

Czerwienica prawdziwa i nadpłytkowość samoistna — diagnostyka i terapia

Polycythemia vera and essential thrombocythemia — diagnosis and therapy

Joanna Góra-Tybor

Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Czerwienica prawdziwa (PV) i nadpłytkowość samoistna (ET) należą do grupy przewlekłych nowotworów mieloproliferacyjnych BCR-ABL1-ujemnych. Mimo niskiej zapadalności na te nowotwory pacjenci z PV lub ET, ze względu na długi czas przeżycia, stanowią istotny odsetek chorych będących pod opieką poradni hematologicznych. Etiopatogeneza PV i ET nie jest w pełni poznana, jednak istotne znaczenie patogenetyczne przypisuje się zidentyfikowanym w ostatniej dekadzie mutacjom somatycznym genu kinazy tyrozynowej JAK2 (95% pacjentów z PV i 50–60% chorych na ET) i ostatnio poznany mutacjom somatycznym genu kalretikuliny (CALR), obecnym u większości pacjentów bez mutacji JAK2. Główną przyczyną chorobowości i umieralności w tych nowotworach są epizody zakrzepowo-zatorowe i krwotoczne. Z tego względu celem terapii, zarówno u pacjentów z PV, jak i ET, jest przede wszystkim obniżenie ryzyka takich powikłań. W artykule omówiono skale prognostyczne przeżycia i wystąpienia powikłań zakrzepowo-zatorowych oraz aktualne wytyczne dotyczące terapii PV i ET.

Słowa kluczowe: czerwienica prawdziwa, nadpłytkowość samoistna, mutacje JAK2, mutacje CALR, diagnostyka, leczenie

Hematologia 2014; 5, 2: 105–114

Abstract

Polycythemia vera (PV) and thrombocythemia essentialis (ET) belong to the group of chronic myeloproliferative neoplasms termed BCR-ABL1-negative. Despite relatively a low incidence of PV and ET, they frequently pose a clinical treatment problem in hematology due to patients' long overall survival. Although pathogenesis of these tumors is not fully understood, important progress has been achieved with recent identification of recurrent somatic mutations that are characteristic for these tumours. Firstly, it was established that almost all patients with PV and 50–60% of patients with ET harbour a JAK2 mutations. Mutations of calreticulin (CALR) gene were also discovered in a majority of patients with wild-type JAK2. Since the main cause of morbidity and mortality in PV and ET are thrombohaemorrhagic events, prevention of these complications is the most important goal of therapy. This paper reviews current recommendations for the diagnosis, and treatment of PV and ET as well as new prognostic scores for survival and thrombotic complications.

Key words: polycythemia vera, thrombocythemia essentialis, JAK2 mutations, CALR mutations, diagnosis, treatment

Hematologia 2014; 5, 2: 105–114

Adres do korespondencji: Joanna Góra-Tybor, Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel.: 22 34 96 334, faks: 22 34 96 327, e-mail: joannagora@op.pl

Wprowadzenie

Czerwieńca prawdziwa (PV, *polycythemia vera*) i nadpłytkowość samoistna (ET, *essential thrombocythemia*) należą do klasycznych nowotworów mieloproliferacyjnych (MPN, *myeloproliferative neoplasms*) *BCR-ABL1*(-). Podstawową cechą PV jest zwiększona masa erytrocytów (RBC, *red blood cells*), a ET — nadmierna produkcja płytek (PLT, *platelets*) przy nieobecności stanów mogących indukować wtórną erytro- i trombopoezę. Czerwieńca prawdziwa i ET należą do nowotworów o niewielkiej zapadalności, odpowiednio 2,5/100 000 dla PV i 1,5/100 000 dla ET, ale ze względu na długi czas przeżycia pacjenci z tymi nowotworami stanowią istotny odsetek chorych pozostających pod opieką poradni hematologicznych. Zwykle PV i ET rozwijają się u pacjentów starszych — mediana wieku dla zachorowania wynosi 60–65 lat [1].

Etiopatogeneza

Etiologia PV i ET jest nieznana. Jedynym znanym czynnikiem zwiększającym ryzyko zachorowania na PV jest promieniowanie jonizujące. Istnieje predyspozycja genetyczna; zachorowalność wśród członków rodzin pacjentów z PV jest około 5-krotnie wyższa. U większości pacjentów z PV stwierdza się obecność mutacji somatycznych genu kinazy tyrozynowej *JAK2* (*Janus kinase 2*; 9p24). U 96% dotyczą one eksonu 14 (mutacja V617F), zaś u 3% eksonu 12. Kinaza *JAK2* należy do cytoplazmatycznych kinaz tyrozynowych i jest elementem szlaku sygnałowego zależnego od receptorów cytokinowych prowadzącego do aktywacji czynników transkrypcyjnych STAT (*signal transducers and activators of transcription*). Mutacje kinazy *JAK2* prowadzą do jej konstytutywnej aktywacji. Mutację *JAK2* V617F stwierdza się również u około 50% pacjentów z ET, a kolejnych 3–5% chorych charakteryzuje się obecnością mutacji genu *MPL* (*myeloproliferative leukemia virus oncogene*; 1p34) W515L/K w receptorze dla trombopoetyny (TPO) [2–7].

W 2013 roku dwie niezależne grupy badawcze zidentyfikowały mutacje somatyczne nowego onkogenu *CALR* (*calreticulin*), kodującego białko kalretikulinę, występujące u około 80% pacjentów z ET i mielofibrozą (MF, *myelofibrosis*), niebędących nosicielami mutacji *JAK2* i *MPL* [8, 9]. Kalretikulina jest wysoce konserwatywnym białkiem zaangażowanym w różnorodne procesy istotne dla funkcjonowania komórki, takie jak proliferacja i apoptoza. Zlokalizowana w retikulum endoplazmatycznym *CALR* kontroluje prawidłowe składanie glikoprotein i moduluje homeostazę wapniową [10–14].

Nangalia i wsp. [8] zidentyfikowali mutacje *CALR* u 26 spośród 31 pacjentów z ET/MF bez mutacji *JAK* czy *MPL* (84%, 95-proc. przedział ufności [CI, *confidence interval*], 66–94), nie stwierdzili natomiast jego obecności u żadnego ze 120 chorych z mutacją *JAK* lub *MPL*. Wszystkie mutacje dotyczyły eksonu 9; najczęściej stwierdzano dwa warianty mutacji *CALR* — L367fs*46 (delecja 52-bp) (typ 1 mutacji) i K385fs*47 (insercja 5-bp) (typ 2 mutacji). Bez względu na rodzaj mutacji *CALR* w każdym przypadku dochodzi do przesunięcia ramki odczytu, która prowadzi do zmiany C-końcowej sekwencji białka z utratą motywu KDEL (*endoplasmic reticulum retention signal*). Zmiana C-końcowej sekwencji *CALR* i utrata motywu KDEL wiąże się między innymi ze zmianą polaryzacji białka, zwiększeniem zasadowości i utratą większości miejsc wiążących jony Ca^{2+} , a także zwiększoną fosforylacją i aktywacją szlaku sygnałowego *JAK*–*STAT*. W dalszych badaniach obejmujących sekwencjonowanie genomu i eksomu potwierdzono obecność mutacji *CALR* u 110 spośród 158 pacjentów z MPN *BCR-ABL1*(-) bez mutacji *JAK2* lub *MPL* (70%, 95% CI, 62–77), w tym u 80 z 112 chorych na ET (71%), u 18 z 32 chorych na pierwotną mielofibrozę (PMF, *primary myelofibrosis*) (56%) i 12 z 14 pacjentów z progresją ET do MF (86%). U żadnego spośród 511 chorych na MPN z mutacją *JAK2* lub *MPL* nie stwierdzono mutacji *CALR*. Ponadto mutacje *CALR* zidentyfikowano u 10 spośród 120 pacjentów z zespołem mielodysplastycznym (MDS, *myelodysplastic syndrome*), u 1 z 33 pacjentów z przewlekłą białaczką mielomonocytową (CMML, *chronic myelomonocytic leukemia*) i u 1 z 29 osób z atypową przewlekłą białaczką szpikową (aCML, *atypical chronic myelogenous leukemia*). Mutacji *CALR* nie znaleziono u żadnego chorego z nowotworem układu chłonnego, z guzem litym, a także w zdrowej grupie kontrolnej. Wykazano, że mutacje *CALR* występują zarówno w krwiotwórczych komórkach pnia (bez antygenów liniowych, CD34+CD38-CD45RA), mieloidalnych komórkach progenitorowych (bez antygenów liniowych, CD90-CD10-FLK2+CD45RA-), granulocytarno-makrofagowych komórkach progenitorowych (bez antygenów liniowych, CD34+CD38+CD90-CD10-FLK2+CD45RA+), jak i erytroidalno-megakariocytowych komórkach progenitorowych (bez antygenów liniowych, CD34+CD38+CD90-CD10-FLK2-CD45RA-). Podobne wyniki opublikowała grupa austriacko-włoska [9]. Wśród pacjentów z ET i PMF bez mutacji *JAK2* i *MPL* stwierdzili oni obecność 36 różnych delecji lub insercji *CALR* odpowiednio u 67% i 88% chorych. Ponadto zaob-

Tabela 1. Kryteria diagnostyczne czerwieńcy prawdziwej (PV) i nadpłytkowości samoistnej (ET) według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2008 roku (źródło [15])**Table 1.** Diagnostic criteria for polycythemia vera (PV) and essential thrombocythemia (ET) according to World Health Organization (WHO) 2008 (source [15])

Kryteria	Czerwieńca prawdziwa (PV)*	Nadpłytkowość samoistna (ET)*
Większe	<ol style="list-style-type: none"> 1. Stężenie Hb > 18,5 g/dl (mężczyźni), > 16,5 g/dl (kobiety) albo Hb lub Hct > 99. percentyla wartości dla określonego wieku, płci i wysokości nad poziomem morza lub Hb > 17 g/dl (mężczyźni), > 15 g/dl (kobiety), jeśli stwierdza się przyrost Hb \geq 2 g/dl do wartości wyjściowej bez związku z leczeniem niedoboru żelaza lub wzrost masy krwinek czerwonych > 25% ponad średnią przewidzianą wartość prawidłową 2. Mutacja V617F JAK2 lub defekt o podobnym znaczeniu czynnościowym, np. mutacja JAK2 w eksonie 12 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Liczba PLT \geq 450 G/L 2. Cechy proliferacji, głównie linii megakariocytowej, ze zwiększoną liczbą dużych, dojrzałych megakariocytów. Brak wyraźnej proliferacji lub przesunięcia w lewo w liniach granulocytowej i czerwonekrwinkowej 3. Brak kryteriów diagnostycznych WHO dla PV, PMF, CML, MDS lub innych nowotworów mieloidalnych 4. Wykazanie mutacji JAK2 V617F lub innych markerów klonalności, a w przypadku ich braku — wykluczenie nadpłytkowości reaktywnej
Mniejsze	<ol style="list-style-type: none"> 1. Szpik bogatokomórkowy z cechami trójukładowej proliferacji linii czerwonekrwinkowej, granulocytowej i megakariocytów 2. Stężenie EPO w surowicy poniżej normy 3. Endogenny wzrost kolonii erytroidalnych <i>in vitro</i> 	

*Do rozpoznania PV konieczne jest spełnienie dwóch większych kryteriów i jednego mniejszego lub pierwszego większego i dwóch mniejszych. Do rozpoznania ET wymagane jest spełnienie wszystkich czterech kryteriów; Hb — hemoglobina; Hct (*hematocrit*) — hematokryt; PLT (*platelets*) — płytki krwi; PMF (*primary myelofibrosis*) — pierwotna mielofibroza; CML (*chronic myelogenous leukemia*) — przewlekła białaczka szpikowa; MDS (*myelodysplastic syndrome*) — zespół mielodysplastyczny; EPO — erytropoetyna

serwowali, że komórki mysiej linii Ba/F3 zależnej od interleukiny 3 po transfekcji zmutowanym genem *CALR* wykazują wzrost niezależny od cytokiny, związany najprawdopodobniej z konstytutywną aktywacją szlaku STAT.

Rozpoznanie i różnicowanie

Podstawą rozpoznania PV i ET są kryteria Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) z 2008 roku (tab. 1) [15]. Obejmują one zarówno cechy morfologiczne, jak i molekularne choroby. Można się spodziewać, że w niedalekiej przyszłości do kryteriów rozpoznawania MPN *BCR-ABL1*(-) zostanie wprowadzone oznaczenie mutacji *CALR*, co znacznie ułatwi różnicowanie ET z wtórnymi przyczynami nadpłytkowości.

Należy podkreślić, że badanie szpiku kostnego, w przypadku spełnienia dostatecznej liczby pozostałych kryteriów diagnostycznych, nie jest niezbędne do rozpoznania PV. Natomiast badanie histopatologiczne zawsze jest konieczne, by rozpoznać ET, przede wszystkim ze względu na konieczność odróżnienia tej jednostki chorobowej od wczesnej, prefibrotycznej MF [16]. Badanie przeprowadzone przez IWG-MRT (*International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment*) objęło 1104 chorych, u których w lokalnych ośrodkach zdiagnozowano ET [17].

Ocena histopatologiczna, przeprowadzona w centralnym laboratorium, potwierdziła rozpoznanie ET u 891 pacjentów, zaś pozostałych 180 spełniało kryteria rozpoznania wczesnej/prefibrotycznej fazy PMF. W badaniu wykazano istotnie krótszy czas przeżycia całkowitego (OS, *overall survival*) u pacjentów z rozpoznaniem wczesnej/prefibrotycznej fazy PMF w porównaniu z chorymi na ET (15-letnie przeżycie wynosiło odpowiednio 59% i 80%). Pacjentów z wczesną/prefibrotyczną PMF cechowało wyższe ryzyko transformacji białaczkowej (w okresie 15 lat odpowiednio 11,7% *v.* 2,1%) i ryzyko progresji do klasycznej MF (w okresie 15 lat odpowiednio 16,9% *v.* 9,3%). Stwierdzono również, że w porównaniu z chorymi na ET u pacjentów z wczesną/prefibrotyczną fazą PMF częściej dochodziło do powikłań krwotocznych, szczególnie w przypadku terapii kwasem acetylosalicylowym, u chorych z podwyższoną liczbą krwinek białych (WBC, *white blood cells*) oraz u pacjentów z powikłaniami krwotocznymi w wywiadzie. Na rozpoznanie wczesnej/prefibrotycznej PMF mogą wskazywać: współistnienie niedokrwistości, podwyższona liczba leukocytów, splenomegalia, wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH, *lactate dehydrogenase*), zwiększony odsetek blastów i leukoerytroblastyczny obraz krwi obwodowej. Podstawą ostatecznego rozpoznania jest badanie histopatologiczne.

W ostatnim czasie jest podnoszony problem tak zwanej utajonej czerwienicy prawdziwej (mPV, *masked polycythemia vera*). Dotyczy on pacjentów, u których występują kliniczne cechy PV, stwierdza się mutację *JAK2* oraz obraz histopatologiczny szpiku typowy dla PV, natomiast wartości hemoglobiny (Hb) wynoszą nieco poniżej wymaganych w kryteriach WHO ($> 16,5$ g/dL u kobiet i $> 18,5$ g/dL u mężczyzn). Barbui i wsp. [18] analizowali przebieg choroby u 397 pacjentów z mutacją *JAK2* i morfologią szpiku typową dla PV. Dwustu pięćdziesięciu siedmiu (65%) spośród nich spełniało kryteria WHO z 2008 roku dla PV, natomiast pozostałych 140 (35%) zaklasyfikowano jako mPV ze względu na niższe stężenie Hb w chwili diagnozy (16,5–18,5 g/dL u mężczyzn i 15,0–16,5 g/dL u kobiet). Okazało się, że pacjentów z mPV cechuje istotnie krótsze OS niż chorych spełniających kryteria WHO ($p = 0,011$). Liczba zgonów w ciągu roku była prawie 2-krotnie wyższa w tej grupie pacjentów, przede wszystkim z powodu częstszej transformacji choroby do MF lub ostrej białaczki. Autorzy uważają, że mPV jest nie tyle wczesną postacią PV, co odmiennym typem MPN. Do rozpoznania mPV również niezbędne jest badanie histopatologiczne szpiku.

Przy rozpoznaniu ET niezbędne jest wykluczenie nadpłytkowości odczynowych, a także innych MPN, w przebiegu których często dochodzi do wzrostu liczby PLT. Czerwienica prawdziwa wymaga różnicowania z czerwienicą względną (spowodowaną utratą osocza) oraz czerwienicą wtórną spowodowaną nadmiernym wydzielaniem erytropoetyny (EPO). Czerwienicę względną obserwuje się w przypadku stanów odwodnienia, najczęściej w przebiegu biegunki, znacznych obrzęków i/lub wysięków, po lekach moczopędnych. Czerwienica wtórna może być następstwem podwyższonego stężenia EPO w przebiegu przewlekłego niedotlenienia tkanek (np. w sinicznych wadach serca) lub produkcji EPO przez komórki guza. Bardzo rzadko czerwienica wtórna ma tło genetyczne związane z mutacją prowadzącą do konstytutywnej aktywacji receptora dla EPO.

Czynniki rokownicze

Systemy prognostyczne stosowane w PV i ET dotyczą przede wszystkim ryzyka powikłań zakrzepowych, ponieważ są one główną przyczyną chorobowości i umieralności w tych nowotworach. W największym badaniu epidemiologicznym dotyczącym pacjentów z PV (ECLAP, *European Collaboration on Low-dose Aspirin*) śmiertelność

związana z powikłaniami sercowo-naczyniowymi odpowiadała za 41% wszystkich zgonów i wynosiła 1,5/100 pacjentów/rok [19]. Wiązała się przede wszystkim z chorobą wieńcową, niewydolnością krążenia, udarem niedokrwinnym i zatorowością płucną (odpowiednio 15% i po 8% zgonów). Skumulowana częstość powikłań zakrzepowo-zatorowych (z wyłączeniem śmiertelnych) wynosiła 3,8/100 pacjentów/rok; nie stwierdzono różnic w zakresie częstości powikłań tętniczych i żylnych. W prospektywnych badaniach dotyczących pacjentów z ET wykazano częstość powikłań zakrzepowo-zatorowych wynoszącą 2–4% chorych/rok, z częstością powikłań tętniczych 3-krotnie wyższą od częstości powikłań żylnych [20].

Do powszechnie przyjętych czynników ryzyka w PV należą wiek powyżej 60 lat i przebycie epizodu zakrzepowego w przeszłości. Ryzyko zakrzepicy zwiększa również liczba WBC przekraczająca 10 G/L. Należy zwrócić uwagę, że liczba PLT nie jest uwzględniona jako czynnik prognostyczny w PV, a znaczna nadpłytkowość (> 1000 – 1500 G/L może nawet obniżać ryzyko powikłań zakrzepowych [19–25]. W 2013 roku opublikowano wyniki retrospektywnej analizy zainicjowanej w 2010 roku przez IWG-MRT, która objęła 1545 chorych z rozpoznaniem PV (wg kryteriów WHO z 2008 r.) [25]. Analiza czynników prognostycznych wykazała, że niekorzystny wpływ na przeżycie mają podwyższona liczba WBC, obecność aberracji w kariotypie, leukoerytoblastyczny obraz we krwi obwodowej oraz zakrzepica żylna w wywiadzie. Korzystnymi czynnikami prognostycznymi okazały się podwyższona liczba PLT i obecność świądu skóry. Na podstawie przeprowadzonej analizy autorzy zaproponowali wprowadzenie modelu przeżycia dla pacjentów z PV opartego na wieku (≥ 67 lat, 5 pkt.; 57–66 lat, 2 pkt.), liczbie WBC (≥ 15 G/L, 1 pkt) oraz zakrzepicy żylny w wywiadzie (1 pkt) (tab. 2). Na tej podstawie wyróżnili chorych obarczonych ryzykiem niskim (0 pkt., mediana przeżycia 26 lat), pośrednim (1–2 pkt., mediana przeżycia 15 lat) oraz wysokim (≥ 3 pkt., mediana przeżycia 8,3 roku). W analizowanej grupie u 50 (3%) pacjentów obserwowano transformację do ostrej białaczki szpikowej (AML, *acute myeloid leukemia*). Mediana czasu do transformacji wynosiła 10,8 roku (0,5–22,3 roku). Skumulowane ryzyko wystąpienia transformacji do AML wynosiło odpowiednio 2,3% po 10 latach, 5,5% po 15 latach i 7,9% po 20 latach trwania choroby. Zidentyfikowane czynniki ryzyka dla transformacji to starszy wiek, liczba WBC powyżej lub równa 15 G/L oraz obecność aberracji w kariotypie. Analiza potwier-

Tabela 2. Skala prognostyczna przeżycia chorych na czerwieńcę prawdziwą (PV) według IWG-MRT (*International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment*) (źródło [25])**Table 2.** Prognostic score for survival of patients with polycythemia vera (PV) according to IWG-MRT (*International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment*) (source [25])

Czynnik ryzyka	Liczba punktów	Grupa ryzyka	Mediana czasu przeżycia
Wiek \geq 67 lat	5	Niskie — 1 pkt	26 lat
Wiek 57–66 lat	2	Pośrednie — 1–2 pkt.	15 lat
Liczba WBC \geq 15 G/L	1	Wysokie > 3 pkt.	8,3 roku
Zakrzepica w wywiadzie	1		

WBC (*white blood cells*) — krwinki białe**Tabela 3.** Skala prognostyczna przeżycia chorych na nadpłytkowość samoistną (ET) (IPSET, *International Prognostic Score for ET*) (źródło [26])**Table 3.** Prognostic score for survival of patients with essential thrombocythemia (ET) (IPSET, *International Prognostic Score for ET*) (source [26])

Czynnik ryzyka	Liczba punktów	Grupa ryzyka	Mediana czasu przeżycia
Wiek \geq 60 lat	2	Niskie — 0 pkt.	Nieosiągnięta
Liczba WBC \geq 11 G/L	1	Pośrednie — 1–2 pkt.	24,5 roku
Zakrzepica w wywiadzie	1	Wysokie — 3–4 pkt.	13,8 roku

WBC (*white blood cells*) — krwinki białe**Tabela 4.** Skala prognostyczna ryzyka powikłań zakrzepowych u chorych na nadpłytkowość samoistną (ET) (IPSET-*thrombosis*, *International Prognostic Score for ET for thrombosis*) (źródło [27])**Table 4.** Prognostic score for thrombotic risk for patients with essential thrombocythemia (ET) (IPSET-*thrombosis*, *International Prognostic Score for ET for thrombosis*) (source [27])

Czynnik ryzyka	Liczba punktów	Grupa ryzyka
Wiek > 60 lat	1	Niskie — 0–1 pkt
Występowanie \geq 1 spośród 3 czynników: nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie tytoniu	1	Pośrednie — 2 pkt. Wysokie \geq 3 pkt.
Powikłania zakrzepowe w wywiadzie	2	
Obecność mutacji <i>JAK2V617F</i>	2	

dziła również, że zastosowanie w terapii fosforu radioaktywnego, chlorambucylu i pipobromanu zwiększa ryzyko transformacji białaczkowej PV, natomiast hydroksymocznik (HU, *hydroxyurea*) i busulfan nie wykazują działania leukemogenego.

W 2012 roku zaproponowano wskaźnik prognostyczny przeżycia pacjentów z ET (IPSET, *International Prognostic Score for ET*) (tab. 3) [26]. Uwzględnia on trzy czynniki ryzyka przy rozpoznaniu: 1) wiek co najmniej 60 lat (2 pkt.); 2) liczbę WBC wynoszącą 11 G/L i więcej (1 pkt.); 3) epizody zakrzepowe w wywiadzie (1 pkt.). W zależności od liczby czynników chorzy są kwalifikowani do następujących grup ryzyka: 1) niskiego (0 pkt.) — z nieosiągniętą medianą czasu przeżycia; 2) pośredniego

(1–2 pkt.) — z medianą czasu przeżycia wynoszącą 24,5 roku; 3) wysokiego (3–4 pkt.) — z medianą czasu przeżycia wynoszącą 13,8 roku. Przy kwalifikacji chorych na ET do określonej terapii uwzględnia się przede wszystkim ryzyko powikłań zakrzepowych, biorąc pod uwagę dwa czynniki — wiek powyżej 60 lat i obecność epizodów zakrzepowych w wywiadzie. Do grupy niskiego ryzyka zalicza się chorych bez żadnego czynnika ryzyka, a do grupy wysokiego ryzyka chorych obciążonych 1 lub 2 czynnikami ryzyka. W 2012 roku zaproponowano również nową skalę służącą ocenie ryzyka powikłań zakrzepowych (tzw. *IPSET-thrombosis*) (tab. 4) [27]. Na podstawie retrospektywnej oceny 891 pacjentów z ET zidentyfikowano 4 czynniki ryzyka:

wiek ponad 60 lat (1 pkt), obecność przynajmniej 1 czynnika sercowo-naczyniowego (nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie tytoniu) (1 pkt), epizod zakrzepowy w wywiadzie (2 pkt.), obecność mutacji *JAK2* V617F (2 pkt.). Do grupy niskiego ryzyka zalicza się chorych, którzy uzyskali 0–1 punktu, pośredniego — 2 punkty, a wysokiego — 3 i więcej punktów. Należy podkreślić, że liczba płytek nie wpływa na ryzyko powikłań zakrzepowych u pacjentów z ET [23, 27, 28]. Wyniki prospektywnego badania PT1 wykazały związek powikłań zakrzepowych z liczbą WBC, a nie z liczbą PLT [28]. Natomiast ryzyko powikłań krwotocznych było wyższe u chorych z liczbą PLT przekraczającą 450 G/l w porównaniu z wartościami w zakresie normy (współczynnik ryzyka [HR, hazard ratio] 3,7). Ryzyko powikłań krwotocznych zwiększało się aż 10-krotnie przy liczbie PLT ponad 1250 G/L.

Analiza przebiegu ET u pacjentów z obecnością mutacji *CALR* wykazała, że w porównaniu z chorymi na ET z dodatnią mutacją *JAK2* mają oni mniej powikłań zakrzepowych i cechuje ich dłuższe OS [8, 9, 29]. U chorych z mutacją *CALR* prawdopodobieństwo przeżycia 10 lat wynosiło 96,9% (95% CI, 91,7–98,8), w porównaniu z 91,1% (95% CI, 87,1–93,9) u chorych *JAK2*+ ($p = 0,04$). Skumulowane ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych po 10 latach wynosiło 11,0% (95% CI, 6,3–17,1) u chorych *CALR*+ i 21,0% u pacjentów *JAK2*+ (95% CI, 16,6–25,7) ($p = 0,003$) [8]. Rumi i wsp. [29] analizowali przebieg choroby u 717 pacjentów z ET (466 *JAK2*+, 176 *CALR*+ i 75 *JAK2*–, *CALR*–, *MPL*–). Pacjenci *CALR*+ byli istotnie młodsi w porównaniu z *JAK2*+ ($p = 0,001$), niższe były u nich stężenia Hb, mniejsza liczba WBC, większa liczba PLT i wyższe stężenie EPO ($p < 0,001$ dla każdego parametru). Pacjenci *CALR*+ wykazywali istotnie niższe ryzyko powikłań zakrzepowych niż chorzy *JAK2*+ ($p = 0,001$), ale OS w obu grupach nie różniło się istotnie ($p = 0,35$). Również Rotunno i wsp. [30] potwierdzili wpływ mutacji *CALR* na fenotyp pacjentów z ET. U chorych *CALR*+ stwierdzono istotnie większą liczbę PLT, mniejsze stężenie Hb i liczbę WBC oraz niższe ryzyko powikłań zakrzepowych. Nie zaobserwowano różnic w zakresie OS i częstości transformacji do MF. Tefferi i wsp. [31] oceniali wpływ rodzaju mutacji *CALR* (typ 1 *v.* typ 2) na fenotyp ET. Spośród 402 pacjentów z ET u 227 (57%) występowała mutacja *JAK2*, u 11 (3%) — *MPL*, 4 114 (28%) — *CALR*, a 50 (12%) było negatywnych pod względem wszystkich trzech mutacji. U 51 (45%) spośród 114 chorych *CALR*+ stwierdzono typ 1, a u 44 (39%) — typ 2 mutacji. Oba warianty charakteryzowały się większą liczbą

PLT i niższymi stężeniami Hb oraz liczbą WBC w porównaniu z pacjentami *JAK*+. Jednak częstsze występowanie u płci męskiej charakteryzowało tylko typ 1 ($p = 0,005$), a młodszy wiek pacjentów — typ 2 ($p = 0,001$). Liczba PLT była istotnie większa u chorych z mutacją typu 2 niż u pacjentów z mutacją typu 1 ($p = 0,03$).

Leczenie

Celem leczenia — zarówno u pacjentów z PV, jak i ET — jest przede wszystkim obniżenie ryzyka powikłań zakrzepowych. Ponadto wśród celów leczenia należy uwzględnić zmniejszenie ryzyka krwawienia oraz eliminację objawów ogólnych towarzyszących chorobie [24].

Wszyscy chorzy na PV powinni być leczeni upustami krwi w celu utrzymania hematokrytu (Ht) poniżej 45% oraz małą dawką kwasu acetylosalicylowego (75–100 mg). Chorzy z grupy zwiększonego ryzyka powikłań zakrzepowych (> 60. rż. i/lub z epizodami zakrzepowymi w wywiadzie) dodatkowo kwalifikują się do leczenia cytoredukcyjnego. Takiego leczenia wymagają również pacjenci, którzy źle tolerują krwiopusty, wymagają ich bardzo często, występuje u nich progresywna lub objawowa splenomegalia czy progresywna leukocytoza. Lekami pierwszego wyboru są wówczas HU lub interferon α (IFN α). Początkowa dawka HU wynosi zazwyczaj 0,5 g 2 razy/dobę, a następnie należy ją tak zmodyfikować, aby utrzymywać Ht poniżej 45% [24, 32, 33].

W 2010 roku grupa włoska CYTO-PV Collaborative Group [32] opublikowała wyniki randomizowanego badania, w którym porównywano częstość epizodów sercowo-naczyniowych u 365 pacjentów z PV leczonych upustami krwi i/lub HU, zakwalifikowanych do grupy, w której utrzymywano „niski Ht” (Ht < 45%) oraz do grupy „wysokiego Ht” (Ht 45–50%) leczonej mniej intensywnie [34]. Pierwszorzędownym punktem końcowym był zgon z powodów sercowo-naczyniowych lub wystąpienie większego incydentu zakrzepowo-zatorowego (udar mózgu, ostry zespół wieńcowy, przemijający atak niedokrwienny mózgu, zatorowość płucna, zakrzepica naczyń trzewnych, zakrzepica żył głębokich, zakrzepica tętnic obwodowych). Po medianie obserwacji wynoszącej 31 miesięcy pierwszorzędowny punkt końcowy osiągnięto u 5 spośród 182 pacjentów w grupie „niskiego Ht” (2,7%) i u 18 spośród 183 chorych w grupie „wysokiego Ht” (9,8%) ($p = 0,007$). Punkt pierwszorzędowny łącznie z epizodem zakrzepicy żył powierzchniowych obserwowano u 4,4% chorych w grupie „niskiego Ht”

Tabela 5. Kryteria nietolerancji/oporności na hydroksymocznik (HU) u pacjentów z czerwieńcą prawdziwą (PV) według *European LeukemiaNet* (2011) (źródło [31])**Table 5.** European LeukemiaNet definition of resistance/intolerance to hydroxyurea (HU) in patients with polycythemia vera (PV) (2011) (source [31])**Kryteria nietolerancji/oporności na HU u pacjentów z PV**

1. Konieczność krwioupuśców mimo przynajmniej 3-miesięcznej terapii za pomocą HU, w dawce ≥ 2 g/d. lub
2. Niekontrolowana mieloproliferacja (liczba PLT > 400 G/L, liczba WBC > 10 G/L mimo przynajmniej 3-miesięcznej terapii za pomocą HU, w dawce ≥ 2 g/d. lub
3. Redukcja wielkości śledziony $< 50\%$ (w ocenie palpacyjnej) lub utrzymywanie się objawów związanych ze splenomegalią mimo przynajmniej 3-miesięcznej terapii za pomocą HU, w dawce ≥ 2 g/d. lub
4. Liczba neutrofilów $< 1,0$ G/L lub PLT < 100 G/L, lub stężenie Hb < 10 g/dl uzyskana za pomocą najmniejszej dawki HU pozwalającej na utrzymanie całkowitej lub częściowej odpowiedzi kliniczno-hematologicznej lub
5. Niehematologiczne objawy niepożądane HU, takie jak: owrzodzenia na skórze i śluzówkach lub inne objawy skórno-śluzówkowe, gorączka, objawy ze strony przewodu pokarmowego

PLT (platelets) — płytki krwi; WBC (white blood cells) — krwinki białe; Hb — hemoglobina

i 10,9% w grupie „wysokiego Ht”. Nie stwierdzono różnic w zakresie częstości zdarzeń niepożądanych w obu grupach. Wyniki opisywanego badania jednoznacznie wskazują na zasadność intensywniejszego leczenia pacjentów w celu utrzymania Ht poniżej 45%, ponieważ u chorych w grupie „niskiego Ht” obserwowano istotnie mniej zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz rzadsze występowanie większych epizodów zakrzepowo-zatorowych.

U osób poniżej 40. roku życia część autorów preferuje stosowanie IFN α . Lek ten jest zazwyczaj stosowany w dawce 3 mln j. podskórnie (s.c., *subcutaneous*) 3 razy w tygodniu lub w formie pegylowanej (PEG) w dawce 45–180 μg s.c. raz w tygodniu. Stosowanie IFN α pozwala na uzyskanie całkowitych remisji (CR, *complete remission*) u większości chorych, a ponadto powoduje zmniejszenie ilości alleli JAK2+. Należy jednak podkreślić, że u znacznego odsetka chorych terapia IFN α wiąże się z występowaniem objawów niepożądanych, co u 20–25% prowadzi do zmiany terapii [35, 36]. Kiladjian i wsp. [37] zastosowali PEG IFN α u 40 pacjentów z PV, uzyskując po roku terapii 95% CR. Co więcej, u większości chorych odnotowano zmniejszenie ilości alleli JAK2+ (mediana wyjściowa 45%, a następnie 22,5%, 17,5%, 5% i 3%, odpowiednio, po 12, 18, 24 i 36 miesiącach terapii). U 7 pacjentów stwierdzono całkowitą odpowiedź molekularną. Tylko u 3 (8%) chorych konieczne było przerwanie terapii z powodu toksyczności. Można przypuszczać, że wprowadzenie do terapii PEG IFN α pozwoli ograniczyć toksyczność [37, 38].

U osób starszych, powyżej 70. roku życia, można rozważyć stosowanie busulfanu. Początkowa dawka zwykle wynosi 4 mg/dobę. W przypadku obniżenia liczby PLT poniżej 150 G/L i/lub liczby

WBC poniżej 5 G/L należy zmniejszyć dawkę leku do 2 mg/dobę, natomiast zmniejszenie liczby PLT poniżej 100 G/L i/lub WBC poniżej 3 G/L wiąże się z koniecznością odstawienia leku. W przypadku oporności lub nietolerancji leczenia I linii terapię należy zmienić odpowiednio na IFN α , HU lub busulfan. Kryteria nietolerancji lub oporności na HU zamieszczono w tabeli 5 [24, 32, 33].

Mimo normalizacji parametrów morfologii krwi u chorych z PV może się utrzymywać uporczywy świąd. Wskazane są wówczas leki z grupy blokerów receptora histaminowego 1, cholestyramina, selektywne inhibitory wychwytu serotoniny (np. paroksetyna), a także fotochemioterapia PUVA (*Psoralen ultra-violet*). Objawy erytromelalgii często znosi kwas acetylosalicylowy; niekiedy do osiągnięcia skuteczności konieczne jest zwiększenie częstości podawania do 2 razy/dobę [32, 33].

U pacjentów opornych na terapię HU i/lub IFN α skuteczne mogą się okazać leki z grupy inhibitorów kinazy JAK1 i JAK2. W badaniu II fazy z zastosowaniem ruxolitynibu u 34 pacjentów z PV nietolerujących lub opornych na HU wykazano, że lek ten powoduje obniżenie Ht poniżej 45% bez konieczności krwioupuśców u 97% chorych. U większości chorych obserwowano poprawę w zakresie świądu, nocnych potów, bólów kostnych, a także normalizację rozmiarów śledziony. Najczęstszymi objawami niepożądanymi były małopłytkowość i niedokrwistość, które w stopniu 3. według klasyfikacji WHO wystąpiły u 3 pacjentów i u wszystkich chorych ustąpiły po zmniejszeniu dawki leku.

Wszyscy pacjenci z ET powinni być leczeni małą dawką kwasu acetylosalicylowego (75–100 mg). Wykazano, że obniża on zarówno ryzyko żylnych, jak i tętniczych powikłań zakrzepowych.

Tabela 6. Kryteria nietolerancji/oporności na hydroksymocznik (HU) u pacjentów z nadpłytkowością samoistną (ET) według *European LeukemiaNet* (2011) (źródło [31])**Table 6.** European LeukemiaNet definition of resistance/intolerance to hydroxyurea (HU) in patients with essential thrombocythemia (ET) (2011) (source [31])**Kryteria nietolerancji/oporności na HU u pacjentów z ET**

1. Liczba PLT > 600 G/L mimo przynajmniej 3-miesięcznej terapii za pomocą HU, w dawce ≥ 2 g/d. lub
2. Liczba PLT > 400 G/L, liczba leukocytów < 2,5 G/L uzyskane za pomocą dowolnej ze stosowanych dawek HU lub
3. Liczba PLT > 400 G/L, stężenie Hb < 10/dl uzyskane za pomocą dowolnej ze stosowanych dawek HU lub
4. Niehematologiczne objawy niepożądane HU, takie jak: owrzodzenia na skórze i śluzówkach lub inne objawy skórno-śluzówkowe, gorączka, objawy ze strony przewodu pokarmowego

PLT (platelets) — płytki krwi; WBC (white blood cells) — krwinki białe; Hb — hemoglobina

Ponadto u znacznego odsetka chorych znoś objawy związane z zaburzeniami w mikrokrążeniu, takimi jak: erytromelalgia, bóle głowy, parestezje, zaburzenia widzenia [23, 24, 33, 36]. U pacjentów z bardzo wysoką liczbą PLT (> 1000 G/L) należy zachować ostrożność przy włączaniu kwasu acetylosalicylowego ze względu na możliwe współwystępowanie nabytego zespołu von Willebranda. W tej grupie wskazane jest oznaczenie aktywności kofaktora ristocetyny i wstrzymanie terapii przeciwplatekowej w przypadku, gdy aktywność ta jest mniejsza niż 30% [23, 24, 33, 36].

Pacjenci z grupy zwiększonego ryzyka powikłań zakrzepowych (> 60 rż. i/lub z epizodami zakrzepowymi w wywiadzie) dodatkowo kwalifikują się do leczenia cytoredukcyjnego. Lekiem pierwszego wyboru jest w tej grupie HU [23, 24, 33, 36]. Wykazano, że zastosowanie HU zmniejsza liczbę powikłań zakrzepowych, nie wpływając na prawdopodobieństwo transformacji białaczkowej. U chorych opornych lub nietolerujących HU (tab. 6) należy zastosować IFN α , busulfan (u chorych starszych) lub anagrelid. Wyniki badania, w którym porównywano skuteczność HU i anagrelidu w grupie 809 pacjentów z ET obarczonych wysokim ryzykiem, opublikowane w 1995 roku wykazały, że w grupie leczonej anagrelidem występowało więcej tętnicznych powikłań zakrzepowych (iloraz szans [OR, *odds ratio*] 2,16; $p = 0,03$), powikłań krwotocznych (OR 2,61; $p = 0,008$) oraz transformacji do MF (OR 2,92; $p = 0,01$), natomiast istotnie mniej — żylnych powikłań zakrzepowych (OR 0,27; $p = 0,006$) [39]. W kolejnym badaniu, w którym porównywano HU i anagrelid, przeprowadzonym w grupie 259 chorych z rozpoznaniem ET zgodnym z kryteriami WHO z 2008 roku, nie wykazano różnic pod względem skuteczności obu leków w zakresie częstości powikłań zakrzepowych i krwotocznych [40].

U wszystkich chorych na PV i ET należy zwrócić uwagę na eliminację czynników ryzyka chorób układu krążenia, ze szczególnym uwzględnieniem zaprzestania palenia tytoniu. Stosowanie hormonalnych leków antykoncepcyjnych i hormonalnej terapii zastępczej jest przeciwwskazane.

Szczególne sytuacje kliniczne — zakrzepica żył jamy brzusznej

Nowotwory mieloproliferacyjne są częstą przyczyną zakrzepicy w żyłach jamy brzusznej: zakrzepicy żyły wrotnej (PVT, *portal vein thrombosis*), żył wątrobowych (zespół Budd-Chiari), żył krezki. Trzeba podkreślić, że w przypadku wystąpienia zakrzepicy o takiej lokalizacji u chorego bez rozpoznania MPN zawsze powinna być przeprowadzona diagnostyka w kierunku takiego nowotworu, ponieważ u 30–40% jej wynik jest pozytywny [23, 41, 42]. Typowe cechy MPN w morfologii w tej grupie pacjentów często są nieobecne ze względu na współistniejące krwawienie, hipersplenizm lub przewodnienie organizmu. Smalberg i wsp. [41] przeprowadzili metaanalizę występowania MPN wśród pacjentów z zespołem Budd-Chiari i PVT. Wśród 1062 chorych z zespołem Budd-Chiari u 40,9% (95% CI, 32,9–49,5%) współistniał MPN, w tym u 41,1% (95% CI, 32,3–50,6%) stwierdzono dodatnią mutację *JAK2* V617F. Wśród 855 pacjentów z PVT, MPN stwierdzono u 31,5% (95% CI, 25,1–38,8%), a dodatnią mutację *JAK2* V617F u 27,7% (95% CI, 20,8–35,8%). Należy podkreślić, że obecność mutacji *JAK2* V617F jest czynnikiem ryzyka powikłań zakrzepowych w naczyniach jamy brzusznej. Wykazano obecność mutacji w komórkach śródbłonna naczyń śledziony i wątroby, co może mieć dodatkowe prozakrzepowe działanie [43].

Leczenie powikłań zakrzepowych w obrębie żył jamy brzusznej polega na podaniu leczniczej

dawki heparyny drobnocząsteczkowej, a następnie stosowaniu doustnych antykoagulantów przez całe życie w dawce pozwalającej na utrzymanie wartości międzynarodowego współczynnika znormalizowanego (INR, *international normalized ratio*) między 2,0 a 3,0. Nierzadko konieczna jest interwencja chirurgiczna (zespolenia omijające, angioplastyka) [23, 44].

Podsumowanie

Najważniejszym odkryciem ostatnich miesięcy jest zidentyfikowanie mutacji genu *CALR* u znacznego odsetka pacjentów z *MPN BCR-ABL1(-)*, bez mutacji *JAK* i *MPL* [8, 9]. Gen *CALR* jest onkogenem odpowiedzialnym za syntezę kalretikuliny — białka regulującego procesy proliferacji i apoptozy w komórce. Stwierdzenie mutacji *CALR* znacznie ułatwia diagnostykę różnicową ET i nadpłytkowości reaktywnych. Najprawdopodobniej obecność mutacji *CALR* pojawi się w nowych kryteriach diagnostycznych *MPN BCR-ABL1(-)* według WHO [45, 46]. Obecność mutacji wydaje się również istotna dla fenotypu ET. Chorzy, u których stwierdzono mutacje *CALR*, mają istotnie mniej powikłań zakrzepowych niż pacjenci *JAK+*, a zatem — być może — wymagają innego podejścia terapeutycznego w zakresie włączania terapii cytoredukcyjnej.

Piśmiennictwo

- Moulard O., Mehta J., Fryzek J., Olivares R., Iqbal U., Mesa R.A. Epidemiology of myelofibrosis, essential thrombocythemia, and polycythemia vera in the European Union. *Eur. J. Haematol.* 2014; 92: 289–297.
- Baxter E.J., Scott L.M., Campbell P.J. i wsp. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; 365: 1054–1061.
- James C., Ugo V., Le Couedic J.P. i wsp. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434: 1144–1148.
- Kralovics R., Passamonti F., Buser A.S. i wsp. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 1779–1790.
- Levine R.L., Wadleigh M., Cools J. i wsp. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005; 7: 387–397.
- Scott L.M., Tong W., Levine R.L. i wsp. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356: 459–468.
- Them N.C., Kralovics R. Genetic basis of MPN: beyond JAK2-V617F. *Curr. Hematol. Malig. Rep.* 2013; 8: 299–306.
- Nangalia J., Massie C.E., Baxter E.J. i wsp. Somatic *CALR* mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369: 2391–2405.
- Klampfl T., Gisslinger H., Harutyunyan A.S. i wsp. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369: 2379–2390.
- Michalak M., Groenendyk J., Szabo E., Gold L.I., Opas M. Calreticulin, a multiprocess calcium-buffering chaperone of the endoplasmic reticulum. *Biochem. J.* 2009; 417: 651–666.
- Wang W.A., Groenendyk J., Michalak M. Calreticulin signaling in health and disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2012; 44: 842–846.
- Gold L.I., Eggleton P., Sweetwyne M.T. i wsp. Calreticulin: non-endoplasmic reticulum functions in physiology and disease. *FASEB J.* 2010; 24: 665–683.
- Krysko D.V., Garg A.D., Kaczmarek A., Krysko O., Agostinis P., Vandenabeele P. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* 2012; 12: 860–875.
- Luo B., Lee A.S. The critical roles of endoplasmic reticulum chaperones and unfolded protein response in tumorigenesis and anticancer therapies. *Oncogene* 2013; 32: 805–818.
- Swerdlow S., Campo E., Harris N. i wsp. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press, Lyon 2008.
- Thiele J., Kvasnicka H.M., 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.
- Barbui T., Thiele J., Passamonti F. i wsp. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 3179–3184.
- Barbui T., Thiele J., Carobbio A. Masked polycythemia vera diagnosed according to WHO and BCSH classification. *Am. J. Hematol.* 2014; 89: 199–202.
- Marchioli R., Finazzi G., Landolfi R. i wsp. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 2224–2232.
- Carobbio A., Thiele J., Passamonti F. i wsp. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood* 2011; 117: 5857–5859.
- Bonicelli G., Abdulkarim K., Mounier M. i wsp. Leucocytosis and thrombosis at diagnosis are associated with poor survival in polycythaemia vera: a population-based study of 327 patients. *Br. J. Haematol.* 2013; 160: 251–254.
- Falanga A., Marchetti M. Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2012; 2012: 571–581.
- Barbui T., Finazzi G., Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood* 2013; 122: 2176–2184.
- Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am. J. Hematol.* 2013; 88: 507–516.
- Tefferi A., Rumi E., Finazzi G. i wsp. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia* 2013; 27: 1874–1881.
- Passamonti F., Thiele J., Girodon F. i wsp. A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization-defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2012; 120: 1197–1201.
- Barbui T., Finazzi G., Carobbio A. i wsp. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood* 2012; 120: 5128–5133.
- Campbell P.J., MacLean C., Beer P.A. i wsp. Correlation of blood counts with vascular complications in essential thrombocythemia:

- analysis of the prospective PT1 cohort. *Blood* 2012; 120: 1409–1411.
29. Rumi E., Pietra D., Ferretti V. i wsp. JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. *Blood* 2014; 123: 1544–1551.
 30. Rotunno G., Mannarelli C., Guglielmelli P. i wsp. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in essential thrombocythemia. *Blood* 2014; 123: 1552–1555.
 31. Tefferi A., Wassie E.A., Guglielmelli P. i wsp. Type 1 vs type 2 calreticulin mutations in essential thrombocythemia: a collaborative study of 1027 patients. *Am. J. Hematol.* 2014 Apr 19 [złożone do druku].
 32. Passamonti F. How I treat polycythemia vera. *Blood* 2012; 120: 275–284.
 33. Barbui T., Barosi G., Birgegard G. i wsp. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 761–770.
 34. Marchioli R., Finazzi G., Specchia G. i wsp. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368: 22–33.
 35. Silver R.T. Are all interferons the same for therapy in polycythemia vera? *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2013; 13: 305–306.
 36. Kiladjian J.J., Mesa R.A., Hoffman R. The renaissance of interferon therapy for the treatment of myeloid malignancies. *Blood* 2011; 117: 4706–4715.
 37. Kiladjian J.J., Cassinat B., Chevret S. i wsp. Pegylated interferon- α -2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood* 2008; 112: 3065–3072.
 38. Quintás-Cardama A., Kantarjian H., Manshouri T. i wsp. Pegylated interferon α -2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 5418–5424.
 39. Harrison C.N., Campbell P.J., Buck G. i wsp. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 33–45.
 40. Gisslinger H., Gotic M., Holowiecki J. i wsp. Anagrelide compared to hydroxyurea in WHO-classified essential thrombocythemia: the ANAHYDRET Study, a randomized controlled trial. *Blood* 2013; 121: 1720–1728.
 41. Smalberg J.H., Arends L.R., Valla D.C., Kiladjian J.J., Janssen H.L., Leebeek F.W. Myeloproliferative neoplasms in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a meta-analysis. *Blood* 2012; 120: 4921–4928.
 42. Leebeek F.W., Smalberg J.H., Janssen H.L. Prothrombotic disorders in abdominal vein thrombosis. *Neth. J. Med.* 2012; 70: 400–405.
 43. Sozer S., Fiel M.I., Schiano T., Xu M., Mascarenhas J., Hoffman R. The presence of JAK2V617F mutation in the liver endothelial cells of patients with Budd-Chiari syndrome. *Blood* 2009; 113: 5246–5249.
 44. Hoekstra J., Bresser E.L., Smalberg J.H. i wsp. Long-term follow-up of patients with portal vein thrombosis and myeloproliferative neoplasms. *J. Thromb. Haemost.* 2011; 9: 2208–2214.
 45. Tefferi A., Thiele J., Vannucchi A.M., Barbui T. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2014 Jan 20 [złożone do druku].
 46. Chao M.P., Gotlib J. Two faces of ET: CALR and JAK2. *Blood* 2014; 123: 1438–1440.