

М.Р. ЛОЗИНСЬКА¹, Я.І. ВИГОВСЬКА²,
Н.Я. ТОМАШЕВСЬКА³, З.В. МАСЛЯК²,
Р.Ю. ЛОЗИНСЬКИЙ³, В.Л. НОВАК²

¹ Інститут спадкової патології АМН України, Львів

² Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України, Львів

³ Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

E-mail: rlozynsky@lviv.gu.net

ОСОБЛИВОСТІ СПЕКТРА ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ЗМІН ПРИ РІЗНИХ ВАРІАНТАХ МІЄЛОДИСПЛАСТИЧНОГО СИНДРОМУ



Проведено цитогенетичне дослідження аспірату кісткового мозку 32 пацієнтам з різними варіантами мієлодиспластичного синдрому із восьми різних областей України. Домінуючими в спектрі порушень каріотипу були делеції хромосом. Найбільшу кількість хромосомних аномалій виявлено при рефрактерній анемії з надлишком бластів (66,6 % випадків). Комплексні хромосомні перебудови із залученням трьох чи більше хромосом склали 27 % серед всіх досліджених нами порушень каріотипу. З 11 пацієнтів, що мали аномальний каріотип, трансформацію мієлодиспластичного синдрому в гостру мієлоїдну лейкемію виявлено в 5 (45,4 %) випадках. Явище фрагментації хромосом ми розглядаємо як цитогенетичне підтвердження підвищеного рівня апоптозу в кістковому мозку пацієнтів з мієлодиспластичним синдромом. Ризик трансформації мієлодиспластичного синдрому у гостру мієлоїдну лейкемію встановлено на підставі використання нової міжнародної програми бальної системи – IPSS.

© М.Р. ЛОЗИНСЬКА, Я.І. ВИГОВСЬКА, Н.Я. ТОМАШЕВСЬКА,
З.В. МАСЛЯК, Р.Ю. ЛОЗИНСЬКИЙ, В.Л. НОВАК, 2009

Вступ. Згідно з результатами численних досліджень мієлодиспластичні синдроми є результатом набутих генетичних змін поліпотентної стовбурової клітини гемопоезу. В патогенезі захворювання поряд з мутаціями, що викликають пошкодження регуляторних доменів протонкогенів *ras*, значну роль відіграють хромосомні аномалії, які виникають *de novo*. Вивчення їх спектра має важливе прогностичне значення при різних варіантах МДС, виділених за ФАБ-класифікацією, хоча в середньому кількість аномалій каріотипу у випадках *de novo* становить 30–80 % [1]. Згідно з деякими літературними повідомленнями не виявлено істотного зв'язку між характером хромосомних аномалій і ФАБ-категоріями первинних МДС. Однак при рефрактерній анемії з надлишком бластів (РАНБ) і рефрактерній анемії з надлишком бластів в стадії трансформації (РАНБ-т) цитогенетичні зміни виявляють у 60–80 % випадків, в той час як при рефрактерній анемії (РА) і рефрактерній анемії з кільцевими сидеробластами (РАКС) лише приблизно в третині випадків виявлено аномалії хромосом [2, 3]. В групі хворих з РАКС частота трансформації в гостру лейкемію нижче, ніж при інших формах МДС. У випадку РАНБ майже в 30 % спостерігається трансформація в ГМЛ (гостра мієлоїдна лейкемія), а при РАНБ-т – в 50 %. Прогностичне значення деяких цитогенетичних змін є предметом обговорення. Згідно з новою міжнародною програмою бальної системи (International Prognostic Scoring System – IPSS) для визначення прогнозування ризику прогресії МДС у ГМЛ важливе значення мають, поперше, особливості цитогенетичних змін, по-друге, відсоток бластних клітин, по-третє, підрахунок периферійної цитопенії [3–5]. Прийнято вважати, що тривалість життя з моменту встановлення діагнозу і прогноз у хворих з МДС є сприятливішим при відсутності аномалій хромосом або ж при деякій ізольованій хромосомній патології (5q–, Y– та ін.) [2]. Суперечливою є наявність делеції 20q–. При поєднанні з множинними змінами каріотипу вона є несприятливою прогностичною ознакою, а в інших випадках подібно до перебудови 5q– має добрий прогноз, однак при відсутності цитогенетичних змін трансформація в гостру лейкемію також є можливою [6]. Несприятливий прогноз мають випадки із складними змінами каріотипу, появою клональних змін, пев-

ними специфічними моносоміями чи частковими моносоміями хромосоми 7, трисоміями хромосом 6, 8, 11 [5, 7]. Комплексні аномалії із залученням трьох чи більше хромосом складають 15–30 % від всіх аномалій при МДС та свідчать про прогресію захворювання [4, 5, 8]. Існує гіпотеза про те, що основною причиною неефективного гемопоєзу при МДС є апоптоз кровотворних клітин [9–11]. Відомо, що в основі розвитку МДС лежить активна проліферація кровотворних стовбурових клітин при одночасній інтенсивній їх програмованій загибелі, що призводить до неефективного диспластичного гемопоєзу і порушення функціональних властивостей гемопоетичних клітин. Дискусійною є цитогенетична маніфестація апоптозу на стадії метафази.

Метою роботи було вивчення особливостей спектра цитогенетичних змін при різних варіантах МДС і визначення їх прогностичного значення.

Матеріал і методи. Впродовж 2000–2006 рр. проведено цитогенетичне дослідження аспірату кісткового мозку, отриманого шляхом стерильної пункції, 32 пацієнтам з різними варіантами МДС (згідно із загальноприйнятою FAB-класифікацією МДС, 1983) з восьми різних областей України. Мешканцями Львівської області були 16 пацієнтів, 3 – Івано-Франківської, 2 – Хмельницької, 1 – Вінницької, 4 – Тернопільської, 1 – Чернівецької, 1 – Автономної республіки Крим, 4 – міста Одеси. Розподіл хворих за статтю: чоловіків було 13, жінок – 19. Вік пацієнтів становив від 26 до 76 років (вікова медіана становила 51 рік).

Діагноз МДС встановлено на основі скарг, даних анамнезу, клінічної картини, результатів гематологічних та лабораторних досліджень відповідно до загальноприйнятих критеріїв. У 8 пацієнтів діагноз підтверджено шляхом трепанобіопсії здухвинної кістки.

Гематологічні дослідження включали загальний аналіз крові з підрахунком абсолютної кількості тромбоцитів, рівня ретикулоцитів. Проводився цитологічний аналіз морфології клітин периферичної крові, пунктатів кісткового мозку. Цитохімічні реакції на ліпіди, мієлопероксидазу, неспецифічну естеразу з інгібітором фтористим натрієм, PAS-реакція виконувались для верифікації типу бластів при МДС РАНБ-т.

Для виявлення кільцеподібних сидеробластів у кістковому мозку проводили реакцію Перлса. Позитивну реакцію виявлено у 2 хворих в 45 % клітин, на підставі чого у них діагностовано РАКС.

ХММЛ встановлювали на підставі визначення абсолютного числа моноцитів в периферичній крові відповідно до ФАБ-класифікації. За допомогою цитохімічних методів дослідження бластні клітини кісткового мозку хворих на РАНБ-т віднесено до мієлоїдного ряду, у хворих на ХММЛ класифіковані як гранулоцитарно-моноцитарні.

Таким чином, у 17 пацієнтів було діагностовано РА, у 2 – РАКС, у 6 – МДС з РАНБ, у 3 – МДС з РАНБ-т, у 4 пацієнтів – ХММЛ.

Отримання препаратів метафазних хромосом із аспірату кісткового мозку пацієнтів проводили, застосовуючи стандартний метод культивування клітин із власною модифікацією [12]. З пунктату кісткового мозку готували гепаринізовану суспензію клітин, які культивували впродовж 48 год при температурі 37 °С у середовищі RPMI 1640 з L-глутаміною кислотою («Gibco», США) і ембріональною телячою сироваткою («Gibco», Нова Зеландія) без мітогенів. Для фіксації клітин використовували суміш етилового спирту і льодяної оцтової кислоти. Аналіз препаратів здійснювали за допомогою G-методу диференціального забарвлення хромосом з використанням барвника Гімзи, фосфатного буфера та 0,25%-ного розчину трипсину. Для постановки діагнозу підраховували 8–22 метафазні пластинки від кожного індивіда на рівні 400 сегментів на гаплоїдний набір.

Результати досліджень та їх обговорення. *Основні показники периферичної крові та кісткового мозку у хворих на МДС.* При першому обстеженні за результатами гематологічних досліджень у 31 пацієнта виявлено анемію різного ступеня важкості, рівень гемоглобіну знаходився в межах 26–110 г/л. В одного пацієнта з ХММЛ рівень Hb знаходився у межах норми – 130 г/л. Кількість еритроцитів периферичної крові коливалася від $0,76 \cdot 10^{12}$ /л до $4,11 \cdot 10^{12}$ /л. Відмічено анізопойкілоцитоз еритроцитів. У чотирьох пацієнтів з РА і одного з РАНБ встановлено наявність нормоцитів у периферичній крові 1–11 на 100 клітин, тілець Жолі, кілець

Кебота, базофільної пунктації еритроцитів. Кількість тромбоцитів коливалася в межах від $9,0 \cdot 10^9/\text{л}$ до $272,0 \cdot 10^9/\text{л}$. У всіх пацієнтів були змінені форма і розміри тромбоцитів.

У 18 пацієнтів виявлено лейкопенію ($0,7-3,9 \cdot 10^9/\text{л}$, в 2 хворих на ХММЛ – лейкоцитоз ($13,9 \cdot 10^9/\text{л}$ і $32,0 \cdot 10^9/\text{л}$), у решти обстежених рівень лейкоцитів периферичної крові знаходився в межах норми – $(4,0-6,2) \cdot 10^9/\text{л}$. При підрахунку формули периферичної крові у хворих на РА і РАКС в жодному випадку не було виявлено бластних клітин. В одного на РАНБ і у двох хворих на РАНБ-т кількість бластів у периферичній крові складала відповідно 2, 1 і 29 % (у середньому – $5,3 \pm 4,74$ %). У 8 пацієнтів (три – з РА, два – з РАНБ-т і три – з ХММЛ) спостерігався зсув лейкограми вліво до мієлоцитів (1–6 %). У всіх хворих на ХММЛ виявлено моноцитоз – 30–46 абс. кількість моноцитів, в середньому – $35,2 \pm 3,32$ %.

Стернальний пунктат у 4 хворих був гіпопластичний, в 5 – гіперпластичний, у решти пацієнтів – нормоцелюлярний. Відзначено прояви дисгранулопоезу (гігантські форми, гіперсегментація ядер, ядра у вигляді «гантелів»), дисеритропоезу (тільца Жолі, кільця Кебота, базофільна пунктація еритроцитів, дво- і триядерні еритрокаріоцити), дисмегакаріоцитопоезу (поліморфізм мегакаріоцитів, наявність одноподібних форм та з багатолопастними ядрами, «голих» ядер). У пацієнтів з РАНБ і РАНБ-т кількість бластів була збільшена (11–27 %). У хворих на ХММЛ у кістковому мозку виявлено 1,5–7,0 % бластів, а також 16,0–27,5 % моноцитоподібних клітин.

Результати цитогенетичного дослідження клітин аспірату кісткового мозку у хворих на МДС. При різних варіантах МДС частота і спектр хромосомних аномалій дещо відрізнялися. Найчастіше серед хромосомних аномалій при МДС траплялися делеції, у виникненні яких були залучені хромосоми 2, 3, 5, 7, 11, 12, 13, 20 та 22. У 3 пацієнтів спостерігали додаткові копії хромосом 1, 2, 3, 6, 8, 16, 17, 18, 19, 20, в одному випадку – трисомію хромосоми 11 як ізольовану патологію, в іншому випадку – транслокацію хромосом (табл. 1). У трьох випадках нам не вдалося ідентифікувати додаткові делетовані маркерні хромосоми за допомогою G-методу. В результаті цитогенетично-

го аналізу аспірату кісткового мозку аномалії хромосом було виявлено в 11 (34,3 %) хворих на МДС.

У пацієнтів з РА (табл. 1) аномалії хромосом виявлено у 5 (29,4 %) випадках. Серед цитогенетичних змін переважали делеції та додаткові копії хромосом. В одному випадку діагностовано типову для цього варіанту МДС делецію 5q31, при якій прогноз є сприятливим, пацієнтка живе. В цій ділянці локалізований кластер регуляторних генів гемопоетичної системи, включаючи гени факторів росту, рецептори факторів росту і онкогени, що залучені в патогенез захворювання. Згідно з новою класифікацією Всесвітньої організації охорони здоров'я ця перебудова розглядається як окремий підтип 5q-МДС-синдрому [4]. В іншому випадку у пацієнтки було виявлено мозаїчний варіант каріотипу з нормальними клонами клітин, з клонами del (5)(q12q33) і ендоредуплікацією хромосом, при якому спостерігався агресивний перебіг захворювання – трансформація в ГМЛ. Згідно з літературними повідомленнями ця перебудова частіше трапляється при вторинному МДС, а також при прелейкемічних станах і має погане прогностичне значення.

Делецію 12p ми спостерігали у пацієнта з РА віком 61 рік (табл. 1). Стан хворого був стабільним протягом 3 міс. Далі пацієнт вибув з-під нагляду. Делецію del (12)(p12) вважають характерною для вторинного МДС з високим ризиком виникнення ГМЛ [13]. Згідно з літературними повідомленнями аналогічну перебудову в комбінації з моносомією хромосоми 7 було виявлено у дитини з РА, у якої, на думку авторів [14], дана еволюція каріотипу призвела до прогресії захворювання.

В одного пацієнта з РА виявлено складний мозаїчний каріотип, представлений п'ятьма різними клонами клітин, серед яких два – з анеуплоїдними наборами хромосом від 47 до 52, делецією 20q– та моносомією хромосом 15 і 17, один – з тетраплоїдним набором хромосом. Даний каріотип вважається комплексним, оскільки містить більше трьох хромосомних аномалій і має погане прогностичне значення [3, 8]. Делеція 20q часто трапляється в поєднанні з іншими змінами каріотипу. У цього пацієнта стернальний пунктат був клітинний, поліморфний, з різко редукованим гранулоци-

Таблиця 1

Особливості каріотипу кісткового мозку у пацієнтів з різними варіантами МДС

Варіант МДС та вік пацієнта, роки	Каріотип	Результат лікування
РА		
65	46,XX[9]	Жива, 6 міс
68	46,XX[20]/3n ± [2]	Жива, 34 міс
70	46,XX[11]	Жива, 11 міс
58	46,XY[18]/ 3n ± [2]/4n ± [1]	Живий, 95 міс
57	46,XY[15]/ 4n [2]	Живий, 116 міс
58	46,XX[8]	Жива, 19 міс
60	46,XX[8]/4n ± [1]	Жива, 83 міс
62	46,XX[20]/4n ± [2]	Через 10 міс трансформація в ГМЛ, померла
26	46,XX[9]	Живе 40 міс
64	46,XY,del(13q)[4]/ 47,XY,del(13q),+mar[3]//3n ± [2]/ 4n ± [1]/ фрагментація хромосом [2]	Помер через 10 міс
69	46,XX,del(5)(q1?q33)[3]/46,XX[7]/end[1]	Трансформація в ГМЛ
60	47,XY,del(12p),+mar[5]/ 5n ± [1]/ 4n ± [1]/ 3n ± [5]	Вибув з під нагляду
58	46,XX,del (5)(q31)[2]/46,XX[7]	Живе 38 міс
67	46,XX,fra 5q[2]/46,XX[8]	Вибула з-під нагляду
36	46,XX[7]/ 3n ± [2]/ 4n ± [8]/end[1]/fis[7]	Вибула з-під нагляду
43	46,XX[10]/ 3n ± [2]	Жива, 16 міс
75	47,XY,+1,+3,+6,-15,-17[5]/47,XY,+3[3]/50,XY,+1,+3,+19[2]/ 52,XY,+1,+3,+3,+6,+8,+19,+20,+del(20),-15,-17[2]/4n ± [1]/ фрагментація хромосом [2]	Помер через 8 міс
РАКС		
67	46,XY[10]/4n ± [1]	Помер через 15 міс, трансформація в ГМЛ, М1
53	46,XY[13]/46,XY, der 21q[3]	Помер через 16 міс, трансформація в ГМЛ, М4
47	46,XX [12]	Померла через 19 міс
55	46,XY, del(2)(p22-pter); del (11)(q23) [6]/ 3n ± [1]	Трансформація в ГМЛ, помер через 6 міс
76	46,XY,der(3),del(3)(q?),-5,+mar[6]//45,XY,der(3),del(3)(q?)-5[4]/фрагментація хромосом [2]/3n ± [2]/4n ± [2]	Трансформація в ГМЛ, помер через 7 міс
62	46,XX[11]	Вибула з-під нагляду
64	47, XX,+11[7]/ фрагментація хромосом [2]	Лейкемічна трансформація в ГМЛ впродовж 1 року
72	46, XY,t(16;16) (p13;q22)[9]	Живий, 2 міс
РАНБ-т		
76	46,XX[12]/ фрагментація хромосом [2]	Померла через 3 міс
57	47,XX,del(7)(q22),del(22)(q22),+der(13),del(13)(q11-q34)[10]/46,XX,del(22)(q22)[9]/46,XX[5]/end[1]	Померла через 14 міс
64	46,XY[9]/92,XXYY[7]/fis[4]/ фрагментація хромосом [2]	Помер через 7 міс
ХММЛ		
66	46,XY[8]	Помер через 30 міс
64	46,XX[12]	Померла через 20 міс
73	51,XY,+2,+16,+17,+18,+20[2]/47,XY,+20[2]/12n ± [1]/46,XY[4]	Живий 10 міс
76	46,XX[12]	Померла через 11 міс

тарним паростком. Основний клітинний субстрат був представлений клітинами еритроїдного ряду на різних стадіях дозрівання з великою кількістю дво-, три-, чотири- та п'ятиядерних еритрокаріоцитів. Мегакаріоцитів виявлено не було. Пацієнт помер через 8 міс від геморагічного синдрому.

У пацієнта з РА з мозаїчним каріотипом, представленим двома клонами клітин з хромосомами 46 і 47, з неідентифікованим додатковим фрагментом, виявлено делецію 13q (табл. 1). Пацієнт помер. Перебудови довгих плечей хромосоми 13, особливо смуга 13q14, спостерігаються при різних неопластичних захворюваннях, в тому числі при ретинобластомі, мієлофіброзі та МДС [15].

В групі пацієнтів з РА у понад 40 % випадків спостерігали поодинокі гіперплоїдні набори хромосом — $3n$, $4n$, $5n$. В одному випадку явище поліплоїдії поряд з ендоредуплікацією і передчасним розходженням центромер було виявлено в більшості клонів клітин.

Як вже згадувалося, прийнято вважати, що в групі хворих з РАКС нижче, ніж при інших формах МДС, частота трансформації в гостру лейкемію. Однак у двох пацієнтів з РАКС, які спостерігалися нами, в одному випадку у пацієнта з нормальним каріотипом відбулася трансформація в ГМЛ, М1, в іншому — з мозаїчним каріотипом (у частині клонів виявлено перебудову хромосоми 21 — $der(21q)$); спостерігали трансформацію в ГМЛ, М4 (табл. 1). Пацієнти померли. В літературі описано поєднання такої ж аномалії хромосоми 21 з моносомією 7 у хворого з РАКС, який помер від гепатиту [1].

З 6 пацієнтів з РАНБ аномалії хромосом були виявлені у 4, що становить $\frac{2}{3}$ випадків. Переважали делеції як ізольовані перебудови хромосом, а також делеції хромосом поряд з іншими аномаліями, зокрема делецію 2p пов'язують з прогресією РАНБ ($P = 0,02$), яка веде до розвитку ГМЛ [16]. Пацієнт з комбінованою перебудовою $del(2)(p22-pter); del(11)(q23)$ (табл. 1) помер через 6 міс після постановки діагнозу. Аномалії (в тому числі делеції) хромосоми 11 у багатьох клінічних дослідженнях віднесені до цитогенетичної групи з несприятливим перебігом захворювання. Різноманітність цих перебудов і їх зв'язок з пухлинами підтверджує критичне значення диску-

11q23 в розвитку неоплазій, в якому розміщений ген *c-ets* [17–19]. Серед інших делецій слід відзначити варіанти втрати ділянки 3q хромосоми, що є характерними для пацієнтів з РАНБ, і в 30–50 % випадків їх поява пов'язана з лікуванням. В нашому випадку ця перебудова була в поєднанні з моносомією хромосоми 5 і присутністю невеликого за розміром маркерного фрагменту неідентифікованої хромосоми. Пацієнт помер через 7 міс. Згідно з літературними повідомленнями відповідь на хіміотерапію при перебудовах 3q є поганою, спостерігається коротке виживання пацієнтів.

В одному випадку виявлено трисомію хромосоми 11 як самостійну аномалію. Прогностичне значення такої трисомії є дуже несприятливою прогностичною ознакою [18, 20]. Наше спостереження повністю підтверджує літературні дані (табл. 1).

У 3 пацієнтів було діагностовано РАНБ-т. В одного з них виявлено комплексну перебудову, в яку залучені три хромосоми — 7, 13, і 22. Хворий помер (табл. 1). В літературі описані випадки втрати хромосоми 7 чи делецію 7q як розповсюджену перебудову при мієлоїдних захворюваннях, адже в локусах 7q22–31 розміщені супресори генів, що відіграють важливу роль в лейкемогенезі.

З 4 цитогенетично обстежених пацієнтів з ХММЛ лише в одного виявлено складні зміни каріотипу, який характеризувався появою чотирьох різних клонів клітин — двох з додатковими копіями хромосом, одного з гіперплоїдією — $12n \pm$ та клону з нормальним каріотипом. Пацієнт живе 10 міс, хоча комплексні зміни каріотипу прийнято вважати поганою прогностичною ознакою [20].

Цитогенетичні ознаки апоптозу на стадії метафази. У деяких досліджуваних зразках досить часто спостерігались метафазні пластинки, які складались з дрібно фрагментованих хромосом (по 2 із загальної кількості 9–15 метафаз). Оскільки фрагментація ДНК є показовою ознакою апоптозу клітин [11, 21, 22], ми розглядаємо ці випадки як цитогенетичне підтвердження підвищеного рівня апоптозу в кістковому мозку пацієнтів з МДС. Вважається, що посилення програмованої загибелі клітин є прогностично несприятливою ознакою, оскільки хворі з підвищеним рівнем апоптозу в

Таблиця 2
Оцінка ризику трансформації МДС в ГМЛ за IPSS

Підтип МДС	Кількість хворих			Трансформація в ГЛ
	НР	ПР	ВР	
РА	2	13	2	2/17
РАКС		2		2/2
РАНБ			6	3/6
РАНБ-т			3	3/3
ХММЛ		4	1	

кістковому мозку гірше піддаються лікуванню цитостатичними та імуносупресивними засобами [10, 23]. Ми спостерігали несприятливий перебіг МДС при наявності фрагментованих метафаз. Вживання у випадках РА становило 8–10 міс. В одному випадку РАНБ пацієнт прожив 7 міс, ще в одному – відбувся перехід в ГМЛ впродовж року. При РАНБ-т вживання складало 3–7 міс.

Літературні дані суперечливі стосовно того, які саме клітини залучаються до апоптозу при МДС. Oyake et al. [24] стверджує про посилене залучення як CD34-позитивних, так і CD34-негативних клітин до апоптозу; в той же час за іншими даними посилення програмованої загибелі клітин більш властиве CD34-негативним клітинам [25], а Brada et al. [26] взагалі вважає підвищений рівень апоптозу лише *in vitro*-феноменом, який виявляється внаслідок вилучення клітин кісткового мозку із природного середовища. В будь-якому разі клітини кісткового мозку при МДС мають підвищену схильність до програмованої загибелі (*in vitro* чи *in vivo*), що проявляється у нашому випадку повним руйнуванням хромосом в частині клітин на стадії метафази. Також на підвищену схильність до апоптозу, можливо, вказує гіперсегментація ядер в клітинах гранулоцитарного паростка на стадії інтерфази.

Оцінка ризику трансформації різних варіантів МДС. За IPSS двох хворих з РА було віднесено до групи низького ризику (НР). В одного з цих хворих (28 років) встановлено нормальний каріотип клітин кісткового мозку (46, XY), тривалість хвороби у нього складає 40 міс. У другої хворої (67 років), тривалість хвороби якої становить 34 міс, виявлено триплоїдні набори хромосом (46, XX [9]/3n±[2]). Пацієнти

залишаються живими на час проведення оцінки результатів дослідження. У 14 хворих на РА, двох на РАКС і чотирьох на ХММЛ встановлено проміжний ризик (ПР). В двох пацієнтів з РА, у всіх хворих на РАНБ і РАНБ-т і одного на ХММЛ встановлено високий ризик (ВР) (табл. 2).

Трансформація у ГМЛ спостерігалась у двох пацієнтів з РА і двох з РАКС у цих хворих було встановлено проміжний профіль ризику. Окрім того, внаслідок прогресування МДС (поглиблення цитопенічного синдрому і його клінічні наслідки) через 8–10 міс померло ще двоє хворих з РА (проміжний ризик), у яких при цитогенетичному обстеженні виявлено комплексні хромосомні перебудови.

У групах хворих з РАНБ і РАНБ-т у трьох хворих відповідно до IPSS встановлено дуже поганий прогноз і у решти – поганий, тобто всі пацієнти належали до групи високого ризику. З цієї групи одна пацієнтка вибула з-під нагляду і один хворий обстежений порівняно недавно (тривалість спостереження 2 міс). У решти 7 пацієнтів розвинулась трансформація в гостру лейкемію протягом 3–14 міс від моменту обстеження.

Серед чотирьох хворих на ХММЛ живим залишився один пацієнт, у якого встановлено високий ризик лейкемічної трансформації, інші загинули внаслідок ускладнень, що погіршили перебіг хвороби.

Таким чином, відповідно до IPSS при РА частка хворих з високим ризиком становить приблизно 12 %, загинуло вдвічі більше пацієнтів. При РАНБ всі хворі віднесені у групу високого ризику, гостра лейкемія розвинулась у $\frac{2}{3}$ з них. У хворих з РАНБ-т усі хворі (група високого ризику) померли внаслідок лейкемічної трансформації.

Висновки. Домінуючими в спектрі порушень каріотипу при різних варіантах МДС були делеції хромосом. Найбільшу кількість хромосомних аномалій виявлено при РАНБ. Серед обстежених нами пацієнтів з МДС (з РА, ХММЛ і РАНБ-т) – 3 (8,82 %) мали множинні хромосомні перебудови із залученням трьох чи більше хромосом. Такі комплексні аномалії свідчать про прогресію захворювання. В наших дослідженнях вони складали 27 % всіх виявлених нами порушень каріотипу. Хромосомні ано-

малії діагностовано в одного пацієнта з ХММЛ і одного — з РАКС. З 11 пацієнтів, які мали аномальний кариотип, трансформацію МДС в ГМЛ виявлено в 5 (45,4 %) випадках і в чотирьох пацієнтів, у яких не було аномалій хромосом, спостерігали трансформацію МДС в ГМЛ. Явище фрагментації (руйнування) хромосом, яке траплялося в частині клітин на стадії метафази, ми розглядаємо як цитогенетичне підтвердження підвищеного рівня апоптозу в кістковому мозку пацієнтів з МДС. Клініко-цитогенетичні паралелі досить переконливо свідчать про високу клінічну відтворюваність міжнародної програми балльної системи. IPSS на сучасному етапі вивчення МДС найбільш адекватно відображає процеси клональної еволюції захворювання, дозволяє передбачити перебіг хвороби у окремих пацієнтів, а також контролює ефективність лікувальних заходів.

*M.R. Lozynska, Ya.I. Vygovska, N.Ya. Tomashevska,
Z.V. Maslyak, R.Yu. Lozynsky, V.L. Novak*

PECULIARITIES OF CYTOGENETIC
CHANGES IN DIFFERENT TYPES
OF MYELODYSPLASTIC SYNDROME

We carried out the cytogenetic investigation of bone marrow aspirate from 32 patients with different types of MDS. The patients were from 8 regions of Ukraine. 11 patients had abnormal karyotype, and the transformation to AML were observed in 5 of them (45.5 %). 27 % of all patients had chromosomal changes with 3 or more chromosomes involved. The highest percentage of the patients with chromosomal anomalies (66.7 %) was in cases of RAEB. Chromosome deletions were the most frequently detected karyotype abnormalities. We consider the phenomenon of chromosome fragmentation as the cytogenetic approval of the increased level of apoptosis in patients with MDS. The risk of the transformation to AML was measured using new international score system IPSS.

*M.P. Лозинская, Я.И. Выговская, Н.Я. Томашевская,
З.В. Масляк, Р.Ю. Лозинский, В.Л. Новак*

ОСОБЕННОСТИ СПЕКТРА
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ
ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ
МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Проведено цитогенетическое исследование аспирата костного мозга 32 пациентам с разными вариантами миєлодиспластического синдрома из восьми областей Украины. Доминирующими в спектре нарушенный кариотипа были делеции хромосом. Наибольшее количество хромосомных аномалий выявлено при ре-

фрактерной анемии с излишеством бластов (66,6 % случаев). Среди всех выявленных нами нарушений кариотипа 27 % составляли комплексные хромосомные перестройки с вовлечением трех хромосом и более. Из 11 пациентов с аномальным кариотипом трансформацию миєлодиспластического синдрома в острую миєлоидную лейкемию выявили в 5 (45,4 %) случаях. Явление фрагментации хромосом мы рассматриваем как цитогенетическое подтверждение повышенного уровня апоптоза в костном мозге пациентов с миєлодиспластическим синдромом. Риск трансформации миєлодиспластического синдрома в острую миєлоидную лейкемию установлен в результате использования новой международной программы балльной системы — IPSS.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Клименко В.И., Пилинская М.А., Червякова Е.В.* Хромосомные аберрации в соматических клетках при различных вариантах миєлодиспластического синдрома у лиц, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС // *Онкология*. — 2000. — 2, № 4. — С. 238–241.
2. *Глузман Д.Ф., Абраменко Л.М., Склярченко Л.М., Крячок И.А., Надгорная В.А.* Диагностика лейкозов: Атлас и практ. руководство. — Киев : Морион, 2000. — 223 с.
3. *Bernasconi P., Klersy C., Boni M. et al.* World Health Organization classification in combination with cytogenetic markers improves the prognostic stratification of patients with de novo primary myelodysplastic syndromes // *Brit. J. Haematol.* — 2007. — 137. — P. 193–205.
4. *Bernasconi P., Klersy C., Boni M. et al.* Incidence and prognostic significance of karyotype abnormalities in de novo primary myelodysplastic syndromes: a study on 331 patients from a single institution // *Leukemia*. — 2005. — 19. — P. 1424–1431.
5. *Cermak J., Belickova M., Krejcová H. et al.* The presence of clonal cell subpopulation in peripheral blood and bone marrow of patients with refractory cytopenia with multilineage dysplasia but not in patients with refractory cytopenia may reflect a multistep pathogenesis of myelodysplasia // *Leukemia Res.* — 2005. — 29. — P. 371–379.
6. *Pierre R.* Cytogenetic studies of myelodysplastic syndromes // *Myelodysplastic syndromes: Advances in Research and Treatment*. — Elsevier Sci. B.V., 1995. — P. 49–88.
7. *Vallespi T., Imbert M., Mecucci C., Preudhomme C., Fenaux P.* Diagnosis, classification, and cytogenetics of myelodysplastic syndromes // *Haematol.* — 1998. — 83. — P. 258–275.
8. *Lindval C., Nordenskjold M., Porwit A., Björkholm M., Blennow E.* Molecular cytogenetic characterization of

- acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes with multiply chromosome rearrangements // *Haematol.* – 2001. – **86**(11). – P. 1156–1164.
9. *Владимирская Е.Б., Масчан А.А., Румянцев А.Г.* Апоптоз и его роль в развитии опухолевого роста // *Гематология и трансфузиология.* – 1997. – **42**, № 5. – С. 4–9.
 10. *Shimazaki K, Ohshima K., Suzumiya J., Kawasaki C., Kikuchi M.* Evaluation of apoptosis as prognostic factor in myelodysplastic syndromes // *Brit. J. Haematol.* – 2000. – **110**. – P. 584–590.
 11. *Hengartner M. O.* The biochemistry of apoptosis // *Nature.* – 2000. – **407**. – P. 770–776.
 12. *Czepulkowski B.H., Bratt R., Rooney D.E.* Basic techniques for the preparation and analysis of chromosomes from bone marrow and leukemic blood. *Human cytogenetics. Malignancy and acquired abnormalities: A practical approach.* 1992; 11: 26 s.
 13. *Jotterand-Bellomo M., Parlier V., Smidt P.M., Beris P.H.* Cytogenetic analysis of 54 cases of myelodysplastic syndrome // *Cancer Genet. Cytogenet.* – 1990. – **46**. – P. 157–172.
 14. *Kardos G., Baumann I., Passmore J.S. et al.* Refractory anemia in childhood: a retrospective analysis of 67 patients with particular reference of monosomy 7 // *Clin. Observ., Intervent. and Therap. Trials.* – 2003. – **102**, № 6. – P. 1997–2000.
 15. *Han J.-Y., Theil K.S.* Karyotypic identification of abnormal clones preceding morphological changes or occurring with no definite morphological features of myelodysplastic syndrome // *Preliminary Study.* – 2007. – **13**, № 1. – P. 17–21.
 16. *Kerndrup G., Pedersen B., Bendix-Hansen K.* Specific minor chromosome deletions in myelodysplastic syndromes: clinical and morphologic correlations // *Cancer Genet. Cytogenet.* – 1987. – **26** (2). – P. 227–234.
 17. *Bloomfield C.D., Archer K.J., Mrozek K. et al.* 11q23 balanced chromosome aberrations in treatment-related myelodysplastic syndromes and acute leukemia : report from an international workshop // *Gen. Chrom. Cancer.* – 2002. – **33**, № 4. – P. 362–378.
 18. *Андреева С.В., Дроздова В.Д., Емельяненко Л.А.* Перестройки хромосомы 11 при разных гематологических неоплазиях // *Цитология и генетика.* – 2007. – **41**, № 2. – С. 42–48.
 19. *Kerim S., Rege-Cambrin G., Guerrasio A., Rosso C., Van Den Berghe H.* Molecular cytogenetic analysis discloses complex genetic imbalance in a t(11;21) myelodysplastic syndromes // *Cancer Genet. Cytogenet.* – 1990. – **46**, № 2. – P. 243–250.
 20. *Habort J., Reinisch-Becker I., Ritterbach J., Ludwig W.-D., Reiter A., Lampert F.* Cytogenetics and clonal evolution in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) // *Acute Leukemias IV.* – Springer, 1994. – P. 231–237.
 21. *Liu X.S., Zou H., Slaughter C., Wang X.D.* DFF, a heterodimeric protein that functions downstream of caspase-3 to trigger DNA fragmentation during apoptosis // *Cell.* – 1997. – **89**. – P. 175–184.
 22. *Wyllie A.H.* Glucocorticoid induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation // *Nature.* – 1980. – **284**. – P. 555–556.
 23. *Liesveld J.L., Jordan C.T., Phillips II G.L.* The hematopoietic stem cell in myelodysplasia // *Stem Cells.* – 2004. – **22**. – P. 590–599.
 24. *Oyake T., Ito S., Kowata S. et al.* Myelodysplastic syndromes with bone marrow hypoplasia is associated with much higher frequency of apoptosis in CD34+ cells // *Blood.* – 2004. – **104**: Astract 2370.
 25. *Pecci A., Travaglino E., Klersy C., Invernizzi R.* Apoptosis in relation to CD34 antigen expression in normal and myelodysplastic bone marrow // *Acta Haematol.* – 2003. – **109**. – P. 29–34.
 26. *Brada S.J.L., van de Loosdrecht A.A., Koudstaal J., Wolf J. Th.M., Vellenga E.* Limited numbers of apoptotic cells in fresh paraffin embedded bone marrow samples of patients with myelodysplastic syndrome // *Leukemia Res.* – 2004. – **28**. – P. 921–925.

Надійшла 09.11.07