D, Fauci A, Hauser S et al. Harrison's Principles of Internal Medicine, Volume 1 and 2, Edition 19. McGraw Hill Professional; 2015.

11. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, et al. The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera. *Cancer* 2006; 106:631.
12. Silva M, Richard C, Benito A, et al. Expression of Bcl-x in erythroid precursors from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* 1998; 338:564.
13. Berlin NI. Diagnosis and classification of the polycythemias. *Semin Hematol* 1975; 12:339.
14. Chievitz E, Thiede T. Complications and causes of death in polycythaemia vera. *Acta Med Scand* 1962; 172:513.
15. Passamonti F, Rumi E, Pungolino E, et al. Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Med* 2004; 117:755.
16. Kiladjian JJ, Elkassar N, Hetet G, et al. Study of the thrombopoitin receptor in essential thrombocythemia. *Leukemia* 1997; 11:1821.
17. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2012; 87:285-93.
18. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2013; 88:141.
19. Tefferi A, Pardanani A, Gangat N, et al. Leukemia risk models in primary myelofibrosis: an International Working Group study. *Leukemia* 2012; 26:1439.
20. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood* 2010; 115:1703.



## 21. ŽIVOTOPIS

Edo Kapetanović rođen je u Rijeci 26. srpnja 1990. godine. Pohađa Osnovnu školu „Milan Brozović“, Kastav. Srednjoškolsko obrazovanje počinje u Prvoj riječkoj hrvatskoj gimnaziji, a četvrti razred i maturu polaže u Sjedinjenim Američkim Državama u Trimble Local Highschool. 2009. godine vraća se u Hrvatsku i upisuje Integrirani preddiplomski i diplomski studij medicine pri Medicinskom fakultetu u Rijeci. Tijekom prve godine studija surađuje s dr. Tanjom Ćelić na istraživanju preservacije bubrežnog transplantanta pri zavodu za anatomiju. 2012. godine, u dogovoru s profesorom Kumarom sa Sveučilišta u Chicagu, educira se na odjelu za patologiju na Pritzker Medical School te upoznaje dr. James W. Vardimana i dr. Johna Anastasija koji su utjecali na njegov odabir hematologije kao buduće profesionalne karijere.

U slobodno vrijeme položio je tečaj ljetne alpinističke škole i član je riječkog alpinističkog kluba „RAK“. Aktivni je darivatelj krvi. Bavi se trčanjem i trekingom te je u četvrtom mjesecu ove godine uspješno istrčao dionicu 65 km utrke pod nazivom „100 milja Istre“.