

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ АНОМАЛІЙ ПРИ РІЗНИХ ФОРМАХ МІЄЛОДИСПЛАСТИЧНИХ СИНДРОМІВ

С.В. АНДРЕЄВА^{1,3}, К.В. КОРЕЦЬ², І.М. СКОРОХОД³, Г.С. СТАРОДУБ¹

¹ ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», Київ

² ДУ «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України», Київ

³ Медична лабораторія ТОВ «ІММД», Київ

E-mail: office@immd.kiev.ua, Korets_Katya@ukr.net, insk@medlab.kiev.ua, gal.starodub@gmail.com

Проведено співставлення цитогенетичних та молекулярно-цитогенетичних перебудов клітин кісткового мозку у 251 пацієнта на час встановлення діагнозу мієлодиспластичних синдромів (МДС) та у 7 пацієнтів - при трансформації у вторинну гостру мієлоїдну лейкемію. Встановлена значна гетерогенність каріотипів за структурою клонів у всіх виділених формах МДС та у трансформованих з МДС вторинних гострих мієлоїдних лейкеміях, що свідчить про різноманітний генетичний склад клітин кісткового мозку. Показано, що еволюція клональних аномалій хромосом є універсальним механізмом формування аномальних клонів. Відмічено зростання частоти псевдодиплоїдних та гіподиплоїдних клонів в залежності від складності форми МДС (псевдодиплоїдний від 4,5 % при МДС з однолінійною дисплазією (РА) до 27,3 % при МДС з надлишком бластів (РАНБ 1-2); гіподиплоїдний - від 4,5 % при РА до 18,2 % при РАНБ 1-2), що пов'язана з втратою генетичного матеріалу. В групі РА частіше реєстрували втрати генетичного матеріалу, у вигляді делецій (57,9 %). До структурних перебудов частіше залучалася хромосома 11 (31,6 %).

Ключові слова: мієлодиспластичні синдроми, кістковий мозок, аномалії хромосом.

Вступ. Мієлодиспластичні синдроми (МДС) становлять собою мієлоїдну клональну гемопатію, з відносно гетерогенним спектром клінічних проявів. Найбільша клінічна проблема цих захворювань - смертність, що пов'язана з цитопеніями і перспективою трансформації МДС в гостру мієлоїдну лейкемію (ГМЛ).

Відповідно до класифікації ВООЗ (2016 р.) виділяють наступні форми МДС: 1) МДС з однолінійною дисплазією (РА); 2) МДС з кільцевими сидеробластами (МДС-КС), рефрактерна цитопенія з мультилінійною дисплазією (РЦМД); 3) МДС з надлишком бластів (РАНБ 1-2); 4) МДС з ізольованою del(5q); МДС не-класифікований (Arber et al, 2016). У більшості

випадків МДС є результатом ураження поліпотентної гемопоетичної або мієлоїдної стовбурової клітини. Багатостадійний процес виникнення МДС складається з цитогенетичних аномалій, мутацій і гіперметилування генів. На сьогодні, швидко впроваджуються методи молекулярно-генетичної діагностики, які дозволяють прояснити молекулярний патогенез МДС, що покращує діагностику, оцінку прогнозу перебігу захворювання та відповідь на терапію (Gluzman et al, 2018).

Цитогенетичні дослідження на диференційно забарвлених метафазних хромосомах клітин кісткового мозку (КМ) дозволяють ідентифікувати аномалії хромосом у більше, ніж 50-60 % пацієнтів (Ogawa et al, 2019). Видимі аномалії хромосом визначають різноманітні механізми формування аномальних клонів, серед яких виділяють моносомії, трисомії хромосом, ампліфікації і збалансовані транслокації. Більше ніж у 50 % випадків МДС реєструються соматичні точкові мутації, що призводять до порушення життєвих клітинних процесів, включаючи, але не обмежуючи, механізми ДНК репарації, каскадних сигналів, мРНК сплайсингу і епігенетичної регуляції в генах (Lindsley et al, 2013; Pellagatti et al, 2015). Ці дані розширили наше розуміння щодо патогенезу МДС, визначення біологічних шляхів, які дають змогу розробки нових препаратів та нових технологій в лікуванні захворювання.

До найбільш поширених хромосомних аномалій, що реєструються на час встановлення діагнозу МДС, відносяться перебудови пов'язані з втратою генетичного матеріалу, а саме: -5/5q-, -7/7q-, 17p-, 20q-, а також трисомія хромосоми 8 (+8).

Делеції довгого плеча хромосоми 5 (5q-) зазвичай інтерстиціальні та належать до аномалій, які найчастіше зустрічаються при МДС (10-15 % на час встановлення діагнозу) (Komrokji

© С.В. АНДРЕЄВА, К.В. КОРЕЦЬ, І.М. СКОРОХОД, Г.С. СТАРОДУБ, 2022

et al, 2013). Пацієнти з ізольованою 5q- мають відносно кращий прогноз і низький ризик прогресії в ГМЛ (5–16 проти 30–45 % в цілому у когорті пацієнтів з МДС) (NCCN, 2021). У результаті делецій реєструється втрата гена *RPS14* (5q32.2-q33), що кодує рибосомальний білок S14. Втрати мікроРНК *miR145* і *miR146a* можуть бути пусковим механізмом для клональної експансії клітин з даною аномалією (Kumar et al, 2011), а втрата гена *EGR1* (5q31) є причиною для гаплонедостатності (Stoddart et al, 2014).

Приблизно у 5–10 % пацієнтів з МДС виявляють +8. Патогенез цієї трисомії до кінця не встановлений, однак ця аномалія з'являється на пізніх стадіях МДС (Saumell et al, 2012).

Моносомія або делеція хромосоми 7 (-7/7q-) відмічається приблизно у 10 % випадків *de novo* МДС та більше ніж у 50 % терапевтично незалежних МДС (Kuzmanovic et al, 2020). Аномалії хромосоми 7 пов'язані з несприятливим прогнозом і зниженою загальною виживаністю при МДС та інших мієлоїдних новоутвореннях, таких як ГМЛ (Schanz, 2012; Sashida, 2014). Частіше виявляються делеції довгого плеча хромосоми 7, що локалізовані у смужках 7q22, 7q32-33, 7q35-36. Ген *KMT2E* (7q22) відіграє важливу роль в мієлоїдному диференціюванні (метилуванні ДНК) (Lindsley et al, 2013). Втрата гена *EZH2* (7q36) призводить до надлишкової експресії кластеру *HOX* генів через модифікацію гістонів у гемопоетичних стовбурових клітинах (ГСК) і корелює з несприятливим прогнозом (Xu et al, 2016). При 7q- зазвичай втрачається велика частина генетичного матеріалу і відсутність багатьох генів, які локалізовані в делетованому районі, впливає на патогенез МДС.

Делеція короткого плеча хромосоми 17 (17p-) часто асоціюється з мутацією гена *TP53* та належить до групи проміжного цитогенетичного прогнозу (Avada et al, 2020). Ген *TP53*, що розташований на 17p13.1, відіграє важливу роль в диференціюванні, старінні та апоптозі клітин. Аномалія пов'язана з незначною анемією, високим лейкоцитозом з нейтрофілами, псевдо Пельгерівською аномалією і гіперпластичним кістковим мозком (Svobodova et al, 2016).

Делеція довгого плеча хромосоми 20 (20q-) спостерігається приблизно у 2 % пацієнтів з МДС. Як самостійна аномалія 20q- присутня

на ранніх стадіях МДС і асоційована зі сприятливим прогнозом перебігу (Bacher et al, 2014). Як самостійна (ізольована) 20q- пов'язана з тромбоцитопенією, високим вмістом ретикулоцитів і низьким відсотком бластних клітин у кістковому мозку (Shiseki et al, 2019).

Комплексний (складний) каріотип включає три і більше цитогенетичних аномалій і реєструється у 10 % випадків МДС. Його присутність пов'язана з генними мутаціями і часто може виявлятися у їх комбінації, як у випадку з *TP53*. Мутації гена *TP53* і складний каріотип мають вкрай несприятливе прогностичне значення (Svobodova et al, 2016; Haase et al, 2019).

Відповідно до National Comprehensive Cancer Network (NCCN 2021) виділяють п'ять груп цитогенетичного прогнозу: дуже сприятливий (за наявності втрати статевої хромосоми Y, del(11q), як самостійних аномалій в каріотипі); сприятливий (цитогенетично нормальний каріотип, del(5q), del(12p), del(20q), як самостійна аномалія в каріотипі); проміжний (del(7q), +8, +19, i(17q) та інші аномалії, що представлені самостійними в каріотипі); несприятливий (del(7q), моносомія хромосоми 7, inv(3)/t(3;3)(q21;q26), del(3q); а також реєстрація понад 2 аномалій); дуже несприятливий (наявність більш як 3 хромосомних аномалій) (Greenberg et al, 2021). Результати каріотипування використовують в міжнародній прогностичній рахунковій системі для розрахунку клінічної групи ризику (IPSS).

Таким чином, різні комбінації хромосомних аномалій із соматичних точкових мутацій призводять до великого клініко-патогенетичного спектра МДС (Pellagatti et al, 2015).

Мета дослідження – порівняння механізмів формування аномальних каріотипів на основі цитогенетичних та молекулярно-цитогенетичних досліджень при різних формах мієлодиспластичних синдромів.

Матеріали і методи. В аналіз включені випадки МДС, які надійшли у відділ цитогенетичних досліджень впродовж 2017–2020 рр., як на час встановлення діагнозу, так і на етапі трансформації у вторинну гостру мієлоїдну лейкемію.

Найбільшу групу склали випадки МДС з одностійною дисплазією (РА) (193 пацієнти) (1

група), рефрактерна цитопенія з мультилінійною дисплазією (РЦМД) (21 пацієнт) (2 група), МДС з надлишком бластів від 10 % (РАНБ-1) до 20 % (РАНБ-2) (15 пацієнтів) (3 група); МДС на етапі трансформації в ГМЛ (МДС→ГМЛ) (7 пацієнтів) (4 група) та з ізольованою del(5q) (22 пацієнти) (5 група).

У 1 групі співвідношення за статтю становило 1,00 : 0,92, у 2 групі – 1 : 1,63, 3 групі – 1 : 0,87, у 4 групі – були всі жінки і у 5 групі – 1 : 0,38. У 1 групі середній вік жінок становив $55,0 \pm 3,9$ років, чоловіків – $58,5 \pm 4,0$, у 2 групі вік жінок складав $61,7 \pm 2,9$, чоловіків $59,5 \pm 4,3$, у 3 групі – вік жінок $62,1 \pm 5,1$, чоловіків – $63,8 \pm 1,08$, у 4 групі – жінки $55,9 \pm 3,4$, у 5 групі вік жінок становив $62,7 \pm 4,6$, чоловіків – $60,3 \pm 3,9$.

Для цитогенетичних досліджень препарати метафазних хромосом суспензії клітин КМ готували за загально визнаною методикою і фарбували за GTG-методом (Gersen StL et al, 2013). Виявлені хромосомні аномалії описували згідно з міжнародною номенклатурою ISCN 2020. Наявність хромосомних аномалій в аномальному клоні підтверджували за умов, коли дві або більше метафазних клітини мали ідентичні аномалії чи додаткові хромосоми, а також, коли три чи більше метафазних клітин мали ідентичні моносомії (McGowan-Jordan et al, 2020). Нормальним клон вважали тоді, коли не менше, ніж у 20 проаналізованих та у десяти каріотипованих метафазних клітинах не було виявлено хромосомних аномалій.

Цитогенетичні дослідження виконано для 131 пацієнта (результативність методу складала – 91,6 %). Молекулярно-цитогенетичні дослідження на інтерфазних ядрах (iFISH) проведено для 198 пацієнтів.

П'яту групу з ізольованою del(5q) було сформовано тільки за результатами iFISH досліджень.

Всі структури клонів у каріотипах у 120 пацієнтів були згруповані наступним чином:

- цитогенетично нормальний каріотип (N);
- цитогенетично нормальний каріотип, білятетраплоїдний клон (N/4n±);
- аномальний (A);
- аномальний, цитогенетично нормальний каріотипи (A/N);
- аномальний, білятетраплоїдний та нормальний каріотипи (A/4n±/N);

- еволюція клональних аномалій хромосом (E);
- еволюція клональних аномалій хромосом, нормальний каріотип (E/N);
- еволюція клональних аномалій хромосом, білятетраплоїдний клон (E/4n±);
- еволюція клональних аномалій хромосом, білятетраплоїдний та нормальний каріотип (E/4n±/N);
- незалежні клони, білятетраплоїдний та нормальний каріотип (I/4n±/N).

Кількісні та структурні аномалії хромосом відносно плоідності були згруповані наступним чином:

- диплоїдний (46 хромосом);
- псевдодиплоїдний (46 хромосом із незбалансованими структурними аномаліями хромосом або одночасна втрата та трисомія різних хромосом зі збереженням числа хромосом);
- гіподиплоїдний (менш як 46 хромосом);
- гіпердиплоїдний (47–50 хромосом);
- додатковий білятетраплоїдний.

Для FISH аналізу використовували зонди фірми «Metasystem» (Німеччина): XL5q31/5q33, XL 7q22/7q36, XL P53 Deletion Probe. Аналізували щонайменше 100 інтерфазних ядер.

Дослідження проводили за допомогою мікроскопа Olympus BX40 (Olympus, Japan) з використанням програмного забезпечення «Lucia FISH Karyo 3.1». Зображення метафазних пластинок (каріотипування) та інтерфазних ядер (iFISH) аналізували і фотографували при збільшенні $\times 1000$ з відповідними фільтрами.

Аналіз результатів досліджень проводили за допомогою програми «EXCEL».

Результати та їх обговорення. З урахуванням проведених цитогенетичних досліджень зразків суспензії клітин КМ, ми виділили чотири форми МДС: РА (88 пацієнта), РЦМД (12 пацієнтів), РАНБ 1–2 (11). Окремо виділили форму МДС, що трансформувалися в ГМЛ (МДС→ГМЛ) (5 пацієнтів). Отримані результати аналізували за наступними показниками: аналіз каріотипів за структурою клонів, відносно рівня плоідності, кількісні та структурні аномалії хромосом. Розподіл каріотипів за структурою каріотипів представлено у табл. 1.

У групі РА зареєстровано 10 із 11 типів каріотипів за структурою клонів: цитогенетично нормальний каріотип; цитогенетично нормаль-

ний каріотип, білятетраплоїдний клон; аномальний; аномальний, цитогенетично нормальний каріотип; аномальний, білятетраплоїдний та нормальний каріотип; еволюція клональних аномалій хромосом; еволюція клональних аномалій хромосом, нормальний каріотип; еволюція клональних аномалій хромосом, білятетраплоїдний та нормальний каріотип та незалежні клони, білятетраплоїдний та нормальний каріотип. Серед них у 78,4 % встановлено нормальний каріотип, у 21,6 % – аномальні клони, які поєднувалися або з нормальним, або білятетраплоїдним, або нормальним та білятетраплоїдним клонами. Частота цитогенетично нормальних каріотипів значно перевищує частоту при зіставленні з трьома групами: РА, РЦМД та РАНБ 1–2 (60,0 %). Окрім того, у 5,7 % випадків констатували ускладнення або еволюцію клональних аномалій хромосом і в

одному випадку (1,1 %) – наявність незалежних клонів.

У групі РЦМД зафіксовано 6 типів каріотипів за структурою клонів. З них частота каріотипів без видимих кількісних та структурних перебудов становила 58,3 %, а аномальних – 41,7 % і в 1 випадку (8,3 %) виявлена еволюція клональних аномалій хромосом.

У групі РАНБ 1–2 виявлено 4 типи каріотипів, з них частота цитогенетично нормальних каріотипів складає 54,6 %, еволюція клональних аномалій хромосом констатована у 1 випадку (9,1 %).

У групі МДС→ГМЛ частота цитогенетично нормальних типів каріотипів склала 40,0 %, у решти зафіксовано аномальні каріотипи.

Таким чином, найбільш гетерогенною групою за структурою клонів була група з РА, яка складала 10 різновидів, в тому числі ускладнень

Таблиця 1. Розподіл каріотипів за структурою клонів при різних формах МДС

Кількість пацієнтів	РА	РЦМД	РАНБ 1–2	МДС→ГМЛ
	88	12	11	5
N (%)				
N	48 (54,5)	6 (50,0)	5 (45,5)	2 (40,0)
N/4n±	21 (23,9)	1 (8,3)	1 (9,1)	
A	1 (1,1)	2 (16,7)	3 (27,3)	2 (40,0)
A/N	8 (9,1)	1 (8,3)	1 (9,1)	
A/4n±	1 (1,1)			
A/4n±/N	3 (3,4)	1 (8,3)		
E	2 (2,3)	1 (8,3)	1 (9,1)	
E/N	1 (1,1)			
E/4n±				1 (20,0)
E/4n±/N	2 (2,3)			
I/4n±/N	1 (1,1)			

Таблиця 2. Розподіл клонів відносно плідності при різних формах МДС

Кількість пацієнтів	РА	РЦМД	РАНБ 1–2	МДС→ГМЛ
	88	12	11	5
N (%)				
диплоїдний	470 (79,6)	7 (58,3)	5 (45,5)	2 (40,0)
псевдодиплоїдний	4 (4,5)	1 (8,3)	3 (27,3)	1 (20,0)
гіподиплоїдний	4 (4,5)	1 (8,3)	2 (18,2)	1 (20,0)
гіпердиплоїдний	10 (11,4)	3 (25,0)		1 (20,0)
додатковий білятетраплоїдний	28 (30,4)	2 (16,7)	1 (9,1)	1 (20,0)

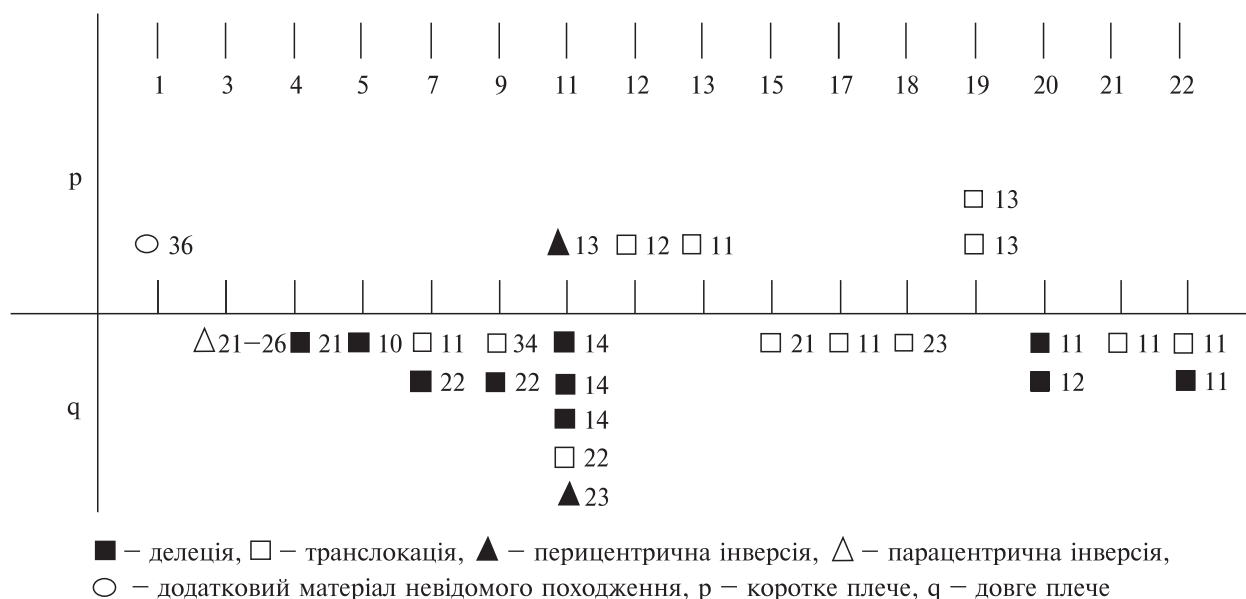


Рис. 1. Розподіл структурних аномалій хромосом при РА

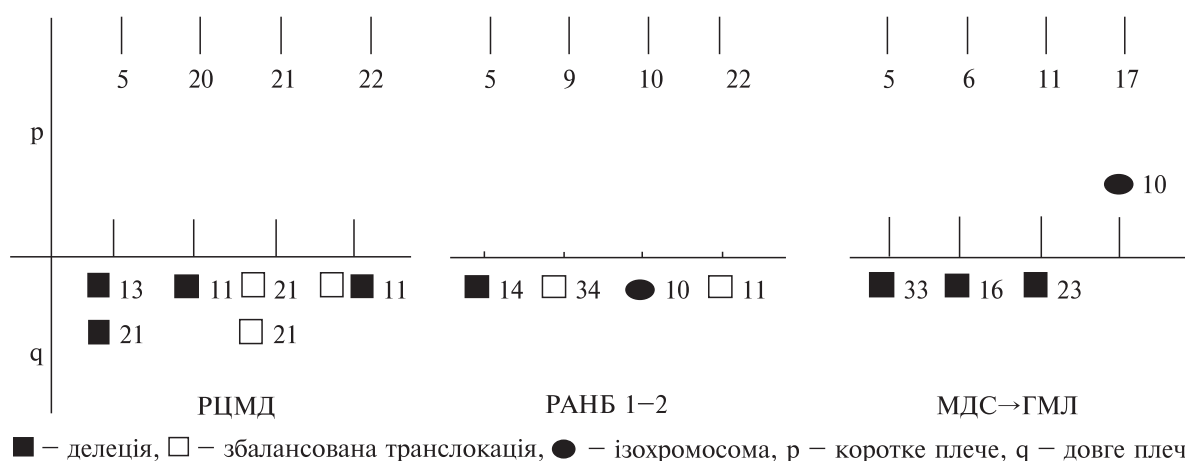


Рис. 2. Розподіл структурних перебудов в аномальних клітинах кісткового мозку при різних типах МДС

(еволюції) та незалежних клонів. Найменше різноманіття виявлено у четвертій групі – 5 типів. Аномальні клони та еволюція клональних аномалій хромосом встановлено у всіх виділених групах.

Аналіз результатів каріотипування відносно плоідності показав наявність диплоїдних, псевдо-, гіпо-, та гіпердиплоїдних клонів. Виділені рівні плоідності визначалися у всіх групах, окрім гіпердиплоїдних клонів у РАНБ 1–2. Найчастіше реєстрували диплоїдні клони (79,6; 58,3; 45,5 та 40,0 %, відповідно, табл. 2).

Привертає увагу високий відсоток псевдодиплоїдних та гіподиплоїдних клонів у групах РАНБ 1–2 та МДС→ГМЛ (27,3; 18,2; 20,0 та 20,0 %, відповідно), а також гіпердиплоїдних клонів у групі РЦМД та МДС→ГМЛ (25,0 та 20,0 %, відповідно).

Додатковий білятетраплоїдний клон виявляли у всіх чотирьох групах, що може свідчити про процеси ендоредуплікації та певну закономірність у їх виявленні.

Серед типів структурних перебудов у групі РА реєстрували збалансовані (транслокації,

пара- та перичентричні інверсії) та незбалансовані (делеції, додатковий матеріал невідомого походження).

За типами структурних перебудов у групі РА більш ніж у половині випадків аномальних каріотипів реєстрували делеції (11 випадків, 57,9 %). Другою за частотою були транслокації (7 випадків). Частіше до структурних перебудов залучалася хромосома 11 (6 випадків), що складає майже третину від усіх аномальних клонів 9 (31,6 %), в основному, внаслідок втрати генетичного матеріалу (делецій), хоча за даними літератури аномалії довгого плеча хромосоми 11 (11q) реєструються у менш ніж 5 % випадків МДС (Verjaskina et al, 2020) (рис 1).

У групах РЦМД, РАНБ 1–2 та МДС→ГМЛ серед структурних аномалій хромосом було виявлено делеції, транслокації та ізохромосома. Делеції у групі РЦМД зафіксовані у 4, у РАНБ 1–2 у 1 та у МДС→ГМЛ – у 3 випадках. Практично у всі перебудови залучалися довгі плечі хромосом 5, 20, 21, 22 (РЦМД), 5, 9, 10, 22 (РАНБ 1–2), 5, 6, 11, 17 (МДС→ГМЛ) (рис. 2).

За механізмами формування аномальних клонів були випадки з втратою генетичного матеріалу (делеціями), які призводять до дисрегуляції гемопоетичних стовбурових клітин, надмірної експресії *HOX* генів в попередниках ГСК та втраті контролю над диференціюванням, старінням і апоптозом (Kumar et al, 2011; Lindsley et al, 2013; Stoddart et al, 2014; Svobodova et al, 2016; Xu et al, 2016), та транслокаціями (Lindsley et al, 2013; Pellagatti et al, 2015).

Наступним етапом ми аналізували результати молекулярно-цитогенетичних досліджень на інтерфазних ядрах (iFISH). З урахуванням використаних зондів та класифікації ВООЗ 2016 було виділено 5 форм МДС: РА – 140 випадків, РЦМД – 13, РАНБ 1-2 – 11 та

МДС→ГМЛ – 4, МДС з ізольованою del(5q)-22 (табл. 3).

Неочікувано високий відсоток делеції довгого плеча хромосоми 5 зареєстровано в групах РАНБ 1–2 та МДС→ГМЛ (27,3 та 50,0 %, відповідно), та моносомії хромосоми 7 у групах РЦМД, РАНБ 1–2 та МДС→ГМЛ (23,1; 18,2 та 25,0 %, відповідно) у порівнянні з даними літератури (Komrokji et al, 2013; Kuzmanovic et al, 2020).

Окремо ми провели зіставлення випадків складних каріотипів з одночасним виконанням iFISH (табл. 4).

Як видно із представлених даних метод каріотипування дозволяє виявити кількісні та структурні аномалії хромосом, які неможливо встановити методом iFISH (№ 1–10). Водночас метод iFISH показав наявність делеції 5q, яка не була зареєстрована при каріотипуванні (№ 4). Можливо, роздільна здатність метафазних хромосом при стандартному цитогенетичному методі не дозволила виявити мінімальні втрати локусів у довгому плечі хромосоми 5, що перекриваються застосованим зондом.

Нині встановлені критерії клінічного ризику перебігу МДС за результатами цитогенетичних досліджень. Відповідно до останньої версії NCCN 2021 щодо МДС цитогенетичні аномалії входять до системи оцінки виживаності та трансформації в ГМЛ (Greenberg et al, 2021). Найвищий бал при формуванні критеріїв клінічного ризику МДС мають групи несприятливого та дуже несприятливого цитогенетичного прогнозу.

Для встановлення найбільш інформативної комбінації методів ми порівняли результати каріотипування, iFISH та одночасного виконання каріотипування та iFISH (табл. 5).

Найвищий відсоток випадків несприятливого та дуже несприятливого прогнозу перебігу

Таблиця 3. Результати iFISH аналізу при різних формах МДС

Кількість пацієнтів	РА	РЦМД	РАНБ 1–2	Ізольована 5q-	МДС→ГМЛ
	140	13	11	22	4
N (%)					
5q-	11 (7,9)	1 (7,7)	3 (27,3)	22 (100,0)	2 (50,0)
-7/7q-	9 (6,4)	3 (23,1)	2 (18,2)	–	1 (25,0)
17p-	11 (7,9)	2 (15,4)	2 (18,2)	–	1 (25,0)

МДС зареєстровано в групі з одночасним виконанням двох методів (12,4 % – при каріотипуванні, 8,6 % – iFISH та 27,3 % – каріотипування + iFISH). В плані встановлення механізмів формування аномальних клонів першочергове значення мають результати каріотипування, які дозволяють оцінити кількісні та структурні перебудови всіх хромосом.

Висновки. Встановлена значна гетерогенність каріотипів за структурою клонів у всіх виділених формах МДС та трансформації МДС в ГМЛ (цитогенетично нормальний каріотип; цитогенетично нормальний каріотип, білететраплоїдний клон; аномальний; аномальний, цитогенетично нормальний каріотипи; аномальний, білететраплоїдний та нормальний каріотипи; еволюція клональних аномалій хромосом; еволюція клональних аномалій хромосом, нормальний каріотип; еволюція клональ-

них аномалій хромосом та білететраплоїдний; еволюція клональних аномалій хромосом, білететраплоїдний та нормальний каріотип; незалежні клони, білететраплоїдний та нормальний каріотип, що свідчить про різноманітний генетичний склад клітин КМ. Показано, що еволюція клональних аномалій хромосом є універсальним механізмом формування аномальних клонів у виділених формах МДС. Відмічено зростання частоти псевдодиплоїдних та гіподиплоїдних клонів в залежності від складності форми МДС (псевдодиплоїдний від 4,5 при РА до 27,3 при РАНБ 1–2; гіподиплоїдний – від 4,5 при РА до 18,2 при РАНБ 1–2), що пов'язана з втратою генетичного матеріалу. Виявлено, що в групі РА частіше реєстрували втрати генетичного матеріалу, у вигляді делецій (57,9 %). До структурних перебудов частіше залучалися хромосома 11 (31,6 %). Під-

Таблиця 4. Порівняння результатів каріотипування та iFISH дослідження при різних формах МДС

Каріотип	5q-	-7/7q-	17p-
43~45,XY,-5,der(7)t(7;17)(q11;q11),-der(17)t(7;17), add(11)(q24),t(12;15;21)(p12;q21;q11),-der(21)t(12;15;21)(p16;q11)/4n±[2]/46,XY[2]	+	+	+
43~45,X,-Y,der(18)t(18;?)(q23;q?) [9]/4n±[2]/46,XX[9]	-	-	-
45,XX,del(5)(q21),-7[8]/4n±[2]/46,XX[[10]	+	+	-
47,X,-X,+21x2[13]/46,XX[5]	+	+	*
44,XX,-4,-7,-10,del(11)(q23),+mar1,+mar2[cp17]/82<4n>,XXXX[3]	+	+	*
47,XY,+19,del(20)(q11)[17]	-	-	*
46,XY,del(7)(q22)[13]/45,XY,del(7)(q22),-17[2]	-	-	+
46,XX,del(5)(q31),+9,t(9;22)(q34;q11),-19[20]	+	+	+
46,XX,del(5)(q31q33),del(6)(q16),add(17)(p13)	+	+	+
44~46,XX,-5,-7,-21,+mar1,+mar2[cp20]	+	+	-

Примітка: * – дослідження не виконувалося.

Таблиця 5. Зіставлення груп прогнозу перебігу МДС за результатами каріотипування та iFISH

Групи прогнозу	Методи дослідження		
	Каріотипування	iFISH	Каріотипування + iFISH
	N = 120	N = 198	N = 44
1	1 (0,8)	1 (0,5)	0
2	92 (76,7)	178 (89,9)	29 (65,9)
3	11 (9,1)	2 (1,0)	3 (6,8)
4	8 (6,7)	16 (8,1)	8 (18,2)
5	8 (6,7)	1 (0,5)	4 (9,1)

тверджено, що для встановлення цитогенетичних механізмів формування аномальних каріотипів, а також коректного формування цитогенетичного прогнозу перебігу МДС необхідно одночасно виконувати два методи досліджень: каріотипування та іFISH.

Конфлікт інтересів. Автори декларують відсутність конфліктів інтересів.

Дотримання етичних стандартів. Відповідність досліджень біоетичним стандартам схвалено Комітетом з етики ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» (Київ, Україна). Усі пацієнти дали згоду на участь у дослідженні.

Фінансування. Робота проводилась у межах НДР «Визначити прогностичну значимість медіаторів міжклітинної взаємодії та кластерів диференціації субстратних клітин для стратифікації та оптимізації лікування мієлодиспластичних/мієлопроліферативних новоутворень». Термін виконання: 2019–2021 рр.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CYTOGENETIC ANOMALIES IN DIFFERENT TYPES OF MYELODYSPLASTIC SYNDROMES

S.V. Andreieva, K. Korets, I. Skorohod, H. Starodub

E-mail: office@immd.kiev.ua, Korets_Katya@ukr.net, insk@medlab.kiev.ua, gal.starodub@gmail.com

Comparison of cytogenetic and molecular-cytogenetic rearrangements of bone marrow cells in 251 patients at diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS) and in 7 – in the transformation into secondary acute myeloid leukemia was carry out. Significant heterogeneity of karyotypes in the structure of clones in all isolated forms of MDS and in transformed MDS into secondary acute myeloid leukemias was established with indicating a different genetic composition of bone marrow cells. It is shown that the evolution of clonal chromosome abnormalities is a universal mechanism for the formation of abnormal clones. An increase in the frequency of pseudodiploid and hypodiploid clones depending on the complexity of the form of MDS were marked: pseudodiploid from 4.5 % in MDS with single-line dysplasia (RA) to 27.3 % in MDS with excess blasts (RAEB 1–2), hypodiploid – from 4.5 in RA to 18.2 at RAEB 1–2) were shown, which is associated with the loss of genetic material. In the group of RA losses of genetic material in the form of deletions (57.9 %) more often recorded. Chromosome 11 (31.6 %) was more often involved in structural rearrangements.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R et al. (2016) The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. doi:10.1182/blood-2016-03-643544
- Avada H, Thapa B, Visconte V. (2020) The genomics of myelodysplastic Syndromes: origins of Disease evolution, biological pathways, and prognostic implications Cells doi: 10.3390/cells9112512
- Bacher U, Haferlach T, Schnittger S et al. (2014) Investigation of 305 patients with myelodysplastic syndromes and 20q deletion for associated cytogenetic and molecular genetic lesions and their prognostic impact Br J Haematol doi: 10.1111/bjh.12710
- Gersen StL. (2013) The Principles of Clinical Cytogenetics. 3rd Edition. Springer. New York, Heidelberg, Dordrecht, London
- Gluzman D, Sklyrenko L, Koval S et al. (2018) Modern classification and diagnosis of myelodysplastic syndromes. Scientific-and-methodical guide. LLC «NVP «INTERSERVIS»», Kyiv. Haase D, Stevenson KE, Neuberg D et al. (2019) TP53 mutation status divides myelodysplastic syndromes with complex karyotypes into distinct prognostic subgroups. Leukemia. doi: 10.1038/s41375-018-0351-2
- Komrokji RS, Padron E, Ebert BL et al. (2013) Deletion 5q MDS: Molecular and therapeutic implications Best Pract Res Clin Haematol doi: 10.1016/j.beha.2013.10.013
- Kumar MS, Narla A, Nonami A et al. (2011) Coordinate loss of a microRNA and protein-coding gene cooperate in the pathogenesis of 5q– syndrome Blood doi: 10.1182/blood-2010-12-324715
- Kuzmanovic T, Patel BJ, Sanikommu SR et al. (2020) Genomics of therapy-related myeloid neoplasms Haematologica doi:10.3324/haematol.2019.219352
- Lindsley RC, Ebert BL. (2013) Molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes Ann Rev Pathol doi: 10.1146/annurev-pathol-011811-132436
- McGowan-Jordan J. (2021) An International System for Human Cytogenomic Nomenclature 2020. Karger AG, Basel
- Greenberg PL. (2021) Myelodysplastic Syndromes. NCCN Evidence Blocks. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/mds_blocks.pdf. Accessed 15 January 2021
- Ogawa S. (2019) Genetics of MDS Blood doi: 10.1182/blood-2018-10-844621
- Pellagatti A, Boulwood J. (2015) The molecular pathogenesis of the myelodysplastic syndromes Eur J Haematol doi: 10.1111/ejh.12515
- Sashida G, Harada H, Matsui H et al. (2014) Ezh2 loss promotes development of myelodysplastic syndrome but attenuates its predisposition to leu-

- kaemic transformation Nat Commun doi: 10.1038/ncomms5177
- Saumell S, Florensa L, Luco E et al. (2012) Prognostic value of trisomy 8 as a single anomaly and the influence of additional cytogenetic aberrations in primary myelodysplastic syndromes Br J Haematol doi: 10.1111/bjh.12035
- Schanz J, Tüchler H, Solé F et al. (2012) New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge J Clin Oncol doi: 10.1200/JCO.2011.35.6394
- Shiseki M, Ishii M, Okada M et al. (2019) Expression analysis of genes located within the common deleted region of del(20q) in patients with myelodysplastic syndromes Leuk Res doi: 10.1016/j.leukres.2019.106175
- Stoddart A, Fernald AA, Wang J et al. (2014) Haploinsufficiency of del(5q) genes, Egr1 and Apc, cooperate with Tp53 loss to induce acute myeloid leukemia in mice Blood doi: 10.1182/blood-2013-07-517953
- Svobodova K, Zemanova Z, Lhotska H et al (2016) Copy number neutral loss of heterozygosity at 17p and homozygous mutations of TP53 are associated with complex chromosomal aberrations in patients newly diagnosed with myelodysplastic syndromes Leuk Res doi: 10.1016/j.leukres.2016.01.009
- Veryaskina YA, Titov SE, Kovynev IB et al. (2020) Prognostic Markers of Myelodysplastic Syndromes Medicina (Kaunas) doi: 10.3390/medicina56080376
- Xu F, Liu L, Chang CK et al (2016) Genomic loss of EZH2 leads to epigenetic modifications and overexpression of the HOX gene clusters in myelodysplastic syndrome. Oncotarget. doi: 10.18632/oncotarget.6992

Надійшла в редакцію 20.12.21

Після доопрацювання 25.04.22

Прийнята до друку 18.09.22