

LEK. MED. ALICJA MARKUSZEWSKA-KUCZYŃSKA

**BADANIA NAD ZNACZENIEM
DIAGNOSTYKI MORFOLOGICZNEJ SZPIKU KOSTNEGO
W ROZPOZNAWANIU CHOROBY GAUCHERA
U DOROSŁYCH**

PRACA DOKTORSKA

PROMOTOR: DR HAB. N. MED. MACIEJ MACHACZKA, PROF. UR
PROMOTOR POMOCNICZY: DR N. MED. MONIKA KLIMKOWSKA

WROCŁAW 2018

STRESZCZENIE

Choroba Gauchera to bardzo rzadka, dziedziczona autosomalnie recesywnie sfingolipidoza, której rozwój zależy od niedostatecznej aktywności enzymu lizosomalnego glukocerebrozydazy. Pomimo dostępności bardzo skutecznej, nieinwazyjnej terapii choroby Gauchera, u wielu chorych z tym schorzeniem, zwłaszcza dorosłych, ustalenie właściwego rozpoznania jest częstokroć trudne i przedłuża się o wiele lat. Badanie szpiku kostnego jest nierzadko wykonywane u dorosłych chorych z nierozpoznaną chorobą Gauchera. Dzieje się tak zwłaszcza wtedy, kiedy chorzy są kierowani do hematologa w celu ustalenia przyczyny małopłytkowości i/lub splenomegalii, a nieznane są przypadki występowania choroby Gauchera w rodzinie chorego. Biopsja aspiracyjna (ASP) oraz trepanobiopsja (TB) szpiku kostnego mogą bowiem wykazać obecność nietypowych makrofagów (komórek Gauchera) i tym samym uruchomić dalszą, celowaną diagnostykę enzymatyczną i molekularną tej choroby.

Celem przedstawianej w formie cyklu publikacji pracy doktorskiej, było bliższe zbadanie słabo dotąd poznanych zagadnień związanych z diagnostyką morfologiczną szpiku kostnego w rozpoznawaniu choroby Gauchera u osób dorosłych. Na rozprawę doktorską składa się cykl 4 prac dotyczących choroby Gauchera. Jako wstęp wykorzystany został artykuł poglądowy doktorantki, w którym przedstawiono aktualny stan wiedzy w zakresie choroby Gauchera. Zwraca się w nim m.in. uwagę, że w większości przypadków choroba Gauchera ujawnia się u dorosłych poprzez wystąpienie objawów hematologicznych, zwłaszcza małopłytkowości i splenomegalii. Niekiedy objawy te mogą mieć charakter izolowany lub być stwierdzane w połączeniu z innymi objawami niehematologicznymi. (*Acta Haematol Pol 2015*).

W pierwszej pracy oryginalnej porównano użyteczność kliniczną ASP i TB szpiku kostnego w rozpoznawaniu typu 1 choroby Gauchera (*Pol Arch Med Wewn 2014*). Wykazano, że w preparatach cytologicznych szpiku kostnego można było średnio zidentyfikować jedynie 4 komórki Gauchera na 1000 analizowanych komórek jądrzastych (zakres 1–18), a średni odsetek komórek Gauchera wyniósł 0,4% (zakres 0,1–1,8%). Całkowity odsetek komórek Gauchera stwierdzanych w preparatach histologicznych wahał się od 22% do 36% (mediana 28%). Wartość mediany stwierdzanego odsetka komórek Gauchera była wyraźnie mniejsza przy zastosowaniu do badania szpiku kostnego ASP w porównaniu z TB ($P = 0,028$).

Następna praca oryginalna miała za zadanie odpowiedzieć na pytania dotyczące rodzaju polimorfizmu komórek Gauchera i częstości jego występowania w preparatach cytologicznych szpiku kostnego u nieleczonych dorosłych z chorobą Gauchera (*Folia Histochem Cytobiol*

2015). Wyróżniono 7 rodzajów komórek Gauchera o nietypowej cytomorfologii: (1) posiadające nietypową piankową cytoplazmę, (2) posiadające centralnie położone jądro komórkowe, (3) o wielkości komórki $>100\ \mu\text{m}$, (4) o morfologii komórek wielojądrzastych, (5) o morfologii syncytium komórkowego, (6) posiadające niezwykle, duże wypustki komórkowe, oraz (7) wykazujące wyraźną hemofagocytozę. Wszyscy analizowani chorzy posiadali w preparatach cytologicznych szpiku kostnego komórki Gauchera o nietypowej morfologii. Odsetek nietypowych komórek Gauchera wahał się w granicach 22–40% wszystkich analizowanych komórek Gauchera (mediana 29%).

Ostatnia praca cyklu jest opisem przypadku wystąpienia raka płuca u pacjentki z nierozpoznaną chorobą Gauchera (*Acta Haematol Pol 2014*). Istotne jest spostrzeżenie zwiększonej mielotoksyczności chemio- i radioterapii stosowanej z powodu nowotworu u chorych z nierozpoznaną chorobą Gauchera oraz fakt kluczowego znaczenia diagnostyki morfologicznej szpiku kostnego w rozpoznaniu choroby Gauchera w prezentowanym przypadku.

W podsumowaniu, wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że ilość komórek Gauchera w preparacie cytologicznym szpiku kostnego pacjentów z nierozpoznaną chorobą Gauchera może być bardzo niewielka oraz, że komórki te mogą wykazywać nietypową cytomorfologię. Dlatego, należy pamiętać, że negatywny wynik ASP szpiku kostnego nie wyklucza choroby Gauchera. Z tego powodu pacjentów z niejasnym długotrwałym powiększeniem śledziona i/lub małopłytkowością, u których wynik badania cytologicznego na obecność komórek Gauchera w materiale uzyskanym przy pomocy ASP szpiku jest ujemny, powinno się kierować rutynowo do diagnostyki enzymatycznej lub molekularnej choroby Gauchera.

SUMMARY

Gaucher disease is a very rare, autosomal recessive sphingolipidosis and its development depends on the insufficient activity of the lysosomal enzyme glucocerebrosidase. Despite the availability of a very effective, non-invasive therapy for Gaucher disease, in many patients with this disorder, especially adults, establishing the proper diagnosis often prolongs for many years. Bone marrow examination is often performed in adults with unrecognized Gaucher disease. This is particularly the case when patients are referred to a hematologist to determine the cause of thrombocytopenia and/or splenomegaly, and there are not known cases of Gaucher disease in the patient's family. Aspiration biopsy (ASP) and trephine biopsy (TB) of bone marrow can demonstrate the presence of atypical macrophages (Gaucher cells) and thus trigger further, enzymatic and molecular diagnostics of this disease.

The aim of this dissertation presented in the form of a series of publications was to examine the previously poorly understood issues related to bone marrow morphological diagnostics in the diagnosis of Gaucher disease in adults. The dissertation consists of a series of 4 papers on Gaucher disease. A review article was used as an introduction, in which presents the current state of knowledge in the field of Gaucher disease. In this review, it is emphasized that in most cases Gaucher disease presents in adults by the occurrence of hematological symptoms, especially thrombocytopenia and splenomegaly. Sometimes these symptoms may be isolated or found in combination with other non-hematological symptoms. (*Acta Haematol Pol 2015*).

In the first original study, the clinical usefulness of ASP and TB of the bone marrow was compared in the diagnosis of type 1 Gaucher disease (*Pol Arch Med Wewn 2014*). It was shown that only 4 Gaucher cells per 1000 analyzed nucleated cells (range 1–18) could be identified on bone marrow cytological specimens, and the average percentage of Gaucher cells was 0.4% (range 0.1–1.8%). The total percentage of Gaucher cells found in histological specimens ranged from 22% to 36% (median 28%). The median value of the observed percentage of Gaucher cells was clearly lower when used ASP compared with TB for bone marrow examination ($P = 0.028$).

The next original paper was designed to answer questions about the type of Gaucher cell polymorphism and frequency of its occurrence in bone marrow smears from untreated adults with Gaucher disease (*Folia Histochem Cytobiol 2015*). Seven types of atypical Gaucher cells were identified: (1) having a foamy cytoplasm, (2) having a centrally placed cell nucleus, (3) with a cell diameter $>100\ \mu\text{m}$, (4) with multinuclearity, (5) with syncytial morphology, (6)

having unusually large cytoplasmic projections, and (7) exhibiting apparent hemophagocytosis. All analyzed patients had Gaucher cells with atypical morphology in bone marrow smears. The percentage of atypical Gaucher cells ranged from 22–40% of all analyzed Gaucher cells (median 29%).

The last paper is a case report on a patient with lung cancer and an unrecognized Gaucher disease who developed a prolonged pancytopenia complicated by sepsis after each cycle of chemo- and radiotherapy (*Acta Haematol Pol 2014*). These symptoms led to bone marrow examination and the assumption that the patient suffers from Gaucher disease.

In summary, the results of the conducted studies indicate that the number of Gaucher cells in the cytological bone marrow smears of patients with unrecognized Gaucher disease may be very low and that these cells may have atypical cytomorphology. Therefore, one should remember that the negative result of bone marrow ASP does not exclude Gaucher disease. For this reason, patients with unclear long-lasting splenomegaly and/or thrombocytopenia, in whom bone marrow aspirate cytology is negative for Gaucher cells, should be routinely referred for an enzymatic or molecular assay for Gaucher disease.