

Данилина Т.П., Ковригина А.М., Суборцева И.Н., Меликян А.Л., Судариков А.Б.

## Патоморфологическая диагностика маскированной формы истинной полицитемии на материале трепанобиоптатов костного мозга

ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ, г. Москва

Danilina T.P., Kovrigina A.M., Soubortseva I.N., Melikyan A.L., Sudarikov A.B.

### Assessment of bone marrow biopsy in patients with masked polycythemia vera

#### Резюме

Маскированная истинная полицитемия (ИП) является клинической формой истинной полицитемии, для которой характерно наличие мутации JAK2, соответствующей морфологической картины в костном мозге, и недостаточный для установления диагноза по критериям ВОЗ 2008 уровень Hb. Целью данного исследования была оценка морфологии костного мозга на материале трепанобиоптатов костного мозга у пациентов с маскированной формой ИП. Методы. На основании клинических данных при динамическом наблюдении, патоморфологического диагноза, данных молекулярного исследования была сформирована группа из 24 пациентов с маскированной ИП. С помощью разработанного гистологического кодификатора проводилось детальное гистологическое исследование первичных трепанобиоптатов костного мозга. При оценке степени ретикулинового фиброза срезы окрашивали по Гомори. Результаты: При гистологическом исследовании трепанобиоптатов костного мозга в большинстве случаев определялся гиперклеточный (относительно возрастной нормы) костный мозг 18/24 (75%). Во всех случаях выявлена пролиферация мегакариоцитов, полиморфных по размеру и морфологии, с наличием атипичных форм с гиперсегментированными ядрами, со зрелой морфологией. Расширение и омоложение эритроидного ростка наблюдалось соответственно в 23/24 и 22/24 случаях (95,9% и 91,7%). При оценке гистотопографии мегакариоцитов в большинстве случаев 20/24 (83,3%) определялось сочетание разрозненного расположения мегакариоцитов и формирование рыхлых кластеров (3-16 клеток). Характерная для истинной полицитемии морфология элементов мегакариоцитарного ростка наблюдалась в большинстве случаев 19/24 (79,2%). В 5/24 (20,8) случаях были выявлены признаки, характерные для эссенциальной тромбоцитемии («ET-like» признаки). Степень фиброза стромы во всех случаях составляла MF-0. Выводы: Морфологическая картина костного мозга пациентов с маскированной формой ИП в большинстве проанализированных нами случаев была характерной для истинной полицитемии. Вместе с тем, в части наблюдений при маскированной ИП в морфологии и гистотопографии мегакариоцитарного ростка определялись признаки, характерные для эссенциальной тромбоцитемии или пре-фиброзной/ранней стадии первичного миелофиброза.

**Ключевые слова:** морфология, трепанобиопсия костного мозга, маскированная форма истинной полицитемии

#### Summary

Masked polycythemia vera (PV) is characterized by presence of Jak2 mutation, specific morphological pattern in the bone marrow biopsy, and the lack demanding levels of Hb in accordance with criteria WHO, 2008 for PV. The purpose of this study was assessment of the pathomorphologic peculiarities of bone marrow biopsies in patients with masked PV. The group of 24 patients with masked PV was formed on the basis of morphological picture, clinical, laboratory and molecular data. Histological examination of bone marrow trephine biopsy in most cases showed hypercellular marrow 18/24 (75%) (age adjusted). Enlargement and rejuvenation of erythroid lineage was observed in 23/24 and 22/24 cases (95.9% and 91.7%). The histotopography of megakaryocytes in the majority of cases, 20/24 (83.3%) was characterized by discrete arrangement of megakaryocytes and forming intertrabecular loose clusters (3-16 cells). Typical for PV morphology of megakaryocytes was detected in the majority of cases, 19/24 (79.2%). There were 5/24 (20.8%) cases with characteristic features of essential thrombocythemia (ET-like features). The grade of stroma fibrosis in all cases was MF-0. Morphological picture in bone marrow biopsy of patients with masked PV was characteristic for PV in most cases. However, in some cases of masked PV the morphology part of megakaryocytes was similar to essential thrombocythemia or pre-fibrotic/early stage of primary myelofibrosis.

**Key words:** morphology, bone marrow biopsy, masked polycythemia vera

## Введение

Истинная полицитемия - хроническое миелопролиферативное заболевание, принадлежит к группе Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний и характеризуется увеличением продукции эритроцитов независимо от механизмов, которые в норме регулируют эритропоэз. Все пациенты с данным заболеванием имеют мутацию в гене JAK2 (Янус-киназа 2, в большинстве случаев - exon 14 JAK2V617F, в 2-3 % наблюдений - exon 12), которая реализуется в пролиферации трех ростков миелопоэза - эритроидного, мегакариоцитарного и гранулоцитарного, что ведет к формированию панмиелоза в костном мозге. Истинная полицитемия (ИП), согласно классификации ВОЗ 2008, устанавливается на основании больших и малых критериев. К большим критериям относятся увеличение уровня гемоглобина выше 185 г/л у мужчин, 165 г/л у женщин, наличие мутации JAK2V617F. Трехростковая гиперплазия кроветворной ткани в костном мозге, сниженный уровень эритропоэтина и рост эндогенных эритроидных колоний в культуре являются малыми критериями [1].

В обновленной редакции ВОЗ, 2017 опухолей гемопоэтической и лимфоидной тканей планируется ввести гистологическое исследование трепанобиоптата костного мозга в большие критерии диагноза всех трех нозологий Ph-миелопролиферативных заболеваний: истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), первичного миелофиброза (ПМФ).

Первые указания на возможность ИП «маскироваться» под другие Ph-негативные миелопролиферативные заболевания были отмечены еще в 1990-е годы, когда Shih L.Y. и Lee C.T. у части пациентов из группы с выраженным тромбоцитозом и нормальным или сниженным уровнем Hb выявили рост эндогенных эритроидных колоний, характерный для ИП [2].

В настоящее время понятие «маскированная» ИП используется в тех случаях, когда диагноз истинной полицитемии сложно установить ввиду нехарактерных клинических и лабораторных проявлений заболевания: выраженный тромбоцитоз, снижение уровня гемоглобина, эритроцитов, гематокрита; длительно существующие тромбозы и состояния после кровотечений [2 - 5]. Термин «маскированная ИП» объединяет раннюю форму (фазу, стадию), латентную форму (длительно протекающую субклинически) и ИП с абдоминальными тромбозами [6, 7].

Ранняя стадия ИП характеризуется развитием выраженного тромбоцитоза, что, без проведения гистологической оценки костного мозга, способствует ошибочному установлению диагноза ЭТ, JAK2 - позитивной. Однако, спустя некоторое время лабораторная картина у данной группы пациентов может прогрессировать с признаками развернутой ИП: уровень Hb и Hct начинает достигать пороговых для установки диагноза значений, возможно появление характерных клинических признаков [3]. Эта особенность течения ранней стадии ИП лежит в основе гипотезы о возможности трансформации ЭТ в ИП. Некоторые исследования указывают на то, что JAK2-

позитивные ИП и ЭТ являются различными фенотипами в развитии одной неоплазии, а эссенциальная тромбоцитемия с мутацией Calreticulin представляет отдельное заболевание, характеризующееся особыми молекулярно-генетическими и клиническими проявлениями и исходами [8]. Тем не менее, вопрос о возможности трансформации ЭТ в ИП остается открытым, и относится к разделу научных исследований с новым уровнем доказательности на основании изучения молекулярно-генетических характеристик.

Латентная ИП является заболеванием, при котором отсутствует диагностически значимый для ИП уровень показателей крови в сочетании с длительным субклиническим течением.

Для ИП с тромбозами характерно отсутствие уровней показателей гемограммы, необходимых для установления диагноза и наличие длительного анамнеза тромботических осложнений. Развитие тромбозов возможно в артериальном русле с соответствующими ишемическими проявлениями. Наиболее распространенными являются тромбозы венозного русла, чаще всего в портальной системе, печеночных и мезентериальных сосудах, венах нижних конечностей.

Маскированная истинная полицитемия, в сравнении с развернутой ИП, характеризуется более частыми случаями тромбозов, что усложняет диагностический процесс [9]. С учетом длительности латентного периода заболевания пациенты с маскированной истинной полицитемией имеют повышенный риск трансформации в острый лейкоз или миелофиброз, низкую выживаемость [5, 10].

Для ранней и более точной диагностики ИП предложены усиленные и дополненные критерии, которые были бы чувствительны и к маскированной ИП [11]. К ним относятся более низкий уровень Hb, дополнительное использование Hct для так называемой суррогатной оценки объема циркулирующих эритроцитов: для мужчин >16,5/49%, для женщин <16,0/>48% [12]. Современные клинико-патологические сопоставления позволяют отнести морфологическое исследование трепанобиоптата костного мозга к большим критериям диагностики ИП, так как гистологические критерии для Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний чувствительны и специфичны для ранней диагностики этих заболеваний [11].

## Материалы и методы

На основании клинических и лабораторных данных при динамическом наблюдении, патоморфологического диагноза, данных молекулярного исследования была сформирована группа из 24 пациентов с маскированной ИП [6]. С помощью разработанного гистологического кодификатора проводилось детальное морфологическое исследование первичных трепанобиоптатов костного мозга. При оценке степени ретикулинового фиброза срезы окрашивали по Гомори. При морфологическом исследовании трепанобиоптатов костного мозга мы оценивали следующие критерии: 1) клеточность костного мозга; 2) мегакариоцитарный росток: гистотопография, морфоло-

Таблица 1. Клинико-лабораторные данные группы 24 пациентов с маскированной формой истинной полицитемии.

Признак	Значение
Мужчины/женщины	7/17
Возраст, лет	49,2 (26-75)
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	5,3 (7,0-4,1)
Гемоглобин, г/л	141 (99-167)
Гематокрит, %	43 (30-52)
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	704 (179-1846)
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	9,1 (3,4-22,5)
Тромбозы, число больных (%)	6/24 (25)
Селезенка (увеличенные/нормальные размеры)	10/13
Абдоминальные тромбозы, %	25 (6/24)

гия; 3) эритроидный росток: расширение, омоложение; 4) гранулоцитарный росток: расширение, омоложение, увеличение количества эозинофильных генераций; 5) строма: степень ретикулинового фиброза, наличие лимфоидных очажков, состояние синусов.

## Результаты и обсуждение

Клинико-лабораторные данные исследованной группы пациентов представлены в таблице №1. Медиана возраста составляла 49,2 года, соотношение мужчин и женщин составило 1:2,5. Средние уровни Hb и Hct составляли соответственно 141,2 г/л и 43%, средние значения количества эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов –  $5,3 \times 10^{12}/л$ ,  $704,8 \times 10^9/л$  и  $9,1 \times 10^9/л$ . Уровень Hb во всех случаях был ниже порогового значения для диагностики ИП по критериям ВОЗ, 2008, и позволял отнести данные случаи к маскированной форме заболевания. Все пациенты являлись носителями мутации гена JAK2V617F.

Согласно клинических данным увеличение селезенки наблюдалось в 43,5% наблюдений (у 10/23 пациентов), нормальные размеры – 69,6% (у 13/23 пациентов). У одного из пациентов спленэктомия была выполнена в связи с травмой. Тромботические осложнения наблюдались в половине случаев 50% (12/24). Абдоминальные тромбозы (тромбозы воротной, селезеночной или мезентериальных вен) отмечались в 25% (6/24).

Результаты гистологической оценки трепанобиоптатов костного мозга представлены в таблице №2.

При морфологическом исследовании трепанобиоптатов костного мозга повышенная клеточность наблюдалась в 75% (18/24), нормоклеточный костный мозг – в 25% случаев (6/24).

При исследовании топографии элементов мегакариоцитарного роста было отмечено, что наиболее часто наблюдалось разрозненное расположение мегакариоцитов в сочетании с формированием рыхлых кластеров (83,3% от всех исследованных случаев). По 2 случая (8,3%) приходилось на разрозненное расположение мегакариоцитов или формирование только рыхлых кластеров, в том числе – крупных; максимальное количество мегакариоцитов в кластере – 16, минимальное – 3.

При оценке морфологии полиморфные мегакариоциты с гиперсегментированными нормохромными ядра-

ми отмечались в 33,3% (8/24). Преобладание крупных и гигантских форм было выявлено в 16,7% (4/24). В 50% (12/24) наблюдений определялось сочетание крайне полиморфных (в том числе, небольших) по размерам мегакариоцитов с крупными, гигантскими формами.

Гиперсегментация и нормохромия ядер мегакариоцитов с наличием «кольцевидных» форм наблюдались в большинстве случаев – 19 (79,2%) и в 5 случаях (20,8%) выявлялись ET-like- (подобные ЭТ) признаки (гиперхромия и гиперлобулярность ядер, сдвиг ядерноцитоплазматического соотношения в сторону обильной эозинофильной цитоплазмы). Подчеркнем, что при наличии выраженного полиморфизма клеток мегакариоцитопоза во всех исследованных случаях преобладали мегакариоциты со зрелой морфологией: клетки мегакариоцитарного роста имели широкую цитоплазму и характеризовались низким ядерно-цитоплазматическим соотношением.

При оценке эритроидного роста гиперплазия и омоложение отмечались в большинстве случаев – 23 (95,9%) и 22 (91,7%). При исследовании гранулоцитарного роста расширение и омоложение составили 13 (54,2%) и 17 (70,8%) соответственно. Увеличение содержания эозинофильных гранулоцитов наблюдалось в 25% (6/24).

Степень фиброза стромы оценивалась по окраске по Гомори и во всех случаях составляла MF-0 (Pnc.3.). Лимфоидные очажки разных размеров определялись в 29,2% (7/24). Для стромы костного мозга характерны расширенные полнокровные синусы.

При гистологическом исследовании костного мозга случаев «маскированной» ИП выявляются характерные морфологические признаки истинной полицитемии с небольшими отклонениями: незначительная или выраженная гиперклеточность костного мозга (относительно возрастной нормы), пролиферация мегакариоцитарного роста, в подавляющем большинстве случаев – гиперплазия (95,8%) и «слепой сдвиг» эритроидного роста (91,2%). Нами обнаружено, что при маскированной форме ИП возможно формирование рыхлых кластеров, в том числе – крупных, что создает необходимость дифференциальной диагностики с префиброзной/ранней стадией первичного миелофиброза. Устойчивым морфологическим признаком клеток мегакариоцитопоза при маскированной форме ИП является увеличенное количество крупных форм с гиперсегменти-

Таблица 2. Результаты морфологической оценки трепанобиоптатов костного мозга пациентов с маскированной формой ИП.

Показатель	Число	%
<b>Клеточность костного мозга</b>		
Нормоклеточный	6/24	25
Гиперклеточный	18/24	75
<b>Расширение ростков миелопоэза</b>		
эритроидный	1/24	4,2
Мегакариоцитарный	1/34	4,2
Эритроидный и мегакариоцитарный	9/34	37,5
Эритроидный, мегакариоцитарный и гранулоцитарный	13/24	54,2
<b>Омоложение ростков миелопоэза</b>		
Эритроидный	22/24	91,7
Гранулоцитарный росток с преобладанием промежуточных форм	16/24	66,7
Преобладание зрелых форм гранулоцитарного роста	8/24	33,3
Увеличенное количество эозинофильных гранулоцитов	5/24	20,8
<b>Гистотопография мегакариоцитов</b>		
Разрозненное расположение	2/24	8,3
Рыхлые кластеры	2/24	8,3
Разрозненное расположение и рыхлые кластеры	20/24	83,3
Паратрабекулярное расположение	5/24	20,8
<b>Морфология мегакариоцитов</b>		
Полиморфные по размеру	8/24	33,3
Преобладание крупных и гигантских форм	4/24	16,7
Сочетание полиморфных клеток с крупными и гигантскими формами	12/24	50
Наличие ET-like признаков	5/24	20,8
Мегакариоциты с нормохромными гиперсегментированными и «кольцевидными» ядрами	19/24	79,2
<b>Лимфоидные очажки</b>	4/24	16,7

рованными нормохромными «кольцевидными» ядрами в сочетании с клетками средних и небольших размеров – признаки полиморфизма морфологии и размеров мегакариоцитов (Рис.1. - *этот и другие рисунки к статье см. на специальной цветной вставке журнала - прим. ред.*).

В результате нашего исследования мы определили, что у части пациентов с маскированной истинной полицитемией в 20,8% (5/24) определялись морфологические признаки, характерные для эссенциальной тромбоцитемии (ET-like признаки). В этих случаях отмечалось преобладание крупных и гигантских форм мегакариоцитов со зрелой морфологией, с гиперсегментированными ядрами (более 6 долек) с глубокими инвагинациями или «почкующимися» ядрами и широкой эозинофильной цитоплазмой (Рис.2.). Обнаружение мегакариоцитов с подобной морфологией на фоне умеренно гиперклеточного костного мозга с незначительным расширением и омоложением эритроидного ростка может привести к ошибоч-

ному установлению диагноза ЭТ. Именно у этой группы пациентов с подобной морфологической картиной развитие в последующем развернутой картины ИП давало основания для предположения трансформации ЭТ в ИП.

Следует отметить, что выявленный при маскированной форме ИП выраженный полиморфизм морфологии и гистотопографии мегакариоцитарного ростка, в части случаев - с «перекрестными» признаками, характерными для эссенциальной тромбоцитемии (ET-like-признаки) или пре-фиброзной/ранней стадии первичного миелофиброза, может создавать объективные трудности для определения нозологической принадлежности при первичной диагностике. В подобных случаях морфологическую картину целесообразно отнести к Р-миелопролиферативному заболеванию, неклассифицируемому, с рекомендацией уточнения нозологической принадлежности при повторной трепанобиопсии костного мозга в процессе динамического наблюдения.

**Заключение**

Маскированная форма ИП – сложная клиническая форма, требующая тщательного анализа всей полноты клинико-лабораторных данных, результатов гистологического исследования трепанобиоптата костного мозга, что обуславливает необходимость постоянного взаимодействия клинициста и патолога. Возможные сложности возникают как на этапе клинического обследования, так и при морфологической оценке костного мозга. Правильная и своевременная диагностика маскированной ИП необходима для выбора терапевтической тактики, предупреждения тромботических осложнений. Для диагностики маскированной ИП необходим весь спектр лабораторных исследований, в том числе молекулярно-генетических. При отсутствии у пациента mut JAK2 (exon 14, exon12) необходимо исключить вторичный эритроцитоз, повторить трепанобиопсию костного мозга при динамическом наблюдении. ■

*Данилина Т.П. – врач-ординатор патологоанатомического отделения ФГБУ ГНЦ МЗ России, Москва; Ковригина Алла Михайловна – д.б.н., профессор кафедры патологической анатомии, цитологии и молекулярной патологии ИПК ФМБА РФ, заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ ГНЦ МЗ России, Москва; Суборцева Ирина Николаевна – к.м.н., старший научный сотрудник, врач-онколог научно-клинического отделения стандартизации методов лечения ФГБУ ГНЦ МЗ России, Москва; Меликян Анаит Левоновна – д.м.н., заведующая научно-клиническим отделением стандартизации методов лечения ФГБУ ГНЦ МЗ России, Москва; Судариков Андрей Борисович – д.б.н., заведующий лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, Москва; Автор, ответственный за переписку - Данилина Т.П., e-mail: danilina.t.p@yandex.ru*

**Литература:**

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris NL et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*, 2008
2. Shih LY, Lee CT., *Identification of masked polycythemia vera from patients with idiopathic marked thrombocytosis by endogenous erythroid colony assay. Blood.* 1994 Feb 1;83(3):744-8.
3. Thiele J, Kvasnicka HM, Diehl V. *Initial (latent) polycythaemia vera with thrombocytosis mimicking essential thrombocythaemia. Acta Haematol.* 2005;113:213-219.
4. Thiele J., Kvasnicka H.M. *Diagnostic impact of bone marrow histopathology in polycythemia vera (PV). Histol Histopathol.* 2005; 20: 317-328.
5. Kvasnicka H.M., Thiele J. *Prodromal myeloproliferative neoplasms: The 2008 WHO classification. Am. J. Hematol.* 2010; 85:62–69
6. Меликян А.Л., Суборцева И.Н., Ковригина А.М. и др. *Клиническая и морфологическая характеристика латентной истинной полицитемии. Терапевтический архив* 7, 2016. Стр. 25-30.
7. Ковригина А.М., Байков В.В. *Истинная полицитемия: новая концепция диагностики и клинические формы. Клиническая онкогематология.* 2016;9(2):115-22.
8. Rumi E., Pietra D., Ferretti V., et al. *JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. Blood* 2014 123: 1544-1551.
9. Barbui T., Thiele J., Gisslinger H. *Masked polycythemia Vera (mPV): Results of an international study. Am. J. Hematol.* 2014;89:52-4.
10. Barbui T., Thiele J., Vannucchi A.M. et al. *Rethinking the diagnostic criteria of polycythemia vera. Leukemia.* 2014;28:1191-5.
11. Chu D., Cho Y-U., Jang S. et al. *Straightforward Identification of Masked Polycythemia Vera Based on Proposed Revision of World Health Organization Diagnostic Criteria for BCR-ABL1- Negative Myeloproliferative Neoplasms. Ann Lab Med* 2015;35:651-653.
12. Barbui T., Thiele J., Carobbio A., et al. 2014. *Masked polycythemia vera diagnosed according to WHO and BCSH classification. Am. J.* 2014; 89:199–202.

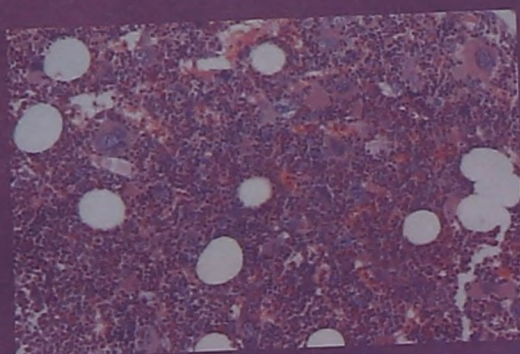


Рис.1. Истинная полицитемия, маскированная форма. Гиперплазия трех ростков миелопоэза. Выявлена пролиферация мегакариоцитарного ростка: полиморфные мегакариоциты разного размера со зрелой морфологией, гиперсегментированными нормохромными ядрами, характерные для истинной полицитемии. Расширение эритроидного ростка с омоложением без формирования отчетливых кластеров эритрокариоцитов. Гранулоцитарный росток умеренно расширен, омоложен («левый сдвиг»).

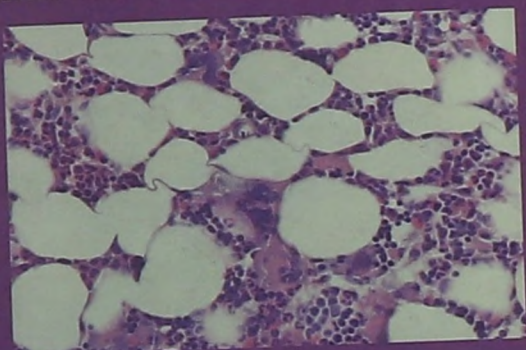


Рис.2. Ранняя стадия истинной полицитемии с «ЕТ-like» признаками. Атипичные мегакариоциты с обильной эозинофильной цитоплазмой, гиперсегментированными «почкующимися» ядрами, характерные для эссенциальной тромбоцитемии.

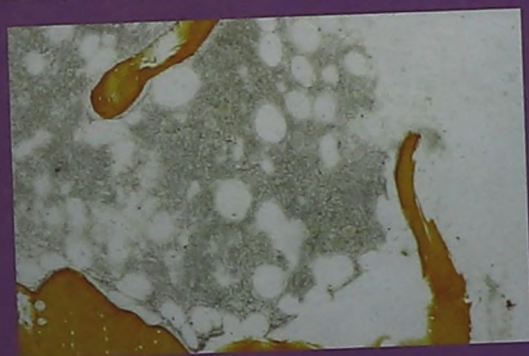


Рис.3. Оценка фиброза стромы при окраске по Gomori. Ретикулиновый фиброз MF-0.