

Klinički centar Vojvodine, Novi Sad
Klinika za hematologiju¹
Patohistološka laboratorija *Beolab*, Beograd²

Originalni naučni rad
Original study
UDK 616.155.392-076-037
DOI: DOI:10.2298/MPNS1008487S

KLINIČKI I PROGNOСТИČKI ZNAČAJ EKSPRESIJA CD34 ANTIGENA U BIOPSIJAMA KOSTNE SRŽI U MIJELODISPLASTIČNOM SINDROMU

CLINICAL AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CD34 EXPRESSION IN BONE MARROW BIOPSIES IN MYELODYSPLASTIC SYNDROME

Aleksandar SAVIĆ¹, Nebojša RAJIĆ¹, Nada VLAIŠAVLJEVIĆ¹,
Vesna ČEMERIKIĆ-MARTINOVIĆ² i Stevan POPOVIĆ¹

Sažetak – Ekspresija CD34 antigena je povećana kod znatnog broja obolelih od mijelodisplastičnog sindroma. Cilj rada je bio da se utvrdi ekspresija CD34 antigena u biopsijama kostne srži obolelih od mijelodisplastičnog sindroma i njen klinički i prognostički značaj. Ispitivanje je sprovedeno kod 53 obolelih od mijelodisplastičnog sindroma. Imunocitohemijskom metodom utvrđena je ekspresija CD34 antigena u biopsijama kostne srži obolelih od mijelodisplastičnog sindroma i 20 ispitanika kontrolne grupe. Utvrđena je statistički znatno viša ekspresija u mijelodisplastičnom sindromu u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,05$), kao i statistički značajna razlika u ekspresiji CD34 antigena između grupe niskog i visokog rizika ($p < 0,02$). Medijana preživljavanja u grupi sa ekspresijom CD34 manjom od 2% bila je 22 meseca, a iznad 2% šest meseci. Razlika je bila statistički značajna ($p < 0,05$). U multivarijantnoj analizi, ekspresija CD34 zadržava prognostički značaj zajedno sa kariotipom i transfuzijskom zavisnošću ($p < 0,05$). Ekspresija CD34 u biopsijama kostne srži povećana je kod obolelih od mijelodisplastičnog sindroma u poređenju sa kontrolnom grupom. Povećana ekspresija, posebno u grupi visokog rizika, ima nepovoljan prognostički značaj.

Ključne reči: Mijelodisplastični sindrom; CD34 Antigeni; Prognoza; Prediktivna vrednost testova; Imunohistohemija; Biopsija; Koštana srž

Uvod

Mijelodisplastični sindrom (MDS) predstavlja heterogenu grupu stečenih klonskih hematoloških bolesti koja se karakteriše poremećajima proliferacije, diferencijacije i procesa apoptoze sa visokim rizikom od progresije u akutnu nelimfoblastnu leukemiju. U osnovi oboljenja je neefektivna hematopoeza sa displastičnim promenama na ćelijama periferne krvi i kostne srži, te citopenija jedne ili više krvnih loza uz hipercelularnu ili normocelularnu, retko hipocelularnu kostnu srž.

Antigen CD34 nalazi se na hematopoeznim matičnim ćelijama i na ćelijama endotela. Ovaj antigen postoji na 1–5% ćelija kostne srži i na 0,1–0,5% ćelija periferne krvi [1,2]. CD34 antigen je sposoban da izdrži fiksaciju i procesiranje tkiva, zbog čega je visoka korelacija njegove ekspresije u studijama sa protočnom citometrijom i studijama gde su korišćene imunohistološke tehnike [1]. CD34 antigen je povišen u kostnoj srži u 34% slučajeva MDS, pretežno iz grupe visokog rizika [3]. U slučajevima mijelodisplastičnog sindroma sa normalnom ekspresijom CD34 nalazi se povećanje CD34 + mijeloblasta uz smanjenje CD34 + B-limfocitnih prekursora [4,5].

Blasti u kostnoj srži često su pozitivni na CD34 antigen u MDS [6,7]. Povećanje CD34 pozitivnih ćelija u perifernoj krvi i kostnoj srži bilo je povezano sa MDS visokog rizika i sa lošijom prognozom [3,7,8].

Cilj rada je bio da se utvrdi ekspresija CD34 antigena u biopsijama kostne srži obolelih od mijelodisplastičnog sindroma, ustanovi njen prognostički značaj i povezanost sa različitim kliničkim, progno-

stičkim i laboratorijskim parametrima kod obolelih od mijelodisplastičnog sindroma.

Materijal i metode

Ispitanici i kliničko-laboratorijska ispitivanja

Ispitivanje je sprovedeno kod 53 obolelih od mijelodisplastičnog sindroma lečenih bolnički i ambulantno na Klinici za hematologiju, Instituta za interne bolesti Kliničkog centra u Novom Sadu u periodu od 1990. do 2002. godine. Kod bolesnika je, na osnovu pregleda periferne krvi (brojne vrednosti krvnih ćelija i pregled razmaza periferne krvi bojenih metodom *May-Grunwald-Giemsa*) i kostne srži (bojenje *May-Grunwald-Giemsa* i bojenje na sideroblaste pruskim plavim) i kriterijuma Francusko-američko-britanske kooperativne grupe (FAB) [9], te klasifikacije Svetske zdravstvene organizacije (SZO) [10] postavljena dijagnoza primarnog mijelodisplastičnog sindroma. Ispitivanje je sprovedeno uz saglasnost etičke komisije Instituta za interne bolesti i Medicinskog fakulteta u Novom Sadu. Od bolesnika je, nakon informacije o planiranom ispitivanju, dobijena pismena saglasnost. Kontrolnu grupu u kojoj je vršena procena ekspresije CD34 antigena sačinjavalo je 20 bolesnika koji su lečeni od različitih bolesti, pretežno limfoma, kod kojih je prethodnim patohistološkim pregledom biopata kostne srži utvrđen normalan nalaz (normocelularna kostna srž sa urednim sazrevanjem svih loza i odsustvom infiltracije maligne bolesti). Lečenje naših bolesnika bilo je individualizovano i prilagođeno životnom dobu, opštem stanju i stanju pratećih bolesti, kao i tipu MDS.

Skraćenice

MDS	– mijelodisplastični sindrom
FAB	– Francusko-američko-britanska kooperativna grupa
SZO	– Svetska zdravstvena organizacija
LSAB	– <i>labeled streptavidin biotin</i>
IPSS	– <i>International prognostic scoring system</i>
RA	– refrakturna anemija
RARS	– refrakturna anemija sa prstenastim sideroblastima
RAEB	– refrakturna anemija sa ekscosom blasta
RAEB-t	– refrakturna anemija sa ekscosom blasta u transformaciji
CMML	– hronična mijelomonocitna leukemija
RCMD	– refrakturna citopenija sa multilinijskom displazijom

Na osnovu anamneze, fizičkog pregleda bolesnika, dopunskih ispitivanja i pregleda medicinske dokumentacije (istorije bolesti, polikliničkog kartona), kod bolesnika su pri postavljanju dijagnoze bolesti utvrđivane sledeće kliničke, laboratorijske i citološke karakteristike: životno doba i pol bolesnika, postojanje anemijskog i hemoragijskog sindroma, te infekcije, povećanja jetre i slezine, uvećanje limfnih čvorova, podgrupa po FAB i klasifikaciji SZO, postojanje trilinejske displazije, citogenetskih anomalija, vrednosti krvne slike, sedimentacije eritrocita, biohemijskih nalaza bubrezne i jetrene funkcije, nalaza elektroforeze serumskih proteina, fibrinogena, prisustvo pratećih oboljenja, zatim vrsta i efekat terapije, preživljavanje i evolucija bolesti, transformacija u akutnu leukemiju, a u slučaju smrtnog ishoda, datum i uzrok smrti.

Grupa niskog rizika MDS definisana je ukoliko je postavljena dijagnoza refraktne anemije (RA) i refrakterne anemije sa prstenastim sideroblastima (RARS) podgrupe MDS, dok je grupa visokog rizika određena na osnovu pripadnosti drugim podgrupama MDS: refrakturna anemija sa ekscosom blasta (RAEB), refrakturna anemija sa ekscosom blasta u transformaciji (RAEB-T) i hronična mijelomonocitna leukemija (CMML). U cilju utvrđivanja prognoze primenivan je internacionalni prognostični model (*International prognostic scoring system* – IPSS) [11].

Patohistološka ispitivanja

Biopsija kostne srži rađena je pri postavljanju dijagnoze MDS pre započinjanja terapije. Uzorci tkiva dobijeni biopsijom ilijačne kosti u lokalnoj anesteziji upotrebom *Jamshidi* igle bili su širine oko 2 mm, dužine 1–3 cm. Fiksirani su u 10% formalinu ili u slučaju dela kontrola u B-5 fiksativu, dekalifikovani su u kiseloj sredini, parafinirani i zatim sečeni u isečke debljine 4–6 mikrometara i obojeni hematoksinom eozinom i metodom *Giemsa*. Utvrđivanje prisustva retikulinskih vlakana vršeno je pomoću metode po Gomoriiju.

Imunohistohemijsko ispitivanje CD34 antigena u kostnoj srži

Kod ispitanika je ekspresija CD34 antigena sprovedena primenom monoklonskog antitela anti-CD34 i metode streptavidin-biotin peroksidaze (*labeled streptavidin biotin* – LSAB) na parafinskim uzorcima kostne srži. Deparafinizacija i rehidratacija sprovedene su potapanjem isečaka u ksilolu (2 puta po 5 minuta), zatim alkoholu (3 puta po pet minuta u 100% alkoholu,

zatim 2 puta po 5 minuta u 96% alkoholu), nakon čega je posle ispiranja u destilovanoj vodi izvršen takozvani antigen *retrieve*l kuvanjem u citratnom rastvoru u mikrotalasnoj pećnici u trajanju 2 puta po 5 minuta. Nakon hlađenja pločica, vršena je inhibicija endogene peroksidaze u 3% H₂O₂ u trajanju od 5 minuta, nakon čega je posle ispiranja u destilovanoj vodi i svežem TBS puferu, izvršena inkubacija sa primarnim antitelom na CD34 antigen DAKO QBEND10 u koncentraciji 1:50 (20 µL u 1 ml) u trajanju od 20 minuta. U daljoj proceduri, nakon ispiranja TBS puferom izvršena je inkubacija takozvanim link antitelom (biotin) u trajanju od 15 minuta, te ponovo ispiranje i inkubacija streptavidin-peroksidazom u trajanju od 15 minuta. U sledećoj fazi, nakon ispiranja puferom u trajanju 15–20 minuta vršena je inkubacija hromogenom AEC i nakon toga izvršeno je kontrastno bojenje Mayerovim hematoksinom u trajanju od 5 minuta, zatim prekrivanje preparata vodenim medijumom i pokrovnim pločicama. Ekspresija CD34 antigena utvrđivana je brojanjem pojedinačnih pozitivnih ćelija na 500 ćelija kostne srži.

Osnovne metode statističke obrade podataka

Utvrđivanje razlika između pojedinih grupa u pogledu ekspresije CD34 antigena sprovedna je primenom Studentovog t-testa, Welchove korekcije Studentovog t-testa i Mann-Whitney u-testa. Korelacija različitih parametara sa karakteristikama kontinuiranih varijabli sprovedena je primenom proste linearne korelacije (Pearson R) i neparametrijskog testa korelacije Spearmanovog testa ranga.

Analiza preživljavanja sprovedena je primenom Kaplan-Meierovog testa. Poređenje preživljavanja između pojedinih grupa vršeno je primenom log-rank testa, a uticaj pojedinih varijabli na preživljavanje određivan je Coxovim modelom proporcionalnog hazarda. Sva statistička ispitivanja vršena su primenom programa Statistica za operativni sistem Windows XP.

Rezultati**Ispitanici i kontrolna grupa**

Ispitivanje je sprovedeno kod 53 obolelih od primarnog MDS i 20 ispitanika kontrolne grupe. Oboleli od MDS većinom su pripadali starijem dobu (prosečne starosti 62,18 godina) i češće su bili muškog pola (odnos M:Ž bio je 2,47:1). Podaci o dobu i polu bolesnika dati su u **Tabeli 1**.

Tabela 1. Prikaz obolelih od MDS prema polu i životnom dobu
Table 1. MDS patients according to age and sex

Pol/Sex	Broj bolesnika/Patients number	Životno doba/Age		
		\bar{X}	Min	Max
Muškarci/Males	37	62,05	37	79
Žene/Females	16	62,19	35	76
Ukupno/Total	53	62,09	35	79

Distribucija bolesnika prema FAB klasifikaciji data je u **Tabeli 2**.

Tabela 2. Distribucija bolesnika po FAB klasifikaciji**Table 2.** Distribution of patients according to FAB classification

FAB podgrupa FAB group	Broj bolesnika Patients number	% bolesnika Patients %
RA	18	34
RARS	2	4
RAEB	21	39
RAEB-t	2	4
CMML	10	19
Ukupno/Total	53	100

Ispitanici kontrolne grupe bili su prosečne starosti 52 godine, sa rasponom od 21 do 76 godina. Odnos muškaraca i žena u kontrolnoj grupi bio je 1,22:1. Ispitanici kontrolne grupe većinom su bolovali od hoćkinskog i nehoćkinskog limfoma u odnosu 1:1 (18/20, 90%). Kod dva bolesnika se radilo o drugim oboljenjima (*Pericarditis exsudativa* i *Syndroma lumbale*). Patohistološki nalaz kostne srži u kontrolnoj grupi bio je normalan (normocelulna kostna srž uz normalan odnos i raspored krvnih loza bez znakova infiltracije malignim procesom).

Lečenje obolelih od mijelodisplastičnog sindroma

Transfuzije eritrocita primalo je 47 bolesnika (88,7%), a transfuzije trombocita 23 bolesnika (43,4%). Desferal u vidu intramuskularnih injekcija, odnosno intravenskih infuzija primalo je pet bolesnika (9,43%) koji su bili na hroničnoj supstitucionoj terapiji transfuzijama eritrocita. Terapija piridoksinom sprovedena je kod 28 bolesnika (52,8%), D-vitaminom kod 4 bolesnika (7,55%) bez prisutnog efekta. Kortikosteroide je primalo 10 bolesnika (18,87%) bez efekta. Terapija hidroksiurejom sprovedena je kod 9 bolesnika (16,98%) u CMML podgrupi FAB klasifikacije sa postignutim efektom smanjenja broja leukocita. Ultranske i niske doze citozin-arabinozida primalo je 17 bolesnika (32,07%) iz grupe RAEB i RAEB-t i postignuta je parcijalna remisija kod tri bolesnika (17,65%). Polihemioterapija (kombinacijama citozin- arabinozida i antraciklina-daunorubicina ili idarubicina kod 12 bolesnika, u jednom slučaju uz dodatak etopozida, i FLAG-IDA kod jednog bolesnika) sprovedena je kod 14 bolesnika (26,15%), u tri slučaja RAEB podgrupe i 11 slučajeva transformacije u akutnu nelimfoblastnu leukemiju (šest iz podgrupe RAEB, tri iz podgrupe RA, jedan iz RAEB-t i jedan iz CMML podgrupe). Navedenom terapijom postignuta je kompletna remisija u dva slučaja (14,29%), parcijalna remisija u tri (21,43%) i bez terapijskog odgovora kod devet bolesnika (64,28%). Transplantacija matičnih ćelija hematopoeze sprovedena je kod jedne bolesnice podgrupe RAEB koja je 10. godine nakon transplantacije bez znakova osnovne bolesti, ali sa hroničnom bolešću kalema protiv domaćina (*graft versus host disease* – GvHD).

Ekspresija CD34 antigena kod obolelih od mijelodisplastičnog sindroma i kontrolnoj grupi

Prosečna vrednost ekspresije CD34 antigena u kostnoj srži kod obolelih od MDS viša je (1,37%) nego u kontrolnoj grupi (0,78%). Primenom Welchove korekcije Studentovog t-testa, utvrđena je statistički značajna razli-

Tabela 3. Ekspresija CD34 antigena u grupi bolesnika i kontrolnoj grupi**Table 3.** CD34 antigen expression in patients and control group

Ispitanici/Study group	Broj bolesnika Patients number	Ekspresija CD34 u % CD34 expression %			
		\bar{X}	Raspon Range	SD	CV
Bolesnici/Patients	53	1,37	0–8,8	1,68	122,63
Kontrolna grupa/Control group	20	0,78	0–1,60	0,45	57,69

ka između grupe bolesnika i kontrolne grupe u pogledu ekspresije CD34 ($p < 0,05$). Vrednosti ekspresije CD34 antigena kod obolelih od MDS i u kontrolnoj grupi prikazane su u **Tabeli 3**.

Primenom Mann-Whitney u-testa utvrđene su statistički značajne razlike u pogledu ekspresije CD34 između podgrupa RA i CMML ($p < 0,02$), MDS visokog rizika (RAEB + RAEB-t + RARS) i MDS niskog rizika (RA + RARS), ($p < 0,02$), a nisu utvrđene statistički značajne razlike između podgrupa RA i RAEB, RAEB i CMML. U **tabelama 4 i 5** data je ekspresija CD34 po grupama FAB klasifikacije.

Tabela 4. Ekspresija CD34 antigena po podgrupama FAB klasifikacije**Table 4.** CD34 antigen expression according to FAB groups

FAB podgrupe MDS MDS FAB groups	Broj bolesnika Patients number	Ekspresija CD34 % CD34 expression %			
		\bar{X}	Raspon Range	SD	CV
RA	18	0,81	0–4,00	0,92	113,58
RARS	2	0,45	0,2–0,70	0,35	77,78
RAEB	22	1,52	0–8,80	2,14	140,79
RAEB-t	2	2,30	0,8–3,80	2,12	92,17
CMML	10	2,06	0–5,20	1,53	74,27
Ukupno/Total	53	1,37	0–8,8	1,68	122,63

Tabela 5. Ekspresija CD34 antigena u grupi niskog i visokog rizika FAB klasifikacije**Table 5.** CD34 antigen expression in FAB low and high risk group

Grupe MDS MDS groups	Broj bolesnika Patients number	CD34		
		\bar{X}	Raspon Range	SD
Grupa niskog rizika/Low risk group	20	0,75	0–4	0,881
Grupa visokog rizika/High risk group	33	1,7235	0–8,8	1,942
Ukupno/Total	53	1,37	0–8,8	1,68

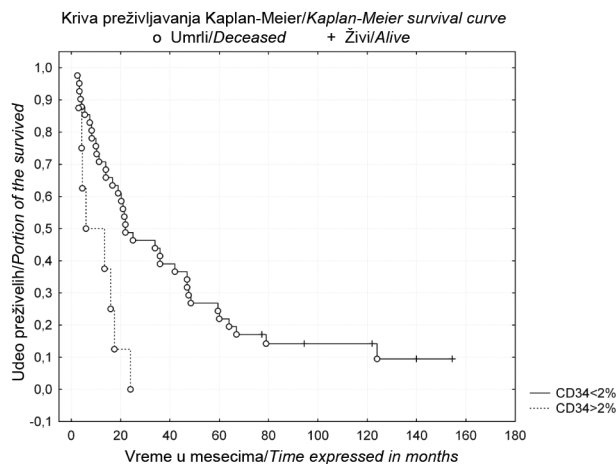
Ekspresija CD34 antigena bila je viša kod 15 bolesnika podgrupe refrakterne citopenije sa multilinijskom displazijom (RCMD) u poređenju sa tri slučaja podgrupe refrakterne anemije (RA) klasifikacije SZO ($\bar{X} = 0,8$, raspon 0–4, SD=0,966, naspram $\bar{X} = 0,7$, raspon 0,2–1, SD=0,46).

Vrednosti ekspresije CD34 antigena u podgrupi RAEB I bile su više nego u podgrupi RAEB II ($\bar{X} = 2,05$, raspon 0,2–8,8, SD 2,8 naspram $\bar{X} = 0,9$, raspon 0,2–1,8, SD 0,61). Primenom Mann-Whitney u-testa, razlika nije bila statistički značajna, ali je utvrđena statistički značajna razlika između podgrupe RCMD i RAEB I ($p < 0,05$).

Primenom neparametrijskog testa korelacije Spearmanovog testa ranga utvrđena je statistički značajna korelacija ekspresije CD34 i broja trombocita na nivou poverenja $p < 0,05$, ali ne i ostalih ispitivanih parametara. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u ekspresiji CD34 u odnosu na patološki kariotip, trilinejske displazije, fibroze i ALIP (*atypical localization of immature progenitor cells*) u kostnoj srži te transformacije u akutnu leukemiju.

Preživljavanje i prognostički činioci

Medijana preživljavanja za sve obolele iznosilo je 20,33 meseca. Medijana preživljavanja kod bolesnika sa ekspresijom CD34 antigena manjom od 2% bila su 22 meseca nasuprot 6 meseci kod obolelih sa ekspresijom većom od 2%. Na osnovu poređenja ovih dveju grupa bolesnika, utvrđena je statistički značajna razlika u preživljavanju log-rank testom ($p < 0,05$), (Grafikon 1).



Grafikon 1. Preživljavanje obolelih od MDS u odnosu na ekspresiju CD34 antigena

Graph 1. Survival of MDS patients according to CD34 antigen expression

U univarijantnoj analizi, primenom log-rank testa, statistički značajan uticaj na preživljavanje su pored CD34 ekspresije imali i IPSS, kariotip, tip

MDS po FAB klasifikaciji, procenat blasta u kostnoj srži i transfuzijska zavisnost.

U multivarijantnoj analizi metodom Coxovog proporcionalnog rizika CD34 ekspresija je zadržala statistički značajan uticaj na preživljavanje, kao i zavisnost od transfuzija i kariotip ($p < 0,05$).

Diskusija

Naši podaci o višoj ekspresiji CD34 antigena u ćelijama biopsije kostne srži kod obolelih od MDS u poređenju sa kontrolom u saglasnosti su sa podacima objavljenim u literaturi [11–13]. Viša ekspresija ovog antigena u MDS, koji se normalno nalazi na prekursorskim ćelijama hematopoeze i strome kostne srži i na endotelskim ćelijama, objašnjava se povećanim prisustvom nezrelih ćelija. Prethodna činjenica objašnjava i njegovo veće prisustvo u uznapredovalim oblicima MDS, u kojima je povećan broj nezrelih ćelija i viši rizik od transformacije u akutnu leukemiju, što je pokazano i u našem ispitivanju i u ispitivanjima prethodno navedenih autora. Povećano prisustvo CD34 antigena na ćelijama periferne krvi i kostne srži u MDS utvrđeno je i u studijama u kojima je primenjivana metoda imunofluorescencije protočnim citometrom [14,15], s tim što su ovim ispitivanjem dobijene veće vrednosti ekspresije. Ovo se objašnjava većom senzitivnošću metode protočne citometrije.

Prisustvo više od 1% CD34 pozitivnih ćelija u biopsijama kostne srži je, prema radu Soligo i saradnika i Verburgh i saradnika, nepovoljni prognostični znak [11,12]. U našem ispitivanju granična vrednost ekspresije CD34 antigena od 2% ima prognostički značaj.

Zaključak

Ekspresija CD34 u biopsijama kostne srži povećana je kod obolelih od mijelodisplastičnog sindroma u poređenju sa kontrolnom grupom. Povećana ekspresija CD34 antigena postoji posebno u grupi visokog rizika i ima nepovoljan prognostički značaj, te utiče pri odlučivanju o vrsti terapijskog pristupa.

Literatura

1. Elghetany TM. Surface marker abnormalities in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 1998;83:1104-15.
2. Kanter-Lewensohn L, Hellstrom-Lindberg E, Kock Z, Elmhorn-Rosenborg A, Ost A. Analysis of CD34 positive cells in bone marrow from patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia and in normal individuals: a comparison between FACS analysis and immunohistochemistry. *Eur J Haematol* 1996;56:485-99.
3. Guyotat D, Campos L, Thomas X, Vila L, Shi ZH, Charrin C, et al. Myelodysplastic syndromes: a study of surface markers and in vitro growth patterns. *Am J Hematol* 1990;34:26-31.
4. Ogata K, Kishikawa Y, Satoh C, Tamura H, Dan K, Hayashi A. Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34+ cells in low-grade myelodysplastic syndromes. *Blood* 2006;108:1037-44.
5. Ogata K, Nakamura K, Yokose N, Tamura H, Tachibana M, Taniguchi O, et al. Clinical significance of phenotypic features of blasts in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 2002;100:3887-96.
6. Oertel J, Kleiner S, Huhn D. Immunotyping of blasts in refractory anaemia with excess of blasts. *Br J Haematol* 1993;84:305-9.

7. Oertel J, Oertel B, Beyer J, Huhn D. CD34 immunotyping of blasts in myelodysplasia. *Ann Hematol* 1994;68:77-80.

8. Sullivan SA, Marsden KA, Lowenthal RM, Jupe DM, Jones ME. Circulating CD34+ cells: an adverse prognostic factor in the myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 1992;39:96-101.

9. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982;51:189-99.

10. Brunning RD, Bennett JM, Flandrin G, Matutes E, Head D, Vardiman JW, et al. Myelodysplastic syndromes. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, editors. *World health organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press; 2001. p. 61-73.

11. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenau P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;89:2079-88.

12. Soligo DA, Oriani A, Annaloro C, Cortelezzi A, Calori R, Pozzoli E. CD34 immunohistochemistry of bone marrow biopsies. Prognostic significance in primary myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 1994;46:9-17.

13. Verburgh E, Achten R, Maes B, Hagemeyer A, Boogaerts M, De Wolf-Peeters C, et al. Additional prognostic value of bone marrow histology in patients subclassified according to the international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2003;21:273-82.

14. Baur AS, Meuge-Moraw C, Schmidt PM, Parlier V, Jotterand M, Delacretaz F. CD34/QBEND10 immunostaining in bone marrow biopsies: an additional parameter for the diagnosis and classification of myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2000;64:71-9.

15. Del Canizo MC, Fernandez ME, Lopez A, Vidriales B, Villaron E, Arroyo JL, et al. Immunophenotypic analysis of myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2003;88(4):402-7.

Summary

Introduction

The expression of CD34 antigen is increased in a substantial portion of MDS patients, particularly in high risk patients, which was associated with unfavorable survival in some studies.

The aim of this study was to determine the CD34 expression in bone marrow biopsies and its prognostic significance in MDS patients and to analyze it in the context of different clinical, laboratory and prognostic parameters.

Material and methods

The study was conducted in 53 MDS patients and 20 controls with normal bone marrow. The CD34 expression was determined by CD34 monoclonal antibody and labelled streptavidin biotin peroxidase method. The positivity was determined by counting the 500 cells and it was expressed as percentage.

Results

Among the 53 MDS patients there were 37 males and 16 females with average age of 62. The average CD34 expression in the MDS

group was 1.37%, the range being 0-8.8%, and in the control group 0.78%, the range being 0-1.60%. The difference was statistically significant ($p < 0.05$). There was a statistically significant difference in the CD34 expression comparing RA and CMML group and high risk and low risk MDS ($p < 0.02$). The median survival in the patients with the CD34 expression with less than 2% was 22 months, while it was 6 months in the patients with the CD34 expression over 2% ($p < 0.05$). In a multivariate analysis the CD34 expression together with the karyotype and transfusion dependence had a statistical significance ($p < 0.05$).

Conclusion

The CD34 expression in bone marrow biopsies is higher in the MDS patients comparing with the controls as well as in high risk comparing with low risk patients. The cutoff 2% seems to have a prognostic significance.

Key words: Myelodysplastic Syndromes; Antigens, CD34; Prognosis; Predictive Value of Tests; Immunohistochemistry; Biopsy; Bone Marrow

Rad je primljen 24. III 2008.

Prihvaćen za štampu 14. IX 2008.

BIBLID.0025-8105.(2010);LXIII:7-8:487-491.