



JUSTYNA HELENA CZARNY

**Analiza naturalnego przebiegu mastocytozy u dzieci
oraz roli mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej
w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu choroby**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor:

Prof. dr hab. n.med. Magdalena Maria Lange

Praca wykonywana w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii

Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik Katedry i Kliniki:

Prof. dr hab. n.med. Roman Janusz Nowicki

Gdańsk 2020

*Składam serdeczne podziękowania mojemu promotorowi
prof. dr hab. n.med. Magdalenie Marii Lange,
za inspirację oraz motywację do podjęcia pracy naukowej,
opiekę merytoryczną i zaangażowanie na każdym etapie pracy,
a także za poświęcony czas oraz okazaną życzliwość,
dzięki którym możliwe było tworzenie tej pracy.*

Pracę tę poświęcam moim Rodzicom

SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW I SYMBOLI UŻYWANYCH W PRACY.....	6
1. WSTĘP	8
1.1. Definicja i klasyfikacja postaci klinicznych mastocytozy.....	8
1.1.1. Mastocytoza skóry	9
1.1.2. Mastocytoza układowa.....	11
1.2. Patogeneza mastocytozy.....	14
1.2.1. Rola biologiczna mastocytów	14
1.2.2. Pochodzenie, różnicowanie i dojrzewanie mastocytów	14
1.2.3. Mutacje genu <i>KIT</i> w patogenezie mastocytozy	17
1.2.4. Inne mechanizmy genetyczne w patogenezie mastocytozy.....	18
1.2.5. Udział mediatorów uwalnianych przez mastocyty w patogenezie mastocytozy ..	19
1.3. Obraz kliniczny mastocytozy skóry	21
1.4. Obraz kliniczny mastocytozy układowej.....	25
1.5. Mastocytoza układowa u dzieci w świetle danych literaturowych	28
2. CELE PRACY	30
2.1. Cel główny.....	30
2.2. Cele szczegółowe	30
2.3. Uzasadnienie celowości podjęcia badań	30
3. MATERIAŁ I METODY	32
3.1. Grupy badane.....	32
3.2. Badania diagnostyczne	33
3.3. Ocena rozległości oraz nasilenia zmian skórnych.....	35
3.4. Ocena nasilenia skórnych objawów zależnych od mediatorów	36
3.5. Ocena nasilenia narządowych objawów zależnych od mediatorów	37
3.6. Monitorowanie przebiegu choroby i ocena stopnia remisji.....	37
3.7. Oznaczenie stężenia tryptazy w surowicy	38
3.8. Badanie mutacji D816V genu <i>KIT</i> we krwi obwodowej	39
3.9. Analiza statystyczna	40
4. WYNIKI	41
4.1. Charakterystyka grup badanych	41
4.1.1. Charakterystyka grupy I.....	41
4.1.2. Charakterystyka grupy II.....	42

4.2. Analiza ewolucji zmian skórnych i objawów zależnych od mediatorów mastocytów u dzieci z mastocytozą skóry podczas 10-letniego okresu monitorowania	42
4.2.1. Ewolucja zmian skórnych: rozległości, pigmentacji oraz wyniosłości	42
4.2.2. Ewolucja skórnych objawów: świądu, objawu <i>flushing</i> , zmian pęcherzowych ...	47
4.2.3. Ewolucja narządowych objawów: bólów brzucha, biegunek, hipotensji, duszności, bólów głowy oraz występowania anafilaksji.....	55
4.3. Analiza stężenia tryptazy w surowicy podczas 10-letniego okresu monitorowania .	60
4.4. Analiza stopnia remisji objawów mastocytozy skóry u dzieci monitorowanych przez 10 lat	62
4.5. Analiza czynników związanych z remisją zmian skórnych	65
4.6. Analiza obrazu klinicznego mastocytozy u dzieci, u których wykonano badanie mutacji D816V genu <i>KIT</i> we krwi obwodowej	65
4.6.1. Wyniki diagnostyki w kierunku mastocytozy układowej	67
4.6.2. Porównanie obrazu klinicznego mastocytozy u dzieci z mutacją i bez mutacji D816V genu <i>KIT</i>	71
4.7. Analiza stopnia remisji/progresji objawów choroby u dzieci, u których wykonano badanie mutacji D816V we krwi obwodowej	74
5. DYSKUSJA	78
5.1. Omówienie wyników badań nad ewolucją objawów klinicznych mastocytozy skóry u dzieci.....	79
5.2. Omówienie wyników badań genetycznych.....	85
6. WNIOSKI	93
7. STRESZCZENIE	94
ABSTRACT	102
8. PIŚMIENNICTWO	109
SPIS RYCIN	122
SPIS TABEL	123

WYKAZ SKRÓTÓW I SYMBOLI UŻYWANYCH W PRACY

- AlAT** – aminotransferaza alaninowa
- AspAT** – aminotransferaza asparaginianowa
- ASM** – agresywna mastocytoza układowa (*aggressive systemic mastocytosis*)
- CD** – antygen różnicowania komórkowego (*cluster of differentiation*)
- CM** – mastocytoza skóry (*cutaneous mastocytosis*)
- CMML** – przewlekła białaczka mielomonocytoza (*chronic myelomonocytic leukemia*)
- CR** – całkowita remisja (*complete remission*)
- DCM** – uogólniona skórna mastocytoza (*diffuse cutaneous mastocytosis*)
- DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy (*deoxyribonucleic acid*)
- ECNM** (*European Competence Network on Mastocytosis*) – europejska sieć zajmująca się badaniami nad mastocytozą
- IL** – interleukiny (*interleukine*)
- ISM** – indolentna mastocytoza układowa (*indolent systemic mastocytosis*)
- kDa** – kilo Dalton (Dalton – nazwa jednostki masy atomowej)
- KIT** – białko receptorowe mastocytów
- KIT** – gen kodujący białko KIT
- LT** – leukotrieny (*leukotriene*)
- MCL** – białaczka mastocytarna (*mast cell leukemia*)
- MCS** – mięsak mastocytarny (*mast cell sarcoma*)
- MIS** – skórna manifestacja mastocytozy (*mastocytosis in the skin*)
- MPCM** – plamisto-grudkowa mastocytoza skóry (*maculopapular cutaneous mastocytosis*)
- MR** – zdecydowana remisja (*major remission*)
- ng/ml** – nanogramów na mililitr (jednostka)
- NR** – brak remisji (*no remission*)
- PBMNCs** – jednojądrowe komórki krwi obwodowej (*peripheral blood mononuclear cells*)
- PCR** – reakcja łańcuchowa polimerazy (*polymerase chain reaction*)

PDGF – płytkopochodny czynnik wzrostu (*platelet-derived growth factor*)

PR – częściowa remisja (*partial remission*)

RFLP – polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (*restriction fragment length polymorphism*)

SCF – czynnik wzrostowy komórek pnia (*stem cell factor*)

SM – mastocytoza układowa (*systemic mastocytosis*)

SSM-SM – mastocytoza układowa o podstępny przebiegu (*smoldering systemic mastocytosis*)

SM-AHN – mastocytoza układowa z towarzyszącą hematologiczną chorobą nowotworową (*systemic mastocytosis with an associated hematologic neoplasm, SM-AHN*)

TaqMan – sonda TaqMan

UCK – Uniwersyteckie Centrum Kliniczne

qPCR – ilościowa amplifikacja DNA w czasie rzeczywistym (*quantitative PCR*)

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (*World Health Organization*)

1. WSTĘP

1.1. DEFINICJA I KLASYFIKACJA POSTACI KLINICZNYCH MASTOCYTOZY

Mastocytoza jest rzadką, heterogenną grupą chorób zaliczanych do nowotworów mieloproliferacyjnych, charakteryzującą się monoklonalnym rozrostem oraz akumulacją mastocytów (*mast cells*) w tkankach [1–6]. Częstość występowania mastocytozy szacowana jest jako 1 przypadek na 10 000 dorosłych [7]. Zapadalność na mastocytozę jest szacowana na 0.89 na 100 000 ludzi na rok wśród mieszkańców Danii [7,8]. Nie stwierdzono istotnej predylekcji mastocytozy do płci [9].

Przyjęta przez Światową Organizację Zdrowia (*World Health Organization*, WHO) klasyfikacja mastocytozy wyróżnia mastocytozę skóry (*Cutaneous mastocytosis*, CM), mastocytozę układową (*Systemic mastocytosis*, SM) oraz mięsaka mastocytarnego (*mast cell sarcoma*, MCS) [2]. Klasyfikację mastocytozy przedstawiono w tabeli I. CM jest chorobą ograniczoną do skóry. SM polega na zajęciu narządów wewnętrznych, przede wszystkim szpiku kostnego, wątroby, śledziony, węzłów chłonnych i przewodu pokarmowego. SM może przebiegać z zajęciem skóry lub bez zajęcia skóry. Mięsak mastocytarny jest nowotworem o niskim stopniu zróżnicowania, wzrastającym z destrukcją otaczających tkanek.

TABELA I. KLASYFIKACJA POSTACI MASTOCYTOZY WEDŁUG WHO [2,10,11]

Mastocytoza skóry (<i>Cutaneous Mastocytosis</i>, CM) <ul style="list-style-type: none">• Plamisto-grudkowa mastocytoza skóry (<i>Maculopapular CM</i>, MPCM / <i>Urticaria pigmentosa</i>)• Uogólniona skórna mastocytoza (<i>Diffuse CM</i>, DCM)• Mastocytoma skóry (<i>Mastocytoma of the skin</i>)
Mastocytoza układowa (<i>Systemic mastocytosis</i>, SM) <p>Niezaawansowana SM (<i>non-advanced SM</i>)</p> <ul style="list-style-type: none">• SM indolentna (<i>Indolent Systemic Mastocytosis</i>, ISM)• SM ograniczona do szpiku kostnego (<i>Bone Marrow Mastocytosis</i>, BMM)• SM o podstępny przebiegu (<i>Smoldering Systemic Mastocytosis</i>, SSM) <p>Zaawansowana SM (<i>advanced SM</i>)</p> <ul style="list-style-type: none">• SM z towarzyszącą hematologiczną chorobą nowotworową (<i>Systemic mastocytosis with an associated hematologic neoplasm</i>, SM-AHN)• Agresywna SM (<i>Aggressive systemic mastocytosis</i>, ASM)• Białaczka mastocytarna (<i>Mast cell leukemia</i>, MCL)
Mięsak mastocytarny (<i>Mast cell sarcoma</i>, MCS)

Mastocytoza może rozwijać się zarówno u dzieci jak i u dorosłych, przy czym początek choroby w ciągu pierwszych dwóch lat życia stwierdza się u ponad 50% chorych [4,9]. U dorosłych rozpoznanie mastocytozy jest stawiane najczęściej pomiędzy 20 a 50 rokiem życia [9]. U dzieci najczęściej rozpoznawana jest CM, w odróżnieniu do populacji dorosłych u których dominuje SM z zajęciem skóry [4,5,12]. Szacuje się, iż charakterystyczne zmiany skórne, występują łącznie u 80% pacjentów chorujących na mastocytozę [2,4,13].

1.1.1. MASTOCYTOZA SKÓRY

Mastocytoza skóry (*Cutaneous mastocytosis*, CM) jest chorobą ograniczoną do skóry, która dominuje w populacji dziecięcej. Zmiany skórne typowe dla CM mogą współistnieć z układową postacią choroby. U chorych ze skórnymi objawami mastocytozy, u których nie przeprowadzono diagnostyki w kierunku SM, powinno się stosować tymczasowe rozpoznanie – skórna manifestacja mastocytozy (*mastocytosis in the skin*, MIS).

Rozpoznanie CM jest stawiane na podstawie spełnienia kryteriów diagnostycznych MIS oraz nieobecności kryteriów dla SM [4,13]. W związku z tym rozpoznanie CM, można postawić dopiero po wykluczeniu układowego charakteru choroby. Kryteria diagnostyczne skórnej manifestacji mastocytozy przedstawiono w tabeli II. Rozpoznanie MIS stawia się na podstawie stwierdzenia charakterystycznych zmian skórnych oraz dodatniego objawu Dariera, stanowiących kryteria większe. Objaw Dariera, patognomoniczny dla CM, jest łatwym do wykonania oraz nieinwazyjnym badaniem. Objaw ten polega na wystąpieniu rumienia i obrzęku w obrębie zmian skórnych, pod wpływem mechanicznego podrażnienia skóry poprzez pocieranie zmiany skórnej szpatułką laryngologiczną stosując niewielki ucisk [4]. U dzieci objaw ten należy wywoływać z ostrożnością, gdyż może wywołać uogólniony rumień i/lub hipotensję [13]. Potwierdzeniem rozpoznania MIS jest badanie histopatologiczne, w którym stwierdza się zwiększoną ilość mastocytów w skórze [4]. W przypadku niejednoznacznego obrazu histopatologicznego zaleca się wykonanie badania w kierunku obecności mutacji genu *KIT* w skórze [4]. Badanie w kierunku mutacji genu *KIT* stanowi dodatkowe kryterium mniejsze rozpoznania MIS, nie jest wykonywane rutynowo, przeprowadza się je w przypadkach braku potwierdzenia histopatologicznego oraz w pracach naukowych. Stwierdzenie mutacji D816V genu *KIT* w skórze chorych na mastocytozę nie ma znaczenia w diagnostyce w kierunku SM, jednak świadczy o klonalnym charakterze choroby [4,11,14].

TABELA II. KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE SKÓRNEJ MANIFESTACJI MASTOCYTOZY (MIS) [4,15]

Kryterium większe Występowanie typowych zmian skórnych z dodatnim objawem Dariera
Kryteria mniejsze 1. Stwierdzenie zwiększonej liczby mastocytów w badaniu histopatologicznym wycinka ze zmian skórnych 2. Stwierdzenie aktywującej mutacji genu <i>KIT</i> w zmienionej chorobowo skórze

Tymczasowa diagnoza MIS, wiążąca się z koniecznością wykonania biopsji szpiku, powinna być stawiana u wszystkich pacjentów dorosłych. Natomiast u dzieci, diagnostyka SM według schematu diagnostycznego jak u dorosłych jest wymagana tylko w przypadkach z towarzyszącą organomegalią (powiększenie wątroby, śledziony lub węzłów chłonnych), utrzymywaniem się stężenia tryptazy mastocytowej powyżej 100 ng/ml lub wzrostem stężenia tryptazy w okresie monitorowania oraz obecności istotnych pod względem klinicznym nieprawidłowości w morfologii krwi obwodowej [1,4-5,12,15-26]. W pozostałych przypadkach u dzieci spełniających kryteria dla MIS, ze stężeniem tryptazy w surowicy poniżej 20 ng/ml, bez towarzyszącej organomegalii,

bez istotnych klinicznie odchyień w morfologii krwi obwodowej, wykonanie biopsji szpiku nie jest wymagane przed postawieniem rozpoznania CM [5,13]. Koniecznym warunkiem rozpoznania CM u dorosłych jest wykluczenie zajęcia narządów wewnętrznych [5,11,16,17].

W skórze osób zdrowych mastocyty są obecne w ilości około 40 komórek na mm^3 [4]. Zwiększenie od dwóch do trzech razy liczby mastocytów w skórze, jest charakterystyczne dla stanu zapalnego skóry. W MIS stwierdza się zwiększenie ilości mastocytów w badanym wycinku od 4 do 8 razy, w porównaniu do skóry zdrowej [4]. Stwierdza się różnice pod względem ilości mastocytów w wariantach klinicznych CM. W DCM oraz mastocytoma skóry liczba mastocytów infiltrujących skórę jest wyższa niż w MPCM [4], ponadto w DCM zwiększoną liczbę mastocytów stwierdza się w skórze klinicznie niezmienionej [15]. Stwierdzono różnice w dystrybucji mastocytów pod względem lokalizacji, w obrębie skóry twarzy stwierdza się ich więcej niż w skórze tułowia, co więcej naciek mastocytarny jest obfitszy w warstwach powierzchniowych w porównaniu do głębszych warstw skóry [4]. Zgodnie ze standardami diagnostycznymi ECNM z 2007 r., kryterium histopatologiczne MIS jest spełnione w przypadku stwierdzenia monomorficznego, mastocytarnego nacieku w skórze właściwej, złożonego z dużych skupisk mastocytów (powyżej 15 komórek/grupę) lub z rozproszonych mastocytów w liczbie przekraczającej 20 w polu widzenia (pod 40-krotnym powiększeniem mikroskopowym) [12,15]. Wyróżniono cztery typy wzorca nacieku mastocytarnego w skórze: okołonaczyniowy, śródmiąższowy, guzkowy, uogólniony [13]. Uzupełnieniem badania histopatologicznego jest badanie immunohistochemiczne, z użyciem przeciwciał przeciwko tryptazie lub przeciwko antygenowi CD117 [4,12,13,15]. Barwieniem metodą Giemzy lub błękitem toluidyny można rozpoznać prawidłowe mastocyty, jednak w przypadku komórek atypowych oraz hipogranulowanych barwienie to może okazać się niewystarczające, ze względu na brak typowych ziarnistości [15]. Nieprawidłowy immunofenotyp mastocytów polegający na ekspresji CD2 i CD25, typowy dla mastocytów szpiku kostnego chorych na SM, może występować również w skórze [27]. Jednak obecność w skórze mastocytów wykazujących ekspresję CD2 i CD25 nie stanowi kryterium diagnostycznego SM. W ostatnich latach stwierdzono iż większość neoplastycznych mastocytów wykazuje również ekspresję CD30 [28–30].

Morgado i wsp., badając grupę 60 dzieci z MIS stwierdzili nieprawidłowy immunofenotyp mastocytów u większości dzieci, przy czym ekspresję CD 25 odnotowano u 28%, natomiast CD30 u 82% dzieci [29]. W 2019 roku Badacze Greenberg i wsp., ocenili ekspresję markerów CD2, CD25 i CD30 w biopsjach skóry u 24 dzieci z CM oraz jej związek z przebiegiem choroby. W pracy tej nie stwierdzono korelacji pomiędzy obecnością wymienionych markerów mastocytów a przebiegiem klinicznym choroby i rokowaniem [28]. U większości (84%) badanych dzieci stwierdzono obecność w skórze mastocytów wykazujących ekspresję CD30 oraz CD25 (60% chorych), rzadziej natomiast był stwierdzany marker CD 2 (44% chorych) [28]. Do chwili obecnej, nie udało się ustalić jednoznacznego związku pomiędzy immunofenotypem mastocytów w skórze a progresją do SM u dzieci, zagadnienie wymaga dalszych badań.

1.1.2. MASTOCYTOZA UKŁADOWA

Mastocytoza układowa (*Systemic mastocytosis*, SM) charakteryzuje się obecnością nacieków mastocytarnych w narządach wewnętrznych i może wiązać się z zaburzeniem ich funkcji. Organem najczęściej zajęтым przez mastocyty jest szpik kostny, rzadziej nacieki mastocytarne występują w wątrobie, śledzionie, węzłach chłonnych oraz w przewodzie pokarmowym.

U dorosłych z podejrzeniem SM, bezwzględnie wskazane jest wykonanie biopsji szpiku w przypadku stwierdzenia co najmniej jednej cechy spośród wymienionych: zmiany skórne typowe dla mastocytozy (MIS), podwyższone stężenie tryptazy w surowicy krwi (> 30 ng/ml jako izolowany parametr, > 20 ng/ml przy obecności innych cech sugerujących SM, z wyjątkiem chorych z rodzinną hipertyptasemią oraz inną chorobą mieloproliferacyjną), obecnością mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej lub skórze, zespół aktywacji mastocytów, powiększenie węzłów chłonnych i /lub śledziony o niejasnej etiologii, odchylenia w morfologii krwi takie jak eozynofilia i /lub cytopenia o niewyjaśnionej etiologii [11,12,16,25]. Do względnych wskazań należy stwierdzenie objawów klinicznych o nieustalonej etiologii między innymi: idiopatyczna osteoporoza (w szczególności u mężczyzn) lub wstrząsy anafilaktyczne po ekspozycji na jady owadów błonkoskrzydłych, utrata masy ciała, zaburzenie funkcji wątroby z wodobrzuszem [11,12,16,25,31].

Rozpoznanie SM jest stawiane na podstawie kryteriów diagnostycznych WHO, które przedstawiono w tabeli III. Do rozpoznania SM wymagane jest spełnienie kryterium większego i co najmniej jednego mniejszego lub 3 kryteriów mniejszych [1,11,32].

TABELA III. KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE MASTOCYTOZY UKŁADOWEJ WEDŁUG WHO [1,11,32]

Kryterium większe:
Wielogniskowe, gęste nacieki z mastocytów (>15 komórek w agregacie) w preparacie biopsyjnym szpiku kostnego i/lub innych narządów poza skórą
Kryteria mniejsze:
1. Stwierdzenie, że w rozmazie szpiku kostnego >25% wszystkich mastocytów ma atypową morfologię (typu I lub II) lub że występują nacieki z wrzecionowatych mastocytów w materiale biopsyjnym z innych narządów
2. Wykrycie punktowej mutacji w kodonie 816 genu <i>KIT</i> w szpiku kostnym, krwi obwodowej lub w innych niż skóra narządach
3. Mastocyty w szpiku kostnym, krwi obwodowej lub w innych niż skóra narządach wykazują ekspresję CD2 i/lub CD25
4. Stężenie tryptazy w surowicy utrzymujące się powyżej 20 ng/ml (nie dotyczy przypadków SM z towarzyszącym nowotworem hematologicznym)

Badanie immunohistochemiczne szpiku powinno być przeprowadzone z użyciem markerów takich jak: tryptaza, CD34, CD117, CD25, CD2, CD30 [12,15,17,32].

Do charakterystycznych markerów powierzchniowych nowotworowych mastocytów należą CD 25 oraz w części przypadków CD2 i CD30 [4,15]. Prawidłowe dojrzale

mastocyty wykazują ekspresję CD45+/CD117+, przy nieobecności markera CD34 oraz nie wykazują ekspresji CD2, CD25, CD30 [2,17,30,32].

Obraz kliniczny mastocytozy zależy od infiltracji narządów przez mastocyty oraz od mediatorów uwalnianych przez te komórki. Zarówno u chorych na CM, jak i SM, występują różnie nasilone objawy wynikające z uwalniania mediatorów z mastocytów takie jak: świąd skóry, *flushing*, występowanie pęcherzy, napadowe bóle głowy, biegunki, wymioty, bóle brzucha, hipotensja, zawroty głowy, skurcz oskrzeli, wstrząs anafilaktyczny [11]. Objawy zależne od mediatorów uwalnianych z mastocytów przedstawiono w tabeli IV. U części chorych, zwłaszcza z zaawansowanymi postaciami SM, mogą rozwinąć się ogólnoustrojowe objawy zależne od mediatorów, między innymi: kacheksja, osteoporoza, utrata masy ciała, osłabienie [11,12]. Objawy te mogą wynikać z nacieku mastocytarnego w obrębie narządów wewnętrznych, nadmiernej i niekontrolowanej proliferacji mastocytów oraz działania mediatorów uwalnianych z mastocytów [12,14]. Na nasilenie objawów zależnych od mediatorów wpływają również, infekcje, przewlekłe stany zapalne czy nietolerancje pokarmowe występujące u chorych z mastocytozą [11]. Do powiązanych, współistniejących schorzeń u chorych z SM należą między innymi: nowotwory nie-hematologiczne, zaburzenia metaboliczne, alergie IgE-zależne, zaburzenia psychiczne i psychiatryczne, choroby układu sercowo-naczyniowego oraz niedobory witaminy D [11].

Osteoporoza u chorych z mastocytozą, w przeciwieństwie do populacji ogólnej, częściej występuje u mężczyzn. Ponadto charakteryzuje się opornością na standardowe leczenie (bisfosfoniany, wapń, witamina D3) [33,34]. Częstość występowania osteoporozy oraz remodelingu kości wynosi około 30-40% u chorych z ISM, natomiast występowanie u chorych z CM nie zostało dotychczas oszacowane [33,35,36].

Reakcje anafilaktyczne dotyczą częściej populacji dorosłych. Częstość anafilaksji u dorosłych szacuje się na 22-50%, natomiast u dzieci występuje ona znacznie rzadziej – w około 5-10% przypadków [4,37,38]. Do potencjalnych czynników, które mogą wywołać objawy zależne od mediatorów oraz ciężkie reakcje anafilaktyczne u chorych na mastocytozę należą: jady owadów błonkoskrzydłych, pokarmy, leki, stres emocjonalny, alkohol, wysiłek fizyczny, menstruacja, gorączka, ząbkowanie, zabiegi inwazyjne, zakażenia, fizyczne podrażnienie skóry, szczepienia, skok do zimnej wody oraz niezidentyfikowane czynniki [5,31,37-47]. Najpowszechniejszym czynnikiem wyzwalającym degranulację mastocytów o różnym nasileniu, jest pocieranie skóry oraz ekspozycja na zmianę temperatury otoczenia [13,43]. Dorośli i dzieci z mastocytozą wykazują odmienny profil najczęstszych czynników wyzwalających anafilaksję. Wśród dorosłych z mastocytozą, najistotniejszymi czynnikami wyzwalającym ciężkie reakcje anafilaktyczne są użądlenia owadów błonkoskrzydłych (22-53% chorych) [17,38,44,45,47]. Do czynników, rzadziej wskazywanych jako czynnik wyzwalający masywną degranulację mastocytów należą pokarmy (12-24%) i leki (3-18%) takie jak: niesteroidowe leki przeciwzapalne (kwas acetylosalicylowy), antybiotyki β -laktamowe, aminoglikozydy, streptomycyna, fenylefryna, radiologiczne preparaty kontrastowe, kodeina oraz leki stosowane do znieczulenia ogólnego i miejscowego [6,17,20,37,38,44,47-49]. W populacji polskich chorych dorosłych ciężkie reakcje anafilaktyczne były wywołane najczęściej przez użądlenie owadów błonkoskrzydłych (22%), pokarmy (17%) i leki (11%) [44]. Niektóre czynniki takie jak alkohol, aspiryna oraz wysiłek fizyczny mogą być również kofaktorami reakcji anafilaktycznej spowodowanej pokarmami [38,50]. Na podstawie danych literaturowych dotyczących

anafilaksji u dzieci z CM, ponad połowa epizodów wstrząsu anafilaktycznego była spowodowana niezidentyfikowanym czynnikiem sprawczym [38], natomiast w populacji ogólnej pediatrycznej najczęstszym czynnikiem wywołującym reakcje anafilaktyczne są alergeny pokarmowe [46]. Do innych czynników prowokujących anafilaksję u dzieci z CM należą: pokarmy, nagła zmiana temperatury otoczenia (np. skok do zimnej wody), szczepienie, leki oraz użądlenie przez owady błonkoskrzydłe [6,38,51,52].

TABELA IV. OBJAWY ZALEŻNE OD MEDIATORÓW I MEDIATORY JE WYWOŁUJĄCE [14,33,39,53,54]

Objaw	Mediatory
Objawy skórne	
Świąd	Histamina, PAF, tryptaza, IL-31
<i>Flushing</i>	Histamina, PGD ₂
Pokrzywka	Histamina, PAF, LTC ₄
Pęcherze	IL-6, tryptaza, PGD ₂ , PAF
Objawy narządowe	
Hipotensja	Histamina, PAF, PGD ₂ , LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄ , endotelina
Skurcz oskrzeli	Histamina, PAF, PGD ₂ , LTC ₄ , LTD ₄ , endotelina
Wydzielanie śluzu i obrzęk dróg oddechowych	Histamina, PAF, PGD ₂ , LTC ₄ , proteazy
Osteoporoza, osteopenia, przebudowa kości	Heparyna, tryptaza, proteazy, TNF- α , IL-6
Wzmoczone wydzielanie kwasu żołądkowego	Histamina
Skurczowe bóle brzucha, biegunka	Histamina, PAF, LTC ₄
Eozynofilia	IL-5
Włóknienie	TGF- β
Zahamowanie krzepnięcia	Heparyna
Fibrynoliza	tPA
Fibrynogenoliza	B-tryptaza
Niestabilność naczyń krwionośnych	Histamina, cysLT, PGD ₂ , PAF.
Powiększenie węzłów chłonnych	IL-16, lymfotaksyna
Oslabienie, utrata masy ciała, kacheksja	TNF- α , IL-1 β , IL-6

cysLT – leukotrieny cysteinyłowe (*cysteinyl leukotriene*, cysLT), IL – interleukina (*interleukin*, IL), LT – leukotrieny (*leukotriene*, LT), PAF – czynnik aktywujący płytki (*platelet activating factor*, PAF) PG- prostaglandyna (*prostaglandin*, PG), TGF- β – transformujący czynnik wzrostu β (*Transforming growth factor- β* , TGF- β), TNF- α – czynnik martwicy nowotworu- α (*Tumor necrosis factor- α* , TNF- α); tPA – Tkankowy aktywator plazminogenu (*Tissue plasminogen activator*, tPA)

1.2. PATOGENEZA MASTOCYTOZY

1.2.1. ROLA BIOLOGICZNA MASTOCYTÓW

Mastocyty są wielofunkcyjnymi komórkami immunologicznymi. Odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej zarówno wrodzonej jak i nabytej [55]. Mają za zadanie wzmacnianie wstępnych sygnałów o inwazji drobnoustrojów i rozpoczęcie kaskady reakcji zapalnej [56]. Mastocyty biorą również udział w wielu fizjologicznych procesach organizmu takich jak: przebudowa tkanek, mineralizacja kości, gojenie ran, angiogeneza, ponadto regulują reakcje autoimmunologiczne [33,55]. Lokalne mikrośrodowisko ma wpływ na dojrzewanie i funkcję mastocytów a w konsekwencji na ich zdolność do specyficznego rozpoznawania i reagowania na różne bodźce, poprzez uwalnianie aktywnych biologicznie mediatorów. Mastocyty odpowiadają za pierwszą linię obrony oraz za wzmocnienie reakcji zapalnej poprzez komunikowanie się z wieloma innymi komórkami. Dysfunkcja mastocytów oraz zaburzenie odpowiedzi immunologicznej w kierunku nadmiernej aktywności wpływa na rozwój chorób alergicznych, zapalnych, nowotworowych i autoimmunologicznych [4,32,55,57]. Mastocyty odpowiadają za rozwój osteoporozy i osteopenii u chorych z mastocytozą, wpływają na mineralizację kości u osób z towarzyszącą alergią oraz odgrywają rolę w patogenezie idiopatycznej osteoporozy u mężczyzn [33,58,59].

1.2.2. POCHODZENIE, RÓŻNICOWANIE I DOJRZEWANIE MASTOCYTÓW

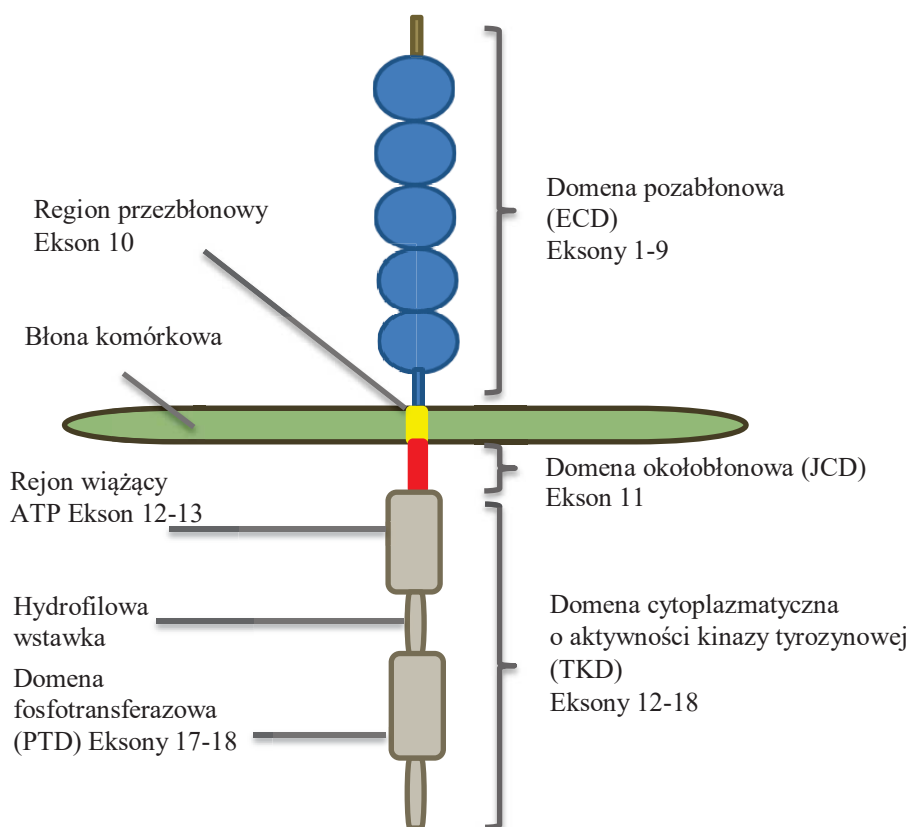
Mastocyty są długo żyjącymi komórkami, wykazującymi zdolność do proliferacji [33]. Mastocyty wywodzą się z komórek hematopoetycznych, progenitorowych CD34+/CD117+ (nie wykazujących ekspresji zarówno CD13 jak i FcεRI) obecnych w szpiku kostnym. Komórki te mogą dawać początek wczesnym mieszanym mastocytarno/monocytarnym komórkom progenitorowym, krążącym we krwi, wykazującym ekspresję CD34+/CD117+/CD13+ ale w dalszym ciągu bez antygenu powierzchniowego FcεRI (FcεRI). W określonych warunkach mieszane mastocytarno/monocytarne komórki progenitorowe (CD34+/CD117+/CD13+/FcεRI), krążące we krwi, różnicują się na linie mastocytarne, linie monocytarne oraz mieszane mastocytarno/monocytarne. Komórki CD34+/CD117+/CD13+/FcεRI- mogą później nabyć ekspresję FcεRI, a tym samym definitywnie zróżnicować się w prekursorową komórkę linii mastocytarnej, która migrując we krwi wykazuje fenotyp CD34+/CD117+/FcεRI+ [60]. Komórki prekursorowe linii mastocytarnej CD34+/CD117+/FcεRI+ przenikają do różnych tkanek, gdzie następuje dalsze ich dojrzewanie [60]. Dojrzewanie mastocytów zachodzi w unaczynionych tkankach obwodowych, gdzie dojrzewają przez wiele miesięcy. W tym czasie tracą ekspresję CD34. Dojrzałe mastocyty CD34-/CD117+/CD13+/FcεRI+ znajdują się w skórze, błonach śluzowych układu oddechowego, przewodzie pokarmowym oraz w obrębie narządów moczowo-płciowych. Lokalizują się one w pobliżu naczyń krwionośnych, zakończeń nerwów, komórek mięśni gładkich, gruczołów ślinowych oraz mieszków włosowych [55]. Na podstawie różnic w składzie obojętnych proteaz w ziarnistościach mastocytów oraz dystrybucji w organizmie ludzkim, wyodrębniono dwie subpopulacje mastocytów. Mastocyty M_T (CD34-/CD117+/CD13+/FcεRI+) zawierające tryptazę (nie zawierające chymazy), które przeważają w błonach śluzowych. Do drugiej subpopulacji mastocytów M_{TC} (CD34-/CD117+/CD13+/FcεRI+) należą komórki zawierające oprócz tryptazy, również chymazę, katepsynę G oraz karboksypeptydazę, które znajdują się w tkance łącznej i wykazują więcej cech dojrzałości funkcjonalnej [55,56,60].

W ciągu ostatnich lat wykryto na prawidłowych MCs ekspresję licznych antygenów w tym: CD9, CD11b, CD11c, CD13, CD18, CD22, CD29, CD33, CD35, CD40, CD44, CD45, CD49, CD51, CD54, CD61, CD71 oraz CD117 [61–63]. Ważną cechą prawidłowych mastocytów jest brak ekspresji antygenów CD2 i CD25, charakterystycznych dla nowotorowej populacji mastocytów w SM [61].

Czynnik różnicowania komórek pnia (*stem cell factor*, SCF), będący hematopoetyczną cytokiną, odgrywa kluczową rolę w rozwoju mastocytów. SCF wytwarzany jest głównie przez fibroblasty i komórki endotelium [8,64]. SCF reguluje przeżycie, wzrost i rozwój komórek hematopoetycznych, promuje ich proliferację i różnicowanie [65]. Odpowiada również za promowanie przenikania komórek prekursorowych mastocytów do tkanek oraz lokalne dojrzewanie mastocytów [64]. SCF wiąże się z powierzchniowym receptorem KIT (CD117) będącym transbłonowym białkiem o aktywności kinazy tyrozynowej typu III [8,66]. Związanie SCF do receptora KIT, powoduje zmianę konformacji cząsteczki białka receptorowego poprzez proces dimeryzacji i fosforylacji [8]. Zmiana konformacji białka prowadzi do aktywacji wielu szlaków sygnałowych i transportu sygnału w kierunku jądra komórkowego, a w konsekwencji wpływa na regulację transkrypcji DNA [8,65,67]. Wśród aktywowanych szlaków sygnałowych wyróżniamy ścieżkę MAPK (*mitogen-activated protein kinase pathway*, MAPK) odpowiadającą za proces proliferacji i wzrostu, ścieżkę PI3K (*phosphoinositide 3-kinase*) odgrywającą ważną rolę w przeżyciu mastocytów oraz ścieżkę JAK-STAT (*Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*) wpływającą na dojrzewanie, przeżycie i proliferację mastocytów [8].

Do rodziny receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej typu III należą również receptor dla płytkopochodnego czynnika wzrostu PDGF (*platelet-derived growth factor receptor*, PDGFR) oraz receptor dla czynnika stymulujący powstawanie kolonii makrofagów M-CSFR (*macrophage colony-stimulating factor receptor*, M-CSFR) [65].

Ekspresja receptora KIT jest niezbędna do rozwoju szpikowych komórek pnia, mastocytów, melanocytów, gametocytów oraz komórek Cajala odpowiadających z perystaltykę mięśni gładkich układu pokarmowego [68,69]. W procesie hematopoezy, ekspresja receptora KIT zanika w trakcie dojrzewania komórek hematopoetycznych szpiku [8]. Wysoki stopień ekspresji występuje jedynie na dojrzałych mastocytach i eozynofilach [8,64,70]. W warunkach fizjologicznych, aktywność receptora KIT jest ściśle kontrolowana przez dostępność liganda, jakim jest SCF. Receptor KIT jest kodowany przez protoonkogen *c-kit* zlokalizowany na chromosomie 4 w prążku q11-12. Receptor KIT jest 145-kDa (kilo Dalton) białkiem zbudowanym z domeny pozabłonowej (*extracellular domain*, ECD), domeny okołobłonowej (*juxtamembrane domain*, JMD) oraz domeny cytoplazmatycznej o aktywności kinazy tyrozynowej (*tyrosine-kinase domain*, TKD) [8]. Budowę receptora KIT przedstawiono na Rycinie 1 [8,71].



RYCINA 1. BUDOWA RECEPTORA KIT

Domena pozabłonowa (ECD) zbudowana jest z 5 domen o budowie zbliżonej do immunoglobulin (*immunoglobulin-like domains*). Odcinek pozabłonowy jest kodowany przez eksony 1-9 genu *KIT*. Pierwsze trzy domeny zewnętrzne odpowiadają za rozpoznawanie i wiązanie SCF. Dwie kolejne domeny (domena 4 i 5) położone przy błonie oraz domena okołobłonowa (JMD) biorą udział w procesie dimeryzacji oraz inicjacji sygnału w szlaku wewnątrzkomórkowym. Pojedynczy region przez błonowy kodowany przez ekson 10, łączy część pozabłonową z cytoplazmatyczną. Odcinek cytoplazmatyczny dzielimy na domenę okołobłonową (JMD) oraz domenę o aktywności kinazy tyrozynowej (TKD). Domena okołobłonowa (JMD) kodowana przez ekson 11, złożona jest z około 30 aminokwasów, bierze udział w autoregulacji receptora. Domena o aktywności kinazy tyrozynowej (TKD) składa się z 2 subdomen: miejsca wiążącego ATP (*ATP binding site*) oraz fosfotransferazowej domeny (*phosphotransferase domain*, PTD) [8,71]. W skład TKD wchodzi ponadto, odcinek hydrofilowy oraz region C-końcowy [68]. Domena o aktywności kinazy tyrozynowej kodowana jest przez eksony 12-18 genu *KIT*, złożona jest z około 80 aminokwasów [64]. Ostatnie 50 aminokwasów w białku receptorowym, kodowane przez eksony 19-21 genu *KIT*, tworzą karboksylowy odcinek końcowy (COOH-terminal tail).

Mutacje genu *KIT* stwierdzone są w wielu nowotworach takich jak: mastocytoza, guzy podścieliska przewodu pokarmowego, czerniak, nasieniak jąder [67,72–74].

1.2.3. MUTACJE GENU *KIT* W PATOGENEZIE MASTOCYTOZY

Zasadniczą rolę w patogenezie mastocytozy, odgrywają mutacje genu *KIT*, powodujące stałą aktywację receptora *KIT* niezależnie od obecności ligandu *SCF*. Aktywujące mutacje genu *KIT* powodują niekontrolowaną proliferację mastocytów. Najpowszechniejszą somatyczną mutacją genu *KIT*, występującą u pacjentów z SM, jest mutacja zlokalizowana w obrębie eksonu 17 kodująca domenę o aktywności kinazy tyrozynowej, polegająca na zamianie reszty asparaginowej na walinową Asp816Val (D816V). Po raz pierwszy mutacja ta została opisana w 1993 r. przez Furitsu i wsp., natomiast w 1995 r. badacze Nagata et al. stwierdzili ją u pacjentów z SM [75,76]. U osób dorosłych z SM, mutacja D816V genu *KIT*, stwierdzana jest u około 95% chorych w badaniu genetycznym szpiku kostnego [4,12,77]. U chorych na SM, mutacji D816V genu *KIT* mogą ulegać nie tylko mastocyty ale również inne komórki hematopoetyczne CD34+ szpiku kostnego, komórki prekursorowe, eozynofile, dojrzewające neutrofile oraz w mniejszym stopniu w limfocyty T [24,77]. Klonalne mastocyty wywodzą się z hematopoetycznych komórek prekursorowych CD34+ lub z komórek pluripotencjalnych, w których doszło do mutacji D816V genu *KIT*, wobec czego, mutacja jest powielana w wielu liniach komórkowych [78]. Nabycie mutacji D816V genu *KIT* na wcześniejszym etapie hematopoezy wiąże się z obecnością dodatkowych wtórnych zmian genetycznych, liczniejszym obciążeniem tą mutacją linii komórkowych oraz większym ryzykiem postępu choroby [78]. Obecność mutacji D816V genu *KIT* na etapie pluripotencjalnej komórki progenitorowej szpiku u chorych z ISM, wiąże się z większym ryzykiem progresji choroby i gorszym rokowaniem [78,79,80]. Obarczone mutacją D816V genu *KIT* komórki mieloidalne i/lub limfoidalne inne niż MCs obecne są u co najmniej jednej trzeciej chorych z ISM oraz wszystkich z ASM [24,79].

W badaniu przeprowadzonym przez Acevedo i wsp. potwierdzono obecność mutacji *KIT* D816V we krwi obwodowej u większości chorych z SM (85%), przy czym zauważono różnicę pomiędzy postaciami SM a częstością wykrywanej mutacji. U chorych z ISM bez zajęcia skóry mutację D816V genu *KIT* stwierdzono u 66% chorych, ISM z zajęciem skóry u 92%, natomiast u chorych z ASM mutację stwierdzono u wszystkich chorych [24]. W przypadkach mięsaka mastocytarnego (MCS) nie wykryto mutacji D816V genu *KIT* [24].

W ciągu ostatnich lat wykryto szereg innych mutacji genu *KIT*, mogących odgrywać rolę w patogenezie mastocytozy, jednak dotyczą one mniej niż 5% chorych z mastocytozą. Do tych mutacji należą: V560G, D815K, D816Y, insVI815-816, D816F, D816H i D820G [1].

Przeprowadzone dotychczas badania genetyczne u dzieci dotyczą prawie wyłącznie skóry. Z badań tych wynika, że występowanie mutacji D816V genu *KIT* w eksonie 17 u dzieci jest znacznie rzadsze niż u dorosłych, szacuje się, że jest obecna u 35% chorych w populacji dziecięcej [4]. Co istotne, stwierdzenie mutacji genu *KIT* w skórze świadczy o klonalnym charakterze rozrostu mastocytów, ale nie wiąże się z rozwojem SM [16,81,82]. W populacji dziecięcej częściej niż u dorosłych spotyka się mutacje genu *KIT* w eksonach 8, 9 czy 11. Ponadto u 25% dzieci z mastocytozą nie stwierdza się mutacji genu *KIT* [3,4]. Bodemer i wsp. na podstawie badań genetycznych skóry u dzieci stwierdzili u 21 (43%) chorych mutację genu *KIT* w eksonie 8 lub 9 dotyczącą domeny zewnątrzłonowej [81]. Badania mutacji genu *KIT* w skórze dzieci

chorujących na CM wykazały obecność mutacji D816V u 36%, mutację D816Y u 4% dzieci i D816I u 2%. U większości badanych dzieci (58%), stwierdzono prawidłowe sekwencje genu (gen typu dzikiego – *wild-type*) [81]. W bardzo rzadkich rodzinnych przypadkach mastocytozy wykryto różnorodne mutacje germinalne genu *KIT* takie jak: p.V559A w eksonie 11, p.D419del w eksonie 8, N822I w eksonie 17, p.S451C w eksonie 9 [4,81,83]. Ponadto stwierdzono również liczne inne somatyczne mutacje genu *KIT* takie jak: K509I, A533D, N822I, S849I, del419, del559–560 [68]. Odmienność molekularna mastocytozy dziecięcej tłumaczy w pewnym stopniu odmienny obraz kliniczny w porównaniu do mastocytozy u osób dorosłych [84].

1.2.4. INNE MECHANIZMY GENETYCZNE W PATOGENEZIE MASTOCYTOZY

Występowanie lub brak mutacji D816V genu *KIT* nie tłumaczy zróżnicowania spektrum klinicznego mastocytozy. Uważa się zatem, że mutacje genu *KIT*, nie są jedynymi czynnikami wpływającymi na obraz kliniczny mastocytozy. W ciągu ostatnich lat, odkryto inne, patogenetycznie *KIT*-niezależne mechanizmy genetyczne mogące odgrywać rolę w patogenezie mastocytozy. Wśród *KIT*-niezależnych mechanizmów wykrytych u pacjentów z mastocytozą wyróżniono między innymi, mutacje genów związanych z procesami epigenetycznymi (np. *TET2*, *DNMT3A*, *ASXL1*, *IDH2*) [32,85,86]. Mutacje tych genów mogą uwrażliwiać genom i czynić go bardziej podatnym na kolejne mutacje, w tym mutacje genu *KIT*. Do innych *KIT*-niezależnych mechanizmów wykrytych u pacjentów z mastocytozą należą mutacje czynników transkrypcyjnych (np. *RUNX1*), mutacje genów kodujących białka sygnałowe w komórce (np. *JAK2*, *NRAS*, *KRAS*, *CBL*) oraz mutacje genów kodujących białka odpowiedzialne za proces dojrzewania RNA (np. *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*) [85,86].

W zaawansowanych postaciach SM, wykryto szereg powtarzających się somatycznych mutacji genów takich jak: *TET2*, *SRSF2*, *ASXL1*, *RUNX1*, *JAK2*, *RAS* występujących dodatkowo obok mutacji D816V genu *KIT* nawet u 89% chorych [85,86]. Schwaab i wsp., na podstawie badania genetycznego szpiku kostnego i krwi obwodowej u 39 chorych z SM z mutacją D816V genu *KIT*, opisali 5 najczęstszych mutacji genów do których zaliczyli: *TET2*, *SRSF2*, *ASXL1*, *RUNX1* i *CBL* [85]. Szczególnie często stwierdzana była koegzystencja mutacji *TET2* i D816V genu *KIT*, dotycząca około połowy pacjentów z zaawansowanymi postaciami SM [8,85,87,88]. W zaawansowanych postaciach SM stwierdzono również współistnienie kilku mutacji w tym samym klonie mastocytów, przy czym 3 mutacje występowały u 78% chorych, natomiast 5 mutacji u 41% chorych [85]. Opisane koegzystencja wielu mutacji wiązała się z gorszym rokowaniem [85]. Wśród chorych z zaawansowanymi postaciami SM, z mutacją genu *KIT* najczęściej współwystępowały mutacje genów *TET2-SRSF2* (stwierdzone u 26% chorych) [85].

Mutacja genu *TET2* powodująca utratę jego funkcji, prowadzi w modelu zwierzęcym do zwiększenia zdolności odnowy hematopoetycznych komórek szpiku oraz do znacznego powiększenia przedziału tych komórek w szpiku. Potencjalnie mutacja genu *TET2* może prowadzić do powiększenia śledziony, monocytosis oraz hematopoezy pozaszpikowej [86]. Mutacja genu *TET2* stwierdzana jest u około 20-40% osób z zaawansowaną postacią SM [85–87,89], ponadto często spotykana jest u chorych z innymi nowotworami szpiku kostnego [90].

Mutacja w obrębie genu *SRSF2* wchodzącego w skład spliceosomu, stwierdzana jest w około 30% chorych z zaawansowanymi postaciami SM, natomiast zwykle jest nie wykrywana u chorych z ISM czy SSM [86].

Mutacja genu *ASXL1* stwierdzana jest w SM, częstość występowania sięga od 14% do 25% [87,91]. Co więcej, mutacja genu *ASXL1* na podstawie badań wydaje się być czynnikiem złego rokowania [85–87,91].

Ekspresja genu *TRAF4* jest wyższa w populacji chorych z mastocytozą u których stwierdzono nadwrażliwość pokarmową, natomiast ekspresja genu *B3GAT1* jest zmniejszona u chorych z mastocytozą z alergią na jad owadów [92].

W ciągu ostatnich lat, wyróżniono wiele cytokin, poza SCF, wpływających na wzrost i dojrzewania MCs. Należą do nich: NGF (*nerve growth factor*, NGF), CXCL12 (*chemokine 12*, CXCL12), IL-3 (*interleukin-3*, IL-3), IL-4, IL-10, IL-13, IL-33 i TGF- β (*transforming growth factor- β* , TGF- β) [64,93,94]. Nedoszytko i wsp. wykazali statystycznie częstsze występowanie polimorfizmu -1112T genu kodującego IL-13 u osób chorujących na mastocytozę (81%) w porównaniu do populacji osób zdrowych (38%), ($p = 0.0001$) [93]. Wyniki te mogą sugerować, iż polimorfizm -1112C/T genu kodującego IL-13, powodująca nadmierną jego transkrypcję a w konsekwencji zwiększenie stężenia IL-13, może brać udział w rozwoju mastocytozy układowej [93].

1.2.5. UDZIAŁ MEDIATORÓW UWALNIANYCH PRZEZ MASTOCYTY W PATOGENEZIE MASTOCYTOZY

Morfologiczną cechą charakterystyczną mastocytów jest obecność w cytoplazmie licznych ziarnistości zawierających mediatorów, biorących udział w reakcji zapalnej. Pełna aktywacja mastocytów polega na trzystopniowej kaskadzie uwalniania mediatorów [33,53,58,95]. W pierwszej fazie dochodzi do degranulacji ziarnistości i uwolnienia w ciągu kilku sekund zmagazynowanych w nich mediatorów. Do mediatorów preformowanych gromadzonych w ziarnistościach mastocytów należą proteazy obojętne (tryptaza, chymaza, karboksypeptydaza A, katepsyna G), histamina, serotonina, heparyna, kwaśne hydralazy, peroksydazy i fosfolipazy oraz niektóre chemokiny, cytokiny oraz czynniki wzrostu (Tabela V). Histamina odgrywa kluczową rolę w rozwoju objawów klinicznych mastocytozy. Powoduje między innymi zwiększoną przepuszczalność naczyń, skurcz oskrzeli, wzmożone wydzielanie śluzu i kwasu żołądkowego, skurcz mięśni gładkich, podrażnienie zakończeń nerwów czuciowych, moduluje funkcję komórek dendrytycznych oraz wpływa chemotaksję komórek biorących udział w procesie zapalnym [33,55]. Biologiczna rola uwalnianej tryptazy nie jest dokładnie poznana, przypuszczalnie powoduje aktywację innych mediatorów reakcji zapalnej, ma wpływ na krzepnięcie krwi, angiogenezę, przepuszczalność naczyń, reaktywność dróg oddechowych, jest również mediatorem świądu i wpływa na metabolizm kostny [53,58].

W drugiej fazie, następującej w ciągu kilku minut po degranulacji ziarnistości, dochodzi do syntetyzowania i wydzielania mediatorów generowanych, będących pochodnymi kwasu arachidonowego. Mediatorów generowane powstają w wyniku przemian metabolicznych lipidów błonowych, należą do nich: prostaglandyny, leukotrieny oraz czynnik aktywujący płytki (*platelet-activating factor*, PAF). Mediatorów te wykazują silne działanie zwężające oskrzela oraz wazoaktywne [33,53,95].

Trzecia faza występuje do kilka godzin po degranulacji. Mastocyty syntetyzują szereg cytokin, chemokin i czynników wzrostu odpowiednich dla późnej fazy zapalenia [33,53,95]. Mediatorzy te są syntetyzowane przez aktywację transkrypcji i ich wydzielanie zależy od rodzaju stymulacji oraz przyłączonego receptora [55]. Mastocyty mają zdolność wybiórczego wydzielania cytokin, bez degranulacji ziaren, w zależności od sposobu i rodzaju aktywacji. Mastocyty są ważnym źródłem prozapalnych cytokin takich jak TNF- α , IL-1, IL-6, IL-5, IL-8, IL-18 oraz czynników wzrostu TGF β , FGF, VEGF mających wpływ na przebudowę tkanek [33,53,95]. Cytokiny te w postaciach zaawansowanych mastocytozy układowej odpowiadają za włóknienie szpiku kostnego i wątroby, utratę masy ciała oraz przebudowę kości [33,53,55].

TABELA V. MEDIATORY UWALNIANE PRZEZ MASTOCYTY [12,53,55,56,58]

Typ mediatorów	Mediatorzy
Mediatorzy preformowane	aminy biogenne: histamina, serotonina, dopamina, poliamina proteoglikany: heparyna, siarczan chondroityny obojętne proteazy: tryptaza, chymaza, karboksypeptydaza, katepsyna G enzymy lizosomalne tPA cytokiny: TNF- α , IL-4, IL-15 chemokiny: MCP-3 (CCL7), RANTES (CCL5), eotaksyna (CCL11), MCAF (MCP-1), MCP-4 czynniki wzrostu: TGF- β , bFGF-2, VEGF, NGF, SCF
Mediatorzy generowane	LTB ₄ , LTC ₄ , PGE ₂ , PGD ₂ , PAF
Mediatorzy syntetyzowane <i>de novo</i>	cytokiny: TNF- α , IFN I, IFN II, MIP-1 α IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-17, IL-33 czynniki wzrostu: SCF, GM-CSF, β -FGF, VEGF, NGF, PDGF, TGF- β , NO

CC – chemokina (*chemokine*, CC), IL – interleukina (*interleukin*, IL), FGF – czynnik wzrostu fibroblastów (*fibroblast growth factor* – FGF), GM-CSF – czynnik wzrostu kolonii granulocytarno-makrofagowych (*granulocyte macrophage colony-stimulating factor* – GM-CSF), IFN- α – interferon α (*interferon- α* , INF- α), LT – lektotrieny (*leukotriene*, LT), M-CSF – czynnik wzrostu kolonii makrofagowych (*macrophage colony-stimulating factor* – M-CSF), MCP-1 – białko chemotaktyczne monocytów (*monocyte chemotactic protein* – MCP-1), MIP-1 α – białko zapalne makrofagów 1 α (*macrophage inflammatory protein-1 α* – MIP-1 α), NGF – czynnik wzrostu nerwów (*nerve growth factor* – NGF), NO – tlenek azotu (*nitric oxide*, NO), PAF – czynnik aktywujący płytki (*platelet activating factor*, PAF), PDGF – płytkopochodny czynnik wzrostu (*platelet-derived growth factor* – PDGF), PG – prostaglandyna (*prostaglandin*, PG), RANTES- chemokina CCL5 (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted* – RANTES), SCF – czynnik komórek macierzystych (*stem cell factor* – SCF), TGF- β – transformujący czynnik wzrostu β (*Transforming growth factor- β* , TGF- β), TNF- α – czynnik martwicy nowotworu α (*Tumor necrosis factor- α* , TNF- α), t-PA – tkankowy aktywator plazminogenu (*tissue plasminogen activator*, tPA) VEGF – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (*vascular endothelial growth factor* – VEGF)

1.3. OBRAZ KLINICZNY MASTOCYTOZY SKÓRY

Mastocytoza skóry (*Cutaneous mastocytosis*, CM) jest wynikiem infiltracji skóry przez mastocyty oraz efektu biologicznego mediatorów uwalnianych przez te komórki.

CM dominuje u dzieci, natomiast u dorosłych, postać choroby ograniczona wyłączenie do skóry występuje rzadko. U dorosłych zajęcie skóry często współistnieje z układową postacią choroby i przeważnie stanowi jeden z objawów SM. W przypadku stwierdzenia typowych dla CM zmian skórnych u chorych, u których diagnostyka w kierunku SM nie została przeprowadzona, zaleca się stosowanie tymczasowego rozpoznania MIS (*mastocytosis in the skin*).

Pierwszy przypadek mastocytozy skóry opisali w 1869 r. Nettleship i Tay. Zakwalifikowano go do rzadkich form pokrzywki [96]. Termin pokrzywka barwnikowa (*urticaria pigmentosa*, UP), użyty po raz pierwszy w 1878 r. przez Sangera, był powszechnie stosowany przez następne dekady. Obecnie zaleca się stosowanie nowej terminologii zgodnie z klasyfikacją WHO (Tabela I).

Pierwsze zmiany skórne w przebiegu CM pojawiają się zwykle w okresie pierwszych 6 miesięcy życia [4]. W nielicznych przypadkach CM może być stwierdzana już przy urodzeniu [3,4,9]. Charakterystyczną cechą dla mastocytozy jest występowanie obrzęku z rumieniem w obrębie zmian skórnych pod wpływem podrażnienia mechanicznego. Jest to objaw Dariera, patognomoniczny dla mastocytozy, stanowiący kryterium większe rozpoznania mastocytozy skóry.

Klasyfikacja wariantów klinicznych CM według konsensusu *European Competence Network on Mastocytosis* opiera się na morfologii zmian skórnych. Wyróżniono plamisto-grudkową postać mastocytozy skóry (*maculopapular cutaneous mastocytosis*, MPCM), uogólnioną skórną mastocytozę (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM) oraz mastocytomę skóry (Tabela I).

Plamisto-grudkowa mastocytoza skóry (*Maculopapular cutaneous mastocytosis*, MPCM) jest najczęstszą postacią CM zarówno u dzieci jak i u dorosłych [4,9] (Ryciny 2, 3, 4). Charakteryzuje się występowaniem owalnych wykwitów plamistych i grudkowych barwy od brązowej do czerwonej, wykazujących dodatni objaw Dariera. Wyróżnia się wariant polimorficzny MPCM typowy dla dzieci oraz monomorficzny MPCM znamieny dla dorosłych. Wykwity w polimorficznej MPCM są zwykle większe (średnica od 1 – 5 cm) o układzie asymetrycznym, zajmują przede wszystkim głowę (z nasileniem zmian na czole i skroniach), szyję, tułów i kończyny [4]. W monomorficznej MPCM stwierdzane są liczniejsze drobne wykwitki o układzie symetrycznym, zlokalizowane głównie na skórze ud i bocznych powierzchniach tułowia, rzadziej proksymalnych częściach kończyn górnych, zwykle bez zajęcia skóry twarzy [4]. Charakterystyczna dla MPCM jest ewolucja morfologii zmian skórnych w ciągu życia dziecka. Tendencja do tworzenia pęcherzy w obrębie zmian plamisto-grudkowych pod wpływem drażnienia, zwykle utrzymuje się do 2-3 roku życia [4]. Pęcherze lub guzki charakterystyczne dla niemowląt, ulegają przemianie w plamki najczęściej między 5-10 rokiem życia, następnie przekształcają się w grudki powyżej 10 roku życia, by u większości dzieci ulec regresji w okresie dojrzewania. W przypadku rozległego zajęcia skóry, stężenie tryptazy może być podwyższone. Zazwyczaj stężenie tryptazy ulega normalizacji w ciągu 12-24 miesięcy [4].



RYCINA 2. MPCM – WARIANT POLIMORFICZNY U NIEMOWLĘCIA Z OBJAWEM *FLUSHING*



RYCINA 3. MPCM – WARIANT POLIMORFICZNY U 10-LETNIEGO CHŁOPCA



RYCINA 4. MPCM – WARIANT MONOMORFICZNY U 12-LETNIEJ DZIEWCZYNKI

Uogólniona skórna mastocytoza (*Diffuse cutaneous mastocytosis, DCM*) jest rzadką i najcięższą postacią kliniczną CM (Rycina 5, 6, 7). Charakteryzuje się nacieczeniem przez mastocyty całej lub prawie całej skóry, które klinicznie przedstawia się jako ciastowate nacieczenie i zgrubienie skóry, określanej jako pachydermia (Rycina 6) [4]. Kolor skóry jest zwykle ciemniejszy niż skóry zdrowej, o odcieniu od żółtego do czerwonego. Do obrazu klinicznego DCM należy również erytrodemia oraz rozległe pęcherze z nadżerkami (Rycina 5) [4]. Początek zmian skórnych obserwuje się w ciągu pierwszych tygodni życia lub już przy urodzeniu [4,26]. Na podłożu skóry nacieczonej mogą pojawiać się grudki. Charakterystyczny dla

DCM jest bardzo nasilony i długo utrzymujący się dermografizm występujący nawet po minimalnym podrażnieniu mechanicznym [4]. Obserwuje się tendencję do wysiewu rozległych pęcherzy często po pocieraniu lub drapaniu skóry. Innymi czynnikami zaostrzającymi są stres emocjonalny, infekcja wirusowa, ząbkowanie czy szczepienie. W DCM z obecnością pęcherzy można wyróżnić dwa warianty kliniczne: naciekowy z drobnymi pęcherzykami oraz z dużymi krwotocznymi pęcherzami [52,97]. W niektórych przypadkach DCM obserwuje się wydłużony czas krwawienia z ran na skórze, prawdopodobnie związany z miejscowym uwalnianiem mediatorów z mastocytów wpływających na układ krzepnięcia takich jak heparyna czy tkankowy aktywator plazminogenu [4,39]. Tendencja to tworzenia pęcherzy zwykle ustępuje po 3 lub 4 latach życia dziecka. Podobnie jak w MPCM, zmiany skórne w przebiegu DCM ulegają ograniczeniu w okresie dojrzewania. U części pacjentów utrzymuje się zgubienie skóry, określanej jako *cutis-laxa like* [13]. Ze względu na masywne nacieczenie skóry przez mastocyty, przebieg choroby jest zwykle ciężki z nasilonymi objawami zależnymi od mediatorów oraz ze znacznie podwyższonym stężeniem tryptazy w surowicy [52,97]. Stężenie tryptazy w surowicy, często powyżej 100 ng/ml (przy normie do 11,4 ng/ml) stwierdza się najczęściej w pierwszych latach życia, zwykle ma tendencję do obniżania się wraz z wiekiem. Równoległe do stężenia tryptazy w surowicy, często zmniejsza się nasilenie objawów zależnych od mediatorów [13]. Ze względu na duże ryzyko masywnej degranulacji mastocytów, która może spowodować ciężkie reakcje anafilaktyczne, nie zaleca się wywoływania objawu Dariera u chorych z DCM [13].



RYCINA 5. DCM U NIEMOWLĘCIA Z NADŻERKAMI PO PĘKNIĘTYCH PĘCHERZACH



RYCINA 6. DCM U 10-LETNIEGO CHŁOPCA



RYCINA 7. DCM U 11-LETNIEJ DZIEWCZYNKI

Mastocytoma skóry jest częstą manifestacją kliniczną CM u niemowląt i małych dzieci. Zwykle jest to pojedyncza uniesiona plama lub guzek barwy żółtej, brązowej lub czerwonej, ostro odgraniczona od otoczenia (Rycina 8). Zmiana wykazuje objaw Dariera po potarciu, ponadto w jej obrębie mogą pojawiać się pęcherze po mechanicznym podrażnieniu lub innym czynniku wyzwalającym. W badaniu histopatologicznym ze zmiany mastocytoma stwierdza się masywny naciek mastocytów obejmujący całą grubość skóry. Mastocytoma skóry zwykle ma średnicę od 1 cm do 10 cm, często stwierdzana jest już przy urodzeniu. Zmiana ta, przeważnie lokalizuje się na skórze tułowia. Mastocytoma skóry wykazuje tendencję do samoistnej regresji przed okresem dojrzewania. Przebieg choroby jest łagodny, stężenie tryptazy w surowicy zwykle pozostaje w granicach normy. W rzadkich przypadkach można stwierdzić więcej niż jedną zmianę, jednak zgodnie z najnowszym konsensusem *European Competence Network on Mastocytosis* termin mastocytoma skóry może być stosowany w przypadku występowania maksymalnie 3 wykwitów [4,13]. Przy stwierdzeniu 4 lub więcej wykwitów o tym charakterze rozpoznaje się MPCM [13]. Występowanie mastocytoma skóry prawie wyłącznie ogranicza się do populacji dzieci [4].



RYCINA 8. MASTOCYTOMA U 2-MIESIĘCZNEGO NIEMOWLĘCIA

1.4. OBRAZ KLINICZNY MASTOCYTOZY UKŁADOWEJ

Mastocytoza układowa (*Systemic mastocytosis*, SM) obejmuje różnorodne pod względem obrazu klinicznego, przebiegu i rokowania choroby, rozwijające się w wyniku klonalnej proliferacji atypowych mastocytów. Na podstawie zaktualizowanej klasyfikacji WHO mastocytozy z 2016 r., SM dzielimy na 5 kategorii (Tabela I) [2,10,11,32]. Pod względem klinicznym SM można podzielić na: postaci niezaawansowane SM (*non-advanced SM*) oraz zaawansowane (*advanced SM*). Do niezaawansowanych postaci SM należą: indolentna mastocytoza układowa (*indolent systemic mastocytosis*, ISM), mastocytoza ograniczona do szpiku kostnego (*bone marrow mastocytosis*, BMM) oraz mastocytoza układowa o podstępym przebiegu (*smoldering systemic mastocytosis*, SSM) charakteryzujące się dość stabilnym przebiegiem choroby oraz dobrym rokowaniem. Postaci zaawansowane SM takie jak: agresywna mastocytoza układowa (*aggressive systemic mastocytosis*, ASM), mastocytoza układowa z towarzyszącą hematologiczną chorobą nowotworową (*systemic mastocytosis with an associated hematologic neoplasm*, SM-AHN) i białaczka mastocytarna (*mast cell leukemia*, MCL) cechuje znacznie poważniejszy przebieg kliniczny, niepewne rokowanie oraz krótki okres przeżycia [14,32,58,72,79,98].

Zgodnie z algorytmem diagnostycznym, po rozpoznaniu SM na podstawie kryteriów WHO (Tabela III) chorzy są oceniani pod względem obecności objawów świadczących o zaawansowaniu choroby (Tabela VI) [1]. Wyróżniono objawy grupy B (*borderline* - z pogranicza) świadczące o progresji ISM w kierunku SSM oraz objawy grupy C (*cytoreductive*) świadczące o progresji w kierunku zaawansowanych postaci SM, wymagających leczenia cytoredukcyjnego [1,32,58]. Objawy z grup B i C przedstawiono w tabeli VI. Objawy z grupy C świadczą o niewydolności narządów spowodowanej naciekiem mastocytarnym [1,32,58]. Stwierdzenie objawów z grupy B i C pozwala na kwalifikację chorych do poszczególnych postaci SM oraz ustalenie odpowiedniego leczenia. U chorych na SM, bez objawów z grupy B i bez objawów z grupy C rozpoznaje się ISM. U chorych na SM z co najmniej 2 objawami z grupy B, przy braku objawów z grupy C, rozpoznajemy SSM. U chorych u których stwierdzana jest obecność co najmniej jednego objawu z grupy C, stawiana jest diagnoza ASM lub MCL co w konsekwencji jest wskazaniem do leczenia cytoredukcyjnego [1,34,58].

Pierwsze zmiany skórne w przebiegu MIS u dorosłych zwykle pojawiają się między 20 a 35 rokiem życia [4]. W obrazie klinicznym dominuje monomorficzny wariant MPCM, który jest markerowym objawem SM u dorosłych. W nielicznych przypadkach, wykwity są duże, polimorficzne o charakterystycznej morfologii MPCM wieku dziecięcego. W tych przypadkach mogą być obecne niektóre cechy mastocytozy z początkiem w tym okresie życia, między innymi obecność mutacji genu *KIT* innej niż D816V [4]. DCM u dorosłych występuje rzadko, postać ta może być związana z rodzinnym występowaniem mastocytozy w przypadku dziedzicznej germinalnej mutacji genu *KIT* [4]. Wykwity skórne o charakterze MPCM najczęściej obserwowane są w ISM. W postaciach zaawansowanych SM o większym potencjale proliferacyjnym zmiany skórne występują rzadziej. Na podstawie danych z piśmiennictwa, zajęcie skóry występuje u 75%-95% chorych z ISM, a w przypadku zaawansowanych postaci SM (SM-AHN, ASM) u około 50%, natomiast w chorych z MCL u mniej niż połowy chorych [4,72].

TABELA VI. OBJAWY KLINICZNE (Z GRUPY B I GRUPY C) MASTOCYTOZY UKŁADOWEJ [1]

<p>Objawy typu B:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. W biopsji szpiku >30% komórek nacieku stanowią mastocyty (skupiska, gęste agregaty) i/lub stężenia tryptazy mastocytowej > 200 ng/ml 2. Cechy dysplazji lub mieloproliferacji linii komórek nie-mastocytarnych, jednak nie spełniające kryteriów rozpoznania innej choroby z/bez nieznacznymi odchyleniami w morfologii krwi 3. Palpacyjnie wyczuwalna hepatomegalia i/lub splenomegalia, przebiegające bez upośledzenia funkcji tych narządów i/lub powiększenie węzłów chłonnych w badaniu przedmiotowym lub obrazowym
<p>Objawy typu C:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Dysfunkcja szpiku – cytopenia w zakresie 1 lub więcej linii (neutrofile $<1.0 \times 10^9/L$, Hgb <10 g/dl, PLT $<100 \times 10^9/L$), brak nie-mastocytarnego hematologicznego procesu nowotworowego 2. Palpacyjnie wyczuwalna hepatomegalia z upośledzeniem czynności wątroby, wodobrzuszem i/lub nadciśnieniem wrotnym 3. Zajęcie kości z dużymi ogniskami osteolitycznymi i/lub patologiczne złamania kości 4. Palpacyjnie wyczuwalna splenomegalia z hipersplenizmem 5. Wyniszczenie ze spadkiem masy ciała związane z nacieczeniem przez mastocyty przewodu pokarmowego

Hgb – hemoglobina, PLT – płytki krwi

ISM - indolentna mastocytoza układowa (*indolent systemic mastocytosis*, ISM) jest najczęściej spotykanym wariantem SM, szacuje się iż dotyczy ona 90% dorosłych z SM [4,9,32,72]. W ISM nie stwierdza się dysfunkcji narządów wewnętrznych w wyniku infiltracji mastocytów. Chorzy z ISM przeważnie prezentują typowe dla MPCM zmiany skórne oraz niewielkie podwyższenie stężenia tryptazy w surowicy krwi. Nie stwierdza się objawów z grupy B i z grupy C. ISM charakteryzuje się łagodnym przebiegiem klinicznym, dobrym rokowaniem oraz normalną lub prawie normalną długością życia [32,72]. U większości chorych (około 80%) stwierdzane jest zajęcie skóry, przeważnie o charakterze monomorficznej MPCM [4]. Ryzyko progresji ISM do zaawansowanych postaci SM jest niewielkie, jednak u niektórych chorych ostatecznie dochodzi do rozwoju SM-AHN, ASM lub MCL [11,16,72,79]. Do znanych czynników prognostycznych rozwoju zaawansowanych postaci SM należą między innymi: obecność mutacji D816V genu *KIT* w wielu liniach hematopoetycznych szpiku, podwyższone stężenie β -2-mikroglobuliny, podwyższone stężenie fosfatazy alkalicznej, powiększenie węzłów chłonnych, splenomegalia oraz obecność innych somatycznych mutacji szczególnie *SRSF2*, *ASXL1* i *RUNX1* [25,72,79,85,99–101].

BMM - mastocytoza ograniczona do szpiku (*bone marrow mastocytosis*, BMM) jest wariantem ISM, w którym nacieki mastocytów są ograniczone wyłącznie do szpiku kostnego. U chorych z BMM nie obserwuje się zajęcia skóry, stężenie tryptazy w surowicy u większości chorych jest w normie [11].

SSM - mastocytoza układowa o podstępny przebiegu (*smoldering systemic mastocytosis*, SSM) została wyodrębniona z ISM jako postać o większym potencjale proliferacyjnym mastocytów. W SSM obciążenie organizmu mastocytami jest znacznie większe w porównaniu do ISM. Do rozpoznania SSM wymagane jest spełnienie co najmniej 2 objawów z grupy B świadczących o mieloproliferacji lub mielodysplazji

oraz braku objawów z grupy C. W porównaniu do ISM istnieje większe ryzyko transformacji nowotworowej do białaczki mastocytarnej lub ASM [1].

SM-AHN - mastocytoza układowa z towarzyszącą hematologiczną chorobą nowotworową (*systemic mastocytosis with an associated hematologic neoplasm*, AM-AHN) rozpoznaje się przy spełnieniu kryteriów SM oraz kryteriów innej rozrostowej choroby hematologicznej wywodzącej się z linii nie mastocytarnej na podstawie klasyfikacji WHO. Po ISM oraz SSM jest trzecią pod względem częstości występowania postacią kliniczną SM. Leczenie SM-AHN zależy od leczenia towarzyszącej choroby hematologicznej [1]. Wcześniej stosowany termin mastocytoza układowa z klonalnym rozrostem linii komórkowych nie-mastocytarnych (*systemic mastocytosis with an associated hematologic non-MC lineage disease*, SM-AHNMD) może być stosowany zamiennie. Wyróżnia się SM-AHN z obecnością mieloidalnego rozrostu nowotworowego oraz SM-AHN z limfoidalnym rozrostem nowotworowym [11].

ASM - agresywna mastocytoza układowa (*aggressive systemic mastocytosis*, ASM) charakteryzuje się dysfunkcją narządów wewnętrznych, zajętych przez mastocyty, czego odzwierciedleniem jest obecność objawów z grupy C. W przebiegu ASM może wystąpić cytopenia, patologiczne złamania, niedożywienie z utartą masą ciała oraz hipalbuminemia, powiększenie wątroby z wodobrzuszem, powiększenie śledziony z hipersplenizmem. Do rozpoznania ASM wymagane jest spełnienie kryteriów mastocytozy układowej (Tabela III) oraz jednego lub więcej objawów z grupy C. Wyróżnia się postać ASM transformującej do MCL oraz ASM bez cech transformacji [11]. ASM wymaga leczenia cytoredukcyjnego lub terapii celowanej inhibitorami kinazy tyrozynowej. Rokowanie jest poważne [1,32].

MCL - białaczka mastocytarna (*mast cell leukemia*) rozpoznaje się, gdy odsetek mastocytów w rozmazie szpiku kostnego wynosi co najmniej 20% oraz we krwi obwodowej wynosi co najmniej 10% [12,58,99]. MCL jest heterogennym wariantem SM. Obecnie wśród MCL wyróżnia się postać ostrą (obecne objawy z grupy C), postać przewlekłą (bez obecności objawów z grupy C), postać pierwotną (bez stwierdzenia uprzedniego rozrostu mieloidalnego lub SM) wtórną (w przypadku uprzedniej transformacji MCS lub ASM do MCL) [32], ponadto postać typową oraz postać aleukemiczną MCL w której, odsetek mastocytów w rozmazie szpiku kostnego wynosi co najmniej 20%, natomiast we krwi obwodowej mniej niż 10% [12,14,32]. MCL jest bardzo rzadką postacią SM, dotyczy mniej niż 0.5% chorych z mastocytozą, do chwili obecnej udokumentowano około 70 przypadków MCL [102]. Rokowanie u chorych z MCL jest przeważnie złe, mediana przeżycia wynosi około 2 miesiące [1].

Mięsak mastocytarny (*mast cell sarcoma*, MCS) jest to niezwykle rzadka postać mastocytozy wiążąca się ze złym rokowaniem. Uprzednio klasyfikowany jako postać SM, został wyodrębniony jako osobny wariant mastocytozy, obok CM i SM w 2016 r. [1,32]. MCS charakteryzuje się obecnością litego guza z klonalnych mastocytów, który wykazuje agresywny wzrost, naciekanie otaczających tkanek oraz tworzenie przerzutów [26,103]. Guzy te najczęściej powstają *de novo* w kościach, rzadziej w przewodzie pokarmowym, gardle, węzłach chłonnych i innych narządach wewnętrznych [26]. Mutacja D816V genu *KIT* stwierdzana jest u około 20% chorych [103]. Kryteria SM oraz MCL nie są spełnione. Transformacja nowotworowa do MCL jest możliwa, mediana czasu przeżycia wynosi około 18 miesięcy [103].

1.5. MASTOCYTOZA UKŁADOWA U DZIECI W ŚWIETLE DANYCH LITERATUROWYCH

Mastocytoza układowa (*systemic mastocytosis*, SM) u dzieci jest rzadko rozpoznawana. Dane literaturowe dotyczące tego zagadnienia są skąpe, stąd rzeczywista częstość występowania SM u dzieci nie jest znana. Tylko w nielicznych badaniach przeprowadzonych na dużych grupach dzieci określono częstość występowania SM, która wynosi od 0 do 35,4% [16,17,38-42,44,51,67,81,104-107]. Prace, w których oceniono częstość występowania SM i anafilaksji w dużych grupach dzieci, przedstawiono w tabeli VII.

TABELA VII. CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA MASTOCYTOZY UKŁADOWEJ I ANAFILAKSJI U DZIECI CHOROJĄCYCH NA MASTOCYTOZĘ (LATA 2007-2018) [16,17,38-42,44,51,67,81,104-107]

Autor	N	SM	Anafilaksja
Gonzales de Olano D et al.2007	N = 47	0 (0%)	3 (6,4%)
Brockow K et al. 2008	N = 46	0 (0%)	4 (9%)
Uzzaman A et al. 2009	N* = 15	1 (6,6%)	ND
Bodemar et al. 2010	N = 65	1 (1,5%)	ND
Alvarez-Twose I et al. 2012	N = 111	2 (1,8%)	12 (11%)
Lange et at. 2013	N = 101	1 (0,99%)	6 (5,9%)
Johnson RC et al. 2013	N = 7	1 (14%)	ND
Barnes M et al. 2014	N = 67	No data	1 (1,5%)
Carter M et al. 2014	N = 113	21 (18,5%)	ND
Carter M et al. 2015	N = 105	19 (18%)	6 (5,7%)
Matito A et al. 2015	N = 42	2 (4,7%)	1 (2%)
Wiechers T et al. 2015	N* = 144	0	ND
Lange M et al. 2017	N = 102	0	2 (1,96%)
Carter M et al. 2018	N = 65	23 (35,4%)	ND
Meni et al. 2018	N = 53	2 (3,8%)	ND

N = (number) liczba dzieci, ND = (no data) brak danych, SM = (*systemic mastocytosis*) mastocytoza układowa,

*N = liczba dorosłych z początkiem mastocytozy w dzieciństwie

Na rzadkie występowanie SM u dzieci wskazują również nieliczne opisy przypadków w literaturze światowej. W okresie ostatnich 10 lat opisano 16 przypadków SM u dzieci [102,108-122]. W tabeli VIII przedstawiono udokumentowane przypadki SM u dzieci opublikowane w latach 2008-2018 r. Przedstawione dane wskazują, że jedynie u około 7 (43,8%) dzieci z SM występowały zmiany skórne. Typową dla SM mutację D816V genu *KIT* w szpiku kostnym stwierdzono w 1 przypadku a inne mutacje (D816A, D816H) genu *KIT* w 2 przypadkach [109,119,122]. Najczęstszą postacią SM była SM-AHN stwierdzana u 8 (50%) dzieci.

W przeciwieństwie do chorych dorosłych biopsja szpiku u dzieci celem wykluczenia SM nie jest wykonywana rutynowo. Zgodnie z algorytmem diagnostycznym ECNM (*European Competence Network on Mastocytosis*) mastocytozy z 2014 r. diagnostykę w kierunku SM wykonuje się u dzieci w przypadkach znacznie podwyższonego (powyżej 100 ng/ml) lub narastającego stężenia tryptazy w surowicy w czasie monitorowania, powiększenia wątroby, śledziony, limfadenopatii oraz istotnych klinicznie odchyleń w morfologii krwi obwodowej [5,16,22,26].

TABELA VIII. PRZYPADKI SM U DZIECI W ŚWIETLE DANYCH LITERATUROWYCH Z LAT 2008-2018 [102,108-122]

	Postać SM	Wiek (w latach) płeć	Mutacja genu <i>KIT</i>		Zajęcie skóry	Zajęcie szpiku kostnego	Tryptaza (ng/ml)	Organo-megalia
			Krew obwodowa	Szpic kostny				
Angus J (2008) <i>Clin Exp Dermatol</i>	ASM	0/M	ND	ND	DCM	+	169	H,S,L
Kar R (2008) <i>Indian J Hematol</i>	SM-ANHMD (AML)	13/K	ND	ND	-	+	ND	H,S
Mahadeo KM (2011) <i>Pediatr Blood Cancer</i>	SM-ANHMD (AML) (t 8;21)	10/K	ND	-	-	+	57	S
Intzes S (2011) <i>J Pediatr Hematol Oncol</i>	AML (t 8;21)	3/M	ND	ND	-	+	39,8	-
Sharma S (2011) <i>Indian Journal of Pathology and Microbiol</i>	SM-ANHMD	2,5/K	ND	ND	-	+	ND	H,S
Yabe M (2012) <i>Pediatr Blood Cancer</i>	SM-ANHMD (AML) (t 8;21)	5/K	ND	D816A	-	+	ND	-
Gadage VS (2012) <i>Indian Journal of Pathology and Microbiol</i>	SM – ANHMD AML t(8;21)	14/K	ND	ND	-	+	ND	-
Chantorn R (2012) <i>Pediatr Dermatol</i>	MCL	5/K	ND	ND	MPCM	+	>200	S
Synakiewicz A (2013) <i>Dev Period Med.</i>	SSM	8/K	ND	-	MPCM	+	360	H,S
Gogia A (2013) <i>J Pediatr Hematol Oncol</i>	SM-AHNMD (AML)	3/K	ND	-	MPCM	+	ND	H,S
Bautista-Quach M.A (2013) <i>J Pediatr Hematol Oncol</i>	Mast cell sarcoma	1/M	ND	ND	CM	ND	34,1	-
Rabade N (2016) <i>Indian J Pathol Microbiol</i>	SM-AHNMD (AML) t(8;21)	7/K	ND	-	-	+	ND	S
Torun YA (2016) <i>Indian J Paediatr Dermatol</i>	ISM	5/K	ND	ND	MPCM	+	365	H,S
Mitchell SG (2017) <i>Pediatr Blood Cancer</i>	SM-ANHMD (CMML)	13/K	D816H	D816H	-	+	ND	-
Huang A (2017) <i>Br J of Dermatol</i>	ASM	0/M	ND	D816V	DCM +D816V	+	64	H,S
Zheng Y (2018) <i>Diagn Pathol</i>	MCL	13/M	ND	-	-	+	ND	S

AML – ostra białaczka szpikowa (*Acute myeloid leukemia*, AML) ASM – agresywna SM (*Aggressive systemic mastocytosis*, ASM), CMML – przewlekła białaczka mielomonocytowa (*Chronic Myelomonocytic Leukemia*, CMML), DCM – uogólniona skórna mastocytoza (*Diffuse Cutaneous Mastocytosis*, DCM) ISM – indolentna SM (*Indolent Systemic Mastocytosis*, ISM), K – płeć żeńska, M – płeć męska, MCL – białaczka mastocytarna (*Mast cell leukemia*, MCL), MPCM – plamisto-grudkowa mastocytoza skóry (*Maculopapular Cutaneous Mastocytosis*, MPCM), ND – nie wykonano (*not done*, ND), t – translokacja, SM-AHN – SM z towarzyszącą hematologiczną chorobą nowotworową (*Systemic mastocytosis with an associated hematologic neoplasm*, SM-AHN), SSM – SM o podstępny przebiegu (*Smoldering Systemic Mastocytosis*, SSM), (-) – nie wykryto (*not detected*).

2. CELE PRACY

2.1. CEL GŁÓWNY

Analiza naturalnego przebiegu mastocytozy u dzieci oraz ocena znaczenia badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu choroby u dzieci z rozległymi zmianami skórnymi.

2.2. CELE SZCZEGÓŁOWE

1. Analiza ewolucji skórnych i narządowych objawów mastocytozy skóry u dzieci podczas ≥ 10 -letniego okresu monitorowania
2. Ocena tendencji do spontanicznej remisji objawów mastocytozy skóry u dzieci podczas ≥ 10 -letniego okresu monitorowania
3. Porównanie obrazu klinicznego mastocytozy u dzieci chorujących na plamisto-grudkową mastocytozę skóry (MPCM) i uogólnioną skórną mastocytozę (DCM)
4. Ocena znaczenia mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej w diagnostyce mastocytozy układowej (SM) u dzieci
5. Ocena wartości prognostycznej badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej.

2.3. UZASADNIENIE CELOWOŚCI PODJĘCIA BADAŃ

Powszechnie dominuje pogląd, że mastocytoza u dzieci, w przeciwieństwie do mastocytozy osób dorosłych, ma charakter choroby ograniczonej do skóry (*cutaneous mastocytosis*, CM), wykazującej tendencję do spontanicznej regresji [22,25,26,43,123]. Dotychczas niewiele wiadomo na temat spontanicznej regresji mastocytozy u dzieci, gdyż publikacje dotyczące tego zagadnienia są nieliczne, fragmentaryczne i oparte na niewielkich pod względem liczebności grupach chorych [3,12,104,107,124–126]. Brak również systematycznych, polskich badań nad ewolucją objawów mastocytozy u dzieci. Z analizy danych literaturowych dotyczących 1747 dzieci chorujących na mastocytozę, opublikowanej przez Méni C. i wsp. w 2015 r. wynika, że informacje o przebiegu choroby były dostępne jedynie u 621 dzieci, przy czym okres monitorowania tych dzieci był bardzo zróżnicowany [3,104,126]. Opublikowana w 2018 r. praca francuskiego ośrodka badań nad mastocytozą pokazuje, że po 13-letnim okresie obserwacji jedynie u 6% spośród 53 badanych dzieci dochodziło do całkowitej remisji zmian skórnych, a stabilizacja lub zaostrzenie zmian dotyczyło 30% dzieci [107]. Na tej podstawie autorzy pracy sugerują, że mastocytoza u dzieci nie jest chorobą, którą można uznać za ulegającą systematycznej spontanicznej remisji [107]. W związku z tym za uzasadnione wydawało się podjęcie badań nad naturalnym przebiegiem mastocytozy u dzieci, ze szczególnym uwzględnieniem oceny tendencji do samoistnej regresji objawów tej choroby.

Obecnie niewiele wiadomo również o rzeczywistej częstości występowania mastocytozy układowej (*systemic mastocytosis*, SM) u dzieci, gdyż większość doniesień dotyczących tego zagadnienia ma charakter opisów przypadków. Nieliczne publikacje oparte na dużych grupach dzieci chorujących na mastocytozę wskazują na bardzo

rzadkie występowanie SM w tej grupie wiekowej [16,17,38-42,44,51,81,104-107]. W 2011 r. zaczęto wprowadzać do diagnostyki mastocytozy u dorosłych badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, gdyż mutacja ta stanowi jedno z kryteriów rozpoznania SM i świadczy o klonalnym charakterze rozrostu mastocytów [18-20,128]. W 2018 r. zaproponowano włączenie tego badania do diagnostyki SM u dzieci [105]. Dotychczas w literaturze światowej dostępne jest tylko jedno badanie, w którym oznaczono mutację D816V genu *KIT* u dzieci chorujących na wszystkie postacie kliniczne CM. Z badania tego wynika, że u 35% spośród 65 badanych dzieci zdiagnozowano SM, co rzuca nowe światło na występowanie SM w populacji dziecięcej [105]. W związku z rozbieżnymi danymi literaturowymi dotyczącymi występowania SM w pediatrycznej grupie chorych, uzasadnione wydawało się podjęcie badań nad znaczeniem mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej w diagnostyce SM i rokowaniu u dzieci z bardzo nasilonymi skórnymi objawami mastocytozy.

3. MATERIAŁ I METODY

Przedstawiona praca składa się z dwóch części i w związku z tym oparta jest na analizie danych klinicznych i genetycznych dotyczących dwóch odrębnych grup badanych. Pierwsza część pracy, obejmująca analizę ewolucji mastocytozy u dzieci, opiera się na retrospektywnym, nierandomizowanym badaniu, które zostało przeprowadzone w latach 2016-2019 w Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (kierownik: prof. dr hab. n. med. Roman Janusz Nowicki). Druga część pracy poświęcona jest diagnostyce mastocytozy układowej u dzieci, jej trzon stanowią badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, przeprowadzone w latach 2017-2018 w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (kierownik: dr hab. n. med. Bartosz Wasąg). Projekt badawczy uzyskał akceptację Niezależnej Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym nr NKBBN/313/2017 z dnia 11.09.2017 r.

3.1. GRUPY BADANE

Badaniem objęto dzieci chorujące na mastocytozę, które były diagnozowane i leczone Poradni Dermatologicznej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku w latach 2007-2019. Przed rozpoczęciem badania rodzice lub opiekunowie prawni badanych dzieci otrzymywali pisemną informację o badaniu, a następnie podpisywali formularz świadomej zgody na udział w tym badaniu.

Analizę danych klinicznych i genetycznych przeprowadzono w dwóch odrębnych grupach. Szczegółową charakterystykę grup badanych przedstawiono w tabeli XI i XII w rozdziale *Wyniki*.

- Grupę badaną I stanowiły dzieci chorujące na mastocytozę skóry, u których przebieg choroby monitorowano przez okres ≥ 10 lat (mediana 10 lat), co stanowiło kryterium włączenia do tej grupy. Znalazło się w niej 55 dzieci w wieku od 1 do 12 lat. Na pierwszej wizycie kontrolnej dzieci były w wieku od 1 roku życia do 12 lat. Podczas ostatniej wizyty chorzy objęci badaniem byli w wieku od 10 do 23 lat (mediana 11 lat). Dzieci z mastocytoma skóry nie zostały włączone do grupy badanej, ze względu na bardzo łagodny przebieg choroby, który nie wymagał 10-letniego okresu monitorowania. W grupie I znalazły się 24 dziewczynki oraz 31 chłopców. W grupie I u 47 (85%) dzieci rozpoznano postać plamisto-grudkową (*maculo-papular cutaneous mastocytosis*, MPCM) oraz u 8 (15%) uogólnioną mastocytozę skóry (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM).
- Grupę badaną II stanowiły dzieci chorujące na mastocytozę, u których wykonano badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Znalazło się w niej 32 dzieci w wieku od 1 roku życia do 14 lat (wiek w którym przeprowadzono badanie genetyczne). Kryteria włączenia do tej podgrupy stanowiły:
 1. Zajęcie przez proces chorobowy $>50\%$ powierzchni skóry
 2. Zgoda rodziców na wykonanie badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej

Okres monitorowania u dzieci w grupie II wynosił od 2 do 11 lat (mediana 7 lat). W grupie II znalazło się 14 dziewczynek oraz 18 chłopców. U 16 (50%) chorych rozpoznano postać plamisto-grudkową (*maculo-papular cutaneous mastocytosis*, MPCM) oraz u 16 (50%) rozpoznano uogólnioną mastocytozę skóry (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM).

3.2. BADANIA DIAGNOSTYCZNE

Mastocytozę skóry (CM) rozpoznawano na podstawie morfologii zmian skórnych oraz dodatniego objawu Dariera, stanowiących kryterium większe rozpoznania tej postaci choroby [4]. Objaw Dariera polega na wystąpieniu rumienia i obrzęku w obrębie wykwitów skórnych pod wpływem podrażnienia mechanicznego. Prowokowanie tego objawu polega na 5-krotnym pocieraniu zmiany, stosując równomierny ucisk, za pomocą szpatułki laryngologicznej [4]. W przypadkach o niejednoznacznym obrazie klinicznym rozpoznanie weryfikowano za pomocą badania histopatologicznego wycinka ze zmian skórnych, którego pozytywny wynik stanowi kryterium mniejsze rozpoznania mastocytozy [4]. Badanie histopatologiczne wycinka ze zmian skórnych wykonano u 15 dzieci z grupy I oraz u 12 z grupy II. Badanie histopatologiczne przeprowadzono w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Od biopsji skóry odstępowano u dzieci z typowym obrazem klinicznym i silnie wyrażonym objawem Dariera.

Badania diagnostyczne przeprowadzone u wszystkich dzieci chorujących na mastocytozę stanowiły:

1. Badanie podmiotowe
2. Badanie przedmiotowe
3. Ocena występowania objawu Dariera
4. Morfologia krwi obwodowej z rozmazem
5. Stężenie tryptazy mastocytowej w surowicy
6. Transaminazy wątrobowe (asparaginianowa, alaninowa)
7. USG narządów jamy brzusznej

Do oceny danych klinicznych i laboratoryjnych u wszystkich dzieci posłużono się ankietą przedstawioną poniżej. Badania przeprowadzono podczas pierwszej wizyty diagnostycznej oraz 1 raz w roku w okresie monitorowania. W przypadkach, w których występowały nasilone objawy kliniczne lub nieprawidłowości w badaniach dodatkowych wizyty kontrolne wykonywano częściej niż 1 raz w roku, zależnie od stanu zdrowia chorych. Oceny stanu klinicznego dokonywano w okresach kiedy dzieci nie przyjmowały leków przeciwhistaminowych przez okres ≥ 10 dni.

ANKIETA OCENY DZIECKA CHORUJĄCEGO NA MASTOCYTOZĘ SKÓRY

Data			
Nr chorego			
Płeć			
Zmiany skórne		Diagnostyka histopatologiczna	
Postać kliniczna		Biopsja skóry	
Wariant kliniczny		<input type="radio"/> wykonywano	<input type="radio"/> nie wykonywano
Rozległość zmian skórnych (% powierzchni zajętej skóry)		Nr badania	
Objaw Dariera		Wynik	
<input type="radio"/> obecny	<input type="radio"/> brak	Diagnostyka genetyczna	
Nasilenie zmian skórnych (0-3)		Mutacja D816V genu <i>KIT</i> (krew obwodowa)	
Pigmentacja		<input type="radio"/> wykonywano	<input type="radio"/> nie wykonywano
Wyniosłość		Nr badania	
		Wynik	

Objawy zależne od mediatorów			
Skórne	Objaw	+ występuje - nie występuje	nasilenie (0-4)
		Świąd	
	Zmiany pęcherzowe		
	<i>Flushing</i>		
Narządowe	Bóle brzucha		
	Biegunki		
	Bóle głowy		
	Hipotensja		
	Duszność		
	Wstrząs anafilaktyczny		

Badanie przedmiotowe		
Limfadenopatia, powiększenie wątroby, śledziona, kacheksja, inne nieprawidłowości	<input type="radio"/> bez odchyłeń	<input type="radio"/> nieprawidłowości:

Badania laboratoryjne i obrazowe		
Stężenie tryptazy w surowicy (ng/ml)	wartość:	
Morfologia krwi:	<input type="radio"/> bez odchyłeń	<input type="radio"/> nieprawidłowości:
Transaminazy (AspAT, AlAT):	<input type="radio"/> bez odchyłeń	<input type="radio"/> nieprawidłowości:
USG jamy brzusznej:	<input type="radio"/> bez odchyłeń	<input type="radio"/> nieprawidłowości:

Diagnostyka w kierunku SM, u dzieci u których stwierdzano istotne pod względem klinicznym nieprawidłowości w wynikach badań dodatkowych przeprowadzono w Klinice Pediatrii, Gastroenterologii, Alergologii i Żywienia Dzieci Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego lub w oddziałach pediatrycznych w miejscach zamieszkania dzieci. Diagnostykę SM, obejmującą trepanobiopsję szpiku, ocenę immunofenotypu i morfologii mastocytów oraz badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej i/lub szpiku kostnym przeprowadzono u 5 dzieci.

Zgodnie z opublikowanymi zaleceniami wskazania do wykonania biopsji szpiku u dzieci stanowiły [5,16,22]:

- a. stwierdzenie istotnych klinicznie nieprawidłowości w morfologii krwi obwodowej;
- b. hepatomegalia, splenomegalia, limfadenopatia;
- c. stężenie tryptazy w surowicy utrzymujące się >100 ng/ml lub narastające w okresie monitorowania.

3.3. OCENA ROZLEGŁOŚCI ORAZ NASILENIA ZMIAN SKÓRNYCH

W celu oceny zmian skórnych analizie poddano następujące parametry:

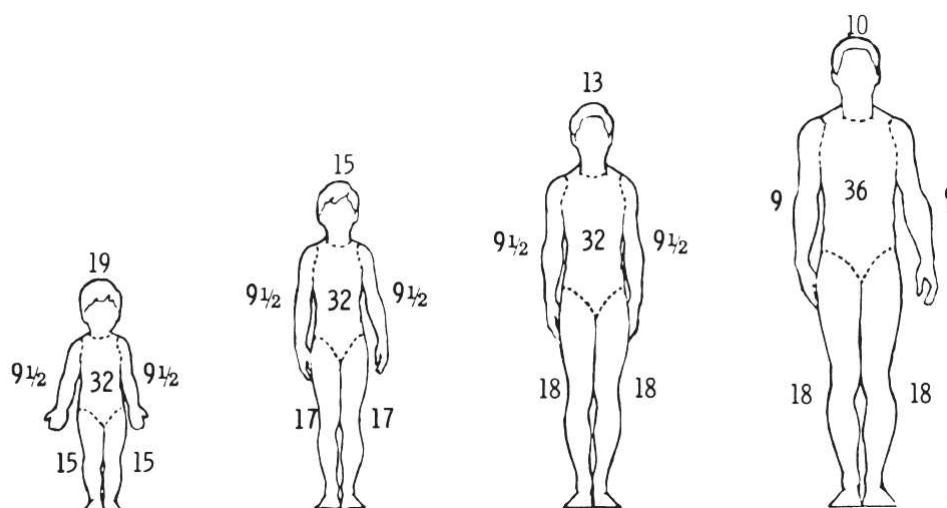
- A. Postać kliniczną mastocytozy skóry;
- B. Rozległości zmian skórnych określonych jako % powierzchni zajętej skóry;
- C. Nasilenie parametrów zmian skórnych takich jak: pigmentacja, wyniosłość zmiany.

A. POSTAĆ KLINICZNA MASTOCYTOZY SKÓRY

Postacie kliniczne mastocytozy skóry rozpoznawano zgodnie z kryteriami WHO i zaleceniami *European Competence Network on Mastocytosis* (ECNM) z 2016 r., wyróżniając: 1. postać plamisto-grudkową (*maculo-papular cutaneous mastocytosis*, MPCM) 2. uogólnioną mastocytozę skóry (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM) oraz 3. Mastocytoma skóry [4,32]. U chorych z MPCM wyodrębniono wariant monomorficzny i polimorficzny zgodnie z rekomendacjami ECNM.

B. OCENA ROZLEGŁOŚCI ZMIAN SKÓRNYCH

Do oceny powierzchni zajętej skóry w różnych grupach wiekowych, zastosowano schemat przeznaczony do oceny rozległości oparzeń, zastosowany w pracy Fuzaylov i wsp. *Pediatric Anesthesia* 2009 [129].



wiek (lata) 1-4 5-9 10-14 Dorośli

RYCINA 9. SCHEMAT SŁUŻĄCY DO OCENY ROZLEGŁOŚCI ZMIAN SKÓRNYCH [129]

C. OCENA NASILENIA ZMIAN SKÓRNYCH

Nasilenie zmian skórnych takich jak: pigmentacja i wyniosłość zmiany oceniono w skali od 0-3 dla każdego z tych objawów (0 – brak objawu, 1 – niewielkie, 2 – umiarkowane, 3 – duże nasilenie objawu), uzyskując maksymalnie 6 punktów. Do oceny wybierano jedną, najbardziej reprezentatywną dla obrazu klinicznego zmianę skórą.

3.4. OCENA NASILENIA SKÓRNYCH OBJAWÓW ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW

Nasilenie objawów ze strony skóry związanych z działaniem mediatorów uwalnianych przez mastocyty takich jak: świąd, *flushing* i tworzenie się pęcherzy oceniono w skali od 0-4 dla każdego z tych objawów, uzyskując maksymalnie 12 punktów (Tabela IX). Ocenę nasilenia tych objawów, oparto na skali nasilenia objawów zależnych od mediatorów, opracowanej przez grupę ekspertów zajmujących się mastocytozą i opublikowanej jako *Standards and standardization in mastocytosis: Consensus Statements on Diagnostics, Treatment Recommendations and Response Criteria* (12).

TABELA IX. SKALA NASILENIA OBJAWÓW ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW U CHORYCH Z CM [12]

Stopień	Definicja
0 = brak objawów	profilaktyka wystarcza do kontrolowania objawów, leczenie nie jest wymagane
1 = łagodne, rzadkie objawy	profilaktyka i/lub leczenie jest potrzebne do kontrolowania objawów
2 = umiarkowane	leczenie jest wymagane, objawy zazwyczaj można kontrolować zastosowaną terapią
3 = nasilone	codzienna i złożona terapia jest niewystarczającą do kontroli objawów
4 = bardzo nasilone/ciężkie niepożądane zdarzenia	terapia ratunkowa oraz hospitalizacja są wymagane

Ocena częstości występowania i nasilenia świądu skóry, objawu *flushing* oraz zmian pęcherzowych opierała się badaniu przedmiotowym, obserwacji zachowania dziecka podczas badania oraz danych z wywiadu uzyskanych od rodziców. Nasilenie skórnych objawów zależnych od mediatorów oceniane było w okresie, w którym dzieci nie przyjmowały leków przeciwhistaminowych. Dzieciom, które przyjmowały leki przeciwhistaminowe codziennie, zalecono odstawienie tych leków na okres ≥ 10 dni przed wizytą kontrolną, celem eliminacji wpływu prowadzonego leczenia na ocenę nasilenia objawów zależnych od mediatorów.

3.5. OCENA NASILENIA NARZĄDOWYCH OBJAWÓW ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW

Nasilenie narządowych objawów związanych z działaniem mediatorów uwalnianych przez mastocyty takich jak: bóle brzucha, biegunki, hipotensja, duszność, bóle głowy, wstrząs anafilaktyczny oceniono w skali od 0-4 dla każdego z tych objawów, uzyskując maksymalnie 24 punkty. Ocena częstości występowania i nasilenia narządowych objawów zależnych od mediatorów, opierała się badaniu przedmiotowym, obserwacji zachowania dziecka podczas badania oraz danych z wywiadu uzyskanych od rodziców. Nasilenie wstrząsu anafilaktycznego ocenione było na 4, z tego względu iż w każdym przypadku wystąpienia tego stanu wymagane jest podjęcie terapii ratunkowej. Skalę oceny nasilenia tych objawów, opisaną w standardach diagnostyki mastocytozy, przedstawiono w tabeli IX [12]. Nasilenie narządowych objawów zależnych od mediatorów oceniane było w okresie, w którym dzieci nie przyjmowały leków przeciwhistaminowych. Dzieciom, które przyjmowały leki przeciwhistaminowe codziennie, zalecono odstawienie tych leków ≥ 10 dni przed wizytą kontrolną, celem eliminacji wpływu prowadzonego leczenia na ocenę nasilenia objawów zależnych od mediatorów.

3.6. MONITOROWANIE PRZEBIEGU CHOROBY I OCENA STOPNIA REMISJI

Rozległość oraz nasilenie zmian skórnych a także nasilenie skórnych i narządowych objawów zależnych od mediatorów oceniano na każdej wizycie. Kontrole odbywały się 1 raz w roku lub częściej jeżeli wymagał tego stan zdrowia dziecka. Wszystkie dane kliniczne zebrano na podstawie retrospektywnej analizy dokumentacji medycznej chorych leczonych w Poradni Dermatologicznej UCK oraz oceny nasilenia choroby podczas bieżących kontroli lekarskich. Wszystkie włączone do badania dzieci z grupy I i II pozostają pod opieką Poradni Dermatologicznej UCK w Gdańsku.

Ocena stopnia remisji mastocytozy skóry została przeprowadzona w oparciu o wyselekcjonowaną, jednorodną pod względem klinicznym, podgrupę dzieci.

Kryteriami włączenia do tej podgrupy były:

- początek choroby w pierwszym roku życia;
- pierwsza ocena w Poradni Dermatologicznej UCK odbyła się do 24-miesiąca życia;
- monitorowanie w Poradni Dermatologicznej przez okres ≥ 10 lat.

W podgrupie tej znalazło się 39 dzieci (12 dziewczynek; 27 chłopców), u których rozpoznano MPCM (n = 32; 82%) oraz DCM (n = 7; 18%).

Stopień poprawy lub progresji choroby oceniono na podstawie danych uzyskanych z oceny nasilenia choroby na pierwszej wizycie (v1) oraz na ostatniej wizycie po okresie 10 lat monitorowania (vL). Stopień poprawy/progresji oceniono dla następujących parametrów:

- rozległość zmian skórnych
- nasilenie objawów skórnych zależnych od mediatorów: (świąd, *flushing*, zmiany pęcherzowe)

Zastosowano skalę oceny remisji objawów choroby zgodnie ze standardami ECNM (Valent et al., *Standards and standardization in mastocytosis: Consensus Statements on Diagnostics, Treatment Recommendations and Response Criteria* (2007), którą przedstawiono w tabeli X [12].

TABELA X. SKALA OCENY REMISJI ROZLEGŁOŚCI I OBJAWÓW MASTOCYTOZY [12]

Stopień remisji	Definicja
CR (<i>complete regression</i>) całkowita remisja	wszystkie objawy całkowicie ustąpiły i nie wystąpiły ponownie przez 12 miesięcy od zakończenia terapii
MR (<i>major regression</i>) znaczna remisja	poprawa w zakresie objawów >50% i/lub zmniejszenie częstości występowania objawów
PR (<i>partial regression</i>) częściowa remisja	poprawa w zakresie 10-50% i/lub zmniejszenie częstości występowania objawów w mniejszym stopniu niż w MR
NR (<i>no regression</i>) brak remisji, stan stacjonarny	<10% poprawy i brak spadku częstotliwości objawów

U chorych, u których w okresie obserwacji występowało nasilenie objawów choroby, jako wynik monitorowania podano progresję.

3.7. OZNACZENIE STĘŻENIA TRYPTAZY W SUROWICY

Stężenie tryptazy mastocytowej w surowicy oznaczono metodą fluoroimmunoenzymatyczną za pomocą aparatu UniCAP 100 (Phadia, Upsala, Szwecja), zgodnie z protokołem załączonym przez producenta. Surowicę do badania uzyskiwano w wyniku odwirowania 5ml krwi żyłnej pobranej do probówki nie zawierającej antykoagulantu. Krew wirowano przez 10 minut przy prędkości 3000 obrotów/minutę (wirówka stołowa z chłodzeniem, MPW-350, MPW Med. Instrumentts). Zakres normy stężenia tryptazy w surowicy wg producenta wynosił od 5,6 ng/ml do 11,4 ng/ml. Badanie wykonano w Centralnym Laboratorium Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku. Stężenie tryptazy oznaczano podczas pierwszej wizyty diagnostycznej oraz w okresie monitorowania co 6 lub co 12 miesięcy. W pracy nie porównywano wyników badań uzyskanych od chorych na mastocytozę z wynikami grupy kontrolnej, gdyż stężenie tryptazy mastocytowej w surowicy jest określone dla zdrowej populacji i za normę przyjmuje się stężenie do 11,4 ng/ml.

3.8. BADANIE MUTACJI D816V GENU *KIT* WE KRWI OBWODOWEJ

Badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wykonano w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Identyfikację mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wykonano za pomocą techniki allelo-specyficznej reakcji amplifikacji PCR w czasie rzeczywistym (*allele-specific real-time quantitative PCR*, ASqPCR) z zastosowaniem sondy TaqMan ściśle zgodnie z metodyką dokładnie opracowaną i opublikowaną przez Kristensena i wsp. [128], który rekomendował tę metodę do badania mutacji w szpiku kostnym w 2011 r. i we krwi obwodowej w 2014 r. [18,128]. Carter i wsp. w badaniach u dzieci opublikowanych w 2018 roku zastosowali tę samą metodykę detekcji mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej [105]. Podobnie jak Carter i wsp., za pozytywny przyjęliśmy wynik, w którym stwierdzano co najmniej 0,01% alleli z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej [105]. Uzyskanych przez nas wyników grupy badanej nie zestawiano z wynikami grupy kontrolnej, gdyż oznaczanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej stanowi rutynową procedurę w diagnostyce SM, która jest przeprowadzana w Katedrze Biologii i Genetyki Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Do badania wykorzystano 5 ml krwi żyłnej pobranej do próbki z antykoagulantem EDTA. Do izolacji materiału DNA z jednojądrowych komórek krwi obwodowej (*peripheral blood mononuclear cells*, PBMNCs) wykorzystano zestaw Genomic Midi AX (A&A Biotechnology). Do analizy mutacji D816V genu *KIT*, zastosowano primery wzorowane na primerach zastosowanych przez badaczy Kristensen et al. [128].

W mieszaninie specyficznej do mutacji zastosowano primery: primer przedni (*forward primer*) 5'-AGAGACTTGGCAGCCAGAAA-3', sonda TaqMan (*TaqMan probe*) 5'-6-FAM-TCCTCCTTACTCATGGTCGGATCACA-TAMRA-3' oraz odwrotny primer (*reverse primer*) 5'TTAACCACATAATTAGAATCATTCTTGATCA-3'.

W mieszaninie kontrolnej zastosowano primery: primer przedni (*forward primer*) 5'-AGAGACTTGGCAGCCAGAAA-3', sonda TaqMan (*TaqMan probe*) 5'-6-FAM-TCCTCCTTACTCATGGTCGGATCACA-TAMRA-3' oraz odwrotny primer (*reverse primer*) 5'-TGCAGGACTGTCAAGCAGAG-3'. Mutacje genu *KIT* inne niż D816V nie były wykrywane przez zastosowaną metodę. Do wykonania Real-Time qPCR użyto aparatu Lightcycler 480 (ROCHE Life Science). Zastosowano TaqMan Uniwersal PCR Master Mix z AmpErase UNG, stosując primery oraz odwrotne primery o długości 300nm oraz sondę TaqMan o długości 200nm wraz z 5µl roztworu DNA rozpuszczone do 25µl całkowitej objętości roztworu. Fazę wstępną reakcji PCR rozpoczynała inkubacja w 50°C przez 2 minuty oraz aktywacja polimerazy DNA w 95°C przez 10 minut celem asocjacji polimerazy DNA do miejsc asocjacji starterów z matrycą. Następnym etapem były cykliczne reakcje syntezy DNA składające się z etapu denaturacji w 95°C przez 15 sekund oraz przyłączania i wydłużania w 60°C przez 1 minutę.

3.9. ANALIZA STATYSTYCZNA

Analizę statystyczną wyników uzyskanych w badaniu przeprowadzono za pomocą programu Statistica Desktop wersja 13 (StatSoft Polska). Zmienne ilościowe przedstawiono z zastosowaniem mediany, wartości minimalnej oraz maksymalnej (zakres), analizowane zmienne jakościowe scharakteryzowano za pomocą licznosci i wartości procentowych. Istotność różnic zmiennych ilościowych pomiędzy grupami sprawdzono testem U Manna-Whitneya oraz ANOVY Friedmana. Zmienne jakościowe porównano za pomocą testu Chi-kwadrat oraz dokładnego testu Fishera. Celem sprawdzenia powiązania, siły i kierunku korelacji między zmiennymi zastosowano test korelacji Spearmana (*Spearman Rank Order Correlations*). Poziom istotności statystycznej przyjęty we wszystkich obliczeniach zawartych w pracy wynosi $p=0,05$.

4. WYNIKI

4.1. CHARAKTERYSTYKA GRUP BADANYCH

4.1.1. CHARAKTERYSTYKA GRUPY I

Grupę badaną I stanowiło 55 dzieci chorujących na mastocytozę, które były diagnozowane, leczone i monitorowane w Poradni Dermatologicznej UCK przez okres ≥ 10 lat (Tabela XI). Do badania włączono 24 dziewczynki i 31 chłopców w wieku od 1 do 12 lat.

W grupie badanej I rozpoznano postać plamisto-grudkową mastocytozy skóry (*maculo-papular cutaneous mastocytosis*, MPCM) u 47 (85,5%) dzieci oraz uogólnioną mastocytozę skóry (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM) u 8 (14,5%) dzieci. Dzieci z rozpoznaniem mastocytoma nie były włączone do grupy badanej, gdyż ze względu na łagodny przebieg choroby nie wymagały 10-letniego okresu monitorowania.

W grupie badanej I u 48 (87,3%) dzieci początek choroby wystąpił w okresie 1 roku życia, w tym u 4 (7,3%) dzieci pierwsze zmiany skórne stwierdzono już przy urodzeniu, natomiast u 44 (80%) pierwsze zmiany skórne stwierdzono w pierwszych 12 miesiącach życia. U 7 (12,7%) dzieci pierwsze zmiany skórne pojawiły się powyżej 1 roku życia. Pierwsza wizyta w Poradni Dermatologicznej UCK u 47 (85,5%) dzieci odbyła się do ukończenia 3 roku życia. U 8 (14,5%) dzieci pierwsza wizyta w innej poradni dermatologicznej lub pediatrycznej odbyła się w ciągu pierwszych 3 lat życia, natomiast wizyta w Poradni Dermatologicznej UCK odbyła się w wieku 4-7 roku życia.

TABELA XI. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA GRUPY I

Cechy demograficzne	
Grupa badana	55 (100%)
Płeć	
Dziewczynki	24 (43,6%)
Chłopcy	31 (56,4%)
Stosunek płci męskiej/żeńskej	1,3
Początek choroby	
Od urodzenia	4 (7,3%)
≤ 1 rok życia	44 (80,0%)
> 1 rok życia	7 (12,7%)
Okres monitorowania (w latach)	
Mediana	10
Min-max	10-12
Wiek na ostatniej wizycie kontrolnej (w latach)	
Mediana	11
Min-max	10-23
10-13 rok życia	42 (76,4%)
≥ 13 rok życia	13 (23,6%)
Cechy kliniczne	
DCM	8 (14,5%)
MPCM	47 (85,5%)
MPCM – wariant polimorficzny	29 (61,7%)
MPCM – wariant monomorficzny	18 (38,3%)

4.1.2. CHARAKTERYSTYKA GRUPY II

Grupę badaną II stanowiło 32 dzieci chorujących na mastocytozę, u których wykonano badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej (Tabela XII). Do grupy tej włączono dzieci ze zmianami skórnymi obejmującymi ponad 50% powierzchni skóry. W grupie tej znalazło się 14 dziewczynek i 18 chłopców, u których badanie genetyczne przeprowadzono w wieku od 1 roku życia do 14 roku życia. Okres monitorowania u tych dzieci wynosił od 2 do 11 lat.

W grupie badanej II rozpoznano postać plamisto-grudkową mastocytozy skóry (*maculopapular cutaneous mastocytosis*, MPCM) u 16 (50%) dzieci oraz uogólnioną skórną mastocytozę (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM) u 16 (50%) dzieci.

TABELA XII. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA GRUPY II

Cechy demograficzne	Cała grupa N=32	MPCM N= 16	DCM N=16
Płeć			
Dziewczynki	14	8	6
Chłopcy	18	8	10
Stosunek płci męskiej/żeńskej	1,3		
Początek choroby			
Mediana	2 m	2 m	2 m
Zakres	ur-12 lat	ur-12 lat	ur-1 rok
Wiek na pierwszej wizycie (lata)			
Mediana	2	2	1
Zakres	1-14	1-14	1-12
Wiek na ostatniej wizycie (lata)			
Mediana	10	10	10
Zakres	7-23	7-23	8-15
Okres obserwacji (lata)			
Mediana	7	4	9
Zakres	2-11	2-10	2-11

m – miesiąc, ur – od urodzenia

4.2. ANALIZA EWOLUCJI ZMIAN SKÓRNYCH I OBJAWÓW ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW MASTOCYTÓW U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ SKÓRY PODCZAS 10-LETNIEGO OKRESU MONITOROWANIA

4.2.1. EWOLUCJA ZMIAN SKÓRNYCH: ROZLEGŁOŚCI, PIGMENTACJI ORAZ WYNIOSŁOŚCI

ROZLEGŁOŚĆ ZMIAN SKÓRNYCH

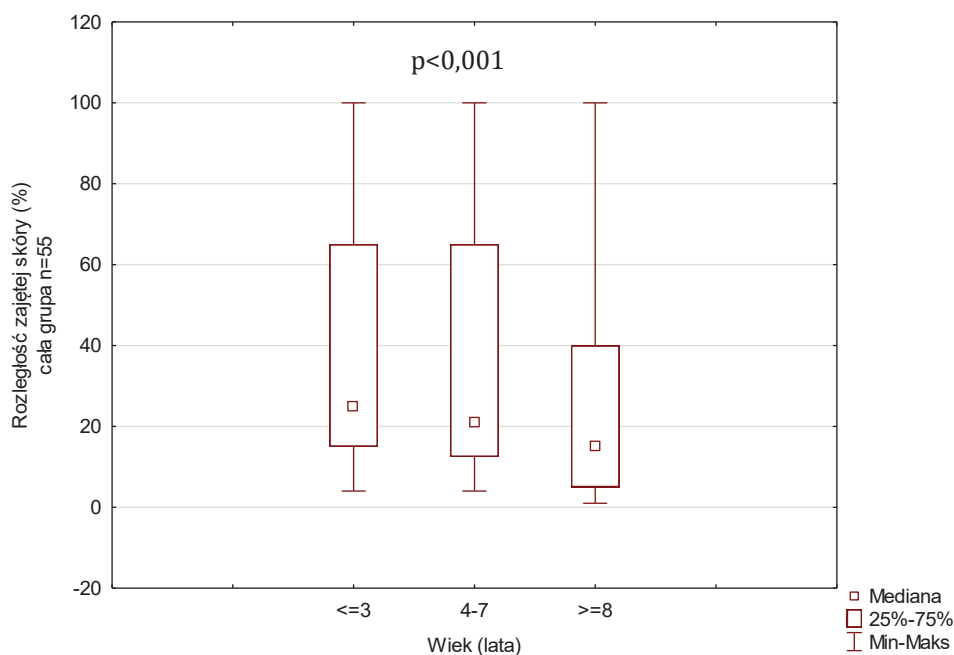
Rozległość zmian skórných, określonych jako odsetek powierzchni zajętej skóry, oceniano na każdej wizycie kontrolnej, jak to opisano szczegółowo w rozdziale *Materiał i metody*.

TABELA XIII. ROZLEGŁOŚĆ ZMIAN SKÓRNYCH U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU I POSTACI KLINICZNEJ MASTOCYTOZY

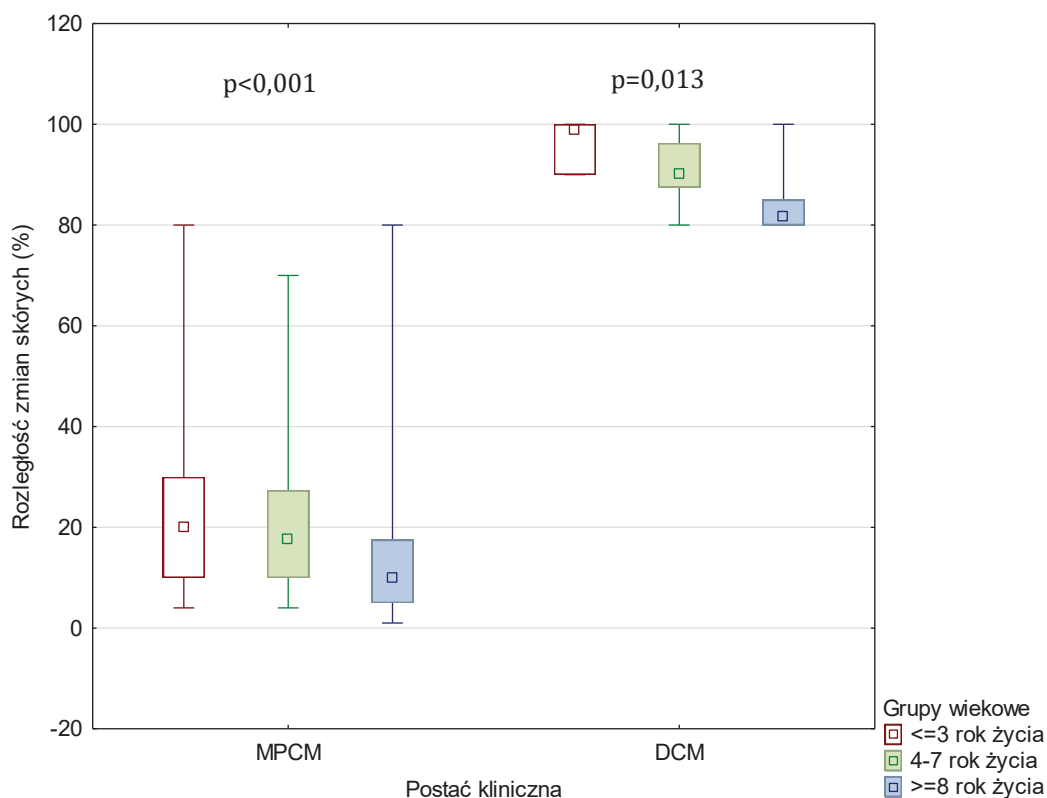
Przedziały wiekowe	Rozległość zmian skórnych (% powierzchni skóry)			Współczynnik p
	≤3	4-7	≥8	
Cała grupa	25%	21%	15%	p<0,001
MPCM	20%	18%	10%	p<0,001
DCM	99%	90%	82%	p=0,013

W całej grupie badanej, największa rozległość zmian skórnych stwierdzana była u dzieci w wieku ≤ 3 roku życia (mediana 25% powierzchni ciała). U dzieci w wieku od 4 do 7 roku życia, mediana rozległości zmian skórnych wynosiła 21%, natomiast u dzieci ≥ 8 roku życia wynosiła 15% powierzchni ciała (Tabela XIII, Rycina 10).

Analizując ewolucję rozległości zmian skórnych w czasie 10-letniej obserwacji, stwierdzono istotną statystycznie remisję powierzchni zajętej skóry zarówno w całej grupie (p <0,001) (Rycina 10) jak i u dzieci z MPCM (p <0,001) oraz DCM (p = 0,013, test Kruskala-Wallisa) (Rycina 11).



RYCINA 10. ROZLEGŁOŚĆ ZMIAN SKÓRNYCH U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU



RYCINA 11. ROZLEGŁOŚĆ ZMIAN SKÓRNYCH U DZIECI Z MPCM I DCM W CZASIE 10-LETNIEGO MONITOROWANIA

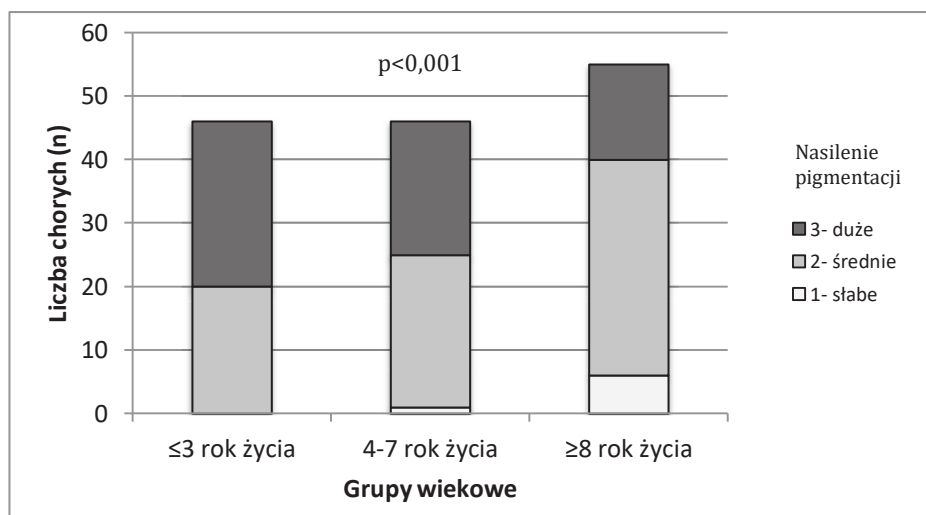
PIGMENTACJA ZMIAN SKÓRNYCH

Nasilenie pigmentacji zmian skórnych oceniono w skali od 0-3, jak to opisano szczegółowo w rozdziale *Material i metody*. Porównano pigmentację zmian skórnych w 3 grupach wiekowych oraz u dzieci z MPCM i DCM (Tabela XIV). U 9 dzieci nasilenie pigmentacji zmian skórnych nie było możliwe do oceny w wieku ≤ 3 roku życia i w wieku 4-7 roku życia ze względu na braki szczegółowych danych w dokumentacji medycznej. W związku z tym pigmentację zmian skórnych, oceniono u 46 dzieci (38 z MPCM i 8 dzieci z DCM) w 2 grupach wiekowych ≤ 3 rok życia i 4-7 rok życia. U dzieci ≥ 8 roku życia pigmentację zmian skórnych oceniono u wszystkich badanych dzieci (47 z MPCM i 8 z DCM).

TABELA XIV. NASILENIE PIGMENTACJI ZMIAN SKÓRNYCH W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU I POSTACI KLINICZNEJ MASTOCYTOZY

Zmiany skórne	Nasilenie zmian	Przedziały wiekowe (lata)					
		≤ 3		4-7		≥ 8	
		MPCM N=38	DCM N=8	MPCM N=38	DCM N=8	MPCM N=47	DCM N=8
Pigmentacja	1	0	0	1	0	5	1
	2	16	4	20	4	30	4
	3	22	4	17	4	12	3
P (MPCM vs DCM)		0,744		0,787		0,746	

U dzieci w wieku ≤ 3 roku życia dominowało duże nasilenie pigmentacji (ocenione na 3), stwierdzone u 26 (56,5%) dzieci. U dzieci w grupach wiekowych 4-7 roku życia oraz ≥ 8 roku życia przeważało umiarkowane nasilenie pigmentacji (ocenione na 2), które występowało odpowiednio u 24 (52,2%) oraz u 34 (61,8%) badanych dzieci. U dzieci w wieku 4-7 roku życia łagodne nasilenie pigmentacji (ocenione na 1) stwierdzono u 1 (2,2%) dziecka, natomiast w wieku ≥ 8 roku życia u 6 (10,9%) dzieci (Tabela XIV, Rycina 12).



RYCINA 12. NASILENIE PIGMENTACJI ZMIAN SKÓRNYCH W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ SKÓRY

Porównując nasilenie pigmentacji w zależności do postaci klinicznej CM, stwierdzono iż pigmentacja zmian skórnych była najintensywniejsza (stopień 3) u dzieci w wieku ≤ 3 lat w grupie MPCM, natomiast w grupie DCM największa intensywność pigmentacji zmian skórnych utrzymywała się u połowy dzieci do 7 roku życia (Tabela XIV). Jednak różnice pomiędzy nasileniem pigmentacji zmian skórnych pomiędzy MPCM i DCM nie były istotne statystycznie w żadnej grupie wiekowej (odpowiednio $p = 0,744$; $p = 0,787$; $p = 0,746$, Test U Manna-Whitneya) (Tabela XIV).

Analizując ewolucję pigmentacji zmian skórnych w czasie 10-letniej obserwacji stwierdzono istotne statystycznie zmniejszenie nasilenia pigmentacji w całej grupie badanej ($p < 0,001$, test chi-kwadrat, Pearson) (Rycina 12). Porównując ewolucję pigmentacji zmian skórnych w czasie 10 letniej obserwacji w zależności od postaci klinicznej, stwierdzono istotne zmniejszenie nasilenia pigmentacji zmian skórnych u dzieci z MPCM ($p < 0,001$, test chi-kwadrat, Pearson), natomiast w grupie dzieci z DCM pigmentacja zmian skórnych nie zmniejszała się w sposób istotny ($p = 0,368$, test chi kwadrat- Pearson).

WYNIOSŁOŚĆ ZMIAN SKÓRNYCH

Nasilenie wyniosłości zmian skórnych oceniono w skali od 0-3, jak to opisano szczegółowo w rozdziale *Material i metody*. Porównano wyniosłość zmian skórnych w zależności od wieku chorych oraz postaci klinicznej CM (Tabela XV). U 9 dzieci nasilenie wyniosłości zmian skórnych nie były możliwe do oceny w wieku ≤ 3 lat i 4 - 7 roku życia ze względu na braki szczegółowych danych. W związku z tym nasilenie wyniosłości zmian skórnych, zostało ocenione u 46 dzieci (38 z MPCM i 8 dzieci z DCM) w grupach wiekowych

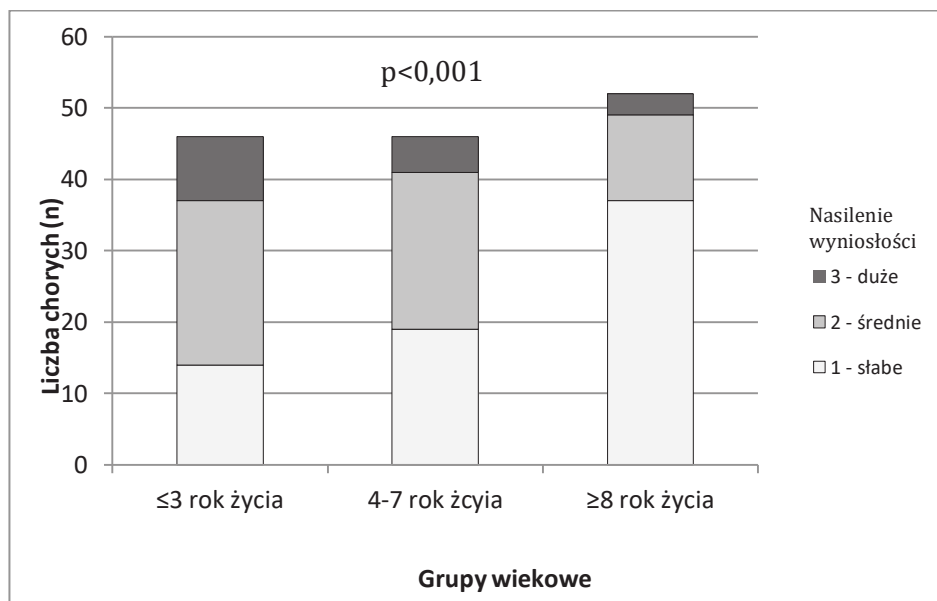
≤3 roku życia oraz 4-7 rok życia. U dzieci w wieku ≥ 8 roku życia, wyniosłość zmian skórnych oceniono u wszystkich (n = 55) badanych dzieci (47 z MPCM i 8 dzieci z DCM).

TABELA XV. NASILENIE WYNIOSŁOŚCI ZMIAN SKÓRNYCH W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU I POSTACI KLINICZNEJ MASTOCYTOZY

Zmiany skórne	Nasilenie zmian	Przedziały wiekowe (lata)					
		≤3		4-7		≥8	
		MPCM N=38	DCM N=8	MPCM N=38	DCM N=8	MPCM N=47	DCM N=8
Wyniosłość zmiany	1	14	0	18	1	37	3
	2	17	6	17	5	8	4
	3	7	2	3	2	2	1
P (MPCM vs DCM)		0,138		0,069		0,088	

W ocenie palpacyjnej zmian skórnych, największe nasilenie wyniosłości (oceniane na 3) stwierdzono u 9 (19,6%) dzieci w wieku ≤ 3 roku życia, u 5 (10,8%) dzieci w wieku 4 -7 roku życia, natomiast u dzieci powyżej 8 roku życia nasilenie wyniosłości w stopniu 3 dotyczyło 3 (5,5%) badanych dzieci. Umiarkowane nasilenie (w skali 0-3 ocenione na 2) wyniosłości zmian skórnych, stwierdzono u 23 (50%) dzieci w wieku ≤ 3 roku życia oraz u 22 (47,8%) dzieci w grupie wiekowej 4 -7 roku życia (Tabela XV, Rycina 13). W grupie wiekowej powyżej 8 roku życia, u 40 (72,7%) dzieci nasilenie wyniosłości zmian skórnych było niewielkie (w skali 0-3 ocenione na 1) (Tabela XV, Rycina 13). Porównując nasilenie wyniosłości w zależności do postaci klinicznej CM, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami MPCM i DCM w żadnej grupie wiekowej (odpowiednio p = 0,138; p = 0,069; p = 0,088; Test U Manna-Whitneya) (Tabela XV).

Analizując ewolucję wyniosłości zmian skórnych w czasie 10 - letniej obserwacji stwierdzono iż, wyniosłość zmian skórnych istotnie zmniejszała się w całej grupie (p < 0,001) (Rycina 13). Porównując tendencję do zmniejszania wyniosłości zmian skórnych w czasie obserwacji, w zależności do postaci klinicznej, stwierdzono istotnie statystycznie zmniejszenie się wyniosłości u dzieci z MPCM (p < 0,001) oraz z DCM (p = 0,039; test chi-kwadrat-Pearson).



RYCINA 13. NASILENIE WYNIOSŁOŚCI ZMIAN SKÓRNYCH W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ SKÓRY

4.2.2. EWOLUCJA SKÓRNYCH OBJAWÓW: ŚWIAĐU, OBJAWU *FLUSHING*, ZMIAN PĘCHERZOWYCH

Nasilenie objawów skórnych zależnych od mediatorów uwalnianych przez mastocyty oceniono w skali Valenta od 0 - 4, jak to szczegółowo opisano w rozdziale *Material i metody*.

ŚWIAĐ SKÓRY

Najczęstszym objawem skórny zależnym od mediatorów uwalnianych przez mastocyty był świąd skóry. Objaw ten występował u 26 (47,3%) dzieci w wieku ≤3 roku życia, u 30 (54,5%) dzieci w wieku 4-7 roku życia oraz u 21 (38,2%) dzieci ≥ 8 roku życia w całej grupie badanej. Dane dotyczące częstości świądu skóry w całej grupie oraz z uwzględnieniem postaci klinicznych CM przedstawiono w tabeli XVI.

TABELA XVI. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ŚWIAĐU SKÓRY U DZIECI Z UWZGLĘDNIENIEM POSTACI KLINICZNEJ CM

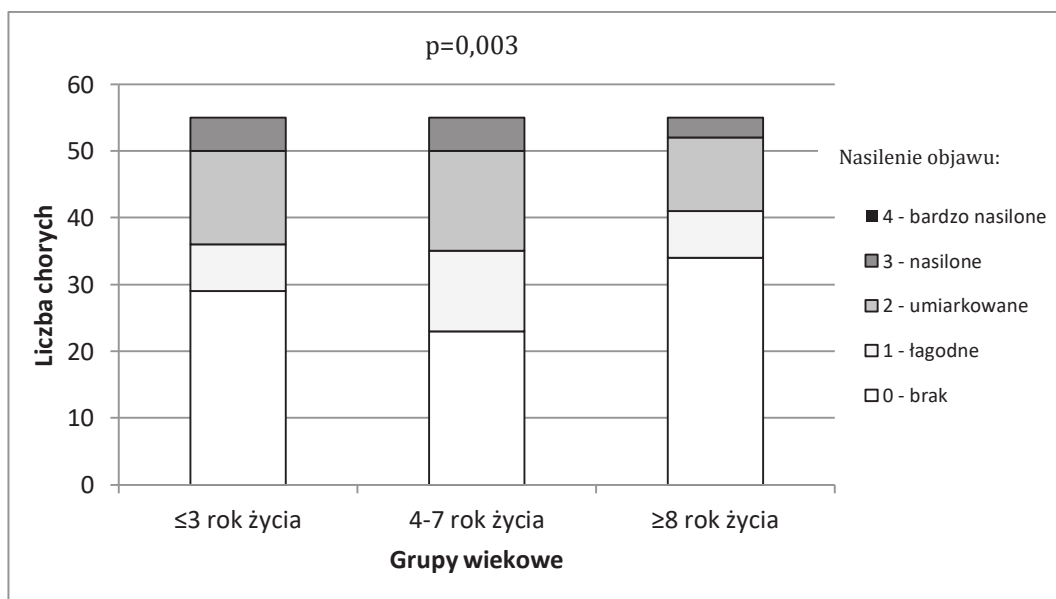
Objaw skórny	Wiek (w latach)	Cała grupa N=55	MPCM N=47	DCM N=8	P MPCM vs DCM
Świąd skóry	≤3	26 (47,4%)	18 (38,3%)	8 (100%)	0,001
	4-7	30 (54,5%)	24 (51,1%)	6 (75,0%)	0,209
	≥8	21 (38,2%)	16 (34,0%)	5 (62,5%)	0,126

Porównując częstość świądu skóry w odniesieniu do postaci klinicznych CM stwierdzono że, u dzieci w wieku ≤3 roku życia, świąd skóry istotnie częściej występował u dzieci z DCM niż u dzieci z MPCM ($p = 0,001$, test Fishera). U dzieci z DCM w wieku ≤3 roku życia, świąd skóry stwierdzany był u wszystkich dzieci ($n = 8$), natomiast w tej grupie wiekowej u dzieci z MPCM świąd skóry odczuwało 18 (38,3%) dzieci. W grupach wiekowych 4-7 rok życia oraz ≥8 rok życia nie stwierdzono statystycznie istotnych

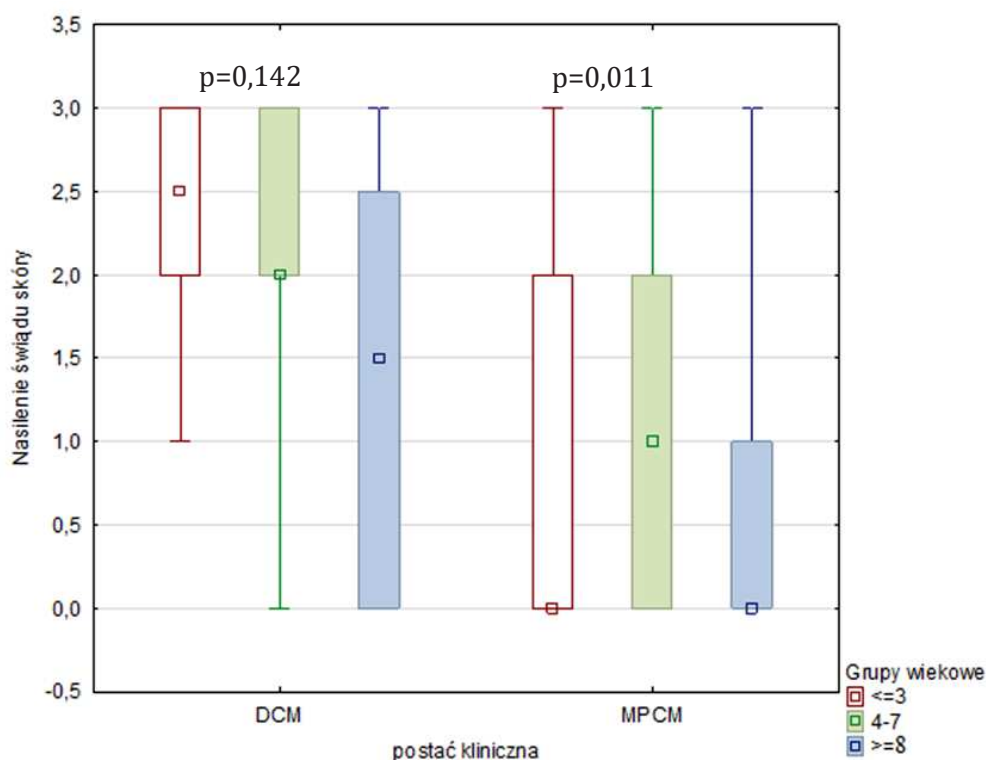
różnic pomiędzy dziećmi z DCM i MPCM w odniesieniu do częstości objawu świądu skóry (Tabela XVI). U dzieci z MPCM, świąd skóry najczęściej stwierdzano w grupie wiekowej od 4 do 7 lat (n = 24, 51,1%), natomiast u dzieci z DCM, najczęściej świąd skóry występował w najmłodszej grupie wiekowej (n = 8, 100%) (Tabela XVI).

Analizując nasilenie świądu skóry w grupie 26 (47,3%) dzieci w wieku ≤ 3 roku życia, u których stwierdzano świąd skóry, stwierdzono iż nasilenie tego objawu było umiarkowane (stopień 2, n = 14), łagodne (stopień 1, n = 7) oraz nasilone (stopień 3, n = 5) dzieci (Rycina 14). U dzieci w wieku 4-7 roku życia świąd skóry był stwierdzany u 32 (58,2%) dzieci, nasilenie tego objawu było umiarkowane (stopień 2, n = 15), łagodne (stopień 1, n = 12) oraz nasilone (stopień 3, n = 5). U dzieci w wieku ≥ 8 roku życia świąd skóry był odczuwany przez 21 (38,2%) dzieci, nasilenie objawy było: umiarkowane (stopień 2, n = 11), łagodne (stopień 1, n = 7) oraz nasilone (stopień 3, n = 3) dzieci. U żadnego dziecka nasilenie świądu skóry nie było bardzo nasilone (stopień 4) przez cały okres obserwacji. Porównując nasilenie świądu skóry w odniesieniu do postaci klinicznych CM, stwierdzono że u dzieci z DCM nasilenie tego objawu było istotnie wyższe niż u dzieci z MPCM w grupach wiekowych ≤ 3 roku życia ($p < 0,001$) oraz od 4 do 7 roku życia ($p = 0,009$; test U Manna-Whitneya) (Tabela XVI). Od 8 roku życia różnice w nasileniu tego objawu nie były istotne statystycznie ($p = 0,144$; test U Manna-Whitneya).

Analizując ewolucję świądu skóry w czasie 10 letniej obserwacji, stwierdzono, iż nasilenie świądu zmniejszało się wraz z wiekiem dzieci w całej grupie ($p = 0,003$, test chi-kwadrat, Pearson) (Rycina 14).



RYCINA 14. NASILENIE ŚWIAĐU SKÓRY W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ SKÓRY



RYCINA 15. NASILENIE ŚWIAĐU SKÓRY W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU I POSTACI KLINICZNEJ MASTOCYTOZY

Porównując ewolucję nasilenia objawu świądu skóry w okresie 10-letniej obserwacji w odniesieniu do postaci klinicznych CM stwierdzono istotne zmniejszenie nasilenia świądu stwierdzono w grupie MPCM ($p = 0,011$), natomiast w grupie dzieci z DCM nie stwierdzono istotnego zmniejszenia się nasilenia świądu skóry podczas obserwacji ($p = 0,142$, test chi-kwadrat, Pearson) (Rycina 15).

ZMIANY PĘCZERZOWE

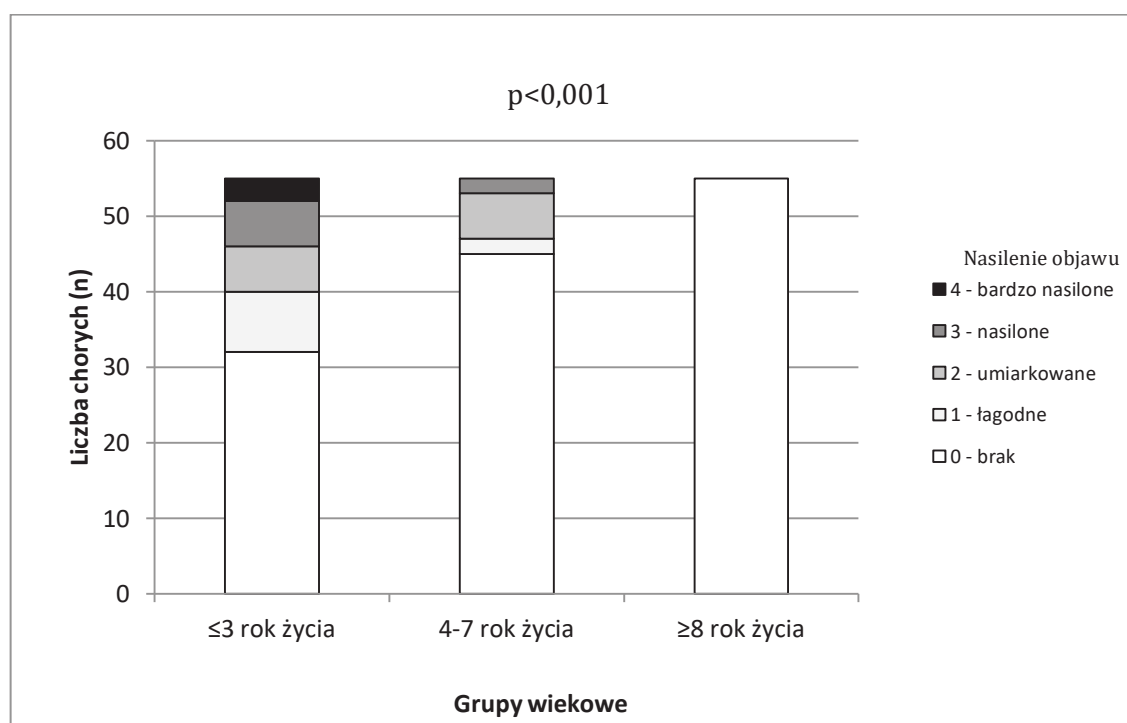
Drugimi pod względem częstości skórnymi objawami zależnymi od mediatorów uwalnianymi przez mastocyty były zmiany pęcherzowe, stwierdzane u 23 (41,8%) dzieci w wieku ≤ 3 roku życia. U 10 (18,2%) dzieci zmiany pęcherzowe pojawiały się sporadycznie do 6 roku życia. U dzieci ≥ 8 roku życia zmiany pęcherzowe nie występowały (Rycina 16). Dane dotyczące częstości zmian pęcherzowych oraz z uwzględnieniem postaci klinicznych CM przedstawiono w tabeli XVII.

TABELA XVII. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ZMIAN PĘCZERZOWYCH U DZIECI Z UWZGLĘDNIENIEM POSTACI KLINICZNEJ CM

Objaw skórny	Wiek (w latach)	Cała grupa N=55	MPCM N=47	DCM N=8	P MPCM vs DCM
Zmiany pęcherzowe	≤ 3	23 (41,8%)	15 (31,9%)	8 (100%)	<0,001
	4-7	10 (18,2%)	5 (10,6%)	5 (62,5%)	<0,001
	≥ 8	0	0	0	-

U dzieci w wieku ≤ 3 roku pęcherze występowały u wszystkich badanych dzieci z DCM (n = 8, 100%), oraz u 15 (31,9%) dzieci z MPCM (Tabela XVII). U dzieci w wieku od 4 do 7 lat zmiany pęcherzowe występowały u 5 (62,5%) dzieci z DCM oraz u 5 (10,6%) dzieci z MPCM. Porównując częstość zmian pęcherzowych z uwzględnieniem postaci klinicznej CM, stwierdzono iż zmiany pęcherzowe występowały istotnie częściej u dzieci z DCM niż MPCM w wieku ≤ 3 roku życia ($p < 0,001$, test Fishera) oraz u dzieci od 4 do 7 roku życia ($p < 0,001$, test Fishera) (Tabela XVII).

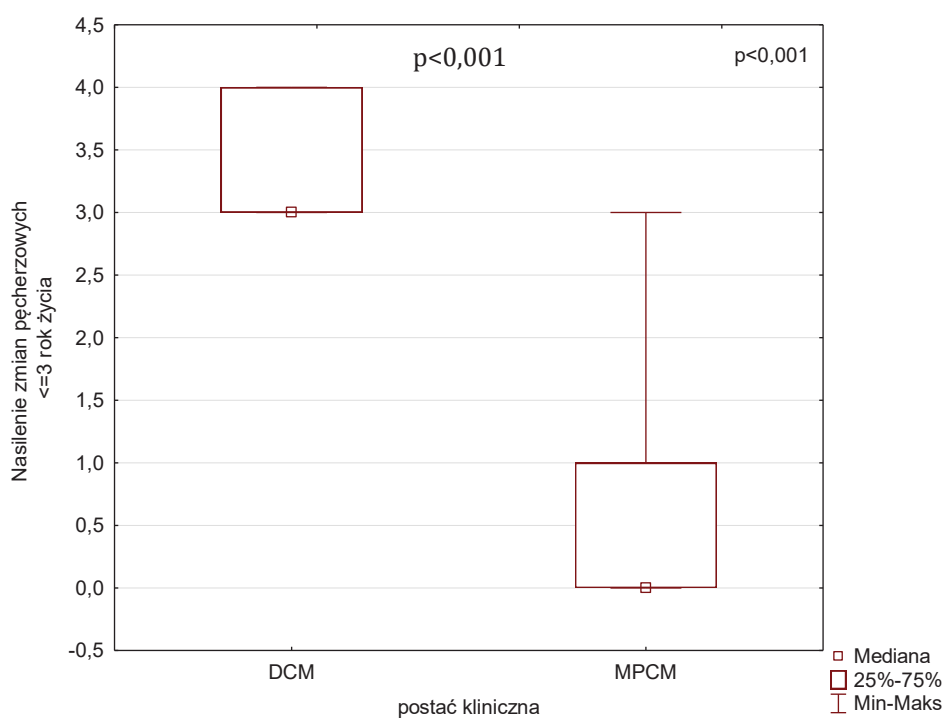
Zmiany pęcherzowe o największym nasileniu (stopień 4) stwierdzono u 3 (5,5%) dzieci w najmłodszej grupie wiekowej. U 2 (3,6%) dzieci w wieku od 4 do 7 roku życia, stwierdzono nasilone (stopień 3) zmiany pęcherzowe, natomiast u pozostałych 8 (14,5%) dzieci nasilenie zmian pęcherzowych było umiarkowane (stopień 2, n = 6) oraz łagodne (stopień 1, n = 2) (Rycina 16). W całej grupie badanej stwierdzono tendencję do zmniejszania się nasilenia zmian pęcherzowych ($p < 0,001$; test chi-kwadrat, Pearson) (Rycina 16).



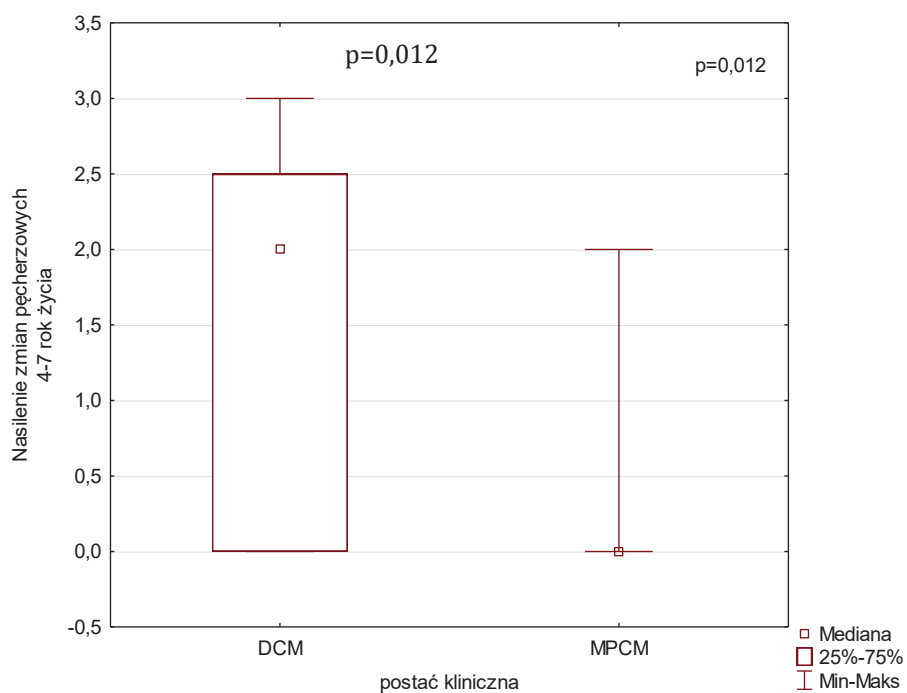
RYCINA 16. NASILENIE ZMIAN PĘCHERZOWYCH U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ SKÓRY W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU

U wszystkich dzieci z DCM w wieku ≤ 3 roku życia stwierdzono nasilone (stopień 3, n = 5) i bardzo nasilone (stopień 4, n = 3) zmiany pęcherzowe (Rycina 9). Troje dzieci z CM z powodu masywnych zmian pęcherzowych wymagało hospitalizacji. W grupie dzieci z MPCM w wieku ≤ 3 roku życia, nasilenie zmian pęcherzowych było przeważnie łagodne (stopień 1, n = 8), umiarkowane (stopień 2, n = 6), tylko u jednego dziecka zmiany pęcherzowe były nasilone (stopień 3, n = 1) (Rycina 16). U dzieci w wieku od 4 do 7 roku życia, nasilenie zmian pęcherzowych w grupie DCM było umiarkowane (stopień 2, n = 3) oraz nasilone (stopień 3, n = 2). W grupie MPCM w tej grupie wiekowej zmiany pęcherzowe były łagodne (stopień 1, n = 3), oraz umiarkowane (stopień 2, n = 2).

Nasilenie zmian pęcherzowych było większe w grupie DCM niż w grupie MPCM dla dzieci ≤ 3 roku życia ($p < 0,001$) oraz w wieku od 4 do 7 roku życia ($p = 0,012$, test U Manna-Whitneya) (Rycina 17 i 18).

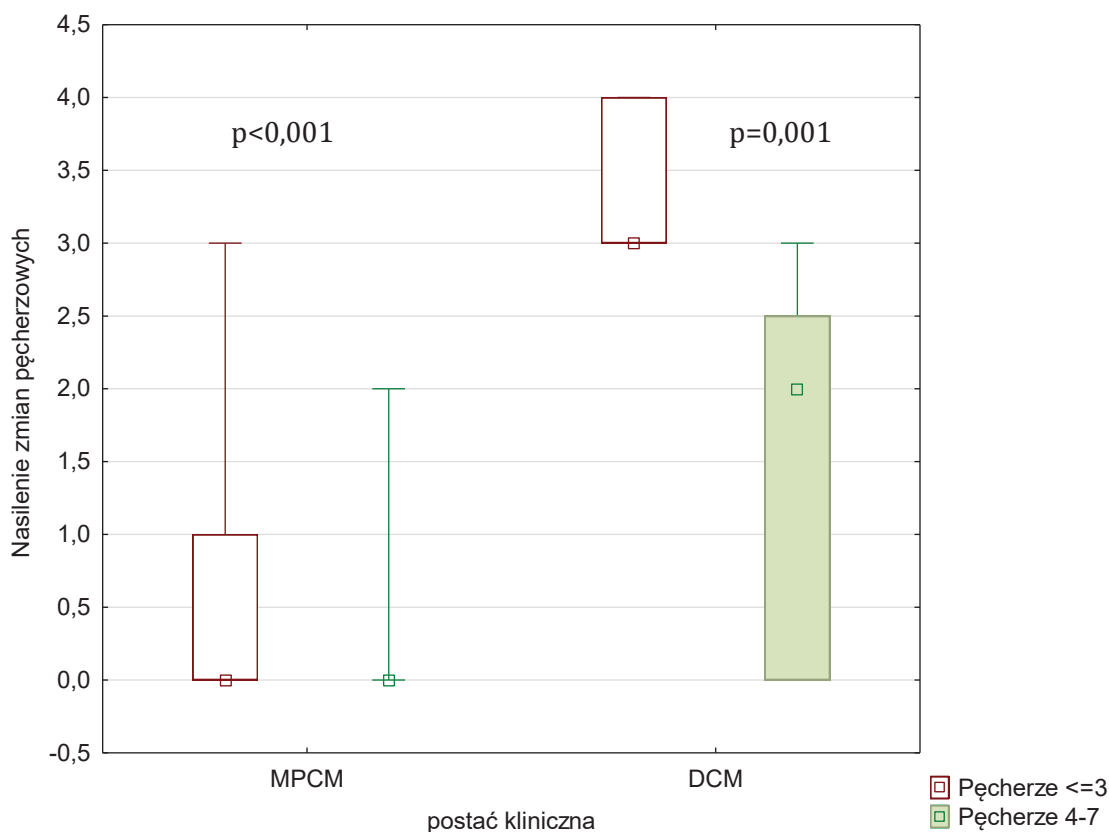


RYCINA 17. NASILENIE ZMIAN PĘCHERZOWYCH W WIEKU ≤ 3 ROKU ŻYCIA W ZALEŻNOŚCI OD POSTACI KLINICZNEJ CM



RYCINA 18. NASILENIE PĘCHERZY W WIEKU OD 4 DO 7 LAT W ZALEŻNOŚCI OD POSTACI KLINICZNEJ CM

Analizując ewolucję nasilenia zmian pęcherzowych w czasie 10-letniej obserwacji, stwierdzono istotne zmniejszenie nasilenia zmian pęcherzowych w całej grupie ($p < 0,001$; test chi-kwadrat, Pearson) (Rycina 16), w grupie DCM ($p = 0,001$) oraz MPCM ($p < 0,001$; test chi-kwadrat, Pearson) (Rycina 19).



RYCINA 19. EWOLUCJA ZMIAN PĘCHERZOWYCH W CZASIE 10-LETNIEJ OBSERWACJI W ZALEŻNOŚCI POSTACI KLINICZNEJ MASTOCYTOZY SKÓRY

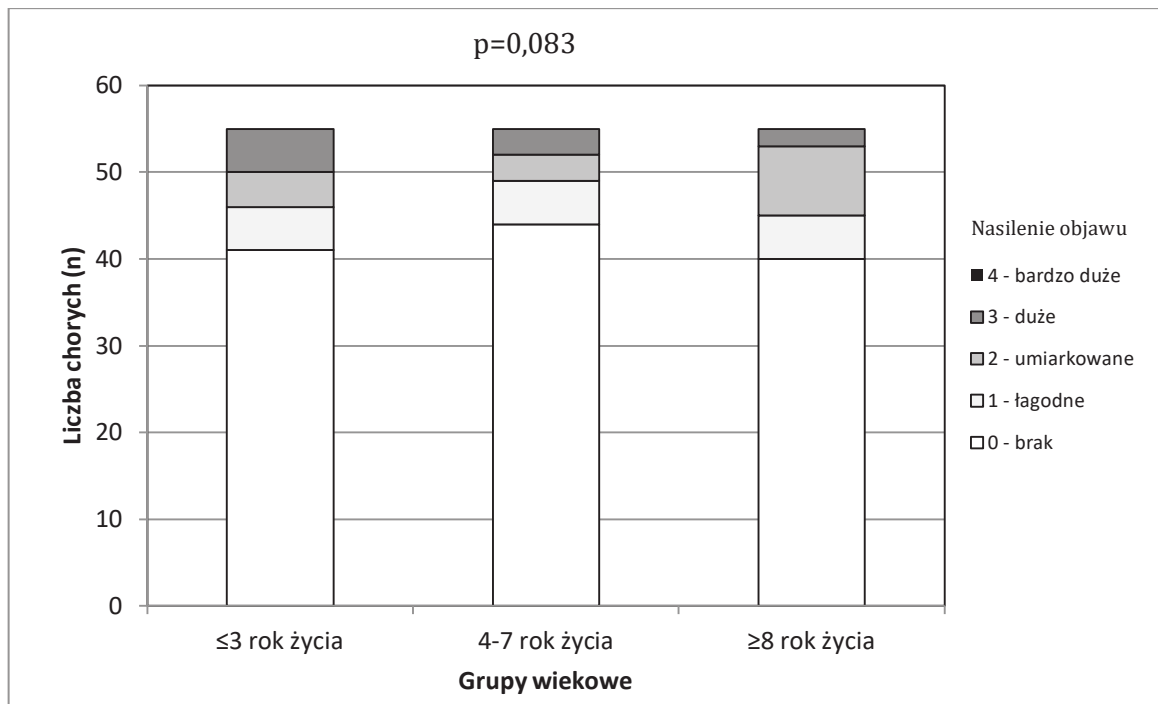
FLUSHING

Najrzadszym skórny objaw zależnym od mediatorów uwalnianych przez mastocyty był *flushing*, stwierdzany u 14 (25,5%) dzieci w wieku ≤ 3 roku życia oraz u 11 (20%) dzieci w wieku od 4 do 7 roku życia. U dzieci w wieku ≥ 8 roku życia *flushing* był stwierdzany u 15 (27,3%) dzieci (Tabela XVIII).

TABELA XVIII. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI OBJAWU *FLUSHING* U DZIECI Z UWZGLĘDNIENIEM POSTACI KLINICZNEJ CM

Objaw skórny	Wiek (w latach)	Cała grupa N=55	MPCM N=47	DCM N=8	P MPCM vs DCM
<i>Flushing</i>	≤ 3	14 (25,5%)	6 (12,8%)	8 (100,0%)	<0,001
	4-7	11 (20,0%)	5 (10,6%)	6 (75,0%)	<0,001
	≥ 8	15 (27,3%)	9 (19,1%)	6 (75,0%)	0,001

W grupie DCM objaw ten występował u wszystkich chorych (n = 8) w wieku ≤ 3 lat, natomiast u dzieci w wieku 4-7 lat i u dzieci ≥ 8 roku życia występował u 6 (75%) badanych. U dzieci z MPCM, objaw ten najczęściej stwierdzany w wieku ≥ 8 roku życia, występował u 9 (19,1%) tej grupy dzieci. Porównując częstość objawu *flushing* w zależności od postaci klinicznej CM, występował istotnie częściej u dzieci w z DCM niż u dzieci z MPCM przez cały okres obserwacji, poziom istotności statystycznej wynosił w grupie dzieci w wieku ≤ 3 roku życia ($p < 0,001$), w wieku 4-7 rok życia ($p < 0,001$) oraz w wieku ≥ 8 roku życia ($p = 0,001$; test Fishera) (Tabela XVIII). Jak wynika z przedstawionych danych nie obserwowano tendencji do ustępowania tego objawu wraz z wiekiem dzieci w całej grupie badanej.



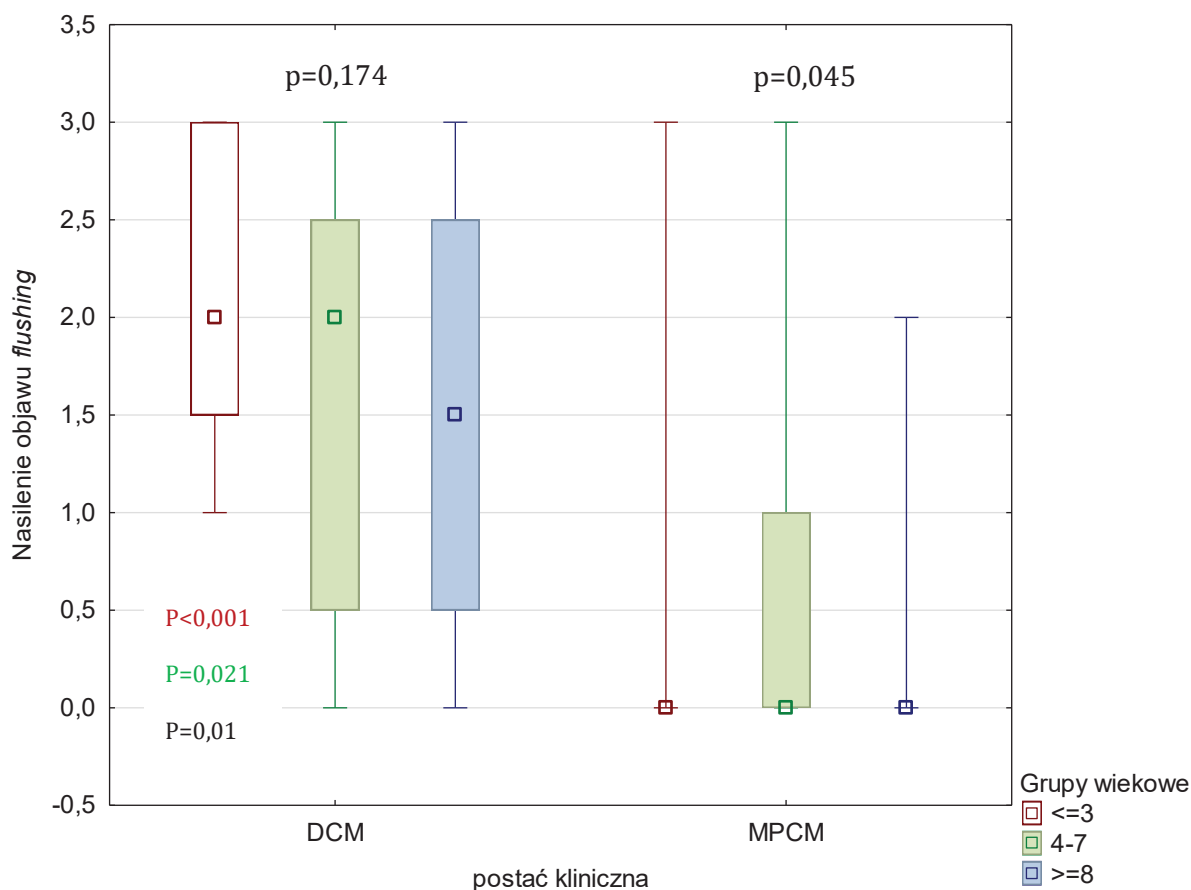
RYCINA 20. NASILENIE OBJAWU *FLUSHING* U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ SKÓRY

W całej grupie badanej, u żadnego dziecka nie obserwowano nasilenia objawu *flushing* w stopniu 4 według skali Valenta. U dzieci wieku ≤ 3 roku życia, objaw *flushing* występował u 14 dzieci, nasilenie objawu w tej grupie wiekowej było łagodne (stopień 1, n = 5), duże (stopień 3, n = 5) oraz umiarkowane (stopień 2, n = 4). U dzieci w wieku od 4 do 7 roku życia, objaw *flushing* był obecny u 11 dzieci, jego nasilenie oceniono jako łagodne (stopień 1, n = 5), umiarkowane (stopień 2, n = 3) oraz duże (stopień 3, n = 3) dzieci. U dzieci w wieku ≥ 8 roku życia, objaw *flushing* stwierdzany był u 15 dzieci, jego nasilenie oceniono na umiarkowane (stopień 2, n = 8), łagodne (stopień 1, n = 5) oraz duże (stopień 3) u 2 dzieci.

Wśród 8 dzieci z DCM w wieku ≤ 3 roku życia, duże nasilenie objawu (stopień 3) stwierdzono u 3 dzieci, umiarkowane (stopień 2) u 3 dzieci oraz łagodne (stopień 1) u 2 dzieci. U 6 dzieci z MPCM w wieku ≤ 3 roku życia, stwierdzono objaw *flushing* o nasileniu łagodnym (stopień 1, n = 3), umiarkowanym (stopień 2, n = 1) oraz dużym (stopień 3, n = 2). U dzieci z MPCM w wieku 4-7 roku życia, nasilenie objawu *flushing* było łagodne (stopień 1, n = 4) oraz duże (stopień 3, n = 1). U dzieci z DCM w wieku

4-7 rok życia, nasilenie objawu *flushing* było duże (stopień 3, n = 2), umiarkowane (stopień 2, n = 3) oraz łagodne (stopień 1, n = 1). U dzieci z MPCM w wieku ≥ 8 roku życia nasilenie objawu *flushing* było łagodne (stopień 1, n = 3) i umiarkowane (stopień 2, n = 6), natomiast u dzieci z DCM w tej samej grupie wiekowej nasilenie objawu *flushing* było łagodne (stopień 1, n = 2), umiarkowane (stopień 2, n = 2) oraz duże (stopień 3, n = 2).

Analizując nasilenie objawu *flushing* podczas 10-letniej obserwacji, nie stwierdzono istotnej różnicy w nasileniu tego objawu w całej grupie badanej ($p = 0,083$; test chi-kwadrat) (Rycina 20). Istotną statystycznie różnicę w nasileniu objawu *flushing* podczas obserwacji stwierdzono jedynie w grupie MPCM ($p = 0,045$, test chi-kwadrat). Porównując nasilenie objawu *flushing* u dzieci z MPCM i DCM stwierdzono, iż nasilenie tego objawu u dzieci z DCM było istotnie większe niż w grupie z MPCM w grupach wiekowych ≤ 3 rok życia, 4-7 rok życia oraz ≥ 8 roku życia (odpowiednio $p < 0,001$, $p = 0,02$, $p = 0,01$; Test Kruskala-Wallisa) (Rycina 21).



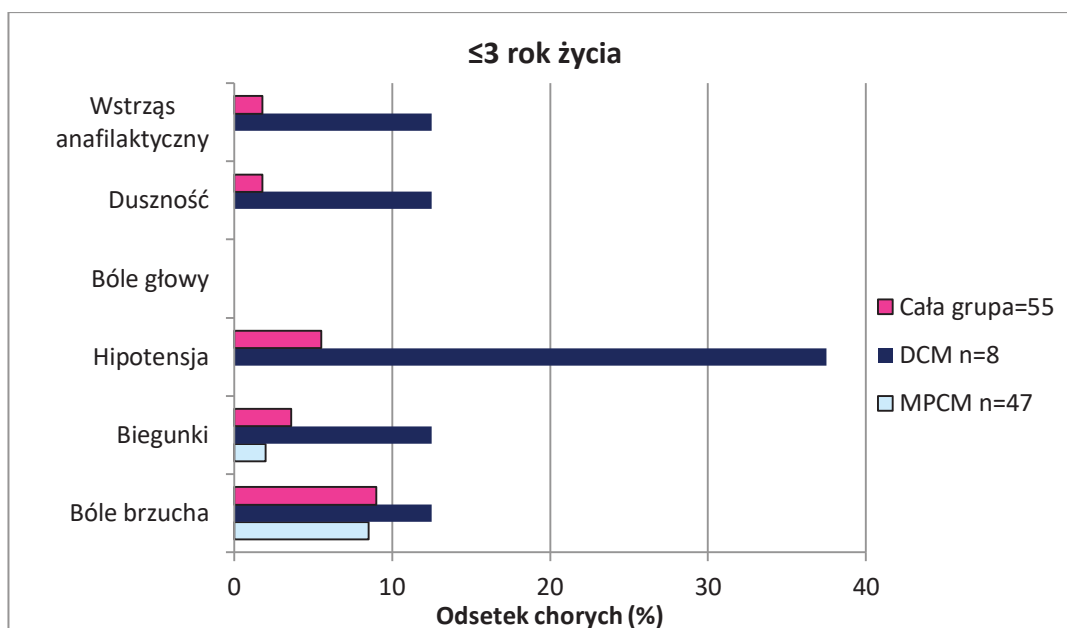
RYCINA 21. NASILENIE OBJAWU *FLUSHING* W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU I POSTACI KLINICZNEJ MASTOCYTOZY

4.2.3. EWOLUCJA NARZĄDOWYCH OBJAWÓW: BÓLÓW BRZUCHA, BIEGUNEK, HIPOTENSJI, DUSZNOŚCI, BÓLÓW GŁOWY ORAZ WYSTĘPOWANIA ANAFILAKSJI

W badanej grupie I, oceniono częstość i nasilenie narządowych objawów zależnych od mediatorów, takich jak: bóle brzucha, biegunki, hipotensję, bóle głowy, duszność oraz wstrząs anafilaktyczny. Nasilenie objawów narządowych oceniono według skali Valenta od 0 do 4, którą przedstawiono szczegółowo w rozdziale *Materiał i Metody*. Najczęściej występowały bóle brzucha, które stwierdzono u 16 (29,1%) dzieci, w tym u 3 dzieci z DCM i u 13 dzieci z MPCM. Rzadziej występującymi objawami narządowych były: biegunki (n = 7; 12,7%), bóle głowy (n = 6; 10,9%), hipotensja (n = 5; 9,1%), duszność (n = 5; 9,1%). Najrzadziej występował wstrząs anafilaktyczny, którego doświadczyło 2 (3,6%) dzieci.

Porównując częstość występowania objawów zależnych od mediatorów w zależności od wieku i postaci klinicznej, stwierdzono iż u dzieci poniżej 3 roku życia, w grupie DCM częściej niż w MPCM występowały: hipotensja (p < 0,001), duszność (p = 0,014) oraz wstrząs anafilaktyczny (p = 0,001; test Fishera). U dzieci w wieku od 4 do 7 roku życia istotnie częściej w grupie DCM występowały objawy: duszność (p = 0,037) oraz wstrząs anafilaktyczny (p = 0,014; test Fishera).

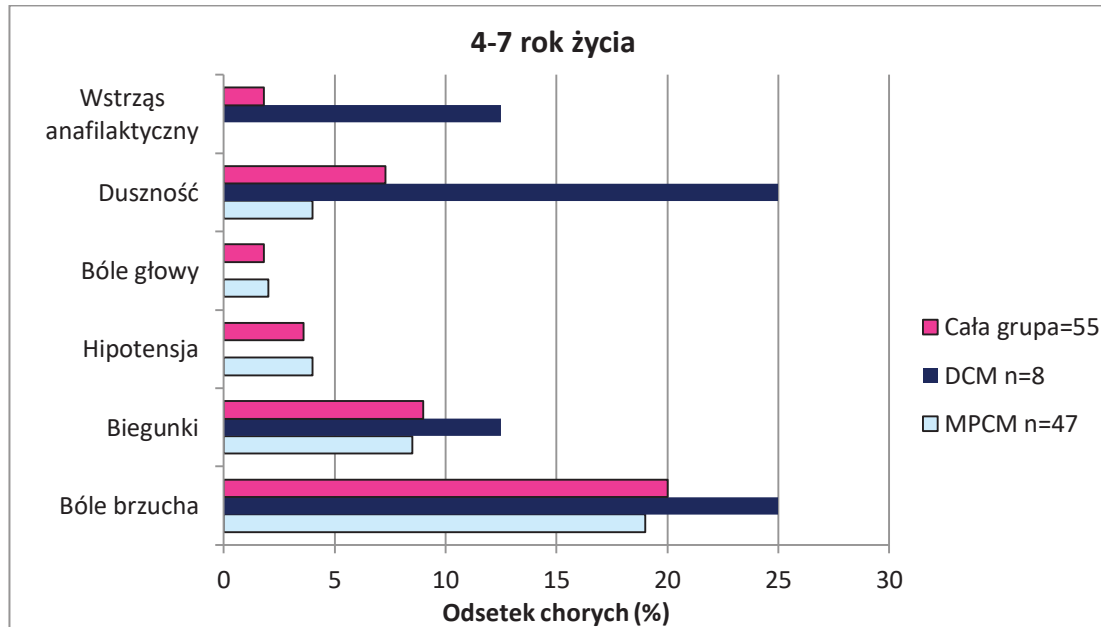
Częstość występowania objawów narządowych zależnych od mediatorów w poszczególnych grupach wiekowych przedstawiono na rycinach 22, 23, 24.



RYCINA 22. CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA OBJAWÓW NARZĄDOWYCH ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW U DZIECI ≤ 3 ROKU ŻYCIA

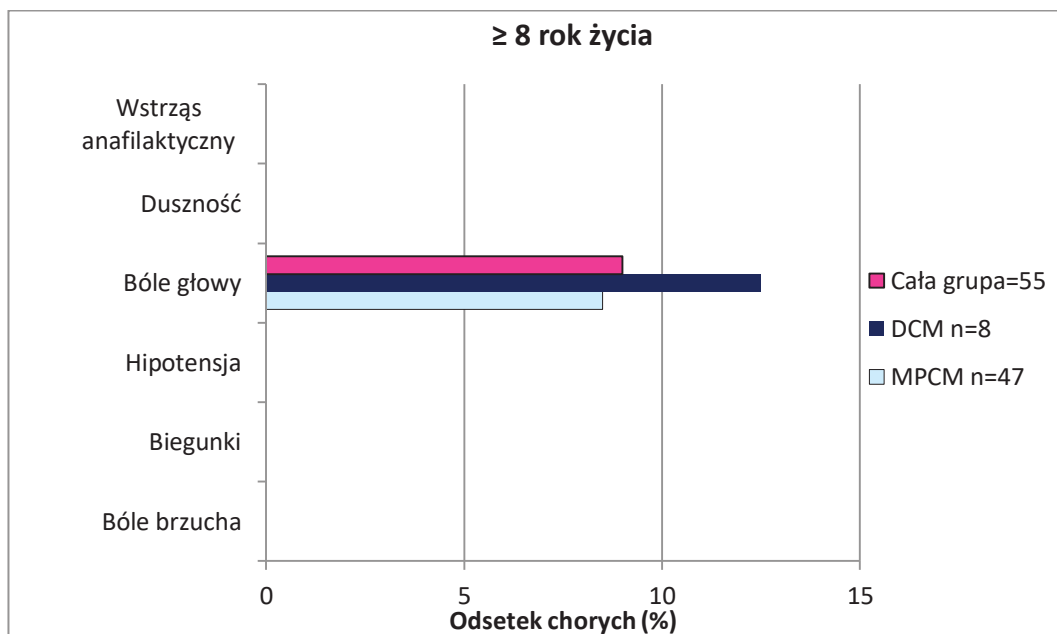
W grupie dzieci ≤ 3 roku życia najczęściej występującymi objawami były bóle brzucha, występujące u 5 (9,1%) badanej grupy dzieci, w tym u 4 (8,5%) dzieci z MPCM i u 1 (12,5%) dziecka z DCM. U 3 (5,5%) dzieci w tej grupie wiekowej występowała hipotensja, objaw ten występował wyłącznie u dzieci z DCM. Biegunki u dzieci ≤ 3 roku

życia występowały u 2 (3,6%) dzieci, w tym u 1 (12,5%) dziecka z DCM oraz 1 (2,1%) z MPCM. W tej grupie wiekowej u jednego dziecka (1,8%) wystąpił wstrząs anafilaktyczny. Najrzadziej występującymi objawami narządowymi w tej grupie wiekowej były wstrząs anafilaktyczny (n = 1, 1,8%) oraz duszność (n = 1, 1,8%), które występowały wyłącznie u dzieci z DCM (Rycina 22).



RYCINA 23. CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA OBJAWÓW NARZĄDOWYCH ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW U DZIECI W WIEKU 4-7 LAT

W grupie dzieci od 4 do 7 roku życia najczęściej występującymi obawami były bóle brzucha, stwierdzone u 11 (20%) dzieci, w tym u 9 (19,1%) dzieci z MPCM i 2 (25%) dzieci z DCM. Drugimi pod względem częstości objawami narządowymi były biegunki występujące u 5 (9,1%) dzieci w całej grupie badanej, w tym u 4 (8,5%) dzieci z MPCM i 1 (12,5%) dziecka z DCM. Duszność w tej grupie wiekowej obserwowana była u 4 (7,3%) dzieci, w tym u 2 (25%) z DCM i 2 (4,3%) z MPCM. Hipotensja występowała u 2 (3,6%) dzieci. Najrzadziej występującymi objawami w tej grupie dzieci były bóle głowy (n = 1, 1,8%) oraz wstrząs anafilaktyczny (n = 1, 1,8%) (Rycina 23).



RYCINA 24. CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA OBJAWÓW NARZĄDOWYCH ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW U DZIECI ≥ 8 ROKU ŻYCIA

U dzieci ≥ 8 roku życia jedynymi narządowymi objawami zależnymi od mediatorów były bóle głowy, stwierdzone u 5 (9,1%) dzieci, w tym u 4 (8,5%) z MPCM i 1 (12,5%) dziecka z DCM. W tej grupie wiekowej dzieci nie pojawiały się inne objawy narządowe zależne od mediatorów (Rycina 24).

BÓLE BRZUCHA

Najczęściej występującymi objawami narządowymi zależnym od mediatorów były bóle brzucha, stwierdzone u 16 (29,1%) dzieci w całej grupie. Najczęściej bóle brzucha zgłaszane były przez dzieci w wieku od 4 do 7 roku życia ($n = 11$; 20%) w tym u 9 dzieci z MPCM i 2 dzieci z DCM. W grupie wiekowej do 3 roku życia, bóle brzucha były stwierdzone u 5 (9,1%) dzieci, w tym u 4 (8,5%) z MPCM i u 1 (12,5%) dziecka z DCM. U dzieci w wieku ≥ 8 roku życia objaw ten nie występował. Porównując częstość objawu pomiędzy DCM i MPCM nie stwierdzono istotnych różnic w grupach wiekowych ≤ 3 roku życia oraz 4 - 7 rok życia (odpowiednio $p = 0,717$, $p = 0,702$; test Fishera).

Nasilenie bólów brzucha w całej grupie wiekowej było łagodne (stopień 1, $n = 11$) i umiarkowane (stopień 2, $n = 5$). Porównując nasilenie bólów brzucha pomiędzy dziećmi z DCM i MPCM w odniesieniu do danej grupy wiekowej, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic dla dzieci w wieku ≤ 3 roku życia, ani w wieku 4 - 7 roku życia (odpowiednio $p = 0,898$, $p = 0,821$, test U Manna-Whitneya).

BIEGUNKI

Biegunki stwierdzano u 7 (12,7%) dzieci w całej grupie badanej całej grupy, w tym u 2 (25%) dzieci z DCM i 5 (10,6%) dzieci z MPCM. Objaw ten najczęściej występował u dzieci w wieku 4-7 roku życia, stwierdzano go u 4 (8,5%) dzieci z MPCM i 1 (12,5%) dziecka z DCM. U dzieci ≤ 3 roku życia objaw ten stwierdzono u 1 (12,5%) dziecka z DCM i 1 (2,1%) z MPCM. U dzieci ≥ 8 roku życia objaw ten nie występował. Porównując dzieci z DCM i MPCM nie stwierdzono statystycznie

istotnych różnic w częstości występowania tego objawu w żadnej grupie wiekowej (odpowiednio $p = 0,147$, $p = 0,716$, test Fishera).

Nasilenie biegunek było u większości dzieci łagodne (stopień 1, $n = 6$), jedynie u 1 dziecka z DCM stwierdzono duże nasilenie objawu (stopień 3, $n = 1$). Porównując dzieci z DCM i MPCM nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w nasileniu biegunek w żadnej grupie wiekowej (odpowiednio $p = 0,659$, $p = 0,943$, testu Manna-Whitneya).

BÓLE GŁOWY

Bóle głowy stwierdzano u 6 (10,9%) dzieci w całej grupie, w tym u 1 (12,5%) dziecka z DCM i u 5 (10,6%) dzieci z MPCM. Bóle głowy były najczęściej stwierdzane w grupie dzieci w wieku ≥ 8 roku życia, w tej grupie były stwierdzone u 4 (8,5%) z MPCM oraz u 1 (12,5%) dziecka z DCM. Nie odnotowano bóli głowy u dzieci w wieku ≤ 3 roku życia, gdyż na podstawie relacji rodziców, nie stwierdzono nieprawidłowego zachowania dzieci, które mogłoby świadczyć o występowaniu tego objawu. W grupie wiekowej 4-7 roku życia u 1 (2,1%) dziecka z MPCM występowały bóle głowy. Porównując częstość objawów pomiędzy grupami DCM i MPCM nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy w grupie wiekowej 4 - 7 rok życia ($p = 0,677$) ani w grupie ≥ 8 roku życia ($p = 0,717$, test Fishera).

Nasilenie objawu było łagodne (stopień 1, $n = 3$) i umiarkowane (stopień 2, $n = 3$). Porównując nasilenie objawu pomiędzy MPCM i DCM nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w grupach wiekowych u dzieci w wieku 4-7 roku życia ($p = 0,921$) oraz 8 - 13 rok życia ($p = 0,928$, test Manna-Whitneya).

HIPOTENSJA

Hipotensję stwierdzano u 5 (9,1%) dzieci w całej grupie, w tym u 3 dzieci z DCM oraz u 2 dzieci z MPCM. W grupie dzieci w wieku ≤ 3 roku życia, hipotensja była stwierdzana u 3 (37,5%) dzieci z DCM. W grupie dzieci w wieku 4 - 7 roku życia, objaw ten był stwierdzony u 2 (4,3%) dzieci z MPCM. Objaw ten, u każdego z tych dzieci, miał charakter epizodyczny. U dzieci w wieku od 1 do 3 roku życia, epizody hipotensji obserwowane były częściej u dzieci z DCM ($p < 0,001$, test Fishera). W grupie wiekowej od 4 do 7 roku życia, epizody hipotensji częściej występowały u dzieci z MPCM jednak nie obserwowano istotności statystycznej ($p = 0,552$, test Fishera). U dzieci powyżej 8 roku życia objaw ten nie występował.

Nasilenie objawu hipotensji było u większości ($n = 3$) dzieci łagodne (stopień 1), u jednego dziecka umiarkowane (stopień 2) oraz u jednego dziecka nasilone (stopień 3). Porównując nasilenie objawu pomiędzy MPCM i DCM nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w grupach wiekowych u dzieci w wieku 1-3 roku życia ($p = 0,102$) oraz 4-7 rok życia ($p = 0,831$, test Manna-Whitneya).

DUSZNOŚĆ

Duszność stwierdzano u 5 (9,1%) dzieci całej grupy, u 3 dzieci z DCM i 2 dzieci z MPCM. U dzieci w wieku ≤ 3 roku życia, napadową duszność stwierdzono u 1 (12,5%) dziecka z DCM. W grupie wiekowej 4-7 rok życia, duszność była stwierdzana u 2 (25%) dzieci z DCM oraz u 2 (4,3%) z MPCM. U dzieci ≥ 8 roku życia objaw ten nie występował. Porównując częstość duszności pomiędzy grupami DCM i MPCM stwierdzono, że statystycznie częściej objaw ten występował u dzieci z DCM

w wieku ≤ 3 roku życia ($p = 0,014$) oraz u dzieci z DCM w wieku od 4 do 7 roku życia ($p = 0,037$, test Fishera).

Nasilenie duszności było łagodne (stopień 1, $n=3$) oraz umiarkowane (stopień 2, $n=2$). Żadne dziecko nie wymagało pilnej interwencji ratunkowej lub hospitalizacji z powodu tego objawu. Porównując nasilenie duszności pomiędzy grupami DCM i MPCM nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w grupach wiekowych ≤ 3 roku życia ($p=0,599$) oraz w wieku 4-7 roku życia ($p=0,383$, testu Manna-Whitneya).

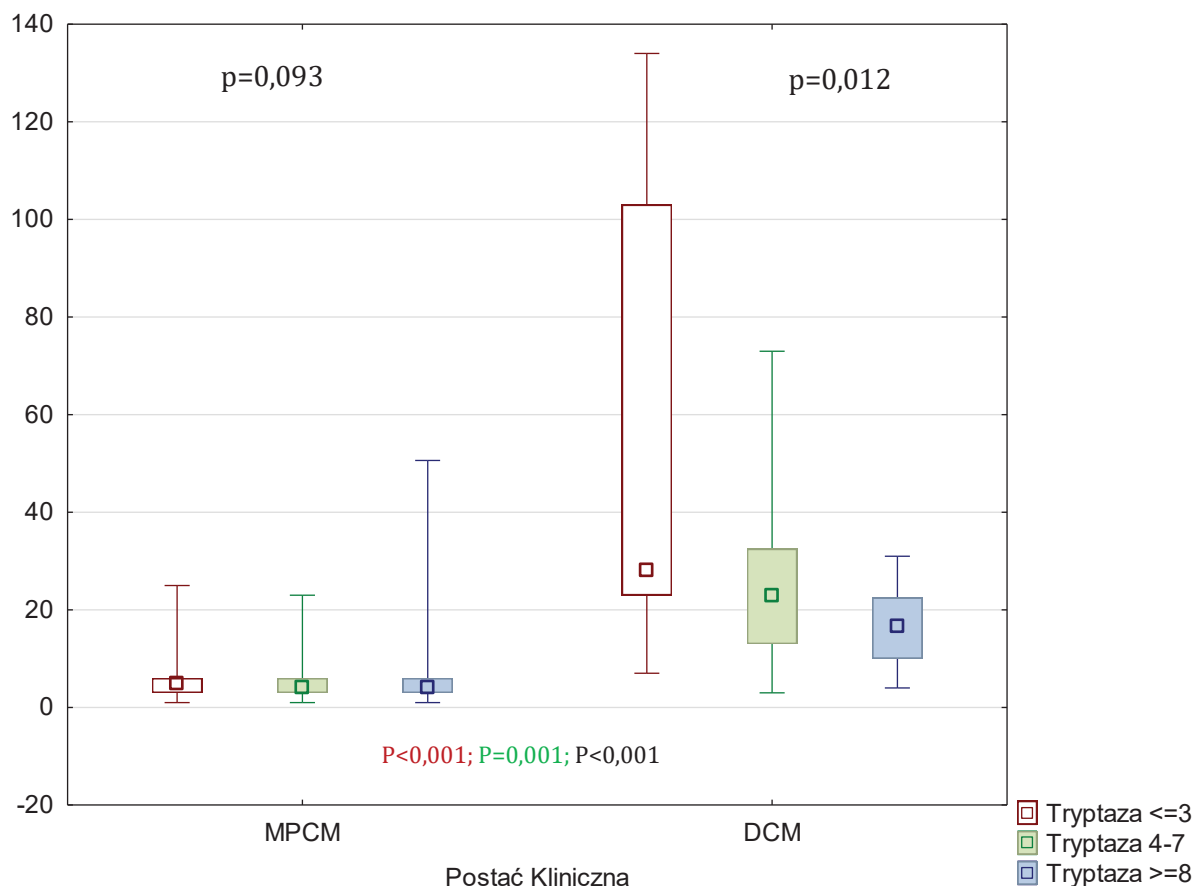
WSTRZĄS ANAFILAKTYCZNY

Najbardziej występującym objawem ogólnoustrojowym zależnym od mediatorów był wstrząs anafilaktyczny, który wystąpił jedynie u 2 (3,6%) dzieci (chłopca i dziewczynki) w całej grupie I badanej. Wstrząs anafilaktyczny występował epizodycznie jedynie u dzieci z DCM. U jednego z tych dzieci, wstrząs anafilaktyczny wystąpił dwukrotnie w 1 i w 4 roku życia. U tego chłopca wstrząs anafilaktyczny wystąpił w 1 roku życia po ekspozycji na amoksycylinę z kwasem klawulanowym oraz po ekspozycji na radiologiczne środki kontrastowe w 4 roku życia. Przez cały okres obserwacji stwierdzano podwyższone stężenie tryptazy w surowicy (wartość średnia 18 ng/ml), przy czym maksymalne stężenie tryptazy odnotowane w 1 roku życia wynosiło 21,3 ng/ml, natomiast najniższe stężenie tryptazy w 15 roku życia wyniosło 12 ng/ml. U dziewczynki wstrząs anafilaktyczny wystąpił w 2 roku życia, po ekspozycji na ketaminę. Przez cały okres obserwacji u tego dziecka utrzymywało się wysokie stężenie tryptazy w surowicy (wartość średnia 52,5 ng/ml), przy czym maksymalne stężenie tryptazy (103 ng/ml) odnotowano w 1 roku życia, natomiast ostatnie stężenie tryptazy w wieku 12 lat wynosiło 31 ng/ml. Nasilenie wstrząsu anafilaktycznego oceniono na 4, gdyż w każdym przypadku wystąpienia wstrząsu anafilaktycznego konieczna była terapia ratunkowa. Ze względu na epizodyczny charakter występowania anafilaksji, odstąpiono od oceny ewolucji tego objawu w czasie.

4.3. ANALIZA STĘŻENIA TRYPTAZY W SUROWICY PODCZAS 10-LETNIEGO OKRESU MONITOROWANIA

Analizie poddano stężenie tryptazy w surowicy w zależności od wieku i postaci klinicznej mastocytozy.

Stężenie tryptazy w surowicy było istotnie wyższe u dzieci z DCM niż u dzieci z MPCM, we wszystkich grupach wiekowych; u dzieci ≤ 3 roku życia ($p < 0,001$), 4 - 7 roku życia ($p = 0,001$) oraz ≥ 8 roku życia ($p < 0,001$, test U Manna-Whitneya) (Rycina 25).



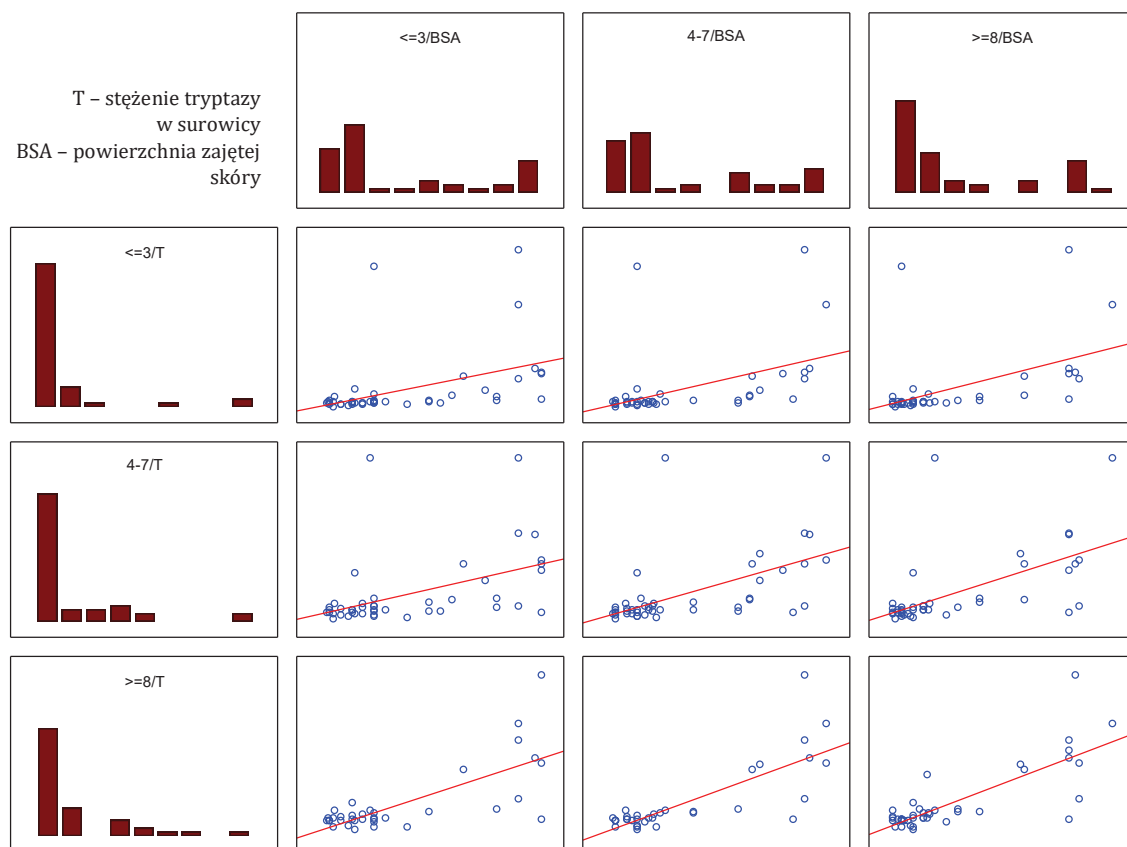
RYCINA 25. STĘŻENIE TRYPTAZY W SUROWICY U DZIECI Z MASTOCYTOZĄ SKÓRY W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU I POSTACI KLINICZNEJ CM

Mediana stężenia tryptazy w surowicy krwi ≤ 3 roku życia wynosiła u dzieci z DCM 28 ng/ml (zakres 7 - 134 ng/ml), natomiast u dzieci z MPCM 5 ng/ml (zakres 1-25 ng/ml). W czasie 10 - letniej obserwacji, stężenie tryptazy wykazywało tendencję do utrzymywania się na podobnym niskim poziomie w grupie MPCM ($p = 0,093$, test ANOVA Friedmana) (Rycina 25, Tabela XIX). W grupie DCM stwierdzono istotny spadek stężenia tryptazy w ciągu 10 letniej obserwacji ($p=0,012$, test ANOVA Friedmana) (Rycina 25, Tabela XIX).

TABELA XIX. STĘŻENIE TRYPTAZY W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU I POSTACI KLINICZNEJ CM

Postać kliniczna	Grupa wiekowa	Mediana (ng/ml)	Min (ng/ml)	Max (ng/ml)
MPCM	≤3	5,0	1,0	25,0
	4-7	4,0	1,0	23,0
	≥8	4,0	1,0	50,6
DCM	≤3	28,0	7,0	134,0
	4-7	23,0	3,0	73,0
	≥8	16,5	4,0	31,0

Analizie poddano korelację pomiędzy stężeniem tryptazy w surowicy a powierzchnią zajętej skóry. Stwierdzono iż rozległość zmian skórnych koreluje ze stężeniem tryptazy w surowicy we wszystkich grupach wiekowych (Spearman Rank Order Correlations) (Tabela XX, Rycina 26). U dzieci z rozległymi zmianami skórnymi stężenie tryptazy było podwyższone.



RYCINA 26. KORELACJA POMIĘDZY POWIERZCHNIĄ ZAJĘTEJ SKÓRY A STĘŻENIEM TRYPTAZY W SUROWICY

TABELA XX. KORELACJA POMIĘDZY POWIERZCHNIĄ ZAJĘTEJ SKÓRY A STĘŻENIEM TRYPTAZY W SUROWICY

Grupy wiekowe (w latach)	Spearman R	p
≤3	0,644	<0,001
4-7	0,675	<0,001
≥8	0,695	<0,001

T – stężenie tryptazy, BSA – powierzchnia zajętej skóry

4.4. ANALIZA STOPNIA REMISJI OBJAWÓW MASTOCYTOZY SKÓRY U DZIECI MONITOROWANYCH PRZEZ 10 LAT

Ocena stopnia remisji mastocytozy skóry została przeprowadzona w oparciu o wyselekcjonowaną, jednorodną pod względem klinicznym, podgrupę dzieci.

Kryteriami włączenia do tej podgrupy były:

- początek choroby w pierwszym roku życia;
- pierwsza ocena w Poradni Dermatologicznej UCK odbyła się do 24 miesiąca życia;
- monitorowanie w Poradni Dermatologicznej przez okres ≥ 10 lat.

W podgrupie tej znalazło się 39 dzieci (12 dziewczynek; 27 chłopców), u których rozpoznano MPCM (n = 32; 82%) oraz DCM (n = 7; 18%).

Podjęto analizie stopień remisji rozległości zmian skórnych oraz skórnych objawów zależnych od mediatorów uwalnianych z mastocytów (świąd, *flushing*, zmiany pęcherzowe). Stopień remisji rozległości zmian skórnych oraz skórnych objawów oceniono na podstawie skali remisji mastocytozy Valenta, przedstawionej szczegółowo w rozdziale *Materiał i metody*. Stopień remisji oceniono na podstawie danych uzyskanych z oceny nasilenia choroby na pierwszej wizycie oraz na ostatniej wizycie po okresie 10 lat monitorowania. W podgrupie 39 chorych analizowanych pod względem remisji choroby, narządowe objawy zależne od mediatorów (ból brzucha, biegunki, duszność, hipotensja lub wstrząs anafilaktyczny) obecne były jedynie u 16 dzieci. W związku z tym odstąpiono od oceny analizy remisji narządowych objawów zależnych od mediatorów uwalnianych z mastocytów.

REMISJA ROZLEGŁOŚCI ZMIAN SKÓRNYCH

W badanej podgrupie (n = 39), całkowitą remisję (*complete remission*, CR) rozległości zmian skórnych stwierdzono u 4 (10,3%) dzieci po 10 latach trwania choroby (Tabela XXI). U 16 (41,1%) dzieci obserwowano zdecydowaną remisję (*major remission*, MR) zmian skórnych. U 12 (30,8%) badanych dzieci, zmiany skórne uległy jedynie częściowej remisji (*partial remission*, PR). Brak remisji (*no remission*, NR) zmian skórnych stwierdzono u 7 (17,9%) dzieci.

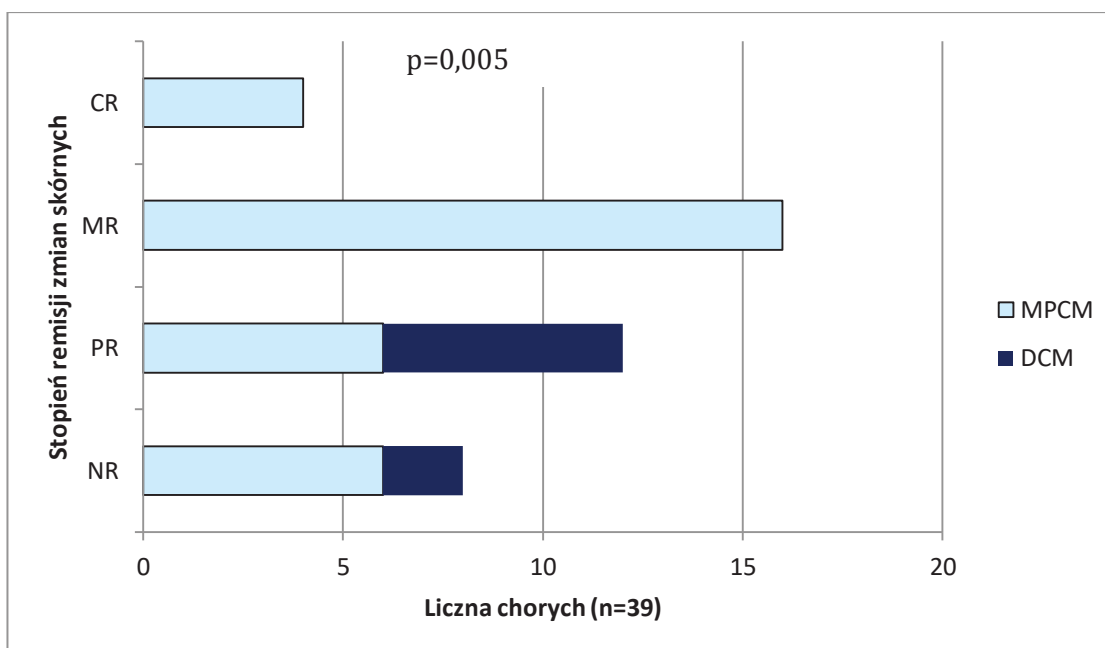
Analizując remisję zmian skórnych w zależności od postaci klinicznej, stwierdzono, że remisja powierzchni zajętej skóry była istotnie słabsza u chorych na DCM niż u chorych na MPCM ($p = 0,005$, test chi-kwadrat, Pearson) (Tabela XXI, Rycina 27).

U dzieci z MPCM obserwowano CR u 4 (12,5%), MR u 16 (50%), PR u 6 (18,8%) i NR u 6 (18,8%), natomiast dzieci z DCM nie doświadczały CR i MR przy czym u 6 (85,7%) doszło do PR i u 1 (14,3%) do NR.

TABELA XXI. ANALIZA REMISJI ROZLEGŁOŚCI ZMIAN SKÓRNYCH PO 10 LATACH OBSERWACJI

Grupa	Stopień remisji rozległości zmian skórnych				p
	CR	MR	PR	NR	
Podgrupa N=39	4 (10,3%)	16 (41,1%)	12 (30,8%)	7 (17,9%)	0,005
MPCM N=32	4 (12,5%)	16 (50,0%)	6 (18,8%)	6 (18,8%)	
DCM N=7	0	0	6 (85,7%)	1 (14,3%)	

CR – całkowita remisja, MR – zdecydowana remisja, PR – częściowa remisja, NR – brak remisji



CR – całkowita remisja, MR – zdecydowana remisja, PR – częściowa remisja, NR – brak remisji

RYCINA 27. REMISJA ZMIAN SKÓRNYCH W ODNIESIENIU DO POSTACI KLINICZNEJ

REMISJA SKÓRNYCH OBJAWÓW ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW

W podgrupie 39 chorych analizowanych pod względem remisji, skórne objawy zależne od mediatorów (świąd skóry, *flushing* lub zmiany pęcherzowe) obecne były u 33 dzieci. U wszystkich dzieci, u których obecne były skórne objawy zależne od mediatorów obserwowano remisję (częściową, zdecydowaną lub całkowitą) tych objawów. Całkowite ustąpienie (CR) skórnych objawów zależnych od mediatorów stwierdzono u 19 (57,6%) dzieci w ciągu 10 lat obserwacji. Zdecydowaną remisję (MR) obserwowano u 9 (27,3%) dzieci, natomiast częściową (PR) u 5 (15,2%) dzieci.

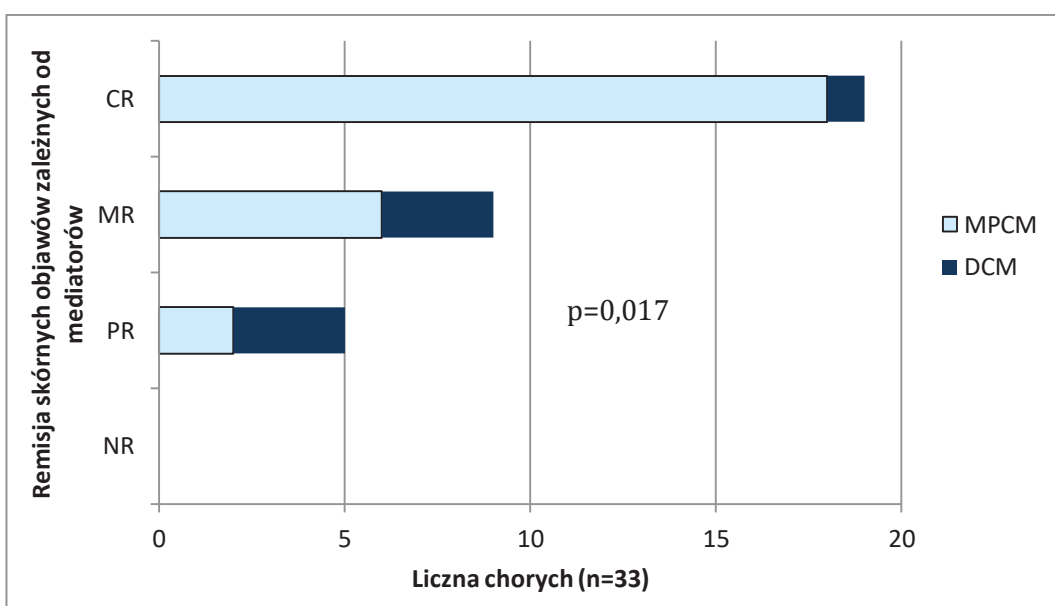
U żadnego dziecka nie obserwowano braku remisji (NR) skórnych objawów zależnych od mediatorów (Tabela XXII, Rycina 28).

Porównując stopień remisję skórnych objawów zależnych od mediatorów zależnie od postaci klinicznych stwierdzono, że tendencja do remisji była mniejsza u dzieci z DCM niż u dzieci z MPCM ($p = 0,017$, test chi kwadrat Pearson) (Tabela XXII). W grupie MPCM zdecydowanie częściej niż w grupie DCM obserwowano całkowitą remisję (CR); w MPCM u 18 (69,2%) dzieci stwierdzono całkowitą remisję, natomiast w grupie DCM całkowitą remisję stwierdzono u 1 (14,2%) dziecka. W grupie DCM zdecydowana remisję (MR) i częściową remisję (PR) obserwowano w takim samym odsetku przypadków (42,9%) (Tabela XXII, Rycina 28).

TABELA XXII. ANALIZA REMISJI OBJAWÓW SKÓRNYCH ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW PO 10 LATACH OBSERWACJI

Grupa	Stopień remisji objawów skórnych mastocytozy				p
	CR	MR	PR	NR	
Podgrupa N=33	19 (57,6%)	9 (27,3%)	5 (15,2%)	0	0,017
MPCM N=26	18 (69,2%)	6 (23,1%)	2 (7,7%)	0	
DCM N=7	1 (14,3%)	3 (42,9%)	3 (42,9%)	0	

CR – całkowita remisja, MR – zdecydowana remisja, PR – częściowa remisja, NR – brak remisji



CR – całkowita remisja, MR – zdecydowana remisja, NR – brak remisji, PR – częściowa remisja,

RYCINA 28. REMISJA SKÓRNYCH OBJAWÓW ZALEŻNYCH OD MEDIATORÓW W ZALEŻNOŚCI OD POSTACI KLINICZNYCH

4.5. ANALIZA CZYNNIKÓW ZWIĄZANYCH Z REMISJĄ ZMIAN SKÓRNYCH

Analizę przeprowadzono w podgrupie 39 dzieci monitorowanych przez okres ≥ 10 lat. Oceniono związek pomiędzy stopniem remisji rozległości zmian skórnych a cechami demograficznymi i klinicznymi takimi jak: płeć, postać kliniczna, maksymalne stężenie tryptazy w surowicy (Tabela XXIII). Porównano dzieci, które doświadczyły całkowitej remisji (CR; *complete remission*) lub zdecydowanej remisji (MR; *major remission*) z dziećmi, u których nastąpiła częściowa remisja (PR; *partial remission*) lub nie stwierdzono remisji (NR; *no remission*).

TABELA XXIII. ANALIZA CZYNNIKÓW WPŁYWAJĄCYCH NA REMISJĘ ZMIAN SKÓRNYCH

Dane demograficzne i cechy kliniczne	Remisja zmian skórnych		p
	CR/MR	PR/NR	
Cała podgrupa (n = 39)	n=20 CR=4, MR=16	n= 19 PR= 12, NR= 7	
Płeć			
Mężczyźni (n=27)	13 (65,0%)	14 (73,7%)	0,727
Kobiety (n=12)	7 (35,0%)	5 (36,3%)	
Postać kliniczna CM			
DCM (n=7)	0	7 (36,8%)	0,003
MPCM (n=32)	20 (100%)	12 (63,2%)	
Maksymalne stężenie tryptazy w surowicy			
$\leq 11,4$ ng/ml (n=32)	20 (100%)	12 (63,2%)	0,003
$> 11,4$ ng/ml (n=7)	0	7 (36,8%)	
≤ 20 ng/ml (n=32)	20 (100%)	12 (63,2%)	0,003
> 20 ng/ml (n=7)	0	7 (36,8%)	

CR – całkowita remisja, MR – zdecydowana remisja, n = liczba chorych, NR – brak remisji, PR – częściowa remisja

Stwierdzono istotny związek pomiędzy stopniem remisji rozległości zmian skórnych a postacią kliniczną oraz maksymalnym stężeniem tryptazy w surowicy. Dzieci, u których obserwowano całkowitą (CR) lub zdecydowaną remisję (MR), istotnie częściej prezentowały MPCM niż DCM ($p = 0,003$, test Fishera) oraz istotnie częściej maksymalne stężenie tryptazy było w granicach normy ($\leq 11,4$ ng/ml) ($p = 0,003$, test Fishera). Nie stwierdzono istotnego związku pomiędzy stopniem remisji rozległości zmian skórnych a płcią ($p = 0,727$, test Fishera).

4.6. ANALIZA OBRAZU KLINICZNEGO MASTOCYTOZY U DZIECI, U KTÓRYCH WYKONANO BADANIE MUTACJI D816V GENU *KIT* WE KRWI OBWODOWEJ

Badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wykonano u 32 dzieci (grupa badana II), chorujących na mastocytozę, u których zmiany skórne obejmowały ponad 50% powierzchni skóry. W badanej grupie znalazło się 14 dziewczynek i 18 chłopców, u których badanie genetyczne przeprowadzono w wieku od 1 roku życia do 14 lat. Postać plamisto-grudkową mastocytozy skóry (*maculopapular cutaneous mastocytosis*,

MPCM) rozpoznano u 16 (50%) dzieci oraz uogólnioną mastocytozę skóry (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM) stwierdzono u 16 (50%) dzieci.

Mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej stwierdzono u 11 (34,4%) dzieci spośród 32 badanych tej grupy, w tym u 7 dzieci z MPCM oraz u 4 dzieci z DCM. Mutacja D816V genu *KIT* we krwi obwodowej występowała częściej u dzieci chorujących na MPCM (7 spośród 16; 43,8%) niż u dzieci z DCM (4 spośród 16; 25,0%), jednak różnica ta nie była istotna statystycznie ($p = 0,46$). Najistotniejsze dane kliniczne dotyczące badanej grupy 32 dzieci przedstawiono w tabeli XXIV.

TABELA XXIV. CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA DZIECI, U KTÓRYCH WYKONANO BADANIE MUTACJI D816V GENU *KIT* WE KRWI OBWODOWEJ

Cecha	Kategoria	Cała grupa N = 32 (100%)	MPCM N = 16 (50%)	DCM N = 16 (50%)
Początek choroby	Mediana Min Max	2 miesiące Od urodzenia 12 lat	2 miesiące Od urodzenia 12 lat	2 miesiące Od urodzenia 1rok
Wiek w czasie pierwszej wizyty (w latach)	Mediana Min Max	2,0 1,0 14,0	2,0 1,0 14,0	2,0 1,0 12,0
Płeć	K	14 (43,8%)	8 (50,0%)	6 (37,5%)
	M	18 (56,2%)	8 (50,0%)	10 (62,5%)
Okres monitorowania (w latach)	Mediana Min Max	7 2 11	4 2 10	9 2 11
Czas trwania choroby (w latach)	Mediana Min Max	9 2 23	8 2 23	10 2 15
Nieprawidłowości w morfologii krwi obwodowej	Obecne	6 (18,8%)	3 (18,8%)	3 (18,8%)
	Brak	26 (81,2%)	13 (81,2%)	13 (81,2%)
Tryptaza V1 (ng/ml)	Mediana	28	22,1	30,4
	Min	3,5	3,5	6,3
	Max	470	65	470
Tryptaza max (ng/ml)	Mediana	31,75	29	60
	Min	3,5	3,5	7,3
	Max	470	117	470
Mutacja D816V genu <i>KIT</i> we krwi obwodowej	Obecna	11 (34,4%)	7 (43,8%)	4 (25,0%)
	Brak	21 (65,6%)	9 (56,2%)	12 (75,0%)
Hepatomegalia (w bad. USG)	Tak	5 (15,6%)	1 (6,2%)	4 (25,0%)
	Nie	27 (84,6%)	15 (93,8%)	12 (75,0%)
Splenomегalia (w bad. USG)	Tak	2 (6,2%)	0	2 (12,5%)
	Nie	30 (93,8%)	16 (100,0%)	14 (87,5%)

DCM – (*diffuse cutaneous mastocytosis*) uogólniona skórna mastocytoza, MPCM – (*maculopapular cutaneous mastocytosis*) plamisto-grudkowa mastocytoza skóry, Tryptaza V1- stężenie tryptazy w surowicy oznaczone na 1 wizycie kontrolnej, Tryptaza max- maksymalne stężenie tryptazy w okresie obserwacji,

Kontrolne badania laboratoryjne obejmujące morfologię krwi obwodowej, tryptazę, USG jamy brzusznej, aminotransferazy wątrobowe (asparaginianową oraz alaninową) wykonywano na każdej wizycie kontrolnej, przynajmniej 1 raz w roku. W okresie monitorowania, u sześciorga dzieci (18,8%) stwierdzono w badaniach kontrolnych odchylenia w morfologii krwi obwodowej. U 4 (66,7%) dzieci (nr 5, 6, 9, 26) stwierdzono podwyższoną liczbę monocytów krwi w wartości bezwzględnej (monocyty w zakresie $0,98 - 1,33 \times 10^9/l$), u jednego dziecka (nr 29) stwierdzono neutropenię (neutrocyty $0,88 \times 10^9/l$, leukocyty $8,22 \times 10^9/l$), u kolejnego dziecka (numer 12) leukopenię (leukocyty $3,8 \times 10^9/l$, neutrocyty $1,24 \times 10^9/l$). Obserwowane odchylenia w morfologii krwi miały charakter przejściowy; w kolejnych badaniach kontrolnych nie stwierdzono istotnych klinicznie nieprawidłowości. Aminotransaminazy wątrobowe były w normie lub wykazywały nieistotne pod względem klinicznym odchylenia od normy.

Stężenie tryptazy w surowicy oznaczone na pierwszej wizycie kontrolnej przekraczało normę (11,4 ng/ml) u 28 (87,5%) dzieci spośród 32 badanych tej grupy (mediana 28 ng/ml w całej grupie badanej). Stężenie tryptazy w surowicy oznaczanej na pierwszej wizycie było istotnie wyższe u dzieci z DCM (mediana 30,4 ng/ml; zakres 6,3 - 470 ng/ml) niż u dzieci z MPCM (mediana 22,1 ng/ml; zakres 3,5-65 ng/ml) ($p = 0,047$). Mediana stężenia tryptazy maksymalnej oznaczonej w okresie monitorowania wynosiła w całej grupie badanej 31,75 ng/ml (zakres 3,5-470 ng/ml). W grupie dzieci z DCM, mediana stężenia tryptazy maksymalnej wynosiła 60 ng/ml (zakres od 7,3 do 470 ng/ml), natomiast w MPCM wynosiła 29 ng/ml (zakres od 3,5 - 117 ng/ml) ($p = 0,056$).

Organomegalię stwierdzono u 6 (18,8%) dzieci spośród 32 badanych tej grupy. U 5 (15,6%) dzieci (nr 8, 17, 20, 21, 26) stwierdzono powiększenie wątroby, u jednego z tych dzieci (nr 21) również powiększenie śledziony. U jednego dziecka (nr 19) stwierdzono powiększenie śledziony, bez towarzyszącego powiększenia wątroby. U wszystkich dzieci, powiększenie wątroby i śledziony miało charakter przejściowy. U żadnego z badanych dzieci nie stwierdzano istotnych klinicznie cech upośledzenia funkcji wątroby i śledziony. W kolejnych kontrolnych badaniach USG jamy brzusznej stwierdzono obraz prawidłowy we wszystkich przypadkach. U 2 (6,2%) dzieci (nr 10, 11) tej grupy stwierdzono limfadenopatię krezkową. Limfadenopatia krezkowa miała charakter przejściowy. Dzieci, u których obserwowano organomegalię objęto wnikliwym monitorowaniem.

4.6.1. WYNIKI DIAGNOSTYKI W KIERUNKU MASTOCYTOZY UKŁADOWEJ

Szczegółowej analizie poddano obraz kliniczny mastocytozy u 11 dzieci, u których stwierdzono mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Dane kliniczne dotyczące tych chorych przedstawiono w tabeli XXV. W grupie dzieci z pozytywnym wynikiem badania genetycznego krwi obwodowej znalazło się 7 dziewczynek i 4 chłopców. Zmiany skórne odpowiadały MPCM u 7 dzieci i DCM u 4 z nich. Wszystkie dzieci z postacią MPCM prezentowały wariant monomorficzny.

TABELA XXV. CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA 11 DZIECI, U KTÓRYCH STWIERDZONO MUTACJĘ D816V GENU KIT WE KRWI OBWODOWEJ

Chory (Nr)	Wiek* (lata)/płeć	Początek choroby	Postać CM /wariant	Tryptaza (ng/ml)		Wiek, w którym stwierdzono mutację	Organo-megalia	Trepanobiopsja szpiku
				max	VG**			
1	13/K	6 m-cy	MPCM /MM	30	30	13	–	Nacieki MCs (CD117+, CD2+) w skupieniu >15 komórek/grupę
7	2/M	3 m-ce	MPCM /MM	25	20,3	2	–	Brak wskazań
10	1/K	3 m-ce	DCM	22	21	4	L	Brak wskazań
11	6/K	5 m-cy	MPCM /MM	32	22	5	L	Brak wskazań
14	2/K	4 m-ce	MPCM /MM	29	28	2	–	Obraz normalny
15	14/K	12 lat	MPCM /MM	50	31	14	–	Nacieki MCs nacieki (CD117+, CD2+) w skupieniu >15 komórek/grupę
17	2/K	3 m-ce	DCM	81	59	2	H	Obraz normalny
21	12/K	od urodzenia	DCM	470	470	12	H, S	Obraz normalny
27	1/M	1 m-c	MPCM /MM	6,5	6,5	2	–	Brak wskazań
29	1/M	3 m-ce	MPCM /MM	38	31	4	–	Brak wskazań
31	1/M	od urodzenia	DCM	39	34	1	–	Brak wskazań

*wiek na pierwszej wizycie, **VG – Stężenie tryptazy w surowicy w okresie wykonywania badania genetycznego, DCM – uogólniona skórna mastocytoza (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM), H – powiększenie wątroby, L – powiększenie węzłów chłonnych, MCs – mastocyty (*mast cells*, MCs), MM – monomorficzny wariant MPCM, MPCM – plamisto-grudkowa mastocytoza skóry (*maculopapular cutaneous mastocytosis*, MPCM), PM – polimorficzny wariant MPCM, S – powiększenie śledziony.

Z przedstawionych w tabeli XXV danych wynika, że u 10 (90,9%) dzieci z obecną mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, początek choroby wystąpił w pierwszych 6 miesiącach życia. U jednego dziecka (nr 15) pierwsze zmiany skórne zaobserwowano w 12 roku życia.

U 10 (90,9%) z 11 dzieci z mutacją D816V genu *KIT* stężenie tryptazy było podwyższone (norma do 11,4 ng/ml) i wynosiło powyżej 20 ng/ml. Tylko u 1 dziecka (nr 27) z mutacją D816V genu *KIT* chorującego na MPCM stężenie tryptazy utrzymywało się w granicach normy w okresie 10-letniego okresu monitorowania; nie stwierdzano u tego dziecka klinicznych cech progresji choroby.

Prześciowa neutropenia była obserwowana u dziecka nr 29 w 1 roku życia (neutrocyty $0,88 \times 10^9/l$, leukocyty $8,22 \times 10^9/l$). Neutropenia utrzymywała się około roku, następnie ustąpiła samoistnie. U pozostałych dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej nie występowały istotne pod względem klinicznym nieprawidłowości w morfologii krwi obwodowej. Prześciowe powiększenie wątroby i śledziony, bez cech uszkodzenia funkcji tych narządów występowały u dziecka nr 21, oraz prześciowe powiększenie wątroby, bez cech uszkodzenia funkcji wątroby u dziecka nr 17. Powiększenie węzłów chłonnych krezkowych stwierdzone u 2 dzieci (nr 10, 11)

ustąpiło w ciągu roku obserwacji. U 6 spośród 11 (54,5%) dzieci z pozytywnym wynikiem badania genetycznego (chorzy nr 7, 10, 11, 27, 29, 31) nie rozszerzano diagnostyki w kierunku SM, gdyż stężenie tryptazy utrzymywało się na w granicach normy (nr 27) lub obniżało się w okresie monitorowania (chorzy nr 7, 10, 11, 29, 31), nie stwierdzano istotnych klinicznie nieprawidłowości w morfologii krwi obwodowej ani hepato- i/lub splenomegalii.

U 5 spośród 11 (45,5%) chorych, u których stwierdzono mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej (chorzy nr 1, 14, 15, 17, 21), podjęto pełną diagnostykę w kierunku SM, polegającą na sprawdzeniu wszystkich kryteriów diagnostycznych SM. Wskazania do tej diagnostyki stanowiły: stale utrzymujące się na wysokim poziomie lub narastające w okresie monitorowania stężenie tryptazy (chorzy nr 1, 14, 15, 17, 21), organomegalia (chore nr 17 i 21) oraz ukończenie 18 roku życia w okresie monitorowania (chore nr 1 i 15). Wobec braku spontanicznej regresji zmian skórnych chore które ukończyły 18 lat wymagały przeprowadzenia diagnostyki w kierunku SM, jak to jest zalecane u wszystkich chorych dorosłych. Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w tabeli XXVI.

TABELA XXVI. KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE SM U 5 CHORYCH Z MUTACJĄ D816V GENU *KIT* WE KRWI OBWODOWEJ

Chory (Nr)	Kryterium większe SM	Kryteria mniejsze SM					Rozpoznanie
		Tryptaza maksymalna (ng/ml)	Mutacja D816V <i>KIT</i>		Immunofenotyp MCs	Morfologia MCs	
			krew	szpik			
1	obecne	30	+	+	CD25+	prawidłowa	SM
14	brak	29	+	ND	CD25+, CD2+	atypowa	SM
15	obecne	50	+	+	CD25+	prawidłowa	SM
17	brak	81	+	ND	CD 25-	prawidłowa	DCM
21	brak	470	+	+	CD2+, CD25+	atypowe MCs – 7,8%	SM

ND – nie wykonano (*not done*, ND), MCs – mastocyty (*mast cells*, MCs) SM – mastocytoza układowa (*systemic mastocytosis*, SM), DCM – uogólniona skórna mastocytoza (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM)

Nacieki mastocytarne w trepanobiopsji szpiku kostnego, odpowiadające kryterium większemu SM stwierdzono u 2 chorych. Stężenie tryptazy w surowicy u 5 dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, u których podjęto decyzję o podjęciu pełnej diagnostyki w kierunku SM, na ostatniej wizycie kontrolnej wynosiło powyżej 20 ng/ml (mediana 50,6 ng/ml; średnia 99,4 ng/ml), co stanowi kryterium mniejsze SM. U 2 dzieci (nr 1 i nr 15) stężenie tryptazy w surowicy stale wzrastało, osiągnęło najwyższą wartość na ostatniej wizycie kontrolnej na której wyniosło 30,9 ng/ml (u dziecka nr 1) oraz 50,6 ng/ml (u dziecka nr 15). U dziecka nr 21 odnotowywano stale bardzo wysokie stężenie tryptazy w surowicy; utrzymywało się ono powyżej 300 ng/ml. U dziecka nr 17 stężenie tryptazy w surowicy na ostatniej wizycie kontrolnej wynosiło 54,3 ng/ml, natomiast przez cały okres obserwacji utrzymywało się w zakresie 46-81 ng/ml. U dziecka nr 14 stężenie tryptazy w surowicy na ostatniej wizycie kontrolnej wynosiło 28,4 ng/ml, w okresie obserwacji utrzymywało się w zakresie

24 - 29 ng/ml. Nieprawidłowy immunofenotyp stwierdzono u 4 chorych, a atypową morfologię mastocytów dotyczącą > 25% mastocytów u 1 chorego. W badaniu immunofenotypu mastocytów szpiku kostnego u chorej nr 21 stwierdzono atypowe mastocyty, jednak w odsetku niewystarczającym (7,8% wszystkich mastocytów) do spełnienia czwartego kryterium mniejszego SM. Atypowa morfologia mastocytów jest bowiem uznawana za kryterium mniejsze SM jedynie gdy nieprawidłowe mastocyty stanowią > 25% (32).

U 4 spośród 5 diagnozowanych w kierunku SM dzieci rozpoznano ostatecznie SM, co stanowi 12,5% wszystkich dzieci, u których wykonano badanie genetyczne (n = 32) i 36,4% dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej (n = 11) (Tabela XXV, XXVI). U 2 chorych (nr 1 i 15) diagnozę SM postawiono u nich na podstawie stwierdzenia 1 kryterium większego i 3 kryteriów mniejszych. U 2 dzieci (nr 14 i 21) SM rozpoznano na podstawie spełnienia przynajmniej 3 kryteriów mniejszych; u chorej nr 14 stwierdzono 4 kryteria mniejsze, a u chorej nr 21 spełnione były 3 kryteria mniejsze (Tabela XXVI). U 3 (nr 1, 15, 21) spośród 5 analizowanych dzieci uzyskano identyczny wynik badania genetycznego z krwi obwodowej i ze szpiku (Tabela XXVI). U 2 dzieci (nr 14 i 17) nie wykonywano badania mutacji D816V genu *KIT* w szpiku kostnym. Charakterystykę kliniczną 4 dzieci, u których rozpoznano SM przedstawiono w tabeli XXVII.

TABELA XXVII. CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA 4 DZIECI Z SM

Chory (Nr)	Wiek V1 (w latach)	Początek choroby	Postać CM wariant	OM	Wynik trepanobiopsji	Wiek VD (w latach)	Rozpoznanie ostateczne
1	13	6 miesięcy	MPCM MM	–	wielogniskowe, gęste nacieki MCs (≥15 komórek MCs w agregacie)	18	ISM
14	21	4 miesięcy	MPCM MM	–	prawidłowy	2	ISM
15	14	12 lat	MPCM MM	–	wielogniskowe, gęste nacieki MCs (≥15 komórek MCs w agregacie)	18	ISM
21	12	od urodzenia	DCM	H, S	prawidłowy	12	SSM

H – hepatosplenomegalia, DCM – uogólniona skórna mastocytoza (*Diffuse CM*, DCM), ISM – indolentna SM (*Indolent Systemic Mastocytosis*, ISM), MCs – mastocyty (*mast cells*, MCs) MM – wariant monomorficzny MPCM, OM – organomegalia, PM – wariant polimorficzny MPCM, S – splenomegalia, SSM – SM o podstępny przebiegu (*Smoldering Systemic Mastocytosis*, SSM), Wiek V1 – wiek podczas pierwszej wizyty, Wiek VD – wiek w czasie postawienia ostatecznej diagnozy

U 3 opisanych powyżej chorych z SM ostatecznie rozpoznano ISM (*Indolent SM*), gdyż nie stwierdzano u nich przynajmniej 2 objawów z grupy B ani objawów z grupy C, świadczących o zaawansowanych postaciach SM (objawy grupy B i C przedstawiono we *Wstępie* w tabeli VI). U chorej nr 21 występowały 2 objawy z grupy B takie jak: tryptaza > 200 mg/ml oraz powiększenie wątroby i śledziony bez uszkodzenia funkcji tych narządów, zatem ostatecznie rozpoznano u tej chorej SSM (*Smoldering SM*). U 3 (75%) dzieci z ISM zmiany skórne odpowiadały wariantowi monomorficznemu MPCM, natomiast u 1 (25%) dziecka z SSM, zmiany skórne odpowiadały DCM. U 3 (75%) chorych u których stwierdzono SM, początek choroby stwierdzono w ciągu pierwszych

6 miesięcy życia, w tym u jednego dziecka (nr 21) zmiany skórne były obecne od urodzenia. U 1 chorej (nr 15) pierwsze zmiany skórne pojawiły się w 12 roku życia.

4.6.2. PORÓWNANIE OBRAZU KLINICZNEGO MASTOCYTOZY U DZIECI Z MUTACJĄ I BEZ MUTACJI D816V GENU *KIT*

Porównano obraz kliniczny mastocytozy u chorych z obecną mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej z chorymi, u których nie stwierdzano tej mutacji. Porównano dane demograficzne, postać kliniczną CM, częstość występowania objawów zależnych od mediatorów oraz organomegalię. Wyniki analizy przedstawiono w tabeli XXVIII.

TABELA XXVIII. PORÓWNANIE DANYCH DEMOGRAFICZNYCH I CECH KLINICZNYCH U DZIECI Z MUTACJĄ I BEZ MUTACJI D816V GENU *KIT* WE KRWI OBWODOWEJ

	Cała grupa N=32 (%)	D816V <i>KIT</i> pozytywne dzieci N=11 (%)	D816V <i>KIT</i> negatywne dzieci N=21 (%)	p
Dane demograficzne				
Początek choroby < 1 rok życia	29 (90,6%)	10 (90,9%)	19 (90,5%)	1.00
Początek choroby ≥ 1 rok życia	3 (9,4%)	1 (9,1%)	2 (9,5%)	
Kobiety	14 (43,8%)	7 (63,6%)	7 (33,3%)	0.142
Mężczyźni	18 (56,2%)	4 (36,4%)	14 (66,7%)	
Postać kliniczna CM				
DCM	16 (50,0%)	4 (36,4%)	12 (57,1%)	0.458
MPCM (wariant MM i PM)	16 (50,0%)	7 (63,6%)	9 (42,9%)	
MPCM – wariant MM	9 (56,2%)	7 (77,8%)	2 (22,2%)	0.003
MPCM – wariant PM	7 (43,8%)	0	7 (100%)	
Cechy kliniczne				
Organomegalia	6 (18,8%)	2 (18,2%)	4 (19,1%)	1.000
Świąd	14 (43,8%)	6 (54,5%)	8 (38,1%)	1.000
<i>Flushing</i>	17 (53,1%)	5 (45,5%)	12 (57,1%)	0.05
Zmiany pęcherzowe	23 (71,9%)	6 (54,5%)	17 (80,9%)	0.21
Hipotensja	5 (15,6%)	2 (18,2%)	3 (14,3%)	1.00
Ból brzucha	4 (12,5%)	3 (27,3%)	1 (4,8%)	0.11
Biegunki	4 (12,5%)	3 (27,3%)	1 (4,8%)	0.11
Wstrząs anafilaktyczny	5 (15,6%)	1 (9,1%)	4 (19,1%)	0.637

DCM – uogólniona skórna mastocytoza (*Diffuse CM*, DCM), MM – wariant monomorficzny MPCM, MPCM – plamisto-grudkowa mastocytoza skóry (*Maculopapular CM*, MPCM), OM – organomegalia, PM – wariant polimorficzny MPCM

Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupą dzieci D816V *KIT*-pozytywnych i D816V *KIT*-negatywnych pod względem płci, początku choroby oraz postaci klinicznej CM (MPCM i DCM). Wśród 16 chorych z MPCM, mutacja D816V genu *KIT* występowała istotnie częściej u dzieci, które prezentowały wariant monomorficzny MPCM niż tych z polimorficznym wariantem MPCM ($p = 0,003$). U wszystkich dzieci z MPCM, u których stwierdzono mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, stwierdzono wariant monomorficzny MPCM. U żadnego dziecka z wariantem polimorficznym MPCM nie stwierdzono mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej.

Spośród 32 dzieci, u których wykonano badanie mutacji D816V genu *KIT* w dzieciństwie, najczęstszym objawem zależnym od mediatorów uwalnianych z mastocytów było tworzenie się zmian pęcherzowych, obserwowane u 23 (71,8%) dzieci w całej grupie. Zmiany pęcherzowe w grupie dzieci z obecną mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej były stwierdzane u 6 (54,5%) dzieci, natomiast w grupie dzieci bez mutacji u 17 (80,9%) ($p=0,21$). Nie stwierdzono istotnych różnic dotyczących częstości występowania objawów zależnych od mediatorów u dzieci D816V *KIT*-pozytywnych i D816V *KIT*-negatywnych. Objawy zależne od mediatorów występowały w badanej grupie z następującą częstością: *flushing* zgłaszany był przez 17 (53,1%) badanych, świąd skóry obecny był u 14 (43,8%) dzieci. Wstrząs anafilaktyczny wystąpił u 5 (15,6%) dzieci grupy badanej II; chorujących na DCM. U 2 dzieci czynnikami indukującymi ciężkie reakcje anafilaktyczne były leki (amoksycylina, ketamina). U jednego z tych dzieci wystąpiły 2 epizody wstrząsu anafilaktycznego wywołane jeden amoksycyliną, drugi radiologicznym środkiem kontrastowym. W pozostałych 3 przypadkach nie identyfikowano czynnika wyzwalającego wstrząs anafilaktyczny. Nie stwierdzono istotnych różnic dotyczących częstości występowania organomegalii u dzieci D816V *KIT*-pozytywnych i D816V *KIT*-negatywnych.

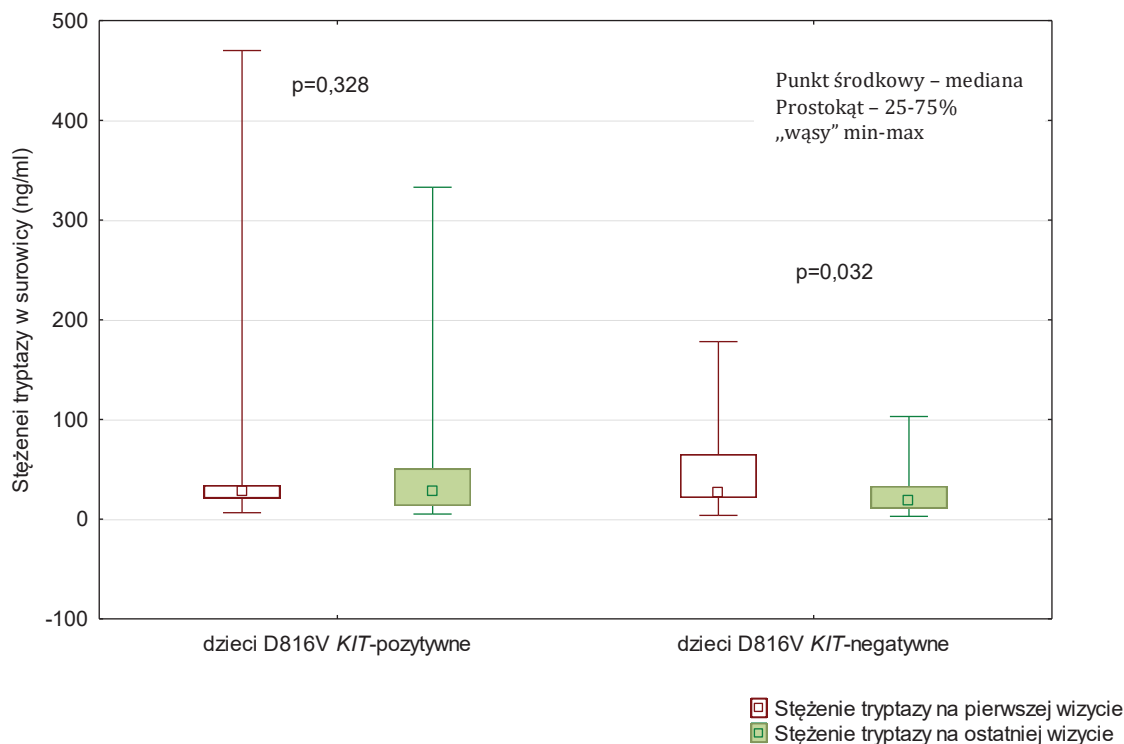
W odrębnych analizach porównano stężenie tryptazy w surowicy u dzieci D816V *KIT*-pozytywnych i D816V *KIT*-negatywnych (Tabela XXIX). Porównano stężenie tryptazy na pierwszej wizycie (V1), najwyższe stężenie tryptazy w okresie monitorowania oraz stężenie tryptazy na ostatniej wizycie kontrolnej (VL). W analizach tych nie wykazano istotnych różnic (Tabela XXIX).

TABELA XXIX. ANALIZA STĘŻENIA TRYPTAZY W GRUPIE DZIECI D816V *KIT*-POZYTYWNYCH I D816V *KIT*-NEGATYWNYCH

Stężenie tryptazy w surowicy (ng/ml)	Cała grupa N=32 (%)	D816V <i>KIT</i> -pozytywne dzieci N =11 (%)	D816V <i>KIT</i> -negatywne dzieci N =21 (%)	p
Tryptaza V1				
≤11,4 ng/ml	5 (15,6%)	1 (9,1%)	4 (19,1%)	0,637
>11,4 ng/ml	27 (84,4%)	10 (90,9%)	17 (80,9%)	
≤ 20 ng/mL	5 (15,6%)	1 (9,1%)	4 (19,1%)	0,637
> 20 mg/mL	27 (84,4%)	10 (90,9%)	17 (80,9%)	
Tryptaza maksymalna				
≤11,4 ng/ml	4 (12,5%)	1 (9,1%)	3 (14,3%)	1,000
>11,4 ng/ml	28 (87,5%)	10 (90,9%)	18 (85,7%)	
≤ 20 ng/mL	5 (15,6%)	1 (9,1%)	4 (19,1%)	0,637
> 20 ng/mL	27 (84,4%)	10 (90,9%)	17 (80,9%)	
Tryptaza VL				
≤11,4	8 (25,0%)	2 (18,2%)	6 (28,6%)	0,681
>11,4	24 (75,0%)	9 (81,8%)	15 (71,4%)	
≤20 ng/mL	17 (53,1%)	5 (45,5%)	12 (57,1%)	0,71
> 20 ng/mL	15 (46,9%)	6 (54,5%)	9 (42,9%)	

Tryptaza V1 – stężenie tryptazy oznaczone na pierwszej wizycie kontrolnej, Tryptaza VL – stężenie tryptazy oznaczonej na ostatniej wizycie kontrolnej.

Oceniono również zmiany w stężeniu tryptazy w okresie monitorowania, porównując różnicę pomiędzy stężeniem tryptazy na pierwszej i ostatniej wizycie u chorych D816V *KIT*-pozytywnych i D816V *KIT*-negatywnych (Rycina 29). Stwierdzono, że u dzieci D816V *KIT*-pozytywnych nie dochodziło do istotnego spadku stężenia tryptazy w okresie monitorowania ($p = 0,328$), natomiast u dzieci D816V *KIT*-negatywnych stężenie tryptazy ulegało z czasem trwania choroby istotnemu obniżaniu się ($p = 0,032$).



RYCINA 29. PORÓWNANIE ZMIAN W STĘŻENIU TRYPTAZY W OKRESIE MONITOROWANIA U DZIECI D816V *KIT*-POZYTYWNYCH I D816V *KIT*-NEGATYWNYCH

4.7. ANALIZA STOPNIA REMISJI/PROGRESJI OBJAWÓW CHOROBY U DZIECI, U KTÓRYCH WYKONANO BADANIE MUTACJI D816V WE KRWI OBWODOWEJ

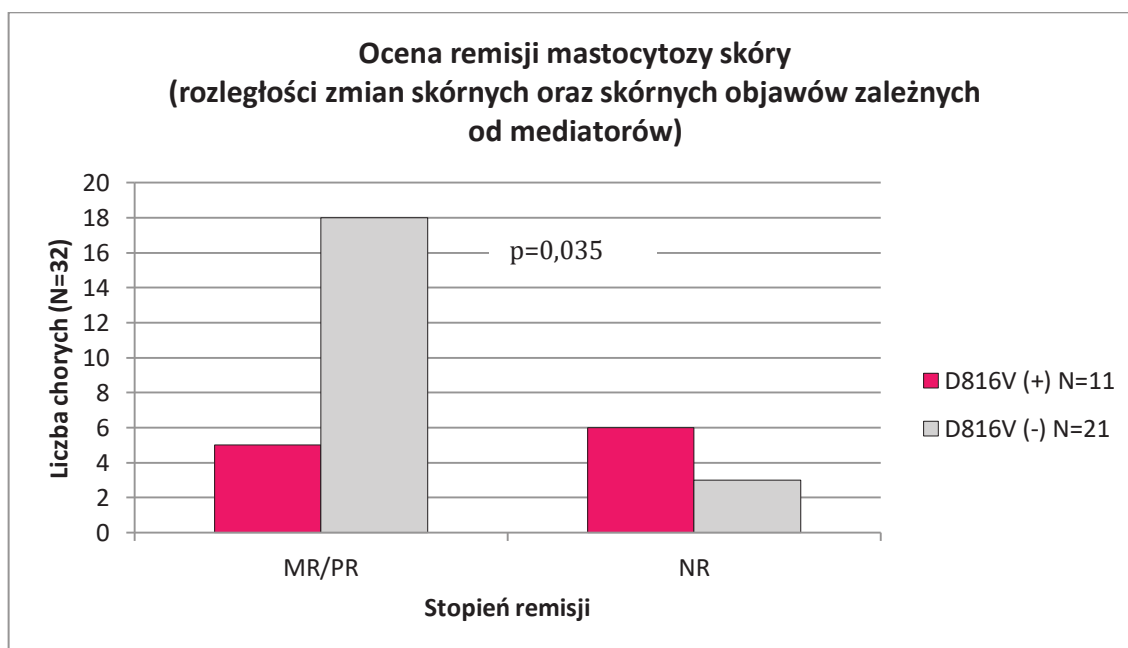
Przeprowadzono analizę przebiegu klinicznego mastocytozy u 32 dzieci, u których wykonano badanie genetyczne krwi obwodowej; znalazło się w niej 11 (34%) chorych D816V *KIT*-pozytywnych i 21 (66%) chorych D816V *KIT*-negatywnych. Mediana okresu monitorowania w tej grupie wynosiła 7 lat, zakres od 2 do 11 lat.

W całej grupie 32 dzieci, oceniono remisję mastocytozy skóry, obejmującą remisję rozległości zmian skórnych oraz skórnych objawów zależnych od mediatorów. Na podstawie tych parametrów oceniono stopień remisji mastocytozy skóry dla każdego dziecka (Tabela XXX). W całej badanej grupie 32 dzieci, u żadnego dziecka nie stwierdzono całkowitej remisji (CR) mastocytozy skóry w okresie monitorowania. U dzieci nie obciążonych mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, istotnie częściej stwierdzano remisję choroby w stopniu zdecydowanym (MR) lub częściowym (PR), w porównaniu do dzieci z obecną mutacją (odpowiednio 85,7% vs. 45,5%; $p = 0,035$) (Tabela XXX). Brak remisji mastocytozy skóry (NR) stwierdzono częściej u dzieci z obecną mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej niż u dzieci bez tej mutacji (odpowiednio 54,5% i 14,3%) (Rycina 30).

TABELA XXX. OCENA REMISJI MASTOCYTOZY SKÓRY U DZIECI, U KTÓRYCH WYKONANO BADANIE MUTACJI D816V GENU *KIT* WE KRWI OBWODOWEJ

Remisja	Cała grupa N=32	Dzieci D816V <i>KIT</i> -pozytywne N=11 (%)	Dzieci D816V <i>KIT</i> -negatywne N=21 (%)	p
MR/PR*	23 (71,9%)	5 (45,5%)	18 (85,7%)	0,035
NR	9 (28,1%)	6 (54,5%)	3 (14,3%)	

MR (*major remission*) – zdecydowana remisja, NR (*no remission*) – brak remisji, PR (*partial remission*) – częściowa remisja. CR (*complete remission*) – całkowitej remisji nie obserwowano



MR/PR (*major/partial remission*) – zdecydowana/częściowa remisja, NR (*no remission*) – brak remisji

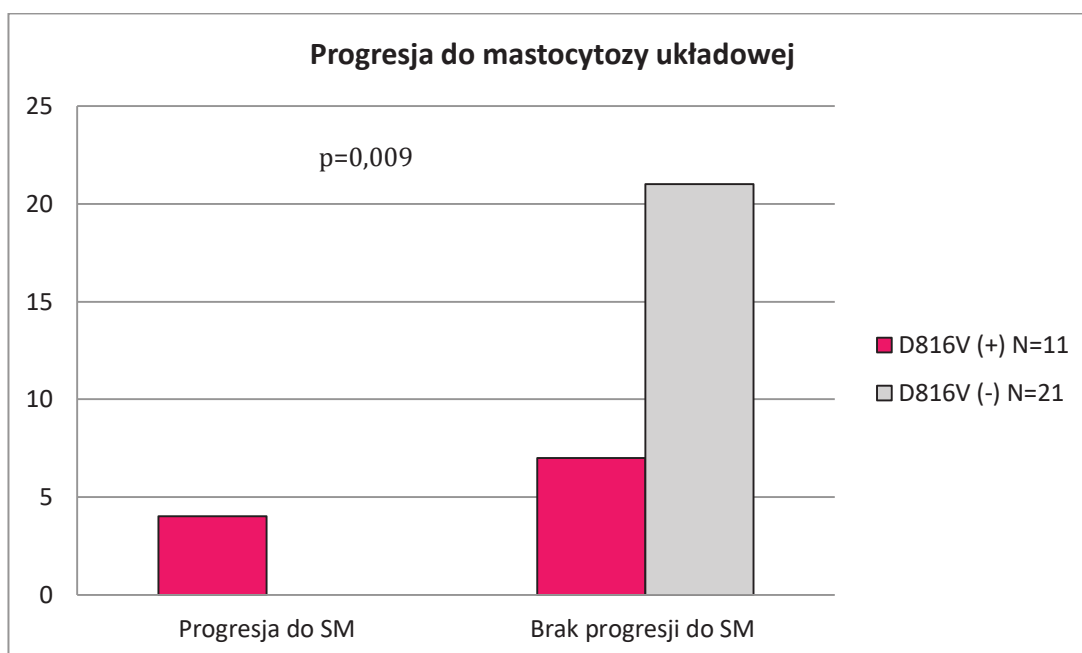
RYCINA 30. OCENA REMISJI MASTOCYTOZY SKÓRY U DZIECI, U KTÓRYCH WYKONANO BADANIE GENETYCZNE

Analizie poddano również tendencję do progresji w kierunku mastocytozy układowej (SM) u 32 dzieci, u których w dzieciństwie wykonano badanie genetyczne mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. U 4 chorych rozpoznano ostatecznie SM, co stanowi 12,5% wszystkich dzieci, u których wykonano badanie genetyczne i 36,4% dzieci D816V *KIT*-pozytywnych (n=11). Stwierdzono, że mutacja D816V genu *KIT* we krwi obwodowej występowała istotnie częściej u dzieci z SM niż u dzieci z CM (p=0,009) (Tabela XXXI, Rycina 24). Wszystkie dzieci, u których stwierdzono progresję do SM (n=4), były obciążone mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. U 75% (n=21) dzieci z CM nie stwierdzono obecności mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Nie stwierdzono żadnego przypadku SM bez mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej (Tabela XXXI). Obliczono wartość predykcyjną mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej oraz czułość i swoistość badania genetycznego dla całej grupy (n=32). Wartość predykcyjna dodatnia (PPV) wyniosła 36,36 (12,37-68,39), zaś wartość predykcyjna ujemna 100 (80,76-100). Czułość wyniosła 100% (95% CI 39.58 – 100), a swoistość 75% (95% CI 54.78 – 88.57).

TABELA XXXI. ANALIZA PROGRESJI DO SM U DZIECI, U KTÓRYCH WYKONANO BADANIE GENETYCZNE KRWI OBWODOWEJ

Postać kliniczna mastocytozy	Cała grupa N=32	Dzieci D816V KIT-pozytywne	Dzieci D816V KIT-negatywne	p
SM	4	4 (100%)	0	0,009
CM (DCM + MPCM)	28	7 (25%)	21 (75%)	
Razem	32	11 (34,4%)	21 (65,6%)	

CM – mastocytoza skóry (*Cutaneous Mastocytosis*, CM), DCM – uogólniona skórna mastocytoza (*Diffuse CM*, DCM), ISM – SM o łagodnym przebiegu (*Indolent Systemic Mastocytosis*, ISM), MPCM – plamisto-grudkowa mastocytoza skóry (*Maculopapular CM*, MPCM)



RYCINA 31. OCENA PROGRESJI DO MASTOCYTOZY UKŁADOWEJ W CAŁEJ GRUPIE BADANEJ

W całej grupie 32 dzieci analizie poddano związek pomiędzy progresją do SM, a wiekiem dzieci, w którym miał miejsce początek choroby, płcią, postacią kliniczną choroby, występowaniem organomegalii, anafilaksji, maksymalnym stężeniem tryptazy w surowicy, czasem trwania choroby oraz okresem monitorowania (Tabela XXXII).

TABELA XXXII. DEMOGRAFICZNE I KLINICZNE CECHY POTENCJALNIE ZWIĄZANE Z PROGRESJĄ DO SM

Demograficzne i kliniczne cechy	Postać kliniczna		p
	SM (n=4)	CM (n=28)	
Wiek, w którym rozpoczęła się choroba			
< 1 rok życia(n=29)	3 (75%)	26 (92,9%)	0,339
≥1 rok życia (n=3)	1 (25%)	2 (7,1%)	
Płeć			
Mężczyźni (n=18)	0	18 (64,3%)	0,028
Kobiety (n=14)	4 (100%)	10 (35,6%)	
Postać kliniczna CM			
DCM (n=16)	1 (25%)	15 (53,6%)	0,600
MPCM (wszystkie warianty) (n=16)	3 (75%)	13 (46,4%)	
MPCM – monomorficzny wariant (n=9)	3 (75%)	6 (21,4%)	0,213
MPCM – polimorficzny wariant (n=7)	0	7 (25%)	
Cechy kliniczne			
Organomegalia (n=6)	1 (25%)	5 (18%)	1,000
Wstrząs anafilaktyczny (n=5)	0	5 (18%)	1,000
Maksymalne stężenie tryptazy w surowicy			
≤ 20 ng/ml (n=5)	0	5 (17,9%)	1,000
> 20 ng/ml (n=27)	4 (100%)	23 (82,1%)	
Czas trwania choroby			
≤ 10 lat (n=17)	1 (25%)	16 (57%)	0,32
> 10 lat (n=15)	3 (75%)	12 (43%)	
Okres obserwacji			
< 10 lat (n=17)	1 (75%)	16 (57,1%)	0,32
≥10 lat (n=15)	3 (25%)	12 (42,9%)	

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że progresja do SM dotyczyła wyłącznie płci żeńskiej ($p = 0,028$). Porównując cechy demograficzne i kliniczne dzieci z progresją do SM i bez progresji stwierdzono, że grupy te nie różniły się istotnie statystycznie pod względem postaci klinicznej mastocytozy skóry ($p = 0,600$), występowania anafilaksji ($p = 1,000$) oraz maksymalnego stężenia tryptazy w surowicy w okresie monitorowania ($p = 1,000$). Nie stwierdzono również istotnego związku wystąpienia progresji do SM z wiekiem, w którym rozpoczęła się choroba ($p = 0,339$), organomegalią ($p = 1,000$), czasem trwania choroby ($p = 0,32$) ani okresem obserwacji ($p = 0,32$) (Tabela XXXII).

5. DYSKUSJA

Mastocytoza jest chorobą o niezwykle różnorodnym obrazie klinicznym, przebiegającą w odmienny sposób u chorych, u których rozpoczęła się w dzieciństwie niż u chorych z pierwszymi objawami w życiu dorosłym. Mastocytoza u dzieci uważana jest za chorobę ograniczoną do skóry (*cutaneous mastocytosis*, CM), natomiast u dorosłych dominuje postać układowa (*systemic mastocytosis*, SM). U dzieci, mastocytoza ma przeważnie łagodny przebieg i wykazuje tendencję do samoistnego ustępowania. Stąd też w literaturze spotyka się podział na mastocytozę rozpoczynającą się w dzieciństwie (*childhood-onset mastocytosis*) i mastocytozę, w której początek miał miejsce po uzyskaniu dojrzałości płciowej (*adult-onset mastocytosis*) [4,26]. Castells M. i wsp. mastocytozę dziecięcą rozpoznają u chorych do 16 roku życia [26]. W Polsce do grupy pediatrycznej zalicza się osoby do 18 roku życia, co zostało uwzględnione w analizie przedstawionego materiału.

Liczne badania prowadzone nad mastocytozą w okresie ostatnich lat dotyczą najczęściej etiopatogenezy choroby, zwłaszcza jej podłoża genetycznego oraz koncentrują się na poszukiwaniu nowych rozwiązań terapeutycznych dla najcięższych postaci klinicznych SM [1,2,32]. Niewiele natomiast wiadomo o naturalnym przebiegu mastocytozy u dzieci oraz tendencji do spontanicznej regresji zmian skórnych w tej grupie wiekowej [3,104,107,124–126]. Dotychczas w pracach polskich nie podejmowano tego zagadnienia, a w literaturze światowej dane dotyczące naturalnego przebiegu mastocytozy u dzieci są nieliczne i zwykle dotyczą stosunkowo niewielkich pod względem liczebności grup chorych [3,82,107,130,131]. Podobnie niewiele obecnie wiadomo na temat rzeczywistej częstości występowania SM u dzieci. Większość doniesień ma charakter opisów przypadków (Tabela VIII) [102,108-122]. Badania na dużych grupach dzieci, opublikowane przez różne ośrodki zajmujące się mastocytozą, wskazują na rzadkie występowanie SM (Tabela VII) % [16,17,38-42,44,51,67,81,104-107]. Przełom w diagnostyce SM stanowi wprowadzenie badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci [105]. Wykrycie tej mutacji stanowi kryterium mniejsze rozpoznania SM [1,10-12,16], gdyż jej obecność świadczy o klonalnym charakterze proliferacji mastocytów [20,21,81]. W 2018 r. została opublikowana pierwsza i jedyna dotychczas praca amerykańskiego ośrodka badań nad mastocytozą, w której wykrywano mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci ze wszystkimi postaciami klinicznymi CM (MPCM, DCM i mastocytoma). W badaniu tym SM została zdiagnozowana aż u 35% dzieci ze skórnymi objawami mastocytozy [105]. Biorąc pod uwagę, że niewiele wiadomo na temat ewolucji mastocytozy u dzieci oraz uwzględniając fakt, że dane dotyczące częstości występowania SM u dzieci są bardzo rozbieżne, uzasadnione wydawało się podjęcie badań nad naturalnym przebiegiem mastocytozy oraz dokonanie oceny znaczenia badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej w diagnostyce SM i rokowaniu u dzieci z rozległymi zmianami skórnymi.

5.1. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ NAD EWOLUCJĄ OBJAWÓW KLINICZNYCH MASTOCYTOZY SKÓRY U DZIECI

Powszechnie uważa się, że z wiekiem dochodzi do spontanicznej remisji CM u dzieci, jednak ze szczegółowej analizy danych literaturowych wynika, że nie u wszystkich dzieci dochodzi do remisji zmian skórnych, a u części z nich rozwija się SM [3,104,107,124]. Znacznym ograniczeniem opublikowanych dotychczas badań są krótkie lub niejednorodne okresy obserwacji oraz niewielkie pod względem liczebności grupy chorych [3,104,107,125,131]. W związku z tym remisja choroby pozostaje nadal trudna do przewidzenia.

W przedstawionej pracy ewolucję objawów klinicznych CM przeprowadzono w oparciu o badania własne obejmujące 55 przypadków mastocytozy u dzieci, u których przebieg choroby monitorowano przez okres ≥ 10 lat. Do badania włączono chorych z MPCM i DCM. Dzieci z mastocytoma skóry nie zostały objęte monitorowaniem, ponieważ zarówno z obserwacji własnych, jak i z danych literaturowych jednoznacznie wynika, że mastocytoma jest najłagodniejszą postacią kliniczną CM, która ustępującą samoistnie [4,133,134]. Analizując ewolucję zmian skórnych wzięliśmy pod uwagę rozległość zmian, ich pigmentację oraz wyniosłość. W całej grupie badanej obserwowaliśmy tendencję do poprawy stanu miejscowego, polegającą na redukcji rozległości zmian skórnych, pigmentacji oraz wyniosłości wykwitów w czasie ≥ 10 -letniej obserwacji. Co ciekawe, u dzieci z DCM obserwowaliśmy słabszą tendencję do redukcji pigmentacji zmian skórnych. Aspekt ten jest istotny klinicznie, bowiem ciemniejszy koloryt zmian skórnych u części chorych może nie być akceptowany i prowadzi do obniżenia jakości życia chorych. Badacze Matito i wsp., stwierdzili iż często u dzieci z DCM, po okresie dojrzewania utrzymuje się pogrubienie skóry, określone jako *cutis laxa-like* lub pachydermia [4,13]. Do innych stosowanych w literaturze określeń dotyczących nacieczenia skóry w DCM należą: *leathery*, *peau d'orange*, *crocodile-like* *pachydermia* lub *elephant skin* [13,135]. Utrzymujące się pogrubienie skóry zajętej procesem chorobowym obserwowano również u 5 naszych chorych na DCM, u których wyniosłość zmian skórnych w wieku ≥ 8 lat oceniono na umiarkowane (stopień 2) lub o dużym nasileniu (stopień 3). W literaturze, ewolucję oraz remisję zmian skórnych oceniano przede wszystkim na podstawie zmian rozległości powierzchni zajętej skóry [3,106,107,125]. Szczegółową analizę zmian skórnych podjęli jedynie badacze Wiechers i wsp., którzy oceniali morfologię i dystrybucję wykwitów skórnych u chorych na MPCM, dzieląc wykwitów pod względem wielkości ($<1\text{cm}$ lub $>1\text{cm}$), kształtu (owalny lub policykliczny), brzegu (ostry lub niewyraźny) oraz wyniosłości (płaskie lub wyniosłe) [106]. Pod uwagę brano obecność danej cechy, natomiast nie uwzględniano nasilenia. W pracy tej stwierdzono iż duże wykwitów ($>1\text{cm}$) w MPCM wiążą się z łagodniejszym przebiegiem klinicznym polegającym na krótszym czasie trwania choroby, częstszej remisji oraz niższym stężeniu tryptazy w surowicy [106]. W naszej pracy oprócz rozległości zmian skórnych oceniliśmy pigmentację i wyniosłość zmian skórnych u każdego dziecka na wizytach kontrolnych przez cały okres obserwacji. W związku z brakiem prac, podobnie uwzględniających te trzy parametry, nie można było porównać naszych wyników z obserwacjami innych badaczy.

Biorąc pod uwagę fakt, że na obraz kliniczny mastocytozy wpływają zarówno skórne, jak i narządowe objawy zależne od mediatorów uwalnianych przez mastocyty, oceniliśmy częstość i nasilenie występowania tych objawów, u monitorowanych przez

nas dzieci z uwzględnieniem postaci klinicznych MPCM i DCM. Analizie poddano ewolucję skórnych objawów zależnych od mediatorów takich jak: świąd skóry, *flushing* oraz zmiany pęcherzowe w czasie ≥ 10 -letniego okresu obserwacji. Najczęstszym skórny objawem zależnym od mediatorów był świąd skóry, który występował u 54,5% dzieci, na drugim miejscu były zmiany pęcherzowe obecne u 41,8% badanych, natomiast najrzadziej występował objaw *flushing*, który stwierdzono u 27,3% dzieci. W pracy Meni i wsp. opartej na analizie danych literaturowych 1747 przypadków mastocytozy u dzieci, stwierdzono częstość występowania skórnych objawów zależnych od mediatorów zbliżoną do obserwowanej w naszym materiale; świąd skóry, obecny był u 48%, zmiany pęcherzowe stwierdzano u 34,5%, a objaw *flushing* pojawiał się u 24,5% badanych dzieci [3].

Przeprowadzone przez nas badania oraz liczne dane literaturowe zgodnie wskazują, iż świąd skóry jest najczęstszym objawem zależnym od mediatorów. Częstość występowania świądu w populacji dzieci z CM szacuje się na 48%-88% [3,42-44,104,107,125]. Występowanie tego objawu jest zależne m.in. od takich mediatorów mastocytów jak: histamina, interleukina 31 oraz tryptaza [136-138]. Ocena świądu skóry u noworodków i niemowląt jest szczególnie trudna, opiera się na relacji rodziców, obserwacji zachowania dziecka podczas badania i obecności przeczosów. W związku z tym posłużono się uproszczoną skalą 0-3 i nie zastosowano do pomiaru tego objawu powszechnie używanej skali VAS [138,139]. Stwierdziliśmy, że w grupie badanej, świąd skóry był istotnie statystycznie częstszy w DCM (występował u 100% dzieci) niż w MPCM (38% dzieci) wieku ≤ 3 roku życia. W pracy hiszpańskich badaczy, świąd skóry obecny był u 79% dzieci z CM, przy czym podobnie jak u naszych chorych na DCM świąd skóry występował u wszystkich badanych. natomiast w MPCM u 74%, przy czym dzieci były wieku od 1 miesiąca życia do 10 lat [43]. W naszym badaniu nasilenie świądu skóry zmniejszało się istotnie w okresie monitorowania zarówno u dzieci z MPCM jak i DCM, przy czym tendencja do remisji tych objawów była wyraźniejsza u dzieci z MPCM niż DCM.

Typowym dla mastocytozy dziecięcej objawem jest występowanie zmian pęcherzowych obserwowane zazwyczaj do 2 roku życia, które stopniowo wygasają u dzieci starszych [4,13,51,52]. W odróżnieniu do innych objawów zależnych od mediatorów, zmiany pęcherzowe występują wyłącznie w populacji dziecięcej z mastocytozą, w związku z czym są najbardziej typowym objawem CM u dzieci [13]. Uogólnione, nawracające zmiany pęcherzowe są charakterystyczne dla dzieci z rozległym zajęciem skóry, a zwłaszcza dla dzieci z DCM [13]. Zmiany pęcherzowe mogą być wywołane mechanicznym drażnieniem skóry lub mogą tworzyć się spontanicznie [4,13,140]. U części chorych zmiany pęcherzowe mają charakter dużych, krwotocznych pęcherzy, natomiast u innych dzieci dominują drobnopęcherzykowe zmiany na podłożu erytreodermii [52,97,135]. Podnaskórkowe pęcherze u dzieci z CM, powstają poprzez działania proteolityczne proteaz serynowych uwalnianych z mastocytów, które oddzielają naskórek od blaszki jasnej (*lamina lucida*) wchodzącej w skład błony podstawnej [135]. W czasie wysiewu masywnych zmian pęcherzowych mogą pojawić się inne objawy zależne od mediatorów takie jak objaw *flushing*, wymioty, biegunki czy hipotensja [13,43,52]. Nasilone zmiany pęcherzowe w okresie noworodkowym i niemowlęcym, dominują w obrazie klinicznym i często się powodem hospitalizacji dzieci. Biorąc pod uwagę brak typowych dla CM zmian plamisto-grudkowych sugerujących rozpoznanie CM oraz rzadkie występowanie DCM, nie dziwi fakt, iż zmiany pęcherzowe u niemowląt z DCM stanowią trudny problem diagnostyczny

[52]. W diagnostyce różnicowej bierze się pod uwagę gronkowcowy zespół oparzonej skóry (*Staphylococcal scaled skin syndrome*, SSSS), wrodzone pęcherzowe oddzielanie się naskórka (*Epidermolysis Bullosa*, EB) czy liszajec zakaźny (*impetigo bullosa*) [52,97,135,141]. W różnicowaniu pomocne jest współwystępowanie ze zmianami pęcherzowymi innych objawów zależnych od mediatorów, co dobrze dokumentują opisy przypadków DCM opublikowane przez polskich autorów [51,52,142]. Z analizy danych literaturowych obejmujących 1747 przypadków mastocytozy u dzieci wynika, występowanie zmian pęcherzowych dotyczy 34,5% oraz częściej występuje w grupie DCM niż MPCM [3]. W naszym materiale zmiany pęcherzowe występowały u 41,8% dzieci w grupie wiekowej ≤ 3 roku życia oraz u 18,2% dzieci do 7 roku życia. Podobnie jak to stwierdzali inni badacze częściej dotyczyły one dzieci z DCM niż z MPCM. W naszej grupie badanej 3 dzieci z DCM wymagało hospitalizacji w okresie noworodkowym z powodu masywnych zmian pęcherzowych oraz rozległych nadżerek. Zmiany pęcherzowe mogą występować również w przebiegu MPCM i mastocytoma [4]. U żadnego z ocenianych przez nas dzieci chorujących na MPCM zmiany pęcherzowe nie miały tak dużego nasilenia jak w DCM i nie wymagały hospitalizacji.

Objaw *flushing* charakteryzujący się nagłym, zlewnym rumieniem obejmującym zwykle twarz, szyję oraz mogący się rozszerzyć na całą powierzchnię skóry, występuje u 12%-65% dzieci z CM [3,42,107,125]. W naszej grupie badanej objaw *flushing* był stwierdzany u 20%-27,3% dzieci, zależnie od grupy wiekowej. Stwierdziliśmy również, że objaw ten występował częściej u dzieci z DCM niż MPCM (75% vs 19% w najstarszej grupie wiekowej). *Flushing* wynika z rozszerzenia łożyska naczyń skóry pod wpływem mediatorów o działaniu wazodylatacyjnym, takich jak: histamina, prostaglandyny (np. PGD₂), serotonina, substancja P [13,64]. Niektórzy autorzy sugerują, iż występowanie objawu *flushing* może predysponować do rozwoju gwałtownych hipotensji, potencjalnie zagrażających życiu [13,143]. W naszej grupie badanej, *flushing* nie wiązał się z gwałtownymi hipotensjami. U żadnego dziecka nie było konieczności hospitalizacji lub zastosowania terapii ratunkowej z tego powodu. W czasie ≥ 10 -letniego okresu obserwacji nie stwierdziliśmy wyraźnego zmniejszenia częstości występowania i nasilenia objawu *flushing* u naszych chorych.

Przeprowadzone przez nas badania wskazują, że najczęstszym narządowym objawem zależnym od mediatorów były bóle brzucha występujące u 29,1% spośród 55 analizowanych przez nas dzieci. Rzadziej występowały biegunki 12,7%, bóle głowy 10,9%, hipotensja 9,1%, duszność 9,1%, a najrzadziej wstrząs anafilaktyczny, którego doświadczyło 3,6% chorych. W pracy Umer i wsp., opartej na analizie obrazu klinicznego CM 180 dzieci, narządowe objawy zależne od mediatorów występowały częściej niż u ocenianych przez nas chorych; bóle brzucha stwierdzano u 25%, biegunki u 15,6%, hipotensję u 12,8% oraz wstrząs anafilaktyczny u 12,5% dzieci [144]. Uzyskane przez nas wyniki, dotyczące ewolucji tych objawów, warto porównać przede wszystkim z obserwacjami francuskich badaczy Méni i wsp., którzy monitorowali przebieg kliniczny CM u 53 dzieci przez okres 13 lat. Warto podkreślić, że analizowana przez nich grupa jest dość zbliżona do badanej przez nas grupy pod względem liczebności i wieku chorych [107]. Méni i wsp. stwierdzili, że najczęstszymi objawami narządowymi w ciągu pierwszych pięciu lat obserwacji, były biegunki (30%) oraz bóle brzucha (25%), które u badanych przez nas dzieci poniżej 3 roku życia również należały do najczęstszych objawów, jednak w naszym materiale objawy te występowały znacznie rzadziej (odpowiednio 3,6% i 9,1%) [107]. Francuscy badacze stwierdzili również, że podczas ponownej oceny dzieci po okresie obserwacji, najczęstszym

objawem narządowym były bóle głowy (37%) oraz omdlenia (17%) [107]. W badanej przez nas grupie, podobnie jak w cytowanej pracy, częstość występowania bólów głowy zwiększała się z wiekiem badanych dzieci, jednak stwierdzaliśmy ten objaw u mniejszego odsetka chorych. W naszym materiale w grupie dzieci w wieku ≥ 8 roku życia bóle głowy zgłaszało 5 (9,1%) chorych oraz nie występowały omdlenia. Warto zauważyć, że u starszych dzieci Méni i wsp. nie raportowali objawów ze strony przewodu pokarmowego, duszności i reakcji anafilaktycznych, identycznie jak to miało miejsce u badanych przez nas dzieci w wieku ≥ 8 rok życia. Zarówno obserwacje własne, jak i dane literaturowe pozwalają zatem wnioskować, że częstość występowania narządowych objawów związanych z działaniem mediatorów jest zależna od wieku dzieci chorujących na CM. W naszym materiale nasilenie objawów narządowych, poza wstrząsem anafilaktycznym, było u większości dzieci (95,1%) oceniane jako łagodne i umiarkowane. Jedynie u jednego dziecka nasilenie biegunek oraz u jednego dziecka nasilenie duszności oceniono jako duże. W odróżnieniu od skórnych objawów zależnych od mediatorów, nie stwierdziliśmy istotnego zmniejszania nasilenia i częstości narządowych objawów w okresie obserwacji.

Barnes i wsp. w badaniu obejmującym dzieci z MPCM, stwierdzili dodatnią korelację pomiędzy liczbą zmian skórnych a narządowymi objawami zależnymi od mediatorów oraz pomiędzy liczbą objawów skórnych a liczbą narządowych objawów zależnych od mediatorów [42]. Odmiennie wyniki uzyskali Brockow i wsp., którzy nie stwierdzili korelacji pomiędzy powierzchnią zajętej skóry a występowaniem narządowych objawów zależnych od mediatorów [145]. W naszej pracy u dzieci z bardzo rozległymi zmianami skórnymi w przebiegu DCM istotnie częściej stwierdzano skórne objawy zależne od mediatorów, natomiast nie stwierdzono tej zależności w odniesieniu do narządowych objawów zależnych od mediatorów.

Z przeprowadzonych przez nas badań wynika, że wstrząs anafilaktyczny wystąpił u 3,6% chorych spośród 55 badanych grupy I, co odpowiada częstości występowania tego objawu u dzieci chorujących na mastocytozę. Dane literaturowe wskazują bowiem, że wstrząs jest raportowany 5-10% tych dzieci, przy czym w DCM istnieje większe ryzyko wystąpienia tego objawu niż w MPCM [3,4,13,41-44,47,52]. U dzieci chorujących na mastocytoma skóry wstrząs nie był dotychczas opisywany. Z licznych publikacji wynika, że reakcje anafilaktyczne dotyczą przede wszystkim dzieci z rozległym zajęciem skóry (powyżej 40% powierzchni ciała) oraz wysokim stężeniem tryptazy w surowicy [38,41-44,51,52]. Warto jednak zauważyć, że ciężka reakcja anafilaktyczna może wystąpić również u dzieci bez powyższych czynników ryzyka, co pokazuje praca Lange i wsp.[17]. W analizowanej przez nich grupie 102 dzieci wstrząs anafilaktyczny wystąpił u 2 chorych na MPCM, u których stężenie tryptazy było w zakresie normy, przy czym u żadnego dziecka ze stężeniem tryptazy >30 ng/ml nie odnotowano zagrażających życiu reakcji anafilaktycznych [17]. Dane te wskazują iż, masywne zajęcie skóry oraz wysokie stężenie tryptazy stanowią jedynie czynniki ryzyka reakcji anafilaktycznych. Wystąpienie anafilaksji u dzieci z mastocytozą pozostaje trudne do przewidzenia [17].

W grupie badanej I wstrząs anafilaktyczny wystąpił u 2 dzieci chorujących na DCM (chłopca i dziewczynki). U chłopca wstrząs anafilaktyczny wystąpił w 1 roku życia po ekspozycji na amoksycylinę z kwasem klawulanowym oraz ponownie po ekspozycji na radiologiczne środki kontrastowe w 4 roku życia. Przez cały okres obserwacji u obydwójga dzieci stwierdzano podwyższone stężenie tryptazy w surowicy. W grupie

badanej II wstrząs anafilaktyczny wystąpił u 5 (15,6%) dzieci, u których rozpoznano DCM. Większa częstość wystąpienia tego objawu w grupie II niż w grupie I może być związana z faktem, że do grupy II włączono wyłącznie dzieci z rozległymi zmianami skórnymi. Czynnikiem indukującym ciężkie reakcje anafilaktyczne w grupie II były u 2 dzieci leki (amoksycylina, ketamina) oraz radiologiczny środek kontrastowy, a u 3 chorych nie zidentyfikowano czynnika wyzwalającego wstrząs anafilaktyczny. Z danych literaturowych wynika, że leki stosunkowo rzadko stanowią czynniki prowokujące wystąpienie reakcji anafilaktycznych zarówno w populacji dorosłych, jak i dzieci chorujących na mastocytozę. Anafilaksja u dzieci z mastocytozą jest najczęściej spowodowana nieznanym czynnikiem (60% epizodów), rzadziej jest indukowana przez pokarmy, ekspozycję na zimną wodę, szczepienie, jady owadów błonkoskrzydłych oraz leki [6,37-39,51,52]. Spośród 5 dzieci grupy II, u których wystąpił wstrząs anafilaktyczny, tylko u jednego dziecka stwierdzono mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Przegląd danych literaturowych wskazuje, że dotychczas nie badano związku pomiędzy obecnością mutacji genu *KIT* zarówno we krwi obwodowej, a częstością występowania anafilaksji u dzieci. Co ciekawe, u dorosłych z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej i szpiku kostnym, anafilaksję stwierdzono u 35,4% chorych [146]. W pracy tej nie wykazano różnicy pomiędzy chorymi z epizodem anafilaksji oraz u chorych bez tej reakcji pod względem frakcji komórek z obecną mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej [146].

Alvarez-Twoose i wsp. wykazali, że stężenie tryptazy w surowicy koreluje z rozległością zmian skórnych [44]. Nasze wyniki są zgodne z tym doniesieniem, gdyż przez cały okres obserwacji u dzieci z DCM stwierdzono istotnie wyższe stężenie tryptazy w surowicy w porównaniu do dzieci z MPCM. Ponadto niezależnie od postaci klinicznej, u wszystkich badanych dzieci występowała korelacja pomiędzy powierzchnią zajętej skóry a stężeniem tryptazy w surowicy. Alvarez-Twoose i wsp. na podstawie analizy za pomocą krzywej ROC wyznaczyli punkt odcięcia stężenia tryptazy wynoszący 30,8 ng/ml, powyżej którego istnieje większe ryzyko hospitalizacji dzieci na oddziale intensywnej terapii z powodu ciężkich reakcji anafilaktycznych. Tym samym, wspomniani badacze zwrócili szczególną uwagę na praktyczne znaczenie monitorowania stężenia tryptazy w surowicy, umożliwiające indywidualny dobór środków prewencji anafilaksji i terapii antymediatorowej. Zalecają podjęcie wczesnej intensywnej terapii antymediatorowej u dzieci, u których na podstawie masywnego zajęcia skóry oraz stężenia tryptazy powyżej 16 ng/ml, istnieje podwyższone ryzyko wystąpienia ciężkich reakcji anafilaktycznych [44].

Stopień remisji rozległości zmian skórnych oceniliśmy w podgrupie 39 dzieci wyłonionej z grupy I, w celu uzyskania jednolitego charakteru tej podgrupy pod względem wieku, w którym miał miejsce początek choroby (pierwszy roku życia) oraz okresu obserwacji (≥ 10 lat). Stopień remisji oceniono na podstawie danych uzyskanych z oceny nasilenia choroby na pierwszej wizycie względem ostatniej wizyty po 10 latach obserwacji. Całkowitą remisję (*complete remission*, CR) zmian skórnych po 10 latach obserwacji stwierdzono jedynie u 10,3% dzieci. U 41,1% dzieci obserwowano remisję w stopniu zdecydowanym (*major remission*, MR) definiowaną jako redukcję ponad 50% zmian skórnych oraz u 30,8% dzieci stwierdzono częściową remisję (*partial remission*, PR) oznaczającą redukcję zmian skórnych o 10%-50%. Brak remisji (*no remission*, NR) zmian skórnych miał miejsce u 17,9% dzieci naszej podgrupy. Na podstawie danych literaturowych, dotyczących remisji zmian skórnych u dzieci chorujących na mastocytozę, występowanie całkowitej remisji zmian skórnych szacuje

się na 5,6% – 56% przy czym okres obserwacji jest zróżnicowany i wynosi od 1 do 15 lat [3,107,124,125,130]. Méni i wsp. przeanalizowali remisję mastocytozy skóry u 621 dzieci opisywanych w literaturze, stwierdzając remisję zmian skórnych u 67% badanych, w tym CR obserwowana była u 28% dzieci natomiast MR i PR u 39% dzieci po medianie okresu obserwacji trwającej 6 lat [3]. W kolejnej pracy ci sami badacze ocenili materiał francuskiego ośrodka badań nad mastocytozą obejmujący 53 przypadki CM [107]. Po 13-letnim okresie obserwacji, CR zmian skórnych wystąpiła jedynie u 5,6% dzieci, MR i PR remisja odpowiednio u 34% i 30% dzieci, a stabilizacja lub pogorszenie (NR) dotyczyło u 30% chorych. W porównaniu do naszych wyników grupie badanej przez Méni i wsp. MR i PR występowały ze zbliżoną częstością, natomiast CR stwierdzano rzadziej (5,6% vs. 10,3%) a NR (30% vs. 17,9%) częściej. Różnice te mogą wynikać nie tylko z nieznacznie dłuższego okresu monitorowania grupy francuskiej ale także z faktu, że obserwowaliśmy dzieci z DCM i MPCM, a Méni i wsp. dzieci z MPCM i DCM i mastocytoma. W pracy tureckich badaczy, Ertugrula i wsp., oceniających dzieci z MPCM oraz mastocytoma, CR stwierdzono u 10 (31,2%) dzieci, natomiast NR stwierdzono u 11 (34,3%) dzieci monitorowanych przez okres 3 lat [125]. Uzzamann i wsp. stwierdzili CR zmian skórnych u 67% dzieci po okresie obserwacji trwającym 20 lat, co stanowi najdłuższy opublikowany dotychczas okres monitorowania, jednak oceniana grupa była mała; liczyła 15 dzieci, w tym 13 z MPCM i 2 z DCM [104]. W pracy Sotlara i wsp. CR dotyczyła 45% dzieci po 15-letnim okresie obserwacji, przy liczebności całej grupy wynoszącej 20 dzieci chorujących na MPCM [82]. Analizując stopień remisji rozległości zmian skórnych u dzieci z MPCM i DCM, zaobserwowaliśmy, że CR i MR obecna była wyłącznie w grupie MPCM, natomiast w grupie DCM u większości chorych (85,7%) obserwowano jedynie PR oraz u 1 dziecka brak remisji. Badacze Le i wsp. ocenili iż remisja zmian skórnych dotyczy wyłącznie mastocytozy skóry postaci MPCM oraz mastocytoma i wynosi 10% na rok, przy czym w grupie DCM oraz SM nie stwierdzono tendencji do remisji zmian skórnych [124]. W pracy Lange i wsp. przedstawiono przypadek 22-letniego chorego z DCM, z początkiem choroby w 3 miesiącu życia, u którego nie obserwowano remisji zmian skórnych [52]. Ze względu na rzadkie występowanie DCM i niewielką liczbę prac poświęconych ocenie remisji choroby, rzeczywista tendencja do poprawy jest trudna do określenia [3,107,124]. Warto w tym miejscu zaznaczyć, że w ocenie remisji CM istotna jest nie tylko powierzchnia skóry objętej procesem chorobowym ale także nasilenie pigmentacji, wyniosłości, występowania pęcherzy, świądu i objawu *flushing*, co zostało uwzględnione w naszym badaniu. W podgrupie dzieci (n=39), w której oceniliśmy remisję, poddaliśmy analizie wpływ czynników takich jak: płeć, postać kliniczna, maksymalne stężenie tryptazy w surowicy, na stopień remisji rozległości zmian skórnych. Całkowita (CR) i zdecydowana remisja (MR) rozległości zmian skórnych istotnie częściej obserwowana była u dzieci z MPCM oraz istotnie częściej u dzieci, u których maksymalne stężenie tryptazy w surowicy nie przekraczało granicy normy ($\leq 11,4$ ng/ml). U dzieci z DCM oraz stężeniem tryptazy powyżej 20 ng/ml częściej obserwowano tylko PR lub brak remisji NR. Nie stwierdziliśmy istotnego związku pomiędzy stopniem remisji zmian skórnych a płcią. Nie uwzględniliśmy wieku, w którym miał miejsce początek choroby, gdyż do badanej podgrupy włączone zostały dzieci z początkiem choroby do 1 roku życia. Analizę wpływu czynników demograficznych i klinicznych na remisję zmian skórnych przeprowadzili także Méni i wsp., którzy wykazali, że początek choroby powyżej 2 roku życia wiązał się z dłuższym czasem trwania choroby oraz większym ryzykiem braku remisji choroby oraz progresji. Nie stwierdzili oni związku pomiędzy stopniem remisji a płcią oraz postacią kliniczną CM [107].

5.2. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ GENETYCZNYCH

W przedstawionej pracy analizie poddano wartość diagnostyczną i prognostyczną mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci. Mutacja D816V genu *KIT* odgrywa kluczową rolę w patogenezie mastocytozy, prowadzi bowiem do stałej aktywacji białka receptorowego KIT, co powoduje niekontrolowaną proliferację klonalnych mastocytów. Stwierdzenie obecności tej mutacji w szpiku kostnym lub innych tkankach poza skórą, stanowi kryterium mniejsze rozpoznania SM [1,10-12,16]. Dotychczas badanie to wykonywano jedynie w szpiku kostnym. Od kilku lat badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wprowadzono do diagnostyki SM u dorosłych [1,11,16,18,20,32,80]. W 2018 roku opublikowano wyniki pierwszego na świecie badania tej mutacji we krwi obwodowej u dzieci ze wszystkimi postaciami klinicznymi CM i zaproponowano włączenie tego badania do algorytmu diagnostycznego mastocytozy u chorych pediatrycznych [105]. Celem ustalenia znaczenia mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci w diagnostyce i rokowaniu, podjęliśmy badania nad obrazem klinicznym i naturalnym przebiegiem choroby u 32 dzieci stanowiących grupę badaną II. Do grupy tej zostały włączone wyłącznie dzieci, u których powierzchnia zajętej procesem chorobowym skóry była powyżej 50% powierzchni skóry.

Analiza częstości występowania skórnych i narządowych objawów zależnych od mediatorów wykazała, że świąd skóry dotyczył 43,8% chorych, objaw *flushing* 53,1%, zmiany pęcherzowe 71,9%, hipotensja 15,6%, ból brzucha 12,5%, biegunki 12,5% oraz wstrząs anafilaktyczny 15,6% grupy badanej II. Nie stwierdziliśmy istotnej różnicy pod względem częstości objawów zależnych od mediatorów pomiędzy dziećmi z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej a dziećmi bez tej mutacji. Może to wynikać ze specyfiki badanej grupy, gdyż wszystkie dzieci należące do tej grupy posiadały rozległe zmiany skórne. Jak pokazują dane literaturowe, u dzieci z masywnym zajęciem skóry częściej występują objawy zależne od mediatorów [41,43,51]. W naszym materiale nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy dziećmi z mutacją D816V genu *KIT* i bez tej mutacji pod względem początku choroby, płci oraz postaci klinicznej CM. Stwierdziliśmy, że wariant monomorficzny MPCM istotnie częściej występował w grupie dzieci z mutacją D816V genu *KIT* niż u dzieci bez tej mutacji (78% vs. 22%). Co więcej, u żadnego dziecka z wariantem polimorficznym MPCM, nie stwierdzono mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Warto zauważyć, że trzech chorych z MPCM, u których doszło do progresji do SM, prezentowało zmiany skórne odpowiadające monomorficznemu wariantowi MPCM. W świetle danych literaturowych wariant monomorficzny MPCM dominuje u chorych z początkiem choroby w wieku dorosłym i jest markerowym objawem SM u dorosłych, gdyż występuje u 95% chorych z indolentną SM [4,13,24]. Wiechers i wsp., stwierdzili, iż małe wykwity skórne (<1cm), odpowiadające postaci monomorficznej MPCM, istotnie częściej obserwuje się u dzieci z podwyższonym stężeniem tryptazy w surowicy oraz wiążą się z mniej pomyślnym rokowaniem niż duże zmiany typowe dla postaci polimorficznej MPCM [106]. Uzyskane przez nas wyniki sugerują, iż wariant monomorficzny MPCM u dzieci może wskazywać na podwyższone ryzyko rozwoju SM, jednak grupa badana jest zbyt mała by sformułować taki wniosek.

W ocenianym przez nas materiale obecność mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej nie korelowała z wyższym stężeniem tryptazy w surowicy w czasie monitorowania. Co istotne, u dzieci bez mutacji D816V genu *KIT* stężenie tryptazy

w surowicy istotnie obniżało się w czasie obserwacji, natomiast w grupie dzieci z mutacją D816V genu *KIT* stężenie tryptazy nie wykazywało tendencji spadkowej. Wynik ten sugeruje, iż monitorowanie stężenia tryptazy jest pod względem znaczenia klinicznego ważniejsze niż pojedyncze oznaczenie stężenia tego enzymu w okresie obserwacji. Co istotne, Carter i wsp. stwierdzają iż samo podwyższone stężenie tryptazy w surowicy nie stanowi wskazania do biopsji szpiku u dzieci przy czym zwracają uwagę na fakt, iż wzrost stężenia tryptazy może być związany z progresją choroby [16]. Z obserwacji prowadzonych przed wprowadzeniem do diagnostyki SM u dzieci badania genetycznego krwi obwodowej wynikało, że na organomegalia jest najbardziej użytecznym czynnikiem predykcyjnym zajęcia szpiku kostnego w przebiegu SM [16,44]. W naszej grupie badanej powiększenie wątroby o charakterze przejściowym, bez upośledzenia funkcji tego narządu stwierdzono u 15,6% dzieci, a przejściowe powiększenie śledziony również bez upośledzenia funkcji tego narządu obserwowano u 6,2% dzieci, przy czym organomegalia nie występowała z istotnie większą częstością u dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej ani u dzieci z SM. Warto zauważyć, że jednoczesne powiększenie śledziony i wątroby, obserwowano u jednego dziecka z naszych dzieci, u którego ostatecznie rozpoznano SSM (*smoldering systemic mastocytosis*), ze względu na obecność dwóch objawów z grupy B takich jak stężenie tryptazy >200 ng/ml, oraz organomegalia bez upośledzenia funkcji tych narządów. Z analizy opisów przypadków SM u dzieci z ostatnich 10 lat wynika, że hepatosplenomegalia występowała u 41% chorych, splenomegalia u 24%, natomiast nie stwierdzono izolowanego powiększenia wątroby u żadnego dziecka z SM [102,108-122].

Przeprowadzone przed 2018 r. badania genetyczne u dzieci chorujących na mastocytozę dotyczyły przede wszystkim skóry. W 2010 r. Bodemer i wsp. na podstawie badania genetycznego ze zmian skórnych wykazali, że mastocytoza u dzieci jest klonalną chorobą związaną z aktywującymi mutacjami protoonkogenu *KIT*, w tym typową mutacją D816V genu *KIT* w eksonie 17 stwierdzaną w 36% przypadków oraz innymi mutacjami genu *KIT* poza eksonem 17 [81]. Warto w tym miejscu zaznaczyć, że stwierdzenie mutacji D816V genu *KIT* w skórze nie stanowi kryterium diagnostycznego SM. Populacja dzieci z CM cechuje się zdecydowanie rzadszym występowaniem mutacji D816V genu *KIT* niż ma to miejsce w populacji dorosłych, u których mutacja ta jest obecna niemal u wszystkich chorych [1,3,4,80,81]. Co więcej, populacja pediatryczna CM wyróżnia się obecnością aktywujących mutacji genu *KIT* w eksonach 8, 9 czy 11 lub prawidłową sekwencją genu (sekwencja typu dzikiego; *wild-type sequence*) [4]. Meni i wsp. przeprowadzili sekwencjonowanie całego genu *KIT* z DNA uzyskanego z bioptatów skóry 53 dzieci z CM [107]. Mutację genu *KIT* w eksonie 17 (D816V lub inną mutację) stwierdzono u 50% badanych, poza eksonem 17 (w eksonie 8, 9, 11) wykryto u 47%, zaś sekwencja typu dzikiego (*wild-type sequence*) występowała u 13% badanych [107]. Autorzy ci porównali przebieg kliniczny CM z typem mutacji genu *KIT* i stwierdzili, iż obecność sekwencji typu dzikiego, statystycznie częściej była stwierdzana u dzieci z późnym początkiem choroby > 2 roku życia [107]. Nie stwierdzono statystycznie istotnego związku pomiędzy typem mutacji genu *KIT* w skórze a postacią kliniczną CM, płcią, wywiadem rodzinnym w kierunku mastocytozy, wariantem klinicznym MPCM, stopniem remisji zmian skórnych ani objawów zależnych od mediatorów [107]. Jednak w porównaniu do innych mutacji, sekwencja typu dzikiego stwierdzana była u ponad połowy chorych (52%) którzy nie wykazywali remisji choroby (stwierdzono stabilizację lub regresję

choroby). Badacze Méni i wsp, wysunęli wniosek iż sekwencja typu dzikiego (*wild-type sequence*) w skórze, może stanowić niekorzystny czynnik rokowniczy [107]. Ograniczeniem omawianej powyżej pracy, był brak oceny szpiku kostnego. Nie sprawdzono również kryteriów diagnostycznych SM u badanych dzieci, w tym badania mutacji D816V genu *KIT* w szpiku lub krwi obwodowej [107]. Warto dodać, iż obecność mutacji D816V genu *KIT* w skórze nie jest kryterium rozpoznania SM. W analizie danych literaturowych, dokonanej wcześniej przez badaczy Méni i wsp. nie stwierdzono jednoznacznego związku pomiędzy mutacjami genu *KIT* w skórze z remisją choroby, wariantem klinicznym MPCM oraz przebiegiem klinicznym CM [3].

W odróżnieniu do populacji chorych z SM, czynniki prognostyczne u dzieci chorujących na mastocytozę są nadal bardzo słabo poznane. Do niekorzystnych czynników prognostycznych w SM należą: brak zajęcia skóry, obecność mutacji D816V genu *KIT* w wielu liniach komórkowych szpiku, obecność mutacji w genach innych niż *KIT* (takich jak: *SRSF2*, *ASXL1*, *RUNX1*), podwyższone stężenie β 2-mikroglobuliny oraz podwyższone stężenie fosfatazy alkalicznej w surowicy [79,89,98,147]. W 2019 roku, badacze Sperr i wsp., opublikowali pracę, w której zdeterminowano nowe niezależne czynniki niekorzystne rokowniczo w SM, odrębnie dla grupy niezaawansowanych postaci SM (wiek \geq 60 rok życia, stężenie fosfatazy alkalicznej \geq 100 U/L) oraz dla grupy zaawansowanych postaci SM (wiek \geq 60 rok życia, stężenie tryptazy w surowicy \geq 125 ng/ml, odchylenia w morfologii krwi: hemoglobina \leq 11 g/l, leukocyty \geq $16 \times 10^9/l$, płytki krwi \geq $100 \times 10^9/l$ oraz brak zajęcia skóry) [98]. Na podstawie tych parametrów, wspomniani badacze utworzyli prosty system oceny prognostycznej chorych z SM, nazwany IPSM (*International Prognostic Scoring System for Mastocytosis*) [98]. W literaturze światowej brak dotychczas podobnych analiz dotyczących populacji pediatrycznej. W związku z tym, podjęliśmy próbę oceny wartości prognostycznej badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, w grupie 32 dzieci z masywnym zajęciem skóry, gdyż u większości tych chorych występują objawy zależne od mediatorów i stężenie tryptazy zwykle utrzymuje się na podwyższonym poziomie. Do chwili obecnej opublikowano tylko jedną pracę, w której stwierdzono obecność mutacji genu *KIT* we krwi obwodowej u 42 (64,62%) spośród 65 dzieci ze skórными objawami mastocytozy [105]. Badacze amerykańscy Carter i wsp. we wspomnianej pracy stwierdzili iż obecność mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wiąże się ze znacznym ryzykiem rozwoju SM [105]. Nasze obserwacje są zgodne z powyższym wnioskiem. Progresję do SM istotnie częściej stwierdziliśmy w grupie dzieci z obecną mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, niż u dzieci bez tej mutacji. W odróżnieniu od naszej grupy, Carter i wsp. detekcję mutacji przeprowadzili u dzieci z MPCM, DCM, mastocytoma, ISM oraz u chorych z podejrzeniem SM [105]. Badacze ci zaproponowali nowy algorytm diagnostyczny mastocytozy dziecięcej, w którym proponują wykonanie badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej tylko u dzieci organomegalią, podwyższonym stężeniem tryptazy w surowicy i nasilonymi objawami choroby [105]. Jeszcze przed opublikowaniem tego algorytmu podjęliśmy decyzję o przeprowadzeniu badania genetycznego krwi obwodowej jedynie u dzieci z ciężkim klinicznym przebiegiem choroby. Do naszej grupy badanej włączono tylko dzieci z DCM i z MPCM, u których zmiany skórne obejmowały ponad 50% powierzchni skóry. Stężenie tryptazy w surowicy oznaczone na pierwszej wizycie kontrolnej przekraczało normę u 28 (87,5%) dzieci spośród 32 badanych tej grupy, a organomegalię stwierdzono u 6 (19%) z nich. Mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej stwierdzono u 11 (34%) dzieci, w tym u 7 z MPCM oraz u 4 z DCM. U 5 dzieci z mutacją D816V

genu *KIT* we krwi obwodowej, u których poza tą mutacją istniały również inne wskazania do rozszerzenia diagnostyki, sprawdzono wszystkie kryteria diagnostyczne SM. U 4 z tych dzieci rozpoznano SM. Oceniliśmy stopień remisji choroby w grupie 32 dzieci u których wykonaliśmy badanie genetyczne, po okresie obserwacji trwającym od 2 do 11 lat (mediana 7 lat). Oceniając remisję mastocytozy skóry, w której uwzględniono rozległość zmian skórnych oraz skórne objawy zależne od mediatorów stwierdziliśmy, iż u żadnego dziecka nie doszło do całkowitej remisji (*complete remission*, CR). U 71,9% obserwowano zdecydowaną remisję (*major remission*, MR) lub częściową remisję (*partial remission*, PR) oraz u 28,1% brak remisji (*no remission*, NR). Większy odsetek braku remisji zmian skórnych w grupie II w porównaniu do grupy I (28,1% vs 17,9%), może wynikać z faktu, iż do grupy II włączone zostały dzieci o ciężkim przebiegu, ze zmianami skórnymi obejmującymi ponad 50% powierzchni skóry. U 85,7% dzieci bez mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej stwierdzono różnego stopnia remisję CM, natomiast u 54,5% dzieci z tą mutacją nie stwierdzono remisji (NR). Różnica w rozkładzie remisji u dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej oraz bez tej mutacji była istotna ($p = 0,035$), co sugeruje, że dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wykazują mniejszą tendencję do remisji skórnych objawów mastocytozy. Interpretując ten wynik należy jednak uwzględnić, że ograniczeniami naszej analizy są niejednorodny zakres obserwacji, stosunkowo krótki u części badanych. W związku z tym uważamy, że uzyskany przez nas wynik można uznać za obserwację wstępną. Rzeczywista ocena wartości prognostycznej badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wymaga bowiem dłuższego okresu obserwacji oraz zwiększenia liczebności badanej grupy. Wyniki zupełnie odmienne od uzyskanych przez nas i amerykańskich badaczy, otrzymali autorzy tureccy Ertugrul i wsp., którzy za pomocą metody PCR oraz sekwencjonowanej analizy całych regionów genu *KIT*, nie stwierdzili mutacji genu *KIT* w eksonach 8, 9, 11, 13 i 17 we krwi obwodowej u żadnego dziecka z CM [125]. Nie zalecają oni rutynowego oznaczania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej oraz sugerują że jest to badanie o małym znaczeniu diagnostycznym [125]. W kontekście uzyskanych przez nas wyników oraz obserwacji amerykańskich podzielamy opinie, że nie ma potrzeby wykonywania badania genetycznego krwi obwodowej u wszystkich dzieci ze skórnymi objawami mastocytozy. Carter i wsp. nie uzyskali pozytywnego wyniku mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u żadnego dziecka z mastocytozą ograniczoną wyłącznie do skóry (klinicznie manifestującą się jako MPCM, DCM oraz mastocytoma), a u dzieci z mutacją D816V genu *KIT*, które nie przeszły jeszcze pełnej diagnostyki w kierunku SM postawili rozpoznanie wstępne: prawdopodobna SM (*probable SM*) [105]. Nie możemy się zgodzić z twierdzeniem badaczy tureckich dotyczącym niewielkiego znaczenia diagnostycznego badania mutacji D816V genu *KIT*, gdyż przeczą temu wyniki badań własnych oraz obserwacje amerykańskiego ośrodka badań nad mastocytozą. W naszej grupie znalazło się troje dzieci, u których oceniono obecność mutacji D816V genu *KIT* zarówno we krwi obwodowej, jak i w szpiku kostnym. We wszystkich tych przypadkach stwierdzono spójne dodatnie wyniki. Ze względu na małą liczebność dzieci, u których oznaczono mutację we krwi obwodowej i w szpiku kostnym w naszym materiale ($n=3$), obserwacje te wymagają dalszych badań. Można przypuszczać, że w badanej w Turcji grupie 32 dzieci ze skórnymi objawami mastocytozy nie było chorych na SM, która jest rzadką postacią choroby w populacji dziecięcej [125]. Warto w tym miejscu nadmienić, że badacze duńscy Broesby-Olsen i wsp. ocenili ilościowe „obciążenie” komórek krwi obwodowej i szpiku kostnego mutacją D816V genu *KIT* i jego wpływ na przebieg kliniczny ISM u dorosłych chorych [146]. Stwierdzili oni statystycznie istotną korelację

pomiędzy „obciążeniem” mutacją komórek szpiku oraz krwi obwodowej ($r=0,9$; $p<0,001$) [146]. Badacze duńscy zwrócili także uwagę, że wysoki i zmienny udział frakcji komórek z obecną mutacją D816V genu *KIT* zarówno w szpiku kostnym, jak i krwi obwodowej wydaje się mieć mniejsze znaczenie w rozwoju objawów zależnych od mediatorów uwalnianych z mastocytów, gdyż zmutowane komórki prawdopodobnie nie mają zdolności dojrzałych mastocytów w zakresie wytwarzania mediatorów oraz degranulacji [146]. Dane literaturowe dotyczące wpływu mutacji D816V genu *KIT* na degranulację i indukcję objawów zależnych od mediatorów są sprzeczne. W niektórych pracach z ostatnich lat, stwierdzono iż aktywujące mutacje genu *KIT*, nie tylko promują proliferację mastocytów ale również wpływają na „uwarażliwienie” tych komórek, powodując większą tendencję do degranulacji [148–150]. W naszym badaniu nie stwierdzono istotnych różnic dotyczących częstości występowania objawów zależnych od mediatorów u dzieci KIT-dodatnich i KIT-ujemnych.

Badacze Kristensen i wsp. podkreślili znaczenie detekcji mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u chorych dorosłych ze stężeniem tryptazy < 20 ng/ml [23]. W opisywanej przez nich grupie chorych, detekcja mutacji D816V stanowi nowy, wysoce specyficzny marker SM [23]. Autorzy ci podkreślili, że detekcja mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej jest znacznie bardziej czułym testem diagnostycznym niż stężenie tryptazy > 20 ng/ml [23]. Podobny wniosek można wyciągnąć z naszego badania, bowiem nie stwierdziliśmy aby dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej częściej niż dzieci bez tej mutacji, posiadały podwyższone stężenie tryptazy. Naszą uwagę zwróciły jednak odmienne tendencje dotyczące spadku stężenia tryptazy w czasie obserwacji u dzieci KIT-dodatnich i KIT-ujemnych. W grupie dzieci z mutacją D816V genu *KIT* stężenie tryptazy w surowicy wykazywało stabilny poziom w okresie obserwacji, natomiast u dzieci bez tej mutacji stężenie tryptazy istotnie zmniejszało się w czasie. W pracy Lange i wsp. stwierdzono korelację pomiędzy stężeniem tryptazy a ciężkością przebiegu CM u dzieci oraz obniżanie się stężenia tryptazy z wiekiem u dzieci, u których następowała poprawa kliniczna [51]. Stężenie tryptazy w surowicy jest uznawane nie tylko za kryterium diagnostyczne SM ale służy również do monitorowania przebiegu choroby i oceny odpowiedzi na leczenie [1,12,16,17,19,22,43]. Utrzymywanie się podwyższonego stężenia tryptazy u dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej przemawia więc za mniejszą tendencją do remisji choroby u tych dzieci, co jest spójne z uzyskanymi przez nas wynikami dotyczącymi remisji.

Warto zwrócić uwagę na techniczne ograniczenia detekcji mutacji genu *KIT*, bowiem wykrycie tej mutacji zależy od zastosowanej metody oznaczenia oraz rodzaju badanego materiału. Pomimo znacznej przewagi w zakresie dostępności i pobierania materiału jakim jest krew żylna obwodowa w porównaniu do szpiku kostnego, detekcja mutacji we krwi obwodowej związana jest z pewnymi ograniczeniami. W przypadkach gdy obciążenie komórek krwi obwodowej mutacją jest niewielkie, mutacja ta może nie zostać wykryta, z uwagi na niewystarczającą czułość metody [8]. Metoda opracowana przez badaczy Kristensen i wsp. w 2011 roku, allelo-specyficzna amplifikacja PCR w czasie rzeczywistym (*allele-specific real-time quantitative PCR*, ASqPCR) umożliwiała ilościową ocenę obciążenia komórkami z mutacją w czasie rzeczywistym; test był pozytywny przy detekcji co najmniej 0.003% alleli z mutacją D816V genu *KIT* w komórkach szpiku kostnego oraz skóry [128]. Ponownie ci sami badacze, w 2014 r., zastosowali tę metodę do detekcji mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Do niekwestionowanych zalet tej metody należy fakt, że materiałem do badania może być

zarówno świeża jak i utrwalona próbka materiału, na przykład świeżo mrożona tkanka zatopiona w bloczku parafinowym, w przypadku biopsji skóry lub innego narządu [8]. Jest to metoda prosta, szybka, nie wymagająca dużych nakładów finansowych [8]. Kolejną zaletą tej metody jest ilościowa ocena obciążenia mutacją w badanym materiale, potencjalnie mogąca mieć znaczenie prognostyczne. W naszej pracy zastosowaliśmy technikę dokładnie wzorowaną na metodzie opracowanej przez badaczy Kristensen i wsp. [128], która od wielu lat jest stosowana w laboratorium Katedry Biologii i Genetyki Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w celu diagnostyki SM u dorosłych. Identyfikacja jak w Carter i wsp. w badaniach mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci za pozytywny wynik przyjęliśmy obecność $\geq 0,01\%$ zmutowanych alleli [105].

Metoda ASqPCR opracowana przez Kristensen i wsp. posiada pewne ograniczenia. ASqPCR pozwala na detekcję mutacji D816V genu *KIT*, jednak nie wykrywa innych mutacji tego genu. Badacze Falchi i wsp, sugerują, iż w przypadku podejrzenia SM, przy ujemnym wyniku mutacji D816V genu *KIT* uzyskanego za pomocą metody ASqPCR, powinny być rozważone pozostałe metody detekcji innych mutacji genu *KIT* na przykład: RT-PCR, RFLP lub D-HPLC [8]. W przypadku wyniku negatywnego wskazane być może sekwencjonowanie całego regionu kodującego dla genu *KIT* [8]. Jest to szczególnie ważne w przypadku doboru terapii u chorych z agresywnymi postaciami SM, gdyż inhibitory kinaz tyrozynowych *KIT* takich jak imatynib, nilotynib czy masitinib wykazują większą skuteczność w przypadku obecności innych niż D816V mutacji genu *KIT* [8,151]. Do innych technik detekcji mutacji genu *KIT* należą: RT-PCR, RFLP, RT-PCR, PNA-mediated PCR, jednak metody te nie oceniają ilościowego obciążenia krwi lub szpiku kostnego mutacją. W ciągu ostatnich kilku lat, zaproponowano nową cyfrową metodę digital droplet PCR, która jak opisują badacze Greiner i wsp. ma porównywalną do ASqPCR wartość detekcji i oceny obciążenia (kwatyfikacji) komórek mutacją D816V genu *KIT* oraz możliwością łatwej standaryzacji międzylaboratoryjnej [8,152].

Szacuje się, iż około 90% chorych dorosłych z SM jest obciążonych mutacją D816V genu *KIT* w szpiku kostnym [1,8,20,77,79]. Obecność mutacji D816V w komórkach innych niż mastocyty linii hemopoetycznych szpiku jest stwierdzana niemal we wszystkich przypadkach agresywnych postaci SM oraz u 25% chorych z ISM [72,77,153,154]. Stwierdzenie mutacji genu *KIT* w wielu liniach komórkowych szpiku kostnego innych niż mastocyty jest uznawane za najważniejszy czynnik progresji u chorych dorosłych z ISM [24,77-79,85,88,155,156]. W ostatnich latach pojawiły się prace, w których oceniono występowanie mutacji genu *KIT* w leukocytach krwi obwodowej u chorych dorosłych z ISM [18,19,73,128,146,155,157,158]. Kristensen i wsp, stwierdzili, iż u 81% chorych z SM stwierdzono obecną mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, wykrytą metodą real-time ASqPCR [128]. Natomiast badacze Erben i wsp, częstość występowania mutacji D816V genu *KIT* ocenili na 46% u chorych z ISM przy użyciu real-time ASqPCR [158]. Co więcej w tym badaniu Erben i wsp., wysunięto wniosek, iż większe „obciążenie” komórek krwi obwodowej mutacją wiąże się z gorszym rokowaniem, co w badaniu Broesby-Olsen i wsp. nie zostało potwierdzone [146,158]. Badacze z Danii, nie stwierdzili korelacji pomiędzy „obciążeniem” komórek krwi obwodowej mutacją D816V genu *KIT* a przebiegiem klinicznym ISM [146].

Badanie obecności mutacji genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci wydaje się mieć szczególnie duże znaczenie z uwagi na fakt iż diagnostyka w kierunku SM u chorych pediatrycznych nie jest wykonywana rutynowo, w przeciwieństwie do populacji dorosłych. Jest to spowodowane rzadkim występowaniem SM u dzieci. Zgodnie z algorytmem diagnostycznym mastocytozy z 2014 r. opracowanym przez ECNM (*European Competence Network on Mastocytosis*) badania w kierunku SM powinny być wykonywane u dzieci tylko w przypadkach znacznie podwyższonego (powyżej 100 ng/ml) lub narastającego stężenia tryptazy w surowicy w czasie monitorowania, powiększenia wątroby, śledziony, limfadenopatii oraz istotnych klinicznie odchyłeń w morfologii krwi obwodowej [5,16,22,26]. Badania obecności mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej dzieci, przeprowadzone przez amerykański ośrodek diagnostyki mastocytozy oraz uzyskane przez nas wyniki wskazują, że badanie to, jest nowym, nieinwazyjnym narzędziem diagnostycznym mogącym ułatwić decyzję o wykonaniu biopsji szpiku [105]. Możliwość detekcji tej mutacji w DNA izolowanym z leukocytów krwi obwodowej wydaje się być „krokiem milowym” w diagnostyce mastocytozy u dzieci [1,2]. Pomimo iż, ryzyko reakcji anafilaktycznej u dzieci z mastocytozą jest znacznie niższe niż w populacji dorosłych, należy jednak wziąć pod uwagę, iż stres towarzyszący procedurze biopsji szpiku oraz konieczność wykonania badania w znieczuleniu ogólnym, które mogą być czynnikami wyzwalającymi reakcje anafilaktyczne, zwłaszcza u niemowląt z rozległymi zmianami skórnymi. Szczególnie istotne jest ograniczanie do niezbędnego minimum inwazyjnych badań u niemowląt oraz u dzieci w okresie wczesnodziecięcym. Badacze Carter i wsp. sugerują iż oznaczenie obecności mutacji D816V genu *KIT* metodą ASqPCR we krwi obwodowej powinno być następnym krokiem diagnostycznym w przypadku stwierdzenia organomegalii [105]. W przypadku wykrycia mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, należy rozważyć biopsję szpiku kostnego z oceną histopatologiczną, immunopatologiczną oraz genetyczną (w kierunku mutacji genu *KIT*) szpiku kostnego. Ponadto badacze Carter i wsp. sugerują możliwość wykorzystania detekcji mutacji D816V genu *KIT* metodą ASqPCR do potwierdzenia choroby związanej z patologią mastocytów (*mast cell disorder*) u osób z organomegalią. Kolejnym praktycznym zastosowaniem tej metody proponowanym przez badaczy Carter i wsp. jest detekcja tej mutacji u chorych z podwyższonym stężeniem tryptazy w surowicy bez innych cech klinicznych SM. W przypadku negatywnego wyniku ASqPCR we krwi obwodowej, dalsza diagnostyka może być ich zdaniem odroczone [105].

Reasumując, wyniki przeprowadzonych przez nas badań sugerują iż detekcja mutacji D816V genu *KIT* ma bardzo duże znaczenie diagnostyczne i warto ją zastosować w celu wyselekcjonowania grupy dzieci obciążonych ryzykiem rozwoju SM. Zatem dzieci z obecną mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wymagają regularnego monitorowania oraz rozważenia wykonania biopsji szpiku w przypadku stwierdzenia istotnych pod względem klinicznym nieprawidłowości w morfologii krwi obwodowej, narastającego w okresie obserwacji stężenia tryptazy w surowicy lub organomegalii. Dotychczas, jedynym nieinwazyjnym najbardziej przydatnym narzędziem diagnostycznym, stosowanym do ustalenia rozpoznania oraz do monitorowania przebiegu mastocytozy u dzieci były pomiary stężenia tryptazy w surowicy krwi. Obecnie, detekcja mutacji D816V genu *KIT* jest kolejnym, nieinwazyjnym i niezwykle cennym badaniem, które można zastosować do diagnostyki i monitorowania przebiegu mastocytozy u dzieci.

Podsumowując, przeprowadzone przez nas badania nad ewolucją CM u dzieci wskazują, że u większości z nich dochodzi do poprawy stanu klinicznego w wieku przedpokwitaniowym, jednak całkowita remisja zmian skórnych po 10 latach trwania choroby należy do rzadkości. Nasze obserwacje potwierdzają, iż dzieci z DCM cechuje cięższy przebieg kliniczny oraz mniejsza tendencja do remisji zmian skórnych i skórnych objawów zależnych od mediatorów niż chorych na MPCM. Analiza objawów narządowych zależnych od mediatorów prowadzi do innych spostrzeżeń, bowiem ewolucja tych objawów wydaje się mniej przewidywalna, a tendencja do ich remisji nie zależy od postaci klinicznej CM. Przeprowadzone przez nas badanie jest pierwszym na świecie, w którym oceniono zarówno wartość diagnostyczną, jak i prognostyczną mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci ze szczególnie ciężkim obrazem klinicznym CM. Uzyskane wyniki dowodzą że wykrycie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci z masywnym zajęciem skóry, posiada istotne znaczenie w nieinwazyjnej diagnostyce mastocytozy w tej grupie wiekowej. Warto podkreślić, że oprócz stężenia tryptazy mastocytowej w surowicy, mutacja D816V genu *KIT* jest jedynym kryterium diagnostycznym SM, które może być ocenione na podstawie badania krwi obwodowej. Sprawdzenie pozostałych kryteriów SM wymaga bowiem wykonania biopsji szpiku. Stwierdzenie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej pozwala na wyselekcjonowanie grupy dzieci ze skórnymi objawami mastocytozy, u których występuje ryzyko rozwoju SM i objęcie tych dzieci regularnym, wnikliwym monitorowaniem. U części z nich konieczne jest również rozszerzenie diagnostyki w kierunku SM. Przeprowadzone przez nas analizy sugerują także, że dzieci z rozległymi zmianami skórnymi, u których stwierdza się mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, wykazują mniejszą niż dzieci bez mutacji tendencję do remisji skórnych objawów mastocytozy. Uważamy jednak, że rzetelna ocena wartości prognostycznej mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci wymaga zwiększenia liczebności grupy badanej oraz dłuższego okresu obserwacji. Poczynione przez nas obserwacje mogą więc stanowić inspirację do dalszych badań dotyczących rokowania u dzieci ze skórnymi objawami mastocytozy.

6. WNIOSKI

1. U dzieci chorujących na mastocytozę skóry z wiekiem dochodzi do poprawy stanu klinicznego, polegającej na zmniejszaniu się zarówno rozległości zmian skórnych, jak i nasilenia skórnych objawów choroby.
2. Częstość występowania narządowych objawów związanych z działaniem mediatorów uwalnianych przez mastocyty jest zależna od wieku dzieci chorujących na mastocytozę skóry.
3. U większości dzieci z mastocytozą skóry dochodzi do zdecydowanej lub częściowej remisji zmian skórnych, przy czym całkowita remisja w okresie przedpokwitaniowym obserwowana jest rzadko.
4. Tendencja do spontanicznej remisji skórnych objawów choroby jest mniejsza u dzieci z uogólnioną skórną mastocytozą niż u dzieci z plamisto-grudkową mastocytozą skóry.
5. Dzieci chorujące na uogólnioną skórną mastocytozę z większą częstością i nasileniem niż dzieci z plamisto-grudkową mastocytozą skóry doświadczają skórnych objawów zależnych od mediatorów.
6. Oznaczenie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej jest cennym, nieinwazyjnym badaniem, pozwalającym na wyłonienie grupy dzieci, u których powinno być rozważane przeprowadzenie diagnostyki w kierunku mastocytozy układowej.
7. Dzieci z rozległymi zmianami skórnymi, u których stwierdza się mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wymagają regularnego monitorowania przebiegu choroby ze względu na ryzyko rozwoju mastocytozy układowej.
8. Dzieci z rozległymi zmianami skórnymi, u których stwierdza się mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, wykazują mniejszą niż dzieci bez mutacji tendencję do remisji skórnych objawów mastocytozy, jednak ocena wartości prognostycznej tej mutacji wymaga dalszych badań.

7. STRESZCZENIE

Mastocytoza u dzieci, w przeciwieństwie do mastocytozy osób dorosłych, uważana jest za chorobę ograniczoną do skóry (*cutaneous mastocytosis*, CM), wykazującą tendencję do spontanicznej regresji w okresie okołopokwitaniowym. W dostępnej literaturze publikacje dotyczące tendencji do samoistnej remisji mastocytozy skóry u dzieci są nieliczne, fragmentaryczne i oparte na niewielkich pod względem liczebności grupy chorych. Brak także systematycznych, polskich badań nad ewolucją objawów mastocytozy u dzieci. Obecnie niewiele wiadomo również o rzeczywistej częstości występowania mastocytozy układowej (*systemic mastocytosis*, SM) u dzieci, ponieważ większość doniesień ma charakter opisów przypadków. Nieliczne publikacje, oparte na dużych grupach dzieci chorujących na mastocytozę, wskazują na bardzo rzadkie występowanie SM w tej grupie wiekowej. W 2018 r. po raz pierwszy zaproponowano włączenie badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej do diagnostyki SM u dzieci [105]. Mutacja ta stanowi jedno z kryteriów rozpoznania SM i świadczy o klonalnym charakterze choroby. Dotychczas w literaturze światowej opublikowano tylko jedno badanie, w którym oznaczono mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci z różnymi postaciami klinicznymi CM. W badaniu tym SM została zdiagnozowana u 35% dzieci ze skórnymi objawami mastocytozy [105]. Biorąc pod uwagę, że niewiele wiadomo na temat ewolucji mastocytozy u dzieci oraz uwzględniając fakt, że dane dotyczące częstości występowania SM u dzieci są bardzo rozbieżne, uzasadnione wydawało się podjęcie badań nad naturalnym przebiegiem mastocytozy oraz dokonanie oceny znaczenia badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej w diagnostyce SM i rokowaniu u dzieci z rozległymi zmianami skórnymi.

Cele szczegółowe pracy stanowiły:

1. Analiza ewolucji skórnych i narządowych objawów mastocytozy u dzieci;
2. Ocena tendencji do spontanicznej remisji objawów mastocytozy skóry u dzieci podczas ≥ 10 -letniego okresu monitorowania;
3. Porównanie obrazu klinicznego mastocytozy u dzieci chorujących na plamisto-grudkową mastocytozę skóry (MPCM) i uogólnioną skórną mastocytozę (DCM);
4. Ocena znaczenia mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej w diagnostyce mastocytozy układowej (SM) u dzieci ;
5. Ocena wartości prognostycznej badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej.

Przedstawiona praca składa się z dwóch części i w związku z tym oparta jest na analizie danych klinicznych i genetycznych dotyczących dwóch odrębnych grup badanych. Pierwsza część pracy, obejmująca analizę ewolucji CM u dzieci, opiera się na retrospektywnym, nierandomizowanym badaniu, które zostało przeprowadzone w latach 2016-2019 w Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Druga część pracy poświęcona jest diagnostyce SM u dzieci, a jej trzon stanowią badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, które zostały przeprowadzone w latach 2017-2018 w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Projekt badawczy uzyskał akceptację Niezależnej Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym nr NKBBN/313/2017 z dnia 11.09.2017 r.

Grupę badaną I stanowiły dzieci chorujące na mastocytozę skóry, u których przebieg choroby monitorowano przez okres ≥ 10 lat, co stanowiło kryterium włączenia do tej grupy. Znalazło się w niej 55 dzieci w wieku od 1 do 12 lat. U 47 (85,5%) dzieci rozpoznano postać plamisto-grudkową mastocytozę skóry (*maculo-papular cutaneous mastocytosis*, MPCM) oraz u 8 (14,5%) uogólnioną skórną mastocytozę (*diffuse cutaneous mastocytosis*, DCM).

Grupę badaną II stanowiły dzieci chorujące CM przebiegającą z rozległymi zmianami skórnymi, u których wykonano badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Znalazło się w niej 32 dzieci w wieku od 1 roku życia do 14 lat. Kryteria włączenia do tej podgrupy stanowiły: 1. Zajęcie przez proces chorobowy ponad 50% powierzchni skóry, 2. Zgoda rodziców na wykonanie badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. W tej grupie u 16 (50%) dzieci zdiagnozowano MPCM oraz u 16 (50%) DCM.

Badania diagnostyczne przeprowadzone u wszystkich dzieci chorujących na mastocytozę stanowiły: 1. Badanie podmiotowe, 2. Badanie przedmiotowe, 3. Ocena występowania objawu Dariera, 4. Morfologia krwi obwodowej z rozmazem, 5. Stężenie tryptazy mastocytowej w surowicy, 6. Transaminazy wątrobowe (asparaginianowa, alaninowa), 7. USG narządów jamy brzusznej. Badanie histopatologiczne wycinka ze zmian skórnych wykonano u 15 dzieci z grupy I oraz u 12 z grupy II. Od biopsji skóry odstępowano jedynie u dzieci z typowym obrazem klinicznym i silnie wyrażonym objawem Dariera. Badania przeprowadzono podczas pierwszej wizyty diagnostycznej oraz 1 raz w roku w okresie monitorowania. W przypadkach, w których występowały nasilone objawy kliniczne lub nieprawidłowości w badaniach dodatkowych wizyty kontrolne wykonywano częściej niż 1 raz w roku, zależnie od stanu zdrowia chorych.

W celu oceny zmian skórnych analizie poddano następujące parametry: postać kliniczną CM, rozległość zmian skórnych określonych jako odsetek powierzchni zajętej skóry oraz nasilenie zmian takich jak: pigmentacja i wyniosłość z zastosowaniem skali 0-3. Nasilenie skórnych objawów związanych z działaniem mediatorów uwalnianych przez mastocyty takich jak: świąd, *flushing* i tworzenie się pęcherzy oceniono w skali od 0-4 dla każdego z tych objawów. Nasilenie objawów narządowych zależnych od mediatorów takich jak: bóle brzucha, biegunki, hipotensja, duszność, bóle głowy, wstrząs anafilaktyczny oceniono w skali od 0 - 4 dla każdego z tych objawów, zgodnie z opublikowanymi standardami [12]. Oceny stanu klinicznego dokonywano w okresach kiedy dzieci nie przyjmowały leków przeciwhistaminowych przez okres ≥ 10 dni.

Ocena stopnia remisji CM została przeprowadzona w oparciu o wyselekcjonowaną, jednorodną pod względem klinicznym, podgrupę dzieci. Kryteriami włączenia do tej podgrupy były: początek choroby w pierwszym roku życia, pierwsza ocena w Poradni Dermatologicznej UCK w wieku 1-2 lat, monitorowanie w Poradni Dermatologicznej przez okres ≥ 10 lat. Stopień remisji lub progresji choroby oceniono na podstawie danych uzyskanych z oceny nasilenia choroby na pierwszej wizycie oraz na ostatniej wizycie po okresie 10 lat monitorowania. W podgrupie tej znalazło się 39 dzieci (12 dziewczynek; 27 chłopców), u których rozpoznano MPCM (n=32; 82%) oraz DCM (n=7; 18%). Zastosowano skalę oceny remisji objawów choroby zgodnie ze standardami ECNM [12] w której wyróżnia się: całkowitą remisję - CR (*complete regression*), znaczną remisję - MR (*major regression*), częściową remisję - PR (*partial regression*) oraz brak remisji - NR (*no regression*).

Badanie mutacji D816V genu *KIT* przeprowadzono u 32 dzieci, u których zmiany chorobowe obejmowały ponad 50% powierzchni skóry. Identyfikację mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wykonano za pomocą techniki *allele-specific real-time quantitative PCR* (ASqPCR) z zastosowaniem sondy TaqMan ściśle zgodnie z metodyką opracowaną i dokładnie opisaną przez Kristensena i wsp. [18,128]. Metodyka ta została również zastosowana w jedynym opublikowanym dotychczas badaniu mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci; podobnie jak w tym badaniu za pozytywny przyjęliśmy wynik, w którym stwierdzano co najmniej 0.01% alleli z mutacją D816V genu *KIT* [105].

Pełną diagnostykę SM, obejmującą trepanobiopsję szpiku, ocenę immunofenotypu i morfologii mastocytów oraz badanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej przeprowadzono u 5 dzieci. Zgodnie z opublikowanymi zaleceniami wskazania do wykonania biopsji szpiku u dzieci stanowiły [5,12,105]: stwierdzenie istotnych klinicznie nieprawidłowości w morfologii krwi obwodowej, hepatomegalia, splenomegalia, limfadenopatia, stężenie tryptazy w surowicy utrzymujące się > 100 ng/ml lub narastające w okresie monitorowania. Stężenie tryptazy mastocytowej w surowicy oznaczono metodą fluoroimmunoenzymatyczną za pomocą aparatu UniCAP 100 (Phadia, Upsala, Szwecja), zgodnie z protokołem załączonym przez producenta.

Analizę statystyczną wyników uzyskanych w badaniu przeprowadzono za pomocą programu Statistica Desktop wersja 13 (StatSoft Polska). Zmienne ilościowe przedstawiono z zastosowaniem mediany, wartości minimalnej oraz maksymalnej (zakres), analizowane zmienne jakościowe scharakteryzowano za pomocą licznosci i wartości procentowych. Istotność różnic zmiennych ilościowych pomiędzy grupami sprawdzono testem U Manna-Whitneya oraz ANOVY Friedmana. Zmienne jakościowe porównano za pomocą testu Chi-kwadrat oraz dokładnego testu Fishera. Celem sprawdzenia powiązania, siły i kierunku korelacji między zmiennymi zastosowano test korelacji Spearmana (*Spearman Rank Order Correlations*). Poziom istotności statystycznej przyjęty we wszystkich obliczeniach zawartych w pracy wynosi $p=0,05$.

W pierwszej części pracy przeprowadzono analizę ewolucji zmian skórnych oraz skórnych i narządowych objawów zależnych od mediatorów uwalnianych przez mastocyty u dzieci z CM podczas 10 - letniego okresu monitorowania. Stwierdzono istotną statystycznie remisję powierzchni zajętej skóry zarówno w całej grupie ($p < 0,001$), jak i u dzieci z MPCM ($p < 0,001$) oraz DCM ($p = 0,013$). Stwierdzono również istotne zmniejszenie nasilenia pigmentacji w całej grupie badanej ($p < 0,001$) oraz u dzieci z MPCM ($p < 0,001$). W grupie dzieci z DCM pigmentacja zmian skórnych nie zmniejszała się w sposób istotny ($p = 0,368$). Wykazano także, iż wyniosłość zmian skórnych istotnie zmniejszała się w całej grupie ($p < 0,001$) oraz dzieci z MPCM ($p < 0,001$) i DCM ($p = 0,039$).

Biorąc pod uwagę fakt, że na obraz kliniczny mastocytozy wpływają zarówno skórne, jak i narządowe objawy zależne od mediatorów uwalnianych przez mastocyty oceniono częstość i nasilenie występowania tych objawów oraz ich ewolucję z uwzględnieniem postaci klinicznych MPCM i DCM.

Najczęstszym skórny objawem zależnym od mediatorów był świąd. Objaw ten występował u 26 (47,4%) dzieci w pierwszych trzech latach życia, u 30 (54,5%) dzieci

w wieku 4-7 roku życia oraz u 21 (38,2%) dzieci ≥ 8 roku życia w całej grupie badanej. Porównując częstość występowania świądu skóry w odniesieniu do postaci klinicznych CM stwierdzono że, u dzieci w wieku ≤ 3 roku życia, świąd skóry istotnie częściej występował u dzieci z DCM niż u dzieci z MPCM ($p = 0,001$). Analizując nasilenie świądu stwierdzono że u dzieci z DCM nasilenie tego objawu było istotnie wyższe niż u dzieci z MPCM w grupach wiekowych ≤ 3 roku życia ($p < 0,001$) oraz od 4 do 7 roku życia ($p = 0,009$). Analizując ewolucję świądu skóry w czasie 10 letniej obserwacji, stwierdzono iż nasilenie świądu zmniejszało się wraz z wiekiem dzieci w całej grupie ($p = 0,003$) oraz w grupie MPCM ($p = 0,011$). Natomiast w grupie dzieci z DCM nie stwierdzono istotnego zmniejszania się nasilenia świądu skóry podczas obserwacji ($p = 0,142$). Drugimi pod względem częstości występowania skórnymi objawami zależnymi od mediatorów były zmiany pęcherzowe, stwierdzane u 23 (41,8%) dzieci w wieku ≤ 3 roku życia. U 10 (18,2%) dzieci zmiany pęcherzowe pojawiały się sporadycznie do 6 roku życia. U dzieci ≥ 8 roku życia zmiany pęcherzowe nie występowały. Objaw ten istotnie częściej obserwowano u dzieci z DCM niż MPCM w grupach wiekowych: ≤ 3 roku życia ($p < 0,001$, test Fishera) oraz od 4 do 7 roku życia ($p < 0,001$). U wszystkich dzieci z DCM w wieku do 3 roku życia stwierdzono nasilone (stopień 3, $n = 5$) i bardzo nasilone (stopień 4, $n = 3$) zmiany pęcherzowe. Troje dzieci z DCM z powodu masywnych zmian pęcherzowych wymagało hospitalizacji. W grupie dzieci z MPCM w wieku do 3 roku życia, nasilenie zmian pęcherzowych było przeważnie łagodne (stopień 1, $n = 8$) lub umiarkowane (stopień 2, $n = 6$), tylko u jednego dziecka zmiany pęcherzowe były nasilone (stopień 3, $n = 1$). Nasilenie zmian pęcherzowych było istotnie większe w grupie DCM niż w grupie MPCM dla dzieci w pierwszych trzech latach życia ($p < 0,001$) oraz w wieku od 4 do 7 roku życia ($p = 0,012$). Analizując ewolucję nasilenia zmian pęcherzowych w czasie 10-letniej obserwacji, stwierdzono istotne statystycznie zmniejszenie nasilenia zmian pęcherzowych w całej grupie ($p < 0,001$), w grupie DCM ($p = 0,001$) oraz MPCM ($p < 0,001$). Najrzadszym skórnym objawem zależnym od mediatorów uwalnianych przez mastocyty był objaw *flushing*, stwierdzany u 14 (25,5%) dzieci w pierwszych trzech latach życia oraz u 11 (20,0%) dzieci w wieku od 4 do 7 roku życia. U dzieci w wieku powyżej 8 roku życia objaw *flushing* był stwierdzany u 15 (27,3%) dzieci. Objaw ten występował istotnie częściej u dzieci z DCM niż u dzieci z MPCM przez cały okres obserwacji. Nasilenie objawu *flushing* u dzieci z DCM było istotnie większe niż w grupie z MPCM w grupach wiekowych ≤ 3 rok życia, 4-7 rok życia oraz ≥ 8 roku życia (odpowiednio $p < 0,001$, $p = 0,02$, $p = 0,01$). Analizując częstość i nasilenie objawu *flushing* w całej grupie badanej podczas 10-letniej obserwacji, nie stwierdzono tendencji do ustępowania tego objawu.

Najczęstszym narządowym objawem zależnym od mediatorów był ból brzucha, który stwierdzono u 16 (29,1%) dzieci. Rzadziej występującymi objawami narządowymi były: biegunki ($n = 7$; 12,7%), bóle głowy ($n = 6$; 10,9%), hipotensja ($n = 5$; 9,1%) oraz duszność ($n = 5$; 9,1%). Najrzadziej występował wstrząs anafilaktyczny, którego doświadczyło 2 (3,6%) dzieci. Oceniając częstość występowania narządowych objawów zależnych od mediatorów w zależności od wieku stwierdzono, że w grupie dzieci ≤ 3 roku życia najczęściej występującymi objawami były bóle brzucha ($n = 5$; 9,1%) i epizody hipotensji ($n = 3$; 5,5%), w grupie od 4 do 7 roku życia najczęściej występującymi objawami były bóle brzucha ($n = 11$; 20%) i biegunki ($n = 5$; 9,1%), natomiast u dzieci ≥ 8 roku życia jedynymi narządowymi objawami były bóle głowy ($n = 5$; 9,1%). Porównanie częstości występowania narządowych objawów zależnych od mediatorów u dzieci z MPCM i DCM wykazało, że u dzieci ≤ 3 roku życia, w grupie

DCM częściej niż w MPCM występowały: hipotensja ($p < 0,001$), duszność ($p = 0,014$) oraz wstrząs anafilaktyczny ($p = 0,001$), zaś w wieku od 4 do 7 roku życia istotnie częściej w grupie DCM pojawiały się duszność ($p = 0,037$) oraz wstrząs anafilaktyczny ($p = 0,014$). Pomiędzy grupami DCM i MPCM nie stwierdzono istotnych różnic dotyczących częstości występowania i nasilenia bólów głowy. Wstrząs anafilaktyczny wystąpił epizodycznie jedynie u 2 dzieci z DCM. U chłopca wstrząs anafilaktyczny miał miejsce dwukrotnie, w 1 roku życia po ekspozycji na amoksycylinę z kwasem klawulanowym oraz w 4 roku życia po ekspozycji na radiologiczne środki kontrastowe. U dziewczynki wstrząs anafilaktyczny wystąpił w 2 roku życia po ekspozycji na ketaminę.

W czasie 10-letniej obserwacji, stężenie tryptazy wykazywało tendencję do utrzymywania się na podobnym poziomie w grupie MPCM ($p = 0,093$), natomiast w grupie DCM stwierdzono istotny spadek stężenia tryptazy w ciągu 10 letniej obserwacji ($p = 0,012$). Stężenie tryptazy w surowicy było istotnie wyższe u dzieci z DCM w porównaniu do dzieci z MPCM, we wszystkich grupach wiekowych. Rozległość zmian skórnych korelowała ze stężeniem tryptazy w surowicy we wszystkich grupach wiekowych; u dzieci w wieku ≤ 3 lat, pomiędzy 4 - 7 rokiem życia i ≥ 8 lat (odpowiednio $R = 0,644$, $R = 0,675$, $R = 0,695$; $p = 0,001$).

Ocenę remisji rozległości zmian oraz skórnych objawów zależnych od mediatorów (świąd skóry, *flushing* lub zmiany pęcherzowe) przeprowadzono w jednorodnej podgrupie 39 dzieci obserwowanych systematycznie przez okres ≥ 10 lat. Analiza remisji rozległości zmian skórnych, wykazała całkowitą remisję (CR) u 4 (10,3%), zdecydowaną remisję (MR) u 16 (41,1%), częściową remisję (PR) u 12 (30,8%) oraz brak remisji (NR) u 7 (17,9%) dzieci. Stwierdzono, że remisja powierzchni zajętej skóry była istotnie słabsza u chorych na DCM niż u chorych na MPCM ($p = 0,005$); dzieci z DCM nie doświadczały CR i MR, u 6 (85,7%) doszło do PR i u 1 (14,3%) stwierdzono NR. Skórne objawy zależne od mediatorów obecne były u 33 dzieci tej podgrupy. U wszystkich tych dzieci, obserwowano różnego stopnia remisję objawów skórnych: CR u 19 (57,6%), MR u 9 (27,3%) dzieci, natomiast PR u 5 (15,2%) dzieci. Stwierdzono, że tendencja do remisji tych objawów była mniejsza u dzieci z DCM niż u tych z MPCM ($p = 0,017$). U dzieci z MPCM, CR obserwowano u 18 (69,2%) dzieci, natomiast u dzieci z DCM, CR stwierdzono tylko u 1 (14,3%) dziecka. Dzieci, u których obserwowano CR lub MR istotnie częściej chorowały na MPCM niż na DCM ($p = 0,003$) oraz istotnie częściej maksymalne stężenie tryptazy było u nich w granicach normy ($\leq 11,4$ ng/ml) ($p = 0,003$).

W drugiej części pracy, poświęconej badaniom nad SM u dzieci, oceniono wartość diagnostyczną i prognostyczną mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u 32 chorych z rozległymi zmianami skórnymi. Z przeprowadzonych badań wynika, że mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej stwierdzono u 11 (34,4%) dzieci, w tym 7 dziewczynek i 4 chłopców. Szczegółowej analizie poddano obraz kliniczny mastocytozy u tych 11 dzieci. Zmiany skórne odpowiadały MPCM u 7 i DCM u 4 z nich. Wszystkie dzieci z postacią MPCM prezentowały wariant monomorficzny. U 10 (91%) spośród 11 dzieci z mutacją stężenie tryptazy było podwyższone (norma do 11,4 ng/ml) i wynosiło powyżej 20 ng/ml. U 5 spośród 11 chorych, u których stwierdzono mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, podjęto pełną diagnostykę w kierunku SM, polegającą na sprawdzeniu wszystkich kryteriów diagnostycznych SM.

Wskazania do tej diagnostyki stanowiły: stale utrzymujące się na podwyższonym poziomie lub narastające w okresie monitorowania stężenie tryptazy mastocytowej (wszyscy chorzy), organomegalia (n = 2) oraz ukończenie 18 roku życia w okresie monitorowania (n = 2). Nacieki z MCs w trepanobiopsji szpiku kostnego, odpowiadające kryterium większemu SM stwierdzono u 2 chorych. Stężenie tryptazy w surowicy wynosiło powyżej 20 ng/ml u wszystkich chorych. Nieprawidłowy immunofenotyp stwierdzono u 4 chorych, a atypową morfologię MCs dotyczącą > 25% MCs u 1 chorego. U 4 dzieci rozpoznano ostatecznie SM, co stanowi 12,5% (n = 32) wszystkich dzieci, u których wykonano badanie genetyczne i 36,4% (n = 11) dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. U 3 chorych ostatecznie rozpoznano postać ISM (*Indolent SM*) oraz u 1 chorej SSM (*Smoldering SM*), gdyż występowały u niej 2 objawy z grupy B takie jak: tryptaza > 200 ng/ml oraz powiększenie wątroby i śledziony bez uszkodzenia funkcji tych narządów.

Porównano obraz kliniczny oraz tendencję do remisji i progresji choroby u 32 dzieci, u których zbadano występowanie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupą dzieci KIT-dodatnich i KIT-ujemnych pod względem płci, początku choroby, postaci klinicznej CM (MPCM i DCM), organomegalii oraz częstości występowania objawów zależnych od mediatorów mastocytów. Mutacja D816V genu *KIT* występowała istotnie częściej u dzieci, które prezentowały wariant monomorficzny MPCM niż tych z polimorficznym wariantem MPCM (p = 0,003). U dzieci bez mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, stężenie tryptazy w surowicy istotnie zmniejszało się w okresie obserwacji (p = 0,032), natomiast w grupie dzieci z mutacją D816V genu *KIT* nie stwierdzono istotnego obniżania się stężenia tryptazy w surowicy (p = 0,328), co sugeruje, iż większa wartość prognostyczną ma ewolucja stężenia tryptazy w czasie niż wartość stężenia podczas pojedynczej wizyty kontrolnej. Porównano także stopień remisji objawów skórnych (rozległości zmian skórnych oraz skórnych objawów zależnych od mediatorów) u dzieci z mutacją D816V genu *KIT* oraz u dzieci bez tej mutacji. Stwierdzono, że u zdecydowanej większości (n = 18; 85,7%) dzieci bez mutacji we krwi obwodowej dochodziło do remisji w stopniu MR i PR, natomiast u ponad połowy (n = 6; 54,5%) dzieci z mutacją nie występowała remisja (NR). Mniejsza tendencja do remisji skórnych objawów mastocytozy u dzieci z mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej niż u dzieci bez tej mutacji została potwierdzona statystycznie (p = 0,035). Ponadto stwierdzono, że mutacja D816V genu *KIT* we krwi obwodowej występowała istotnie częściej u dzieci z SM niż u dzieci z CM (p = 0,009). Wszystkie dzieci, u których stwierdzono progresję do SM (n = 4), były obciążone mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Nie stwierdzono żadnego przypadku SM bez mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej. Obliczono wartość predykcyjną mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej oraz czułość i swoistość badania genetycznego dla całej grupy (n = 32). Wartość predykcyjna dodatnia (PPV) wyniosła 36,36 (12,37 - 68,39), zaś wartość predykcyjna ujemna 100 (80,76 - 100). Czułość wyniosła 100% (95% CI 39.58 – 100), a swoistość 75% (95% CI 54.78 – 88.57). Progresja do SM dotyczyła wyłącznie płci żeńskiej (p = 0,028). Nie stwierdzono istotnego związku wystąpienia progresji do SM z wiekiem, w którym rozpoczęła się choroba (p = 0,339), organomegalią (p = 1,000), czasem trwania choroby (p = 0,32), okresem obserwacji (p = 0,32), postacią kliniczną mastocytozy skóry (p = 0,6), wstrząsem anafilaktycznym (p = 1,0) oraz maksymalnym stężeniem tryptazy w surowicy (p = 1,0).

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

1. U dzieci chorujących na mastocytozę skóry z wiekiem dochodzi do poprawy stanu klinicznego, polegającej na zmniejszaniu się zarówno rozległości zmian skórnych, jak i nasilenia skórnych objawów choroby.
2. Częstość występowania narządowych objawów związanych z działaniem mediatorów uwalnianych przez mastocyty jest zależna od wieku dzieci chorujących na mastocytozę skóry.
3. U większości dzieci z mastocytozą skóry dochodzi do zdecydowanej lub częściowej remisji zmian skórnych, przy czym całkowita remisja w okresie przedpokwitaniowym obserwowana jest rzadko.
4. Tendencja do spontanicznej remisji skórnych objawów choroby jest mniejsza u dzieci z uogólnioną skórną mastocytozą niż u dzieci z plamisto-grudkową mastocytozą skóry .
5. Dzieci chorujące na uogólnioną skórną mastocytozę z większą częstością i nasileniem niż dzieci z plamisto-grudkową mastocytozą skóry (MPCM) doświadczają skórnych objawów zależnych od mediatorów.
6. Oznaczenie mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej jest cennym, nieinwazyjnym badaniem, pozwalającym na wyłonienie grupy dzieci, u których powinno być rozważane przeprowadzenie diagnostyki w kierunku mastocytozy układowej.
7. Dzieci z rozległymi zmianami skórnymi, u których stwierdza się mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej wymagają regularnego monitorowania przebiegu choroby ze względu na ryzyko rozwoju mastocytozy układowej.
8. Dzieci z rozległymi zmianami skórnymi, u których stwierdza się mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, wykazują mniejszą niż dzieci bez mutacji tendencję do remisji skórnych objawów mastocytozy, jednak ocena wartości prognostycznej tej mutacji wymaga dalszych badań.

Reasumując, przeprowadzone przez nas badania dowodzą, że u większości dzieci chorujących na CM dochodzi do poprawy stanu klinicznego, przy czym remisja objawów choroby jest wyraźniejsza u dzieci z MPCM niż u dzieci z DCM. U dzieci z rozległymi zmianami skórnymi, stale utrzymującym się podwyższonym stężeniem tryptazy oraz mutacją D816V genu *KIT* we krwi obwodowej może dochodzić do rozwoju SM. Uzyskane wyniki wskazują na celowość diagnostyki narządowej i monitorowania przebiegu choroby u tych dzieci. Przeprowadzone przez nas badanie jest pierwszym na świecie, w którym badano zarówno wartość diagnostyczną, jak i prognostyczną mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci ze szczególnie ciężkim obrazem klinicznym CM. Warto podkreślić, że oprócz stężenia tryptazy mastocytowej w surowicy, mutacja D816V genu *KIT* jest jedynym kryterium diagnostycznym SM, które może być ocenione na podstawie badania krwi obwodowej. Sprawdzenie pozostałych kryteriów SM wymaga bowiem wykonania biopsji szpiku. Przeprowadzanie diagnostyki z zastosowaniem procedur nieinwazyjnych wydaje się

być szczególnie istotne u chorych pediatrycznych. Przeprowadzone badania sugerują, że dzieci, u których stwierdza się mutację D816V genu *KIT* we krwi obwodowej, wykazują mniejszą niż dzieci bez tej mutacji tendencję do remisji objawów CM. Jednak pełna ocena wartości prognostycznej badania mutacji D816V genu *KIT* we krwi obwodowej u dzieci wymaga badań na większej grupie chorych oraz 18-letniego okresu monitorowania. Poczynione obserwacje stanowią inspirację do dalszych badań nad przebiegiem klinicznym mastocytozy u chorych pediatrycznych.

ABSTRACT

Paediatric mastocytosis, unlike mastocytosis in adults, is considered a disease affecting but the skin (*cutaneous mastocytosis*, CM) and tending to regress spontaneously about the puberty age. Publications on spontaneous remission of cutaneous mastocytosis in children, available in the literature are scarce, fragmental, and based on small patient populations. There is no systematic Polish research on evolution of the mastocytosis symptoms in children either. Today, little is also known on the actual incidence of paediatric systemic mastocytosis (*systemic mastocytosis*, SM) since most reports take the form of case reports. The scarce publications based on large populations of children suffering from mastocytosis indicate the SM is very scarce in that age group. The proposal to include detection of the *KIT* D816V mutation in peripheral blood tests serving SM diagnosis in children was first put forward in 2018 [105]. The mutation is one of the diagnostic criteria for the SM and testifies to the clonal nature of the disease. The world literature to date offers only one published study of a research where the *KIT* D816V mutation was assessed in the peripheral blood sampled from children with various clinical forms of the CM. In the research, SM was diagnosed in 35% of children demonstrating cutaneous symptoms of mastocytosis [105]. Since little is known on mastocytosis evolution in children, and the data on the incidence of the paediatric SM are highly diverse, it seemed reasonable to take up research on the natural course of mastocytosis and assess the significance of the *KIT* D816V mutation test in peripheral blood for the SM diagnostics and prognoses for children with extensive skin lesions. The detailed objectives of the research were as follows:

1. To analyse the evolution of skin and systemic mast cell mediator-related symptoms of mastocytosis in children
2. To assess the spontaneous symptom remission tendency in paediatric cutaneous mastocytosis over a ≥ 10 -year monitoring period
3. To compare the clinical picture of mastocytosis in children suffering from maculopapular cutaneous mastocytosis (MPCM) and diffuse cutaneous mastocytosis (DCM)
4. To assess the significance of the *KIT* D816V mutation detected in peripheral blood in diagnosing paediatric systemic mastocytosis (SM)
5. To assess the prognostic value of testing peripheral blood for the *KIT* D816V mutation.

The presented study is made up of two parts, and therefore it is based on analysis of clinical and genetic data of two separate patient populations. Part one of the study, comprising CM evolution in children, is based on a retrospective, non-randomised research carried out in the years 2016-2019 at the Department of Dermatology, Venereology, and Allergology of the Medical University of Gdańsk. Part two is devoted to SM diagnostics in children where the core of the study consists in tests of the *KIT* D816V mutation in peripheral blood, conducted in the years 2017-2018 at the Chair and Department of Biology and Genetics of the Medical University of Gdańsk. The research project was approved by the Independent Bioethics Committee at the Medical University of Gdańsk on 11 September 2017 (ref. NKBBN/313/2017).

Research group I was made up of children with cutaneous mastocytosis monitored for the course of the disease over a period of ≥ 10 years, and the duration of the monitoring formed the criterion of inclusion in the group. Qualified therein were 55 children aged 1 to 12. 47 (85,5%) of them were diagnosed with maculopapular cutaneous mastocytosis (MPCM) whereas 8 (14,5%) with diffuse cutaneous mastocytosis (DCM).

Research group II comprised children with the CM involving extensive skin lesions, subject to peripheral blood tests for the *KIT* D816V mutation. This population was made up of 32 children aged 1 to 14. Inclusion in the sub-group was based on the following criteria: 1. more than 50% of the skin affected by the pathological process, 2. the parent's consent to testing the peripheral blood for the *KIT* D816V mutation. Out of the group population 16 children (50%) were diagnosed with MPCM, and the other 16 (50%) with DCM.

All children suffering from mastocytosis were given the following diagnostic tests: 1. Patient interview, 2. Physical examination, 3. Examination for the Darier's sign, 4. Peripheral blood count with smear, 5. Serum mastocytosis tryptase level, 6. Liver transaminase levels (aspartate and alanine), 7. Ultrasound of the abdominal organs. Histopathological examinations of biopsies sections of lesional skin were performed for 15 children of group I and 12 children of group II. Skin biopsy was waived only in the case of children demonstrating a typical clinical picture and strongly positive Darier's sign. The examinations and tests were taken at the first diagnostic visit and repeated once a year over the monitoring period. In cases where clinical symptoms were acute or irregularities were detected in supplementary tests, the follow-up visits were scheduled at intervals below 1 year, depending on the patients' condition.

The skin lesions were assessed by analysis against the following parameters: the subforms of CM, the extent of the skin affected, expressed as the estimate percent of the body surface, and the intensity of morphologic characteristic of skin lesions such as: pigmentation and elevation assessed on the scale of 0-3. The intensity of skin-specific mast cell mediator-related symptoms e.g.: itching, flushing, and blister formation, were assessed on the scale of 0 - 4, separate for each symptom. Each of the systemic mediator-related symptoms such as: abdominal pains, diarrhea, hypotension, dyspnoea, headaches, and anaphylactic shock was assessed using the scale of 0 - 4 in accordance with the published standards [12]. The children's clinical condition was assessed in the periods of breaks in administration of antihistamine drugs for ≥ 10 days.

The degree of CM regression was assessed on a selected and clinically uniform sub-group of children. Qualification in the sub-group was based on the following criteria: the onset of the disease in the first year of life, the first assessment at the Dermatological Outpatients Clinic at the age of 1 to 2, and monitoring by the Dermatological Outpatients Clinic for 10 years. The sub-group was made up of 39 children (12 girls and 27 boys) diagnosed with MPCM ($n = 32$; 82%) and DCM ($n = 7$; 18%). The scale against which remission of the disease symptoms was assessed followed the ECNM standards (12) which identify: CR (complete regression), MR (major regression), PR (partial regression), and NR (no regression).

The tests of the *KIT* D816V mutation were conducted for 32 children with skin lesions affecting more than 50% of the skin surface area. The *KIT* D816V mutation in the peripheral blood was identified by the allele-specific real-time quantitative PCR technique

(ASqPCR) using the TaqMan probe, in strict accordance with the methodology devised and meticulously described by Kristensen et al. [18, 131]. The same methodology was also used in the only so far published research of the *KIT* D816V mutation in children's peripheral blood; following suit of the research, we classified any result of at least 0.01% alleles affected by the *KIT* D816V mutation as a positive result [105].

5 children were given full SM diagnostics, including trepanobiopsy of bone marrow, immunophenotyping, and mast cell morphology, plus detection of the *KIT* D816V mutation in peripheral blood. Following the published recommendations [5,12,105], the indications for bone marrow biopsy of the children were as follows: discovery of clinically major abnormalities in the peripheral blood count, hepatomegaly, splenomegaly, lymphadenopathy, the serum tryptase level persisting at > 100 ng/ml or increasing over the monitoring period. The level of mastocytosis tryptase in the serum was identified by the enzyme-linked fluorescent immunoassay method using the UniCAP 100 analyser (Phadia, Upsala, Sweden), following the manufacturer-attached protocol.

The test results were analysed statistically using the Statistica Desktop software, rev. 13 (StatSoft Poland). The quantitative variables were presented in their median, minimum and maximum values (range), and the analysed qualitative variables were characterised using counts and percent values. The significance of the differences in the quantitative variables between the groups was verified by the U Mann-Whitney test and Friedman's ANOVA. The qualitative variables were compared in the Chi-square and Fisher's exact tests. To verify the relationship, and the strength and direction of the correlation between the variables, the Spearman Rank Order Correlations test was applied. The statistical significance level adopted in all calculations incorporated in the study is $p = 0.05$.

In part one of the study, an analysis was performed of the evolution of the observed skin lesions and skin-specific and systemic mast cell mediator related symptoms in CM children over the 10 year monitoring period. We found statistically significant regression of the affected skin in the entire group ($p < 0.001$), as well as in MPCM children ($p < 0.001$) and DCM children ($p = 0.013$). It needs to be noted, though, that the area of the affected skin in the DCM children continued to remain significantly larger than in the MPCM children throughout the observation period and all age groups ($p < 0.001$). We also found significantly reduced pigmentation in the whole group ($p < 0.001$) and in MPCM-affected children ($p < 0.001$). As concerns the DCM children group, the pigmentation of the skin lesions did not decrease to any significant extent ($p = 0.368$). It was also evidenced that the elevation of the skin lesions reduced significantly in the whole group ($p < 0.001$), as well as in the MPCM children ($p < 0.001$) and the DCM children ($p = 0.039$).

Considering that the clinical picture of mastocytosis is determined by both skin specific and systemic symptoms triggered by the mast cell released mediators, the symptoms were assessed for their frequency and intensity, as well as for their evolution recognising the clinical forms of MPCM and DCM.

Itching was the most frequently observed mediator-related symptom. The symptom was shared by 26 children aged 3 and below (47,4%), 30 children aged 4 - 7 (54,5%), and 21 children aged 8 and above (38,2%) of the whole studied group. When comparing the frequency of itching against the clinical forms of the CM, it was found that in the age

group of ≤ 3 itching was significantly more frequent in the DCM children than in the MPCM children ($p = 0.001$). An analysis of the intensity of itching revealed that the symptom was significantly more profound in the DCM children than in the MPCM children in the age groups of: ≤ 3 ($p < 0.001$) and 4 - 7 ($p = 0.009$). An analysis of the 10 - year observations of itching evolution led to the discovery that itching subsided with age in the whole group ($p = 0.003$) and in the MPCM group ($p = 0.011$). No significant reduction of itching, on the other hand, was found in the DCM children group over the observation period ($p = 0.142$). The second most frequent skin-specific mast cell mediator-related symptom consisted in blistering found in 23 children aged ≤ 3 (41,8%). In 10 children (18,2%) bullous lesions developed sporadically up to the age of 6. No bullous lesions were observed in children aged ≥ 8 . The symptom was shared far more frequently by the DCM children than the MPCM children aged ≤ 3 ($p < 0.001$, Fisher test) and in children aged 4 - 7 ($p < 0.001$). Intense blister formation (level 3, $n = 5$) and highly intense blister formation (level 4, $n = 3$) was identified in all DCM children up to the age of 3. Three of the DCM children required hospitalisation for massive bullous lesions. The intensity of bullous lesions in the MPCM children group aged up to 3 was prevalingly mild (level 1, $n = 8$) or medium (level 2, $n = 6$); only one child demonstrated intense blister formation (level 3, $n = 1$). The intensity of bullous lesions was significantly higher in the DCM group than in the MPCM group of children in their first three years of life ($p < 0.001$) and in the age range of 4-7 ($p = 0.012$). An analysis of the evolution of blister formation intensity over the 10-year observation period revealed a statistically significant reduction in the intensity of blister lesions in the whole group ($p < 0.001$), as well as in the DCM group ($p = 0.001$) and the MPCM group ($p < 0.001$). Flushing was the least frequently observed skin-specific mast cell mediator-related symptom, found in 14 children in their first three years of life (25,5%) and in 11 children aged 4-7 (20,0%). As goes for children aged ≥ 8 , flushing was found in 15 children (27,3%). Over the entire observation period, the symptom was found significantly more frequently in the DCM children than in the MPCM children. The flushing intensity in the DCM children was significantly higher than in the MPCM children in the following age groups: ≤ 3 , 4 - 7, and ≥ 8 ($p < 0.001$, $p = 0.02$, and $p = 0.01$, respectively). An analysis of the frequency and intensity of flushing in the whole studied group over the entire 10-year observation period did not show any decrease tendency of the symptom.

The systemic manifestation of mast cell mediator-related symptom most frequently observed were abdominal pains found in 16 children (29,1%). The systemic symptoms recorded less frequently were as follows: diarrhea ($n = 7$; 12,7%), headaches ($n = 6$; 10,9%), hypotension ($n = 5$; 9,1%), and dyspnoea ($n = 5$; 9,1%). Anaphylactic shock was the rarest observed symptom suffered by 2 children (3,6%). When assessing the frequency of the systemic mast cell mediator-related symptoms against the age, it was found that children in the age group of ≤ 3 suffered most frequently from abdominal pains ($n = 5$; 9,1%) and episodes of hypotension ($n = 3$; 5,5%); the symptoms prevailing in the age group of 4 - 7 were: abdominal pains ($n = 11$; 20%) and diarrhea ($n = 5$; 9,1%); children aged ≥ 8 , on the other hand, shared headaches as the sole systemic symptom ($n = 5$; 9,1%). A comparison of the MPCM and DCM children for the frequency of the mediator-related systemic symptoms revealed that in children aged below 3 the DCM group suffered more frequently than the MPCM group from: hypotension ($p < 0.001$), dyspnoea ($p = 0.014$), and anaphylactic shock ($p = 0.001$), whereas children aged 4-7 of the DCM group suffered significantly more frequently from dyspnoea ($p = 0.037$) and anaphylactic shock ($p = 0.014$). No significant

differences between the DCM and MPCM groups were found in terms of the frequency of headaches. An episode of an anaphylactic shock struck only 2 children diagnosed with DCM. Out of the two, the boy had an anaphylactic shock twice: in year 1 of his life upon exposition to amoxicillin combined with clavulanic acid and in year 4 of his life upon exposition to radiological contrast agents. The girl went through an anaphylactic shock in her 2 year of life upon exposition to ketamine.

Over the 10-year monitoring period the tryptase level tended to stay fairly stable in the MPCM group ($p = 0.093$), whereas the DCM group was found to demonstrate a significant decrease in the tryptase level over 10 years of observations ($p = 0.012$). The serum tryptase level was significantly higher in the DCM children than in the MPCM children throughout all age groups. The extensiveness of skin lesions was correlated to the serum tryptase level in all age groups, i.e. in children aged ≤ 3 , 4-7, and ≥ 8 ($R = 0.644$, $R = 0.675$, and $R = 0.695$, respectively; $p = 0.001$).

A study of regressing extensiveness of the skin lesions and skin-specific mast cell mediator-related symptoms (itching, flushing, or bullous lesions) was conducted on a uniform sub-group of 39 children regularly monitored for 10 years. The analysis of the remission found in the extent of skin lesions revealed complete regression (CR) in 4 patients (10,3%), major regression (MR) in 16 children (41,1%), partial regression (PR) in 12 patients (30,8%), and no regression (NR) in 7 children (17,9%). It was further found that the area of the affected skin diminished to a far lesser extent in children with the DCM than those suffering from the MPCM ($p = 0.005$). The DCM children did not experience CR or MR; 6 of them improved to PR (85,7%) while 1 remained at NR (14,3%). Skin-specific mast cell mediator-related symptoms were found in 33 children of the sub-group. Regression of the skin specific symptoms was noted in all those children, though to various degrees: to the CR level in 19 children (57,6%), to the MR level in 9 children (27,3%), and to the PR level in 5 children (15,2%). The skin specific symptoms regression tendency was found lesser in the DCM children than in the MPCM ones ($p = 0.017$). Among the MPCM patients, CR was recorded in 18 children (69%), whereas only 1 DCM child (14,2%) was observed to recover to the CR level. Unlike the DCM children, the MPCM patients were found to recover to the CR or MR level significantly more frequently ($p = 0.003$); significantly more frequent too in the children was the maximum tryptase level oscillating within the normal range (≤ 11.4 ng/ml) ($p = 0.003$).

Part two of the study, devoted to research of the SM in children, was oriented on assessing the diagnostic and prognostic values of the *KIT* D816V mutation in peripheral blood and conducted on 32 patients with extensive skin lesions. The tests performed revealed the *KIT* D816V mutation in peripheral blood in 11 (34,4%) children, including 7 girls and 4 boys. The clinical picture of mastocytosis in those 11 children was subject to a detailed analysis. The skin lesions corresponded with the MPCM in 7 children and with DCM in 4 of them. All children with the MPCM form represented the monomorphic variant. The tryptase level was increased in 10 out of the 11 children with the mutation (91%) and exceeded 20 ng/ml (against the normal level of up to 11.4 ng/ml). 5 out of the 11 patients with the *KIT* D816V mutation identified in peripheral blood were given full diagnosis for the SM. The indications for the diagnostics were as follows: continuously increased or increasing level of mast cell tryptase over the monitoring period (all patients), organomegaly ($n = 2$), and the age of

18 attained in the monitoring period (n = 2). Mast cells infiltrates corresponding to the major SM criterion were found in the bone marrow trepanobiopsy of 2 patients. The serum tryptase level was above 20 ng/ml in all patients. Abnormal immunophenotype was found in 4 patients, and atypical mast cells blood count of > 25% mast cells in 1 patient. Ultimately, 4 children were diagnosed with the SM, i.e. in 12.5% (n = 32) of all children subject to genetic tests and 36.4% (n = 11) children with the *KIT* D816V mutation in peripheral blood. Finally, 3 patients were diagnosed with the ISM (*Indolent* SM) and 1 patient with the SSM (*Smoldering* SM) as she demonstrated 2 symptoms of group B such as: tryptase > 200 ng/ml plus hepatomegaly and splenomegaly without damaged functions of these organs.

The clinical picture and the disease regression/progression trends were compared for 32 children initially tested for the *KIT* D816V mutation in peripheral blood. No significant differences were found between the *KIT*-positive and *KIT*-negative children groups in terms of gender, or the onset of the disease, or the CM clinical form (MPCM or DCM), or organomegaly, or the frequency of the mast cell mediator-related symptoms. The *KIT* D816V mutation was identified significantly more frequently in children representing the monomorphic MPCM variant than in those with the polymorphic MPCM variant (p = 0.003). The children without the *KIT* D816V mutation demonstrated a significantly falling serum tryptase level in the monitoring period (p = 0,032), whereas no reduction of the serum tryptase level was found in the group of children diagnosed with the *KIT* D816V mutation (p = 0.328). This suggests evolution of the tryptase level over time is of higher prognostic value than its level at any specific follow-up visit. Further comparisons were made between the degree of regression of the cutaneous symptoms (extensiveness of the skin lesions and skin specific mast cell mediator-related symptoms) in children with the *KIT* D816V mutation and in children free of the mutation. It was found that a vast majority (n = 18, 85,7%) of children devoid the peripheral blood mutation experienced MR and PR regression; on the other hand, more than half the children demonstrating the mutation (n = 6, 54.5%) no regression (NR) was observed. The lesser tendency towards remission of the skin-specific symptoms of mastocytosis in children with the *KIT* D816V mutation in peripheral blood than in the ones without the mutation was statistically verified (p = 0.035). Moreover, it was found that the *KIT* D816V mutation in peripheral blood reoccurred significantly more frequent in the SM children than in the CM ones (p = 0.009). All children observed to progress to the SM (n = 4) were burdened with the *KIT* D816V mutation in peripheral blood. Not a single SM case was identified where the peripheral blood would be free of the *KIT* D816V mutation. Calculations were performed to identify the predictive value of the *KIT* D816V mutation in peripheral blood and the sensitivity and specificity of the genetic test for the entire group (n = 32). The positive predictive value (PPV) was found to be 36.36 (12.37 - 68.39), whereas the negative predictive value was 100 (80.76 - 100). The sensitivity was identified as 100% (95% CI 39.58 – 100), a specificity as 75% (95% CI 54.78 – 88.57). Progression to the SM was recorded only for the female gender (p = 0.028). No significant correlation was found between progression to the SM and the disease onset age (p = 0.339), or organomegaly (p = 1.000), or the duration of the disease (p = 0.32), or the monitoring period (p = 0.32), or the clinical form of cutaneous mastocytosis (p = 0.6), or anaphylaxis (p = 1.0), or maximum serum tryptase level (p = 1.0).

Based on the conducted research the following conclusions were formulated:

1. Children suffering from cutaneous mastocytosis (CM) improve their clinical condition with age, i.e. the extensiveness of the skin lesions diminishes and the intensity of the skin specific mast cell mediator-related symptoms of the disease reduces.
2. The frequency the systemic mast cell mediator-related symptoms are observed depends on the age of the children with cutaneous mastocytosis (CM).
3. Most children with cutaneous mastocytosis (CM) are observed to experience major or partial regression of skin lesions, although complete regression before puberty is rare.
4. The spontaneous regression tendency of skin specific mast cell mediator-related symptoms of the disease is lesser in children with diffuse cutaneous mastocytosis (DCM) than with maculopapular cutaneous mastocytosis (MPCM).
5. Children with diffuse cutaneous mastocytosis (DCM) more frequently suffer from skin specific mast cell mediator-related symptoms and the symptoms are more intense than in children with maculopapular cutaneous mastocytosis (MPCM).
6. Determination of the *KIT* D816V mutation in peripheral blood is a valuable and non-invasive test enabling identification of the group of children where holding of the diagnostic procedure for systemic mastocytosis (SM) should be considered.
7. Children with extensive skin lesions found to be *KIT* D816V - positive in peripheral blood require regular monitoring of their disease because of the risk of its progression to systemic mastocytosis (SM).
8. Children with extensive skin lesions found to be *KIT* D816V - positive in peripheral blood lesser tendency toward regression of cutaneous symptoms of mastocytosis (skin lesions and skin-specific symptoms) than *KIT* D816V-negative ones although assessment of the prognostic value of the mutation requires further research.

To recapitulate, our research proves that the clinical condition of most children with CM tends to improve, though regression of the disease symptoms is more evident in MPCM children than in those suffering from the DCM. Children with extensive skin lesions, continuing increased tryptase level, and the *KIT* D816V mutation in peripheral blood may develop the SM. The obtained study results indicate it is rational to undertake systemic diagnostics and monitor the course of the disease in the children. The study we conducted was the first research project in the world where both diagnostic and prognostic value of the *KIT* D816V mutation in peripheral blood was assessed in children with exceptionally severe clinical picture of the CM. Noteworthy, apart from the serum mast cell tryptase level, the *KIT* D816V mutation is the sole SM diagnostic criterion which can be considered based on the peripheral blood test. Testing for all other SM criteria requires bone marrow biopsy where running diagnostics with non-invasive procedures employed seems of particular importance in case of paediatric patients. The conducted research suggests that children with the *KIT* D816V mutation determined in peripheral blood demonstrate lesser tendency toward regression of the CM symptoms than children without the mutation. However, comprehensive assessment of the prognostic value of the peripheral blood tests for the *KIT* D816V mutation in children requires studies conducted on a larger patient group and an 18-year long monitoring period. The observations made inspire further research on the clinical course of mastocytosis in paediatric patients.

8. PIŚMIENICTWO

1. Pardanani A. Systemic mastocytosis in adults: 2019 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol* 2018;94(3):363-377
2. Valent P, Akin C, Hartmann K, Nilsson G, Reiter A, Hermine O, et al. Advances in the Classification and Treatment of Mastocytosis: Current Status and Outlook toward the Future. *Cancer Res* 2017;77(6):1261–1270.
3. Méni C, Bruneau J, Georgin-Lavialle S, Le Saché de Peufeilhoux L, Damaj G, Hadj-Rabia S, et al. Paediatric mastocytosis: a systematic review of 1747 cases. *Br J Dermatol* 2015;172(3):642–651.
4. Hartmann K, Escribano L, Grattan C, Brockow K, Carter MC, Alvarez-Twose I, et al. Cutaneous manifestations in patients with mastocytosis: Consensus report of the European Competence Network on Mastocytosis; the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology; and the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137(1):35–45.
5. Lange M, Ługowska-Umer H, Niedożytko M, Wasąg B, Limon J, Żawrocki A, et al. Diagnosis of Mastocytosis in Children and Adults in Daily Clinical Practice. *Acta Derm Venereol* 2016;96(3):292–297.
6. Matito A, Carter M. Cutaneous and Systemic Mastocytosis in Children: A Risk Factor for Anaphylaxis? *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015 May 3;15(5):22. doi:10.1007/s11882-015-0525-1
7. Cohen SS, Skovbo S, Vestergaard H, Kristensen T, Møller M, Bindslev-Jensen C, et al. Epidemiology of systemic mastocytosis in Denmark. *Br J Haematol.* 2014 Aug;166(4):521–528.
8. Falchi L, Verstovsek S. Kit Mutations. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2018;38(3):411–428.
9. Brockow K. Epidemiology, Prognosis, and Risk Factors in Mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2014;34(2):283–295.
10. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127(20):2391-2405.
11. Valent P, Akin C, Gleixner K V., Sperr WR, Reiter A, Arock M, et al. Multidisciplinary Challenges in Mastocytosis and How to Address with Personalized Medicine Approaches. *Int J Mol Sci.*2019;20(12):2976. doi:10.3390/ijms20122976
12. Valent P, Akin C, Escribano L, Födinger M, Hartmann K, Brockow K, et al. Standards and standardization in mastocytosis: Consensus Statements on Diagnostics, Treatment Recommendations and Response Criteria. *Eur J Clin Invest.* 2007;37(6):435–453.

13. Matito A, Azaña JM, Torrelo A, Alvarez-Twose I. Cutaneous Mastocytosis in Adults and Children. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2018;38(3):351–363.
14. Valent P, Horny H-P, Escribano L, Longley BJ, Li CY, Schwartz LB, et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leuk Res.* 2001;25(7):603–625.
15. Lange M, Flisiak I, Kapińska-Mrowiecka ML, Kaszuba A, Maj J, Rudnicka L, et al. Mastocytosis. Diagnostic and therapeutic recommendations of the Polish Dermatological society. Ingelfinger JR, editor. *Dermatology Rev.* 2018;105(10):358–383.
16. Carter MC, Clayton ST, Komarow HD, Brittain EH, Scott LM, Cantave D, et al. Assessment of clinical findings, tryptase levels, and bone marrow histopathology in the management of pediatric mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136(6):1673-1679.
17. Lange M, Zawadzka A, Schrörs S, Słomka J, Ługowska-Umer H, Nedoszytko B, et al. The role of serum tryptase in the diagnosis and monitoring of pediatric mastocytosis: a single-center experience. *Adv Dermatology Allergol.* 2017;34(4):306–312.
18. Kristensen T, Vestergaard H, Bindslev-Jensen C, Møller MB, Broesby-Olsen S. Sensitive KIT D816V mutation analysis of blood as a diagnostic test in mastocytosis. *Am J Hematol.* 2014;89(5):493–498.
19. Jara-Acevedo M, Teodosio C, Sanchez-Muñoz L, Álvarez-Twose I, Mayado A, Caldas C, et al. Detection of the KIT D816V mutation in peripheral blood of systemic mastocytosis: Diagnostic implications. *Mod Pathol.* 2015;28(8):1138–1149.
20. Arock M, Sotlar K, Akin C, Broesby-Olsen S, Hoermann G, Escribano L, et al. KIT mutation analysis in mast cell neoplasms: Recommendations of the European Competence Network on Mastocytosis. *Leukemia.* 2015;29(6):1223–1232.
21. Wagner N, Staubach P. Mastocytosis – pathogenesis, clinical manifestation and treatment. *JDDG - J Ger Soc Dermatology.* 2018;16(1):42–57.
22. Valent P, Escribano L, Broesby-Olsen S, Hartmann K, Grattan C, Brockow K, et al. Proposed diagnostic algorithm for patients with suspected mastocytosis: a proposal of the European Competence Network on Mastocytosis. *Allergy.* 2014;69(10):1267–1274.
23. Broesby-Olsen S, Dybedal I, Gülen T, Kristensen T, Møller M, Ackermann L, et al. Multidisciplinary Management of Mastocytosis: Nordic Expert Group Consensus. *Acta Derm Venereol.* 2016;96(5):602–612.
24. Lange M, Nedoszytko B, Górska A, Żawrocki A, Sobjanek M, Kozłowski D. Mastocytosis in children and adults: Clinical disease heterogeneity. *Arch Med Sci.* 2012;8(3):533–541.

25. Heide R, Beishuizen A, De Groot H, Den Hollander JC, Van Doormal JJ, De Moonchy JGR, et al. Mastocytosis in Children: A Protocol for Management. *Pediatr Dermatol*. 2008;25(4):493–500.
26. Castells M, Metcalfe DD, Escribano L. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Cutaneous Mastocytosis in Children. *Am J Clin Dermatol* 2011;12(4):259–270.
27. Lange M, Żawrocki A, Nedoszytko B, Wasag B, Nedoszytko M, Jassem E, et al. Does the Aberrant Expression of CD2 and CD25 by Skin Mast Cells Truly Correlate with Systemic Involvement in Patients Presenting with Mastocytosis in the Skin? *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;165(2):104–110.
28. Greenberger S, Landov H, Confino Y, Vaknine H, Avivi C, Baum S, et al. Immunophenotype of pediatric-onset mastocytosis does not correlate with clinical course. *Pediatr Dermatol*. 2019;36(4):477–481.
29. Morgado JM, Sánchez-Muñoz L, Matito A, Mollejo M, Escribano L, Alvarez-Twose I. Patterns of Expression of CD25 and CD30 on Skin Mast Cells in Pediatric Mastocytosis. *J Contemp Immunol*. 2014;1(2):46-56. doi10.7726/jci.2014.1006:
30. Valent P, Sotlar K, Horny HP. Aberrant expression of CD30 in aggressive systemic mastocytosis and mast cell leukemia: A differential diagnosis to consider in aggressive hematopoietic CD30-positive neoplasms. *Leuk Lymphoma*. 2011;52(5):740–744.
31. Brockow K, Metcalfe DD. Mastocytosis. *Chem Immunol Allergy*. 2010;95:110–124. doi:10.1159/000315946
32. Valent P, Akin C, Metcalfe DD. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood*. 2017;129(11):1420–1427.
33. Renke J, Kędzierska-Mieszkowska S, Lange M, Nedoszytko B, Wasilewska E, Liberek A, et al. Mast cells in mastocytosis and allergy – Important player in metabolic and immunological homeostasis. *Adv Med Sci*. 2019;64(1):124–130.
34. Van Der Veer E, Arends S, Van Der Hoek S, Versluijs JB, De Monchy JGR, Oude Elberink JNG, et al. Predictors of new fragility fractures after diagnosis of indolent systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(6):1413–1421.
35. Van Anrooij B, Kluin-Nelemans JC, Safy M, Flokstra-de Blok BMJ, Oude Elberink JNG. Patient-reported disease-specific quality-of-life and symptom severity in systemic mastocytosis. *Allergy*. 2016;71(11):1585–1593.
36. Rossini M, Zanotti R, Orsolini G, Tripi G, Viapiana O, Idolazzi L, et al. Prevalence, pathogenesis, and treatment options for mastocytosis-related osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2016;27(8):2411–2421.
37. Czarny JH, Lange M, Nedoszytko MB, Kwiecińska B, Górską A, Ługowska-Umer H, et al. Drug hypersensitivity reactions and allergy in patients with mastocytosis. *Dermatology Rev*. 2017;104(1):22–30.

38. Brockow K, Jofer C, Behrendt H, Ring J. Anaphylaxis in patients with mastocytosis: a study on history, clinical features and risk factors in 120 patients. *Allergy*. 2008;63(2):226–32.
39. González de Olano D, de la Hoz Caballer B, Núñez López R, Sánchez Muñoz L, Cuevas Agustín M, Diéguez MC, et al. Prevalence of allergy and anaphylactic symptoms in 210 adult and pediatric patients with mastocytosis in Spain: a study of the Spanish network on mastocytosis (REMA). *Clin Exp Allergy*. 2007;37(10):1547-1555
40. Carter MC, Metcalfe DD, Komarow HD. Mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2014;34(1):181–196.
41. Matito A, Morgado JM, Sánchez-López P, Álvarez-Twose I, Sánchez-Muñoz L, Orfao A, et al. Management of Anesthesia in Adult and Pediatric Mastocytosis: A Study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) Based on 726 Anesthetic Procedures. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;167(1):47–56.
42. Barnes M, Van L, DeLong L, Lawley LP. Severity of Cutaneous Findings Predict the Presence of Systemic Symptoms in Pediatric Maculopapular Cutaneous Mastocytosis. *Pediatr Dermatol* [Internet]. 2014;31(3):271–275.
43. Frieri M, Quershi M. Pediatric Mastocytosis: A Review of the Literature. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*. 2013;26(4):175-180.
44. Alvarez-Twose I, Vañó-Galván S, Sánchez-Muñoz L, Morgado JM, Matito A, Torrelo A, et al. Increased serum baseline tryptase levels and extensive skin involvement are predictors for the severity of mast cell activation episodes in children with mastocytosis. *Allergy*. 2012;67(6):813–821.
45. Górska A, Niedożytko M, Lange M, Chełmińska M, Niedożytko B, Wasąg B, et al. Risk factors for anaphylaxis in patients with mastocytosis. *Polish Arch Intern Med*. 2015;125(1–2):46–53.
46. Muraro A, Roberts G, Worm M, Bilò MB, Brockow K, Fernández Rivas M, et al. Anaphylaxis: guidelines from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2014;69(8):1026–45.
47. Dewachter P, Castells MC, Hepner DL, Mouton-Faivre C. Perioperative Management of Patients with Mastocytosis. *Anesthesiology*. 2014;120(3):753–759.
48. Goldfinger MM, Sandadi J. Undiagnosed systemic mastocytosis in a teenager revealed during general anesthesia. *Pediatr Anesth*. 2010;20(3):290–291.
49. Renaud V, Goudet V, Mouton-Faivre C, Debaene B, Dewachter P. Case Report: Perioperative immediate hypersensitivity involves not only allergy but also mastocytosis. *Can J Anesth Can d'anesthésie*. 2011;58(5):456–459.
50. Pfeffer I, Fischer J, Biedermann T. Acetylsalicylic acid dependent anaphylaxis to carrots in a patient with mastocytosis. *JDDG J der Dtsch Dermatologischen Gesellschaft*. 2011;9(3):230–231.

51. Lange M, Niedożytko M, Renke J, Gleń J, Niedożytko B. Clinical aspects of paediatric mastocytosis: a review of 101 cases. *J Eur Acad Dermatology Venereol.*2013;27(1):97–102.
52. Lange M, Niedożytko M, Niedożytko B, Łata J, Trzeciak M, Biernat W. Diffuse cutaneous mastocytosis: analysis of 10 cases and a brief review of the literature. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2012;26(12):1565-1571.
53. Theoharides TC, Valent P, Akin C. Mast Cells, Mastocytosis, and Related Disorders. In: Ingelfinger JR, editor. *N Engl J Med.* 2015;373(2):163–172.
54. Niedożytko B, Zabotna M, Niedożytko M, Lange M. Association of mastocytosis with interleukin 31 gene polymorphism. *Clin Transl Allergy.* 2015;5(Suppl 1):P11.doi: 10.1186/2045-7022-5-s1-p11
55. Da Silva EZM, Jamur MC, Oliver C. Mast Cell Function. *J Histochem Cytochem.* 2014;62(10):698–738.
56. Lasek W. Nadwrażliwość.(w): *Immunologia.* Gołąb J, Jakóbisiak M, Lasek W, Stokłosa T (red.).Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN; 2017,wydanie 7, 340–347.
57. Rao KN, Brown MA. Mast Cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1143(1):83–104.
58. Arock M, Akin C, Hermine O, Valent P. Current treatment options in patients with mastocytosis: Status in 2015 and future perspectives. *Eur J Haematol.* 2015;94(6):474–490.
59. Brumsen C, Papapoulos SE, Lentjes EGWM, Kluin PM, Hamdy NAT. A potential role for the mast cell in the pathogenesis of idiopathic osteoporosis in men. *Bone.* 2002;31(5):556–561.
60. Arock M. Mast cell differentiation: still open questions? *Blood.*2016;127(4):373–374.
61. Jabbar KJ, Medeiros LJ, Wang SA, Miranda RN, Johnson MR, Verstovsek S, et al. Flow cytometric immunophenotypic analysis of systemic mastocytosis involving bone marrow. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(9):1210–1214.
62. Escribano L, Orfao A, Villarrubia J, Díaz-Agustín B, Cerveró C, Rios A, et al. Immunophenotypic Characterization of Human Bone Marrow Mast Cells. A Flow Cytometric Study of Normal and Pathological Bone Marrow Samples. *Anal Cell Pathol.*1998;16(3):151–159.
63. Orfao A, Escribano L, Villarrubia J, Velasco JL, Cerveró C, Ciudad J, et al. Flow cytometric analysis of mast cells from normal and pathological human bone marrow samples: Identification and enumeration. *Am J Pathol.* 1996;149(5):1493–1499.
64. Komi DEA, Rambasek T, Wöhrl S. Mastocytosis: from a Molecular Point of View. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2018;54(3):397–411.

65. Liang J, Wu YL, Chen BJ, Zhang W, Tanaka Y, Sugiyama H. The C-Kit receptor-mediated signal transduction and tumor-related diseases. *Int J Biol Sci.* 2013;9(5):435–443.
66. Yanagihori H, Oyama N, Nakamura K, Kaneko F. C-Kit Mutations in Patients With Childhood-Onset Mastocytosis and Genotype-Phenotype Correlation. *J Mol Diagnostics.* 2005;7(2):252–257.
67. Johnson RC, Savage NM, Chiang T, Gotlib JR, Cherry AM, Arber DA, et al. Hidden Mastocytosis in Acute Myeloid Leukemia With t(8;21)(q22;q22). *Am J Clin Pathol.* 2013;140(4):525–535.
68. Chatterjee A, Ghosh J, Kapur R. Mastocytosis: a mutated KIT receptor induced myeloproliferative disorder. *Oncotarget.* 2015;6(21):18250-18264.
69. Miettinen M, Lasota J. REVIEW Neoplastic Tissues , and Mutations and Their. *Rev Lit Arts Am.* 2005;13(3):205–220.
70. Halova I, Draberova L, Draber P. Mast cell chemotaxis chemoattractants and signaling pathways. *Front Immunol.* 2012;3:119. 10.3389/fimmu.2012.00119
71. Lennartsson J, Rönstrand L. Stem Cell Factor Receptor/c-Kit: From Basic Science to Clinical Implications. *Physiol Rev.*2012;92(4):1619–1649.
72. Lim K-HH, Tefferi A, Lasho TL, Finke C, Patnaik M, Butterfield JH, et al. Systemic mastocytosis in 342 consecutive adults: Survival studies and prognostic factors. *Blood.* 2009;113(23):5727–5736.
73. Nagata H, Worobec AS, Oh CK, Chowdhury BA, Tannenbaum S, Suzuki Y, et al. Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood mononuclear cells of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disorder. *Proc Natl Acad Sci.*1995;92(23):10560–10564.
74. Hirota S. Gain-of-Function Mutations of c-kit in Human Gastrointestinal Stromal Tumors. *Science.*1998;279(5350):577–580.
75. Furitsu T, Tsujimura T, Tono T, Ikeda H, Kitayama H, Koshimizu U, et al. Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogene c-kit in a human mast cell leukemia cell line causing ligand-independent activation of c-kit product. *J Clin Invest.*1993;92(4):1736–1744.
76. Nagata H, Okada T, Worobec AS, Semere T, Metcalfe DD. c-kit mutation in a population of patients with mastocytosis. *Int Arch Allergy Immunol.* 1997;113:184–186.
77. Garcia-Montero AC. KIT mutation in mast cells and other bone marrow hematopoietic cell lineages in systemic mast cell disorders: a prospective study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) in a series of 113 patients. *Blood.* 2006;108(7):2366–2372.

78. Garcia-Montero AC, Jara-Acevedo M, Alvarez-Twose I, Teodosio C, Sanchez-Muñoz L, Muñiz C, et al. KIT D816V-mutated bone marrow mesenchymal stem cells in indolent systemic mastocytosis are associated with disease progression. *Blood*. 2016;127(6):761–768.
79. Escribano L, Álvarez-Twose I, Sánchez-Muñoz L, Garcia-Montero A, Núñez R, Almeida J, et al. Prognosis in adult indolent systemic mastocytosis: A long-term study of the Spanish Network on Mastocytosis in a series of 145 patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(3):514–521.
80. Shomali W, Gotlib J. The new tool "KIT" in advanced systemic mastocytosis. *Hematology AM Soc Hematol Educ Program*. 2018;2018(1):127-136
81. Bodemer C, Hermine O, Palmérini F, Yang Y, Grandpeix-Guyodo C, Leventhal PS, et al. Pediatric Mastocytosis Is a Clonal Disease Associated with D816V and Other Activating c-KIT Mutations. *J Invest Dermatol*. 2010;130(3):804–815.
82. Sotlar K, Escribano L, Landt O, Möhrle S, Herrero S, Torrelo A, et al. One-Step Detection of c-kit Point Mutations Using Peptide Nucleic Acid-Mediated Polymerase Chain Reaction Clamping and Hybridization Probes. *Am J Pathol*. 2003;162(3):737–746.
83. Wang H, Lin Z, Zhang J, Yang Y. A new germline mutation in KIT associated with diffuse cutaneous mastocytosis in a Chinese family. *Clin Exp Dermatol*. 2013;39(2):146–149.
84. Yang Y, Létard S, Borge L, Chaix A, Hanssens K, Lopez S, et al. Pediatric mastocytosis-associated KIT extracellular domain mutations exhibit different functional and signaling properties compared with KIT-phosphotransferase domain mutations. *Blood*. 2010;116(7):1114–1123.
85. Schwaab J, Schnittger S, Sotlar K, Walz C, Fabarius A, Pffirmann M, et al. Comprehensive mutational profiling in advanced systemic mastocytosis. *Blood*. 2013 Oct 3;122(14):2460–2466.
86. Ustun C, Arock M, Kluin-Nelemans HC, Reiter A, Sperr WR, George T, et al. Advanced systemic mastocytosis: from molecular and genetic progress to clinical practice. *Haematologica*. 2016;101(10):1133–1143.
87. Traina F, Visconte V, Jankowska AM, Makishima H, O’Keefe CL, Elson P, et al. Single Nucleotide Polymorphism Array Lesions, TET2, DNMT3A, ASXL1 and CBL Mutations Are Present in Systemic Mastocytosis. Moura IC, editor. *PLoS One*. 2012;7(8):e43090.
88. Tefferi A, Levine RL, Lim KH, Abdel-Wahab O, Lasho TL, Patel J, et al. Frequent TET2 mutations in systemic mastocytosis: Clinical, KITD816V and FIP1L1-PDGFR α correlates. *Leukemia*. 2009;23(5):900–904.
89. Jawhar M, Schwaab J, Schnittger S, Sotlar K, Horny H-P, Metzgeroth G, et al. Molecular profiling of myeloid progenitor cells in multi-mutated advanced systemic mastocytosis identifies KIT D816V as a distinct and late event. *Leukemia*. 2015;29(5):1115–1122.

90. Moran-Crusio K, Reavie L, Shih A, Abdel-wahab O, Ndiaye-lobry D, Lobry C, et al. Tet2 loss leads to increased hematopoietic stem cell self-renewal and myeloid transformation. *Cancer Cell*. 2011;20(1):11–24.
91. Damaj G, Joris M, Chandesris O, Hanssens K, Soucie E, Canioni D, et al. ASXL1 but not TET2 mutations adversely impact overall survival of patients suffering systemic mastocytosis with associated clonal hematologic non-mast-cell diseases. *PLoS One*. 2014;9(1):1–6.
92. Górska A, Gruchała-Niedoszytka M, Niedoszytka M, Maciejewska A, Chełmińska M, Skrzypski M, et al. The Role of TRAF4 and B3GAT1 Gene Expression in the Food Hypersensitivity and Insect Venom Allergy in Mastocytosis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2016;64(6):497–503.
93. Niedoszytka B, Niedoszytka M, Lange M, Van Doormaal J, Gleń J, Zabłotna M, et al. Interleukin-13 promoter gene polymorphism -1112C/T is associated with the systemic form of mastocytosis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2009;64(2):287–294.
94. Kaur D, Hollins F, Woodman L, Yang W, Monk P, May R, et al. Mast cells express IL-13R α 1: IL-13 promotes human lung mast cell proliferation and Fc ϵ RI expression. *Allergy*. 2006;61(9):1047–1053.
95. Moon TC, Dean Befus A, Kulka M. Mast cell mediators: Their differential release and the secretory pathways involved. *Front Immunol*. 2014;5:569. doi10.3389/fimmu.2014.00569
96. Branford WA. Edward Nettleship (1845-1913) and the description of urticaria pigmentosa. *Int J Dermatol*. 1994;33(3):214–216.
97. Heide R, Zuidema E, Beishuizen A, Den Hollander JC, Van Gysel D, Seyger MMB, et al. Clinical aspects of diffuse cutaneous mastocytosis in children: Two variants. *Dermatology*. 2009;219(4):309–315.
98. Sperr WR, Kundi M, Alvarez-Twose I, van Anrooij B, Oude Elberink JNG, Gorska A, et al. International prognostic scoring system for mastocytosis (IPSM): a retrospective cohort study. *Lancet Haematol*. 2019;6(12):e638-e649.
99. Valent P, Oude Elberink JNG, Gorska A, Lange M, Zanotti R, van Anrooij B, et al. The Data Registry of the European Competence Network on Mastocytosis (ECNM): Set Up, Projects, and Perspectives. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(1):81–87.
100. Muñoz-González JI, Jara-Acevedo M, Alvarez-Twose I, Merker JD, Teodosio C, Hou Y, et al. Impact of somatic and germline mutations on the outcome of systemic mastocytosis. *Blood Adv*. 2018;2(21):2814–2828.
101. Pardanani A, Lim KH, Lasho TL, Finke C, McClure RF, Li CY, et al. Prognostically relevant breakdown of 123 patients with systemic mastocytosis associated with other myeloid malignancies. *Blood*. 2009;114(18):3769–3772.
102. Zheng Y, Nong L, Liang L, Wang W, Li T. De novo mast cell leukemia without CD25 expression and KIT mutations: A rare case report in a 13-year-old child. *Diagn Pathol*. 2018;13(1):14. 10.1186/s13000-018-0691-2

103. Monnier J, Georgin-Lavialle S, Canioni D, Lhermitte L, Soussan M, Arock M, et al. Mast cell sarcoma: new cases and literature review. *Oncotarget*.2016;7(40):66299-66309.
104. Uzzaman A, Maric I, Noel P, Kettelhut B V., Metcalfe DD, Carter MC. Pediatric-onset mastocytosis: A long term clinical follow-up and correlation with bone marrow histopathology. *Pediatr Blood Cancer*. 2009;53(4):629-634.
105. Carter MC, Bai Y, Ruiz-Esteves KN, Scott LM, Cantave D, Bolan H, et al. Detection of KIT D816V in peripheral blood of children with manifestations of cutaneous mastocytosis suggests systemic disease. *Br J Haematol*. 2018;183(5):775–782.
106. Wiechers T, Rabenhorst A, Schick T, Preussner LM, Förster A, Valent P, et al. Large maculopapular cutaneous lesions are associated with favorable outcome in childhood-onset mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(6):1581-1590.e3.
107. Meni C, Georgin-Lavialle S, Le Saché de Peuffeilhoux L, Jais JP, Hadj-Rabia S, Bruneau J, et al. Paediatric mastocytosis: long-term follow-up of 53 patients with whole sequencing of KIT . A prospective study. *Br J Dermatol*. 2018;179(4):925–932.
108. Angus J, Leach IH, Grant J, Ravenscroft JC. Systemic mastocytosis with diffuse cutaneous involvement and haematological disease presenting in utero treated unsuccessfully with vincristine. *Clin Exp Dermatol*.2007;33(1):36-39.
109. Huang A, Fiadorchanka N, Brar K, Balderacchi JL, Glick SA. In utero presentation of aggressive systemic mastocytosis in a neonate. *Br J Dermatol*. 2017;177(5):1439–1441.
110. Bautista-Quach MA, Booth CL, Kheradpour A, Zuppan CW, Rowsell EH, Weiss L, et al. Mast Cell Sarcoma in an Infant. *J Pediatr Hematol Oncol*.2013;35(4):315–320.
111. Mahadeo KM, Wolgast L, McMahon C, Cole PD. Systemic Mastocytosis in a Child With t(8;21) Acute Myeloid Leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2011;57(4):684–687.
112. Chantorn R, Shwayder T. Death from mast cell leukemia: A young patient with longstanding cutaneous mastocytosis evolving into fatal mast cell leukemia. *Pediatr Dermatol*. 2012;29(5):605–609.
113. Gadage V, Galani K, Kadam Amare P, Mittal N. Systemic mastocytosis with associated acute myeloid leukemia with t (8; 21) (q22; q22). *Indian J Pathol Microbiol*. 2012;55(3):409-412.
114. Sharma S, Harbhajanka A, Jain A, Seth A. Systemic Mastocytosis With an Associated Non Mast Cell Lineage Clonal Hematological Disease in a Child. *Indian J Pathol Microbiol*. 2011;54(4):854–856.
115. Kar R, Rao S, Prasad Pati H, Pati HP. Systemic mastocytosis with acute myelomonocytic leukemia: a case report. Vol. 24, *Indian J. Hematol. Blood Transfus*. 2008;24(4)182-185.

116. Torun Y, Ergul A, Kazancı E, Serbetci M, Sarıguzel F. Indolent systemic mastocytosis in a child: A rare and difficult diagnosis. *Indian J Paediatr Dermatology*. 2016;17(4):306-308.
117. Intzes S, Wiersma S, Meyerson HJ. Myelomastocytic leukemia with t(8;21) in a 3-year-old child. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2011;38(8):e372-375.
118. Gogia A, Sharawat SK, Kumar R, Sarkar C, Bakhshi S. Systemic Mastocytosis Associated With Childhood Acute Myeloid Leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2013;35(2):163–164.
119. Yabe M, Masukawa A, Kato S, Yabe H, Nakamura N, Matsushita H. Systemic mastocytosis associated with t(8;21) acute myeloid leukemia in a child: Detection of the D816A mutation of KIT. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;59(7):1313-1316.
120. Synakiewicz A, Stachowicz-Stencel T, Renke J, Lange M, Adamkiewicz-Drożyńska E, Balcerska A. 126 Developmental Period Medicine. 2013;17(2):126-129.
121. Rabade N, Tembhare P, Patkar N, Amare P, Arora B, Subramanian P, et al. “Childhood systemic mastocytosis associated with t (8; 21) (q22; q22) acute myeloid leukemia.” *Indian J Pathol Microbiol*. 2016;59(3):407-409.
122. Mitchell SG, Bunting ST, Saxe D, Olson T, Keller FG. A variant c-KIT mutation, D816H, fundamental to the sequential development of an ovarian mixed germ cell tumor and systemic mastocytosis with chronic myelomonocytic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(4). doi:10.1002/pbc.26282
123. Fried AJ, Akin C. Primary Mast Cell Disorders in Children. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013;13(6):693–701.
124. Le M, Miedzybrodzki B, Olynych T, Chapdelaine H, Ben-Shoshan M. Natural history and treatment of cutaneous and systemic mastocytosis. *Postgrad Med*. 2017;129(8):896–901.
125. Ertugrul A, Bostanci I, Ozturk Kaymak A, Gurkan A, Ozmen S. Pediatric cutaneous mastocytosis and c-KIT mutation screening. *Allergy Asthma Proc*. 2019;40(2):123–128.
126. Kiszewski AE, Durán-McKinster C, Orozco-Covarrubias L, Gutiérrez-Castrellón P, Ruiz-Maldonado R. Cutaneous mastocytosis in children: A children analysis of 71 cases. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2004;18(3):285–290.
127. Carter MC, Metcalfe DD, Clark AS, Wayne AS, Maric I. Abnormal bone marrow histopathology in paediatric mastocytosis. *Br J Haematol*. 2015;168(6):865–873.
128. Kristensen T, Vestergaard H, Møller MB. Improved detection of the KIT D816V mutation in patients with systemic mastocytosis using a quantitative and highly sensitive real-time qPCR assay. *J Mol Diagnostics*. 2011;13(2):180–188.
129. Fuzaylov G, Fidkowski CW. Anesthetic considerations for major burn injury in pediatric patients. *Paediatr Anaesth*. 2009;19(3):202–211.

130. Ben-Amitai D, Metzker A, Cohen HA, Tiqva P. Pediatric cutaneous mastocytosis: a review of 180 patients. *Isr Med Assoc J.* 2005;7(5):320–322.
131. Lanternier F, Cohen-Akenine A, Palmerini F, Feger F, Yang Y, Zermati Y, et al. Phenotypic and Genotypic Characteristics of Mastocytosis According to the Age of Onset. *Ojcius DM, editor. PLoS One.* 2008;3(4):e1906.
132. García-Montero A, Álvarez-Twose I, Mayado A, Mollejo M, Sánchez-Muñoz L, Jara-Acevedo M, et al. Clinical, immunophenotypic, and molecular characteristics of well-differentiated systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(1):168-178.e1.
133. Leung AKC, Lam JM, Leong KF. Childhood Solitary Cutaneous Mastocytoma: Clinical Manifestations, Diagnosis, Evaluation, and Management. *Curr Pediatr Rev.* 2018;15(1):42–46.
134. Yankova R, Abadjieva T, Belovezhov V. Cutaneous Mastocytosis with Persistent Blistering: Successful Treatment with Methylprednisolone and 3-Year Follow-Up Management. *Dermatol Ther (Heidelb).* 2015;5(2):145–50.
135. Kleewein K, Lang R, Diem A, Vogel T, Pohla-Gubo G, Bauer JW, et al. Diffuse Cutaneous Mastocytosis Masquerading as Epidermolysis Bullosa. *Pediatr Dermatol.* 2011;28(6):720–725.
136. Lange M, Gleń J, Zabłotna M, Nedoszytko B, Sokołowska-Wojdyło M, Rębała K, et al. Interleukin-31 polymorphisms and serum IL-31 level in patients with mastocytosis: Correlation with clinical presentation and pruritus. *Acta Derm Venereol.* 2017;97(1):47–53.
137. Escribano L, Akin C, Castells M, Schwartz L. Current Options in the Treatment of Mast Cell Mediator-Related Symptoms in Mastocytosis. *Inflamm Allergy-Drug Targets.* 2006;5(1):61–77.
138. Szepietowski J, Reich A. Metody pomiaru świądu.(w): Świąd. Patomechanizm, klinika leczenie. Poznań; Termedia Wydawnictwa Medyczne; wydanie 1, 2010, 25–45.
139. Adam R, Heisig M, Phan NQ, Taneda K, Takamori K, Takeuchi S, et al. Visual analogue scale: Evaluation of the instrument for the assessment of pruritus. *Acta Derm Venereol.* 2012;92(5):497–501.
140. Torrelo A, Alvarez-Twose I, Escribano L. Childhood mastocytosis. *Curr Opin Pediatr.* 2012;24(4):480–486.
141. Salas-Alanis JC, Rosales-Mendoza CE, Ocampo-Candiani J. Bullous Mastocytosis Mimicking Congenital Epidermolysis Bullosa. *Case Rep Dermatol.* 2014;6(2):129–133.
142. Lange M, Kaszuba A. Uogólniona skórna mastocytoza przebiegająca z anafilaksją. *Post Dermatol Alergol.* 2007;24(1):52–57.
143. Brockow K, Ring J, Alvarez-Twose I, Orfao A, Escribano L. Extensive blistering is a predictor for severe complications in children with mastocytosis. *Allergy.* 2012;67(10):1323–1324.

144. Ługowska-Umer H, Lange M, Zabłotna M, Gleń J, Chylicka J, Sikorska M, et al. Występowanie objawów zależnych od mediatorów uwalnianych przez komórki tuczne u dzieci chorujących na skórny postać mastocytozy. *Alerg Astma Immunol.* 2013;18(4):235–240.
145. Brockow K, Akin C, Huber M, Metcalfe DD. Assessment of the extent of cutaneous involvement in children and adults with mastocytosis: Relationship to symptomatology, tryptase levels, and bone marrow pathology. *J Am Acad Dermatol.* 2003;48(4):508–516.
146. Broesby-Olsen S, Kristensen T, Vestergaard H, Brixen K, Møller MB, Bindslev-Jensen C. KIT D816V mutation burden does not correlate to clinical manifestations of indolent systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(3):723–728.
147. Hoermann G, Gleixner K V., Dinu GE, Kundi M, Greiner G, Wimazal F, et al. The KIT D816V allele burden predicts survival in patients with mastocytosis and correlates with the WHO type of the disease. *Allergy.* 2014;69(6):810–813.
148. Wilcock A, Bahri R, Bulfone-Paus S, Arkwright PD. Mast cell disorders: From infancy to maturity. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2019;74(1):53–63.
149. Cruse G, Metcalfe DD, Olivera A. Functional deregulation of KIT: Link to mast cell proliferative diseases and other neoplasms. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2014;34(2):219–237.
150. Bai Y, Bandara G, Ching Chan E, Maric I, Simakova O, Bandara SN, et al. Targeting the KIT activating switch control pocket: a novel mechanism to inhibit neoplastic mast cell proliferation and mast cell activation. *Leukemia.* 2013;27(2):278–285.
151. Lortholary O, Chandesris MO, Livideanu CB, Paul C, Jassem E, Nidoszytko M, et al. *HHS Public Access.* 2018;389(10069):612–620.
152. Greiner G, Gurbisz M, Ratzinger F, Witzeneder N, Simonitsch-Klupp I, Mitterbauer-Hohendanner G, et al. Digital PCR: A sensitive and precise method for KIT D816V quantification in mastocytosis. *Clin Chem.* 2018;64(3):547–555.
153. Kocabas CN, Yavuz AS, Lipsky PE, Metcalfe DD, Akin C. Analysis of the lineage relationship between mast cells and basophils using the c-kit D816V mutation as a biologic signature. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(6):1155–1161.
154. Taylor ML, Sehgal D, Raffeld M, Obiakor H, Akin C, Mage RG, et al. Demonstration that mast cells, T cells, and B cells bearing the activating kit mutation D816V occur in clusters within the marrow of patients with mastocytosis. *J Mol Diagnostics.* 2004;6(4):335–342.
155. Worobec A, Semere T, Nagata H, Metcalfe D. Clinical correlates of the presence of the Asp816Val c-KIT mutation in the peripheral blood mononuclear cells of patients with mastocytosis. *Cancer.* 1998;83:2120–2129.

156. Teodosio C, García-Montero AC, Jara-Acevedo M, Sánchez-Muñoz L, Álvarez-Twose I, Núñez R, et al. Mast cells from different molecular and prognostic subtypes of systemic mastocytosis display distinct immunophenotypes. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(3):719-726.e4.
157. Kristensen T, Broesby-Olsen S, Vestergaard H, Bindslev-Jensen C, Møller MB. Circulating KITD816V mutation-positive non-mast cells in peripheral blood are characteristic of indolent systemic mastocytosis. *Eur J Haematol.* 2012;89(1):42–46.
158. Erben P, Schwaab J, Metzgeroth G, Horny H-P, Jawhar M, Sotlar K, et al. The KIT D816V expressed allele burden for diagnosis and disease monitoring of systemic mastocytosis. *Ann Hematol.* 2014 Jan 27;93(1):81–88.

SPIS RYCIN

Rycina 1. Budowa receptora KIT	16
Rycina 2. MPCM – wariant polimorficzny u niemowlęcia z objawem <i>flushing</i>	22
Rycina 3. MPCM – wariant polimorficzny u 10-letniego chłopca	22
Rycina 4. MPCM – wariant monomorficzny u 12-letniej dziewczynki.....	22
Rycina 5. DCM u niemowlęcia z nadżerkami po pękniętych pęcherzach	23
Rycina 6. DCM u 10-letniego chłopca.....	24
Rycina 7. DCM u 11-letniej dziewczynki	24
Rycina 8. Mastocytoma u 2-miesięcznego niemowlęcia	24
Rycina 9. Schemat służący do oceny rozległości zmian skórnych	36
Rycina 10. Rozległość zmian skórnych u dzieci z mastocytozą w zależności od wieku	43
Rycina 11. Rozległość zmian skórnych u dzieci z MPCM i DCM w czasie 10-letniego monitorowania.....	44
Rycina 12. Nasilenie pigmentacji zmian skórnych w zależności od wieku u dzieci z mastocytozą skóry	45
Rycina 13. Nasilenie wyniosłości zmian skórnych w zależności od wieku u dzieci z mastocytozą skóry.....	47
Rycina 14. Nasilenie świądu skóry w zależności od wieku u dzieci z mastocytozą skóry	48
Rycina 15. Nasilenie świądu skóry w zależności od wieku i postaci klinicznej mastocytozy	49
Rycina 16. Nasilenie zmian pęcherzowych u dzieci z mastocytozą skóry w zależności od wieku	50
Rycina 17. Nasilenie zmian pęcherzowych w wieku ≤ 3 roku życia w zależności od postaci klinicznej CM.....	51
Rycina 18. Nasilenie pęcherzy w wieku od 4 do 7 lat w zależności od postaci klinicznej CM ..	51
Rycina 19. Ewolucja zmian pęcherzowych w czasie 10-letniej obserwacji w zależności postaci klinicznej mastocytozy skóry	52
Rycina 20. Nasilenie objawu <i>flushing</i> u dzieci z mastocytozą skóry.....	53
Rycina 21. Nasilenie objawu <i>flushing</i> w zależności od wieku i postaci klinicznej mastocytozy	54
Rycina 22. Częstość występowania objawów narządowych zależnych od mediatorów u dzieci ≤ 3 roku życia	55
Rycina 23. Częstość występowania objawów narządowych zależnych od mediatorów u dzieci w wieku 4-7 lat.....	56
Rycina 24. Częstość występowania objawów narządowych zależnych od mediatorów u dzieci ≥ 8 roku życia	57
Rycina 25. Stężenie tryptazy w surowicy u dzieci z mastocytozą skóry w zależności od wieku i postaci klinicznej CM	60
Rycina 26. Korelacja pomiędzy powierzchnią zajętej skóry a stężeniem tryptazy w surowicy ..	61
Rycina 27. Remisja zmian skórnych w odniesieniu do postaci klinicznej	63
Rycina 28. Remisja skórnych objawów zależnych od mediatorów w zależności od postaci klinicznych	64

Rycina 29. Porównanie zmian w stężeniu tryptazy w okresie monitorowania u dzieci D816V KIT-pozytywnych i D816V KIT-negatywnych.....	74
Rycina 30. Ocena remisji mastocytozy skóry u dzieci, u których wykonano badanie genetyczne	75
Rycina 31. Ocena progresji do mastocytozy układowej w całej grupie badanej	76

SPIS TABEL

Tabela I. Klasyfikacja postaci mastocytozy według WHO	8
Tabela II. Kryteria diagnostyczne skórnej manifestacji mastocytozy (MIS)	9
Tabela III. Kryteria diagnostyczne mastocytozy układowej według WHO	11
Tabela IV. Objawy zależne od mediatorów i mediatory je wywołujące.....	13
Tabela V. Mediatory uwalniane przez mastocyty.....	20
Tabela VI. Objawy kliniczne (z grupy B i grupy C) mastocytozy układowej	26
Tabela VII. Częstość występowania mastocytozy układowej i anafilaksji u dzieci chorujących na mastocytozę (lata 2007-2018).....	28
Tabela VIII. Przypadki SM u dzieci w świetle danych literaturowych z lat 2008-2018.....	29
Tabela IX. Skala nasilenia objawów zależnych od mediatorów u chorych z CM.....	36
Tabela X. Skala oceny remisji rozległości i objawów mastocytozy	38
Tabela XI. Ogólna charakterystyka grupy I	41
Tabela XII. Ogólna charakterystyka grupy II.....	42
Tabela XIII. Rozległość zmian skórnych u dzieci z mastocytozą w zależności od wieku i postaci klinicznej mastocytozy.....	43
Tabela XIV. Nasilenie pigmentacji zmian skórnych w zależności od wieku i postaci klinicznej mastocytozy.....	44
Tabela XV. Nasilenie wyniosłości zmian skórnych w zależności od wieku i postaci klinicznej mastocytozy.....	46
Tabela XVI. Porównanie częstości występowania świądu skóry u dzieci z uwzględnieniem postaci klinicznej CM	47
Tabela XVII. Porównanie częstości występowania zmian pęcherzowych u dzieci z uwzględnieniem postaci klinicznej CM	49
Tabela XVIII. Porównanie częstości objawu <i>flushing</i> u dzieci z uwzględnieniem postaci klinicznej CM	52
Tabela XIX. Stężenie tryptazy w zależności od wieku i postaci klinicznej CM	61
Tabela XX. Korelacja pomiędzy powierzchnią zajętej skóry a stężeniem tryptazy w surowicy.....	62
Tabela XXI. Analiza remisji rozległości zmian skórnych po 10 latach obserwacji.....	63
Tabela XXII. Analiza remisji objawów skórnych zależnych od mediatorów po 10 latach obserwacji.....	64
Tabela XXIII. Analiza czynników wpływających na remisję zmian skórnych.....	65
Tabela XXIV. Charakterystyka kliniczna dzieci, u których wykonano badanie mutacji D816V genu <i>KIT</i> we krwi obwodowej.....	66

Tabela XXV. Charakterystyka kliniczna 11 dzieci, u których stwierdzono mutację D816V genu <i>KIT</i> we krwi obwodowej.....	68
Tabela XXVI. Kryteria diagnostyczne SM u 5 chorych z mutacją D816V genu <i>KIT</i> we krwi obwodowej	69
Tabela XXVII. Charakterystyka kliniczna 4 dzieci z SM.....	70
Tabela XXVIII. Porównanie danych demograficznych i cech klinicznych u dzieci z mutacją i bez mutacji D816V genu <i>KIT</i> we krwi obwodowej.....	71
Tabela XXIX. Analiza stężenia tryptazy w grupie dzieci D816V <i>KIT</i> -pozytywnych i D816V <i>KIT</i> -negatywnych	73
Tabela XXX. Ocena remisji mastocytozy skóry u dzieci, u których wykonano badanie mutacji D816V genu <i>KIT</i> we krwi obwodowej	75
Tabela XXXI. Analiza progresji do SM u dzieci, u których wykonano badanie genetyczne krwi obwodowej	76
Tabela XXXII. Demograficzne i kliniczne cechy potencjalnie związane z progresją do SM	77