

Zytomorphologische Validation der Dysplasiezeichen bei diagnostiziertem Myelodysplastischen Syndrom im Vergleich zu reaktiven morphologischen Veränderungen

Bettina Sieber, BMA 18-21 B

Bildungsgang: Biomedizinische Analytik HF

Zentralinstitut Labor Brig

1. Zusammenfassung

In vielen onkologischen Proben zeigen sich morphologische Dysplasiezeichen im Knochenmark und im peripheren Blutbild. Das Myelodysplastische Syndrom (MDS) ist eine Stammzellerkrankung, die typische morphologische Dysplasiezeichen im Knochenmark und im peripheren Blut aufweist. Genau diese Zeichen kommen ebenfalls in reaktiven Erkrankungen vor, die keine Stammzellerkrankung haben. Dies galt es nun zu untersuchen.

Es gab zwei statistische Teile: 1. Teil, die prozentuale Häufigkeit der Dysplasiezeichen beider Gruppen. 2. Teil, der Chi-Quadrat-Test, mit dem die Signifikanz zwischen der Gruppe der Myelodysplastischen Syndromen und der reaktiven Erkrankungen bestimmt wurde.

Um abzuklären, ob eine Abhängigkeit zwischen den beiden Gruppen bestand, wurde eine retrospektive Studie aus der Knochenmarks-Sammlung in Brig angefertigt. Die Stichprobe beinhaltete 30 Proben mit bestätigtem Myelodysplastischen Syndrom und 30 Proben mit einer reaktiven Erkrankung. Jede Probe enthielt einen Knochenmarksausstrich und einen peripheren Blutaussstrich. Diese Ausstriche wurden mikroskopisch beurteilt. Die Dysplasiezeichen wurden notiert und in Tabellen geordnet. Durch diese Tabellen wurden dann, die statistischen Teile ausgewertet.

Da die einzelnen Dysplasiezeichen praktisch keine Signifikanz aufwiesen, verglich man die Säulendiagramme untereinander. Die Dysplasiezeichen können in beiden Gruppen innerhalb einer Zellart und mit allen drei Zelllinien verglichen wurde. Es gab eine deutliche Dominanz bei der MDS Gruppe, während bei der reaktiven Gruppe die Dysplasiezeichen eher isoliert vorkamen. Mit Hilfe von Kombinationen und Wahrscheinlichkeiten, konnte man feststellen, um welche Gruppe es sich handeln könnte.

2. Einleitung

Ausgangslage des Labors

Im Spitalzentrum Oberwallis in Brig gibt es eine grosse Onkologie. Die Patientinnen und Patienten werden vom Hausarzt mit einer Verdachtsdiagnose zur Onkologin/zum Onkologen oder zur Hämatologin/zum Hämatologen überwiesen. Durch die hohe Anzahl an Onkologie-Patientinnen und Patienten gibt es immer wieder Proben mit morphologischen Dysplasiezeichen. Dysplasiezeichen sind typisch beim Myelodysplastischen Syndrom (MDS). Nicht alle Proben mit Dysplasiezeichen sind MDS. Bei reaktiven Erkrankungen werden diese Dysplasiezeichen ebenfalls beobachtet. Die Relevanz für die Diagnose MDS und reaktiven Erkrankungen ist nicht immer ganz klar.

Myelodysplastisches Syndrom (MDS)

Das MDS ist eine klonale Erkrankung der hämatopoetischen Stammzelle, die sich durch eine ineffiziente Hämatopoese und Dysplasien im Knochenmark manifestiert. Durch eine beschleunigte intramedulläre Apoptose entsteht die typische Zytopenie im peripheren Blut. Die Zellen werden zudem aus Gründen wie Reifungs- und Funktionsdefekt zusätzlich abgebaut. Es gibt eine gewisse Ähnlichkeit zu den Myeloproliferativen Neoplasien (MPN). [1]

Bei zytogenetischen und molekularen Veränderungen, ergibt sich eine klonale Erkrankung, sowie ein Missverhältnis von proliferierenden hämatopoetischen Stammzellen, was zur fehlenden Ausreifung der Zellenreihen führt. Bei MDS Patienten liegen zahlreiche DNA-Mutationen vor, sowie eingeschränkte DNA-Reparaturmechanismen. Das Knochenmark versucht die intramedullären Apoptosen zu kompensieren, indem mehr Zellen produziert werden. Das Knochenmark wird hyperzellulär. Bei genetischer Instabilität kann es zu einer akuten myeloischen Leukämie (AML), mit Dysplasiezeichen kommen. Häufig kann es auch zu einer chronischen Myelomonozytären Leukämie (CMML), kommen. Die Weltgesundheitsorganisation hat die CMML, wie auch die MDS, in verschiedene Stadien unterteilt. [1] [4]

In einer Spezialfärbung werden die Ringsideroblasten (Abb. 1) nachgewiesen. Ringsideroblasten kommen bei den MDS immer in Kombination mit der 5FB3-Mutation vor. [2]

Die MDS-Diagnostik ist fast immer eine Ausschlussdiagnose. [3]

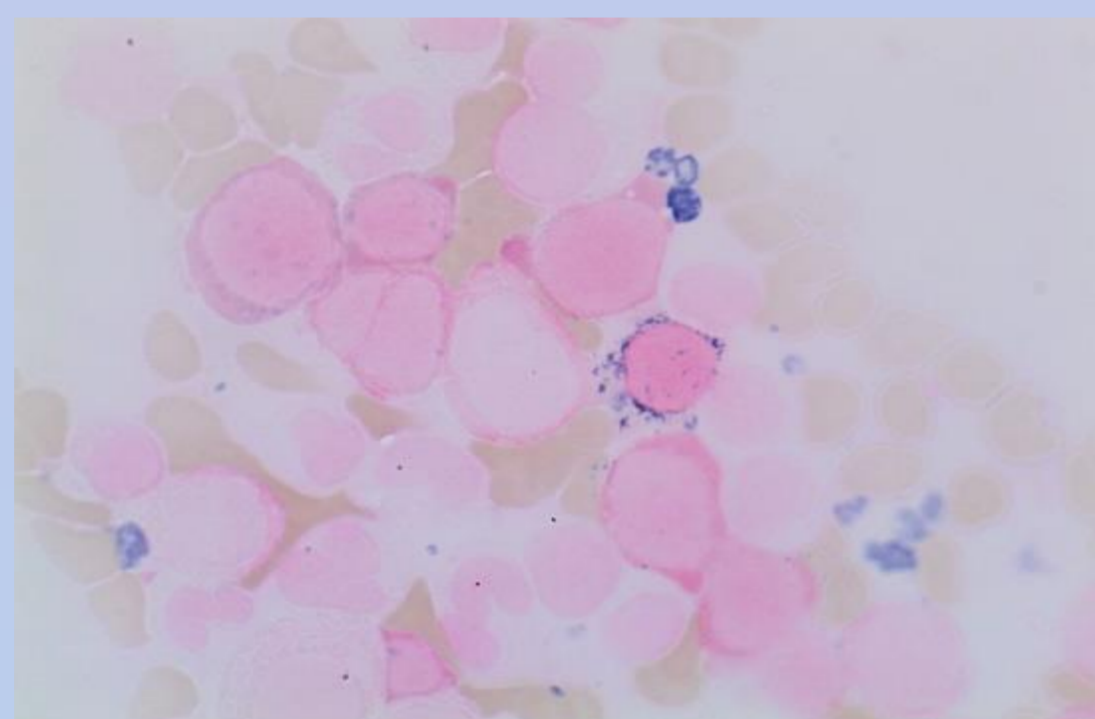


Abb. 1, Ringsideroblast (Sieber, 2021)

Fachliche Motivation

Die Hämatologie kann sehr vielseitig und individuell sein. Keine 2 Proben sehen unter dem Mikroskop gleich aus. Je nach Stadium eines MDS oder einer reaktiven Erkrankung ist es ebenfalls unterschiedlich. In der Kategorie der reaktiven Erkrankungen können benigne sowie maligne Erkrankungen Dysplasiezeichen aufweisen (Beispiele für benigne Erkrankungen: Eisenmangel und Vitamin B₁₂ Mangel; Beispiele für maligne Erkrankungen: Multiples Myelom). Die Signifikanz der einzelnen Dysplasiezeichen wird in der Literatur praktisch nicht erwähnt. Bei der vollständigen Untersuchung dieser Arbeit, versucht man wichtige Signifikanzen der einzelnen Dysplasiezeichen herauszufinden

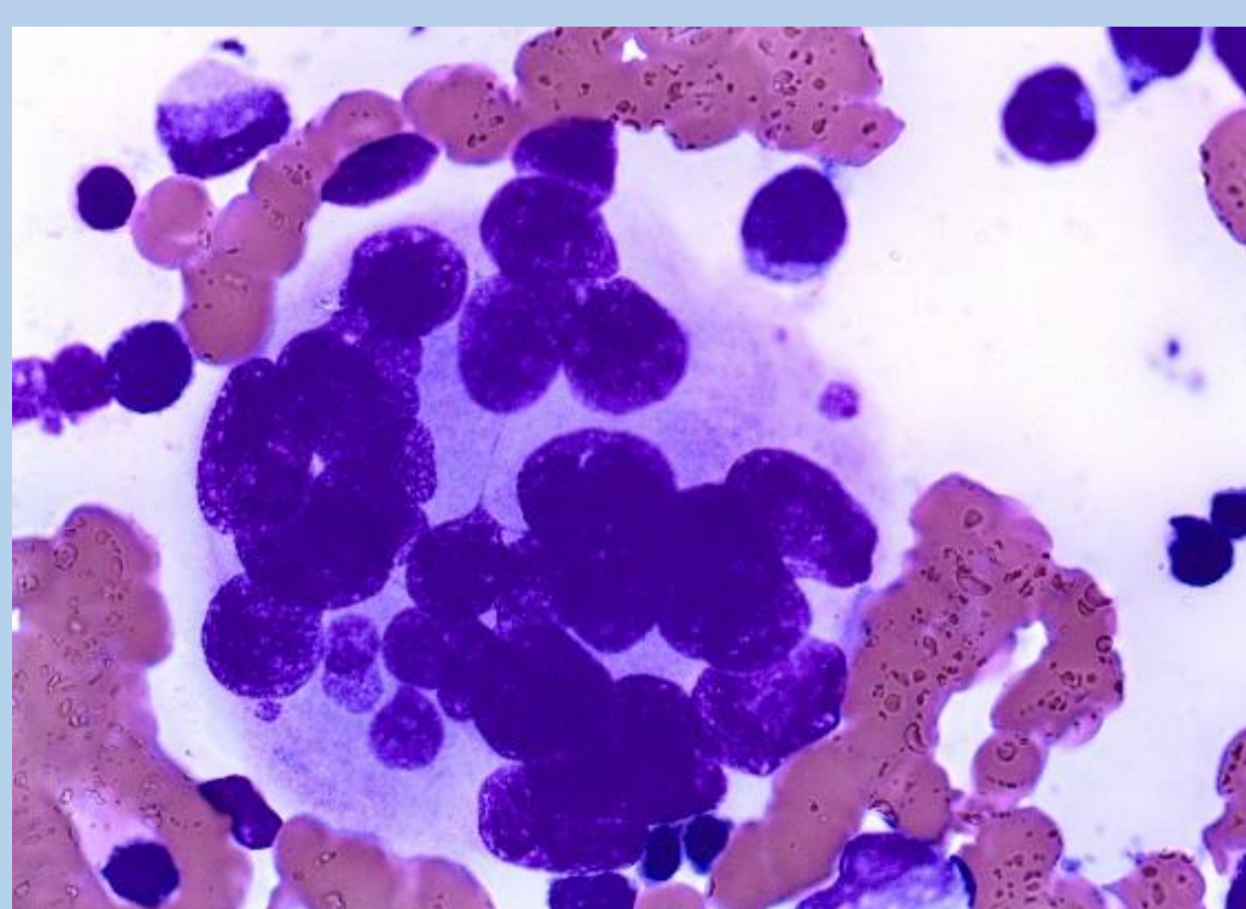


Abb. 2, Megakaryozyt mit multiplen kleinen isolierten Kernen (Sieber, 2021)

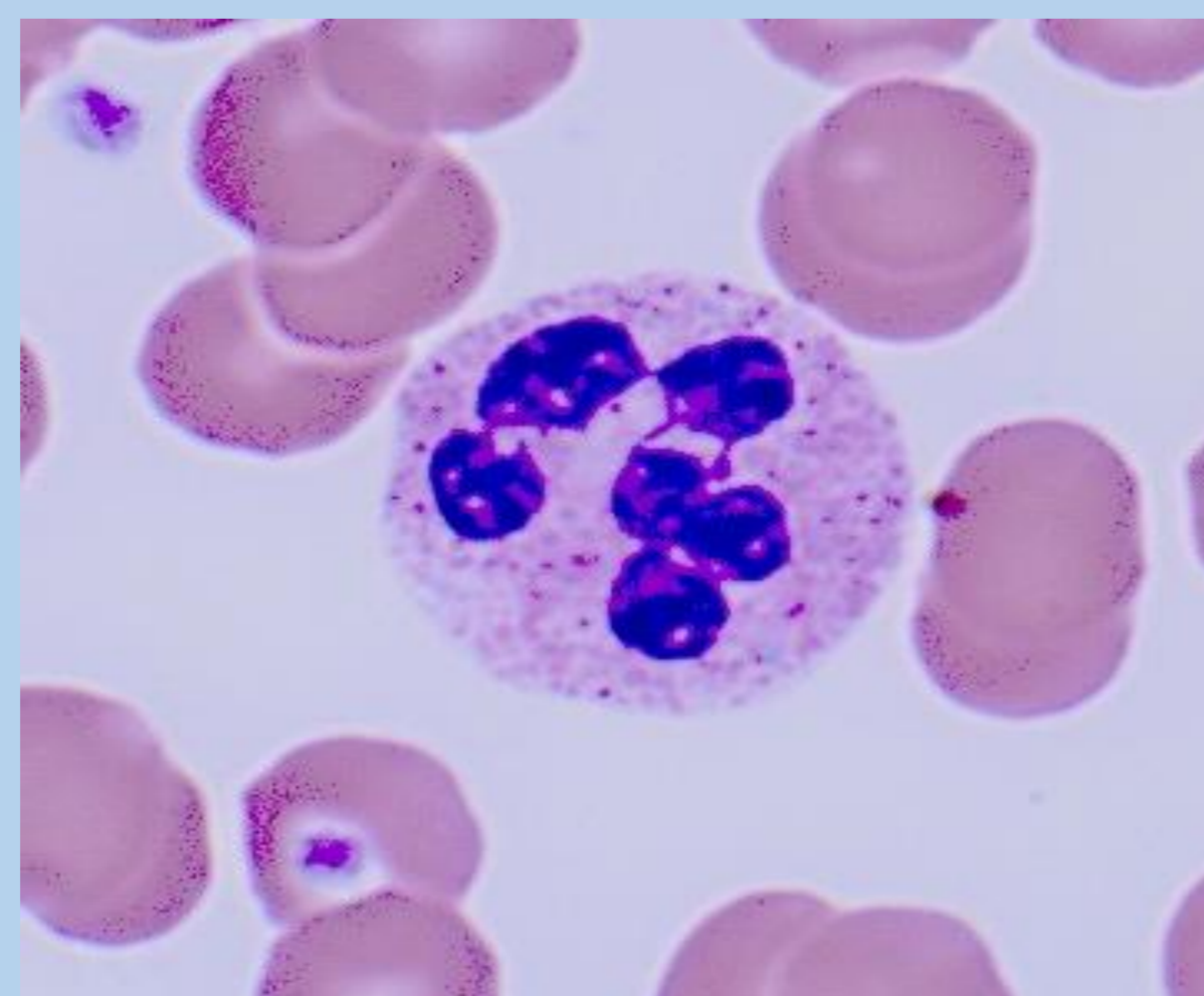


Abb. 3, Hypersegmentierter Neutrophiler Granulozyt (Sieber, 2021)

3. Ziele und Fragestellungen

Ziel

Verbesserte Aussagekraft bei der Validation bezüglich der Qualität und Gewichtung der morphologischen Dysplasiezeichen

Fragestellungen

- In welcher Wahrscheinlichkeit kommen die häufigsten Dysplasiezeichen bei diagnostizierten MDS Erkrankungen vor?
- Welche Dysplasiezeichen kommen bei reaktiven morphologischen Veränderungen vor und wie oft?
- Welche Signifikanz haben die einzelnen ausgewählten morphologischen Dysplasiezeichen?

4. Methodik, Material

Methodik

In Tabelle 1 und Tabelle 2 sind die definierten morphologischen Dysplasiezeichen ersichtlich. Diese Kriterien wurden in der Mikroskopie der retrospektiven Studie im Knochenmark und im peripheren Blut beachtet. Die Auswahl wurde erfahrungsgemäss erstellt und ist ebenfalls basierend zur Literatur. [1]

Tabelle 1, ausgewählte morphologische Dysplasiezeichen im Knochenmark [1]

Erythropoese	Myelopoese	Megakaryopoese
Megaloblastär	Hypogranulation	Grosse monoklonale Formen
Makrozytär	Riesenformen	Multiple kleine isolierte Kerne
Mitosen	Pseudo-Pelger	Hypobulbiert
Doppelkernige Erythroblasten	Reifungsstörung	Mikromegakaryozyten
Kernabsprengungen	Vakuolisierung	Gesteigerte Megakaryopoese
	Kernabsprengungen	Verminderte Megakaryopoese
	Mastzellen	

Tabelle 2, ausgewählte morphologische Dysplasiezeichen im peripheren Blut [1]

Erythrozyten	Leukozyten	Thrombozyten
Makrozyten	Hypogranulation	Anisozytose inkl. Makrothrombozyten
Megalozyten	Basophile Schlieren	Riesenthrombozyten
Poikilozytose	Pseudo-Pelger	Degranulierte Thrombozyten
Erythroblasten	Riesenformen	Thrombopenie
	Hypersegmentation	Thrombozytose

Abb. 2 & 3 sind eigene Aufnahmen von Dysplasiezeichen

Statistik

- Teil: Prozentuale Häufigkeiten
- Teil: Chi-Quadrat-Test → Abhängigkeit zwischen der Gruppe 1 MDS und der Gruppe 2 reaktive Erkrankungen

Material

Retrospektive Studie

Die retrospektive Studie umfasst 4 Jahre (2017-2020). Diese Studie beinhaltet 60 Proben, mit jeweils einem Knochenmarks- und Blutaussstrich. Es wurden zwei Gruppen erstellt:

Gruppe 1 (Gr.1): 30 Stichproben mit bestätigter MDS Diagnose

Gruppe 2 (Gr.2): 30 Stichproben von verschiedenen reaktiven Erkrankungen. Diese beinhaltete unter anderen folgende Diagnosen (nicht vollständig):

- Monoklonale Gammopathien
- Chronische Myeloische Leukämie
- B- und T-Zelllymphome

Das Zentralinstitut Labor Brig hat eine grosse Sammlung von Knochenmarksausstrichen und Blutbilder von sämtlichen Erkrankungen. Jede Knochenmarkspunktung vom Zentralinstitut Labor Brig wird intern dokumentiert. Von den abgelegten Patientenberichten wurde das Patientenkollektiv erstellt. Man schaute die Knochenmarksbeurteilung und den Biopsie-Bericht an, um festzustellen, ob die Patientin / der Patient für die Stichprobe geeignet war.

Jeder Knochenmarks- und Blutaussstrich wurde mikroskopisch beurteilt.

Mit dem 10er Objektiv suchte man die Schicht und eine gute Stelle im Präparat. Wurde eine geeignete Stelle gefunden, wechselte man mit einem Tropfen Immersionsöl zum 60er Objektiv (600-fache Vergrößerung).

Fand man Dysplasiezeichen, stellte man auf das 100er Objektiv um. Die Zellen konnten bei 1000-facher Vergrößerung detaillierter beurteilt werden. Befanden sich die vordefinierten Dysplasiezeichen im Knochenmark oder im peripheren Blutbild, dokumentierte man diese in eigenen Tabellen. Geschlecht, Alter und Krebsstadium haben bei dieser retrospektiven Studie keine Relevanz.

5. Ergebnisse/ Resultate

Die Wahrscheinlichkeiten der Dysplasiezeichen der MDS Gruppe und der reaktiven Gruppe wurden mittels Säulendiagramme (Abb. 4 & Abb. 5) dargestellt. So kann man die Gruppen direkt miteinander vergleichen. Auf der Y-Achse sieht man die Prozentbereiche. Auf der X-Achse sind die ausgewählten Dysplasiezeichen jeder Zelllinie. In Tabelle 3 sieht man einen Ausschnitt über die Signifikanz der einzelnen Dysplasiezeichen ermittelt mit dem Chi-Quadrat-Test.

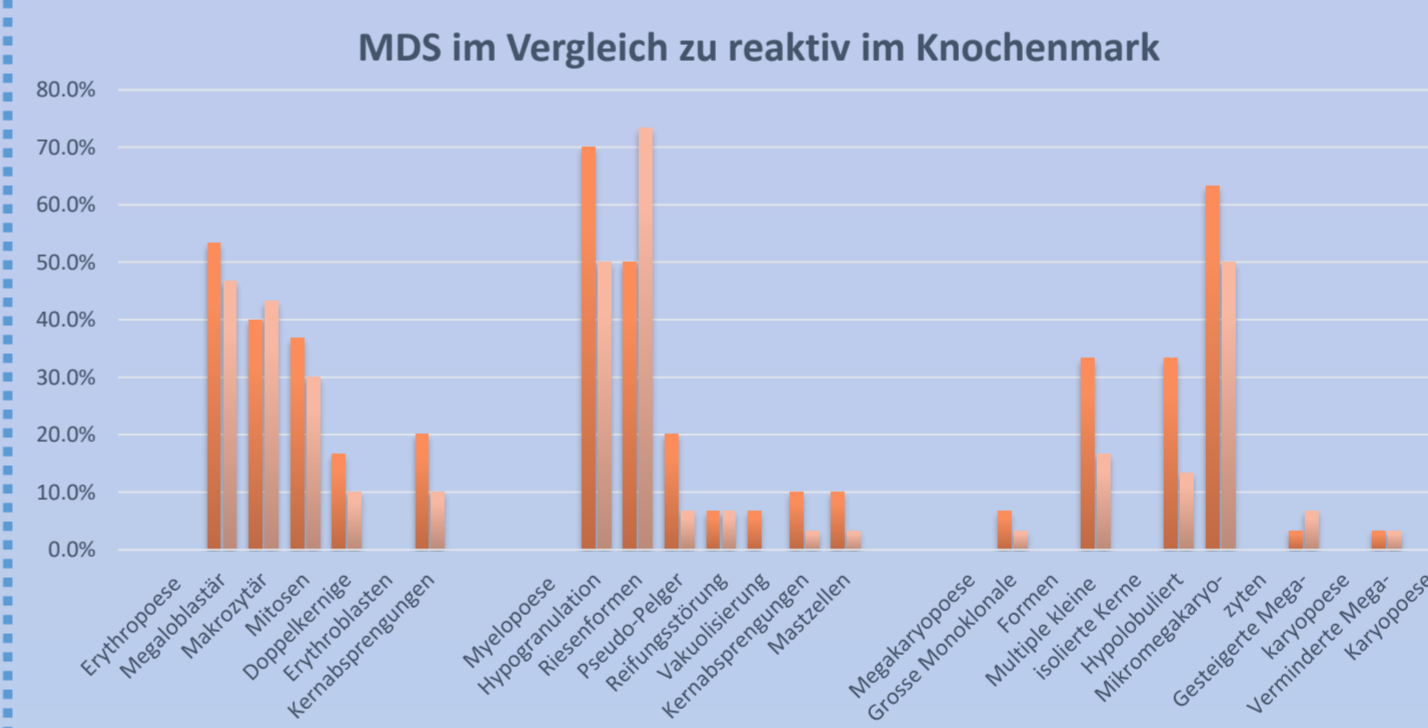


Abb. 4: Säulendiagramm 1, direkter Vergleich der Häufigkeit zwischen den Dysplasiezeichen der Gr. 1 und der Gr. 2 im Knochenmark (Sieber, 2021)

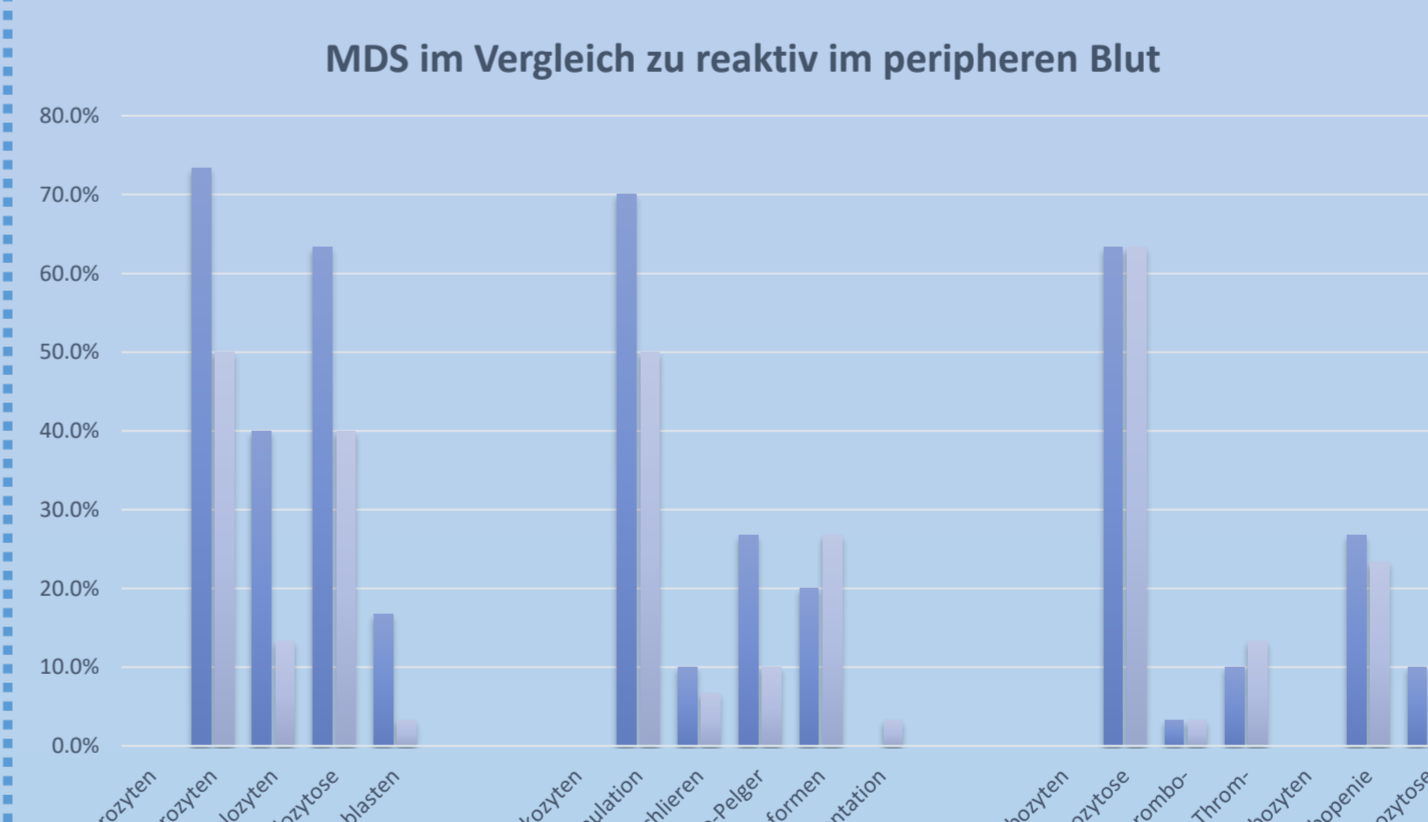


Abb. 5: Säulendiagramm 2, direkter Vergleich der Häufigkeit zwischen den Dysplasiezeichen der Gr. 1 und der Gr. 2 im peripheren Blut (Sieber, 2021)

Tabelle 3, Ausschnitt des Chi-Quadrat-Tests mit der Beurteilung über die Signifikanz der einzelnen Dysplasiezeichen (Sieber, 2021)

Dysplasiezeichen peripheres Blut	Wahrscheinlichkeit Gr. 1 in % MDS	Wahrscheinlichkeit Gr. 2 in % reaktiv	Teststatistik	df	p-Wert	Signifikanz ja/nein
Erythrozyten						
Makrozyten	73.3%	50.0%	3.455	1	0.110	Keine Signifikanz
Megalozyten	40.0%	13.3%	5.455	1	0.039	Signifikanz
Poikilozytose	63.3%	40.0%	3.270	1	0.120	Keine Signifikanz
Erythroblasten	16.7%	3.3%	2.963	1	0.195	Keine Signifikanz

6. Diskussion

In den Säulendiagrammen 1 und 2 zeigen die Kriterien eine deutliche Tendenz zur MDS Gruppe. Was zu erwarten war, weil das MDS definierte Dysplasiezeichen aufweist. Die reaktiven Dysplasiezeichen kommen häufig isoliert vor. Mit Hilfe von Wahrscheinlichkeiten kann abgeschätzt werden, ob es sich eher um ein MDS oder eine reaktive Erkrankung handelt. Die Megalozyten im peripheren Blut waren in den Stichproben signifikant. Dies zeigte der Chi-Quadrat-Test. Alle anderen einzelnen Dysplasiezeichen erwiesen keine Signifikanz. Trotzdem muss man bei der Diagnose mit vielen verschiedenen Parametern aus der Klinischen Chemie, Hämatologie, Pathologie, Molekularbiologie und Zytogenetik arbeiten. Zusätzlich sind die morphologischen Dysplasiezeichen zu berücksichtigen und alles gesamthaft zu beachten, damit ein genaues Krankheitsbild gemacht werden kann.

Referenzen:

- [1] Haferlach Torsten et al., (2020). Myelodysplastische Syndrome von A-Z (4. Auflage Ausg.). München: Georg Thieme Verlag.
- [2] Bacher Ulrike et al., (2012). Moderne Diagnostik bei akuten und chronischen Leukämien. Springer Verlag. 1073-1083.
- [3] Aul, C., Giagounidis, A., & Germing, U. (2010). Myelodysplastische Syndrome. Springer Verlag. 169-184.
- [4] Fuchs, R., Staib, P., & Brummendorf, T. (2018). Manual Hämatologie. Nora Verlag

Abbildungen:

- Abb. 1: Eigene Aufnahme Knochenmarksausstrich Ringsideroblast
 Abb. 2: Eigene Aufnahme Knochenmarksausstrich Megakaryozyt mit multiplen isolierten Kernen
 Abb. 3: Eigene Aufnahme peripherer Blutaussstrich Hypersegmentierter Neutrophiler Granulozyt
 Abb. 4: Eigenes Säulendiagramm 1, direkter Vergleich der Häufigkeit zwischen den Dysplasiezeichen der Gr. 1 und der Gr. 2 im Knochenmark
 Abb. 5: Eigenes Säulendiagramm 2, direkter Vergleich der Häufigkeit zwischen den Dysplasiezeichen der Gr. 1 und der Gr. 2 im peripheren Blut

Tabellen:

- Tabelle 1: Eigene Tabelle ausgewählte morphologische Dysplasiezeichen im Knochenmark
 Tabelle 2: Eigene Tabelle ausgewählte morphologische Dysplasiezeichen im peripheren Blut
 Tabelle 3: Eigene Tabelle Ausschnitt des Chi-Quadrat-Tests mit der Beurteilung über die Signifikanz der einzelnen Dysplasiezeichen