Д.А. Лисенко

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, Україна

Ключові слова: *хронічні мієлопроліферативні захворювання, онкогени, класифікація.*

СУЧАСНІ КЛАСИФІКАЦІЇ ХРОНІЧНИХ МІЄЛОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ: СТАНДАРТИ ТА ТЕНДЕНЦІЇ ВДОСКОНАЛЕННЯ

Резюме. *У роботі представлені сучасні погляди на класифікацію хронічних мієлопроліферативних захворювань. Висвітлена роль онкогенів у патогенезі мієлопроліферативних захворювань, їх вплив на розвиток патології. Розглянуті нові підходи в класифікації хронічних мієлопроліферативних захворювань.*

Сучасна класифікація хронічних мієлопроліферативних захворювань (ХМПЗ) ВООЗ 2001 р. [1] ґрунтується не тільки на класичних цитологічних засадах, які домінували в сучасній гематології до 1990-х років, а на комплексному визначенні багатьох діагностичних факторів, що включають додатково: морфологічні, гістологічні і цитогенетичні дослідження та клініко-лабораторні дані (табл. 1).

Таблиця 1

Класифікація ВООЗ хронічних мієлопроліферативних, мієлодиспластичних/мієлопроліферативних захворювань і мієлодиспластичних синдромів (МДС) (2001) [1]

Хронічні мієлопроліферативні захворювання	Мієлодиспластичні/ мієлопроліферативні захворювання	Мієлодиспластичні синдроми
Хронічна мієлоїдна лейкемія (Ph-хромосома [t(9; 22)(q34; q11)], BCR/ABL-позитивний)	Хронічна мієломоноцитарна лейкемія	Рефрактерна анемія: – з кільцьовими сидеробластами – без кільцьових сидеробластів
Хронічна нейтрофільна лейкемія	Атипова хронічна мієлоїдна лейкемія	
Хронічна еозинофільна лейкемія (і гіпереозинофільний синдром)	Ювенільна мієломоноцитарна лейкемія	Рефрактерна цитопенія (мієлодиспластичний синдром) з мультилінійною дисплазією
Справжня поліцитемія		
Хронічний ідіопатичний мієлофіброз		Рефрактерна анемія (мієлодиспластичний синдром) з надлишком бластів
Есенціальна тромбоцитемія		
Хронічне мієлопроліферативне захворювання, некласифіковане		5q синдром
		Мієлодиспластичний синдром, некласифікований

У 1951 р. W. Dameshek запропонував термін «мієлопроліферативні захворювання» (МПЗ), до яких було віднесено хронічну мієлоїдну лейкемію (ХМЛ), справжню поліцитемію (СП), есенціальну тромбоцитемію (ЕТ) та ідіопатичний мієлофіброз (ІМФ) і еритролейкемію, обґрунтувавши поєднання патологій наявністю спільної трилінійної мієлопроліферації, схожістю патогенезу [2]. Подальший прогрес у вивченні та лікуванні ХМПЗ був тісно пов'язаний із визначенням генетичних аномалій при даних патологічних процесах.

Саме цитогенетичні дослідження дозволили P.C. Nowell і D.A. Hungerford в 1960 р. вперше для пухлинних захворювань верифікувати специфічний маркер — Філадельфійську (Ph) хромосому при ХМЛ. Це в свою чергу накреслило абсолютно новий напрямок досліджень патогенезу та лікування даної патології [3]. У 1972 р. J. Rowley виявила, що Ph-хромосома пов'язана з транслокацією t(9;22)(q34;q11), яку пізніше було охарактеризовано як онкоген *BCR-ABL*. У 1996 р. B. Druker відкрив іматініб-а — специфічний інгібітор молекули *ABL*, що стало підставою для специфічної терапії іматінібом ХМЛ. У 2005 р. встановлено основну роль мутації *JAK2* (*JAK2V617F*) при *BCR-ABL*-негативних МПЗ, що відкриває перспективи специфічної терапії, подібної при ХМЛ, для справжньої поліцитемії, есенціальної тромбоцитемії та ідіопатичного мієлофіброзу [4].

За останнє десятиліття шлях, пройдений при дослідженні Ph-хромосоми, був відтворений у результаті дослідження ролі гена *JAK2V617F*, який виявився ключовим генетичним порушенням для таких ХМПЗ як СП, ЕТ та ІМФ [5]. Ця мутація, що виникає в 1849-му нуклеотиді гена 14, в результаті заміни валіну на фенілаланін у кодоні 617, вперше була пов'язана з ХМПЗ (СП, ЕТ, ІМФ) в 2005 р. Також виявлена певна поширеність даної мутації при інших мієлопроліферативних захворюваннях та мієлодиспластичному синдромі. Проведені дослідження завдяки застосуванню сучасних методик, а саме полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР), дали досить точний та відтворюваний (розбіжність близько 3% у різних лабораторіях) результат цитогенетичних аномалій. Дана методика, яка забезпечує високу чутливість (0,01–0,1%), виявилася ще точнішою при впровадженні алель-специфічної ПЛР — розбіжність у результатах становить 1–2% [6].

Також встановлена роль мутації гена *MPLW515L/K* — соматичної мутації тромбопоетин-стимулюючого фактора, яка виникає в результаті заміни триптофану на лейцин у кодоні 515, що виявлена в незначної кількості хворих на МПЗ (5% — ІМФ, 1% — ЕТ) і асоціюється із прискореним та фатальним перебігом захворювання [7].

В табл. 1 представлена нова класифікація ВООЗ ХМПЗ (2001) [1], а в табл. 2 — частота розповсюдженості онкогенів при ХМПЗ.

Таблиця 2

Онкогени, що виявляються при різних формах хронічних мієлопроліферативних і мієлодиспластичних/мієлопроліферативних захворюваннях і деяких інших

Нозологічна форма	Цитогенетичні аномалії (% від загальної кількості хворих)
Хронічні мієлопроліферативні захворювання	
Хронічна мієлоїдна лейкемія	100% *BCR–ABL*(+)
Справжня поліцитемія	95% *JAK2V617F*(+) і 5% мутація *JAK2* гена 12-ї хромосоми
Есенціальна тромбоцитемія	50% *JAK2V617F*(+), 1% *MPLW515L/K*(+)
Ідіопатичний мієлофіброз	50% *JAK2V617F*(+) 5% *MPLW515L/K*(+)
Хронічна нейтрофільна лейкемія	20% *JAK2V617F*(+)
Хронічна еозинофільна лейкемія	100% *FIP1L1-PDGFRA*(+) 100% *PDGFRB*-реаранжирування молекулярно неохарактеризована хронічна еозинофільна лейкемія
Мієлодиспластичні/мієлопроліферативні захворювання	
Хронічна мієломоноцитарна лейкемія	3% *JAK2V617F*(+)
Ювенільна мієломоноцитарна лейкемія	30% *PTPN11* 15% мутація *NF1*(+) 15% мутація *RAS*(+)
Атиповий ХМЛ *BCR-ABL*(–) Некласифіковані МДС/МПЗ	20% *JAK2V617F*(+) 50% *JAK2V617F*(+)

А вже у 2006–2007 рр. на підставі ґрунтовних цитогенетичних досліджень ряд дослідників [8–10] запропонували нові класифікаційні схеми, що враховують виявлену роль мутацій *JAK2* та інших мутацій. Так, A. Tefferi [10] запропонував так звану напівмолекулярну класифікацію МПЗ (табл. 3).

Таблиця 3

Напівмолекулярна класифікація мієлопроліферативних захворювань [2]

Класичні МПЗ	Атипові МПЗ
BCR-ABL-позитивна хронічна мієлоїдна лейкемія	Хронічна мієломоноцитарна лейкемія
BCR-ABL-негативна хронічна мієлоїдна лейкемія	Ювенільна мієломоноцитарна лейкемія (з рідкісними мутаціями *PTP11*, *NF1*, *RAS*)
Справжня поліцитемія (~ 100% *JAK2V617F*+)	Хронічна нейтрофільна лейкемія (~ 20% *JAK2V617F*+)
Есенціальна тромбоцитемія (~ 50% *JAK2V617F*+)	Хронічна еозинофільна лейкемія/ еозинофільне МПЗ
Хронічний ідіопатичний мієлофіброз (~ 50% *JAK2V617F*+)	*PDGFRA*-реанжирування (*FIP1L1-PDGFRA*)
	PDGFRB-реанжирування (*TEL/ETV6-PDGFRB*)
	FGFR1-реанжирування (*ZNF198/ FIM/RAMP-FGFR1*) або *8p11* мієлопроліферативний синдром
	Молекулярно неідентифіковані Гіпереозинофільний синдром
	Хронічна базофільна лейкемія
	Системний мастоцитоз
	PDGFRA-реанжирування (*FIP1L1-PDGFRA*)
	KIT-мутація (*KITD816V*)
	Молекулярно неідентифікований
	Некласифіковані МПЗ (~ 20% *JAK2V617F*+)
	Змішані/перехрест МДС/МПЗ
	ХМЛ подібні, *BCR-ABL*-негативні

У даній класифікації СП, ЕТ та ІМФ були віднесені до *BCR-ABL*-негативної ХМЛ, що виправдано Ph-негативним станом при даних патологіях але не є логічним відносно клінічних, лабораторних особливостей кожного захворювання та виходячи із суттєвих відмінностей як в терапії окремих нозологій, так і прогнозі. При порівнянні обох запропонованих класифікацій відзначимо схожий поділ МПЗ на 2 альтернативні групи та суттєву роль наявних мутацій для діагностики певної нозології. Використання класифікації відкриває перспективи покращання діагностики МПЗ та можливість більш точної верифікації окремих патологій.

Оригінальною виявилася методика, запропонована автором для діагностики СП (схема), що враховує як наявність мутації *JAK2V617F*+, так і вміст сироваткового еритропоетину [2, 3].

Порівнюючи із класичним критеріями ВООЗ [1] (табл. 3, 4), слід відзначити більш точні критерії діагностики СП і чітку градацію критеріїв діагностики.

Таблиця 4

Критерії ВООЗ для діагностики справжньої поліцитемії*

Критерії А	Критерії В
Збільшення еритроцитарної маси > 25% та рівня гемоглобіну (у чоловіків > 185 г/л та 165 г/л у жінок)	Тромбоцитоз > 400 х 10^9/л
Виключення вторинного еритроцитозу	Лейкоцитоз > 12 х 10^9/л
Відсутність сімейного еритроцитозу	У кістковому мозку спостерігається панмієлоз з переважанням еритроїдної та мегакаріоцитарної проліферації
Рівень еритропоетину не підвищений:	
відсутність гіпоксії (артеріальне PO2 = 92%);	
відсутність високої афінності Нв до кисню;	
не порушені еритропоетинові рецептори;	
відсутність підвищеної продукції еритропоетину пухлиною	Знижений рівень сироваткового еритропоетину
Спленомегалія	
Клональна генетична аномалія (крім гена *BCR-ABL*) у кістковому мозку	
Ендогенне формування еритроїдних колоній *in vitro*	

*Діагноз СП є вірогідним при наявності перших 2 критеріїв А і 1 іншого критерію А та 2 критеріїв В.

В 2006 р. Європейська група з вивчення МПЗ запропонувала [11] оновлені критерії діагностики, класифікації та стадіювання Ph-негативних МПЗ, модифікували критерії ВООЗ та використали дані щодо особливостей клініки, патогенезу, нових біологічних, лабораторних та генетичних маркерів. Критерії включали ранню стадію МПЗ і диференціювання ЕТ, СП та префібротичної стадії хронічного ІМФ, оскільки було виявлено гетерогенність даних патологій як на клінічному, так і лабораторно-цитогенетичному рівні. Автори запропонували чіткий поділ на *JAK2V617F*-позитивну ЕТ та *JAK2V617F*-негативну ЕТ, що обґрунтовується тим, що перша форма ЕТ характеризується вищими значеннями гемоглобіну, гематокриту, кількості нейтрофілів, а також нижчим рівнем еритропоетину, сироваткового феритину і підвищеною клітинністю кісткового мозку. Відповідно *JAK2V617F*-негативна форма. Автори відзначали, що запропоновані критерії дозволять відрізнити мімікрію ЕТ від СП.

Також у зазначеній роботі припускалося, що *JAK2V617F*-мутація визначає один об'єкт хвороби з кількома послідовнимим кроками ЕТ → СП → ІМФ, із тривалим перебігом, а дикий варіант даної мутації, пов'язаний із іншим об'єктом захворювання, на молекулярному рівні. Було також запропоновано доповнити критерії діагностики обов'язковим дослідженням мутації *JAK2V617F* та її підваріанта, рівень сироваткового еритропоетину, що дозволить

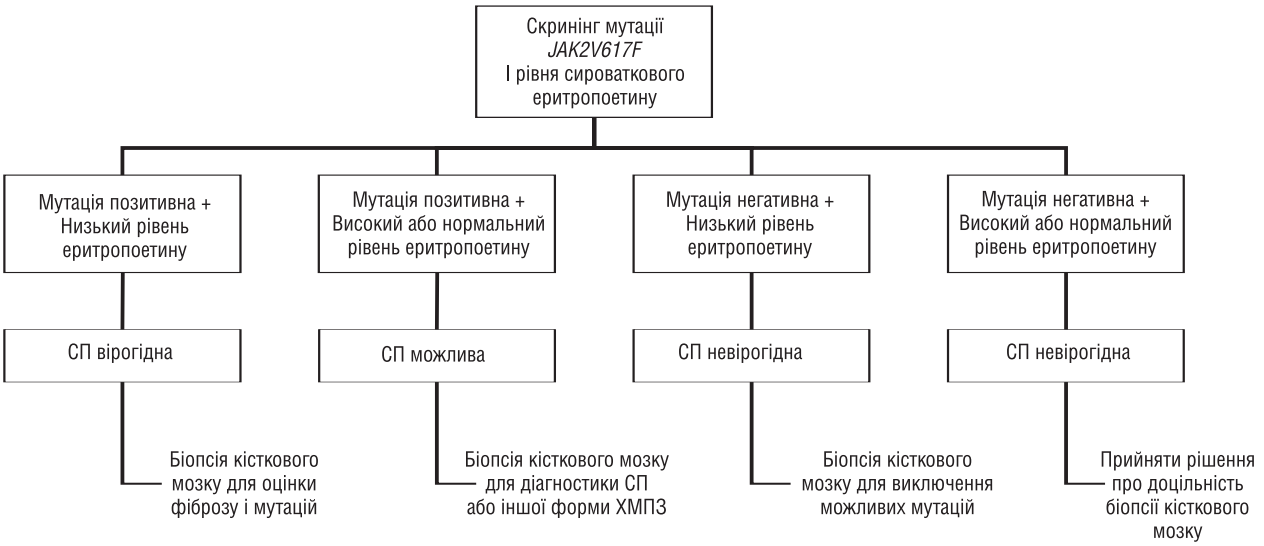

Схема. Альтернативна схема діагностики ідіоматичної (справжньої) поліцитемії (A. Tefferi, 2006)

чітко віддиференціювати на ранніх стадіях МПЗ — ЕТ, ІМФ та СП.

Подібні доповнення до класифікації ВООЗ були підтримані цілим рядом груп дослідників [12–14], що змусило групу експертів ВООЗ в серпні 2007 р. запропонувати нову класифікацію МПЗ [15, 16], або переглянуту класифікацію ВООЗ 2008 р. для Ph-негативних МПЗ (табл. 5–7).

Таблиця 5

Пропозиція змін критеріїв ВООЗ для ЕТ

	Критерії діагностики ЕТ*
1	Постійний рівень тромбоцитів вище 450 х 10^9/л
2	Кістковомозкова біопсія виявляє головним чином збільшення клітин мегакаріоцитарного паростка, зі значним переважанням зрілих мегакаріоцитів при незмінних показниках або незначному збільшенні нейтрофільного гранулоцитопоезу, еритропоезу
3	Не визначені критерії ВООЗ для СП, ІМФ, ХМЛ, МДС та інших мієлоїдних неоплазм
4	Виявлення маркера JAK2V617F або іншого клонального маркера, або при відсутності маркера немає причин для реактивного тромбоцитозу

*Діагноз ЕТ встановлюється при наявності всіх 4 критеріїв.

Таблиця 6

Переглянуті критерії ВООЗ для первинного мієлофіброзу

	Запропоновані критерії первинного мієлофіброзу*
	Великі критерії
1	Наявність мегакаріоцитарної проліферації та атипії, що зазвичай супроводжується ретикулярним і/або колагеновим фіброзом, або при його відсутності – суттєвим ретикуліновим фіброзом. Зміни мегакаріоцитопоезу повинні супроводжуватися швидким збільшенням клітинності кісткового мозку із збільшенням гранулоцитопоезу та зменшенням еритропоезу (так звана префібротична клітинна стадія хвороби)
2	Не виявляються критерії ВООЗ для СП, ЕТ, МДС або інших мієлоїдних неоплазм
3	Виявлення маркера *JAK2617V*F або інших клональних маркерів (як *MPL515WL/K*) або при відсутності клональних маркерів – ніяких даних про вторинний характер фіброзу кісткового мозку
	Малі критерії
1	Лейкоеритробластоз
2	Підвищення рівня сироваткової лактатдегідрогенази
3	Анемія
4	Пальпаторно визначена спленомегалія

*Діагноз ПМФ вимагає наявності всіх 3 головних критеріїв і 2 малих.

Таблиця 7

Загальна оцінка якості життя хворих ХМПЗ відносно ступеню анемії

Ступінь анемії	Патологія	
	ХМЛ (n = 43)	ІМФ (n = 36)
I	74,0 ± 5,2	86,0 ± 5,6*
II	62,0 ± 13,2	73,0 ± 11,2*
III	57,0 ± 6,2	64,0 ± 12,4

*Статистично достовірна відмінність між двома показниками ($p < 0,05$).

У поясненнях до критеріїв автори відзначають, що виключення СП базується на визначенні рівнів гемоглобіну та гематокриту і зміни в масі червоних клітин не є обов'язковими. Має також важливе значення визначення сироваткового феритину для виключення ускладнень феротерапії. Для виключення ІМФ потрібно встановити відсутність фіброзу, лейкоеритробластозу периферичної крові, типових гістологічних змін, характерних для ІМФ. Для виключення ХМЛ необхідно встановити відсутність мутації *BCR-ABL*, а для МДС — відсутність явищ дисеритропоезу та дисгранулоцитопоезу. Реактивний тромбоцитоз характерний для залізодефіциту, спленектомії, хірургічних втручань, інфекцій, запалень, колагенозів, метастатичного раку і лімфопроліферативних захворювань. Однак наявність умов для реактивного тромбоцитозу не виключає ЕТ, особливо якщо наявні перші 3 критерії.

У поясненні до нових критеріїв зазначається, що зміни мегакаріоцитарного паростку полягають в аберантності ядерно/цитоплазматичного співвідношення і гіперхроматозі, нерегулярно згорнутих ядрах у вигляді грон. Критерії ВООЗ для СП, ХМЛ і МДС розглянуті вище. Вторинний фіброз можливий при наявності інфекції, аутоімунних захворювань або при інших хронічних запаленнях, волосистоклітинній лейкемії та інших лімфопроліферативних захворюваннях, метастатичних злоякісних новоутвореннях, або токсичній (хронічній) мієлопатії. Також відзначено, що пацієнти із станами, що провокують вторинний мієлофіброз, не є вільними від первинного мієлофіброзу при наявності зазначених критеріїв, тоді діагноз повинний обов'язково переглядатися. Рівень показників гемоглобіну та розміри селезінки мають постійно відрізнятись від норми.

Вище наведені критерії уже були використані для уточнення діагнозу МПЗ [17] у дітей, де виявлені певні особливості: по-перше, незначну роль мутації *JAK2*, по-друге, особливу роль $MPL^{Ser505Asn}$-мутації у дітей з сімейним варіантом ЕТ, що вказує на важ-

ливу роль саме цього маркеру для даної патології і вимагає подальшого вивчення та уточнення.

Наші власні спостереження свідчать, що стандартні критерії діагностики ХМПЗ не є задовільними для диференціювання підвидів даної патології, оскільки навіть рівень гемоглобіну при різних нозологіях має різні клінічні та прогностичні значення. Так, при наявності анемії одного і того ж ступеня при ХМЛ і ІМФ суттєво відрізняється навіть якість життя (див. табл. 7).

Попередні дані, отримані нами, свідчать про різний рівень сироваткового еритропоетину при ХМЛ та ІМФ, що вимагає подальшого дослідження та аналізу.

Історію вивчення МПЗ яскраво висвітлює класифікація даного виду захворювань. Шлях, пройдений від класифікації W. Dameshek до уточненої класифікації 2008 р., є шляхом поглиблення знань, верифікації цілої групи нозологій, що дозволяє не просто ідентифікувати кожну окрему патологію, а проводити цілеспрямовану, таргетну терапію із покращенням її результатів, забезпеченням якості та тривалості життя пацієнтів. Поряд з цим, за виразом A. Tefferi [2, 3], епоха JAK2V617F, вимагає від гематологів України більш активного впровадження в практику методів детекції онкогенів, рівня сироваткового еритропоетину, що дозволить відповідати рівню сучасної онкогематології й ефективно застосовувати новітні методи лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD.** The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. Blood 2002; **100**: 2292–302.

2. **Tefferi A.** The history of myeloproliferative disorders: before and after Dameshek. Leukemia 2007; **20**: 1680–95.

3. **Tefferi A, Gilliland DG.** Oncogenes in myeloproliferative disorders. Cell Cycle 2007; **6**: 550–66.

4. **Campbell PJ, Baxter EJ, Beer PA, *et al.*** Mutation of JAK2 in the myeloproliferative disorders: timing, clonality studies, cytogenetic associations, and role in leukemic transformation. Blood 2006; **108**: 3548–55.

5. **Bumm TG, Elsea C, Corbin AS, *et al.*** Characterization of murine JAK2V617F-positive myeloproliferative disease. Cancer Res 2006; **66**: 11156–65.

6. **Passamonti F, Rumi E, Pietra D, *et al.*** Relation between JAK2 (V617F) mutation status, granulocyte activation, and constitutive mobilization of CD34+ cells into peripheral blood in myeloproliferative disorders. Blood 2006; **107**: 3676–82.

7. **Pikman Y, Lee BH, Mercher T, *et al.*** MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. PLoS Med 2006; (3): e270.

8. **Haferlach T, Bacher U, Kern W, *et al.*** Diagnostic algorithm in chronic myeloproliferative diseases (CMPD). Med Klin 2007; **102** (9): 770–7.

9. **Campbell PJ, Greeni AR.** The myeloproliferative disorders. New Engl Med J 2006; **355**: 2452–60.

10. **Tefferi A.** Classification, diagnosis and management of myeloproliferative disorders in the JAK2V617F era. Hematol 2006; **92**: 674–7.

11. **Michiels JJ, De Raeve H, Berneman Z, Van Bockstaele D *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**: 307–40.

12. **Hussein K, Bock O, Kreipe H.** Histological and molecular classification of chronic myeloproliferative disorders in the age of JAK2: persistence of old questions despite new answers Pathobiol 2007; **74** (2): 72–80.

13. **Mesa RA.** Navigating the evolving paradigms in the diagnosis and treatment of myeloproliferative disorders. Hematol 2007; **93**: 355–62.

14. **Mesa RA, Verstovsek S, Cervantes F, *et al.*** Primary myelofibrosis (PMF), post polycythemia vera myelofibrosis (post-PV MF), post essential thrombocythemia myelofibrosis (post-ET MF), blast phase PMF (PMF-BP): consensus on terminology by the international working group for myelofibrosis research and treatment (IWG-MRT). Leuk Res 2007; **31** (6): 737–40.

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. **Tefferi A, Thiele J, Orazi A, *et al.*** Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. Blood 2007; **110** (4): 1092–7.

17. **Teofili L, Giona F, Martini M, *et al.*** The revised WHO diagnostic criteria for Ph-negative myeloproliferative diseases are not appropriate for the diagnostic screening of childhood polycythemia vera and essential thrombocythemia. Blood 2007; **110** (9): 3384–6.

MODERN CLASSIFICATIONS OF MYELOPROLIFERATIVE DISORDERS: STANDARDS AND IMPROVEMENT TENDENCIES

D.A. Lisenko

Summary. *In work modern signs on classification of chronic myeloproliferative diseases are presented. The role oncogene in pathogenesis myeloproliferative diseases, their basic influence on development of pathology is covered. New approaches in classification chronic myeloproliferative diseases are described.*

Key Words: chronic myeloproliferative diseases, oncogenes, classification.

Адреса для листування:
Лисенко Д.А.
21 050 Вінниця,
вул. Воїнів-інтернаціоналістів, 8, кв. 2
E-mail: dalisen@yandex.ru