

Rozprawa doktorska

Epidemiologia, charakterystyka kliniczna i wyniki leczenia mięsaka granulocytarnego u dzieci.

Lek. Magdalena Samborska.

Promotor: Prof. dr hab. Katarzyna Derwich

Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2021

*Składam serdeczne podziękowania Pani Promotor, Profesor Katarzynie Derwich,
za nieocenioną pomoc i cierpliwość podczas pisania pracy.
Dziękuję Doktorowi Pawłowi Kurzawie i Magister Monice Krzyżaniak
za umożliwienie i realizację badań.*

*Dziękuję najbliższej Rodzinie,
w szczególności mojemu Mężowi Pawłowi,
za ogromne wsparcie.*

Wykaz skrótów	7
1. Wstęp	8
1.1. Wprowadzenie	
1.2. Definicja i charakterystyka ogólna	
1.3. Patogeneza	
1.4. Epidemiologia i charakterystyka kliniczna	
1.4.1. Mięsak granulocytarny towarzyszący AML	
1.4.2. Izolowany MG	
1.4.3. MG jako wznova po allotransplantacji komórek krwiotwórczych	
1.5. Lokalizacja MG	
1.5.1. Zajęcie skóry – leukemia cutis	
1.5.2. Zajęcie oczodołu	
1.6. Trudności w postępowaniu diagnostycznym u pacjenta z podejrzeniem MG	
1.6.1. Analiza immunohistochemiczna	
1.6.2. Badania genetyczne i molekularne	
1.6.3. Metoda mikromacierzy tkankowych	
1.7. Leczenie	
1.7.1. Chemioterapia	
1.7.2. Radioterapia	
1.7.3. Leczenie chirurgiczne	
1.7.4. Allotransplantacja komórek krwiotwórczych	
1.7.5. Nowoczesne metody leczenia	
1.8. Rokowanie	
2. Cele badania	24
3. Materiał i metody	25
3.1. Materiał	
3.2. Metody	
3.2.1 Analiza statystyczna	
3.2.2. Analiza immunohistochemiczna metodą mikromacierzy tkankowej	
3.2.3. Zgoda komisji bioetycznej	
4. Wyniki	38

- 4.1. Charakterystyka kliniczna badanej grupy
 - 4.1.1. Podział MG ze względu na rozpoznanie towarzyszącej choroby rozrostowej w szpiku z uwzględnieniem wieku pacjentów
 - 4.1.2. Podział MG ze względu na obraz kliniczny i relację czasową między wystąpieniem MG, a zajęciem szpiku
 - 4.1.3. Zajęcie ośrodkowego układu nerwowego
 - 4.1.4. Lokalizacja
 - 4.1.5. Objawy
 - 4.1.6. Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania
- 4.2. Narzędzia diagnostyczne wykorzystane w celu rozpoznania MG
 - 4.2.1. Wyniki badań genetycznych w badanej grupie
- 4.3. Leczenie
 - 4.3.1. Schematy chemioterapii
- 4.4. Wyniki leczenia
 - 4.4.1. Całkowite przeżycie (overall survival - OS) w poszczególnych grupach wiekowych
 - 4.4.2. Całkowity czas przeżycia w zależności od postaci klinicznej MG
 - 4.4.3. Wpływ lokalizacji MG na całkowity czas przeżycia
 - 4.4.4. Wpływ translokacji t(8;21)(q22;q22) na całkowity czas przeżycia
 - 4.4.5. Wpływ zastosowanego schematu terapeutycznego na całkowity czas przeżycia
 - 4.4.6. Wpływ allotransplantacji komórek krwiotwórczych na całkowity czas przeżycia (OS)
 - 4.4.7. Wpływ leczenia chirurgicznego na całkowity czas przeżycia (OS)
 - 4.4.8. Wpływ radioterapii na całkowity czas przeżycia (OS)
 - 4.4.9. Czas przeżycia wolny od wznowy (*relapse free survival*) – RFS
 - 4.4.10. Czas przeżycia wolnego od wznowy w grupach wiekowych
 - 4.4.11. Czas przeżycia wolnego od wznowy w zależności od postaci klinicznej MG
 - 4.4.12. Wpływ lokalizacji MG na czas przeżycia wolnego od wznowy
 - 4.4.13. Wpływ translokacji t(8;21)(q22;q22) na czas przeżycia wolny od wznowy (RFS)

- 4.4.14. Wpływ zastosowanego schematu terapeutycznego na czas przeżycia wolny od wznowy (RFS)
- 4.4.15. Wpływ allotransplantacji komórek krwiotwórczych na czas wolny od wznowy (RFS)
- 4.4.16. Wpływ leczenia chirurgicznego na czas przeżycia wolny od wznowy (RFS)
- 4.4.17. Wpływ radioterapii na czas wolny od wznowy (RFS)
- 4.4.18. Czas wolny od zdarzeń – *event free survival* – (EFS)
- 4.4.19. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) w grupach wiekowych
- 4.4.20. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) w zależności od postaci klinicznej MG
- 4.4.21. Wpływ lokalizacji MG na czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS)
- 4.4.22. Wpływ translokacji t(8;21)(q22;q22) na czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS)
- 4.4.23. Wpływ zastosowanego schematu terapeutycznego na czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS)
- 4.4.24. Wpływ allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych na czas wolny od zdarzeń (EFS)
- 4.4.25. Wpływ leczenia chirurgicznego na czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS)
- 4.4.26. Wpływ radioterapii na czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS)
- 4.5. Charakterystyka wznów
- 4.6. Przyczyny zgonu
- 4.7. Występowanie wznowy i zgonu w zależności od wybranych cech klinicznych MG
 - 4.7.1. Wiek pacjenta
 - 4.7.2. Postać kliniczna MG
 - 4.7.3. Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania
 - 4.7.4. Lokalizacja MG
 - 4.7.5. Translokacja t(8;21)(q22;q22)
- 4.8. Analiza immunohistochemiczna metodą mikromacierzy tkankowej (ang. Tissue Microarray)

5. Dyskusja	98
5.1. Charakterystyka kliniczna badanej grupy, a odniesienia w literaturze	
5.2. Wybrane przypadki kliniczne	
5.3. Podsumowanie diagnostycznych aspektów MG u dzieci	
5.4. Analiza immunohistochemiczna metodą mikromacierzy tkankowej	
5.5. Wyniki leczenia oraz analiza wybranych czynników prognostycznych w MG u dzieci	
5.5.1. Zakres wiekowy	
5.5.2. Postać kliniczna MG	
5.5.3. Lokalizacja MG	
5.5.4. Translokacja t(8;21)(q22;q22)	
5.6. Leczenie MG	
5.7. Podsumowanie	
6. Wnioski	116
Piśmiennictwo	118
Streszczenie	131
Summary	134
Spis Rycin	137
Spis Tabel	138
Spis Wykresów	143
Spis Fotografii	146
Dokumentacja fotograficzna	147

Skróty stosowane w pracy

alloHSCT – allotransplantacja komórek krwiotwórczych

AML – ostra białaczka szpikowa

CAR-T cell - ang. chimeric antygen receptors T cells

CML – przewlekła białaczka szpikowa

CMA – ang. chromosomal microarray analysis

CT – ang. computed tomography - tomografia komputerowa

EFS – ang. event free survival- przeżycie wolne od zdarzeń

FISH – ang. fluorescent in situ hybridization - metoda fluorescencyjnej hybrydyzacji

GO – gemtuzumab ozogamicyn

GvL – ang. graft versus leukemia - przeszczep przeciwko białaczce

MDS – zespół mielodysplastyczny

MG – mięsak granulocytarny

MMP-2 – ang. matrix metalloproteinase 2

MMP-9 – ang. matrix metalloproteinase 9

MRI – ang. magnetic resonance imaginag - rezonans magnetyczny

OS – ang. overall survival - całkowite przeżycie

PCR – ang. polymerase chain reaction - metodą łańcuchowej reakcji polimerazy

PET-CT – pozytonowa tomografia emisyjna

PNET – ang. primitive neuroectodermal tumour

RFS – ang. relapse free survival - przeżycie wolne od wznowy

TMA – ang. tissue microarray

OUN – ośrodkowy układ nerwowy

USG – ultrasonografia

1.Wstęp

1.1. Wprowadzenie

Mięsak granulocytarny (MG) to złośliwy guz o lokalizacji pozaszpikowej, złożony z niedojrzałych komórek pochodzenia mieloidalnego. Występuje u pacjentów z ostrą białaczką szpikową (acute myeloid leukemia, AML), zespołem mielodysplastycznym (myelodysplastic syndrome, MDS) lub przewlekłą białaczką szpikową (chronic myeloid leukemia, CML). MS może towarzyszyć rozpoznaniu choroby lub wyprzedzić zajęcie szpiku kostnego o miesiące lub nawet lata; może również stanowić pozaszpikową manifestację wznowy choroby [1, 2] Jest jednostką chorobową o poważnym rokowaniu, różnorodnej symptomatologii i przebiegu klinicznym, będącą wyzwaniem diagnostycznym i terapeutycznym.

1.2. Definicja i charakterystyka ogólna

W klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) z 2008 roku, mięsak granulocytarny zaliczany jest do tzw. „AML-related neoplasms”. Powstaje w wyniku proliferacji komórek z jednej lub kilku linii mieloidalnych, które następnie formują masę guza, zaburzając architekturę otaczających tkanek. Sama obecność patologicznych komórek w lokalizacji pozaszpikowej pozwala rozpoznać jedynie nacieki białaczkowe, natomiast w przypadku MG, mamy do czynienia z guzem pozaszpikowym [3, 4].

Pierwszy raz opisu MG dokonał Burns w 1811 roku, a następnie w 1853 roku King, używając terminu „chloroma”, co wiązało się z charakterystycznym zielonkawym zabarwieniem komórek w obrazie mikroskopowym, wynikającym z obecności mieloperoksydazy (z greckiego „chloros” oznacza zielony) [5, 6]. Inne nazwy spotykane w przeszłości w piśmiennictwie to „granulocytic sarcoma”, „extramedullary myeloid cell tumor” lub „myeloblastoma” [2]. Nazwa „myeloid sarcoma” została zaakceptowana przez WHO w 2002 roku [7].

1.3. Patogeneza

Etiologia MG pozostaje niejasna. Jednym z czynników sprzyjających przetrwaniu blastów w tkankach pozaszpikowych jest obecność naturalnych barier (bariera krew-mózg, krew-jądro), które utrudniają penetrację cytostatyków do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i gonad i stwarzają warunki do przetrwania blastów w obrębie tych tkanek [8]. Wg Stefanidakis i wsp. zwiększona zdolność blastów do migracji do tkanek pozaszpikowych związana jest z tworzeniem kompleksu pomiędzy metaloproteinazą macierzy MMP-9 (matrix metalloproteinase 9), a integryną leukocytów B [9]. Rola białek z grupy metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej została również omówiona w publikacji Feng i wsp. Według autorów, MMP-9 (matrix metalloproteinase 9) oraz MMP-2 (matrix metalloproteinase 2), produkowane przez blasty, zwiększają ich możliwość penetracji przez barierę krew-mózg [10]. Uważa się również, że „kierowanie” się blastów do narządów innych niż szpik może być wynikiem interakcji pomiędzy poszczególnymi chemokinami i ich receptorami. W badaniu Faaij i wsp., porównywano ekspresję receptorów dla cytokin w komórkach białaczkowych u pacjentów z AML bez i z zajęciem skóry [11]. U pacjentów z manifestacją skórną AML, w komórkach białaczkowych stwierdzono zwiększoną ekspresję receptorów dla chemokin, nazwanych CCR-2, a ich zdolność do gromadzenia się w tkance skórnej wiązano z obecnością interakcji między chemokinami i ich receptorami CCR5/CCL3 i CXCR4/CXCL12 [11].

1.4. Epidemiologia i charakterystyka kliniczna

1.4.1. Mięsak granulocytarny towarzyszący AML

MG najczęściej towarzyszy rozpoznaniu AML. Występuje u 2-8% dorosłych pacjentów z AML, u dzieci natomiast towarzyszy nawet 40% przypadków AML [2, 8]. Dane statystyczne dotyczące pacjentów pediatrycznych są jednak ograniczone. W analizie Kobayashi i wsp., spośród 240 pacjentów z AML, u 23,3% stwierdzono wyjściowo pozaszpikowe ogniska choroby, co obejmowało chorych zarówno z MS, jak i zajęciem OUN. Pacjenci z pozaszpikową manifestacją choroby prezentowali wyższą liczbę leukocytów we krwi obwodowej w momencie rozpoznania i częściej rozpoznawano u nich typy M4 i M5 AML [12]. W badaniu przeprowadzonym przez Dusenbery i wsp., z

1832 pacjentów z AML, manifestację pozaszpikową w momencie rozpoznania stwierdzono u 10,9% chorych [13]. Z kolei w analizie Johnston i wsp., MG zdiagnozowano u 99 spośród 1459 analizowanych pacjentów, co stanowi 6,7 % [14].

1.4.2. Izolowany MG

Kiedy w momencie rozpoznania MG nie stwierdza się choroby rozrostowej w szpiku, mówi się o izolowanym MG czyli tzw. *de novo* myeloid sarcoma. Jest to sytuacja niezwykle trudna diagnostycznie i w tej grupie pacjentów najczęściej dochodzi do pomyłek diagnostycznych w trakcie ustalania rozpoznania. U dzieci izolowany MG ogranicza się do przypadków kazuistycznych. Wg danych literaturowych, częstość występowania *de novo* MG wynosi 2/1,000,000 dorosłych i 0,7/1,000,000 dzieci. Nieleczony izolowany MG w 90% ulega progresji do AML, a średni czas od rozpoznania izolowanego MG do zajęcia szpiku wynosi ok. 10,5 -11 miesięcy [15].

1.4.3. MG jako wznowa po allotransplantacji komórek krwiotwórczych

Szczególną sytuacją kliniczną jest wznowa pozaszpikowa MG po allotransplantacji komórek krwiotwórczych (alloHSCT). Częstość występowania wynosi od 5-12% [16]. Czas od alloHSCT do wystąpienia wznowy pozaszpikowej wynosi średnio 13-17 miesięcy, podczas gdy odstęp od alloHSCT do pojawienia się wznowy szpikowej 3-6 miesięcy. Opisano jednak przypadki wystąpienia wznowy pozaszpikowej nawet 5-10 lat po alloHSCT. Czynniki, które najprawdopodobniej zwiększają ryzyko wystąpienia wznowy o lokalizacji pozaszpikowej, obejmują: obecność lokalizacji pozaszpikowej w przebiegu choroby w wywiadzie, AML M4 lub M5 wg klasyfikacji FAB, zaawansowane stadium choroby w momencie transplantacji i czynniki genetyczne „wysokiego ryzyka” takie jak t(8;21), inv(16) i rearanżacja MLL [16, 17, 18, 19].

Wznowa pozaszpikowa występuje częściej u dzieci, co może wynikać z większej częstości występowania białaczek AML M4/M5 oraz częstszego wyjściowego zajęcia narządów pozaszpikowych w tej grupie wiekowej [17,18].

W patogenezie wznowy pozaszpikowej po alloHSCT dyskutowana jest również rola choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (graft versus host disease, GvHD). Uważa się, że zjawisko przeszczep przeciwko białacze (graft versus leukemia, GvL), które towarzyszy GvHD, jest mniej wyrażone w lokalizacjach poza szpikiem kostnym, co jest wynikiem

mniejszej liczby komórek CD8+ w tkankach pozaszpikowych i może predysponować te miejsca do wystąpienia wznowy [16, 17]. W analizie Solh i wsp., spośród 436 pacjentów z rozpoznaniem AML, których leczenie obejmowało wykonanie alloHSCT, u 128 doszło do wystąpienia wznowy, z czego u 25 chorych była to wznova pozaszpikowa. W grupie tej częściej obserwowano ostre GvHD (77% versus 49%) lub przewlekłe GvHD (46% versus 15%), niż w grupie chorych z izolowaną wznową szpikową [16].

Zagadnienie wznowy pozaszpikowej po alloHSCT jest nie do końca poznane, a dane co do częstości występowania mogą być niedoszacowane. Brakuje dużych analiz, zwłaszcza dotyczących pacjentów pediatrycznych. Wiadomo, że ogniska pozaszpikowe wznowy pozostają nierozpoznane tak długo, aż nie staną się objawowe. Jednocześnie, długość przeżycia pacjentów po alloHSCT ulega wydłużeniu z uwagi na poprawę opieki okołotransplantacyjnej, co w rezultacie może skutkować częstszym obserwowaniem wznów, w tym pozaszpikowych.

1.5. Lokalizacja MG

Mięsak granulocytarny może być zlokalizowany w każdym narządzie, poza szpikiem kostnym. Najczęściej zajmowane tkanki, to: kość, okostna, tkanki miękkie, skóra, oczodoł, węzły chłonne, przewód pokarmowy i ośrodkowy układ nerwowy. U dzieci najczęściej opisywane lokalizacje MG to skóra i oczodoł [2, 8, 20].

W największej analizie Movasagghian i wsp., która objęła 345 chorych z izolowanym MS w wieku 15 lub więcej lat, najczęstszą lokalizacją były tkanki miękkie, następnie kolejno węzły chłonne i okolica głowy, i szyi. Autorzy analizowali również zależność płci i wieku od lokalizacji guza. U pacjentów w wieku 50 - 58 lat częściej zajmowane były: przewód pokarmowy, narządy miednicy, kości, oczodoły, gonady oraz narządy klatki piersiowej, natomiast tkanki miękkie, głowa i szyja, skóra i ośrodkowy układ nerwowy były częstszymi lokalizacjami dla starszej grupy wiekowej (64– 74 lata). U kobiet częstsze było zajęcie przewodu pokarmowego, narządów miednicy i ośrodkowego układu nerwowego [21].

1.5.1. Zajęcie skóry – leukemia cutis

Zajęcie skóry najczęściej występuje u pacjentów z rozpoznaniem AML, może jednak również pojawić się w przebiegu CML lub MDS. Tak jak inne postacie MG, może wystąpić równocześnie z zajęciem szpiku, w przebiegu choroby lub w rzadkich przypadkach wyprzedzić zajęcie szpiku. U chorych z rozpoznaniem AML, najczęściej wiąże się z fenotypem mielomono- lub monocytarnym białaczki [20, 22, 23]. Częstość występowania wynosi 10-15% pacjentów z AML, natomiast we wrodzonej ostrej białaczce szpikowej leukemia cutis dotyczy aż 25-30% niemowląt i ma obraz kliniczny tzw. „blueberry muffin infant” [22, 23]. Zmiany mają charakter rumieniowych grudek lub guzków różnej wielkości, czasem o sinym zabarwieniu. Najczęściej zlokalizowane są na skórze tułowia, kończyn górnych i dolnych, głowy oraz szyi. Ogniska choroby częściej zajmują okolice skóry objęte stanem zapalnym [8, 21, 22, 23, 24]. Wykwity mogą być mylnie rozpoznane jako osutki wirusowe, łuszczycy, łojotokowe zapalenie skóry lub bielactwo [8, 22]. U chorych z już rozpoznaną chorobą nowotworową, różnicowanie powinno również obejmować zespół Sweet’a, w którym zmianom skórnym towarzyszy gorączka i neutrofilia, i który może towarzyszyć chorobom nowotworowym u dzieci [23]. Niespecyficzne zmiany skórne u pacjenta z białaczką mogą być również wynikiem reakcji toksycznej na leki, w tym chemioterapię, powstać na skutek oportunistycznych infekcji wirusowych lub grzybiczych; mylące mogą okazać się również wybroczyny u pacjenta z małopłytkowością oraz zmiany interpretowane jako obraz zapalenia naczyń (vasculitis) [22]. Powyższy wachlarz możliwych rozpoznań sprawia, że skórna manifestacja białaczki bywa szczególnie łatwa do przeoczenia, zwłaszcza jeśli zmiany są subtelne. Ostateczne rozpoznanie umożliwia jedynie biopsja i ocena immunohistochemiczna, co szczegółowo omówiono w rozdziale dotyczącym diagnostyki MG [24].

1.5.2. Zajęcie oczodołu

Oczodół stanowi drugą najczęstszą lokalizację MG u dzieci. Lokalizacja oczodołowa występuje najczęściej u pacjentów z AML o fenotypie M2, M4 i M5 [8]. Do objawów należy przede wszystkim jednostronny wytrzeszcz gałki ocznej, mogą wystąpić również: opadanie powieki, zajęcie gruczołu łzowego, zmiany w obrębie spojówki, zajęcie tętnówki lub krwotoki siatkówkowe [25,26]. Powyższe objawy nie są charakterystyczne wyłącznie dla MG – dotyczą wszelkiego rodzaju guzów o tej lokalizacji. Diagnostyka różnicowa

guzów oczodołu u dzieci obejmuje przed wszystkim inne guzy łe, takie jak: mięśniakomięsak prążkowanokomórkowy, nerwiak zarodkowy i chłoniak Burkitta. Do rzadszych rozpoznań w tej lokalizacji należą: glejak nerwu wzrokowego, nerwiakowłókniak splotowaty lub zmiany w przebiegu histiocytozy z komórek Langerhansa [27]. Do niezbędnych narzędzi diagnostycznych należą badania obrazowe – tomografia komputerowa – CT, oraz rezonans magnetyczny – MR. Oprócz określenia wstępnego zaawansowania procesu chorobowego, badania te służą do oceny odpowiedzi na leczenie oraz planowania ewentualnej radioterapii.

Obraz radiologiczny nie jest jednak charakterystyczny tylko dla MG – badania uwidaczniają masę guza o nieregularnych kształtach, która najczęściej niszczy otaczające tkanki kostne i wykazuje jednorodne wzmocnienie po podaniu kontrastu. Dopiero biopsja guza lub stwierdzenie obecności blastów w szpiku kostnym, umożliwia ostateczne rozpoznanie [28].

Coraz popularniejszą metodą obrazowania oczodołu jest ultrasonografia (USG) – pozwala ona na uwidocznienie w czasie rzeczywistym unaczynienia guza oraz jego relacji z mięśniami okoruchowymi i gałką oczną. Pod kontrolą USG z powodzeniem można wykonać również biopsję cienkoigłową guza - brakuje jednak doświadczeń czy pobrany materiał byłby wystarczający do rozpoznania MG [29].

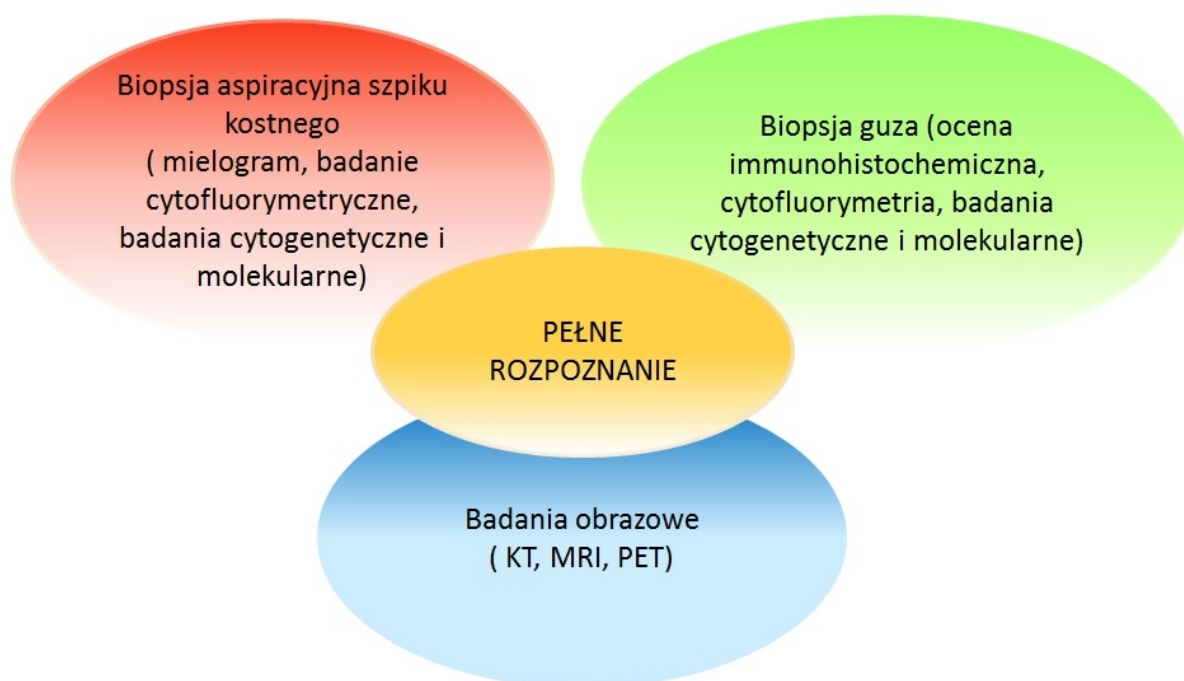
1.6. Trudności w postępowaniu diagnostycznym u pacjenta z podejrzeniem MG

W skład postępowania diagnostycznego u pacjenta z podejrzeniem MG wchodzi kilka elementów, które dopiero wspólnie tworzą całość i pozwalają na ustalenie pełnego rozpoznania. Z jednej strony należy dążyć do pełnej diagnostyki obrazowej guza, a następnie do zidentyfikowania charakteru zmiany. W tym celu kluczowe będą badania obrazowe takie jak ultrasonografia USG, KT i MRI, a następnie biopsja guza i analiza immunohistochemiczna. Jeśli to możliwe, powinna to być biopsja tkankowa, a nie cienkoigłowa. Oprócz analizy immunohistochemicznej, wskazane jest również wykonanie cytofluorymetrii przepływowej, badania cytogenetycznego oraz molekularnego pobranego materiału.

Z drugiej strony kluczowa będzie również cytofluorymetria przepływowa oraz badania cytogenetyczne i molekularne szpiku kostnego i nierzadko to właśnie badanie szpiku staje się podstawą do ustalenia rozpoznania [20, 30].

Pojawia się coraz więcej doniesień o wykorzystaniu pozytonowej emisyjnej tomografii komputerowej (PET-CT) w diagnostyce MG. Stolzel i wsp. wykonali badanie F-FDG PET/CT u 10 pacjentów z MS w przebiegu AML; badanie to potwierdziło obecność znanych już ognisk choroby u 9 pacjentów, u 6 ujawniło dodatkowe zmiany [31]. Użyteczność badania PET-CT potwierdzają też inne doniesienia [32, 33]. Badanie to może nie tylko umożliwić zobrazowanie zmian niewykrywalnych przez inne narzędzia diagnostyczne, ale również służyć do monitorowania odpowiedzi na leczenie [8].

Schemat postępowania diagnostycznego u pacjenta z podejrzeniem MG przedstawia Rycina 1.



Rycina 1. Schemat postępowania diagnostycznego u pacjenta z podejrzeniem MG.

1.6.1. Analiza immunohistochemiczna

Histologicznie mięsak granulocytarny to guz złożony z niedojrzałych granulocytów, monocytów lub obu typów komórek. Na podstawie cech cytomorfologicznych i stopnia

dojrzałości komórek spośród MG można wyróżnić następujące typy: niedojrzały mięsak granulocytarny, zróżnicowany mięsak granulocytarny, mięsak monoblastyczny, monocytarny i mielomonocytarny [2]. Podział ten jednak nie ma odzwierciedlenia w cechach klinicznych choroby, przez co nie ma praktycznego znaczenia.

Kluczową rolę w praktyce klinicznej odgrywa natomiast analiza immunohistochemiczna. Jej znaczącą wadą jest jednak brak ustalonego panelu przeciwciał, co może przysparzać wiele wątpliwości i prowadzić do pomyłek diagnostycznych. Według danych w literaturze, najczęściej MG bywa mylnie rozpoznawany jako chłoniak nieziarniczny [2, 20].

W analizie Menasce i wsp., spośród 26 przypadków MG, aż u 15 pierwotnie mylnie rozpoznano chłoniaka z komórek B [34]. Według Pileri i wsp., z 25 przypadków izolowanego MG, u 10 pierwotnie rozpoznano różnego typu chłoniaki. Właśnie dalsza analiza immunohistochemiczna umożliwiła w tych przypadkach właściwe rozpoznanie ostateczne [35].

Podstawą precyzyjnej diagnostyki jest dobranie takiego panelu przeciwciał, by jak najszybciej umożliwić właściwe rozpoznanie i w konsekwencji wdrożenie odpowiedniego leczenia.

Większość autorów zgadza się, że minimalny panel immunohistochemiczny powinien zawierać lizozym i anty CD43. Są to markery obecne w 75-100% przypadków MG. Markery te nie są jednak specyficzne dla MG, więc na ich podstawie nie można jednoznacznie ustalić rozpoznania [20, 36, 37, 38, 39].

W zależności od przewagi utkania mieloidalnego lub monocytarnego w tkance guza, uzupełnieniem są markery mieloidalne: MPO, CD68/KP1, CD117 oraz charakterystyczne dla różnicowania monocytarnego: CD68, CD163, i CD56 [38].

Skórną postać mięsaka granulocytarnego („leukemia cutis”) charakteryzuje zwykle utkanie z przewagą monocytów, tak więc reakcja dla MPO i CD117 jest wówczas ujemna. Komórki mogą mieć natomiast fenotyp CD56(+), przez co skórna postać MS wymaga różnicowania z chłoniakiem z komórek NK (inaczej BPDCN, nowotwór z blastycznych plazmocytoidnych komórek dendrytycznych) [20].

Mylne rozpoznanie chłoniaków nieziarnicznych wynika z faktu, iż komórki MG często wykazują ekspresję antygenów charakterystycznych dla limfocytów T i B. Antygeny LCA, CD43, a także w rzadkich przypadkach CD7 mogą wykazywać dodatnią ekspresję w MG, sugerując mylne rozpoznanie chłoniaka T-komórkowego. Dodatnia reakcja z MPO i CD68

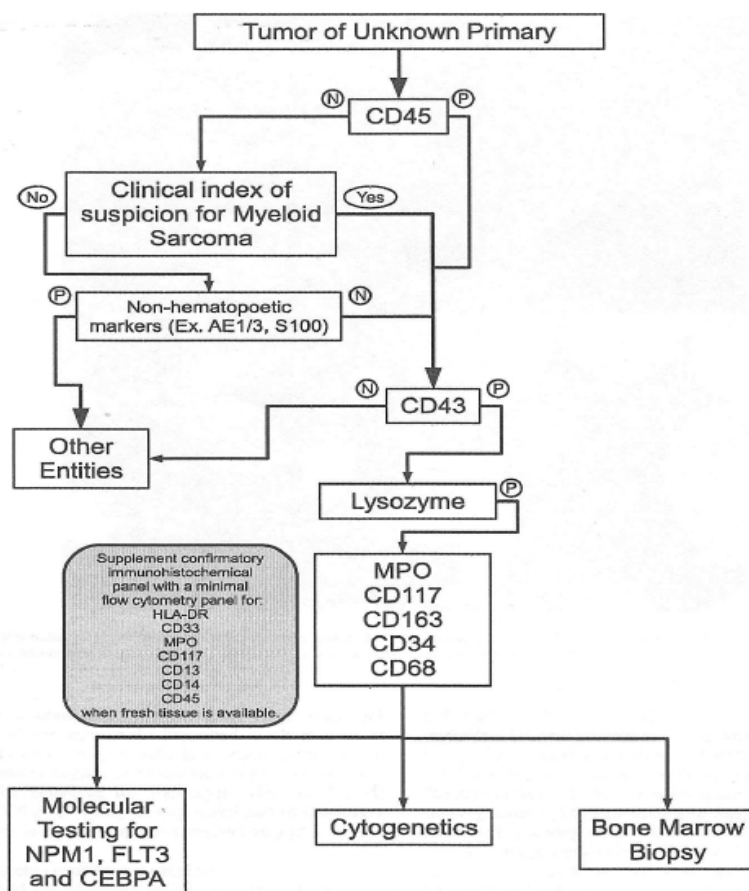
powinna wówczas pomóc zweryfikować diagnozę. Antygeny CD20 i CD79a, charakterystyczne dla linii B-komórkowej, również mogą być dodatnie w MG [38, 39].

Diagnostyka różnicowa powinna objąć również takie guzy jak: czerniak złośliwy, guzy neuroendokrynne, mięsak Ewinga, mięśniakomięsak prążkowanokomórkowy, PNET (primitive neuroectodermal tumour), guzy zarodkowe [39]. Markery immunohistochemiczne istotne w diagnostyce MG zebrano w Tabeli 1.

Tabela 1. Markery immunohistochemiczne istotne w diagnostyce MG.

	Markery immunohistochemiczne
Podstawowe	CD43, lizozym, MPO, CD68, CD117, CD163, CD45, CD34
Pomocne w diagnostyce różnicowej	S100 (melanoma) NSE (neuroblastoma) CD99 (sarcoma Ewing) CD56, cytokeratyna, synaptofizyna, chromogranina (guzy neuroendokrynne), CD20, CD79a (chłoniak z komórek B), CD3, CD4, CD56, CD7 (chłoniak T-komórkowy)

Podsumowaniem powyższych rozważań wydaje się algorytm diagnostyczny, jaki zaproponował Seifert i wsp. [39]. U pacjenta z guzem nieznanego pochodzenia, u którego podejrzewa się MG, autorzy proponują ścieżkę diagnostyczną obejmującą wykonanie panelu przeciwciał: CD45, CD43, lizozym, MPO, CD117, CD34, CD68 (Rycina 2). Oczywiście w przypadku podejrzenia guza o innej etiologii, panel ten wymagałby poszerzenia. Bardzo wskazanym uzupełnieniem diagnostyki jest pobranie materiału z guza w celu badań genetycznych. Ostateczne rozpoznanie wymaga każdorazowo uzupełnienia diagnostyki o biopsję szpiku z badaniami cytogenetycznymi i molekularnymi zabezpieczonego materiału.



Rycina 2. Schemat przedstawiający algorytm diagnostyczny do zastosowania u pacjenta z podejrzeniem MG. Rycina na podstawie *Ann Diagn Pathol.* 2014;18(4):253-60 w modyfikacji własnej.

1.6.2. Badania genetyczne i molekularne

Z uwagi na fakt, iż MG najczęściej współwystępuje z AML, zaburzenia genetyczne charakterystyczne dla tego rozpoznania pokrywają się z tymi, które spotyka się u pacjentów z AML. Wiadomo jednak, iż nieprawidłowości genetyczne w AML są różnie prezentowane w poszczególnych grupach wiekowych pacjentów. Creutzig i wsp. przeprowadzili dużą analizę pacjentów z AML z różnych grup wiekowych, z której wynika, iż czynniki korzystne prognostycznie, takie jak $t(8;21)$, $inv(16)/t(16;16)$ i $t(15;17)$, są najczęstsze w grupie pacjentów od 2 do 18 roku życia. Niekorzystne nieprawidłowości

genetyczne (-7/del(7), -5/del(5q) lub 5p, inv(3)/t(3,3), t(6;9), „complex karyotype”, 12p, 17p i 11q23/MLL z wyjątkiem t(9;11)) osiągają najwyższy odsetek w grupie dzieci poniżej drugiego roku życia; następnie ponownie ich częstość występowania wzrasta w grupie starszych pacjentów (powyżej 85 roku życia) [40].

Dane na temat zaburzeń genetycznych spotykanych u pacjentów z MG są dość ograniczone. Istnieje niewiele badań o reprezentatywnej liczebności, które mogłyby odzwierciedlić przedstawiony przez Creutzig i wsp. rozkład wiekowy. Zdaniem większości badaczy, najczęściej stwierdzane aberracje chromosomowe w MG obejmują: t(8;21), inv(16) i trisomię 8 [24, 39, 41]. U niemowląt lokalizacja pozaszpikowa wiązana jest z mutacją 11q23 powodującą rearanżację genu MLL [26].

W analizie Pileri i wsp. dotyczącej 92 pacjentów z MG powyżej 16 roku życia, aberracje chromosomowe wystąpiły u 54% badanych, co współgra z faktem, iż aberracje chromosomowe generalnie występują u 40- 60% dorosłych z AML. W przeprowadzonej analizie najczęstszą aberracją chromosomową była monosomia 7 (10,8%), następnie trisomia 8 (10,4%) i rearanżacja MLL (8,5%), podczas gdy translokacja t(8;21) wystąpiła tylko u 2,2% [35]. Z kolei w badaniu przeprowadzonym przez Alexiev i wsp. (pacjenci powyżej 25 roku życia), najczęściej występowała translokacja t(8;21)(p22,q22), a na drugim miejscu inwersja chromosomu 16 [36]. W analizie Kobayashi i wsp. dotyczącej grupy pediatrycznej z wyjściowo obecną manifestacją pozaszpikową AML, najczęściej stwierdzaną mutacją była inv(16) oraz zaburzenia genu 11q23 [12].

Dane literaturowe są natomiast spójne co do związku poszczególnych mutacji z niektórymi lokalizacjami MS. Translokacja t(8;21)(p22,q22), AML1-ETO, jest charakterystyczna dla lokalizacji oczodołowej guza i częściej występuje u dzieci. Trisomia chromosomu 8 jest częstsza u pacjentów z manifestacją skórną MG, natomiast inwersja chromosomu 16 u chorych z lokalizacją wewnątrzbrzuszną guza [8, 14, 24, 42, 43].

Niewiele danych istnieje w literaturze na temat zaburzeń molekularnych w MG.

Fallini i wsp. wykazali retrospektywnie obecność mutacji NPM1 u 15% pacjentów z MG, wykorzystując bloczki parafinowe i przeciwciała anty-NPM1 [44]. Mutacja NPM1 (mutacja genu nukleofozminy 1) występuje u 50-60% dorosłych pacjentów z AML i w przypadku, gdy nie współistnieje z FLT3-ITD (*ITD – internal tandem duplication*), wiąże się z korzystnym rokowaniem [45]. Choć do końca nie wiadomo, jakie znaczenie prognostyczne ma mutacja NPM1 u pacjentów z MG, Fallini i wsp. sugerują, iż

przeciwciała anty-NPM1 powinno wchodzić w skład panelu diagnostycznego w badaniu immunohistochemicznym [44].

Ciekawą propozycję badawczą przedstawili Kamran Mirza i wsp., którzy do wykrycia nieprawidłowości genetycznych zastosowali metodę „chromosomal microarray analysis” - CMA, wykorzystując wycinki parafinowe z biopsji guza od 6 pacjentów z rozpoznaną izolowaną postacią MG. Zaletą takiej techniki jest możliwość analizy genetycznej preparatów, pomimo braku świeżego materiału z biopsji, który byłby konieczny do wykonania badań z zastosowaniem techniki FISH. Co więcej, w obliczu faktu, iż tak naprawdę nie wiadomo w jakim stopniu nieprawidłowości genetyczne w blastach obecnych w szpiku kostnym są zgodne z tymi, które napotkać można w komórkach guza, taka metoda umożliwiłaby odpowiedź na pytanie, jakie pochodzenie mają komórki w MS i prześledzenie zjawiska ewolucji klonalnej u pacjentów z AML z lokalizacją pozaszpikową [46].

1.6.3. Metoda mikromacierzy tkankowych

Metoda mikromacierzy tkankowych (ang. *tissue microarray*, TMA) jest coraz bardziej uznaną metodą oceny immunohistochemicznej w onkologii. Pierwszy raz została opisana przez Kononena i wsp. w 1998 roku [47]. Przygotowanie do badania metodą mikromacierzy polega na odpowiedniej selekcji wybranych fragmentów z bloków parafinowych (tzw. blok-biorca), a następnie konstrukcji tzw. bloku-dawcy. Może on zawierać tkanki nawet kilkuset wybranych przez badającego nowotworów, umożliwiając łatwiejsze zaobserwowanie i porównywanie między nimi reakcji immunohistochemicznych. Dzięki tym właściwościom metoda TMA stanowi cenne narzędzie badawcze w onkologii [48, 49]. TMA przyspiesza ocenę immunohistochemiczną i zmniejsza zużycie odczynników. Przede wszystkim jednak metoda mikromacierzy umożliwia oceniającemu zaobserwowanie reakcji z wieloma przeciwciałami w tym samym fragmencie guza, co w konsekwencji znacznie poprawia jakość i precyzję badania [48].

Dzięki zastosowaniu TMA w 2011 roku udało się wytypować trzy antygeny charakterystyczne dla MG. Benet i wsp. wykorzystali tę metodę do oceny reakcji immunohistochemicznych w kierunku 12 antygenów w materiale zgromadzonym z biopsji skóry od 173 pacjentów z rozpoznaniem „leukemia cutis”. MG skórny rozwinął

się u tych chorych na tle różnych nowotworów mieloproliferacyjnych. Autorzy wykazali obecność CD68, CD33 i MPO w 100% preparatów [50].

1.7. Leczenie

1.7.1. Chemioterapia

Według przyjętych standardów leczenie MG powinno być oparte na protokołach leczniczych dla AML. Dotyczy to również izolowanej postaci MG, gdyż wiadomo, iż prawie zawsze postać ta ulegnie progresji do choroby systemowej z zajęciem szpiku [7, 24]. Przewagę leczenia systemowego chorych z izolowaną postacią MG nad leczeniem miejscowym obejmującym wyłącznie zabieg chirurgiczny lub radioterapię przedstawiano w kilku kolejnych doniesieniach, uzyskując znacząco lepsze wyniki w grupach pacjentów leczonych systemową polichemioterapią [8, 51, 52].

1.7.2. Radioterapia

Wg Bakst i wsp. radioterapia może być korzystna jako element konsolidacji leczenia w przypadku niewystarczającej odpowiedzi na chemioterapię. W szczególności jednak jest zarezerwowana jako leczenie paliatywne, służące zmniejszeniu rozmiarów guza i dolegliwości bólowych [24].

Chen WY i wsp. przeanalizowali wpływ radioterapii na wyniki leczenia u 20 pacjentów z MG. U 19 spośród 20 chorych zaobserwowano ulgę w dolegliwościach w trakcie lub po prowadzonych naświetlaniach. Osiągnięto również lepsze wyniki leczenia, głównie u chorych w wieku poniżej 50 roku życia i u tych, u których zastosowano wcześniej alloHSCT. W większości byli to chorzy z izolowaną wznową pozaszpikową lub mieszaną, być może więc radioterapia stanowi dobre uzupełnienie leczenia dla tej grupy pacjentów [53].

1.7.3. Leczenie chirurgiczne

Chirurgiczna biopsja guza jest niezbędna do ustalenia rozpoznania u pacjentów bez zajęcia szpiku kostnego. Leczenie chirurgiczne, które ma na celu zmniejszenie masy guza,

jest przewidziane dla pacjentów, u których guz z uwagi na swoją lokalizację prowadzi do powikłań w postaci ucisku innych narządów lub silnych dolegliwości bólowych [24].

1.7.4. *Allotransplantacja komórek krwiotwórczych*

Najbardziej nurtującym zagadnieniem w terapii MG, jest aktualnie rola allotransplantacji komórek krwiotwórczych. Coraz więcej doniesień potwierdza fakt, iż alloHSCT jako element leczenia u pacjentów z MG, znacząco poprawia wyniki leczenia [35, 46, 54].

Problemem szeroko dyskutowanym jest fakt, czy alloHSCT powinna być metodą z wyboru zarówno u pacjentów z MG z towarzyszącym zajęciem szpiku, jak i u chorych z izolowaną postacią MG. W analizie Chevalier i wsp. wyniki leczenia dorosłych pacjentów z izolowaną postacią MG, jak i z towarzyszącym zajęciem szpiku, poddanych alloHSCT, były porównywalne. Autorzy sugerują zatem, że grupa *de novo* MG również odnosi korzyści z takiej terapii [55].

Sporym dylematem terapeutycznym jest grupa pacjentów, u których doszło do izolowanej wznowy pozaszpikowej po alloHSCT, czy wręcz chorzy z nawrotową, pozaszpikową i systemową postacią choroby. Pacjentów tych należy traktować indywidualnie w zależności od już wykorzystanych metod leczenia i dotychczasowej jego tolerancji. Rozważyć należy chemioterapię w skojarzeniu z następową radioterapią, infuzję limfocytów dawcy lub kolejny zabieg alloHSCT. Jak podaje Clark i wsp., infuzja limfocytów dawcy odnosi niestety niewielki skutek terapeutyczny w lokalizacjach pozaszpikowych, a jeśli nawet udaje się osiągnąć remisję, zwykle szybko dochodzi do nawrotu choroby. Również druga alloHSCT nie wydaje się być efektywną formą terapii [18]. Wydaje się, że w tej grupie chorych nadzieję na poprawę wyników leczenia można wiązać z bardziej nowoczesnymi formami terapii opornej AML.

1.7.5. *Nowoczesne metody leczenia*

Duże nadzieje związane są z zastosowaniem preparatu gemtuzumab ozogamicyn (GO). Jest to przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko antygenowi CD33. U pacjenta poddanego wcześniej alloHSCT, u którego doszło do rozwoju wznowy, w tym pozaszpikowej, działanie leku ma na celu intensyfikację efektu „przeszczep przeciwko białaczce” (GvL, *graft versus leukemia*), poprzez selektywne działanie na blasty i komórki guza, bez oddziaływania na kluczowe w efekcie GvL limfocyty T dawcy [56]. W toku są

również obiecujące badania nad użyciem GO, jako uzupełnienia intensywnej chemioterapii w celu zredukowania ryzyka wznowy [57].

Pośród nowoczesnych metod leczenia, wymienia się również takie leki jak: bortezomib- inhibitor proteasomu, sorafenib- inhibitor licznych kinaz, który wykazuje aktywność u pacjentów z AML obciążonych mutacją FLT3 ITD, inhibitory FLT3 takie jak lestaurtinib, midostaurin, quizartinib, crenolanib oraz ruxolitinib- inhibitor kinazy JAK1 i JAK2 [57]. Analizy dotyczące stosowania tych leków dotyczą głównie pacjentów z oporną postacią AML, zatem ich rola w leczeniu pacjentów z MG wymaga dalszych badań.

1.8. Rokowanie

Obecność pozaszpikowej manifestacji choroby rozrostowej była zwykle wiązana z poważnym rokowaniem. Obecne podejście terapeutyczne, obejmujące stosowanie intensywnej chemioterapii również dla izolowanych guzów MG, jak również włączenie do metod terapeutycznych alloHSCT, pozwoliło uzyskać lepsze wyniki leczenia i zmieniło spojrzenie na rokowanie u tych pacjentów. Z uwagi na fakt, iż brakuje dużych analiz dotyczących pacjentów pediatrycznych, dane na temat rokowania MG u dzieci są jednak ograniczone.

W analizie Kobayashi i wsp. dotyczącej dzieci, całkowite przeżycie pacjentów z AML z obecną lokalizacją pozaszpikową wynosiło 77,3% (grupa ta obejmowała również chorych z zajęciem OUN) i nie różniło się znacząco od wyników leczenia pacjentów z AML bez współwystępującego MG [12].

Z kolei Johnston i wsp. wykazali lepsze wyniki u pacjentów z MG zlokalizowanym w oczodole i w ośrodkowym układzie nerwowym, niż u pacjentów z MG o innej lokalizacji, lub pacjentów z AML bez lokalizacji pozaszpikowej. Całkowite przeżycie u pacjentów z MG zlokalizowanym w oczodole wynosiło aż 92% [14].

Wyniki leczenia pacjentów dorosłych są z pewnością gorsze niż u dzieci i nie można ich odnosić do populacji pediatrycznej. Co ciekawe, w niektórych doniesieniach wykazano, iż wyniki leczenia pacjentów z izolowaną postacią MG bez zajęcia szpiku, są lepsze, niż pacjentów z AML czy też pacjentów z MG towarzyszącym AML [21, 51].

W analizie Movassaghian i wsp. trzyletnie przeżycie całkowite (overall survival, OS) w grupie z izolowanym MG i w grupie z AML bez manifestacji pozaszpikowej wynosiło

odpowiednio 31,9 % i 17,2 %. Autorzy przeanalizowali również zależność lokalizacji guza i wyników leczenia, wykazując iż lepsze wyniki uzyskali pacjenci z guzem zlokalizowanym w przewodzie pokarmowym, miednicy, gonadach i oczodole, niż w tkankach miękkich, węzłach chłonnych i w ośrodkowym układzie nerwowym [21].

Tsimberidou i wsp. porównali wyniki leczenia u pacjentów z izolowanym MG i pacjentów z MG towarzyszącym AML. Lepsze wyniki uzyskała grupa pacjentów z izolowanym MG (OS 43 % versus 29%) [51].

Z kolei Goyal i wsp. przeanalizowali wpływ obecności lokalizacji pozaszpikowej na wyniki leczenia pacjentów poddanych alloHSCT, wykazując iż obecność lokalizacji pozaszpikowej przed alloHSCT nie jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym [58].

W przeciwieństwie do lokalizacji w oczodole, postać skórna MG („leukemia cutis”) wiąże się z agresywnym przebiegiem choroby i złym rokowaniem [38, 8, 59]. Nie dotyczy to wrodzonej postaci „leukemia cutis”, która nie jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym we wrodzonej białaczce szpikowej, choć z drugiej strony u noworodków intensywne leczenie chemioterapią jest istotnie częściej obarczone śmiertelnymi powikłaniami [60].

2. Założenia i cele badania

Mięsak granulocytarny (MG) jest rzadką jednostką chorobową, która stanowi ogromne wyzwanie diagnostyczne, a decyzje terapeutyczne nierzadko wzbudzają kontrowersje. Niejasne pozostaje również, jaki jest wpływ manifestacji pozaszpikowej u pacjenta na wyniki leczenia choroby. Szczególnie skąpe są dane na temat MG u dzieci. Niniejsza praca stanowi pierwsze podsumowanie doświadczeń na temat MG u dzieci w Polsce. Jest ona zarazem próbą wstępu do stworzenia wytycznych – zarówno diagnostycznych jak i terapeutycznych.

Cele badania:

- 2.1** Charakterystyka kliniczna dzieci z rozpoznaniem mięsaka granulocytarnego w Polsce.
- 2.2** Analiza metod diagnostycznych oraz stosowanego leczenia u dzieci z rozpoznaniem mięsaka granulocytarnego w Polsce.
- 2.3** Ocena wyników leczenia pacjentów pediatrycznych z rozpoznaniem mięsaka granulocytarnego (overall survival/OS/, relapse free survival /RFS/ oraz event free survival /EFS/).
- 2.4** Określenie czynników determinujących wyniki leczenia mięsaka granulocytarnego u dzieci.
- 2.5** Analiza immunohistochemiczna wybranych preparatów metodą mikromacierzy tkankowej.

3. Materiał i metody

3.1 Materiał

Grupe badaną stanowiło 43 pacjentów z rozpoznaniem mięsaka granulocytarnego (MG) hospitalizowanych w dziecięcych ośrodkach onkologii i hematologii dziecięcej w Polsce w latach 1998-2019. Zgłoszeni pacjenci pochodzą z 12 ośrodków onkologii i hematologii dziecięcej w Polsce – nazwy ośrodków oraz liczbę pacjentów z danego ośrodka przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Ośrodki onkologii i hematologii dziecięcej, które wzięły udział w badaniu oraz liczba chorych z danego ośrodka.

Nazwa ośrodka	Liczba zgłoszonych chorych
Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu	8
Klinika Pediatrii, Onkologii i Hematologii, Szpital Kliniczny im. dr Antoniego Jurasza w Bydgoszczy	5
Klinika Pediatrii, Hemato-onkologii i Gastroenterologii dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Szczecinie	1
Klinika Pediatrii, Onkologii i Hematologii Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego im. L. Zamenhofs w Białymstoku	1
Ponadregionalne Centrum Onkologii Dziecięcej „Przylądek Nadziei” we Wrocławiu	3

Oddział Onkologii i Hematologii Dziecięcej w Szpitalu Uniwersyteckim w Krakowie	12
Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Samodzielny Publiczny Dziecięcy Szpital Kliniczny w Warszawie	3
Klinika Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne w Gdańsku	3
Klinika Onkologii, Hematologii i Chemioterapii, Górnośląskie Centrum Zdrowia Dziecka im. Jana Pawła II w Katowicach	3
Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Dziecięcej w Zabrze, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 im. prof. S. Szyszko Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach	1
Oddział Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Wojewódzki Szpital Zespolony w Kielcach	2
Oddział Kliniczny Onkologii i Hematologii Dziecięcej w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym w Olsztynie	1
łącznie	43

Kryteria włączenia do grupy obejmowały:

- 1) Wiek od 0 do 19 roku życia
- 2) Rozpoznanie MG na podstawie:
 - badania histopatologicznego i immunohistochemii – dotyczy pacjentów, którzy mieli wykonaną biopsję guza

-obrazu klinicznego choroby – dotyczy pacjentów z obecnym guzem o lokalizacji pozaszpikowej i jednoczesnym rozpoznaniem w szpiku kostnym choroby rozrostowej (AML, MDS lub CML)

Chorzy byli zakwalifikowani do analizy niezależnie od przebiegu choroby.

Dane socjologiczne grupy przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Charakterystyka liczebności, płci i wieku grupy badanej.

	N	Średnia wieku	Mediana	Minimum	Maksimum
Ogółem	43	8,81	10,00	0,05	19,00
Chłopcy	25 (58,13%)	10,23	14,00	0,05	19,00
Dziewczęta	18 (41,86%)	6,84	2,70	0,10	17,60

Dla celów badawczych chorych podzielono na dwie grupy wiekowe: zakres wieku poniżej 10 lat i powyżej lub równy 10 lat. Rozkład powyższego podziału przedstawia Tabela 4.

Tabela 4. Rozkład wiekowy grupy badanej.

Płeć	wiek <10	wiek ≥10	łącznie
M	10	15	25
F	11	7	18
Ogółem	21	22	43

3.2 Metody

Sporządzono bazę w Programie Excel, w której zebrano cechy kliniczne oraz dane dotyczące sposobu i wyników leczenia. Następnie przeprowadzono analizę statystyczną zgromadzonych danych.

3.2.1 Analiza statystyczna

Zmienne jakościowe przedstawiono za pomocą liczebności (N) oraz odsetka (%). Do porównań w tabelach dwudzielczych wykorzystano test χ^2 lub dokładny test Fishera. Do porównań w tabelach wielodzielczych wykorzystano test χ^2 .

Zmienne ilościowe przedstawiono za pomocą średniej oraz odchylenia standardowego (SD) a także wartości minimalnej i maksymalnej oraz mediany. Przy pomocy testu Shapiro-Wilka sprawdzono zgodność ich rozkładu z rozkładem normalnym. Dla większości zmiennych test ten nie potwierdził zgodności z krzywą Gaussa, wobec czego wszystkie analizy wykonano przy użyciu testów nieparametrycznych. Porównanie wyników między dwiema grupami wykonano stosując nieparametryczny test *U* Manna-Whitney'a dla zmiennych niezależnych.

Do wyznaczenia prawdopodobieństwa przeżycia całkowitego (OS), prawdopodobieństwa przeżycia bez wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwa przeżycia bez zdarzeń niepożądanych (EFS) wykorzystano analizę metodą Kaplana–Meiera. Aby ocenić wpływ kategorii takich jak: płeć, grupy wiekowe, postać MG, lokalizacja guza, translokacja (8;21)(q22;q22), schemat leczenia, allotransplantacja komórek krwiotwórczych, zastosowanie leczenia operacyjnego, zastosowanie radioterapii na czasy przeżycia (OS, EFS, RFS) użyto testu log-rank.

Analizę statystyczną przeprowadzono w programie STATISTICA, wersja 13 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA), natomiast analizę krzywych przeżycia wykonano przy użyciu programu MedCalc 11.5.1 (MedCalc Software, Ostend, Belgium). Wyniki uznawano za istotne jeżeli $p < 0,05$.

3.2.2 Analiza immunohistochemiczna metodą mikromacierzy tkankowej

Do analizy immunohistochemicznej metodą mikromacierzy tkankowej (ang. *tissue microarray*, TMA) wykorzystano 7 dostępnych bloczków parafinowych z biopsji guza pacjentów z rozpoznaniem MG. Wykorzystano 21 przeciwciał do barwień immunohistochemicznych. Za dodatnią reakcję uznano wybarwienie powyżej 10% komórek nacieku.

3.2.2.1. Opracowanie histopatologiczne

Materiał tkankowy utrwalono w 10% buforowanej formalinie i umieszczono w procesorze tkankowym. Następnie zatopiono w parafinie w temperaturze 58°C według klasycznych metod histologicznych. Z bloczków parafinowych skrojono skrawki o grubości 4µm, a następnie nałożono je na szkiełka podstawowe. Preparaty inkubowano na płycie grzewczej w temperaturze 60°C przez 20 minut. Szkiełka wybarwiono automatycznie w zintegrowanym centrum barwiąco-nakrywającym metodą H+E (Hematoksylina-Eozyna) i zaklejono poprzez nałożenie szkiełek nakrywkowych przy użyciu medium montującego PathoMount (firmy MAR-FOUR).

3.2.2.2. Konstrukcja mikromacierzy tkankowej

Z bloczków parafinowych przygotowano mikromacierz tkankową TMA (ang. *Tissue Microarray*) zbudowaną z 20 rdzeni tkankowych o średnicy 0,5 cm.

Etapy konstruowania bloczka TMA:

1. Przygotowane wcześniej preparaty histopatologiczne wybarwione metodą H+E oceniono pod mikroskopem świetlnym w celu lokalizacji komórek nowotworowych w bloczkach parafinowych.
2. Z wyselekcjonowanych bloczków parafinowych wycięto za pomocą dziurkacza rdzenie o średnicy 5 mm.
3. Rdzenie z bloczków „dawców” umieszczono w parafinie o obniżonej temperaturze topnienia (52-54°C) na 24 godziny w cieplarni, w celu przepojenia parafiną materiału tkankowego.

4. Przepojone rdzenie zatopiono w tej samej parafinie według klasycznych metod histologicznych.
5. Odlano za pomocą formy silikonowej pusty bloczek TMA – bloczek „biorcy” na 20 rdzeni o średnicy 5 mm. Do tego celu również użyto parafinę o obniżonej temp. topnienia.
6. Za pomocą dziurkacza ponownie wycięto rdzenie z bloczków „dawców” i umieszczono je w bloczku „biorcy”.
7. Bloczek biorcy włożono do cieplarki nagrzanej do 43°C na 2-3 godziny.
8. Po wyciągnięciu bloczka „biorcy” z cieplarki przyłożono do niego na chwilę szkiełko podstawowe ogrzane na płycie grzewczej do 70°C celem wyrównania powierzchni.
9. Schłodzono bloczek na płycie chłodzącej do temperatury -12°C, a następnie skrojono skrawki o grubości 4µm i nałożono je na szkiełka adhezyjne typu SuperFrost. Skrawki inkubowano w cieplarni przez 2 godziny w temperaturze 58°C.

3.2.2.3. Metody immunohistochemiczne

Zastosowano systemy detekcyjne pozbawione biotyny, zawierające kompleks peroksydazy chrzanowej i drugorzędowego przeciwciała koziego, służące do pośredniego wykrywania przeciwciał mysich i króliczych. Systemy te są przeznaczone do barwienia skrawków tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie. Barwienia immunohistochemiczne zostały przeprowadzone w automatycznych aparatach do barwień IHC.

Wykaz zastosowanych przeciwciał:

- przeciwno CD3
- przeciwno CD4
- przeciwno CD7
- przeciwno CD13
- przeciwno CD14
- przeciwno CD15
- przeciwno CD20
- przeciwno CD33
- przeciwno CD34

- przeciwnko CD43
- przeciwnko CD45
- przeciwnko CD56
- przeciwnko CD68; klon PGM-1
- przeciwnko CD79 α
- przeciwnko CD99
- przeciwnko CD117
- przeciwnko CD163
- przeciwnko Desminie
- przeciwnko E-kadherynie
- przeciwnko Mieloperoksydazie
- przeciwnko Myo-D1

Protokoły barwienia IMH z zastosowaniem systemu wizualizacji EnVison FLEX w automatycznym aparacie DAKO Autostainer Link 99 do wykrywania antygenów: CD68, CD99, CD163, Desmin, Myo-D1:

1. Przeprowadzono procedurę 3 w 1 (deparafinizacji, nawodnienia oraz odmaskowywania antygenów) skrawków parafinowych w urządzeniu PT Link w buforze o niskim pH - 9 dla przeciwciał: CD68, CD99, CD163, Desmin oraz w buforze o wysokim pH – 6.1 dla przeciwciała MyoD1 (1:50). Inkubowano skrawki w buforach przez 20 min w temperaturze 97°C, po wyciągnięciu preparatów z urządzenia PT Link zostały one przeniesione do stacji płukania PT Link zawierającej bufor płuczący celem ich schłodzenia.
2. Szkiełka, system wizualizacyjny oraz przeciwciała załadowano do urządzenia Autostainer Link.
3. Uruchomiono urządzenie Autostainer Link według standardowej procedury. Dla wszystkich przeciwciał zastosowano protokół barwienia FLEX:
 - sflukanie preparatów buforem płuczącym,
 - inkubacja z blokerem endogennej peroksydazy przez 5 min,
 - sflukanie preparatów buforem płuczącym,
 - inkubacja z przeciwciałem pierwszorzędowym przez 20 min dla antygenów: CD68, CD99, CD163, Desmin oraz przez 30 min z MyoD1 (1:50),

- spłukanie preparatów buforem płuczącym,
- inkubacja z buforem płuczącym przez 5 min,
- inkubacja z peroksydazą chrzanową przez 20 min,
- spłukanie preparatów buforem płuczącym,
- inkubacja z buforem płuczącym przez 5 min,
- inkubacja z chromogenem DAB przez 10 min,
- spłukanie preparatów wodą destylowaną,
- inkubacja z hematoksyliną przez 5 min,
- spłukanie preparatów buforem płuczającym,
- inkubacja z buforem płuczającym przez 2 min.

4. Po zakończonym barwieniu preparaty przeprowadzono przez szereg alkoholi o wzrastającym stężeniu celem ich odwodnienia, a następnie prześwietlono w szeregu ksylenów. Zaklejono medium montującym w automatycznej zaklejarce.

Protokoły barwienia IMH z zastosowaniem systemu wizualizacji BOND Polymer Refine Detection w automatycznym aparacie Leica BOND – MAX do wykrywania antygenów: CD45, CD117:

1. Szkiełka, system wizualizacji oraz przeciwciała załadowano do aparatu BOND – MAX oraz uruchomiono go według standardowej procedury.

2. Dla obu przeciwciał zastosowano protokół barwienia F:

- rozpuszczenie parafiny przez ogrzewanie szkiełek w temperaturze 60°C przez 20 min
- deparafinizacja skrawków w temperaturze 72°C przez 30 minut za pomocą odczynnika Bond Dewax Solution,
- trzykrotnie wyplukanie odczynnika deparafinizującego alkoholem o stężeniu 99,9 %;
- trzykrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- odmaskowywanie antygenów w buforze o niskim pH (8.9 – 9.1) dla przeciwciała CD117 oraz w buforze o wysokim pH (5.9 – 6.1) dla przeciwciała CD45 przez 20 minut w temperaturze 100°C i przez 12 minut w temperaturze otoczenia,
- trzykrotne przepłukanie preparatów buforem płuczającym w temp. 35°C,

- inkubacja z blokerem endogennej peroksydazy przez 5 minut,
- trzykrotne przepłukanie buforem płuczącym,
- inkubacja z przeciwciałami CD117, CD45 przez 15 minut,
- trzykrotne przepłukanie buforem płuczącym,
- inkubacja z drugorzędowym przeciwciałem IgG lokalizującym przeciwciała mysie,
- trzykrotne przepłukanie buforem płuczącym przez 2 minuty,
- inkubacja z polimerem peroksydazy chrzanowej z przeciwciałem IgG lokalizującym królicze przeciwciała przez 8 minut,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczącym przez 2 minuty,
- płukanie wodą destylowaną,
- inkubacja z chromogenem DAB przez 10 minut,
- trzykrotne przepłukanie wodą destylowaną,
- inkubacja z hematoksyliną przez 5 minut,
- płukanie wodą destylowaną,
- przepłukanie buforem płuczącym,
- płukanie wodą destylowaną.

3. Po zakończonym barwieniu, preparaty przeprowadzono przez szereg alkoholi o wzrastającym stężeniu celem ich odwodnienia, a następnie prześwietlono w szeregu ksylenów. Zaklejono medium montującym w automatycznej zaklejarce.

Protokoły barwienia IMH z zastosowaniem systemu wizualizacji *ultraView* Universal DAB Detection Kit w automatycznym aparacie BenchMark ULTRA do wykrywania antygenów: CD3, CD4, CD7, CD13, CD14, CD15, CD20, CD33, CD34, CD43, CD56, CD79 α , E-CD, MPO:

1. Szkiełka, system wizualizacji oraz przeciwciała załadowano do aparatu BenchMark ULTRA oraz uruchomiono go według standardowej procedury.
2. Dla wszystkich przeciwciał zastosowano protokół barwienia U *ultraView* DAB:
 - rozpuszczenie parafiny przez ogrzewanie szkiełek w temperaturze 65°C przez 5 min,
 - deparafinizacja skrawków w temperaturze 72°C przez 30 minut za pomocą roztworu EZ Prep,

- odsłanianie antygenów w temperaturze 95°C przez 36 min dla przeciwciał: CD3, CD13, CD20, CD34, E-CD, MPO i przez 64 minut dla przeciwciał: CD4, CD7, CD8, CD14, CD15, CD33, CD43, CD56, CD79α,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- podgrzanie szkiełek do 36°C,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- inkubacja z blokerem endogennej peroksydazy przez 4 minuty w temperaturze 36°C,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- inkubacja z przeciwciałem CD13 przez 16 minut, z przeciwciałami: CD3, CD7, CD8, CD15, CD20, CD34, CD43, CD56, CD79α, E-CD, MPO przez 20 minut, z przeciwciałami: CD4, CD14, CD33 przez 32 minuty w temperaturze 36°C,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- inkubacja z koktajlem przeciwciał znakowanych peroksydazą chrzanową przez 8 minut w temperaturze 36°C,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- inkubacja z roztworem nadtlenku wodoru o stężeniu 0,04% w buforze fosforanowym przez 8 minut,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- inkubacja z roztworem siarczanu miedzi przez 4 minuty,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- inkubacja z hematoksyliną przez 8 minut,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym,
- inkubacja z roztworem węglanu litu celem zniebieszczenia preparatów przez 4 minuty,
- dwukrotne przepłukanie buforem płuczającym.

3. Po zakończonym barwieniu preparaty przeprowadzono przez szereg alkoholi o wzrastającym stężeniu celem ich odwodnienia a następnie prześwietlono w szeregu ksylenów. Zaklejono medium montującym w automatycznej zaklejarce.

3.2.2.4. Materiały, odczynniki, bufory

Bufory

Tabela 5. Wykaz używanych buforów.

BUFOR	NR KAT.	PRODUCENT
EnVision FLEX Substrate Buffer	SM803	DAKO
EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x)	K8004	DAKO
EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x)	K8005	DAKO
EnVision FLEX Wash Buffer (20x)	K8007	DAKO
EnVision FLEX Antibody Diluent	K8006	DAKO
Bond Wash Solution 10X Concentrate	AR9590	LEICA
Bond Dewax Solution	AR9222	LEICA
Bond Epitope Retrieval Solution 1	AR9961	LEICA
Bond Epitope Retrieval Solution 2	AR9640	LEICA
ULTRA Reaction Buffer Concentrate (10x)	950-300	ROCHE
ULTRA EZ Prep Concentrate (10x)	950-102	ROCHE
ULTRA LCS	650-210	ROCHE
ULTRA Cell Conditioning Solution (CC1)	950-223	ROCHE

3.2.2.5. Zestawy wizualizacyjne

Tabela 6. Wykaz zestawów wizualizacyjnych.

ZESTAW DO WIZUALIZACJI	NR KAT	PRODUCENT
UltraView Universal DAB Detection Kit	760-500	ROCHE

EnVision FLEX, Mouse, High pH, (Link)	K8002	DAKO
BOND Polymer Refine Detection System	DS9800	LEICA

3.2.2.6. Przeciwciała

Tabela 7. Wykaz używanych przeciwciał.

PRZECIWCIAŁO	KLON	NR KAT.	PRODUCENT
BOND Ready-To-Use Primary Antibody CD45	X16/99	PA0042	LEICA
BOND Ready-To-Use Primary Antibody CD117	EP10	PA0007	LEICA
CONFIRM anti-CD3 Rabbit Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	2GV6	790-4341	ROCHE
CONFIRM anti-CD4 Rabbit Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	SP35	790-4423	ROCHE
anti-CD7 Rabbit Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	SP94	790-4558	ROCHE
CONFIRM anti-CD8 Rabbit Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	SP57	790-4460	ROCHE
CD13 Rabbit Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	SP187	760-4862	CELL MARQUE
CD14 Rabbit Monoclonal Antibody, Ready-to-Use	EPR3653	760-4523	CELL MARQUE
CONFIRM anti-CD15 Mouse Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	MMA	760-2504	ROCHE
CONFIRM anti-CD20 Mouse Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	L26	760-2531	ROCHE
CD33 Rabbit Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	SP266	760-4952	CELL MARQUE

to-Use			
CONFIRM anti-CD34 Mouse Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	QBEen/10	790-2927	ROCHE
Anti-CD43 Mouse Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	L60	760-2511	ROCHE
CD56 Rabbit Monoclonal Antibody, Ready-to-Use	MRQ-42	760-4596	CELL MARQUE
CONFIRM anti-CD79a Rabbit Monoclonal Primary Antibody, Ready-to-Use	SP18	790-4432	ROCHE
E-Cadherin Rabitt Monoclonal Antibody, Ready-to-Use	EP700Y	760-4440	CELL MARQUE
Myeloperoxidase Rabbit Polyclonal Antibody, Ready-to-Use	-	760-2659	CELL MARQUE
CD163 Mouse Monoclonal Antibody, Ready-to-Use	MRQ-26	760-4380	CELL MARQUE
FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD68, Ready-to-Use	PG-M1	IR613	DAKO
FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD99, MIC2 Gene Product Ewing's Sarcoma Marker, Ready-to-Use	12E7	IR057	DAKO
FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Desmin, Ready-to-Use	D33	IR606	DAKO
Monoclonal Mouse Anti-MyoD1, przeciwciało stężone, użyte w rozcieńczeniu w stosunku 1:50	5.8A	M3512	DAKO

3.2.3 Zgoda Komisji Bioetycznej

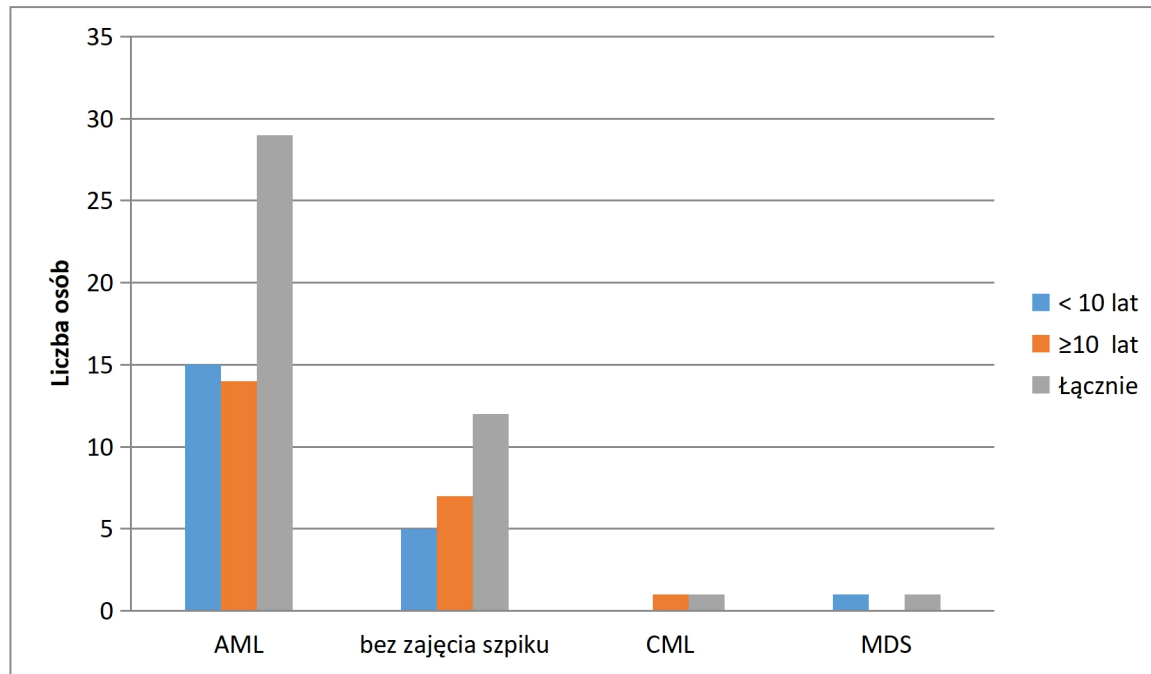
Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy UMP w dniu 6.05.2015 roku, uchwała nr 455/15.

4. Wyniki

4.1 Charakterystyka kliniczna badanej grupy

4.1.1. Podział mięsaka granulocytarnego ze względu na rozpoznanie towarzyszącej choroby rozrostowej w szpiku z uwzględnieniem wieku pacjentów

Mięsak granulocytarny (MG) może towarzyszyć ostrej białaczce szpikowej (AML), przewlekłej białaczce szpikowej (CML) lub zespołowi mielodysplastycznemu (MDS). W badanej grupie dominowali chorzy z AML (29), rozpoznanie to przeważało w obu grupach wiekowych. Łącznie u 12 chorych nie stwierdzono zajęcia szpiku (postać izolowana MG), 1 chory miał rozpoznanie CML, 1 chory MDS. Poniższy Wykres 1 przedstawia rozpoznania, uwzględniając badane zakresy wiekowe. Nie stwierdzono zależności między rodzajem choroby towarzyszącej a grupą wiekową pacjentów ($\chi^2 = 2,34$, $p = 0,5038$).



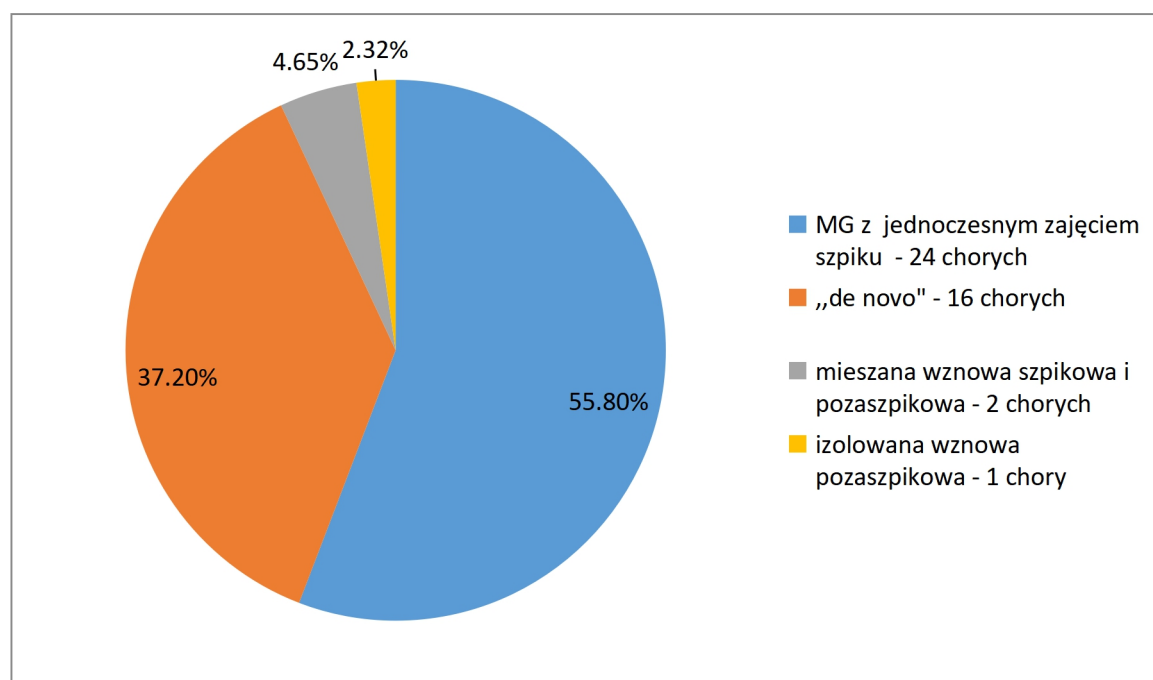
Wykres 1. Rozpoznania z uwzględnieniem zakresów wiekowych.

4.1.2. Podział MG ze względu na obraz kliniczny i relację czasową między wystąpieniem MG, a zajęciem szpiku

U pacjentów wyszczególniono następujące postaci choroby:

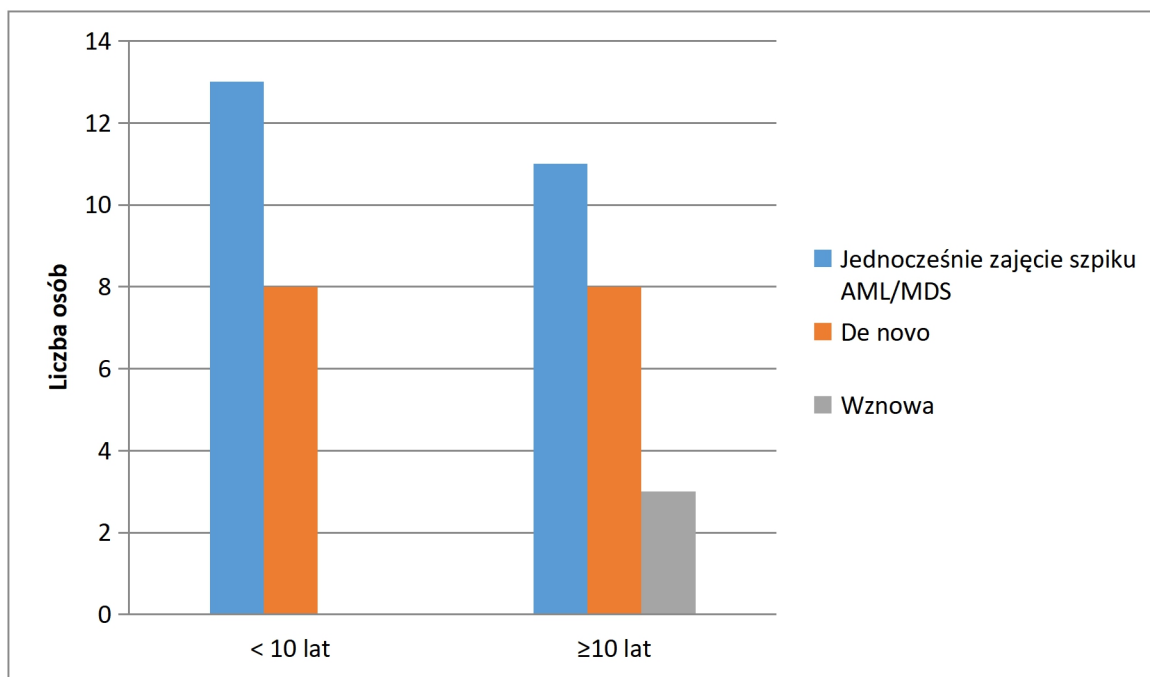
- Postać z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS/CML – 24 pacjentów (55,80%)
- Postać *de novo* – u pacjentów, u których w chwili rozpoznania nie stwierdzono zajęcia szpiku – 16 pacjentów (37,20%)
- MG jako izolowana wznowa choroby – 1 pacjent (2,32%)
- MG w mieszanej wznowie (szpikowej i pozaszpikowej) – 2 pacjentów (4,65%)

Powyższe dane zobrazowano na Wykresie 2.



Wykres 2. Postacie kliniczne mięsaka granulocytarnego, w zależności od relacji czasowej w stosunku do zajęcia szpiku.

Liczbę pacjentów w każdej postaci klinicznej, z uwzględnieniem zakresów wiekowych przedstawiono na Wykresie 3. W obu grupach wiekowych dominowała postać MG z jednoczesnym zajęciem szpiku. Nie stwierdzono zależności między postacią kliniczną MG, a grupą wiekową ($\chi^2 = 3,15$, $p = 0,3698$).



Wykres 3. Postacie kliniczne mięsaka granulocytarnego w przedziałach wiekowych, w zależności od relacji czasowej w stosunku do zajęcia szpiku.

Spośród 16 pacjentów z postacią kliniczną *de novo* u czworga doszło do zajęcia szpiku w trakcie dalszej diagnostyki:

- u jednego chorego po 2 miesiącach od potwierdzenia obecności MG w badaniach obrazowych, zajęcie szpiku stwierdzono na podstawie trepanobiopsji; wyniki mielogramu i cytometrii wykonane wyjściowo oraz po 2 miesiącach były prawidłowe
- u jednego chorego na podstawie obecności markera genetycznego charakterystycznego dla AML (translokacja t(8;21)(q22;q22) metodą FISH i PCR w szpiku kostnym)
- u jednej pacjentki po 1 miesiącu od rozpoznania MG (mielogram i cytometria przepływowa)
- u jednej pacjentki brak dokładnych informacji kiedy stwierdzono zajęcie szpiku

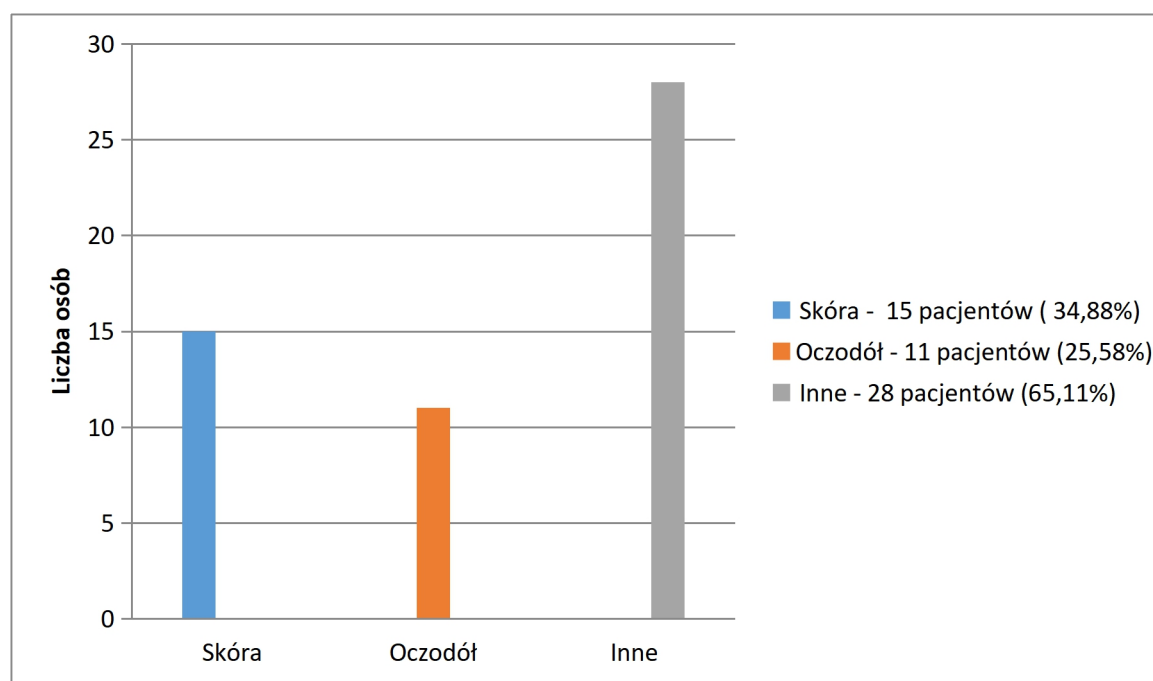
4.1.3. Zajęcie ośrodkowego układu nerwowego

W badanej grupie zajęcie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) w stopniu CNS-2 stwierdzono u 1 pacjenta (2%), CNS 3- u 12 pacjentów (28%). U 26 pacjentów (60%) nie

stwierdzono zajęcia OUN (CNS 1), a u 4 chorych nie określono statusu OUN (brak danych).

4.1.4. Lokalizacja

W badanej grupie najczęstszą lokalizacją MG była skóra- wystąpiła ogółem u 15 pacjentów (34,88%). Lokalizacja oczodołowa wystąpiła ogółem u 11 pacjentów (25,58%), inna - u 28 chorych (65,11%). Dane te przedstawiono graficznie na Wykresie 4.



Wykres 4. Lokalizacja MG u dzieci – skóra, oczodół i inne.

W Tabeli 8 umieszczono informację o lokalizacji MG z podziałem na grupy wiekowe. Wykazano statystycznie istotną zależność między przedziałami wiekowymi a występowaniem skórnej manifestacji MG ($p=0,0268$). Skórna manifestacja MG w badanej grupie częściej wystąpiła w grupie wiekowej <10 lat (52,38%) niż w grupie wiekowej ≥ 10 lat. Zależności między grupami wiekowymi a lokalizacją nie wykazano dla lokalizacji oczodołowej ($p=0,7360$) oraz lokalizacji w innych okolicach ($p=0,3475$).

Tabela 8. Lokalizacja MG w skórze, oczodole oraz innych lokalizacjach z uwzględnieniem zakresów wiekowych.

Lokalizacja	Ogółem (n =43)	Wiek<10 (n=21)	Wiek≥10 (n=22)	Dokładny test Fishera
Skóra	15 (34,88%)	11 (52,38%)	4 (18,18%)	0,0268
Oczodół	11 (25,58%)	6 (28,57%)	5 (22,72%)	0,736
Inne	28 (65,11%)	12 (57,14%)	16 (72,72%)	0,3475

Tabela 9 przedstawia lokalizację wszystkich zidentyfikowanych ognisk MG w badanej grupie. U 10 chorych MG pojawił się w 2 lub więcej lokalizacjach, co skutkuje łącznie sumą 61 lokalizacji MG.

Tabela 9. Lokalizacje wszystkich ognisk MG w badanej grupie.

Lokalizacja	Liczba ognisk (n całkowita = 61)	Liczba ognisk w %
Skóra	15	24,59%
Oczodół	11	18,03%
Inne:	35	57,38%
Okolica przykręgosłupowa	5	8,19%
Miednica	3	4,91%
Czaszka (tkanki miękkie lub kości)	3	4,91%
OUN	3	4,91%
Płuca	2	3,27%
Opłucna	2	3,27%
Jama brzuszna	2	3,27%
Wątroba	2	3,27%
Ucho środkowe	2	3,27%
Kość udowa	2	3,27%
Policzek	1	1,63%

Staw łokciowy	1	1,63%
Gruzoły piersiowe	1	1,63%
Dziąsła	1	1,63%
Nosogardło	1	1,63%
Wewnątrzkanałowo	1	1,63%
Zatoki szczękowe	1	1,63%
Sródpiersie	1	1,63%
Węzły chłonne	1	1,63%

4.1.5. Objawy

Objawy MG były zależne od lokalizacji zmian oraz od rozległości procesu nowotworowego. Jeśli była to izolowana postać MG, wówczas objawy dotyczyły zajętej okolicy, jeśli MG z towarzyszącym zajęciem szpiku – wówczas pacjent jednocześnie prezentował symptomy typowe dla choroby rozrostowej szpiku. W przypadku umiejscowienia MG w skórze, dominowały zmiany o morfologii guzków (7/43 pacjentów), u jednego pacjenta opisano sino-niebieskie zabarwienie zmian (1/43). Zmiany w oczodole manifestowały się przede wszystkim wytrzeszczem gałki ocznej (4/43), obrzękiem tkanek miękkich okolicy oczodołu (3/43), opadaniem powieki (1/43) i porażeniem obwodowym nerwu twarzowego (1/43), co przedstawiono w Tabeli 10. Inne objawy, które wystąpiły u pacjentów w badanej grupie, wymieniono w Tabeli 11.

Tabela 10. Charakterystyka objawów w przypadku MG o lokalizacji oczodołowej (n=11) w badanej grupie. U dwojga pacjentów wystąpił więcej niż 1 objaw.

Objaw	Liczba n chorych, u których występował dany objaw	Liczba n w %
Wytrzeszcz gałki ocznej	5	11,62%
Obrzęk tkanek miękkich oczodołu	2	4,65%
Opadanie powieki	1	2,32%
Porażenie nerwu twarzowego	2	4,65%
Brak objawów (zajęcie oczodołów wykryte w badaniach obrazowych)	3	6,97%

Tabela 11. Inne objawy MG w badanej grupie (nie dotyczy pacjentów z lokalizacją oczodołową i skórną).

Objaw	Liczba n chorych, u których występował dany objaw	Liczba n w %
Widoczny obrzęk zajętej okolicy /guz	8	18,6%
Osłabienie	8	18,6%
Ból	7	16,27%
Gorączka	5	11,62%
Spadek masy ciała	4	9,3%
Powiększenie węzłów chłonnych	4	9,3%
Porażenie nerwu VII	4	9,3%

Niedosłuch	3	6,97%
Objawy infekcji dróg oddechowych	3	6,97%
Niedowład	3	6,97%
Bładość	2	4,65%
Duszność	2	4,65%
Bóle stawów	1	2,32%
Apatia	1	2,32%
Zespół Hornera	1	2,32%
Wybroczyny	1	2,32%
Poty	1	2,32%
Hepatosplenomegalia	1	2,32%
Powiększenie obwodu brzucha	1	2,32%
Powiększenie obwodu brzucha	1	2,32%
Zaparcie	1	2,32%
Bezmocz	1	2,32%
Nadmierny przyrost obwodu głowy	1	2,32%
Zapalenie uszu	1	2,32%

4.1.6. Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania

W badanej grupie czas od wystąpienia objawów, do ustalenia rozpoznania, wynosił średnio $6,24 \pm 7,61$ tygodnia (mediana 4 tygodnie, minimum 0,5 tygodnia, maksimum 48 tygodni). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic czasu od pojawienia się objawów do ustalenia rozpoznania w zależności od płci ($p=0,7982$) ani przedziałów wiekowych ($p=0,8193$). Dane przedstawia Tabela 12.

Tabela 12. Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania (czasy podane w tygodniach).

		N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch.std	p
Ogółem		43	6,24	4,00	0,50	48,00	7,61	-
Płeć	M	25	6,4	4,00	1,00	48,00	9,14	0,7982
	F	18	6,03	5,00	0,50	18,00	5,03	
Wiek	<10	21	5,36	4,00	0,50	16,00	4,11	0,8193
	≥10	22	7,09	4,00	1,00	48,00	9,91	

Nie wykazano zależności między długością czasu od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania a postacią kliniczną MG ($p = 0,4539$). Analizy te wykonano przy podziale czasu od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania na dwie grupy: <4 tygodnie i >4 tygodni. Obliczenia te przedstawiono w Tabeli 13.

Tabela 13. Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania w poszczególnych postaciach klinicznych MG.

Postać kliniczna MG	Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania	
	do 4 tygodni	powyżej 4 tygodni
<i>De novo</i>	8	8
Z jednoczesnym zajęciem szpiku – AML/MDS	13	11
Mieszana wznowa szpikowa i pozaszpikowa	2	0
Izolowana wznowa pozaszpikowa	1	0

4.2. Narzędzia diagnostyczne wykorzystane w celu rozpoznania MG

U 29 pacjentów wykonano biopsję guza i rozpoznanie oparto na wyniku histopatologicznym i immunohistochemii. Dodatkowo z badań laboratoryjnych decydujące w toku diagnostyki były badanie immunofenotypu komórek szpiku metodą cytometrii przepływowej 28 (67%) w tym u dwójki chorych dodatkowo cytometria przepływowa płynu z opłucnej, badanie cytogenetyczne szpiku lub tkanki guza – 23 (55%). U 4 chorych (9,30%) do uzyskania pełnego obrazu choroby niezbędna była trepanobiopsja, na podstawie której potwierdzono zajęcie szpiku. Z badań obrazowych, oprócz RTG i USG, u 29 pacjentów (69%) wykorzystano tomografię komputerową, u 24 wykonano rezonans magnetyczny (59%), u 4 chorych wykonano i uwidoczniono zmiany w badaniu PET (9%). Udział poszczególnych metod diagnostycznych w rozpoznaniu MG w badanej grupie przedstawiono w Tabeli 14.

Tabela 14. Metody diagnostyczne, na podstawie których rozpoznano MG.

Rodzaj procedury diagnostycznej	N	%
Biopsja guza i badanie immunohistochemiczne	29	67,44%
Cytometria przepływowa	28	65,11%
Trepanobiopsja	4	9,30%
Cytogenetyka	23	53,4%
Tomografia komputerowa- KT	29	67,44%
Rezonans magnetyczny- MR	24	55,81%
PET	4	9,30%

4.2.1. Wyniki badań genetycznych w badanej grupie

W badanej grupie najliczniej reprezentowaną mutacją była translokacja t(8;21)(q22;q22) obecna u 10 chorych (23,25%). U 4 chorych stwierdzono rearanżację genu MLL (9,30%). U 6 chorych stwierdzono inne nieprawidłowości (Tabela 15). W Tabeli 16 przedstawiono wszystkie wyniki genetyczne pacjentów.

Tabela 15. Nieprawidłowości genetyczne stwierdzone u pacjentów w badanej grupie.

Rodzaj nieprawidłowości genetycznej	Dodatni	Ujemny	Brak danych
t(8;21)(q22;q22)	10 (23,25%)	14 (32,55%)	19 (44,2%)
rearanżacje MLL	4 (9,30%)	20 (46,51%)	19 (44,2%)
Inne (złożone aberracje par 11 i 22, trisomia chromosomu 8, t(9;11)(p22;q23), złożony kariotyp, WT1)	6 (13,95%)	20 (46,51%)	17 (39,54%)

Tabela 16. Wyniki wszystkich badań genetycznych szpiku* pacjentów w badanej grupie (n= 43).

Lp	Wynik genetyczny
1.	We wszystkich metafazach stwierdzono translokację t(8;21) z fuzją genów AML1/ETO na chromosomie 8 oraz brak chromosomu płci Y, co jest charakterystyczne dla AML M2. Dodatkowo stwierdzono złożone aberracje dotyczące chromosomu par 11 i 22. BCR/ABL1 - ujemny. ITD-FLT3- ujemny, NPM1 - ujemny, PML-RARA ujemny, inw 16 ujemna.
2.	Nie stwierdzono fuzji genów PML/RARA a tym samym translokacji t(15;17). Fuzję genów BCR/ABL a tym samym translokację t(9;22) stwierdzono w 13/200 jądrach interfazowych. Nie stwierdzono duplikacji tandemowej i mutacji D85 w genie FLT3.
3.	Wśród 200 analizowanych jąder interfazowych nie stwierdzono fuzji genów BCR/ABL1, a tym samym translokacji t(9;22). Amplifikację onkogenu MYC N powyżej 10 kopii stwierdzono w 26% analizowanych j'der. 2010-03-02 Kariotyp: 46,XY [20] Wśród 200 analizowanych j'der interfazowych nie stwierdzono fuzji genów AML1/ETO, a tym samym translokacji t(8;21). Wśród 200 analizowanych jąder interfazowych nie stwierdzono inwersji chromosomu 16. Nie stwierdzono duplikacji tandemowej i mutacji D835 w genie FLT3. Wśród 200 analizowanych jąder interfazowych nie stwierdzono fuzji genów PML/RARA, a tym samym translokacji t (15;17). NCN=6400 kopii WT1/10 do 4 kopii ABL.
4.	W 90% (180/200) analizowanych jąder interfazowych stwierdzono podwójną fuzję genów AML1/ETO, a tym samym translokację t(8;21). Nie stwierdzono fuzji genów PML/RARA a tym samym translokacji t(5;17), TEL/AML1, a tym samym t(12;21), delecji w obrębie 11q23 ani innych rearanzacji z udziałem MLL, duplikacji tandemowej i mutacji D835 w genie FLT3, delecji w ramieniu q chromosomu pary 5, fuzji genów BCR/ABL1 a tym samym translokacji 9;22), fuzji genów DEK/NUP214 a tym samym translokacji t(6;9). Kariotyp 45 X,Y, t (8;21)(q22;q22).
5.*	Badanie szpiku prawidłowe. Badania tkanki guza: <i>NPM1</i> positive, 19% komórek guza prezentowało 3 sygnały genów ABL1 i BCR.
6.	W 10% analizowanych jąder interfazowych stwierdzono trisomię chromosomu pary 8. Cytogenetyka GTG - prawidłowy kariotyp we wszystkich metafazach. W 40% jąder

	interfazowych stwierdzono trisomię chromosomu 8. Badanie amplifikacji NMYC - nie stwierdzono.
7.	Kariotyp 46 XX. BCR/aBL1 ujemne, TELAML (t(12;21) ujemna, MLL (11 q23) ujemne, FLT3 ujemne, inwersja16 - ujemna, WT1 – dodatni.
8.	Wynik analizy DNA w kierunku najczęstszych mutacji w genach WT1 i NPM1 - nie stwierdzono. Wynik analizy 28 najczęstszych rearanżacji chromosomowych o znaczeniu prognostycznym w białaczkach - stwierdzono obecność genu fuzyjnego MLL-AFF1 t(4;11)(q21;q23).
9.	Trisomia 21, najczęstsze rearanżacje chromosomowe w AML – ujemne.
10.	Brak danych
11.	Kariotyp: 90-92,XXYY,der(4)[15]M-BCR/ABL -ujemny; MLL/AF4 - ujemny; TEL/AML1 - ujemny; AML/ETO - ujemny; m-BCR/ABL - ujemny; E2A/PBX1 - ujemny; CBFb-MYH11 - ujemny; FLT3-ITD. – ujemny.
12.	Kariotyp: 45,X,-Y, t (8;21) [14] / 46,XY [3]; W badaniu metodą RT-PCR: M bcr/abl (-), mbcr/abl (-)
13.	t(8;21)(q22;q22)
14.	Brak danych
15.	t8;21 (q22;q22)
16.	Brak danych
17.	t(8;21) (FISH + PCR) w szpiku. Nie stwierdzono mutacji NPM1 i FLT3.
18.	The bone marrow cytogenetic mutations were identified ins / delins NPM1 did not detect the translocation of AML 1-ETO and duplication FLT3-ITD. No chromosome aberrations were found.
19.	46,XX,der(9)t(9;11;17)(q12;q23;q25),der(11)t(9;11)(p22;q23),der(17)t(9;17)(q12;q23), del(17)(q23q25). FLT3 (-). W 70% analizowanych komórek stwierdzono rearanżację genu MLL na inny chromosom.
20.	Brak danych
21.	Brak danych
22.	FLT3(-), WT1(-) NPM1 (-), Hema-Vision 28 N (nie stwierdzono 28 najczęstszych rearanżacji chromosomowych).
23.	46,XX,t(9;11)(9pter~9p22::11q23~11q14.2::9p22~9q32::11q23~11qter;11pter~

	11q14.2::11q2311q23::9q32~9qter)[4]/46,XX[16]
24.	t(9;11)(p22;q23)
25.	Brak mitoz, FISH 10% komórek z rearanżacją MLL
26.	Brak danych
27.	Brak danych
28.	Brak danych
29.	Brak danych
30.	Brak danych
31.	Brak danych
32.	t(8;21)(q22;q22)
33.	t(8;21)(q22;q22)
34.	Any abnormalities
35.	Kariotyp złożony z ewolucją klonalną
36.	t(8;21)(q22;q22)
37.	Brak danych
38.	30% KOM + t(8;21)(q22;q22)
39.	t (8,21)(q22;q22)
40.	Ujemne wszystkie wykonywane w AML
41.	Nieprawidłowy kariotyp męski z ewolucją klonalną, sonda specyficzna MLL wykazała obecność rearanżacji tego genu w 93% analizowanych jąder interfazowych; metafazy obecne na preparacie potwierdziły obecność translokacji t(9;11)(p21;q23).
42.	Brak danych
43.	Brak danych

(*- u chorego nr 5 wyniki genetyczne z tkanki guza)

Spośród 10 pacjentów, u których stwierdzono obecność translokacji t(8;21)(q22;q22), dwoje prezentowało oczodołową lokalizację guza.

4.3. Leczenie

U wszystkich chorych w leczeniu zastosowano systemową chemioterapię (43, 100%). U 24 pacjentów (56%) elementem leczenia była radioterapia – w przypadku 15 chorych (35%) była to radioterapia OUN zgodna ze stosowanym schematem terapeutycznym AML, u 7 chorych (16%) – radioterapia okolicy guza, u 2 chorych (5%) radioterapia zarówno OUN jak i okolicy MG. Zabieg chirurgiczny przeprowadzono u 6 chorych (14%) – u 5 był to zabieg totalny, u 1 subtotalny. U 9 pacjentów (21%) leczenie obejmowało procedurę allotransplantacji komórek krwiotwórczych, w tym u 1 pacjenta od dawcy spokrewnionego, u 8 pacjentów od dawcy niespokrewnionego. Metody leczenia pacjentów przedstawiono w Tabeli 17.

Tabela 17. Metody leczenia MG w badanej grupie.

Sposób leczenia	N	%
Chemioterapia	43	100%
Radioterapia:	24	56%
<i>OUN</i>	15	35%
<i>okolicy guza</i>	7	16%
<i>OUN i okolica guza</i>	2	5%
Zabieg operacyjny:	6	14%
<i>Radykalny</i>	5	12%
<i>Subtotalny</i>	1	2%
Allotransplantacja komórek krwiotwórczych	9	21%

4.3.1. Schematy chemioterapii

U pacjentów w leczeniu pierwszej linii stosowano najczęściej schemat chemioterapii zgodny z obowiązującym leczeniem ostrej białaczki szpikowej u dzieci – u 21 chorych (49%) był to protokół AML - BFM 2004 Interim, u 10 chorych (23%) protokół AML BFM 2012 , u 10 (23%) protokół AML-PPLLSG 98 [60, 61]. U dwójki chorych zastosowano inne niż powyżej schematy leczenia. Spośród nich 1 pacjent (rozpoznanie CML, izolowana wznowa pozaszpikowa) otrzymywał Imatynib, następnie blok z Idarubicyną i Fludarabiną (Ida-Fla) oraz, po całkowitej resekcji guza, konsolidację o niskiej intensywności wg protokołu AML/BFM 2001 w trakcie oczekiwania na procedurę drugiej allotransplantacji od dawcy niespokrewnionego [60, 62]. U drugiego chorego (chłopiec ze wznową ostrej białaczki dwuliniowej ALL T-kom/AML, wznowa AML z MG zlokalizowanym w śródpiersiu) zastosowano leczenie wg schematu Interfant 06, następnie paliatywną radioterapię [63]. Zestawienie najczęściej stosowanych schematów chemioterapii I linii i liczby leczonych nimi pacjentów przedstawiono w Tabeli 18.

Tabela 18. Protokoły chemioterapii zastosowane w leczeniu I linii w badanej grupie: AML BFM 2004, AML BFM 2012 i AML-PPLLSG 98.

Schemat leczenia	N	%
AML - BFM 2004 Interim	21	49
AML BFM 2012	10	23
AML-PPLLSG 98	10	23
Inne	2	5

Podejrzewając inną jednostkę chorobową niż MG, u 4 chorych (9,30%) wyjściowo zastosowano inny schemat leczenia. Leczenie zmodyfikowano u tych pacjentów po uzyskaniu właściwego rozpoznania. Były to schematy terapeutyczne:

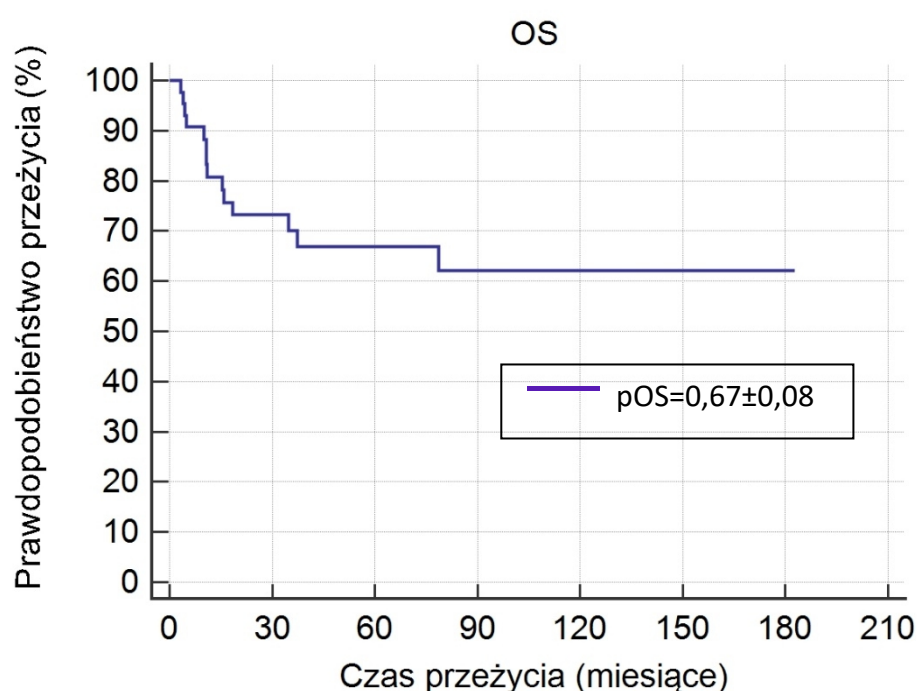
- dla leczenia chłoniaka limfoblastycznego (Euro LB 2002) [64] – 1 pacjent
- dla histiocytozy z komórek Langerhansa (HLH 2004) [65]– 1 pacjent
- dla mięsaków kości (chemioterapia VIDE) [66] – 1 pacjent
- dla chłoniaków nieziarniczych (2 x prefaza COP wg Protokołu Inter-B-NHL Ritux 2010) [67]– 1 pacjent

W leczeniu drugiej linii najczęściej stosowano protokół leczenia wznów AML (Ida-Fla, Fla – 9 chorych) [62], u jednego chorego blok z Clofarabiną [68]. U 3 chorych zastosowano allo HSCT, u jednego z nich wcześniej infuzję limfocytów dawcy (DLI).

4.4. Wyniki leczenia

W badanej grupie, 29 chorych (67%) osiągnęło CR o czasie, późną remisję 6 chorych (14%), częściową remisję 2 chorych (5%). Do progresji doszło u 5 pacjentów (12%). U 7 chorych (16%) wystąpiła wznowa choroby. 14 pacjentów (32%) zmarło z powodu następujących przyczyn: progresja choroby (11 pacjentów), powikłania infekcyjne (2 pacjentów), toksyczność przebytej terapii (1 pacjent).

Średni całkowity czas przeżycia – OS (*overall survival*) wynosi OS - 121,00+/-13,23 miesięcy (średnia±błąd standardowy). Prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia 5-letniego wynosi pOS=0,67±0,08. Wykres 5 przedstawia prawdopodobieństwo przeżycia OS w badanej grupie.



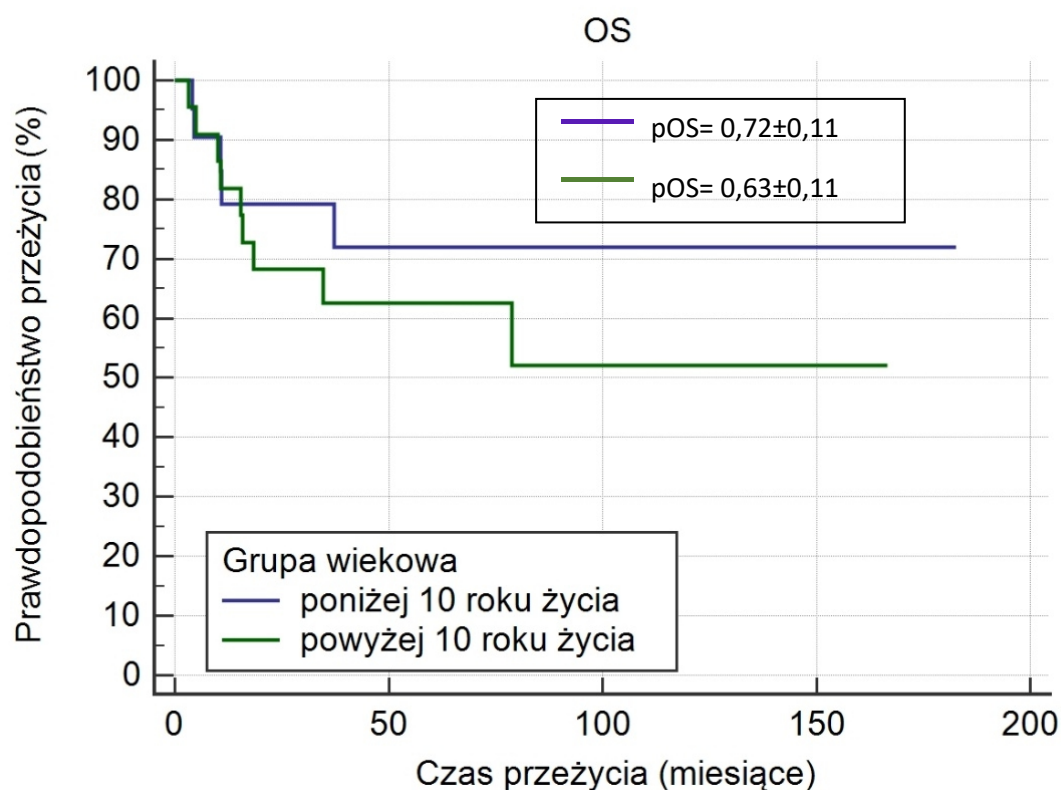
Wykres 5. Prawdopodobieństwo 5-letniego całkowitego przeżycia (pOS) w badanej grupie, pOS=0,67±0,08.

4.4.1. Całkowite przeżycie (overall survival - OS) w poszczególnych grupach wiekowych

Nie wykazano różnicy w długości czasu OS pomiędzy grupami wiekowymi <10 lat i > 10 lat. Dłuższy czas przeżycia uzyskano u młodszych pacjentów (< 10 lat), ale nie była to różnica istotna statystycznie ($p=0,3584$). Średnie czasy OS oraz prawdopodobieństwo 5 – letniego całkowitego przeżycia w grupach wiekowych ujęto w Tabeli 19. Wykres 6 przedstawia prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia (pOS) w grupach wiekowych < 10 lat i > 10 lat.

Tabela 19. Czas całkowitego przeżycia oraz prawdopodobieństwo przeżycia 5- letniego w grupach wiekowych <10 lat i > 10 lat.

Wiek	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS $\pm$ SE	5-letnie pOS	Test long-rank
<10	5	135,73 $\pm$ 18,08	0,72 $\pm$ 0,11	p=0,3584
>10	9	100,57 $\pm$ 16,75	0,63 $\pm$ 0,11	



Wy

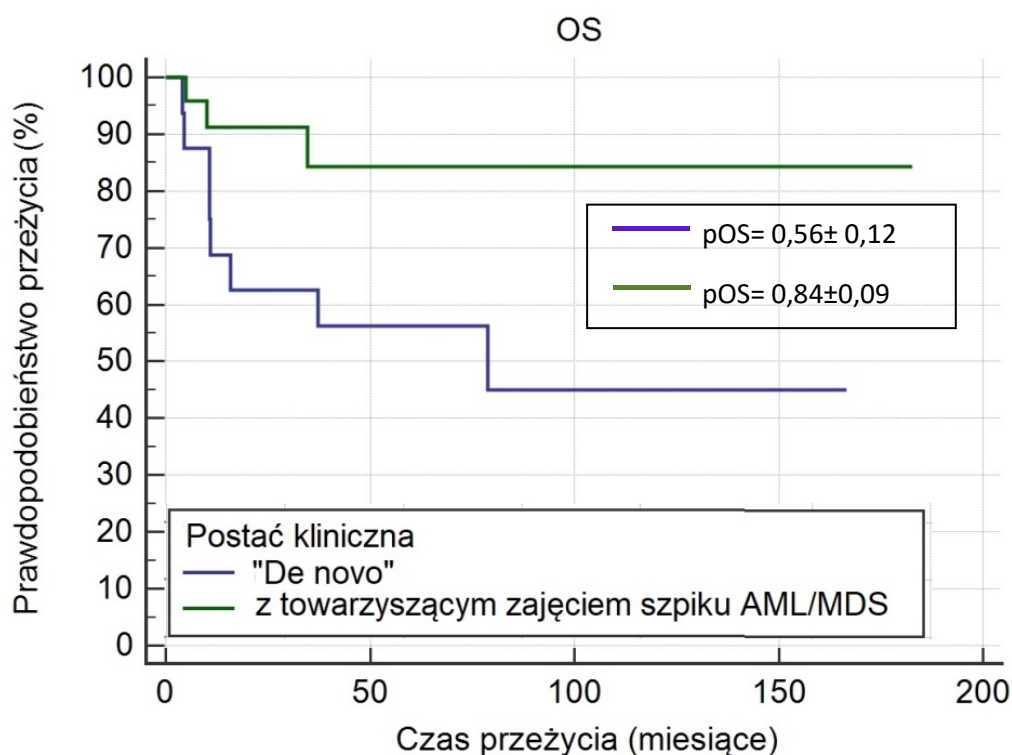
kres 6. Prawdopodobieństwo 5-letniego całkowitego przeżycia (pOS) w grupach wiekowych (poniżej i powyżej 10 lat), $p=0,3584$.

4.4.2. Całkowity czas przeżycia w zależności od postaci klinicznej MG

Czas przeżycia był istotnie dłuższy w grupie pacjentów z MG z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS niż w grupie pacjentów z postacią „de novo” MG (**p=0,0251**). Powyższe dane przedstawia Tabela 20. Krzywe prawdopodobieństwa OS w powyższych grupach widoczne są na Wykresie 7.

Tabela 20. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia 5-letniego w zależności od postaci klinicznej MG- postać izolowana i postać z towarzyszącym zajęciem szpiku (AML lub MDS).

Postać MG	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS±SE	5-letnie pOS	Test log-rank
<i>De novo</i>	8	89,75±19,09	0,56±0,12	p=0,0251
Z jednoczesnym zajęciem szpiku (AML lub MDS)	3	156,94±13,89	0,84±0,09	



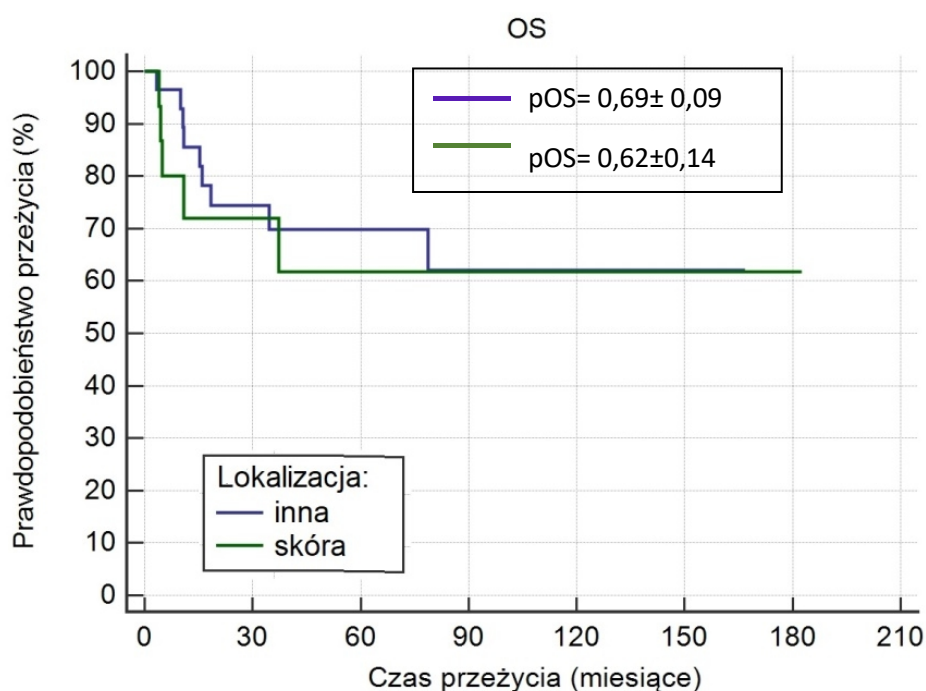
Wykres 7. Prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia (pOS) w postaciach MG: *de novo* oraz postaci z towarzyszącym zajęciem szpiku przez AML/MDS, p=0,0251.

4.4.3. Wpływ lokalizacji MG na całkowity czas przeżycia

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy całkowitym czasem przeżycia pacjentów z lokalizacją MG w skórze, oraz pacjentów z MG w innym umiejscowieniu ($p=0,7017$). Dane przedstawiono w Tabeli 21. Krzywe prawdopodobieństwa OS u powyższych grup pacjentów umieszczono na Wykresie 8.

Tabela 21. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów ze skórą lokalizacją MG oraz w innym umiejscowieniu.

Lokalizacja	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS $\pm$ SE	5-letnie pOS	Test log-rank
Skóra	5	118,28 $\pm$ 23,21	0,62 $\pm$ 0,14	p=0,7017
Inne	9	114,19 $\pm$ 14,25	0,69 $\pm$ 0,09	

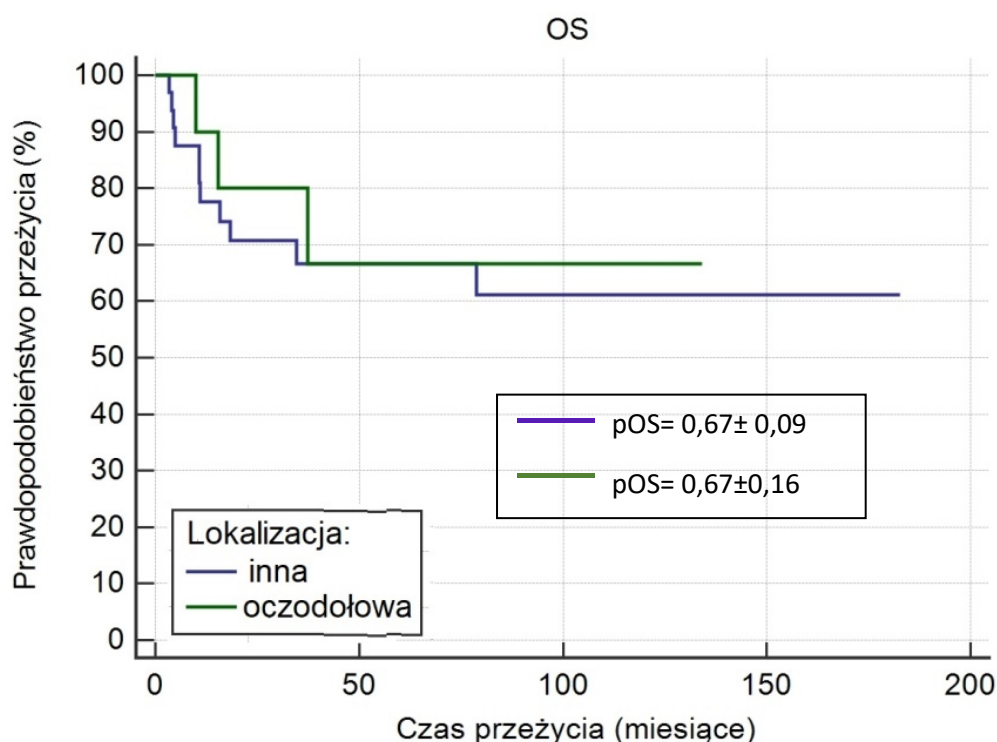


Wykres 8. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) w grupie pacjentów z lokalizacją MG w skórze i pacjentów z MG o innej lokalizacji, $p=0,7017$.

Czas przeżycia był krótszy u chorych z lokalizacją oczodołową MG, w porównaniu do czasu przeżycia pacjentów z MG w innej lokalizacji. Różnica ta nie była jednak istotna statystycznie ($p=0,7124$). Powyższe dane zostały przedstawione w Tabeli 22, a krzywe prawdopodobieństwa OS u pacjentów z lokalizacją oczodołową i inną, widoczne są na Wykresie 9.

Tabela 22. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia u pacjentów z MG o lokalizacji oczodołowej oraz w innym umiejscowieniu.

Lokalizacja	liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS $\pm$ SE	5-letnie pOS	Test log-rank
Inna	11	120,07 $\pm$ 15,08	0,67 $\pm$ 0,09	p=0,7124
Oczodołowa	3	96,91 $\pm$ 17,78	0,67 $\pm$ 0,16	



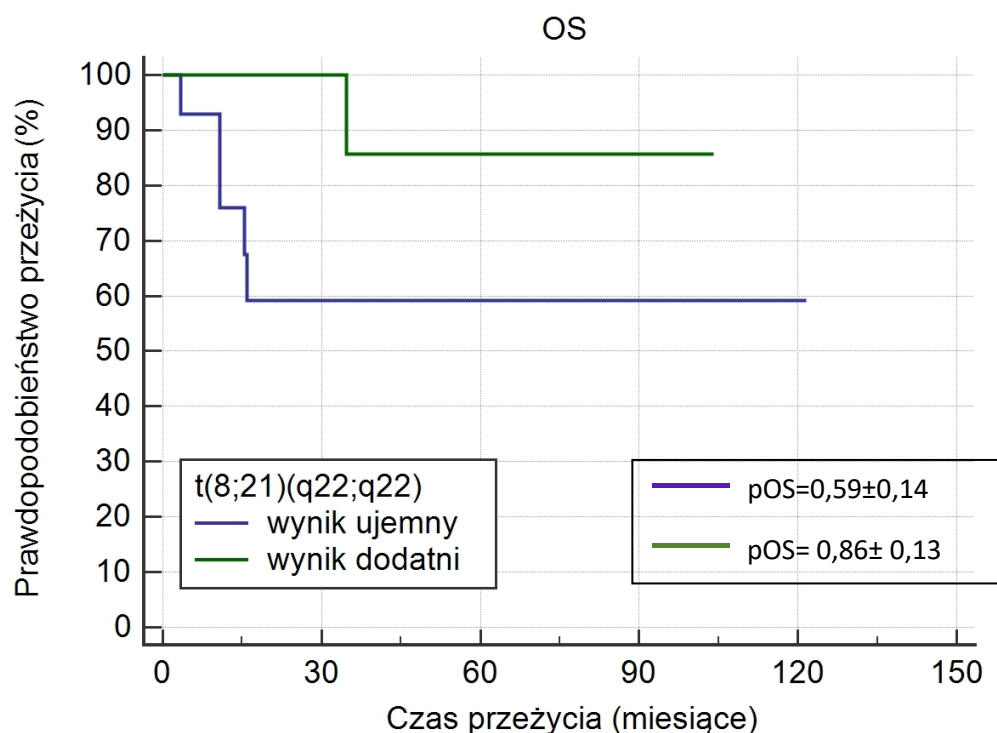
Wykres 9. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) w grupie pacjentów z mięśniakiem granulocytarnym o lokalizacji oczodołowej oraz innej lokalizacji, $p=0,7124$.

4.4.4. Wpływ translokacji t(8;21)(q22;q22) na całkowity czas przeżycia

Nie wykazano istotnego statystycznie wpływu obecności translokacji t(8;21)(q22;q22) na długość całkowitego czasu przeżycia w badanej grupie (porównanie grupy z dodatnim i z ujemnym wynikiem translokacji, $p = 0,0781$). Widoczna jest jednak tendencja do dłuższego całkowitego czasu przeżycia u chorych z obecną translokacją t(8;21)(q22;q22). Dane przedstawiono w Tabeli 23, a prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia w grupie z dodatnim i ujemnym wynikiem translokacji t(8;21)(q22;q22) zobrazowano na Wykresie 10.

Tabela 23. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia w badanej grupie w zależności od obecności translokacji t(8;21)(q22;q22).

t(8;21)(q22;q22)	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS±SE	5-letnie pOS	Test log-rank
Ujemny	5	76,55±15,58	0,59±0,14	p=0,0817
Dodatni	1	94,19±9,18	0,86±0,13	



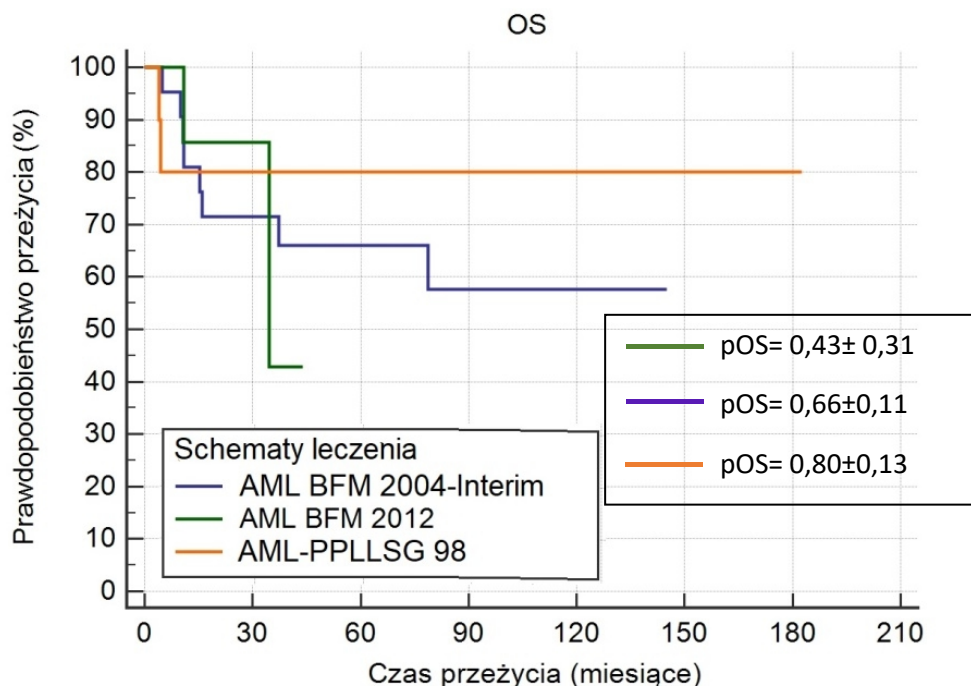
Wykres 10. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) w grupie pacjentów z dodatnim i ujemnym wynikiem translokacji t (8;21)(q22;q22), p=0,0817.

4.4.5. Wpływ zastosowanego schematu terapeutycznego na całkowity czas przeżycia

Nie wykazano istotnej zależności między długością czasu OS, a zastosowanym schematem terapeutycznym: AML-PPLLSG 98, AML BFM 2004 i AML BFM 2012 (AML 2004 z AML 2012 $p=0,9058$, AML 2004 z AML-PPLLSG 98 $p=0,3952$, AML 2012 z AML-PPLLSG 98 $p=0,7566$). Najdłuższy średni czas OS i najwyższe prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia stwierdzono u pacjentów leczonych schematem AML-PPLLSG 98. Średnie czasy OS u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi oraz prawdopodobieństwo przeżycia 5-letniego w danych podgrupach przedstawiono w Tabeli 24, a krzywe prawdopodobieństwa OS w grupie pacjentów leczonych danym schematem widnieją na Wykresie 11.

Tabela 24. Czas całkowitego przeżycia oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia w badanej grupie w zależności od zastosowanego schematu leczenia – AML BFM 2012, AML BFM 2004 i AML-PPLLSG 98.

Schemat leczenia	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS $\pm$ SE	5-letnie pOS
AML BFM 2012	2	35,23 $\pm$ 4,69	0,43 $\pm$ 0,31
AML BFM 2004	8	95,42 $\pm$ 13,73	0,66 $\pm$ 0,11
AML-PPLLSG 98	2	146,93 $\pm$ 22,25	0,80 $\pm$ 0,13



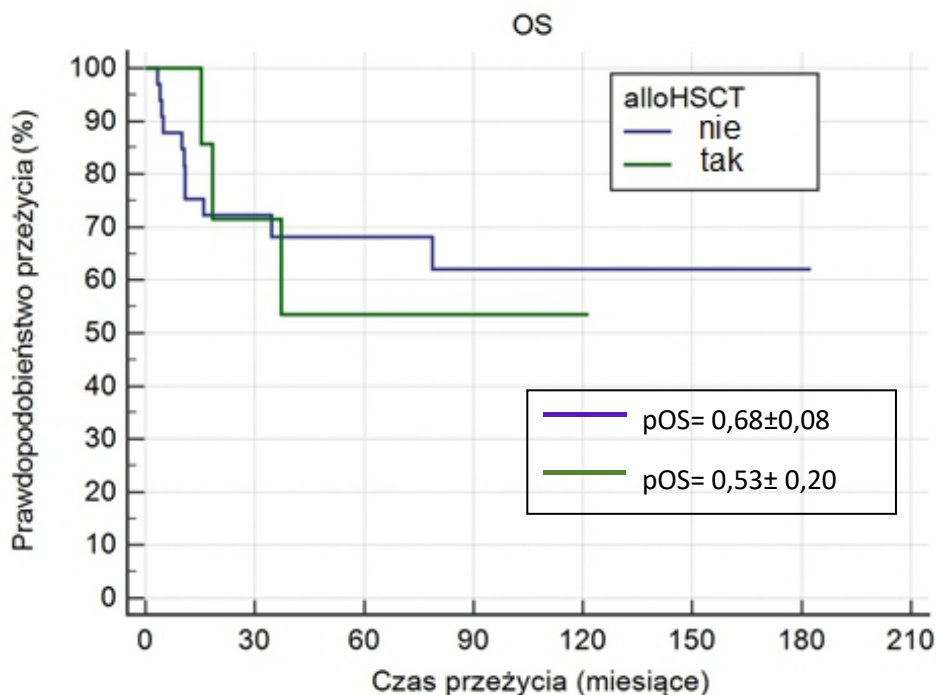
Wykres 11. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi: AML BFM 2004, AML BFM 2012 i AML-PPLLSG 98, $p=0,7566$.

4.4.6. Wpływ allotransplantacji komórek krwiotwórczych na całkowity czas przeżycia (OS)

Średni czas OS w grupie pacjentów, których leczenie nie obejmowało procedury transplantacji komórek krwiotwórczych, był dłuższy niż w grupie pacjentów poddanych alloHSCT. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($p=0,9951$). Średnie czasy całkowitego przeżycia powyższych grup pacjentów przedstawiono w Tabeli 25, a krzywe prawdopodobieństwa OS u tych chorych umieszczono na Wykresie 12.

Tabela 25. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego całkowitego przeżycia (pOS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT.

Allotransplantacja komórek krwiotwórczych nie/tak	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS $\pm$ SE	5-letnie pOS	Test log-rank
Nie	11	121,78 $\pm$ 14,84	0,68 $\pm$ 0,08	$p=0,9951$
Tak	3	76,63 $\pm$ 19,34	0,53 $\pm$ 0,20	



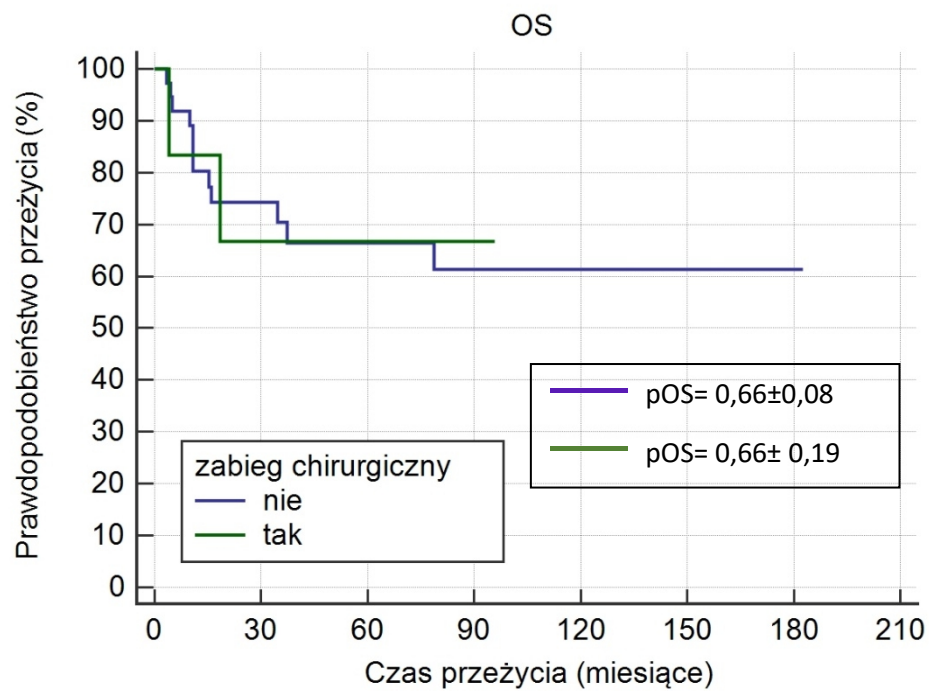
Wykres 12. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów poddanych procedurze alloHSCT oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT, $p=0,9951$.

4.4.7. Wpływ leczenia chirurgicznego na całkowity czas przeżycia (OS)

Nie wykazano istotnego statystycznie wpływu leczenia chirurgicznego u chorych na całkowity czas przeżycia ($p=0,9919$). Dłuższy średni czas przeżycia obserwowano u pacjentów, u których nie zastosowano leczenia chirurgicznego. Średnie czasy OS oraz prawdopodobieństwo OS powyższych chorych przedstawiono w Tabeli 26, a krzywe prawdopodobieństwa OS widoczne są na Wykresie 13.

Tabela 26. Czasy całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5 –letniego przeżycia (pOS) u pacjentów z zabiegiem chirurgicznym i bez leczenia operacyjnego.

Leczenie operacyjne	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS $\pm$ SE	5-letnie pOS	Test log-rank
Nie	12	121,35 $\pm$ 14,24	0,66 $\pm$ 0,08	$p=0,9919$
Tak	2	67,6 $\pm$ 16,37	0,66 $\pm$ 0,19	



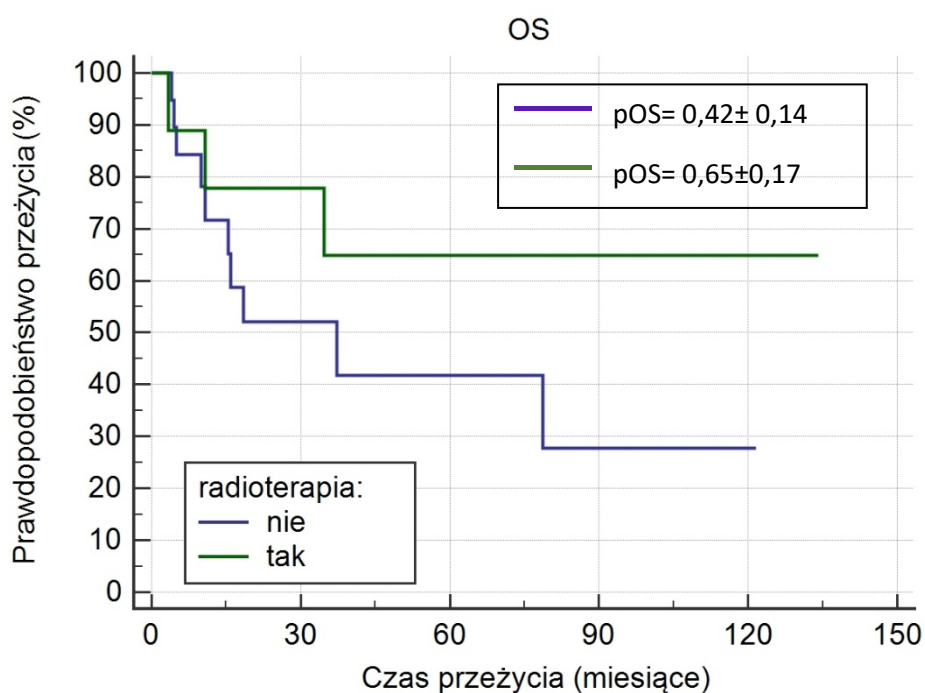
Wykres 13. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów z zabiegiem chirurgicznym i i którzy bez leczenia operacyjnego, $p=0,9919$.

4.4.8. Wpływ radioterapii na całkowity czas przeżycia (OS)

Dłuższy średni czas całkowitego przeżycia OS obserwowano u pacjentów, których leczenie obejmowało radioterapię. Różnica ta nie była jednak istotna statystycznie ($p=0,2401$). Średnie czasy OS u powyższych chorych przedstawiono w Tabeli 27, a krzywe prawdopodobieństwa całkowitego przeżycia umieszczono na Wykresie 14.

Tabela 27. Czasy całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5 –letniego przeżycia (pOS) u pacjentów poddanych radioterapii i bez radioterapii.

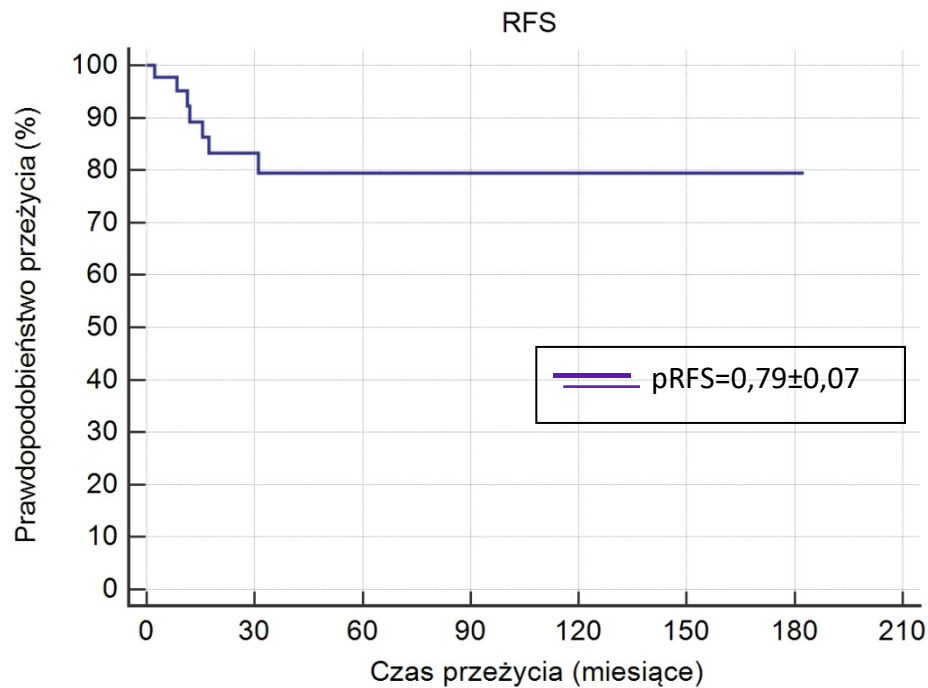
Radioterapia	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia OS $\pm$ SE	5-letnie pOS	Test log-rank
Nie	11	53,88 $\pm$ 13,07	0,42 $\pm$ 0,14	p = 0,2401
Tak	3	92,97 $\pm$ 19,32	0,65 $\pm$ 0,17	



Wykres 14. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów poddanych radioterapii i bez radioterapii, $p=0,2401$.

4.4.9. Czas przeżycia wolny od wznowy (*relapse free survival*) – RFS

W badanej grupie 7 pacjentów miało wznowę. Średni czas przeżycia bez wznowy wynosi RFS 148,09+/-11,77 (miesiące). Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia bez wznowy wynosi $pRFS=0,79\pm0,07$. Prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy dla badanej grupy przedstawiono na Wykresie 15.



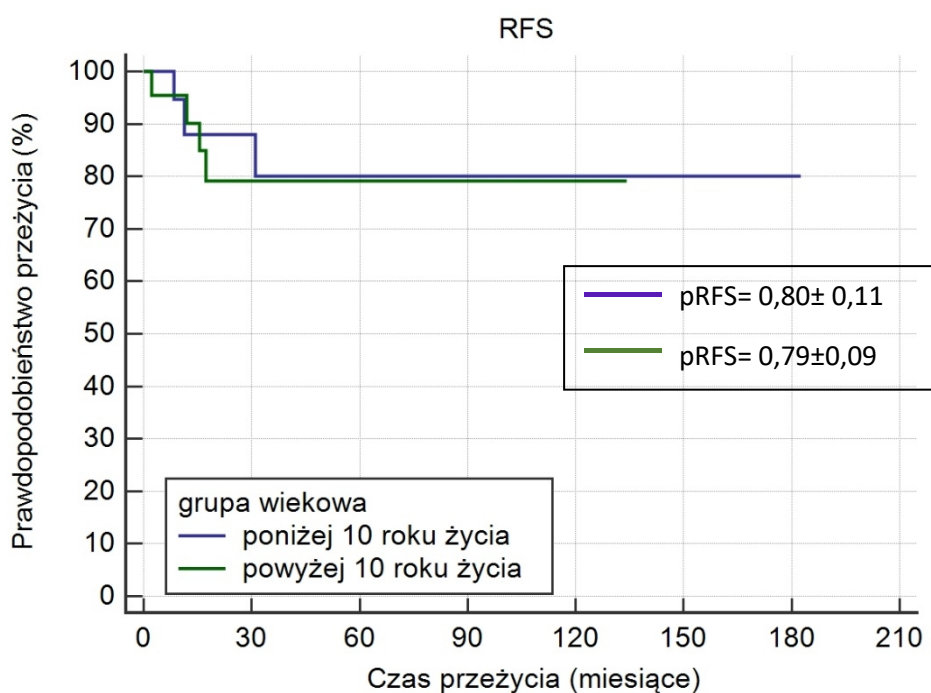
Wykres 15. Prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w badanej grupie.

4.4.10. Czas przeżycia wolnego od wznowy w grupach wiekowych

Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w długości czasu przeżycia wolnego od wznowy (RFS) pomiędzy grupami wiekowymi poniżej i powyżej 10 lat. Średni czas RFS w grupie osób poniżej 10 roku życia jest dłuższy niż w grupie osób powyżej 10 roku życia, ale nie jest to różnica istotna statystycznie ($p=0,8613$). Czasy RFS oraz prawdopodobieństwo 5 – letniego przeżycia bez wznowy (pRFS) w badanych grupach wiekowych przedstawiono w Tabeli 28. Wykres 16 obrazuje krzywe RFS w badanych grupach wiekowych.

Tabela 28. Czas przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia bez wznowy (pRFS) w badanych grupach wiekowych.

Wiek	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS $\pm$ SE	5-letnie pRFS	Test log-rank
<10	3	149,72 $\pm$ 17,25	0,80 $\pm$ 0,11	p=0,8613
>10	4	108,74 $\pm$ 11,34	0,79 $\pm$ 0,09	



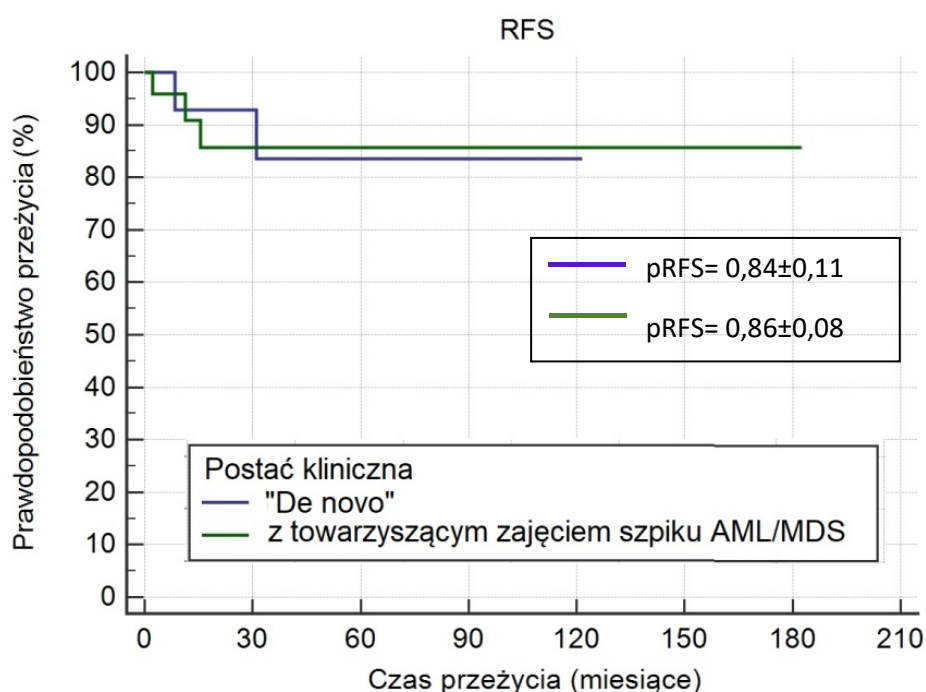
Wykres 16. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w zakresach wiekowych poniżej i powyżej 10 lat, $p=0,8613$.

4.4.11. Czas przeżycia wolnego od wznowy w zależności od postaci klinicznej MG

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między czasem RFS w grupie pacjentów z postacią *de novo* MG, a czasem RFS w grupie z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS ($p = 0,9846$), chociaż średni czas przeżycia bez wznowy jest dłuższy u pacjentów z rozpoznaniem MG z towarzyszącym zajęciem szpiku kostnego. Dane przedstawiono w Tabeli 29. Wykres 17 przedstawia krzywe RFS w postaci klinicznej izolowanego MG (*de novo*) oraz MG z towarzyszącym zajęciem szpiku.

Tabela 29. Czas przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznow (pRFS) w zależności od postaci klinicznej MG- postać *de novo* i postać z towarzyszącym zajęciem szpiku- AML/MDS.

Postać kliniczna MG	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS $\pm$ SE	5-letnie pRFS	Test log- rank
<i>De novo</i>	2	105,10 $\pm$ 10,73	0,84 $\pm$ 0,11	p=0,9846
Z towarzyszącym zajęciem szpiku AML/MDS	3	158,03 $\pm$ 13,19	0,86 $\pm$ 0,08	



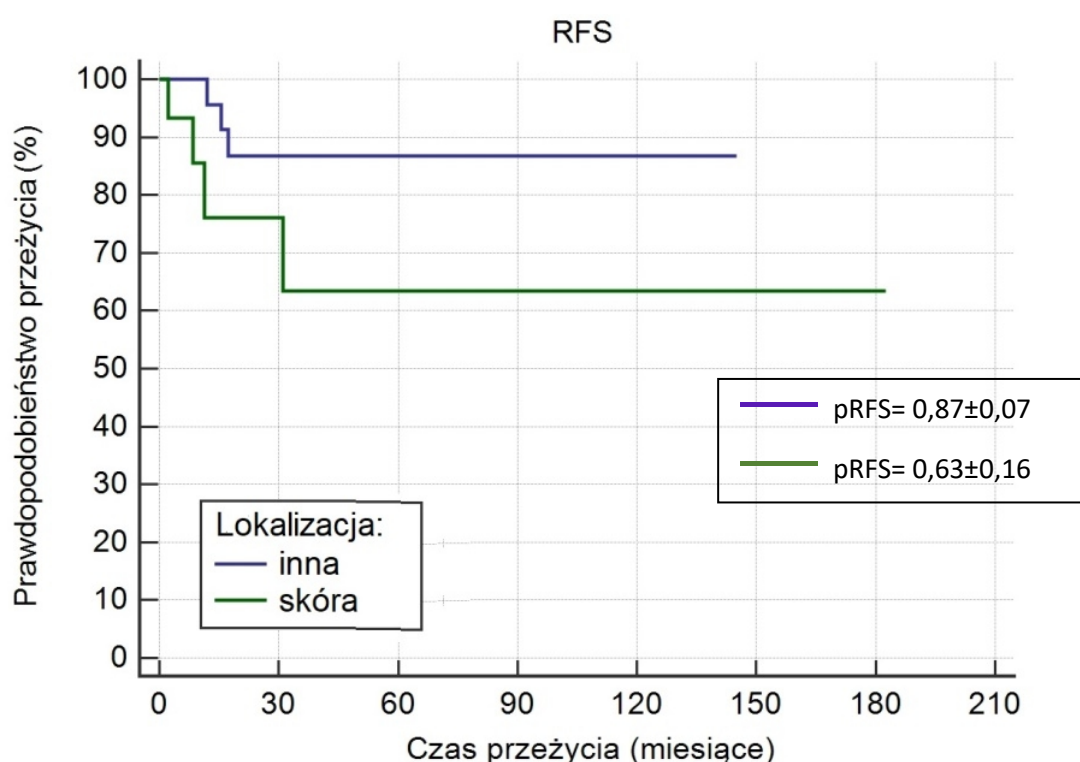
Wykres 17. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w zależności od postaci klinicznej MG, $p=0,9846$.

4.4.12. Wpływ lokalizacji MG na czas przeżycia wolnego od wznowy

Prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy jest krótsze u pacjentów prezentujących skórną postać MG niż u pacjentów z MG stwierdzonym w innej lokalizacji. Różnica ta jednak nie jest istotna statystycznie ($p=0,0981$). Dane przedstawiono w Tabeli 30. Krzywe RFS u tych chorych umieszczono na Wykresie 18.

Tabela 30. Czas przeżycia wolny od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów z MG zlokalizowanym w skórze oraz w innej lokalizacji.

Lokalizacja	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS $\pm$ SE	5-letnie pRFS	Test log-rank
Inna	3	127,76 $\pm$ 9,28	0,87 $\pm$ 0,07	p=0,0981
Skóra	4	121,54 $\pm$ 25,38	0,63 $\pm$ 0,16	

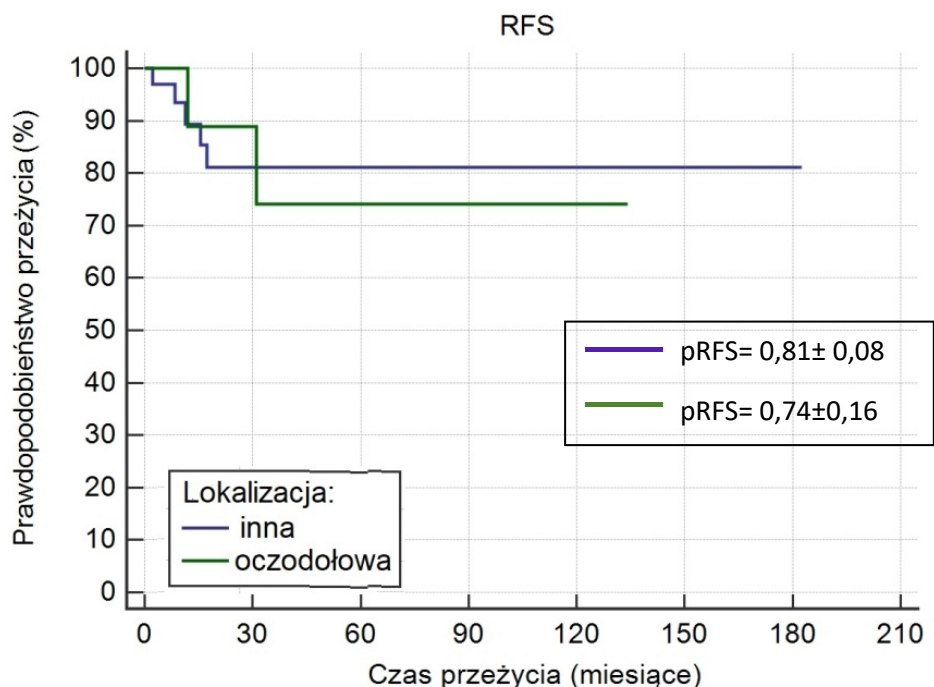


Wykres 18. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w grupie pacjentów z lokalizacją MG w skórze i o innej lokalizacji, $p=0,0981$.

Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy czasem przeżycia wolnego od wznowy (RFS) u pacjentów z lokalizacją oczodołową MG, oraz pacjentów z MG w innej lokalizacji ($p=0,9559$). Krótszy średni czas przeżycia bez wznowy oraz mniejsze prawdopodobieństwo przeżycia bez wznowy stwierdzono u pacjentów z MG o lokalizacji oczodołowej. Powyższe dane przedstawia Tabela 31. Krzywe przeżycia RFS powyższych grup pacjentów umieszczono na Wykresie 19.

Tabela 31. Czas przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów z MG zlokalizowanym w oczodole oraz w innej lokalizacji.

Lokalizacja	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS $\pm$ SE	5-letnie pRFS	Test log-rank
Inna	5	150,16 $\pm$ 13,18	0,81 $\pm$ 0,08	p=0,9559
Oczodołowa	2	105,25 $\pm$ 17,76	0,74 $\pm$ 0,16	



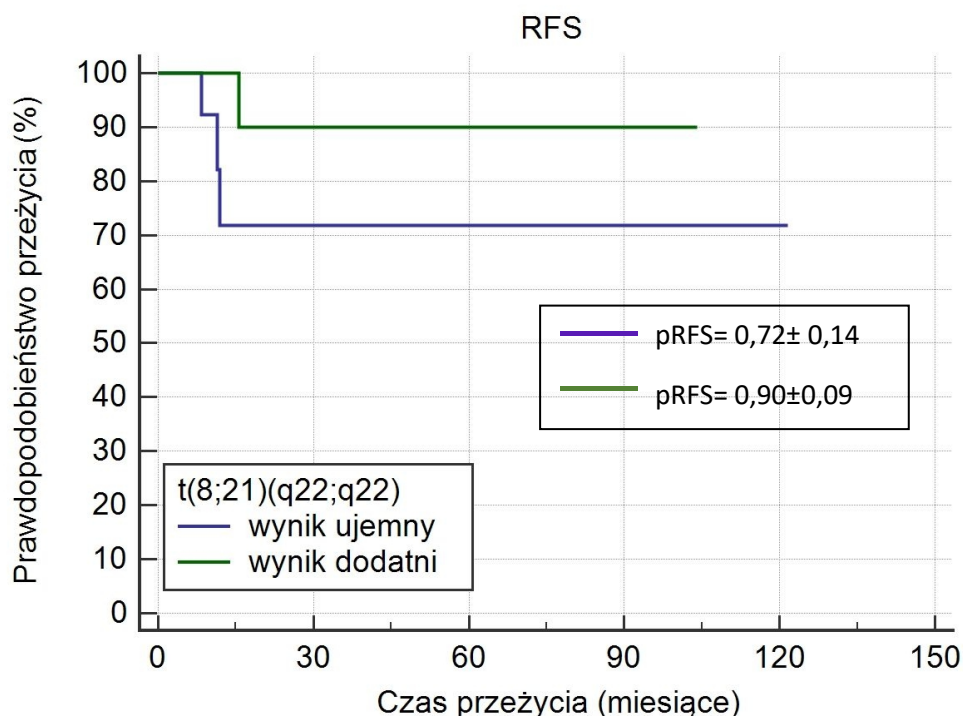
Wykres 19. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w grupie pacjentów z lokalizacją oczodołową MG i inną, $p=0,9559$.

4.4.13. Wpływ translokacji t(8;21)(q22;q22) na czas przeżycia wolny od wznowy (RFS)

Nie wykazano istotnego statystycznie wpływu obecności translokacji t(8;21)(q22;q22) na długość czasu RFS w badanej grupie (porównanie grupy z dodatnim i z ujemnym wynikiem, $p=0,2597$). Większe prawdopodobieństwo 5 –letniego przeżycia bez wznowy stwierdzono u pacjentów z dodatnim wynikiem translokacji t(8;21)(q22;q22). Dane przedstawiono w Tabeli 32. Krzywe przeżycia RFS u chorych w zależności od obecności t(8;21)(q22;q22) umieszczono na Wykresie 20.

Tabela 32. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w badanej grupie w zależności od obecności translokacji (8;21)(q22;q22).

t(8;21)(q22;q22)	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS±SE	5-letnie pRFS	Test log-rank
Ujemny	3	90,34±15,52	0,72±0,14	p=0,2654
Dodatni	1	95,25±8,39	0,90±0,09	



Wykres 20. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w grupie pacjentów z obecną t(8;21)(q22;q22) lub jej brakiem, $p=0,2654$.

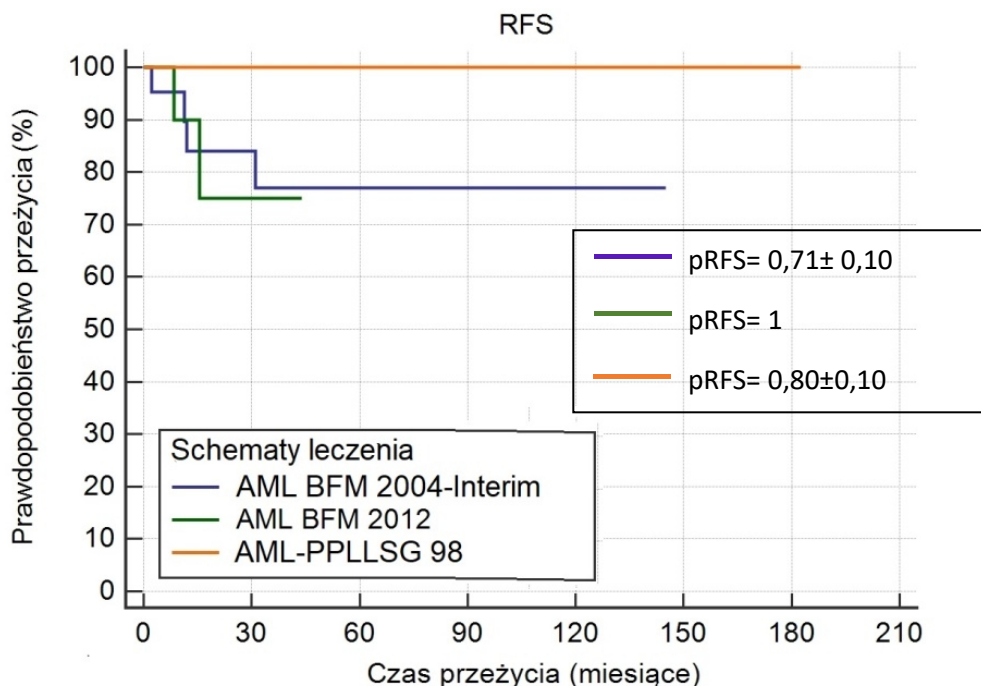
4.4.14. Wpływ zastosowanego schematu terapeutycznego na czas przeżycia wolny od wznowy (RFS)

Nie wykazano istotnej zależności między czasem RFS, a zastosowanym schematem terapeutycznym: AML-PPLLSG 98, AML BFM 2004 i AML BFM 2012. Największe prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia bez wznowy prezentowali chorzy leczeni schematem AML-PPLLSG 98. Średnie czasy RFS u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy w danych podgrupach przedstawiono w Tabeli 33. Na Wykresie 21 umieszczono krzywe RFS w tych podgrupach chorych.

Tabela 33. Czas przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w badanej grupie w zależności od zastosowanego schematu leczenia.

Schemat leczenia	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS±SE	5-letnie pRFS
AML BFM 2004	2	115,28±13,18	0,77±0,10
AML BFM 2012	4	36,11±4,85	1
AML-PPLLSG 98	0	182,60±0	0,80±0,10

AML 2004 z AML 2012 $p=0,7369$, AML 2004 z ANL 98 $p=0,1393$, AML 2012 z ANL 98 $p=0,1479$



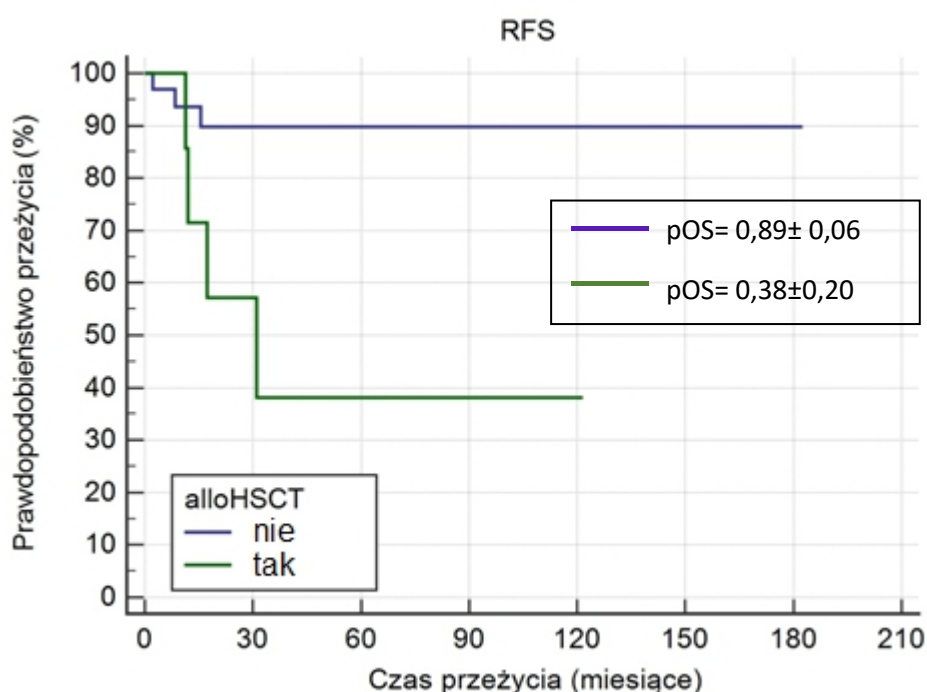
Wykres 21. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi – ANLL 98, AML BFM 2004, AML BFM 2012.

4.4.15. Wpływ allotransplantacji komórek krwiotwórczych na czas wolny od wznowy (RFS)

Średni czas RFS u pacjentów, których leczenie nie obejmowało procedury transplantacji komórek krwiotwórczych, był istotnie dłuższy od czasu RFS pacjentów, którzy byli poddani alloHSCT ($p=0,0124$). Czasy RFS oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w powyższych grupach pacjentów przedstawiono w Tabeli 34, a krzywe prawdopodobieństwa RFS u tych chorych widoczne są na Wykresie 22.

Tabela 34. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT.

alloHSCT tak/nie	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS $\pm$ SE	5-letnie pRFS	Test log- rank
Nie	3	164,79 $\pm$ 9,79	0,89 $\pm$ 0,06	p=0,0124
Tak	4	58,04 $\pm$ 20,27	0,38 $\pm$ 0,20	



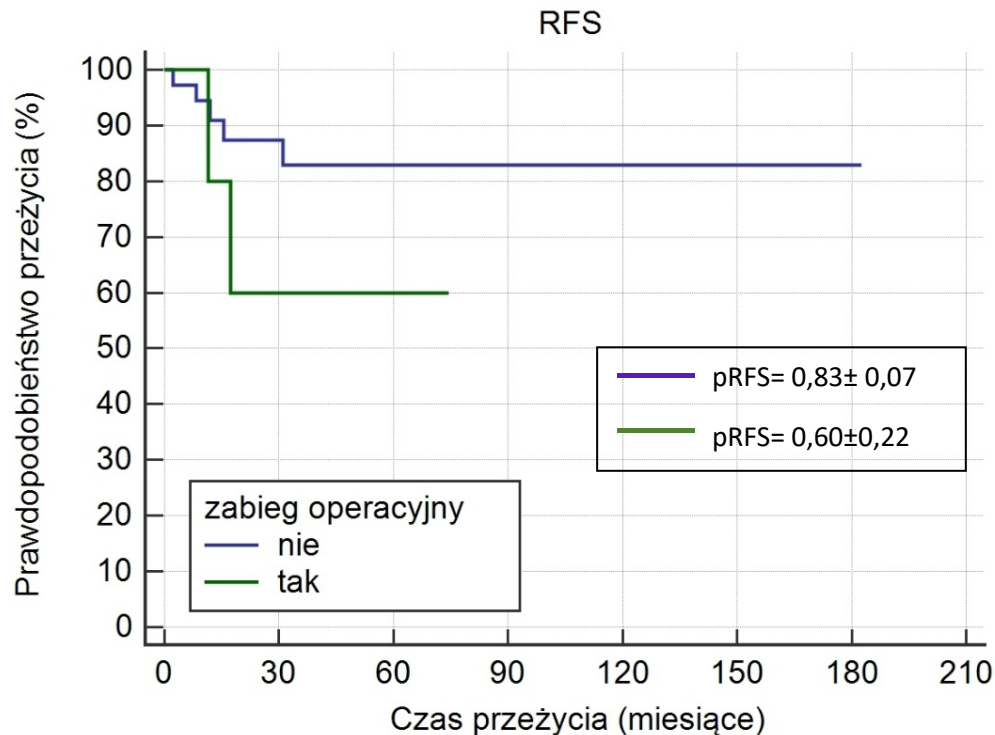
Wykres 22. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT, p=0,0124.

4.4.16. Wpływ leczenia chirurgicznego na czas przeżycia wolny od wznowy (RFS)

Średni czas przeżycia RFS u pacjentów, których leczenie nie obejmowało zabiegu chirurgicznego, był dłuższy, niż czas przeżycia RFS pacjentów, którzy byli leczeni operacyjnie. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($p=0,2567$). Czasy przeżycia RFS oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) przedstawiono w Tabeli 35, a krzywe prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u tych chorych widoczne są na Wykresie 23.

Tabela 35. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów z zabiegiem chirurgicznym i bez leczenia operacyjnego.

Leczenie operacyjne	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS $\pm$ SE	5-letnie pRFS	Test log-rank
Nie	5	153,95 $\pm$ 11,87	0,83 $\pm$ 0,07	p=0,2567
Tak	2	50,4 $\pm$ 13,17	0,60 $\pm$ 0,22	



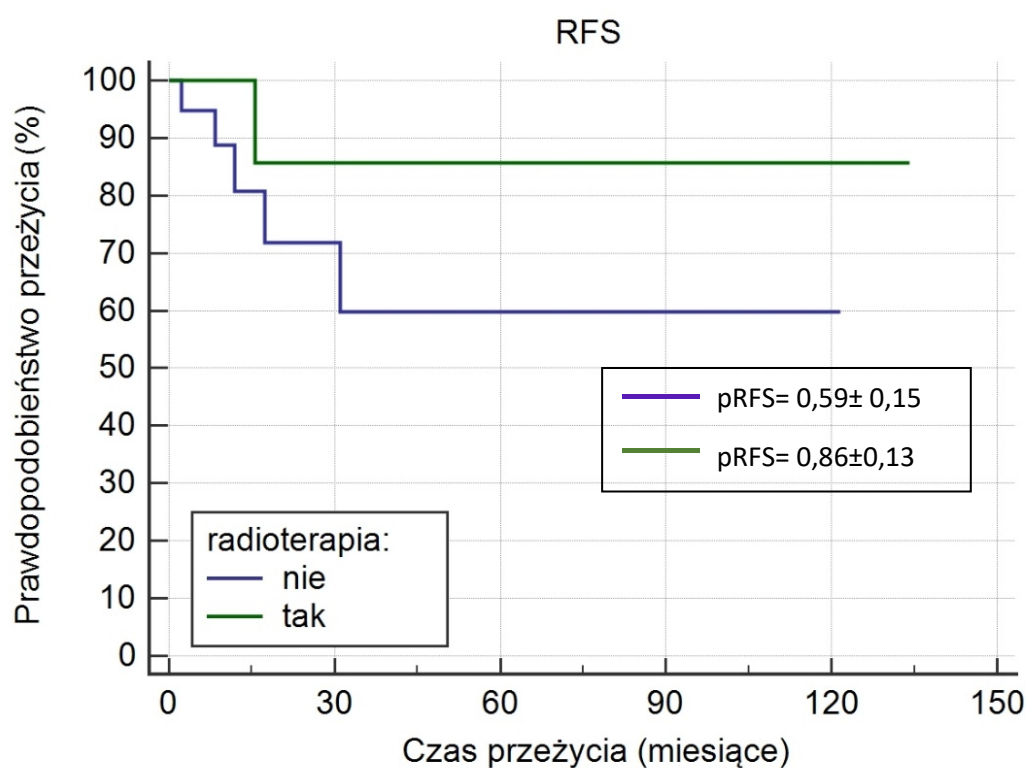
Wykres 23. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów, których leczenie nie obejmowało zabiegu chirurgicznego, oraz pacjentów, którzy byli leczeni operacyjnie, $p=0,2567$.

4.4.17. Wpływ radioterapii na czas wolny od wznowy (RFS)

Średni czas RFS u pacjentów, których leczenie obejmowało radioterapię był dłuższy, niż czas RFS pacjentów, których nie napromieniano. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($p=0,2696$). Czasy RFS oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) przedstawiono w Tabeli 36, a krzywe prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u tych chorych ujęto na Wykresie 24.

Tabela 36. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów których leczenie obejmowało radioterapię, oraz pacjentów, którzy nie zostali poddani radioterapii.

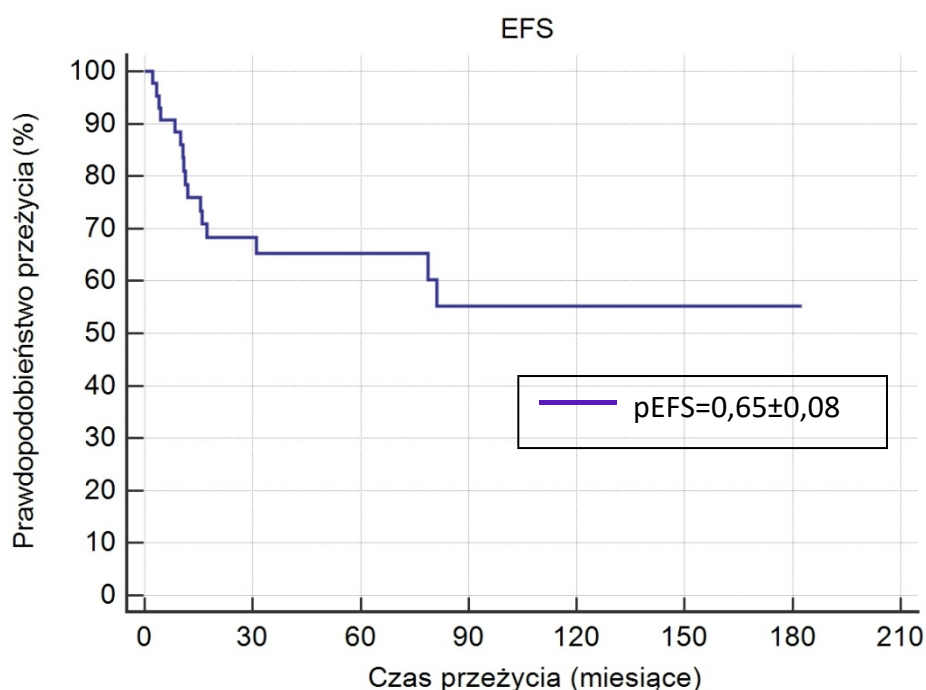
Radioterapia	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia RFS $\pm$ SE	5-letnie pRFS	Test log-rank
Nie	5	79,58 $\pm$ 15,36	0,59 $\pm$ 0,15	p=0,2696
Tak	1	117,17 $\pm$ 15,67	0,86 $\pm$ 0,13	



Wykres 24. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (RFS) u pacjentów których leczenie obejmowało radioterapię, oraz pacjentów, którzy nie odbyli radioterapii, p=0,2696.

4.4.18. Czas wolny od zdarzeń – *event free survival* – (EFS)

W przeprowadzonej analizie, za zdarzenie uznano: wznowę choroby, progresję choroby, zgon i drugi nowotwór. W badanej grupie 16 osób miało zdarzenie. Średni czas przeżycia wolny od zdarzeń wynosi EFS - $112,82 \pm 13,52$ (miesiące). Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń w całej grupie wynosi $pEFS = 0,65 \pm 0,08$. Wykres 25 przedstawia krzywą prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od wznowy (pEFS) w badanej grupie.



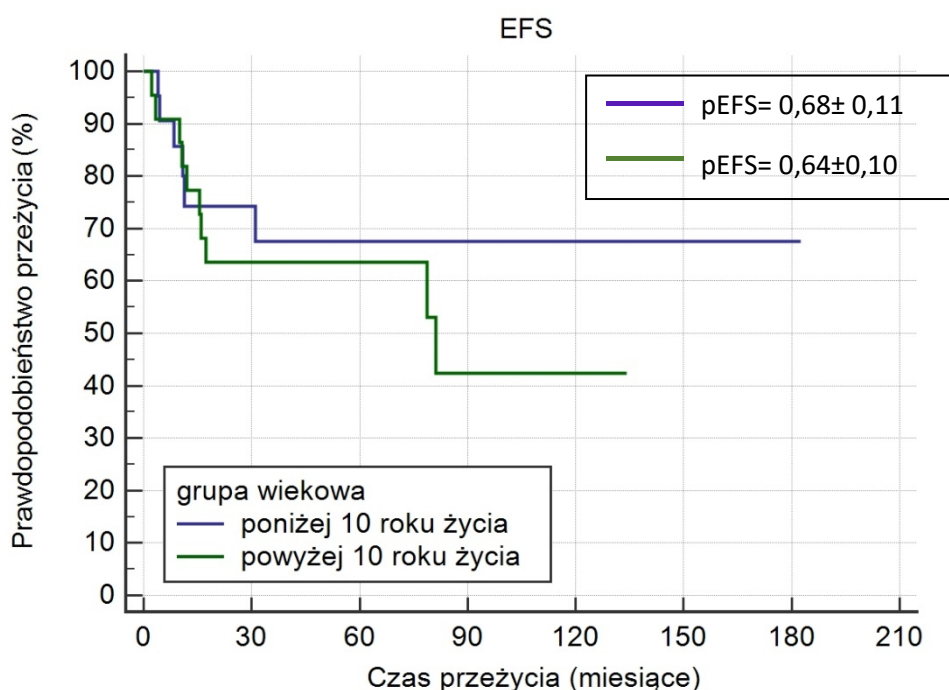
Wykres 25. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanej grupie.

4.4.19. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) w grupach wiekowych

Nie wykazano różnicy w długości czasu EFS pomiędzy grupami wiekowymi poniżej i powyżej 10 lat. Średnia przeżycia wolnego od zdarzeń jest dłuższa u pacjentów < 10 roku życia niż w grupie > 10 lat, ale nie jest to różnica istotna statystycznie ($p = 0,8613$). Czasy EFS oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanych grupach wiekowych przedstawiono w Tabeli 37; Wykres 26 obrazuje krzywe prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w poszczególnych grupach wiekowych.

Tabela 37. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w poszczególnych grupach wiekowych.

Wiek	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS $\pm$ SE	5-letnie pEFS	Test log-rank
<10	6	127,49 $\pm$ 18,81	0,68 $\pm$ 0,11	p=0,8613
>10	10	77,79 $\pm$ 12,68	0,64 $\pm$ 0,10	



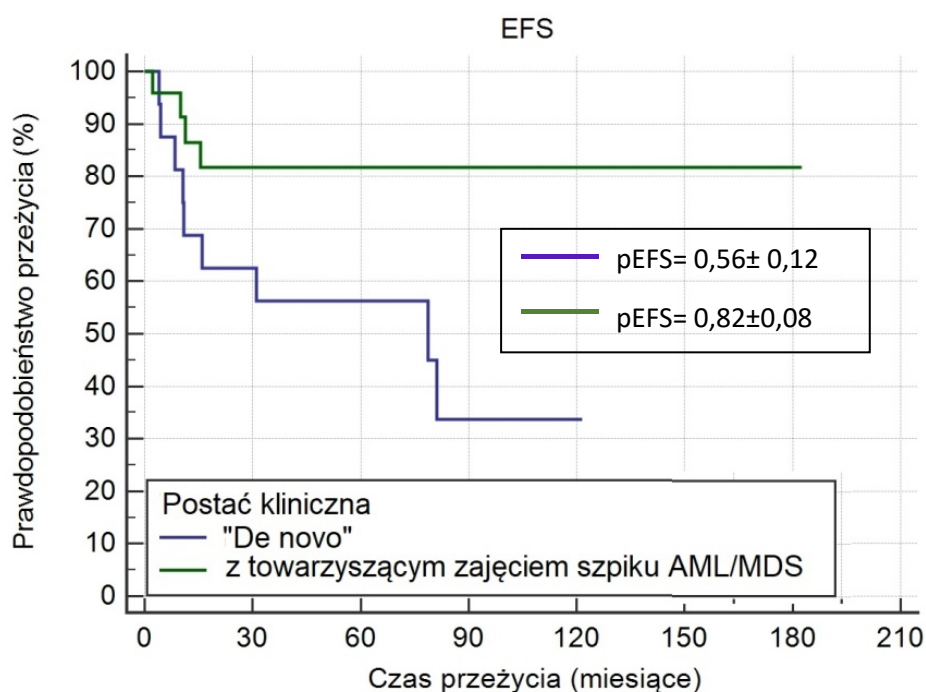
Wykres 26. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanych grupach wiekowych (poniżej i powyżej 10 lat), p=0,8613.

4.4.20. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) w zależności od postaci klinicznej MG

Czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS) był istotnie dłuższy w grupie pacjentów z MG z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS niż w grupie pacjentów postacią *de novo* MG (p=0,0247). Dane przedstawiono w Tabeli 38. Na Wykresie 27 przedstawiono krzywe prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w postaci klinicznej *de novo* MG oraz MG z towarzyszącym zajęciem szpiku.

Tabela 38. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) i prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w zależności od postaci klinicznej MG – postać *de novo* i postać z towarzyszącym zajęciem szpiku – AML/MDS.

Postać kliniczna MG	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS $\pm$ SE	5-letnie pEFS	Test log-rank
<i>De novo</i>	9	64,36 $\pm$ 12,68	0,56 $\pm$ 0,12	p=0,0247
Z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS	4	150,97 $\pm$ 14,34	0,82 $\pm$ 0,08	



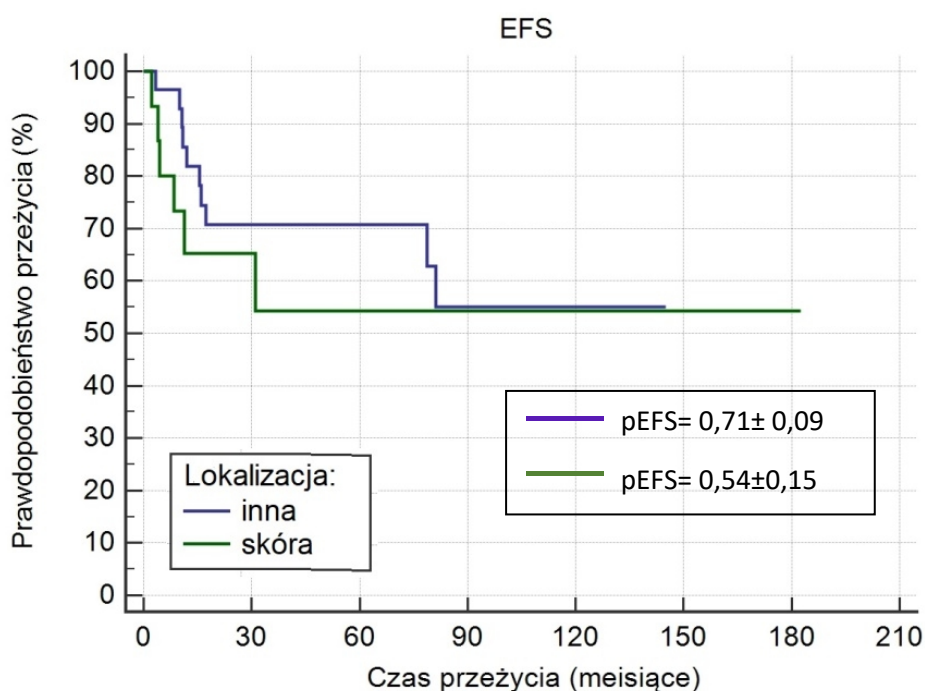
Wykres 27. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w zależności od postaci klinicznej MG – postać *de novo* i postać z towarzyszącym zajęciem szpiku – AML/MDS, p=0,0247.

4.4.21. Wpływ lokalizacji MG na czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS)

Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy czasem EFS u pacjentów z lokalizacją MG w skórze, oraz pacjentów z MG w innej lokalizacji ($p=0,4809$). Dane przedstawiono w Tabeli 39, a na Wykresie 28 widoczne są krzywe prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) powyższych pacjentów.

Tabela 39. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) i prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów z MG zlokalizowanym w skórze oraz w innej lokalizacji.

Lokalizacja	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS $\pm$ SE	5-letnie pEFS	Test log-rank
Skóra	6	104,77 $\pm$ 24,37	0,54 $\pm$ 0,15	$p=0,4809$
Inna	10	95,79 $\pm$ 12,16	0,71 $\pm$ 0,09	

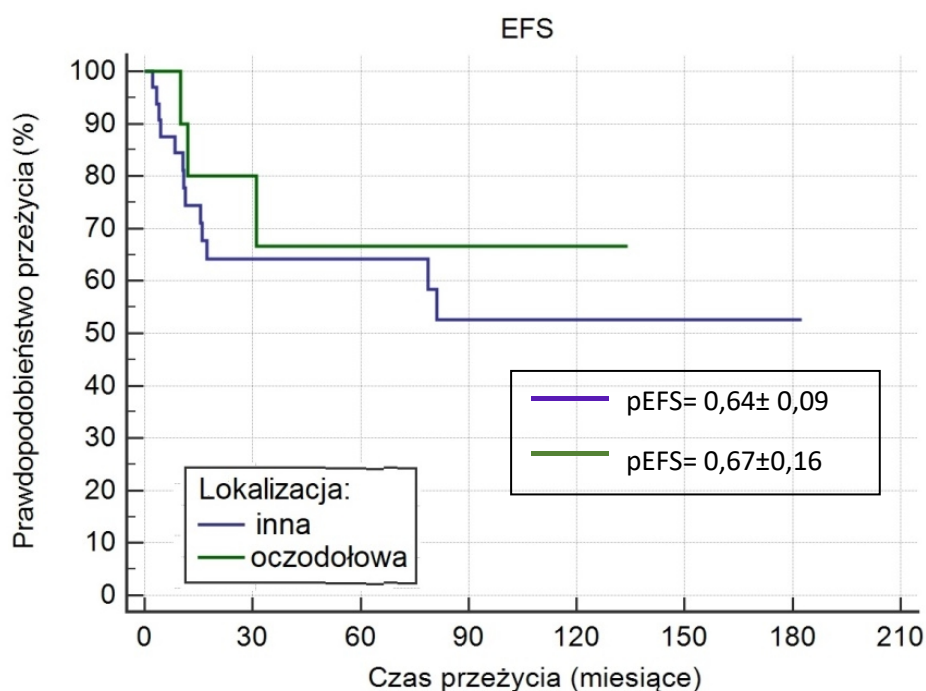


Wykres 28. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) w zależności od lokalizacji MG – grupa pacjentów z zajęciem skóry i pozostali pacjenci z MG o innej lokalizacji, $p=0,4809$.

Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) był krótszy u pacjentów z MG o lokalizacji oczodołowej niż u chorych z MG w innej lokalizacji. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($p=0,5123$). Dane przedstawiono w Tabeli 40. Krzywe przeżycia EFS pacjentów z MG o lokalizacji oczodołowej i innej przedstawia Wykres 29.

Tabela 40. Czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów z MG zlokalizowanym w oczodole oraz w innej lokalizacji.

Lokalizacja	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS $\pm$ SE	5-letnie pEFS	Test log-rank
Inna	13	108,74 $\pm$ 15,43	0,64 $\pm$ 0,09	p=0,5123
Oczodół	3	95,72 $\pm$ 18,36	0,67 $\pm$ 0,16	



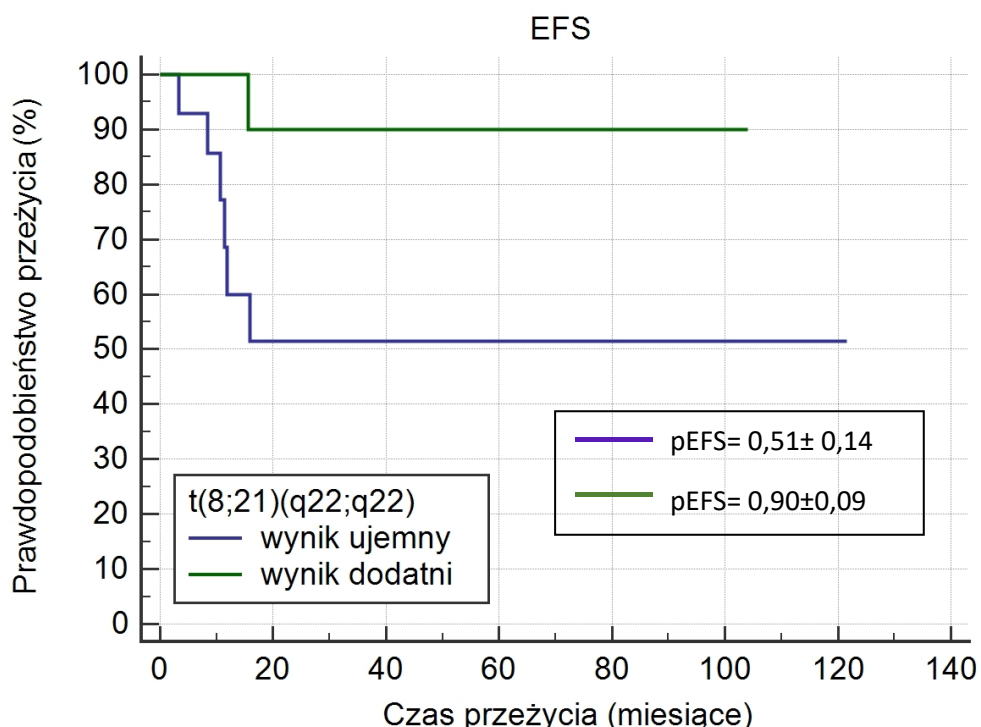
Wykres 29. Prawdopodobieństwo 5-letniego EFS w zależności od lokalizacji MG – grupa pacjentów z lokalizacją oczodołową i pozostali pacjenci z MG o innej lokalizacji, $p=0,5123$.

4.4.22. Wpływ translokacji t(8;21)(q22;q22) na czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS)

Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) był istotnie dłuższy u pacjentów z obecną translokacją t(8;21)(q22;q22), w porównaniu do czasu EFS u pacjentów z ujemnym wynikiem translokacji t(8;21)(q22;q22) (**p=0,0490**). Długość czasu przeżycia wolnego od zdarzeń i prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń w zależności od obecności translokacji t(8;21)(q22;q22) przedstawiono w Tabeli 41, a krzywe prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) widoczne są na Wykresie 30.

Tabela 41. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanej grupie w zależności od obecności translokacji t(8;21)(q22;q22).

t(8;21)(q22;q22)	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS ±SE	5-letnie pEFS	Test log-rank
Ujemny	6	67,65±15,99	0,51±0,14	p=0,0490
Dodatni	1	95,25±8,39	0,90±0,09	



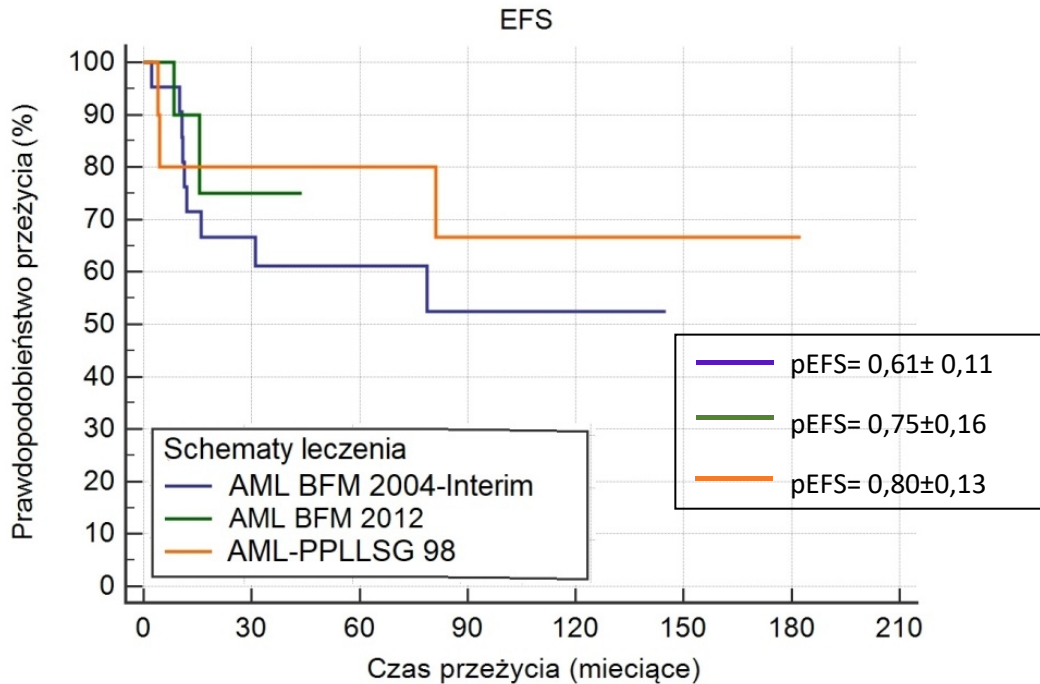
Wykres 30. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w grupie pacjentów z obecną t(8;21)(q22;q22) lub jej brakiem, p=0,0490.

4.4.23. Wpływ zastosowanego schematu terapeutycznego na czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS)

Nie wykazano istotnej statystycznie zależności między czasem EFS w badanej grupie, a zastosowanym schematem terapeutycznym: AML-PPLLSG 98, AML BFM 2004 i AML BFM 2012 (AML BFM 2004 z AML BFM 2012 $p=0,6733$, AML BFM 2004 z AML-PPLLSG 98 $p=0,4486$, AML BFM 2012 z AML-PPLLSG 98 $p=0,9924$). Najdłuższy czas przeżycia wolnego od zdarzeń i największe prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia bez zdarzeń stwierdzono u pacjentów leczonych schematem AML-PPLLSG 98. Średnie czasy EFS u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w danych podgrupach przedstawiono w Tabeli 42. Wykres 31 obrazuje krzywe prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi.

Tabela 42. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanej grupie w zależności od zastosowanego schematu leczenia.

Schemat leczenia	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS $\pm$ SE	5-letnie pEFS
AML BFM 2004	9	88,03 $\pm$ 14,25	0,61 $\pm$ 0,11
AML BFM 2012	2	36,11 $\pm$ 4,85	0,75 $\pm$ 0,16
AML-PPLLSG 98	3	133,40 $\pm$ 23,87	0,80 $\pm$ 0,13



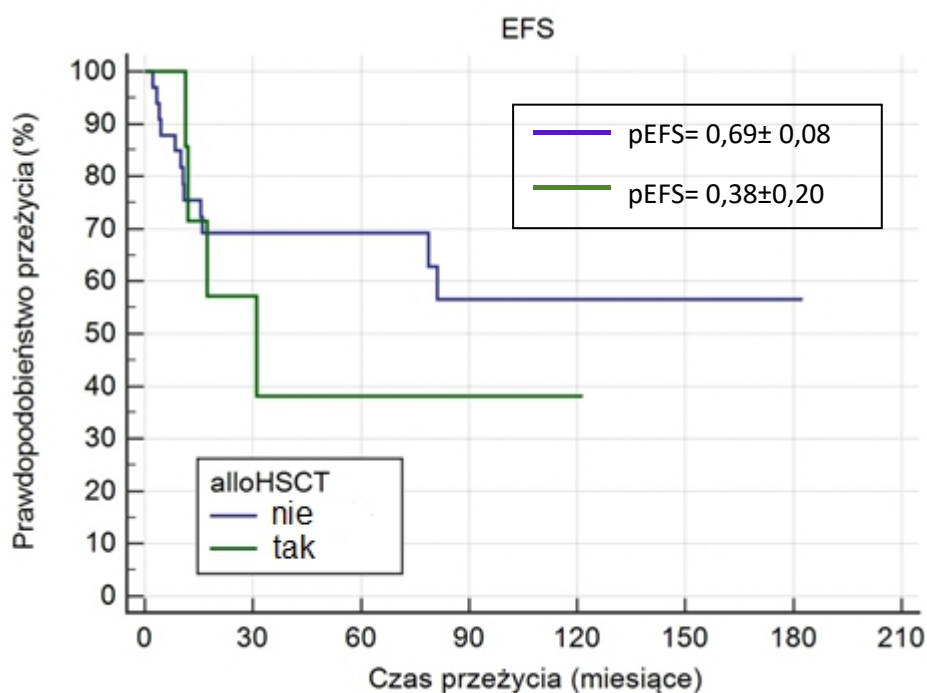
Wykres 31. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi: AML BFM 2004-Interim, AML BFM 2012, AML-PPLSG 98.

4.4.24. Wpływ allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych na czas wolny od zdarzeń (EFS)

Średni czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS) u pacjentów, których leczenie nie obejmowało procedury allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych, był dłuższy od czasu EFS pacjentów, którzy byli poddani alloHSCT. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($p=0,6327$). Dane przedstawiono w Tabeli 43, a krzywe prawdopodobieństwa EFS u tych chorych widoczne są na Wykresie 32.

Tabela 43. Czasy przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT.

Allotransplantacja komórek krwiotwórczych nie/tak	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS $\pm$ SE	5-letnie pEFS	Test log-rank
Nie	12	115,99 $\pm$ 15,09	0,69 $\pm$ 0,08	p=0,6327
Tak	4	58,04 $\pm$ 20,27	0,38 $\pm$ 0,20	



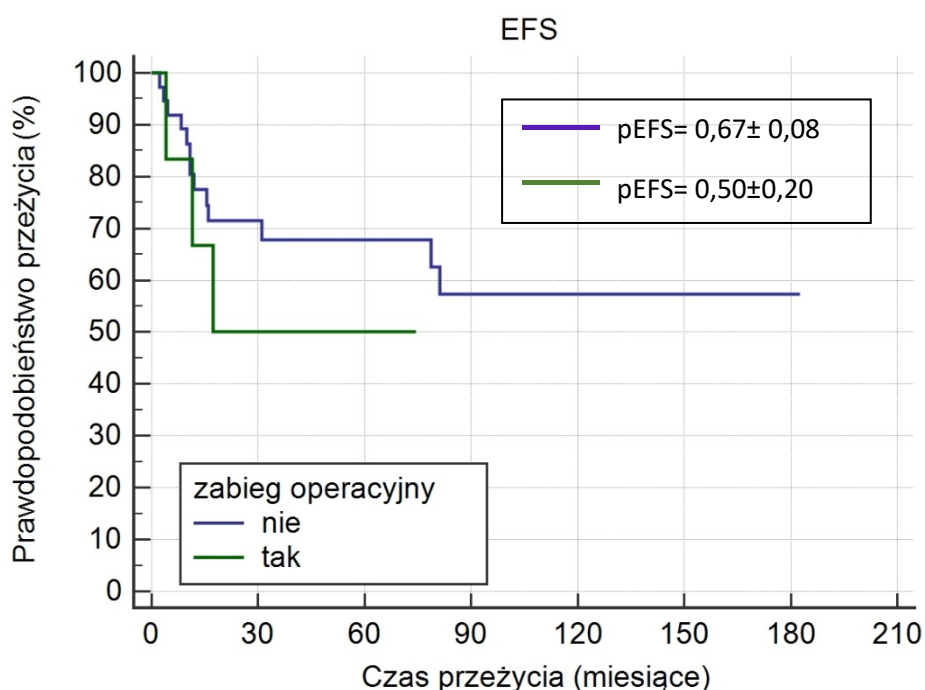
Wykres 32. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT, p=0,6327.

4.4.25. Wpływ leczenia chirurgicznego na czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS)

Średni czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS) pacjentów, których leczenie nie obejmowało zabiegu chirurgicznego, był dłuższy, niż czas EFS pacjentów, którzy byli leczeni operacyjnie. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($p=0,4181$). Czasy te przedstawiono w Tabeli 44, a krzywe prawdopodobieństwa EFS u tych chorych widoczne są na Wykresie 33.

Tabela 44. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) pacjentów których leczenie nie obejmowało zabiegu chirurgicznego oraz pacjentów, którzy byli leczeni operacyjnie.

Leczenie operacyjne	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS $\pm$ SE	5-letnie pEFS	Test log-rank
Nie	13	116,89 $\pm$ 14,32	0,67 $\pm$ 0,08	p=0,4181
Tak	3	42,67 $\pm$ 13,05	0,50 $\pm$ 0,20	



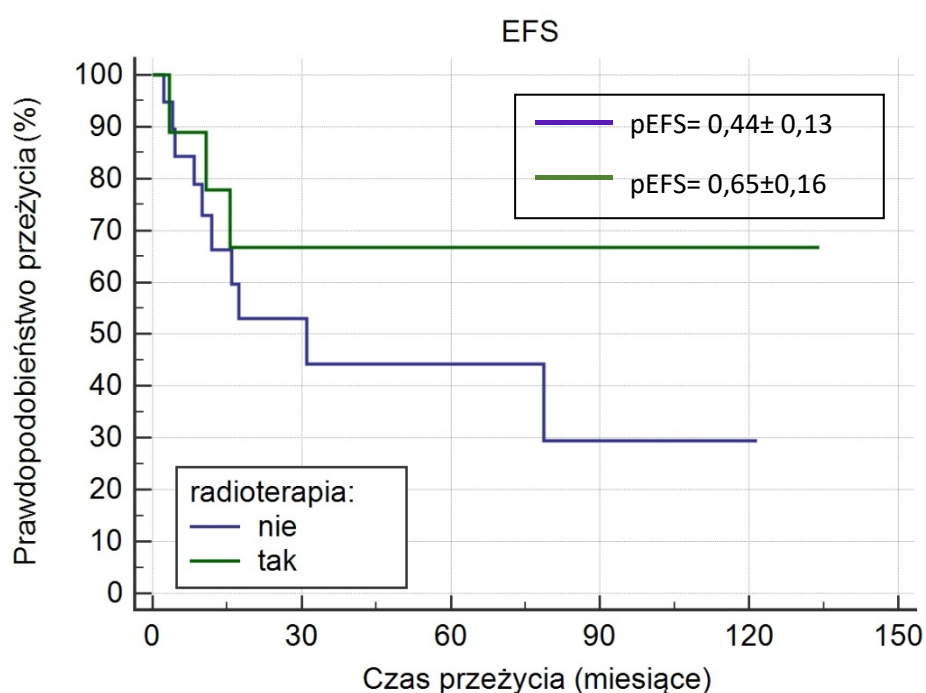
Wykres 33. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów których leczenie nie obejmowało zabiegu chirurgicznego, oraz pacjentów, którzy byli leczeni operacyjnie, $p=0,4181$.

4.4.26. Wpływ radioterapii na czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS)

Średni czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS) u pacjentów, których leczenie obejmowało radioterapię był dłuższy, niż czas EFS pacjentów, którzy nie zostali poddani radioterapii. Różnica ta jednak nie była istotna statystycznie ($p=0,2924$). Dane przedstawiono w Tabeli 45, a krzywe prawdopodobieństwa EFS u tych chorych widoczne są na Wykresie 34.

Tabela 45. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (EFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów, których leczenie obejmowało radioterapię, oraz pacjentów, którzy nie zostali poddani radioterapii.

Radioterapia	Liczba zdarzeń	Czas przeżycia EFS $\pm$ SE	5-letnie pEFS	Test log-rank
Nie	10	54,74 $\pm$ 13,18	0,44 $\pm$ 0,13	p=0,2924
Tak	3	92,69 $\pm$ 19,55	0,65 $\pm$ 0,16	



Wykres 34. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów których leczenie obejmowało radioterapię, oraz pacjentów, którzy nie zostali poddani radioterapii, $p=0,2924$.

4.5. Charakterystyka wznów

U 7 chorych w badanej grupie doszło do wznowy choroby. W 4 przypadkach była to wznowa mieszana - pozaszpikowa oraz szpikowa, u 2 chorych izolowana wznowa pozaszpikowa, u 1 chorego izolowana wznowa szpikowa. Spośród w sumie 6 pacjentów ze wznową pozaszpikową, u 5 chorych ogniska pozaszpikowe pokrywały się z pierwotną lokalizacją MG. W Tabeli 46 przedstawiono chorych ze wznową, prezentując pierwotną postać kliniczną wraz z lokalizacją MG, czas wystąpienia wznowy od daty remisji (w miesiącach) oraz lokalizację wznowy. W badanej grupie najkrótszy czas od rozpoznania MG do wystąpienia wznowy wyniósł 2,33 miesiąca, najdłuższy 182,63 miesiąca (mediana 31 miesięcy).

Tabela 46. Charakterystyka wznów MG.

Lp	Pierwotna lokalizacja MG	Postać kliniczna MG	Czas od uzyskania remisji do rozpoznania wznowy (miesiące)	Lokalizacja wznowy pozaszpikowej	Zajęcie szpiku we wznowie tak/nie
1	Skóra	MG z jednoczesnym zajęciem szpiku (AML)	1 ms	Skóra	NIE (*po mies. od stwierdzenia ognisk na skórze, zajęcie szpiku)
2	Płuco	Izolowana pozaszpikowa wznowa CML	15 ms	Płuco	NIE
3	Guz przykręgosłupowy	MG z jednoczesnym zajęciem szpiku (AML)	12 ms	Brak	TAK
4	Oczodoły	MG z	11 ms	Oczodoły	TAK

		jednoczesny m zajęciem szpiku i OUN (AML, wznowa)			
5	Jama brzuszna	<i>De novo</i>	2 ms	Jama brzuszna	NIE
6	Skóra	MG z jednoczesny m zajęciem szpiku (AML)	6 ms	Oczodół i OUN	TAK
7	Skóra	MG z jednoczesny m zajęciem szpiku (AML)	10 ms	Skóra	TAK

4.6. Przyczyny zgonu

Najczęstszą przyczyną zgonu była progresja choroby (11 pacjentów), u 2 chorych były to powikłania infekcyjne, u 1 z nich również toksyczność przebytej terapii. W grupie pacjentów, którzy zmarli, czas od rozpoznania choroby do zgonu wynosił średnio $18,52 \pm 20,24$ miesięcy (zakres od 3,27 do 78,67, mediana 10,83 miesięcy).

4.7. Występowanie wznowy i zgonu w zależności od wybranych cech klinicznych MG

Przeanalizowano, czy wystąpienie wznowy lub zgonu zależało od wybranej cechy klinicznej MG takiej jak: wiek, postać kliniczna MG, czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania (pacjenci z czasem $t < 4$ tygodni i $t > 4$ tygodni), lokalizacja MG i obecność translokacji $t(8;21)(q22;q22)$.

4.7.1. Wiek pacjenta

Test Manna-Whitney'a nie wykazał statystycznie istotnej różnicy między wiekiem pacjentów, którzy przeżyli, a wiekiem pacjentów, którzy zmarli ($p=0,1596$). Nie stwierdzono różnic wieku pacjentów w zależności od występowania wznowy ($p=0,9871$). Dane odnośnie wieku pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu, przedstawiono w Tabeli 47.

Tabela 47. Charakterystyka wiekowa pacjentów, w zależności od wystąpienia zdarzenia w postaci wznowy lub zgonu.

		N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch.std
Ogółem	Wiek w miesiącach	43	105,36	120,00	0,60	228,00	84,47
	wiek w latach	43	8,81	10,00	0,05	19,00	7,07
Zgon	Wiek w miesiącach	14	133,65	174,00	0,60	228,00	88,49
	wiek w latach	14	11,14	14,50	0,05	19,00	7,37
Bez zgonu	Wiek w miesiącach	29	91,70	72,00	1,20	211,20	80,46
	wiek w latach	29	7,69	6,00	0,10	17,60	6,76
Wznowa	Wiek w miesiącach	7	113,23	162,00	0,60	228,00	98,62
	wiek w latach	7	9,44	13,50	0,05	19,00	8,22
Bez wznowy	Wiek w miesiącach	36	103,83	114,00	1,20	228,00	82,94
	wiek w latach	36	8,69	9,50	0,10	19,00	6,95

W badanych zakresach wiekowych < 10 lat i > 10 lat, liczba pacjentów, u których stwierdzono zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu, nie różniła się istotnie statystycznie od liczby pacjentów, u których nie stwierdzono powyższych zdarzeń (odpowiednio $p = 0,3319$ dla wznowy, $p = 0,9464$ dla zgonu). Liczbę pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu, w poszczególnych zakresach wiekowych, przedstawiono w Tabeli 48.

Tabela 48. Liczba pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu w zakresach wiekowych < 10 lat i powyżej 10 lat.

	wiek <10	wiek ≥10		wiek <10	wiek ≥10
Bez zgonu	16	13	Bez wznowy	18	18
Zgon	5	9	Wznova	3	4
P	0,3319		p	0,9464	

4.7.2. Postać kliniczna MG

W grupie pacjentów z MG z towarzyszącym zajęciem szpiku przez AML/MDS w grupie z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS przeżyło 21 spośród 24 chorych – 87,5%, w grupie z postacią *de novo* przeżyło 8 spośród 16 chorych – 50%). Wykazano statystycznie istotną zależność między postacią kliniczną MG a wystąpieniem zgonu ($p=0,005$). Zależności takiej nie wykazano natomiast w przypadku wznowy ($p=0,0649$), choć różnica była bliska istotności statystycznej. Dane odnośnie liczby wznów i zgonów w zależności od postaci klinicznej MG przedstawiono w Tabeli 49.

Tabela 49. Liczba pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu, w zależności od postaci klinicznej MG.

Postać kliniczna MG	bez zgonu	Zgon	bez wznowy	Wznowa
<i>De novo</i>	8	8	14	2
Z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS	21	3	21	3
Mieszana wznowa szpikowa i pozaszpikowa	0	2	1	1
Izolowana wznowa pozaszpikowa	0	1	0	1
P	0,005		0,0649	

4.7.3. Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania

Średni czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania był istotnie krótszy w grupie chorych, u których później w trakcie leczenia doszło do wznowy ($p = 0,0445$). Szczegółowo czasy te przedstawiono w Tabeli 50, wyszczególniając chorych, u których doszło do zdarzenia w postaci wznowy lub zgonu.

Tabela 50. Czas od wystąpienia objawów, do ustalenia rozpoznania w zależności od występowania zdarzeń w postaci wznowy lub zgonu.

czas od objawów do rozpoznania		N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Odch.std	p
Zgon	nie	29	6,07	6,00	1,00	18,00	4,33	0,1375
	tak	14	6,61	3,00	0,50	48,00	12,12	
Wznowa	nie	36	6,93	6,00	0,50	48,00	8,15	0,0445
	tak	7	2,71	3,00	1,00	4,00	1,11	

Posługując się podziałem czasu od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania na zakresy poniżej i powyżej 4 tygodni, w badanej grupie chorych wszystkie wznowy wystąpiły u osób z diagnozą postawioną w krótszym czasie niż 4 tygodnie ($p = 0,0123$). Większość zgonów również wystąpiła w tej grupie chorych ale nie wykazano istotności statystycznej między wystąpieniem zgonu a czasem do ustalenia diagnozy ($p=0,0521$). Dane te przedstawiono w Tabeli 51.

Tabela 51. Liczba chorych, u których wystąpiło zdarzenie w postaci zgonu lub wznowy, w zależności od czasu od wystąpienia objawów, do ustalenia rozpoznania, przedstawionego w zakresach < 4 tygodnie i > 4 tygodni.

Czas od objawów do diagnozy	Bez zgonu	Zgon	Bez wznowy	Wznowa
Do 4 tygodni	13	11	17	7
Powyżej 4 tygodni	16	3	19	0
P	0,0521		0,0123	

4.7.4. Lokalizacja MG

W przeprowadzonej analizie nie wykazano zależności między lokalizacją guza a wystąpieniem zgonu. Zależności tej nie wykazano zarówno nie ma w przypadku lokalizacji skórnej ($p=0,9367$), oczodołowej ($0,6645$), jak i innych ($p=0,3834$). Nie wykazano również zależności między lokalizacją guza a wystąpieniem wznowy (odpowiednio: $p=0,2153$, $p=0,8429$ i $p=0,2153$). W Tabeli 52 przedstawiono liczbę chorych, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu, w zależności od lokalizacji MG.

Tabela 52. Liczba pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu, w zależności od lokalizacji MG.

	Lokalizacja					
	Skóra		Oczodół		Inne	
	tak	Nie	Tak	Nie	Tak	Nie
bez zgonu	10	19	8	21	17	12
Zgon	5	9	3	11	11	3
P	0,9367		0,6645		0,3834	
bez wznowy	11	25	9	27	25	11
Wznowa	4	3	2	5	3	4
P	0,2153		0,8429		0,2153	

4.7.5. Translokacja t(8;21)(q22;q22)

Nie wykazano zależności między liczbą chorych z obecną translokacją t(8;21)(q22;q22), a występowaniem zdarzenia w postaci wznowy ($p=0,7589$) lub zgonu ($p=0,2049$). Liczbę chorych u których stwierdzono wznowę lub doszło do zgonu, w zależności od obecności translokacji t(8;21)(q22;q22), przedstawiono w Tabeli 53.

Tabela 53. Liczba pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci zgonu lub wznowy, w zależności od obecności translokacji (8;21)(q22;q22).

t(8;21)(q22;q22)	bez zgonu	Zgon	bez wznowy	Wznowa
Dodatni	9	5	11	3
Ujemny	9	1	9	1
brak danych	11	8	16	3
P	0,2049		0,7589	

4.8. Analiza immunohistochemiczna metodą mikromacierzy tkankowej (ang. Tissue Microarray).

Wyniki przeprowadzonej analizy immunohistochemicznej przedstawiono w Tabeli 54. Reakcja zostawała uznana za dodatnią w przypadku, gdy > 10% komórek nacieku wykazało pozytywną reakcję.

Tabela 54. Analiza immunohistochemiczna posiadanych preparatów przygotowana metodą mikromacierzy tkankowej (wybór 21 przeciwciał).

x- liczba preparatów z dodatnią reakcją, y- całkowita liczba preparatów.

Nr (x/y)	CD163 (6/7)	CD43 (7/7)	CD79 (1/7)	CD99 (4/7)	Desmin (0/7)	CD20 (0/7)	CD56 (2/7)	Mio-D1 (0/7)	CD117 (1/7)
1.	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2.	+	+	-	-	-	-	-	-	+
3.	+	+	-	+	-	-	-	-	-
4.	-	+	+	+	-	-	-	-	-
5.	+	+	-	+	-	-	+	-	-
6.	+	+	-	+	-	-	+	-	-
7.	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Nr (x/y)	MPO (2/7)	CD45 (6/7)	CD34 (1/7)	CD68 (4/7)	CD3 (4/7)	CD4 (6/7)	CD7 (6/7)	e- kadheryna (4/7)	CD33 (6/7)
1.	-	-	-	+	+	+	+	+	+
2.	-	+	-	+	+	+	+	+	+
3.	+	+	-	-	+	+	+	-	+
4.	-	+	+	-	+	+	+	-	+
5.	+	+	-	+	-	+	-	+	+
6.	-	+	-	+	-	+	+	+	+
7.	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Nr (x/y)	CD14 (5/7)	CD15 (5/7)	CD13 (3/7)						
1.	+	+	+						
2.	-	+	-						
3.	+	+	-						
4.	+	-	-						
5.	+	+	+						
6.	+	+	+						
7.	-	-	-						

5. Dyskusja

5.1. Charakterystyka kliniczna badanej grupy, a odniesienia w literaturze

W zgromadzonej ogólnopolskiej bazie 43 pacjentów z rozpoznaniem mięsaka granulocytarnego, najczęstszą postacią kliniczną był MG towarzyszący AML, co jest zgodne z danymi w literaturze [2, 8, 12, 13]. Tylko jeden chory prezentował CML i jeden MDS. U dzieci przewlekłe zespoły mieloproliferacyjne są dużo rzadsze, niż u dorosłych - przewlekła białaczka szpikowa stanowi zaledwie 2-3% wszystkich białaczek u dzieci [70]. Zespoły mielodysplastyczne stanowią jedynie 5% wszystkich nowotworów złośliwych u dzieci [71]. W konsekwencji, MG towarzyszący tym jednostkom chorobowym w grupie pediatrycznej jest szczególnie rzadkością.

Podobnie jak w większości doniesień [20, 30, 72], w analizowanej grupie pacjentów rozpoznanie MG najczęściej pokrywało się z jednoczesną diagnozą AML. Wśród zgłoszonych pacjentów nie było chorych bezobjawowych. MG towarzyszący AML może stanowić jednak niedoszacowanym problemem – w analizie Meyer i wsp. u 24,5 % pacjentów wykryto przypadkowo w badaniach obrazowych [72]. W analizie Stove i wsp, spośród 315 przypadków dzieci z rozpoznaniem AML, u 39 (12%) wyjściowo stwierdzono MG [73]. W świetle tych doniesień wydaje się prawdopodobne, że rzeczywista liczba przypadków MG towarzyszącego AML jest wyższa. Świadomość tego zagadnienia jest szczególnie istotna zarówno wśród onkologów jak i radiologów, zwłaszcza, że znaczenie kliniczne zmian pozaszpikowych obecnych wyjściowo nie zostało do końca poznane.

Izolowana postać MG, czyli postać *de novo*, uważana jest za rzadszą – zwykle podaje się, że dotyczy około 1-2 % pacjentów z AML [74]. W przeglądzie literatury światowej znaleziono tylko jedną zbiorczą analizę pacjentów pediatrycznych z izolowanym MG, w której w ciągu 13 lat zdiagnozowano izolowaną postać MG u 37 dzieci [75].

W stworzonej bazie pacjentów aż 16 chorych prezentowało postać *de novo*. U czworga z nich w toku dalszej diagnostyki stwierdzono zajęcie szpiku w odstępie od 1 do 2 miesięcy od rozpoznania. Przypadki postaci *de novo* MG były szczególnie trudne diagnostycznie – dlatego historie trojga chorych z izolowanym MG zdecydowano przedstawić poniżej w odrębnym punkcie zatytułowanym „Wybrane przypadki kliniczne”. Przeanalizowano zależność pomiędzy czasem jaki upłynął od wystąpienia objawów do ustalenia

rozpoznania, a poszczególnymi postaciami klinicznymi MG, stawiając hipotezę, że czas ten będzie najdłuższy u pacjentów z postacią *de novo*. Nie wykazano jednak różnic istotnych statystycznie. Wynika to prawdopodobnie ze zbyt małej liczebności grupy oraz z faktu, że MG towarzyszący AML/MDS również bywa wyzwaniem diagnostycznym. W analizowanej bazie znajdują się przypadki pacjentów, u których pomimo zajęcia szpiku, czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania wynosił aż 12 tygodni.

W przeprowadzonej analizie skóra okazała się najczęstszą lokalizacją MG. Spośród niewielu dostępnych w literaturze analiz dotyczących wyłącznie grupy pediatrycznej, w badaniu Reinhardt D i wsp. skóra stanowiła również najczęstszą lokalizację [75]. Również Stove i wsp. najczęściej stwierdzili zajęcie skóry, a w drugiej kolejności okolicę oczodołową [73], podobnie jak Dusenbery i wsp. [13]. Inne są wyniki analiz obejmujących łącznie pacjentów pediatrycznych jak i dorosłych. Jako najczęstszą wykazano lokalizację w węzłach chłonnych, na drugim miejscu okolicę przykręgosłupową, na kolejnym dopiero zmiany skórne [76]. Podobnie w publikacji Kawamoto i wsp., węzły chłonne były najczęściej zajmowaną przez MG okolicą [77].

W badanej przez Doktorantkę grupie manifestacja skórna istotnie częściej dotyczyła pacjentów młodszych tj. poniżej niż 10 roku życia. Trzeba pamiętać o wspomnianym wcześniej obrazie „blueberry muffin baby”, charakterystycznym dla wrodzonej białaczki szpikowej [22]. Do prowadzonej przez autora bazy zgłoszono 1 noworodka z powyższym obrazem klinicznym.

Zgodnie z danymi w literaturze opisywanymi przez Hurley i wsp., najczęściej opisywaną morfologią zmian skórnych, były grudki, zwykle o różowym, lecz w niektórych przypadkach o niebieskawym zabarwieniu [22, 59, 60]. Na Rycinie 3 przedstawiono fotografię zmian skórnych pacjenta z ośrodka poznańskiego, obecnych zarówno w chwili rozpoznania AML, jak i później manifestujących się jako wznowa choroby.

Drugą najczęstszą lokalizacją MG (n=11, 25,58%), była okolica oczodołowa. Jest ona uważana za charakterystyczne dla dzieci miejsce manifestacji MG, w przeciwieństwie do pacjentów dorosłych, u których choroba dużo rzadziej obejmuje oczodół. Wytrzeszcz, opisany u 5 (11,62%) pacjentów, jest typowym i najczęstszym objawem MG o lokalizacji oczodołowej [25].

Oprócz symptomów związanych lokalizacją choroby, do najczęstszych objawów klinicznych MG należały widoczny obrzęk okolicy zmiany/guz – 18,6%, osłabienie – 18,6%

i ból 16,27%. Ze względu na różnorodną symptomatologię, każdy z chorych stanowił tak naprawdę odrębny, ciekawy przypadek kliniczny, o innym przebiegu. Poniżej przedstawiono cztery wybrane przypadki kliniczne, których początek choroby i przebieg uznano za szczególnie interesujący. Podczas opisu przypadków szczególną uwagę zwrócono na poszczególne elementy ścieżki diagnostycznej pacjentów, która w każdym przypadku była trudna i bardzo zindywidualizowana.

5.2. Wybrane przypadki kliniczne

5.2.1. Pacjent W.K. (Klinika Onkologii Dziecięcej we Wrocławiu)

Pacjent przyjęty do **Oddziału Neurologii Dziecięcej** z powodu obwodowego porażenia nerwu twarzowego po stronie prawej. W wywiadzie 4 dni wcześniej ból ucha prawego, bez gorączki, następnie porażenie nerwu twarzowego; ponadto dwa dni przed przyjęciem chłopiec wyczuł zgrubienie oraz bolesność na wysokości prawego ucha. Chłopiec leczony kroplami do ucha, następnie po wizycie u neurologa, zabiegami elektrostymulacji i naświetlaniami lampą Solux. Przy przyjęciu stan ogólny dobry, zgrubienie w okolicy potylicznej o wymiarach 4 x 4 cm, bolesne przy palpacji, cechy obwodowego porażenia nerwu VII. W wykonanym badaniu CT zmiana na długości około 6,5 cm, w powłokach okolicy potylicznej oraz podstawy czaszki. Po konsultacji **laryngologicznej** wysunięto podejrzenie ropnia wyrostka sutkowatego prawego, pacjenta leczono szerokospektralną antybiotykoterapią – bez poprawy. Wykonano MR głowy – stwierdzono nacieki miękotkankowy zajmujący przestrzeń zarylcową oraz penetrujący w przestrzeni podpotylicznej i bocznie wzdłuż wyrostka sutkowatego. Zmiana zwężała światło prawej żyły szyjnej, wnikając do otworu żyły szyjnej – podejrzenie nacieku nowotworowego. Zaplanowano biopsję, pacjenta przyjęto do **Oddziału Chirurgii Dziecięcej**. Dwukrotnie, w odstępach miesiąca wykonano biopsję guza, uzyskując rozpoznanie mięsaka granulocytarnego.

W międzyczasie wykonano biopsję aspiracyjną i trepanobiopsję szpiku – wyniki prawidłowe. Stwierdzono natomiast obecność t(8;21)/ AML1/ETO metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH, *fluorescent in situ hybridization*) oraz metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (*polymerase chain reaction*, PCR) w szpiku kostnym. Włączono leczenie wg AML BFM Interim, osiągając opóźnioną remisję po bloku HAM.

Pacjent zrealizował całe zaplanowane leczenie wg powyższego protokołu terapeutycznego wraz z radioterapią OUN. Pozostaje w całkowitej remisji.

Czas od początku wystąpienia objawów do rozpoczęcia leczenia: 3 miesiące

Komentarz:

Przypadek powyższego pacjenta dowodzi konieczność zaangażowania specjalistów różnych dziedzin w ustalenie ostatecznego rozpoznania. Podkreśla szczególną trudność w postawieniu właściwej diagnozy u chorego z izolowanym mięsakiem granulocytarnym. Prawidłowe wyniki morfologii, mielogramu oraz trepanobiopsji mogą uśpić czujność klinicysty w kwestii chorób rozrostowych szpiku. Istotną wskazówką diagnostyczną było stwierdzenie obecności translokacji t(8;21)/AML1/ETO w szpiku kostnym, która stanowi jedną z najczęstszych mutacji u chorych z AML i MG. [24, 39, 41]. Ostatecznie rozpoznanie umożliwiła biopsja guza i analiza immunohistochemiczna.

5.2.2. Pacjent M.W. (Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej w Poznaniu)

Chłopiec 1,5 roczny przekazany z Kliniki Otolaryngologii celem diagnostyki oraz leczenia guza twarzoczaszki. W wywiadzie od około miesiąca obrzęk powieki górnej i dolnej oka prawego – pacjent **konsultowany okulistycznie**, leczony bez skutku maścią z neomycyną. W kolejnych dniach do wyżej opisanych objawów dołączył się kaszel, gorączka i duszność. Pacjent hospitalizowany w szpitalu powiatowym z rozpoznaniem powikłanego zapalenia zatok oraz zapalenia płuc. Przekazany do **Kliniki Otolaryngologii**, gdzie wykonano CT twarzoczaszki, punkcję zatok i biopsję guza. Z uwagi na opis tomografii komputerowej (obecność nacieku penetrującego do oczodołu), pacjenta przekazano do Kliniki Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej. Uzyskano wstępne rozpoznanie chłoniaka limfoblastycznego z komórek B, w związku z czym włączono leczenie według Protokołu EURO-LB 02. Rozmaz krwi obwodowej, mielogram oraz cytometria przepływowa szpiku kostnego – wyniki prawidłowe. Po 3 tygodniach otrzymano wynik z referencyjnej Pracowni Patomorfologii, w którym jednoznacznie rozpoznano mięsaka granulocytarnego. Na podstawie wykonanej trepanobiopsji rozpoznano AML M6. Włączono leczenie wg Protokołu AML-BFM 2004 Interim. Chłopiec został zakwalifikowany do zabiegu transplantacji szpiku kostnego od zgodnego dawcy rodzinnego. Pozostaje w remisji choroby.

Czas od początku wystąpienia objawów do ustalenia właściwego rozpoznania: 3 miesiące

Komentarz:

Diagnostyka różnicowa guzów oczodołu u dzieci, oprócz takich rozpoznań jak neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, chłoniak czy histiocytoza z komórek Langerhansa, powinna obejmować mięsaka granulocytarnego. [25, 26, 27, 29].

Prawidłowe wyniki mielogramu i cytometrii przepływowej, w niektórych przypadkach nie są wystarczające do wykluczenia obecności choroby rozrostowej szpiku. U powyższego pacjenta do rozpoznania AML niezbędna była **trepanobiopsja**. Niewykluczone, że był to przypadek, w którym pojawienie się MG wyprzedziło zajęcie szpiku kostnego, stąd prawidłowe wyniki biopsji aspiracyjnej szpiku wykonane przy przyjęciu w Oddziale Onkologicznym.

Na podstawie biopsji guza i analizy immunohistochemicznej, u chłopca pierwotnie rozpoznano chłoniaka limfoblastycznego, który, jak już wspomniano, stanowi najczęstszą pomyłkę diagnostyczną u pacjentów z MG [2, 20, 34, 35].

5.2.3. Pacjent S.M. (Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej w Poznaniu)

U chłopca w wieku 13 lat rozpoznano ostrą białaczkę limfoblastyczną T – komórkową, grupa HR (sterydooporność, opóźnione uzyskanie remisji). Chłopiec był leczony Protokołem ALL IC BFM 2002, zakwalifikowany do alloHSCT od dawcy rodzinnego. Po zakończonej intensywnej chemioterapii, hospitalizacja w Oddziale Chorób Zakaźnych z powodu podejrzenia gruźlicy – zmiany w tomografii płuc o charakterze guzków i obszarów „mlecznej szyby”, zwapnienia uwidocznione w obrębie ścian oskrzeli, prątki kwasooporne wykryte w popłuczynach uzyskanych w bronchoskopii. Pacjent otrzymywał leczenie przeciwprątkowe oraz przeciwgrzybicze. Po uzyskaniu poprawy obrazu w płucach, przyjęty planowo do Oddziału Transplantacji Szpiku celem wykonania alloHSCT. W kontrolnej punkcji szpiku stwierdzono wznowę o fenotypie AML M0. Pacjent otrzymał chemioterapię dla wznów – blok IDA-FLA, następnie blok FLA, po którym stwierdzono remisję. Przeprowadzono zaplanowaną procedurę alloHSCT od dawcy rodzinnego. W trakcie pobytu w Oddziale Transplantacji obserwowano **hiperkalcemię** oraz niewydolność nerek. Pacjent konsultowany

nefrologicznie i endokrynologicznie. Z powodu hiperkalcemii otrzymywał pamindronian. Wypisany w dobie +38 po alloHSCT do domu.

W +70 dobie od transplantacji, pacjent ponownie przyjęty z powodu bólu pleców nasilającego się od dwóch dni. W badaniu CT klatki piersiowej stwierdzono obecność masy miękkotkankowej, położonej przykręgosłupowo wzdłuż kręgosłupa piersiowego w odcinku Th3/4 do Th7. Masa wnikała do kanału kręgosłupa, przemieszczając worek oponowy z rdzeniem kręgowym, niszcząc krąg Th7 (złamanie kompresyjne). Stwierdzono również obecność licznych ognisk osteolitycznych w trzonach kręgów piersiowych, w mostku, w żebrach, w kościach miednicy i obu kościach udowych. Ponadto w badaniach laboratoryjnych utrzymująca się hiperkalcemia. Wykonano biopsję aspiracyjną szpiku uzyskując prawidłowe wyniki mielogramu i cytometrii przepływową, w związku z czym diagnostykę uzupełniono o trepanobiopsję, stwierdzając drugą wznowę AML. W szpiku kostnym w 10% komórek stwierdzono trisomię chromosomu 8. Wykonano biopsję guza, stwierdzając naciek z komórek prekursorowych o dwuliniowym różnicowaniu w kierunku limfoidalnym i monoidalnym. U chłopca postępował niedowład kończyn dolnych, prezentował objawy atonii pęcherza moczowego. Włączono chemioterapię wg Protokołu Interfant 06, następnie przeprowadzono dwa seanse radioterapii paliatywnej (fotony 6 MV), bez poprawy klinicznej. Leczenie powikłane było gorączką neutropeniczną i hipertransaminazemią. W kontrolnych badaniach obrazowych nie stwierdzono poprawy. Podjęto próbę dalszego leczenia, kontynuując blok Interfant -06 – Protokół Ib, ale obserwowano dalszą progresję choroby i pacjenta przekazano pod opiekę paliatywną.

Czas od początku objawów do rozpoczęcia leczenia: 2 dni (silne bóle pleców); hiperkalcemia – 6 miesięcy

Komentarz:

W literaturze opisywano już przypadki MG o lokalizacji okołordzeniowej, klinicznie manifestowane wówczas jako ból kręgosłupa, uczucie mrowienia i drętwienia kończyn, a w efekcie kompresji rdzenia kręgowego, prowadzące do niedowładu czy nawet cztero-kończynowego porażenia oraz nietrzymania moczu i stolca [78, 79]. Najczęściej zajmowanym odcinkiem jest odcinek piersiowy kręgosłupa [80].

Wyżej wymienione objawy nasilały się stopniowo u opisanego pacjenta. Wczesnym objawem rozwijających się zmian przykręgosłupowych mogła być u tego chorego hiperkalcemia, związana najprawdopodobniej z naciekaniem układu kostnego i

zmianami osteolitycznymi w kośćcu. Podwyższone poziomy wapnia w surowicy były obserwowane już 6 miesięcy przed rozpoznaniem MG. Ogniska pozaszpikowe mogły być zatem obecne już w momencie przystępowania chorego do allotransplantacji komórek macierzystych, co mogło stanowić niekorzystny czynnik prognostyczny u tego pacjenta [80].

5.2.4. Pacjent A.SZ. (Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej w Poznaniu)

Chłopiec nie ujęty w bazie do niniejszej pracy, ponieważ trafił do Kliniki w kwietniu 2020 roku, po podsumowaniu statystycznym zebranych chorych.

Pacjent 12 letni, od 2-3 tygodni zgłaszał niedrożność nosa. Początkowo rozpoznano zapalenie zatok i włączono leczenie w oparciu o Biseptol. W konsultacji laryngologicznej stwierdzono asymetrię podniebienia miękkiego, w związku z czym dziecko skierowano do szpitala powiatowego, gdzie wykonano KT zatok. Przekazany następnie do Kliniki Otolaryngologii w Poznaniu, gdzie w badaniu laryngologicznym stwierdzono dużą asymetrię podniebienia miękkiego, a w nosogardle widoczny guz zasłaniający strop i nozdrza tylne. Wykonano MR głowy i twarzoczaszki, potwierdzając obecność masy o orientacyjnych wymiarach 7,7 x 6,0 x 5,5 cm, wypełniającą nozdrza tylne, tylną część przewodu nosowego prawego, prawie całą zatokę szczękową, przestrzeń przygardłową i wnikałą do dołu skrzydłowo-podniebienne. W okolicy podżuchwowej prawej obecny przerzutowy węzeł chłonny o wymiarach 3,3 x 2,4 cm. Wykonano biopsję guza oraz węzła chłonnego, po zabiegu pacjent przebywał w Oddziale Intensywnej Terapii. W trakcie tamtejszego pobytu wykonano biopsję aspiracyjną szpiku – wynik prawidłowy. W cytometrii węzła chłonnego podejrzenie chłoniaka. Po przekazaniu pacjenta do Oddziału Onkologii, stwierdzając progresję zmiany (widoczne masy w prawym przewodzie nosowym), oczekując na wynik histopatologiczny, włączono prefazę wg IntReALL Ritux 2010 (leczenie jak dla chłoniaka Burkitta) [67]. Po zakończeniu prefazy COP, uzyskano wynik histopatologiczny- rozpoznano izolowanego mięsaka granulocytarnego. Ponownie wykluczono zajęcie szpiku. Włączono leczenie jak dla AML (indukcja w Protokołu AML BFM 2012). Pacjent jest w trakcie intensywnej chemioterapii.

Czas od początku objawów do rozpoczęcia właściwego leczenia: 6 tygodni

Komentarz:

Kolejny przypadek, który odzwierciedla trudności diagnostyczne w rozpoznawaniu MG u chorych z postacią kliniczną *de novo*. Podobne przypadki MG o lokalizacji w nosogardle opisywano pojedynczo w literaturze. Do najczęściej występujących objawów u tych chorych należała niedrożność nosa oraz niedosłuch [80].

Progresja tak zlokalizowanej zmiany może prowadzić do trudności w oddychaniu, w związku z tym niezwłoczne rozpoczęcie leczenia było u powyższego pacjenta konieczne. Chłoniaki należą do najczęstszych nowotworów złośliwych u dzieci, zlokalizowanych w obrębie głowy i szyi [81]. Sugerując się obrazem klinicznym oraz wynikiem cytometrii przepływowej węzła chłonnego, zdecydowano o rozpoczęciu leczenia jak dla chłoniaka Burkitta. Leczenie zmodyfikowano niezwłocznie po uzyskaniu ostatecznego wyniku histopatologicznego i immunohistochemii. Pamiętając, że niewłaściwie leczony „izolowany” MG prawie zawsze ulega progresji do AML przed włączeniem indukcji wg AML BFM 2017, wykonano trepanobiopsję, cytometrię przepływową szpiku oraz badania cytogenetyczne i FISH. Nie stwierdzono wykładników zajęcia szpiku kostnego ani markerów genetycznych charakterystycznych dla AML.

5.3. Podsumowanie diagnostycznych aspektów MG u dzieci

Jak już wspomniano, „złotym standardem” służącym do rozpoznania MG jest biopsja guza i analiza immunohistochemiczna. Obraz histopatologiczny MG jest niespecyficzny i polimorficzny, dlatego tak kluczowa w procesie diagnostycznym jest ocena reakcji immunohistochemicznych [83]. W przeprowadzonej analizie, biopsję guza miało 29 pacjentów (67,44%). Były to nie tylko przypadki izolowanego MG, ale również przypadki z towarzyszącym zajęciem szpiku. Należałoby się zastanowić, czy biopsja jest konieczna we wszystkich postaciach klinicznych MG. Według danych w piśmiennictwie, należy dążyć do biopsji i potwierdzenia histopatologicznego, chyba, że niebezpieczeństwo wykonania zabiegu przeważa nad jego korzyściami [24].

U 4 chorych (9,30%) pierwotnie rozpoznano inny nowotwór. Były to takie rozpoznania jak: mięsak kości, chłoniaki nieziarnicze i histiocytoza z komórek Langerhansa. W literaturze odsetek pomyłek diagnostycznych waha się od 25-47%, najczęściej MG jest błędnie rozpoznawany jako chłoniaki nieziarnicze [72, 84]. Przemawia to za

koniecznością stosowania szerokiego panelu przeciwciał w immunohistochemii, ale też równoległym korzystaniem z innych narzędzi diagnostycznych.

Badaniem, które pozwala na pełną diagnostykę MG, szybkie uzyskanie wyniku, i jednocześnie oferującym szeroki panel przeciwciał jest cytometria przepływowa. Dlatego, jeśli możliwe jest uzyskanie wystarczającej ilości materiału, należy wykonać szeroki panel cytometryczny wykorzystując świeżą tkankę guza [4].

Szczególną uwagę należy zwrócić, czy dany przypadek faktycznie jest MG typu *de novo*, pamiętając, że jest to rzadka postać MG. Murthy i wsp. podkreśla, że rozmaz krwi obwodowej powinien być wykonany u każdego pacjenta z wytrzeszczem gałki ocznej, a diagnostyka powinna być poszerzona o cytofluorymetrię szpiku według indywidualnych wskazań [25].

Śledząc historie przypadków zawartych w bazie, w celu uzyskania pewności, że przypadek jest izolowaną postacią MG, należałoby wykonać nie tylko cytofluorymetrię szpiku, ale w przypadku prawidłowego wyniku punkcji aspiracyjnej szpiku również trepanobiopsję, a także badania genetyczne szpiku oraz tkanki guza w kierunku obecności charakterystycznych dla AML rearanżacji chromosomowych (patrz przypadek 5.2.1. i 5.2.2.). Ze względu na częsty brak wystarczającej ilości świeżego materiału tkanki guza, a także oczekiwanie na wynik histopatologiczny, przemawiający za rozpoznaniem MG, dobrym pomysłem wydaje się wykorzystanie skrawków parafinowych do retrospektywnych badań genetycznych, celem uzupełnienia pełnej diagnostyki [44, 46]. Badania te miałyby szczególne znaczenie w przypadkach izolowanego MG i pozwoliłyby na próbę klasyfikacji MG względem zaburzeń cytogenetycznych i molekularnych, a w dalszej kolejności decydowały o wyborze najbardziej optymalnej metody terapeutycznej. U wszystkich pacjentów, u których wykonano PET-CT (4 chorych), wykazał on aktywne metabolicznie ogniska choroby. Uważa się, że PET-CT może stanowić nawet bardziej czułą metodę obrazowania MG, niż tomografia komputerowa [30, 72]. Z uwagi na możliwy rozsiany charakter zmian w przebiegu MG, PET-CT wydaje się mieć dodatkową wartość diagnostyczną poprzez obrazowanie wszystkich ognisk choroby [84, 85]. Z kolei podczas monitorowania wyników leczenia, może stanowić dokładniejsze narzędzie oceny remisji, zwłaszcza gdy w kolejnych etapach planowana jest procedura alloHSCT. Powyższe zalety wydają się wskazywać na zasadność wykonywania badania PET-CT rutynowo u wszystkich pacjentów z MG.

5.4. Analiza immunohistochemiczna metodą mikromacierzy tkankowej

Ocenę immunohistochemiczną metodą mikromacierzy tkankowej (TMA) wykonano wykorzystując bloczki parafinowe 7 pacjentów zgromadzonych w bazie. Oceniono reakcję z 21 wybranymi przeciwciałami. U 100% pacjentów uzyskano dodatnią reakcję przeciwko CD43, co jest zgodne z wcześniejszymi doniesieniami [7, 36, 38, 39]. Marker ten wskazuje na nowotwór pochodzenia mieloidalnego, nie jest jednak swoisty dla MG. Może natomiast stanowić pierwszy krok diagnostyczny w analizie guzów nieznanego pochodzenia [39]. Reakcja z CD68 jest kolejną, uważaną w piśmiennictwie za charakterystyczną dla nacieku MG [38, 39]. W prezentowanym badaniu dodatnią reakcję przeciwciał anty-CD68 wykazano u 4/7 pacjentów. U 6/7 pacjentów stwierdzono pozytywną reakcję z CD163, CD45, CD33. Powyższe wyniki potwierdzają fakt, iż w podstawowym panelu diagnostycznym powinny znaleźć się przeciwciała CD43, CD68, CD45, CD33, CD163 [36, 38, 39]. Tylko w jednym przypadku stwierdzono dodatnią reakcję z CD34 – ograniczoną przydatność CD34 wykazano również w analizie Pileri i wsp. [35]. Poza tym autorka zwraca uwagę, iż w diagnostyce MG na podstawie reakcji immunohistochemicznych, szczególnych trudności dostarcza różnicowanie z chłoniakiem limfoblastycznym. Prezentowane badanie potwierdza tę tezę - w ocenianych przypadkach MG stwierdzono markery charakterystyczne dla limfocytów T (CD4 obecne u 6/7 pacjentów, CD3 u 4/7 pacjentów). Z tego powodu ważnym czynnikiem wskazującym na diagnozę MG jest stwierdzenie jednoczesnej obecności markerów mieloidalnych (np. CD13, CD33, MPO).

Spośród markerów, z którymi uzyskano dodatnią reakcję, na uwagę zasługują również CD14 (5/7) oraz CD15 (5/7). W literaturze są one rzadziej opisywane niż wcześniej wymienione markery. Uzyskane wyniki wydają się jednak wskazywać na celowość dalszych badań tych markerów, gdyż mogłyby się stać istotnym czynnikiem ułatwiającym różnicowanie MG z chłoniakami limfoblastycznymi.

W 4/7 preparatów stwierdzono dodatnią reakcję z CD99. Fakt ten potwierdza trudności z różnicowaniem MG z nowotworami drobnookrągłokomórkowymi, co podnoszono również w innych publikacjach [83, 86].

Opracowanie panelu immunohistochemicznego służącego do rozpoznania MG jest wciąż niedoskonałym, ale bardzo obiecującym sposobem na szybką diagnostykę różnicową

zmiany z innymi guzami o niepewnej etiologii. Metoda TMA umożliwia porównanie reakcji immunohistochemicznych w kilku nowotworach – zależnie od skonstruowanego rdzenia. Może zatem być przydatnym narzędziem badawczym, umożliwiającym w efekcie opracowanie skutecznej ścieżki diagnostyki różnicowej MG u dzieci.

5.5. Wyniki leczenia oraz analiza wybranych czynników prognostycznych w MG u dzieci

W pracy zbadano wpływ następujących cech klinicznych na wyniki leczenia: zakres wiekowy pacjenta (poniżej i powyżej 10 lat), postać kliniczna MG, lokalizacja MG, obecność translokacji t(8;21)(q22;q22).

5.5.1. Zakres wiekowy

W przeprowadzonej analizie, u młodszych chorych (< 10 lat) obserwowano dłuższy czas OS, RFS i EFS, a także wyższe prawdopodobieństwa 5 – letniego OS, RFS i EFS.

Nie były to jednak różnice istotne statystycznie. W piśmiennictwie dane na temat wpływu wieku na wyniki leczenia MG są mocno ograniczone. W analizach Pileri i wsp oraz Al-Khaateb i wsp. wiek nie miał wpływu na osiągnięte wyniki leczenia [35, 87]. Wiadomo natomiast, że wiek jest silnym, niezależnym czynnikiem rokowniczym w AML – wyższy wiek pacjenta implikuje gorszą prognozę [88]. Niższe prawdopodobieństwo 5-letniego OS obserwuje się w grupie młodych dorosłych - AYA (AYA – ang. adolescents and young adults), czyli pacjentów w zakresie wiekowym 15-39 lat, gdzie wynosi ono już tylko 50-60% [89]. Biorąc pod uwagę, że MG najczęściej towarzyszy AML, być może zależności te można ekstrapolować na grupę pacjentów z MG.

5.5.2. Postać kliniczna MG

W kilku analizach wskazywano na lepsze wyniki leczenia uzyskane u chorych z izolowaną postacią MG [13, 21, 51, 52, 84]. Wiązano to z wyjściowo mniejszą „masą guza” u tych chorych, niż w postaciach MG z zajęciem szpiku [85]. W przeciwieństwie do tych doniesień, w niniejszym badaniu całkowity czas przeżycia był **istotnie dłuższy** w grupie pacjentów z MG z **jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS** niż w grupie

pacjentów z postacią *de novo* MG (czas OS wyrażony w miesiącach $156,94 \pm 13,89$ vs $89,75 \pm 19,09$; pOS $0,84 \pm 0,09$ vs $0,56 \pm 0,12$). W grupie chorych z jednoczesnym zajęciem szpiku, istotnie więcej chorych przeżyło - w grupie tej zmarło 3 pacjentów (12,5%), podczas gdy w grupie chorych z postacią *de novo* zmarło 8 pacjentów (50%). Również w analizie Reinhardt i wsp., dotyczącej 34 dzieci z postacią *de novo* MG, prawdopodobieństwo OS w grupie z izolowanym MG było mniejsze niż u pacjentów z AML (pOS $0,44 \pm 0,09$ vs $0,55 \pm 0,02$); u dzieci z izolowanym MG obserwowano również wyższą częstość nawrotów choroby. W pracy Reinhardt i wsp. szczególnie podkreślano wpływ opóźnienia w ustaleniu rozpoznania, na zwiększone ryzyko wznowy [90]. Z kolei w analizie Pileri i wsp. nie zaobserwowano istotnych różnic między wynikami leczenia chorych z postacią izolowaną i towarzyszącą AML [35]. Niestety brakuje doniesień porównujących wyniki leczenia izolowanej postaci MG z postacią towarzyszącą AML w populacji pediatrycznej. Częściej porównywano wyniki leczenia chorych z AML bez lokalizacji pozaszpikowej oraz AML z MG. Ciekawe dane na ten temat opublikowano w niedawnej analizie Pramanik i wsp., w której wykazano że zarówno średni czas EFS, jak i czas OS były wyższe u pacjentów z AML i MG (średni czas EFS 21.0 i średni czas OS 37.1 miesięcy) niż u pacjentów z AML bez lokalizacji pozaszpikowej [91].

Podsumowując, w większości danych w literaturze izolowany MG wiąże się ze złym rokowaniem. Nie ustalono jednak, czy obecność pozaszpikowej lokalizacji przy rozpoznaniu AML u dzieci stanowi niekorzystny czynnik prognostyczny – najprawdopodobniej o rokowaniu decydują silniejsze czynniki, na przykład cechy biologii molekularnej komórek nowotworowych.

5.5.3. Lokalizacja MG

Najczęściej zajmowane przez MG okolice u dzieci – oczodołowa i skórna, w doniesieniach literaturowych mają przeciwne znaczenie prognostyczne. Zajęcie okolicy oczodołowej wg Johnston i wsp. wiązało się z lepszymi wynikami OS niż pacjentów bez lokalizacji pozaszpikowej. Kobayashi i wsp. zaobserwowali, że lokalizacja pozaszpikowa, nie dotycząca skóry, stanowiła korzystny czynnik prognostyczny [12, 14]. W niniejszej analizie nie obserwowano istotnej statystycznie różnicy między czasem OS, RFS i EFS pacjentów z MG w żadnej lokalizacji pozaszpikowej, w tym oczodołowej. Przykładem

niekorzystnego przebiegu MG o lokalizacji oczodołowej jest pacjent, który prezentował nawrotową postać MG oczodołów, z towarzyszącym zajęciem szpiku.

Skórnej postaci MG najczęściej przypisuje się niekorzystne rokowanie i agresywny przebieg choroby [8, 38, 59, 60]. W niniejszej pracy, nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy długością całkowitego czasem przeżycia pacjentów z lokalizacją MG w skórze, oraz pacjentów z MG w innym umiejscowieniu ($p=0,7017$). Chorzy ze skórną postacią MG prezentowali natomiast mniejsze prawdopodobieństwo przeżycia bez wznowy ($p=0,0981$). U 3 pacjentów z wyjściowym zajęciem skóry, doszło do wznowy choroby, również w lokalizacji skórnej. Przypadki te dowodzą, że skórna postać MG wiąże się z wysokim ryzykiem nawrotów.

5.5.4. Translokacja t(8;21)(q22;q22)

Według kilku doniesień, translokacja t(8;21)(q22;q22) należy do najczęstszych nieprawidłowości genetycznych spotykanych w MG [8, 24, 92]. Potwierdzają to również wyniki badań własnych – w badanej grupie była to również najliczniej reprezentowana nieprawidłowość genetyczna – stwierdzono ją u 10 pacjentów (23,25%). Szczególny związek translokacji t(8;21)(q22;q22) z populacją dziecięcą oraz częstsze występowanie powyższej mutacji u pacjentów z MG o lokalizacji oczodołowej, udowodniono w kilku analizach [24, 40, 41, 42]. Wiadomym jest, że u dzieci z AML translokacja t(8;21)(q22;q22) wiąże się korzystnym rokowaniem [40]. Dane dotyczące jej znaczenia rokowniczego u pacjentów z MG są natomiast rozbieżne [4]. Co prawda Johnston i wsp. wykazali lepsze wyniki pacjentów z lokalizacją oczodołową MG, jednak nie stwierdzili związku powyższych wyników z obecnością translokacji t(8;21)(q22;q22) [14]. W pracy Felice i wsp., translokacja t(8;21)(q22;q22) u pacjentów z MG nie pogorszała ich wyników leczenia [93]. Z kolei w analizie Tallman i wsp, translokacja t(8;21)(q22;q22) u pacjentów z rozpoznaniem MG wiązała się z gorszym rokowaniem, niż u chorych bez MG [94]. Również w pracy Byrd i wsp. wykazano, że pacjenci z MG i obecną translokacją t(8;21)(q22;q22) prezentowali gorsze wyniki leczenia, co wiązano z częstszym zajęciem okolicy oponowej i okołordzeniowej [95].

W niniejszej analizie, pacjenci z translokacją t(8;21)(q22;q22) prezentowali istotnie dłuższy czas EFS. Prawdopodobieństwa 5 – letniego OS i RFS były również wyższe u pacjentów z translokacją t(8;21)(q22;q22), choć nie były to różnice istotne statystycznie.

Dane te przemawiają za korzystnym znaczeniem prognostycznym $t(8;21)(q22;q22)$. Dwoje spośród 11 pacjentów z lokalizacją oczodołową, miało obecną translokację $t(8;21)(q22;q22)$ – obaj pacjenci żyją i pozostają w remisji choroby.

5.6. Leczenie MG

Zgodnie z wiedzą zawartą w piśmiennictwie, leczenie MG powinno zawsze opierać się na systemowej polichemioterapii [2, 15, 20]. Dotyczy to również chorych z izolowanym MG, a także z MG po totalnej resekcji chirurgicznej.

Zgodnie z powyższymi wytycznymi, wszyscy chorzy w badanej grupie byli leczeni systemową chemioterapią, która z wyjątkiem pacjentów z MG w postaci wznowy choroby, realizowana była w oparciu o aktualny schemat leczenia ostrej białaczki szpikowej. Najdłuższy średni czas OS ($146,93 \pm 22,25$) i największe prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia ($pOS = 0,80 \pm 0,13$) stwierdzono u pacjentów leczonych schematem AML-PPLSG 98.

W badanej grupie stwierdzono brak algorytmów postępowania w zakresie leczenia chirurgicznego i radioterapii u dzieci z MG. W dostępnej literaturze standardy odnośnie leczenia chirurgicznego i radioterapii, a także wskazania do allotransplantacji komórek krwiotwórczych u pacjentów z MG są niejednoznaczne.

W niniejszym badaniu nie zaobserwowano istotnego wpływu leczenia chirurgicznego na czasy OS, RFS i EFS. Trudno jednak wyciągnąć daleko idące wnioski z powodu niewielkiej liczby chorych - w badanej grupie zabieg operacyjny był elementem leczenia u 6 chorych (13,95%). Dłuższe czasy OS, RFS i EFS prezentowali chorzy, którzy nie byli leczeni chirurgicznie. U jednego pacjenta z poznańskiego ośrodka z rozpoznaną izolowaną pozaszpikową wznową CML (guz szczytu płuca), przeprowadzono radykalny zabieg usunięcia zmiany. Po 15 miesiącach u pacjenta doszło do wznowy choroby w miejscu pierwotnej lokalizacji. Najprawdopodobniej zatem, jak już wspomniano we wstępie, rola leczenia chirurgicznego polega głównie na redukcji objawów spowodowanych uciskiem guza na otaczające struktury [15, 24].

Nie obserwowano również istotnego statystycznie wpływu radioterapii na wyniki leczenia, chociaż czasy OS, RFS, EFS były dłuższe u pacjentów, których leczenie

obejmowało radioterapię. W kilku wcześniejszych analizach również nie wykazano istotnego wpływu radioterapii na wyniki leczenia [13, 52, 54]. Udowodniono natomiast skuteczność radioterapii w dawce frakcjonowanej 20-30 Gy, jako elementu paliatywnego leczenia u pacjentów z MG. [96, 97, 98]. Bakst i wsp. ocenili efekty radioterapii u 22 pacjentów z MG – u 90% była ona wykorzystywana do leczenia wznowy lub jako element leczenia pierwszej linii w przypadku pozostałej masy resztkowej po chemioterapii. Obserwowano poprawę objawów miejscowych u 95% pacjentów, przy bardzo dobrej tolerancji leczenia [98].

W niniejszej analizie u dwojga pacjentów z poznańskiego ośrodka radioterapia była stosowana jako leczenie paliatywne. U tych chorych wyraźnie obserwowano zmniejszenie dolegliwości bólowych oraz poprawę w aspekcie objawów wynikających z ucisku. W przeglądzie literatury opisywano tylko pojedyncze przypadki pacjentów, u których radioterapia stanowiła skuteczne leczenie MG. W pracy Yang WCh i wsp. opisano 19-letniego pacjenta, u którego po 3 latach od alloHSCT przeprowadzonej z powodu AML, stwierdzono izolowaną postać MG zlokalizowanego w sercu. Pacjent prezentował objawy zespołu żyły głównej górnej. Po zastosowanej radioterapii zaobserwowano szybką poprawę i remisję choroby przez 6 miesięcy. Autorzy powyższego opisu przypadku uważają, że szczególną korzyść mogą odnieść pacjenci naświetlani po alloHSCT, w celu wyindukowania poprzez radioterapię efektu GvL [99].

Minoia i wsp. opisali również przypadek 71-letniej kobiety z obustronnym MG piersi, leczonej skutecznie decytabiną oraz poddanej radioterapii w dawce 30 Gy [100]. Są to jednak pojedyncze doniesienia dotyczące dorosłych pacjentów, tak więc ustalenie dokładnej roli radioterapii w leczeniu MG w populacji pediatrycznej oraz optymalnego jej zastosowania w procesie terapeutycznym wymaga dalszych badań.

W niniejszym badaniu, nie wykazano korzystnego wpływu allotransplantacji na wyniki leczenia, co sugerowano w niektórych doniesieniach [35, 46, 54, 55]. Istotnie dłuższy czas RFS prezentowali pacjenci, których leczenie nie obejmowało procedury transplantacji komórek krwiotwórczych, ($p=0,0124$). U tych pacjentów dłuższy był również średni czas OS i EFS, chociaż bez wykazanej istotności statystycznej. Może być to uzasadnione faktem, iż do alloHSCT kwalifikowani są pacjenci z AML o wysokim ryzyku wznowy i niepowodzenia leczenia.

Spośród pacjentów, u których doszło do wznowy choroby, u trojga leczenie pierwszej linii obejmowało alloHSCT. Czwarty chory, opisywany powyżej, prezentujący hiperkalcemię w okresie okołotransplantacyjnym, najprawdopodobniej również miał ogniska pozaszpikowe choroby w momencie transplantacji. Jak wynika z kilku publikacji, lokalizacja pozaszpikowa choroby obecna u pacjenta przed alloHSCT, stanowi jeden z czynników ryzyka wznowy pozaszpikowej [18, 19]. Dyskusyjne jest również, na ile pożądanym po alloHSCT efekt GvL jest skuteczny w ogniskach pozaszpikowych [101]. Z drugiej strony, w pracy Hung GY i wsp. przedstawiono przypadek dziewczynki z AML z MG zlokalizowanym w oczodole oraz translokacją t(8;21)(q22;q22), u której po konwencjonalnej chemioterapii obserwowano nadal utrzymującą się masę resztkową guza. W związku z tym zastosowano alloHSCT, z niemieloablacyjną chemioterapią, po której odnotowano niewielką ilość powikłań hematologicznych i całkowitą remisję zmiany resztkowej [102].

Podsumowując, rola alloHSCT w leczeniu MG, a także poszukiwanie skutecznych metod zapobiegania oraz leczenia wznowy pozaszpikowej po alloHSCT, powinny być przedmiotem dalszych, szerokich badań klinicznych. Rewolucją w leczeniu chorób rozrostowych szpiku staje się w ostatnich latach immunoterapia CAR-T cell (ang. chimeric antigen receptors T cells). Terapia ta opiera się na zastosowaniu zmodyfikowanych genetycznie limfocytach T, które nabywają zdolności do niszczenia komórki nowotworowej. Ta forma immunoterapii jest już wykorzystywana w leczeniu odpornej postaci ostrej białaczki limfoblastycznej i opornych chłoniaków. Trwają badania kliniczne nad jej wykorzystaniem w odpornej postaci ostrej białaczki szpikowej i innych nowotworach mieloproliferacyjnych [103]. Nie wiadomo, na ile byłaby skuteczna w chorobie zlokalizowanej pozaszpikowo. Wang i wsp. przedstawili przypadek pacjentki z pozaszpikową wznową Ph(+) ostrej białaczki limfoblastycznej w szyjce macicy. Po zastosowaniu immunoterapii, uzyskano bardzo dobrą odpowiedź i długotrwałą remisję [104]. Być może CAR-T cell to również szansa na leczenie odpornej, nawrotowej postaci MG u dzieci.

Nadzieję w leczeniu nawrotowych guzów litych oraz odpornej białaczki szpikowej u dzieci, w szczególności z obecną mutacją FLT3-ITD, stanowi sorafenib – inhibitor licznych kinaz [105]. Dotychczas nie raportowano jednak przypadku wykorzystania sorafenibu u pacjenta pediatrycznego z MG. Grillo i wsp. opisali przypadek dorosłego pacjenta z

pozaszpikową wznową AML po alloHSCT, w postaci mnogich ognisk mięsaka granulocytarnego, którego skutecznie wyleczono z zastosowaniem sorafenibu, uzupełniając leczenie infuzją limfocytów dawcy. W badaniach genetycznych tkanki guza stwierdzono obecność mutacji FLT3-ITD [106]. Przypadek ten wskazywałby na skuteczność leku w leczeniu ognisk pozaszpikowych [107].

Perspektywą w leczeniu opornych przypadków AML mogą stać się również leki wpływające na szlak apoptozy [108]. Nadekspresja antyapoptotycznych białek z rodziny BCL-2 stanowi jeden z mechanizmów odpowiedzialnych za oporność komórek nowotworowych. Inhibitory białek BCL-2 (venetoclax) są grupą leków już wykorzystywaną w leczeniu opornych białaczek u dorosłych, dają również nadzieję na poprawę wyników leczenia opornej białaczki szpikowej u dzieci [109]. Nie wiadomo jednak, jaki byłby efekt zastosowania tej grupy leków w przypadku białaczki z obecnością pozaszpikowych ognisk choroby.

5.7. Podsumowanie

Podsumowując, leczenie MG, w szczególności jego nawrotowych postaci, wymaga prób wykorzystania nowoczesnych metod terapeutycznych. Jednocześnie niezbędne jest ciągłe wzbogacanie i systematyzowanie wiedzy na temat tej choroby oraz dokumentowanie wszystkich doświadczeń związanych z jej leczeniem.

Kontynuacja gromadzenia danych na temat przypadków MG stwierdzonego i leczonego u dzieci w Polsce wydaje się być naturalną konsekwencją niniejszego opracowania. Konstelacja rzadkiej częstości występowania, mnogości postaci i manifestacji choroby z bardzo zróżnicowanym postępowaniem terapeutycznym, zależnym w dużym stopniu od doświadczeń poszczególnych ośrodków, sprawia, iż jest to wymagające wyzwanie. Jego podjęcie daje jednak nadzieję, że wraz z rosnącą grupą badaną, wzrośnie także liczba formułowanych wniosków. W konsekwencji może stać się realne wprowadzenie istotnych, opartych na dowodach zmian w diagnostyce i leczeniu MG u dzieci, a nawet stworzenie pierwszych wytycznych postępowania w MG u dzieci.

6. Wnioski

6.1 Najczęstszą postacią kliniczną mięsaka granulocytarnego (MG) u dzieci jest postać towarzysząca AML, najczęstszą lokalizację stanowiła skóra, drugą co do częstości - okolica oczodołowa. Skórna manifestacja MG częściej występowała w grupie wiekowej < 10 lat. Najczęściej stwierdzaną nieprawidłowością genetyczną była translokacja t(8;21)(q22;q22). Czas od wystąpienia objawów, do ustalenia rozpoznania był bardzo długi i zróżnicowany, średnio wynosił 6,24 tygodnia.

6.2 Brakuje jednoznacznych standardów diagnostycznych rozpoznawania MG u dzieci. Podstawą rozpoznania jest biopsja guza i ocena immunohistochemiczna z wykorzystaniem szerokiego panelu przeciwciał. Metodą preferowaną w ocenie zajęcia szpiku kostnego powinna być trepanobiopsja. Spośród wykorzystywanych badań radiologicznych, na szczególną uwagę zasługuje PET-CT, które wydaje się mieć wysoką czułość w rozpoznawaniu ognisk MG.

Leczenie MG opiera się na aktualnym schemacie terapeutycznym ostrej białaczki szpikowej. Dodatkowo w terapii stosuje się allotransplantację komórek krwiotwórczych (allo-HSCT) oraz radioterapię, jednak brakuje wytycznych kwalifikacji do tych procedur.

6.3 W badanej grupie uzyskano dobre wyniki leczenia wyrażone 5-letnim prawdopodobieństwem całkowitego przeżycia, przeżycia bez wznowy oraz przeżycia wolnego od zdarzeń na poziomie 65-79%.

6.4 W grupie pacjentów z postacią kliniczną *de novo* MG obserwowano gorsze wyniki leczenia niż w grupie z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS. Lokalizacja MG i grupa wiekowa nie miały istotnego wpływu na pOS, pRFS i pEFS. U pacjentów ze stwierdzoną translokacją t(8;21)(q22;q22) zaobserwowano istotnie wyższe prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS). Zastosowany schemat chemioterapii, zabieg chirurgiczny, radioterapia nie wywarły istotnego wpływu na wyniki leczenia. Wskazane jest dalsze poszukiwanie czynników prognostycznych u dzieci z MG.

6.5 Metoda mikromacierzy tkankowej jest cennym narzędziem w onkologii - przyspiesza i poprawia jakość oceny immunohistochemicznej wycinków z guza, kluczowej w diagnostyce różnicowej MG. Potwierdzono jej zalety w identyfikacji znanych markerów MG mających ugruntowaną pozycję w algorytmie diagnostycznym guzów nieznanego pochodzenia (CD43, CD68, CD45, CD33, CD163). Dodatkowo za pomocą metody mikromacierzy tkankowej wykryto obecność rzadziej opisywanych markerów CD14 i CD15 w tkankach MG. Jest to istotna wskazówka w badaniach mających na celu doskonalenie schematu diagnostyki różnicowej MG (w szczególności jej największego wyzwania- różnicowania z chłoniakiem limfoblastycznym).

Bibliografia

- [1] Chybicka A, Sawicz-Birkowska K. Onkologia i Hematologia Dziecięca. Tom 1. Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa. s.232.
- [2] Avni B, Koren-Michowitz M. Myeloid sarcoma: current approach and therapeutic options. *Ther Adv Hematol* 2011;2(5):309-316.
- [3] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA i wsp. The 2008 revision of WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114:937-951.
- [4] Wilson CS, Medeiros LJ. Extramedullary Manifestations of Myeloid Neoplasms. *Am J Clin Pathol* 2015;144:219-239.
- [5] Burns A. Observations of surgical anatomy, head and neck. Edinburgh: Thomas Royce and Co; 1811. pp 364-366.
- [6] King A. A case of chloroma. *Monthly J Med*. 1853;17;97.
- [7] Antic D, Elezovic I, Milic N i wsp. Is there a „gold” standard treatment for patients with isolated myeloid sarcoma? *Biomed Pharmacother*. 2013 Feb;67(1):72-7.
- [8] Ohanian M, Faderl S, Ravandi F i wsp. Is acute myeloid leukemia a liquid tumor? *Int. Cancer* 2012;133:534-544.
- [9] Stefanidakis M, Karjalainen K, Jaalouk DE i wsp. Role of leukemia cell invadosome in extramedullary infiltration. *Blood* 2009; 1;114(14):3008-3017.
- [10] Feng S, Cen J, Huang Y i wsp. Matrix metalloproteinase-2 and -9 secreted by leukemic cells increase the permeability of blood-brain barrier by disrupting tight junction proteins. *PLoS One*. 2011;6(8):20599.

- [11] Faaij CM, Willemze AJ, Révész T i wsp. Chemokine/chemokine receptor interactions in extramedullary leukaemia of the skin in childhood AML: differential roles for CCR2, CCR5, CXCR4 and CXCR7. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;55(2):344-348.
- [12] Kobayashi R, Tawa A, Hanada R i wsp. Extramedullary infiltration at diagnosis and prognosis in children with acute myelogenous leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;48(4):393-398.
- [13] Dusenbery KE, Howells WB, Arthur DC i wsp. Extramedullary leukemia in children with newly diagnosed acute myeloid leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2003;25(10):760-768.
- [14] Johnston DL, Alonzo TA, Gerbing RB I wsp. Superior Outcome of Pediatric Acute Myeloid Leukemia Patients with Orbital and CNS Myeloid Sarcoma: A Report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;58(4): 519–524.
- [15] Antic D, Elezovic I, Milic N i wsp. Is there a „gold” standard treatment for patients with isolated myeloid sarcoma? *Biomed Pharmacother*. 2013;67(1):72-7.
- [16] Solh M, DeFor TE, Weisdorf DJ i wsp. Extramedullary relapse of acute myelogenous leukemia after hematopoietic stem cell transplantation: better prognosis than systemic relapse. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18(1):106-112.
- [17] Yoo SW, Chung EJ, Kim SY i wsp. Multiple extramedullary relapses without bone marrow involvement after second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia. *Pediatr Transplant*. 2012;16(4):125-129.
- [18] Clark WB, Strickland SA, Barrett AJ i wsp. Extramedullary relapses after allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2010;95(6):860-863.

- [19] Harris AC, Kitko CL, Couriel DR i wsp. Extramedullary relapse of acute myeloid leukemia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors and outcomes. *Haematologica*. 2013;98(2):179-184.
- [20] Klcó JM, Welch J, Nguyen T i wsp. State of art in myeloid sarcoma. *Int. Lab. Hem.* 2011; 33:555-565.
- [21] Movassaghian M, Brunner AM, Blonquist TM i wsp. Presentation and outcomes among patients with isolated myeloid sarcoma: a Surveillance, Epidemiology, and End Results database analysis. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(6):1698-703.
- [22] Cho-Vega JH, Medeiros LJ, Prieto VG i wsp. Leukemia cutis. *Am J Clin Pathol*. 2008; 129(1):130-142.
- [23] Uihlein LC, Brandling-Bennett HA, Lio PA i wsp. Sweet syndrome in children. *Pediatr Dermatol*. 2012;29(1):38-44.
- [24] Bakst RL, Tallman MS, Douer D i wsp. How I treat acute myeloid leukemia. *Blood* 2011; 118:3785-3793.
- [25] Murthy R, Vemuganti GK, Honavar SG i wsp. Extramedullary leukemia in children presenting with proptosis. *J Hematol Oncol*. 2009;24:2-4.
- [26] Roby BB, Drehner D, Sidman JD. Granulocytic sarcoma of pediatric head and neck: an institutional experience. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2013;77(8):1364-1366.
- [27] Rao AA, Naheedy JH, Chen JY i wsp. A clinical update and radiologic review of pediatric orbital and ocular tumors. *J. Oncol*. 2013;2013:975908.
- [28] Timmis A, Touska P, Uddin J. The role of ultrasound-guided tissue sampling techniques in the management of extra-ocular orbital lesions
Ultrasound. 2018; 26(3): 145–152.

- [29] Noh BW, Park SW, Chun JE i wsp. Granulocytic Sarcoma in the Head and Neck: CT and MR Imaging Findings. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. 2009;2(2):66-71.
- [30] Yilmaz AF, Saydam G, Sahin F i wsp. Granulocytic sarcoma: a systematic review. *Am J Blood Res*. 2013;3(4):265-270.
- [31] Stolzel, Röllig C, Radke J i wsp. F-FDG-PET/CT for detection of extramedullary acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2011;96(10):1552-6.
- [32] Pan Y, Tao Y, Fu C i wsp. Assessment of PET/CT in multifocal myeloid sarcomas with loss of TET2: a case report and literature review. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;1;8(10):13630-4.
- [33] Lee EY, Leung AY, Anthony MP i wsp. Utility of 18F-FDG PET/CT in identifying terminal ileal myeloid sarcoma in an asymptomatic patient. *Am J Hematol*. 2011;86(12):1036-7.
- [34] Menasce LP, Banerjee SS, Beckett E, Harris M. Extra-medullary myeloid tumour (granulocytic sarcoma) is often misdiagnosed: a study of 26 cases. *Histopathology* 1999;23:391-8. 1999 May;34(5):391-8.
- [35] Pileri SA, Ascani S, Cox MC i wsp. Myeloid sarcoma: clinico-pathologic, phenotypic and cytogenetic analysis of 92 adult patients. *Leukemia* 2007; 21: 340–350.
- [36] Alexiev BA, Wang W, Ning Y i wsp. Myeloid sarcomas: a histologic, immunohistochemical, and cytogenetic study. *Diagn Pathol*. 2007;31(2):42.
- [37] Bain EE, Rothman I, Lin L. De novo myeloid sarcoma in a 4-month-old infant: a case report and review of the literature. *J Cutan Pathol*. 2013;40(3):321-325.
- [38] Hagen PA, Singh Ch, Hart M i wsp. Differential Diagnosis of Isolated Myeloid Sarcoma: A Case Report and Review of the Literature. *Hematol Rep*. 2015 ;9;7(2):5709.

- [39] Seifert RP, Bulkeley W, Zhang L i wsp. A practical approach to diagnose soft tissue myeloid sarcoma preceding or coinciding with acute myeloid leukemia. *Ann Diagn Pathol.* 2014;18(4):253-60.
- [40] Creutzig U, Zimmermann M, Reinhardt D i wsp. Changes in Cytogenetics and Molecular Genetics in Acute Myeloid Leukemia From Childhood to Adult Age Groups. *Cancer.* 2016;8(16): 10.
- [41] Di Veroli A, Micarelli A, Cefalo M i wsp. Recurrence of a t(8;21)-Positive Acute Myeloid Leukemia in the Form of a Granulocytic Sarcoma Involving Cranial Bones: A Diagnostic and Therapeutic Challenge. *Case Rep Hematol.* 2013;2013:245395.
- [42] Campidelli C, Agostinelli C, Stitson i wsp. Myeloid sarcoma: extramedullary manifestation of myeloid disorders. *Am J Clin Pathol.* 2009;132(3):426-437.
- [43] Zhang XH, Zhang R, Li Y. Granulocytic sarcoma of abdomen in acute myeloid leukemia patient with inv(16) and t(6;17) abnormal chromosome: case report and review of literature. *Leuk Res.* 2010;34(7):958-61.
- [44] Falini B, Lenze D, Hasserijan R i wsp. Cytoplasmic mutated nucleophosmin (NPM) defines the molecular status of a significant fraction of myeloid sarcomas. *Leukemia.* 2007;21(7):1566-1570.
- [45] Lewandowski K. Znaczenie prognostyczne zaburzeń molekularnych u chorych na ostrą białaczkę szpikową z prawidłowym kariotypem. *Hematologia* 2012;3(3):231-242.
- [46] Mirza Kamran M, Sukhanowa M, Stolzel F i wsp. Genomic aberrations in myeloid sarcoma without blood or bone marrow involvement: characterization of formalin-fixed paraffin-embedded samples by chromosomal microarrays. *Leuk. Res.* 2014;38:1091-1096.

- [47] Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A i wsp. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998 Jul;4(7):844-7.
- [48] Gottwald L, Fijuth J. Zastosowanie mikromacierzy tkankowych w onkologii. *Onkologia po Dyplomie* 2015;01.
- [49] Gottwald L, Sęk P, Kubiak R i wsp. Efektywność zastosowania techniki mikromacierzy tkankowych do oceny ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych w gruczolakoraku endometrioidalnym endometrium – doniesienie wstępne. *Ginekol Pol.* 2012, 83, (342-346).
- [50] Bénet C, Gomez A, Aguilar C i wsp. Histologic and immunohistologic characterization of skin localization of myeloid disorders: a study of 173 cases. *Am J Clin Pathol* 2011;135(2):278-90.
- [51] Tsimberidou AM, Kantarjian HM, Wen S i wsp. Myeloid Sarcoma Is Associated with Superior Event-Free Survival and Overall Survival Compared with Acute Myeloid Leukemia. *Cancer*. 2008; 113(6): 1370–1378.
- [52] Lan TY, Lin DT, Tien HF i wsp. Prognostic factors of treatment outcomes in patients with granulocytic sarcoma. *Acta Haematol.* 2009;122(4):238-246.
- [53] Chen WY, Wang ChW, Chang CHH i wsp. Clinicopathologic features and responses to radiotherapy of myeloid sarcoma. *Radiation Oncology* 2013, 8:245.
- [54] Avni B, Rund D, Levin M i wsp. Clinical implications of acute myeloid leukemia presenting as myeloid sarcoma. *Hematol Oncol* 2012; 30: 34–40.
- [55] Chevallier P, Labopin M, Cornelissen J i wsp. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for isolated and leukemic myeloid sarcoma in adults: a report from the Acute Leukemia Working Party of the European group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2011; 96(9): 1391–1394.

- [56] Ando T, Mitani N, Matsunaga K i wsp. Gemtuzumab ozogamicin therapy for isolated extramedullary AML relapse after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Tohoku J Exp Med*. 2010; 220(2):121-126.
- [57] Gossai N, Cafferty R, Weigel B. Chemotherapy options for poor responders to neoadjuvant chemotherapy for orbital granulocytic sarcoma. *Curr. Treat. Options in Oncol*. 2016;17:38.
- [58] Goyal SD, Zhang MJ, Wang HL. Allogeneic hematopoietic cell transplant for AML: no impact of pre-transplant extramedullary disease on outcome. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(8):1057-62.
- [59] Hurley MY, Ghahramani GK, Frisch S i wsp. Cutaneous myeloid sarcoma: natural history and biology of an uncommon manifestation of acute myeloid leukemia. *Acta Derm Venereol*. 2013;93(3):319-324.
- [60] Choi JH, Lee HB, Park ChW i wsp. A Case of Congenital Leukemia Cutis. *Ann Dermatol*. 2009;21(1):66-70.
- [61] Balwierz W, Pawinska-Wasikowska K, Klekawka T . Development of treatment and clinical results in childhood acute myeloid leukemia in Poland. *Memo*. 2013; 6(1): 54–62.
- [62] Rasche M , Zimmermann M , Borschel L. Successes and Challenges in the Treatment of Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Retrospective Analysis of the AML-BFM Trials From 1987 to 2012. *Leukemia* 2018;32(10):2167-2177.
- [63] Yalman N, Sarper N, Devocioğlu O. Fludarabine, Cytarabine, G-CSF and Idarubicin (FLAG-IDA) for the Treatment of Relapsed or Poor Risk Childhood Acute Leukemia. *Turk J Pediatr* 2000;42(3):198-204.

[64] Brown P. Treatment of infant leukemias: challenge and promise. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013; 2013: 596–600.

[65] Landmann E, Burkhardt B, Zimmermann M. Results and conclusions of the European Intergroup EURO-LB02 trial in children and adolescents with lymphoblastic lymphoma. *Haematologica*. 2017 Dec; 102(12): 2086–2096.

[66] Bergsten E, Horne A, Aricó M i wsp. Confirmed efficacy of etoposide and dexamethasone in HLH treatment: long-term results of the cooperative HLH-2004 study. *Blood* 2017; 21; 130(25): 2728–2738.

[67] Raciborska A , Bilska K , Drabko K i wsp. Validation of a Multi-Modal Treatment Protocol for Ewing Sarcoma--A Report From the Polish Pediatric Oncology Group . *Pediatr Blood and Cancer* 2014;61(12):2170-4.

[68] Cairo MS, Beishuizen A. Childhood, adolescent and young adult non-Hodgkin lymphoma: current perspectives. *Br J Haematol* 2019; 185(6): 1021–1042.

[69] Ramos NR, Mo C, Karp JE i wsp. Current Approaches in the Treatment of Relapsed and Refractory Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Med*. 2015; 4(4): 665–695.

[70] Hijiya N, Suttorp M. How I Treat Chronic Myeloid Leukemia in Children and Adolescents. *Blood* 2019;30;133(22):2374-2384.

[71] Locatelli F, Strahm B. How I Treat Myelodysplastic Syndromes of Childhood.*Blood* 2018; 29;131(1M):1406-1414

[72] Meyer HJ, Beimler M, Borte G. Radiological and Clinical Patterns of Myeloid Sarcoma. *Radiol Oncol* 2019;14;53(2):213-218.

- [73] Støve HK, Sandahl JD, Abrahamsson J. Extramedullary Leukemia in Children With Acute Myeloid Leukemia: A Population-Based Cohort Study From the Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology (NOPHO). *Pediatr Blood Cancer* 2017;12;64(12).
- [74] Lee JY, Chung H, Cho H i wsp. Clinical characteristics and treatment outcomes of isolated myeloid sarcoma without bone marrow involvement: a single-institution experience. *Blood Res.* 2017 Sep; 52(3): 184–192.
- [75] Reinhardt D, Creutzig U. Isolated Myelosarcoma in Children – Update and Review. *Leuk Lymphoma* 2002;43(3):565-74.
- [76] Wang HQ, Li J. Clinicopathological Features of Myeloid Sarcoma: Report of 39 Cases and Literature Review. *Pathol Res Pract* 2016;212(9):817-24.
- [77] Kawamoto K, Miyoshi H, Yoshida N i wsp. Clinicopathological, Cytogenetic, and Prognostic Analysis of 131 Myeloid Sarcoma Patients. *Am J Surg Pathol* 2016;40(11):1473-1483.
- [78] Joseph JR, Wilkinson DA, Bailey NG i wsp. Aggressive Myeloid Sarcoma Causing Recurrent Spinal Cord Compression. *World Neurosurg.* 2015;84(3):866.
- [79] Takeda M , Yamaguchi S , Eguchi K i wsp. Spinal epidural granulocytic sarcoma in a child precedent to clinical manifestation of acute myeloid lymphoma: case report. *Neurol Med Chir* 2009;49(5):221-4.

[80] Shimizu H, Saitoh T, Tanaka M i wsp. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult AML patients with granulocytic sarcoma. *Leukemia*. 2012; 26(12):2469-73.

[81] Prakash Vishnu, Ravindra Reddy Chuda, Dick G Hwang i wsp. Isolated granulocytic sarcoma of the nasopharynx: a case report and review of the literature. *Int Med Case Rep J*. 2014; 7:1–6.

[82] Lloyd C, McHugh K. The role of radiology in head and neck tumours in children. *Cancer Imaging*. 2010; 10(1): 49–61.

[83] Sharma A, Singh HP, Gupta AA. Granulocytic sarcoma in non-leukaemic child involving maxillary sinus with long term follow-up: A rare case report. *Ann Maxillofac Surg* 2014;4(1):90-5

[84] Almond LM, Charalampakis M, Ford SJ i wsp. Myeloid sarcoma: Presentation, Diagnosis and Treatment. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017;17(5):263-267.

[85] Chandra P, Dhake S, Purandare N i wsp. Role of FDG PET/CT in Diagnostic Evaluation of Granulocytic Sarcomas: A Series of 12 Patients. *Indian J Nucl Med* 2017;32(3):198-202.

[86] Cantone E, Cavaliere M, Miriam Di Lullo A . Immunohistochemical patterns in the differential diagnosis of rhinopharyngeal granulocytic sarcoma. *Oncol Lett*. 2016 Oct; 12(4): 2777–2781.

[87] Al-Khateeb H, Badheeb A, Haddad H. Myeloid Sarcoma: Clinicopathologic, Cytogenetic, and Outcome Analysis of 21 Adult Patients. *Leuk Res Treatment*. 2011; 2011: 523168.

- [88] Creutzig U, Buchner T, Sauerland MC i wsp. Significance of age in acute myeloid leukemia patients younger than 30 years: a common analysis of the pediatric trials AML-BFM 93/98 and the adult trials AMLCG 92/99 and AMLSG HD93/98A. *Cancer*. 2008;112:562–571.
- [89] Creutzig U, Kutny MA, Barr R. Acute myelogenous leukemia in adolescents and young adults. *Pediatr Blood Cancer*. 2018; 65(9): e27089.
- [90] Reinhardt D, Pekrun A, Lakomek M. Primary Myelosarcomas Are Associated With a High Rate of Relapse: Report on 34 Children From the Acute Myeloid leukaemia-Berlin-Frankfurt-Münster Studies. *Br J Haematol* 2000;110(4):863-6.
- [91] Pramanik R , Tyagi A , Chopra A i wsp. Myeloid Sarcoma Predicts Superior Outcome in Pediatric AML; Can Cytogenetics Solve the Puzzle? *Clin Lymphoma Myeloma*.2018;18(6):249-254.
- [92] Mitkowski D, Gil L. Isolated Myeloid Sarcoma as the First Manifestation of Acute Myeloid Leukemia: A Case Study. *Clin Case Rep* 2017; 22;5(11):1802-1806.
- [93] Felice MS, Zubizarreta PA, Alfaro EM. Good Outcome of Children With Acute Myeloid Leukemia and t(8;21)(q22;q22), Even When Associated With Granulocytic Sarcoma: A Report From a Single Institution in Argentina *Cancer*2000;15;88(8):1939-44.
- [94] Tallman MS, Hakimian D, Shaw JM. Granulocytic Sarcoma Is Associated With the 8;21 Translocation in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 1993;11(4):690-7.
- [95] Byrd JC, Weiss RB, Arthur DC. Extramedullary Leukemia Adversely Affects Hematologic Complete Remission Rate and Overall Survival in Patients With t(8;21)(q22;q22): Results From Cancer and Leukemia Group B 8461. *J Clin Oncol* 1997;15(2):466-75.

[96] Hall MD, Chen YJ, Schultheiss TE i wsp. Treatment outcomes for patients with chloroma receiving radiation therapy. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2014;58:523-7.

[97] Chen WY, Wang CW, Chang CH i wsp. Clinicopathologic features and responses to radiotherapy of myeloid sarcoma. *Radiat Oncol* 2013;8:245. 10.1186/1748-717X-8-245.

[98] Bakst R, Wolden S, Yahalom J. Radiation Therapy for Chloroma (Granulocytic sarcoma). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;4;1;82(5):1816-22.

[99] Yang WCh , Yao M, Chen YH i wsp. Complete Response of Myeloid Sarcoma With Cardiac Involvement to Radiotherapy. *J Thorac Dis* 2016;8(6):1323-8.

[100] Minoia C, De Fazio V, Scognamillo G i wsp. Long-Lasting Remission in De Novo Breast Myeloid Sarcoma Treated with Decitabine and Radiotherapy. *Diagnostics (Basel)* 2019; 9(3): 84.

[101] Lee KH, Lee JH, Kim S i wsp. High frequency of extramedullary relapse of acute leukemia after allogeneic bone marrow transplantation *Bone Marrow Transplant* 2000 26: 147 152.

[102] Hung GY, Chiou TJ, Hsieh YL. Nonmyeloablative allogeneic bone marrow transplantation for orbital granulocytic sarcoma associated with t(8;21)(q22;q22) in acute myeloid leukemia *Bone Marrow Transplantation* 2002,29; 67–70.

[103] Mardiana S, Gill S. CAR T Cells for Acute Myeloid Leukemia: State of the Art and Future Directions. *Front Oncol.* 2020; 10: 697.

[104] Wang D, Shi R, Wang Q i wsp. Extramedullary relapse of acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation treated by CAR T-cell therapy: a case report. *Onco Targets Ther.* 2018; 11: 6327–6332.

- [105] Inaba H, Panetta JC, Pounds SB. Sorafenib Population Pharmacokinetics and Skin Toxicities in Children and Adolescents with Refractory/Relapsed Leukemia or Solid Tumor Malignancies. *Clin Cancer Res* 2019;15;25(24):7320-7330.
- [106] Grillo G, Zucchetti E, Forno B. Targeted Therapy in FLT3-ITD Positive Myeloid Sarcoma: Proof of Principle. *Blood* 2017;130: 5061.
- [107] Castelli G, Pelosi E, Testa U. Emerging Therapies for Acute Myelogenous Leukemia Patients Targeting Apoptosis and Mitochondrial Metabolism. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 260.
- [108] Karol SE, Alexander TB, Budhraja A. Venetoclax in combination with cytarabine with or without idarubicin in children with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a phase 1, dose-escalation study. *Lancet Oncol* 2020;4(551-560).
- [109] Karol SE, Cooper T, Bittencourt H i wsp. Safety, Efficacy, and PK of the BCL2 Inhibitor Venetoclax in Combination with Chemotherapy in Pediatric and Young Adult Patients with Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia and Acute Lymphoblastic Leukemia: Phase 1 Study. *Blood* (2019) 134 (Supplement_1): 2649.

Streszczenie

Mięsak granulocytarny (MG) to złośliwy guz o lokalizacji pozaszpikowej, występujący u pacjentów z ostrą białaczką szpikową (acute myeloid leukemia, AML), zespołem mielodysplastycznym (myelodysplastic syndrome, MDS) lub przewlekłą białaczką szpikową (chronic myeloid leukemia, CML). MG może towarzyszyć rozpoznaniu choroby, wyprzedzić zajęcie szpiku kostnego lub stanowić manifestację wznowy choroby. Rzadkością jest izolowany MG, który przebiega bez zajęcia szpiku kostnego i stanowi on szczególne wyzwanie diagnostyczne.

Celem pracy było podsumowanie doświadczeń dotyczących diagnostyki i leczenia MG u dzieci w ośrodkach onkologicznych w Polsce w latach 1998-2019. Sformułowano następujące cele :

- Charakterystyka kliniczna pacjentów z rozpoznaniem mięsaka granulocytarnego w Polsce
- Analiza metod diagnostycznych oraz stosowanego leczenia u dzieci z rozpoznaniem mięsaka granulocytarnego w Polsce
- Ocena wyników leczenia pacjentów pediatrycznych z rozpoznaniem mięsaka granulocytarnego (overall survival/OS/, relapse free survival /RFS/ oraz event free survival /EFS/)
- Określenie czynników determinujących wyniki leczenia mięsaka granulocytarnego u dzieci
- Analiza immunohistochemiczna posiadanych preparatów metodą mikromacierzy tkankowej.

Badanie objęło 43 pacjentów w wieku od 0 do 19 lat (18 dziewczynek, 25 chłopców, średnia wieku 8,81, mediana wieku 10 lat), u których na podstawie biopsji i/lub rozpoznania choroby towarzyszącej w szpiku i badań obrazowych, rozpoznano MG.

Parametry zebrane w tabelach porównano stosując test χ^2 lub dokładny test Fishera. Porównanie wyników między dwiema grupami wykonano stosując nieparametryczny test U Manna-Whitney'a dla zmiennych niezależnych. Do obliczenia prawdopodobieństwa przeżycia całkowitego, przeżycia bez zdarzeń niepożądanych oraz bez wznowy (pOS, pEFS, pRFS) wykorzystano analizę metodą Kaplana–Meiera. Do oceny

wpływu poszczególnych czynników na czasy przeżycia użyto testu log-rank. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie STATISTICA, wersja 13 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA), natomiast analizę krzywych przeżycia wykonano przy użyciu programu MedCalc 11.5.1 (MedCalc Software, Ostend, Belgium). Wyniki uznawano za istotne, jeżeli $p < 0,05$.

Prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia 5-letniego w grupie pacjentów z postacią kliniczną MG *de novo* wynosi $pOS=0,56 \pm 0,12$, w postaci z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS $pOS=0,84 \pm 0,09$, różnica jest istotna statystycznie ($p=0,0251$). Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia bez zdarzeń niepożądanych w grupie z postacią kliniczną MG *de novo* wynosi $pEFS=0,56 \pm 0,12$, w grupie z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS $pEFS=0,82 \pm 0,08$, różnica jest istotna statystycznie ($p=0,0247$). Prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u chorych bez translokacji $t(8;21)(q22;q22)$ wynosi $0,51 \pm 0,14$, u chorych z obecnością translokacji wynosi $0,90 \pm 0,09$, różnica jest istotna statystycznie ($p=0,0490$).

Na podstawie przeprowadzonej analizy sformułowano następujące wnioski:

- Najczęstszą postacią kliniczną mięsaka granulocytarnego (MG) u dzieci jest postać towarzysząca AML, najczęstszą lokalizację stanowiła skóra, drugą co do częstości - okolica oczodołowa. Skórna manifestacja MG częściej występowała w grupie wiekowej < 10 lat. Najczęściej stwierdzaną nieprawidłowością genetyczną była translokacja $t(8;21)(q22;q22)$. Czas od wystąpienia objawów, do ustalenia rozpoznania był bardzo długi i zróżnicowany, średnio wynosił 6,24 tygodnia.
- Brakuje jednoznacznych standardów diagnostycznych rozpoznawania MG u dzieci. Podstawą rozpoznania jest biopsja guza i ocena immunohistochemiczna z wykorzystaniem szerokiego panelu przeciwciał. Metodą preferowaną w ocenie zajęcia szpiku kostnego powinna być trepanobiopsja. Spośród wykorzystywanych badań radiologicznych, na szczególną uwagę zasługuje PET-CT, które wydaje się mieć wysoką czułość w rozpoznawaniu ognisk MG.
- Leczenie MG opiera się na aktualnym schemacie terapeutycznym ostrej białaczki szpikowej. Dodatkowo w terapii stosuje się allotransplantację komórek krwiotwórczych (allo-HSCT) oraz radioterapię, jednak brakuje wytycznych kwalifikacji do tych procedur.

- W badanej grupie uzyskano dobre wyniki leczenia wyrażone 5-letnim prawdopodobieństwem całkowitego przeżycia, przeżycia bez wznowy oraz przeżycia wolnego od zdarzeń na poziomie 65-79%.
- W grupie pacjentów z postacią kliniczną *de novo* MG obserwowano gorsze wyniki leczenia niż w grupie z jednoczesnym zajęciem szpiku przez AML/MDS. Lokalizacja MG i grupa wiekowa nie miały istotnego wpływu na pOS, pRFS i pEFS. U pacjentów ze stwierdzoną translokacją t(8;21)(q22;q22) zaobserwowano istotnie wyższe prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS). Zastosowany schemat chemioterapii, zabieg chirurgiczny, radioterapia nie wywarły istotnego wpływu na wyniki leczenia. Wskazane jest dalsze poszukiwanie czynników prognostycznych u dzieci z MG.
- Metoda mikromacierzy tkankowej jest cennym narzędziem w onkologii- przyspiesza i poprawia jakość oceny immunohistochemicznej wycinków z guza, kluczowej w diagnostyce różnicowej MG. Potwierdzono jej zalety w identyfikacji znanych markerów MG mających ugruntowaną pozycję w algorytmie diagnostycznym guzów nieznanego pochodzenia (CD43, CD68, CD45, CD33, CD163). Dodatkowo za pomocą metody mikromacierzy tkankowej wykryto obecność rzadziej opisywanych markerów CD14 i CD15 w tkankach MG. Jest to istotna wskazówka w badaniach mających na celu doskonalenie schematu diagnostyki różnicowej MG (w szczególności jej największego wyzwania- różnicowania z chłoniakiem limfoblastycznym).

Summary

Granulocytic sarcoma (MG) is a malignant tumor with an extramedullary location, occurring in patients with acute myeloid leukemia (AML), myelodysplastic syndrome (MDS) or chronic myeloid leukemia (CML). MG may accompany the diagnosis of the disease, precede bone marrow involvement or be a demonstration of relapse. Isolated MG (without bone marrow involvement) is a rare form of this entity and is a significant diagnostic challenge.

The aim of the study was to summarize the experiences with the diagnosis and treatment of MG in children in oncology centres in Poland between 1998 and 2019. The following objectives were developed:

- Clinical characteristics of patients with granulocytic sarcoma in Poland
- Analysis of diagnostic methods and treatment used in children with a diagnosis of granulocytic sarcoma in Poland
- Evaluation of treatment results in pediatric patients with granulocytic sarcoma (overall survival/OS/, relapse free survival /RFS/ and event free survival /EFS/)
- Identification of factors determining results of granulocytic sarcoma treatment in children
- Immunohistochemical analysis of the tissue samples by tissue microarray method.

The study involved 43 patients aged from 0 to 19 years (18 girls, 25 boys, mean age 8.81, median age 10 years). MG diagnosis was based on a tumor biopsy and/or marrow involvement and radiological imaging.

The parameters collected in the tables were compared using an χ^2 test or a precise Fisher test. The results between the two groups were compared using Mann-Whitney's non-parametric U test for independent variables. Kaplan-Meier analysis was used to calculate the probability of overall survival, event free survival and recurrence free survival (pOS, pEFS, pRFS). Log-rank test was used to assess the influence of individual factors on survival rates. The statistical analysis was performed with STATISTICA, version 13 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA), while the analysis of survival curves was performed with MedCalc 11.5.1 (MedCalc Software, Ostend, Belgium). The results were considered relevant if $p < 0.05$.

The probability of a total 5-year survival in a group of patients with de novo clinical presentation of MG is $pOS=0.56\pm 0.12$, in presentation with AML/MDS marrow involvement $pOS=0.84\pm 0.09$, the difference is statistically significant ($p=0.0251$). The probability of 5-year survival without adverse events in a group with MG de novo is $pEFS=0.56\pm 0.12$, in a group with AML/MDS $pEFS=0.82\pm 0.08$, the difference is statistically significant ($p=0.0247$). The probability of event-free survival (pEFS) in patients without translocations $t(8;21)(q22;q22)$ is 0.51 ± 0.14 , in patients with translocations 0.90 ± 0.09 , the difference is statistically significant ($p=0.0490$).

Based on the analysis the following conclusions were formulated:

- The most frequent clinical manifestation of granulocytic sarcoma (MG) in children is AML accompanying presentation, the most frequent location of MG was the skin and the second most frequent was the orbital region. The skin manifestation of MG was more frequent in the age group < 10 years. The most common genetic abnormality was translocation $t(8;21)(q22;q22)$. The time from the occurrence of symptoms to the diagnosis was very variable and long, with an average of 6.24 weeks.
- There are no clear diagnostic standards for the diagnosis of MG in children. The diagnosis is based on tumor biopsy and immunohistochemical evaluation using a wide panel of antibodies. Trepanobiopsy should be the preferred method in assessing bone marrow involvement. Among the radiological examinations used, special attention should be focused on PET-CT, which seems to have a high sensitivity in recognizing MG foci.
- The treatment of MG is based on the current therapeutic pattern of acute myeloid leukemia. In addition, allotransplantation of hematopoietic cells (allo-HSCT) and radiotherapy are used, but there are no guidelines for qualification for these procedures.
- The study group had good treatment outcomes expressed in terms of 5-year overall survival, the probability of relapse free survival and the probability of event free survival at the level of 65-79%.
- In the group of patients with de novo MG, worse treatment results were observed in comparison with the group with concurrent marrow involvement by AML/MDS. The location of MG and age group had no significant effect on pOS, pRFS and pEFS. Patients with a $t(8;21)(q22;q22)$ translocation were significantly more likely to have 5-year event free survival (pEFS). The applied chemotherapy regimen, surgery, radiotherapy did not

have a significant impact on the treatment results. Further search for prognostic factors in children with MG is recommended.

- The tissue microarray method is a valuable tool in oncology - it accelerates and improves the quality of immunohistochemical evaluation of tumor samples, crucial in differential diagnosis of MG. Its advantages have been confirmed in identification of known MG markers with an established position in the diagnostic algorithm of tumors of unknown origin (CD43, CD68, CD45, CD33, CD163). Additionally, the presence of less frequently described CD14 and CD15 markers in MG tissues was detected using the tissue microarray method. This is an important indication in studies aimed at improving the diagnostic algorithm of differential diagnosis of MG (especially its greatest challenge - differentiation with lymphoblastic lymphoma).

Spis rycin

Rycina 1. Schemat postępowania diagnostycznego u pacjenta z podejrzeniem MG.

Rycina 2. Schemat przedstawiający algorytm diagnostyczny do zastosowania u pacjenta z podejrzeniem MG. Rycina na podstawie *Ann Diagn Pathol.* 2014;18(4):253-60 w modyfikacji własnej.

Spis tabel

Tabela 1. Markery immunohistochemiczne istotne w diagnostyce MG.

Tabela 2. Ośrodki onkologii i hematologii dziecięcej, które wzięły udział w badaniu oraz liczba chorych z danego ośrodka.

Tabela 3. Charakterystyka liczebności, płci i wieku grupy badanej.

Tabela 4. Rozkład wiekowy grupy badanej.

Tabela 5. Wykaz używanych buforów.

Tabela 6. Wykaz zestawów wizualizacyjnych.

Tabela 7. Wykaz używanych przeciwciał.

Tabela 8. Lokalizacja MG w skórze, oczodole oraz innych lokalizacjach z uwzględnieniem zakresów wiekowych.

Tabela 9. Lokalizacje wszystkich ognisk MG w badanej grupie.

Tabela 10. Charakterystyka objawów w przypadku MG o lokalizacji oczodołowej (n=11) w badanej grupie. U dwojga pacjentów wystąpił więcej niż 1 objaw.

Tabela 11. Inne objawy MG w badanej grupie (nie dotyczy pacjentów z lokalizacją oczodołową i skórną).

Tabela 12. Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania (czasy podane w tygodniach).

Tabela 13. Czas od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania w poszczególnych postaciach klinicznych MG.

Tabela 14. Metody diagnostyczne, na podstawie których rozpoznano MG.

Tabela 15. Nieprawidłowości genetyczne stwierdzone u pacjentów w badanej grupie.

Tabela 16. Wyniki wszystkich badań genetycznych szpiku* pacjentów w badanej grupie (n= 43).

Tabela 17. Metody leczenia MG w badanej grupie.

Tabela 18. Protokoły chemioterapii zastosowane w leczeniu I linii w badanej grupie: AML BFM 2004, AML BFM 2012 i AML-PPLSG 98.

Tabela 19. Czas całkowitego przeżycia oraz prawdopodobieństwo przeżycia 5- letniego w grupach wiekowych <10 lat i > 10 lat.

Tabela 20. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia 5-letniego w zależności od postaci klinicznej MG- postać izolowana i postać z towarzyszącym zajęciem szpiku (AML lub MDS).

Tabela 21. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów ze skórną lokalizacją MG oraz w innym umiejscowieniu.

Tabela 22. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia u pacjentów z MG o lokalizacji oczodołowej oraz w innym umiejscowieniu.

Tabela 23. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia w badanej grupie w zależności od obecności translokacji t(8;21)(q22;22).

Tabela 24. Czas całkowitego przeżycia oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia w badanej grupie w zależności od zastosowanego schematu leczenia – AML BFM 2012, AML BFM 2004 i AML-PPLSG 98.

Tabela 25. Czas całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego całkowitego przeżycia (pOS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT.

Tabela 26. Czasy całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów z zabiegiem chirurgicznym i bez leczenia operacyjnego.

Tabela 27. Czasy całkowitego przeżycia (OS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów poddanych radioterapii i bez radioterapii.

Tabela 28. Czas przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia bez wznowy (pRFS) w badanych grupach wiekowych.

Tabela 29. Czas przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznów (pRFS) w zależności od postaci klinicznej MG- postać *de novo* i postać z towarzyszącym zajęciem szpiku- AML/MDS.

Tabela 30. Czas przeżycia wolny od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów z MG zlokalizowanym w skórze oraz w innej lokalizacji.

Tabela 31. Czas przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów z MG zlokalizowanym w oczodole oraz w innej lokalizacji.

Tabela 32. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w badanej grupie w zależności od obecności translokacji (8;21)(q22;q22).

Tabela 33. Czas przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w badanej grupie w zależności od zastosowanego schematu leczenia.

Tabela 34. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT.

Tabela 35. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów z zabiegiem chirurgicznym i bez leczenia operacyjnego.

Tabela 36. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (RFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów których leczenie obejmowało radioterapię, oraz pacjentów, którzy nie zostali poddani radioterapii.

Tabela 37. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w poszczególnych grupach wiekowych.

Tabela 38. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) i prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w zależności od postaci klinicznej MG – postać *de novo* i postać z towarzyszącym zajęciem szpiku – AML/MDS.

Tabela 39. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) i prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów z MG zlokalizowanym w skórze oraz w innej lokalizacji.

Tabela 40. Czas przeżycia wolny od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów z MG zlokalizowanym w oczodole oraz w innej lokalizacji.

Tabela 41. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanej grupie w zależności od obecności translokacji t(8;21)(q22;q22).

Tabela 42. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanej grupie w zależności od zastosowanego schematu leczenia.

Tabela 43. Czasy przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT.

Tabela 44. Czas przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) pacjentów których leczenie nie obejmowało zabiegu chirurgicznego oraz pacjentów, którzy byli leczeni operacyjnie.

Tabela 45. Czasy przeżycia wolnego od wznowy (EFS) oraz prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów, których leczenie obejmowało radioterapię, oraz pacjentów, którzy nie zostali poddani radioterapii.

Tabela 46. Charakterystyka wznów MG.

Tabela 47. Charakterystyka wiekowa pacjentów, w zależności od wystąpienia zdarzenia w postaci wznowy lub zgonu.

Tabela 48. Liczba pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu w zakresach wiekowych < 10 lat i powyżej 10 lat.

Tabela 49. Liczba pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu, w zależności od postaci klinicznej MG.

Tabela 50. Czas od wystąpienia objawów, do ustalenia rozpoznania w zależności od występowania zdarzeń w postaci wznowy lub zgonu.

Tabela 51. Liczba chorych, u których wystąpiło zdarzenie w postaci zgonu lub wznowy, w zależności od czasu od wystąpienia objawów, do ustalenia rozpoznania, przedstawionego w zakresach < 4 tygodnie i > 4 tygodni.

Tabela 52. Liczba pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci wznowy lub zgonu, w zależności od lokalizacji MG.

Tabela 53. Liczba pacjentów, u których wystąpiło zdarzenie w postaci zgonu lub wznowy, w zależności od obecności translokacji (8;21)(q22;q22).

Tabela 54. Analiza immunohistochemiczna posiadanych preparatów przygotowana metodą mikromacierzy tkankowej (wybór 21 przeciwciał).

Tabela 54. Analiza immunohistochemiczna posiadanych preparatów przygotowana metodą mikromacierzy tkankowej (wybór 21 przeciwciał).

Spis wykresów

Wykres 1. Rozpoznanie z uwzględnieniem zakresów wiekowych.

Wykres 2. Postacie kliniczne mięsaka granulocytarnego, w zależności od relacji czasowej w stosunku do zajęcia szpiku.

Wykres 3. Postacie kliniczne mięsaka granulocytarnego w przedziałach wiekowych, w zależności od relacji czasowej w stosunku do zajęcia szpiku.

Wykres 4. Lokalizacja MG u dzieci – skóra, oczodoł i inne.

Wykres 5. Prawdopodobieństwo 5-letniego całkowitego przeżycia (pOS) w badanej grupie, $pOS=0,67\pm0,08$.

Wykres 6. Prawdopodobieństwo 5-letniego całkowitego przeżycia (pOS) w grupach wiekowych (poniżej i powyżej 10 lat), $p=0,3584$

Wykres 7. Prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia (pOS) w postaciach MG: *de novo* oraz postaci z towarzyszącym zajęciem szpiku przez AML/MDS, $p=0,0251$.

Wykres 8. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) w grupie pacjentów z lokalizacją MG w skórze i pacjentów z MG o innej lokalizacji, $p=0,7017$.

Wykres 9. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) w grupie pacjentów z mięsakiem granulocytarnym o lokalizacji oczodołowej oraz innej lokalizacji, $p=0,7124$.

Wykres 10. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) w grupie pacjentów z dodatnim i ujemnym wynikiem translokacji $t(8;21)(q22;q22)$, $p=0,0817$.

Wykres 11. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi: AML BFM 2004, AML BFM 2012 i AML-PPLSG 98, $p=0,7566$.

Wykres 12. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów poddanych procedurze alloHSCT oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT, $p=0,9951$.

Wykres 13. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów z zabiegiem chirurgicznym i i którzy bez leczenia operacyjnego, $p=0,9919$.

Wykres 14. Prawdopodobieństwo całkowitego 5-letniego przeżycia (pOS) u pacjentów poddanych radioterapii i bez radioterapii, $p=0,2401$.

Wykres 15. Prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w badanej grupie.

Wykres 16. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w zakresach wiekowych poniżej i powyżej 10 lat, $p=0,8613$.

Wykres 17. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w zależności od postaci klinicznej MG, $p=0,9846$.

Wykres 18. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w grupie pacjentów z lokalizacją MG w skórze i o innej lokalizacji, $p=0,0981$.

Wykres 19. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w grupie pacjentów z lokalizacją oczodołową MG i inną, $p=0,09559$.

Wykres 20. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) w grupie pacjentów z obecną $t(8;21)(q22;q22)$ lub jej brakiem, $p=0,2654$.

Wykres 21. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi – ANLL 98, AML BFM 2004, AML BFM 2012.

Wykres 22. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT, $p=0,0124$.

Wykres 23. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (pRFS) u pacjentów, których leczenie nie obejmowało zabiegu chirurgicznego, oraz pacjentów, którzy byli leczeni operacyjnie, $p=0,2567$.

Wykres 24. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od wznowy (RFS) u pacjentów których leczenie obejmowało radioterapię, oraz pacjentów, którzy nie odbyli radioterapii, $p=0,2696$.

Wykres 25. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanej grupie.

Wykres 26. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w badanych grupach wiekowych (poniżej i powyżej 10 lat), $p=0,8613$.

Wykres 27. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w zależności od postaci klinicznej MG – postać *de novo* i postać z towarzyszącym zajęciem szpiku – AML/MDS, $p=0,0247$.

Wykres 28. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) w zależności od lokalizacji MG – grupa pacjentów z zajęciem skóry i pozostali pacjenci z MG o innej lokalizacji, $p=0,4809$.

Wykres 29. Prawdopodobieństwo 5-letniego EFS w zależności od lokalizacji MG – grupa pacjentów z lokalizacją oczodołową i pozostali pacjenci z MG o innej lokalizacji, $p=0,5123$.

Wykres 30. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) w grupie pacjentów z obecną $t(8;21)(q22;q22)$ lub jej brakiem, $p=0,0490$.

Wykres 31. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów leczonych poszczególnymi schematami terapeutycznymi: AML BFM 2004-Interim, AML BFM 2012, AML-PPLSG 98.

Wykres 32. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów poddanych procedurze allotransplantacji komórek krwiotwórczych oraz u chorych, których leczenie nie obejmowało alloHSCT, $p=0,6327$.

Wykres 33. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów których leczenie nie obejmowało zabiegu chirurgicznego, oraz pacjentów, którzy byli leczeni operacyjnie, $p=0,4181$.

Wykres 34. Prawdopodobieństwa 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (pEFS) u pacjentów których leczenie obejmowało radioterapię, oraz pacjentów, którzy nie zostali poddani radioterapii, $p=0,2924$.

Spis fotografii

Fotografia 1. Mięsak granulocytarny skóry u 15-letniego pacjenta z ostrą białaczką szpikową AML M5 (pacjent z grupy badanej, leczony w ośrodku poznańskim). Materiał własny autorki.

Fotografia 2. Mięsak granulocytarny szczytu lewego płuca u pacjenta z przewlekłą białaczką szpikową - skan z tomografii komputerowej. Pacjent z grupy badanej, leczony w ośrodku poznańskim.

Fotografia 3. Zdjęcie fragmentu bloku „biorcy” przygotowanego metodą mikromacierzy tkankowych (TMA). Widoczne są preparaty pobrane z 7 posiadanych bloków parafinowych pacjentów z MG. Materiał zabarwiono przeciwciałem anty-CD43.

Fotografia 4. Zdjęcie preparatu z biopsji guza jednego z pacjentów z grupy badanej. Preparat przygotowano metodą TMA i zabarwiono przeciwciałem anty-CD43 (reakcja dodatnia).

Fotografia 5. Zdjęcie preparatu z biopsji guza jednego z pacjentów z grupy badanej. Preparat przygotowano metodą TMA i zabarwiono przeciwciałem anty-CD45 (reakcja dodatnia).

Fotografia 6. Zdjęcie preparatu z biopsji guza jednego z pacjentów z grupy badanej. Preparat przygotowano metodą TMA i zabarwiono przeciwciałem anty-CD163 (reakcja dodatnia).

Dokumentacja fotograficzna

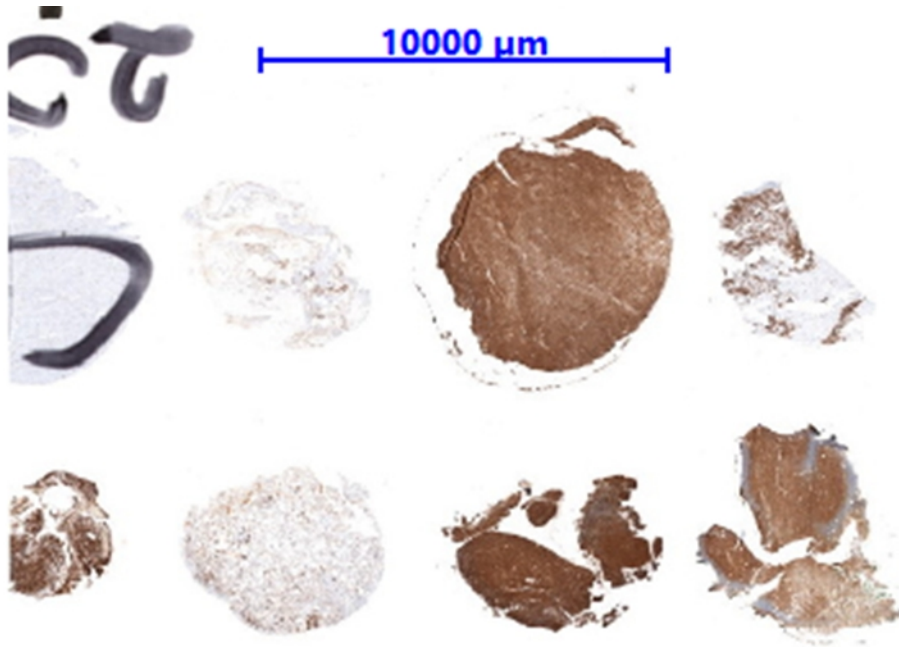
Fotografia 1. Mięsak granulocytarny skóry u 15-letniego pacjenta z ostrą białaczką szpikową AML M5 (pacjent z grupy badanej, leczony w ośrodku poznańskim). Materiał własny autorki.



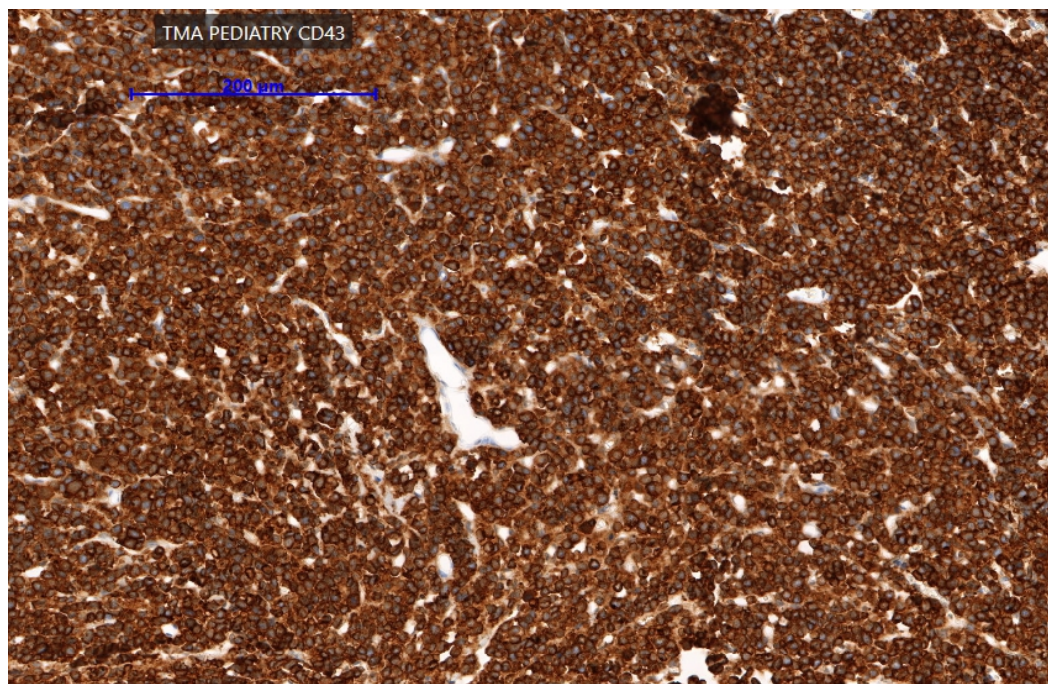
Fotografia 2. Mięsak granulocytarny szczytu lewego płuca u pacjenta z przewlekłą białaczką szpikową - skan z tomografii komputerowej. Pacjent z grupy badanej, leczony w ośrodku poznańskim.



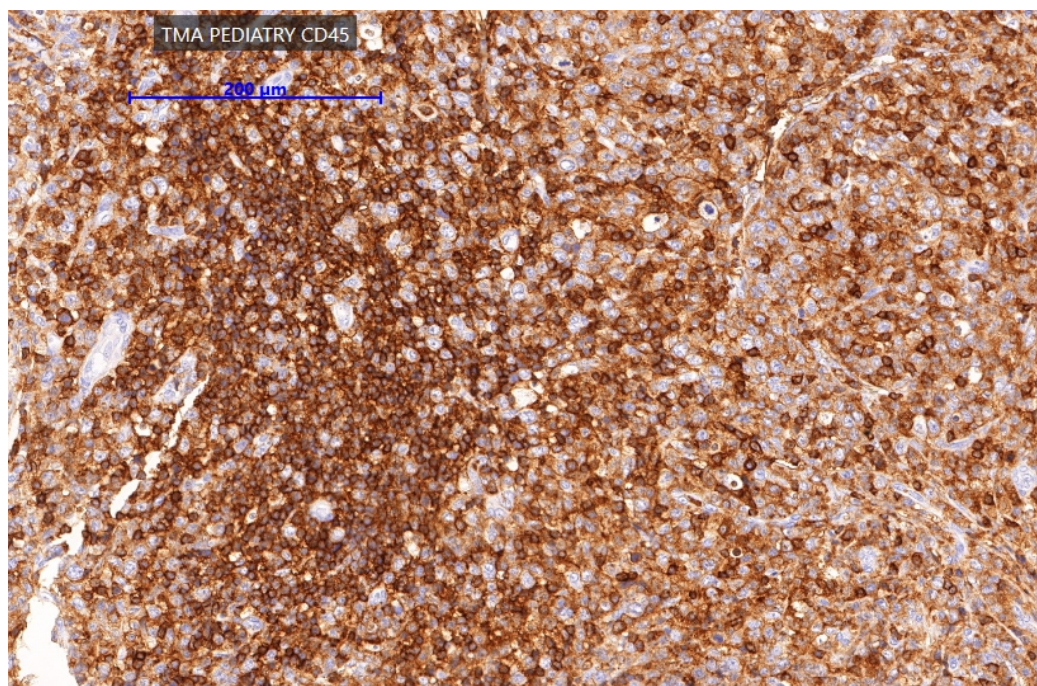
Fotografia 3. Zdjęcie fragmentu bloku „biorcy” przygotowanego metodą mikromacierzy tkankowych (TMA). Widoczne są preparaty pobrane z 7 posiadanych bloków parafinowych pacjentów z MG. Materiał zabarwiono przeciwciałem anti-CD43.



Fotografia 4. Zdjęcie preparatu z biopsji guza jednego z pacjentów z grupy badanej. Preparat przygotowano metodą TMA i zabarwiono przeciwciałem anti-CD43 (reakcja dodatnia).



Fotografia 5. Zdjęcie preparatu z biopsji guza jednego z pacjentów z grupy badanej. Preparat przygotowano metodą TMA i zabarwiono przeciwciałem anti-CD45 (reakcja dodatnia).



Fotografia 6. Zdjęcie preparatu z biopsji guza jednego z pacjentów z grupy badanej. Preparat przygotowano metodą TMA i zabarwiono przeciwciałem anti-CD163 (reakcja dodatnia).

