

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА, СТРОМЫ КОСТНОГО МОЗГА И ТРАБЕКУЛЯРНОЙ КОСТИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМ МИЕЛОФИБРОЗОМ

Чеботарев Д. И.^{*}, Ковригина А. М., Меликян А. Л., Кузьмина Л. А.

ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Первичный миелофиброз (ПМФ) — клональное заболевание, характеризующееся нарушениями клеточной структуры, гистоархитектоники и стромы костного мозга (КМ). Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) позволяет добиться излечения больных ПМФ.

Цель — охарактеризовать изменения клеточной структуры и стромы кроветворной ткани, трабекулярной кости при алло-ТГСК у больных фиброзной стадией ПМФ.

Материалы и методы. Исследован материал 24 трепанобиоптатов у 9 больных ПМФ, которым была выполнена алло-ТГСК, в следующие периоды: I — за 1 мес. до алло-ТГСК, II — через 1–3 мес. и III — через 4–6 мес. после алло-ТГСК. Гистологические препараты трепанобиоптатов КМ были изготовлены с использованием стандартного гистологического метода. Использовали стандартную окраску гематоксилином и эозином, дополнительные гистохимические окраски по Гомори и трихром по Массону. При морфологической характеристике оценивали изменения ретикулиновой и коллагеновой стромы, костных балок, клеточности и топографии элементов кроветворной ткани.

Результаты. В I периоде в трепанобиоптатах КМ отмечалась гетерогенность морфологической картины, выделили три морфологических варианта, в зависимости от клеточности кроветворной ткани, склеротических изменений стромы и костных балок. Во II и III периодах, соответственно, в течение 3 и 6 мес. после алло-ТГСК, данные морфологические варианты не прослеживались. При исследовании трепанобиоптатов КМ в посттрансплантационном периоде выявлен регресс миелофиброза и остеосклероза. В посттрансплантационном периоде обнаружены признаки восстановления нормального цикла перестройки кости. Восстановление ростков миелопоэза происходило поэтапно: к 3 мес. восстанавливался эритроидный росток, в то время как восстановление гранулоцитарного ростка завершалось к 6 мес.; полноценного восстановления клеточности мегакариоцитарного ростка к 6 мес. не отмечено. Восстановление клеточности ростков миелопоэза опережало восстановление показателей крови, что может быть связано с индуцированной миелодисплазией или нарушением стромальных ниш.

Заключение. Алло-ТГСК приводит к исчезновению патогномоничных для ПМФ морфологических изменений КМ, что соответствует гистологической ремиссии. Редукция степени миелофиброза и остеосклероза в посттрансплантационных периодах, наряду с восстановлением нормального цикла перестройки трабекулярной кости, свидетельствует о влиянии клеточного микроокружения на патогенез ПМФ и предполагает необходимость изучения состава и гистоархитектоники клеточного микроокружения при ПМФ.

Ключевые слова: первичный миелофиброз, клеточный состав, строма костного мозга, трабекулярная кость, трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, ингибиторы JAK2-тирозинкиназы

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания по теме НИР «Изучение молекулярных, цитогенетических, иммуноморфологических основ патогенеза клональных заболеваний системы крови» 2018–2020 гг. РК № АААА-А18-118012490209-7.

Для цитирования: Чеботарев Д.И., Ковригина А.М., Меликян А.Л., Кузьмина Л.А. Сравнительная характеристика изменений клеточного состава, стромы костного мозга и трабекулярной кости при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных первичным миелофиброзом. Гематология и трансфузиология. 2021; 66(1): 68–78. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2021-66-1-68-78>

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF BONE MARROW CELL COMPOSITION, STROMA, AND TRABECULAR BONE IN ALLOGENIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH PRIMARY MYELOFIBROSIS

Chebotarev D. I.*, Kovrigina A. M., Melikyan A. L., Kuzmina L. A.

National Research Center for Hematology, 125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Primary myelofibrosis (PMF) is a clonal disease violating the cell composition, histological topography and stroma in bone marrow (BM). Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is a curative therapy in PMF.

Aim — description of change in the haematopoietic tissue cell composition and stroma, as well as in trabecular bone in allo-HSCT patients with fibrotic PMF.

Materials and methods. We studied 24 trephine biopsy samples from nine PMF patients with allo-HSCT at the intervals: I — 1 month prior to, II — past 1–3 months and III — past 4–6 months from allo-HSCT. BM trephine biopsy slides were prepared in a standard histological assay with haematoxylin–eosin and additional staining with Gomori's silver and Masson's trichrome. Morphological change was evaluated in reticulin and collagen stroma, bone trabeculae, cellularity and topography of haematopoietic tissue.

Results. The BM trephine biopsies of interval I were morphologically distinguished in three types by haematopoietic cellularity, stromal and trabecular sclerotic change. Post-transplant intervals II and III (3–6 months after allo-HSCT) did not reveal these types but showed an evident myelofibrosis and osteosclerosis reduction and signs of a restoring bone remodelling cycle. Myelopoietic lineages recovered in stages: the erythroid germ restored in three, granulocytic — in six months, and megakaryocytic cellularity did not fully recover in six months. Myelopoietic cellularity recovery outpaced blood recovery, which may be due to induced myelodysplasia or disruption of stromal niches.

Conclusion. Allo-HSCT leads to the disappearance of PMF-pathognomonic BM morphology reflecting a histological remission. The reduction of myelofibrosis and osteosclerosis and normalisation of the trabecular bone remodelling cycle in post-transplant periods indicates an impact of cell microenvironment on PMF pathogenesis and warrants research into the composition and histological topography of cell microenvironment in PMF.

Keywords: primary myelofibrosis, cell composition, bone marrow stroma, trabecular bone, allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, JAK2-tyrosine kinase inhibitors

Conflicts of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the work was performed as part of the state assignment "Study of molecular, cytogenetic and immunomorphological principles of clonal blood disease pathogenesis" No. AAAA-A18-118012490209-7, 2018–2020.

For citation: Chebotarev D.I., Kovrigina A.M., Melikyan A.L., Kuzmina L.A. Comparative characteristics of bone marrow cell composition, stroma, and trabecular bone in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with primary myelofibrosis. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya)*. 2020; 66(1): 68–78 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2021-66-1-68-78>

Введение

Первичный миелофиброз (ПМФ) — клональное заболевание из группы Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний, характеризующееся нарушениями клеточной структуры, гистоархитектоники и стромы костного мозга (КМ). В классификации ВОЗ опухолей гемопоэтической и кроветворной тканей [1] выделяют префиброзную/раннюю и фиброзную стадии ПМФ. Патогномичными изменениями миелопоэза для обеих стадий ПМФ являются пролиферация и атипия мегакариоцитов и расширение гранулоцитарного ростка. Фиброзная стадия ПМФ характеризуется остеосклерозом и фиброзом стромы КМ. Медикаментозная терапия, в том числе селективные ингибиторы *JAК2*-тирозинкиназы, оказывают лишь сдерживающий эффект на прогрессию заболевания [2–4]. В литературе имеются сообщения [5, 6] об излечении больных ПМФ в результате проведения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). В связи с высоким риском развития осложнений, выполнение алло-ТГСК при ПМФ рекомендовано только больным, относящимся к группам промежуточного или высокого риска по критериям DIPSS-plus; MIPSS70-plus [7–9]. Существуют лишь единичные работы, в которых отражена динамика изменений КМ больных ПМФ до и после выполнения алло-ТГСК [10].

Цель исследования — охарактеризовать динамику изменений клеточной структуры и стромы кроветворной ткани, трабекулярной кости при алло-ТГСК у больных фиброзной стадией ПМФ.

Материалы и методы

Характеристика больных. В группу включен материал трепанобиоптатов КМ 9 больных (6 мужчин, 3 женщины) с установленным клиническим и патоморфологическим диагнозом фиброзной/остеосклеротической стадии ПМФ, которым была выполнена алло-ТГСК, наблюдавшихся в НМИЦ гематологии в 2017–2020 гг. Медиана возраста больных — 41 год (от 22 до 58 лет). Медиана наблюдения до выполнения алло-ТГСК — 18 (5–145) мес. У 6 из 9 больных выявлена мутация *JAК2*, у 3 из 9 больных — мутация *САLR*. Перед выполнением алло-ТГСК все больные получали циторедуктивную терапию длительностью от 3 до 57 месяцев (медиана — 7 мес.): 2 больных получали препараты гидроксимочевины, 7 больных — интерферон альфа; у 6 из 9 больных к терапии были добавлены ингибиторы *JAК2*-киназы (руксолитиниб, 1–17 мес., медиана — 5 мес.). У 8 из 9 больных отмечалась спленомегалия, медиана длины селезенки в наибольшем измерении — 215 мм (148–282 мм), у 1 больного ранее была выполнена спленэктомия в связи с травмой селезенки. У всех больных алло-ТГСК выполнялась с немиелоаблативным режимом кондиционирования. У 2 боль-

ных в раннем посттрансплантационном периоде отмечено неприживание трансплантата, в связи с чем им была проведена повторная алло-ТГСК (для одного был выбран немиелоаблативный режим кондиционирования, для другого — миелоаблативный). У 2 больных выполнена алло-ТГСК от HLA-гаплоидентичного донора, у 7 больных — от HLA-идентичного донора. От осложнений, вызванных резистентным течением острой реакции «трансплантат против хозяина», в раннем посттрансплантационном периоде умерли 2 из 9 больных.

Трепанобиоптаты. Проведен ретроспективный анализ материала трепанобиопсий КМ данной группы больных. В исследование включены 24 трепанобиоптата; критериями отбора служили: информативность материала и наличие парафиновых блоков. За точку отсчета принималась дата выполнения алло-ТГСК. Отобранный материал был разделен на три группы в зависимости от времени по отношению к дате выполнения алло-ТГСК:

I. Предтрансплантационный период: за 1 месяц до алло-ТГСК (9 трепанобиоптатов).

II. Ранний посттрансплантационный период: через 1–3 месяца после алло-ТГСК (8 трепанобиоптатов, в том числе один трепанобиоптат после повторной алло-ТГСК).

III. Поздний посттрансплантационный период: через 4–6 месяцев после алло-ТГСК (7 трепанобиоптатов, в том числе один трепанобиоптат после повторной алло-ТГСК).

Методика изготовления препаратов для морфологического исследования трепанобиоптатов КМ включала:

- фиксацию трепанобиоптата КМ в 10%-ном забуференном формалине в течение 12 часов;
- декальцинацию в растворе муравьиной кислоты с дистиллированной водой и формальдегидом в течение 10–12 часов;
- проводку материала: обезвоживание в спиртах и насыщение формалином с использованием автомата для гистологической обработки тканей Leica Pyloris II;
- погружение блоков в парафин с использованием модульного заливочного центра EG1150C;
- микротомию (3–4 микрон) с использованием микротомы Leica RM2235;
- стандартную окраску гематоксилином и эозином;
- гистохимическую окраску с импрегнацией солями серебра по Гомори для визуализации ретикулиновой стромы (коллаген 3-го типа);
- гистохимическую окраску Трихром по Массону для визуализации грубоволокнистого фиброза (коллаген 1-го типа);
- заключение гистологических стекол под покровное стекло в аппаратах Leica ST5020 и Leica CV5030;

- микроскопию гистологических, гистохимических и иммуногистохимических препаратов на световом микроскопе Leica 3000.

Морфологическая характеристика ростков миелопоэза, лимфоидной и плазмоцитарной популяций КМ, признаки дисплазии мегакариоцитарного ростка, признаки атипичности мегакариоцитов, степень ретикулиново-го и коллагенового фиброза стромы, степень остеосклероза оценивались полуколичественно по критериям «Классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей», с учетом «Европейского Консенсуса по определению степени фиброза и оценке клеточности костного мозга» [11]. Для оценки степени фиброза стромы КМ использована 4-балльная шкала: «Marrow Fibrosis (MF) 0–3»; для оценки степени остеосклероза использована 4-балльная шкала: «степень 0–3».

Статистический анализ. С учетом малого объема выборки в статье использован описательный метод статистического анализа. Категориальные признаки представлены в таблицах в виде чисел и процентов, непрерывные — в виде медианы и диапазона.

Результаты

Общая морфологическая характеристика трепанобиоптатов КМ в предтрансплантационном периоде

При первичном анализе материала данной группы отмечалась выраженная гетерогенность морфологической картины, на основании выявленных изменений выделены три морфологических варианта кроветворной ткани в предтрансплантационном периоде:

1. клеточность КМ повышена, наблюдаются характерные изменения ростков миелопоэза: гиперклеточность КМ, расширение гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков (3 трепанобиоптата);

2. клеточность КМ уменьшена вследствие выраженного фиброза стромы и остеосклероза (3 трепанобиоптата) (рис. 1);

3. в условиях различной степени фиброза стромы и остеосклероза выражены изменения ростков миелопоэза: пониженная клеточность КМ, отек стромы, уменьшенное количество мегакариоцитов — признаки лечебного патоморфоза (3 трепанобиоптата).

Характеристика клеточного состава КМ в предтрансплантационном периоде

Кроветворная ткань была распределена равномерно в 4 трепанобиоптатах (преимущественно в 1-м морфологическом варианте). Неравномерное распределение кроветворной ткани наблюдалось во 2-м и 3-м морфологических вариантах (6 трепанобиоптатов). Во 2-м морфологическом варианте отмечалась тенденция к относительному увеличению клеточности в периваскулярных областях, что было обусловлено фиброзными изменениями межтрабекулярных пространств и склеротиче-

скими изменениями костных балок. В 3-м морфологическом варианте отмечалось обеднение клеточными элементами миелопоэза межтрабекулярных зон, относительное увеличение клеточности вдоль сосудов мышечного типа и прикостных синусов.

Во всех морфологических вариантах была выражена атипичность мегакариоцитов. В 7 трепанобиоптатах (преимущественно при 2-м и 3-м морфологических вариантах) признакам атипичности сопутствовали нерезко выраженные черты диспластических изменений мегакариоцитов: нарушение ядерно/цитоплазматического соотношения, встречались клетки мелких размеров с гиперхромией дисморфных/гиполобулярных ядер.

Кластеризация мегакариоцитов не имела связи с морфологическим вариантом, обнаруживалась в 7 трепанобиоптатах. Плотные кластеры встречались в 4 трепанобиоптатах; в 5 трепанобиоптатах атипичные мегакариоциты были расположены разрозненно и/или формировали немногочисленные рыхлые кластеры. Паратрабекулярное расположение мегакариоцитов и их кластеров наблюдалось в 5 трепанобиоптатах; внутрисинусное расположение мегакариоцитов было обнаружено в 3 трепанобиоптатах, вне зависимости от морфологического варианта.

Сужение эритроидного ростка отмечалось в 6 трепанобиоптатах, признаки его омоложения отмечались в 7 трепанобиоптатах. В 3 трепанобиоптатах (в 1-м и 2-м морфологических вариантах) обнаруживались лимфоидные скопления реактивного характера. Увеличение клеточности при ПМФ преимущественно было обусловлено расширением гранулоцитарного

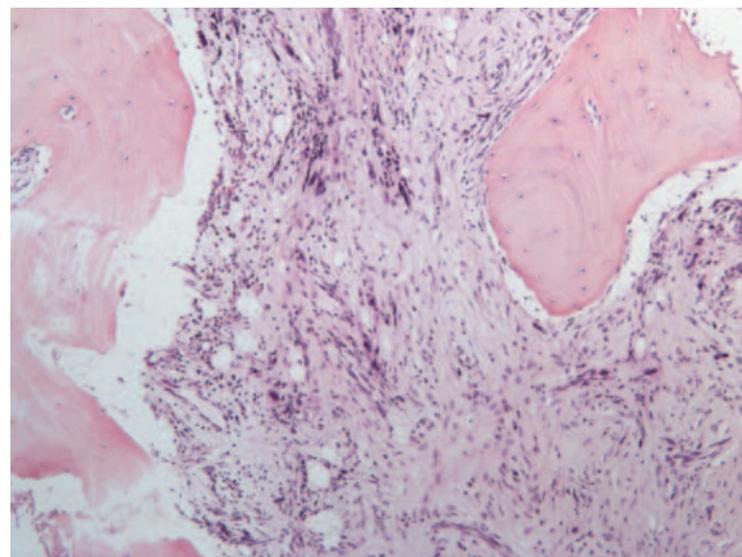


Рисунок 1. Трепанобиоптат КМ больного с остеосклерозом при фиброзной стадии ПМФ, полученный в предтрансплантационном периоде. Второй морфологический вариант: клеточность кроветворной ткани снижена за счет выраженного миелофиброза. Отмечается остеосклероз (степень 2), обусловленный преимущественно структурированным остеоидом. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. ×100

Figure 1. Pre-transplant BM trephine biopsy of osteosclerosis patient with fibrotic PMF. Morphological type 2, haematopoietic cellularity reduced in marked myelofibrosis. Osteosclerosis grade 2 mainly due to structured osteoid. Haematoxylin-eosin, ob. x 100

ростка, что наблюдалось во всех трепанобиоптатах, и было наиболее выражено в 1-м морфологическом варианте. Признаки омоложения гранулоцитарного ростка с преобладанием промежуточных форм наблюдались в 3-м морфологическом варианте (2 трепанобиоптата) и во 2-м морфологическом варианте (1 трепанобиоптат). В 1-м морфологическом варианте отмечались очаговые рыхлые скопления эозинофильных гранулоцитов (2 трепанобиоптата).

Сравнительная характеристика клеточного состава КМ и гистоархитектоники клеточных элементов в предтрансплантационном, раннем и позднем посттрансплантационных периодах приведены в таблице 1.

В предтрансплантационном периоде при сопоставлении морфологической картины с показателями крови

отмечалась гетерогенность: в 1-м и 2-м морфологических вариантах (с развернутой морфологической картиной ПМФ) медианы концентраций гемоглобина и эритроцитов составляли 70,5 г/л и $2,48 \times 10^{12}/л$ соответственно; в 3-м морфологическом варианте (с выраженными морфологическими признаками лечебного патоморфоза) медианы этих показателей составляли 115 г/л и $3,97 \times 10^{12}/л$ соответственно.

Характеристика стромы КМ в предтрансплантационном периоде

В 7 трепанобиоптатах степень ретикулинового фиброза стромы, вне зависимости от морфологических вариантов, соответствовала MF-3. Остеосклероз соответствовал степени 3 в 4 трепанобиоптатах; сте-

Таблица 1. Сравнительная характеристика кроветворной ткани в пред- и посттрансплантационных периодах (относительно возрастной нормы)

Table 1. Comparative haematopoietic tissue profile in pre- and post-transplant periods (age-relative)

Параметр Parameter	Полуколичественная оценка (относительно возрастной нормы) Semi-quantitative assessment (relative to age norm)	Период, % случаев Period, % of cases				
		I	II	III		
Клеточность КМ согласно критериям [11] Bone marrow cellularity according to criteria [11]	Повышена Elevated	34	0	0		
	Нормальная Normal	0	37,5	14		
	Понижена Decreased	66	62,5	86		
Клеточность ростков миелопоэза Cellularity of myelopoietic cell lineages	Эритроидный Erythroid	Расширен Elevated	0	12,5	0	
		Норма Normal	33	37,5	29	
		Сужен Decreased	66	50	71	
	Миелоидный Myeloid	Расширен Elevated	33	12,5	0	
		Норма Normal	0	12,5	43	
		Сужен Decreased	66	75	57	
	Мегакариоцитарный Megakaryocytic	Расширен Elevated	56	0	0	
		Норма Normal	11	0	14	
		Сужен Decreased	33	12,5	43	
		Единичные клетки Single cells	0	87,5	43	
	Расположение кроветворной ткани, % от площади костномозговых полостей Haematopoietic tissue distribution, % of bone marrow cavities	Периваскулярное Perivascular	> 30 %	56	62,5	71
		Паратрабекулярное Paratrabecular	> 30 %	33	12,5	22
Межтрабекулярное Intertrabecular		> 30 %	22	50	57	
Очаговые скопления эозинофильных гранулоцитов Focal clusters of eosinophilic granulocytes		22	0	0		

Таблица 2. Сравнительная характеристика медианы и стандартного отклонения значений показателей крови в предтрансплантационном и посттрансплантационном периодах

Table 2. Comparison of blood median and standard deviation values in pre- and post-transplant periods

Период Period	Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$ Erythrocytes, $\times 10^{12}/\text{L}$	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, $\times 10^9/\text{L}$	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Platelets, $\times 10^9/\text{L}$	Гематокрит Hematocrit	Кальций общий, ммоль/л Total Calcium, mmol/L	ЛДГ, Ед./л LDH, U/L
I	72 ± 25,7	2,70 ± 0,88	4,8 ± 3,2	149 ± 91	0,23 ± 0,07	2,24 ± 0,14	1 300 ± 400
II	83 ± 17,9	2,86 ± 0,42	1,0 ± 1,2	44 ± 63	0,25 ± 0,05	2,33 ± 0,09	606 ± 141
III	108 ± 20,4	3,21 ± 0,49	3,7 ± 2,4	146 ± 87	0,32 ± 0,06	2,29 ± 0,18	347 ± 88

Примечание: ЛДГ — лактатдегидрогеназа.

Note: *LDH — lactate dehydrogenase.

пени 2 — в 2 трепанобиоптатах; степени 1 — в 3 трепанобиоптатах. Различий степени фиброза стромы и остеосклероза в зависимости от длительности терапии и препарата выбора не отмечалось.

В 1 трепанобиоптате с 3-м морфологическим вариантом у больного, длительность наблюдения за которым составила 145 мес., получавшего терапию ингибиторами JAK2 в течение 17 мес., степень фиброза стромы не превышала MF-1, остеосклероз соответствовал степени 1.

Во всех морфологических вариантах отмечался отек стромы, обусловленный проводимой в предтрансплантационном периоде циторедуктивной терапией. Наиболее выражен отек стромы был у больных, которым проводилась терапия ингибиторами JAK2.

Характеристика трабекулярной кости в предтрансплантационном периоде

Остеосклероз характеризовался формированием на «материнской» балке трабекулярной кости новых костных структур, что постепенно приводило к облитерации костномозговых полостей. В структуре остеосклеротических изменений трабекулярной кости выделили следующие морфологические формы: подпериостальные и надпериостальные депо бесструктурного бесклеточного остеоида, депо бесструктурного остеоида с замурованными остеоцитами, структурированный остеоид с соосными линиями цементации (рис. 2).

Связи структуры остеосклеротических изменений с морфологическим вариантом не отмечалось. В 7 трепанобиоптатах остеосклероз был обусловлен в равной степени бесклеточным остеоидом, остеоидом с остеоцитами и структурированным остеоидом. Костномозговые полости были сужены в 5 трепанобиоптатах. В 2 трепанобиоптатах больных, получавших терапию ингибиторами JAK2-тирозинкиназы, в структуре остеосклероза более 66 % площади занимал структурированный остеоид. В 3 трепанобиоптатах (преимущественно в 3-м морфологическом

варианте) отмечались единичные мелкие фокусы активации надкостницы. В 1 трепанобиоптате обнаружены единичные остеокласты. Изменения стромы кроветворной ткани и трабекулярной кости приведены в таблице 3.

Общая морфологическая характеристика трепанобиоптатов КМ в раннем и позднем посттрансплантационных периодах

Во II–III посттрансплантационных периодах не удалось проследить три морфологических варианта, выделенных в предтрансплантационном периоде. В первом посттрансплантационном периоде отмечалось исчезновение атипичных мегакариоцитов ($p = 0,018$). В трех трепанобиоптатах, полученных от 3 больных с изна-

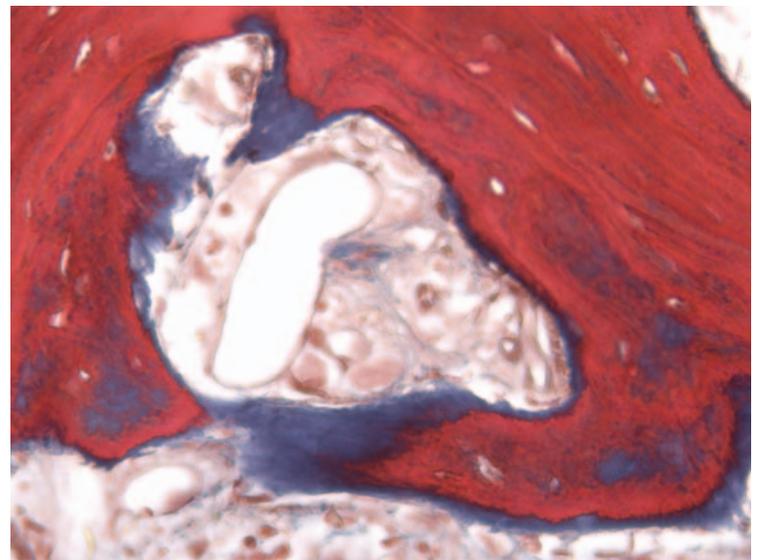


Рисунок 2. Трепанобиоптат КМ больного с остеосклерозом при фиброзной стадии ПМФ, полученный в предтрансплантационном периоде. Бесструктурный остеоид (волокнистые структуры синего цвета), остеоид с остеоцитами (аморфные скопления вещества красного цвета «вкраплениями» вещества синего цвета). Структурированный остеоид дифференцируется нечетко. Окраска Трихром по Массону. Ув. $\times 400$

Figure 2. Pre-transplant BM trephine biopsy of osteosclerosis patient with fibrotic PMF. Unstructured osteoid (blue fibrous structures), osteoid with osteocytes (amorphous red clusters with bluish inclusions). Structured osteoid differentiated unclearly. Masson's trichrome, ob. $\times 400$

Таблица 3. Сравнительная характеристика степени фиброза стромы КМ и остеосклероза в пред- и посттрансплантационных периодах
Table 3. Grading of BM stromal fibrosis and osteosclerosis in pre- and post-transplant periods

Период Period	Фиброз стромы (% случаев) Myelofibrosis (% of cases)				Остеосклероз (% случаев) Osteosclerosis (% of cases)			
	MF-0	MF-1	MF-2	MF-3	Степень 0 Grade 0	Степень 1 Grade 1	Степень 2 Grade 2	Степень 3 Grade 3
I	0	11	11	78	0	33	22	44
II	25	25	37,5	12,5	37,5	25	25	12,5
III	57	28,6	14,3	0	29	71	0	0

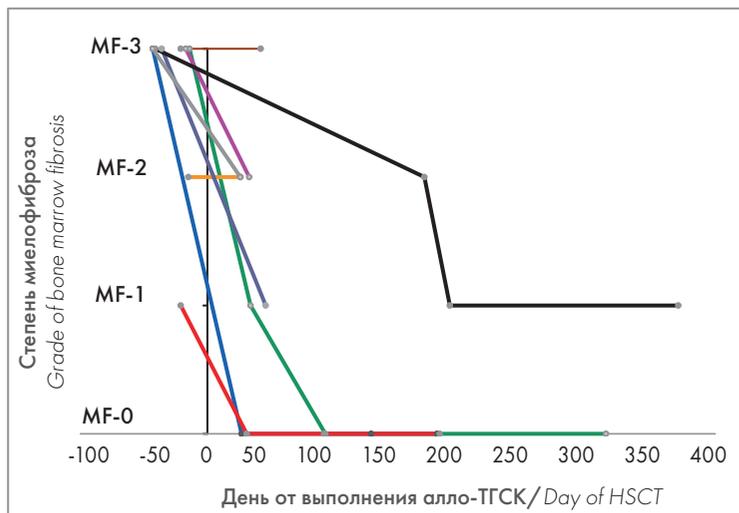


Рисунок 3. Изменения степени миелофиброза в зависимости от времени относительно дня выполнения алло-ТГСК. Различными цветами обозначены отдельные пациенты, точками обозначены исследования трепанобиоптатов костного мозга.
Figure 3. Changes in the degree of myelofibrosis depending on the time relative to the day of allo-HSCT. Different colours indicate different patients, points correspond to studies of bone marrow biopsies

начально гиперклеточной кроветворной тканью, наблюдалось уменьшение клеточности в сторону возрастной нормы ($p = 0,12$); в 4 из 6 трепанобиоптатов, полученных от 6 больных, с изначально пониженной клеточностью кроветворной ткани, наблюдалось увеличение клеточности в сторону возрастной нормы ($p = 0,34$), в 6 из 9 трепанобиоптатов (полученных от 9 больных) наблюдалось уменьшение степени миелофиброза ($p = 0,25$) и степени остеосклероза ($p = 0,25$) (рис. 3).

Характеристика клеточного состава КМ в раннем и позднем посттрансплантационном периодах

При оценке в посттрансплантационных периодах морфологическая картина во всех трепанобиоптатах характеризовала гистологическую ремиссию миело-пролиферативного заболевания (в соответствии с критериями ELN 2013 [12]) (рис. 4). Кроветворная ткань была расположена крайне неравномерно (рис. 5). Восстановление ростков миелопоэза происходило преимущественно в периваскулярных областях, с постепенной колонизацией межтрабекулярных областей. Первым восстанавливался эритроидный росток, во всех наблюдениях количество эритрокарицитов

приближалось к норме во 2–4-м месяце, гранулоцитарный росток во II и III периодах был значительно омоложен, восстановление его клеточности происходило к 6-му месяцу наблюдения. Полноценного восстановления клеточности мегакариоцитарного ростка к 6-му месяцу не происходило (табл. 1). В посттрансплантационном периоде отсутствовали признаки атипичии мегакариоцитов, не обнаруживались скопления эозинофильных гранулоцитов.

Во II периоде, по сравнению с I периодом, усиливалась выраженность морфологических признаков, охарактеризованных как индуцированная реактивная миелодисплазия: нарушение ядерно/цитоплазматического соотношения и множественные голоядерные формы мегакариоцитов; наличие примеси мегалобластоидных форм эритрокариоцитов; наличие отдельных клеток гранулоцитарного ростка с псевдопельгероидной аномалией. В III периоде отмечался регресс выраженности данных морфологических признаков.

Во II периоде 5 из 8 трепанобиоптатов были получены у больных, донорское кроветворение у которых составляло менее 100 % (25–96 %). При сопоставлении морфологической картины с тремя трепанобиоптатами, полученными у больных со 100 % донорским химеризмом, отличий в динамике восстановления кроветворной ткани не отмечалось.

Характеристика стромы КМ в раннем и позднем посттрансплантационных периодах

К 6 мес. наблюдения степень ретикулинового фиброза MF-0 обнаруживалась в 4 трепанобиоптатах, MF-1 — в 2 трепанобиоптатах. Признаки грубоволокнистого фиброза (MF-2) сохранялись в 1 трепанобиоптате (табл. 3).

Во II периоде отек стромы был выражен в 6 трепанобиоптатах; в III периоде отек стромы наблюдался в 1 трепанобиоптате. В костномозговых полостях, ранее выполненных фиброзной тканью, одной из первых восстанавливалась популяция жировых клеток и занимала более 30 % площади костномозговых полостей: во II периоде — в 4 трепанобиоптатах, в III периоде — в 7 трепанобиоптатах, вне зависимости от возраста больного.

К 3-му месяцу после алло-ТГСК в 3 трепанобиоптатах, полученных у 3 больных, у которых было 100%-ное

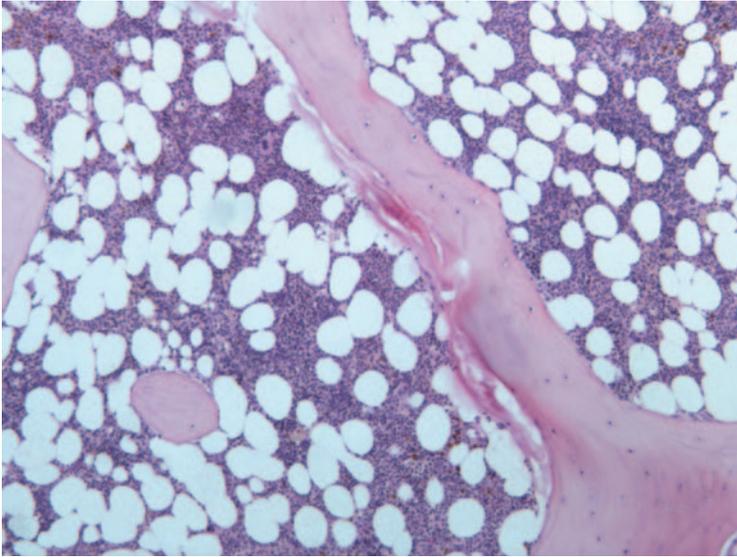


Рисунок 4. Трепанобиоптат КМ больного с остеосклерозом при фиброзной стадии ПМФ, полученный в «позднем» посттрансплантационном периоде. Отмечается морфологическая ремиссия ПМФ: восстановление клеточности КМ (относительно возрастной нормы), отсутствие атипичных мегакариоцитов. Отмечается нормализация структуры трабекулярной кости. Умеренно выражен гемосидероз. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. ×100

Figure 4. Late post-transplant BM trephine biopsy of osteosclerosis patient with fibrotic PMF. Morphological PMF remission, restoring BM cellularity (age-relative), absent atypical megakaryocytes. Restoring trabecular bone structure. Moderate haemosiderosis. Haematoxylin–eosin, ob. x 100

донорское кроветворение, отмечался регресс выраженности миелофиброза: с MF-3 до MF-1 (1 трепанобиоптат), с MF-3 до MF-0 (1 трепанобиоптат), с MF-1 до MF-0 (1 трепанобиоптат); и степени остеосклероза: со степени 3 до степени 2, со степени 2 до степени 1 и со степени 1 до степени 0 соответственно. В трепанобиоптатах, полученных у больных, у которых был неполный донорский химеризм (5 трепанобиоптатов), степень фиброза стромы не изменилась (3 трепанобиоптата) или снизилась с MF-3 до MF-2 (2 трепанобиоптата); степень остеосклероза снизилась со степени 3 до степени 2 (1 трепанобиоптат) и со степени 1 до степени 0 (2 трепанобиоптата); не изменилась — в 2 трепанобиоптатах.

К 6-му месяцу после алло-ТГСК в 5 трепанобиоптатах, полученных у 5 больных, у которых было 100%-ное донорское кроветворение, отмечается регресс степени фиброза стромы с MF-3 до MF-0 (2 трепанобиоптата), с MF-3 до MF-1 (1 трепанобиоптат), с MF-1 до MF-0 (2 трепанобиоптата); остеосклероз — со степени 3 до степени 1 (1 трепанобиоптат), со степени 2 до степени 1 (2 трепанобиоптата), и со степени 1 до степени 0 (2 трепанобиоптата).

У больных, у которых сохранялось собственное кроветворение (2 трепанобиоптата, 2 больных), степень фиброза стромы КМ уменьшилась с MF-3 до MF-2 (1 трепанобиоптат), с MF-3 до MF-1 (1 трепанобиоптат); степень остеосклероза уменьшилась со степени 3 до степени 1 (1 трепанобиоптат).

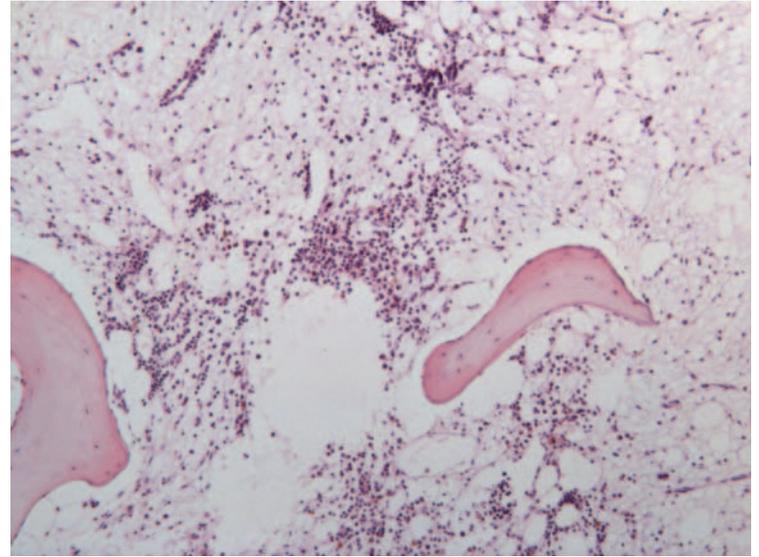


Рисунок 5. Трепанобиоптат КМ больного с остеосклерозом при фиброзной стадии ПМФ, полученный в «раннем» посттрансплантационном периоде. Отмечается выраженный отек стромы. Кроветворная ткань распределена преимущественно периваскулярно: присутствуют островки эритрокариоцитов, клеточные элементы гранулоцитарного роста на разных этапах дифференцировки. Мегакариоциты не обнаруживаются. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. ×100

Figure 5. Early post-transplant BM trephine biopsy of osteosclerosis patient with fibrotic PMF. Marked stromal oedema. Haematopoietic tissue mainly perivascular, erythrocyte islets, granulocytic germ in different differentiation stages. Megakaryocytes undetected. Haematoxylin–eosin, ob. x 100

Характеристика трабекулярной кости в раннем и позднем посттрансплантационных периодах

В посттрансплантационных периодах структура остеосклероза оценивалась в трепанобиоптатах со степенью остеосклероза степени 1 и более: 6 из 8 трепанобиоптатов во II периоде и 4 из 7 трепанобиоптатов в III периоде. Во II и III периодах основным субстратом остеосклероза был структурированный остеоид (рис. 6), который, при полуколичественной оценке, занимал более 50 % площади остеосклеротически измененных балок, соответственно, в 6 и 4 трепанобиоптатах. Во II и III периодах бесструктурный остеоид и остеоид с остеоцитами суммарно занимали более 30 % площади остеосклеротически измененных балок в половине случаев.

Во II и III периодах фокусы реакции надкостницы отмечались в 6 трепанобиоптатах; фокусы остеокластической резорбции костных балок — в 5 трепанобиоптатах.

Обсуждение

Восстановление кроветворной ткани в раннем и позднем посттрансплантационных периодах носило преимущественно очаговый периваскулярный характер, с постепенной колонизацией всего объема полостей: в периваскулярных зонах так же, как и в условиях «физиологической нормы», формировались колонии кроветворной ткани. Первым восстанавливался эритроидный росток, затем — гранулоцитарный росток,

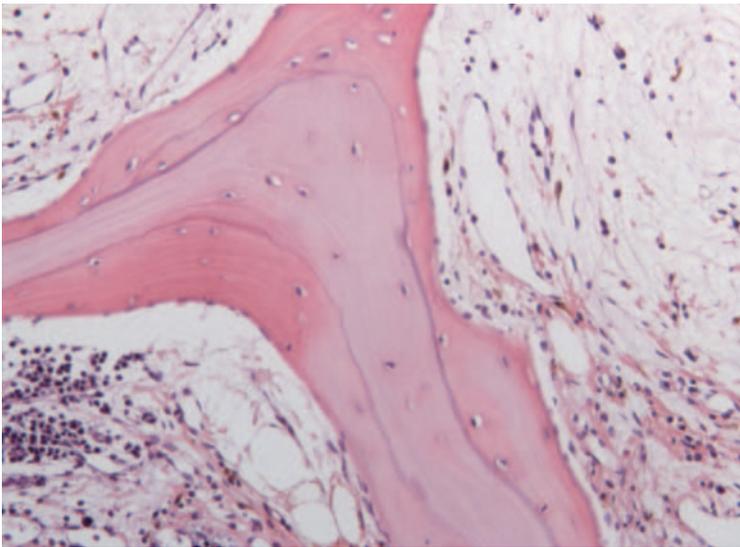


Рисунок 6. Трепанобиоптат КМ больного с остеосклерозом при фиброзной стадии ПМФ, полученный в позднем посттрансплантационном периоде. Минерализация остеоида в посттрансплантационном периоде: уменьшение количества бесструктурного остеоида за счет появления остеоцитов, формирование соосных линий цементации (структурированного остеоида) и новообразованной кости, четко отграниченной от «материнской» балки. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. ×100

Figure 6. Late post-transplant BM trephine biopsy of osteosclerosis patient with fibrotic PMF. Post-transplant osteoid mineralisation, reduced unstructured osteoid due to osteocyte growth, forming coaxial cementation (structured osteoid) and new bone clearly demarcated from maternal trabecula. Haematoxylin-eosin, ob. x 100

затем — клетки мегакариопоэза. Количество тромбоцитов и лейкоцитов периферической крови было сопоставимо с восстановлением клеточности соответствующих ростков в КМ.

Восстановление клеточности эритроидного ростка, которое наблюдалось в первые месяцы после алло-ТГСК, опережало восстановление до нормальных значений концентраций гемоглобина и эритроцитов (медиана показателей не достигла нормальных значений к 6-му месяцу после алло-ТГСК) что не сопоставимо со временем созревания эритроцитов, которое составляет от 18 до 21 дня [13] и может быть связано с явлениями индуцированного дизэритропоэза и, как следствие, частично неэффективным эритропоэзом в раннем посттрансплантационном периоде. Подобная динамика сопоставима с восстановлением кроветворной ткани в экспериментах по воздействию ионизирующего излучения на кроветворную ткань [14]. Во II периоде динамика восстановления ростков миелопоэза определяется соотношением кроветворение донора/кроветворение реципиента.

Нормальный процесс перестройки костной ткани происходит циклично, в несколько этапов: покой, активация остеокластов, остеокластическая резорбция, реверсия (фагоцитоз разрушенного костного матрикса, инактивация остеокластов), активация остеобластов (osteoblastic reaction) и формирование нового матрикса; цикл завершается «фазой покоя». Osteoblastic reaction характеризуется укрупнением групп клеток надкостницы (покоящихся пре-osteoblasts) с приобретением ими призматической

формы, увеличением объема цитоплазмы — дифференцировкой в остеобласты, покрывающие вновь образованный слой остеоида [15, 16].

При ПМФ клональные атипичные мегакариоциты индуцируют патологический цикл ремоделирования трабекулярной кости, что опосредовано индукцией пролиферации остеобластов с одновременным ингибированием функции остеокластов [17–19]. Такой патологический цикл перестройки приводит к неконтрольному избыточному формированию белкового матрикса кости — остеоида. В случаях фиброзной стадии ПМФ, согласно полученным в настоящей работе данным, отмечается уменьшение количества остеокластов (единичные остеокласты обнаруживаются в 1 из 9 трепанобиоптатов), что приводит к дефициту звена резорбции в цикле перестройки костных балок. На светооптическом уровне пролиферация остеобластов не отмечалась. Таким образом, интерес представляет формирование массивных депозитов остеоида без остеобластической реакции: массы бесструктурного остеоида формируют депозиты под и над периостом; последние без ограничивающей роли надкостницы экспансивно распространяются в просвет костномозговых полостей.

В I периоде в 4 трепанобиоптатах, полученных у больных, получавших терапию ингибиторами JAK2, наблюдался частично сохранный цикл перестройки кости: присутствовали единичные остеокласты (в 1 трепанобиоптате), фокусы надкостничной реакции на единичных балках (в 3 трепанобиоптатах), что приводило к увеличению доли структурированного остеоида в составе остеосклероза. Однако при медиане длительности терапии 5 мес. в трепанобиоптатах этих больных, полученных в I периоде, степень остеосклероза превышает степень 2. Напротив, к 6 мес. после алло-ТГСК ни в одном трепанобиоптате не было отмечено остеосклероза степени 2 и 3.

В раннем и позднем посттрансплантационных периодах увеличивалось количество остеокластов, которые встречались в 5 и 3 трепанобиоптатах соответственно, и фокусов остеобластической реакции, которые обнаруживались в 6 и 4 трепанобиоптатах соответственно. Эти признаки были расценены как процесс восстановления нормального цикла перестройки кости. В отдельных наблюдениях, в раннем и позднем посттрансплантационных периодах увеличивалась доля структурированного остеоида (формирование соосных линий цементации, сглаживание «наростов»), и составляла более 50 % в 6 и 5 трепанобиоптатах соответственно, что было расценено как процесс структурирования ранее сформированных депозитов бесструктурного остеоида.

После выполнения алло-ТГСК больным ПМФ при наблюдении в течение 6 мес. отмечался регресс степени фиброза стромы КМ и остеосклероза. Резорбция ретикулиновых волокон (коллаген 3-го типа) протекала менее интенсивно по сравнению с коллагеном

1-го типа (грубоволокнистый склероз). К 6 мес. после алло-ТГСК MF-3 не был обнаружен ни в одном трепанобиоптате; MF-2 обнаруживался в 1 трепанобиоптате; MF-0 отмечался в 4 трепанобиоптатах (табл. 2).

Ограниченный объем выборки (9 больных) не позволяет осуществить полноценную проверку статистических гипотез об изменениях ряда характеристик КМ в результате алло-ТГСК. Однако, если формально оценивать преобладание положительной динамики над отрицательной, то у 8 из 9 больных после алло-ТГСК наблюдалась положительная динамика изменений морфологической картины КМ в виде исчезновения атипичных мегакариоцитов, изменения клеточности КМ в сторону возрастной нормы, уменьшение степени выраженности миелофиброза и остеосклероза.

Литература

1. Swerdlow S., Campo E., Harris N., et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th ed. Lyon France: IARC Press; 2017: 174–7.
2. Schiebler M., Crispino J.D., Stein B. Myelofibrosis in 2019: Moving beyond JAK2 inhibition. *Blood Cancer J.* 2019; 9: 74. DOI: 10.1038/s41408-019-0236-2.
3. Harrison C.N., Schaap N., Mesa R.A. Management of myelofibrosis after ruxolitinib failure. *Ann Hematol.* 2020; 99: 1177–91. DOI: 10.1007/s00277-020-04002-9.
4. Bose P., Verstovsek S. JAK2 inhibitors for myeloproliferative neoplasms: What is next? *Blood.* 2017; 130(2): 115–25. DOI: 10.1182/blood-2017-04-742288.
5. Ballen K., Shrestha S., Sobocinski K., et al. Outcome of transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019; 16(3): 358–67. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.10.025.
6. McLornan D., Yakoub-Agha I., Robin M., et al. State-of-the-art review: Allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis in 2019. *Haematologica.* 2019; 104: 659–68. DOI: 10.3324/haematol.2018.206151.
7. Gangat N., Caramazza D., Vaidya R., et al. DIPSS Plus: A refined dynamic international prognostic scoring system for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol.* 2011; 29(4): 392–7. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.2446.
8. Guglielmelli P., Lasho T., Rotunno G., et al. MIPSS70: Mutation-enhanced international prognostic score system for transplantation-age patients with primary myelofibrosis. *J Clin Oncol.* 2018; 36(4): 310–8. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.4886.
9. Меликян А.Л., Ковригина А.М., Суборцева И.Н. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз). *Гематология и трансфузиология.* 2018; 63(3): 275–315. DOI 10.25837/HAT.2019.51.8.
10. Барабанщикова М.В., Морозова Е.В., Байков В.В. и др. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при миелофиброзе. *Клиническая онкогематология.* 2016; 9(3): 279–86.
11. Thiele J., Kvasnicka H.M., Facchetti F., et al. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica.* 2005; 90(8): 1128–32.
12. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood.* 2013; 122(6): 872–84. DOI: 10.1182/blood-2013-05-501569.

У всех больных после алло-ТГСК в раннем и позднем посттрансплантационных периодах (1–6 мес.) достигнута гистологическая ремиссия. Таким образом, полученные данные о динамике восстановления кровяной ткани, редукции фиброза стромы и склероза трабекулярной кости у больных ПМФ после алло-ТГСК свидетельствуют об эффективности данного метода лечения, позволяющего достигнуть гистологической ремиссии. Особый интерес представляют морфологические признаки восстановления нормального цикла перестройки кости, наблюдавшиеся в трепанобиоптатах КМ больных, получавших терапию ингибиторами *JAK2* в предтрансплантационном периоде, аналогичные таковым в трепанобиоптатах, полученных у больных после алло-ТГСК.

References

1. Swerdlow S., Campo E., Harris N., et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th ed. Lyon France: IARC Press; 2017: 174–7.
2. Schiebler M., Crispino J.D., Stein B. Myelofibrosis in 2019: Moving beyond JAK2 inhibition. *Blood Cancer J.* 2019; 9: 74. DOI: 10.1038/s41408-019-0236-2.
3. Harrison C.N., Schaap N., Mesa R.A. Management of myelofibrosis after ruxolitinib failure. *Ann Hematol.* 2020; 99: 1177–91. DOI: 10.1007/s00277-020-04002-9.
4. Bose P., Verstovsek S. JAK2 inhibitors for myeloproliferative neoplasms: What is next? *Blood.* 2017; 130(2): 115–25. DOI: 10.1182/blood-2017-04-742288.
5. Ballen K., Shrestha S., Sobocinski K., et al. Outcome of transplantation for myelofibrosis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019; 16(3): 358–67. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.10.025.
6. McLornan D., Yakoub-Agha I., Robin M., et al. State-of-the-art review: Allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis in 2019. *Haematologica.* 2019; 104: 659–68. DOI: 10.3324/haematol.2018.206151.
7. Gangat N., Caramazza D., Vaidya R., et al. DIPSS Plus: A refined dynamic international prognostic scoring system for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol.* 2011; 29(4): 392–7. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.2446.
8. Guglielmelli P., Lasho T., Rotunno G., et al. MIPSS70: Mutation-enhanced international prognostic score system for transplantation-age patients with primary myelofibrosis. *J Clin Oncol.* 2018; 36(4): 310–8. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.4886.
9. Melikyan A.L., Kovrigina A.M., Subortseva I.N., et al. National clinical recommendations on diagnosis and treatment of Ph-negative myeloproliferative diseases (polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis). *Gematologiya I Transfusiologiya.* 2018; 63(3): 275–315. DOI 10.25837/HAT.2019.51.8. (In Russian).
10. Barabanshikova M.V., Morozova E.V., Baykov V.V., et al. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in myelofibrosis. *Klinicheskaya Onkogematologiya.* 2016; 9(3):297–86. (In Russian).
11. Thiele J., Kvasnicka H.M., Facchetti F., et al. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica.* 2005; 90(8): 1128–32.
12. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood.* 2013; 122(6): 872–84. DOI: 10.1182/blood-2013-05-501569.

13. Keohane E., Smith L., Rodak B., et al. Rodak's hematology: Clinical principles and applications, 5th ed. St. Louis: Elsevier/Saunders; 2016.
14. Груздев Г.П. Острый радиационный костномозговой синдром. Москва: Медицина; 1988: 144 с.
15. Денисов-Никольский Ю.И., Докторов А.А., Пак Г.Ч. Морфофункциональная характеристика эндоста в связи с проблемой ремоделирования кости. Архив патологии. 1998; 60(5): 19.
16. Кириллова И.А. Костная ткань как основа остеопластических материалов для восстановления костной структуры. Хирургия позвоночника. 2011; (1): 68–74. DOI: 10.14531/ss2011.1.68-74.
17. Schmidt A., Blanchet O., Dib M., et al. Bone changes in myelofibrosis with myeloid metaplasia: A histomorphometric and microcomputed tomographic study. Eur J Haematol. 2007; 78: 500–9. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2007.00852.x.
18. Ciovacco W.A., Cheng Y.H., Horowitz M.C., Kacena M.A. Immature and mature megakaryocytes enhance osteoblast proliferation and inhibit osteoclast formation. J Cell Biochem. 2010; 109(4): 774–81. DOI: 10.1002/jcb.22456.
19. Malara A., Abbonante V., Di Buduo C.A., et al. The secret life of a megakaryocyte: Emerging roles in bone marrow homeostasis control. Cell Mol Life Sci. 2015; 72: 1517–36. DOI: 10.1007/s00018-014-1813-y.

Информация об авторах

Чеботарев Дмитрий Ильич^{*}, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: chebadmitry@gmail.com
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0354-2361>

Ковригина Алла Михайловна, доктор биологических наук, заведующая патологоанатомическим отделением, ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: kovrigina.alla@gmail.com
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

Меликян Анаит Леоновна, доктор медицинских наук, заведующая отделением стандартизации методов лечения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: anoblood@mail.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2119-3775>

Кузьмина Лариса Анатольевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением интенсивной высокодозной химиотерапии и трансплантации костного мозга, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: kuzmina.l@blood.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 23.08.2020

Принята в печать: 12.01.2021

13. Keohane E., Smith L., Rodak B., et al. Rodak's hematology: Clinical principles and applications, 5th ed. St. Louis: Elsevier / Saunders; 2016.
14. Gruzdev G.P. Acute radiation-induced bone marrow syndrome. Moscow, Medicine, 1988: 144 p. (In Russian).
15. Denisov-Nikolsky U.I., Doktorov A.A., Pak G.C. Morphology and function of endosteum in bone remodelling. Archiv Pathologii. 1998; 60(5): 19. (In Russian).
16. Kirillova I.A. Osseous tissue as backbone of osteoplastic reconstruction materials. Hirurgiya Pozvonochnika. 2011;(1):68–74. DOI: 10.14531/ss2011.1.68-74. (In Russian).
17. Schmidt A., Blanchet O., Dib M., et al. Bone changes in myelofibrosis with myeloid metaplasia: A histomorphometric and microcomputed tomographic study. Eur J Haematol. 2007; 78: 500–9. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2007.00852.x.
18. Ciovacco W.A., Cheng Y.H., Horowitz M.C., Kacena M.A. Immature and mature megakaryocytes enhance osteoblast proliferation and inhibit osteoclast formation. J Cell Biochem. 2010; 109(4): 774–81. DOI: 10.1002/jcb.22456.
19. Malara A., Abbonante V., Di Buduo C.A., et al. The secret life of a megakaryocyte: Emerging roles in bone marrow homeostasis control. Cell Mol Life Sci. 2015; 72: 1517–36. DOI: 10.1007/s00018-014-1813-y.

Information about the authors

Dmitry I. Chebotarev^{*}, Pathologist, Pathology Department, National Research Center for Hematology, e-mail: chebadmitry@gmail.com
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0354-2361>

Alla M. Kovrigina, Dr. Sci. (Biol.), Head of Pathology Department, National Research Center for Hematology, e-mail: kovrigina.alla@gmail.com
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

Anahit L. Melikyan, Dr. Sci. (Med.), Head of Department of Standardization of Treatment Methods, National Research Center for Hematology, e-mail: anoblood@mail.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2119-3775>

Larisa A. Kuzmina, Cand. Sci. (Med.) Head of Department of Intensive High-Dose Chemotherapy and Bone Marrow Transplantation, National Research Center for Hematology, e-mail: kuzmina.l@blood.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6201-6276>

*** Corresponding author**

Received 23.08.2020

Accepted 12.01.2021