

УДК 616.153

РОЛЬ ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И ЛИКВОРА В ДИАГНОСТИКЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ И ПЛАЗМОКЛЕТОЧНОГО ЛЕЙКОЗА

¹Ксензова Т.И., ²Аникина Е.В., ³Ананьева О.В., ³Болдырева О.П.,
³Иларионова Л.А., ³Шанина Л.В.

¹ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №1», Тюмень, e-mail: ksenzo.gem@mail.ru;

²ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №1», Тюмень, e-mail: evanikina@mail.ru;

³ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №1», Тюмень, e-mail: olvasan@mail.ru

Множественная миелома является одной из нозологических форм лимфопролиферативных заболеваний, а плазмноклеточный лейкоз рассматривается в качестве одного из вариантов редких и очень агрессивных В-клеточных лимфом. Постановка диагноза парапротеинемических гемобластозов стандартными цитологическими и гистологическими методами исследования у 30% пациентов вызывает затруднения. Иммунофенотипирование клеток костного мозга играет важную роль при диагностике заболеваний системы крови. Отмечены особенности экспрессии антигенов миеломными клетками костного мозга при множественной миеломе и плазмноклеточном лейкозе. Представлены фенотипы и клинические данные 5 пациентов с плазмноклеточным лейкозом. Приведен клинический случай экстрамедуллярного рецидива по типу нейрорлейкемии у больной, которой выполнено иммунофенотипирование ликвора, с сохраняющейся иммунохимической ремиссией плазмноклеточного лейкоза после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Ключевые слова: плазмноклеточный лейкоз, иммунофенотипирование, экстрамедуллярный рецидив

THE BONE MARROW AND LIQUORIS CELLS IMMUNOPHENOTYPING ROLE IN THE MULTIPLE MYELOMA AND PLASMA CELL LEUKEMIA DIAGNOSIS

¹Ksenzova T.I., ²Anikina E.V., ³Ananeva O.V., ³Boldyрева O.P., ³Iarionova L.A., ³Shanina L.V.

¹The State Tyumen Regional Clinical Hospital, Tyumen, e-mail: ksenzo.gem@mail.ru;

²The State Tyumen Regional Clinical Hospital, Tyumen, e-mail: evanikina@mail.ru;

³GBUS «State Tyumen Regional Clinical Hospital», Tyumen, Russia, e-mail: olvasan@mail.ru

The multiple myeloma is one of the nosological forms of lymphoproliferative diseases, and plasma cell leukemia is considered, as one of the rare and very aggressive B-cell lymphomas variants. The paraproteinemic (of) hemoblastoses diagnosis erection by the standard cytological and histological methods of the research at 30 % (of) patients is caused many difficulties. The bone marrow cells immunophenotyping is played the significant role in the paraproteinaemic hemoblastoses diagnostics. The antigens expression peculiarities by the myeloma cells of the bone marrow have been marked at the multiple myeloma and the plasma cell leukemia. The phenotypes and the clinical data of the 5 patients with the plasma cell leukemia have already been presented. The case report of neuroleukemia extramedullary relapse in the plasma cell leukemia patient in an immunochemical remission after the bone marrow autotransplantation of the hematopoietic stem cells undergoing immunophenotyping of liquoris has been presented in the following article.

Keywords: extramedullary relapse, immunophenotyping, plasma cell leukemia

Прогресс в развитии современной гематологии в определенной степени связан с увеличением аналитических возможностей лабораторной диагностики. Метод иммунофенотипирования (ИФТ) широко применяется для диагностики заболеваний, оценки эффективности терапии и выявления минимальной остаточной болезни, количественного определения гемопоэтических стволовых клеток периферической и пуповинной крови, костного мозга, при мониторингировании реакции трансплантата против хозяина. В связи с накоплением значительного объема информации по строению и функции маркерных молекул лейкоцитов разработана и постоянно пополняется специализированная номенклатура CD, включающая 350 маркеров CD [3].

Лимфопролиферативные заболевания (ЛПЗ) являются одними из часто встречающихся опухолевых заболеваний кроветворной ткани у взрослых. К ним относят группу заболеваний лимфоидной ткани, при которых в результате опухолевой транс-

формации возникает блок на определенной стадии развития лимфоцитов. Способность лимфоидных клеток к опухолевой трансформации практически на всем пути клеточной дифференцировки определяет многообразие ЛПЗ. В настоящее время насчитывается более 30 различных нозологических форм ЛПЗ [4]. Плазмноклеточная лейкоз (ПКЛ) представляет собой редкий и агрессивный вариант множественной миеломы (ММ), который не включен ни в FAB-, ни в ВОЗ-классификацию острых лейкозов. Согласно клинической классификации лимфоидных опухолей, плазмноклеточный лейкоз рассматривается в качестве одного из вариантов очень агрессивных В-клеточных лимфом [3]. ПКЛ, по данным литературы, редкий вариант лейкозов. Его частота колеблется от 2 до 4,4% [2]. Прогноз ПКЛ неблагоприятный, а медиана выживаемости исчисляется месяцами. Диагноз ПКЛ не вызывает сомнений в том случае, если содержание циркулирующих плазматических клеток в крови более 20%. Различают 2 формы ПКЛ. Первичный

– впервые во время диагностики выявляется высокий процент плазматических клеток в периферической крови, данный вариант встречается в более молодом возрасте, чаще у женщин (62%). Характеризуется оссалгиями, психическими нарушениями, кровотечениями, иногда органомегалией, почечной недостаточностью, гиперкальциемией [2]. Вторичный ПКЛ возникает в продвинутой стадии ММ, при прогрессировании заболевания, не поддается лечению.

При дифференциальной диагностике парапротеинемий часто встречаются сходные клинико-лабораторные данные, наблюдающиеся при многих патологических процессах и зачастую бывает сложно своевременно поставить диагноз. В программу обследования необходимо включать довольно разнообразные тесты и изучать их в динамике течения опухолевого процесса.

При диагностике ММ морфологическое исследование костного мозга является стандартной процедурой и включает цитологическое и гистологическое исследования. По данным Байкова В.В. (2007 г.), более чем в половине наблюдений диагностика ММ затруднений не вызывала: в трепанобиоптатах обнаруживалось более 30% мономорфных или умеренно полиморфных клеток с очевидными чертами плазматической дифференцировки. В остальных наблюдениях при исследовании препаратов в обзорных окрашках было трудно определить истинное содержание плазматических (миеломных) клеток в костном мозге, а в части случаев – даже классифицировать клетки как миеломные. Кроме того, у трети больных миеломные клетки по результатам обзорных исследований составляли менее 30%, а у 7% – менее 10% всех миелокариоцитов [1].

Целесообразно проводить обследование больных с использованием всех доступных методов, включая иммунофенотипирование плазматических клеток костного мозга.

В противоположность нормальным плазмцитам, миеломные клетки не экспрессируют пан-В-клеточный антиген CD19. Что касается других В-клеточных антигенов, то экспрессия CD79α довольно характерна, а CD20 – непостоянна [1]. В течение ряда лет стандартным подходом к избирательному выявлению миеломных клеток считалась реакция на CD38, эктоэнзимную молекулу, участвующую в кальциевом обмене. В дальнейшем было показано, что CD38 выявляется на довольно большом числе клеток костного мозга практически всех линий дифференцировки. В конце 1990-х гг. стали доступны моноклональные антитела к синдекану-1 (CD138) [5], одному из трансмембранных протеогликанов, широко экспрессирован-

ных на мембране плазматических и миеломных клеток. Эта молекула обеспечивает межструктурные взаимодействия, адгезию и миграцию. Имеются сведения, что кроме иммуноглобулинсекретирующих клеток CD138 выявляется на небольшой части преВ-клеток. Другие клетки костного мозга, включая стромальные, CD138 не содержат. Экспрессия CD138 была продемонстрирована на 95% миеломных клеток у 97% больных [5]. Описан феномен потери синдекана-1 с поверхности миеломных клеток с накоплением его в строме, как правило, в участках фиброза. Типичный фенотип опухолевых клеток при ММ чаще всего описывается так: cIg+, CD19-, CD20-, CD38+, CD43+, CD45-, CD56+, CD138+, bcl-2+, однако постоянными (95% и более наблюдений) признаками являются только наличие cIg (и легких цепей), CD138 и CD38 и отсутствие CD19. CD10, CD27, CD28, CD29, CD33, CD45RO, CD106, CD117, CD126 и циклин D1 выявляются при иммуногистохимическом и проточном флуориметрическом исследовании в 5–50% случаев [7, 8, 9, 11]. Экспрессия некоторых маркеров может иметь прогностическое значение. Pei Lin и соавт. (2004) проанализировали иммунофенотип 306 пациентов с ММ. На плазматических клетках были идентифицированы CD138, CD38, CD45, CD56, CD117 в 71,7; 17,8; 9,3; 8,8 и 5,2% случаев соответственно. CD19 был отрицательный больше, чем в 99% случаев [10].

По данным R-Garcia-Sanz (1999), проанализировавшим 26 больных с первичным ПКЛ, для больных (в отличие от ММ) были характерны III стадия заболевания, экстрамедуллярные очаги, высокий уровень ЛДГ. Обнаружена также высокая пролиферативная активность опухолевых клеток в периферической крови и костном мозге. При ИФТ опухолевые клетки больных как ММ, так и ПКЛ экспрессировали CD38+ CD138+ CD2+ CD3+ CD16+ CD10+ CD13+ CD15+. Отличие ПКЛ от ММ было только в экспрессии антигенов CD56+, CD9+, HLA-DR, CD117+ CD20+. Характерной особенностью лейкоэмических плазматических клеток периферической крови и костного мозга при ПКЛ является частая утрата маркера CD56+ [6].

В Тюменском областном гематологическом центре с 2008 г. было выявлено 5 пациентов с ПКЛ. Все больные – женщины, средний возраст составил 52 года (от 38 до 62 лет). Из них у 1 из пациенток ПКЛ являлся вторичным, у остальных – первичным. ИФТ костного мозга проведено большинству больных. Данные о пациентах представлены в таблице.

Клинико-лабораторные особенности пациентов с ПКЛ
в Тюменском гематологическом центре с 2008 г.

№ п/п	Возраст	Фенотип костного мозга	Терапия	Особенности случая	Исход	Выживаемость
1. Больная М.	62	CD38+, CD138+, CD71+, CD 43+, CD33+low, CD58-, CD56-	4 VAD	Соблюдены межкурсовые интервалы, осложнений не было	Плато	14 мес.
2. Больная Б.	38	CD38+, CD138+, CD43+, CD45+/- low	3VAD	Поливалентная аллергия	Прогрессирование	12 мес.
3. Больная З.	47	CD22+, CD58+, CD56+, CD38+	4 VAD, VD	Вторичный ПКЛ, экстрамедуллярные очаги	Летальный	7 мес.
4. Больная Ш.	57	CD45-/-, low CD38+, CD138+, CD58+, CD56-, CD43+, CD11c+	1 VAD, 4 PAD, 1 ауто СКК, 8 VD	Нейролейкемия, экстрамедуллярные очаги	Летальный	27 мес.
5. Больная Ф.	58	Не типирована	Начат VAD	ДВС-синдром, ОНМК	Летальный	1 мес.

В качестве иллюстрации важной роли иммунофенотипирования клеток костного мозга и ликвора при плазмоклеточном лейкозе приводим клинический случай больной Ш. 57 лет, наблюдавшейся в г. Тюмени с 2008 г. с диагнозом плазмоклеточный лейкоз G λ + BJ λ. Диагноз верифицирован на основании выраженного интоксикационного, анемического синдромов, наличия плазматических клеток в периферии до 50%, плазматизации костного мозга до 66%, продукции патологического парапротеина

(гиперпротеинемия до 130 г/л, М-градиент 48,3%, иммуноглобулины класса G, секреция легких цепей λ, протеинурия до 4,5 г/сутки, белок Бенс-Джонса 93,4%), данных иммунофенотипирования HLA-DR-, CD34-, CD138+, CD38+, CD58+, CD56+/- (рис. 1), остеодеструкций в костях черепа, данных трепанобиопсии (гемопоэтическая ткань вытеснена плазматическими клетками различной степени зрелости, большое количество крупных, незрелых плазмочитов с большим, темным ядром, содержащим нуклеолы).

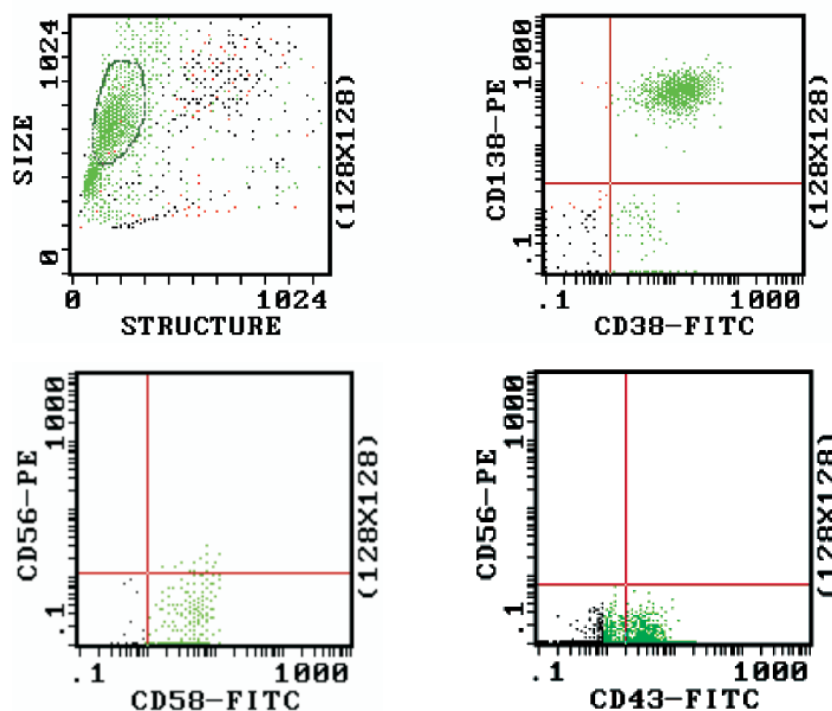


Рис. 1. Больная Ш. 57 лет. 13.10.08 г. Костный мозг.
WBC = $45,5 \cdot 10^9/\text{л}$. Регион лейкозных клеток ~ 60%. Фенотип: CD45-/-low CD38+ CD138+ CD58+ CD56- CD43+ CD11c+

Взята на терапию по протоколу PAD. Всего проведено 4 курса терапии, дозы препаратов не редуцированы, межкурсовой интервал соблюден. После завершения программной терапии на основании доступных методов обследования констатируется полная ремиссия. В мае 2009 г. в ГНЦ РАМН выполнена мобилизация ауто-СКК циклофосфаном и граноцитом. В отделении трансплантации костного мозга ГНЦ 13.11.2009 г. после предтрансплантационного кондиционирования мелфаланом была выполнена трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. Перелито $15 \cdot 10^6/\text{кг}$ CD34+ клеток. Констатируется иммунохимическая ремиссия. Второй этап трансплантации был запланирован на февраль 2010 г., однако по техническим причинам вторая ауто-СКК не выполнена. Между этапами терапии постоянно получала поддерживающую велкейдсодержащую терапию. Была обследована амбулаторно в поликлинике ГНЦ в марте 2010 года на сроке +4 месяца после ауто-СКК. Подтверждена сохраняющаяся иммунохимическая ремиссия заболевания, продолжила поддерживающую терапию.

Ухудшение самочувствия возникло остро 05.10.2010 г. в виде появления птоза левого глаза, расходящегося косоглазия,

диплопии, болей в височной области. Проводилась дифференциальная диагностика с нейролейкозом, велкейдиндуцированной полинейропатией, вирусным, туберкулёзным поражением оболочек головного мозга, объемным процессом в головном мозге, саркоидозом. На основании результатов обследований убедительных данных в пользу ни одного из вышеуказанных диагнозов не получено, подтверждалась ремиссия плазмоклеточного лейкоза. Получала преднизолон до 90 мг/сутки, сосудистую, витаминотерапию с кратковременным положительным эффектом. Неврологическая симптоматика прогрессировала – присоединились птоз правого глаза с косоглазием, снижение остроты зрения с частичной атрофией зрительного нерва, выраженный болевой синдром в конечностях, ограничивающий передвижения, снижающийся только наркотическими анальгетиками, нарушения глотания, функции тазовых органов. Повторно выполнена люмбальная пункция, обнаружен цитоз до 116 кл/мкл^3 (лимфоциты 94%, плазматические клетки 4%), впервые в нашем центре проведено иммунофенотипическое исследование лимфоцитов ликвора – CD38+, CD138+, CD58+, (рис. 2), что соответствует фенотипу миеломных клеток.

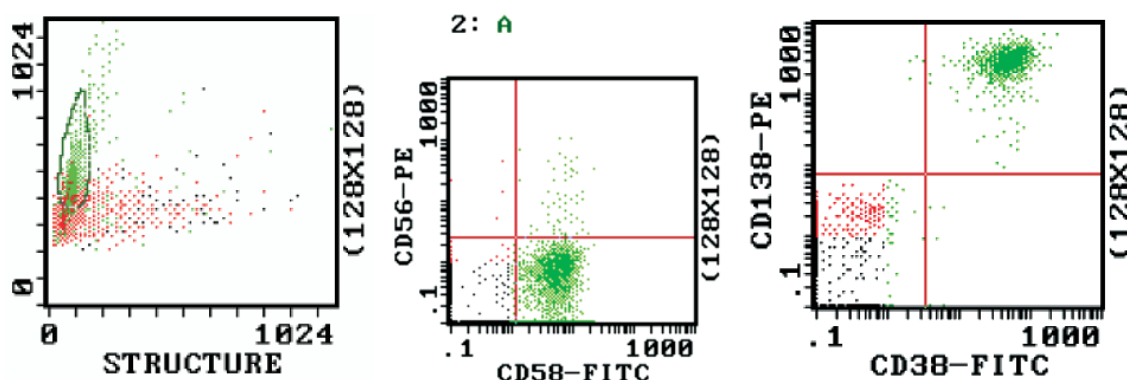


Рис. 2. Больная Ш., 57 лет. 30.11.10 г. Ликвор. WBC = $0,9 \cdot 10^9/\text{л}$ (концентрат после центрифугирования). Регион лейкозных клеток ~50%. CD38+ CD138+ CD58+ CD56-

Констатируется экстрамедуллярный рецидив I с поражением ЦНС, нейролейкемия с множественными поражениями краниальных, периферических нервов, выраженные глазодвигательные нарушения, умеренный бульбарный синдром, выраженный болевой синдром на фоне сохраняющейся полной иммунохимической ремиссии. По данным МРТ, выявлены округлые мягкотканые образования в спинномозговом канале шейного и пояснично-крестцового отделов позвоночника с проращением конского хвоста (рис. 3, 4). Тактика ведения неоднократно обсуждалась с ведущими научными сотруд-

никами ГНЦ. Проводились спинномозговые пункции с введением трех цитостатиков в стандартных дозировках для взрослых до полной санации ликвора, облучение области основания черепа. Было достигнуто кратковременное улучшение самочувствия, в сроке +15 месяцев после ауто-СКК наступил летальный исход.

Таким образом, ИФТ представляет собой одну из важных и неотъемлемых граней диагностического процесса ММ и ПКЛ. При ПКЛ характерными маркерами являются наличие более 20% плазматических клеток в периферической крови, по ИФТ экс-

прессия CD138 и CD38 и отсутствие CD19, частая утрата маркера CD56+. При выявлении у пациентки с ПКЛ экстрамедуллярно-

го рецидива ИФТ клеток спинномозговой жидкости сыграло решающую роль при определении варианта нейролейкемии.

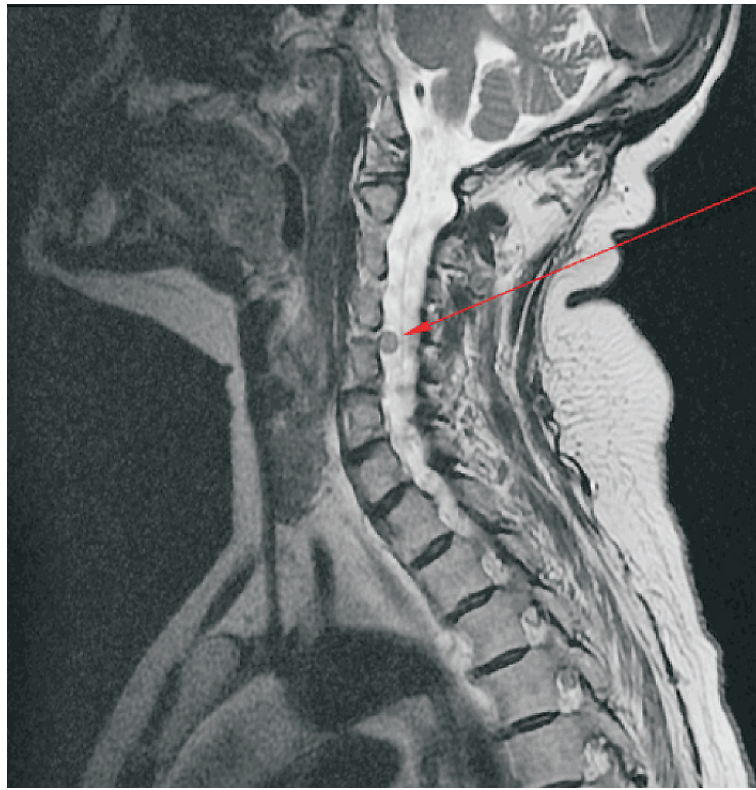


Рис. 3. Больная Ш., 57 лет. МРТ шейного отдела позвоночника

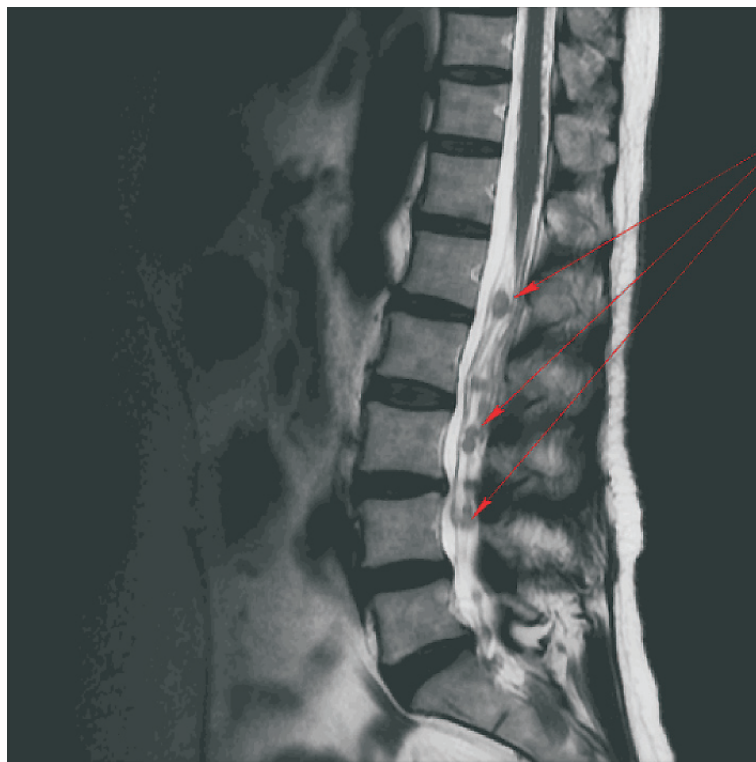


Рис. 4. Больная Ш., 57 лет. МРТ пояснично-крестцового отдела позвоночника

Список литературы

1. Байков В.В. Трудности морфологической диагностики множественной миеломы // Онкогематология. – 2007. – №2. – С. 10–16.
2. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. – СПб.: Диалект, 2004. – С. 49–53.
3. Зуева Е.Е. Проточная цитометрия. Анализ изображения. Получение и представление данных // Биомедицинский журнал Medline.ru. – 2003. – Т. 4. – С. 465–470.
4. Наумова Е.В. Морфологические и иммунофенотипические морфологические характеристики лимфоцитов при лимфопролиферативных заболеваниях: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2010. – С. 28.
5. Bayer-Garner I.B., Sanderson R.D., Dhodapkar M.V. et al. Syndecan-1 (CD138) immunoreactivity in bone marrow biopsies of multiple myeloma: shed syndecan-1 accumulates in fibrotic regions // *Mod Pathol*. – 2001. – №14. – P. 1052.
6. Garsia-Sanz R. et al. Primari plasma cell leucemia clinical, immunophenotypic, DNA ploidy, and cytogenetic characteristics // *Blood*. – 1999. – Vol. 93. – P. 1032–1037.
7. Gertz M.A. Managing plasma cell leukemia. *Leuk Lymphoma* // *J Clin Exp Hematopathol*. – 2007. – 48.5.
8. Grogan T.M. Plasma cell myeloma marrow diagnosis including morphologic and phenotypic features // *Sem Diagn Pathol*. – 2003. – №20. – P. 211–25.
9. Mateo G., Castellanos M., Rasullo A. et al. Genetic abnormalities and patterns of antigenic expression in multiple myeloma // *Clin Cancer Res* 00.11(10):3661–7.
10. Pei Lin, M.D., Rebecca Owens, Guido Tricot, M.D., PhD,2 and Carla S. Wilson, MD, PhD1. Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of 306 Cases of Multiple Myeloma // *J Clin Pathol* 2004.121. P.482–488. American Society for Clinical Pathology.
11. Senji Kasahara, Hisashi Tsurumi, Takeshi Yoshikawa, Takeshi Hara, Masahito Shimizu, Masami Oyama, Hisataka Moriwaki. Plasma Cell Leukemia with Myelofibrosis // *J Clin Exp Hematopathol*. Vol.48. no. 2. 2008. pp. 71–73.
3. Zueva V.V. Protochnaya Tsitometriya. Analiz izobrazheniya. Poluchenie i predstavlenie daniikh. *Biomaditsinskiy zhurnal Medline.ru*. 2003. T. 4. pp. 465–470.
4. Naumova E.V. Morfologicheskie i immunofenotipicheskie morfoloicheskie kharakteristiki limfotsitov pri limfoproliferativnikh zabolevaniyakh: avtoref. dis. ... kand. med. nauk: 14.03.10. Naumova E.V. M., 2010. p. 28.
5. Bayer-Garner I.B., Sanderson R.D., Dhodapkar M.V. et al. Syndecan-1 (CD138) immunoreactivity in bone marrow biopsies of multiple myeloma: shed syndecan-1 accumulates in fibrotic regions. *Mod Pathol* 2001. 14. 1052–8.
6. Garsia-Sanz R. et al. Primari plasma cell leucemia clinical, immunophenotypic, DNA ploidy, and cytogenetic characteristics. *Blood* 1999. Vol. 93. pp. 1032–1037.
7. Gertz M.A. Managing plasma cell leukemia. *Leuk Lymphoma*. *J. Clin. Exp. Hematopathol*. 2007. 48.5.
8. Grogan T.M. Plasma cell myeloma marrow diagnosis including morphologic and phenotypic features. *Sem. Diagn. Pathol*. 2003. 20. 211–25.
9. Mateo G., Castellanos M., Rasullo A. et al. Genetic abnormalities and patterns of antigenic expression in multiple myeloma. *Clin. Cancer Res* 00.11(10):3661–7.
10. Pei Lin, Rebecca Owens, Guido Tricot, Carla S. Wilson. Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of 306 Cases of Multiple Myeloma. *J. Clin. Pathol*. 2004.121. P.482–488. American Society for Clinical Pathology.
11. Senji Kasahara, Hisashi Tsurumi, Takeshi Yoshikawa, Takeshi Hara, Masahito Shimizu, Masami Oyama, Hisataka Moriwaki. Plasma Cell Leukemia with Myelofibrosis. *J. Clin. Exp. Hematopathol*. Vol.48. no. 2. 2008. pp. 71–73.

References

Рецензенты:

Кляшев С.М., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой терапии ФПК и ППС с курсом эндокринологии, ультразвуковой и функциональной диагностики ГБОУ ВПО «ТюмГМА» Минздравсоцразвития, г. Тюмень;

Жданова Е.В., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой патофизиологии ГБОУ ВПО «ТюмГМА» Минздравсоцразвития, г. Тюмень.

Работа поступила в редакцию 13.07.2012.