

μυελόγραμμα



- 10.1 Γενικά*
- 10.2 Αναρρόφηση μυελού των οστών*
- 10.3 Οστεομυελική βιοψία*
- 10.4 Μυελική βιοψία με χειρουργική επέμβαση στο χειρουργείο*
- 10.5 Τεχνικές επεξεργασίας δειγμάτων*

Όταν ολοκληρωθεί αυτή η ενότητα, θα έχεις τη δυνατότητα:

- ✓ *Να γνωρίζεις τι είναι το μυελόγραμμα.*
- ✓ *Να αναφέρεις τις τεχνικές και την τοποθεσία λήψης του μυελού των οστών.*
- ✓ *Να γνωρίζεις τα κριτήρια επιλογής της τοποθεσίας λήψης σε σχέση με την ηλικία του ασθενούς.*
- ✓ *Να γνωρίζεις τις χρώσεις επιλογής και τα χρωστικά αποτελεσμάτων μυελικών στοιχείων.*



Αν συναντήσεις λέξεις που δε γνωρίζεις τη σημασία τους, ψάξε πρώτα στο λεξιλόγιο και μετά ρώτησε τον καθηγητή σου.

10.1. Γενικά

• Τι είναι το μυελόγραμμα;

Μυελόγραμμα είναι η λήψη μυελού των οστών, η παρασκευή μυελικών επιχρισμάτων, η βαφή τους με ειδικές χρώσεις και η μελέτη τους στο οπτικό μικροσκόπιο. Αποτελεί μια πάρα πολύ βασική εξέταση για την διάγνωση αιματολογικών νοσημάτων, νεοπλασμάτων και κοκκιωματοδών καταστάσεων.

Τα τελευταία χρόνια, με την αλματώδη εξέλιξη της τεχνολογίας, έχουν αναπτυχθεί καινούριες μέθοδοι εξετάσεων (π.χ. κυτταρομετρία ροής) που τείνουν να αντικαταστήσουν κατά πολύ τις εφαρμογές του μυελογράμματος. Όμως αυτό παραμένει ακόμα μέθοδος εκλογής για τη μελέτη του μυελού των οστών και τη διάγνωση αρκετών νοσημάτων, αφού μας δίνει τη δυνατότητα να παρατηρήσουμε **την παραγωγή, την ωρίμανση και την καταστροφή** των σημαντικότερων **κυτταρικών σειρών** του αιμοποιητικού ιστού καθώς και την **προσβολή τους** από ξένα κύτταρα (π.χ. νεοπλασματικά).

Η παρακέντηση του οστού και η λήψη μυελικού ιστού γίνεται με τις εξής τεχνικές:

1. Με αναρρόφηση μυελού των οστών
2. Με οστεομυελική βιοψία
3. Με χειρουργική επέμβαση στο χειρουργείο.

Οι βασικές αντενδείξεις ώστε να μην επιχειρηθούν οι εξετάσεις αυτές είναι, η αιμορραγική διάθεση λόγω θρομβοπενίας ή ανεπάρκειας παραγόντων της πήξης και η λήψη αντιπηκτικής αγωγής.

Παρακάτω περιγράφονται οι τεχνικές αναλυτικά.

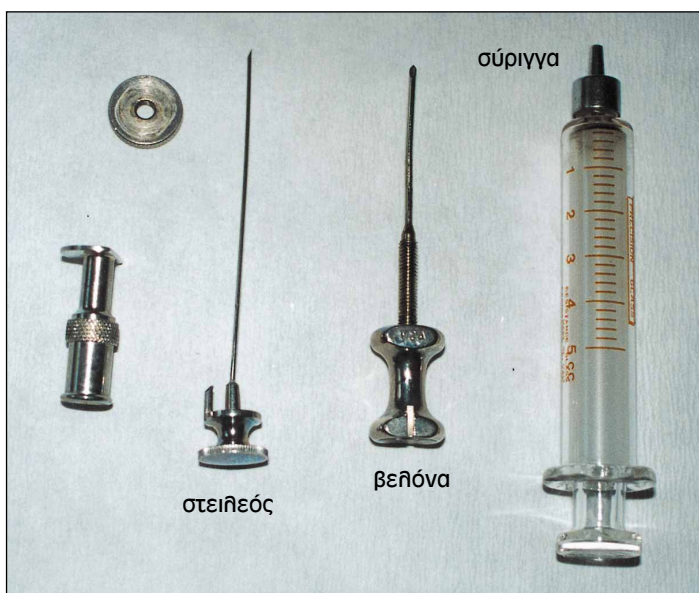
10.2. Αναρρόφηση μυελού των οστών

ΟΡΓΑΝΑ

Χρησιμοποιούνται ειδικές βελόνες τύπου Klima κυρίως, ειδικά κατασκευασμένες ώστε να αντέχουν σε πολλή απλή χρήση και επαναλαμβανόμενες αποστείρωσεις, ενώ τελευταία αρχίζουν να επικρατούν προϊόντα μιας χρήσεως.

Οι συσκευές αυτές αποτελούνται από μια βελόνα, ένα σπειροειδές που φέρεται εντός του αυλού της βελόνας και μια κινούμενη ασφάλεια με την οποία ελέγχεται το βάθος στο οποίο θα εισέλθει η βελόνα.

Τις περισσότερες φορές το σετ συμπληρώνεται με μια σύριγγα αναρροφήσεως που εφαρμόζει πολύ καλά στο στόμιο της βελόνας (Εικόνες 10.1 και 10.2). Στην περίπτωση που αυτή δεν περιέχεται, τότε χρησιμοποιείται μια οποιαδήποτε σύριγγα.



Εικόνα 10.1. Σετ στερνικής παρακέντησης. Φαίνονται κατά σειρά από αριστερά προς τα δεξιά 1) η ασφάλεια, 2) ο βιδωτός οδηγός της ασφάλειας (στρογγυλή ροδέλα), 3) ο σπειροειδής, 4) η βελόνα και 5) η σύριγγα.



Εικόνα 10.2. Βελόνα στερνικής παρακέντησης συναρμολογημένη.

Οι περιοχές που επιλέγονται για να αναρροφηθεί μυελός των οστών είναι οι εξής:

1. Στέρνο. Αποτελεί μια από τις καλύτερα επιλεγμένες θέσεις γιατί το στέρνο έχει αρκετά **καλή κυτταροβρίθεια**, δεν είναι πολύ συμπαγές οστό και βρίσκεται αρκετά κοντά στην επιφάνεια του δέρματος. Πρόβλημα αποτελεί το γεγονός ότι ο εξεταζόμενος έχει τη δυνατότητα να βιλέπει καθ' όλη τη διάρκεια του εγχειρήματος.

Σε στερνική παρακέντηση υποβάλλονται άτομα **εφηβικής ηλικίας** και **ενήλικες**. **Απαγορεύεται** αυστηρά η εξέταση αυτή σε **βρέφη** και **παιδιά** γιατί εγκυμονεί πολλούς κινδύνους (πιθανόν να προκληθούν κακώσεις στο στέρνο ή σε υποκείμενα όργανα).

Η λαβή του στέρνου είναι μια καλή τοποθεσία για να γίνει η παρακέντηση επειδή βρίσκεται έξω από τον καρδιακό χώρο (έτσι αποφεύγονται ατυχή συμβάματα) και συνήθως παρέχει ικανοποιητικό μυελικό υλικό.

2. Λαγόνιος ακροϋφία. Η οπίσθια άνω λαγόνιος άκανθα είναι **πλουσιότερη σε μυελική ουσία** και επιτρέπεται να παρακεντηθεί σε **όλες τις ηλικίες**, γι αυτό και επιλέγεται συχνότερα. Η πρόσθια άνω λαγόνιος άκανθα επιλέγεται σε βρέφη και παιδιά κυρίως ή ενήλικες που παρουσιάζουν πρόβλημα στην παρακέντηση της οπίσθιας άνω λαγονίου ακροϋφίας.

3. Κνήμη. Αφορά εξέταση παιδιών, ηλικίας **18 μηνών και κάτω**. Επιλέγεται, γιατί ακινητοποιείται εύκολα και το παιδί δεν μπορεί να παρακοιουθήσει τη διαδικασία. Σε ηλικίες πάνω από 18 μηνών το οστό της κνήμης σκληρύνεται, ενώ ταυτόχρονα αηλιάζει και η περιεκτικότητά του σε κυτταρικά στοιχεία.

Τοποθεσία καλύτερη για παρακέντηση είναι ακριβώς κάτω από το κνημιαίο όγκωμα.

4. Αποφύσεις σπονδύλων. Υπάρχει η δυνατότητα να παρακεντηθούν οι ακανθώδεις αποφύσεις των οσφυϊκών και κατωτέρων θωρακικών σπονδύλων. Το εγχείρημα αυτό αποφεύγεται, γιατί υπάρχει κίνδυνος τραυματισμού της σπονδυλικής στήλης με πολύ δυσάρεστες συνέπειες.

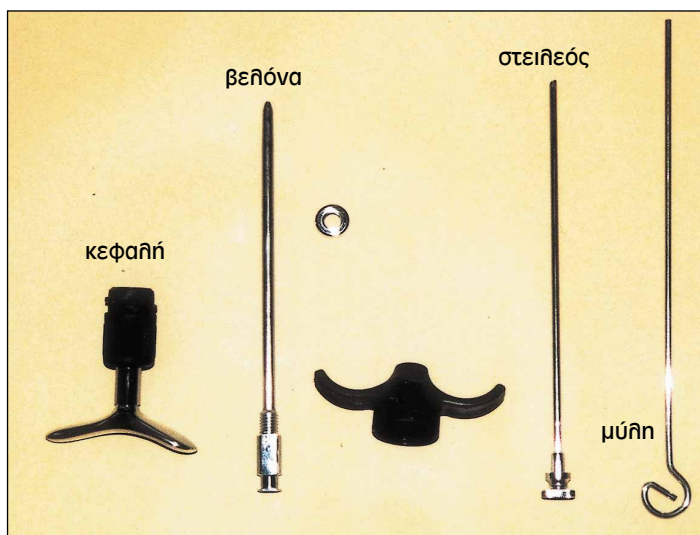
10.3. Οστεομυελική βιοψία

- **Πότε επιλέγεται η οστεομυελική βιοψία;**

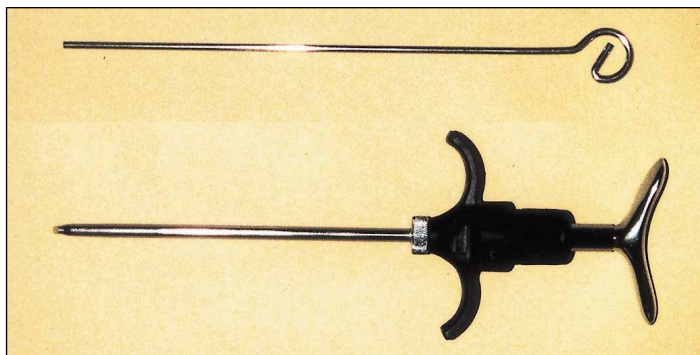
Αρκετές φορές η μέθοδος αναρρόφησης μυελού των οστών δεν αποδίδει, είτε γιατί παρουσιάζεται "ξηρή" αναρρόφηση (dry tap), είτε γιατί χρειαζόμαστε περισσότερα στοιχεία για τη διάγνωση κακοήθων νοσημάτων του αίματος ή μεταστατικών νεοπλασιών.

Στις περιπτώσεις αυτές είναι απαραίτητη η οστεομυελική βιοψία.

ΟΡΓΑΝΑ



Εικόνα 10.3. Στετ οστεομυελικής βιοψίας. Φαίνονται από αριστερά προς τα δεξιά κατά σειρά η κεφαλή, η βελόνα βιοψίας, ο στείλεός και η μύλη.



Εικόνα 10.4. Στετ οστεομυελικής βιοψίας συναρμολογημένο.

Χρησιμοποιούνται βελόνες τύπου Jamshidi ή τύπου Islam, μιας ή πολλαπλών χρήσεων (Εικόνες 10.3 και 10.4).

Κάθε σετ περιλαμβάνει τη βελόνα βιοψίας, την κεφαλή της βελόνας, ένα στεινέό και τη μύλη.

Η περιοχή που επιλέγεται για να γίνει η εξέταση είναι η λαγόνιος ακροφία και μάλιστα προτιμάται η οπίσθια άνω λαγόνια άκανθα γιατί η πρόσθια έχει οστό παχύτερο και σκληρότερο.

10.4. Μυελική βιοψία με χειρουργική επέμβαση στο χειρουργείο

- **Πότε χρειάζεται να γίνει μυελική βιοψία;**

Η μυελική βιοψία με χειρουργική επέμβαση χρησιμοποιείται για ασθενείς με εντοπισμένες βλάβες και δίνει περισσότερες πληροφορίες ως προς την κυτταροβρίθεια του μυελού και τον ιστολογικό τύπο.

Η δυσκολία επανάληψης της εξέτασης, η απαίτηση περισσότερου χρόνου, η ανάγκη συνεργασίας πολλών γιατρών διαφορετικών ειδικοτήτων (Αιματολόγου, Χειρουργού, Αναισθησιολόγου, Ιστοπαθολόγου κλπ) καθώς και οι κίνδυνοι που επιφυλάσσει ένα χειρουργείο, είναι τα μεγάλα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου.

Γίνεται λοιπόν κατανοητό, γιατί αυτή η εξεταστική τεχνική εφαρμόζεται σπανιότατα.

10.5. Τεχνικές επεξεργασίας δειγμάτων

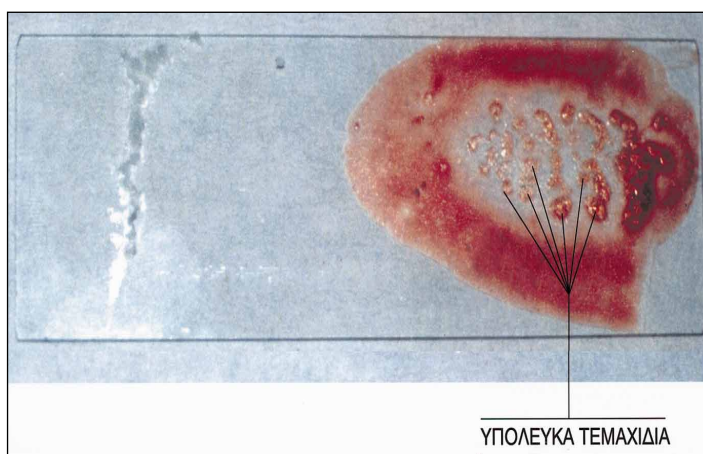
Από την οστεομυελική βιοψία παραλαμβάνουμε οστεομυελικό έμβολο το οποίο τοποθετούμε σε ειδικό φιαλίδιο με ή χωρίς φορμαλδεΰδη 10%.

Στις περιπτώσεις που έχουμε συλλέξει μυελό των οστών μέσα σε σύριγγα ή φιαλίδιο, ακολουθείται η εξής πορεία.

- ▶ Γίνεται επίστρωση του μυελού σε αντικειμενοφόρους πλάκες, όσο το δυνατόν γρηγορότερα, επειδή υπάρχει κίνδυνος να πήξει. Ο τρόπος επίστρωσης είναι παρόμοιος

με του περιφερικού αίματος. Τοποθετείται μια σταγόνα από την αναρροφηθείσα μυελική ουσία σε κάθε αντικειμενοφόρο πηλίκι, στη μέση γραμμή κατά το πλάτος και στο πρώτο τρίτο ή τέταρτο κατά μήκος. Ακολουθώντας με μια άηλη πηλίκι ή καλυπτρίδα απλώνουμε τη σταγόνα. Πρέπει στο επιστρωμένο υλικό να διακρίνουμε υπόλευκα κοκκία από μικρά μυελικά τεμάχια που επιβεβαιώνουν την ύπαρξη μυελικής ουσίας (Εικόνα 10.5). Τα πηλικάδια αφήνονται σε περιβάλλον δωματίου να ξεραθούν και μετά στέλνονται στο αιματολογικό εργαστήριο για βαφή.

- ▶ Το βάψιμο γίνεται κυρίως με χρωστικές τύπου Romanowsky και ακολουθείται μεθοδολογία σχεδόν ίδια με του περιφερικού αίματος. Οι χρώσεις που κρίνονται απαραίτητες για τη μελέτη ενός μυελογράμματος είναι δύο. Η χρώση **May-Grunwald-Giemsa** και η χρώση του **κυανού της Πρωσίας**.



Εικόνα 10.5. Μυελικό επίχρισμα πριν τη βαφή. Διακρίνονται υπόλευκα κοκκία ένδειξη ύπαρξης μυελικής ουσίας

Χρώση May-Grunwald-Giemsa.

Απαιτούνται τα εξής διαλύματα:

1. Διάλυμα May-Grunwald
2. Διάλυμα Giemsa και
3. Ρυθμιστικό διάλυμα (Buffer).

ΥΛΙΚΑ

Τα πηλακίδια τοποθετούνται μέσα σε ειδικό γυάλινο δοχείο με υποδοχές που περιέχει διάλυμα May-Grunwald (μητρικό διάλυμα χρωστικής May-Grunwald + ίσο όγκο απεσταγμένου νερού με ρυθμισμένο pH 6,8) για 5 λεπτά.

Ακολούθως μεταφέρονται σε άλλη δοχείο με υποδοχές που περιέχει διάλυμα Giemsa προσφάτως αραιωμένο (χρωστική Giemsa + υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα Sorensen με αναλογία 1:10) και αφήνεται για 15 λεπτά.

Τέλος γίνεται πλύσιμο των παρασκευασμάτων με υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα Sorensen και αφήνονται στον αέρα σε όρθια θέση να στεγνώσουν.

Χρώση σιδήρου ή κυανού της Πρωσίας.

Απαιτούνται τα παρακάτω:

1. Απόλυτη μεθυλική αλκοόλη
2. Διάλυμα σιδηροκυανιούχου καλίου 2%
3. 0,2 N/1 υδροχλωρικού οξέος
4. 0,1% υδατική ηωσίνη ή σαφρανίνη.

Τα αποξηραμένα μυελικά επιχρίσματα μονιμοποιούνται σε απόλυτη μεθανόλη για 15 λεπτά. Παρασκευάζεται διάλυμα μίγματος σιδηροκυανιούχου καλίου και υδροχλωρικού οξέος με ανάμειξη ίσων όγκων των δυο διαλυμάτων και θερμαίνεται στους 37°C. Τοποθετούνται μέσα στο παραπάνω διάλυμα τα μονιμοποιημένα επιχρίσματα για 10 λεπτά και χρωματίζονται. Στη συνέχεια πλένονται με τρεχούμενο νερό επί 15-20 λεπτά. Μετά βάζονται ξανά επί 15-30 δευτερόλεπτα με διάλυμα 0,1% υδατικής ηωσίνης ή υδατικής σαφρανίνης, ξεπλένονται και αφήνονται να στεγνώσουν. Τα κοκκία σιδήρου χρωματίζονται πράσινα-κυανά (όπως φαίνονται στο οπτικό μικροσκόπιο).

Αφού πραγματοποιηθεί η βαφή των πηλακιδίων, έπεται η μελέτη τους στο οπτικό μικροσκόπιο από εξειδικευμένους (Αιματολόγους κυρίως) γιατρούς, όπου θα συντάξουν το μυελόγραμμα.

Στο πρόσφατο παρελθόν εκτός από τις δυο αυτές χρώσεις, τα δείγματα επεξεργάζονταν και με άλλες, όπου καθεμιά είχε πρωταρχικό ρόλο για τη διάγνωση ορισμένων παθήσεων. Πολλά εργαστήρια εξακολουθούν ακόμα και σήμερα να χρησιμοποιούν αυτές τις μεθόδους.

Αναφορικά μερικές από τις χρώσεις είναι:

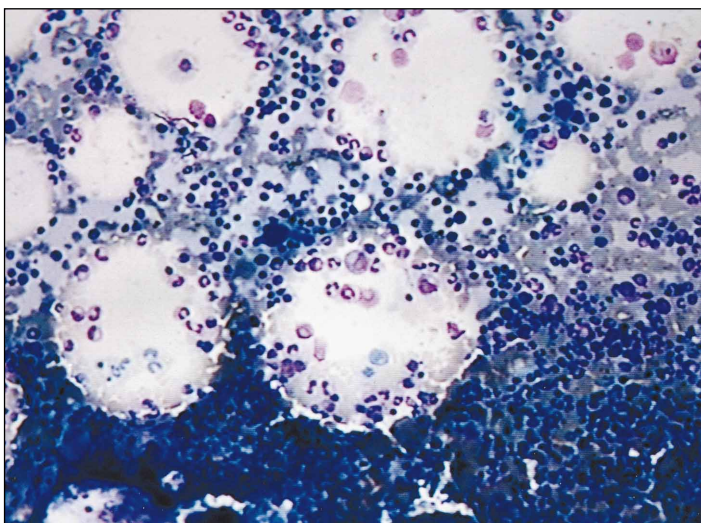
- ▶ Αλκαλική φωσφατάση λευκών
- ▶ Αντίδραση υπεροξειδάσης (μυελοϋπεροξειδάση)
- ▶ Αντίδραση PAS (Periodic acid-Schiff reaction)
- ▶ Αντίδραση όξινης φωσφατάσης
- ▶ Εστεράσες (ειδική εστεράση, μη ειδική εστεράση, διπλή εστεράση)

Μελέτη μυελογράμματος

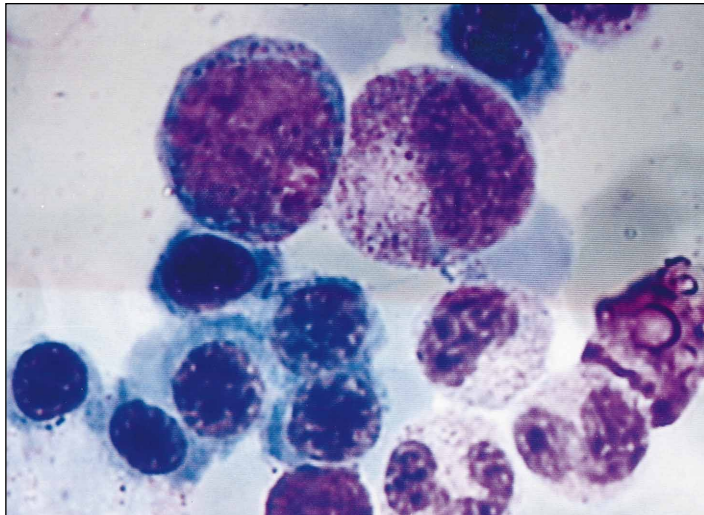
Η μελέτη του μυελού στο οπτικό μικροσκόπιο γίνεται αρχικά με φακό μικρής μεγέθυνσης (συνήθως X10) και στη συνέχεια με καταδυτικό φακό μεγάλης ισχύος (X100).

Στα μυελικά επιχρίσματα που βάφτηκαν με χρώση May-Grunwald-Giemsa (Εικόνες 10.6 και 10.7) θα παρατηρήσουμε τα εξής:

- ▶ Την κυτταροβρίθεια του μυελού και την αναλογία λίπους-κυττάρων, αν δηλαδή ο μυελός είναι *ορθοκυτταρικός* (φυσιολογική κυτταρικότητα), *υπερπληστικός* (αυξημένη κυτταρικότητα), *υποπληστικός* (ελαττωμένη κυτταρικότητα) ή *απληστικός* (πολύ ελαττωμένη μέχρι πλήρης εξαφάνιση των κυτταρικών στοιχείων).



Εικόνα 10.6. Μυελός των οστών με χρώση May-Grunwald-Giemsa. Παρατήρηση με μικρή μεγέθυνση (X10). Ελέγχεται η κυτταροβρίθεια.



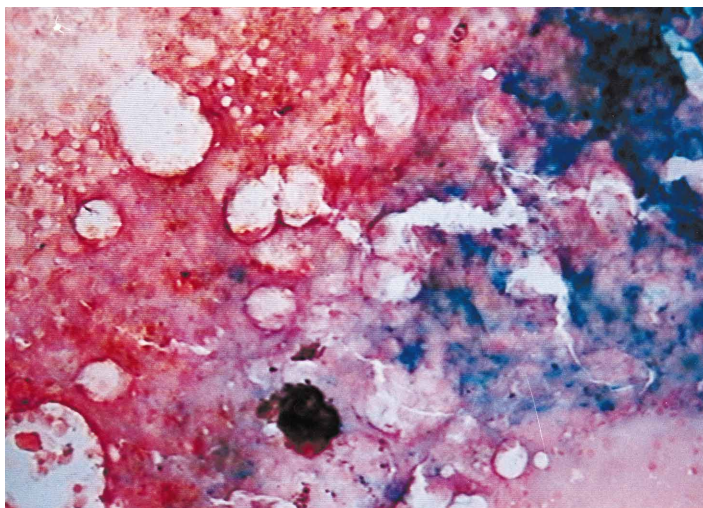
Εικόνα 10.7. Παρατήρηση του ίδιου μυελού με μεγαλύτερη μεγέθυνση (Χ100)

- ▶ Την *παρουσία ή απουσία* μεγακαρυοκυττάρων, τον *αριθμό* τους ανά οπτικό πεδίο και τη *μορφολογία* τους.
- ▶ Την αναλογική σχέση των κυττάρων της κοκκιδώδους και της ερυθράς σειράς
- ▶ Την *πρόοδο της ωριμάνσεως* των κυτταρικών στοιχείων και των τριών σειρών καθώς και το *συγχρονισμό ωρίμανσης* μεταξύ του πυρήνα με το κυτταρόπληγμα.
- ▶ Την *παρουσία παθολογικών* μυελικών στοιχείων.
- ▶ Την *εμφάνιση ξένων κυττάρων*, όπως νεοπλασματικών, τα οποία συνήθως είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος και βρίσκονται μαζεμένα σχηματίζοντας σωρούς.
- ▶ Την *ύπαρξη παρασίτων* όπως η *ηλείσμανια Donovan*.

Σε καλά οργανωμένες αιματολογικές μονάδες **η χρώση σιδήρου με κυανό της Πρωσίας** αποτελεί μέθοδο ρουτίνας και συμπληρώνει τη μελέτη του μυελογράμματος.

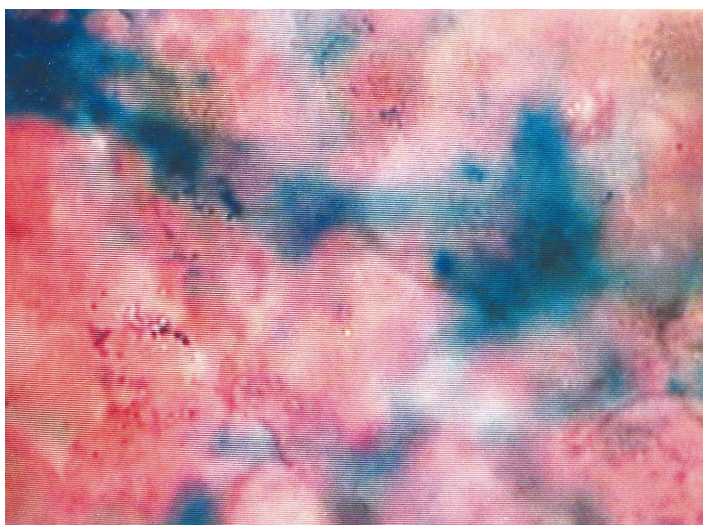
Κατά την παρατήρηση των πηλακιδίων ο σίδηρος εμφανίζεται **φυσιολογικά** σαν πράσινα-κυανά κοκκία (Εικόνες 10.8 και 10.9) τοποθετημένα μαζί, είτε ελεύθερα στον εξωκυττάριο χώρο είτε μέσα σε μακροφάγα.

Η ποσοτική του εκτίμηση σημειώνεται **με σταυρούς (++)**.

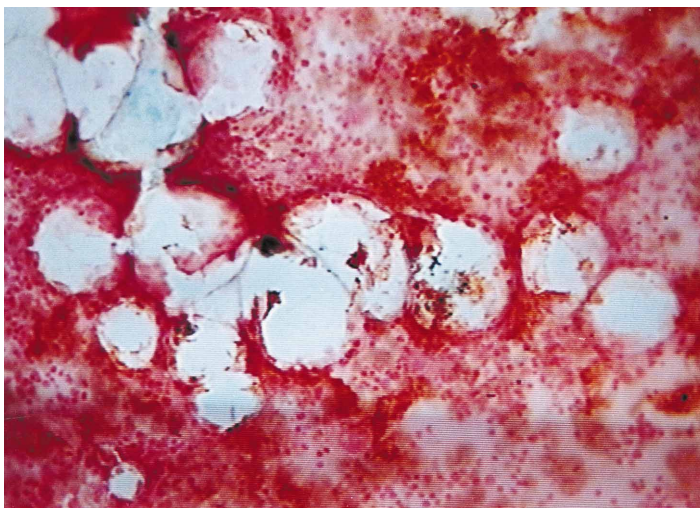


Εικόνα 10.8. Χρώση μυελού με κυανό της Πρωσίας. Παρατήρηση με μικρή μεγέθυνση (X10). Ο σίδηρος φαίνεται με χρώμα πράσινο-κυανό.

Στις σιδηροπενικές αναιμίες παρατηρείται μείωση μέχρι και πλήρη έλλειψη (Εικόνα 10.10). Επίσης, πρέπει να ερευνάται η ύπαρξη σιδηροβηλαστών και η ποσοτική τους αναλογία. Οι σιδηροβηλάστες είναι ερυθροβηλάστες που περιέχουν μέσα στο πρωτόπλάσμα τους διάσπαρτα κοκκία σιδήρου.



Εικόνα 10.9. Χρώση σιδήρου. Η ίδια εικόνα σε παρατήρηση με μεγάλη μεγέθυνση (X100). Ο σίδηρος χρωματίζεται με πράσινο-κυανό.



Εικόνα 10.10. Χρώση σιδήρου σε μυελό. Παρατήρηση με μικρή μεγέθυνση. Ο μυελός έχει πλήρη απουσία σιδήρου.

Όταν τα κοκκία αυτά κατανέμονται γύρω από τον πυρήνα σαν δακτύλιος, τότε αποκαλούνται δακτυλιοειδείς σιδηροβηάστες και είναι χαρακτηριστικό διαγνωστικό γνώρισμα των σιδηροβηαστικών αναιμιών.

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Η

Μυελόγραμμα είναι η λήψη μυελού των οστών, η παρασκευή μυελικών επιχρισμάτων, η βαφή τους με ειδικές χρώσεις και η μελέτη τους στο οπτικό μικροσκόπιο. Αποτελεί μια πάρα πολύ βασική εξέταση για τη διάγνωση αρκετών νοσημάτων. Η παρακέντηση του οστού και η λήψη μυελικού ιστού γίνεται με τις εξής τεχνικές:

- ▶ αναρρόφηση μυελού των οστών
- ▶ οστεομυελική βιοψία
- ▶ χειρουργική επέμβαση στο χειρουργείο.

Η εξέταση τελείται από έμπειρο, εξειδικευμένο γιατρό με την υποστήριξη νοσηλευτικού προσωπικού κάτω από άσηπτες συνθήκες.

Γίνεται επίστρωση του μυελού σε αντικειμενοφόρους πλάκες.

Στο βάψιμο χρησιμοποιούνται κυρίως χρωστικές τύπου Romanowsky και ακολουθείται μεθοδολογία σχεδόν ίδια με του περιφερικού αίματος.

Οι χρώσεις που κρίνονται απαραίτητες για τη μελέτη ενός μυελογράμματος είναι δύο. Η χρώση May-Grunwald-Giemsa και η χρώση του κυανού της Πρωσίας.

Τέλος γίνεται μελέτη με οπτικό μικροσκόπιο και αξιολόγηση αποτελεσμάτων.



Ας ελέγξουμε τις γνώσεις μας:

1. Σε ένα βρέφος με ποια μέθοδο θα λαμβάναμε μυελό;
2. Σε έναν ενήλικα ποια μέθοδο θα χρησιμοποιούσαμε πρώτη για να κάνουμε μυελόγραμμα και γιατί;
3. Ποιο είναι το γεγονός που θα μας επιβεβαιώσει τη λήψη μυελού των οστών κατά την επίστρωση;
4. Ποιες είναι οι απαραίτητες χρώσεις για ένα μυελόγραμμα;
5. Σε ένα βρέφος θα επιχειρούσαμε στερνική παρακέντηση και γιατί;