

ПАТОХИСТОЛОШКЕ ОСОБИНЕ МИЈЕЛОДИСПЛАСТИЧКИХ СИНДРОМА: ДИЈАГНОСТИЧКИ И ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ

Драгомир МАРИСАВЉЕВИЋ, Весна ЧЕМЕРИКИЋ, Зоран РОЛОВИЋ,
Даринка БОШКОВИЋ, Милица ЧОЛОВИЋ

Институт за хематологију, Клинички центар Србије, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Патохистолошка анализа костне сржи се препоручује као базични дијагностички поступак у испитивању болесника са примарним мијелодиспластичним синдромима (МДС). Циљ рада је био да се испита дијагностички и прогностички значај патохистолошких особина костне сржи код болесника са примарним МДС и њихов однос са цитолошким одликама дисхематопоезе који су добијени анализом аспириата костне сржи. У трепанобиоптату 236 болесника са новооткривеним примарним МДС анализирани су: целуларност, поремећај хистотопографије, квантитативна заступљеност хематопоеетских лоза, ћелијска атипичност, степен бластне инфилтрације и промене у строми костне сржи. Код највећег броја болесника (78,4%) утврђена је хиперцелуларна срж, али је код 10,2% болесника дијагностикован хипоцелуларни подтип МДС. Дислокација еритропоезе уочена је код 64,7%, МК-поезе код 50,9% болесника, а дислокација гранулопоезе (тзв. *ALIP*) код 61,3% болесника. Код већине болесника постојала је троплинијска хиперплазија, при чему је релативна хипоплазија Е-лозе и МК-лозе утврђена код по једне четвртине болесника, у првом реду, „узнапредовалих“ облика болести. Морфолошки знаци дисеритропоезе уочени су код 42,5% болесника, а дисмегакариоцитопоезе код 75,7% болесника. Различити степен ретикулинске и колагене мијелофиброзе утврђени су код 55,5% болесника, при чему је хиперфибротични подтип МДС дијагностикован код 7,6% болесника. Компаративна анализа цитолошких и хистолошких особина костне сржи показала је добру корелацију између два метода само у погледу процене квантитета еритропоезе, присуства дисмегакариоцитопоезе и „реактивних“ ћелија. Униваријантном анализом утврђено је да су поремећај хистотопографије Г-лозе и МК-лозе, хиперплазија Г-лозе са последичним потискавањем Е-лозе и дисмегакариоцитопоеза параметри лоше прогнозе, како дужине преживљавања, тако и еволуције болести, али се поремећај хистотопографије Г-лозе показао као једина прогностички независна варијабла дужине преживљавања. Патохистолошка анализа је незаобилазни дијагностички поступак у испитивању МДС јер обезбеђује поуздане информације о целуларности, архитектурној дезорганизацији, броју мегакариоцита и промена у строми костне сржи болесника са МДС, као и информације о прогнози болести.

Кључне речи: мијелодиспластични синдроми; патохистолошке особине; костна срж; прогноза

УВОД

Патохистолошка анализа костне сржи се препоручује као базични поступак у испитивању новооткривених болесника са примарним мијелодиспластичним синдромима (МДС) [1]. Патохистолошко испитивање костне сржи може да пружи значајне информације о целуларности, архитектурној дезорганизацији ткива, релативној заступљености главних ћелијских линија и односу незрелих и зрелих елемената, о дисмегакариоцитопоези, мијелофибрози и другим променама у строми, као и обољењима и стањима која могу довести до диспластичне хематопоезе (пре свега, инфилтрације костне сржи карциномом, лимфомом или мијеломом) [2-4]. Патохистолошким испитивањем се избегава и настанак грешака при узимању узорка костне сржи аспирацијом које су условљене дилуцијом, фокусном фиброзом или хипоцелуларношћу сржи [4], када болест није могуће класификовати по класификацији *FAB* [5]. Постојање облика болести који се могу дијагностиковати само биопсијом костне сржи, као што су хиперфибротични, односно хипоцелуларни МДС, подстакло је и више предлога хистолошких класификација МДС који су засновани на патохистолошким критеријумима. Бартл (*Bartl*) и сарадници [4] су издвојили седам хистолошких подтипова МДС – сидеробластни, мегалобластни, пролиферациони, бластни, хипопластични, хиперфибротични и инфламациони – и показа-

ли да између појединих подтипова постоје разлике у прогнози болести. Муџи (*Mungi*) и Муфти (*Mufti*) [6] су издвојили хипопластични, хиперфибротични, МДС са преодминантном еритроидном хиперплазијом без поремећаја хистотопографије гранулопоезе и МДС са преодминантном мијелоидном хиперплазијом, али са поремећајем хистотопографије гранулопоезе, и такође показали разлике у прогнози, која је посебно лоша код болесника са последњим подтипом обољења.

ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се испита дијагностички и прогностички значај патохистолошких особина костне сржи код болесника са примарним МДС и њихов однос са цитолошким одликама дисхематопоезе добијених анализом аспириата костне сржи.

МЕТОД РАДА

Испитано је 236 болесника код којих је дијагностикован примарни МДС у периоду од 1987. до 1998. године [7]. Дијагноза МДС постављена је на основу стандардних критеријума *FAB* кооперационе групе [5], уз модификације које су предложили Рајценштајн (*Reizenstein*) и Ост (*Ost*) [8]. Биопсија костне

сржи урађена је после постављања цитолошке дијагнозе МДС и пре започињања специфичне терапије. У случају „суве“ пункције или технички неадекватног узорка костне сржи добијеног аспирационом пункцијом, биопсија је била основ морфолошке дијагнозе болести. Узорци ткива добијени су поступком трепанобиопсије илијачне кости у локалној анестезији, применом трокара по Јамшиди (*Jamshida*). Цилиндри костне сржи, ширине од 2 mm и најмање дужине од 20 mm, фиксирани су у десетопроцентном формалину или B5 фиксативу, декалцификовани у киселој средини и калупљени у парафину. Сечењем парафинских блокова слонгитудинално усмереном кости добијени су исечци дебљине 2-3 μm , који су затим депарафинисани и обојени хематоксилин-еозином или „гимзом“ (*Giemsa*). Мијелофиброза је процењивана анализом исечка костне сржи обојених по методима Гоморија (*Gomori*) и Гордон–Свита (*Gordon-Sweet*), односно по Мејсоновим методом трихрома (*Masson trichrome*). Анализирани су следеће патохистолошке особине костне сржи:

- целуларност костне сржи, која је процењена као нормоцелуларна (30-50 Vol% хематопоезног ткива), хиперцелуларна (>50 Vol%) и хипоцелуларна (<30 Vol%);
- поремећај хистотопографије, у смислу налаза паратрабекулне дислокације еритропоезе или мегакариоцитопоезе, односно интертрабекулне дислокације гранулопоезе (кластери мијелоидних прекурсора у централним деловима костне сржи; тзв. ALIP – *Abnormal Localization of Immature Precursors*) [2, 4, 9];
- заступљеност хематопоезних лоза, која је процењена као нормална заступљеност (Н), уме-

- рена или изражена хипоплазија (-/-), односно умерена или изражена хиперплазија (+/++) [9];
- ћелијска атипичност, која је дефинисана на основу присуства атипичних и двоједарних форми еритробласта (критеријум за дисеритропоезу), односно присуства микромегакариоцита и вишеједарних МК (критеријум за дисмегакариоцитопоезу) [4, 9];
- степен бластне инфилтрације, који је процењен полуквантитативно као одсуство вишка бласта, присуство појединачно видљивих бласта, дифузно умножених бласта или бројних бласта са леукемијским хијатусом. Код болесника без вишка бласта процењено је и присуство прекида у сазревању, тзв. скретање улево [9];
- промене у строми костне сржи, у смислу присуства повећаног броја плазмоцита, мастоцита или лимфних нодулуса, односно присуства мијелофиброзе. Присуство мијелофиброзе је процењено као: *gradus I* (благо наглашена ретикулинска потка); *gradus II* (дифузна умноженост ретикулинских влакана који формирају укрштено мрежу са местимичним грубим аранжманом влакана); *gradus III* (дифузна густа ретикулинска потка са грубим аранжманом влакана, али без колагенизације); *gradus IV* (дифузна, густа ретикулинска потка са фокусном депозицијом колагена) [10].

На основу анализираних хистолошких особина, болесници су оцењени прогностичким скором „Ханновер“ (*Hannover*) [9] (Табела 1). Лечење болесника у овој студији није било рандомизирано, већ прилагођено годинама, општем стању, тежини цитопенија или, у случају *CMML*, степену мијелопролиферације [11].

ТАБЕЛА 1. Прогностички скор „Ханновер“ [9]. Болесници су подељени у три групе „ризика“ према бодовној вредности скорa: А (0-2 бода), В (3-5 бодова) и С (>5 бодова).

TABLE 1. Prognostic score „Hannover“ [9]. Patients are stratified into three different risk groups according to the score: A (score 0-2), B (score 3-5) and C (score >5).

Патохистолошка особина Pathohistological feature	Оцена Score		
	0 поена 0 point	1 поен 1 point	2 поена 2 points
Квантитет еритропоезе Quantity of erythropoiesis	++	+/Н +/N	-/--
Дислокација еритропоезе Dislocation of erythropoiesis	Не No	Да Yes	
Мијелобласти* Myeloblasts*	Без вишка No excess	Појединачни Scarce	Дифузно повећани Diffusely increased
Прекид у сазревању Г-лозе Maturation arrest in G-line	Не No	Да Yes	
Дисмегакариоцитопоеза Dysmegakaryocytopoiesis	Не No	Да Yes	
Мијелофиброза Myelofibrosis	Не No	Фокусна Focal	Дифузна Diffuse
Мастоцити Mastocytes	Повећани Increased	Нису повећани Not increased	
Депои гвожђа* Iron storage*	Н/Снижени N/Decreased	Повећани Increased	
ALIP	Не No	Да Yes	

* у комбинацији с аспиратом (модификација скорa); Н – нормално

* combined with bone marrow aspirate (modification of score); N – normal

Статистичка обрада података

Статистичка обрада података урађена је уз коришћење статистичког пакета *Statistica 4.5*. Процена значајности разлика за непараметријске тестове вршена је применом медијана и χ^2 -теста. Параметријски тестови упоређивани су Студентовим *t*-тестом. Анализа варијансе вршена је Краскал-Волисовим (*Kruskal-Wallis*) тестом *ANOVA*. За анализу функција преживљавања болесника и вероватноће предвиђања еволуције болести у акутну леукемију или МДС „вишег степена ризика” (*RA*→*RAEB-t*) коришћен је Каплан-Мајеров (*Kaplan-Meier*) метод. Анализа значајности ових разлика у функцији испитиваних варијабли вршена је лог-ранк (*log-rank*) тестом. Адекватност одговарајућег модела, односно веза између преживљавања с осталим одликама испитивана је Коксовим (*Cox*) методом пропорционалних хазарда [12]. У свим анализама ниво значајности био је најмање 0,05 да би се нулта хипотеза одбацила.

РЕЗУЛТАТИ

Просечна целуларност костне сржи у трепанобиоптату испитиваних болесника била је $70 \pm 28,8$ Vol%, са медијаном од 83 Vol% и широким опсегом од 10 до 100 Vol%. Код највећег броја болесника (78,4%) утврђена је хиперцелуларна срж (>50 Vol% сржи), а код 11,4% болесника нормоцелуларна срж (30-50 Vol%). Хипоцелуларни подтип МДС дијагностикован је код 24 болесника (10,2%).

Дислокација еритропоезе уочена је код 64,7%, а дислокација МК-поезе код 50,9% болесника. Дислокација гранулопоезе, односно интертрабекулна дислокација незрелих елемената Г-лозе (тзв. *ALIP*) процењена је код 217, а утврђена код 133 болесника (61,3%). Дислокација све три хелијске лозе забележена је код 26,2% болесника, дислокација једне или две хелијске лозе код 62,5% болесника, а одсуство неправилности у хистотопографији уочено је код 11,3% болесника. Удео болесника са паратрабекулном дислокацијом еритропоезе био је највећи у *RAEB*, а најмањи у *CMML* подтипу МДС. Удео болесника са паратрабекулном дислокацијом МК-лозе био је највећи у „узнапредовалим” облицима пМДС (*RAEB*, *RAEB-t*, *CMML*), са статистички значајном разликом у односу на облике болести „малог ризика”, односно *RA/RARS* подтипове (60,6% наспрам 36,2% болесника; $\chi^2=13,47$; $p=0,0002$). Удео болесника са дислокацијом Г-лозе такође је био највећи у „узнапредовалом” МДС (посебно у *RAEB-t* и *CMML*), са статистички значајном разликом у односу на *RA/RARS* (83,1% наспрам 25,5% болесника; $\chi^2=78,21$; $p<0,001$).

Полуквантитативно процењена заступљеност појединих хелијских линија костне сржи показала је да је код већине болесника постојала тролинијска хиперплазија (Табела 2). Е-лоза је била умерено (-) или изразито хипопластична (--) код 28,3% болесника, при чему је одсуство еритробласта у биопсији (стање које се виђа у чистој еритроидној аплазији, тзв. *PRCA*) уочено код само једног болесника [13]. МК-ло-

за је била умерено (-) или изразито хипопластична (--) код 24,3% болесника, при чему је одсуство мегакариоцита у биопсији (патохистолошки супстрат амегакариоцитне тромбоцитопеније) утврђено код четири болесника. Прекид у сазревању Г-лозе, манифестован вишком бласта, уочен је код 119 од 233 (51%) болесника, при чему су код 30% забележени појединачни, дисперзни бласти, а код 21% болесника дифузни умножени бласти, укључујући и пет болесника код којих је патолог поставио дијагнозу акутне леукемије уместо МДС (види даље). Код 114 од 233 болесника није уочен вишак бласта, али је код 53,6% од тих болесника процењено да постоји „скретање улево”. Релативна хипоплазија Е-лозе и релативна хиперплазија Г-лозе одлике су „узнапредовалог” МДС, са статистички значајном разликом у односу на *RA/RARS* (38% наспрам 17% болесника; $\chi^2=11,96$; $p=0,0005$). Релативна хиперплазија Г-лозе посебно је била истакнута у подтипима *CMML* и *RAEB-t*, чак статистички значајно више и у односу на *RAEB* (*RAEB-t* наспрам *RAEB*; $\chi^2=15,31$; $p=0,0001$). Удео болесника са хипоплазијом МК-лозе био је пропорционалан степену бластне инфилтрације, односно највећи у *RAEB-t* подтипу, али није утврђена статистички значајна разлика између „узнапредовалих” облика МДС и *RA/RARS* подтипова ($p=0,19$).

Морфолошки знаци дисеритропоезе уочени су код 42,5% болесника, а дисмегакариоцитопоезе код 75,7% болесника. Дисеритропоеза је била најчешћа у *RARS* (63,6% болесника) и *RAEB-t* подтипу (53,5% болесника). Дисмегакариоцитопоеза је била типичан налаз за „унапредовалу” болест [14], са статистички значајном разликом у односу на болеснике са *RA/RARS* (88,7% наспрам 56,4% болесника; $\chi^2=32,31$; $p<0,001$).

„Реактивне” ћелије су уочене код 20,1% болесника, при чему је реактивна плазмодитоза утврђена углавном код болесника са *CMML* и најчешће је била праћена поликлонском хипергамаглобулинемијом у серуму код испитиваних болесника. Лимфни фоликули (≥ 2 агрегата малих лимфоцита) су уочени код 36 болесника (16,1%), од којих је 17 било са подтипом *RA*.

Ретикулинска и колагена мијелофиброза различитог степена (*gradus I-IV*) утврђена је код 55,5% болесника. Удео болесника са присуством ретикулинске, односно колагене мијелофиброзе био је највећи у *CMML* (85,3% болесника), а најмањи код болесника са *RA* (свега 31% болесника). При томе, иако се мијелофиброза у *RARS* подтипу често налазила (77,3% болесника), она је била благог степена (медијана *gr. I*, опсег *I-II*), за разлику од свих других *FAB* подтипова, у којима је мијелофиброза била израженија (медијана *gr. II*, опсег *I-IV*). Хиперфибротични подтип МДС дефинисан је на основу модификованих критеријума Такахашија (*Takahashi*) и сарадника [15]: мијелофиброза *gradus III/IV*, одсуство значајне сплено-мегалије, хиперцелуларна костна срж са тролинијском дисплазијом, постепен настанак и релативно хроничан ток болести, мање од 30% бласта у костној сржи. На основу ових критеријума хиперфибротични подтип МДС дијагностикован је код 18 болесника (7,6%).

ТАБЕЛА 2. Униваријантна анализа патохистолошких параметара дужине преживљавања и еволутивности примарног мијелодиспластичног синдрома (Каплан-Мајерова крива, лог-ранк тест).

TABLE 2. Univariate analysis of pathohistological features related to survival and evolution of primary myelodysplastic syndromes (Kaplan-Meier curves, log-rank test)

ВАРИЈАБЛА VARIABLE	N	Умрли (%) Death (%)	Преживљавање (месеци) Survival (months)	p	„Еволуциони” МДС (%) Evolutive MDS (%)	Време до еволуције (месеци) Time to evolution (months)	p
Целуларност Cellularity							
Хипоцелуларност Hypocellularity	24	46	33.0	0.004	*	*	
Нормоцелуларност Normocellularity	27	41	41.4		19	>30.0	
Хиперцелуларност Hypercellularity	185	71	15.0		39	30.9	
Дислокација Е-лозе E-line dislocation							
Присутна / Yes	147	65	19.0	0.4	33	38.3	0.39
Одсутна / No	80	64	20.7		34	>25.0	
ALIP							
Присутан / Yes	133	77	10.0	<0.001	38	25.0	0.001
Одсутан / No	84	48	39.6		28	>56.0	
Дислокација МК-лозе MK-line dislocation							
Присутна / Yes	111	75	12.0	0.0005	38	30.0	0.03
Одсутна / No	107	53	29.5		31	>56.0	
Квантитет Е-лозе E-line quantity							
++	126	52	34.9	<0.001	28	>36.0	0.003
+/N	41	76	10.0		39	21.5	
-/-	66	82	7.9		39	20.5	
Квантитет МК-лозе MK-line quantity							
+/+/N	177	63	24.6	0.002	36	>55.0	0.31
-/-	58	71	8.1		25	19.7	
Квантитет Г-лозе G-line quantity							
+/++	97	80	8.7	<0.001	40	20.6	0.0002
-/N	136	53	36.0		28	>55.0	
Скретање улево Maturation arrest							
Присутно / Yes	60	65	22.0	0.001	30	35.5	0.133
Одсутно / No	52	38	45.4		25	>55.0	
Лимфни чворови Lymph follicles							
Присутни / Yes	36	55	21.0	0.17	21	>55.0	0.059
Одсутни / No	188	65	21.5		35	37.0	
Мијелофиброза Myelofibrosis							
Присутна / Yes	130	69	13.4	0.0005	34	31.8	0.068
Одсутна / No	104	59	34.8		34	>55.0	
Дисеритропоеза Dyserythropoiesis							
Присутна / Yes	99	62	16.0	0.35	30	>39.0	0.40
Одсутна / No	134	66	22.0		35	>43.0	
Дисмегакариоцитопоеза Dysmegakaryocytopoiesis							
Присутна / Yes	168	71	14.0	<0.001	37	30.6	0.007
Одсутна / No	54	43	44.5		26	>56.0	
Скор „Хановер” Hannover score							
Група А Group A	46	26	>48	<0.001	12	>19.0	<0.001
Група В Group B	100	63	24.2		35	40.3	
Група С Group C	85	86	5.2		43	10.8	

* недовољан број нецензорисаних случајева за конструисање Каплан-Мајерове криве; > – медијана (50% болесника) времена до смрти или еволуције болести није достигнута

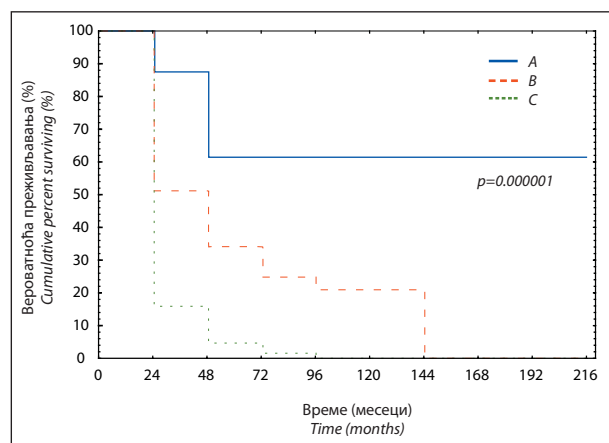
* insufficient number of uncensored cases for construction of Kaplan-Meier curves; > – median (50% of cases) to death or evolution was not reached

Прогностички значај патохистолошких особина костне сржи

Прогностички значај појединих патохистолошких особина костне сржи и различитих група ризика према прогностичком скору „Хановер” тестиран је униваријантном анализом (Табела 2). Утврђено је да су целуларност костне сржи, дислокација МК-лозе и Г-лозе (присуство *ALIP*), квантитет мијелоидних лоза, тзв. скретање улево, мијелофиброза и дисмегакариоцитопоеза прогностички параметри значајни за дужину преживљавања болесника са МДС, док су дислокација МК-лозе и Г-лозе (присуство *ALIP*), квантитет Е-лозе и Г-лозе и дисмегакариоцитопоеза прогностички параметри значајни за предвиђање еволуције болести. Такође је утврђено да између болесника који припадају различитим групама ризика према прогностичком скору „Хановер” постоје статистички високо значајне разлике у погледу дужине преживљавања (Графикон 1) и предвиђања еволуције болести. Фактори значајни за прогнозу дужине живота у униваријантној анализи анализирани су затим мултиваријантном анализом према Коксовом моделу пропорционалних хазарда (Табела 3). Коришћењем дискретног модела (који је обухватио патохистолошке варијабле дихотомног типа) конструисан је модел у коме је статистички значајно лош утицај на преживљавање имао само *ALIP*. Коришћењем сличног модела за предвиђање еволуције болести, ниједна испитивана варијабла се није показала као прогностички независна (резултати нису приказани).

Компаративна анализа цитолошких и хистолошких особина костне сржи у примарним мијелодиспластичним синдромима

Компаративна анализа цитолошких и хистолошких одлика костне сржи у пМДС приказана је у табели 4. Ова анализа је показала релативно добру корелацију између два метода у погледу процене квантитета еритропоезе, присуства дисмегакариоцитопоезе,



ГРАФИКОН 1. Актуријалне криве преживљавања болесника с различитим оценама према прогностичком скору „Хановер” и припадности различитим групама ризика (А – мали ризик, В – средњи ризик, С – велики ризик).

GRAPH 1. Kaplan-Meier plots predicting survival in patients belonging to different risk groups according to Hannover score (A – good risk, B – intermediate risk; C – high risk).

ТАБЕЛА 4. Компаративна анализа особина дисхематопоезе проценених применом цитолошког и патохистолошког метода код 236 болесника са примарним мијелодиспластичним синдромом.

TABLE 4. Comparative analysis of pathohistological and cytological assessment of bone marrow dyshematopoiesis in 236 patients with primary myelodysplastic syndrome.

Особине костне сржи Bone marrow feature	Неслагање (%) Disagreement (%)
Целуларност Cellularity	31.9
Квантитет еритропоезе Quantity of E-line	23.7
Квантитет МК-лозе Quantity of MK-line	37.4
Дисеритропоеза Dyserythropoiesis	46.3
Дисмегакариоцитопоеза Dysmegakaryocytopoiesis	21.8
Присуство „реактивних” ћелија Reactive cells	22.6
Степен бластне инфилтрације Myeloblast infiltration	32.5

ТАБЕЛА 3. Дискретни модел мултиваријантне анализе патохистолошких варијабли дужине преживљавања код примарног мијелодиспластичног синдрома.

TABLE 3. Cox regression model built on nominal pathohistological variables related to survival of patients with primary myelodysplastic syndromes.

Варијабла Variable	β	SE	Вредност <i>t</i> t-value	<i>p</i>
Целуларност Cellularity	0.3257	0.2149	1.5151	0.130
Дислокација Г-лозе (<i>ALIP</i>) Dislocation of G-line (<i>ALIP</i>)	0.5242	0.2237	2.3436	0.019
Дислокација МК-лозе Dislocation of MK-line	0.1318	0.2031	0.6487	0.516
Квантитет Е-лозе Quantity of E-line	0.2518	0.1339	1.8795	0.060
Квантитет Г-лозе Quantity of G-line	0.3043	0.2680	1.1354	0.256
Дисмегакариоцитопоеза Dysmegakaryocytopoiesis	0.3506	0.2686	1.3051	0.191
Мијелофиброза Myelofibrosis	0.2022	0.1984	1.0192	0.308

SE – стандардна грешка; $\chi^2=53.91$; $df=7$; $p<0.001$

SE – standard error; $\chi^2=53.91$; $df=7$; $p<0.001$

поезе и „реактивних” ћелија, за разлику од осталих компарираних особина. Када су у питању целуларност костне сржи и број МК, један од разлога неслагања два метода био је значајан број „псеудохипоцелуларних” цитолошких узорака (26 од 236 узорака; 11%). Неслагање између два метода у погледу броја бласта, а самим тим и класификације болести у одређени *FAB* подтип, углавном је био код „узнапредовалих” облика болести (*RAEB*, *RAEB-t*, *CMML*). Највеће неслагање је постојало у разликовању *RAEB* од *RAEB-t*, док је код само пет болесника патолог проценио да је у питању акутна леукемија, а цитолошки преглед је указивао на *RAEB-t* (три болесника), односно тзв. *CMML-t* (два болесника).

ДИСКУСИЈА

Дисплазија је, у ужем смислу речи, патохистолошки термин којим се означава губитак униформности индивидуалних ћелија и њихове архитектурне оријентације [4]. На основу налаза поремећене хистотопографије могу се разликовати „прави” МДС од раних облика болести, чиме архитектурна дезорганизација ткива постаје један од дијагностичких критеријума МДС [8]. Поремећај хистотопографије био је типичан налаз код већине наших болесника: паратрабекулна дислокација ћелија Е-лозе и МК-лозе утврђена је код 64,7%, односно 50,9% болесника, што је у складу с резултатима Машека (*Maschek*) и сарадника [9]. Интертрабекулна дислокација незрелих елемената Г-лозе (*ALIP*) утврђена је код једне петине наших болесника са *RA/RARS* и код већине болесника са *RAEB*, *RAEB-t* и *CMML*, што потврђује став највећег броја аутора да је *ALIP* одлика „узнапредовалог” МДС [2, 6, 16-18]. Међутим, препознавање *ALIP* је субјективна категорија, са значајном стопом неслагања од 17% између различитих патолога [3]. Препознавање *ALIP* зависи од примењене технике хистолошке обраде ткива, јер је морфологија ћелија боље очувана у процесу пластичног калупљења недекалцификованих исечака костне сржи у односу на биопсије калупљене у парафину. Присуство *ALIP* се поуздано може проценити само имунохистохемијском анализом која омогућава разликовање правог *ALIP* (агрегати незрелих гранулоцитно-моноцитних прекурсора), од *pseudo-ALIP* (агрегати незрелих еритроидних или мегакариоцитних прекурсора), имајући у виду да не постоје морфолошке разлике у изгледу хроматина, броју нуклеуса и *N/C* односу (однос једра и цитоплазме) између ћелија које чине прави, односно *pseudo-ALIP* [6]. Осим тога, показано је да болесници са преобладавањем мијелоидног хиперплазијом и правим *ALIP* имају израито лошу прогнозу са високом учесталом леукемијске трансформације, док се преживљавања болесника са хипопластичним, хиперфибротичним и МДС са преобладавањем еритроидног хиперплазијом без правог *ALIP* значајно не разликују [6].

Уз хиперцелуларност, тролинијска хиперплазија је најконстантнија квантитативна одлика мијелоидних линија у пМДС. Хипоплазију Е-лозе и МК-лозе (утврђене код по једне четвртине наших болесни-

ка) углавном је могуће објаснити механизмом потискивања од стране малигног клона, имајући у виду да се ове хипоплазије знатно чешће налазе код болесника са „узнапредовалим” облицима болести. Међутим, у неким случајевима тешких хипоплазија Е-лозе и МК-лозе, а посебно у случајевима потпуног одсуства еритробласта, односно МК (налаз који се виђа у *PRCA*, односно амегакариоцитној тромбоцитопенији), не могу се искључити ни други патогенетски механизми, а пре свега целуларна супресија, односно инхибиција [13].

Промене у строми костне сржи утврђене су код великог броја наших болесника. Различити степени ретикулинске мијелофиброзе утврђени су код 55,5% болесника, што је врло слично резултатима Риоса (*Rios*) и сарадника [3] и Трикота (*Tricot*) и сарадника [16, 17], али није у складу с резултатима истраживања учесталости (од 17%) у студијама Машека и сарадника [9, 19]. Патогенеза мијелофиброзе у МДС објашњава се паракрином стимулацијом фиброзе продукције поремећене МК-поезе [19]. Реактивна фиброза, као секундарна реакција строје у хиперпластичној костној сржи, мање је вероватан патогенетски механизам [19], осим у случајевима *CMML* [3], а, према нашим резултатима, и у случајевима *RARS*, као хиперпластичног облика МДС. На механизам реактивне фиброзе у *CMML* и *RARS* указују релативно благи степени ретикулинске фиброзе и одсуство „хиперфибротичних” облика болести у овим *FAB* подтипима. Повећан број „реактивних” ћелија (плазмочита, еозинофила, мастоцита) уочен је код 20,1% болесника, при чему се реактивна плазмочитоза, праћена поликлонском хипергамаглобулинемијом, често налазила у *CMML*. И други аутори су утврдили да повећано присуство „реактивних” ћелија није редак налаз у МДС [3, 9], при чему Бартл и сарадници [4] чак издвајају „запаљењски” облик МДС као посебан хистолошки подтип болести. С друге стране, учесталост присуства лимфних фоликула код 16,2% наших болесника само је нешто већа од учесталости која се нормално налази код старијих особа [3]. Такође, у овој студији није утврђен прогностички значај повећаног броја „реактивних” ћелија или лимфних фоликула, што сугерише да су ове промене у строми пре епифеномен [6] него одраз имунолошке контроле малигног МДС клона [4, 9].

Када је у питању инциденција посебних патохистолошких подтипова болести, наши резултати (10,2% хипоцелуларних и 7,6% хиперфибротичних МДС) су у складу са подацима из литературе: хипоцелуларни МДС је утврђен код 7,7% [20] и 15-17% болесника [4, 6, 21], а хиперфибротични МДС код 6-9% болесника [4, 6]. Код већине ових болесника (10-24 са хипоцелуларним и 12-18 са хиперфибротичним подтипом МДС) биопсија костне сржи била је основ за морфолошко дијагностиковање болести услед тзв. суве пункције. Ова чињеница, заједно с резултатима компаративне анализе цитолошких и хистолошких особина костне сржи у МДС потврђује комплементарност биопсије и аспирационе пункције костне сржи као дијагностичких метода.

Имајући у виду да је МДС хетерогена група обољења, због чега је утврђивање степена ризика и одлуке

о лечењу изузетно тешко код сваког појединачног болесника, у овој студији је испитан прогностички значај бројних анализираних патохистолошких одлика костне сржи. Униваријантном анализом утврђено је да су поремећај хистотопографије Г-лозе и МК-лозе, хиперплазија Г-лозе са последичним потискивањем Е-лозе и дисмегакариоцитопоеза параметри лоше прогнозе, како дужине преживљавања, тако и еволуције болести. При том се поремећај хистотопографије Г-лозе показао као једина прогностички независна варијабла дужине преживљавања болесника са МДС.

ЗАКЉУЧАК

Патохистолошка анализа је незаобилазни дијагностички поступак у испитивању МДС који треба применити код свих болесника, а не само у случајевима тзв. суве пункције. Ова анализа обезбеђује поуздане информације о целуларности, архитектурној дезорганизацији, броју мегакариоцита и промена у строми костне сржи код болесника са МДС. Патохистолошке особине костне сржи пружају и релевантне информације о току и прогнози болести, посебно ако су анализирани у оквиру прогностичког скорца „Хановер”.

IN MEMORIAM

У знак сећања на др Весну Јовановић, професора Медицинског факултета Универзитета у Београду, еминентног патолога посебно заслужног за напредак хематопатологије, као једне од најсложенијих области патолошке анатомије.

ЛИТЕРАТУРА

- MIC Cooperative Study Group. Recommendations for a morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the primary and therapy-related myelodysplastic disorders. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 32:1-10.
- Tricot G, Vlietinck R, Boogaerts M, et al. Prognostic factors in the myelodysplastic syndromes: Importance of initial data on peripheral blood counts, bone marrow cytology, trephine biopsy and chromosomal analysis. *Br J Haematol* 1985; 60(1):19-32.
- Rios A, Canizo M, Sanz M, et al. Bone marrow biopsy in myelodysplastic syndromes: morphological characteristics and contribution to the study of prognostic factors. *Br J Haematol* 1990; 75(1):26-33.
- Bartl R, Frisch B, Baumgart R. Morphologic classification of the myelodysplastic syndromes (MDS): Combined utilization of bone marrow aspirates and trephine biopsies. *Leuk Res* 1992; 16:15-33.
- Bennett J, Catovsky D, Daniel M, et al. FAB Cooperative Group. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51:189-99.
- Mungi M, Mufti G. Primary myelodysplastic syndromes: diagnostic and prognostic significance of immunohistochemical assessment of bone marrow biopsies. *Blood* 1992; 79(1):198-205.
- Marisavljević D. Evolucija primarnog mijelodisplastičnog sindroma [doktorska disertacija]. Beograd: Medicinski fakultet; 2000.
- Reizenstein P, Ost A. Minimal diagnostic criteria for the myelodysplastic syndrome in clinical practice. *Leuk Res* 1992; 16(1):3-11.
- Maschek H, Gutzmer R, Choritz H, Georgii A. Life expectancy in primary myelodysplastic syndromes (pMDS): A prognostic score based upon histopathology from bone marrow biopsies of 569 patients. *Eur J Haematol* 1994; 53:280-7.
- Manoharan A, Horsley R, Pitney W. The reticulin content of bone marrow in acute leukemia in adults. *Br J Haematol* 1979; 43:185-90.
- Morel P, Hebbar M, Lai J, et al. Cytogenetic analysis has strong independent prognostic value in de novo myelodysplastic syndromes and can be incorporated in a new scoring system: a report on 408 cases. *Leukemia* 1993; 7:1315-23.
- Cox D. Analysis of binary data. London: Methuen & Co; 1970.
- Suvajdžić N, Marisavljević D, Jovanović V, Pantić M, Šefer D, Čolović M. Pure red cell aplasia evolving through the hyperfibrinolytic myelodysplastic syndrome to the acute myeloid leukemia: some pathogenetic aspects. *Hematol Cell Ther* 1999; 41:27-9.
- Marisavljević D, Radošević D, Radojković N, Rolović Z. Comparative morphometric study of immunohistochemical versus conventional staining for the evaluation of megakaryocytopoiesis in normal and pathological bone marrow biopsies. *Pathology International* 1997; 47(5):301-7.
- Takahashi M, Koike T, Nagayama R, et al. Myelodysplastic syndrome with myelofibrosis: myelodysplastic syndrome as a major primary disorder for acute myelofibrosis. *Clin Lab Haemat* 1991; 13:17-23.
- Tricot G, De Wolf-Peeters C, Hendrickx B, Verwilghen R. Bone marrow histology in myelodysplastic syndromes. I. Histological findings in myelodysplastic syndromes and comparison with bone marrow smears. *Br J Haematol* 1984; 57(3):423-30.
- Tricot G, De Wolf-Peeters C, Vlietinck R, Verwilghen R. Bone marrow histology in the myelodysplastic syndromes. II. Prognostic value of abnormal localization of precursors in MDS. *Br J Haematol* 1984; 58(2):217-25.
- Delacretaz F, Schmidt P, Piguet D, Bachmann F, Costa J. Histopathology of myelodysplastic syndromes: The FAB classification (proposals) applied to bone marrow biopsy. *Am J Clin Pathol* 1987; 87:180-6.
- Maschek H, Georgii A, Kaloutsi V, et al. Myelofibrosis in primary myelodysplastic syndromes: a retrospective study of 352 patients. *Eur J Haematol* 1992; 48(4):208-14.
- Yoshida Y, Oguma S, Uchino H, Maekawa T. Refractory myelodysplastic anaemias with hypocellular bone marrow. *J Clin Pathol* 1988; 41(7):763-7.
- Nand S, Godwin J. Hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Cancer* 1988; 62:958-64.

PATHOHISTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MYELOYDYSPLASTIC SYNDROMES: DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE

Dragomir MARISAVLJEVIĆ, Vesna ČEMERIKIĆ, Zoran ROLOVIĆ, Darinka BOŠKOVIĆ, Milica ČOLOVIĆ
Institute of Hematology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade

INTRODUCTION

Pathohistological (PH) analysis is recommended as basic diagnostic procedure during the investigation of myelodysplastic syndromes (MDS).

AIM

The aim of this paper was to investigate diagnostic and prognostic significance of bone marrow PH features in patients with MDS, and its relation to cytological characteristics of bone marrow aspirate.

METHODS

Cellularity, disorder of marrow histotopography, quantity of hematopoiesis lineages, cellular atypia, the amount of myeloblasts, and stromal changes were particularly analyzed in trephines of 236 patients with primary MDS.

RESULTS

In most cases (78.4%) hypercellular bone marrow was observed, although in 10.2% patients hypocellular subtype of MDS was diagnosed. Erythropoiesis dislocation was present in 64.7% patients, dislocation of MK-poiesis in 50.9% patients, while 61.3% had dislocation of granulopoiesis (so-called ALIP phenomenon). In most cases three lineage hyperplasia was present, while relative hypoplasia of E- and MK-lineage was found in ¼ cases, each, particularly in advanced MDS. Morphological features of dyserythropoiesis and dysmegakaryocytopoiesis were present in 42.5% and 75.7% cases, respectively. Different stages of reticulin and collagen fibrosis were observed in

55.5% patients, while 7.6% had hyperfibrotic subtype of MDS. Comparative analysis of cytological and histological features of MDS bone marrow showed positive correlation between two methods only in respect of estimation of eritropoiesis quantity, presence of dismegakaryocytopoiesis and „reactive” cells. The univariate analysis showed that MK- and G-lineage dislocation, quantity of E- and G-lineage, and presence of dysmegakaryocytopoiesis, were prognostic indicators for short survival and evolution of the disease in MDS patients. However, multivariate analysis showed that only G-lineage dislocation was independent prognostic variable for survival in MDS cases.

CONCLUSION

PH analysis is irreplaceable diagnostic procedure during MDS investigation, since it provides reliable information of cellularity, architectural disorganization, number of megakaryocytes and alterations of marrow stroma. In addition, PH analysis provides numerous important prognostic information.

Key words: myelodysplastic syndromes; pathohistological features; bone marrow; prognosis

Dragomir MARISAVLJEVIĆ
Institut za hematologiju
Klinički centar Srbije
Dr Koste Todorovića 2, 11000 Beograd
Tel: 011 3010 749
Faks: 011 699 937
E-mail: maris@tehnicom.net