

Д.Ф. Глузман, д.м.н., профессор, Л.М. Скляренко, д.м.н., С.В. Коваль, к.б.н., Т.С. Иванова, Л.Ю. Полудненко, Н.И. Украинская, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. П.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

## Диагностика миелодиспластических/миелопролиферативных новообразований



Д.Ф. Глузман

К категории миелодиспластических синдромов/миелолиферативных новообразований (МДС/МЛП), относятся клональные процессы, которые имеют клинико-лабораторные и морфологические признаки субстратных клеток, присущие как МДС, так и миелолиферативным новообразованиям.

Полагают, что в основе возникновения этих заболеваний лежит поражение гемопоэтической стволовой клетки.

МДС/МЛП характеризуются гиперклеточным костным мозгом, что обусловлено пролиферацией клеток одного или более ростков миелопоэза и увеличением количества морфологически и/или функционально диспластических клеток в циркулирующей крови. Одновременно может наблюдаться неэффективная пролиферация клеток одной или более других линий гемопоэза, сопровождающаяся цитопенией. Содержание бластов в костном мозге и периферической крови при МДС/МЛП постоянно ниже 20%. В клинической картине на первый план выступает наличие спленомегалии и гепатомегалии. Частота других клинических и лабораторных признаков может варьировать.

В группу МДС/МЛП не входят пациенты с теми или иными формами миелолиферативных новообразований, у которых в последующем развивается дисплазия и определяется неэффективный гемопоэз. К категории МДС/МЛП должны быть отнесены редкие большие МЛП в стадии трансформации, у которых заболевание не было распознано в хронической фазе, но имеющие соответствующие клинико-лабораторные признаки. В эту группу не должны включаться пациенты, у которых обнаружены слитный ген BCR-ABL1 или перестройка гена PDGFRA. То же касается больных хроническим миелолиферативным лейкозом с эозинофилией и перестройкой гена PDGFRB.

К категории МДС/МЛП относятся хронический миелолиферативный лейкоз (ХМЛЛ), атипичный хронический миелолейкоз BCR-ABL1 отрицательный (аХМЛ), ювенильный миелолиферативный лейкоз (ЮМЛЛ), миелодиспластическое/миелолиферативное новообразование неклассифицируемое (МД/МЛП-Н) и в качестве «предварительной» нозологической формы рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами и тромбоцитозом (РАКС-Т).

Предполагают, что возникновение МДС/МЛП обусловлено аномалиями в регуляции пролиферации, созревания и выживаемости клеток миелоидных ростков кроветворения. Клиническая симптоматика определяется лейкокической инфильтрацией различных органов и тканей, наличием цитопении, выработкой диспластически измененных кровяных клеток, не способных нормально функционировать.

Пролиферативные аспекты во многих случаях МДС/МЛП обусловлены абберациями в RAS/MAPK сигнальных путях. У немногих больных ХМЛЛ и аХМЛ в кроветворных клетках выявлены мутации гена JAK2, характерные для BCR-ABL1-негативных МЛП. При ЮМЛЛ почти у 80% пациентов обнаруживаются мутации генов RPTN11, NRAS или KRAS, или NF1. Все они кодируют RAS-зависимые сигнальные пути. Мутации NRAS определяются в 30-40% случаев при ХМЛЛ и аХМЛ. Отсутствие каких-либо специфических генетических аномалий свидетельствует о необходимости сохранения смешанной подгруппы МДС/МЛП, так как отдельные формы МДС/МЛП не могут быть на этой основе реклассифицированы в МДС или МЛП.

В новой классификации ВОЗ (2008) сохраняется применявшееся прежде клинически значимое подразделение ХМЛЛ на две подгруппы в зависимости от процентного содержания бластов и промиоцитов в костном мозге и периферической крови. При ХМЛЛ-1 содержание бластных клеток и промиоцитов в крови <5% и в костном мозге <10%. При ХМЛЛ-2 количество бластов и промиоцитов в крови составляет ≥5%, в миелограмме ≥10%.

Наиболее противоречивым остается вопрос о включении в подгруппу МДС/МЛП «предварительной» нозологической формы — рефрактерной анемии с кольцевыми

сидеробластами и тромбоцитозом (РАКС-Т). В 50-60% изученных случаев РАКС-Т были обнаружены мутации JAK2 V617F, которые встречаются в группе МЛП, и реже мутации гена MPL. Характер роста клеток в культурах *in vitro* больше напоминает наблюдаемый при МДС, чем при МЛП. Важным вопросом является также дифференциация РАКС-Т и РАКС при умеренном количестве тромбоцитов (напомним, что порог содержания тромбоцитов для диагностики эссенциальной тромбоцитемии в настоящее время снижен с  $600 \times 10^9/\text{л}$  до  $450 \times 10^9/\text{л}$ ). Критериями для диагностики РАКС-Т признаны следующие: наличие рефрактерной анемии, признаков дисэритропоэза; содержание кольцевых сидеробластов, составляющее ≥15% всех ядродержащих клеток эритробластического ряда; выявление мегакариоцитов с признаками, подобными наблюдаемым при первичном миелофиброзе и эссенциальной тромбоцитемии; количество тромбоцитов в периферической крови, превышающее  $450 \times 10^9/\text{л}$ .

При каждой из форм МДС/МЛП отмечается тенденция к клональной эволюции и прогрессированию заболевания. Медиана выживаемости у отдельных больных заметно варьирует и колеблется от нескольких месяцев до нескольких лет. Причинами смерти пациентов могут быть осложнения, связанные с развитием цитопении, лейкокической инфильтрации тканей и органов, или переход в фазу бластного криза.

### Хронический миелолиферативный лейкоз

ХМЛЛ — клональный процесс, в основе которого лежит поражение стволовой гемопоэтической клетки костного мозга, отличительным признаком которого является моноцитоз. Абсолютное количество моноцитов в периферической крови превышает  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ . Количество бластов в костном мозге не достигает 20%. Отсутствует Ph-хромосома или слитный ген BCR-ABL1. В клетках одного или более ростков миелопоэза отмечаются диспластические изменения. Диагноз ХМЛЛ может быть установлен и при отсутствии признаков миелодисплазии, выявлении клональных цитогенетических или молекулярно-генетических аномалий в кроветворных клетках, наличии персистирующего моноцитоза, сохраняющегося на протяжении не менее 3 мес. При этом необходимо исключение других возможных причин моноцитоза (наличие опухоли, инфекций, воспалительных процессов). Заболеваемость ХМЛЛ, на долю которого приходится 31% всех случаев МДС/МЛП, составляет 1,3 на 100 тыс. населения ежегодно. Средний возраст больных, среди которых преобладают мужчины, в момент установления диагноза составляет 65-75 лет.

Этиология ХМЛЛ остается невыясненной. Предполагают, что в развитии заболевания в некоторых случаях могут играть роль неблагоприятные производственные факторы, наличие канцерогенных веществ в окружающей среде, действие ионизирующей радиации.

Клинико-гематологические и цитоморфологические проявления у больных ХМЛЛ чрезвычайно гетерогенны, экспанатают наблюдаемые при МДС и МЛП. Очаги экстрамедуллярной лейкокической инфильтрации определяются в селезенке, печени, коже, лимфатических узлах.

Выявляемая у пациентов с ХМЛЛ анемия обычно нормоцитарная, иногда макроцитарная. Часто отмечается умеренная тромбоцитопения и наличие в мазках крови атипичных крупных тромбоцитов. При исследовании периферической крови почти у половины больных определяется нормальное или сниженное количество лейкоцитов. Отмечающийся в этих случаях моноцитоз сочетается с признаками нейтропении. У ряда пациентов количество лейкоцитов во время установления диагноза, напротив, повышено. Несмотря на это, частота таких симптомов, как слабость, снижение массы тела, лихорадка, ночная потливость, геморрагические проявления, обусловленные тромбоцитопенией, является сопоставимой в обеих группах. Степень спленомегалии и гепатомегалии, как правило, более выражена у больных с увеличенным количеством лейкоцитов в крови.

У большинства пациентов содержание моноцитов в лейкограмме превышает 10%, а абсолютное количество этих клеток в периферической крови колеблется в пределах 2-

$5 \times 10^9/\text{л}$ , но в отдельных случаях могут отмечаться более высокие показатели ( $>80 \times 10^9/\text{л}$ ). Моноциты представляются зрелыми, с неизменными цитоморфологическими признаками. Лишь в небольшом количестве случаев определяется повышенная дольчатость ядер, нежная структура хроматина, необычная зернистость в цитоплазме. В периферической крови могут определяться незрелые клетки гранулоцитарного ряда (промиелоциты, миелоциты), содержание которых не превышает 10% от общего количества лейкоцитов. Количество эозинофилов, как правило, в пределах нормы, а содержание базофилов может быть несколько повышенным. На больных с эозинофилией, ассоциирующейся со специфическими цитогенетическими аномалиями, как указывалось выше, следует обращать особое внимание. Общее количество бластов и промиоцитов в лейкограмме не должно превышать 20%, в противном случае должен быть установлен диагноз острого лейкоза миелоидного происхождения.

У большинства больных обнаруживаются признаки дисгранулоцитопоза, выражающиеся в появлении нейтрофилов с гипо- и аномально дольчатыми ядрами, наличием аномальной зернистости в цитоплазме.

### Критерии диагностики хронического миелолиферативного лейкоза (ВОЗ, 2008):

- Устойчивый моноцитоз при исследовании периферической крови (абсолютное количество моноцитов  $>1 \times 10^9/\text{л}$ ).
- Отсутствие Ph-хромосомы или слитного гена BCR-ABL1.
- Отсутствие перестроек генов PDGFRA или PDGFRB (в случаях с эозинофилией).
- Менее 20% бластов в мазках крови и костного мозга. (В число бластов входят миелобласты, монобласты и промиоциты. Промоциты — предшественники моноцитов с обширной светло-серо-розовой или слегка базофильной цитоплазмой с немногочисленными нежными гранулами, складчатые ядрами с нежной структурой хроматина, вариablyно выраженными ядрышками. В классификации ВОЗ промиоциты рассматриваются как эквивалент бластов.)

• Диспластические изменения в клетках одного или более ростков миелопоэза.

При отсутствии или минимальных признаках миелодисплазии диагноз ХМЛЛ устанавливается с учетом следующих критериев, как-то:

- наличие приобретенных клональных цитогенетических или молекулярно-генетических аномалий в гемопоэтических клетках;
- удерживающийся постоянно (не менее 3 мес) моноцитоз и исключение других причин, вызывающих моноцитоз.

В мазках из стерильного пунктата костного мозга у ≥75% пациентов отмечается гиперклеточность. Но наряду с этим встречаются случаи с нормоклеточным костным мозгом и даже признаки гипоплазии. Периплазия костного мозга обусловлена прежде всего пролиферацией клеток гранулоцитарного и моноцитарного ряда. При этом отмечается также увеличение количества молодых и незрелых клеток эритробластического ряда. У большинства больных при исследовании костного мозга обнаруживаются признаки дисгранулоцитопоза, а почти у 50% — дисэритропоэза (дольчатость ядер, появление клеток с мегалобластоидными признаками). Показатели дисмегакариоцитопоза определяются у 70-80% пациентов. Они проявляются в наличии микромегакариоцитов или мегакариоцитов с аномальной дольчатостью ядер. Почти у трети больных при гистологическом изучении трепанобиоптатов костного мозга обнаруживаются признаки фиброза.

Гиперплазия лимфатических узлов у больных ХМЛЛ обнаруживается нечасто. В пунктатах или гистологических срезах при этом определяется диффузная инфильтрация бластами миелоидного происхождения. У части пациентов наличие генерализованной лимфаденопатии может служить первым проявлением заболевания. В лимфатических узлах в подобных случаях обнаруживаются так называемые плазматоидные моноциты

с округлыми ядрами с нежной структурой хроматина и умеренно базофильной цитоплазмой. По данным цитохимических исследований, они имеют моноцитарную природу.

**Цитохимия.** Применение цитохимических методов при ХММЛ играет важную роль при изучении природы клеток, инфильтрирующих костный мозг, лимфатические узлы и циркулирующих в периферической крови. Диспластически измененные миелобласты и более зрелые клетки гранулоцитарного ряда дают умеренную и выраженную реакцию при определении активности миелопероксидазы, нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразы и при окраске липидов суданом черным В. В клеточных элементах моноцитарного ряда реакция при выявлении активности миелопероксидазы и окраске на липиды слабая или отрицательная. Активность нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразы не определяется. Маркерной для клеток этого ряда (монобластов, промоноцитов, моноцитов) является выраженная положительная реакция при определении активности неспецифической  $\alpha$ -нафтилацетатэстеразы и кислой неспецифической эстеразы. Активность кислой фосфатазы в монобластах и незрелых клетках гранулоцитарного ряда слабая, а в промоноцитах и моноцитах проявляется в виде диффузной умеренной окраски цитоплазмы.

**Иммунофенотип.** На поверхностных мембранах клеток костного мозга и периферической крови больных ХММЛ, как правило, определяются антигены CD33 и CD13, экспрессирующиеся на большинстве клеток-предшественников, незрелых и зрелых клетках моноцитарного и гранулоцитарного ряда. Экспрессия антигенов CD14 и CD68 является вариабельной. В частности, сниженная экспрессия CD14 может отражать относительную незрелость моноцитов. Может наблюдаться также aberrантная гиперэкспрессия антигена CD56, aberrантная экспрессия CD2 или уменьшенная экспрессия антигенов HLA-DR, CD13, CD15, CD64 или CD36. То же касается и aberrантных иммунофенотипических признаков незрелых клеток гранулоцитарного ряда и нейтрофилов. Прогностическое значение, указывающее на возможность ранней трансформации в ОМЛ, имеет увеличение CD34<sup>+</sup> клеток или повышение содержания популяции бластных клеток с aberrантным иммунофенотипом. Плазмацитоидные моноциты, обнаруживаемые у больных ХММЛ, имеют иммунофенотип CD14<sup>+</sup>CD43<sup>+</sup>CD68<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>. Эти клетки также дают положительную реакцию при выявлении антигенов CD123, CD45RA и в редких случаях T-клеточного антигена CD5.

**Данные цитогенетического и молекулярно-генетического анализа.** В 20-40% случаев при ХММЛ обнаруживаются клональные цитогенетические аномалии, не являющиеся, однако, специфическими только для этой группы больных. Наиболее частые из них +8, -7/del(7q) и структурные аномалии 12p. Особую подгруппу в категории ХММЛ составляют пациенты с изолированной i(17q). Почти у 40% больных в момент установления диагноза ХММЛ или в процессе развития заболевания выявляются точечные мутации генов RAS. Случаи МДС/МПН с выраженной эозинофилией, ассоциированные с t(5;12)(q31~33;p12) и слитным геном ETV6-PDGFRB, ранее входившие в категорию ХММЛ, в настоящее время выделены в самостоятельную нозологическую форму. У больных с подозрением на ХММЛ, в клетках костного мозга которых определяются изоформы p190 BCR-ABL1, нужно ставить диагноз ХМЛ.

**Факторы прогноза.** К ним может быть отнесен ряд клинико-гематологических признаков (анемия, лейкоцитоз, выраженность спленомегалии). Однако основным и наиболее важным прогностическим фактором при ХММЛ является количество бластов и промоноцитов (при данном заболевании они условно рассматриваются как эквивалент бластов) в периферической крови и костном мозге. Трансформация в острый миелоидный лейкоз происходит в 15-30% случаев. Выживаемость больных ХММЛ колеблется в широких пределах — от 1 до 100 мес. Медиана выживаемости по данным большинства исследователей составляет 20-40 мес.

#### **Атипичский хронический миелолейкоз, BCR-ABL1 отрицательный**

Атипичский хронический миелолейкоз, BCR-ABL1 отрицательный — заболевание, при котором в момент установления диагноза обнаруживаются как миелолифферативные, так и миелодиспластические признаки. Нарушения касаются прежде всего клеток нейтрофильного ряда и проявляются в виде лейкоцитоза, повышенного содержания незрелых и зрелых нейтрофилов в периферической крови. Наличие мультилинейных признаков дисплазии указывает на то, что в основе развития заболевания лежит поражение миелоидной стволовой клетки костного мозга.

**Эпидемиология.** Статистические данные о частоте аХМЛ практически отсутствуют. Полагают, что на

каждые 100 случаев Ph-позитивного ХМЛ приходится 1-2 пациента с аХМЛ. Болеют в основном лица пожилого возраста. Средний возраст больных составляет 61-79 лет. Соотношение лиц мужского и женского пола колеблется от 1:1 до 2,5:1.

**Клинико-гематологические данные.** У большинства пациентов отмечаются признаки спленомегалии и гепатомегалии. Основные проявления обусловлены наличием анемии, в некоторых случаях тромбоцитопении. Количество лейкоцитов в периферической крови, как правило, повышено, колеблется в пределах 24-69 $\times 10^9$ /л, в некоторых случаях превышает 300 $\times 10^9$ /л. Содержание бластов в периферической крови у большинства больных <5% и никогда не достигает 20%. Содержание незрелых гранулоцитов (промиелоцитов, миелоцитов, метамиелоцитов) в лейкограмме составляет  $\geq 10$ -20%. Абсолютное количество моноцитов повышено, хотя содержание их в лейкограмме редко превышает 10%. Количество базофилов увеличено, но незначительно.

**Критерии диагностики атипичского хронического миелолейкоза (ВОЗ, 2008):**

- Лейкоцитоз в периферической крови ( $\geq 13 \times 10^9$ /л), обусловленный увеличенным количеством зрелых и незрелых нейтрофилов с выраженными признаками дисгранулоцитопоза.
- Отсутствие Ph-хромосомы или слитного гена BCR-ABL1.
- Незрелые клетки нейтрофильного ряда (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты)  $\geq 10\%$  всех лейкоцитов.
- Отсутствие или минимальное увеличение абсолютного количества базофилов; содержание базофилов в лейкограмме <2%.
- Отсутствие или минимальное увеличение абсолютного количества моноцитов, <10% в лейкограмме.
- Гиперклеточность костного мозга. Пролиферация клеток гранулоцитарного ряда. Дисгранулоцитопоз при наличии или отсутствии признаков дисэритроцитопоза и дисмегакариоцитопоза.

• Содержание бластов в крови и костном мозге <20%.  
**Морфология и цитохимия.** Основным характерным признаком аХМЛ является дисгранулоцитопоз, проявляющийся в наличии аномальной зернистости в цитоплазме нейтрофилов, обнаружении псевдопельгеровских лейкоцитов.

В гистологических срезах трепанобиоптатов костного мозга определяется гиперклеточность, обусловленная повышенным содержанием зрелых и незрелых нейтрофилов. Умеренно увеличено количество бластов, но их содержание всегда <20%.

Количество мегакариоцитов может быть сниженным или увеличенным. В некоторых из них обнаруживаются диспластические изменения. Содержание клеток эритробластического ряда варьирует. В некоторых случаях клеточные элементы эритроцитопоза, в том числе с дисэритроцитопозическими признаками, могут составлять до 50%. Определяются небольших размеров мегакариоциты и микромегакариоциты, клетки с гиподольчатými ядрами. Увеличенное количество ретикулиновых волокон может выявляться в момент установления диагноза или позднее при прогрессировании заболевания.

При цитохимическом исследовании активность щелочной фосфатазы, резко сниженная в нейтрофилах при Ph-позитивном ХМЛ, у больных аХМЛ может быть низкой, не отличаться от показателей в норме или даже быть повышенной. При реакции на  $\alpha$ -нафтилацетатэстеразу и кислую неспецифическую эстеразу в костном мозге больных аХМЛ выявляется больше клеток моноцитарного ряда, чем при окраске по Паппенгейму. Эти маркеры для клеток моноцитарного ряда реакции могут быть использованы в качестве дополнительных критериев при проведении дифференциальной диагностики с ХММЛ.

**Иммунофенотип.** Каких-либо специфических иммунофенотипических признаков аХМЛ до настоящего времени не представлено. При иммуноцитохимическом изучении гистологических срезов трепанобиоптатов костного мозга больных аХМЛ для выявления клеток моноцитарного ряда могут быть использованы мкАТ к антигенам CD14 или CD68.

**Данные цитогенетического и молекулярно-генетического анализа.** Каріотипические аномалии выявляются у 80% больных аХМЛ. Наиболее частыми являются такие аномалии, как +8 и del(20q), но встречаются также аномалии хромосом 13, 14, 17, 19 и 12. Изредка у пациентов с аХМЛ определяется i(17q), более частая при ХММЛ. Почти у 30% больных, о чем было сказано выше, выявляются приобретенные мутации генов NRAS и KRAS, в некоторых случаях мутации JAK2 V617F.

**Факторы прогноза.** К числу неблагоприятных прогностических факторов относятся возраст (>65 лет), наличие тромбоцитопении и выраженной анемии. Медиана выживаемости больных колеблется в пределах 14-29 мес. Трансформация в ОМЛ происходит у 15-40% больных

аХМЛ. У остальных причиной гибели являются нарушения костномозгового кроветворения.

#### **Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз**

Ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (синоним — ювенильный хронический миеломоноцитарный лейкоз) — клональное неопластическое заболевание кроветворной ткани, характеризующееся преимущественной пролиферацией клеток гранулоцитарного и моноцитарного рядов. Часто выявляемые при этом аномалии клеток эритробластического и мегакариоцитарного ряда служат косвенным подтверждением того, что в основе развития лейкоемического процесса лежит трансформация миелоидной стволовой клетки костного мозга.

Заболеваемость ЮММЛ составляет приблизительно 0,13 на 100 тыс. детского населения. На долю ЮММЛ приходится 2-3% всех случаев лейкозов у детей или 20-30% всех случаев миелодиспластических и миелолифферативных заболеваний у пациентов в возрасте до 14 лет. Дети в возрасте до 3 лет составляют 75% всех больных ЮММЛ. Заболевание нередко диагностируется у новорожденных. Мальчики болеют почти в два раза чаще, чем девочки. Риск возникновения ЮММЛ особенно высок у детей с нейрофиброматозом типа 1, у которых обнаруживаются мутации гена RPTN11, кодирующего белок — тирозинфосфатазу SHP2, или гена KRAS.

**Клинико-гематологические признаки.** К основным клиническим проявлениям заболевания относятся анемия, спленомегалия (у 85% больных), гепатомегалия (у 75% пациентов), лимфаденопатия (у 20% больных), кожные проявления в виде сыпи, обусловленные лейкоемическими инфильтратами, специфические проявления депигментации. У части больных отмечается лихорадочная реакция, симптомы тонзиллита или бронхита, геморрагического диатеза.

Клинические проявления у больных ЮММЛ часто напоминают таковые при инфекционных заболеваниях, вызванных вирусом Эпштейна-Барр, цитомегаловирусом, вирусом герпеса человека 6 типа и др.

В эритроцитах у таких пациентов умеренно снижен уровень гемоглобина. Отличительной признаком ЮММЛ, особенно случаев с нормальным каріотипом, является выраженное увеличение синтеза фетального гемоглобина. Уже в начале заболевания у больных значительно уменьшается количество тромбоцитов (до 40 $\times 10^9$ /л). Общее количество лейкоцитов в крови, как правило, увеличено, но ниже, чем при Ph-ХМЛ и колеблется в пределах 25-35 $\times 10^9$ /л. Лишь у 5-10% пациентов содержание лейкоцитов в крови превышает 100 $\times 10^9$ /л. Лейкоцитоз обусловлен увеличением количества нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов. В лейкограмме обнаруживаются незрелые формы гранулоцитов, в том числе миелоциты и промиелоциты. Может определяться умеренно повышенное количество базофилов. Но базофилия не является постоянным признаком. В мазках периферической крови могут обнаруживаться незрелые ядродержащие клетки эритробластического ряда, количество которых увеличивается по мере прогрессирования заболевания. Встречаются отдельные плазматические клетки и иммунобласты. Суммарное содержание бластных клеток и промоноцитов в периферической крови всегда <20%.

**Критерии диагностики ювенильного миеломоноцитарного лейкоза (ВОЗ, 2008):**

- Количество моноцитов в периферической крови  $> 1 \times 10^9$ /л.
- Количество бластов и промоноцитов в периферической крови и среди ядродержащих клеток костного мозга <20%.
- Отсутствие Ph-хромосомы или слитного гена BCR-ABL1.
- Наличие двух или более признаков из перечисленных:
  - повышенный для данного возраста уровень фетального гемоглобина (HbF);
  - незрелые гранулоциты в периферической крови;
  - количество лейкоцитов в периферической крови  $> 10 \times 10^9$ /л;
  - клональные аномалии хромосом (включая моносомию 7);
  - гиперчувствительность миелоидных клеток-предшественников *in vitro* к действию ГМ-КСФ.

Костный мозг при исследовании мазков из пунктов и гистологических срезов биоптатов представляется гиперклеточным, содержит увеличенное количество бластов (до 10-15%), незрелых и зрелых гранулоцитов. Моноциты составляют 5-10% общего количества миелокариоцитов, но у отдельных больных их содержание может быть повышено до 30%. Содержание бластов и промоноцитов <20%. Палочки Ауэра в цитоплазме бластов не определяются. В некоторых случаях в клетках

Продолжение на стр. 40.

Д.Ф. Глузман, д.м.н. профессор, Л.М. Склярченко, д.м.н., С.В. Коваль, к.б.н., Т.С. Ивановская, Л.Ю. Полудненко, Н.И. Украинская, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

## Диагностика миелодиспластических/миелолипролиферативных новообразований

Продолжение. Начало на стр. 38.

гранулоцитарного и эритробластического ряда могут обнаруживаться нерезко выраженные диспластические изменения (псевдопельгеровские лейкоциты, гипогрануляция цитоплазмы нейтрофилов, мегалобластические изменения в клетках эритробластического ряда). Содержание мегакариоцитов, как правило, снижено, но выраженные признаки дисплазии в клетках мегакариоцитарного ряда наблюдаются редко.

Очаги лейкоцитарной инфильтрации, представленные трансформированными клетками гранулоцитарного и моноцитарного ряда, обнаруживаются также в поверхностных и глубоких слоях кожи и в легких.

К числу дополнительных лабораторных признаков при ЮММЛ можно отнести поликлональную гипергаммаглобулинемию и повышенный уровень лизоцима в сыворотке крови. Следует отметить также наблюдающееся при ЮММЛ снижение уровня гемоглобина А2 и активности карбоангидразы эритроцитов, увеличение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и экспрессии антигена I при уменьшении экспрессии антигена I.

**Цитохимия.** Цитохимические реакции могут быть использованы при исследовании мазков периферической крови и костного мозга для дифференциации молодых и незрелых клеток гранулоцитарного и моноцитарного ряда. К их числу относятся методы определения активности миелопероксидазы,  $\alpha$ -нафтилацетатэстеразы, кислой неспецифической эстеразы, нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразы и PAS-реакция. В незрелых клетках гранулоцитарного ряда (промиелоцитах, миелоцитах, метамиелоцитах) и миелобластах выявляется высокая и умеренная активность миелопероксидазы. В клетках моноцитарного ряда реакция отрицательная или слабая положительная. Активность  $\alpha$ -нафтилацетатэстеразы и кислой неспецифической эстеразы высокая в монобластах, промиелоцитах и моноцитах и не определяется в клетках гранулоцитарного ряда (палочко- и сегментоядерных нейтрофилах, миелоцитах, промиелоцитах и миелобластах). Реакция на нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразу положительная в зрелых и незрелых нейтрофильных лейкоцитах и отрицательная в клетках моноцитарно/макрофагального ряда. При выполнении PAS-реакции отмечается диффузное умеренное или выраженное окрашивание цитоплазмы гранулоцитов, а в клетках моноцитарного ряда отложение окрашенных конечных продуктов в виде мелких гранул.

Уровень щелочной фосфатазы лейкоцитов снижен почти у 50% больных ЮММЛ. Но результаты цитохимической реакции не могут быть столь же эффективно использованы в диагностике, как при Ph-позитивном хроническом миелолейкозе.

**Иммунофенотип.** В экстрамедулярных лейкоцитарных инфильтратах для выявления моноцитарного компонента могут быть эффективно использованы методы иммуногистохимического выявления лизоцима и антигена CD68.

**Данные цитогенетического и молекулярно-генетического анализа.** Кроме описанных выше мутаций генов RPTN11, RAS и NF1 при анализе кариотипа почти у 25% больных ЮММЛ обнаруживается моносомия 7, у 10% пациентов – другие аномалии. Нормальный кариотип определяется в 65% случаев. В клетках костного мозга и крови больных ЮММЛ не удается обнаружить Ph-хромосому и слитный ген BCR-ABL1.

**Дифференциальная диагностика.** Дифференциальная диагностика осуществляется с такими заболеваниями, как острый миеломонобластный лейкоз (ОМЛ М4), синдром, связанный с моносомией 7, другими миелодиспластическими и миелолипролиферативными процессами, инфекционными заболеваниями.

**Факторы прогноза.** Медиана выживаемости колеблется от 5 мес до 4 и более лет в зависимости от метода терапии и его эффективности. До 30% пациентов погибают на протяжении первого года после установления диагноза. Причиной смерти нередко является дыхательная недостаточность, обусловленная лейкоцитарной инфильтрацией и присоединением вторичной инфекции. Прогноз несколько лучше у детей возрастом <12 мес, при содержании фетального гемоглобина в крови <10%. К числу неблагоприятных прогностических факторов относятся возраст больных (>2 лет в момент установления диагноза заболевания), наличие тромбоцитопении (<60×10<sup>9</sup>/л). Такие факторы, как выраженность гепатомегалии, лимфаденопатии, уровень гемоглобина, количество лейкоцитов в периферической крови, существенно не влияют на продолжительность жизни больных.

Дифференциально-диагностические признаки ЮММЛ и Ph-ХМЛ:		
Результаты исследований	ЮММЛ	Ph-ХМЛ
	возраст больных младше 2 лет	возраст больных старше 2 лет
Клинические данные		
Спленомегалия	Умеренная	Выраженная
Лимфаденопатия	Часто	Редко
Геморрагические проявления	Частые	Отсутствуют
Высыпания на коже	Имеются	Отсутствуют
Гематологические данные		
Количество лейкоцитов	<100 000×10 <sup>9</sup> /л	>100 000×10 <sup>9</sup> /л
Моноцитоз в крови и костном мозге	Имеется	Отсутствует
Тромбоцитопения	Часто	Нечасто
Аномалии эритроцитов		
Неэффективный эритропоэз	Имеется	Отсутствует
Антиген I на эритроцитах	Сниженная экспрессия	Нормальная экспрессия
Уровень фетального гемоглобина	10-50%	Норма
Нормобласты в периферической крови	Часто	Нечасто
Цитогенетические исследования	Ph-отрицательный	Ph-положительный
Другие лабораторные данные		
Уровень лизоцима в сыворотке крови и моче	Выраженное повышение	Небольшое повышение
Иммунологические нарушения	Высокий уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови, высокий титр антинуклеарных антител (52%) и анти-IgG антител (43%)	Не выявляются
Природа колоний, образующихся in vitro из клеток-предшественников периферической крови	Преимущественно моноцитарные	Преимущественно гранулоцитарные

Трансформация в острый лейкоз наблюдается у 10–20% детей с ЮММЛ. Эффективность лекарственной терапии больных недостаточно высока. Надежды на увеличение продолжительности жизни у этой категории пациентов связывают с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток костного мозга.

### Миелодиспластическое/миелолипролиферативное новообразование неклассифицируемое

Диагноз МД/МЛПН-Н устанавливается у больных при наличии клинико-лабораторных и морфологических показателей, присущих как МДС, так и миелолипролиферативным заболеваниям. Но имеющиеся у больных признаки не соответствуют критериям, позволяющим отнести их к указанным выше формам МДС/МЛПН (ХММЛ, аХМЛ, ЮММЛ). Обнаружение слитного гена BCR-ABL1 или PDGFRA, PDGFRB или FGFR1 исключает диагноз МД/МЛПН-Н. Характеризуется неэффективной пролиферацией диспластических клеток одной из линий миелопоэза и одновременно эффективной пролиферацией клеток с или без диспластических признаков одной или более других линий. Выделение МД/МЛПН-Н имеет важное клиническое значение, так как соотношение миелодиспластических и миелолипролиферативных проявлений во многом определяет выбор терапии.

МД/МЛПН-Н не должно диагностироваться у больных с той или иной четко установленной формой МЛПН, у которых развивающиеся диспластические изменения ассоциируются с трансформацией в более агрессивную фазу заболевания. При подозрении на наличие МД/МЛПН-Н обязательно для исключения ХМЛ в фазе акселерации должен проводиться цитогенетический анализ для выявления Ph-хромосомы или молекулярно-генетическое исследование для обнаружения слитного гена BCR-ABL1. В то же время к категории МД/МЛПН-Н могут быть отнесены пациенты, у которых ранее не была диагностирована хроническая фаза МЛПН и которые при первичном поступлении в клинику выявляются в стадии трансформации процесса с наличием миелодиспластических признаков. При установлении диагноза МД/МЛПН-Н следует учитывать наличие в анамнезе больных ранее проводимой

в связи с нераспознанным миелолипролиферативным или миелодиспластическим заболеванием цитотоксической терапии или лечения с использованием ростовых факторов.

**Клинико-гематологические данные.** При МД/МЛПН-Н наблюдаются изменения в костном мозге и в периферической крови. Поражаются селезенка, печень; отмечаются очаги лейкоцитарной инфильтрации и в других органах. При исследовании крови определяется анемия с или без признаков макроцитоза. Выявляются признаки эффективной пролиферации клеток одного или более ростков миелопоэза, прежде всего мегакариоцитов (количество тромбоцитов  $\geq 450 \times 10^9/\text{л}$ ) или лейкоцитов (количество лейкоцитов  $> 13 \times 10^9/\text{л}$ ).

**Критерии диагностики миелодиспластического/миелолипролиферативного заболевания неклассифицируемого (ВОЗ, 2008):**

- Наличие клинических, лабораторных и морфологических признаков, присущих одной из форм МДС (рефрактерной анемии, рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами, рефрактерной цитопении с мультилинейной дисплазией, рефрактерной анемии с избытком бластов), <20% бластов в крови и костном мозге.

- Выраженные признаки миелолипролиферативного процесса: количество тромбоцитов  $\geq 450 \times 10^9/\text{л}$ , сочетающееся с пролиферацией мегакариоцитов, или количество лейкоцитов  $\geq 13 \times 10^9/\text{л}$ ; наличие или отсутствие выраженной спленомегалии.

- Отсутствие в анамнезе указаний на ранее диагностированное МЛПН или МДС. Отсутствие данных о проводившейся терапии цитотоксическими препаратами или ростовыми факторами, которые могли бы объяснить появление миелодиспластических или миелолипролиферативных признаков. Отсутствие Ph-хромосомы или слитного гена BCR-ABL1, t(3;3)(q21;q26), del(5q) или inv(3)(q21;q26).

- Наличие у больных заболевания, возникшего de novo, со смешанными миелолипролиферативными и миелодиспластическими признаками, не дающими возможности отнести их к той или иной категории МДС, МЛПН или МД/МЛПН.

Могут определяться гигантские или гипогранулярные формы тромбоцитов. В нейтрофилах также обнаруживаются диспластические изменения. Количество бластов в периферической крови и костном мозге всегда <20%. В гистологических препаратах трепанобиоптатов костного мозга отмечаются признаки гиперплазии, обусловленные пролиферацией клеток, относящихся к одному из ростков миелопоэза. Одновременно в клеточных элементах, по крайней мере одной линии гемопоэза, обнаруживаются диспластические изменения. Количество бластных клеток, превышающее 10% всех ядросодержащих клеток костного мозга, указывает на переход в более агрессивную стадию заболевания.

Результаты цитохимических исследований и иммунофенотипирования сопоставимы с таковыми при МДС и/или МЛПН. Цитогенетические или молекулярно-генетические аномалии, специфические для этой группы больных, пока не установлены. При установлении диагноза МД/МЛПН-Н обязательным является исключение наличия в кровяных клетках Ph-хромосомы.

Предполагают, что МД/МЛПН-Н возникает в результате трансформации полипотентной гемопоэтической стволовой клетки. Факторы прогноза пока не установлены.

### Рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами, ассоциированная с выраженным тромбоцитозом

РАКС-Т в последней классификации опухолей кровяной и лимфоидной тканей (ВОЗ, 2008) представлена в качестве «предварительной» формы. Пока не ясно, относится ли она к спектру РАКС (одному из подтипов МДС) с дополнительно возникающими генетическими аномалиями или к МЛПН, при котором появление кольцевых сидеробластов может рассматриваться как один из приобретенных диспластических признаков. Для больных РАКС-Т характерны клинико-гематологические проявления, присущие РАКС (анемия при отсутствии бластов в периферической крови и неэффективная пролиферация диспластически измененных эритроидных клеток с мегалобластическими признаками в костном мозге), и одновременно количество тромбоцитов  $\geq 450 \times 10^9/\text{л}$  в сочетании с пролиферацией крупных атипичных мегакариоцитов. Для уточнения природы РАКС-Т предполагается проведение углубленных исследований с использованием новейших молекулярно-генетических технологий.