

АБНОРМАЛНОСТИ ХРОМОЗОМА 17 КОД БОЛЕСНИКА СА ПРИМАРНИМ МИЈЕЛОДИСПЛАСТИЧНИМ СИНДРОМИМА: ИНЦИДЕНЦИЈА И БИОЛОШКИ ЗНАЧАЈ

Драгомир МАРИСАВЉЕВИЋ, Зоран РОЛОВИЋ, Милена ПАНТИЋ, Ангелина НОВАК,
Весна ЂОРЂЕВИЋ, Владимир ЛАЗАРЕВИЋ, Даринка БОШКОВИЋ, Милица ЧЛОВИЋ

Институт за хематологију, Клинички центар Србије, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Циљ рада је да се утврди учесталост и биолошки значај абнормалности хромозома 17 код болесника са примарним мијелодиспластичним синдромима (*pMDS*). Кариотип ћелија костне сржи анализиран је при постављању дијагнозе код 271 болесника. Утврђено је да 162 болесника имају нормалан кариотип, а аберантан кариотип 109 болесника (40,2%). Код 13 од 109 болесника (11,9%) са аберантним кариотипом биле су присутне аберације хромозома 17. Абнормалности хромозома 17 код пет болесника биле су присутне у форми „једноставних“ аберација. Код два болесника (*RAEB-t* и *CMML*) са агресивним током болести у питању је била *del(17)(p12)*, док је код два болесника са стабилним обликом *RAEB* била присутна интерстицијална делеција дугог (*q*) крака са различитим тачкама прекида: (*q21; q23*) и (*q12; q22*). Код петог болесника са *RARS*, који је умро убрзо по постављању дијагнозе од последица цитопеније, дијагностикован је изохромозом *i(17)(q10)*. Абнормалности хромозома 17 биле су знатно чешће у „комплексним“ кариотиповима и утврђене су код осам болесника: *der(17)* код четири, монозомија хромозома 17 код два болесника, а код по једног болесника *del(17p)* и *i(17q)*. Преживљавање ових болесника било је веома кратко, углавном због брзе леукемијске трансформације. Резултати студије указују на значајну учесталост абнормалности хромозома 17 у *pMDS*, посебно у „комплексним“ кариотиповима. Губитак генетског материјала на кратком краку хромозома 17 у форми једноставних или комплексних хромозомских аберација блиско је повезан са лошом прогнозом болести.

Кључне речи: хромозом 17, абнормалности, мијелодиспластични синдроми, прогноза, учесталост.

УВОД

Испитивање хромозома је основно испитивање болесника са мијелодиспластичним синдромима (*MDS*), имајући у виду да је налаз „понављаних“ (*recurrent*) хромозомских аберација објективни показатељ присуства клона [1]. Најчешће су нумеричке аберације хромозома 5, 7, 8 и Y и структурне аберације (углавном интерстицијалне делеције) хромозома 5, 7, 11, 12 и 20, али ниједан од ових хромозомских реаранжмана није карактеристичан за одређени *FAB* подтип [2]. Хромозомске аберације су вероватно касни догађај у патогенези *MDS* и одраз унутарклонске еволуције болести, чему у прилог говори и знатно мања учесталост хромозомских аберација у *MDS* ниског ризика (*RA*, *RARS*) у односу на узнапредовали *MDS* (*RAEB*, *RAEB-t*), а посебно онај посредован терапијом (*t-MDS*) или *MDS/AML* [3]. Присуство хромозомских аберација при дијагнози *MDS* је једна од најзначајнијих варијабли за прогнозу исхода болести. Интернационални бодовни систем [4] издвојио је три кариотипски дефинисане прогностичке подгрупе: група добре прогнозе (болесници са нормалним кариотипом и појединачним аберацијама типа *del(5q)*, *del(20q)* и *-Y*), група интермедијарне прогнозе (болесници са +8 и различитим појединачним и двоструким аберацијама) и група лоше прогнозе (болесници са комплексним аберацијама, тј. ≥ 3 хромозома или абнормалностима хромозома 7).

ЦИЉ РАДА

Циљ овог рада је да се утврде учесталост и биолошки значај абнормалности хромозома 17 код болесника са примарним мијелодиспластичним синдромима.

МЕТОД РАДА

Испитан је 271 болесник са новооткривеним примарним *MDS* који су дијагностиковани у периоду од јула 1987. године до децембра 1998. године [5]. Дијагноза *MDS* постављена је на основу стандардних критеријума *FAB* кооперативне групе [6], уз модификације које су предложили Рајценштајн (*Reizenstein*) и Ост (*Ost*) [7].

Цитогенетска анализа рађена је на ћелијама костне сржи директним методом и методом 24-часовне и/или 48-часовне нестимулисане ћелијске културе. Хромозоми су добијани модификованом методом ХГ-трака [8]. Број анализираних ћелија у деоби по болеснику био је различит, а у случају болесника са нормалним кариотипом прегледано је најмање 20 митоза. За сваког болесника сложена су најмање по два кариограма. Номенклатура која је коришћена у описивању цитогенетске абнормалности следила је препоруке Интернационалног система цитогенетичке номенклатуре код људи [9]. Патолошки клон је дефинисан као присуство најмање две ћелије са истим екстрахромозомом или структурном аберацијом, или најмање три ћелије са недостатком истог хромозома, према препорукама са Четвртог међуна-

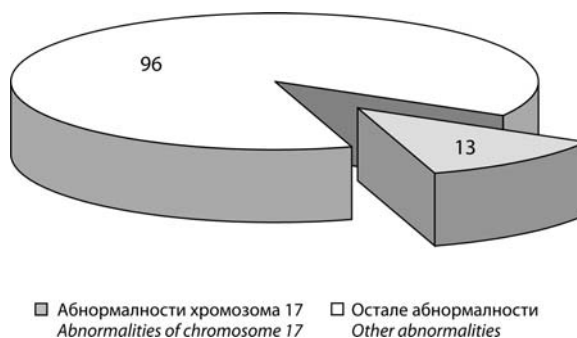
родног састанка о хромозомима у леукемији (*Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia 1984*). Као маркер (*mar*) сматран је структурно аберантан хромозом чији распоред трака није могао бити препознат, а као дериват (*der*) сматран је познати хромозом, али са непознатим структурним реаранжманом. Према препорукама *ISCN* [9], хромозомске аберације су класификоване на једноставне (појединачне и двоструке аберације) и комплексне хромозомске аберације.

РЕЗУЛТАТИ

Нормалан кариотип утврђен је код 162 болесника, док је 109 болесника (40,2%) имало аберантан кариотип. Код 13 од 109 болесника (11,9%) са аберантним кариотипом биле су присутне аберације хромозома 17 (Графикон 1). По учесталости, после хромозома 5, 7, 8 и 1, абнормалности хромозома 17 су биле најчешће аберације у кариотипу наших болесника са *pMDS* (Табела 1).

Абнормалности хромозома 17 биле су присутне у форми једноставних аберација код пет болесника. Код два болесника (*RAEB-t* и *CMML*) са агресивним током болести у питању је била *del(17)(p12)*, код два болесника са стабилним обликом *RAEB* била је присутна интерстицијална делеција дугог (*q*) крака, док је код петог болесника са *RARS* утврђено присуство изохромозома *i(17)(q10)*. Цитоморфолошке и цитогенетске карактеристике болесника са једноставним абнормалностима хромозома 17 приказане су у табели 2.

Абнормалности хромозома 17 биле су далеко чешће у комплексним кариотиповима и утврђене су код осам болесника: *der(17)* код четири, монозомија хро-



ГРАФИКОН 1. Учесталост абнормалности хромозома 17 у кариотипу испитиваних болесника са *MDS*.

GRAPH 1. The incidence of chromosome 17 abnormalities in karyotype of *MDS* patients.

мозома 17 код два болесника и код по једног болесника *del(17p)* и *i(17q)*. Преживљавање ових болесника било је веома кратко (у просеку 6,5 месеци), у већини случајева због брзе еволуције у акутну леукемију. У току цитогенетског праћења, код једне болеснице је утврђена *del(17q)* у еволутивном кариотипу две године од постављања дијагнозе *RAEB*. Леукемијска трансформација код ове болеснице догодила се три године по утврђивању еволуције кариотипа.

ДИСКУСИЈА

Учесталост хромозомских аберација у испитиваној групи болесника са *pMDS* од 40,2% у складу је са до сада објављеним резултатима метаанализа [3, 4]. Цитогенетска испитивања у овом раду су такође по-

ТАБЕЛА 1. Типови и учесталост реаранжмана свих хромозома код 109 болесника, укључујући и мултипле аберације кариотипова.

TABLE 1. The incidence of different types of chromosomal rearrangements in 109 patients, including multiple karyotypic aberrations.

Хромозом Chromosome	Тризимија Trisomy	Монозомија Monosomy	Делеција Deletion	Остале Other	Укупно Total
1		1	3	10	14 (6,9%)
2				4	4 (2,0%)
3	1	3		6	10 (5,0%)
4		4		1	5 (2,5%)
5		6	21	3	30 (14,8%)
6	1		3	2	6 (3,0%)
7		11	5	1	17 (8,4%)
8	13	7	2		22 (10,9%)
9		4	1	3	8 (4,0%)
10		2			2 (<1,0%)
11		1		1	2 (<1,0%)
12	1	3	1		5 (2,5%)
13		2	1		3 (1,5%)
14	2	1		1	4 (2,0%)
15	1	1			2 (<1%)
16			2	4	6 (3,0%)
17		2	5	7	14 (6,9%)
18		4		1	4 (2,0%)
19	1	3		1	5 (2,5%)
20	1		7	3	11 (5,4%)
21	2	5	2	2	11 (5,4%)
22	1	4	1	1	7 (3,5%)
Y		6		1	7 (3,5%)
X			1	1	2 (<1,0%)

ТАБЕЛА 2. Цитоморфолошке и цитогенетске карактеристике болесника са „једноставним“ абнормалностима хромозома 17.**TABLE 2.** Morphological and cytogenetic characteristics of patients with „single“ abnormalities of chromosome 17.

	del(17p)(p12)	del(17q)	i(17)(q10)
FAB	RAEB-t (1 болесник)	RAEB (2 болесника)	RARS (1 болесник)
FAB	RAEB-t (1 patient) CMML (1 болесник) CMML (1 patient)	RAEB (2 patients)	RARS (1 patient)
Цитогенетика Karyotype	Интерстицијална делеција кратког крака са тачком прекида <i>p(12)</i> Interstitial deletion of the short arm with breakpoint in <i>p(12)</i>	Интерстицијална делеција дугог крака са тачкама прекида (<i>q21</i> ; <i>q23</i>) и (<i>q12</i> ; <i>q22</i>) Interstitial deletion of the long arm with breakpoints in (<i>q21</i> ; <i>q23</i>) and (<i>q12</i> ; <i>q22</i>)	Изохромозом 17 Isochromosome 17
Ток болести Course of the disease	Агресивна, брза еволуција у акутну леукемију Agressive, rapid leucemic transformation	Стабилан Stabile	Агресивна, брза смрт од последича тешке панцитопеније Agressive, early death due to severe cytopenia
Цитолошке карактеристике Morphological characteristics	Изражена дисгранулопоеза Severe dysgranulopoiesis	Умерена тролинијска дисплазија Moderate trilineage dysplasia	Изражена тролинијска мијелодисплазија, посебно E-лозе и МК-лозе Severe trilineage dysplasia, particularly of E- and MK-lineage

тврдила да је, практично, сваки хромозом подложен реаранжману у *pMDS*, при чему код већине болесника у кариотипу доминира губитак генетског материјала, настао услед монозомије, делеције или небалансиране транслокације (Табела 1). За разлику од *de novo AML*, где се најчешће налазе реципрочне транслокације и инверзије на одређеним тачкама прекида, код више од 80% болесника са *pMDS* хромозомски реаранжмани се карактеришу губитком хромозомског материјала [3]. У контексту изучавања патогенезе *pMDS*, губици овако великих количина генетског материјала отежавају идентификацију потенцијалних тумор-супресорних гена [3].

Губитак генетског материјала на *17p*, који је настао као последица делеције, монозомије или небалансиране транслокације, најчешће је удружен са узнапредовалим или хематолошким малигнитетима типа *MDS* и *AML* рефрактарним на терапију и високом учесталости мутација *p53* тумор-супресорног гена [10, 11]. Тумор-супресорни ген *p53* мапиран је у региону *17p13* и његов фосфопротеински продукт учествује у регулацији транскрипције. Мутације овог гена су утврђене код 11% испитиваних болесника са *pMDS* [10]. Код 75% болесника са *MDS* и *del(17p)* присутан је посебан тип дисгранулопозе (комбинација псеудо-Пелгер-Хует (*Pelger-Huet*) аномалије и малих вакуолираних гранулоцита), који није нађен ни у једном другом хромозомском реаранжману. Удруженост *del(17p)*, специфичног типа дисгранулопозе и високе учесталости *p53* мутација („*missence*” мутације ексона од 5 до 8) сматра се посебним морфолошко-цитогенетско-молекуларним ентитетом код мијелоидних обољења [11]. При том није познато да ли су морфолошке карактеристике тзв. *17p* синдрома непосредно повезане са мутацијом гена *p53* или неког другог, проксимално локализованог гена. Наша два болесника са *del(17p)* испољила су већину одлика *17p* синдрома – изражену дисгранулопозу и агресиван ток болести. Недавно су Меклур (*McClure*) и сарадници [12] издвојили изоловани *i(17q)* као посебан цитогенетски синдром који се одликује мешавином мијелопролиферативних и мијелодиспластичних ка-

рактеристика и агресивним клиничким током. Наш болесник са *RARS* и *i(17q)* као појединачном аберацијом имао је брз и фаталан ток болести, што је делом објашњено и присуством мутације *p53*, која је доказана на ексону 6. Овај болесник је детаљно приказан у одвојеној публикацији [13]. Абнормалности хромозома 17 биле су чест налаз у комплексним кариотиповима наших болесника (у 8 од 26 случајева). Код половине ових болесника био је присутан губитак хромозомског материјала на кратком краку хромозома 17 у виду монозомија и делеција, што у контексту њихове лоше прогнозе може да укаже на улогу мутација *p53* у патогенези и прогресији болести и у овим случајевима. С друге стране, присуство интерстицијалне делеције дугог (*q*) крака хромозома 17 у иницијалном кариотипу код два наша болесника са *RAEB* и у еволутивном кариотипу цитогенетски надгледане болеснице није неповољно утицало на ток болести, што не указује на присуство гена посебно значајних за патогенезу *MDS* који су лоцирани на дугом краку хромозома 17.

ЗАКЉУЧАК

Резултати ове студије указују на значајну учесталост абнормалности хромозома 17 у *pMDS*, посебно у тзв. комплексним кариотиповима. Губитак генетског материјала на кратком краку хромозома 17 у *pMDS*, у форми једноставних или комплексних хромозомских аберација, блиско је повезан са лошом прогнозом болести.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hamblin T, Oscier D. The myelodysplastic syndrome - a practical guide. *Haematol Oncol* 1987; 5:19-34.
2. Boogaerts M, Verhoef G, Demuyne H. Treatment and prognostic factors in myelodysplastic syndromes. *Bailliere's Clinical Haematology* 1996; 9(1):161-83.
3. Mufti G. Chromosomal deletions in the myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 1992; 15:35-41.

4. Greenberg, P, Cox C, Le Beau M, Fenaux P, Morel P, Sanz G. et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89(6):2079-2088.
5. Marisavljević D. Evolucija primarnog mijelodisplastičnog sindroma. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, 2000.
6. Bennett J, Catovsky D, Daniel M, Flandrin G, Galton D, Gralnick H, Sultan C. FAB cooperative Group. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51:189-199.
7. Reizenstein P, Ost A. Minimal diagnostic criteria for the myelodysplastic syndrome in clinical practice. *Leuk Res* 1992; 16(1):3-11.
8. Novak A, Kruškić M, Ludoški M, Jurkovski V. Rapid method for obtaining high quality chromosome banding in the study of hemopoietic neoplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1994; 74(6):109-14.
9. ISCN: An International System for Human Genetic Nomenclature. Ed: Felix Mitelman, Basel, Karger, 1995.
10. Wattel E, Preudhomme C, Hecqet B, Vanrumbeke M, Quesnel B, Dervite I, Morel P, Fenaux P. p53 mutations are associated with resistance to chemotherapy and short survival in hematologic malignancies. *Blood* 1994; 84(9):3148-57.
11. Lai J-L, Preudhomme C, Zandecki M, Flactif M, Vanrumbeke M, Leppelley P, Wattel E, Fenaux P. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with 17p deletion: an entity characterized by specific dysgranulopoiesis and high incidence of P53 mutations. *Leukemia* 1995; 9:370-81.
12. McClure R, Dewald G, Hoyer J, Hanson C. Isolated isochromosome 17q: a distinct type of mixed myeloproliferative disorder/myelodysplastic syndrome with an aggressive clinical course. *Br J Haematol* 1999; 106:445-54.
13. Lazarević V, Đorđević V, Magić Z, Marisavljević D, Čolović M. Refractory anemia with ring sideroblasts associated with i(17q) and mutation of the TP53 gene. *Cancer Genet Cytogenet* 2002; 136(1): 86-9.

ABNORMALITIES OF CHROMOSOME 17 IN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES: INCIDENCE AND BIOLOGICAL SIGNIFICANCE

Dragomir MARISAVLJEVIĆ, Zoran ROLOVIC, Milena PANTIC, Angelina NOVAK, Vesna DJORDJEVIC, Vladimir LAZAREVIC, Darinka BOSKOVIC, Milica COLOVIC

Institute of Haematology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade

ABSTRACT

Cytogenetic analysis has proven to be a mandatory part of the diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS) as well as a major indicator for predicting clinical course and outcome. Aside from the 5q-syndrome, no specific clinico-cytogenetic entity has been reported. To determine the incidence and clinical significance of acquired abnormalities of chromosome 17 in adult primary MDS, we reviewed the cytogenetic features of 271 patients detected at our institution during a 10-year period. Clonal cytogenetic abnormalities were identified in 109 cases. Among them, abnormalities of chromosome 17 were identified in 13 patients (11.9%). Five patients had „single” defects, while in eight patients abnormalities of chromosome 17 were associated with other chromosomal rearrangements („complex” defects). After chromosomes 5, 7, 8 and 1, abnormalities of chromosome 17 were the most frequent chromosomal rearrangements in our patients with MDS. Following „single” defects of chromosome 17 were identified: del(17)(p12) in two cases, and i(17)(q10), del(17)(q21;q23) and del(17)(q12;q22) in one case each. Two patients with del(17p), one with RAEB-t and the other one with CMML, had an aggressive course of the disease with accelerated leukemic transformation and short survival. Patient with i(17q) had RARS subtype and died soon after diagnosis, while other two cases with interstitial deletions of

the long arm of chromosome 17 had RAEB subtype and stable, no progressive course of the disease. Among „complex” karyotypes with abnormalities of chromosome 17 we identified der(17) in four, monosomy 17 in two, and del(17p) and i(17q) in one case each. Most of these patients transformed to acute leukemia and had very short survival.

The results of this study suggest that abnormalities of chromosome 17 are frequent finding in MDS. Loss of genetic material in 17p, both in „single” and „complex” defects, seems to be closely related to poor prognosis of MDS patients.

Key words: myelodysplastic syndromes, chromosome 17, abnormalities, prognosis, incidence.

Dragomir MARISAVLJEVIĆ
 Institut za hematologiju
 Klinički centar Srbije
 Dr Koste Todorovića 2, 11000 Beograd
 Tel: 011 301 07 49
 Faks: 011 699 937
 E-mail: maris@tehnicom.net