

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-1-128-138>

CC BY 4.0

Использование многоцветной проточной цитометрии для диагностики макроглобулинемии Вальденстрема

И.В. Гальцева, Ю.А. Цой, А.Е. Грачев, Н.М. Капранов, К.А. Никифорова, Ю.О. Давыдова, А.А. Куликов, Е.Е. Звонков, Е.Н. Паровичникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4

Контакты: Ирина Владимировна Гальцева galtseva.i@blood.ru

Макроглобулинемия Вальденстрема – лимфоплазмочитарная лимфома, морфологическим субстратом которой являются В-лимфоциты, проплазмциты, а также плазматические клетки. Всемирная организация здравоохранения для диагностики данного заболевания рекомендует в клинической практике использовать метод многоцветной проточной цитометрии и анализировать такие маркеры, как IgM, CD19, CD20, CD22, CD25, CD10, CD23, CD103, CD138.

Опираясь на международный и собственный опыт, мы рекомендуем врачам анализировать отдельно опухолевые В-лимфоциты и плазматические клетки при диагностике макроглобулинемии Вальденстрема, так как иммунофенотипический профиль этих популяций различается. В диагностике такой подход дает более полное представление о вкладе различных субпопуляций в опухолевую массу, а при мониторинге минимальной остаточной болезни помогает обнаружить опухолевый клон, который после терапии преимущественно представлен плазматическими клетками. Мы рекомендуем для иммунофенотипического исследования опухолевого субстрата при макроглобулинемии Вальденстрема использовать антитела к поверхностным и внутриклеточным маркерам, таким как CD138, CD38, CD19, CD45, CD20, CD22, CD27, $\text{cyt}\kappa$, $\text{cyt}\lambda$ и cytIgM .

Ключевые слова: макроглобулинемия Вальденстрема, лимфоплазмочитарная лимфома, многоцветная проточная цитометрия, В-лимфоциты, плазматические клетки

Для цитирования: Гальцева И.В., Цой Ю.А., Грачев А.Е. и др. Использование многоцветной проточной цитометрии для диагностики макроглобулинемии Вальденстрема. Онкогематология 2025;20(1):128–38.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-1-128-138>

Multicolor flow cytometry in the diagnosis of Waldenstrom macroglobulinemia

I.V. Galtseva, Yu.A. Tsoy, A.E. Grachev, N.M. Kapranov, K.A. Nikiforova, Yu.O. Davydova, A.A. Kulikov, E.E. Zvonkov, E.N. Parovichnikova

National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Contacts: Irina Vladimirovna Galtseva galtseva.i@blood.ru

Waldenstrom macroglobulinemia is a lymphoplasmacytic lymphoma, the morphological substrates of which are B-lymphocytes, proplasmocytes, and plasma cells. The World Health Organization recommends multicolor flow cytometry with analysis of markers such as IgM, CD19, CD20, CD22, CD25, CD10, CD23, CD103, CD138, for diagnosing this disease.

Based on international and our own experience, we recommend that tumor B-lymphocytes and plasma cells be analyzed separately for the diagnosis of Waldenstrom macroglobulinemia, since the immunophenotypic profile of these populations differs. In diagnostics, this approach provides a more complete understanding of various subpopulations contribution, and when monitoring minimal residual disease, it helps to detect the tumor clone, which after therapy is predominantly represented by plasma cells. We recommend using antibodies to surface and intracellular markers such as CD138, CD38, CD19, CD45, CD20, CD22, CD27 $\text{cyt}\kappa$, $\text{cyt}\lambda$ and cytIgM for immunophenotypic testing of Waldenstrom macroglobulinemia.

Keywords: Waldenstrom macroglobulinemia, lymphoplasmacytic lymphoma, multicolor flow cytometry, B-lymphocytes, plasma cells

For citation: Galtseva I.V., Tsoy Yu.A., Grachev A.E. et al. Multicolor flow cytometry in the diagnosis of Waldenstrom macroglobulinemia. Onkogematologiya = Oncohematology 2025;20(1):128–38. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-1-128-138>

Введение

Лимфоплазмочитарная лимфома (ЛПЛ) — новообразование из мелких В-лимфоцитов, проплазмочитов и плазматических клеток (ПК), поражающее костный мозг, а в ряде случаев — лимфатические узлы и селезенку [1, 2]. Из ЛПЛ небольшая часть приходится на лимфомы, секретирующие иммуноглобулины (Ig) А, G, несекретирующие ЛПЛ и IgM-ЛПЛ без поражения костного мозга. Остальные 95 % составляет IgM-секретирующая макроглобулинемия Вальденстрема (МВ) [3–10]. Впервые МВ была описана в 1944 г. Я.Г. Вальденстромом, который сообщил о 2 пациентах с носовыми кровотечениями, анемией, лимфаденопатией и гипергаммаглобулинемией [11].

Макроглобулинемия Вальденстрема составляет <2 % от всех неходжкинских лимфом [12]. Это редкое новообразование, ежегодная заболеваемость которым составляет 3–4 случая на 1 млн человек. Средний возраст больных — 70 лет, соотношение мужчин и женщин 2:1 [10, 13–17]. Медиана общей выживаемости составляет 5 лет [18]. Около 40 % пациентов живут в течение 10 лет, но, так как МВ в основном диагностируется в пожилом возрасте, половина пациентов умирают из-за сопутствующих заболеваний [19]. Согласно Международной прогностической шкале по макроглобулинемии Вальденстрема (International Prognostic Scoring System for Waldenstrom Macroglobulinemia, IPSSWM), неблагоприятными факторами для МВ являются возраст старше 65 лет, уровень гемоглобина <115 г/л, тромбоцитов <100 × 10⁹/л, β₂-микроглобулина >3 мг/л и концентрация моноклонального IgM >70 г/л [20].

По типу течения заболевания выделяют тлеющую и симптоматическую МВ. Симптоматическая МВ характеризуется опухолевой инфильтрацией костного мозга, органомегалией и/или симптомами, связанными с секрецией моноклонального белка. Этот вариант заболевания требует начала противоопухолевой терапии. Диагноз тлеющей МВ устанавливается пациентам, у которых также происходит инфильтрация костного мозга лимфоцитами и ПК, но отсутствуют специфические симптомы, характерные для МВ: лимфаденопатия, спленомегалия и анемия [1]. Пациенты с тлеющей МВ не нуждаются в проведении специфической терапии, так как в этом случае лечение не улучшает качество жизни и не увеличивает выживаемость [21].

Выделяют также IgM-моноклональную гаммапатию неутонченного значения (МГНЗ). Такой диагноз устанавливается в случаях, если уровень IgM ≤30 г/л. Никаких симптомов при этом не наблюдается, инфильтрация костного мозга лимфоплазмочитарными клетками отсутствует [1]. Со временем IgM-МГНЗ и тлеющая МВ могут трансформироваться в симптоматическую МВ, поэтому необходимо динамическое наблюдение за пациентами с этими заболеваниями [22–24].

В ряде источников описана семейная предрасположенность к МВ [25–34]. В исследовании S.P. Treon

и соавт. показано, что у 18,7 % пациентов с МВ был 1 родственник 1-й степени родства с МВ или другим В-клеточным заболеванием, включая неходжкинскую лимфому, хронический лимфолейкоз (ХЛЛ), МГНЗ, лимфому Ходжкина и множественную миелому [30]. В исследовании S.Y. Kristinsson и соавт. у родственников 1-й степени родства пациентов с МВ был выявлен повышенный риск развития МВ, неходжкинской лимфомы, ХЛЛ и МГНЗ, а риск развития лимфомы Ходжкина и множественной миеломы не подтвержден [34]. МВ у пациентов с отягощенным семейным анамнезом дебютирует в более молодом возрасте и протекает с более тяжелым поражением костного мозга [30, 33].

Биология и диагностика макроглобулинемии Вальденстрема

Ранние В-клетки в костном мозге подвергаются реаранжировке гена *V(D)J*, ответственного за синтез Ig. В результате этого процесса образуется более триллиона различных генов, что обеспечивает уникальность каждого В-лимфоцита. Однако существуют еще 2 механизма, которые вносят генетическое разнообразие во время созревания В-клеток в герминальном центре. Первый называется соматической гипермутацией и вызывает точечные мутации в уже перестроенных генах. Второй — рекомбинация с переключением классов изотипов. Наиболее широко распространено предположение, что неопластические клетки МВ происходят в результате остановки развития IgM⁺ В-клеток, которые подверглись соматической гипермутации до переключения изотипа в герминальном центре [35, 36]. Это объясняет секрецию опухолевыми клетками IgM и их морфологическую гетерогенность. Данные более поздних работ свидетельствуют о выраженной внутриклональной диверсификации [37].

Неопластические клетки МВ представлены малыми лимфоцитами, плазмочитоидными лимфоцитами и ПК [38]. Наличие многочисленных тучных клеток в костном мозге также является характерным признаком МВ. В некоторых работах приводятся данные, что большая доля тучных клеток связана с агрессивными проявлениями опухоли и плохим клиническим прогнозом. Они накапливаются по мере развития онкологического процесса и могут быть вовлечены в развитие рецидива [39, 40].

Соотношение опухолевых клеток разных стадий созревания может варьировать [38]. Хотя в дебюте заболевания В-лимфоциты обычно преобладают у пациентов с МВ, именно компармент ПК сохраняется после курсов химиотерапии и составляет минимальную остаточную болезнь [41–43]. Кроме того, ПК вносят значительный вклад в клиническую картину пациента, так как именно они секретируют парапротеин IgM [41, 44–46]. В классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2017 г. подчеркивается, что парапротеин IgM может секретироваться при других

лимфопролиферативных заболеваниях (ХЛЛ, лимфома клеток маргинальной зоны селезенки, фолликулярная лимфома, лимфома клеток мантии, диффузная В-крупноклеточная лимфома и др.), а также у пациентов без онкологического процесса [4]. Следовательно, для верификации диагноза МВ всегда должен быть использован комплекс рекомендуемых исследований [47].

Помимо парапротеина, у пациентов с МВ также выявляются характерные молекулярные маркеры. S. P. Treon и соавт. опубликовали результаты исследования, в котором показано, что мутация в гене *MYD88* (*MYD88^{L265P}*) выявляется более чем в 90 % случаев МВ [48]. Эти данные подтверждены в ряде независимых исследований [49–54]. *MYD88^{L265P}* долгое время считали причиной развития МВ, так как в ранних исследованиях эта мутация не была обнаружена в В-клетках здоровых доноров, а также в образцах здоровых тканей пациентов с МВ [48]. Данные более поздних исследований показали, что мутация *MYD88^{L265P}* может присутствовать в нормальных предшественниках и зрелых В-лимфоцитах у пациентов с В-клеточными лимфомами. Однако имеются данные, согласно которым для запуска развития опухолевого процесса, помимо мутации в гене *MYD88*, требуются дополнительные генетические изменения [55]. *MYD88^{L265P}* помогает в дифференциальной диагностике лимфопролиферативных заболеваний. Эта мутация никогда не встречается у пациентов с множественной миеломой, обнаруживается примерно в 2 % случаев ХЛЛ и примерно в 12 % при лимфоме маргинальной зоны селезенки [49, 50, 52, 56–58].

Приблизительно у 30 % пациентов с МВ выявлены мутации, которые расположены в С-концевом домене *CXCR4* (хемокиновый рецептор типа 4) [59, 60]. Мутации в гене *CXCR4* связаны с общей выживаемостью и клиническим течением МВ [57, 61].

Все перечисленные особенности опухолевых клеток включены в диагностические критерии МВ, приведенные в 5-м издании классификации ВОЗ [62]:

1. Основные диагностические критерии:

- 1) инфильтрация костного мозга >10 % малыми лимфоцитами с плазмацитоидной и/или плазмочитарной дифференцировкой (диффузная, интерстициальная или нодулярная);
- 2) иммунофенотип опухолевых клеток: IgM⁺, CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD25⁺, CD10⁺, CD23⁺, CD103⁺, CD138^{+/–}.

2. Вспомогательные диагностические критерии:

- 1) выявление мутации *MYD88*;
- 2) выявление соматической мутации *CXCR4*;
- 3) секреция моноклонального IgM в любом количестве.

Одним из важных критериев является иммунофенотип опухолевых клеток. Остановимся на нем подробнее. На основе данных литературы и собственного опыта мы представим иммунофенотипические особенности опухолевых клеток МВ и предложим набор

моноклональных антител, которые будут наиболее полезны в диагностике этого заболевания.

Имунофенотип нормальных В-клеток и плазматических клеток

Морфологический метод является «золотым стандартом» диагностики неопластических заболеваний крови, однако у него есть существенные ограничения. Он не позволяет дифференцировать опухолевую инфильтрацию от реактивного лимфоцитоза. Чтобы избежать диагностических ошибок, помимо цитологических исследований, следует также использовать другие лабораторные методы. Такой инструмент, как многоцветная проточная цитометрия (МПЦ), позволяет отличить опухолевые лимфоциты от реактивных. МПЦ выполняет многопараметрический анализ большого количества клеток за короткий промежуток времени. Важным преимуществом метода является то, что информация собирается для каждой анализируемой клетки, а не усредняется для всего исследуемого образца. Благодаря иммунофенотипическим особенностям и/или рестрикции свободных легких цепей (СЛЦ) В-клеток и ПК МПЦ позволяет отличить нормальные клетки от неопластических при В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях [62, 63]. Несмотря на то что МПЦ может охарактеризовать популяцию опухолевых клеток как качественно, так и количественно, особенностью метода считается то, что из-за многоступенчатого преаналитического этапа и возможного эффекта разведения образца костного мозга периферической кровью соотношение клеточных популяций может быть нарушено [64–66]. Поэтому использование только МПЦ недостаточно для установления диагноза МВ [1].

Популяция опухолевых клеток МВ варьирует от мелких лимфоцитов до ПК. Дифференцировка В-лимфоцитов сопровождается отчетливыми изменениями экспрессии множества поверхностных антигенов [67]. Семь антигенов — CD19, CD20, CD22, CD27, CD38, CD45 и CD138 — особенно информативны для оценки стадии развития В-клеток [68, 69].

Рассмотрим антигенную дифференцировку В-клеток. Зрелые В-лимфоциты имеют высокую плотность экспрессии маркеров CD19, CD20, CD22, CD45, варибельный CD38, а CD138 на этих клетках отсутствует [67, 70–72]. Антиген CD27 не экспрессируется на наивных В-лимфоцитах, но обнаруживается на В-клетках памяти после антигенной стимуляции [72–74]. Во время дифференцировки часть В-клеток памяти превращается в клетки, секретирующие антитела — проплазмциты, которые могут быть обнаружены в периферической крови здорового человека, а также в костном мозге, где они эволюционируют в долгоживущие ПК [75]. Проплазмциты имеют высокую плотность экспрессии CD19 и CD45, но в отличие от В-клеток памяти частично утрачивают CD20 и CD22 и начинают с небольшой плотностью экспрессировать

CD38 и CD138 [69, 70, 72]. Экспрессия маркера CD27 на проплазмочитах больше, чем на В-клетках памяти. ПК имеют уникальный фенотипический профиль: коэкспрессируют CD38, CD138 и CD27, имеют гетерогенную экспрессию CD19 и CD45, а В-клеточные антигены CD20 и CD22 на них полностью отсутствуют [76–81].

Аналогично нормальным клеткам фенотип опухолевых В-лимфоцитов и ПК различается по ряду антигенов, поэтому необходимо анализировать эти популяции методом МПЦ отдельно друг от друга. Однако многие исследовательские группы описывают суммарный иммунофенотип всех аномальных клеток, что приводит к различным, а иногда и противоречивым результатам [82, 83]. Даже в классификации ВОЗ указан совокупный иммунофенотип опухолевых клеток. Но с учетом международного и собственного опыта целесообразно определять иммунофенотипические особенности отдельно опухолевых В-лимфоцитов и опухолевых ПК [84].

Иммунофенотип опухолевых клеток макроглобулинемии Вальденстрема **Антигенный профиль опухолевых В-лимфоцитов, проплазмочитов и плазматических клеток**

Все В-клеточные лимфомы идентифицируются на основе экспрессии специфичных для В-клеток антигенов (CD19, CD20 и CD22) и монотипичности, которая определяется рестрикцией по СЛЦ Ig [71]. Некоторые лимфопролиферативные заболевания имеют характерный иммунофенотип. Например, клетки ХЛЛ экспрессируют CD5, CD23 и CD200. Лимфома клеток мантии, как и ХЛЛ, положительна по CD5, но отрицательна по CD23 и CD200 [85, 86]. Фолликулярная лимфома положительна по CD10, в то время как для других В-мелкоклеточных лимфом экспрессия этого маркера не характерна [87]. Антиген CD13 может быть обнаружен на клетках ЛПЛ, однако этот маркер отсутствует на клетках фолликулярной лимфомы [71, 88]. При множественной миеломе опухоль представлена клоном ПК с целым рядом характерных особенностей иммунофенотипа, отличающих эти клетки от нормальных ПК, например наличием CD56 и отсутствием CD19, CD27 и CD45 на опухолевых клетках [81, 89]. В отличие от перечисленных лимфом, клетки МВ не имеют ярко выраженных характерных аберраций [66, 90]. Однако некоторые иммунофенотипические особенности все же существуют. Сначала рассмотрим иммунофенотип опухолевых В-клеток в костном мозге.

По данным J.F. San Miguel и соавт., экспрессия CD45 на опухолевых и нормальных В-лимфоцитах не различалась, но в исследовании A. Paulus и соавт., проведенном на клеточной культуре, в небольшом числе случаев плотность экспрессии CD45 была снижена на опухолевых В-клетках [91, 92]. Опухолевые В-лимфоциты положительны по CD19, однако плотность

экспрессии этого маркера может снижаться на неопластических клетках по сравнению с нормальными [22, 36, 43, 90–93]. Все В-лимфоциты МВ положительны по CD20 [36, 92–94]. По данным J.F. San Miguel и соавт., у пациентов экспрессия этого антигена на неопластических клетках была такая же, как и на нормальных В-клетках [91]. Экспрессия CD22 на клетках МВ ниже по сравнению с нормальными зрелыми В-лимфоцитами [22, 91, 92]. Для опухолевых В-клеток экспрессия CD138 не характерна. В исследовании J. Kriangkum и соавт. показано, что этот маркер может обнаруживаться на небольшой подгруппе В-лимфоцитов МВ [94]. Однако авторы отнесли эти клетки к В-клеткам только по экспрессии на их поверхности CD20 без учета экспрессии CD38 и CD27. Мы считаем, что это могли быть ПК с CD20, так как наличие маркера CD138 не характерно для В-лимфоцитов. Экспрессия CD38 на В-клетках МВ была ниже, чем экспрессия этого маркера на нормальных В-лимфоцитах здоровых доноров [68].

Экспрессия антигена CD27 на опухолевых В-лимфоцитах при МВ вариабельна. Отсутствие этого маркера встречается чаще, чем его наличие [71, 94]. Результаты исследования иммунофенотипа изолированных опухолевых В-клеток показали, что плотность экспрессии CD27 на них была ниже, чем на В-клетках здоровых доноров [68, 93]. Этот маркер часто фигурирует в работах о происхождении опухолевых В-лимфоцитов. По результатам молекулярного исследования установлено, что CD27-положительные и отрицательные опухолевые клетки имели одинаковый профиль экспрессии генов [95]. Существуют гипотеза, что опухолевые клетки теряют CD27 по мере прогрессирования заболевания, а также предположение, что клетки МВ являются «потомками» В-лимфоцита, который во время своего развития обошел герминальный центр [37, 94, 95]. Происхождение опухолевых клеток МВ требует дальнейшего изучения [96].

Данные об иммунофенотипе популяции проплазмочитов, промежуточных клеток между зрелыми В-лимфоцитами и ПК, в литературе встречаются редко. Эти клетки методом МПЦ можно выделить по физическим параметрам прямого и бокового светорассеяния [91]. На проплазмочитах обнаружены яркий CD38, как на здоровых ПК, но сниженный относительно них уровень экспрессии антигена CD138, а также высокая плотность экспрессии CD19, CD20, как на нормальных В-лимфоцитах [91].

В работе J.K. Shrimpton получены интересные результаты об экспрессии маркеров CD38 и CD138 на проплазмочитах. В культуре клеток МВ между 6-м и 13-м днями культивирования в дополнение к популяции проплазмочитов (CD38⁺CD138⁻) и ПК (CD38⁺CD138⁺) появляется популяция CD38⁻CD138⁺-клеток, представляющая собой промежуточную стадию. Часть этих клеток со временем начинает экспрессировать CD38. Время появления этих клеток позволяет предположить, что

популяция $CD38^-CD138^+$ может быть еще не описанной плазмобластоподобной промежуточной популяцией, возникающей в результате селективного давления или нарушения регуляции транскрипции. Эта популяция сохраняется в каждом образце не менее 14 дней. Появление клеток с иммунофенотипом $CD38^-CD138^+$ у пациентов с МВ может иметь потенциальные последствия для терапии, так как эти клетки будут устойчивы одновременно к даратумумабу и ритуксимабу, поскольку на них отсутствуют маркеры $CD20$ и $CD38$. По некоторым данным, предшественники клеток $CD38^-CD138^+$ могут встречаться и у здоровых людей, но их роль не определена и требует дальнейшего изучения [68]. На рис. 1 приведены собственные данные, где среди $CD138^+$ -клеток костного мозга имеется популяция $CD38^-$ -клеток (информации о терапии моноклональными антителами нет).

Плазматические клетки при МВ имеют небольшие размеры по показателю прямого светорассеяния, а экспрессия на них $CD138$ и $CD38$ может быть ниже, чем на нормальных ПК [42, 43, 93]. По сравнению с В-клетками опухолевые ПК демонстрируют более яркую цитоплазматическую экспрессию IgM, но гетерогенную экспрессию $CD19$ и $CD45$, как и нормальные ПК [42, 43, 97]. Характерной особенностью иммунофенотипа ПК МВ является то, что в отличие от нормальных ПК опухолевые при МВ часто экспрессируют $CD20$ [22], а иногда и $CD22$. У пациентов со сниженной экспрессией $CD20$ на ПК наблюдается и более низкая экспрессия $CD19$ [91]. На рис. 2 приведена цитометрическая иллюстрация опухолевых ПК и В-лимфоцитов пациента с МВ и типичными aberrациями иммунофенотипа на неопластических клетках.

На сегодняшний день многоцентровых исследований в области диагностики МВ методом МПЦ не проводилось [13], но на основе данных литературы и собственного опыта составлена таблица с иммунофеноти-

пическими отклонениями в 3 клеточных популяциях МВ (табл. 1).

Таблица 1. Особенности иммунофенотипа клеток макроглобулинемии Вальденстрема

Table 1. The immunophenotype features of Waldenstrom macroglobulinemia cells

Опухолевые клетки Tumor cells	Особенности иммунофенотипа Immunophenotype features	
	Частые aberrации Frequent aberrations	Наблюдения, нуждаются в дальнейших исследованиях Observations that need further research
В-клетки B-cells	$CD19^{dim}$, $CD22^{dim}$, $CD38^{dim}$	$CD45^{dim}$; $CD20^{high}$
Проплазмocyты Proplasmocytes	—	$CD38^-CD138^+$
Плазматические клетки Plasma cells	$cytIgM^{high}$; $CD20^+$	$CD38^{dim}$; $CD138^{dim}$, $CD22^+$

Помимо распространенных антигенов, исследовательские группы ищут новые маркеры, которые могут помочь дифференцировать опухолевые клетки от нормальных, а также отличить МВ от других типов мелко-клеточных лимфом. Множество работ посвящено изучению антигенов $CD5$ и $CD10$ на клетках МВ, так как они могут быть полезны в диагностике В-клеточных злокачественных новообразований. В классификации ВОЗ указано, что опухолевые клетки МВ, как правило, являются отрицательными по $CD5$ и $CD10$, в то время как исследователи описывают вариabельную экспрессию этих маркеров [36, 38, 43, 87, 91, 92, 98, 99]. При IgA и IgG ЛПЛ экспрессия этих маркеров также гетерогенна [8].

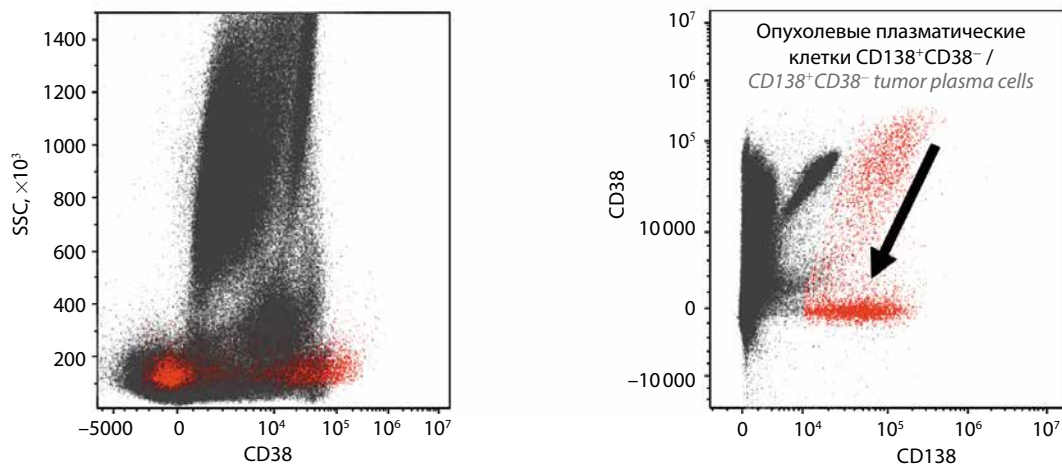


Рис. 1. Наличие у пациентки с прогрессией макроглобулинемии Вальденстрема популяции монотипических плазматических клеток $CD138^+CD38^-$. Опухолевые плазматические клетки обозначены красным, прочие клетки костного мозга — серым

Fig. 1. $CD138^+CD38^-$ monotypic plasma cells in a patient with progressive Waldenstrom macroglobulinemia. Tumor plasma cells are red, while other bone marrow cells are gray

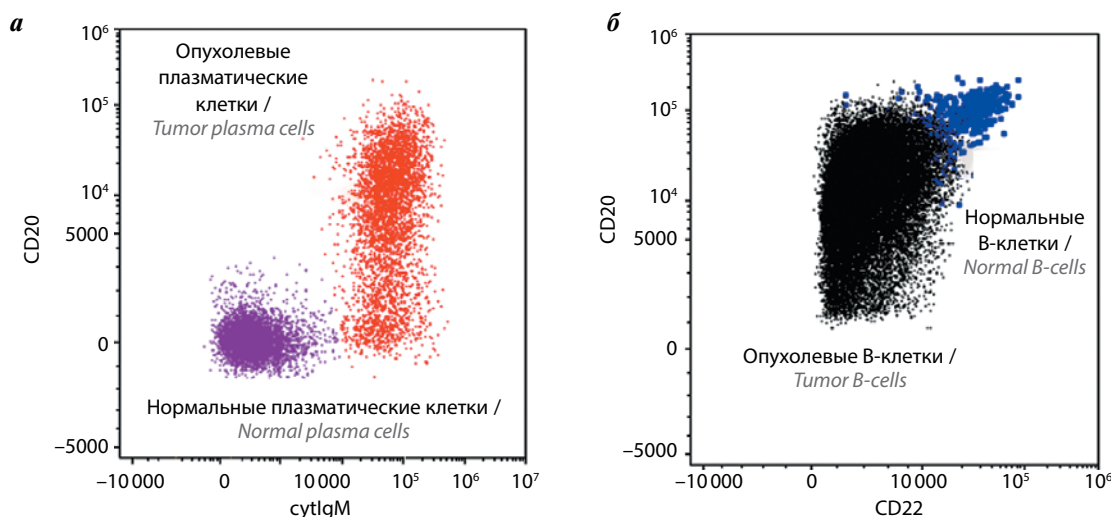


Рис. 2. Расположение плазматических клеток (а) и В-лимфоцитов (б) 1 образца на точечных графиках. На опухолевых плазматических клетках (выделены красным) показана aberrantная экспрессия иммуноглобулина (Ig) М и CD20 по сравнению с нормальными плазматическими клетками (выделены фиолетовым). На опухолевых В-клетках (выделены черным) показана характерная для макроглобулинемии Вальденстрема сниженная экспрессия CD20 и CD22

Fig. 2. The location of plasma cells (a) and B-lymphocytes (b) on dot graphs. Tumor plasma cells (red) have aberrant immunoglobulin (Ig) M and CD20 expression compared to normal plasma cells (purple). The tumors B-cells (black) have low expression of CD20 and CD22 characteristic of Waldenstrom macroglobulinemia

Интересно, что при наличии В-клеточных антигенов CD19, CD20, CD21, CD22 и CD24 В-клетки пациентов с МВ часто утрачивают CD23 [71]. В исследовании S. Konoplev и соавт. в случае экспрессии этого маркера клетками МВ наблюдался повышенный уровень парапротеина IgM, что может быть дополнительной информацией для планирования тактики лечения [90].

VS38 (цитоскелет-заякоренный мембранный белок 63 на шероховатом эндоплазматическом ретикулуле) ярко окрашивает нормальные В-клетки памяти, составляющие небольшую популяцию костного мозга. Опухолевые клетки ЛПЛ с высокой плотностью экспрессируют VS38, вследствие чего можно сделать вывод, что он способен помочь отличать нормальные В-клетки от атипичных. Однако данный подход не универсален, так как у 1 пациента в исследовании S. Mizuta и соавт. этот маркер отсутствовал на опухолевых клетках [71].

В исследовании В. Paiva и соавт. показано, что экспрессия CD305 была гетерогенна на нормальных В-клетках и гомогенна на неопластических, что позволяет использовать этот маркер для разделения нормальных и опухолевых В-лимфоцитов [100].

Антиген CD103, характерный для опухолевых клеток волосатоклеточного лейкоза, отсутствует на клетках МВ [91]. Аналогично CD56, который часто положителен при множественной миеломе, на клетках МВ не экспрессируется [91]. Лимфома клеток маргинальной зоны имеет гетерогенную экспрессию CD25 на опухолевых клетках, а на клетках МВ этот маркер экспрессируется с высокой плотностью [100]. В исследовании S. Konoplev и соавт. экспрессия CD25 была положительной только в 71 % случаев МВ. Таким образом, антигены CD103, CD56, CD25 могут быть

использованы в дифференциальной диагностике МВ методом МПЦ [90].

Свободные легкие цепи иммуноглобулинов

Из всего перечисленного становится ясно, что только на основе антигенного профиля сложно, а порой и невозможно установить наличие лимфопролиферативного заболевания, а также разделить нормальные и неопластические клетки. Исследование СЛЦ Ig в цитоплазме В-лимфоцитов и ПК методом МПЦ помогает решить эту проблему [62, 63]. Каждая В-клетка и ПК производит 1 уникальный вид Ig, который включает либо κ -, либо λ -легкую цепь. Соотношение κ и λ в нормальной популяции лимфоцитов находится в диапазоне 1:3...3:1 [101]. Выявление монотипичных лимфоцитов в образце позволяет отличить неопластические клетки от нормальных [64, 71, 81]. На рис. 3, 4 представлены собственные цитометрические иллюстрации экспрессии СЛЦ κ и λ в опухолевых ПК и В-клетках.

Однако всегда необходимо помнить об ограничениях метода в случае низкой опухолевой нагрузки или наличия у пациента 2 опухолей, секретирующих разные СЛЦ. Также нельзя забывать, что нормальное соотношение СЛЦ может варьировать между лабораториями [63], поэтому каждой исследовательской группе необходимо установить собственные референсные интервалы, чтобы избежать ложноотрицательных или ложноположительных результатов. Секретция СЛЦ клетками МВ встречается примерно в 3 раза чаще, чем λ [43, 90, 91]. В-лимфоциты и ПК у 1 пациента с МВ вырабатывают Ig с одинаковой СЛЦ, что является еще одним доказательством общности происхождения этих клеток [43, 102].

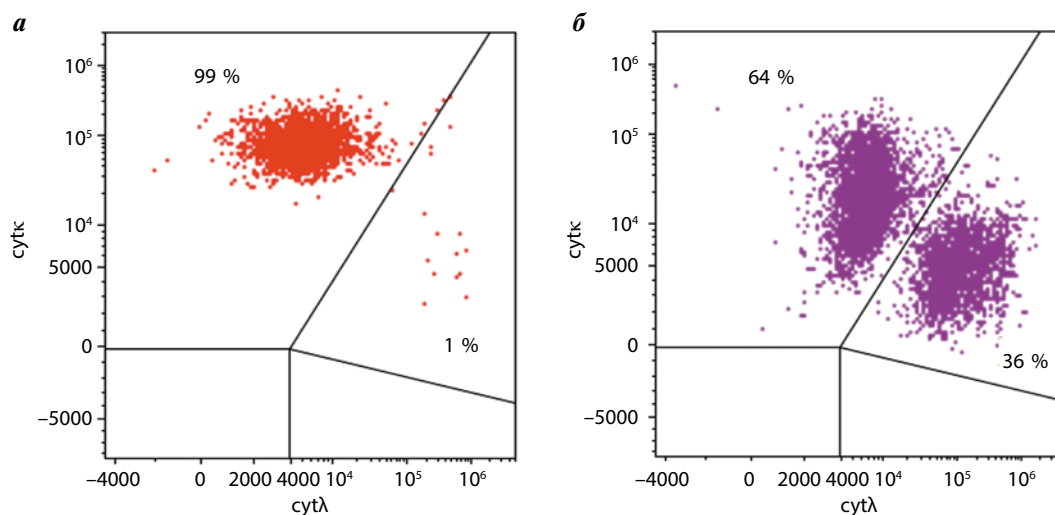


Рис. 3. Определение опухолевых плазматических клеток по соотношению легких цепей иммуноглобулинов (Ig) $\text{cytIg}\kappa$ против $\text{cytIg}\lambda$: а — популяция опухолевых плазматических клеток с рестрикцией $\text{cytIg}\kappa$; б — популяция нормальных плазматических клеток с нормальным соотношением (2:1) легких цепей Ig

Fig. 3. Tumor plasma cells by the ratio of $\text{cytIg}\kappa$ and $\text{cytIg}\lambda$ immunoglobulins (Ig) light chains: а — tumor plasma cells with restriction $\text{cytIg}\kappa$; б — normal plasma cells with a normal ratio (2:1) of Ig light chains

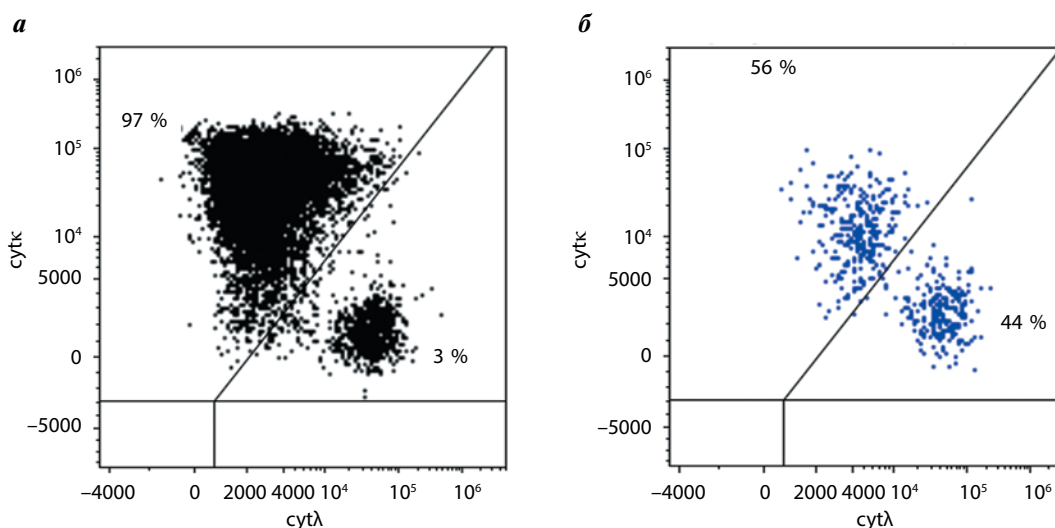


Рис. 4. Определение опухолевых В-клеток по соотношению легких цепей иммуноглобулинов (Ig) $\text{cytIg}\kappa$ против $\text{cytIg}\lambda$: а — популяция опухолевых В-клеток с рестрикцией $\text{cytIg}\kappa$; б — популяция нормальных В-клеток с нормальным соотношением (2:1) легких цепей Ig

Fig. 4. Tumor B-cells by the ratio of $\text{cytIg}\kappa$ and $\text{cytIg}\lambda$ immunoglobulins (Ig) light chains: а — tumor B-cells cells with restriction $\text{cytIg}\kappa$; б — normal B-cells with a normal ratio (2:1) of Ig light chains

Рестрикция к или λ СЛЦ определяется с помощью внутриклеточного окрашивания образца. В цитоплазме можно окрасить еще один значимый диагностический маркер, а именно IgM [94]. IgM помогает разделению опухолевых и нормальных клеток методом МПЦ в нашей практике. Он особенно полезен для выделения опухолевых ПК: в дебюте МВ опухолевые ПК будут положительны по IgM, в то время как практически все нормальные ПК отрицательны.

Таким образом, для диагностики МВ методом МПЦ мы рекомендуем анализировать антигены CD138, CD38, CD19, CD45, CD20, CD22, CD27 на мембране клеток и СЛЦ κ , λ и IgM в цитоплазме.

Заключение

Несмотря на достижения в диагностике лимфо-пролиферативных заболеваний, не существует морфологических, иммунофенотипических или генетических аномалий, характерных только для МВ. Ни один из диагностических критериев в отдельности не способен достоверно отличить МВ от других видов опухолевого поражения. Проточная цитометрия является важным вспомогательным инструментом для решения возникающих диагностических трудностей. Правильно собранная панель моноклональных антител позволяет не только помочь поставить диагноз МВ, но и в некоторых случаях отличить ее от других лимфом.

Мы рекомендуем использовать антитела против антигенов CD19, CD20, CD22, CD27, CD38, CD45 и CD138 в диагностической панели для того, чтобы выделить В-лимфоциты и ПК в образце костного мозга. Обязательно применять цитоплазматическое окрашивание СЛЦ к, λ и IgM, которые необходимы для разделения

популяций нормальных и опухолевых В-клеток и ПК. В качестве дополнительных антигенов можно использовать CD5, CD10, CD13, CD23, CD25, CD56, CD103, CD200 и CD305. Работа с такой панелью моноклональных анти-тел требует более чем 10-цветного проточного цитометра и высокой компетенции сотрудников лаборатории.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Owen R.G., Treon S.P., Al-Katib A. et al. Clinicopathological definition of Waldenstrom's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia. *Semin Oncol* 2003;30(2):110–5. DOI: 10.1053/sonc.2003.50082
- Campo E., Swerdlow S.H., Harris N.L. et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011;117(19):5019–32. DOI: 10.1182/blood-2011-01-293050
- Alaggio R., Amador C., Anagnostopoulos I. et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* 2022;36(7):1720–48. DOI: 10.1038/s41375-022-01620-2
- Swerdlow S.H., Cook J.R., Sohani A.R. et al. Lymphoplasmacytic lymphoma. In: WHO classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Eds.: S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris et al. France: IARC, 2017. Pp. 232–235.
- Tursz T., Brouet J.C., Flandrin G. et al. Clinical and pathologic features of Waldenström's macroglobulinemia in seven patients with serum monoclonal IgG or IgA. *Am J Med* 1977;63(4):499–502. DOI: 10.1016/0002-9343(77)90193-0
- Cao X., Medeiros L.J., Xia Y. et al. Clinicopathologic features and outcomes of lymphoplasmacytic lymphoma patients with monoclonal IgG or IgA paraprotein expression. *Leuk Lymphoma* 2016;57(5):1104–13. DOI: 10.3109/10428194.2015.1096357
- Varettoni M., Boveri E., Zibellini S. et al. Clinical and molecular characteristics of lymphoplasmacytic lymphoma not associated with an IgM monoclonal protein: a multicentric study of the Rete Ematologica Lombarda (REL) network. *Am J Hematol* 2019;94(11):1193–9. DOI: 10.1002/ajh.25600
- Castillo J.J., Itchaki G., Gustine J.N. et al. A matched case-control study comparing features, treatment and outcomes between patients with non-IgM lymphoplasmacytic lymphoma and Waldenström macroglobulinemia. *Leuk Lymphoma* 2020;61(6):1388–94. DOI: 10.1080/10428194.2020.1719100
- Qiu L., Nwogbo O.V., Medeiros L.J. et al. Lymphoplasmacytic lymphoma with IgG or IgA paraprotein: a study of 29 cases including cases that can mimic plasma cell neoplasms. *Hum Pathol* 2022;130:47–57. DOI: 10.1016/j.humpath.2022.10.005
- Kang J., Hong J.Y., Suh C. Clinical features and survival outcomes of patients with lymphoplasmacytic lymphoma, including non-IgM type, in Korea: a single-center experience. *Blood Res* 2018;53(3):189–97. DOI: 10.5045/br.2018.53.3.189
- Waldenstrom J. Incipient myelomatosis or "essential" hyperglobulinemia with fibrinogenopenia – a new syndrome? *Acta Med Scand* 1944;3-4:216–22. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1944.tb03955.x
- Teras L.R., DeSantis C.E., Cerhan J.R. et al. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes. *CA Cancer J Clin* 2016;66(6):443–59. DOI: 10.3322/caac.21357
- Vos J.M., Minnema M.C., Wijermans P.W. et al. Guideline for diagnosis and treatment of Waldenström's macroglobulinaemia. *Neth J Med* 2013;71(2):54–62.
- Wang H., Chen Y., Li F. et al. Temporal and geographic variations of Waldenstrom macroglobulinemia incidence: a large population-based study. *Cancer* 2012;118(15):3793–800. DOI: 10.1002/cncr.26627
- Groves F.D., Travis L.B., Devesa S.S. et al. Waldenström's macroglobulinemia: incidence patterns in the United States, 1988–1994. *Cancer* 1998;82(6):1078–81.
- Krajny M., Pruzanski W. Waldenström's macroglobulinemia: review of 45 cases. *Can Med Assoc J* 1976;114(10):899–900, 902, 905.
- Sekhar J., Sanfilippo K., Zhang Q. et al. Waldenström macroglobulinemia: a Surveillance, Epidemiology, and End Results database review from 1988 to 2005. *Leuk Lymphoma* 2012;53(8):1625–6. DOI: 10.3109/10428194.2012.656103
- Cho J.H., Shim J.H., Yoon S.E. et al. Real-world data on the survival outcome of patients with newly diagnosed Waldenström macroglobulinemia. *Korean J Intern Med* 2021;36(3):668–78. DOI: 10.3904/kjim.2019.367
- Kaseb H., Gonzalez-Mosquera L.F., Parsi M., Mewawalla P. Lymphoplasmacytic Lymphoma. 2023. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025–.
- Morel P., Duhamel A., Gobbi P. et al. International prognostic scoring system for Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood* 2009;113(18):4163–70. DOI: 10.1182/blood-2008-08-174961
- Kyle R.A., Treon S.P., Alexanian R. et al. Prognostic markers and criteria to initiate therapy in Waldenstrom's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia. *Semin Oncol* 2003;30(2):116–20. DOI: 10.1053/sonc.2003.50038
- Paiva B., Montes M.C., García-Sanz R. et al. Multiparameter flow cytometry for the identification of the Waldenström's clone in IgM-MGUS and Waldenström's Macroglobulinemia: new criteria for differential diagnosis and risk stratification. *Leukemia* 2014;28(1):166–73. DOI: 10.1038/leu.2013.124
- Kyle R.A., Therneau T.M., Rajkumar S.V. et al. Long-term follow-up of IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Semin Oncol* 2003;30(2):169–71. DOI: 10.1053/sonc.2003.50062
- Kyle R.A., Benson J.T., Larson D.R. et al. Progression in smoldering Waldenstrom macroglobulinemia: long-term results. *Blood* 2012;119(19):4462–6. DOI: 10.1182/blood-2011-10-384768
- Fraumeni J.F., Wernicke W., Blattner W.A. et al. Varied manifestations of a familial lymphoproliferative disorder. *Am J Med* 1975;59(1):145–51. DOI: 10.1016/0002-9343(75)90333-2
- Blattner W.A., Garber J.E., Mann D.L. et al. Waldenström's macroglobulinemia and autoimmune disease in a family. *Ann Intern Med* 1980;93(6):830–2. DOI: 10.7326/0003-4819-93-6-830
- Kyle R.A., Garton J.P. The spectrum of IgM monoclonal gammopathy in 430 cases. *Mayo Clin Proc* 1987;62(8):719–31. DOI: 10.1016/s0025-6196(12)65225-2
- Renier G., Ifrah N., Chevailler A. et al. Four brothers with Waldenstrom's macroglobulinemia. *Cancer* 1989;64(7):1554–9. DOI: 10.1002/1097-0142(19891001)64:7<1554::aid-cncr2820640734>3.0.co;2-3
- Taleb N., Tohme A., Abi Jirgiss D. et al. Familial macroglobulinemia in a Lebanese family with two sisters presenting

- Waldenström's disease. *Acta Oncol* 1991;30(6):703–5. DOI: 10.3109/02841869109092443
30. Treon S.P., Hunter Z.R., Aggarwal A. et al. Characterization of familial Waldenström's macroglobulinemia. *Ann Oncol* 2006;17(3):488–94. DOI: 10.1093/annonc/mdj111
31. Seligmann M. A genetic predisposition to Waldenström's macroglobulinaemia. *Acta Med Scand Suppl* 1966;445:140–6. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1966.tb02353.x
32. Björnsson O.G., Arnason A., Gudmunsson S. et al. Macroglobulinaemia in an Icelandic family. *Acta Med Scand* 1978;203(4):283–8. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1978.tb14874.x
33. Steingrímsson V., Lund S.H., Túresson I. et al. Population-based study on the impact of the familial form of Waldenström macroglobulinemia on overall survival. *Blood* 2015;125(13):2174–5. DOI: 10.1182/blood-2015-01-622068
34. Kristinsson S.Y., Björkholm M., Goldin L.R. et al. Risk of lymphoproliferative disorders among first-degree relatives of lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia patients: a population-based study in Sweden. *Blood* 2008;112(8):3052–6. DOI: 10.1182/blood-2008-06-162768
35. Sahota S.S., Forconi F., Ottensmeier C.H. et al. Typical Waldenström macroglobulinemia is derived from a B-cell arrested after cessation of somatic mutation but prior to isotype switch events. *Blood* 2002;100(4):1505–7.
36. Walsh S.H., Laurell A., Sundström G. et al. Lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström's macroglobulinemia derives from an extensively hypermutated B cell that lacks ongoing somatic hypermutation. *Leuk Res* 2005;29(7):729–34. DOI: 10.1016/j.leukres.2004.12.008
37. Sahota S.S., Babbage G., Weston-Bell N.J. CD27 in defining memory B-cell origins in Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009;9(1):33–5. DOI: 10.3816/CLM.2009.n.007
38. Remstein E.D., Hanson C.A., Kyle R.A. et al. Despite apparent morphologic and immunophenotypic heterogeneity, Waldenström's macroglobulinemia is consistently composed of cells along a morphologic continuum of small lymphocytes, plasmacytoid lymphocytes, and plasma cells. *Semin Oncol* 2003;30(2):182–6. DOI: 10.1053/sonc.2003.50073
39. Lemal R., Poulain S., Ledoux-Pilon A. et al. Mast cell density and its clinical relevance in Waldenström's macroglobulinemia. *EJHaem* 2022;3(2):371–8. DOI: 10.1002/jha2.378
40. Ho A.W., Hatjiharissi E., Ciccarelli B.T. et al. CD27-CD70 interactions in the pathogenesis of Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2008;112(12):4683–9. DOI: 10.1182/blood-2007-04-084525
41. Pasricha S.R., Juneja S.K., Westerman D.A. et al. Bone-marrow plasma cell burden correlates with IgM paraprotein concentration in Waldenström macroglobulinemia. *J Clin Pathol* 2011;64(6):520–3. DOI: 10.1136/jcp.2010.088591
42. Morice W.G., Chen D., Kurtin P.J. et al. Novel immunophenotypic features of marrow lymphoplasmacytic lymphoma and correlation with Waldenström's macroglobulinemia. *Mod Pathol* 2009;22(6):807–16. DOI: 10.1038/modpathol.2009.34
43. Barakat F.H., Medeiros L.J., Wei E.X. et al. Residual monotypic plasma cells in patients with Waldenström macroglobulinemia after therapy. *Am J Clin Pathol* 2011;135(3):365–73. DOI: 10.1309/AJCP15YFULCZH2VH
44. De Tute R.M., Rawstron A.C., Owen R.G. Immunoglobulin M concentration in Waldenström macroglobulinemia: correlation with bone marrow B cells and plasma cells. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2013;13(2):211–3. DOI: 10.1016/j.clml.2013.02.018
45. Kyrtsolis M.C., Levidou G., Korkolopoulou P. et al. CD138 expression helps distinguishing Waldenström's macroglobulinemia (WM) from splenic marginal zone lymphoma (SMZL). *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2011;11(1):99–102. DOI: 10.3816/CLML.2011.n.019
46. Pérez-Escurza O., Flores-Montero J., Óskarsson J.P. et al. Immunophenotypic assessment of clonal plasma cells and B-cells in bone marrow and blood in the diagnostic classification of early stage monoclonal gammopathies: an iSTOPMM study. *Blood Cancer J* 2023;13(1):182. DOI: 10.1038/s41408-023-00944-1
47. Lin P., Medeiros L.J. Lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia: an evolving concept. *Adv Anat Pathol* 2005;12(5):246–55. DOI: 10.1097/01.pap.0000184176.65919.17
48. Treon S.P., Xu L., Yang G. et al. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med* 2012;367(9):826–33. DOI: 10.1056/NEJMoa1200710
49. Jiménez C., Sebastián E., Chillón M.C. et al. MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenström's macroglobulinemia. *Leukemia* 2013;27(8):1722–8. DOI: 10.1038/leu.2013.62
50. Varettoni M., Arcaini L., Zibellini S. et al. Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms. *Blood* 2013;121(13):2522–8. DOI: 10.1182/blood-2012-09-457101
51. Poulain S., Roumier C., Decambon A. et al. MYD88 L265P mutation in Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2013;121(22):4504–11. DOI: 10.1182/blood-2012-06-436329
52. Xu L., Hunter Z.R., Yang G. et al. MYD88 L265P in Waldenström macroglobulinemia, immunoglobulin M monoclonal gammopathy, and other B-cell lymphoproliferative disorders using conventional and quantitative allele-specific polymerase chain reaction [published correction appears in *Blood* 2013;121(26):5259]. *Blood* 2013;121(11):2051–8. DOI: 10.1182/blood-2012-09-454355
53. Ondrejka S.L., Lin J.J., Warden D.W. et al. MYD88 L265P somatic mutation: its usefulness in the differential diagnosis of bone marrow involvement by B-cell lymphoproliferative disorders. *Am J Clin Pathol* 2013;140(3):387–94. DOI: 10.1309/AJCP10ZCLFZGYZIP
54. Ansell S.M., Hodge L.S., Secreto F.J. et al. Activation of TAK1 by MYD88 L265P drives malignant B-cell Growth in non-Hodgkin lymphoma. *Blood Cancer J* 2014;4(2):e183. DOI: 10.1038/bcj.2014.4
55. Rodriguez S., Celay J., Goicoechea I. et al. Preneoplastic somatic mutations including MYD88L265P in lymphoplasmacytic lymphoma. *Sci Adv* 2022;8(3):eabl4644. DOI: 10.1126/sciadv.abl4644
56. Willenbacher W., Willenbacher E., Brunner A. et al. Improved accuracy of discrimination between IgM multiple myeloma and Waldenström macroglobulinemia by testing for MYD88 L265P mutations. *Br J Haematol* 2013;161(6):902–4. DOI: 10.1111/bjh.12313
57. Schmidt J., Federmann B., Schindler N. et al. MYD88 L265P and CXCR4 mutations in lymphoplasmacytic lymphoma identify cases with high disease activity. *Br J Haematol* 2015;169(6):795–803. DOI: 10.1111/bjh.13361
58. Martinez-Lopez A., Curiel-Olmo S., Mollejo M. et al. MYD88 (L265P) somatic mutation in marginal zone B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39(5):644–51. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000411
59. Hunter Z.R., Xu L., Yang G. et al. The genomic landscape of Waldenström macroglobulinemia is characterized by highly recurring MYD88 and WHIM-like CXCR4 mutations, and small somatic deletions associated with B-cell lymphomagenesis. *Blood* 2014;123(11):1637–46. DOI: 10.1182/blood-2013-09-525808
60. Poulain S., Roumier C., Venet-Caillault A. et al. Genomic landscape of CXCR4 mutations in Waldenström Macroglobulinemia. *Clin Cancer Res* 2016;22(6):1480–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0646
61. Treon S.P., Cao Y., Xu L. et al. Somatic mutations in MYD88 and CXCR4 are determinants of clinical presentation and overall survival in Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2014;123(18):2791–6. DOI: 10.1182/blood-2014-01-550905
62. Orfao A., Almeida J., Sanchez M.L. et al. Immunophenotypic diagnosis of leukemic B-cell chronic lymphoproliferative disorders other than chronic lymphocytic leukemia. In: *Chronic Lymphocytic Leukemia*. Contemporary Hematology. Ed.: Faguet G.B. Humana Press, Totowa, NJ. 2004. Pp. 173–190.
63. Seegmiller A.C., Hsi E.D., Craig F.E. The current role of clinical flow cytometry in the evaluation of mature B-cell neoplasms.

- Cytometry B Clin Cytom 2019;96(1):20–9. DOI: 10.1002/cyto.b.21756
64. Stetler-Stevenson M., Braylan R.C. Flow cytometric analysis of lymphomas and lymphoproliferative disorders. *Semin Hematol* 2001;38(2):111–23.
65. Brooimans R.A., Kraan J., van Putten W. et al. Flow cytometric differential of leukocyte populations in normal bone marrow: influence of peripheral blood contamination. *Cytometry B Clin Cytom* 2009;76(1):18–26. DOI: 10.1002/cyto.b.20439
66. Dogliotti I., Jiménez C., Varettoni M. et al. Diagnostics in Waldenström's macroglobulinemia: a consensus statement of the European Consortium for Waldenström's Macroglobulinemia. *Leukemia* 2023;37(2):388–95. DOI: 10.1038/s41375-022-01762-3
67. Banchereau J., Rousset F. Human B lymphocytes: phenotype, proliferation, and differentiation. *Adv Immunol* 1992;52:125–262. DOI: 10.1016/s0065-2776(08)60876-7
68. Shrimpton J.K. Plasma cell differentiation in the B-cell malignancy Waldenström macroglobulinemia. University of Leeds, 2019. 338 p.
69. Van Lochem E.G., van der Velden V.H., Wind H.K. et al. Immunophenotypic differentiation patterns of normal hematopoiesis in human bone marrow: reference patterns for age-related changes and disease-induced shifts. *Cytometry B Clin Cytom* 2004;60(1):1–13. DOI: 10.1002/cyto.b.20008
70. Perez-Andres M., Paiva B., Nieto W.G. et al. Human peripheral blood B-cell compartments: a crossroad in B-cell traffic. *Cytometry B Clin Cytom* 2010;78(Suppl 1):S47–60. DOI: 10.1002/cyto.b.20547
71. Mizuta S., Yamane N., Mononobe S. et al. VS38 staining contributes to a novel gating strategy in flow cytometry for small B cell lymphoma, especially in lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia. *Cytometry B Clin Cytom* 2022;102(1):50–61. DOI: 10.1002/cyto.b.22000
72. Caraux A., Klein B., Paiva B. et al. Circulating human B and plasma cells. Age-associated changes in counts and detailed characterization of circulating normal CD138⁺ and CD138⁺ plasma cells. *Haematologica* 2010;95(6):1016–20. DOI: 10.3324/haematol.2009.018689
73. Klein U., Rajewsky K., Küppers R. Human immunoglobulin (Ig) M⁺IgD⁺ peripheral blood B cells expressing the CD27 cell surface antigen carry somatically mutated variable region genes: CD27 as a general marker for somatically mutated (memory) B cells. *J Exp Med* 1998;188(9):1679–89. DOI: 10.1084/jem.188.9.1679
74. Tangye S.G., Liu Y.J., Aversa G. et al. Identification of functional human splenic memory B cells by expression of CD148 and CD27. *J Exp Med* 1998;188(9):1691–703. DOI: 10.1084/jem.188.9.1691
75. Radbruch A., Muehlinghaus G., Luger E.O. et al. Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nat Rev Immunol* 2006;6(10):741–50. DOI: 10.1038/nri1886
76. O'Connell F.P., Pinkus J.L., Pinkus G.S. CD138 (syndecan-1), a plasma cell marker immunohistochemical profile in hematopoietic and nonhematopoietic neoplasms. *Am J Clin Pathol* 2004;121(2):254–63. DOI: 10.1309/617D-WB5G-NFWX-HW4L
77. Costes V., Magen V., Legouffe E. et al. The Mi15 monoclonal antibody (anti-syndecan-1) is a reliable marker for quantifying plasma cells in paraffin-embedded bone marrow biopsy specimens. *Hum Pathol* 1999;30(12):1405–11. DOI: 10.1016/s0046-8177(99)90160-0
78. Jung J., Choe J., Li L., Choi Y.S. Regulation of CD27 expression in the course of germinal center B cell differentiation: the pivotal role of IL-10. *Eur J Immunol* 2000;30(8):2437–43. DOI: 10.1002/1521-4141(2000)30:8<2437::AID-IMMU2437>3.0.CO;2-M
79. Mei H.E., Wirries I., Frölich D. et al. A unique population of IgG-expressing plasma cells lacking CD19 is enriched in human bone marrow. *Blood* 2015;125(11):1739–48. DOI: 10.1182/blood-2014-02-555169
80. Arumugakani G., Stephenson S.J., Newton D.J. et al. Early emergence of CD19-negative human antibody-secreting cells at the plasmablast to plasma cell transition. *J Immunol* 2017;198(12):4618–28. DOI: 10.4049/jimmunol.1501761
81. Flores-Montero J., de Tute R., Paiva B. et al. Immunophenotype of normal vs. myeloma plasma cells: toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma. *Cytometry B Clin Cytom* 2016;90(1):61–72. DOI: 10.1002/cyto.b.21265
82. Shaheen S.P., Talwalkar S.S., Lin P., Medeiros L.J. Waldenström macroglobulinemia: a review of the entity and its differential diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2012;19(1):11–27. DOI: 10.1097/PAP.0b013e31824019d0
83. Growková K., Kryukova E., Kuřová Z. et al. Waldenström's macroglobulinemia: two malignant clones in a monoclonal disease? Molecular background and clinical reflection. *Eur J Haematol* 2017;99(6):469–78. DOI: 10.1111/ejh.12959
84. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови: в 2 томах. Под ред. Е.Н. Паровичниковой. Т. 2. М.: Практика, 2024. С. 174–202. Diagnostic algorithms and treatment protocols for blood system disorders: in 2 volumes. Ed.: E.N. Parovichnikova. Vol. 2. Moscow: Praktika, 2024. Pp. 174–202.
85. Gong J.Z., Lagoo A.S., Peters D. et al. Value of CD23 determination by flow cytometry in differentiating mantle cell lymphoma from chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2001;116(6):893–7. DOI: 10.1309/UQ4N-M5KL-0ANY-YD3G
86. Palumbo G.A., Parrinello N., Fargione G. et al. CD200 expression may help in differential diagnosis between mantle cell lymphoma and B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2009;33(9):1212–6. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.01.017
87. Xu Y., McKenna R.W., Kroft S.H. Assessment of CD10 in the diagnosis of small B-cell lymphomas: a multiparameter flow cytometric study. *Am J Clin Pathol* 2002;117(2):291–300. DOI: 10.1309/T88X-71U4-WC0R-2531
88. Lau H., Nagy A., Atwater S.K. et al. An integrated flow cytometry analysis of 286 mature B cell neoplasms identifies CD13 as a useful marker for diagnostic subtyping. *Int J Lab Hematol* 2018;40(6):715–20. DOI: 10.1111/ijlh.12909
89. Rawstron A.C., Orfao A., Beksac M. et al. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica* 2008;93(3):431–8. DOI: 10.3324/haematol.11080
90. Konoplev S., Medeiros L.J., Bueso-Ramos C.E. et al. Immunophenotypic profile of lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia. *Am J Clin Pathol* 2005;124(3):414–20. DOI: 10.1309/3G1X-DX0D-VHBN-VKB4
91. San Miguel J.F., Vidriales M.B., Ocio E. et al. Immunophenotypic analysis of Waldenström's macroglobulinemia. *Semin Oncol* 2003;30(2):187–95. DOI: 10.1053/sonc.2003.50074
92. Paulus A., Chitta K.S., Wallace P.K. et al. Immunophenotyping of Waldenström's macroglobulinemia cell lines reveals distinct patterns of surface antigen expression: potential biological and therapeutic implications. *PLoS One* 2015;10(4):e0122338. DOI: 10.1371/journal.pone.0122338
93. Hodge L.S., Novak A.J., Grote D.M. et al. Establishment and characterization of a novel Waldenström macroglobulinemia cell line, MWCL-1. *Blood* 2011;117(19):e190–7. DOI: 10.1182/blood-2010-12-326868
94. Kriangkum J., Taylor B.J., Treon S.P. et al. Clonotypic IgM V/D/J sequence analysis in Waldenström macroglobulinemia suggests an unusual B-cell origin and an expansion of polyclonal B cells in peripheral blood. *Blood* 2004;104(7):2134–42. DOI: 10.1182/blood-2003-11-4024
95. Babbage G., Townsend M., Zojer N. et al. IgM-expressing Waldenström's macroglobulinemia tumor cells reveal a potential for isotype switch events *in vivo*. *Leukemia* 2007;21(4):827–30. DOI: 10.1038/sj.leu.2404538
96. García-Sanz R., Hunter Z.R., Poulain S. et al. New developments in the diagnosis and characterization of Waldenström's macroglobulinemia. *Expert Rev Hematol* 2023;16(11):835–47. DOI: 10.1080/17474086.2023.2270779
97. Seegmiller A.C., Xu Y., McKenna R.W. et al. Immunophenotypic differentiation between neoplastic plasma cells in mature B-cell

- lymphoma vs plasma cell myeloma. *Am J Clin Pathol* 2007;127(2):176–81. DOI: 10.1309/SEL22BH45PHUPM8P
98. Hunter Z.R., Branagan A.R., Manning R. et al. CD5, CD10, and CD23 expression in Waldenstrom's macroglobulinemia. *Clin Lymphoma* 2005;5(4):246–9. DOI: 10.3816/clm.2005.n.008
99. Pangalis G.A., Kyrtsos M.C., Kontopidou F.N. et al. Differential diagnosis of Waldenstrom's macroglobulinemia and other B-cell disorders. *Clin Lymphoma* 2005;5(4):235–40. DOI: 10.3816/clm.2005.n.006
100. Paiva B., Corchete L.A., Vidriales M.B. et al. The cellular origin and malignant transformation of Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2015;125(15):2370–80. DOI: 10.1182/blood-2014-09-602565
101. Marti G.E., Rawstron A.C., Ghia P. et al. Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol* 2005;130(3):325–32. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05550.x
102. Rosado F.G., Morice W.G., He R. et al. Immunophenotypic features by multiparameter flow cytometry can help distinguish low grade B-cell lymphomas with plasmacytic differentiation from plasma cell proliferative disorders with an unrelated clonal B-cell process. *Br J Haematol* 2015;169(3):368–76. DOI: 10.1111/bjh.13303

Вклад авторов

И.В. Гальцева: разработка дизайна исследования, написание текста статьи;
Ю.А. Цой, Н.М. Капранов, К.А. Никифорова, Ю.О. Давыдова, А.А. Куликов: обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи;
А.Е. Грачев, Е.Е. Звонков, Е.Н. Паровичникова: разработка дизайна исследования.

Authors' contributions

I.V. Galtseva: research design development, article writing;
Yu.A. Tsoy, N.M. Kapranov, K.A. Nikiforova, Yu.O. Davydova, A.A. Kulikov: review of publications on the article topic, article writing;
A.E. Grachev, E.E. Zvonkov, E.N. Parovichnikova: research design development.

ORCID авторов / ORCID of authors

И.В. Гальцева / I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>
Ю.А. Цой / Yu.A. Tsoy: <https://orcid.org/0009-0005-7828-1556>
А.Е. Грачев / A.E. Grachev: <https://orcid.org/0000-0003-4950-523X>
Н.М. Капранов / N.M. Kapranov: <https://orcid.org/0000-0002-6512-910X>
К.А. Никифорова / K.A. Nikiforova: <https://orcid.org/0000-0002-4119-7175>
Ю.О. Давыдова / Yu.O. Davydova: <https://orcid.org/0000-0001-5932-0285>
А.А. Куликов / A.A. Kulikov: <https://orcid.org/0009-0001-0544-6568>
Е.Е. Звонков / E.E. Zvonkov: <https://orcid.org/0000-0002-2639-7419>
Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.