

А.І. Коваль<sup>1</sup>  
 О.М. Костюкевич<sup>2</sup>  
 С.В. Клименко<sup>3</sup>  
 І.В. Дмитренко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

<sup>2</sup>ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС

<sup>3</sup>ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», Київ, Україна

#### Ключові слова:

мієлопроліферативні неоплазії, справжня поліцитемія, вторинний еритроцитоз, трепанобіопсія кісткового мозку, мутація JAK2 V617F

## ГІСТОЛОГІЧНІ КРИТЕРІЇ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ СПРАВЖНЬОЇ ПОЛІЦИТЕМІЇ І ВТОРИННИХ ЕРИТРОЦИТОЗІВ ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК ІЗ НАЯВНІСТЮ МУТАЦІЇ JAK2 V617F

**Мета:** дослідження основних гістологічних ознак справжньої поліцитемії (СП) та вторинних еритроцитозів (ВЕ), аналіз їх зв'язку з наявністю мутації JAK2 V617F, визначення чутливості та специфічності гістоморфологічних критеріїв для діагностики СП та її диференційної діагностики з ВЕ. **Об'єкт і методи:** проведено гістологічне дослідження кісткового мозку (КМ) та визначення мутації JAK2 V617F у 79 хворих на СП та 41 пацієнта з ВЕ. **Результати:** встановлено, що при СП основними гістологічними ознаками є трипаросткова гіперплазія КМ, плеоморфізм мегакаріоцитів, наявність резорбції кісткової тканини та мікроциркуляторних порушень. Для ВЕ найбільш характерна гіперплазія виключно еритроїдного паростка, рідше еритроїдного та мієлоїдного. Мутація V617F гена JAK2 є предиктором таких патоморфологічних змін КМ, як плеоморфізм мегакаріоцитів, наявність ретикулінового фіброзу та мікроциркуляторних порушень. **Висновок:** чутливість гістологічного дослідження КМ як критерію діагностики СП становила 83,5%, специфічність — 100,0%. Поєднання гістологічного та молекулярно-генетичного досліджень значно покращує діагностику та диференційну діагностику СП та ВЕ, сумісна чутливість при об'єднанні двох діагностичних методів становить 99,0%.

Вітчизняна гематологія надає велике, іноді навіть першочергове, значення гістоморфологічному критерію при встановленні діагнозу справжньої поліцитемії (СП) та її диференціації з реактивними станами, вторинними еритроцитозами (ВЕ) та іншими мієлопроліферативними новоутвореннями (МПН). Втім думки різних авторів із приводу внеску гістоморфологічних показників у верифікацію СП суттєво різняться. Основними критиками ролі гістологічного дослідження кісткового мозку (КМ) завжди були дослідники з групи з вивчення СП — Polycythemia Vera Study Group (PVSG). Критерії PVSG, які довгий час вважалися золотим стандартом діагностики, взагалі не визначають морфологію КМ як діагностичний тест [1, 2]. Аргументами на користь цього, на думку вчених, є достатня кількість зрозумілих та об'єктивних маркерів захворювання, що роблять додаткове залучення ще й гістологічних критеріїв непотрібним. Крім того, гістологічні критерії мають бути не суб'єктивними, а стандартизованими та добре відтворюваними. Аналіз гістоморфологічного дослідження КМ, проведений PVSG у 281 пацієнта зі СП, показав, що у 13% не було виявлено характерних патоморфологічних змін трепанобіоптату при беззаперечному діагнозі СП [3]. Це ставить під сумнів чутливість методу гістоморфологічного дослідження КМ як критерію діагностики СП.

Протилежної думки дотримуються дослідники Європейської групи з дослідження мієлопроліферативних новоутворень (European Working Group on Myeloproliferative Disorders — EWG.MPD). Вони вважають морфологічну оцінку трепанобіоптатів адекватним методом діагностики СП навіть на ранній доклінічній стадії захворювання, перебіг якої характеризується близькими до норми показниками периферичної крові та маси циркулюючих еритроцитів, що не відповідає стандартним критеріям PVSG [4, 5]. Авторами визначені 18 гістоморфологічних ознак, що дозволяли проводити диференційну діагностику СП як з ВЕ, реактивними станами, транзитними мієлопроліферативними реакціями, так і з іншими МПН — есенціальною тромбоцитемією та первинним мієлофіброзом [6]. Критерії містили оцінку загальної клітинності КМ з урахуванням віку пацієнта; кількість мегакаріоцитів (МГКЦ); їх кластероутворення (наявність більше 3 клітин, розташованих поруч); розмір МГКЦ із виділенням малих, середніх, великих та гігантських форм; ступінь лобуляції ядра МГКЦ; дефекти визрівання та ознаки дисмегакаріоцитопоезу (ненормальне ядерноцитоплазматичне співвідношення, гіперхроматоз ядра); наявність «голих» ядер МГКЦ; кількість нейтрофільних гранулоцитів; нормальний або аномальний процес визрівання клітин мієлоїдного паростка (лівий зсув або переважання молодих форм)

в напрямку від кістковомозкових трабекул до центра кістковомозкової порожнини, тобто порушення гістотопографії клітин КМ; наявність еозинофілів; кількість еритрокаріоцитів (ЕКЦ); нормальний або аномальний процес визрівання ЕКЦ; збільшення кількості та потовщення ретикулінових волокон, що перевищує норму в 3 рази; ступінь фіброзу КМ; наявність відкладень заліза у макрофагах; наявність плазматичних клітин, розташованих параваскулярно; наявність в інтерстиції макрофагів із продуктами розпаду клітин; наявність агрегатів лімфоцитів; наявність мікроциркуляторних порушень.

Втім автори зазначають, що при морфологічному дослідженні КМ обов'язковим є, окрім стандартного забарвлення препаратів, застосування диференціюючих барвників і техніки імпрегнації сріблом. Бажаним є також застосування імуногістохімічних маркерів проліферації. У такому разі чутливість гістоморфологічного критерію при діагностиці СП може досягти 95–96% [4].

Доцільність використання гістологічного дослідження КМ на додаток до добре перевірених клінічних стандартів для підвищення діагностичної надійності була підтверджена також іншими дослідницькими групами, у результаті чого в 2001 р. ВООЗ були прийняті гістологічні критерії діагностики МПН [7], підтримані також і під час розробки класифікації ВООЗ 2008 р. [8]. Слід зазначити, що, крім беззаперечної діагностичної цінності, оцінка трепанобіоптатів відіграє вирішальну роль у диференціації різних форм МПН [9–11].

Однак і до цього часу не вирішено проблеми стандартизації та задовільної відтворюваності гістологічних критеріїв. Не впроваджено в клінічну практику запропоновану EWG.MPD напівкількісну оцінку гістологічних маркерів, тому й досі результати аналізу трепанобіоптатів КМ мають лише описовий характер. На думку А.В. Демидової [12], переоцінка можливостей гістоморфологічного дослідження КМ може призводити до діагностичних помилок. Основними їх причинами автор вважає отримання незадовільних зразків КМ (поверхнево взята трепанобіопсія), випадкове потрапляння в незмінену ділянку КМ, забарвлення препаратів тільки стандартним методом, що не дозволяє відрізнити лейкемічну проліферацію від реактивної. Враховуючи вищевикладене, багато клініцистів оспорюють задовільну чутливість гістологічного дослідження КМ як критерію діагностики і вважають, що вона не перевищує 80–85% [13, 14]. Тому в діагностичних критеріях ВООЗ 2008 р. для СП результати гістоморфології КМ було віднесено до малих критеріїв діагностики [15, 16]. У клінічній практиці необхідно прагнути до отримання більш чутливих та специфічних додаткових доказів наявності СП, якими, безумовно, є молекулярно-генетичні маркери, а саме наявність мутації *JAK2 V617F*, та визначення рівня ендogenous еритропоетину [17]. Саме поєднання даних гістологічного досліджен-

ня КМ з молекулярно-генетичним скринінгом дозволяє з максимальною точністю діагностувати СП та диференціювати її з реактивними станами та мієлопроліферативними реакціями [18].

Метою роботи є дослідження основних гістологічних ознак СП та ВЕ, аналіз їх зв'язку з наявністю мутації *JAK2 V617F*, визначення чутливості та специфічності гістоморфологічних критеріїв для діагностики СП та її диференційної діагностики з ВЕ.

## ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Гістологічне дослідження КМ проведено у 79 пацієнтів із СП та 41 — з ВЕ. Серед обстежених, хворих на СП, було 46 чоловіків (58,2%) та 33 жінки (41,8%). Вік учасників дослідження коливався від 22 до 80 років, в середньому становив  $56,65 \pm 14,44$  року. Серед обстежених пацієнтів з ВЕ — 37 чоловіків (90,2%) та 4 жінки (9,8%), а їх вік становив 20–72 років, в середньому —  $48,24 \pm 14,12$  року. Діагноз СП встановлено згідно з критеріями ВООЗ 2008 р. [16], тобто всім хворим проводили скринінг периферичної крові на наявність мутації *JAK2 V617F*. Усі пацієнти були поінформовані та дали згоду на використання зразків їх КМ з дослідницькою метою.

Стан КМ вивчали в гістологічних препаратах трепанобіоптатів, які фіксували в рідині Карнуа, декальцинували в рідині де Кастро, зневоднювали проведенням через спирти зростаючої концентрації і заливали в парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, за методом Ван Гізон, забарвлювали за Малорі на предмет наявності колагену та за Гоморі — для виявлення ретикулінових волокон.

Статус гена *JAK2 (V617F)* визначали за допомогою мультіплексної полімеразної ланцюгової реакції з алейспецифічними праймерами за Вахтер [18, 19].

Статистичний аналіз проводили з використанням програми статистичної обробки даних STATISTICA 10.0. Статистичну значимість міжгрупових відмінностей якісних показників визначали за допомогою критерію  $\chi^2$  Пірсона з поправкою за Йетсом. У діагностичній процедурі розраховували також відносні ризики (ВР) розвитку певного патологічного процесу за наявності діагностичних показників, що досліджувалися, та їх довірчі інтервали (ДІ). Розрахунок чутливості, специфічності та прогностичної цінності діагностичного тесту проводили за методом латинського квадрата (чотирьохпільної таблиці).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При аналізі морфологічних препаратів встановлено, що при СП спостерігалася гіперклітинність КМ за рахунок редукції адипоцитів. Гемопоетична тканина часто займала майже весь інтратрабекулярний простір. Визначалася трипаросткова гіперплазія (панмієлоз) з вираженою гіперплазією еритроїдного паростка, який утворював своєрідні клітинні пласти, але без ознак дизеритропоезу та порушення до-



зрівання (рис. 1). Саме наявність панмієлозу, згідно з діагностичними критеріями ВООЗ 2008 р., є одним із малих критеріїв верифікації СП. Так, відповідно до нашого дослідження, трипаросткова гіперплазія спостерігалася у 66 (83,54%) хворих на СП та не була виявлена у жодного пацієнта з ВЕ ( $\chi^2 = 72,78$ ;  $p < 0,0001$ ). Двопаросткову еритроїдну та мієлоїдну гіперплазію відзначали у 4 (5,06%) хворих на СП та 9 (21,95%) пацієнтів з ВЕ ( $\chi^2 = 6,32$ ;  $p = 0,012$ ). Гіперплазію еритроїдного та мегакаріоцитарного паростка — у 6 хворих на СП (7,59%). Однопаросткову гіперплазію виключно еритрону діагностували у 3 (3,80%) хворих на СП та 25 (60,98%) — з ВЕ ( $\chi^2 = 46,18$ ;  $p < 0,0001$ ).

Таким чином, при ВЕ переважно виявляли реактивну гіперплазію еритроїдного паростка, від помірної до різко вираженої (рис. 2). У жодного пацієнта з ВЕ не відмічено гіперплазії мегакаріоцитарного паростка, натомість при СП її відзначали у 70 (88,61%) хворих ( $\chi^2 = 83,58$ ;  $p < 0,0001$ ). МГКЦ у зразках як розташовувалися вільно, так і утворювали кластери. Кластероутворення МГКЦ визначалося у 19 (24,05%) випадків СП та не спостерігалася за ВЕ ( $\chi^2 = 9,98$ ;  $p = 0,0016$ ). ЕКЦ формували кластери у 14 (17,72%) хворих на СП та 2 (4,88%) пацієнтів з ВЕ ( $\chi^2 = 2,82$ ;  $p = 0,09$ ).

Найбільш характерною ознакою СП, що відрізняє її від інших патологічних процесів, є так званий плеоморфізм МГКЦ (наявність одночасно малих, середніх, великих і гігантських форм); при цьому всі клітини зрілі, без ознак атипії та дисмегакаріоцитопоезу, містять великі полілобулярні ядра. Зрідка зустрічалися «голі» ядра МГКЦ (рис. 3). При ВЕ МГКЦ мали малі або середні розміри та вільно розподілялися по всьому трепанату без ознак кластероутворення, атипії та порушень дозрівання. У нашому дослідженні плеоморфізм МГКЦ відзначали у 44 хворих (55,70%) на СП, при ВЕ морфологічних змін МГКЦ не відмічено ( $\chi^2 = 33,70$ ;  $p < 0,0001$ ).

Гіперплазію мієлоїдного паростка визначали в 86,08% випадків СП (68 хворих) проти 21,95% (9 пацієнтів) при ВЕ ( $\chi^2 = 45,52$ ;  $p < 0,0001$ ). Нейтрофільний гранулоцитопоез мав видимий лівий зсув у 8 хворих на СП (10,13%) та 1 пацієнта з ВЕ (2,44%).

При застосуванні техніки імпрегнації азотно-кислим сріблом для оцінки стану ретикулінової стромы та судин у 10–20% хворих на СП виявляють ознаки ретикулінового фіброзу в перисинусоїдальних ділянках [20]. За результатами нашого дослідження, він спостерігався при СП у 16,46% хворих проти 2,43% при ВЕ ( $\chi^2 = 13,42$ ;  $p = 0,0002$ ). Коліагеновий фіброз, який, однак, не був різко виражений і грубий, відзначали лише у 3 (3,80%) хворих на СП (рис. 4).

Васкуляризація КМ при СП характеризувалася збільшенням кількості мікросудин, розширенням судинних синусів, які щільно заповнені еритроцитами (рис. 5). Такі мікроциркуляторні порушення відзначали у 53 (67,09%) хворих на СП і лише у 3 (7,32%)

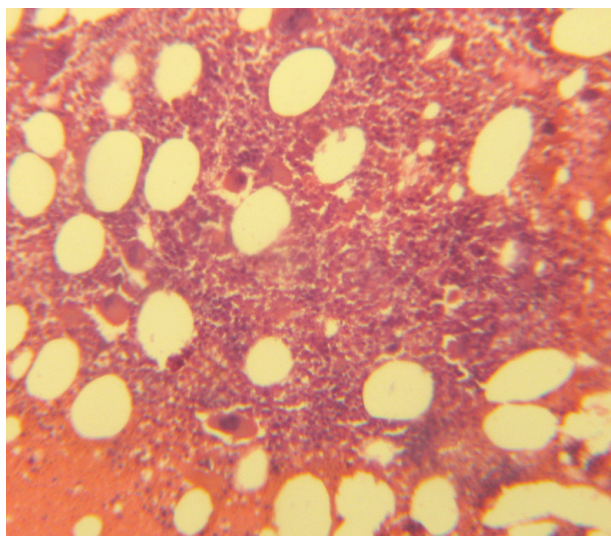


Рис. 1. Трипаросткова гіперплазія (панмієлоз) при СП. Забарвлення гематоксилином і еозином,  $\times 200$

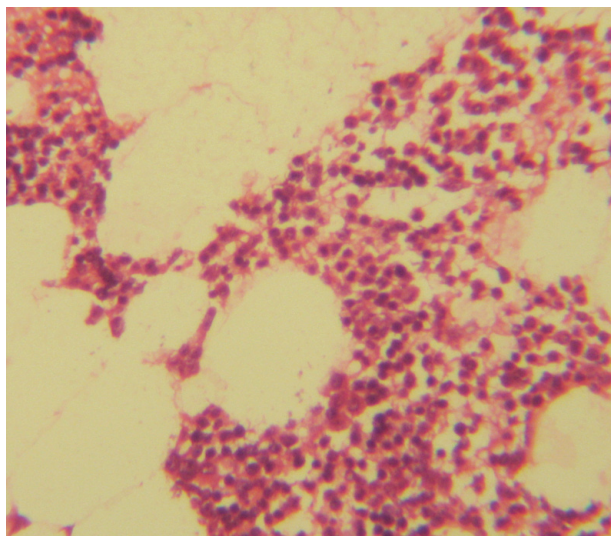


Рис. 2. Реактивна гіперплазія еритроїдного паростка при ВЕ. Забарвлення гематоксилином і еозином,  $\times 200$

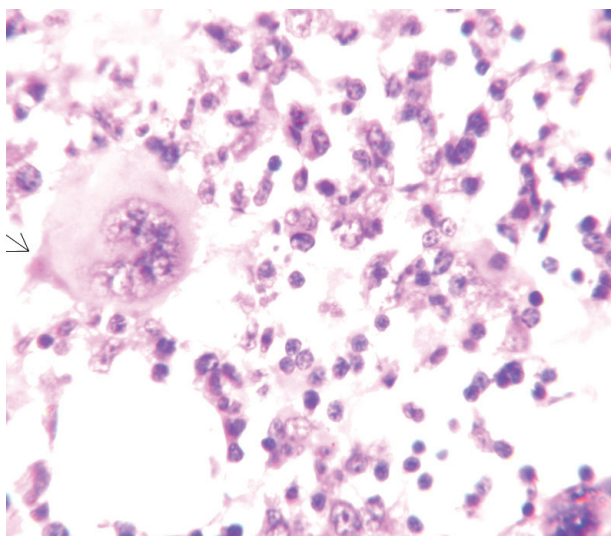


Рис. 3. Плеоморфізм МГКЦ при СП. Забарвлення гематоксилином і еозином,  $\times 400$



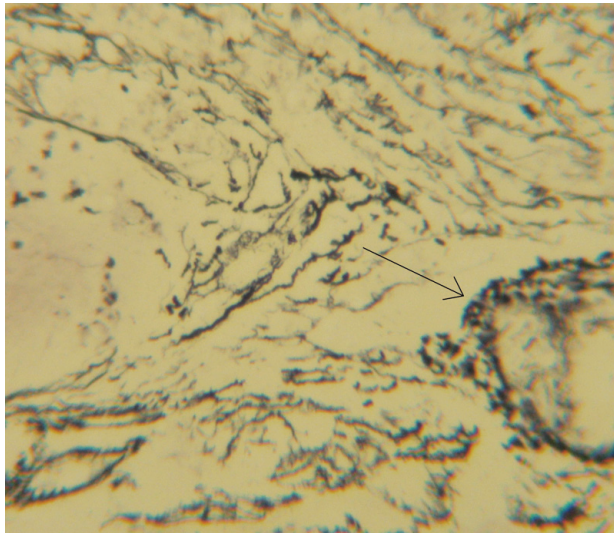


Рис. 4. Ретикуліновий фіброз у перисинусоїдальних ділянках. Імпрегнація сріблом за Гоморі,  $\times 200$

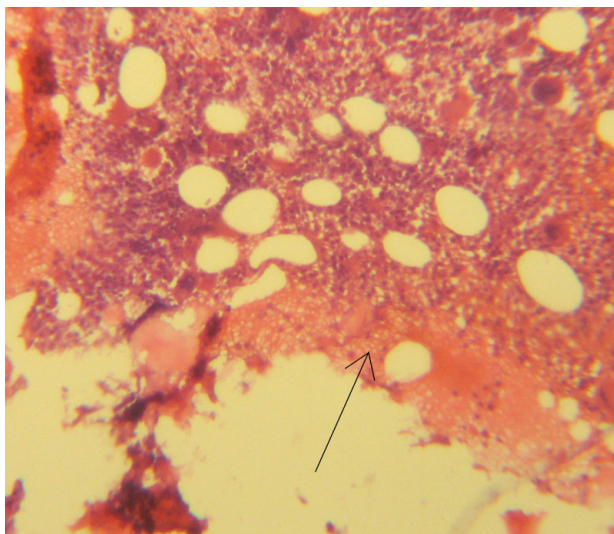


Рис. 5. Мікроциркуляторні порушення при СП. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 200$

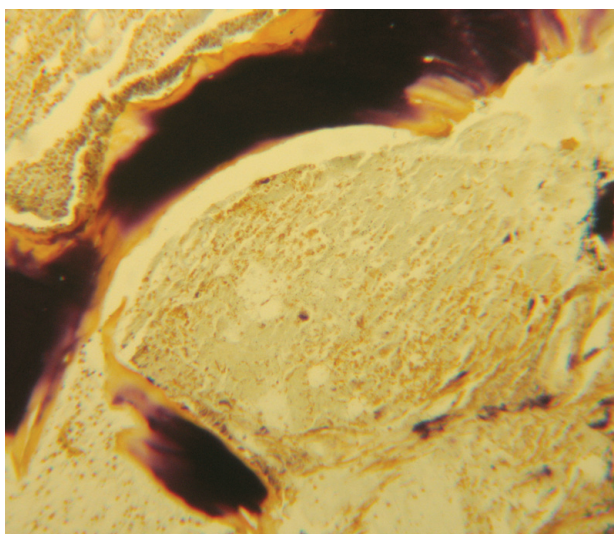


Рис. 6. Резорбція кісткової тканини при СП. Забарвлення за Малорі,  $\times 200$

пацієнтів із ВЕ ( $\chi^2 = 36,38$ ;  $p < 0,0001$ ). Іноді при СП реєстрували навіть розрив синусів та утворення крововиливів.

Кістковомозкові порожнини при СП розширені, трабекули стоншені, спостерігається резорбція кісткової тканини різного ступеня вираженості (рис. 6). Остання відзначалася у значній кількості хворих на СП (40,51%) і не відмічена у жодного пацієнта з ВЕ ( $\chi^2 = 20,62$ ;  $p < 0,0001$ ).

Слід зазначити, що у 7 пацієнтів з ВЕ (17,07%) морфологічних змін при гістологічному дослідженні КМ не виявлено.

Результати дослідження трепанобіоптатів відображені у таблиці.

Таблиця  
Морфологічні показники трепанобіоптатів у хворих на СП і пацієнтів із ВЕ

Показник	СП (n = 79), n (%)	ВЕ (n = 41), n (%)
Трипаросткова гіперплазія	66 (83,54)*	-
Гіперплазія лише еритрону	3 (3,80)*	25 (60,98)
Гіперплазія еритрону та мієлоїдного паростка	4 (5,06)	9 (21,95)
Гіперплазія еритрону та паростка МГКЦ	6 (7,59)	-
Гіперплазія мієлоїдного паростка	68 (86,08)*	9 (21,95)
Лівий зсув мієлоїдного паростка	8 (10,13)	1(2,44)
Гіперплазія паростка МГКЦ	70 (88,61)*	-
Плеоморфізм МГКЦ	44 (55,70)*	-
Ретикуліновий фіброз	13 (16,46)*	1 (2,44)
Колагеновий фіброз	3 (3,80)	-
Резорбція кісткової тканини	32 (40,51)*	-
Кластери ЕКЦ	14 (17,72)	2 (4,88)
Кластери МГКЦ	19 (24,05)*	-
Мікроциркуляторні порушення	53 (67,09)*	3 (7,32)
КМ без змін	-	7 (17,07)*

Примітка: \* статистично значуща різниця ( $p < 0,05$ ) між показниками обох груп.

На підставі наших досліджень встановлено, що відродність віднесення пацієнта саме до групи хворих на СП при проведенні диференційної діагностики зростає за наявності низки гістоморфологічних змін КМ та його мікрооточення, а саме: гіперплазії паростка МГКЦ (ВР = 5,56; ДІ 3,08–10,03), трипаросткової гіперплазії (ВР = 4,15; ДІ 2,59–6,67), плеоморфізму МГКЦ (ВР = 2,17; ДІ 1,7–2,77), наявності резорбції кісткової тканини (ВР = 1,91; ДІ 1,56–2,34), ретикулінового фіброзу (ВР = 1,49; ДІ 1,21–1,84) та мікроциркуляторних порушень (ВР = 2,33; ДІ 1,72–3,15).

Для визначення гістоморфологічних особливостей КМ за *JAK2*-позитивного та негативного статусу додатково проведено аналіз показників трепанобіопсії у групах осіб із наявністю та відсутністю мутації V617F гена *JAK2*. Мутація *JAK2* V617F була виявлена у 76 хворих на СП та у 2 пацієнтів з ВЕ. У 4 осіб діагностовано *JAK2*-негативну СП.

Визначено, що *JAK2* V617F-позитивні пацієнти зі СП мають вищий рівень плеоморфізму МГКЦ ( $p = 0,034$ ) та мікроциркуляторних порушень мікрооточення КМ ( $p = 0,010$ ). У носіїв мутації *JAK2* V617F із ВЕ фіксують частотне превалювання розповсюдженості ретикулінового фіброзу ( $p = 0,048$ ), мікроциркуляторних порушень ( $p = 0,003$ ) та двопарост-

кової гіперплазії, а саме еритроїдного та міелоїдного паростків ( $p = 0,043$ ). Отримані результати підтверджують, що *JAK2 V617F* мутація є предиктором патоморфологічних девіацій КМ як у хворих на СП, так і в осіб із ВЕ.

За методом латинського квадрата визначено операційні характеристики використання гістологічного дослідження трепанобіоптатів, а саме наявність трипаросткової гіперплазії КМ, для діагностики СП. Чутливість тесту (наявність трипаросткової гіперплазії в групі хворих на СП) становила 83,5%, специфічність (відсутність трипаросткової гіперплазії в групі пацієнтів з ВЕ) — 99,9%, прогностична цінність позитивного результату (вірогідність наявності СП при виявленні трипаросткової гіперплазії) — 99,9%, прогностична цінність негативного результату (вірогідність відсутності СП, якщо трипаросткова гіперплазія не спостерігається) — 75,9%. Загальна діагностична ефективність методу — 89,1%.

Чутливість використання тесту на наявність мутації *JAK2 V617F* як маркера СП становила 95,0%, специфічність — 95,1%. Прогностична цінність позитивного результату (вірогідність наявності СП при виявленні мутації *JAK2 V617F*) сягає 97,4%. Прогностична цінність негативного результату (вірогідність відсутності СП, якщо мутація *JAK2 V617F* не виявлена) — 90,7%. Загальна діагностична ефективність методу — 95,0%.

Нами досліджена сумісна чутливість при поєднанні обох діагностичних методів (гістологічного та молекулярно-генетичного) за допомогою застосування формули сумісних ймовірностей:

$$P_{1+2} = 1 - (1 - P_1)(1 - P_2),$$

де:  $P_1$  — чутливість гістологічного дослідження при діагностиці СП;  $P_2$  — чутливість тесту на наявність мутації *JAK2 V617F* як маркера СП. Сумісна чутливість, обчислена за цією формулою, дорівнює 99,0%.

Таким чином, скринінг периферичної крові на наявність мутації *V617F* гена *JAK2*, виконаний як перша ланка діагностичного алгоритму, значно поліпшить якість діагностики СП та її диференційної діагностики з ВЕ.

## ВИСНОВКИ

1. При СП основними гістологічними ознаками є трипаросткова гіперплазія КМ, плеоморфізм МГКЦ, наявність резорбції кісткової тканини та мікроциркуляторних порушень.

2. Для ВЕ найбільш характерна гіперплазія включно еритроїдного паростка, рідше — еритроїдного та міелоїдного паростка.

3. Чутливість гістологічного дослідження КМ як критерію діагностики СП становить 83,5%, специфічність — 99,9%, прогностична цінність позитивного результату — 99,9%, прогностична цінність негативного результату — 75,9%; загальна діагностична ефективність — 89,1%.

4. При визначенні мутації *JAK2 V617F* як маркера СП чутливість тесту становить 95,0%, специфіч-

ність — 95,1%, прогностична цінність позитивного результату — 97,4%, негативного — 90,7%; загальна діагностична ефективність — 95,0%.

5. Поєднання гістологічного та молекулярно-генетичного досліджень значно покращує діагностику та диференційну діагностику СП та ВЕ, сумісна чутливість при об'єднанні цих двох діагностичних методів становить 99,0%.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanisms and management. *Blood* 2002; **100** (13): 4272–90.
2. Messinezy M, Pearson TC. The classification and diagnostic criteria of the erythrocytoses (polycythaemias). *Clin Lab Haematol* 1999; **21**: 309–16.
3. Ellis JT, Peterson P, Geller SA, et al. Studies of the bone marrow in polycythemia vera and the evolution of myelofibrosis and second hematologic malignancies. *Semin Hematol* 1986; **23**: 144–55.
4. Thiele J, Kvasnicka HM. Diagnostic impact of bone marrow histopathology in polycythemia vera. *Histol Histopathol* 2005; **20**: 317–28.
5. Michiels JJ, Kutti J, Stark P, et al. Diagnosis, pathogenesis and treatment of the myeloproliferative disorders essential thrombocythemia, polycythemia vera and essential megakaryocytic granulocytic metaplasia and myelofibrosis. *Neth J Med* 1999; **52** (2): 46–62.
6. Thiele J, Kvasnicka HM, Zankovich R, et al. The value of bone marrow histology in differentiating between early stage polycythemia vera and secondary (reactive) polycythemias. *Haematologica* 2001; **86**: 368–74.
7. Michiels JJ. Bone marrow histopathology and biological markers as specific clues to the differential diagnosis of essential thrombocythemia, polycythemia vera and prefibrotic or fibrotic agnogenic myeloid metaplasia. *Hematol J* 2004; **5**: 93–102.
8. Thiele J. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative disease. *Am J Clin Pathol* 2009; **132**: 261–80.
9. Michiels JJ, De Raeve H, Berneman Z, et al. The 2001 World Health Organization and updated European clinical and pathological criteria for the diagnosis, classification, and staging of the Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 2006; **32**(4 Pt 2): 307–40.
10. Michiels JJ, Berneman Z, Van Bockstaele D, et al. Current diagnostic criteria for the chronic myeloproliferative disorders (MPD) essential thrombocythemia (ET), polycythemia vera (PV) and chronic idiopathic myelofibrosis (CIMF). *Pathol Biol (Paris)* 2007; **55**(2): 92–104.
11. Michiels JJ, De Raeve H, Hebeda K, et al. WHO bone marrow features and European clinical, molecular, and pathological (ECMP) criteria for the diagnosis of myeloproliferative disorders. *Leuk Res* 2007; **31**(8): 1031–38.
12. Демидова АВ. Истинная полицитемия. В: Клиническая онкогематология. М.: Медицина, 2007: 586–605.
13. Spivak JL, Silver RT. The revised World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocytosis and primary myelofibrosis: an alternative proposal. *Blood* 2008; **112** (2): 231–39.
14. McMullin MF. The classification and diagnosis of erythrocytosis. *Int Jnl Lab Hem* 2008; **30** (6): 447–59.
15. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008; **22**: 14–22.
16. Thiele J, Kvasnicka HM. The 2008 WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis. *Curr Hematologic Malignancy Rep* 2009; **4**: 33–40.



17. **Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al.** Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European Leukemia Net. *J Clin Oncol* 2011; **29** (6): 761–70.

18. **Tefferi A.** Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2012; **87**: 285–93.

19. **Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al.** Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; **365**: 1054–61.

20. **Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al.** Initial bone marrow reticulin fibrosis in polycythemia vera exerts an impact on clinical outcome. *Blood* 2012; **119**: 2239–45.

### HISTOLOGICAL CRITERIA OF DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF POLYCYTHEMIA VERA AND SECONDARY ERYTHROCYTOSIS AND THEIR CONNECTION WITH MUTATION JAK2 V617F

*A.I. Koval, O.M. Kostyukevich, S.V. Klymenko, I.V. Dmytrenko*

**Summary. Objective:** to study the main histological signs of polycythemia vera (PV) and secondary erythrocytosis (SE), to analyze connection between them and JAK2 V617F mutation, to determine sensitivity and specificity of histomorphological criteria for diagnostics of PV and its differentiation with SE. **Object and methods:** histological study of bone marrow and screening of peripheral blood for the presence of JAK2 V617F mu-

*tation has been carried out in 79 patients with PV and 41 patients with SE. Results:* it has been determined that at PV the main histological signs are trilineage hyperplasia of BM, pleomorphism of MGKC, presence of resorption of bone tissue and microcirculatory disorders. For SE the most typical is hyperplasia of exceptionally erythroid lineage, rarely of erythroid and myeloid lineages. Mutation V617F of gene JAK2 is predictor of such pathomorphological changes of BM, as pleomorphism of megakaryocytes, presence of reticulin fibrosis and microcirculation abnormalities. **Conclusion:** sensitivity of histological study of BM as criterion of PV diagnostics has constituted 83.5%, specificity — 100,0%. Combination of histological and molecular-genetic studies significantly improves diagnostics and differential diagnostics of PV and SE, joint sensitivity at combination of two diagnostic methods equals 99,0%.

**Key Words:** myeloproliferative neoplasms, polycythemia vera, secondary erythrocytosis, bone marrow biopsy, JAK2 V617F mutation.

#### Адреса для листування:

Костюкевич О.М.

010140, Київ, вул. Верхня, 5

ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС

E-mail: oksakost@gmail.com

Одержано: 20.12.2013