



MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM

Kissová J., Buliková A., Trnavská I., Antošová M.

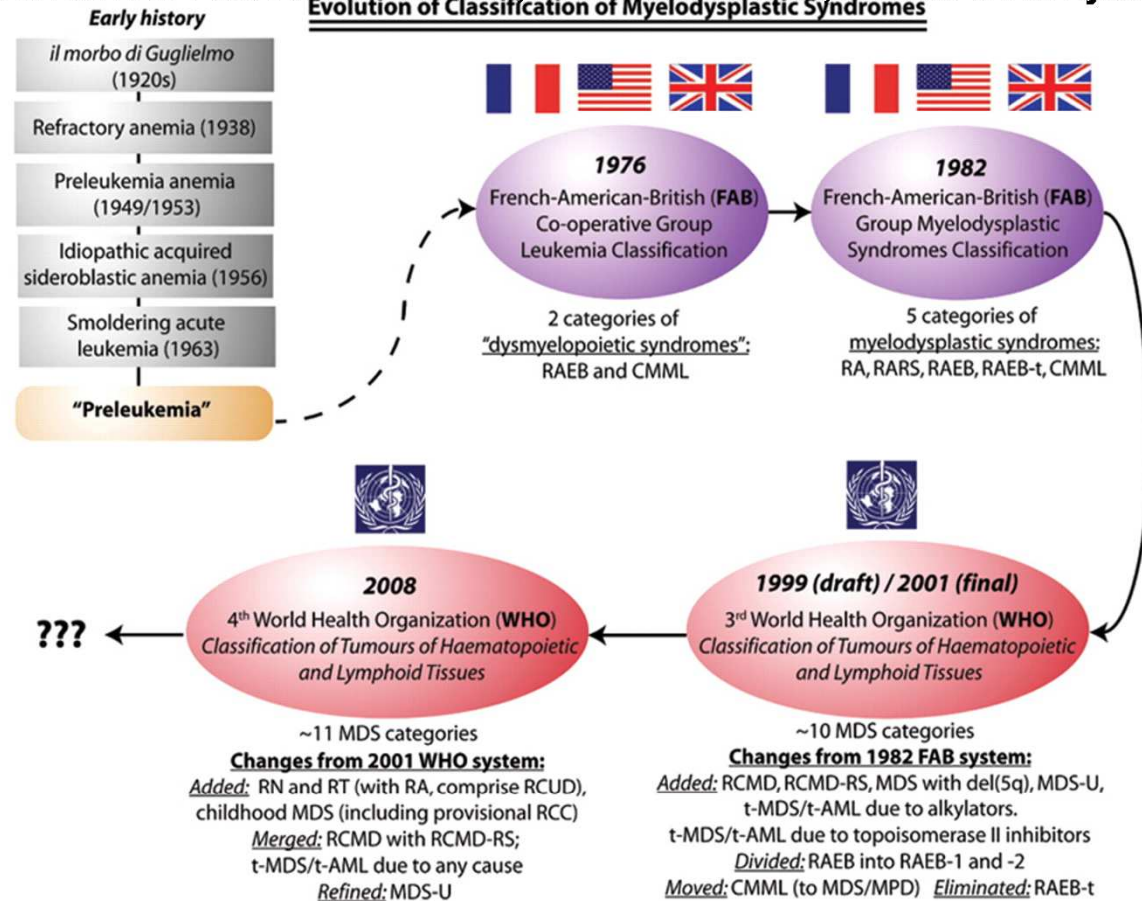
Oddělení klinické hematologie FN Brno

PŘEHLED NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH KLASIFIKACÍ HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT A JEJICH REVIZÍ

Akutní leukémie a MDS		Myeloproliferativní choroby		Lymfoproliferativní choroby	
FAB	1976	PVSG	1975	Rappaportova	1956
	1981	TVSG	1997	Lukesova-Colinsova	1975
	1985		1999	Lennertova	1978
	1991	WHO	2001	„working formulation“	1982
MIC	1985		2008	Kielská	1990
REAL	1994	ECP	2002	REAL	1994
WHO	2001		2005	WHO	2001
	2008		2007		2008
		ECMP			

Prof. Gina Zinni: Každá klasifikace nádorů hemopoetických a lymfopoetických tkání je předem odsouzena k zániku. *EHA/ESH diagnostic work-up of hematological malignancies (chronic malignancies)*, Vídeň 6.-8.11.2009

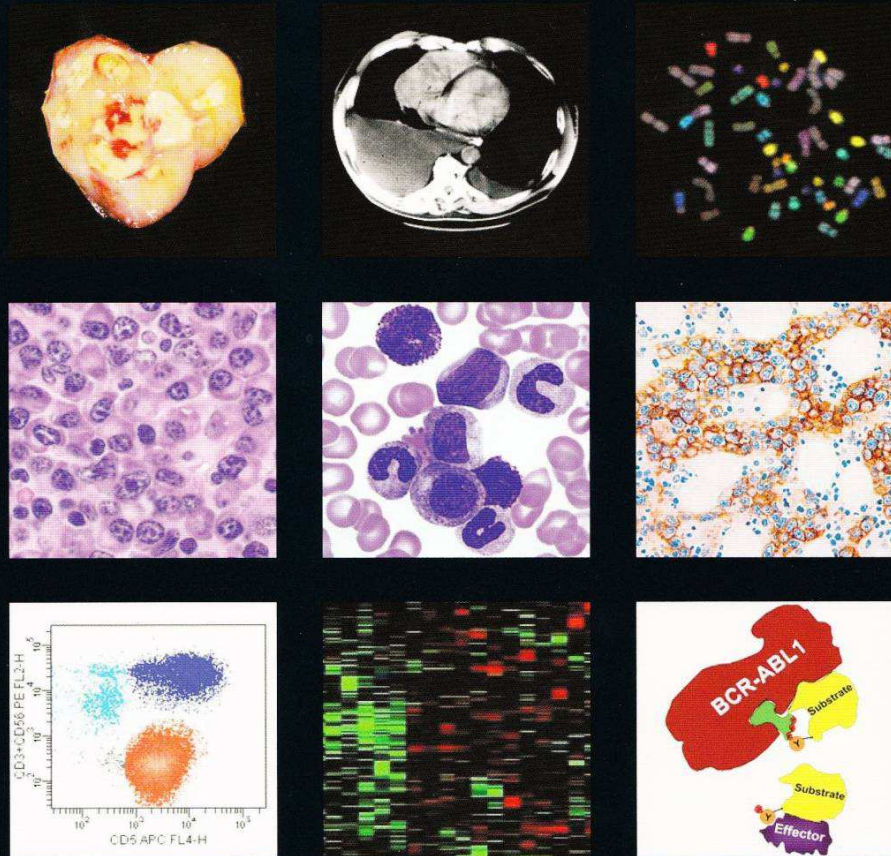
Figure 1. Evolution of classification of the myelodysplastic syndromes, from the era when these syndromes were poorly characterized and collectively known as "preleukemia" (the prevailing term in the 1960s and early 1970s for what is now known as MDS), through the 1976/1982 FAB classifications and, in the last decade, the two WHO systems



Steensma, D. P. Hematology 2009;2009:645-655

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Edited by Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, James W. Vardiman



MYELOYDYSPLÁZIE

- **Myelodysplázie**- přítomnost morfologicky abnormální krvinek, má mnoho příčin



ZÍSKANÉ PŘÍČINY DYSPLÁZIE, NEKLONÁLNÍ

- deficit folátů a B₁₂
- infekce (malárie, HIV, TBC, leishmanióza, parvovirus B₁₉ ...)
- cytostatika a imunosupresiva (mykofenolát, tacrolimus)
- růstové faktory
- jiné léky (protimikrobiální, alemtuzumab, NO – inaktivace B₁₂,...)
- autoimunitní choroby
- leukémie z velkých granulovaných lymfocytů
- léčba agonisty TPO receptoru
- alkohol, drogy
- olovo, arsenik, nadbytek zinku, deficit mědi (včetně vlivu penicilamidu či jiných léků používaných u Wilsonovy choroby)
- proteinová malnutrice
- těžké akutní onemocnění

dysplázií jsou v těchto případech ve dřeni nejčastěji postiženy megakaryocyty



MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM

skupina klonálních chorob hemopoetických kmenových buněk charakterizovaná

- cytopenií
- dysplázií
- inefektivní hematopoézou
- neoplastickým chováním tj. sklonem k vývoji do AML

vznik predominantně u starších dospělých

příznaky vyplývající z cytopenie- nejčastěji anémie, méně často neutropenie a trombocytopenie



MDS VE WHO 2008 VE SROVNÁNÍ S WHO 2001

upřesňuje okolnosti, za kterých může být diagnóza stanovena

- zůstává potřeba rozpočtu na 500 buněk v kostní dřeni a 200 buněk v periferní krvi (u výrazné cytopenie z „buffy coatu“)
- zůstává kritérium nejméně 10% dysplastických buněk v jedné/každé vývojové řadě
- upřesňuje počet elementů, které musí být analyzovány pro stanovení % dysplázie
 - 200 granulocytů
 - 200 normoblastů
 - 30 megakaryocytů



MDS VE WHO 2008 VE SROVNÁNÍ S WHO 2001

upřesňuje okolnosti, za kterých může být diagnóza stanovena

- upozorňuje na nutnost uvážení přítomnosti dysplastických změn v závislosti na kvalitě preparátu (bez použití protisrážlivých roztoků či méně než 2 hodiny)
- u žádného pacienta nemůže být stanovena diagnóza MDS bez znalosti klinického obrazu včetně farmakologické anamnézy; překlasifikování typu MDS není přípustné v případě léčby růstovými faktory včetně EPO
- v případě definovaných molekulárně genetických a/nebo cytogenetických odchylek umožňuje diagnózu MDS i v případě chybění dysplastických změn
- i při počtu blastů < 20% je nutné vyloučit AML cytogeneticky tj. t(8;21), inv (16), t(16), t(15;17) či molekulárně geneticky

Brunning RD, Orazi A, Germing U, LeBeau MM. Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview, In WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Swerdlow SH, Campo E, Harris, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW(Eds). WHO Press, Geneva 2008: 88-93

Bain BJ, Clark DM, Wilkins BS. Bone marrow pathology- the 4th edition. Willey-Blackwell 2010: 208-228



MDS VE WHO 2008 VE SROVNÁNÍ S WHO 2001

- jsou nové diagnostické jednotky RN, RT (viz dále)
- u RCMD není podstatný počet prstenčitých sideroblastů
- je nově definována problematika MDS v dětském věku zejména provizorní jednotka refrakterní cytopenie v dětství (RCC)
- MDS spojený s léčbou je zařazen do kategorie myeloidní neoplázie spojené s léčbou
- je definována jednotka idiopatické cytopenie nejasného významu (idiopathic cytopenia of undetermined significance – ICUS)
 - persistentní cytopenie (tj. více než 6 měsíců) tj. Hb < 110g/l, absolutní neutrofilie < $1,5 \times 10^9/l$, trombocyty < $100 \times 10^9/l$
 - není prokázána dysplázie podle kritérií WHO 2008
 - nejsou prokázány specifické cytogenetické abnormality tj. klonalita
 - nejsou prokázány jiné příčiny cytopenie
 - tyto nemocní by měli být pečlivě monitorováni
- později byla definována IDUS (idiopatická dysplázie nejasného významu)
 - mladí, bez trvalé cytopenie, dysplázie < 10%, není cytogenetická odchylka

Brunning RD, Orazi A, Germing U, LeBeau MM. Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview, In WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Swerdlow SH, Campo E, Harris, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW(Eds). WHO Press, Geneva 2008: 88-93

Baumann I, Niemeyer CM, Shannon K. Childhood myelodysplastic syndrome. In WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Swerdlow SH, Campo E, Harris, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW(Eds). WHO Press, Geneva 2008: 104-107

Steensma DP. The changing classification of myelodysplastic syndromes: what's in a name? Hematology (Am Soc Hematol Educ Program) 2009; 645-655

Valent P, Horny HP. Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from ICUS a IDUS: update and open questions. Eur J Clin Invest 2009; 39: 548-553

WHO KLASIFIKACE 2008 - MYELOYDYSPLASTICKÉ SYNDROMY

- refrakterní anémie s unilineární dysplázií- RCUD
RA, RN, RT
- refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty (RARS)
- refrakterní cytopenie s multilineární dysplázií (RCMD)
- refrakterní anémie s excesem blastů-1 (RAEB-1)
- refrakterní anémie s excesem blastů-2 (RAEB-2)
- MDS, neklasifikovatelný (MDS-U)
- MDS spojený s izolovanou chromozomální abnormitou del(5q)



KLASIFIKACE MDS VE WHO 2008

typ	periferní krev	kostní dřeň
RCUD: RA; RN; RT	uni- či bicytopenie blasty < 1%	unilineární dysplázie ≥10% buněk jedné řady, <5% blastů
RARS	anémie, žádné blasty	≥ 15% prstenčité sideroblasty, jen erytrodysplázie, < 5% blastů
RCMD	cytopenie, blasty <1%, mono <1G/l, žádné Auerovy tyče	dysplázie ve 2 řadách, blasty <5%, žádné Auerovy tyče, ±15% prstenčitých sideroblastů
RAEB1	cytopenie, blasty <5%, mono <1G/l, žádné Auerovy tyče	uni- či multilineární dysplázie, 5-9% blastů, žádné Auerovy tyče
RAEB2	cytopenie, blasty 5-19%, mohou být Auerovy tyče	uni- či multilineární dysplázie, 10-19% blastů, nález Auerových tyčí posouvá kritérium do tohoto stadia
MDS-U	cytopenie, ≤ 1% blastů	dysplázie ≤ 10% buněk 1 či více linií a cytogenetická abnormita, ≤ 5% blastů
MDS s isolovanou del 5q	anémie, normální či zvýšení počet trombocytů, <1% blastů	normální či zvýšené megakaryocyty s hypolobulizovanými jádry, < 5% blastů, izolovaná abnormita del(5q), nejsou Auerovy tyče

DIAGNOSTIKA MDS

- Komplexní
- Morfologie je jedna z možností
- Velmi důležitá je cytogenetika

Nicméně

- U 50% pacientů diagnóza závisí na procesu vyloučení jiných příčin změn v KO
- Může být důležité sledování a opakované vyšetření kostní dřeně



DIAGNOSTICKÉ PROCESY ZAHRNUTÉ VE STANOVENÍ DIAGNÓZY MDS

- kompletní krevní obraz
 - cytologie periferní krve a kostní dřeně (MGG)
 - cytochemie (MPOX, PAS, Perlsovo barvení, NSE)
 - histologie kostní dřeně (imunohistochemie)
 - průtoková cytometrie
 - cytogenetika včetně modalit
 - molekulární genetika
- + řada dalších vyšetření v rámci diferenciální diagnostiky!!!



MORFOLOGIE MDS

Morfologická klasifikace MDS je založena na

- určení procentuálního zastoupení blastů v kostní dřeni a periferní krvi (rozpočet na 500 buněk v kostní dřeni, 200 buněk periferní krve)
- určení typu a stupně dysplázie
- přítomnosti prstenčitých sideroblastů



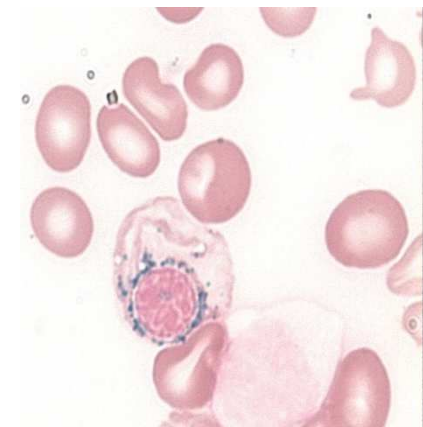
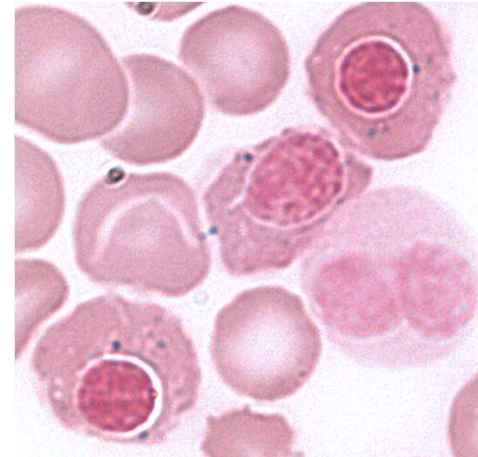
MORFOLOGIE MDS

- doporučené procento buněk s manifestní dysplázií je kvalifikované jako signifikantní, je-li nad 10% u erytroidních a granulocytárních prekurzorů
- signifikantní dysplázie megakaryocytů definovaná nad 10% na základě hodnocení nejméně 30 megakaryocytů

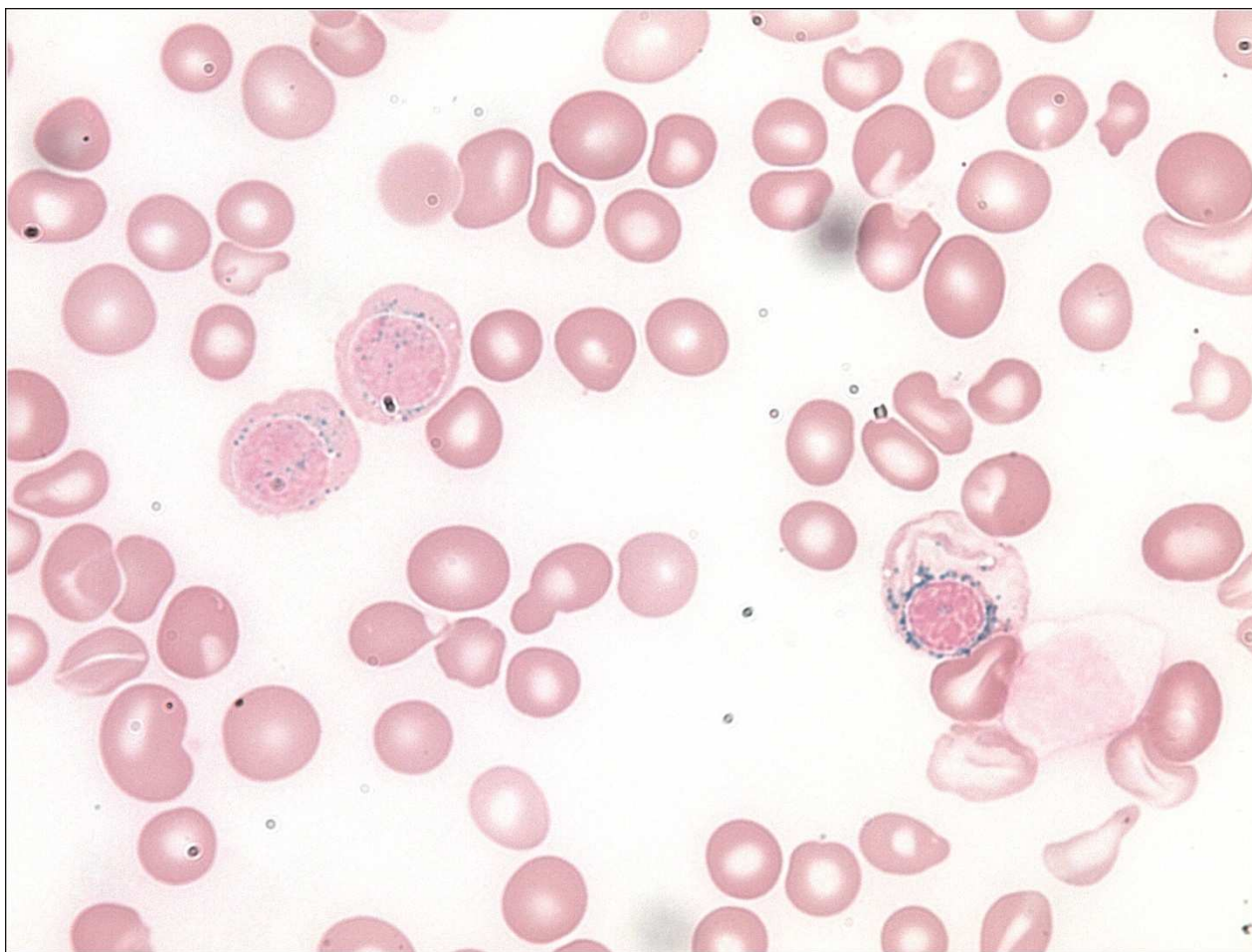


CYTOCHEMICKÉ NÁLEZY V MORFOLOGICKÉM HODNOCENÍ DŘEŇĚ

- Perlsovo barvení
 - počet prstenčitých sideroblastů
 - zásoby železa
- myeloperoxidáza
 - přítomnost či nepřítomnost Auerových tyčí
 - snížená pozitivita ve vyzrávajících neutrofilech je výrazem dysplázie
- PAS
 - pozitivní normoblasty jsou nezávislým kritériem dysplázie



PRSTENČITÉ SIDEROBLASTY



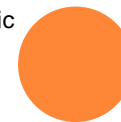
IMUNOCYTOLOGIE

- přináší vlastní informaci k cytologickému nálezu
 - může rozeznat skutečnou RA od RCMD tam, kde nejsou cytologické nálezy přesvědčivé -FC definované „dysplastické“ změny v granulocytech a monocytech
 - predikuje nemocné s rizikem závislosti na transfuzích, s rizikem progresu do vyššího stadia MDS, s rizikem špatného výsledku transplantace
 - predikuje odpověď na léčbu Epo/G-CFS
- nemůže nahradit morfologické stanovení procentuálního zastoupení blastů v kostní dřeni a periferní krvi

van de Loosdrecht AA, Westers TM, Westra G, et al. Identification of distinct prognostic subgroups in low and intermediate-risk myelodysplastic Syndromes by flowcytometry. Blood 2008; 111: 1067-1077

Scott BL, Wells DA, Loken MR, et al. Validation of flow cytometric scoring system as a prognostic indicator for posttransplantation outcome in Patients with myelodysplastic syndrome. Blood 2008; 112: 2681-2686

Van de Loosdrecht AA, Alhan C, Bené MC, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes a report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. Haematologica 2009; 94: 1124-1134



PROBLÉMY MORFOLOGICKÉ DIAGNOSTIKY

○ co je normální?

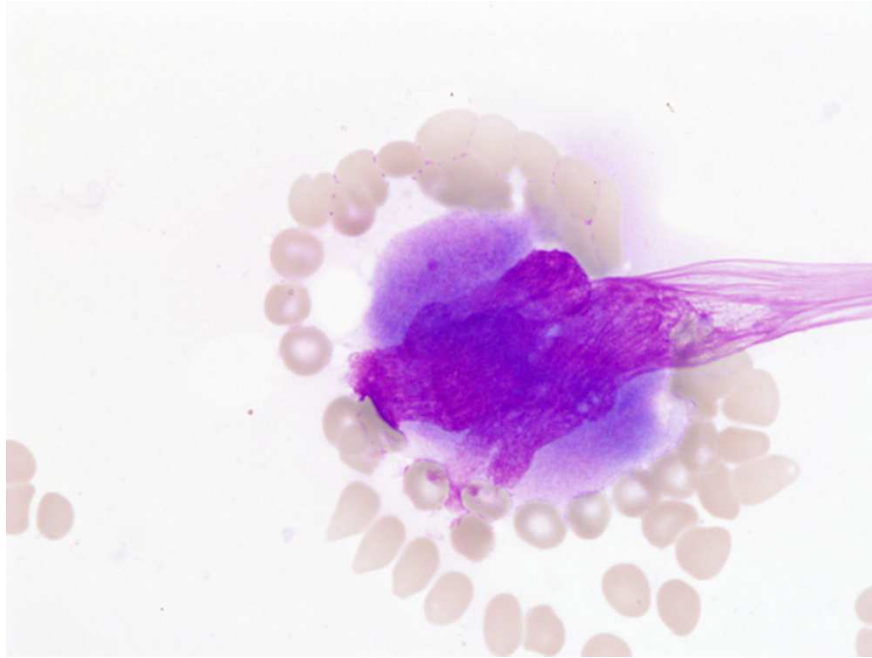
- 19/50 dysplastické megakaryocyty (nelobulizované, multinukleární, obě)*
 - žádný z nich neměl změny v granulopoéze nebo prstenčité sideroblasty
 - žádný neměl mikromegakaryocyty

○ možnost artefaktů

- přestupuje-li jádro megakaryocytů mimo hranici danou cytoplazmou, jde o artefakt způsobený nátěrem
- hypogranulované formy neutrofilů efekt daný barvením, pH, vlivem EDTA...

*Bain BJ. Br J Haematol 1994; 206



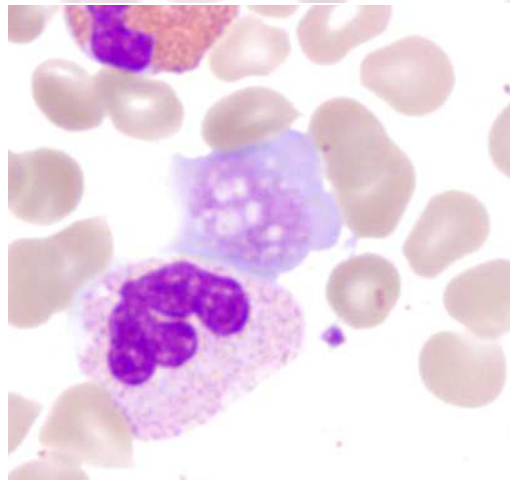
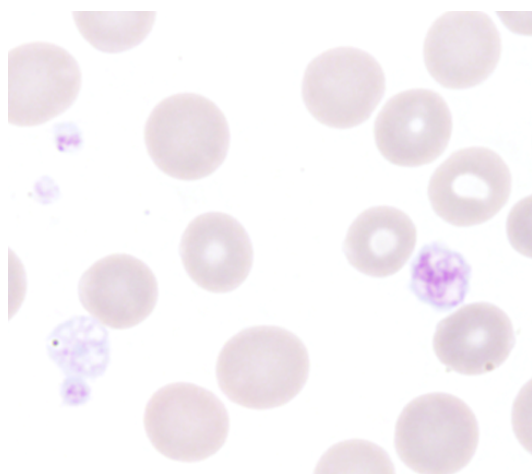
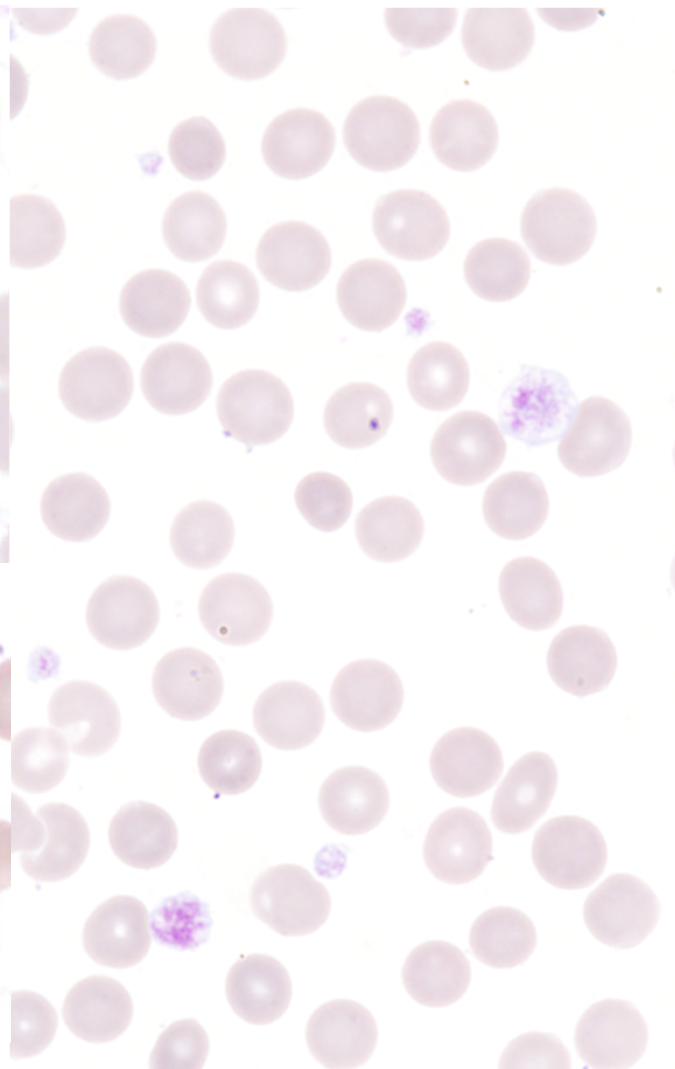
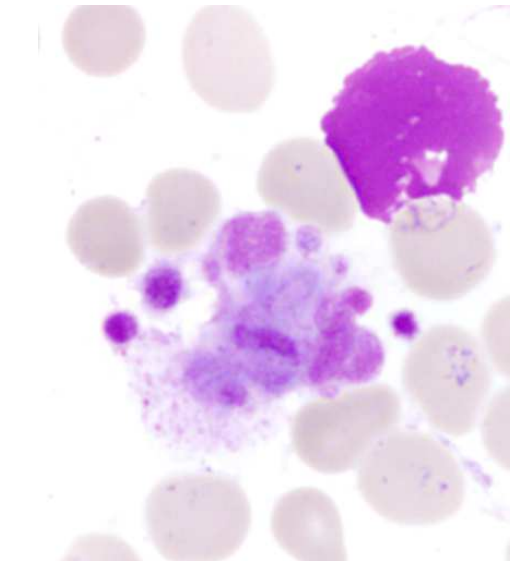
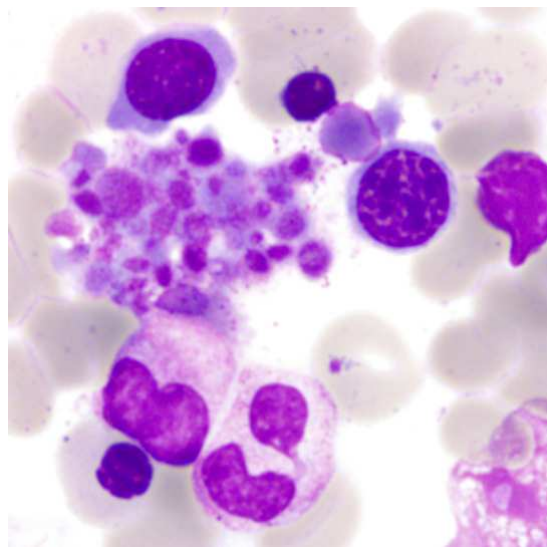


MORFOLOGIE MDS - PERIFERNÍ KREV

- **erythrocyty**: anizocytóza, poikilocytóza, makrocytóza, zřídka mikrocytóza, fragmentace ery, polychromázie, bazofilní tečkování, Cabotovy prstence.
- **leukocyty**: získaná Pelger-Huëtova anomálie, hypersegmentace, hypogranulace, přítomnost promonocytů, dvoujaderné granulocyty, blasty, Auerovy tyče, přítomnost makropolycytů
- **trombocyty**: anizocytóza, makrotrombocyty, hypogranulární či agranulární trombocyty, event. fragmenty cytoplazmy megakaryocytů.



MORFOLOGIE TROMBOCYTŮ

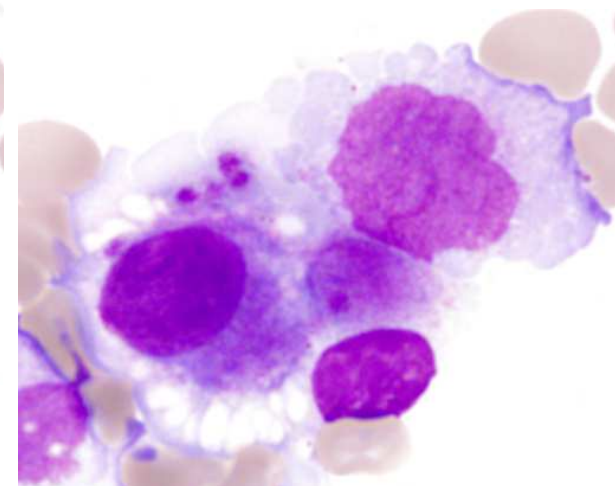
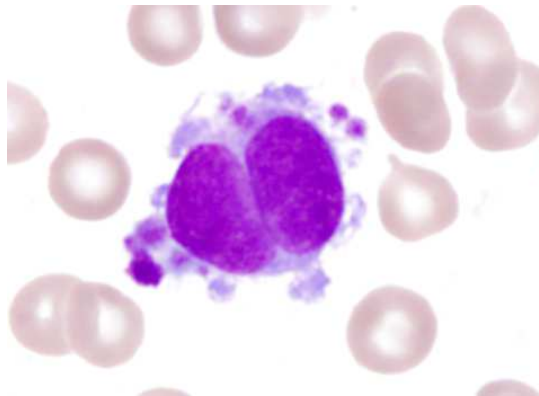
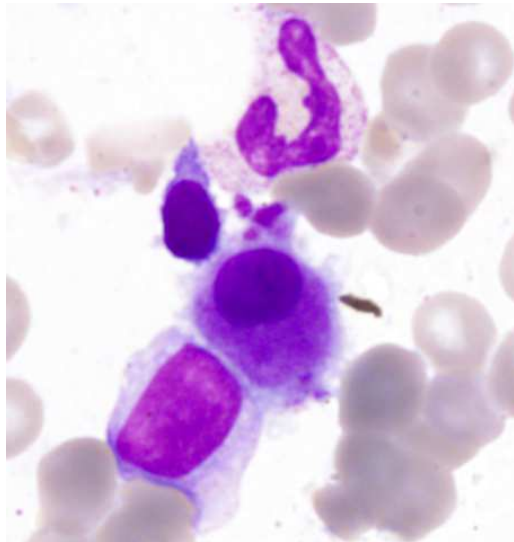
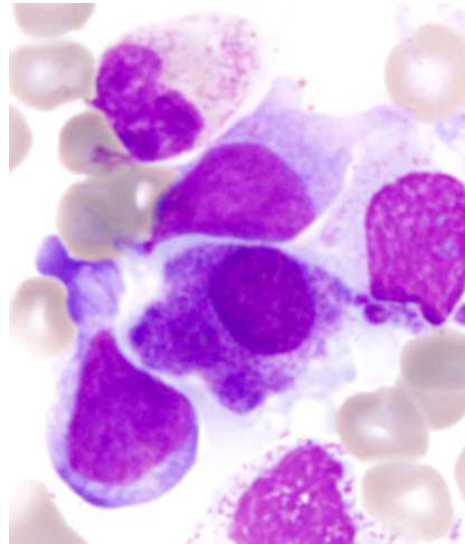
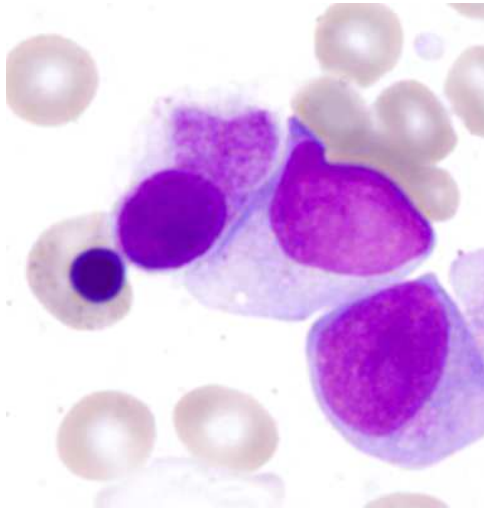


DYSMEGAKARYOPOEZA

- ❖ mikromegakaryocyty
- ❖ jaderná hypolobulace
- ❖ mnohojadernost (normální megakaryocyty jsou jednojaderné s lobulovanými jádry)
- ❖ obrovské až gigantické megakaryocyty
- ❖ vakuolizace cytoplazmy megakaryocytů
- ❖ megakaryocyty s hypogranulární či agranulární cytoplazmou



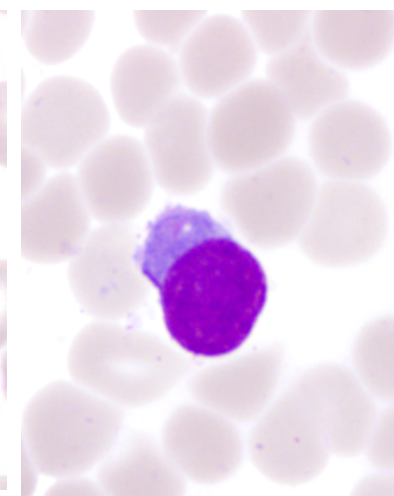
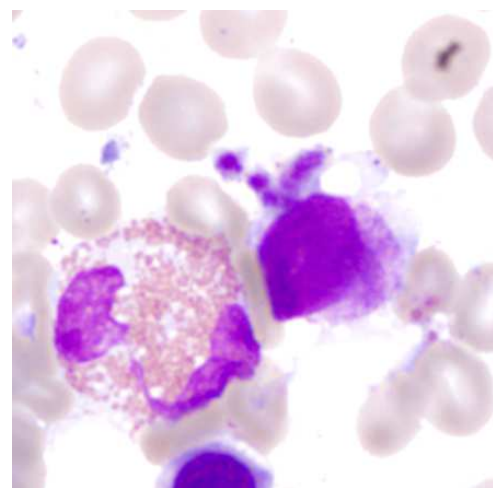
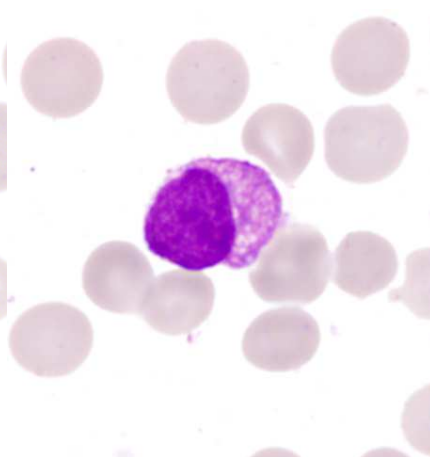
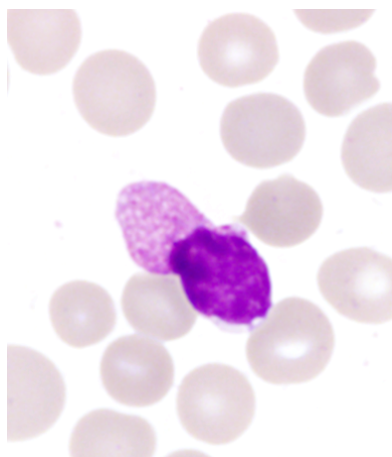
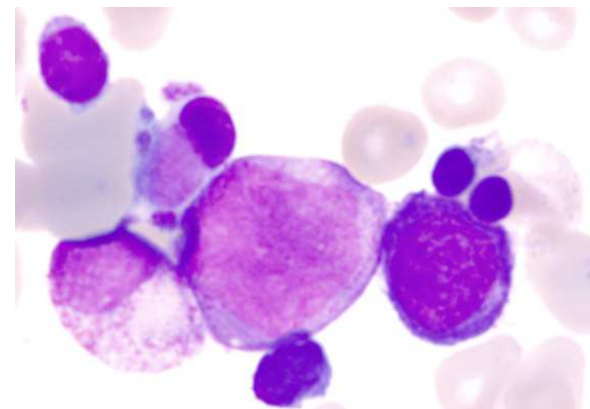
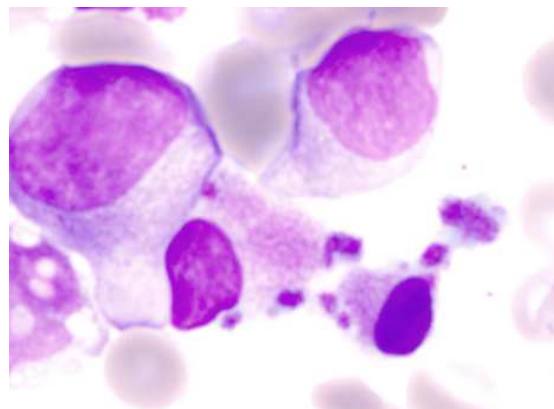
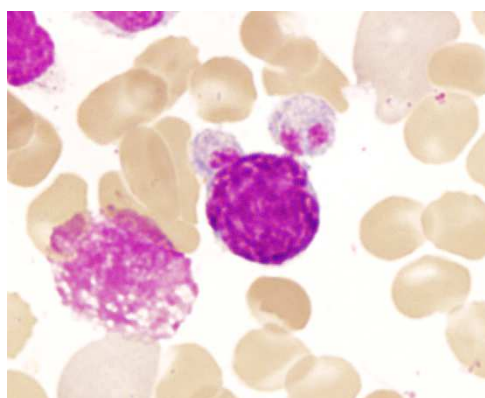
MIKROFORMY MEGAKARYOCYTŮ NEBOLI MIKROMEKAKARYOCYTY



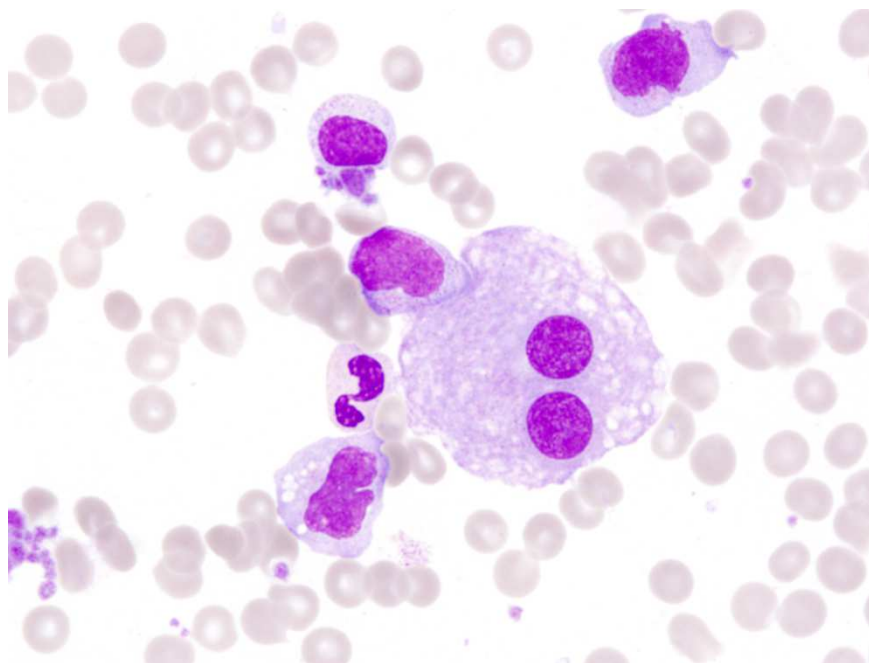
„mikromegakaryocyt“
= megakaryocyt menší
než promyelocyt
přesná velikost není
arbitrálně stanovena
nejdůležitější známka
dysplázie v
megakaryocytech



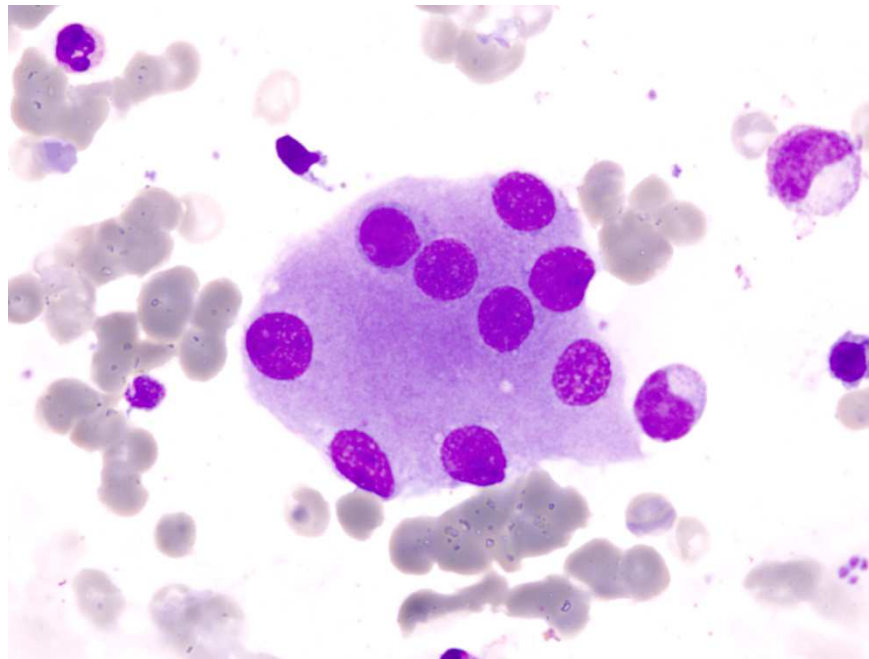
MIKROFORMY MEGAKARYOCYTŮ



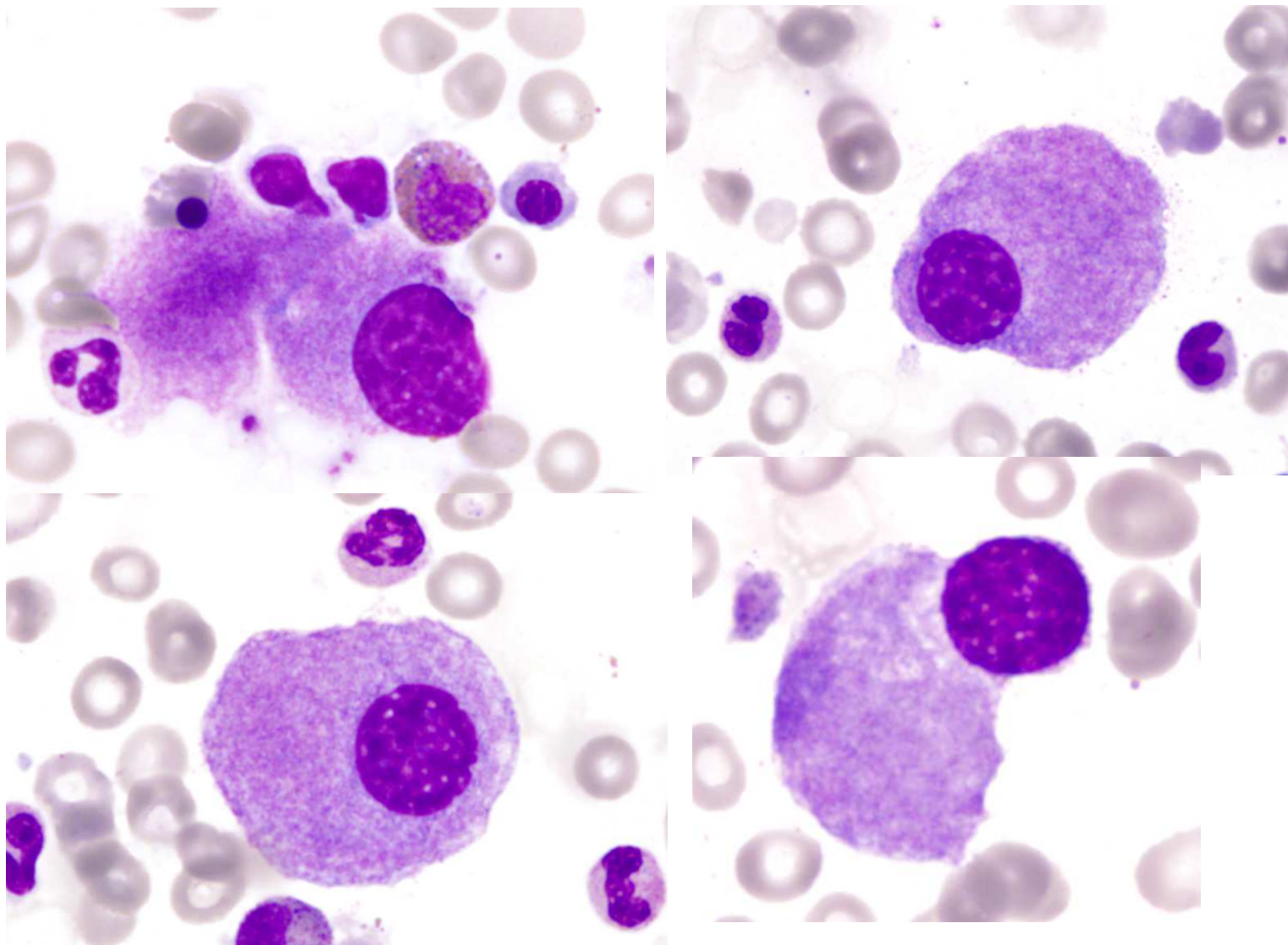
IZOLOVANÁ JÁDRA (BI-POLYNUKLEÁRNÍ FORMY)



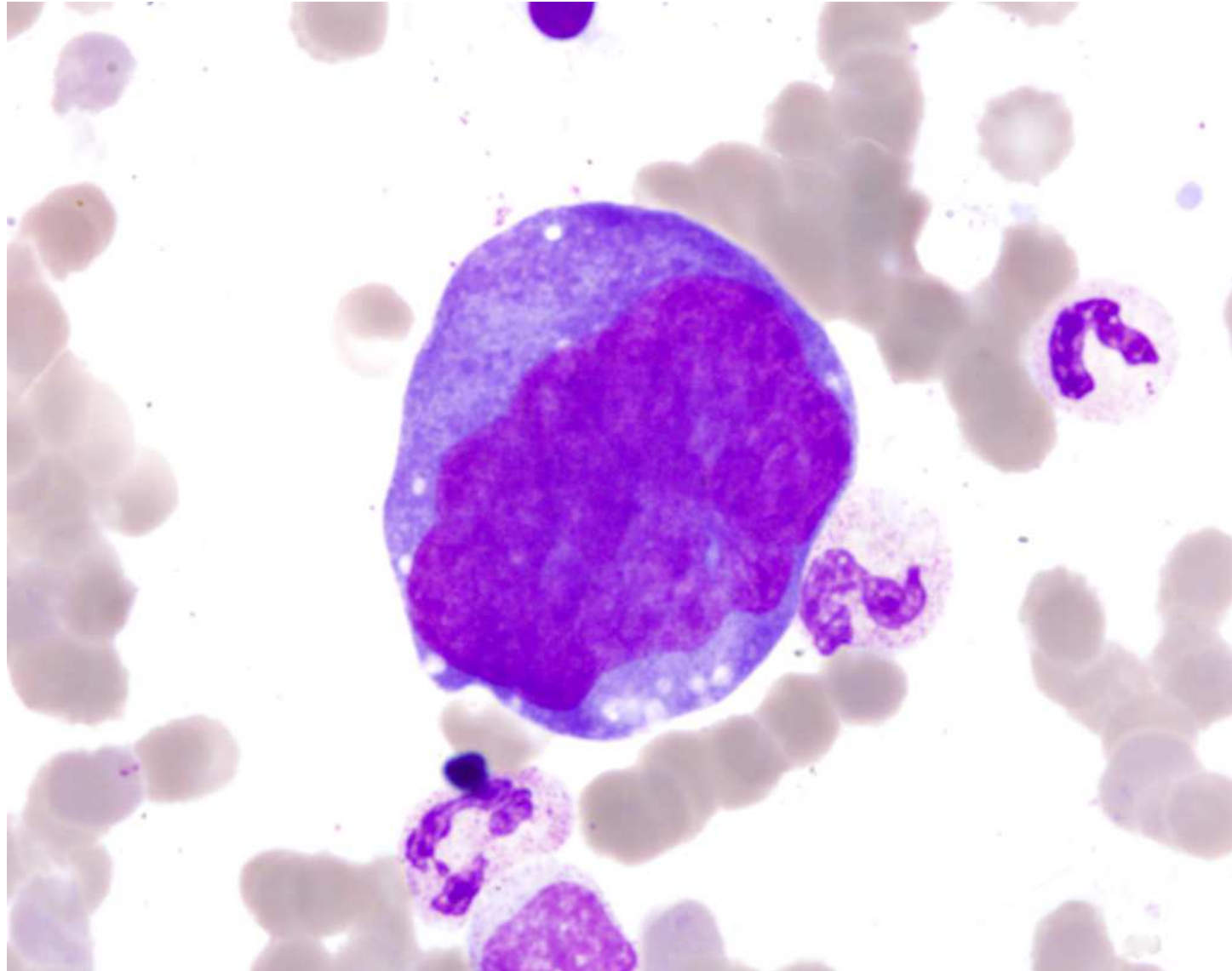
IZOLOVANÁ JÁDRA (BI-POLYNUKLEÁRNÍ FORMY)



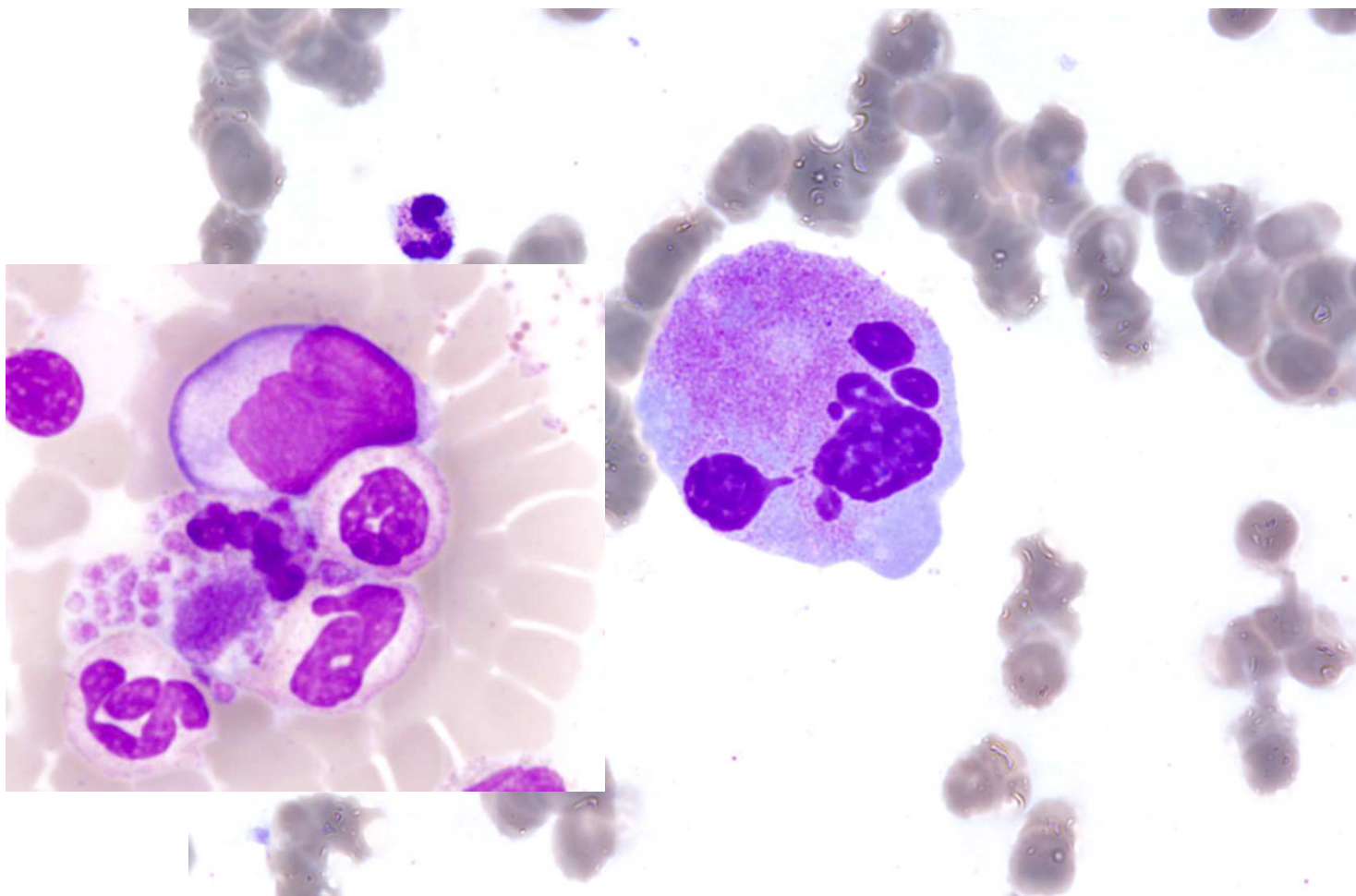
MALÉ HYPOSEGMENTOVANÉ FORMY MDS S DELECÍ 5Q



NEZRALÉ HYPERSEGMENTOVANÉ FORMY



BIZARDNÍ FORMY



DYSERYTROPOEZA

o Změny jádra

- ❖ mezijaderné můstky
- ❖ lobulizace
- ❖ nepravidelnosti jaderné membrány
- ❖ karyorexe
- ❖ mnohojadernost
- ❖ megaloidní rysy
- ❖ zneokrouhlení jader,
- ❖ mitózy

o Změny cytoplazmy:

- ❖ bazofilní tečkování
- ❖ vakuolizace
- ❖ Howell-Jollyho tělíška
- ❖ prstenčité sideroblasty (více než 5 granul kolem jádra)
- ❖ PAS pozitivita- buď difuzní nebo granulární
- ❖ nerovnoměrná barvitelnost cytoplazmy

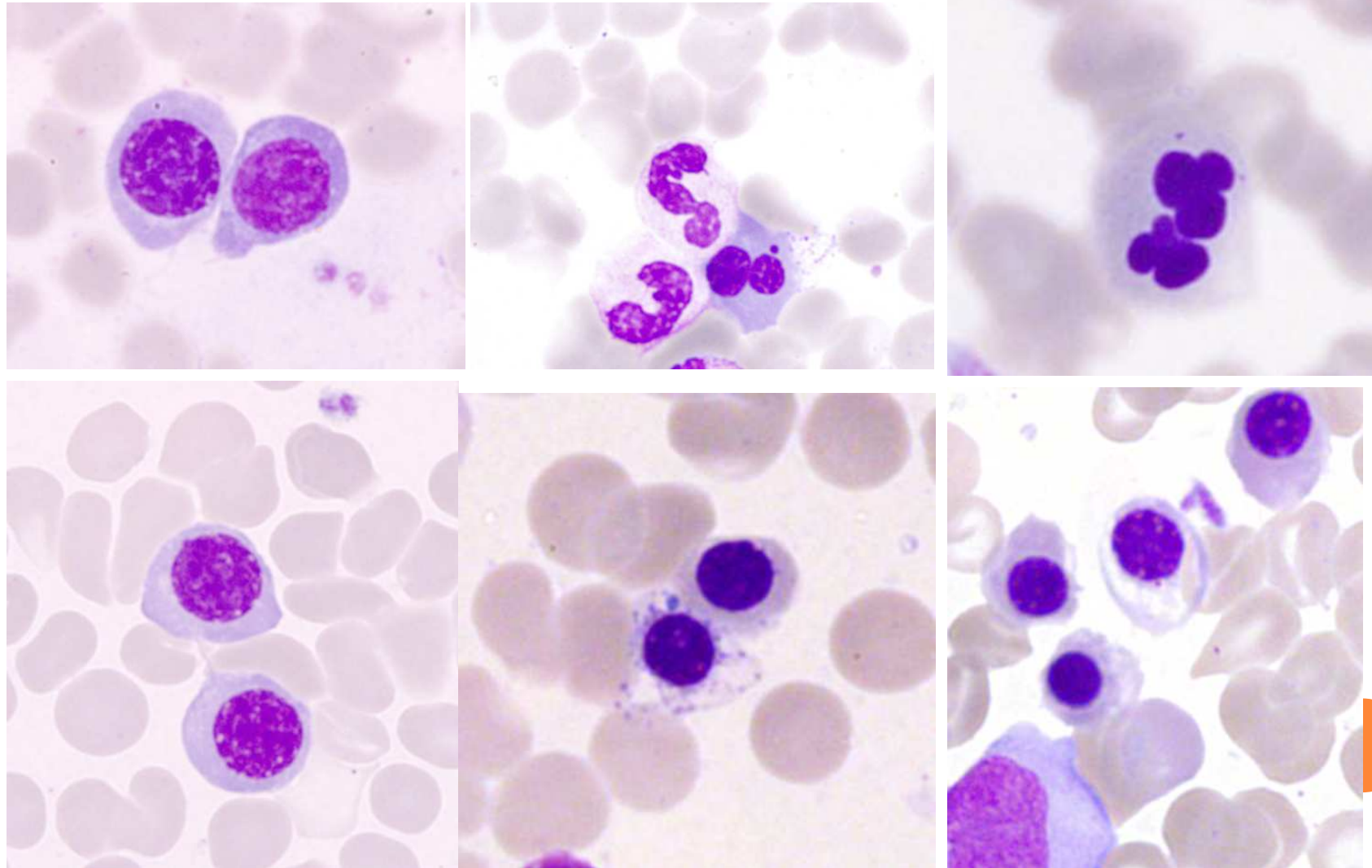


DYSGRANULOPOEZA

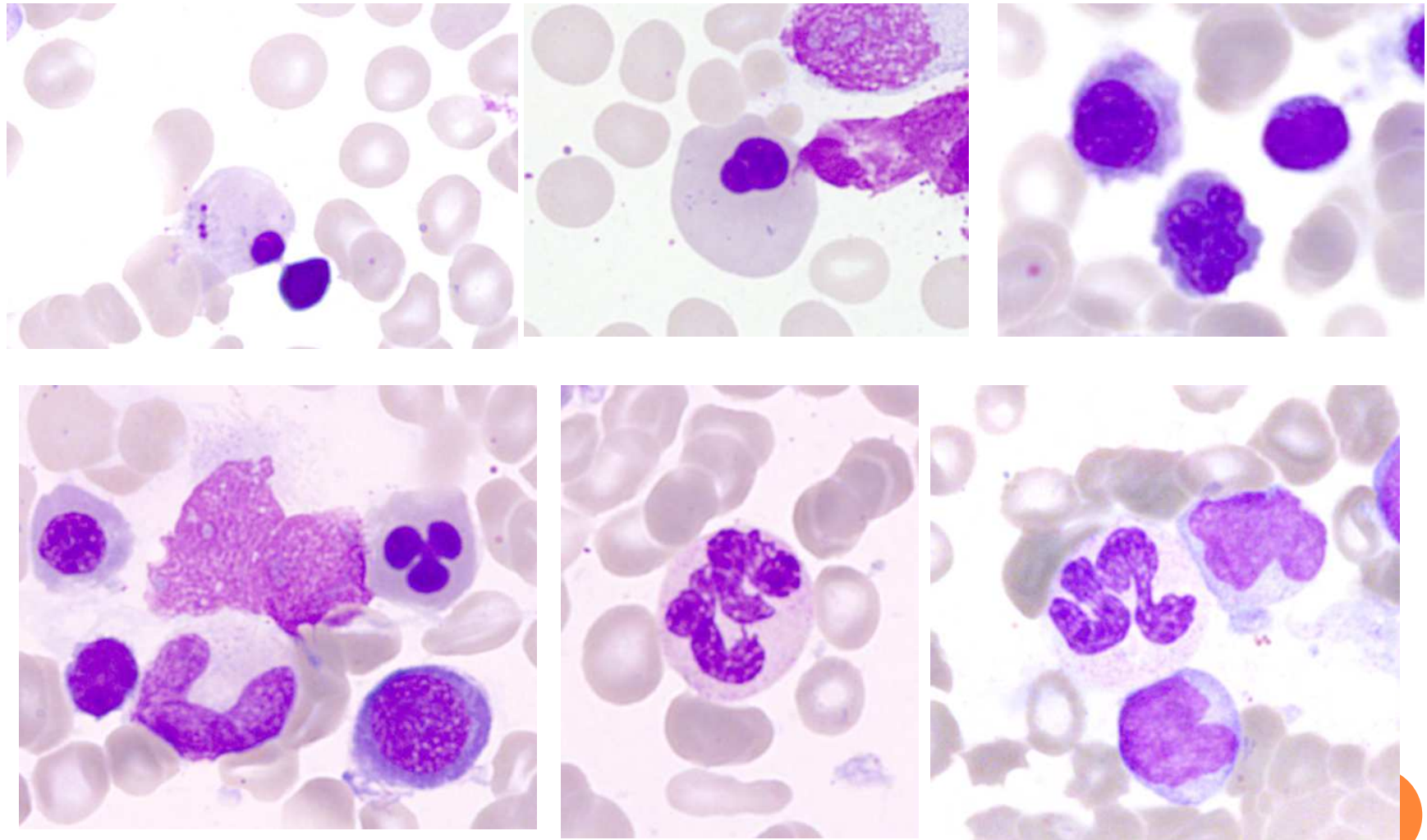
- ❖ malé nebo neobvykle velké elementy
- ❖ abnormální shlukování chromatinu
- ❖ hyposegmentace-pseudo Pelger Huetova anomálie
- ❖ nepravidelná hypersegmentace
- ❖ jaderná atypie
- ❖ hypogranularita, agranularita
- ❖ nerovnoměrná distribuce granul
- ❖ vakuolizace cytoplazmy
- ❖ nestejně rozložení bazofilie
- ❖ pseudoChediak-Higashiho granula
- ❖ Auerovy tyče
- ❖ asynchronie zrání cytoplazmy a jádra
- ❖ deficit myeloperoxidázy v elementech neutrofilní granulopoezy



DYSPLÁZIE V ERYTROPOÉZE



DYSPLÁZIE V ERYTROPOÉZE A GRANULOPOÉZE



MDS - HISTOLOGIE KOSTNÍ DŘEŇ

- kostní dřeň obvykle hypercelulární nebo normocelulární, menšina případů (10%) – hypocelulární dřeň (hypocelulární MDS)
- dezorganizovaná architektura včetně **ALIP fenoménu**- abnormální lokalizace nezralých prekurzorů



MDS – CHROMOZOMÁLNÍ ABNORMALITY

- trisomie 8 10%
- -7 nebo delece 7q 10%
- -5 nebo delece 5q 10%
- delece 20q 5-8 %
- -Y 5%
- abnormality chrom. 17 3-5%
- -13 nebo delece 13q 3%
- delece 11q 3%
- delece 12p 3%
- delece 9q 1-2%



REFRAKTERNÍ CYTOPENIE S UNILINEÁRNÍ DYSPLÁZIÍ

- refrakterní anémie (RA)
- refrakterní neutropenie (RN)
- refrakterní trombocytopenie (RT)

Doporučená hranice pro dysplázii je více než 10%.

Doporučená hranice pro definici cytopenie: hb pod 100 g/l, absolutní počet neutrofilů pod 1,8 G/l a počet trombocytů po 100 G/l.

REFRAKTERNÍ ANÉMIE

Periferní krev:

- anémie
- blasty vzácně, pod 1%

Kostní dřeň:

- výhradně erytroidní dysplázie
- < 5% blastů
- < 15% prstenčitých sideroblastů



REFRAKTERNÍ CYTOPENIE S UNILINEÁRNÍ DYSPLÁZIÍ

- refrakterní anémie (RA)
- refrakterní neutropenie (RN)
- refrakterní trombocytopenie (RT)

Doporučená hranice pro dysplázii je více než 10%.

Doporučená hranice pro definici cytopenie: hb pod 100 g/l, absolutní počet neutrofilů pod 1,8 G/l a počet trombocytů po 100 G/l.

REFRAKTERNÍ ANÉMIE

Periferní krev:

- anémie
- blasty vzácně, pod 1%

Kostní dřeň:

- výhradně erytroidní dysplázie
- < 5% blastů
- < 15% prstenčitých sideroblastů

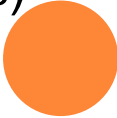


REFRAKTERNÍ CYTOPENIE S UNILINEÁRNÍ DYSPLÁZIÍ

REFRAKTERNÍ NEUTROPENIE

- dysplázie – obvykle hypolobulace a hypogranulace
- nutno vyloučit sekundární neutropenii po léčích, při infekci či způsobenou imunitními mechanismy
- ostatní myeloidní řady nevykazují signifikantní dysplázii (pod 10%)

REFRAKTERNÍ TROMBOCYTOPENIE

- nad 10% dysplastických megakaryocytů z nejméně 30 hodnocených megakaryocytů
 - ostatní myeloidní řady nevykazují signifikantní dysplázii (pod 10%)
- 

REFRAKTERNÍ ANÉMIE S PRSTENČITÝMI SIDEROBLASTY - RARS

Periferní krev:

- anémie
- blasty vzácně pod 1%

Kostní dřeň:

- nejméně 15% prstenčitých sideroblastů
- výhradně erytroidní dysplázie
- < 5% blastů



REFRAKTERNÍ CYTOPENIE S MULTILINEÁRNÍ DYSPLÁZIÍ - RCMD

Periferní krev:

- bi- nebo pancytopenie
- žádné blasty nebo < 1%, žádné Auerovy tyče
- < 1 G/l monocytů

Kostní dřeň:

- dysplázie v nejméně 10% buněk alespoň ve dvou myeloidních liniích
- < 5% blastů, žádné Auerovy tyče
- +/- 15% prstenčitých sideroblastů

Ke zhodnocení stupně dysplastických změn je doporučováno hodnotit 200 buněk neutrofilní řady, 200 buněk erytropoezy a nejméně 30 megakaryocytů.



REFRAKTERNÍ ANÉMIE S EXCESEM BLASTŮ I (RAEB I)

Periferní krev:

- bi- nebo pancytopenie
- < 5% blastů, žádné Auerovy tyče
- < 1 G/l monocytů

Kostní dřeň:

- unilineární nebo multilineární dysplázie
- 5-9% blastů, žádné Auerovy tyče



REFRAKTERNÍ ANÉMIE S EXCESEM BLASTŮ II (RAEB II)

Periferní krev:

- bi nebo pancytopenie
- 5-19% blastů, mohou být Auerovy tyče
- < 1G/l monocytů

Kostní dřeň:

- unilineární nebo multilineární dysplázie
- 10 - 19% blastů, mohou být Auerovy tyče

Přítomnost Auerových tyčí v blastech zařazuje MDS do skupiny MDS RAEB II bez ohledu na procento blastů



MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM NEKLASIFIKOVATELNÝ (MDS-U)

- pac. s nálezy RCUD nebo RCMD, ale s 1% blastů v PK
- případy s unilineární dysplázií, které jsou spojeny s pancytopenií
- pac. s perzistující pancytopenií, s 1% nebo méně blasty v krvi a méně než 5% blasty v KD, s dysplastickými rysy u méně než 10% buněk, s cytogenetickými odchylkami typickými pro MDS



MDS SPOJENÝ S IZOLOVANOU DEL(5Q)

Periferní krev:

- anémie obvykle makrocytární
- normální nebo zvýšený počet trombocytů, může být lehká leukopenie
- < 1% blastů

Kostní dřeň:

- normální až zvýšené megakaryocyty s hypolobulizovanými jádry
- < 5% blastů, žádné Auerovy tyče
- izolovaná cytogenetická abnormita del(5q)



DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA MDS

- Deficit folátu, B 12
- Deficit stopových prvků
- Expozice těžkým kovům
- Infekce parvovirem B 19
- HIV
- Užívání imunosupresiv, chemoterapie
- Růstové faktory
- PNH
- Kongenitální anémie (Fanconiho, dyserythropoetická anémie)



