

Морфологические критерии диагностики первичных миелодиспластических синдромов

Белорусская медицинская академия последипломного образования

Миелодиспластические синдромы (МДС) составляют разнообразную группу клональных и потенциально злокачественных нарушений костного мозга, характеризующихся неэффективным и неадекватным гемопоэзом. Систематизированы литературные данные о количественной и морфологической характеристике клеток периферической крови и костного мозга при МДС. Дана характеристика морфологических аномалий клеток, которые указывают на нарушение клеточной дифференцировки. Представлен анализ результатов собственных исследований морфологии клеток периферической крови и костного мозга, а также анализ данных гистологического исследования костного мозга при МДС у детей.

Ключевые слова: миелодиспластический синдром, морфология, диагностика.

N.N.Klimkovich , T.I.Kozarezova

Morphological criteria of diagnostics of the primary myelodysplastic syndromes

The myelodysplastic syndrome (MDS) includes a diverse group of clonal and potentially malignant bone marrow disorders characterized by ineffective and inadequate hematopoiesis. The literary data on the quantitative and morphological characteristic of cells of peripheral blood and a bone marrow are systematized at MDS. The characteristic of morphological anomalies of cells which specify infringement cellular differentiation is given. The analysis of results of own researches of morphology of cells of peripheral blood and a bone marrow, and also the analysis given histologic research of a bone marrow is submitted at MDS at children.

Key words: myelodysplastic syndrome, morphology, diagnostics

Миелодиспластические синдромы (МДС) представляют собой гетерогенный спектр неопластических заболеваний, происходящих от стволовых гемопоэтических клеток. В 1982 Франко-американо-британская (FAB) кооперативная группа предложила критерии для диагностики и классификации МДС, основанные преимущественно на морфологических данных [7]. С тех пор в связи с развитием молекулярной биологии, иммунологии, биофизики, цитогенетики значительно расширились представления о генезе МДС. Однако, несмотря на активно проводимые исследования, биологический маркер, который бы достоверно идентифицировал МДС, остается неустановленным. Поэтому морфология является краеугольным камнем диагностики наряду с цитогенетическими и молекулярно-биологическими методами.

При МДС имеет место неэффективный гемопоэз с нарастающим экстремедуллярным угнетением продукции нормальных клеток, что ведет к периферической цитопении при нормо- и даже гиперцеллюлярном костном мозге (только около 10 % случаев МДС характеризуются низкой клеточностью костного мозга) [16]. Однако на начальной стадии заболевания патологические и нормальные клеточные линии одинаково активны, тем самым гемопоэз поддерживается. Снижение пролиферации зрелых клеток является следствием повышенного апоптоза клеток - предшественниц [14], что отмечается на ранних стадиях МДС. Неопластический клон

доминирует с прогрессированием заболевания [5], а диспластические изменения при МДС затрагивают несколько клеточных линий.

Основу к предположению диагноза МДС образуют морфологические аномалии клеток периферической крови (ПК) и костного мозга (КМ), которые указывают на нарушение клеточной дифференцировки. Наиболее частые морфологические аномалии, указывающие на диспластические изменения клеток периферической крови и костного мозга отражены в таблицах 1 - 3.

Изменение морфологии эритроцитов при МДС характеризуется анизо-, пойкило-, макроцитозом, может быть диморфизм клеточной популяции, элиптоциты, дакрициты, а также ядродержащие эритроидные предшественники в ПК [1; 2; 16]. В костном мозге дизэритропоэз проявляется, как правило, гиперплазией с нетипичной трабекулярной локализацией, а также мегалобластоидными изменениями, сегментацией ядра, многоядерностью и грануляцией цитоплазмы (внутрицитоплазматические включения клеток эритропоэза наиболее частый диспластический признак МДС, однако, изолированные данные изменения, не доказывают этот диагноз) [13; 16]. Особенно важно при МДС у взрослых наличие сидеробластов и кольцевидных сидеробластов в костном мозге, хотя изолированное повышение количества сидеробластов более 15 % не является бесспорным доказательством наличия МДС, так как данная аномалия может присутствовать при многих злокачественных новообразованиях.

Согласно нашим данным при всех вариантах МДС в большинстве случаев анемия была нормохромной, нормоцитарной и норморегенераторной. Индивидуальный анализ показал наличие гиперхромии эритроцитов в 26,9% случаев, что было характерно в основном для вариантов рефрактерная анемия (РА) и рефрактерная анемия с избытком бластов и трансформацией (РАЕВt). Гипохромная анемия у детей с МДС не диагностировалась. Макроцитоз отмечен у 42,3 % детей с МДС в основном при вариантах РА и РАЕВt. Морфология клеток красного ростка периферической крови характеризовалась смешанным анизоцитозом эритроцитов с преобладанием макроцитоза, полихромазией эритроцитов, появлением нормобластов в 30,7 % случаев, эритроцитов с базофильной пунктацией в 23,1 % и мегалобластозом у 42,3 % детей с МДС. Гиперплазия эритроидного ростка КМ была у 34,6 % больных, признаки мегалобластоидного кроветворения наблюдались в 57,7% случаев. Кроме того, для 73 % детей была характерна задержка созревания эритроидных клеток на уровне полихроматофильных нормобластов. Снижение индекса созревания эритробластов отмечено у 83,3 % детей при варианте РА, у 50 % при рефрактерной анемии с избытком бластов (РАЕВ), у 75 % при РАЕВt и у 73 % при варианте хронический миеломоноцитарный лейкоз (СММЛ). Морфологические аномалии красного ростка проявлялись в основном признаками мегалобластоидного кроветворения. Цитоплазматические признаки дизэритропоэза характеризовались базофильной пунктацией эритробластов, наличием телец Жолли, асинхронизмом созревания ядра и цитоплазмы.

Таблица 1

Диспластические изменения гемопоэза при МДС

Эритропоэз	Гранулопоэз	Мегакариопоэз
Асинхронизм созревания ядра и цитоплазмы Мегакариобласты Сегментация ядер Многоядерность Атипичные митозы Кариорексие Хроматиновые мостики Цитоплазматические вакуоли PAS-позитивные клетки Кольцевидные сидеробласты	Гипогрануляция Кольцевидные ядра Пельгеровская аномалия Гигантские формы Гипо- или гиперсегментация ядер Дефект накопления в гранулах пероксидазы или NASDCL (паранейтрофилия) Повышение количества бластов	Асинхронизм созревания ядра и цитоплазмы Микромегакариоциты с отсутствием или увеличением сегментации ядер Нормоциты с отсутствием сегментации ядер (сферонуклеоциты) Множественное расщепление ядер Гигантские ядра атипичной формы Мегакариобласты

NASDCL (нафтол-ASD-хлорацетатэстераза)

Дисмегакариопоэз при МДС характеризуется угнетением этой клеточной линии и нетипичной локализацией в ячейках костного мозга, наличием плеоморфных, микромегакариоцитов и повышенным количеством незрелых мегакариоцитов, которые могут дифференцироваться от других клеток - предшественниц только иммуногистологически (например, экспрессией CD61-рецепторов) [4; 13; 17]. Часто в большом количестве микромегакариоциты с гипосегментированными или округлыми плотными ядрами и тонкой кромкой цитоплазмы. Thiele et. al. [17] указали, что микромегакариоциты при МДС отличаются от подобных при хроническом миелоидном лейкозе плотной структурой хроматина и сдвигом соотношения цитоплазмы и ядра (в пользу ядра). Признаком диспластических изменений также считается наличие в ПК гигантских тромбоцитов [3]. При 5q-синдроме, однако, имеют место макроформы мегакариоцитов с овальными или округлыми несегментированными ядрами ("сферонуклеолы") [14].

Таблица 2

Диспластические изменения периферической крови при МДС

Эритроциты	Гранулоциты, моноциты	Тромбоциты
Нормо-, макроцитраный анизо-, пойкилоцитоз Диморфная картина ПК с гипохромными микроцитами и нормохромными макроцитами Циркулирующие эритробласты	Гипогрануляция Кольцевидные ядра Пельгеровская аномалия Гигантские формы Гипо- или гиперсегментация ядер Дефект накопления в гранулах пероксидазы или NASDCL (паранейтрофилия) Повышение количества бластов Базофилия цитоплазмы Моноцитоз	Анизоцитоз Гигантские формы тромбоцитов Агранулярные формы Мегакариобласты

В клетках миелоидного ряда при МДС отмечается выраженное нарушение созревания и дифференцировки как в костном мозге, так и в периферической крови (снижение доли сегментоядерных нейтрофилов, наличие псевдопельгеровской аномалии, расщепленных ядер, гипо- и агрануляцией цитоплазмы, дефекта

накопления миелопероксидазы и нафтол-ASD-хлорацетатэстеразы ("паранейтрофилия"), асинхронное созревание ядра и цитоплазмы, задержка созревания, атипичные формы ядра и атипичная локализация миелоидных клеток – предшественниц) [6; 13].

По нашим данным количество мегакариоцитов было снижено у 80,9 % детей с различными вариантами МДС. В 53,8 % случаев выявлено повышение количества лимфоцитов в костном мозге. Моноцитоз от 11 до 47,5 % характеризовал вариант CMML. У 69,2 % детей с первичным МДС имело место омоложение гранулоцитарного ростка. Морфологические аномалии, являющиеся маркерами диспластического клона, характеризовались микроформами мегакариоцитов, гипосегментацией ядер нейтрофилов.

Определение количества бластных форм клеток в КМ и ПК для установления варианта МДС согласно FAB-классификации существенно. При этом в верификации помогают цитохимический, иммуногистохимический анализы и экспрессия CD34-рецепторов на клетках. В частности, у пациентов с RAEBt значительно увеличена доля CD34+ клеток. При оценке аутологичных препаратов обязательно учитывается разделение на типы миелобластов: тип I (агрануляция цитоплазмы, отсутствие палочки Ауэра) и тип II (небольшое количество азурофильных гранул в цитоплазме – менее 20). Более позднее введение типа бластов III (как тип II, но с количеством азурофильных гранул в цитоплазме более 20) оказалось дифференциально-диагностическим критерием прежде всего для диагностики варианта RAEB [7; 8]. Однако, дифференцировка бластов III типа от промиелоцитов часто затруднительна. Эритробласты, проэритробласты, мегакариобласты, промоноциты и промиелоциты учитываются отдельно от общего количества бластных клеток костного мозга. Лимфобласты и морфологически недифференцируемые бласты также должны характеризоваться цитохимически, иммунофенотипически и включаться в широкий дифференциально - диагностический спектр. Принимая во внимание наличие варианта CMML необходимо учитывать количественные и качественные изменения моноцитов и их предшественников, которые могут иметь положительную диффузную реакцию цитоплазмы на неспецифическую эстеразу, гипо- или гиперсегментацию ядра, а также уменьшение или увеличение грануляции цитоплазмы (как правило, с гигантскими гранулами).

Анализ собственных данных гистологического исследования костного мозга при МДС у детей показал, что повышение клеточности характерно для варианта CMML, а снижение – для RA. Гиперплазия клеток костного мозга при различных вариантах МДС была в основном за счет гранулоцитарного ростка. Существенной особенностью гемопоэтической ткани при МДС у детей является омоложение кроветворных ростков и появление бластных клеток. Диффузное расположение бластов характерно для варианта CMML, скопление бластных клеток встречалось при варианте RAEBt. Морфологические аномалии клеток эритроидного ряда наиболее часто встречались при варианте RA. Диспластические изменения мегакариоцитов характеризовались микроформами и дистрофическими изменениями ядра и цитоплазмы, наличием «голаядерных» форм и были характерны для вариантов CMML и RAEBt. Важным показателем является фиброз стромы, который был установлен у 75 % детей с CMML и у 62,5 % с RAEBt.

Таблица 3

Гистологическая характеристика костного мозга при МДС

Эритропоэз	Аномально большие клеточные группы Атипичная паратрабекулярная локализация
Гранулопоэз	Атипичная локализация клеток-предшественниц миелопоэза (миелобластов, промиелоцитов) – «ALP»
Мегакариоцитопоэз	Очаговые скопления Атипичная паратрабекулярная локализация
Ретикулярные клетки	Повышенное содержание сидерина
Лимфоциты	Интерстициально мелкоочагово преимущественно Т-лимфопоэз
Состояние стромы	Возможно инициальный фиброз
Жировые клетки	Распределены неравномерно, в большинстве случаев количество уменьшено, при гипопластическом варианте МДС – увеличено

В заключение следует отметить, что количественные и морфологические результаты анализа периферической крови и костного мозга являются важным звеном в диагностике МДС. Однако, на сегодняшний день изолированное наличие морфологически доказанной дисплазии гемопоэтических клеток не является достаточным для верификации МДС. Существует большое количество заболеваний, которые могут быть первоначально расценены как дебют МДС (например, миелопролиферативные опухоли) [9; 15]. К нарушению созревания кроветворных клеток с макроцитарной анемией и другими признаками дисплазии могут вести, например, дефицит витамина В12, фолиевой кислоты, медикаментозная или другая токсическая нагрузка организма [10]. При отсутствии доказательства клоновых аномалий (цитогенетически, молекулярно биологически) при дифференциальной диагностике следует так же исключить инфекционное вирусное поражение (вирус Эпштейна – барр, цитомегаловирус, вирус простого герпеса, вирус иммунодефицита человека), которое способно вызывать в костном мозге изменения, позволяющие думать о RA или CMML [10; 11; 12; 18]. Поэтому диагностические подходы к МДС должны включать лабораторно – инструментальные методы, учитывающие проведение дифференциальной диагностики с указанными выше патологическими состояниями.

Литература:

1. Климкович Н. Н., Козарезова Т. И. Биологическая характеристика эритрона при первичном миелодиспластическом синдроме у детей // Гематология и трансфузиология. – 2003. № 5. – с. 7 – 10.
2. Козарезова Т.И. Апластические анемии и миелодиспластический синдром у детей Республики Беларусь (эпидемиология, этиология, молекулярно-мембранные механизмы патогенеза) / Автореф. ...д-ра мед. наук. – М., 1995. – 43 с.
3. Козарезова Т.И., Климкович Н.Н., Кожанова В.Ф., Масловская Т.М. Морфо - функциональная характеристика гемопоэза у детей с первичным миелодиспластическим синдромом.// Здравоохранение. – 2002. - № 6. – с. 29 – 31.
4. Торубарова Н. А., Филина О. Ю., Полякова О. А., Семикина Е. Л., Копыльцова Е. А., Тепаев Р. Ф., Смажил Е. В., Мигали А. В., Мазитова Е. Н., Кошель И. В., Маякова С. А., Менткевич Г. Л. Миелодиспластические заболевания у детей: варианты клинического течения и биологические особенности кроветворения. Часть I // Гематология и трансфузиология. - 2003, № 4. – С. 14 – 21.

5. Albitar M., Manshoury T., Shen Y., Liu D., Beran M., Kantarjian H.M., Rogers A., Jilani I., Lin C.W., Pierce S., Freireich E.J., Estey E.H. Myelodysplastic syndrome is not merely "preleukemia" // *Blood*. – 2002. - Vol. 100, № 3. – P. 791-798.
6. Bain B. J., Clark D. M., Lampert I. A., Koch S. Knochenmarkpathologie. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin-Wien, 2000. – 303 pp.
7. Bennett J. M., Catovsky D., Daniel M. T., Flandrin G., Galton D.A.G., Gralnick H. R., Sultan C. Proposed revised criteria for the classification of acute leukemia // *Ann Intern Med*. – 1985, Vol. 103. – P. 620-625.
8. Bennett J. M. The French-American-British (FAB) classification of myelodysplastic syndromes (MDS): twenty years of evolution// *Leukemia Research*. – 1999, Vol. 23, Suppl. – P. SI.
9. Byrd J. C., Edenfield W. J., Dow N. S., Aylesworth C., Dawson N. Extramedullary myeloid cell tumors in myelodysplastic-syndroms: not a true indication of impending acute myeloid leukemia// *Leuk Lymphoma*. – 1996, Vol. 21. – P. 153-159.
10. Heaney M. L., Golde D.W. Myelodysplasia // *N Engl J Med*. – 1999, Vol. 340. – P. 1649-1160.
11. Kirby M. A., Weitzmann S., Freedmann M. H. Juvenile chronic myelogenous leukemia: Differentiation from infantile cytomegalovirus infection // *Am J Pediatr Hematol Oncol*. – 1990, Vol. 12. – p. 292-296.
12. Lorenzana A., Lyons H., Sawaf H., Higgins M., Carrigan D., Emmanuel P. Human herpes virus-6 (HHV6) infection in an infant mimicking juvenile chronic myelogenous leukemia (JCML) // *J Pediatr Hematol Oncol*. – 1997, Vol. 19. – P. 370 - 384.
13. Maschek H., Georgii A. Histopathologie und Klinik des primären myelodysplastischen Syndroms // *Pathologie*. – 1995, Vol. 16. – P. 53 – 61.
14. Raza S., Dar S., Andric T. Biologie characteristics of 164 patients with myelodysplastic syndromes// *Leukemia and Lymphoma*. – 1999, Vol. 33. – p. 281-287.
15. Rogge T., Niemeyer C.M. Myelodysplastic Syndromes in Childhood // *Onkologie*. – 2000, Vol. 23. – P. 18-24.
16. Schmitt-Graeff A., Mattern D., Kähler H., Hezel J., Lübbert M. Myelodysplastisches Syndrom: aspekte der hämatopathologischen Diagnostik // *Pathologie*. – 2000, Vol. 21. – P. 1-15.
17. Thiele J., Quitmann H., Wagner S., Fischer R. Dysmegakaryopoiesis in myelodysplastic syndromes (MDS): an immunomorphometric study of bone marrow trephine biopsy specimens// *J Clin Pathol*. – 1991, Vol. 44. – P. 300-305.
18. Thiele J., Zirbes T. K., Bertsch H. R., Titius B. R., Lorenzen J., Fischer R. AIDS-related bone marrow lesions – myelodysplastic features or predominant inflammatory reactive changes (HIV-myelopathy)? A comparative morphometric study by immunohistochemistry with special emphasis on apoptosis and PCNA-labeling // *Anal Cell Pathol*. – 1996, Vol. 11. – P. 141-157.