

УДК: 616-006.448-06:616.155.194.76.

КЛИНИКО-ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МИЕЛОФИБРОЗА ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

Ю.А. Дьячкова, Т.Ю. Долгих, Н.П. Домникова

*НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН, г. Новосибирск, 630117,
г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, e-mail: pathol@soramn.ru*

Проведено патоморфологическое исследование миелофиброза (МФ) у пациентов с множественной миеломой путём использования программы морфометрического анализа изображений. Выявлено, что МФ встречается в 1,5 раза чаще при рецидиве заболевания, чем в дебюте и при ответе на химиотерапию. Наиболее высокая относительная площадь фиброзной ткани при МФ II и III степеней наблюдается при рецидиве множественной миеломы. Обнаружена прямая корреляция между относительной площадью опухолевой ткани в костном мозге и относительной площадью фиброзной ткани при МФ I и II степеней. У больных с рецидивом заболевания чаще выявляется миелофиброз II и III степеней. Частота и степень выраженности миелофиброза не связаны с полом и возрастом пациентов.

Ключевые слова: множественная миелома, миелофиброз, относительная площадь фиброзной ткани, относительная площадь опухолевой ткани.

CLINICO-PATHOMORPHOLOGICAL STUDY OF MYELOFIBROSIS IN MULTIPLE MYELOMA

Yu.A. Dyachkova, T.Yu. Dolgikh, N.P. Domnikova

*Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology of Siberian Division of the Russian Academy of Medical Sciences,
Novosibirsk*

2, Timakova Street, 630117-Novosibirsk, 2, Russia, e-mail: pathol@soramn.ru

Pathomorphology study of bone marrow fibrosis in patients with multiple myeloma by using morphometric image analysis software was performed. It was revealed that bone marrow fibrosis occurs 1.5 times more frequently in relapse of disease than in the initial presentation of the disease and in response to chemotherapy. The highest relative area of fibrous tissue in marrow fibrosis of 2nd and 3rd grade is observed in relapsed multiple myeloma. There is a direct correlation between the relative area of the tumor tissue in the bone marrow and the relative area of fibrous tissue in bone marrow fibrosis of the 1st and the 2nd grade. Chemotherapy is a factor associated with bone marrow fibrosis of the 2nd and the 3rd grade. Gender and age of the patients are not associated with marrow fibrosis.

Key words: multiple myeloma, myelofibrosis, the relative area of fibrous tissue, the relative area of the tumor tissue.

В настоящее время активно изучается роль миелофиброза (МФ) при множественной миеломе. Выраженный МФ прямо коррелирует с числом низкодифференцированных плазматических клеток, митотической активностью, которые являются неблагоприятными прогностическими маркерами. Данные литературы свидетельствуют, что одновременное морфологическое исследование как опухолевых клеток, так и МФ во время мониторинга множественной миеломы более прогностически значимо, чем изолированное исследование опухолевого субстрата [3]. У пациентов с множественной миеломой и выраженным МФ медиана выживаемости составляет 11 мес, что значительно короче, чем у больных без выраженного МФ [5, 9, 10]. Миелофиброз может развиваться у 10–30 % больных множественной миеломой в развернутых

стадиях болезни, после проведения нескольких линий химиотерапии (ХТ) [2]. Однако остаётся неясным, имеет ли значение объём опухолевой массы в костном мозге для возникновения МФ при множественной миеломе. В литературе также недостаточно освещён вопрос о влиянии химиотерапии на МФ при множественной миеломе.

Цель исследования: изучить патоморфологические особенности МФ при множественной миеломе в зависимости от объёма опухолевого поражения костного мозга и проведения химиотерапии.

Материал и методы

Обследовано 42 пациента с множественной миеломой, находившихся на лечении в ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» с 2006 по 2012 г. Пациенты были разделены на три группы (табл. 1):

1-я группа – дебют заболевания (до ХТ), 2-я группа – больные, ответившие на ХТ (ответ – не менее минимального), 3-я группа – рецидив заболевания (до начала очередной линии ХТ).

Во 2-й группе химиотерапии I линию получили 9, II линии – 5 больных. В 3-й группе ХТ I линии получили 5, II линии – 2 больных. Лечение проводилось по схемам, содержащим не менее двух из следующих препаратов: мельфалан, преднизолон, циклофосфамид, бортезомиб, дексаметазон. Для верификации диагноза, стадирования, оценки результатов лечения множественной миеломы использовали стандартные подходы: критерии Y. Huang et al. (1999), Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфо-пролиферативных заболеваний (2013), критерии B.G.M. Durie, S.E. Salmon (1975), ISS (2005), критерии Европейской группы трансплантации крови и костного мозга – EBMT (1998) [1, 4, 6–8].

Степень МФ устанавливали согласно шкале Европейского консенсуса [12]. МФ 0 степени характеризовался беспорядочно расположенными линейными ретикулиновыми волокнами без взаимопересечений, соответствующими нормальному костному мозгу; МФ I степени соответствовала рыхлая сеть ретикулиновых волокон со множеством взаимопересечений, особенно в околососудистой области; для МФ II степени было характерно диффузное и плотное увеличение ретикулиновых волокон с обширными пересечениями, иногда с наличием пучков коллагена и/или фокального остеосклероза; МФ III степени соответствовало диффузное и плотное увеличение

ретикулиновых волокон с обширными пересечениями с грубыми пучками коллагена, часто ассоциированное с первичным остеосклерозом. Миелофиброз I степени расценивали как начальный фиброз, МФ II и III степени – как выраженный [11].

Автоматизированное морфометрическое исследование МФ проводили с использованием программы анализа изображений AxioVision 4.6, камеры Axio Cam, микроскопа Zeiss, компьютера. В парафиновых срезах трепанобиоптатов подвздошной кости толщиной 4 мкм, импрегнированных серебром по методу Гомори и окрашенных по методу Ван Гизона, при $\times 200$ измеряли абсолютную площадь фиброзной ткани. Абсолютную площадь гемопоэтической и опухолевой ткани измеряли в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Изучали все костномозговые полости одного среза, что соответствовало 5–7 полям зрения микроскопа и 20–30 полям зрения камеры (в зависимости от размера среза). Площадь одного поля зрения камеры известна и составляла 364 000 мкм² (0,7 мм²). Площадь фиброзной ткани оценивали относительно гемопоэтической ткани. Сложив площадь фиброзной ткани во всех полях зрения камеры, получали суммарную абсолютную площадь фиброзной ткани в пределах одного среза. Аналогичным образом получали суммарную абсолютную площадь гемопоэтической и опухолевой ткани. Затем вычисляли относительную площадь фиброзной ткани ($S_{\text{отн. фибр. тк.}}$) по формуле

$$S_{\text{отн. фибр. тк.}} = \frac{S_{\text{отн. фибр. тк.}}}{S_{\text{гемопоэт. тк.}}} \times 100\%$$

где $S_{\text{фибр. тк.}}$ – суммарная абсолютная площадь

Таблица 1

Характеристика групп больных

Параметры	1-я группа (n=21)	2-я группа (n=14)	3-я группа (n=7)
Мужчины	8	6	2
Женщины	13	8	5
Возраст, лет			
Мужчины	66,75 ± 3,18	60,33 ± 4,72	65,0 ± 6,0
Женщины	58,08 ± 3,43	53,25 ± 2,23	63,2 ± 2,75
Стадия по S-Durie			
I	7	1	1
II	6	6	3
III	7	3	3

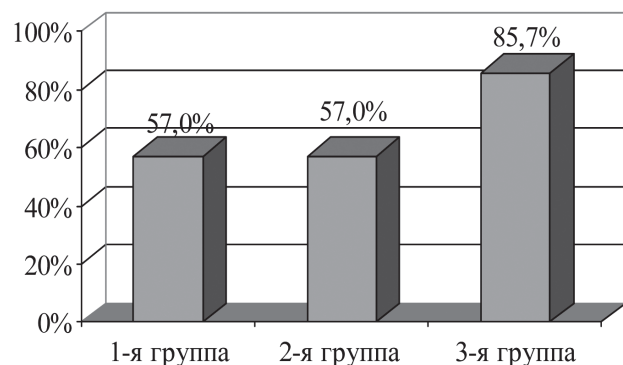


Рис. 1. Частота миелофиброза при множественной миеломе в различные фазы заболевания

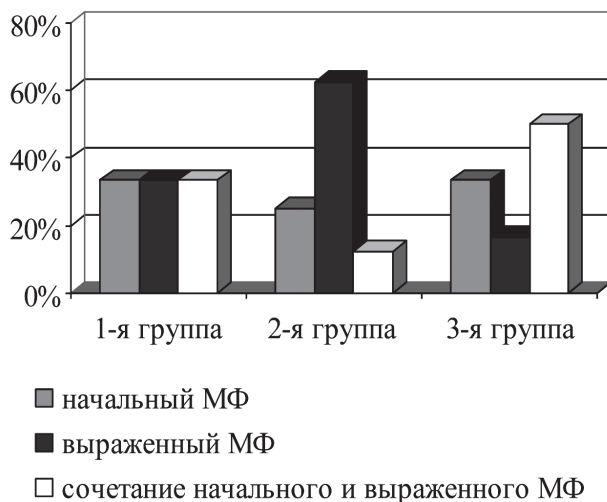


Рис. 2. Частота миелофиброза различной степени выраженности при множественной миеломе в различные фазы заболевания

фиброзной ткани, $S_{гемопоэт.тк.}$ – суммарная абсолютная площадь гемопоэтической ткани. Площадь опухолевой ткани оценивали относительно нормальной гемопоэтической, костной и жировой тканей. Относительную площадь опухолевой ткани ($S_{отн.опух.тк.}$) вычисляли по формуле $S_{отн.опух.тк.} = S_{опух.тк.} / (n \times 364\ 000) \times 100\ %$, где $S_{опух.тк.}$ – суммарная абсолютная площадь опухолевой ткани, n – число проанализированных полей зрения, 364 000 – площадь одного поля зрения камеры.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы SPSS (версия 17.0). Результаты представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое значение, σ – стандартное отклонение, а также $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, а m – средняя ошибка средней арифметической. Сравнения средних значений различных выборок производили с помощью U-теста по методу Манна – Уитни. Связь между двумя переменными определяли с помощью коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмана. Для однофакторного и многофакторного анализа использовали модель логистической регрессии. Критериями достоверности считали значения вероятности ошибки $p < 0,05$ и отношения шансов (OR) $> 1,0$.

Результаты и обсуждение

При рецидиве множественной миеломы МФ встречается в 1,5 раза чаще, чем в дебюте заболевания и у пациентов, ответивших на химиотерапию (рис. 1). В пределах одного среза трепанобиоптатов встречалось сочетание различных степеней МФ, при этом в 1-й группе пациентов с равной

Таблица 2

Уровень $S_{отн.фибр.тк.}$ в различные фазы множественной миеломы

Группы пациентов	$S_{отн.фибр.тк.}$ при МФ I ст.	$S_{отн.фибр.тк.}$ при МФ II ст.	$S_{отн.фибр.тк.}$ при МФ III ст.
1-я группа (n=21)	13,67 ± 20,22 %	1,50 ± 2,43 %*	8,83 ± 9,76 %*
2-я группа (n=14)	30,20 ± 33,27 %	1,40 ± 2,80 %**	3,90 ± 6,14 %**
3-я группа (n=7)	10,17 ± 16,18 %	10,0 ± 22,13 %	16,17 ± 37,20 %
p	$p_{1,2}=0,014$	$p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$	$p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с показателем у больных с МФ I степени в дебюте заболевания при ($p < 0,001$); ** – различия статистически значимы по сравнению с показателями у пациентов с МФ I степени, ответивших на химиотерапию ($p < 0,001$).

частотой (рис. 2). Обнаружено, что у пациентов, ответивших на ХТ, преобладало сочетание начального и выраженного МФ, в то время как при рецидиве заболевания преобладал выраженный МФ, при этом чаще встречался МФ II и III степеней. У пациентов всех 3 групп начальный МФ встречался примерно с одинаковой частотой (в 1-й группе – в 33,0 %, во 2-й группе – в 25,0 %, в 3-й группе – в 33,0 %).

Изучение величины $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ при МФ I, II и III степеней в сравниваемых группах показало (табл. 2), что у пациентов в дебюте заболевания и ответивших на химиотерапию преобладает МФ I степени, при котором $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ превысила $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ при МФ II и III степеней ($p < 0,05$). При этом уровень $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ у пациентов с МФ I степени, ответивших на химиотерапию, значимо больше, чем у больных в дебюте заболевания.

При рецидивах множественной миеломы уровень $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ при МФ II степени выше, чем аналогичный показатель у больных в дебюте заболевания и ответивших на ХТ. – $10,0 \pm 22,13$ %, $1,50 \pm 2,43$ % и $1,40 \pm 2,80$ % соответственно ($p < 0,05$). Аналогичные данные получены при оценке $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ при МФ II и III степени у больных в сравниваемых группах – $16,17 \pm 37,20$ %, $8,83 \pm 9,76$ % и $3,90 \pm 6,14$ % соответственно ($p < 0,05$).

По данным корреляционного анализа, при МФ I степени и МФ II степени $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ прямо коррелирует с $S_{\text{отн.опух.тк.}}$ ($r = 0,390$, $p = 0,040$ при МФ I ст.; $r = 0,390$, $p = 0,040$ при МФ II ст.). Результаты многофакторного анализа показали, что МФ I степени ассоциирован с наличием опухолевого поражения костного мозга ($p = 0,036$, $OR = 1,10$; $CI = 1,91-45,58$) и не связан с возрастом ($p = 0,276$, $OR = 1,55$; $CI = 0,71-3,40$), полом ($p = 0,196$, $OR = 2,87$; $CI = 0,58-14,16$) и схемой проводимой ХТ ($p = 0,186$, $OR = 2,58$; $CI = 0,63-10,53$).

Частота МФ при множественной миеломе в данном исследовании оказалась выше, чем указанная в других работах [2]. Это связано с тем, что мы применяли дополнительные критерии оценки МФ. Помимо общепринятой шкалы Европейского консенсуса нами использована программа для морфометрического анализа изображений. Во внимание принимались не только срезы трепанобиоптатов, по всей площади представленные фиброзными волокнами, но и те срезы, в которых

наряду с участками, занятыми фиброзной тканью, отмечались поля костного мозга, свободные от ретикулиновых и коллагеновых волокон.

Заключение

Таким образом, при множественной миеломе существуют количественные взаимосвязи опухоли и МФ. В исследовании выявлена ассоциация МФ I степени с наличием опухолевого поражения костного мозга, при МФ II степени обнаружена прямая корреляция между $S_{\text{отн.опух.тк.}}$ и $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ а также между $S_{\text{отн.опух.тк.}}$ и $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$. У больных с рецидивом множественной миеломы с МФ II и III степеней уровень $S_{\text{отн.фибр.тк.}}$ больше, чем при других фазах заболевания. Миелофиброз в 1,5 раза чаще наблюдается при рецидиве, чем в дебюте заболевания или при ответе на химиотерапию. Отсутствие взаимосвязи МФ при множественной миеломе с возрастом и полом пациента подтверждает патологический характер данного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний / Под ред. И.В. Поддубной, В.Г. Савченко. М.: Медиа Медика, 2013. 104 с.
2. Abildgaard N., Bendix-Hansen K., Kristensen J.E., Vejlgard T., Risteli L., Nielsen J.L., Heickendorff L. Bone marrow fibrosis and disease activity in multiple myeloma monitored by the aminoterminal propeptide of procollagen III in serum // Br. J. Haematol. 1997. Vol. 99 (3). P. 641–648.
3. Babarović E., Valković T., Štifter S., Budisavljević I., Seili-Bekafigo I., Duletić-Načinović A., Lučin K., Jonjić N. Assessment of bone marrow fibrosis and angiogenesis in monitoring patients with multiple myeloma // Am. J. Clin. Pathol. 2012. 137 (6): 870–8. doi: 10.1309/AJCPT5Y2JRI-UUCUB.
4. Bladé J., Samson D., Reece D., Apperley J., Björkstrand B., Gahrton G., Gertz M., Giral S., Jagannath S., Vesole D. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant // Br. J. Haematol. 1998. Vol. 102 (5). P. 1115–1123.
5. Chen H.S., Liu E.B., Wang T.T., Yang R.C., Fang L.H., Yang Q.Y., Gao J.Y., Yu M.H., Qian L.S. Morphologic and clinical study of 131 cases of plasma cell myeloma // Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2004. Vol. 33 (1). P. 44–48.
6. Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival // Cancer. 1975. Vol. 36 (3). P. 842–854.
7. Huang Y.W., Hamilton A., Arnuk O.J., Chafitani P., Chemaly R. Current drug therapy for multiple myeloma // Drugs. 1999. Vol. 57 (4). P. 485–506.
8. Kyle R.A., Rajkumar S.V. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma // Leukemia. 2009. № 23. P. 3–9. doi: 10.1038/leu.2008.291.
9. Singhal N., Singh T., Singh Z.N., Shome D.K., Gaiha M. Histomorphology of multiple myeloma on bone marrow biopsy // Indian J. Pathol. Microbiol. 2004. Vol. 47 (3). P. 359–363.
10. Subramanian R., Basu D., Dutta T.K. Significance of bone marrow fibrosis in multiple myeloma // Pathology. 2007. Vol. 39 (5). P. 512–515.
11. Tadmor T., Shvidel L., Aviv A., Ruchlemer R., Bairey O., Yuklea M., Herishanu Y., Braester A., Rahimi-Levene N., Verneva F.,

Ben-Ezra J., Bejar J., Polliack A. Significance of bone marrow reticulin fibrosis in chronic lymphocytic leukemia at diagnosis // *Cancer*. 2013. Vol. 119 (10). P. 1853–1859. doi: 10.1002/cncr.27930.

12. Thiele J., Kvasnicka H.M., Facchetti F., Franco V., van der Walt J., Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity // *Haematologica*. 2005. Vol. 90. P. 1128–1132.

Поступила 13.03.14

REFERENCES

1. *Russian Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases* / Ed. I.V. Poddubnaya, V.G. Savchenko. M.: Media Medika, 2013. 104 p. [in Russian]

2. Abildgaard N., Bendix-Hansen K., Kristensen J.E., Vejlgard T., Risteli L., Nielsen J.L., Heickendorff L. Bone marrow fibrosis and disease activity in multiple myeloma monitored by the aminoterminal propeptide of procollagen III in serum // *Br. J. Haematol.* 1997. Vol. 99 (3). P. 641–648.

3. Babarović E., Valković T., Štifter S., Budisavljević I., Seili-Bekafigo I., Duletić-Načinović A., Lučin K., Jonjić N. Assessment of bone marrow fibrosis and angiogenesis in monitoring patients with multiple myeloma // *Am. J. Clin. Pathol.* 2012. 137 (6): 870–8. doi: 10.1309/AJCPT5Y2JRI-UUCUB.

4. Bladé J., Samson D., Reece D., Apperley J., Björkstrand B., Gahrton G., Gertz M., Giralt S., Jagannath S., Vesole D. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant // *Br. J. Haematol.* 1998. Vol. 102 (5). P. 1115–1123.

5. Chen H.S., Liu E.B., Wang T.T., Yang R.C., Fang L.H., Yang Q.Y., Gao J.Y., Yu M.H., Qian L.S. Morphologic and clinical study of 131 cases of plasma cell myeloma // *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2004. Vol. 33 (1). P. 44–48.

6. Durie B.G., Salmon S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival // *Cancer*. 1975. Vol. 36 (3). P. 842–854.

7. Huang Y.W., Hamilton A., Arnuik O.J., Chafari P., Chemaly R. Current drug therapy for multiple myeloma // *Drugs*. 1999. Vol. 57 (4). P. 485–506.

8. Kyle R.A., Rajkumar S.V. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma // *Leukemia*. 2009. № 23. P. 3–9. doi: 10.1038/leu.2008.291.

9. Singhal N., Singh T., Singh Z.N., Shome D.K., Gaiha M. Histomorphology of multiple myeloma on bone marrow biopsy // *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2004. Vol. 47 (3). P. 359–363.

10. Subramanian R., Basu D., Dutta TK. Significance of bone marrow fibrosis in multiple myeloma // *Pathology*. 2007. Vol. 39 (5). P. 512–515.

11. Tadmor T., Shvidel L., Aviv A., Ruchlemer R., Bairey O., Yuklea M., Herishanu Y., Braester A., Rahimi-Levene N., Vernea F., Ben-Ezra J., Bejar J., Polliack A. Significance of bone marrow reticulin fibrosis in chronic lymphocytic leukemia at diagnosis // *Cancer*. 2013. Vol. 119 (10). P. 1853–1859. doi: 10.1002/cncr.27930.

12. Thiele J., Kvasnicka H.M., Facchetti F., Franco V., van der Walt J., Orazi A. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity // *Haematologica*. 2005. Vol. 90. P. 1128–1132.