Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Гематологический научный центр»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Немченко Ирина Семеновна

«Миелопролиферативные заболевания, протекающие с эозинофилией: клиника, диагностика, лечение»

14.01.21 - Гематология и переливание крови

Диссертация на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Хорошко Нина Дмитриевна

Москва
2016

Оглавление

Актуальность темы исследования 6
Цель исследования 8
Задачи исследования 8
Научная новизна 9
Практическое значение работы 10
1.1 Эозинофилопоэз и его регуляция 13
1.2 Функция эозинофилов. Заболевания и процессы, сопровождающиеся реактивной эозинофилией 15
1.3 Клональные миелопролиферативные заболевания, протекающие с эозинофилией 17
1.4. Дополнительные исследования, направленные на выявление признаков пролиферативной природы эозинофилии 21
1.4.1 Культуральные исследования 21
1.4.2 Цитохимические исследования 22
1.5 Трудности выявления причин эозинофилии 23
1.6 Гиперэозинофильный синдром. Особенности, присущие мелопролиферативному варианту ГЭС 25
1.7 Отечественный опыт в изучении гиперэозинофильного синдрома 30
1.8. Вопросы лечения МПЗ, протекающих с эозинофилией, и ГЭС 33
Заключение 36
Глава 2. Материалы и методы исследования 38
2.2 Протокол обследования больных 38
2.2.1 Общеклиническое обследование 38
2.2.2 Обследование для выявления причин реактивной эозинофилии 39
2.2.3 Диагностика миелопролиферативных заболеваний 40
2.2.4 Культуральные методы исследования костного мозга 42
2.2.5 Цитохимические методы исследования эозинофилов и нейтрофилов периферической крови 44
2.3 Статистическая обработка данных 44
3.1 Заболевания и состояния, сопровождающиеся реактивной эозинофилией 46

3.2 Диагностика миелопролиферативных заболеваний, протекающих с эозинофилией 49

3.3.2 Гематологическая характеристика заболеваний с реактивной эозинофилией и МПЗ 56

3.3.3 Изменения в костном мозге, выявленные при гистологическом исследовании трепанобиоптатов, при заболеваниях с реактивной эозинофилией и МПЗ 58

3.3.4 Особенности колониеобразования при заболеваниях с реактивной эозинофилией и МПЗ..... 62

3.3.5 Цитохимические характеристики эозинофилов и активность щелочной фосфатазы нейтрофилов при заболеваниях с реактивной эозинофилией и МПЗ... 66

3.4 Гиперэозинофильный синдром с неустановленным генезом: результаты диагностики 70

3.5 Клинико-лабораторные и гистологические критерии миелопролиферации 74

3.6 Алгоритм обследования при пресистирующей эозинофилии 76

3.7 Лечение МПЗ с эозинофилией и миелопролиферативного варианта гиперэозинофильного синдрома 80

3.7.1 Результаты терапии 81

3.7.2 Оценка выживаемости..... 83

Заключение 85

Список литературы 97

Список сокращений

Алло-ТГСК	аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ГКС	глюкокортикостероиды
ГМ-КСФ	гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ГНЦ	Гематологический научный центр
ГОМ	гидроксимочевина
ГЭС	гиперэозинофильный синдром
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ИГХ	иммуногистохимическое исследование
ИГЭС	идиопатический гиперэозинофильный синдром
ИЛ	интерлейкин
ИМ	иматиниб
ИР	интерквартильный размах
КМС	кислые мукополисахариды
КОЕ-ГМ	колониеобразующие единицы гранулоцитов-макрофагов
КОЕ-Ф	колониеобразующие единицы фибробластов
КСФ	колониестимулирующие факторы
КТ	компьютерная томография
КФ	кислая фосфатаза
ЛПЗ	лимфопролиферативные заболевания
МНО	международное нормализованное соотношение
МО	молекулярный ответ
МП	миелопероксидаза
МПЗ	миелопролиферативное заболевание
МП-ГЭС	миелопролиферативный вариант гиперэозинофильный синдром
МРНЦ	Медицинский радиологический научный центр

не-МП-ГЭС	гиперэозинофильный синдром без признаков миелопролиферации в костном мозге
П-АНЦА	перинуклеарные антитела к цитоплазме нейтрофилов с антимиелопероксидазной специфичностью
ПГО	полный гематологический ответ
РЭ	реактивная эозинофилия
СМ	системный мастоцитоз
СЦИ	стандартное цитогенетическое исследование
УЗИ	ультразвуковое исследование
ХМЛ	хронический миелолейкоз
ХТ	химиотерапия
ЩФ	щелочная фосфатаза
α-НФ	α-нафтилацетат эстераза
CEL-NOS	хронический эозинофильный лейкоз, никак иначе не определяемый
C-KIT	ген, кодирующий синтез рецептора к ростовому фактору стволовых клеток
FGFR1	ген, кодирующий синтез рецептора к ростовому фактору фибробластов
FISH	флюоресцентная гибридизация *in situ*
HUMARA	человеческий ген рецептора к андрогенам
Ig	иммуноглобулин
INF-α	интерферон-α
JAK2	ген, кодирующий синтез Янус-киназы 2
Me	медиана
mRNA	матричная РНК
Ph´	филадельфийская хромосома
PDGFRA	ген, кодирующий синтез α-цепи рецептора к ростовому фактору, вырабатываемому тромбоцитами
PDGFRB	ген, кодирующий синтез β-цепи рецептора к ростовому фактору, вырабатываемому тромбоцитами
RT-PCR	обратно-транскриптазная полимеразная цепная реакция
SCF	стволовоклеточный фактор

Введение

Актуальность темы исследования

Эозинофилией называют состояние, при котором абсолютное число эозинофильных лейкоцитов в крови превышает 0,6 х 10^9/л; при эозинофилии, превышающей 1,5 х 10^9/л, используется термин «гиперэозинофилия». Совокупность гиперэозинофилии и симптомов поражения органов, других изменений лабораторных показателей, является гиперэозинофильным синдромом (ГЭС).

С точки зрения патогенеза эозинофилия может быть реактивной при различных заболеваниях/патологических состояниях, либо эозинофилы являются частью патологического клона при миелопролиферативных заболеваниях (МПЗ).

На сегодняшний день основным доказательством МПЗ является наличие в костном мозге клона клеток с аномальным кариотипом. Обнаружение такового при ГЭС дает основания установить диагноз МПЗ. Однако сложность методик, позволяющих исследовать весь спектр известных на данный момент мутаций, приводящих к развитию МПЗ, не позволяет внедрить их в широкую практику. В силу указанных обстоятельств, выделение совокупности клинико-лабораторных и гистологических признаков, позволяющих с высокой степенью достоверности предполагать миелопролиферативную природу ГЭС, а также, разработка алгоритма дифференциальной диагностики миелопролиферативного и реактивного вариантов в рамках данного синдрома является чрезвычайно актуальной. Четкие представления о миелопролиферативном/клональном характере эозинофилии позволяют обосновать необходимость применения достаточно токсичных, таких как химиотерапия (ХТ), и дорогостоящих методов лечения, а в отдельных случаях - и аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Из литературных данных становится очевидным, что ГЭС в практике врача встречается крайне редко. В крупных медицинских центрах, занимающихся этой

проблемой, число больных, поступающих под наблюдение в течение 1 года, составляет, в среднем, 2 – 5 человек [45, 65, 131, 152].

В зарубежных источниках, упоминаемых в литературном обзоре, приводятся различные клинические и лабораторные симптомы и признаки, указывающие на опухолевую природу эозинофилии, но не описан единый комплекс наиболее значимых показателей, позволяющих выделять миелопролиферативный вариант ГЭС (МП-ГЭС). Практически отсутствуют результаты исследования костного мозга, которое, если и производилось, то ограничивалось лишь подсчетом миелограммы.

Отсутствие у многих гематологов достаточного собственного опыта курации больных с гиперэозинофилией, четких представлений об алгоритме обследования, нередко приводит к неправильной трактовке проявлений заболевания и, соответственно, ошибкам в терапевтической тактике, что и определяет актуальность выбранной темы.

Настоящая работа предпринята с целью разработки принципов диагностики и лечения МПЗ, протекающих с эозинофилией, и МП-ГЭС. В ней можно выделить два этапа.

На момент начала данного исследования (2000 год), основной задачей являлось выделение комплекса симптомов и признаков, позволяющих рассматривать ГЭС как миелопролиферативное заболевание, на основании результатов сравнительного анализа клинико-лабораторных и гистологических данных у больных с реактивной эозинофилией (РЭ) и с МПЗ, протекающими с эозинофилией. С целью получения дополнительных критериев для более четкого выделения МП-ГЭС была проведена оценка спонтанного и стимулированного роста колоний из колониеобразующих единиц гранулоцитов-макрофагов (КОЕ-ГМ), содержащихся в костном мозге и периферической крови, а также, цитохимических особенностей зрелых эозинофилов периферической крови при РЭ и с МПЗ, протекающими с эозинофилией.

В конце 2003 года появились новые возможности для установления клональности при ГЭС: помимо стандартного цитогенетического исследования всем

больным стало проводиться молекулярно-генетическое исследование (RT-PCR – обратно-транскриптазная полимеразная цепная реакция) с *FIP1L1-PDGFRA*- и *ETV6-PDGFRB*-праймерами для выявления следующих генетических аномалий – *del4(q12)* и *t(5;12)(q33;p13)* соответственно. В 2014 году молекулярное исследование дополнилось еще одним методом – реакцией флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с использованием зондов для выявления поломок в генах *PDGFRA, PDGFRB* и *FGFR1*. В нашей работе приводятся результаты молекулярно-генетического исследования, и дается оценка значимости этих методов для точной верификации характера ГЭС. Мы также сочли целесообразным проанализировать первый в нашей стране опыт диагностики и терапии *FIP1L1-PDGFRA*- и *ETV6-PDGFRB*-позитивных МПЗ.

Цель исследования

Разработка принципов диагностики и лечения миелопролиферативных заболеваний, протекающих с эозинофилией, и миелопролиферативного варианта гиперэозинофильного синдрома, с учетом их клинической, гистологической и молекулярной характеристики.

Задачи исследования

1. Оценить диагностическую значимость клинических проявлений, особенностей течения, результатов общеклинических лабораторных исследований, а также цитологического и гистологического исследования костного мозга при гиперэозинофилиях различного генеза.
2. Проанализировать частоту выявления клональных миелопролиферативных заболеваний среди больных с гиперэозинофильным синдромом, используя метод стандартного цитогенетического исследования (СЦИ) и молекулярно-генетические методы: RT-PCR с праймерами *FIP1L1-PDGFRA*- и

ETV6-PDGFRB и FISH с использованием зондов для выявления поломок в генах *PDGFRA*, *PDGFRB* и *FGFR1*.

3. Проанализировать характер роста колоний из КОЕ-ГМ в зависимости от присутствия в культуре клеток-источников колониестимулирующих факторов (КСФ), а также исследовать рост колоний из колониеобразующих единиц фибробластов (КОЕ-Ф) костного мозга у больных с миелопролиферативными заболеваниями и заболеваниями с реактивной эозинофилией.

4. Провести сравнительный анализ результатов исследования цитохимических параметров зрелых эозинофилов и активности щелочной фосфатазы (ЩФ) нейтрофилов периферической крови у больных с миелопролиферативными заболеваниями и заболеваниями с реактивной эозинофилией.

5. Разработать алгоритм обследования больных с эозинофилией.

6. Оценить результативность различных методов лечения миелопролиферативных заболеваний с эозинофилией и миелопролиферативного варианта гиперэозинофильного синдрома.

Научная новизна

1. На основании анализа собственного многолетнего опыта наблюдения и лечения большого числа больных с клональными миелопролиферативными заболеваниями установлена частота выявления отдельных их вариантов, особенности течения и ответа на терапию цитостатическими препаратами и ингибиторами тирозинкиназ миелопролиферативных заболеваний с эозинофилией и гиперэозинофильного синдрома.

2. Проведенное исследование позволило впервые выделить единый комплекс дифференциально-диагностических критериев миелопролиферативного варианта гиперэозинофильного синдрома, позволяющий оптимизировать курацию данной категории больных.

3. Дана оценка значимости различных методов исследования: цитогенетических, молекулярно-генетических, гистологических, культуральных и цитохимических.

4. Проведен анализ первого в нашей стране опыта использования ингибитора тирозинкиназ – иматиниба мезилата в лечении клональных миелопролиферативных заболеваний с эозинофилией и миелопролиферативного варианта гиперэозинофильного синдрома.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 111 страницах, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и указателя литературы, включающего 21 отечественный и 136 иностранных источников литературы. В работе содержится 15 таблиц, 6 рисунков.

Курация стационарных и амбулаторных больных осуществлялась в отделениях Гематологического научного центра (ГНЦ): Химиотерапии лейкозов и патологии эритрона (2000-2011 г.г.; заведующая – доктор медицинских наук, профессор Н.Д.Хорошко); Научно-консультативном отделении химиотерапии миелопролиферативных заболеваний (2012-2015 г.г.; заведующая – доктор медицинских наук, профессор А.Г.Туркина).

Практическое значение работы

Разработан алгоритм обследования пациентов с эозинофилией, и тактика терапии больных с клональными МПЗ, протекающими с эозинофилией, и миелопролиферативным вариантом ГЭС. Внедрение полученных результатов в практику осуществлено следующими путями:

- разработан и утвержден Министерством здравоохранения Российской Федерации стандарт оказания специализированной медицинской помощи больным

миелопролиферативными заболеваниями, протекающими с эозинофилией, и идиопатическим гиперэозинофильным синдромом;

- разработаны федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению заболеваний с эозинофилией.

Положения, выносимые на защиту

1. Миелопролиферативные заболевания и реактивные эозинофилии в группе больных с гиперэозинофильным синдромом представлены, примерно, в равном соотношении.

2. Среди больных с клональными миелопролиферативными заболеваниями, протекающими с эозинофилией, наиболее часто выявляется реаранжировка гена *PDGFRA*, значительно реже - генов *PFGFRB, FGFR1*.

3. У части больных с клональными миелопролиферативными заболеваниями встречаются клинические и лабораторные признаки как миело-, так и лимфопролиферативных заболеваний.

4. Наличие у больных с гиперэозинофильным синдромом спленомегалии, фибропластического эндокардита и гистологических признаков миелопролиферативного процесса позволяют выделить миелопролиферативный вариант гиперэозинофильного синдрома и использовать раннее назначение иматиниба в его лечении.

5. Терапия иматинибом позволяет получить полный гематологический ответ у подавляющего числа больных с *PDGFRA*- и *PFGFRB*-позитивными миелопролиферативными заболеваниями и, в меньшей степени - у больных хроническим эозинофильным лейкозом, никак иначе не определяемым (CEL-NOS) и миелопролиферативным вариантом гиперэозинофильного синдрома.

6. При анализе 10-летней выживаемости больных с клональными миелопролиферативными заболеваниями (исключая вариант с реаранжировкой гена *FGFR1*) и миелопролиферативным вариантом гиперэозинофильного синдрома,

лучшие результаты, в сравнении с другими методами консервативной терапии, достигнуты при назначении иматиниба.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Эозинофилопоэз и его регуляция

Процесс эозинофилопоэза, как и все кроветворение, в норме осуществляется в костном мозге. Дополнительные места образования эозинофилов – селезенка, вилочковая железа и лимфатические узлы, а "средой обитания" зрелых эозинофилов, учитывая их функциональные особенности, являются ткани, в основном, «барьерные» на пути проникновения экзогенных антигенов: кожа, слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, особенно тонкой кишки, где происходит всасывание, в том числе, и антигенов [108, 131]. Содержание эозинофилов в костном мозге составляет около 3%; время циркуляции в кровотоке - примерно 36 часов. Уровень эозинофилов в крови может не отражать их количество, вовлеченное в патологический процесс, но характеризует баланс между скоростью их выхода из костного мозга и поступлением в ткани (на 1 клетку в крови приходится 100 - в тканях) [137, 138].

Эозинофилопоэз происходит под влиянием многих ростовых факторов. На ранних этапах стимуляции требуется участие ряда интерлейкинов (ИЛ) - ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-12, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), стволовоклеточного фактора (SCF), а дальнейшее развитие мультипотентной клетки в эозинофил проходит под воздействием SCF, ИЛ-3, ИЛ-4, ГМ-КСФ и эотаксина [97, 112, 117, 118, 121, 125]. Для конечных этапов дифференцировки, миграции в кровь и функциональной активности требуется присутствие ИЛ-5 [46, 126]. Кроме того, ИЛ-4 является фактором роста Т- и В-лимфоцитов. В ходе дальнейшей дифференцировки В-лимфоцитов образуются плазматические клетки, секретируюшие иммуноглобулины (Ig), в том числе, IgE и IgG_4, которые играют решающую роль в патогенезе реакций гиперчувствительности немедленного типа. Помимо участия в эозинофилопоэзе и регуляции функций эозинофилов, ИЛ-5 стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов, усиливая выработку

последними IgA и IgM [8]. К одним из факторов, стимулирующих миграцию эозинофилов (хемоаттрактант), относится и ИЛ-2, являющийся основным регулятором Т-клеточного ответа [123, 125].

Известно, что Т-лимфоциты, синтезирующие эти цитокины, относятся к хелперам 2 типа, результатом как физиологической, так и патологической пролиферации и/или активации которых являются некоторые случаи ГЭС [30, 39, 88, 134, 141].

Имеются данные о том, что эозинофилы сами могут синтезировать ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-5, то есть, способны к самоподдержанию, что подтверждается обнаружением mRNA этих цитокинов и их самих в цитоплазме эозинофилов при различных состояниях, сопровождающихся эозинофилией, чего не наблюдается в эозинофилах здоровых людей [36, 37, 59, 61, 100, 123].

Помимо указанных цитокинов известно, по меньшей мере, 17 эффекторных белков, опосредующих как стимуляцию, так и супрессию активности эозинофилов. Наиболее значимые из них: тромбоцит-активирующий фактор (рецептор к нему появляется на эозинофилах после их экспозиции с ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ) [91, 92]; лейкотриен B_4, играющий важную роль в патогенезе аллергии и некоторых аутоиммунных заболеваний [69, 78, 89]; уже упоминавшийся эотаксин, который в комплексе с ИЛ-5 стимулирует мобилизацию эозинофилов в места локализации антигена [110, 117]; комплемент (система из 30 белков) играет центральную роль в защите организма от паразитов и микроорганизмов [51, 62, 63]; гистамин [155]; туморнекротический фактор-α [60, 133, 135]; SCF через рецептор c-kit, экспрессирующийся на эозинофилах [79, 97].

К факторам, ингибирующим продукцию и активность эозинофилов, можно отнести интерферон-α (INF-α), который подавляет ИЛ-3-зависимый рост эозинофильных колоний и дифференцировку, IgA и IgE-зависимую дегрануляцию, ИЛ-10 [68].

1.2 Функция эозинофилов. Заболевания и процессы, сопровождающиеся реактивной эозинофилией

На сегодняшний день наиболее известной функцией эозинофилов является их участие в реакциях, направленных на элиминацию экзогенных антигенов. В частности, они играют ключевую роль в уничтожении гельминтов (кроме того, некоторых бактерий, грибов, вирусов [14, 16]) и устраняют путем инактивации гистамина и других факторов анафилаксии последствия реакции гиперчувствительности немедленного типа, лежащей в основе аллергии. В подобных ситуациях эозинофилия является физиологической, обусловленной конкретными потребностями организма.

Вероятно, те же иммунологические механизмы лежат в основе эозинофилии, наблюдающейся при целом ряде заболеваний, но функциональное значение данного феномена остается неясным.

При лимфопролиферативных заболеваниях (ЛПЗ), в основном, Т-клеточных, эозинофилия расценивается как реакция на гиперпродукцию клетками опухоли определенных цитокинов [30, 39, 88, 93, 134, 141]. Некоторые аутоиммунные заболевания, прежде всего, синдром Черга-Стросс (отдельный вариант узелкового периартериита), ревматоидный артрит, системная красная волчанка, системная склеродермия, иногда сопровождаются эозинофилией, степень которой коррелирует с активностью аутоиммунного процесса [21, 22, 90].

При солидных опухолях (легких, почек, желудка и другой локализации) также предполагается «случайное» выделение клетками опухоли неких хемоаттрактантов эозинофилов [14], но некоторые авторы отводят эозинофилам определенную роль в противоопухолевом ответе [16]. Однако в связи с относительной редкостью подобных наблюдений и отсутствием строгой зависимости от локализации опухоли вопрос о характере взаимосвязи негематологических опухолевых заболеваний и гиперэозинофилии остается неясен.

В руководстве, составленном Скандинавской исследовательской группой по изучению миелопролиферативных заболеваний [111] приводятся следующие причины РЭ, которые необходимо исключать в ходе диагностического поиска:

1. Инфекции:

а) Паразитозы, особенно тканевые: описторхоз, трихинеллез, токсокароз, эхинококкоз, филяриоз, аскаридоз, стронгилоидоз, шистосомоз;

б) Хронические инфекции, в том числе, ВИЧ-инфекция.

2. Период реабилитации после бактериальных инфекций.

3. Аллергия:

а) Атопические заболевания: бронхиальная астма, аллергический ринит, атопическая экзема, крапивница;

б) Пищевая аллергия;

в) Лекарственная аллергия.

4. Заболевания легких:

а) Острая и хроническая идиопатическая эозинофильная пневмония (болезнь Леффлера).

5. Заболевания желудочно-кишечного тракта, ассоциированные с эозинофилией:

а) Первичный или вторичный эозинофильный эзофагит;

б) Первичный или вторичный гастроэнтерит, включая целиакию;

в) Первичный или вторичный колит.

6. Другие причины аутоиммунного, воспалительного или токсического характера:

а) Заболевания соединительной ткани (склеродермия, узелковый периартериит, системная красная волчанка и т.д.);

б) Синдром Черга-Стросс (эозинофильный васкулит);

в) Эозинофильный фасциит;

г) Болезнь Кимуры (фолликулярная гиперплазия, эозинофильные инфильтраты, пролиферация венул);

д) Саркоидоз;

е) Хронический панкреатит;

ж) Синдром эозинофилии-миалгии.

7. Злокачественные заболевания

а) ЛПЗ, где эозинофилы не являются частью патологического клона (лимфома Ходжкина, неходжкинские лимфомы, преимущественно Т-клеточные);

б) Солидные опухоли (особенно с метастазами в костный мозг).

8. Наличие клональных Т-лимфоцитов с аберрантным иммунофенотипом (CD3-CD4+), но без признаков ЛПЗ.

9. Эндокринные заболевания:

а) Недостаточность надпочечников (болезнь Аддисона).

1.3 Клональные миелопролиферативные заболевания, протекающие с эозинофилией

Точная диагностика МПЗ, протекающих с эозинофилией, основана на результатах цитогенетических и молекулярно-генетических исследований, позволяющих верифицировать патологический клон. До недавнего времени в литературе имелись лишь немногочисленные сообщения, описывающие случаи с различными аномалиями кариотипа, в том числе, эозинофильный вариант Ph'-позитивного хронического миелолейкоза (ХМЛ) [19, 27, 28, 45, 52, 64, 74, 82, 87, 113, 124].

Представления о МПЗ, протекающих с эозинофилией, на уровне отдельных нозологических форм сформировались в последние несколько лет благодаря выявлению генов, кодирующих синтез рецепторов к ростовым факторам - *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1, C-KIT*. Следствием нарушений их структуры является независимый от нормальных стимулов рост клеток.

В 2003 году у нескольких больных с ГЭС был выявлен слитный ген *FIP1L1-PDGFRA* как следствие интерстициальной делеции фрагмента длинного плеча 4

хромосомы (*del4(q12)*) [47]. Выявление данного маркера стало основанием для установления диагноза клонального МПЗ. Подтвердить наличие *del4(q12)* при СЦИ невозможно в связи с ее небольшим размером, поэтому диагностика основывается на обнаружении экспрессии слитного гена *FIP1L1-PDGFRA* методом RT-PCR и/или делеции фрагмента CHIC2 хромосомы 4 методом FISH [114, 129]. Среди всех клональных МПЗ, протекающих с эозинофилией, вариант с маркером *FIP1L1-PDGFRA* является наиболее частым [26, 29, 49, 71, 72, 96]. По данным Европейского мультицентрового исследования к концу 2004 года из 89 пациентов с ГЭС неясного генеза в 38% случаев при RT-PCR был обнаружен данный транскрипт [107]. Как вариант нарушений гена *PDGFRA* у двух больных описана *t(4;22)(q12;q11)* [32], в одном случае – *ins(9;4)* с быстрым развитием острого миелобластного лейкоза [129].

За последние годы в мире был накоплен определенный опыт наблюдения за пациентами с *FIP1L1-PDGFRA*+ МПЗ, который позволил дать клинико-лабораторную характеристику этой нозологии [13, 26, 29, 71, 72, 107]. В работе F.Legrand с соавт. [99], у 44 пациентов с *FIP1L1-PDGFRA*+ МПЗ (мужчин - 43, женщин - 1 (девочка 6 лет); медиана возраста - 57.8 лет) отмечались следующие изменения: анемия и тромбоцитопения у 37% больных, повышение уровня витамина B_{12} – 82%, повышение уровня сывороточной триптазы – 78%, медиана абсолютного числа эозинофилов составила 10,0 х 10^9/л. Вовлечение различных органов и систем наблюдалось с неодинаковой частотой: кожа в 57% случаев, спленомегалия – 52%, органы дыхания – 46%, сердце – 34%, нервная система и желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) – 16%, гепатомегалия – 16%, неспецифические симптомы опухолевой интоксикации (слабость, снижение веса) – менее 40%.

Другой вариант клонального МПЗ с эозинофилией связан с вовлечением гена *PDGFRB*. Известны несколько вариантов его вовлечения в различные транслокации, но в подавляющем большинстве случаев встречается химерный ген *ETV6-PDGFRB* как следствие транслокации *t(5;12)(q31-33;p13)* [23, 29, 38, 48, 49, 50, 53, 72, 73, 105, 120, 139, 150, 153, 154]. Эозинофилия при этом заболевании не всегда присутствует; нередко отмечается моноцитоз [29, 48, 49, 53, 105, 120]. В целом, эта форма МПЗ

встречается значительно реже, чем *FIP1L1-PDGFRA*+ МПЗ, и в литературе представлена единичными наблюдениями [23, 38, 50, 53, 73, 105, 120, 150, 153, 154].

Еще одна нозологическая форма МПЗ связана с вовлечением гена *FGFR1* [29, 58, 81, 83, 104, 136, 156]. Для клинической картины *FGFR1*-позитивного новообразования характерно сочетание миелопролиферативного процесса, протекающего с эозинофилией, и Т-клеточной лимфоидной опухоли. При этом, в обеих клеточных линиях присутствует единый молекулярный маркер. Процесс отличается крайне агрессивным течением с быстрой трансформацией в острый, чаще миелобластный, лейкоз**.**

Точечные мутации в гене *C-KIT*, также расположенном на хромосоме 4 вблизи от гена *PDGFRA*, в частности *D816V*, ассоциируются с системным мастоцитозом (СМ), иногда протекающим с эозинофилией [114].

Таким образом, в настоящее время выделяют три ключевых гена, аномалии которых выявляются при МПЗ с эозинофилией: *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1*. В классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2008 года [144] в раздел миелопролиферативных заболеваний были включены три новые нозологические формы: «миелоидные новообразования с аномалиями гена *PDGFRA*»; «миелоидные новообразования с аномалиями гена *PDGFRB*»; «миелоидные новообразования с аномалиями гена *FGFR1*». Кроме того, в нее вошел и СМ, одним из критериев которого является наличие *D816V*-мутации гена *C-KIT*.

В случае выявления других генетических аномалий (не относящихся к этим трем генам), согласно Классификации ВОЗ 2008, диагноз звучит как «хронический эозинофильный лейкоз, никак иначе не определяемый» (Chronic eosinophilic leukemia, not otherwise specified или CEL-NOS). Кроме того, такую формулировку предложено использовать в случаях, когда генетические аберрации не обнаружены всеми доступными в настоящее время методами, но имеется повышение числа бластов (более 2% в периферической крови и/или более 5%, но менее 20% - в костном мозге).

В 2016 году были суммированы новые данные по молекулярному патогенезу клональных новообразований, повлекшие за собой предложения по пересмотру ВОЗ-классификации Миелоидных неоплазий и острых лейкозов 2008 года [24].

Так, помимо уже известного феномена при аномалии *8(p11)* с вовлечением гена *FGFR1*, и при *PDGFRA*-позитивных новообразованиях также были описаны случаи сочетания миело- и лимфопролиферативного процесса, подтвержденного при гистологическом исследовании костного мозга и увеличенных лимфатических узлов, и с наличием одной и той же мутации гена *PDGFRA* в клетках как миелоидного, так и лимфоидного ряда [41, 109].

В целом, в настоящее время утвердилось мнение, что мутации генов *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1* возникают в ранних клетках предшественниках, с учетом чего в классификации ВОЗ 2016 [24] формулировки диагнозов были изменены на следующие: «миелоидные/лимфоидные новообразования с аномалиями гена *PDGFRA*»; «миелоидные/лимфоидные новообразования с аномалиями гена *PDGFRB*»; «миелоидные/лимфоидные новообразования с аномалиями гена *FGFR1*». Кроме того, в нее было предложено включить еще одну нозологическую форму – «миелоидное/лимфоидное новообразование, *PCM1-JAK2*–позитивное». Образование химерного онкогена с участием гена *JAK2,* является результатом транслокации *t(8;9)(p22;q24.1),* вследствие чего активность *JAK2*-тирозинкиназы аномально повышается.

Дополнительной возможностью доказательства клональности является исследование экспрессии аллелей Х-сцепленных генов. Так, в 1999г. H.W.Chang с соавт. [43] анализировали локус *HUMARA* (человеческий ген рецептора к андрогенам) одной из Х-хромосом в эозинофилах женщин с различными заболеваниями и состояниями, сопровождающимися эозинофилией (экзема, лекарственная аллергия, стронгилоидоз, синдром Черга-Стросс, атопическая бронхиальная астма) и с ГЭС с неустановленной причиной (1 случай). Методом RT-PCR был выявлен клональный характер эозинофилии лишь у пациентки с ГЭС (визуализировалась только одна аллель, в то время как в образцах от других

больных - обе аллели от каждой из двух хромосом примерно в равных пропорциях). В остальной популяции лейкоцитов этой больной присутствовали обе аллели гена *HUMARA*. Через 26 месяцев, на фоне терапии преднизолоном, отмечено появление обеих аллелей, то есть исчезновение патологического клона. Следует, однако, подчеркнуть, что этот метод применим только для женщин, тогда как около 90% пациентов с ГЭС, в целом, и с МПЗ в частности – мужчины [152].

1.4. Дополнительные исследования, направленные на выявление признаков пролиферативной природы эозинофилии

1.4.1 Культуральные исследования

Со времени разработки методов клонирования гемопоэтических клеток человека в полутвердых средах (агар, плазменный сгусток, метилцеллюлоза) предпринимались попытки выделить признаки роста, свойственные опухолевым клеткам при различных, в том числе миелопролиферативных, заболеваниях.

В обзоре I.Shah с соавт. [132] обобщены результаты большого количества работ по изучению характера роста клоногенных клеток-предшественниц у больных с хроническим миелолейкозом, и показана клиническая значимость культуральных методов при дифференциальной диагностике ХМЛ и лейкемоидных реакций. При ХМЛ, в отличие от реактивных лейкоцитозов, повышено содержание КОЕ-ГМ как в костном мозге, так и в периферической крови. Об этом же говорит и А.И.Колесникова с соавт. [10].

Сообщения, посвященные культуральным исследованиям при гиперэозинофилиях, в зарубежной литературе единичные, а в нашей стране подобные исследования не проводились.

Так, в работе B.Bjornson с соавт. [34] представлена попытка использования агаровых культур из клеток крови для суждения о принадлежности ГЭС к числу миелопролиферативных заболеваний. В ней сравнивались результаты, полученные у

13 больных с ГЭС и у 10 здоровых лиц. Из пяти случаев ГЭС с чертами миелопролиферативного заболевания только в одном общий выход колоний превышал верхнюю границу нормы, в то время, как в 2 случаях миелопролиферативного варианта ГЭС общий выход колоний был ниже нормы. Отличительной чертой колониеобразования у этих 5 больных был лишь превышающий норму процент выхода собственно эозинофильных колоний, чего не отмечено в остальных случаях.

Большой интерес представляет работа H.Sato с соавт. [128], в которой исследовали колониеобразование у больного с клональным МПЗ с эозинофилией (при СЦИ костного мозга во всех клетках миелоидного ряда, за исключением эритроидных предшественников, была обнаружена транслокация *t(2;5)(p23;q35)*). В данном случае, несмотря на доказанный лейкоз, все колонии имели нормальные морфологические характеристики.

Данные по исследованию, так называемого, «спонтанного» колониеобразования, а также, роста колоний при заболеваниях с реактивной эозинофилией не представлены в литературе.

1.4.2 Цитохимические исследования

В рамках поиска дифференциально-диагностических критериев миелопролиферативного варианта ГЭС многими исследователями проводилась оценка цитохимических параметров эозинофилов крови и костного мозга при эозинофилиях различного генеза.

Известно, что в норме в зрелых эозинофилах от 33 до 50% цитоплазмы заполнено крупными эозинофильными гранулами, положительно реагирующими на миелопероксидазу (МП) и липиды; в межгранулярном пространстве диффузно расположен гликоген [9, 45, 64].

В работе J.W.Oliver с соавт. [113] приводится случай МПЗ с доказанной клональностью клеток эозинофильного ряда (кариотип *47,XY,+15*), в котором

цитохимическим признаком опухолевых эозинофилов явилась положительная реакция на нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразу. Данный фермент не выявляется в нормальных клетках, что также подтверждается в работах других исследователей [108, 137]. В материалах ВОЗ 2001 года [148] также предлагалось расценивать положительную реакцию на нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразу как признак опухолевых эозинофилов.

Напротив, в сообщении H.Sato с соавт. [128], в котором приведен случай миелопролиферативного заболевания с *t(2;5)(p23;q35)*, реакция на нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразу в эозинофилах была негативной, что расценивается как норма.

В целом, следует отметить, что культуральные и цитохимические исследования по поиску дифференциально-диагностических критериев опухолевых эозинофилов более активно проводились в 1980-90-х годах. В дальнейшем, по мере развития и распространения цитогенетических и молекулярно-генетических методов и расширения знаний о молекулярном патогенезе миелопролиферативных заболеваний, интерес к данному виду исследований несколько снизился.

1.5 Трудности выявления причин эозинофилии

Таким образом, исходя из имеющихся знаний о роли эозинофилов в организме, на первых этапах диагностики необходимо идентифицировать возможные аллергены/антигены. Но если паразитарную природу эозинофилии, как правило, удается своевременно установить, то другие агенты, стимулирующие эозинофильную реакцию, зачастую остаются не идентифицированными. При этом реакции гиперчувствительности с участием эозинофилов с одной стороны играют защитную роль, а с другой могут сопровождаться образованием «порочных кругов» вследствие дополнительного повреждения собственных тканей постоянно активированными клетками. Все это формирует картину мультисистемного патологического процесса неясной этиологии. В ряде случаев лишь длительное

наблюдение с повторным комплексным обследованием может помочь в установлении причины гиперэозинофилии.

Подобные сложности иногда возникают при верификации диагнозов, относящихся к системным заболеваниям соединительной ткани, среди которых особого внимания заслуживает синдром Черга-Стросс. В статье А.Г.Чучалина [21], посвященной дифференциальной диагностике системных васкулитов, приводятся критерии синдрома Черга-Стросс, включающие бронхиальную астму, эозинофилию в крови свыше 10%, моно- или полинейропатию, легочные инфильтраты, синуситы, внесосудистую эозинофилию. При выявлении 4 из 6 признаков диагностическая чувствительность превышает 85%, а специфичность – 99.7%. Однако, заболевание длительное время может проявляться менее, чем четырьмя симптомами. Основным лабораторным критерием синдрома Черга-Стросс является высокий титр перинуклеарных антител к цитоплазме нейтрофилов с антимиелопероксидазной специфичностью (П-АНЦА), что наиболее характерно именно для этого варианта системного васкулита, в совокупности с повышением СОЭ и IgE. Но по данным L.Guillevin с соавт. [74], у наблюдавшихся ими 96 пациентов лишь в 47.6% случаев отмечалось повышение П-АНЦА, тогда как в остальных случаях имел место относительно вариабельный набор вышеперечисленных симптомов в сочетании с эозинофилией.

Подтверждение клональности при МПЗ с эозинофилией также имеет ряд сложностей. Так, по данным, представленным в обзоре J.Gotlib 2014 г. [72], подтвердить клональность при ГЭС удается, в среднем, в 23% случаев. При этом, как уже отмечалось, для обнаружения наиболее часто встречающейся аномалии - *del4(q12)* требуются дополнительные исследования с использованием специфических праймеров и молекулярных зондов (RT-PCR и/или FISH). С другой стороны, хотя и принято считать, что при наличии цитогенетических аномалий и большом проценте эозинофилов в костном мозге, они являются частью клона, это не всегда так [84]. В литературе имеется лишь несколько работ, в которых приведены

доказательства наличия аномалий кариотипа непосредственно в эозинофилах [82, 87, 98, 127, 153].

Таким образом, в части случаев ГЭС его природа останется невыясненной, несмотря на тщательное обследование. При этом, некоторые из них протекают как МПЗ.

В настоящее время цито- и молекулярно-генетические исследования не являются рутинными в широкой практике; кроме того, они ограничены достаточно небольшим спектром возможностей в пределах одной лаборатории, либо, как уже отмечалось при изучении Х-сцепленного наследования, полом. Все это делает актуальным поиск дополнительных критериев, которые позволят четко выделить миелопролиферативный вариант ГЭС.

1.6 Гиперэозинофильный синдром. Особенности, присущие мелопролиферативному варианту ГЭС

Термин «гиперэозинофильный синдром» был предложен W.R.Hardy и R.E.Anderson в 1968г. [76], описавшими трех больных с гиперэозинофилией, гепатоспленомегалией и сердечно-легочными симптомами.

В 1975 году M.J.Chusid с соавт. [45], проанализировав данные 57 больных (из них 14 собственных наблюдений), впервые выдвинули тезис о разделении ГЭС на два принципиально различных по патогенезу варианта: реактивный и пролиферативный. В пользу последнего указывало наличие в костном мозге и крови незрелых клеток миелоидного ряда, преимущественно эозинофилов, анемии, тромбоцитопении и гепатоспленомегалии, а также, частое развитие специфического эозинофильного (фибропластического) эндомиокардита и неврологическая симптоматика. Авторы выделили так называемые лейкемические маркеры: повышение уровня витамина B_{12} и снижение – фолиевой кислоты, базофилия более 3%, аномальная активность ЩФ нейтрофилов. Следует отметить, что для обозначения ГЭС, причина которого после диагностического поиска осталась

неустановленной, авторами был предложен термин «идиопатический» (ИГЭС), однако в литературе последних лет он практически не используется.

В последующих многочисленных публикациях, посвященных ГЭС, объединенных в обзорах P.F.Weller и G.J.Bubley [152], B.Bain [27, 28], A.D.Klion [94], также прослеживается единство взглядов на него как на процесс, имеющий либо реактивный, либо пролиферативный характер. В пользу последнего свидетельствуют вышеперечисленные симптомы и признаки.

A.D.Klion в обзоре 2005 года [94] для установления миелопролиферативного варианта ГЭС предложено учитывать наличие 4 и более критериев из следующего: повышение уровня сывороточной триптазы и витамина B_{12}, спленомегалия, анемия, тромбоцитопения, миелоцитарный сдвиг, черты дисплазии эозинофилов, миелофиброз и увеличение количества атипичных тучных клеток в костном мозге. Появление в качестве критериев высокого уровня сывороточной триптазы и гиперплазии атипичных тучных клеток в костном мозге обусловлено новыми данными о существовании клонального мастоцитоза, протекающего с эозинофилией. Тучные клетки продуцируют триптазу, повышенный уровень которой является косвенным свидетельством их аномалий.

Некоторые авторы относили к признакам миелопролиферативного процесса увеличение лимфатических узлов [33]. Однако практически ни в одной работе не детализируются результаты гистологического исследования костного мозга при ГЭС с клинико-лабораторными чертами миелопролиферации. Оценка состояния костного мозга сводилась, в основном, к подсчету в миелограмме общего процента эозинофилов и бластных клеток, что существенно ограничивает представления о характере поражения костного мозга [33, 47].

При заболеваниях, причина которых не ясна, что относится и к ГЭС, представлялось важным выделить критерии, определяющие прогноз и показания для начала специфической терапии.

Такая попытка была предпринята группой исследователей из National Institute of Health США в 1981 году [65, 131]. Основываясь на более чем десятилетнем

наблюдении за 32 пациентами с ГЭС, была разработана система баллов, учитывающая его наиболее значимые клинические и гематологические проявления, на основании суммирования которых стало возможным ориентировочно прогнозировать эффективность и необходимость интенсификации лечения (чем выше сумма баллов, тем хуже прогноз).

Принимая во внимание тот факт, что основной причиной смерти больных с ГЭС являлась прогрессирующая застойная сердечная недостаточность как следствие пристеночного фибропластического эндомиокардита, среди клинических критериев признакам поражения сердца был дан максимальный балл. К важнейшим по значимости отнесены симптомы рестриктивной кардиомиопатии с недостаточностью кровообращения, нарушения проводимости. Непосредственную угрозу жизни представляют тромбы в левом желудочке, образующиеся вследствие гиперкоагуляции, обусловленной гиперэозинофилией. Другим проявлениям сердечной патологии (аритмии) придавалось меньшее значение.

Пристеночный фибропластический эндомиокардит впервые описан W.Loffler в 1936 году [102]. Поражение эндо- и миокарда однотипно как при миелопролиферативных, так и при реактивных эозинофилиях любого генеза, и развивается в различные сроки от момента ее возникновения [54]. Это осложнение, как, впрочем, и сам ГЭС, значительно чаще отмечается у мужчин - соотношение мужчин и женщин составляет 9:1 [152]. В литературе описано лишь несколько случаев поражения сердца у женщин, один из которых касается четырехлетней девочки с эозинофилией на фоне паразитоза (токсокароз) [4, 25, 56, 102]. Некоторые исследователи высказывают предположение, что эозинофилия не является единственной причиной поражения сердца, так как не отмечают взаимосвязь между риском его развития с выраженностью и продолжительностью эозинофилии [1, 5, 151]. В частности, имеются данные о преобладании этого осложнения у мужчин с HLA–BW44–фенотипом [152].

Столь же высокая, как и при поражении сердца, степень риска связана с вовлечением нервной системы, проявляющимся поведенческими и когнитивными

нарушениями, мышечным гипертонусом и повышением сухожильных рефлексов, атаксией, то есть признаками патологии нейронов коры больших полушарий и мозжечка. За повреждение нервов ответственны белки специфических гранул эозинофилов, такие как катионный протеин и нейротоксин. Было отмечено, что эозинофильная инфильтрация вещества и оболочек головного мозга более характерна для процесса с чертами миелопролиферации.

Также известно, что нейропатия - обычное проявление другой патологии с эозинофилией, а именно, синдрома Черга-Стросс, однако, в основе его лежит васкулит vasae nervorum. Моно- и полинейропатии, несмотря на возможные тяжелые последствия, занимают, по мнению авторов, менее важные позиции в определении прогноза и тактики лечения больных с ГЭС.

Из всех вариантов поражения легких наиболее клинически значимыми являются рентгенологические признаки фиброза, закономерно обуславливающего плохой прогноз, который обычно ассоциируется со специфическим поражением сердца. В то же время, изолированные легочные инфильтраты имеют благоприятное течение и хорошо отвечают на терапию глюкокортикостероидами (ГКС). Одной из известных причин их возникновения является миграция личинок паразитов через ткани организма, в том числе, легкие [1, 5].

Меньшее прогностическое значение придается симптомам поражения почек, ЖКТ, кожи и мышц.

Специфическое поражение печени и селезенки не имеет самостоятельного значения в определении прогноза заболевания, однако, может являться отражением распространенности процесса.

Среди гематологических параметров наибольший балл получили признаки аномалий других клеточных линий: анемия, не связанная с дефицитом железа, тромбоцитопения, базофилия, появление миелоидных предшественников в крови и/или повышение их количества в костном мозге, а также, гиперклеточность костного мозга за счет клеток миелоидного ряда, фиброз, цитогенетические

аномалии - все то, что может указывать на пролиферативный процесс в костном мозге [65].

На основании полученных данных авторы разделили течение ГЭС на две фазы. В группу лиц с доброкачественной фазой были отнесены больные с низкой суммой баллов, не требующие специфического лечения или хорошо отвечающие на преднизолон. Во вторую группу вошли больные с прогрессирующей фазой, которую авторы, в свою очередь, разделили на две подгруппы:

- больные с аномалиями других клеточных линий и миелоидной гиперплазией костного мозга, не отвечающие на терапию ГКС и нуждающиеся в назначении цитостатических препаратов;
- больные, не ответившие на химиотерапию, с наличием в костном мозге более 5% бластных клеток, высокой частотой миелофиброза, уменьшением количества мегакариоцитов и тромбоцитов. Данный вариант ГЭС рассматривался как миелопролиферативный процесс.

Авторы не выявили соответствие между суммарным клиническим баллом и количеством лейкоцитов и эозинофилов, что предполагает наличие иных, чем уровень абсолютной эозинофилии, факторов, обуславливающих тяжесть заболевания, одними из которых могут быть аномальные свойства эозинофилов, такие как степень зрелости и активационные параметры. Таким образом, по мнению авторов, ни уровень лейкоцитов, ни степень эозинофилии, не должны учитываться при прогнозировании течения заболевания и оценке эффективности терапии [65, 131].

Еще один вариант разделения ГЭС, во многом сходный с вышеприведенным, был предложен J.W.Oliver с соавт. [113], согласно которому выделяют 4 подгруппы больных с:

- хронический доброкачественный ГЭС с хорошим ответом на ГКС или не требующий лечения;
- ГЭС с поражением органов;
- хронический эозинофильный лейкоз;

- хронический эозинофильный лейкоз с бластной трансформацией, для которого характерна быстрая прогрессия и отсутствие ответа на терапию.

Последние два варианта отличаются различными ответами на терапию и прогнозом.

Четкие показания для начала терапии ГЭС, не считая очевидно агрессивных вариантов с тяжелыми специфическими осложнениями, до настоящего времени не определены. Подходы варьируют от позиции «наблюдай и жди» до немедленного начала терапии только лишь при уровне эозинофилов выше 1.5 - 2.0 х 10^9/л, несмотря на отсутствие клинических симптомов [72]. Но, в целом, преобладает точка зрения о необходимости индивидуальной оценки конкретной клинической ситуации, основанной на тщательном обследовании и анализе всех имеющихся факторов риска.

1.7 Отечественный опыт в изучении гиперэозинофильного синдрома

В нашей стране эта тема впервые была достаточно широко освещена в 1962 году в монографии Л.Д.Гриншпун [3], где, наряду с функциями эозинофилов, обсуждались клинические вопросы «больших эозинофилий», а также, проводилась параллель между так называемыми первичными эозинофилиями и «своеобразным вариантом эозинофильного лейкоза». В пользу последнего свидетельствует миелоидная (в том числе, эозинофильно-клеточная) метаплазия в селезенке, печени и других органах; развитие анемии, тромбоцитопении по мере прогрессирования заболевания.

В последующие годы вплоть до конца 80-х годов проблема гиперэозинофильных синдромов в отечественной литературе была представлена довольно скудно, и ряд заключений, отражающих понимание сущности процесса в отдельных случаях ГЭС, не всегда убедительны.

Так, в обзоре Л.Д.Гриншпун и Ю.Э.Виноградовой 1983 года [5] был достаточно полно охвачен спектр заболеваний, сопровождающихся эозинофилией,

проведен анализ основных патогенетических механизмов реактивной эозинофилии. Однако отсутствует четкое представление о патогенезе некоторых процессов, проявляющихся гиперэозинофилией. Так, авторы выделяют как нозологию системный эозинофильный васкулит с пристеночным эндокардитом, для которого также характерно «поражение кроветворного аппарата – гепатоспленомегалия, увеличение лимфоузлов», что подразумевает вторичность последнего. В целом, гиперэозинофильный синдром рассматривается здесь как миелопролиферативный процесс, но в качестве основного критерия его выделяют лишь длительную высокую эозинофилию. При этом, такие симптомы и признаки МПЗ, как увеличение размеров печени и селезенки с их инфильтрацией эозинофилами, повышение количества бластных клеток, миелоидная гиперплазия в костном мозге, могут иметь место лишь в «некоторых случаях», тогда как в других к «миелопролиферативному гиперэозинофильному синдрому» авторы относят случаи «астматического синдрома в сочетании с длительной высокой эозинофилией».

В работах А.И.Абрамычева с соавт. [1, 2] проанализирована значимость определения количества IgE как дифференциального критерия реактивного или миелопролиферативного ГЭС (для последнего оказался характерен нормальный уровень IgE). На основе наблюдений за больными с эозинофилией различного генеза (паразитарного, аллергического) была предложена схема обследования, в число обязательных пунктов которой включены стернальная пункция и трепанобиопсия [1]. Данные, опубликованные в 1986 году [2], явились отражением наибольшего опыта наблюдения за больными с ГЭС, накопленного к тому времени в нашей стране. Из 25 больных с «эозинофилиями», трактовавшимися авторами как «опухолевые», хотя в 12 случаях она отмечалась на фоне острых лейкозов и ЛПЗ, у 13 пациентов с ГЭС был расценен как миелопролиферативный. При этом, увеличение размеров селезенки отмечено в 5 случаях, печени – в 2. Трепанобиопсия произведена 10 больным, но изменения, характерные для миелопролиферации, обнаружены только у 6. Один случай также вызывает большие сомнения относительно его миелопролиферативной природы: основным симптомом являлись

«летучие легочные инфильтраты», отсутствовала органомегалия, в костном мозге отмечалось преобладание жировых клеток. В 12 из 13 случаев имели место так называемые «признаки повреждающего действия эозинофилов» - специфическое поражение сердца, у 1 больного в сочетании с «васкулитом», что дало авторам основание рассматривать подобные проявления как критерий миелопролиферативного гиперэозинофильного синдрома. Из гематологических показателей приводится лишь абсолютное число эозинофилов, которое колебалось в широких пределах – от 7.0 до 63.0 х 10^9/л. Цитогенетическое исследование не проводилось.

Остальные немногочисленные публикации в отечественной литературе касаются единичных наблюдений с зачастую также спорной трактовкой характера процесса [4, 6, 7, 11, 15].

С середины 90-х годов дальнейшее развитие данной тематики было продолжено в Клинике химиотерапии лейкозов и патологии эритрона ГНЦ при непосредственном участии профессора Р.А.Мокеевой [12, 18-20].

В работе 1997 года [18] представлены результаты анализа клинико-лабораторных и гистологических данных 14 больных с реактивной эозинофилией на фоне лимфомы Ходжкина, бронхиальной астмы, атопического дерматита, аллергии и с ГЭС неустановленного генеза, именовавшегося авторами ИГЭС. В группе больных с ИГЭС отчетливо преобладали симптомы, характерные для миелопролиферативных заболеваний: анемия, тромбоцитопения, базофилия, омоложение лейкоцитарной формулы, гиперклеточность костного мозга с наличием более 5% ранних миелоидных предшественников, уменьшение количества мегакариоцитов, сплено- и гепатомегалия, а также, специфическое поражение сердца, которое не наблюдалось ни в одном случае с реактивной эозинофилией.

Это исследование, а также факт обнаружения Ph'-хромосомы у 3 больных [19] и бластной трансформации - у 1 больного с ГЭС [20], по клинико-лабораторным и гистологическим данным соответствующим МПЗ, дали основание авторам

рассматривать ГЭС в аспекте принадлежности его к миелопролиферативным процессам.

Указанные работы отражают наибольший отечественный опыт наблюдения за больными с ГЭС, но, поскольку датируется 1980-90-ми годами (до открытия ключевых молекулярных механизмов возникновения МПЗ с эозинофилией), они не содержат информацию о современных подходах к диагностике и в настоящее время имеют лишь историческое значение.

1.8. Вопросы лечения МПЗ, протекающих с эозинофилией, и ГЭС

До 1978 года в литературе фактически отсутствовали более или менее обоснованные рекомендации по лечению ГЭС, и медиана выживаемости больных составляла 9 – 12 месяцев [116].

В дальнейшем, по мере формирования взгляда на ГЭС как на миелопролиферативный процесс, в клиническую практику стал внедряться принцип использования различных химиопрепаратов, как правило, в сочетании с ГКС.

В первом сообщении, в котором проанализирована эффективность лечения 32 больных ГЭС, была использована схема, включавшая преднизолон в дозе 60 мг/сут. с постепенным снижением дозы в течение 3 месяцев [64]. Если в этот период продолжалась прогрессия заболевания, назначали гидроксимочевину (ГОМ) в дозе 1 г/сут. модифицируя дозу так, чтобы количество лейкоцитов в крови находилось в пределах 6,0 – 10,0 х 10^9/л. При отсутствии эффекта применяли другие цитостатические препараты: циклофосфан, бусульфан, метотрексат и винкристин в произвольных комбинациях.

С конца 1980-х - начала 90-х годов основную роль в лечении ГЭС стали играть препараты INF-α, иногда в сочетании с ГОМ или другими цитостатическими препаратами, а также, с ГКС [31, 35, 40, 42, 57, 101, 103, 106, 122, 130, 143]. Особенно большое значение приобрело их использование при МПЗ, являясь

единственной в то время возможностью достижения цитогенетических ремиссий [103, 106, 122, 130].

В работе M.Malbrain с соавт. [106] приводится анализ литературных данных за период 1990 – 1995 гг., описывающих 9 случаев ГЭС, и собственное наблюдение 1 больного МПЗ с *t(5;9)(q32;q33)*. Все больные ранее получали преднизолон, ГОМ, в некоторых случаях – винкристин, циклофосфан. При прогрессировании заболевания и неэффективности предыдущей терапии назначался препараты INF-α в начальной дозе 3 - 9 млн. МЕ подкожно ежедневно с переходом на поддерживающую дозу от 3 млн. МЕ х 2-3 раза в неделю до 5 млн. МЕ ежедневно. Во всех случаях, в том числе, с МПЗ, была достигнута длительная гематологическая ремиссия со снижением количества эозинофилов в крови менее 1,0 х 10^9/л наряду со значительным регрессом клинических симптомов. Сроки наблюдения составили 3 - 50 месяцев. У больного с выявленной ранее мутацией (*t(5;9)(q32;q33)*) она исчезла в процессе лечения. Авторы пришли к выводу о целесообразности применения препаратов INF-α для длительного лечения ГЭС, особенно при наличии признаков миелопролиферации.

В дальнейшем S.Ceretelli с соавт. [42] подтвердили эти данные на основании анализа литературных сведений, описывающих 44 случая, включая четыре собственных наблюдения. Была показана высокая эффективность препаратов INF-α, и дано заключение о целесообразности их использования в качестве первой линии терапии как в случаях не осложненного течения, так и при наличии критериев высокого риска. Как и в сообщении M.Malbrain [106], в данной работе подчеркнуто, что препараты INF-α способны индуцировать цитогенетическую ремиссию.

Следует подчеркнуть, что, несмотря на имеющийся опыт применения препаратов INF-α, отсутствуют четкие рекомендации относительно их доз и кратности введения, сопоставленных с клиническими проявлениями. Можно лишь отметить некоторую определенность, касающуюся начальной дозировки 3 – 5 млн. МЕ х 3 раза в неделю с дальнейшей ее модификацией, зависящей от эффективности лечения.

ГКС широко используют в лечении ГЭС как в качестве превентивной терапии, так и для купирования уже развившихся осложнений [67, 70, 77, 86, 151]. Механизм их действия связывают, в частности, с ингибированием ГМ-КСФ- и ИЛ5-зависимого увеличения продолжительности жизни эозинофилов за счет подавления роста эозинофильных колоний путем блокирования выделения эозинофилпоэтинов моноцитами и Т-лимфоцитами. Кроме того, ГКС блокируют аккумуляцию эозинофилов в местах воспаления за счет подавления выделения хемоаттрактантов, метаболизм эозинофилов в тканях и выделение гистамина из базофилов, что нивелирует клинические проявления ГЭС [68].

Что касается особенностей действия отдельных препаратов этой группы, то важно отметить преимущество высоких доз метилпреднизолона (пульс-терапия) при неэффективности среднетерапевтических доз преднизолона (1–2 мг/кг) [67, 145]. В исследовании, проведенном D.C.Uckan с соавт. [145] было показано, что высокие дозы метилпреднизолона способны изменять фенотип эозинофилов и лимфоцитов, уменьшая экспрессию активационных маркеров (CD11b, CD18, CD13) на эозинофилах и усиливая экспрессию CD95 (опосредуют механизм апоптоза) и CD18 на лимфоцитах. A.Druilhe с соавт. [60] наблюдали CD95-опосредованную активацию апоптоза и под действием дексаметазона. С другой стороны, имеются данные о возможности ингибирования апоптоза эозинофилов дексаметазоном [55].

Следует также отметить возможность использования при гиперэозинофилии циклоспорина А [157]. Механизм действия препарата основан на блокаде ИЛ-2 – зависимой активации иммунных процессов. Следствием является нарушение продукции цитокинов, в том числе стимулирующих образование и функциональную активность эозинофилов, усиление их апоптоза как опосредованно через Т-лимфоциты, так, возможно, и прямо, учитывая наличие рецепторов к ИЛ-2 и на самих эозинофилах.

N.T.Ueno с соавт. сообщили об успешном применении у двух больных ГЭС 2-хлордеоксиаденозина, действие которого связывают с ингибированием Т-клеточных механизмов стимуляции эозинофилопоэза [146].

В целом, факт эффективности ГКС, равно как циклоспорина и 2-хлордеоксиаденозина, предполагает реактивный характер эозинофилии.

Относительно новым препаратом, нашедшим применение в случаях предположительно реактивной эозинофилии является меполизумаб – моноклональное анти/ИЛ-5–антитело. Препарат позволяет контролировать эозинофилию при непереносимости или недостаточной эффективности ГКС [95].

Патогенетическим методом лечения *PDGFRA*- и *PDGFRB*-позитивных МПЗ является таргетная терапия ингибиторами тирозинкиназ, в первую очередь иматинибом (ИМ), эффективность которого при данных заболеваниях приближается к 100%. Механизм действия ИМ связан с его способностью ингибировать *PDGFRA*- и *PDGFRB*-тирозинкиназы в составе рецепторов к ростовому фактору, происходящему из тромбоцитов/мегакариоцитов. Для достижения и поддержания ремиссии при *PDGFRA*+ варианте заболевания достаточно концентрации ИМ в крови, которая создается при приеме 100 мг/сут., а при *PDGFRB*+ - 400 мг/сут. [13, 23, 26, 29, 47, 50, 53, 71-73, 99, 105, 107, 115, 120, 140, 150, 153, 154]. Ингибирующим действием на *PDGFRA*- и *PDGFRB*-тирозинкиназы также обладают дазатиниб и нилотиниб [80, 142, 149].

FGFR1-позитивные варианты МПЗ характеризуются высокой агрессивностью течения. Единственный вариант лечения, позволяющий надеяться на выздоровление – алло-ТГСК. В последние годы ведутся исследования, направленные на создание ингибиторов тирозинкиназ, специфичных для этой патологии [44].

Алло-ТГСК также показана при прогрессии МПЗ, и ГЭС и резистентности к консервативной терапии. В литературе имеются отдельные сообщения об успешной алло-ТГСК при ГЭС [66, 85, 147].

Заключение

Таким образом, литературные данные достаточно полно освещают клиническую картину, характеризующую миелопролиферативную природу ГЭС.

Есть спорные вопросы в трактовке данных лабораторных исследований; не отражены, за исключением единичных публикаций, данные гистологического исследования костного мозга - возможно, одного из основных дифференциально-диагностических критериев пролиферативного процесса в костном мозге при отсутствии хромосомных аномалий.

В нашей стране подобные работы, основанные на анализе большого числа случаев эозинофилии различного генеза, ранее не проводились. Настоящая работа была предпринята с целью наиболее полно охарактеризовать миелопролиферативный вариант ГЭС, основываясь на клинических, лабораторных и гистологических признаках, а также, особенностях течения, осложнениях и ответе на те, или иные виды лечения. В 2003 году в ГНЦ появились дополнительные диагностические возможности для подтверждения клональности при гиперэозинофильных синдромах, и из группы ГЭС была выделена новая нозологическая форма МПЗ – *FIP1L1-PDGFRA*-позитивная. Кроме того, у значительного числа наших пациентов с МПЗ существенно улучшились результаты терапии и прогноз в связи с появлением препарата с таргетным воздействием на патологический клон – ингибитора тирозинкиназ иматиниба мезилата. Поэтому в настоящей работе мы также сочли целесообразным проанализировать первый в нашей стране опыт по диагностике и терапии *FIP1L1-PDGFRA*-позитивного МПЗ.

Глава 2. Материалы и методы исследования

2.1 Общая характеристика больных

В настоящее исследование было включено 188 пациентов (мужчин 132, женщин 56). Из них 23 пациента, наблюдавшихся до 1999 года, были оценены ретроспективно.

Основными критериями включения являлись:

- эозинофилия в крови $\geq 1500 \times 10^9$/л;
- наличие клинических симптомов.

2.2 Протокол обследования больных

План обследования, дополненный в 2003 и 2014 годах молекулярно-генетическими методами исследования для выявления аномалий генов *PDGFRA*, *PDGFRB*, *FGFR1*, включал в себя диагностические мероприятия, которые, в зависимости от характера течения заболевания, осуществлялись последовательно или одновременно, как в полном объеме, так и выборочно по мере получения результатов предшествующих исследований.

2.2.1 Общеклиническое обследование

1. Сбор анамнеза (обращалось особое внимание на наличие признаков интоксикации - слабость, утомляемость, снижение массы тела, повышение температуры).
2. Физикальное обследование – терапевтический статус по органам и системам.
3. Клинический анализ крови с подсчетом тромбоцитов, ретикулоцитов, абсолютного числа эозинофилов.

4. Биохимический анализ крови (общий белок и белковые фракции, трансаминазы, билирубин, холестерин, лактатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза, мочевина, креатинин, мочевая кислота).

5. Коагулограмма: протромбин, АЧТВ, МНО.

6. Общий анализ мочи.

7. Исследование показателей обмена железа - при снижении уровня гемоглобина.

8. Исследование маркеров вирусного гепатита В и С методом иммуноферментного анализа, а при положительных серологических реакциях, наличии биохимических параметров, свидетельствующих о поражении печени – RT-PCR.

9. Рентгенография и/или компьютерная томография (КТ) органов грудной полости, по показаниям –ЖКТ.

10. Электрокардиография, эхокардиография.

11. Ультразвуковое исследование (УЗИ) и/или компьютерная томография органов брюшной полости, лимфатических узлов.

2.2.2 Обследование для выявления причин реактивной эозинофилии

1. Консультация паразитолога осуществлялась в обязательном порядке одновременно с общеклиническим обследованием.

2. Консультации аллерголога, ревматолога, других специалистов – по показаниям в зависимости от жалоб и результатов физикального обследования.

3. С учетом данных анамнеза и возраста проводился комплекс диагностических мероприятий, направленных на выявление онкологических заболеваний.

4. Иммунохимическое исследование белков крови с определением уровня IgE.

5. Диагностика ЛПЗ предпринималась в следующих случаях:

- при увеличения лимфатических узлов: биопсия с иммунофенотипированием и RT-PCR-исследованием реаранжировки генов Т- и В-клеточных рецепторов;

- при изолированной спленомегалии: иммунофенотипирование и RT-PCR Т- и В-лимфоцитов периферической крови.

2.2.3 Диагностика миелопролиферативных заболеваний

1. Для выявления патологического клона в костном мозге и/или периферической крови, которого выполнялись:

а) Стандартное цитогенетическое исследование клеток костного мозга с помощью G-дифференциальной окраски.

б) Молекулярно-генетическое исследование методом:

- RT-PCR для выявления транскриптов *FIP1L1-PDGFRA* и *ETV6-PDGFRB* в клетках костного мозга и/или периферической крови - с 2003 года;

- FISH для выявления структурных нарушений генов *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1* в клетках костного мозга – с 2014 года.

2. Гистологическое исследование трепанобиоптата подвздошной кости.

Стандартное цитогенетическое исследование и **исследование методом FISH** проводилось в кариологической лаборатории ГНЦ; руководитель доктор медицинских наук, профессор Е.В.Домрачева, с 2012 г. – кандидат медицинских наук Т.Н.Обухова.

Молекулярно-генетическое исследование методом RT-PCR проводилось в лаборатории генной инженерии ГНЦ (руководитель к.м.н. А.Б.Мисюрин), с 2011 г. в лаборатории «Генотехнология» (Москва).

Применялся метод обратнотранскриптазной RT-PCR с использованием праймеров FIP1L1-PDGFRA и ETV6-PDGFRB (методика исследования описана в работах J.F.Apperley [23] и J.Cools [47].

Гистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследования костного мозга проводились в патологоанатомическом отделении ГНЦ, заведующий доктор медицинских наук, профессор Г.А.Франк; с 2012 г. – заведующая доктор биологических наук А.М.Ковригина.

Трепанобиоптаты костного мозга фиксировались в забуференном нейтральном формалине, декальцинировались в смеси Де Кастро и заливались в парафин. Применялись следующие окраски: обзорная окраска гематоксилин-эозином; для выявления коллагеновых волокон – окраска по методу Ван-Гизон; для выявления ретикулиновых волокон – импрегнация срезов костного мозга по методу Гомори. При световой микроскопии оценивалось соотношение деятельного и жирового костного мозга, состояние миело- и лимфопоэза, наличие и распространенность фиброза.

Оценка изменений в костном мозге у исследуемых больных проводилась в соответствии критериями, представленными на рисунках 1 и 2.

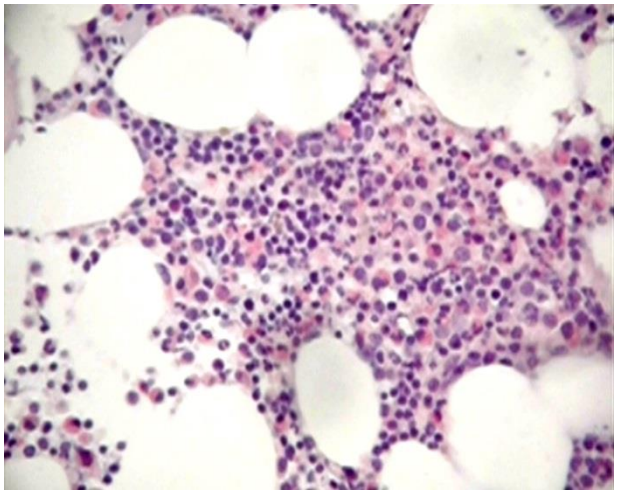

Рисунок 1: Костный мозг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение х 200.

На рисунке 1 представлена типичная картина в костном мозге, свойственная процессам с реактивной эозинофилией (вторичные изменения): нормальное соотношение жирового и деятельного костного мозга, увеличение количества зрелых эозинофилов, эритроидный и мегакариоцитарный ростки сохранены.

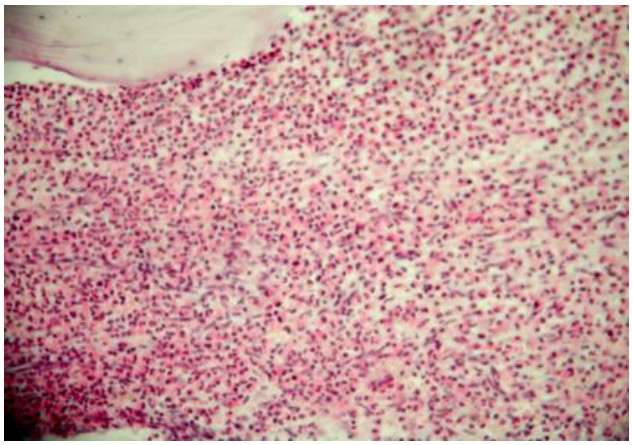

Рисунок 2: Костный мозг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение х 200.

Рисунок 2 отражает изменения в костном мозге, характерные для миелопролиферативного процесса, протекающего с эозинофилией: редукция жировой ткани, выраженная миелоидная гиперплазия с большим количеством клеток эозинофильного ряда, аномалии других линий миелопоэза.

2.2.4 Культуральные методы исследования костного мозга

Культивирование клеток костного мозга и периферической крови производилось в лаборатории по изучению тканевых культур Медицинского радиологического научного центра (МРНЦ) им. А.Ф.Цыба в 2000-2003 годах; руководитель доктор медицинских наук, профессор А.И.Колесникова.

Приготовление суспензий клеток костного мозга:

1 мл пунктата костного мозга и 5 мл венозной крови помещали в стерильные пробирки с гепарином (100 ед/мл пунктата и 30 ед/мл крови). После оседания эритроцитов в течение 1 – 2 часов при комнатной температуре супернатант отсасывали пастеровской пипеткой, выделенные клетки отмывали в среде 199 центрифугированием при 1000 об/мин., ресуспендировали их в среде МсСоу 5А до концентрации, необходимой для эксплантации их в культуру.

Определение роста колоний из кроветворных клеток-предшественников в полутвердой агаровой среде при добавлении колониестимулирующих факторов:

Метод культивирования кроветворных клеток в полутвердой агаровой среде позволяет определить содержание коммитированных КОЕ-ГМ в костном мозге и периферической крови.

Клонирование кроветворных клеток проводили в двухслойной агаровой среде по методу B.L.Pike и W.A.Robinson [119], принцип которого заключается в том, что первоначально готовят фидер – питательный слой из лейкоцитов периферической крови доноров. Затем сверху наслаивают одноклеточную суспензию изучаемых кроветворных клеток.

Культивирование проводили в модифицированной среде McCoy 5A. 1×10^5 клеток костного мозга и 1×10^6 клеток крови в 1 мл полной питательной среды с агаром наслаивали в 35-мм чашке Петри на готовый фидер. Затем клетки культивировали в течение 9 – 14 дней при 37º в условиях абсолютной влажности и 5% содержании CO_2 в воздухе. На 9 – 14 день инкубации подсчитывали число колоний и кластеров. За колонии принимали агрегаты в 50 и более клеток; агрегаты, содержащие менее 50 клеток, считали кластерами.

Определение спонтанного роста колоний из кроветворных клеток-предшественников в полутвердой агаровой среде:

Использовалась однослойная система 0,3% агара, куда помещались гемопоэтические клетки. Спонтанное образование колоний из КОЕ-ГМ оценивали через 5 - 7 суток роста.

Определение колониеобразования из стромальных клеток-предшественников в монослойной культуре:

КОЕ-Ф костного мозга являются одними из клеточных элементов кроветворного микроокружения, регулирующего процесс гемопоэза. Оценку фибробластных колоний проводили по методу, разработанному в 1979 – 80 годах в лаборатории А.Я.Фриденштейна [17].

5×10^5 - 10^6 миелокариоцитов помещали во флакон Карреля с площадью дна 25 $см^2$ в 5 мл среды 199, содержащей пенициллин (100 ед/мл), стрептомицин (50 мкг/мл), 15% инактивированной сыворотки человека. Культивирование проводили

при температуре 37˚С в условиях абсолютной влажности и 5% содержании CO_2. Через 10 дней культивирования культуры фиксировали 96º спиртом, окрашивали азур-эозином и подсчитывали число выросших колоний из КОЕ-Ф.

Результаты клонирования для КОЕ-ГМ оценивали по числу колоний, выросших на 10^5 эксплантированных в культуру клеток костного мозга и 10^6 периферической крови; для КОЕ-Ф – по числу колоний, выросших на 10^6 эксплантированных в культуру миелокариоцитов.

2.2.5 Цитохимические методы исследования эозинофилов и нейтрофилов периферической крови

Исследования проведены в лаборатории гемоцитологии ГНЦ (руководитель доктор медицинских наук, профессор Г.И.Козинец).

Определяли содержание гликогена, липидов, кислых мукополисахаридов (КМС), миелопероксидазы, кислой фосфатазы (КФ) и α-нафтилацетат эстеразы (α-НФ). Оценка результатов цитохимических исследований проводилась при световой микроскопии мазков периферической крови. Учитывался процент положительных клеток. Кроме того, оценивалась активность ЩФ нейтрофилов периферической крови. Методика определения вышеперечисленных субстратов приведена в Методических рекомендациях Г.И.Козинца с соавт. [9].

2.3 Статистическая обработка данных

Для статистической компьютерной обработки данных применялись пакеты программ STATISTICA 12.0, XLSTAT 2014. Анализ вида распределения признаков осуществлялся согласно критериям Колмогорова-Смирнова и Лиллиефорса, а также критерию Шапиро-Уилка. Для сравнения бинарных данных использовались точный критерий Фишера и $\chi 2$, для сравнения количественных данных использовался критерий Манна — Уитни. Анализ выживаемости проводился по методу Каплан-

Майера с использованием логрангового критерия для оценки достоверности различий. Для оценки кумулятивной частоты достижения гематологического ответа использовался метод кумулятивной инцидентности (смерть рассматривалась в качестве конкурирующего риска), сравнительный анализ инцидентности проводился методом Грея. Статистически достоверными считали различия при значении $p < 0,05$.

Глава 3. Результаты собственных исследований

В результате проведенного в соответствии с представленным планом обследования и динамического наблюдения в 62% (117 из 188) случаев была установлена причина эозинофилии: реактивная на фоне различных заболеваний, либо клональная при миелопролиферативных процессах.

3.1 Заболевания и состояния, сопровождающиеся реактивной эозинофилией

Реактивная эозинофилия на фоне различных заболеваний и состояний (таблица 1) наблюдалась в 32 % (60 из 188) случаев, что составило 51% (60 из 117) от всех случаев с установленной причиной эозинофилии.

Таблица 1. Характеристика заболеваний и состояний, сопровождающихся реактивной эозинофилией.

Общее число больных	51% (60 из 117)
Лимфопролиферативные заболевания:	**23%** (14 из 60)
- Т-клеточные	43% (6 из 14)
- лимфома Ходжкина	43% (6 из 14)
- В-клеточные	14% (2 из 14)
Аутоиммунные заболевания	**23%** (14 из 60)
Паразитозы	**20%** (12 из 60)
- описторхоз	58% (7 из 12)
- токсокароз	17% (2 из 12)
- эхинококкоз	8% (1 из 12)
- стронгилоидоз	8% (1 из 12)
- трихинеллез	8% (1 из 12)

Продолжение таблицы 1.

Общее число больных	51% (60 из 117)
Поражение органов ЖКТ - печень - кишечник - поджелудочная железа	**20%** (12 из 60) 75% (9 из 12) 17% (2 из 12) 8% (1 из 12)
Негематологические опухоли - злокачественные с неустановленной первичной локализацией - доброкачественная опухоль надпочечника	**5%** (3 из 60) 67% (2 из 3) 33% (1 из 3)
Аллергия	**5%** (3 из 60)
Болезнь Кимуры	**2%** (1 из 60)
Мастоцитоз, кожная форма	**2%** (1 из 60)
Возраст	Me 43,7 (ИР 32-52)
Пол	Муж. n= 34 (57%)

Как видно из таблицы 1, большинство случаев реактивной эозинофилии развились на фоне лимфопролиферативных (преимущественно Т-клеточные неходжкинские лимфомы и лимфома Ходжкина) или аутоиммунных заболеваний, а также, паразитарной инфекции и патологии органов ЖКТ. Значительно реже диагностировались опухоли некроветворной ткани и другая редкая патология.

Подгруппу Т-клеточных лимфоидных опухолей составили: а) периферическая Т-клеточная лимфома с поражением кожи - 2 больных; б) генерализованная лимфома - 2 больных; в) гепатолиенальная Т-клеточная лимфома - 1 больной; г) ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома - 1 больной. В-клеточные пролиферации реже сопровождаются эозинофилией. В эту подгруппу включили: 1

случай диффузной В-крупноклеточной лимфомы и 1 случай, острого В-лимфобластного лейкоза (common-вариант), первые 3 месяца (до развития бластоза) протекавшего как гиперэозинофильный синдром.

У 14 больных (мужчин - 6, женщин - 8) при обследовании у ревматолога было диагностировано аутоиммунное заболевание - синдром Черга-Стросс. Для исключения гематологического заболевания как причины эозинофилии им также было выполнено исследование костного мозга (трепанобиопсия, СЦИ; в 9 случаях - молекулярно-генетическое исследование для выявления экспрессии генов *FIP1L1-PDGFRA* и *ETV6-PDGFRB*). Данных за заболевание системы крови не получено.

В случаях поражения органов ЖКТ и аллергии (непереносимость лекарственных препаратов и средств бытовой химии) причины эозинофилии были установлены **при тщательном анализе анамнестических данных и динамическом наблюдении.**

Поражение печени было представлено следующими патологическими процессами: а) многоочаговое поражение неустановленного генеза - 4 больных; б) хронический гепатит с рецидивирующим течением - 4 больных (вызванный вирусом гепатита В – 2 случая, неуточненного генеза – 2 случая); в) острый токсический гепатит. Другая патология органов ЖКТ, протекавшая с эозинофилией, была представлена хроническим рецицивирующим энтероколитом (2 случая) и острым панкреатитом (1 случай).

Нормализация уровня эозинофилов и общего состояния после разрешения клинических симптомов/устранения контакта с аллергеном позволила рассматривать эозинофилию как следствие указанных процессов.

Примером **случайного выявления взаимосвязи** эозинофилии с каким-либо соматическим заболеванием является история больной, у которой обнаружена эозинофилия *на фоне доброкачественной опухоли надпочечника*. Ввиду редкости подобных случаев, приведем его описание: *пациентка И.М.П., 63 лет. Эозинофилия до 2,5 – 6,0 х10^9/л регистрировалась в течение 4 лет; других изменений в анализах крови не было. В миелограмме выявлено 20% эозинофилов с практически равным*

соотношением незрелых и зрелых клеточных форм: миелоцитов 5,9%, метамиелоцитов 4%, п/я 3%, с/я 7%; в остальном, грубых отклонений от нормальных значений не отмечено. Из клинических симптомов отмечалась высокая артериальная гипертензия с кризовым течением и эпизодами острого нарушения мозгового кровообращения. При омпьютерной томографии была обнаружена опухоль надпочечника. В первом же анализе крови, взятом через несколько часов после оперативного удаления опухоли, количество эозинофилов не превышало норму, и при последующем наблюдении в течение нескольких лет эозинофилии не отмечалось.

3.2 Диагностика миелопролиферативных заболеваний, протекающих с эозинофилией

В оставшихся 128 случаях было предпринято комплексное обследование с целью диагностики миелопролиферативных заболеваний. Для верификации нозологических форм МПЗ выполнялись следующие исследования:

1. Морфологическое исследование костного мозга (подсчет миелограммы) было выполнено всем 128 пациентам. Оценивалось количество бластных клеток как диагностический критерий, согласно рекомендациям ВОЗ 2008, позволяющий дифференцировать CEL-NOS с ГЭС. Во всех случаях на момент диагностики число бластных клеток не превышало 5%.

Диагноз CEL-NOS был установлен в 5% (6 из 128) случаев на основании персистирующей бластемии >2%.

2. СЦИ костного мозга было выполнено в 70% случаев (90 из 128). Хромосомные аберрации обнаружены в 11% (10 из 90) случаев (таблица 2), что также явилось критерием для установления этим пациентам диагноза CEL-NOS.

Не было отмечено какой-либо типичной хромосомной аномалии, если не считать делеции хромосомы 7 или ее фрагмента, выявленных у 2 больных соответственно.

Таблица 2. Хромосомные аберрации, выявленные при ГЭС.

Хромосомная аномалия	Число больных
46, XX, del(14) t(1;14)(q11;p1.1), del(20)(1.1) [20]	1
47, XY, +mar в 91% [20]	1
45, XY, -7 [11]	1
46, XX, del (7)(q31) [10]/*46, XX* [10]	1
45, X,-Y [15]/*46, XY* [5]	1
46, XY, t (4;7)(q22;q32) [11]/*46, XY* [9]	1
119-121, XXXX, <5n> [2]/*46, XX* [18]	1
46, XY, del(13)(q22-q34) [20]	1
46, XX, t(8;13)(p11;q12) [20]	1
46, XY, t(5;12)(q31;q24) [20]	1

3. Молекулярно-генетическое исследование. С 2003 года применялся метод **RT-PCR** с целью обнаружения в клетках костного мозга или крови транскриптов *FIP1L1-PDGFRA* и *ETV6-PDGFRB*. В 2014 году данный вид диагностики был дополнен исследованием методом **FISH**, позволяющим выявлять структурные нарушения генов *PDGFRA, PDGFRB* и *FGFR1*. В таблице 3 представлена частота выявления аномалий вышеперечисленных генов.

Таблица 3. Частота обнаружения при ГЭС аномалий генов *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1*.

Ген	Процент позитивных случаев
PDGFRA	43% (40 из 93)
PDGFRB	3.2% (3 из 93)
FGFR1	33.3% (1 из 3)

В 5 из 10 случаев с выявленными в костном мозге хромосомными аномалиями при молекулярно-генетическом исследовании также было обнаружено вовлечение одного из трех вышеупомянутых генов (*PDGFRA, PDGFRB, FGFR1)*, формирующих

самостоятельные нозологические формы (таблица 4), что дало основание исключить эти случаи из группы CEL-NOS.

Таблица 4 Сочетание мутаций, обнаруженных при цитогенетическом и молекулярно-генетическом исследованиях, в нескольких единичных случаях клональных МПЗ.

Данные СЦИ	Данные RT-PCR/FISH
46, XX, del(14) t(1;14)(q11;p1.1), del(20)(1.1) [20]	*PDGFRA*
119-121, XXXX, <5n> [2]/*46, XX* [18]	*PDGFRA*
45, X,-Y [15]/*46, XY* [5]	*PDGFRB*
46, XY, t(5;12)(q31;q24) [20]	*PDGFRB*
46, XX, t(8;13)(p11;q12) [20]	*FGFR1*

В случаях с *t(5;12)(q31;q24)* и *t(8;13)(p11;q12)* молекулярно-генетическое исследование подтвердило факт вовлечения генов *PDGFRB* и *FGFR1* соответственно.

Таким образом, в 53% (49 из 93) случаев была доказана клональная природа эозинофилии, что дало основание установить несколько нозологических форм МПЗ. При этом стандартный цитогенетический метод дал возможность подтвердить наличие клонального МПЗ лишь в 11% случаев, тогда как молекулярные методы повысили эффективность диагностики более чем в 4 раза – 47% (частота положительных результатов – 10 из 90 против 44 из 93 соответственно).

В 2 случаях при комплексном обследовании был диагностирован системный мастоцитоз.

В таблице 5 представлена частота выявляемости различных форм МПЗ с эозинофилией и распределение больных по полу и возрасту. Группу CEL-NOS составили 5 случаев с хромосомными аномалиями в костном мозге и, как уже отмечалось, 6 случаев с нормальным кариотипом, но бластемией более 2% в качестве основного критерия данного диагноза.

Таблица 5. Миелопролиферативные заболевания с эозинофилией.

Диагноз	Число больных (n=57)	Пол (м/ж)	Возраст (годы)
МПЗ, *PDGFRA+*	70% (40)	38/2	20 – 70 (Me 39)
МПЗ, *PDGFRB+*	5% (3)	3/0	19 – 55 (Me 43)
МПЗ, *FGFR1+*	2% (1)	ж	39
CEL-NOS	19% (11)	9/2	29 – 72 (Me 50)
Системный мастоцитоз	4% (2)	0/2	29, 58

Как видно из таблицы, данные заболевания выявлялись, главным образом, у мужчин среднего возраста.

Ввиду крайней редкости *FGFR1*-позитивного заболевания, приведем его описание: *больная С.Н.Г., 1975 г.р., обратилась для консультации в марте 2014 года с жалобами на слабость, потливость, периодически возникающие боли в костях, кожный зуд, болезненность при пальпации задней поверхности шеи. В клиническом анализе крови был выявлен лейкоцитоз (47,2×10^9/л) со сдвигом до миелоцитов (12,5%), эозинофилией 6,7% (абсолютное число эозинофилов - 3,1×10^9/л), снижение гемоглобина (104 г/л) и количества тромбоцитов (156 ×10^9/л). Размеры селезенки по данным ультразвукового исследования составили 120 ×50 мм. Пальпаторно печень и селезенка увеличены не были. На боковой поверхности шеи пальпировались увеличенные до 1,5 см лимфатические узлы, спаянные между собой, подмышечные лимфатические узлы - единичные, мягко эластической консистенции до 0.7 см в диаметре. Миелограмма: миелоциты: нейтрофильные - 14%, эозинофильные - 0.5%, метамиелоциты - 4.5%, палочкоядерные нейтрофилы - 28%, эозинофилы - 1.5%, сегментоядерные нейтрофилы - 39%, лимфоциты - 20%, моноциты - 0.5%, нормобласты: полихроматофильные - 2%, ортохромные - 8%, мегакариоцитов мало, костный мозг гиперклеточный. При СЦИ в 20 метафазах*

был выявлен кариотип 46,XX,t(8;13)(p11;q12) [20]. При исследовании методом FISH в 85% ядер клеток было подтверждено вовлечение локуса гена FGFR1. Гистологическое исследование трепанобиоптата: гиперклеточный костный мозг, резкое расширение гранулоцитарного ростка с выраженным промежуточным пулом и многочисленными клетками эозинофильного ряда, умеренно сниженное число мегакариоцитов, сужение эритроидного ростка. Также, была выполнена биопсия шейного лимфатического узла. Цитологическое исследование лимфатического узла: клеточный состав представлен зрелыми лимфоидными клетками и клетками гранулоцитарного ряда: миелоциты - 0.4%, палочкоядерные нейтрофилы - 1.6%, сегментоядерные нейтрофилы - 14%, эозинофилы - 4%, пролимфоциты - 2%, лимфоциты - 76%; встречаются поля зрения с количеством бластов до 15%, в частых полях зрения – эозинофилы и макрофаги, встречаются тучные клетки. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование лимфатического узла: на большом протяжении лимфоидная ткань замещена пролифератом, представленным клетками гранулоцитарного ряда с небольшим количеством незрелых форм, достаточно выраженным промежуточным пулом, преобладанием зрелых форм клеток эозинофильного ряда. Кластеры CD34-позитивных клеток не обнаружены. При цитогенетическом исследовании клеток биоптата лимфоузла выявлен тот же кариотип, что и в клетках костного мозга - 46,XX,t(8;13)(p11;q12). Моноклональность по генам гамма-цепи Т-клеточного рецептора и В-клеточная клональность по реаранжировкам генов тяжелой цепи иммуноглобулина не выявлена. Было диагностировано МПЗ с вовлечением лимфатических узлов.

Особенностью данного случая *FGFR1*-позитивного новообразования является отсутствие признаков опухолевой пролиферации лимфоидной ткани: в лимфатическом узле имела место пролиферация клеток миелоидного ряда, содержащих транслокацию *46,XX,t(8;13)(p11;q12)*, как и в клетках костного мозга.

3.3 Сравнительная характеристика клинико-лабораторных и гистологических данных исследования костного мозга в группе заболеваний, протекающих с реактивной эозинофилией, и МПЗ с эозинофилией

С целью поиска дифференциально диагностических критериев, которые бы позволили в отсутствие подтверждения клональности или повышенного числа бластных клеток выделить случаи ГЭС с чертами миелопролиферативного процесса и обосновать раннее начало специфической терапии, мы сравнили частоту обнаружения основных, встречающихся при ГЭС, клинических симптомов и лабораторных признаков, в группе заболеваний с реактивной эозинофилией и в группе МПЗ. Кроме того, проведен сравнительный анализ результатов гистологического исследования костного мозга в обеих группах.

3.3.1 Клиническая характеристика заболеваний с реактивной эозинофилией и МПЗ

В обеих группах оценивалась распространенность симптомов, как в целом присущих МПЗ (увеличение размеров селезенки, печени, иногда – лимфатических узлов), так и обусловленных непосредственно высокой эозинофилией (зуд и высыпания на коже, поражение сердца, нервной системы, органов дыхания и ЖКТ, а также, тромботические осложнения). Кроме того, оценивалась частота возникновения симптомокомплекса, определяемого как опухолевая интоксикация: снижение массы тела, лихорадка, слабость, утомляемость.

В таблице 6 представлена частота выявляемости различных клинических симптомов в группе заболеваний с реактивной эозинофилией и в группе с МПЗ.

Таблица 6. Сравнительный анализ различных клинических симптомов в группе заболеваний с реактивной эозинофилией и в группе МПЗ.

Клинические симптомы	МПЗ (n=57)	РЭ (n=60)	P
Спленомегалия	83% (47)	20% (12)	<0,001
Гепатомегалия	75% (43)	37% (22)	<0,001
Симптомы интоксикации	77% (44)	72% (43)	0,7
Увеличение лимфатических узлов	35% (20)	47% (28)	0,18
Поражение кожи/слизистых оболочек	18% (10)	25% (15)	0,35
Зуд	35% (20)	25% (15)	0,23
Симптомы поражения нервной системы	7% (4)	13% (8)	0,28
Фибропластический эндокардит	16% (9)	0	<0,001
Симптомы поражения органов дыхания	33% (19)	38% (23)	0,57
Симптомы поражения органов ЖКТ	7% (4)	15% (9)	0,17
Тромбозы	7% (4)	5% (3)	0,64

Основным различием в клинических проявлениях МПЗ и РЭ явилось наблюдавшееся в 16% случаев МПЗ (все больные с диагнозом МПЗ, *PDGFRA*-позитивное) специфическое поражение сердца (фибропластический эндокардит), чего не отмечено ни в одном случае реактивной эозинофилии. Также, почти во всех случаях МПЗ, в отличие от заболеваний с реактивной эозинофилией, отмечались спленомегалия и гепатомегалия (83% против 20%, P <0,001, и 75% против 37%, P <0,001, соответственно).

При РЭ спленомегалия наблюдалась, главным образом, у больных с ЛПЗ – 6 случаев, и, реже - при патологии печени (3 случая) и, незначительное увеличение по данным ультразвукового исследования - при паразитозах (3 случая). Гепатомегалия при заболеваниях с реактивной эозинофилией наблюдалась также, в основном, при ЛПЗ (7 случаев), при патологии печени (6 случаев), и при паразитозах. Еще в 3 случаях увеличение размеров печени было выявлено при ультразвуковом

исследовани: у больной с опухолью надпочечника, у больного с острым панкреатитом и в одном из случаев синдрома Черга-Стросс.

Остальные симптомы, представленные в таблице 6, при МПЗ встречались, практически, с равной частотой или значительно реже (симптомы поражения органов ЖКТ и нервной системы), чем при РЭ.

При анализе клинической картины, характеризующей клональные МПЗ, протекающие с эозинофилией, обращает на себя внимание высокая частота встречаемости увеличения лимфатических узлов - 35% (20 из 57), что, в целом, не характерно для классических вариантов МПЗ. В 12 из 20 случаев это были пациенты с выявленной реаранжировкой гена *PDGFRA*, в одном - *PDGFRB,* еще в одном - *FGFR1*. Кроме этого, лимфаденопатия была выявлена в обоих случаях диагностированного мастоцитоза и в 4 из 11 – CEL-NOS. Биопсия лимфоузла была выполнена у 13 из 20 больных с выявленной лимфаденопатией: у 6 из 12 больных с реаранжировкой гена *PDGFRA*, у 1 из 3 – с реаранжировкой гена *PDGFRB* и у больной с реаранжировкой гена *FGFR1,* в обоих случаях мастоцитоза и в 3 из 4 случаев CEL-NOS. Реактивные изменения в лимфоузле выявлены в 4 (30,8%) случаях; изменения, характерные для миелопролиферативного процесса - в 5 (38,5%); для лимфопролиферативного – в 4 (30,8%) случаях. При гистологическом исследовании и ИГХ в трех случаях были верифицированы изменения, характерные для неходжкинской лимфомы (2 *PDGFRA+*, 1 CEL-NOS, диагностированный на основании выявления хромосомной аберрации (del(13)(q22-q34)) в клетках костного мозга), в одном – для лимфомы Ходжкина (*PDGFRA+*).

3.3.2 Гематологическая характеристика заболеваний с реактивной эозинофилией и МПЗ

В обеих группах оценивались отклонения от нормальных значений основных показателей клинического анализа крови: снижение уровня гемоглобина и тромбоцитов, миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле (таблица 7).

Таблица 7. Сравнительный анализ лабораторных изменений у больных МПЗ и РЭ.

Лабораторный признак		МПЗ (n=57)	РЭ (n=60)	p
Гемоглобин	Me	114	130	0,0005
Тромбоциты, *10^9	Me	184	227	0,0001
Эозинофилы, *10^9	Me	14,4	8,55	0,006
Эозинофилы,%	Me	55	56,5	0,71
Лейкоциты, *10^9	Me	33,2	16,75	0,0001
Миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле	%	63% (36)	7% (4)	0,001

Для большинства случаев МПЗ с эозинофилией (63%), как и в целом для МПЗ, был характерен миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле, тогда как при РЭ этот признак наблюдался лишь в 7% случаях: 2 с Т-клеточными ЛПЗ, при хроническом аутоиммунном гепатите и у больного с метастазами в костный мозг при раке неустановленной первичной локализации. Уровень гемоглобина и тромбоцитов был достоверно ниже, а абсолютное число эозинофилов и лейкоцитов выше в группе больных МПЗ. При этом не было выявлено достоверных различий в уровне относительной эозинофилии, что говорит о низкой информативности данного показателя при проведении дифференциальной диагностики при ГЭС. Анемия и тромбоцитопения наблюдались при МПЗ почти в половине случаев, по сравнению с данными в группе РЭ. В группе РЭ наиболее выраженные анемия и тромбоцитопения (менее 100 г/л и менее 100 х 10^9/л соответственно) наблюдались в обоих случаях злокачественных опухолей (в одном из них, как уже отмечено, имело место опухолевое поражение костного мозга) и у больного с острым панкреатитом с последующим восстановлением этих показателей после разрешения приступа.

3.3.3 Изменения в костном мозге, выявленные при гистологическом исследовании трепанобиоптатов, при заболеваниях с реактивной эозинофилией и МПЗ

Трепанобиопсия была выполнена в 51 случае МПЗ: *PDGFRA*-позитивное – 36 из 40, *PDGFRB*-позитивное – 2 из 3, CEL-NOS – 10 из 11, в случае *FGFR1*-позитивного МПЗ и в обоих случаях системного мастоцитоза. В группе РЭ оценка трепанобиоптатов произведена при следующих заболеваниях: ЛПЗ – 14 из 14, аутоиммунные заболевания – 10 из 14, патология органов ЖКТ – 8 из 12, паразитозы – 7 из 12, аллергия – 3 из 3, не гематологические опухоли 1 из 3, при болезни Кимуры и кожной форме мастоцитоза. Изменения трактовались в соответствии с критериями, представленными на рисунках 1 и 2 (Глава II). Данные гистологического исследования трепанобиоптатов представлены в таблице 8.

Таблица 8. Основные варианты изменений в костном мозге, выявленные в группе РЭ и в группе МПЗ.

Изменения в трепанобиоптате	МПЗ (n=51)	РЭ (n=45)	p
Соответствуют таковым при миелопролиферации	78% (40)	7% (3)	0,001
Признаков миелопролиферации нет	10% (5)	78% (35)	0,001
Изменения не однозначны; для исключения миелопролиферации требуется повторное исследование	12% (6)	16% (7)	0,65

Как можно было ожидать, в большинстве случаев МПЗ (78%) изменения в костном мозге являлись отражением миелопролиферативного процесса, и были аналогичны изображенным на рисунке 2 (Глава II), тогда как при РЭ в таком же проценте случаев гистологическая картина соответствовала представлениям о реактивном костном мозге (рисунок 1; Глава II).

В небольшом проценте случаев выявленные в обеих группах изменения в костном мозге не позволяли однозначно высказаться как в пользу наличия МПЗ, так и полностью исключить его, возможно, начальные проявления.

В группе МПЗ все неоднозначные для трактовки изменения в трепанобиоптатах были выявлены при *PDGFRA*-позитивном заболевании, и, главным образом, были связаны с обнаружением значительного количества лимфоидных клеток вплоть до крупных скоплений, что требовало в 3 случаях проведения дополнительных исследований - ИГХ с целью исключения опухолевой лимфоидной пролиферации в костном мозге. В одном из этих 3 случаев и после ИГХ не удалось полностью исключить версию поражения костного мозга при Т-клеточном ЛПЗ. Картина в трепанобиоптате данного больного (Б.А.В.) представлена на рисунке 3 (А, Б, В) (окраска гематоксилином и эозином).

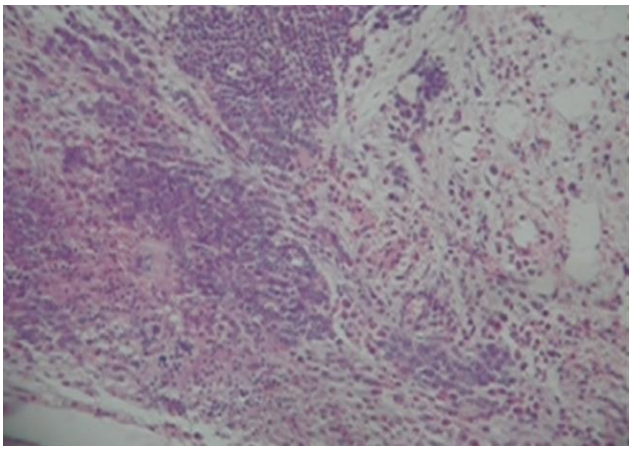

Рисунок 3А Костный мозг больного Б.А.В. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение х 200.

3А – обзорный снимок: липоциты единичные; строма диффузно фиброзирована; выявляются множественные, в том числе массивные, скопления эритрокариоцитов с наличием молодых и мегалоидных форм; в целом эритропоэз сужен; гранулоцитопоэз немного расширен, представлен промежуточными и зрелыми формами примерно в равном соотношении, резко преобладают эозинофильные формы; число мегакариоцитов в целом снижено, они распределены очень неравномерно, лежат поодиночке, единичными группами; только

патологические формы; обращают на себя внимание обширные скопления бластов и многочисленные разрастания мелких и средних лимфоидных клеток, не имеющие четких границ; плазмоциты, лимфоциты и бласты в небольшом количестве рассеяны и среди гранулоцитов;

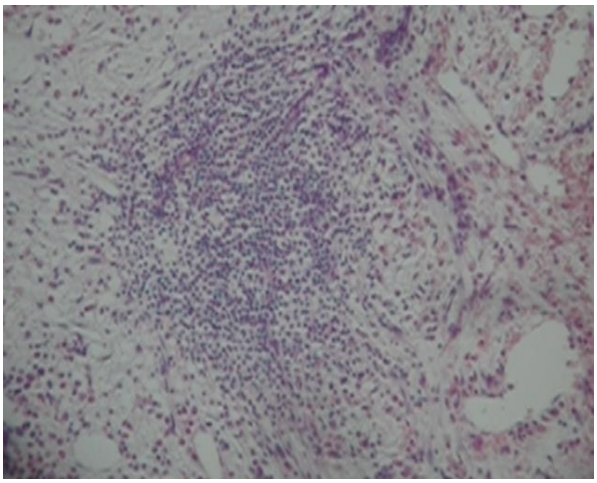

Рисунок 3Б Костный мозг больного Б.А.В. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение х 200.

3Б – участок костного мозга с большим скоплением лимфоидных клеток, имеющим нечеткие контуры;

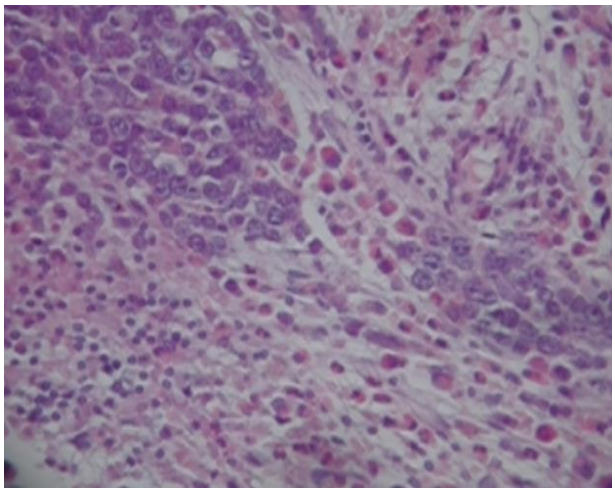

Рисунок 3В Костный мозг больного Б.А.В. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение х 400.

3В – участок костного мозга, в котором преобладают незрелые клетки миелоидного ряда.

Еще в 5 случаях *PDGFRA*-позитивного МПЗ картина в трепанобиоптатах вообще не ассоциировалась с миелопролиферативным процессом: в 4 случаях имели место незначительные изменения, соответствующие реактивному состоянию (представленны на рисунке 1 в Главе II), в пятом случае был выявлен массивный грубоволокнистый фиброз стромы и явления васкулита, а в сохраненной кроветворной ткани не наблюдалось выраженных нарушений в соотношении ростков.

В целом, в 31% (11 из 36) случаев *PDGFRA*-позитивного МПЗ гистологическое исследование костного мозга не дало убедительных оснований для установления диагноза миелопролиферативного заболевания. Как известно, стандартное цитогенетическое исследование при выявленном у всех наших больных варианте вовлечения гена *PDGFRA* (в составе слитного гена *FIP1L1-PDGFRA* как следствие интерстициальной делеции хромосомы *4(q12)*) не информативно. Единственным методом, позволившим доказать наличие клонального миелопролиферативного процесса при данной форме МПЗ, был молекулярно-генетический (в абсолютном большинстве случаев - RT-PCR).

Среди 7 случаев РЭ с выявленными в трепанобиоптатах изменениями, подозрительными на возможную миелопролиферацию, были следующие нозологии: паразитоз (описторхоз) - 3, синдром Черга-Стросс - 2, острый панкреатит и болезнь Кимуры. Этиопатогенетическое (противопаразитарное, иммуносупрессивное при синдроме Черга-Стросс и болезни Кимуры) лечение привело к выздоровлению (описторхоз)/подавлению иммунных реакций и ремиссии (синдром Черга-Стросс, болезнь Кимуры); разрешение панкреатита также сопровождалось стойкой нормализацией показателей крови, в частности, числа эозинофилов, что позволило не повторять гистологическое исследование костного мозга у этих больных.

И, наконец, в небольшом числе случаев РЭ – 7% (3 из 45) картина в костном мозге была аналогична таковой при миелопролиферации (рисунок 2 в Главе II): 2 случая лимфомы Ходжкина и случай острого В-лимфобластного лейкоза, на первых

этапах (до появления бластоза в костном мозге) протекавшего как гиперэозинофильный синдром.

Таким образом, в некоторых случаях как с клональной эозинофилией (по нашим данным – *PDGFRA*-позитивное МПЗ), так и с реактивной ее природой, изменения в костном мозге могут не отражать (или отражать не в полной мере) суть патологического процесса. В целом, в обследованной нами группе больных, частота таких случаев при *PDGFRA*+ МПЗ составила 31%, при РЭ – 22%, в связи с чем, представляется важным при персистирующей эозинофилии проводить комплексную диагностику с индивидуальным подходом к оценке результатов исследований. Приоритетными методами исследования для установления диагноза МПЗ на современном этапе следует считать молекулярно-генетические методы.

3.3.4 Особенности колониеобразования при заболеваниях с реактивной эозинофилией и МПЗ

В качестве критериев нормального и неопластического роста мы использовали результаты совместной с МРНЦ работы [10], полученные при обследовании здоровых лиц и у больных Ph'-позитивным ХМЛ. Верхняя граница нормы выхода колоний из КОЕ-ГМ и из КОЕ-Ф при стимуляции составила 100,0 х 10^5 эксплантированных в культуру миелокариоцитов.

Исследуемые группы:

1 группа - пациенты без гематологической патологии – 19 (кратковременная умеренная железодефицитная анемия - 9, кратковременный нейтрофильный лейкоцитоз (до 12,0 х 10^9/л) – 8, кратковременная лейкопения (до 3,5 х 10^9/л) – 2). Все показатели самостоятельно полностью восстановились.

2 группа - миелопролиферативные заболевания:

- Ph´-позитивный ХМЛ без эозинофилии - 10 (у всех хроническая фаза);
- *PDGFRA*-позитивное МПЗ – 3 (А.В.Я., П.Л.А., Ш.Ю.А.);
- CEL-NOS - 1 (С.В.И.);

- системный мастоцитоз - 1 (Ф.О.К.).

3 группа - пациенты с реактивной эозинофилией - 12:

- паразитозы (А.А.М., Н.М.П.);

- лекарственная аллергия (М.Л.Б., К.Е.А.);

- поражение печени (Г.С.А., Б.Л.С., Ш.О.В., С.А.Н.);

- синдром Черга-Стросс (Е.Т.С.);

- ЛПЗ: Т-клеточные (Т.С.А., В.Т.М.), лимфома Ходжкина (Б.П.Н.).

В таблице 9 представлены показатели роста гемопоэтических и стромальных клеток-предшественников в культурах кроветворных клеток у доноров, больных с Ph´-позитивным ХМЛ, с *PDGFRA*-позитивным МПЗ и у лиц с реактивной эозинофилией различного генеза.

Таблица 9. Показатели роста гемопоэтических и стромальных клеток-предшественников в культурах кроветворных клеток.

Код пациента	Спонтанный выход колоний (КОЕ-ГМ - 10^5)	Выход колоний (КОЕ-ГМ) в стимулированных культурах костного мозга (10^5)/крови (10^6)	Выход колоний фибробластов (КОЕ-Ф - 10^6)
1 группа – доноры	нет роста	52,4±3,5/12,0±1.2	49,0±3,5
2 группа – МПЗ			
Пациенты с ХМЛ, Ph´+	220,7±46,0 (40,0 – 500,0)	175,5±6,6/121,6±23,9 (133,8 – 200,0)/ (4,7±243,7)	95,0±10,1 (49,0 - 150,0)
А.В.Я. - I исследование (14.08.2002)	1100,0	94,0±10,5/18,7±2,5	120,0
- II исследование (16.06.2003)	1000,0	1000,0/60,3±9,7	сплошной рост
П.Л.А.	сплошной рост	400,0±17,0/477,0±21.0	сплошной рост
Ш.Ю.А.	в среднем, 50,0	83,7±1,7/26,7±1,3	36,0±2,1

Продолжение таблицы 9.

Код пациента	Спонтанный выход колоний (КОЕ-ГМ - 10^5)	Выход колоний (КОЕ-ГМ) в стимулированных культурах костного мозга (10^5)/крови (10^6)	Выход колоний фибробластов (КОЕ-Ф - 10^6)
2 группа – МПЗ (продолжение)			
С.В.И.	сплошной рост	307,0±25,0/не ссследован	сплошной рост
Ф.О.К.	33,0±1,7	87,7±3,4/19,0±3,4	36,0±2,1
3 группа – реактивные эозинофилии			
Гельминтозы			
А.А.М.	60,0±2,2	30,7±1,7/8,3±1,3	нет роста
Н.М.П.	83,3±4,2	51,3±3,8/14,3±2,1	нет роста
Аллергия			
М.Л.Б.	108,5±18,0	97,7±2,1/5.3±0,8	104,0±2,9
К.Е.А.	нет роста	12,0±1,3/18,0±2,5	нет роста
Поражение печени			
Г.С.А.	42,5±3,4	не исследован	46,3±5,0
Б.Л.С.	300,2±9,1	226,0±18,9/нет роста	60,3±5,5
Ш.О.В.	119,3±3,4	68,3±1,3/6,7±0,8	61,0±2,5
С.А.Н.			
- I исследование (05.02.2001)	в среднем, 560,0	68,7±3,4/33,3±3,1	105,1±7,1
- II исследование (03.12.2001)	20,0	50,0±0,8/5,3±0,3	46,3±2,5
Синдром Черга-Стросс			
Е.Т.С.	нет роста	27,0±2,9/2,3±0,4	47,3±8,4
Лимфопролиферации			
Т.Г.С.	в среднем, 200,0	57,0±5,5/29,3±3,4	60,0±3,2
В.Т.М.	70,0±3,8	122,7±2,1/70,3±2.1	46,0±2,9
Б.П.Н.	в среднем, 550,0	112,7±3,4/12,3±2.4	92,2±5,6

Ни в одном случае в группе здоровых доноров, как и в абсолютном большинстве случаев из группы реактивных эозинофилий, в отличие от МПЗ не было отмечено выхода спонтанных колоний.

В группе Ph´+ ХМЛ, несмотря на то, что у всех больных на момент исследования была сходная клинико-гематологическая картина, соответствовавшая хронической фазе, разброс значений спонтанного колониеобразования оказался достаточно большим (минимальный выход составил 40,0 х 10^5 эксплантированных в культуру миелокариоцитов, максимальный – 500,0 х 10^5). Выход колоний в стимулированных культурах костного мозга был значительно выше нормы, тогда как минимальный выход колоний фибробластов был аналогичен таковому у лиц без гематологической патологии.

Наиболее выраженное спонтанное колониеобразование вплоть до сплошного роста отмечено в 2 случаях *PDGFRA*+ МПЗ (А.В.Я., П.Л.А.) и у больного с CEL-NOS (С.В.И.). Кроме того, у больных П.Л.А. и С.В.И. был значительно повышен выход стимулированных колоний из КОЕ-ГМ, и наблюдался сплошной рост колоний фибробластов, тогда как у больного А.В.Я. при первом исследовании эти показатели были на верхней границе нормы для колониеобразования из КОЕ-ГМ и незначительно превышали ее – по выходу колоний из КОЕ-Ф. Однако уже через 1 год, при сохранении спонтанного колониеобразования на прежнем уровне, выход колоний из КОЕ-ГМ в стимулированных культурах и из КОЕ-Ф резко возрос, чему соответствовали клинико-лабораторные признаки прогрессирования заболевания: нарастание эозинофильного лейкоцитоза, развитие анемии и тромбоцитопении, рост размеров селезенки.

Напротив, у третьего больного с *PDGFRA*+ МПЗ (Ш.Ю.А.) и у больной с системным мастоцитозом (Ф.О.К.) (при первом исследовании) показатели колониеобразования были существенно ниже, чем в ряде случаев РЭ, в частности, ЛПЗ, и не соответствовали выраженности пролиферативных изменений в костном мозге. Следует отметить, что у больного Ш.Ю.А. наблюдался необычно продолжительный для МПЗ срок заболевания (10 лет) без признаков

прогрессирования при отсутствии терапии, отражением чего может являться низкая интенсивность роста колоний из клеток-предшественников миелопоэза.

Во всех случаях РЭ, кроме двух (в одном из которых пунктат костного мозга был крайне скудным) был получен рост спонтанных колоний, интенсивность которого превышала минимальные значения при ХМЛ, тогда как выход КОЕ-ГМ при стимуляции и КОЕ-Ф у большинства больных был в пределах нормы или снижен. У больного С.А.Н. (хронический гепатит В) снижение интенсивности колониеобразования было достигнуто на фоне терапии препаратами INF-α в течение 9 месяцев.

Очевидно, что спонтанный рост колоний из КОЕ-ГМ при ГЭС сам по себе не является доказательством их опухолевой природы, и особенности колониеобразования при МПЗ с эозинофилией могут не отличаться от таковых при реактивных эозинофилиях различного генеза. В то же время, интенсивное колониеобразование вплоть до сплошного роста отмечено только у больных с *PDGFRA*-позитивным МПЗ и CEL-NOS, и, вероятно, лишь такие показатели являются признаком миелопролиферативного заболевания.

3.3.5 Цитохимические характеристики эозинофилов и активность щелочной фосфатазы нейтрофилов при заболеваниях с реактивной эозинофилией и МПЗ

В настоящей работе мы поставили перед собой задачу сравнить особенности метаболизма зрелых (палочко- и сегментоядерных) эозинофилов периферической крови при миелопролиферативных заболеваниях с такими же параметрами эозинофилов у больных с реактивными эозинофилиями различного генеза. Непосредственной целью являлось выявление цитохимических параметров, позволяющих предполагать неопластическую природу эозинофилов.

В эозинофилах оценивались реакции на гликоген, КМС, липиды, МП, КФ и α-НФ. В нейтрофилах оценивалась реакция на ЩФ.

Исследование было проведено 27 пациентам:

1. Случаи с реактивной эозинофилией - 10:

- паразитарные заболевания: описторхоз - 2 (А.А.М., Б.В.П.); трихинеллез - 1 (Л.З.Г.);

- лекарственная аллергия - 1 (М.Л.Б.);

- синдром Черга-Стросс - 3 (Е.Т.С., З.В.В., Ф.И.А.);

- лимфопролиферативные заболевания: лимфома Ходжкина - 2 (Б.П.Н., Г.Г.Г.); Т-клеточная лимфома - 1 (Т.Г.С.);

2. Миелопролиферативные заболевания - 17:

- ХМЛ, Ph′-позитивный, эозинофильный вариант - 2 (Ш.Ю.А., Ш.Н.А.);

- МПЗ, *PDGFRA*-позитивное – 11 (А.В.Я., К.В.М., П.Л.А., Ш.Ю.А., Т.Н.С., П.Е.Г., Б.А.В., Ш.М.В., Ф.С.Б., В.А.Д., К.В.И.);

- CEL-NOS – 3 (К.К.А., С.В.И., З.Н.Ф.);

- системный мастоцитоз – 1 (Ф.О.К.).

В таблице 10 представлены результаты цитохимического исследования эозинофилов и нейтрофилов периферической крови больных с РЭ и МПЗ.

Результаты исследования МП, КФ, гликогена и липидов у большинства больных с Ph′+ ХМЛ и *PDGFRA*+ МПЗ не отличались от нормальных значений, процент позитивных клеток был незначительно снижен (не более, чем на 10%). Сходные данные отмечены и у больных с РЭ, за исключением 2 случаев описторхоза (А.А.М., Б.В.П.), где процент КФ-позитивных клеток был резко снижен: 8% и 12%. У пациента А.А.М., кроме того, было почти на половину снижено число гликоген-позитивных эозинофилов.

В 2 случаях CEL-NOS и при СМ отмечались более существенные патологические сдвиги в отношении числа эозинофилов с нормальными цитохимическими параметрами, преимущественно, в содержании липидов, гликогена и КФ по сравнению с Ph′+ ХМЛ, *PDGFRA*+ МПЗ и РЭ.

Результаты исследования МП, КФ, гликогена и липидов у большинства больных с Ph′+ ХМЛ и *PDGFRA*+ МПЗ не отличались от нормальных значений,

процент позитивных клеток был незначительно снижен (не более, чем на 10%). Сходные данные отмечены и у больных с РЭ, за исключением 2 случаев

Таблица 10. Результаты цитохимических исследований эозинофилов и активность щелочной фосфатазы нейтрофилов периферической крови при эозинофилиях различного генеза.

Код пациента	МП	Липиды	Гликоген	КФ	α-НФ	КМС	ЩФ
Норма	100%	100%	100%	100%	0%	до 5%	8-80 ед.
Заболевания с реактивной эозинофилией							
А.А.М.	100	96	54	12	8	0	28
Б.В.П.	100	100	100	10	12	1	24
Л.З.Г.	100	100	100	100	-	3	16
М.Л.Б.	100	100	100	-	-	3	120
Е.Т.С.	84	-	100	-	90	3	120
З.В.В.	10	100	100	-	0	1	21
Ф.И.А.	100	100	100	100	-	5	110
Б.П.Н.	100	90	100	100	100	9	110
Г.Г.Г.	96	100	100	100	46	4	156
Т.Г.С.	-	-	-	-	-	16	22
ХМЛ							
Ш.А.Ю.	92	100	100	100	96	20	6
Ш.Н.А.	100	100	100	100	-	18	2
PDGFRA+ МПЗ							
А.В.Я.	90	100	100	100	28	18	10
Т.Н.С.	100	100	100	-	68	-	28
П.Л.А.	100	100	100	100	-	-	4
Ш.Ю.А.	100	100	94	96	-	-	3
К.В.М.	100	-	-	-	40	32	7
П.Е.Г.	-	-	-	-	43	13	60

Продолжение таблицы 10.

Код пациента	МП	Липиды	Гликоген	КФ	α-НФ	КМС	ЩФ
Норма	100%	100%	100%	100%	0%	до 5%	8-80 ед.
Б.А.В.	-	-	-	-	-	28	4
Ш.М.В.	-	-	-	-	-	-	3
Ф.С.Б.	-	-	-	-	-	-	5
К.В.И.	-	-	-	-	-	-	6
В.А.Д.	-	-	-	-	-	-	124
CEL-NOS							
К.К.А.	-	-	-	-	-	-	56
С.В.И.	100	29	16	36	0	0	60
З.Н.Ф.	86	100	22	78	-	12	22
Системный мастоцитоз							
Ф.О.К.	100	40	20	-	-	12	30

«-» - исследование не проводилось, % - процент положительных клеток.

описторхоза (А.А.М., Б.В.П.), где процент КФ-позитивных клеток был резко снижен: 8% и 12%. У пациента А.А.М., кроме того, было почти на половину снижено число гликоген-позитивных эозинофилов.

В 2 случаях CEL-NOS и при СМ отмечались более существенные патологические сдвиги в отношении числа эозинофилов с нормальными цитохимическими параметрами, преимущественно, в содержании липидов, гликогена и КФ по сравнению с Ph′+ ХМЛ, *PDGFRA*+ МПЗ и РЭ**.**

Что касается эозинофилов, содержащих не свойственные им в норме субстраты (α-НФ и КМС), то клетки, позитивные по α-НФ присутствовали во всех случаях РЭ и МПЗ, за исключением 1 случая CEL-NOS (С.В.И.), тогда как число КМС-позитивных клеток, превышавшее допустимые 5%, отмечено только при МПЗ (кроме больного С.В.И.) и у 2 из 3 больных с ЛПЗ. В других случаях РЭ число КМС-позитивных клеток было в пределах нормы.

Наиболее достоверная разница между группой МПЗ и РЭ выявлена при оценке активности ЩФ в нейтрофилах. Ни в одном случае РЭ она не была ниже нормального значения, а в половине случаев даже превышала норму, тогда как при МПЗ ее снижение отмечено в 53% случаев (9 из17), а повышена она была только в одном случае *PDGFRA*+ МПЗ. Таким образом, присутствие нейтрофилов с нормальной или повышенной активностью ЩФ не исключает наличие МПЗ, тогда как снижение ее активности менее 8 усл. ед. может рассматриваться в качестве критерия миелопролиферативного заболевания.

3.4 Гиперэозинофильный синдром с неустановленным генезом: результаты диагностики

У 71 пациента (мужчин - 48, женщины - 23) причина ГЭС установлена не была.

При гистолгогическом исследовании трепанобиоптатов костного мозга в 31% случаев (22 из 71; мужчин - 16, женщин - 6) в костном мозге были обнаружены изменения, характерные для миелопролиферации (представлены на рисунке 2, Глава II). Данные случаи ГЭС были выделены в подгруппу с МП-ГЭС.

В 69% случаев (49 из 71; мужчин - 31, женщин - 18) признаков миелопролиферативного процесса в костном мозге выявлено не было: в большинстве случаев (82%; 40 из 49) картина была аналогичной таковой на рисунке 1 (Глава II), расцениваемой как реактивная, либо (18%; 9 из 49) - не поддавалась однозначной трактовке, но убедительных признаков миелопролиферации не отмечалось. Эти случаи составили подгруппу ГЭС без признаков миелопролиферации в костном мозге (не-МП-ГЭС).

Поскольку молекулярно-генетические методы исследования для исключения аномалий генов *PDGFRA* и *PDGFRB* стали доступны лишь с 2003 года (для гена *FGFR1* – с 2014 года), они были выполнены не всем больным, включенным в работу. В таблице 11 представлены данные, отражающие объем проведенного

гематологического обследования в случаях гиперэозинофильного синдрома, генез которого остался неустановленным.

Таблица 11. Цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследования, выполнявшиеся больным с ГЭС неустановленного генеза.

Подгруппы ГЭС	МГИ и СЦИ	Только МГИ	Только СЦИ	Клональность не исследована
МП-ГЭС (n=22)	36% (8)	14% (3)	46% (10)	5% (1)
не-МП-ГЭС (n=49)	30.6% (15)	24.5% (12)	22.5% (11)	22.5% (11)

МГИ - молекулярно-генетические методы исследования

Как видно из таблицы, комплексное гематологическое обследование в полном объеме выполнено в 36% (8 из 22) случаев в подгруппе МП-ГЭС. Еще в 14% (3 из 22) случаев из данной подгруппы отсутствуют сведения о кариотипе, но были исключены аномалии генов, являющихся ключевыми при МПЗ с эозинофилией – *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1*. Таким образом, в 50% (11 из 22) случаев МП-ГЭС при комплексном обследовании доказать клональность не удалось, и диагноз «гиперэозинофильный синдром» на момент подведения итогов настоящей работы был принят как окончательный.

В оставшихся 50% (11 из 22) случаев из подгруппы МП-ГЭС, обследованных до 2003 года, сведений о вовлечении генов *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1* нет; в одном из них также не известен кариотип.

Также были исключены аномалии кариотипа при СЦИ и/или аномалии генов *PDGFRA* и *PDGFRB* при RT-PCR в 78% (38 из 49) случаев не-МП-ГЭС.

С целью выявления возможных клинических и лабораторных различий между двумя выделенными подгруппами ГЭС, мы провели сравнительный анализ клинических симптомов и показателей общеклинического анализа крови. Данные представлены в таблицах 12 и 13 соответственно.

Сравнение клинических симптомов в обеих подгруппах ГЭС показало, что при миелопролиферативном варианте достоверно чаще встречались клинические

симптомы, присущие клональным МПЗ с эозинофилией – спленомегалия и фибропластический эндокардит.

Таблица 12. Сравнительный анализ клинических симптомов в подгруппах ГЭС.

Клинические симптомы	МП-ГЭС (n=22)	не-МП-ГЭС (n=49)	P
Спленомегалия	73% (16)	24% (12)	0,0002
Гепатомегалия	59% (13)	50% (25)	0,49
Симптомы интоксикации	64% (14)	74% (36)	0,4
Увеличение лимфатических узлов	50% (11)	31% (15)	0,14
Поражение кожи/слизистых оболочек	27%(6)	29% (14)	0,86
Зуд	36% (8)	16% (8)	0,07
Симптомы поражения нервной системы	9% (2)	12% (6)	0,7
Фибропластический эндокардит	36% (8)	9,5% (5)	0,01
Симптомы поражения органов дыхания	36% (8)	33% (16)	0,8
Симптомы поражения органов ЖКТ	0%	19% (9)	0,03
Тромбозы	9% (2)	14% (7)	0,56

Таблица 13. Сравнительный анализ лабораторных изменений в подгруппах ГЭС.

Лабораторный признак		МП-ГЭС (n=22)	не-МП-ГЭС (n=49)	P
Гемоглобин	Me	110	130	0,03
Тромбоциты, $*10^9$	Me	175	232	0,001
Эозинофилы, $*10^9$	Me	20,1	8,95	0,003
Эозинофилы,%	Me	57	52,5	0,27
Лейкоциты, $*10^9$	Me	45	18,35	0,0004
Миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле	%	64% (14)	10% (5)	0,0001

Получена достоверная разница и по основным лабораторным показателям, аналогичная таковой при сравнении групп МПЗ и РЭ. Так, в подгруппе МП-ГЭС медианы уровней лейкоцитов и эозинофилов были значительно выше, а гемоглобина и тромбоцитов – ниже, чем аналогичные показатели в подгруппе ГЭС без признаков миелопролиферации в костном мозге. Также, в подгруппе МП-ГЭС почти в 3 раза чаще встречался миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле.

Далее, мы провели сравнительный анализ клинических симптомов и показателей общеклинического анализа крови в подгруппе ГЭС с миелопролиферативным вариантом и в группе клональных МПЗ. Данные представлены в таблицах 14 и 15 соответственно.

Таблица 14. Сравнительный анализ клинических симптомов в подгруппе миелопролиферативного варианта ГЭС и в группе клональных МПЗ.

Клинические симптомы	МП-ГЭС (n=22)	МПЗ (n=57)	P
Спленомегалия	73% (16)	83% (47)	0,3
Гепатомегалия	59% (13)	75% (43)	0,16
Симптомы интоксикации	64% (14)	77% (44)	0,24
Увеличение лимфатических узлов	50% (11)	35% (20)	0,22
Поражение кожи/слизистых оболочек	27%(6)	18% (10)	0,37
Зуд	36% (8)	35% (20)	0,93
Симптомы поражения нервной системы	9% (2)	7% (4)	0,76
Фибропластический эндокардит	36% (8)	16% (9)	0,06
Симптомы поражения органов дыхания	36% (8)	33% (19)	0,8
Симптомы поражения органов ЖКТ	0%	7% (4)	0,2
Тромбозы	9% (2)	7% (4)	0,76

Таблица 15. Сравнительный анализ лабораторных изменений в подгруппе миелопролиферативного варианта ГЭС и в группе клональных МПЗ.

Лабораторный признак		МП-ГЭС (n=22)	МПЗ (n=57)	P
Гемоглобин	Me	110	114	0,71
Тромбоциты, $*10^9$	Me	175	184	0,78
Эозинофилы, $*10^9$	Me	20,1	14,4	0,22
Эозинофилы,%	Me	57	55	0,35
Лейкоциты, $*10^9$	Me	45	33,2	0,7
Миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле	%	64% (14)	63% (36)	0,93

Сравнение клинических симптомов и показателей общеклинического анализа крови в группе миелопролиферативного варианта ГЭС и в группе клональных МПЗ с эозинофилией не выявило достоверных различий, что может свидетельствовать о тождестве данных процессов. При этом, в части случаев ГЭС, наблюдавшихся до 2003 года, провести молекулярные исследования для подтверждения клонального МПЗ уже не представляется возможным, тогда как в других клональная природа гиперэозинофильного синдрома пока остается нерасшифрованной.

Так, в частности, мы не проводили молекулярно-генетических исследований, направленных на диагностику *PCM1-JAK2*–позитивного новообразования, так как сведения о роли данного химерного онкогена появились, когда анализ результатов, представленных в настоящей работе, был завершен.

3.5 Клинико-лабораторные и гистологические критерии миелопролиферации

Проведенное сравнение показало, что в абсолютном большинстве наблюдавшихся нами случаев клональных миелопролиферативных заболеваний с

эозинофилией, в отличие от заболеваний с реактивной эозинофилией, отмечались следующие клинические симптомы и лабораторные признаки:

- увеличение размеров селезенки и печени;
- миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле;
- низкая активность щелочной фосфатазы нейтрофилов периферической крови;
- миелоидная, преимущественно за счет клеток эозинофильного ряда, гиперплазия в костном мозге, отражением выраженности которой является редукция других ростков миелопоэза (эритроидного и мегакариоцитарного) с анемией и тромбоцитопенией в периферической крови;
- сплошной рост гранулоцитарно-макрофагальных колоний без добавления в культуру КСФ, а также, колоний из КОЕ-Ф в костном мозге.

Также необходимо отметить высокий риск развития эозинофильного фибропластического эндокардита и преобладание среди больных мужчин среднего возраста.

Совокупность указанных изменений, прежде всего, наличие признаков миелопролиферации в костном мозге, при гиперэозинофильном синдроме дает основания рассматривать его как миелопролиферативный процесс.

Дифференциальную диагностику при необходимости следует проводить, главным образом, с лимфопролиферативными заболеваниями, при которых также может обнаруживаться выраженная экспансия миелоидного ростка в костном мозге, органомегалия, тромбоцитопения, анемия и, реже, миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле, повышенное число эозинофилов, содержащих КМС. Отличительными дифференциальными признаками в подобных случаях могут служить характер роста спонтанных колоний из КОЕ-ГМ и КОЕ-Ф в костном мозге, а также, активность ЩФ нейтрофилов периферической крови: при ЛПЗ колониеобразование значительно менее интенсивное, чем при МПЗ, и не наблюдается снижение активности ЩФ нейтрофилов.

С другой стороны, отсутствие специфических для миелопролиферации изменений в костном мозге не исключает наличия МПЗ в некоторых случаях. Прежде всего, это относится к *PDGFRA*-позитивной нозологической форме, для верификации которой требуются молекулярно-генетические методы, являющиеся в настоящее время приоритетными для диагностики клональных миелопролиферативных заболеваний.

3.6 Алгоритм обследования при пресистирующей эозинофилии

Основываясь на собственном многолетнем опыте наблюдения за больными с эозинофилией различного генеза, нами разработан диагностический алгоритм, представленный на рис. 4. При выявлении в течение 1 месяца в двух и более анализах периферической крови эозинофилии >0,6 х 10^9/л необходимо начать обследование для установления ее причины.

Рисунок 4. Алгоритм диагностического поиска при гиперэозинофилии.

На первом этапе следует исключить заболевания и состояния, сопровождающиеся реактивной эозинофилией. Всех пациентов необходимо проконсультировать у паразитолога и выполнить необходимые исследования (объем обследования определяется паразитологом в зависимости от эпидемиологических данных, региона проживания, характера питания и других особенностей). Также, во всех случаях показана оценка основных биохимических параметров, инструментальное исследование (УЗИ, КТ) органов грудной и брюшной полостей, забрюшинного пространства для исключения лимфоаденопатии, определения размеров селезенки и печени, и, в целом, выявления патологии внутренних органов. В зависимости от имеющихся клинических симптомов и жалоб, могут потребоваться консультации таких специалистов как ревматолог, аллерголог, инфекционист, невропатолог, пульмонолог, онколог и других. Необходимо подчеркнуть, что процесс диагностики может быть достаточно длительным и многокомпонентным, иногда требующим повторных исследований, поскольку, как показывает наблюдавшийся нами случай с доброкачественной опухолью надпочечника, эозинофилию может вызывать самая неожиданная патология. Кроме того, для исключения специфических осложнений (фибропластический эндокардит, предпосылки к гиперкоагуляции) всем пациентам целесообразно выполнить эхокардиографическое исследование и оценить основные коагулологические показатели.

Если при тщательном общеклиническом обследовании не удалось диагностировать заболевания/состояния, сопровождающиеся реактивной эозинофилией, следующим этапом является поиск доказательств опухолевой (миелопролиферативной) природы эозинофилии. Но при наличии в момент первого обращения к гематологу симптомов и признаков, присущих МПЗ (приведены в части 3.5 настоящей главы), либо при агрессивном (быстропрогрессирующем и сопровождающимся тяжелыми осложнениями) течении процесса, данный комплекс исследований должен начинаться сразу одновременно с обследованием у паразитолога.

Для верификации принятых в настоящее время нозологических форм МПЗ с эозинофилией обязательными являются следующие исследования:

1. Молекулярно-генетическое методом RT-PCR/FISH для исключения структурных нарушений генов *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1* в клетках костного мозга/периферической крови. Поскольку сочетанное вовлечение данных генов не описано и, по-видимому, не встречается, этот процесс следует выполнять последовательно, начиная с наиболее часто поражающегося гена - *PDGFRA*, и, далее - *FGFR1, PDGFRB*. Исследование определенного варианта вовлечения гена *PDGFRB* - с образованием слитного гена *ETV6-PDGFRB* методом RT-PCR, целесообразно выполнять только у мужчин, так как не описано ни одного случая *ETV6-PDGFRB*-позитивного МПЗ у женщин.

2. Стандартное цитогенетическое исследование для выявления аномалий кариотипа, что, в отсутствие реаранжировок четырех вышеуказанных генов, позволяет установить диагноз миелопролиферативного заболевания – *хронический эозинофильный лейкоз, никак иначе не определяемый* (CEL-NOS). В случае обнаружения при СЦИ хромосомных аберраций с участием хромосом *4(q12), 5(q31-35), 8(p11)* целесообразно выполнить исследование методом FISH для подтверждения вовлечения генов *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1* соответственно, что позволит уточнить нозологическую форму МПЗ.

3. Аспирация костного мозга с подсчетом миелограммы. Основная цель – определение количества бластов для дифференцирования CEL-NOS (>5%) и ГЭС (<5%).

В рамках диагностики нозологических форм МПЗ с эозинофилией, представленных в Классификации ВОЗ 2008 [144], исследование трепанобиоптата требовались только для установления диагноза СМ (главный критерий – множественные скопления тучных клеток), тогда как остальные формы МПЗ с эозинофилией (*PDGFRA*+, *PDGFRB*+, *FGFR1*+, CEL-NOS), а также, ГЭС, не включали гистологические критерии. В Классификации ВОЗ 2016 года [24] этот подход также сохранился - как для вышеперечисленных нозологий, так и для

предложенной новой формы миелоидного/лимфоидного новообразования - *PCM1-JAK2*-позитивного.

В то же время, в нашей работе показано, что ГЭС гетерогенен, в части случаев являясь миелопролиферативным процессом, доказать который молекулярными и цитогенетическими методами пока не представляется возможным. Подобное заключение о природе ГЭС позволяет сделать, главным образом, гистологическое исследование костного мозга, результат которого следует соотнести с клиническими симптомами и изменениями лабораторных показателей.

Поэтому, завершающим этапом обследования является выделение симптомокомплекса, определяющего миелопролиферативный вариант ГЭС.

Особенности дифференциальной диагностики клональных МПЗ с эозинофилией и лимфоаденопатией и ЛПЗ, протекающих с эозинофилией.

Данные литературы [41, 109] и наши наблюдения за больными с выявленными реаранжировками генов *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1* показали, что болезнь с такими генетическими аномалиями может манифестировать и как ЛПЗ. Подобная картина наблюдалась у 3 наших пациентов с реаранжировкой гена *PDGFRA* и у 1 с CEL-NOS с *del(13)(q22-q34)*, что дало основания первоначально рассматривать эозинофилию у этих пациентов как реактивную. Однако проведение ХТ, принятой для лечения лимфоидных опухолей, привело к нормализации размеров лимфатических узлов, но персистировала эозинофилия, что не соответствовало понятию ремиссии ЛПЗ. Данный факт заставил продолжить обследование, результатом которого явилась верификация клональных новообразований: с мутацией гена *PDGFRA* и *del(13)(q22-q34)*. Дальнейшее назначение иматиниба позволило получить как гематологическую ремиссию, так и молекулярный ответ во всех 3 *PDGFRA*-позитивных случаях.

Поэтому, у пациентов с эозинофилией и увеличением лимфатических узлов требуется комплексная диагностика, направленная на выявление патологического клона (*PDGFRA+, PDGFRB+, FGFR1+*) как в миелоидной (костный мозг), так и лимфоидной ткани. Особенно важно точное понимание характера процесса при

заболеваниях, где возможно получить глубокий и полный ответ при назначении иматиниба (*PDGFRA*- и *PDGFRB*-позитивные).

3.7 Лечение МПЗ с эозинофилией и миелопролиферативного варианта гиперэозинофильного синдрома

Лечение проводилось 73 больным (мужчин - 63, женщин - 10), в число которых вошли клональные МПЗ (*PDGFRA*+ (n=39), *PDGFRB*+ (n=2), *FGFR1*+ (n=1)), CEL-NOS (n=8), СМ (n=1) и МП-ГЭС (n=22).

Критерии полного гематологического ответа (ПГО):

- число эозинофилов <600 х 10^9/л в периферической крови и <10% в миелограмме;
- тромбоциты >150 х 10^9/л, Нв >110 г/л, отсутствие незрелых гранулоцитов в лейкоцитарной формуле;
- нормализация размеров селезенки и печени;
- исчезновение клинических симптомов, связанных с заболеванием.

В группе *PDGFRA*- и *PDGFRB*-позитивных МПЗ также оценивалась частота достижения МО при приеме иматинибом, который определялся как отсутствие экспрессии генов *FIP1L1-PDGFRA* и *ETV6-PDGFRB* при исследовании методом RT-PCR.

Для сравнения кумулятивной частоты достижения ПГО при терапии иматинибом у больных, позитивных и негативных по специфичным для препарата мутациям (*PDGFRA* и *PDGFRB*), и сравнительного анализа десятилетней выживаемости при применении иматиниба и других вариантов консервативной терапии, были сформированы 2 группы:

Группа А, в которую вошли больные, получавшие иматиниб (n=61):

А1 - клональные МПЗ: *FIP1L1-PDGFRA*-позитивное МПЗ (n=39); *ETV6-PDGFRB*-позитивное МПЗ (n=2);

А2 - экспрессия генов *FIP1L1-PDGFRA* и *ETV6-PDGFRB* не обнаружена: CEL-NOS (n=5), МП-ГЭС (n=15).

У больных с *PDGFRA*-позитивным МПЗ доза иматиниба составила 100 мг/сут.; у больных с *PDGFRB*-позитивным МПЗ и в подгруппе А2 - от 100 до 400 мг/сут.

Группа Б (n=12). В данную группу вошли больные, получавшие различные варианты консервативной терапии (ГКС, препараты INF-α, ХТ, включая ГОМ, азацитидин), но не получавшие иматиниб: *FGFR1*-позитивное МПЗ (n=1), системный мастоцитоз (n=1), CEL-NOS (n=3), МП-ГЭС (n=7).

Медиана наблюдения за больными, получавшими лечение, составила 2.5 года (1.5 месяца - 12 лет).

3.7.1 Результаты терапии

1) **Подгруппа А1**:

ПГО был получен в 90% (37 из 41) случаев: у 36 больных с *FIP1L1-PDGFRA*-позитивным МПЗ и у 1 больного с *ETV6-PDGFRB*-позитивным МПЗ. Срок достижения ПГО составил от 1 до 3 месяцев.

Контрольное молекулярное исследование было выполнено 34 больным: 33 с *FIP1L1-PDGFRA*+ и больному с *ETV6-PDGFRB*+. МО достигнут в 88% (29 случаев *FIP1L1-PDGFRA*+ МПЗ и *ETV6-PDGFRB*+ МПЗ) случаев. Сроки первого молекулярно-генетического контроля от момента начала приема иматиниба варьировали от 3 до 31 месяца. Медиана времени достижения МО составила 7 месяцев.

У небольшого числа больных наблюдалась первичная резистентность к иматинибу:

- гематологическая: 3 случая *FIP1L1-PDGFRA*+ МПЗ и 1 случай *ETV6-PDGFRB*+ МПЗ;

- молекулярная, определяемая как длительное персистирование патологического клона при неоднократных молекулярных исследованиях: 2 случая *FIP1L1-PDGFRA+*; при этом, у 1 больного сохранялся ПГО.

Потеря МО была зафиксирована у 9 пациентов (все *PDGFRA+*): у 6 - в связи с прекращением приема иматиниба или снижением дозы <100 мг/сут.; у 3 больных, регулярно принимавших иматиниб в дозе 100 мг/сут., наблюдалась потеря молекулярного ответа при сохранении ПГО. Увеличение дозы препарата до 400 мг/сут. у 2 больных привело к восстановлению МО; в одном случае доза не была увеличена в связи с гематологической токсичностью.

2) **Подгруппа А2**:

ПГО получен в значительно меньшем числе случаев - 25% (5 из 20) в срок от 1 до 3 месяцев: у 1 больного с CEL-NOS, у 4 больных с МП-ГЭС.

Рисунок 5 отражает достоверное различие также и в кумулятивной частоте достижения гематологического ответа при наличии специфичных для иматиниба мутаций и при их отсутствии: 90% против 26%.

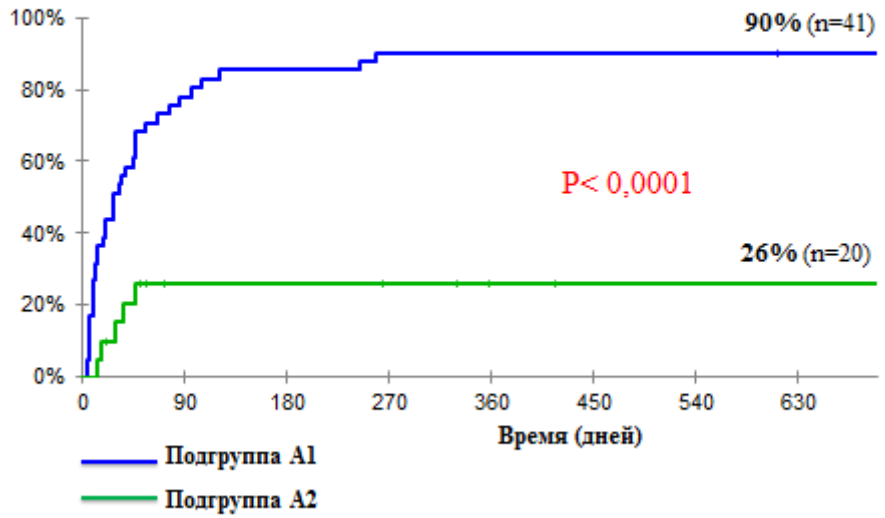

Рисунок 5. Кумулятивная частота достижения гематологического ответа при терапии иматинибом.

3) **Группа Б**: ПГО не достигнут ни в одном случае. У больной с *FGFR1*-позитивным МПЗ ремиссия заболевания была получена после выполнения алло-ТГСК от родственного донора. У больной системным мастоцитозом на фоне терапии препаратами INF-α наблюдалось стабильное течение заболевания без признаков прогрессирования. 6 больных умерли; 4 больных вышли из-под наблюдения.

3.7.2 Оценка выживаемости

На рисунке 6 показана десятилетняя выживаемость при применении иматиниба и других вариантов консервативной терапии.

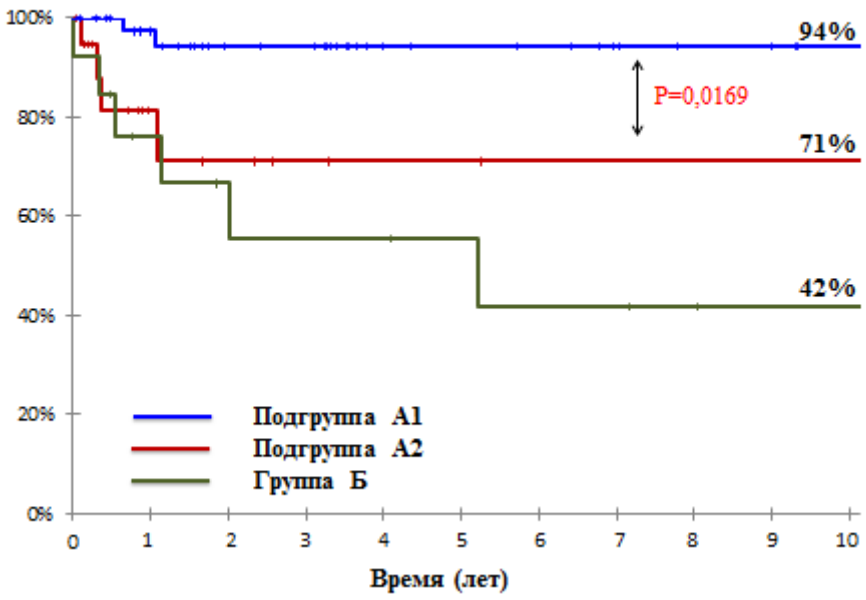

Рисунок 6. 10-летняя общая выживаемость при применении иматиниба и других вариантов консервативной терапии.

Десятилетняя выживаемость была достоверно выше в группе клональных МПЗ (*PBGFRA*- и *PBGFRB*-позитивных) по сравнению результатами в группе, где специфичные для иматиниба мутации генов не обнаружены (94% против 71%, p=0,0169). Но при сравнении этого показателя в общей группе больных, получавших иматиниб (А1 и А2), с результатами в группе больных, получавших другие варианты

лечения (Б), десятилетняя выживаемость при терапии иматинибом, независимо от наличия или отсутствия специфичных мутаций, была выше, чем при применении других препаратов (94% и 71% против 42% соответственно).

Таким образом, было показано, что непрерывное лечение иматинибом в дозе 100 - 400 мг/сут. позволяет получить стабильный полный гематологический и молекулярный ответ в подавляющем большинстве случаев *PDGFRA*- и *PDGFRB*-позитивных МПЗ. Полный гематологический ответ также получен у части больных с гиперэозинофилией и не доказанным наличием специфичных для назначения иматиниба мутаций (CEL-NOS и ГЭС). Данный факт, а также, низкая вероятность достижения ПГО, как и наиболее низкие показатели 10-летней выживаемости при использовании других методов лечения, дают основания рекомендовать иматиниб в качестве первой линии терапии при хроническом эозинофильном лейкозе, никак иначе не определяемом (CEL-NOS), и миелопролиферативном варианте ГЭС.

Снижение дозы и перерывы в приеме иматиниба приводят к утрате молекулярного ответа.

При *FGFR1*-позитивным МПЗ современные методы консервативной терапии не эффективны. В этих случаях, а также при резистентности к иматинибу, целесообразно сразу решать вопрос о возможности выполнения алло-ТГСК.

Заключение

Данная работа обобщает более чем 30-летний опыт по обследованию, наблюдению и лечению 188 больных с гиперэозинофилией. Столь длительный временной период, потребовавшийся для набора относительно большого числа больных, еще раз подтверждает редкость данной патологии, даже концентрирующейся в крупном научном центре, занимающемся изучением этой проблемы. Большинство врачей-гематологов в своей практике встречаются лишь с единичными случаями гиперэозинофильных синдромов. Отсутствие собственного опыта обследования и наблюдения за больными с гиперэозинофилией - одна из основных причин диагностических и терапевтических ошибок.

Логическая последовательность верификации причин эозинофилии, как правило, предполагает на первых (до специалиста-гематолога) этапах диагностики исключение всех вариантов реактивной эозинофилии, кроме лимфопролиферативных заболеваний, установление которых, как и МПЗ, уже является задачей гематолога. Однако, на практике не редки ситуации, когда первоначальный диагностический поиск проведен не в полном объеме, и уточнять характер эозинофилии приходится гематологу. Так, из 117 наших пациентов с установленными причинами эозинофилии, у 46 (39%) они не были обусловлены гематологическим заболеванием.

Примером недостаточно исчерпывающего анализа анамнестических данных на «догематологическом» этапе диагностики являются истории 2 наших пациенток с аллергией, у которых назначенные специалистом-аллергологом тесты с разнообразными небактериальными антигенами были отрицательными, но не учтены возможные реакции с использовавшимися лекарственными препаратами в 1 случае и средствами бытовой химии - в другом. Стойкая нормализация показателей крови после устранения контакта с аллергеном в обоих случаях служит косвенным подтверждением роли предполагавшихся этиологических факторов.

Иногда неудачи диагностики обусловлены тем, что первичное обследование произведено в слишком ранний срок от момента появления жалоб и эозинофилии; при этом, поспешные выводы о характере заболевания чреваты серьезными терапевтическими ошибками. Так, у 3 наших больных с паразитозами (при описторхозе) серологические тесты, сделанные в течение первых дней от начала заболевания, были отрицательными, и лишь повторное обследование минимум через 1 месяц от предыдущего позволило выявить причину гиперэозинофилии. У 3 наблюдавшихся нами больных с Т-клеточными ЛПЗ также не удалось установить диагноз в ранние сроки, несмотря на тщательно проведенное первичное обследование в первые месяцы от начала заболевания. Убедительных данных, свидетельствующих о ЛПЗ, на момент обследования получено не было.

В единичных случаях, несмотря на тщательно проведенное обследование, установить причину реактивной эозинофилии не представляется возможным в силу недостаточных знаний о функциях эозинофилов и механизмах их вовлечения в различные реакции. Связь изменений в анализах крови с каким-либо патологическим процессом устанавливается только постфактум, что имело место в случае доброкачественной опухоли надпочечника.

Таким образом, при обследовании больных с эозинофилией необходимо ориентироваться на максимально возможный объем исследований, нередко повторных, поскольку даже известные причины ее достаточно разнообразны, не говоря уже о тех неожиданных результатах, к которым может привести диагностический поиск. Использовавшийся нами план обследования, дополненный новыми диагностическими возможностями, прежде всего, в области молекулярно-генетических исследований, достаточен для выявления практически всего спектра известных процессов, сопровождающихся эозинофилией.

Успех при выяснении причины эозинофилии также во многом зависит и от определенной последовательности этапов диагностики. Прежде всего, необходимо исключить паразитарные заболевания. Поиск в этом направлении следует производить даже в случае наличия явных симптомов других заболеваний,

обуславливающих эозинофилию, в частности МПЗ. При этом, сроки серологического обследования у первичных больных должны быть не ранее 2.5 - 3 недель от дебюта заболевания. Так, у 1 из наших больных с паразитозом (описторхоз), серологические тесты, первоначально выполненные в первые 2 недели от момента появления жалоб и эозинофилии, были отрицательными, а в трепанобиоптате, взятом этот же период, обнаружена гиперплазия миелоидного ростка. Было сделано заключение о наличии миелопролиферативного заболевания, и проведены 3 курса ХТ. И только при повторном серологическом обследовании, произведенном через 3 месяца, была установлена истинная причина эозинофилии.

Разработанный нами алгоритм обследования позволил установить диагноз более, чем у половины пациентов с эозинофилией, включенных в исследование с 1999 года - 68% (112 из 164), в то время как из 24 ретроспективно рассматривавшихся случаев генез эозинофилии установлен лишь в 21% (5 из 24): лимфома Ходжкина - 2, доброкачественная опухоль надпочечника - 1, многоочаговое поражение печени неустановленного генеза - 1, злокачественная опухоль неустановленной первичной локализации - 1.

С начала 2000-х годов были достигнуты значительные успехи в расшифровке молекулярных механизмов возникновения эозинофилии в рамках клональных опухолей миелоидной ткани. Применение методик с использованием специфичных к определенным генам праймеров и зондов (RT-PCR, FISH) позволило диагностировать клональные МПЗ, в общей сложности, в 47% (44 из 93) случаев эозинофилии, тогда как при применении стандартного метода цитогенетического исследования хромосомные аномалии были выявлены только в 11% (10 из 90) случаев.

Таким образом, по мере накопления собственного опыта обследования и наблюдения за больными с зинофилией неясного генеза, наряду с расширением лабораторных возможностей, нам удалось улучшить результаты диагностики, значительно уменьшив частоту случаев, где диагноз «гиперэозинофильный синдром» становился итогом диагностического поиска, по сути, отражая его

неудачу. При этом, следует отметить, что мы не проводили диагностику *PCM1-JAK2*-позитивного новообразования в силу отсутствия сведений о нем на момент включения в данное исследование последнего пациента (февраль 2016 года).

И хотя развитие науки как в части понимания функциональных особенностей эозинофилов и их роли в клеточных реакциях, так и открытия новых генетических мутаций, лежащих в основе МПЗ с эозинофилией, позволяет надеяться на то, что синдромальный диагноз будет встречаться все реже, очевидно, что в части случаев природа эозинофилии не будет расшифрована. В связи с этим необходимость дифференцированного подхода к трактовке ГЭС как к реактивному, либо опухолевому процессу, делает результаты нашей работы по выделению клинико-лабораторных и гистологических критериев актуальными не только в настоящее время, но и в будущем.

Проведя сравнительный анализ частоты выявления ряда клинических и лабораторных симптомов и признаков у пациентов с реактивными эозинофилиями различного генеза и клональными миелопролиферативными заболеваниями, протекающими с эозинофилией, мы выделили наиболее значимые для подтверждения миелопролиферативного варианта ГЭС. Прежде всего, это изменения в костном мозге, отражающие факт аномального роста клеток гранулоцитарного ряда, в основном, эозинофильного ростка, и, как следствие этого – редукция жировой ткани и других клеток миелопоэза, иногда - фиброз. Для МПЗ, в отличие от заболеваний с реактивной эозинофилией, также были характерны спленомегалия, гепатомегалия, миелоцитарный сдвиг в лейкоцитарной формуле, тромбоцитопения, анемия. Кроме того, только в группе МПЗ наблюдалось специфическоое осложнение гиперэозинофилии – фибропластический эндокардит. В целом, наши наблюдения, согласуются с заключениями, представленными в литературных источниках [45, 65, 94, 131].

Наличие в 31% (22 из 71) случаев ГЭС вышеприведенных гистологических, лабораторных и клинических признаков дало основание выделить их в подгруппу, составившую миелопролиферативный вариант данного синдрома. Таким образом,

допустимо сделать следующий вывод: в основе примерно трети случаев длительно персистирующего гиперэозинофильного синдрома лежит миелопролиферативный процесс, доказать клональную природу которого в настоящее время по тем или иным причинам (отсутствие сведений о молекулярных маркерах, сложность методики) не представляется возможным.

В отсутствие аномалий кариотипа и/или повышенного числа бластных клеток в костном мозге/периферической крови, характерная для МПЗ гистологическая картина в костном мозге – ключевой признак миелопролиферативного процесса. Вместе с тем, в 31% (11 из 36) случаев *PDGFRA*-позитивного МПЗ, где выполнялась трепанобиопсия, мы, на этапе диагностики, не обнаружили в костном мозге типичных для миелопролиферации изменений. Возможно появление характерной гистологической картины можно было бы ожидать в более поздние сроки. К особенностям гистологической картины при этой форме МПЗ можно отнести наличие в ряде случаев разрастаний клеток лимфоидного ряда, аналогичный таковому при специфическом поражении костного мозга при ЛПЗ, а также - отсутствие признаков миелопролиферации. При отсутствии в подобных случаях возможности выполнить молекулярно-генетические исследования могут быть допущены принципиальные диагностические ошибки, что делает эти методы ключевыми в диагностике МПЗ.

Кроме того, и при анализе клинической картины, характеризующей клональные новообразования с эозинофилией, обратила на себя внимание высокая частота встречаемости увеличения лимфатических узлов (35%), что, в целом. не характерно для классических вариантов МПЗ. Более того, в результате наблюдения за больными с выявленными реаранжировками генов *PDGFRA, PDGFRB* и, особенно, с *FGFR1* было показано, что болезнь с такими молекулярно-генетическими аномалиями может манифестировать как ЛПЗ, главным образом, Т-клеточная неходжкинская лимфома, протекающая с эозинофилией. Обнаружение одной и той же генетической аномалии в клетках как миелоидного, так и лимфоидного ряда в части случаев *PDGFRA-, PDGFRB*- и *FGFR1*-позитивных

новообразований свидетельствует о едином патологическом процессе с «высоким» уровнем поражения в клеточной иерархии гемопоэза. Данный факт нашел свое отражение в классификации миелоидных неоплазий, протекающих с эозинофилией, предложенной ВОЗ в 2016 году [24]. В этом варианте классификации, в разделе новообразований, ассоциированных с эозинофилией, уже фигурируют «миелоидные/лимфоидные неоплазии, ассоциированные с реаранжировкой генов *PDGFRA, PDGFRB* и *FGFR1»*. В ВОЗ-классификации 2008 года они характеризовались лишь как «миелоидные неоплазии». Поэтому, у пациентов с эозинофилией и увеличением лимфатических узлов требуется комплексная диагностика, направленная на выявление патологического клона (*PDGFRA*+, *PDGFRB*+, *FGFR1*+) как в миелоидной (костный мозг), так и лимфоидной ткани. Особенно важно точное понимание характера процесса при заболеваниях, где возможно получить глубокий и полный ответ при назначении иматиниба (*PDGFRA*- и *PDGFRB*-позитивные).

В работе дана оценка исследований, предпринятых с целью поиска дополнительных критериев подтверждения опухолевой сущности ГЭС - культуральных и цитохимических.

При культивировании клеток костного мозга основные надежды возлагались на результаты колониеобразования в культурах, не содержащих клеток-источников колониестимулирующих факторов (спонтанный рост), поскольку аналогичные исследования при эритроцитозах неясного генеза позволили четко дифференцировать реактивные эритроцитозы и эритремию [10]. Однако, как при МПЗ (*PDGFRA*+ и Ph´+), так и при заболеваниях с реактивной эозинофилией, также отмечен спонтанный рост гранулоцитарно-макрофагальных колоний. При этом, в группе с реактивной эозинофилией интенсивность спонтанного роста превышала минимальные значения при Ph´-позитивном ХМЛ, тогда как выход колоний из КОЕ-ГМ при стимуляции и из КОЕ-Ф был в пределах нормы или снижен. Кроме того, обращает на себя внимание тот факт, что как при МПЗ, так и при реактивных эозинофилиях, колониеобразование в культурах, не содержащих донорские

лимфоциты, было более выраженным, чем в культурах, содержащих их, что позволяет предположить наличие в них неких ингибиторов роста. При РЭ более объяснимо было бы обратное соотношение культуральных показателей, поскольку нормальные клетки, в отличии от опухолевых, реагируют на внешние стимулы, тогда как последние растут автономно. Единственным отличием колониеобразования в группе МПЗ от такового при РЭ явился не столько спонтанный рост колоний как таковой, сколько значительно повышенный (до сплошного роста) выход спонтанных колоний и колоний из КОЕ-Ф. Вместе с тем, у одного из больных с *PDGFRA*+ МПЗ показатели колониеобразования не отличались таковых при реактивных эозинофилиях. Неоднозначность полученных результатов делает перспективу использования культуральных методов исследования для верификации вариантов ГЭС менее привлекательной, чем в случаях неясных эритроцитозов.

При цитохимическом исследовании зрелых эозинофилов периферической крови мы не увидели принципиальных отличий в цитохимических параметрах при РЭ и МПЗ. Общим для всех гиперэозинофилий явился тот факт, что эозинофилы имеют те или иные морфологические отличия от клеток у здоровых лиц. В качестве дифференциально-диагностического критерия МПЗ и РЭ можно принять лишь такой параметр как активность ЩФ нейтрофилов – снижение ее активности наблюдалось только при МПЗ.

Оценивая результаты терапии МПЗ и МП-ГЭС, очевидно, что из всех вариантов консервативной терапии наиболее эффективен иматиниб. При наличии специфических мишеней препарата (аномальных белков, кодируемых определенными структурно измененными генами: *PDGFRA*, *PDGFRB*) вероятность достижения полного гематологического и молекулярного ответов приближается к 100%: ПГО был достигнут в 90%, МО - в 88%. Наши данные по лечению иматинибом *PDGFRA*- и *PDGFRB*-позитивных МПЗ не отличаются от представленных в литературе [23, 26, 29, 47, 50, 53, 71-73, 99, 105, 107, 115, 120, 150, 153].

Иматиниб также оказался эффективен и в 25% (5 из 20) случаев, где аномалии генов, кодирующих синтез соответствующих белков-тирозинкиназ, выявлены не были. По-видимому, вариантов вовлечения указанных генов больше, чем мы можем выявлять в настоящее время, и ответ на таргетную терапию является косвенным подтверждением данного предположения. При использовании других методов терапии (препараты интерферона-α, гидроксимочевина, химиотерапия, глюкокортикостероиды) МПЗ и миелопролиферативном варианте ГЭС полный гематологический ответ не получен ни в одном случае.

Применение иматиниба позволило значительно улучшить десятилетнюю выживаемость, которая, независимо от наличия или отсутствия специфичных генетических мутаций, была достоверно выше, чем при применении других препаратов. Данный факт, а также, низкая вероятность достижения ПГО, как и наиболее низкие показатели 10-летней выживаемости при использовании других методов лечения, дают основания рекомендовать иматиниб в качестве первой линии терапии при хроническом эозинофильном лейкозе, никак иначе не определяемом (CEL-NOS), и миелопролиферативном варианте ГЭС.

Таким образом, результатами работы являются:

- на основании проведенного сравнительного анализа проявлений и особенностей течения миелопролиферативных процессов с эозинофилией и заболеваний, при которых эозинофилия является реактивной, выделены клинико-лабораторные и гистологические критерии миелопролиферативного варианта ГЭС. По мере расширения диагностических возможностей в 47% случаев эозинофилии удалось доказать наличие клонального миелопролиферативного заболевания;

- отмечены клинические и гистологические особенности, присущие одной из нозологических форм МПЗ, протекающего с эозинофилией, - *PDGFRA*-позитивной, о чем особенно важно помнить при отсутствии возможностей для выявления аномалий гена *PDGFRA*;

- разработан алгоритм обследования больных, позволяющий значительно повысить эффективность диагностики миелопролиферативных заболеваний, протекающих с эозинофилией;

- проанализирована эффективность различных методов лечения МПЗ и миелопролиферативного варианта ГЭС.

Следует еще раз подчеркнуть, что подход к диагностике причин ГЭС должен быть комплексным и индивидуализированным, и развитие и расширение молекулярно-генетические методов исследования является одним из приоритетных направлений в современной гематологии.

Выводы

1. В группе, состоящей из 188 больных с гиперэозинофильным синдромом, клональные миелопролиферативные заболевания выявлены в 30% случаев, реактивные состояния, обусловившие эозинофилию – в 32%; у 38% больных причина гиперэозинофилии не установлена.

2. В группе больных с клональными миелопролиферативными заболеваниями реаранжировка гена *PDGFRA* выявлена у 70% пациентов, диагноз хронического эозинофильного лейкоза, никак иначе не определяемого (CEL-NOS) установлен в 19% случаев, оставшиеся 11% случаев были представлены больными с реаранжировками генов *PDGFRB* (5,3%), *FGFR1*(1.8%) и с системным мастоцитозом (3.5%).

3. У части больных с клональными миелопролиферативными заболеваниями встречаются клинически-лабораторные признаки, присущие как миело-, так и лимфопролиферативным заболеваниям: лимфаденопатия в 35% случаев, лимфоидная инфильтрация костного мозга – в 17% случаев.

4. Миелопролиферативный вариант выявлен в 31% случаев гиперэозинофильного синдрома на основании характерных для миелопролиферации изменений в костном мозге в сочетании со спленомегалией, фибропластическим эозинофильным эндокардитом, миелоцитарным сдвигом в лейкоцитарной формуле.

5. При миелопролиферативных заболеваниях, протекающих с эозинофилией, в отличие от заболеваний с реактивной эозинофилией, отмечается низкая активность щелочной фосфатазы нейтрофилов. Спонтанный рост колоний из КОЕ-ГМ при гиперэозинофильных синдромах не является доказательством их опухолевой природы. Неоднозначность полученных результатов не позволяет использовать этот метод для диагностики миелопролиферативного варианта гиперэозинофильного синдрома.

6. Использование иматиниба позволяет получить полный гематологический ответ в 90% случаев *PDGFRA*- и *PDGFRB*-позитивных

миелопролиферативных заболеваний, в 20% случаев хронического эозинофильного лейкоза, никак иначе не определяемого, и 27% случаев миелопролиферативного варианта гиперэозинофильного синдрома.

7. Терапия иматинибом в сравнении с другими вариантами консервативной терапии позволяет значительно увеличить продолжительность жизни пациентов: десятилетняя выживаемость больных в группе клональных миелопролиферативных заболеваний (*PBGFRA*- и *PBGFRB*-позитивных) и в группе, где реаранжировки специфичных генов не были обнаружены (хронический эозинофильный лейкоз, никак иначе не определяемый, и миелопролиферативный вариант гиперэозинофильного синдрома), составила 94% и 71% соответственно. В группе больных, получавших другие варианты лечения, этот показатель был равен 42%.

8. Разработанный алгоритм диагностического поиска позволяет диагностировать миелопролиферативный вариант гиперэозинофильного синдрома и начинать терапию иматинибом в ранние сроки.

Практические рекомендации

Обследование для верификации МПЗ выполняется после исключения заболеваний и состояний с реактивной эозинофилиенй. Если у больного в момент обращения к гематологу имеются признаки МПЗ, которое характеризуется агрессивным течением, необходимо на самых ранних этапах провести стандартное цитогенетическое исследование, а также, молекулярно-генетическое исследование для выявления структурных нарушений генов *PDGFRA, PDGFRB, FGFR1*. Диагностический поиск следует выполнять, начиная с наиболее часто поражающегося гена - *PDGFRA*, далее - *FGFR1, PDGFRB.*

У пациентов с ЛПЗ и гиперэозинофилией целесообразно провести исследование для выявления патологического клона (*PDGFRA+*, *PDGFRB+*, *FGFR1+*) как в миелоидной (костный мозг), так и лимфоидной ткани.

У больных с хроническим эозинофильным лейкозом, никак иначе не определяемым (CEL-NOS), и миелопролиферативном варианте ГЭС целесообразно обсудить назначение иматиниба в качестве первой линии терапии.

При *FGFR1*-позитивном МПЗ и при резистентности к иматинибу целесообразно сразу решать вопрос о возможности выполнения алло-ТГСК.

Список литературы

1.Абрамычев А.Н., Иванов В.Г., Алексеева М.И. и др. Механизмы гиперэозинофильных реакций и повреждающее действие эозинофилов. Терапевтический архив, 1984, №6, стр. 88-93.

2.Абрамычев А.Н., Гриншпун Л.Д. Опухолевые эозинофилии. Терапевтический архив, 1986, №9, стр. 80-83.

3.Гриншпун Л.Д. Большие эозинофилии крови и их клинико-диагностическое значение. – Москва: Медицинская литература, 1962.

4.Гриншпун Л.Д., Курмышенская О.П., Куликова Л.А. Клинико-гематологическая динамика при гиперэозинофильном миелопролиферативном синдроме, сочетающемся с сердечной недостаточностью. «Гигиена, физиология и эпидемиология на железнодорожном транспорте», 1974, стр. 7-10.

5.Гриншпун Л.Д., Виноградова Ю.Е. Эозинофилы и гиперэозинофилии. Терапевтический архив, 1983, №10, стр. 147-153.

6.Григорьев Ю.В., Синопальников А.И., Казакова И.Г. и др. Случай длительного наблюдения за больной с идиопатическим гиперэозинофильным синдромом. Клиническая медицина, 1989, 67 (8), стр. 106-108.

7.Кисляк Н.С., Выхристюк О.Ф., Виноградов В.И. Случай злокачественного течения гиперэозинофильного синдрома. Гематология и трансфузиология, 1990, 35 (5), стр. 26-28.

8.Клиническая иммунология под ред. Е.И.Соколова – М. «Медицина», 1998: стр. 39.

9.Козинец Г.И., Дульцина С.М., Герасимова Н.А. и др. Цитохимическая характеристика гемопоэтических клеток здоровых людей (методические рекомендации). Москва, 1980.

10.Колесникова А.И., Павлов В.В., Конопляников А.Г. и др. Агаровые культуры клоногенных гемопоэтических клеток-предшественников человека для

ранней диагностики некоторых миелопролиферативных заболеваний. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2002, №8, стр. 209-212.

11.Корепанов А.М., Никитин Е.Н., Кирьянов Н.А. Случай большой эозинофилии с выраженным лейкоцитозом. Гематология и трансфузиология, 1992, 37 (9-10), стр. 43-44.

12.Мокеева Р.А., Цветаева Н.В., Семенова Е.А. и др. Патология сердца при идиопатическом гиперэозинофильном синдроме. Терапевтический архив, 2000, №12, стр. 59-62.

13.Немченко И.С., Хорошко Н.Д., Туркина А.Г. с соавт. FIP1L1-PDGFRα-позитивное миелопролиферативное заболевание с гиперэозинофилией: клиническая характеристика и возможности патогенетической терапии. Терапевтический архив, 2005. №7, стр. 90-92.

14.Руководство по гематологии под ред. А.И.Воробьева - М. «Ньюдиамед», 2003, т.2, стр. 190-196.

15.Свядощ А.В., Полоцкая Т.М., Банникова Т.П. и др. Случай хронического миелолейкоза с высокой эозинофилией. Проблемы гематологии, 1970, 1, стр. 56-57.

16.Френкель М.А. Клиническая онкогематология под ред. М.А.Волковой. М.: Медицина, 2001, стр. 9-22.

17.Фриденштейн А.Я., Чайлахян Р.К., Лалыкина К.С. О фибробластоподобных клетках в культурах кроветворной ткани морских свинок. Цитология. 1970, №9, стр. 1147-1149.

18.Хорошко Н.Д., Мокеева Р.А., Туркина А.Г. и др. Идиопатический и симптоматический гиперэозинофильные синдромы (сравнительная характеристика на основе 14 наблюдений). Терапевтический архив, 1997, №7, стр. 26-33.

19.Хорошко Н.Д., Мокеева Р.А., Туркина А.Г. и др. Гиперэозинофильный вариант Ph'-положительного хронического миелолейкоза. Терапевтический архив, 1998, №7, стр. 29-37.

20.Хорошко Н.Д., Мокеева Р.А., Сысоева Е.П. и др. Бластный криз в исходе миелопролиферативного варианта идиопатического гиперэозинофильного синдрома. Гематол. и трансфузиол. 2002, 45 (2), стр. 37-42.

21.Чучалин А.Г. Первичные системные и легочные васкулиты. Терапевтический архив. 2002, №3, стр. 5-11.

22.Abril A, Calamia KT, Cohen MD. The Churg Strauss syndrome (allergic granulomatous angiitis): review and update. Seminars in Arthritis and Rheumatism. 2003, 33: 106-114.

23.Apperley JF, Gardembas M, Melo JV, et al. Response to Imatinib Mesylate in Patients with Chronic Myeloproliferative Diseases Rearrangements of the Platelet-Derived Growth Factor Receptor Beta. N Engl J Med, 2002, 347(7): 481-487.

24.Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood, 2016, V127; N20 (May): 2391-2405.

25.Arima M, Kanoh T. Eosinophilic myocarditis associated with dense deposits of eosinophil cationic protein (ECP) in endomyocardium with high serum ECP. Heart, 1999, June 81: 669-671.

26.Baccarani M, Cilloni D, Rondoni M, et al. The efficacy of imatinib mesylate in patients with hypereosinophilic syndrome. Results of a multicenter prospective study. Haematologica, 2007; 92 (9): 1173-1179.

27.Bain BJ. Eosinophilic leukaemias and the idiopathic hypereosinophilic syndrome. Br J Haematol, 1996, 95: 2 – 9.

28.Bain BJ. Cytogenetic and molecular genetic aspects of eosinophilic leukaemias. Br J Haemat, 2003, 122: 173-179.

29.Bain BJ. Myeloid and lymphoid neoplasms with eosinophilia and abnormalities of PDGFRA, PDGFRB or FGFR1. Haematologica, 2010 May; 95 (5): 696–698.

30.Bank I, Amariglio N, Reshef A, et al. The hypereosinophilic syndrome associated with CD4+CD3- helper type 2 (Th2) lymphocytes. Leuk Lymphoma, 2001, 42 (1-2): 123-133.

31.Baratta L, Afeltra A, Delfino M, et al. Favorable response to high-dose interferon-aipha in idiopathic hypereosinophilic syndrome with restrictive cardiomyopathy – case report and literature review. Angiology, 2002, Jul-Aug; 53(4): 465-470.

32.Baxter EJ, Hochhaus A, Bolufer P, et al. The t(4;22)(q12;q11) in atypical chronic myeloid leukaemia fuses BCR to PDGFRA. Hum Molec Genet, 2002, Vol.11, N12: 1391-1397.

33.Benvenisti DS, Ultmann JE. Eosinophilic leukemia, report of 5 cases and review of the literature. Ann Int Med, 1969, 71: 731-745.

34.Bjornson BH, Harley JB, Andre-Schwartz J, et al. Peripheral Blood Myeloid Progenitor Cell Cultures in Patients with Hypereosinophilic Syndrome (CFU–eos in Hypereosinophilic Syndrome). Blood, 1982, V60; N3 (Sep): 721-726.

35.Bockenstedt PL, Santing JT, Bolling SF. Alpha-interferon treatment for idiopathic hypereosinophilic syndrome. Am J Haematol, 1994, 45: 248-251.

36.Bosse M, Audette M, Ferland C, et al. Gene expression of interleukin-2 in purified human peripheral blood eosinophils. Immunology, 1996, 87: 149-154.

37.Broide DH, Paine MM, Firestein GS. Eosinophils express interleukin 5 and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor mRNA at sites of allergic inflammation in asthmatics. J Clin Invest, 1992, 90: 1414-1424.

38. Browett PJ, O'Grady N, Oei P, et al. Fusion of Platelet-Derived Growth Factor β to a Novel Gene KIAA1509 on Chromosome 14 in a Atypical Myeloproliferative Disorder Associated with Eosinophilia. ASH 2004. Abstr. 2437.

39.Brugnoni D, Airo P, Rossi G, et al. A Case of Hypereosinophilic Syndrome Is Associated with the Expansion of CD3-CD4+ T-cell Population Able to Secrete Large Amounts of Interleukin-5. Blood, 1996, V87, N4: 1416-1422.

40.Butterfield JH, Gleich GCJ. Response of six patients with idiopathic hypereosinophilic syndrome to interferon-alfa. Am Int Med, 1994, 121: 648-653.

41.Capovilla M, Cayuela JM, Bilhou-Nabera C, et al. Synchronous *FIP1L1-PDGFRA*-positive chronic eosinophilic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma: a bilineal clonal malignancy. Eur J Haematol, 2007, 80: 81–86.

42.Cereteli S, Capochiani E, Petrini M. Interferon-α in the idiopathic hypereosinophilic syndrome: consideration of five cases. Ann Hematol, 1998, 77: 161-164.

43.Chang HW, Leong KH, Koh DR, et al. Clonality of Isolated Eosinophils in the Hypereosinophilic Syndrome. Blood, 1999, V93; N5 (March 1): 1651-1657.

44. Chase A, Bryant C, Score J, and Cross NCP. Ponatinib as targeted therapy for FGFR1 fusions associated with the 8p11 myeloproliferative syndrome. Haematologica. 2013 January; 98 (1): 103–106.

45.Chusid MJ, Dale DS, West BC, et al. The hypereosinophilic syndrome: Analysis of fourteen cases with review of the literature. Medicine (Baltimore) 1975. V.54: 1-27.

46.Clutterbuck EJ, Hirst EM, Sanderson CJ. Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: Comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6, and GM-CSF. Blood, 1989, 73: 1504-1512.

47.Cools J, DeAngelo DJD, Gotlib J, et al. A Tyrosine Kinase Created by Fusion of the PDGFRA and FIP1L1 Genes as a Therapeutic Targert of Imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. N Engl J Med, 2003, 348, 13: 1201-1214.

48.Cross NCP. Philadelphia chromosome negative chronic myeloproliferative disorders: molecular and clinical aspects. Hematol J. 2002. 7-th Congr. of the EHA.

49.Cross NC, Reiter A. Fibroblast growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor abnormalities in eosinophilic myeloproliferative disorders. Acta Haematol. 2008; 119 (4): 199-206.

50.Curtis C, Apperly JF, Dang R, et al. The Platelet-Derived Growth Factor Receptor beta Fuses to Two Distinct Loci at 3p21 in Imatinib Responcive Chronic Eosinophilic Leukaemia. ASH 2005. Abstr. 3253.

51.Daffern PJ, Pfeifer PH, Ember JA, et al. C3a is a chemotaxin for human eosinophils but not for neutrophils. I. C3a stimulation of neutrophils is secondary to eosinophil activation. J Exp Med, 1995, 181: 2119-2127.

52.Darbyshire PJ, Shortland D, Swansbury GJ, et al. A myeloproliferative disease in two infants associated with eosinophilia and chromosome t(1;5) translocation. Br J Haematol, 1987, 66: 483– 486.

53.David M, Cross NCP, Burgstaller S, et al. Durable responses to imatinib in patients with PDGFRB fusion gene–positive and BCR-ABL–negative chronic myeloproliferative disorders. Blood January 1, 2007 vol. 109 no.1: 61-64.

54.Davies JNP. Endocardial fibrosis in Africans. East Afr Med J, 1948, 25: 10-14.

55.Debierre-Grockiego F, Leduc I, Prin L, et al. Dexametasone inhibits apoptosis of eosinophils isolated from hypereosinophilic patients. Immunobiology, 2001, Dec; 204(4): 517-523.

56.De Cock C, Lemaitre J, Deuvaert FE. Loeffler endomyocarditis: a clinical presentation as right ventricular tumor. J Heart Valv Dis, 1998, Nov; 7(6): 668–671.

57.Demiroglu H, Dundar S. Combination of interferon-α in the treatment of idiopathic hypereosinophilic syndrome (letter, comment). Br J Haematol, 1997, 97: 928-930.

58.Demiroglu A, Steer EJ, Heath C, et al. The t(8;22) in chronic myeloid leukemia fuses BCR to FGFR1: transforming activity and specific inhibition of FGFR1 fusion proteins. Blood, 2002, Dec 15; 98(13): 3778-3783.

59.Desreumaux P, Janin A, Colombel JF, et al. Interleukin-5 messenger RNA expression by eosinophils in the intestinal mucosa of patients with celiac disease. J Exp Med, 1992, 175: 293-296.

60.Druilhe A, Cai Z, Haile S, et al. Fas-mediated apoptosis in cultured human eosinophils. Blood, 1996, 87: 2822-2830.

61.Dubucquoi S, Desreumaux P, Janin A, et al. Interleukin 5 synthesis by eosinophils: Assotiation with granules and immunoglobulin-dependent secretion. J Exp Med, 1994, 179: 703-708.

62.Elsner J, Dichmann S, Kapp A. Activation of the respiratory burst in human eosinophils by chemotaxins intracellular calcium fluxes. J Invest Dermatol, 1995, 105: 231-236.

63.Ember JA, Hugli TE. Complement factors and their receptors. Immunopharmacology, 1997, 38: 3-15.

64.Fauci AS, Harleu JB, Roberts WC, et al. The idiopathic hypereosinophilic syndrome. Ann Int Med, 1982, 97: 78-92.

65.Flaum MA, Schooley RT, Fauci AS, et al. A clinicopathologic correlation of the idiopathic hypereosinophilic syndrome. I Hematologic manifestation. Blood, 1981, 58: 1012-1019.

66.Fucushima T, Kurijama K, Ito H, et al. Successful bone marrow transplantation for idiopathic hypereosinophilic syndrome. Br J Haematol, 1995, 90: 213-215.

67.Fukuta A, Hara T, Tsurumi H, et al. Hypereosinophilic syndrome with DIC treated successfully with a combination of high-dose methylprednisolone and cyclosporine A. Rinsho Ketsueki, 2001, Nov; 42(11): 1145-1147.

68.Giembycz MA, Lindsay MA. Pharmacology of the Eosinophil. Pharmacological Reviews. 1999. V5, Issue 2: 213-340.

69.Glaude RP, Carrol LA, Milici AJ, et al. Ingibition of leukotriene B_4 – receptor interaction suppresses eosinophil infiltration and disease pathology in a murine model of experimental allergic encephalomyelitis. J Exp Med, 1996, 183: 1893-1898.

70.Goldberg L, Mekel J, Chita G. Acute myocarditis in a patient with eosinophilia and pulmonary infiltrates. Cardiovasc J S Afr, 2002, Jan-Feb; 13(1): 29-34.

71.Gotlib J, Cools J. Five years since the discovery of FIP1L1-PDGFRA: what we have learned about the fusion and other molecularly defined eosinophilias. Leukemia. 2008; 22 (11): 1999-2010.

72.Gotlib J. World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2014 update on diagnosis, risk stratification, and management. Am J Hematol, 2014, 89 (3): 325-337.

73.Grand FH, Burgstaller S, Kuhr T, et al. p53-Binding Protein 1 Is Fused to the Platelet Derived Growth Factor Receptor β in a Patient with a t(5;15)(q33;q22) and an Imatinib-Responcive Myeloproliferative Disorder. Canc Res, 2004, 64: 7216-7219.

74.Granjo E, Lima M, Lopes JM, et al. Chronic eosinophilic leukaemia presenting with erythroderma, mild eosinophilia and hyper-IgE: clinical, immunological and

cytogenetic features and therapeutic approach. A case report. Acta Haematol, 2002; 107(2): 108-112.

75.Guillevin L, Cohen P, Gayraud M, et al. Charg-Strauss syndrome. Clinical study and long-term follow-up of 96 patients. Medicine (Baltimore), 1999, 78 (1): 26-37.

76.Hardy WR, Anderson R. The Hypereosinophylic Syndromes. Ann Int Med, 1968, 68: 1220-1229.

77.Hashizume T, Numata H. A case of eosinophilic pneumonia possibly due to ifenprodil. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi, 2001, Nov; 39(11): 868-870.

78.Huang WW, Garcia-Zepeda EA, Sauty A, et al. Molecular and biological characterization of the murine leukotriene B_4 receptor expressed on eosinophils. J Exp Med, 1998, 188: 1063-1074.

79.Ichihara M, Hotta T, Asano H, et al. Effects of stem cell factor (SCF) on human marrow neutrophil, neutrophil/macrophage mixed, macrophage and eosinophil progenitor cell growth. Int J Hematol, 1994, 59: 81-89.

80.Imagawa J, Harada Y, Yoshida T, et al. [Successful treatment with low-dose dasatinib in a patient with chronic eosinophilic leukemia intolerant to imatinib]. Rinsho Ketsueki 2011; 52 (7): 546-550. Japanise. [with English abstract].

81.Inhorn RC, Aster JC, Roach SA, et al. A syndrome of lymphoblastic lymphoma, eosinophilia, and myeloid hyperplasia/malignancy associated with t(8;13)(p11;q11): description of a distinctive clinicopathologic entity. Blood, 1995, Jul 15; 86(2): 834-835.

82.Ishibashi T, Kimura H, Abe R, et al. Involvment of eosinophils in leukemia: cytogenetic study of eosinophilic colonies from acute myelogenous leukemia associated with translocation (8;21). Canc Genet Cytogenet, 1986, 22: 189-194.

83.Jackson CC, Medeiros LJ, Miranda RN. 8p11 myeloproliferative syndrome: a review. Hum Pathol. 2010 Apr; 41 (4): 461-476.

84.Jani K, Kempski K, Reeves BR. A case of myelodisplasia with eosinophilia having a translocation t(5;12)(q31;q13) restricted to myeloid cells but not involving eosinophils. Br J Haemat, 1994, 87: 57-60.

85.Juvonen E, Volin L, Koponen A, et al. Allogenic blood stem cell transplantation following nonmyeloablative conditioning for hypereosinophilic syndrome. Bone Marr Transpl, 2002, March; 29(5): 457-458.

86.Kawai H, Kawahara S, Tada A, et al. Pulmonary involvement, pleural effusion, and electrocardiographic abnormality in hypereosinophilic syndrome. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi, 2001, Nov; 39(11): 862-867.

87.Keene P, Mendelow B, Pinto MR, et al. Abnormalities of chromosome 12p13 and malignant proliferation of eosinophils: a nonrandom association. Br J Haematol, 1987, 67: 25-31.

88.Kim CJ, Park SH, Chi JG. Idiopathic hypereosinophilic syndrome terminating as disseminated T-cell lymphoma. Cancer, 1991, 67: 1064-1069.

89.Kim CJ, Kane GC, Zangrilli JG, et al. Eosinophils recruited to the lung by segmental antigen challenge show a reduced chemotactic response to leukotriene B_4. Prostaglandins, 1994, 47: 393-403.

90.Kirkland GS, Savige J, Wilson D, et al. Classical polyarteriitis nodosa and microscopic polyarteriitis with medium vessel involvement – a comparison of the clinical and laboratory features. Clin Nephrol, 1997, 47: 176-180.

91.Kishimoto S, Shimazu W, Izumi T, et al. Enchanced expression of platelet-activating factor receptor on human eosinophils by interleukin-3, interleukin-5 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Int Arch Allergy Immunol, 1996, 111 (1): 63-65.

92.Kishimoto S, Shimazu W, Izumi T, et al. Regulation by IL-5 of expression of functional platelet-activating factor receptors on human eosinophils. J Immunol, 1996, 157: 4126-4132.

93.Kitano K, Ichikava N, Shimodaira S, et al. Eosinophilia associated with clonal T-cell proliferation. Leuk Lymph, 1997, 27 (3-4): 334-335.

94.Klion A. Recent Advances in the Diagnosis and Treatment of Hypereosinophylic Syndromes. Hematology, ASH Education Book, January 1, 2005 vol. 2005 no. 1: 209-214.

95.Klion A. How I treat hypereosinophilic syndromes. Blood, 2009, 114 (18): 3736-3741.

96.Klion A. Eosinophilic Myeloproliferative Disorders. Hematology, ASH Education Book December 10, 2011 vol. 2011 no.1: 257-263.

97.Kobayashi H. Effect of c-kit ligand (stem cell factor) in combination with interleukin-5, granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, and interleukin-3, on eosinophil lineage. Int J Hematol, 1993, 58: 21-26.

98.Kwong YL, Chan LC. Involvment of eosinophils in acute myeloid leukemia with monosomy 7 demonstrated by fluorescence in situ hybridization. Br J Haematol, 1994, 88: 389-391.

99.Legrand F, Renneville A, Maclntyre E, et al. The spectrum of FIP1L1-PDGFRA-associated chronic eosinophilic leukemia: new insights on a survey of 44 cases. Medicine, 2013, 92 (5): e1-e9.

100.Levi Schaffer F, Barkans J, Newman TM, et al. Identification of interleukin-2 in human peripheral blood eosinophils. Immunology, 1996, 87: 155-161.

101.Lielinsky RM, Lawrence WD. Interferon-α for the hypereosinophilic syndrome. Am Int Med, 1990, 113: 716-718.

102.Loffler W. Endocarditis parietalis fibroplastica mit bluteosinophilie. Ein eigenartiges Krankheitsbild. Schweiz Med Wochenschr, 1936, 66: 817-820.

103.Luciano L, Catalano L, Sarrantonio C, et al. Alpha INF-induced hematologic and cytogenetic remission in chronic eosinophilic leukemia with t(1;5). Haematologica, 1999, 84: 651–653.

104.Macdonald D, Aguiar RC, Mason PJ, et al. A new myeloproliferative disorder associated with chromosomal translocations involving 8p11: a review. Leukemia, 1996, Jul 10(7): 1252-1253.

105.Magnusson MK, Dunbar CE. Activity of STI571 in chronic myelomonocytic leukaemia with a platelet-derived growth factor beta receptor fusion oncogene. Blood, 2002, Vol.100, N3: 1088-1091.

106.Malbrain MLNG, van den Bergh H, Zachee P. Further evidence for the clonal nature of the idiopathic hypereosinophilic syndrome: complete hematological and cytoghenetical remission induced by interferon-alpha in a case with a unique chromosomal abnormality. Br J Haematol, 1996, 92: 176-183.

107.Martinelli G, Apperly J, Reiter A, et al. European Multicentral Experience on Idiopathic Hypereosinophilic Syndrome (HES) with FIP1L1-PDGFRA Rearrangement Treated with Imatinib. ASH 2004, Abstr. 1507.

108.McEwen BJ. Eosinophils: A review. Vet Res Commun, 1992, 16: 11-44.

109.Metzgeroth G, Walz C, Score J, et al. Recurrent finding of the *FIP1L1-PDGFRA* fusion gene in eosinophilia-associated acute myeloid leukemia and lymphoblastic T-cell lymphoma. Leukemia, 2007, 21: 1183-1188.

110.Nakajima T, Yamada H, Iikura M, et al. Intracellular localization and release of eotaxin from normal eosinophils. FEBS Lett, 1998, 434: 226-230.

111.NMPN Study Group. Guidelines for the diagnosis and treatment of eosinophilia. 2nd version, September 2012, www.nordicmpd.org.: 4.

112.Ogawa M. Hematopoesis. J Allergy Clin Immunol, 1994, 94: 645-650.

113.Oliver JW, Deol I, Morgan DL, et al. Chronic Eosinophilic Leukaemia and Hypereosinophilic Syndromes. Canc Genet Cytogenet, 1998, 107: 111-117.

114.Pardanani A, Ketterling RP, Brockman SR, et al. CHIC2 deletion, a surrogate for FIP1L1-PDGFRA fusion, occurs in systemic mastocytosis associated with eosinophilia and response to Imatinib therapy. Blood First Edition Paper, prepabl. Online Jul.3, 2003; DOI 10.1182/blood-2003-05-1627.

115.Pardanani A, Reeder T, Porrata LF, et al. Imatinib therapy for hypereosinophilic syndrome and other eosinophilic disorders. Blood, 2003; 10(9): 3391-3397.

116.Parrillo JE, Fauci AS, Wolff SM. Therapy of the idiopathic hypereosinophilic syndrome. Am Int Med, 1978, 89: 167-172.

117.Palframan RT, Collins PD, Williams TJ, et al. Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow. Blood, 1998, 91: 2240-2248.

118.Peled A, Gonsalo JA, Lloyd C, et al. The chemotactic cytokine eotaxin acts as a granulocyte/macrophage colony-stimulating factor during lung inflammation. Blood, 1998, 91: 1909-1916.

119.Pike BL, Robinson WA. Human bone marrow colony-growth in agar gel. J Cell Physiol, 1970, V76: 77-84.

120.Pitini V, Arrigo C, Teti D, et al. Response to STI571 in Chronic Myelomonocytic Leukaemia with Platelet Derived Growth Factor Beta Receptor Involvment: A new case report. Haematologica, 2003, 88 (105) ECR18.

121.Ploemacher RE, van Soest PL, Boudewijn A, et al. Interleukin-12 enhances interleukin-3 dependent multilineage hematopoetic colony formation stimulated by interleukin-11 or Steel factor. Leukenia (Baltimore) 1993, 7: 1374-1380.

122.Qiquandon I, Claisse JF, Capiod JC, et al. A-interferon and hypereosinophilic syndrome with trisomy 8: kariotypic remission. Blood, 1995, 85: 2284-2285.

123.Rand TH, Silberstein DS, Kornfeld H, et al. Human eosinophils express functional interleukin 2 receptors. J Clin Invest, 1991, 88: 825-832.

124.Reiter A, Sohal J, Kulkarni A, et al. Consistent fusion of a novel gene, DET, to the fibroblast growth factor receptor-1 in the t(8;13)(p11;q12). ISH-EHA Combined Haematology Congress, Amsterdam, The Netherland, 4-8 July 1998, Br J Haematol, V.102, 1.

125.Riedel D, Lindemann A, Brach M, et al. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and interleukin-3 induce surface expression of interleukin-2 receptor p55-chain and CD4 by human eosinophils. Immunology, 1990, 70: 258-261.

126.Sanderson CJ. Interleukin-5 in the regulation of the eosinophil production. in Immunopharmacology of Eosinophils (Smith H and Cook RM eds). 1993, pp 10-24, Academic Press, London.

127.Sato H, Danbara M, Tamura M, et al. Eosinophilic leukemia with a t(2;5)(p23;q35) translocation. Br J Haematol, 1994, 87: 404-406.

128.Sato H, Saito H, Ikebuchi K, et al. Biological Characteristics of Chronic Eosinophilic Leukemia Cells with a t(2;5)(p23;q35) Translocation. Leuk Lymph, 1995, V19: 499-505.

129.Schoch C, Reiter A, Bursch S, et al. Chromosome Binding Analysis, FISH and RT-PCR Performed in Parallel in Hypereosinophilic Syndrome Establishes the Diagnosis of Chronic Eosinophilic Leukaemia in 22% of cases: A Study on 40 Patients. ASH 2004, Abstr. 2444.

130.Schoffski P, Ganser A, Pascheberg U, et al. Complete hematological and cytoghenetic response to interferon alpha-2a of myeloproliferative disorder with eosinophilia associated with unique t(4;7) aberration. Ann Hematol, 2000, Feb; 79(2): 95-98.

131.Schooley RT, Flaum MA, Gralnic HR, et al. A clinicopathologic correlation of the idiopathic hypereosinophilic syndrome. II Clinical manifestation. Blood, 1981, 58: 1021-1026.

132.Shah I, Mirchandani I, Khianani P, et al. Comparison of circulating colony-forming cells in chronic granulocytic leukemia and leukemoid reaction. Acta Haematologica, 1983, 69: 340-343.

133.Silberstein DS, David JR. Tumor necrosis factor enhances eosinophil toxicity to Schistosoma mansoni larvae. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83: 1055-1059.

134.Simon H-U, Plotz SG, Dummer R, et al. Abnormal clones of T cells producing Interleukin-5 in idiopathic eosinophilia. N Engl J Med, 1999, 341, 15: 1112-1120.

135.Slungaard A, Vercellotti GM, Walker D, et al. Tumor necrosis factor α/cachectin stimulates eosinophil oxidant production and towards human endothelium. J Exp Med, 1990, 171: 2025-2041.

136.Sohal J, Chase A, Mould S, et al. Identification of four new translocations involving FGFR1 in myeloid disorders. Genes Chromosomes Cancer, 2001, Oct 32(2): 115-163.

137.Spry CJF. Eosinophils: A Comprehencive Review and Guide to the Scientific and Medical Literatures. 1988. Oxford University Press. Oxford.

138.Spry CJF. The natural history of eosinophils, in Immunopharmacology of Eosinophils (Smith H and Cook RM eds). 1993, pp 1-9, Academic Press, London.

139.Steer J, Cross NCP. Myeloproliferative Disorders with Translocations of Chromosome 5q31-35: Role of the Platelet-Derived Growth Factor Receptor Beta. Acta Haematol, 2002, 107: 113-122.

140.Stover EH, Chen J, Lee BH, et al. The small molecule tyrosine kinase inhibitor AMN107 inhibits TEL-PDGFRbeta and FIP1L1-PDGFRalpha in vitro and in vivo. Blood 2005; 106 (9): 3206-3213.

141.Sugimoto K, Tamayose K, Sasaki M, et al. More than 13 years of hypereosinophilia associated with clonal CD3-CD4+ lymphocytosis of TH2/TH0 type. Int J Hematol, 2002, 75 (3): 281-284.

142.Tabouret E, Charbonnier A, Mozziconacci MJ, et al. Low-dose Nilotinib can maintain complete molecular remissions in FIP1L1/PDGFRA-positive hypereosinophilic syndrome. Leuc Res 2011; 35 (1): 136.

143.Talpaz M, Kantarjian HM, McCredie, et al. Hematologic remission and cytogenetic improvement induced by recombinant human interferon alpha in chronic myelogenous leukemia. New Engl J Med, 1986, 314: 1065-1069.

144.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.

145.Uckan D, Hicsonmez G, Tunc B, et al. The analysis of eosinophil and lymphocyte phenotype following single dose of high-dose methylprednisolone in two siblings with marked hypereosinophilia. Clin Lab Haematol, 2001, Feb; 23(1): 33-37.

146.Ueno NT, Zhao S, Robertson LE. 2-Chlordeoxyadenosine therapy for the idiopathic hypereosinophilic syndrome. Leukemia, 1997, 11: 1386-1390.

147.Ueno NT, Anagnostopoulos A, Rondon G, et al. Successful non-myeloablative allogenic transplantation for treatment of idiopathic hypereosinophilic syndrome. Br J Haematol, 2002, Oct; 119(1): 131-134.

148.Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms //Blood, 2002. V. 100(7): 2292-2302.

149.Verstovsec S, Giles FJ, Quintas-Cardama A, et al. Activity of AMN107, a novel aminopyrimidine tyrosine kinase inhibitor, against human FIP1L1-PDGFR-alpha-expressing cells. Leuc Res 2006; 30 (12): 1499-1505.

150.Vizmanos JL, Novo FJ, Roman JP, et al. NIN, a Gene Encoding a CEP110-Like Centrosomal Protein, Is Fused to PDGFRB in a Patient with a t(5;14)(q33;q24) and an Imatinib-Responcive Myeloproliferative Disorder. Canc Res, 2004, 64: 2673-2676.

151.Watanabe K, Tournilhac O, Camilleri LF. Recurrent thrombosis of prosthetic mitral valve in idiopathic hypereosinophilic syndrome. J Heart Valve Dis, 2002, May; 11(3): 447-449.

152.Weller PF, Bubley GJ. The idiopathic hypereosinophilic syndrome. Blood, 1994, N10: 2759 - 2779.

153.Wilkinson K, Velloso RP, Lopes LF, et al. Cloning of the t(1;5)(q23;q33) in a Myeloproliferative Disorder associated with Eosinophilia: Involvment of PDGFRB and Response to Imatinib. Blood First Edition Paper, prepubl. Online Aug.7, 2003; DOI 10.1182/blood – 2003 – 04 - 1150.

154.Wittman B, Horan J, Baxter J, et al. A 2-year-old with atypical CML with a t(5;12)(q33;p13) treated successfully with imatinib mesylate. Leuk Res, 2004, 28S1: 65-69.

155.Woodward DF, Spada CS, Hawley SB, et al. Conjunctival eosinophil infiltration evoked by histamine and immediate hypersensitivity. Modification by H_1 – and H_2 – receptor blockade. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1986, 27: 1495-1503.

156.Xiao S, Nalabolu SR, Aster JC, et al. FGFR1 is fused with a novel zinc-finger gene, ZNF198, in the t(8;13) leukaemia/lymphoma syndrome. Nat Genet, 1998, Jan 18(1): 84-87.

157.Zabel P, Schlaak M. Cyclosporin for hypereosinophilic syndrome. Ann Hematol, 1991, 62: 230-231.