

МИЕЛОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

MYELOID TUMORS

Цитогенетическая характеристика сложных кариотипов методом многоцветной FISH при миелодиспластических синдромах и связанных с ними острых миелоидных лейкозах

Cytogenetic Characterization of Complex Karyotypes by Multicolor FISH in Myelodysplastic Syndromes and Associated Acute Myeloid Leukemias

М.В. Латыпова, Н.Н. Мамаев, Т.Ю. Грачева, Т.Л. Гиндина

MV Latypova, NN Mamaev, TYu Gracheva, TL Gindina

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022

RM Gorbacheva Scientific Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation; IP Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6/8 L'va Tolstogo ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

Проведен детальный анализ сложных кариотипов (СК) с использованием данных многоцветной FISH у 27 больных с миелодиспластическими синдромами (МДС) и связанными с МДС острыми миелоидными лейкозами (ОМЛм). Несмотря на большое разнообразие выявленных генетических нарушений, наиболее частые вовлечения в перестройки, как и по данным литературы, касались хромосом 5, 8 и 7 (79, 76 и 73 % соответственно). Данное обстоятельство позволило нам сформировать две независимые цитогенетические подгруппы с перестройками хромосом 5/7 и 5/7/8. При этом было показано, что для хромосом 5 и 7 были свойственны преимущественно несбалансированные повреждения кариотипа, а для хромосомы 8 — их сочетания с трисомиями. В ходе выполнения работы также выяснено, что в состав сложных маркеров чаще других включался материал хромосомы 7, что не нашло пока должного объяснения. В то же время накопление в СК материала хромосомы 8 ассоциировалось с более благоприятным течением подлежащего заболевания. С другой стороны, тщательный анализ структуры части сверхсложных маркеров СК дал основание утверждать о весомом участии в их формировании хромотрипсиса. Что касается общей выживаемости больных МДС и ОМЛм в искусственно сформированных нами объединенных подгруппах больных с комбинациями вовлеченных хромосом 5/7 и 5/7/8, она была статистически значимо хуже при ОМЛм ($p = 0,035$).

Complex karyotypes (CK) were thoroughly analyzed by using the data of multicolor FISH in 27 patients with myelodysplastic syndromes (MDS) and MDS-associated acute myeloid leukemias (AMLm). Despite a vast variety of identified genetic impairments, chromosomes 5, 8, and 7 appeared to be most frequently (79 %, 76 %, and 73 %, respectively) involved in rearrangements, a fact also documented in literature. In view of this, two independent cytogenetic subgroups with chromosome 5/7 and 5/7/8 rearrangements were formed. Chromosomes 5 and 7 predominantly showed unbalanced karyotype, and chromosome 8 was characterized by its combinations with trisomies. The study also revealed that complex markers, more often than the other ones, contain chromosome 7 material, which has not so far been adequately explained. At the same time, the accumulation of chromosome 8 material in CK was associated with a more favorable course of underlying disease. On the other hand, detailed structural analysis of some supercomplex CK markers affords grounds for the assertion that chromothripsis notably participates in their formation. The overall survival of MDS and AMLm patients in artificially formed joint subgroups with combinations of involved chromosomes 5/7 and 5/7/8 was significantly lower than in AMLm ($p = 0.035$).

Ключевые слова: МДС, ОМЛ из МДС, сложные кариотипы и маркеры, хромотрипсис, многоцветная FISH, перестройки хромосом 5, 8 и 7, клиническое значение.

Keywords: MDS, MDS-associated AML, complex karyotypes and markers, chromothripsis, multicolor FISH, chromosome 5, 7, and 8 rearrangements, clinical value.

Получено: 4 июня 2022 г.

Received: June 4, 2022

Принято в печать: 7 сентября 2022 г.

Accepted: September 7, 2022

Для переписки: Николай Николаевич Мамаев, д-р мед. наук, профессор, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; e-mail: nikmamaev524@gmail.com

Для цитирования: Латыпова М.В., Мамаев Н.Н., Грачева Т.Ю., Гиндина Т.Л. Цитогенетическая характеристика сложных кариотипов методом многоцветной FISH при миелодиспластических синдромах и связанных с ними острых миелоидных лейкозах. Клиническая онкогематология. 2022;15(4):396–413.

DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-4-396-413

For correspondence: Prof. Nikolai Nikolaevich Mamaev, MD, PhD, 6/8 L'va Tolstogo ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022; e-mail: nikmamaev524@gmail.com

For citation: Latypova MV, Mamaev NN, Gracheva TYu, Gindina TL. Cytogenetic Characterization of Complex Karyotypes by Multicolor FISH in Myelodysplastic Syndromes and Associated Acute Myeloid Leukemias. Clinical oncohematology. 2022;15(4):396–413. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-4-396-413

ВВЕДЕНИЕ

Представление о сложном кариотипе (СК) формировалось достаточно долго и уточняется в деталях до сих пор. Согласно большинству исследователей, к ним относятся кариотипы с 3 и более хромосомных изменений на метафазу [1, 2], хотя другие авторы поднимают эту планку до 5 нарушений [3]. Что касается больных с миелодиспластическими синдромами (МДС), этот пороговый уровень чаще ограничивается 3 хромосомными нарушениями. Естественно, что из-за сложности хромосомных перестроек, нередко связанных с хромотрипсисом (типом комплексных геномных изменений, приводящих к образованию сложных хромосомных перестроек) [4, 5], точная идентификация истинных хромосомных нарушений при использовании стандартных методик дифференциального окрашивания хромосом, включая обработку хромосомных препаратов трипсином (GTG-бэндинг), при этих патологиях была невозможна. Прорыв в данной области произошел сравнительно недавно и был связан с разработкой техники многоцветной флуоресцентной гибридизации *in situ* (mFISH).

Одной из первых работ в этом направлении стало исследование бельгийских исследователей, которые провели анализ структуры СК у 11 пациентов с МДС и у 25 — не связанными с МДС острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) [6]. Авторы выявили несколько цитогенетических подгрупп, в т. ч. -5/5q- (86%), 7q- (47%), обмена локуса 3q26 (19%), а также увеличение через амплификацию числа копий гена *MLL* (*KMT2A*) (17%). В результате выдвинуто предположение о неслучайной гетерогенности этих цитогенетических групп в отношении формирующих их цитогенетических характеристик при наличии очевидных различий между больными МДС и ОМЛ. Немаловажно и то, что у 15 (42%) из 36 пациентов имело место сочетанное вовлечение в перестройки хромосом 5 и 7, причем у 2 — в комбинации с трисомией 8. Проведенный нами дополнительный анализ этого материала показал, что представленные комбинации нарушений хромосом, как и изолированное поражение хромосомы 7 у больных МДС и ОМЛ, встречались с одинаковой частотой. В то же время изолированное вовлечение в перестройки хромосомы 5 у больных ОМЛ наблюдалось в 2 раза чаще, чем при МДС.

Позднее похожая работа с изучением роли частоты повреждений отдельных хромосом в составе СК была выполнена китайскими исследователями

[7]. В объединенной когорте первичных МДС и ОМЛ (16 и 22 больных соответственно) они обнаружили 206 нарушений хромосом, в т. ч. 73 количественных и 133 структурных, которые затрагивали все пары хромосом. Чаще других в перестройки вовлекалась хромосома 5, за которой с убывающей частотой (57,9, 55,3, 44,7, 36,8, 34,2 и 34,2%) следовали хромосомы 17, 8, 11, 7 и 21 соответственно. При этом преобладающими нарушениями оказались несбалансированные транслокации ($n = 98$). Среди структурно измененных хромосом преобладали дериваты 5-й и 8-й пар, за которыми с убывающей частотой следовали *der*(11), *der*(12), *der*(7), *der*(14), *der*(15) и *der*(17). Кроме того, в этой смешанной когорте больных обнаружено 14 сбалансированных транслокаций, 55 моносомий, 15 частичных делеций и 18 трисомий. Чаще всего имели место повреждения хромосом или плеч 5/5q, 17/17q, 7, 18, 21 и 19, а трисомия была больше свойственна хромосомам 8 и 6. Среди сбалансированных транслокаций доминирующей была *t*(8;21). В целом все эти находки показали несомненное превосходство mFISH при изучении тонкой структуры СК у больных МДС и ОМЛ, что способствовало ее активному использованию в клинической практике.

В отличие от отмеченных выше исследований наша когорта больных представляется более однородной, поскольку она включает не весь спектр больных ОМЛ, а только тесно связанных с МДС (ОМЛм). С другой стороны, наличие данных альтернативных исследований дало возможность сравнить полученные в них результаты, чтобы вносить необходимые коррективы в ход выполнения настоящей работы и будущих исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данное исследование включено 27 больных МДС ($n = 14$) и ОМЛм ($n = 13$), которые наблюдались нами в клинике НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой в период с 2011 по 2020 г. Среди них было 18 (67%) больных женского пола и 9 (33%) — мужского в возрасте 2–87 лет (медиана 50 лет). У 14 (52%) пациентов окончательный диагноз квалифицировался как первичный ($n = 11$) или вторичный ($n = 3$) МДС. У остальных 13 пациентов установлен ОМЛм. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) выполнена у 11 (41%) больных (6 — с МДС и 5 — с ОМЛм).

Стандартное цитогенетическое исследование и mFISH осуществляли следующим образом. Матери-

алом для исследования служил костный мозг, полученный во время пункции грудины. Аспират костного мозга доставляли в лабораторию в вакутейнере, содержащем гепарин. Для получения метафазных пластинок использовали краткосрочное 24-часовое культивирование клеток в питательной среде RPMI 1640 («Биолот», Россия), обогащенной 20% эмбриональной телячьей сывороткой (HyClone, США). Для остановки деления клеток использовали раствор колхицина, разведенный до 10^{-5} /л. После ряда предварительных этапов подготовки материала полученную суспензию клеток раскапывали на холодные влажные предметные стекла, оценивали под микроскопом в темном поле на предмет наличия достаточного количества метафазных пластинок, после чего их оставляли для высушивания и «старения» на несколько дней.

Стандартное дифференциальное окрашивание хромосом проводили согласно GTG-технике. Для анализа структуры хромосом использовали микроскоп AxioImager (Carl Zeiss, Германия) и программное обеспечение Ikaros (MetaSystems, Германия) [8], позволяющие исследовать метафазы в проходящем свете. В каждом наблюдении оценивали не менее 20 метафазных пластинок. Интерпретацию хромосомных нарушений и запись кариотипа проводили согласно международной цитогенетической номенклатуре ISCN 2020 г. [9]. Структурные перестройки или амплификацию хромосом рассматривали как клоновые, если они были выявлены в 2 клетках и более, в то время как при потере хромосом клоновыми считали нарушения, обнаруженные в 3 клетках и более.

FISH проводили по протоколам производителей коммерческих ДНК-зондов. На первом этапе осуществляли одновременную денатурацию двухцепочечной молекулы ДНК-зонда, меченного флюорохромом, и ДНК-мишени, фиксированной на стекле цитогенетического препарата. Второй этап включал совместную

гибридизацию комплементарных районов ДНК-зонда и ДНК-мишени. Третий этап заключался в постгибридизационной отмывке препарата от ДНК-зонда, не связавшегося с ДНК-мишенью, и в окрашивании хромосом красителем DAPI, который позволяет визуализировать любой хромосомный материал.

Анализ изображений осуществляли на моторизованном микроскопе AxioImager M2 (Carl Zeiss, Германия), оснащенном соответствующим набором узкополосных флюоресцентных фильтров к флюорохромам DAPI, DEAC, FITC, SpO, TxRed, Cy5 и программным обеспечением для анализа флюоресцентных сигналов ISIS (MetaSystems, Германия). С этой целью применяли коммерческие 24XCyte ДНК-зонды, представляющие смесь хромосомоспецифичных ДНК-зондов (MetaSystems, Германия), которые покрывают весь геном человека и выделяют своим цветом каждую пару хромосом. В процессе приготовления 24-цветного ДНК-зонда применяли принцип комбинированного мечения ДНК, использующий основные флюорохромы DEAC, FITC, SpO, TxRed и Cy5, а также дополнительный флюорохром DAPI. Для достижения результата проводили последовательную съемку шести изображений по каждому цветовому каналу, а потом, используя возможности программы, осуществляли их автоматическое объединение в одно цветное RGB-изображение с присвоением своего псевдоцвета каждой хромосоме [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как видно из данных табл. 1, у 21 (78 %) из 27 больных имело место сочетанное повреждение хромосом 5 и 7 (5/7), причем у 12 пациентов (№ 3, 6, 7, 10, 11, 12, 18, 21, 22, 23, 24, 25) оно было связано с перестройками хромосомы 8 (подгруппа 5/7/8). Анализируя эти

Таблица 1. Сравнительная характеристика основных изменений хромосом в составе сложных кариотипов у больных МДС и связанных с ним ОМЛ с помощью многоцветной FISH

Пациент	И.Ф., возраст	Диагноз	Кариотип по данным многоцветной FISH	Цито- генети- ческий подтип	АллоТГСК			ПЖ, дни
					Вы- пол- нение	Тип	РК	
1	М.Н., 57, Ж	МДС-ИБ2	ish.45, XX, dup(1)(q21q32), del(3)(q21q27), der(5)t(5;7), -7 , del(12)(p11p12) [24XCyte]	5/7	Да	н/р	н/м	645**
2	Б.Т., 55, Ж	МДС-ИБ2	ish.46-48, XX, der(5)t(5;7), -7 , del(13)(q12q22), t(18;20)(q11;q11), +18, +19, +21 [24XCyte]	5/7	Нет			357**
3	С.А., 51, М	МДС-КС	ish.43, XY, der(2)t(2;7)(q31;q?) , -3, del(4)(p11), der(5)t(3;5) , der(7)t(2;7) , -12, inv(13)(p11q14), -15, der(15)t(15;18), der(16)t(15;16)(q21;p13), der(17)(4;12;3;17), del(18)(q12) [24XCyte]	5/7	Нет			379**
4	Г.Ю., 50, Ж	МДС-ИБ1	ish.51, XX, +r(4)(??), -5, del(7)(q32q36) , +9, r(9)(??)x2, +r(10)(??), der(17)t(9;17)(p13;p13), +21, der(21)t(21;22)(q22;q11), +der(?)t(5;??)x2 [24XCyte]	5/7	Нет			522**
5	З.А., 74, Ж	МДС, неуточ- ненный	ish.45, XX, der(1)(13;1;13;1), der(4)t(4;7)(?p15;p12) , del(5)(q22q35), -7 , der(13)(13;7;13;4) [24XCyte]	5/7	Нет			0?
6	Ф.Л., 87, Ж	МДС-ИБ1	ish.77<4n>, XX, der(X)(21;X;21;12), der(1)(14;20;1)x2, ins(3;8)(?;??), -5x2, -7x2, der(7)t(2;7), der(7)t(7;12), -8 , der(10)(18;X;10), -11x2, -12x2, der(13)t(13;22)(p10;p10), i(13)(q10), -14x2, der(14)t(13;14)(q24;14), der(14)(7;1;14) , -15x2, -16, del(16)(p?), der(17)(X;1;18;11;17;X;8) , -18x2, +19x2, del(19)(p13), der(19)del(19)(p12)del(19)(q12), der(19)(12;19;12;19;11;19), der(19)(19;11;19;11;19;5) , der(20)(14;20;14;X) , -21, -22, der(22)(7;1;7;12;22) [24XCyte]	5/7/8	Нет			53**

Таблица 1. Окончание

Пациент И.Ф., возраст № (лет), пол	Диагноз	Кариотип по данным многоцветной FISH	Цито- генети- ческий подтип	АллоТГСК			ПЖ, дни
				Вы- пол- нение	Тип	РК	
7 В.С., 71, Ж	МДС-ИБ2	ish.48-50, XX, +der(2)del(2)(p?)del(2)(q?)x1-3, der(2)t(2;8)(p11;q11), der(5)t(2;5), +der(5)t(5;8)(q11;p11), -7, i(8)(q10)x1-2, del(12)(p11), +19, t(20;22)(q11;p11)[24XCyte]	5/7/8	Нет			52**
8 М.А., 28, М	втМДС	ish.43, XY, -3, del(4)(q26), der(5)t(5;17)(q11;q11), -7, t(8;12)(q22;p11), der(9)t(3;9)(q25;q22), -17[24XCyte]	5/7/8	Нет			204**
9 З.Я., 37, Ж	втМДС	ish.44, XX, t(3;15)(q21;q13), del(4)(q31), der(5)t(5;12)(q11;q11), -7, t(8;20)(q24;q11), der(10)t(7;10)(p14;p14), +del(11)(q23), -12, t(13;18)(q33;p11), -16, i(21)(q10)[24XCyte]	5/7/8	Нет			226**
10 Г.А., 40, Ж	МДС-ИБ2	ish.47, XX, der(1)t(1;13), der(3)t(1;3)(?;p21), der(5)del(5)(p11), del(5)(q11), der(7)del(7)(p?)del(7)(q?), +8, der(13)t(5;13)(?;q12), der(14)t(3;14)(?;q?), der(17)t(5;17)(?;p11)[24XCyte]	5/7/8	Да	н/р	м	1113**
11 Ш.Н., 22, Ж	МДС-ИБ2	ish.45, XX, t(1;12)(p36;p13), der(2)t(2;11)(q35;?), der(4)(7;8;4), der(5)t(5;8)(q13;q22), -7, der(8)(8;7;8;4)x2, der(8)(8;7;8;7;8;4), der(8)t(5;8), der(8)(12;8;7), der(13)(13;8;12)[cp10][24XCyte]	5/7/8	Да	н/р	н/м	1435*
12 П.Р., 54, М	втМДС	ish.47, X, -Y, der(3)del(3)(p11)del(3)(q11), dic(5;17)(q11;p11), del(12)(p11), del(13)(q12), der(17)t(3;17)(?;p11), +21, dup(21)(q21q22)x2, +22[24XCyte]	5	Да	н/р	м	420**
13 К.Ю., 36, Ж	МДС-ИБ2	ish.46, XX, t(3;15)(p22;q15), der(5)t(5;12)(p11;q13)del(5)(q13q33), der(8)t(1;8)(q21;p11), der(12)t(5;12)(?;q13), der(19)t(1;19)(q21;p13), der(22)t(1;22)(q21;p12)[24XCyte]	5/8	Да	н/р	м	1444**
14 Л.В., 39, М	МДС-ИБ1	ish.49, XY, i(9)(q10), der(9)del(9)(p11)del(9)(q11), +del(9)(q13q34)x3[24XCyte]	Другой	Да	род	м	488**
ОМЛ из МДС							
15 З.Н., 36, Ж	ОМЛм	ish.46, XX, der(5)(5;7;5;7), -7, der(12)t(12;13)(p13;q?), del(13)(q11), +r(13)[24XCyte]	5/7	Да	н/р	н/м	444**
16 П.А., 76, М	ОМЛм	ish.44, XY, -2, dup(2)(q31q36), der(4)del(4)(p14)del(4)(q2?), der(5)t(5;10)(q11;q?), -7, -11, +14, del(14)(q11), -18, +19, del(19)(p13), qdp(19)(q12q13.4), der(?18)(11;18;7;2;22)[24XCyte]	5/7	Нет			65**
17 К.Н., 50, Ж	ОМЛм	ish.44, XX, der(2)t(2;10)(q37;?), del(5)(q13q33), der(5)t(5;18)(p11;q21), +der(5)t(4;5)(?;?), der(6)dup(6)(p21p22)t(6;13)(p22;?), -7, der(10)t(4;10)(q?;p13), del(12)(p13), der(12)(14;4;12), ins(14;7)(q11;??), -18[24XCyte]	5/7	Нет			289**
18 С.М., 46, М	ОМЛм	ish.43, XY, der(5)t(5;13)(p10;q10), -7, -13, -16, der(17)t(16;17)(p1?;p11), der(21)t(13;21)(q14;p11)[24XCyte]	5/7	Да	род	м	328**
19 Д.В., 63, М	ОМЛм	ish.46-47, XY, der(4)(21;4;7), der(5)(5;18;8), -7, del(7)(q22q32), -8, +der(15)t(8;15)(q11;q11)x2-4, der(18)t(15;18)(q15;q21), -20, del(20)(q13), der(21)(21;7;4)[24XCyte]	5/7/8	Нет			241**
20 Ч.О., 38, Ж	ОМЛм	ish.45-46, XX, der(1)t(1;19)(q11;?), der(3)t(1;3)(q32;p25), del(4)(q11), der(5)t(5;11)(q13;q14), -7, der(7)t(5;7)(?;q22), +8, der(11)t(11;17), der(12)t(7;12)(?;p11), ins(7;15), der(17)t(4;17)(q13;q23), der(19)t(1;19)(p21;p12)[24XCyte]	5/7/8	Нет			110**
21 К.И., 60, Ж	ОМЛм	45,XX, -4, del(5)(q13q33), der(7)t(7;11)(q11;??), der(8)t(8;10)(q21;q?), del(13)(q12q22), der(18)t(4;18)(?;q11), -20, der(21)t(20;21), der(22)t(20;22)(?;q13), del(22)(q11), +22[24XCyte]	5/7/8	Нет			182**
22 К.А., 57, М	ОМЛм	ish.75-76<4n>, XY, -X, -Y, -2x2, -3, der(3)t(3;14)(p11;q11), -4, -5, der(5)t(2;5)(q11;q11), der(7)t(2;7)(q21;q22)x2, +8x2, -9, -10, -11x2, -12, -16x2, -17, del(17)(q25), -20, -22[24XCyte]	5/7/8	Да	гапло	н/м	218**
23 Я.Т., 60, Ж	ОМЛм	44,XX, der(3)t(3;17)(p21;??), -5, der(7)(7;21&22), del(8)(p21), +der(8)t(5;8)(?;p21), der(12)(13;7;3;17;12), del(13)(q14), der(17)del(17)(p11)del(17)(q22), der(19)t(19;20)(q13;??), del(20)(q11), -21, -22 [24XCyte]	5/7/8	Да	род	н/м	391**
24 Ю.А., 56, М	ОМЛм	ish.47, X, -Y, der(5)t(5;12)(q31;q2?4), -7, +8, i(8)(q10), der(12)(12;5;7), dic(13;19)(p11;p13)del(13)(q?), +der(13)t(13;16), -16, -18, del(18)(p11), del(19)(p13), der(19)del(19)(p13)del(19)(q13), +der(21)t(20;21)(p11;p12)x2, der(22)t(18;22)(q12;p11), +mar [24XCyte]	5/7/8	Да	род	н/м	687**
25 Г.Ж., 10, Ж	ОМЛм	ish.53-59, XX, +1, +del(1)(q12), +2, +der(2)t(X;2)(?;p24), +der(2)t(2;16)(q21;q24), der(3)t(3;13)(q21;?), del(5)(q13), +del(6)(q13), +6, +8, +der(10)del(10)(p11.2)del(10)(q21), der(12)(12;20;12), der(12)(3;12;2), +15, +18, +19, +der(20)t(10;20), +der(20)t(5;20), +21[cp5][24XCyte]	5/8	Нет			201**
26 О.Н., 33, Ж	ОМЛм	ish.48, XX, der(3)t(3;9)(q11;?), dic(7;16)(p11;p11), +del(9)(q11), der(9)(3;9;3;9), -18, t(19;21)(?q11;p11), +21x2[24XCyte]	7	Нет			129**
27 Г.С., 2, Ж	ОМЛм	ish.48, XX, der(4)(4;19;1), +11, der(19)t(1;19)(?;p13), +21[24XCyte]	Другой	Нет			213**

Полужирным шрифтом выделены хромосомные aberrации, включающие хромосомы 5, 7 и 8.

аллоТГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток; втМДС — вторичный МДС; гапло — аллоТГСК от гаплоидентичного донора; м — миелоаблативный; МДС — миелодиспластический синдром; МДС-ИБ1(ИБ2) — МДС с избытком бластов-1(2); МДС-КС — МДС с кольцевыми сидеробластами; н/м — немиелоаблативный; н/р — аллоТГСК от неродственного донора; ОМЛм — острый миелобластный лейкоз из предшествующего МДС; ПЖ — продолжительность жизни (рассчитывалась от даты постановки диагноза МДС); РК — режим кондиционирования; род — аллоТГСК от родственного донора.

* Остается под наблюдением.

** Летальный исход.

данные, необходимо учитывать, что выделенные в данном исследовании цитогенетические подгруппы хромосом 5/7 и 5/7/8 далеко не однородны, поскольку представляющие их повреждения хромосом были неидентичными, что будет продемонстрировано далее многократно.

В частности, кажущиеся однотипными перестройки хромосом 5 и 7 у больных № 1 и 2 при внимательном рассмотрении объединяющих их транслокаций $t(5;7)$ на самом деле таковыми не являлись. В то же время у других пациентов с МДС из цитогенетической подгруппы 5/7 различия в изменениях этих хромосом были представлены еще сильнее. Например, у больного № 3 часть материала хромосомы 5 принимала участие в формировании транслокации $t(3;5)$, в

то время как хромосома 7 участвовала в реципрокной транслокации $t(2;7)$ (рис. 1).

У другой больной (№ 4) при наличии в кариотипе простой делеции 7q имела место моносомия 5, которая оказалась частично включенной в состав двух, до конца не распознанных маркеров (рис. 2). Помимо этого следует отметить наличие у этой пациентки множественных кольцевых хромосом, которые затрагивали 4, 9 и 10-ю пары.

Еще в одном наблюдении из цитогенетической подгруппы 5/7 (№ 5) нарушения структуры хромосомы 5 были представлены простой делецией, в то время как изменения хромосомы 7 были сложнее. Они заключались во включении части ее хромосомного материала в транслокацию $t(4;7)$, а также в состав

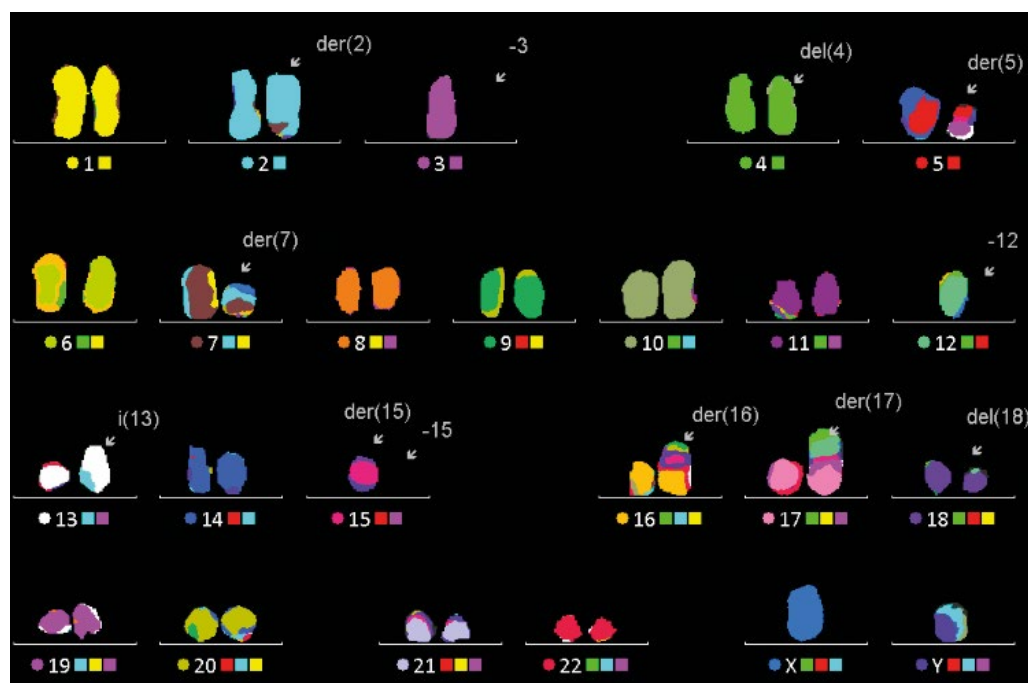


Рис. 1. Сложный кариотип клеток костного мозга у пациента с МДС (№ 3), выявленный с помощью многоцветной FISH: ish.43, XY, $der(2)t(2;7)(q31;q?)$, -3 , $del(4)(p11)$, $der(5)t(3;5)$, $der(7)t(2;7)$, -12 , $inv(13)(p11q14)$, -15 , $der(15)t(15;18)$, $der(16)t(15;16)(q21;p13)$, $der(17)(4;12;3;17)$, $del(18)(q12)[24XCyte]$

Fig. 1. Complex karyotype of bone marrow cells in male MDS patient No. 3 identified by multicolor FISH: ish.43, XY, $der(2)t(2;7)(q31;q?)$, -3 , $del(4)(p11)$, $der(5)t(3;5)$, $der(7)t(2;7)$, -12 , $inv(13)(p11q14)$, -15 , $der(15)t(15;18)$, $der(16)t(15;16)(q21;p13)$, $der(17)(4;12;3;17)$, $del(18)(q12)[24XCyte]$

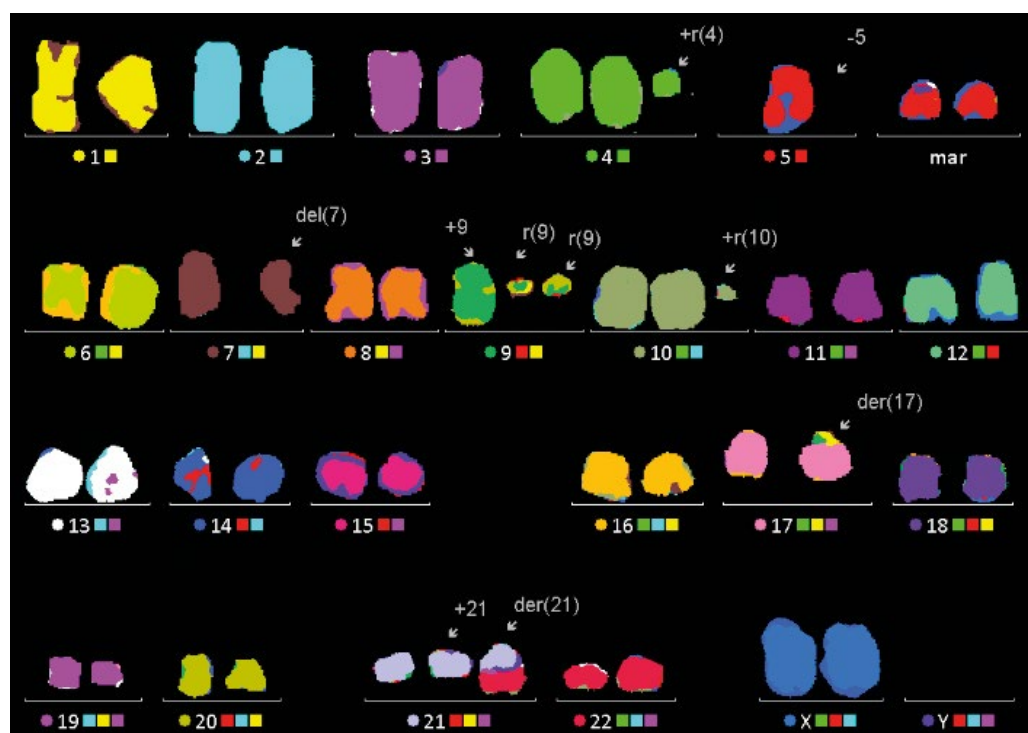


Рис. 2. Сложный кариотип клеток костного мозга у пациентки с МДС (№ 4), выявленный с помощью многоцветной FISH: ish.51, XX, $+r(4)(?)$, -5 , $del(7)(q32q36)$, $+9$, $r(9)(?)x2$, $+r(10)(?)$, $der(17)t(9;17)(p13;p13)$, $+21$, $der(21)t(21;22)(q22;q11)$, $+der(?)$, $t(5;?)x2[24XCyte]$

Fig. 2. Complex karyotype of bone marrow cells in female MDS patient No. 4 identified by multicolor FISH: ish.51, XX, $+r(4)(?)$, -5 , $del(7)(q32q36)$, $+9$, $r(9)(?)x2$, $+r(10)(?)$, $der(17)t(9;17)(p13;p13)$, $+21$, $der(21)t(21;22)(q22;q11)$, $+der(?)$, $t(5;?)x2[24XCyte]$

сложного маркера $der(13)(13;7;13;4)$. Немаловажно и то, что в этом же кариотипе присутствовал еще один сложный маркер — $der(1)(13;1;13;1)$, который, как и рассмотренный выше, был сформирован структурно измененной хромосомой 1 и фрагментами хромосомы 13 (рис. 3). Данный факт может свидетельствовать о перестройках хромосомы 13 вследствие хромотрипсиса.

Не менее выраженное разнообразие изменений структуры хромосом было также отмечено нами в цитогенетической подгруппе больных МДС, характеризующейся наличием в клетках сочетания перестроек хромосом 5, 7 и 8 (№ 6, 7, 8, 9, 10, 11). По сложности

выявленных изменений первенство должно быть отдано кариотипу самой пожилой (87 лет) пациентки нашей когорты (№ 6). Как видно из данных табл. 1 и на рис. 4, в этом наблюдении хромосомный набор мог быть охарактеризован как околотетраплоидный с модальным числом 77 хромосом.

При этом имели место разнообразные изменения всех формирующих эту цитогенетическую подгруппу хромосом. Речь шла, в частности, об образовании как сложных маркеров $der(17)(X;1;18;11;17;X;8)$, $der(19)(19;11;19;11;19;5)$, $der(22)(7;11;7;12;22)$, так и более простых дериватов $der(7)t(2;7)$ и $der(7)t(7;12)$. Кроме того, в этом кариотипе были представлены такие

Рис. 3. Сложный кариотип клеток костного мозга у пациентки с МДС (№ 5), выявленный с помощью многоцветной FISH (А), а также селективные кариограммы из разных метафазных пластинок с маркерами (Б) $der(1)(13;1;13;1)$, (В) $der(13)(13;7;13;4)$. Итоговый кариотип: $ish.45, XX, der(1)(13;1;13;1), der(4)t(4;7)(?p15;p12), del(5)(q22q35), -7, der(13)(13;7;13;4)[24XCyte]$

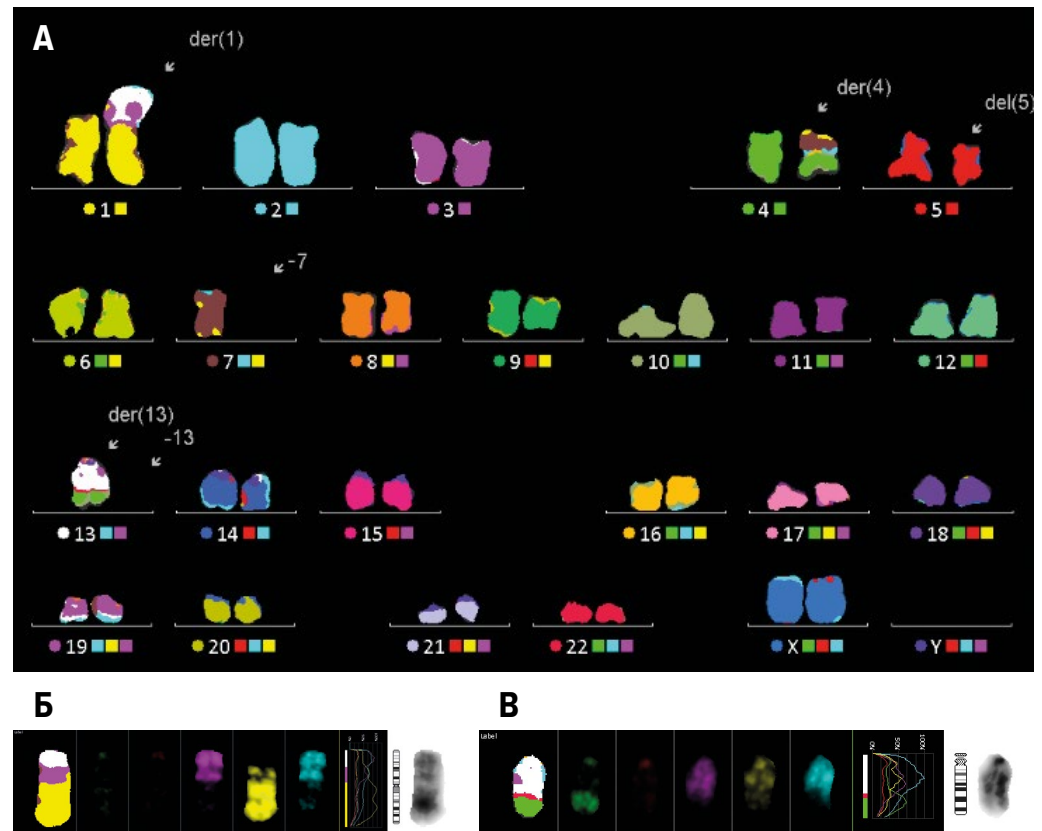


Fig. 3. Complex karyotype of bone marrow cells in female MDS patient No. 5 identified by multicolor FISH (A) as well as selective karyograms of different metaphase plates with the markers of (B) $der(1)(13;1;13;1)$, (C) $der(13)(13;7;13;4)$. Final karyotype: $ish.45, XX, der(1)(13;1;13;1), der(4)t(4;7)(?p15;p12), del(5)(q22q35), -7, der(13)(13;7;13;4)[24XCyte]$

Рис. 4. Сложный кариотип клеток костного мозга у пациентки с МДС (№ 6), выявленный с помощью многоцветной FISH: $ish.77<4n>, XX, der(X)(21;X;21;12), der(1)(14;20;1)x2, ins(3;8)(?;?), -5x2, -7x2, der(7)t(2;7), der(7)t(7;12), -8, der(10)(18;X;10), -11x2, -12x2, der(13)t(13;22)(p10;p10), i(13)(q10), -14x2, der(14)t(13;14)(q24;14), der(14)(7;1;14), -15x2, -16, del(16)(p?), der(17)(X;1;18;11;17;X;8), -18x2, +19x2, del(19)(p13), der(19)del(19)(p12)del(19)(q12), der(19)(12;19;12;19;11;19), der(19)(19;11;19;11;19;5), der(20)(14;20;14;X), -21, -22, der(22)(7;11;7;12;22)[24XCyte]$

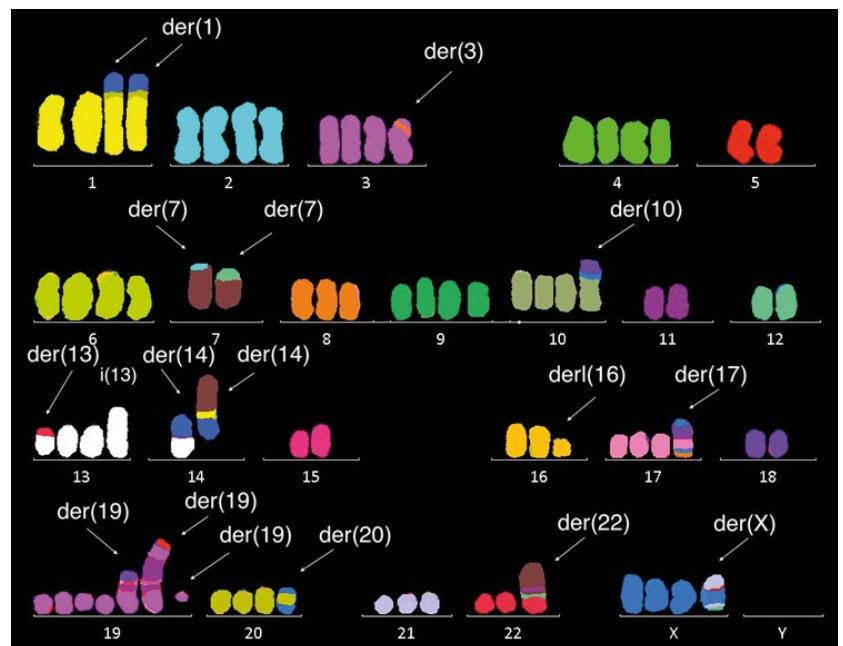


Fig. 4. Complex karyotype of bone marrow cells in female MDS patient No. 6 identified by multicolor FISH: $ish.77<4n>, XX, der(X)(21;X;21;12), der(1)(14;20;1)x2, ins(3;8)(?;?), -5x2, -7x2, der(7)t(2;7), der(7)t(7;12), -8, der(10)(18;X;10), -11x2, -12x2, der(13)t(13;22)(p10;p10), i(13)(q10), -14x2, der(14)t(13;14)(q24;14), der(14)(7;1;14), -15x2, -16, del(16)(p?), der(17)(X;1;18;11;17;X;8), -18x2, +19x2, del(19)(p13), der(19)del(19)(p12)del(19)(q12), der(19)(12;19;12;19;11;19), der(19)(19;11;19;11;19;5), der(20)(14;20;14;X), -21, -22, der(22)(7;11;7;12;22)[24XCyte]$

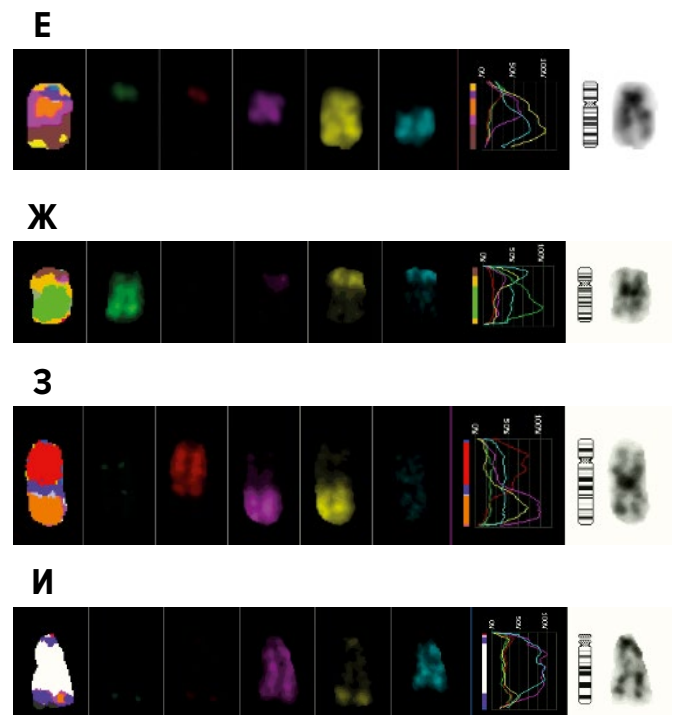
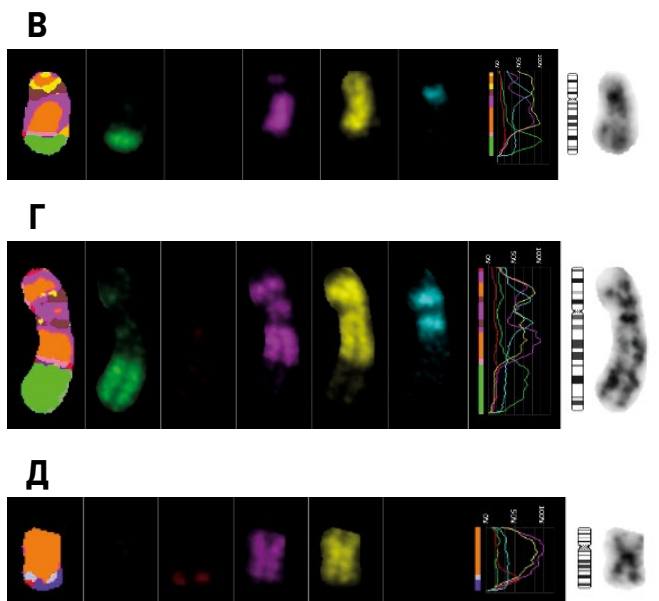
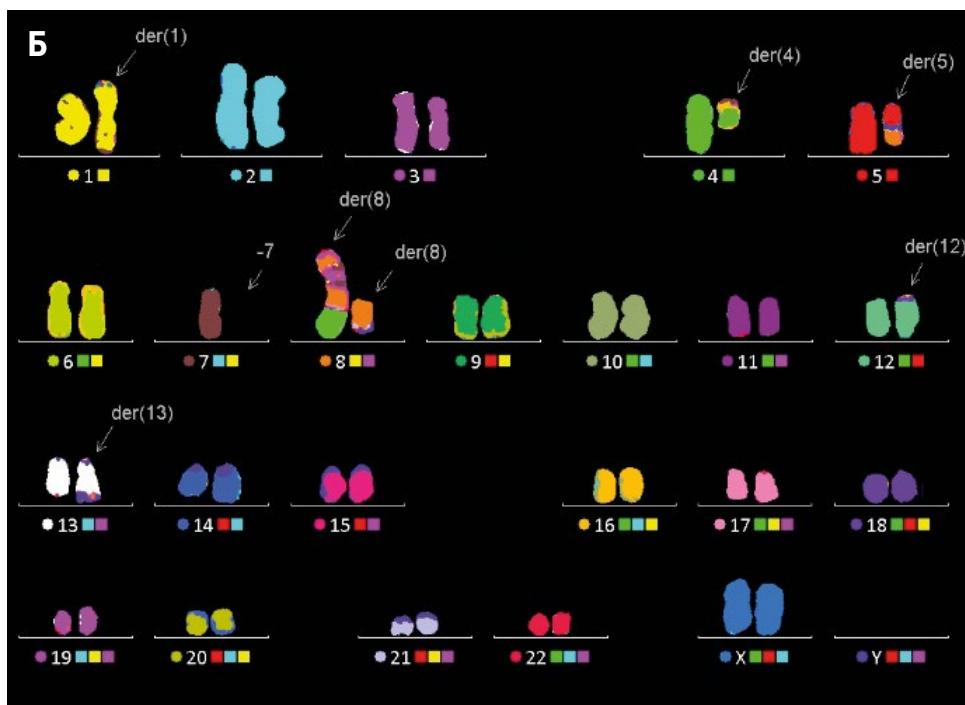
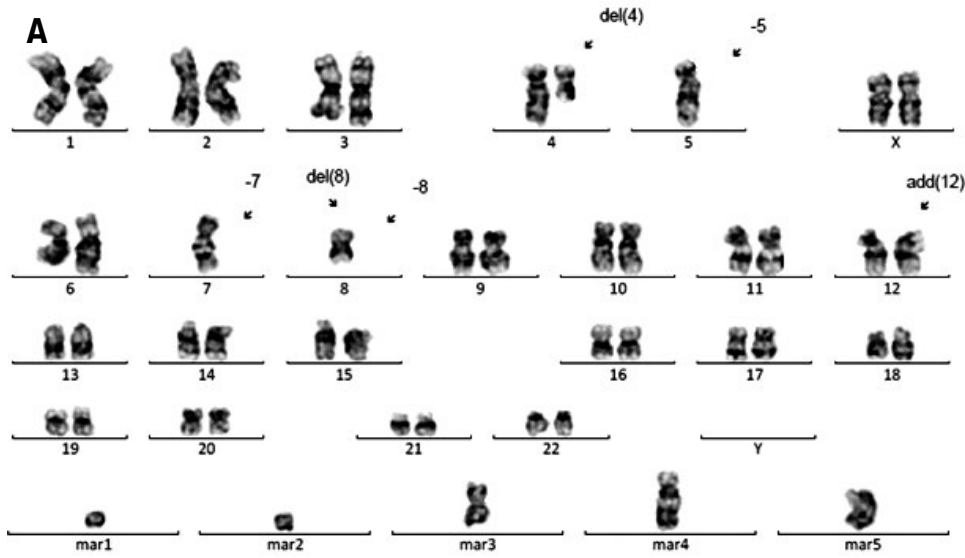


Рис. 5. Сложные кариотипы двух клеток костного мозга у пациентки с МДС (№ 11), выявленные с помощью (А) стандартного GTG-окрашивания и (Б) многоцветной FISH, а также селективные кариограммы из разных метафазных пластинок с маркерами (В) *der(8)(8;7;8;4)*, (Г) *der(8)(8;7;8;7;8;4)*, (Д) *der(8)t(5;8)*, (Е) *der(8)(12;8;7)*, (Ж) *der(4)(7;8;4)(7;8;4)*, (З) *der(5)t(5;8)*, (И) *der(13)(13;8;12)*. Итоговый кариотип: *ish.45, XX, t(1;12)(p36;p13), der(4)(7;8;4), der(5)t(5;8)(q13;q22), -7, der(8)(8;7;8;7;8;4), der(8)t(5;8)(q?q;q22), der(13)(13;8;12)[24X,Cyte]*

Fig. 5. Complex karyotypes of two bone marrow cells in female MDS patient No. 11 identified by (A) standard GTG-banding and (B) multicolor FISH, as well as selective karyograms of different metaphase plates with the markers of (B) *der(8)(8;7;8;4)*, (Г) *der(8)(8;7;8;7;8;4)*, (Д) *der(8)t(5;8)*, (Е) *der(8)(12;8;7)*, (Ж) *der(4)(7;8;4)(7;8;4)*, (З) *der(5)t(5;8)*, (И) *der(13)(13;8;12)*. Final karyotype: *ish.45, XX, t(1;12)(p36;p13), der(4)(7;8;4), der(5)t(5;8)(q13;q22), -7, der(8)(8;7;8;7;8;4), der(8)t(5;8)(q?q;q22), der(13)(13;8;12)[24X,Cyte]*

сложные маркеры, как $der(19)(12;19;12;19;11;19)$ и $der(X)(21;X;21;12)$, которые были сформированы разновеликими участками хромосом 11, 12, 21 на основе хромосом 19 и X. Ввиду преклонного возраста этой пациентки (87 лет) вопрос об аллотГСК не рассматривался, а продолжительность жизни (ПЖ) составила всего 53 дня. У другой больной МДС (№ 7) из той же цитогенетической подгруппы 5/7/8 с быстрым летальным исходом было увеличенное количество хромосом в кариотипе до 48–50 на метафазу. При этом генетический материал хромосомы 5 принимал участие в несбалансированных транслокациях $t(2;5)$ и $t(5;8)$. Кроме того, имела место изолированная моносомия 7, а вследствие образования изохромосомы $i(8q)$ — еще и трисомия по длинному плечу хромосомы 8 (см. рис. 8).

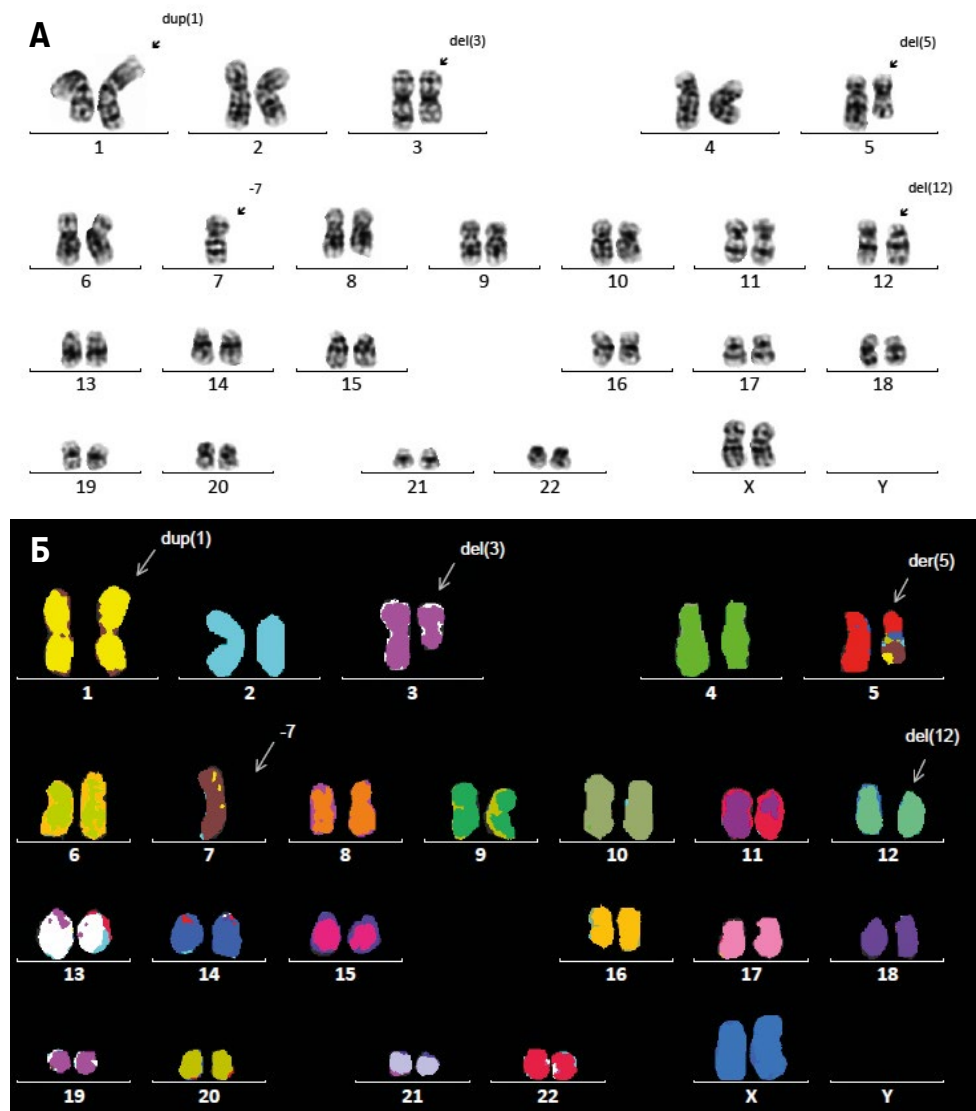
В этой цитогенетической подгруппе (№ 8–11) заслуживают внимания данные пациентов № 10 и 11, которым выполнена аллотГСК, что явно способствовало увеличению их ПЖ. При этом следует отметить, что в кариотипе одной из этих больных (№ 11) был выявлен ряд сложных маркеров, связанных с активным участием в их образовании хромосомы 8 (рис. 5, А, Б). В частности речь идет о маркерах $der(4)(7;8;4)$, $der(5)t(5;8)(q13;q22)$, $der(8)(8;7;8;4)$, $der(8)(8;7;8;7;8;4)$, $der(8)t(5;8)$, $der(8)(12;8;7)$ и $der(13)$

(13;8;12). Следует отметить, что все маркерные хромосомы в разном виде включали в свой состав хромосому 8 либо были ее производными в виде дериватов $der(8)(8;7;8;4)$, $der(8)(8;7;8;7;8;4)$, $der(8)t(5;8)$, $der(8)t(7;8)$, $der(8)(12;8;7)$ (рис. 5, В–Е) или же входили в состав несбалансированных транслокаций с ее участием — $der(4)(7;8;4)$, $der(5)t(5;8)$, $der(13)(13;8;12)$ (рис. 5, Ж–И). Отсюда следует, что пересмотренный после выполнения mFISH кариотип в данном наблюдении никоим образом не был связан с моносомией хромосомы 7, как полагалось ранее. Ввиду сложности хромосомных aberrаций у этой пациентки с МДС нельзя было полностью исключить возможность развития у нее феномена хромотрипсиса. Несмотря на это, больной была успешно проведена аллотГСК, которая позволила достичь полной клинической и цитогенетической ремиссии с ПЖ > 1435 дней.

Представленная на рис. 5 необычная структура маркерных хромосом позволила предположить их возникновение в ходе хромотрипсиса. Одним из следствий значительного увеличения в этом кариотипе количества копий генетического материала хромосомы 8 может быть более благоприятное течение этого варианта МДС у данной больной. Наряду с молодым возрастом пациентки (22 года) это помогло обеспечить ей самую

Рис. 6. Сложные кариотипы двух клеток костного мозга у пациентки с МДС (№ 1), выявленные с помощью (А) стандартного GTG-окрашивания и (Б) многоцветной FISH. Итоговый кариотип: $ish.45, XX, dup(1)(q21q32), del(3)(q21q27), der(5)t(5;7)(q13;?), -7, del(12)(p11p12)[24XCyte]$

Fig. 6. Complex karyotypes of two bone marrow cells in female MDS patient No. 1 identified by (A) standard GTG-banding and (B) multicolor FISH. Final karyotype: $ish.45, XX, dup(1)(q21q32), del(3)(q21q27), der(5)t(5;7)(q13;?), -7, del(12)(p11p12)[24XCyte]$



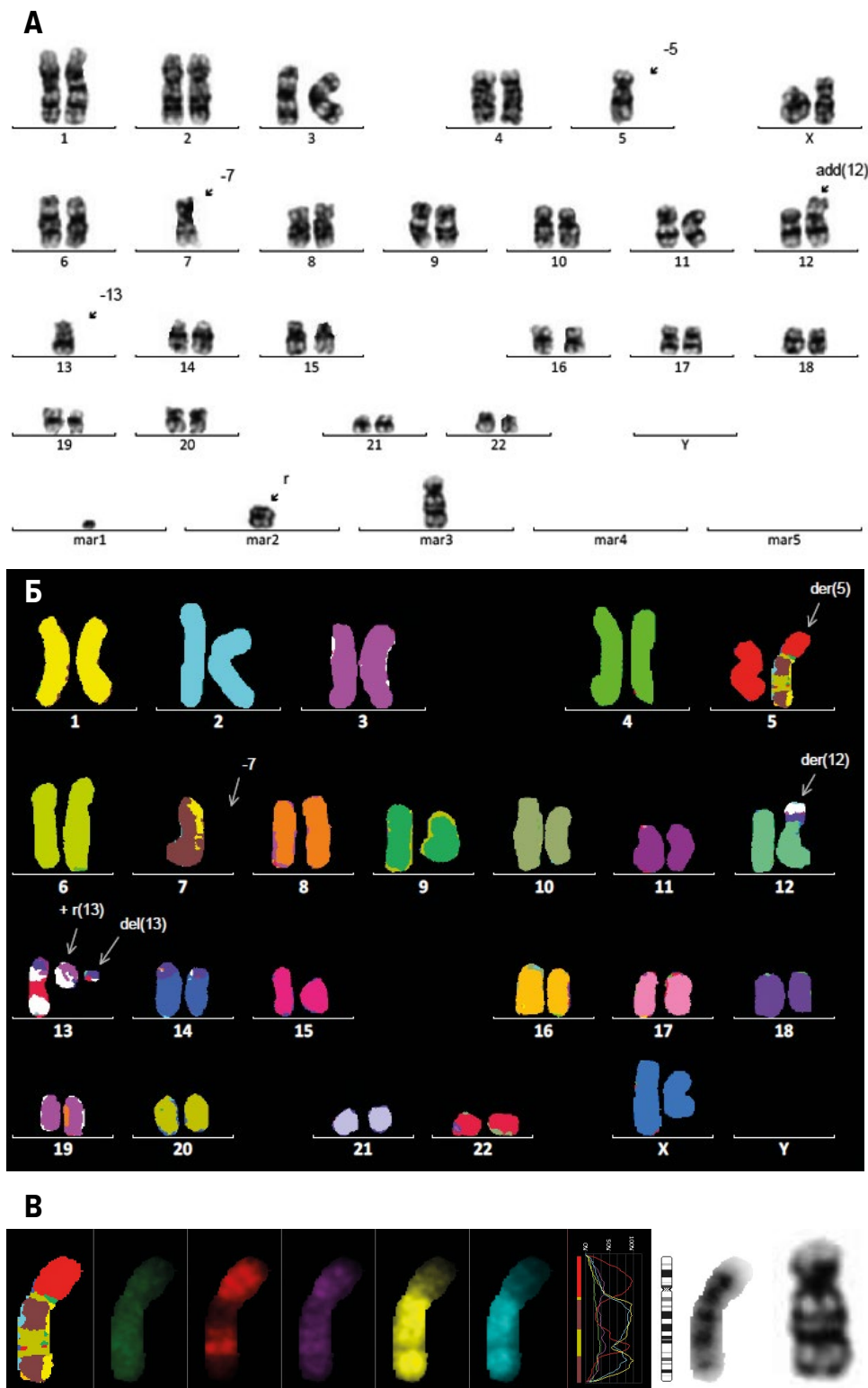


Рис. 7. Сложные кариотипы двух клеток костного мозга у пациентки с ОМЛм (№ 15), выявленные с помощью (А) стандартного GTG-окрашивания и (Б) многоцветной FISH, а также (В) селективная кариограмма маркера $der(5)(5;7;5;7)$, который представлен чередующимися фрагментами хромосом 5 и 7, вероятнее всего связанными с хромотрипсисом. Итоговый кариотип: $ish.46, XX, der(5)(5;7;5;7), -7, der(12)t(12;13)(p13;q?), del(13)(q11), +r(13)[24XCyte]$

Fig. 7. Complex karyotypes of two bone marrow cells in female AMLm patient No. 15 identified by (A) standard GTG-banding and (B) multicolor FISH, as well as (C) selective karyogram of marker $der(5)(5;7;5;7)$ with alternating fragments of chromosomes 5 and 7, most probably associated with chromothripsis. Final karyotype: $ish.46, XX, der(5)(5;7;5;7), -7, der(12)t(12;13)(p13;q?), del(13)(q11), +r(13)[24XCyte]$

большую в данной подгруппе ПЖ — 1435 дней [11]. Таким образом, несмотря на отягчающий факт перестроек хромосом, выполнение аллотГСК с использованием немиелоаблативного режима кондиционирования принесло больной успех. Она остается под наблюдением и находится в состоянии стойкой ремиссии.

Что касается характера изменений структуры и числа хромосом в нашей когорте больных ОМЛм, часть из них была сходна с таковыми в группе МДС, хотя и имела свои особенности. Из других заслуживающих внимания изменений хромосом в составе СК далее будет детально рассмотрено обнаруженное многократное

копирование участков хромосом 2 (см. рис. 8), 9 (см. рис. 12) и 13 (см. рис. 3), чистых моносомий хромосомы 7 (см. рис. 8), а также сложных маркерных структур, состоящих из 3 хромосом и более (см. рис. 1, 4, 5, 9, 10).

Так, при стандартном цитогенетическом исследовании клеток костного мозга больной № 1 были обнаружены делеция 5q и моносомия хромосомы 7, которые после идентификации с помощью mFISH, позволившей выявить вовлечение части генетического материала этой хромосомы в образование маркера $der(5)t(5;7)$, оказались ложными. При этом имели место также дупликация 1q и делеции 3q и 12p (рис. 6).

По аналогии с этим у одной из больных с диагнозом ОМЛм (№ 15) в кариотипе клеток также были представлены фрагменты хромосом 5 и 7 вместе с другими изменениями кариотипа (рис. 7, Б, В), которые при анализе стандартно обработанных препаратов не были замечены (рис. 7, А). При этом первичный анализ предполагал наличие в кариотипе моносомии хромосом 7 и 13, наличие дополнительного хромосомного материала на коротком плече хромосомы 12, кольцевую хромосому и несколько других, различающихся по морфологии маркеров (см. рис. 7, А). По данным же mFISH неизвестный хромосомный материал на коротком плече хромосомы 12 оказался частью хромосомы 13. Более того, производными хромосомы 13 были и кольцевая хромосома, и один из упомянутых выше маркеров.

Другая больная с диагнозом МДС (№ 7) по характеру вовлечения в перестройки хромосом относилась к цитогенетической подгруппе 5/7/8. В кариотипе ее клеток со стандартно обработанными хромосомами основные нарушения включали делецию 5 и моносомию 7 (рис. 8, А). После же анализа хромосом, обработанных с помощью mFISH, представление о кариотипе существенно изменилось. Во-первых, в нем выявлена важная перестройка хромосомы 8, которая была представлена изохромосомой по длинному плечу, причем в части метафаз в удвоенном количестве. Кроме того, в клетках этой больной отмечались наличие дополнительного материала неизвестного происхождения на коротком плече хромосомы 8, делеция 12p, трисомии хромосом 16 и 19, моносомии хромосом 20 и 22, а также 2–4 маркерные хромосомы на клетку. В то же время по данным анализа препаратов, выполненных в технике mFISH (рис. 8, Б), наше первоначальное представление радикально изменилось. Во-первых, под укороченной хромосомой 5 скрывался маркер, сформированный в результате транслокации t(2;5), а дополнительный материал на коротком плече хромосомы 8 был связан с несбалансированной транслокацией t(5;8) (рис. 8, Г). Во-вторых, обнаруженный дополнительный материал на хромосоме 2 представлял собой участок хромосомы 8 (рис. 8, Д), а маркерные хромосомы (от 1 до 3 в разных метафазных пластинках) оказались околоцентромерной частью хромосомы 2, образованной в результате высоких делеций 2p и 2q. Помимо этого в лейкозных клетках были обнаружены реципрокная транслокация t(20;22), изохромосома 8q (рис. 8, В), делеция 12p, трисомия 19 и моносомия 7, ввиду чего данный кариотип по праву может быть отнесен к истинно моносомному.

К этому следует добавить, что у одного из больных с диагнозом ОМЛм (№ 19) стандартное цитогенетическое исследование выявило вовлечение в перестройки хромосом 5, 7 и 8, которые проявляли себя делециями 5q, 7q, 8p и 20q, трисомией 8, моносомией 15, несбалансированной транслокацией t(15;18), а также наличием дополнительного материала на 4q и 21q (рис. 9, А).

В то же время анализ с использованием препаратов, обработанных с помощью mFISH (рис. 9, Б–Е), показал, что число хромосомных перестроек в клетках этого больного было явно больше. В частности, выявленная при стандартном исследовании делеция 5q

оказалась довольно сложным производным маркером хромосомы 5 — der(5)t(5;18;8) (см. рис. 9, В), а предполагаемая делеция хромосомы 8 оказалась маркером, построенным из фрагментов хромосом 15 и 8 (см. рис. 9, Г). В свою очередь, производная хромосомы 4 состояла из фрагментов хромосом 21, 4 и 7 (см. рис. 9, Д), а производная хромосомы 21 — из фрагментов хромосом 21, 7 и 4 (см. рис. 9, Е).

Как видно из данных, представленных на рис. 10, идентификация хромосом в препаратах, обработанных в технике GTG, у пожилой больной с ОМЛм (№ 23) позволила выявить делеции 3p, 8p и 20q, моносомии 5, 13, 17, 21 и 22 и трисомию 8, а также две не уточненные до конца маркерные хромосомы. Помимо этого дополнительный хромосомный материал был обнаружен также на хромосомных фрагментах 7q, 8p, 12p, 19q (рис. 10, А).

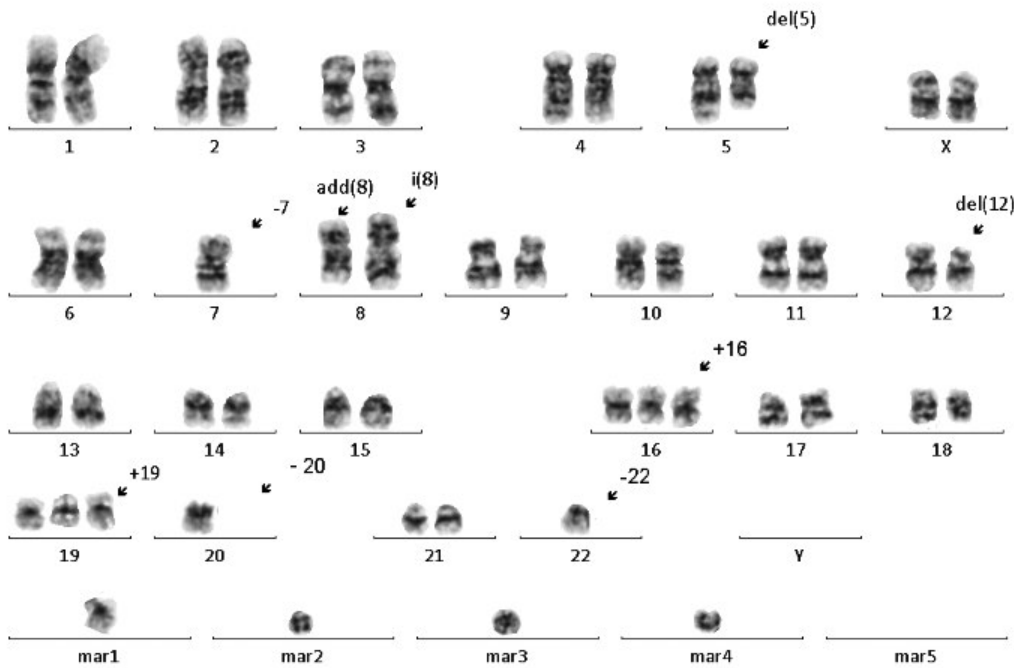
После анализа препаратов, обработанных в технике mFISH, характер изменений этого кариотипа был уточнен (рис. 10, Б). Во-первых, это коснулось наличия в кариотипе части хромосомы 5, которая была включена в несбалансированную транслокацию der(8)t(5;8). Неточным также оказалось наличие в кариотипе делеции 3p. На самом деле изменение структуры этой хромосомы было связано с образованием несбалансированной транслокации t(3;17). В дополнение к этому среди маркерных хромосом была определена делеция длинного плеча хромосомы 13. Хромосома же 19 была участником несбалансированной транслокации с хромосомой 20. Что касается первоначально установленных делеций 8p и 20q, они были подтверждены. Дополнительный хромосомный материал на 7q был представлен амплифицированным участком хромосомы 21 и фрагментом хромосомы 22 (рис. 10, В), а измененная хромосома 12 содержала в своем составе фрагменты хромосом 13, 7, 3 и 17 (рис. 10, Г).

Не меньший теоретический и практический интерес исследователей вызывают нетипичные изменения хромосом, обнаруживаемые в составе СК больных МДС и ОМЛм. Так, у одной из больных (№ 10) в препаратах костного мозга, обработанных с помощью mFISH (рис. 11, Б), ожидаемые нами моносомии не подтвердились, поскольку выявленные вначале маркеры оказались небольшими фрагментами хромосом 5 и 7, в то время как истинность трисомии 8 не вызывала никаких сомнений. Помимо этого в данном кариотипе были обнаружены несбалансированные транслокации t(1;3), t(1;13), t(3;14), t(5;13) и t(5;17). При этом первая из перечисленных транслокаций воспринималась вначале как делеция 3p. По аналогии с этим остались не замеченными после стандартного GTG-анализа существенные изменения хромосомы 14 (рис. 11, А).

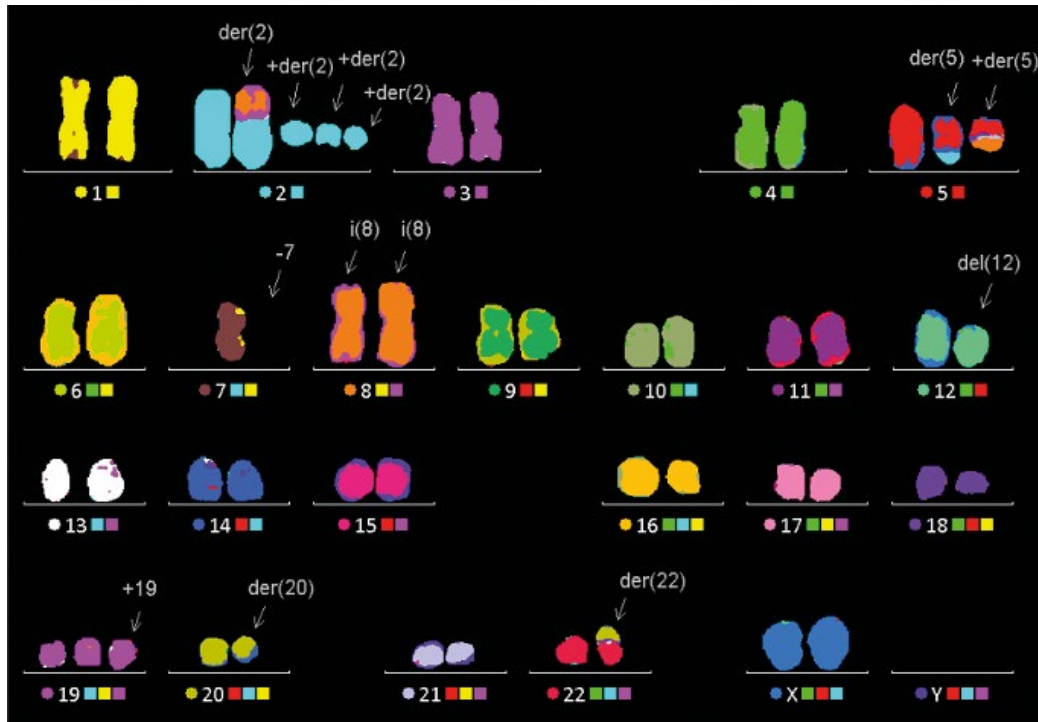
В следующем наблюдении (№ 14) основные изменения кариотипа касались хромосомы 9, что было затруднительно определить без проведения дополнительно анализа mFISH (рис. 12). Пациенту была выполнена аллотГГСК от родственного донора, после которой ПЖ составила 488 дней.

Располагая такими сложными данными об изменении структуры отдельных хромосом в составе СК, которые были получены при верификации препаратов, обработанных в технике mFISH, дальнейший

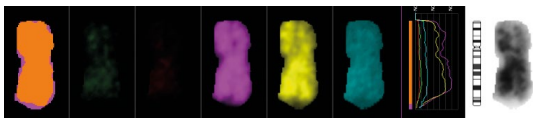
А



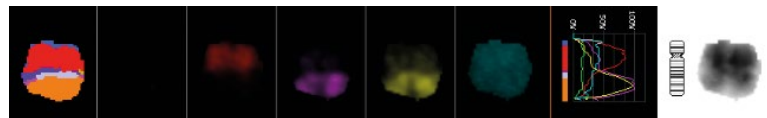
Б



В



Г



Д

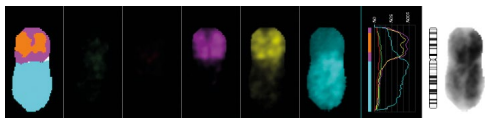


Рис. 8. Сложные кариотипы двух клеток костного мозга у пациентки с МДС (№ 7), выявленные с помощью (А) стандартного GTG-окрашивания и (Б) многоцветной FISH, а также селективные кариограммы, направленные на идентификацию маркеров (В) изохромосомы 8q, (Г) $der(5)t(5;8)$, (Д) $der(2)t(2;8)$. Итоговый кариотип: $ish.50, XX, der(2)t(2;8)(p11;q11), +der(2)del(2)(p?)del(2)(q?)x3, der(5)t(2;5)(?:q22), +der(5)t(5;8)(q11;p11), -7, i(8)(q10)x2, del(12)(p11), +19, t(20;22)(q11;p11)[24XCyte]$

Fig. 8. Complex karyotypes of two bone marrow cells in female MDS patient No. 7 identified by (A) standard GTG-banding and (B) multicolor FISH, as well as selective karyograms for identifying the markers of (B) isochromosome 8q, (Г) $der(5)t(5;8)$, (Д) $der(2)t(2;8)$. Final karyotype: $ish.50, XX, der(2)t(2;8)(p11;q11), +der(2)del(2)(p?)del(2)(q?)x3, der(5)t(2;5)(?:q22), +der(5)t(5;8)(q11;p11), -7, i(8)(q10)x2, del(12)(p11), +19, t(20;22)(q11;p11)[24XCyte]$

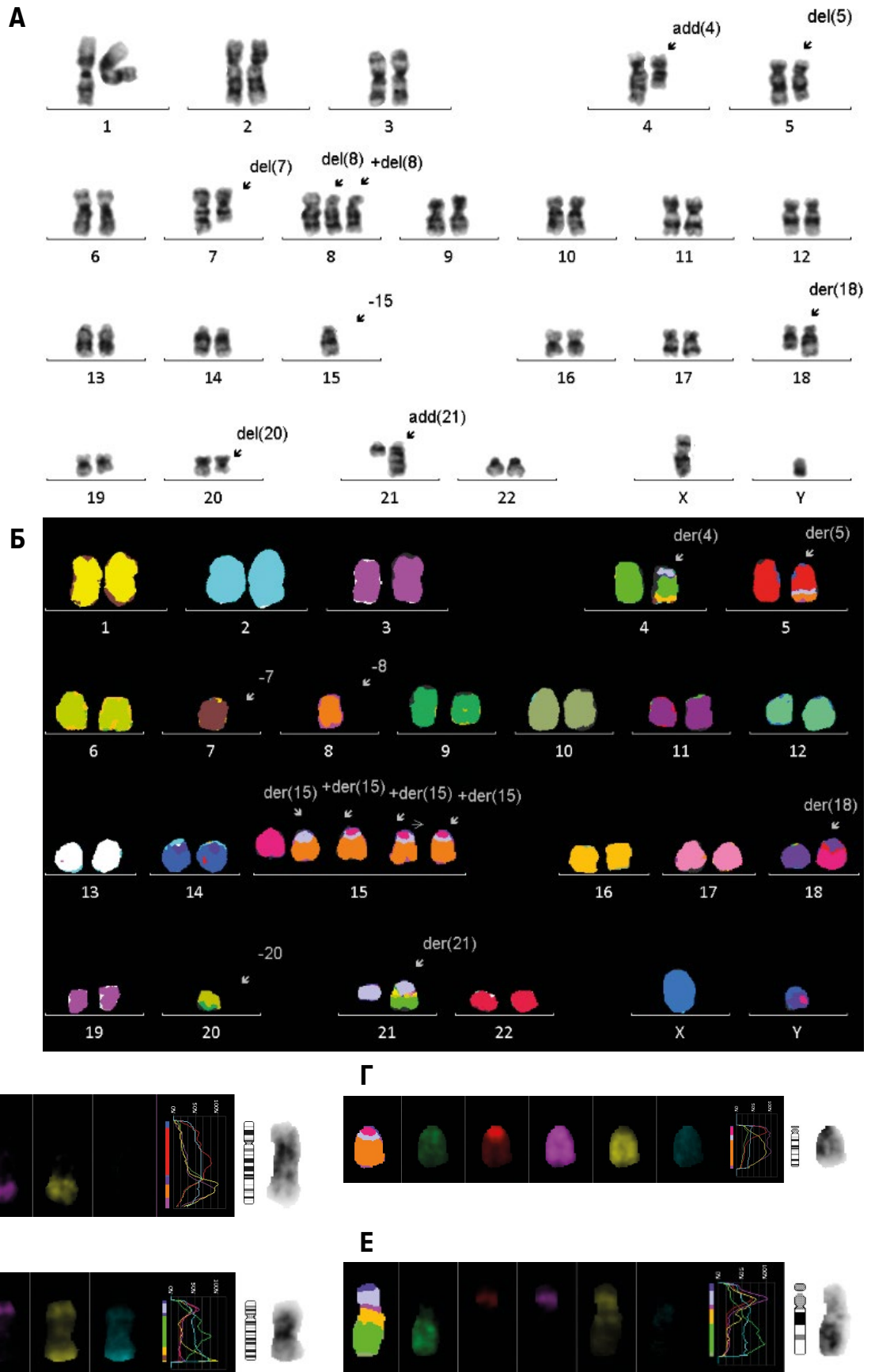


Рис. 9. Сложные кариотипы двух клеток костного мозга у пациента с ОМЛм (№ 19), выявленные с помощью (А) стандартного GTG-окрашивания и (Б) многоцветной FISH, а также селективные кариограммы из разных метафазных пластинок с маркерами (В) *der(5)t(5;18;8)*, (Г) *der(15)t(8;15)*, (Д) *der(4)t(21;4;7)*, (Е) *der(21)t(21;7;4)*. Итоговый кариотип: *ish.46, XY, der(4)(21;4;7), der(5)(5;18;8), -7, -8, +der(15)t(8;15)(q11;q11)x4, der(18)t(15;18)(q15;q21), -20, der(21)(21;7;4)[24XCyte]*

Fig. 9. Complex karyotypes of two bone marrow cells in male AMLm patient No. 19 identified by (A) standard GTG-banding and (B) multicolor FISH, as well as selective karyograms of different metaphase plates with the markers of (B) *der(5)t(5;18;8)*, (Г) *der(15)t(8;15)*, (Д) *der(4)t(21;4;7)*, (Е) *der(21)t(21;7;4)*. Final karyotype: *ish.46, XY, der(4)(21;4;7), der(5)(5;18;8), -7, -8, +der(15)t(8;15)(q11;q11)x4, der(18)t(15;18)(q15;q21), -20, der(21)(21;7;4)[24XCyte]*

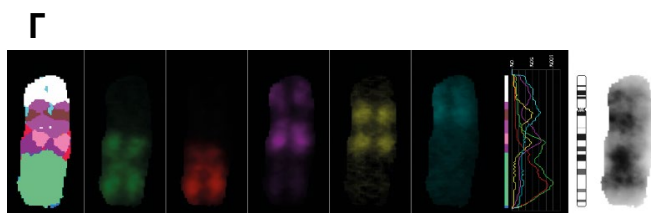
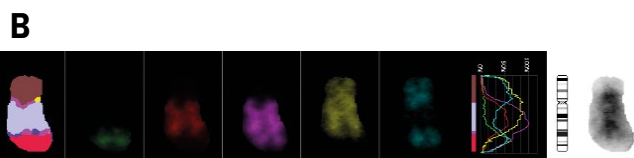
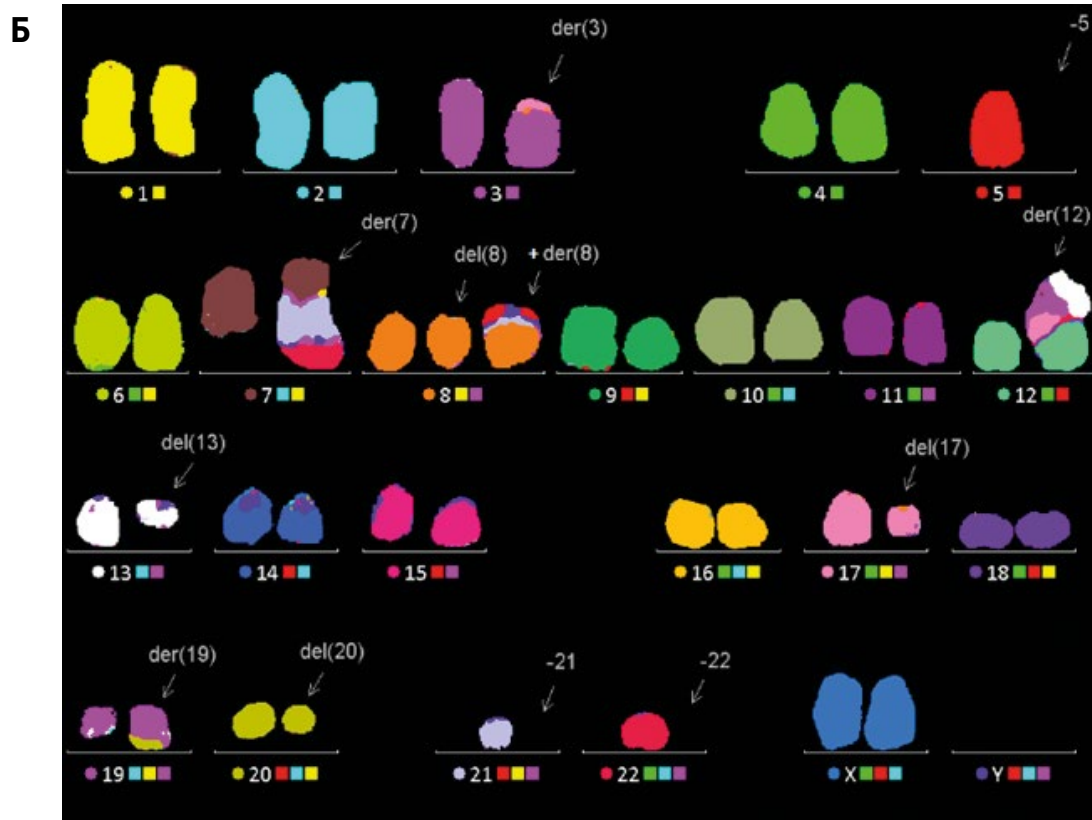
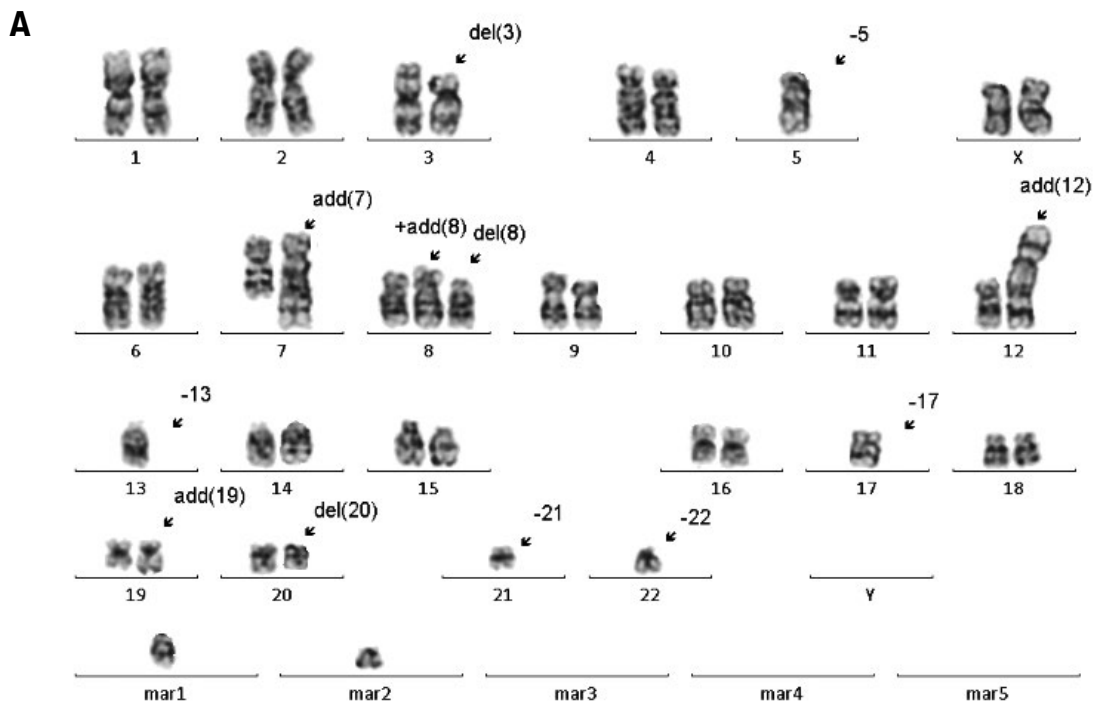


Рис. 10. Сложные кариотипы двух клеток костного мозга у пациентки с ОМЛм (№ 23), выявленные с помощью (А) стандартного GTG-окрашивания и (Б) многоцветной FISH, а также селективные кариограммы из разных метафазных пластинок с маркерами (В) $der(7)(7;21amp;22)$, (Г) $der(12)(13;7;3;17;12)$. Итоговый кариотип: $44,XX, der(3)t(3;17)(p21;??), -5, der(7)(7;21;22), del(8)(p21), +der(8)t(5;8)(??;p21), der(12)(13;7;3;17;12), del(13)(q14), der(17)del(17)(p11)del(17)(q22), der(19)t(19;20)(q13;??), del(20)(q11), -21, -22[24XCyte]$

Fig. 10. Complex karyotypes of two bone marrow cells in female AMLm patient No. 23 identified by (A) standard GTG-banding and (B) multicolor FISH, as well as selective karyograms of different metaphase plates with the markers of (B) $der(7)(7;21amp;22)$, (Г) $der(12)(13;7;3;17;12)$. Final karyotype: $44,XX, der(3)t(3;17)(p21;??), -5, der(7)(7;21;22), del(8)(p21), +der(8)t(5;8)(??;p21), der(12)(13;7;3;17;12), del(13)(q14), der(17)del(17)(p11)del(17)(q22), der(19)t(19;20)(q13;??), del(20)(q11), -21, -22[24XCyte]$

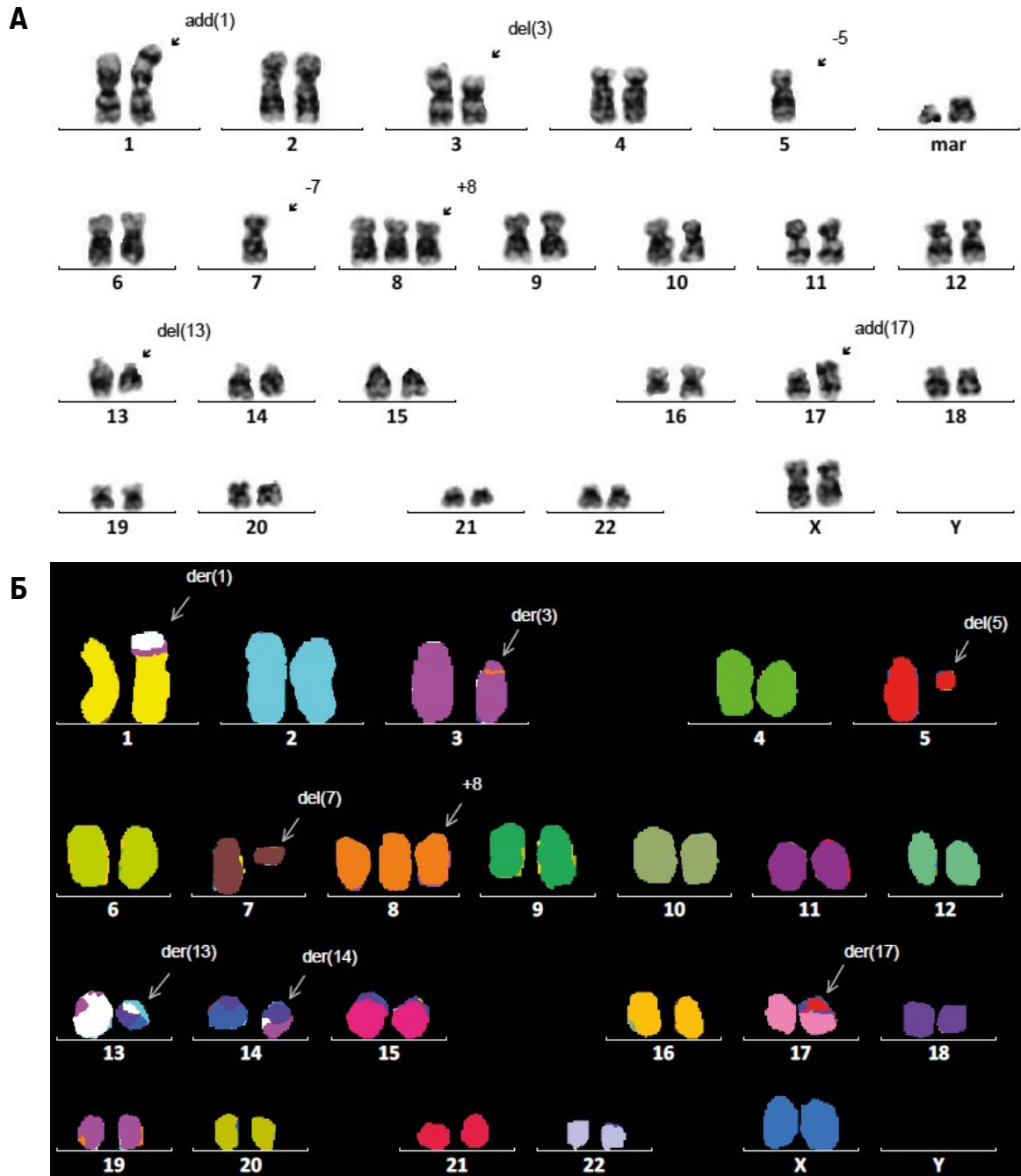


Рис. 11. Сложные кариотипы двух клеток костного мозга у пациентки с МДС (№ 10), выявленные с помощью (А) стандартного GTG-окрашивания и (Б) многоцветной FISH. Итоговый кариотип: ish.47, XX, der(1)t(1;13)(p3?4;q?), der(3)t(1;3)(?;p21), der(5)del(5)(p11)del(5)(q11), der(7)del(7)(p?)del(7)(q?), +8, der(13)t(5;13)(?;q12), der(14)t(3;14)(?;q?), der(17)t(5;17)(?;p11)[24XCyte]

Fig. 11. Complex karyotypes of two bone marrow cells in female MDS patient No. 10 identified by (A) standard GTG-banding and (B) multi-color FISH. Final karyotype: ish.47, XX, der(1)t(1;13)(p3?4;q?), der(3)t(1;3)(?;p21), der(5)del(5)(p11)del(5)(q11), der(7)del(7)(p?)del(7)(q?), +8, der(13)t(5;13)(?;q12), der(14)t(3;14)(?;q?), der(17)t(5;17)(?;p11)[24XCyte]

анализ материала проводился в частично упрощенном виде (табл. 2).

Из этих данных следует, что в формировании СК чаще других (89 %) участвует материал хромосомы 5, за которой по мере снижения частоты вовлечения в перестройки (81, 63, 59 и 52 %) следуют хромосомы 7, 13, 12 и 8. При этом ожидаемой высокой частоты обнаружения делеций 5q и 7q, так же как моносомий 7 и трисомий 8, не установлено. Далее, по нашим данным, при МДС и ОМЛм в составе СК по частоте выявления преобладают несбалансированные транслокации с доминирующим представлением (79 %) в них

хромосомы 5. В то же время делеция 5q встречалась лишь в 15 % наблюдений, а делеция 7q и моносомия 7 еще меньше (по 9 % каждая). В свою очередь, на долю несбалансированных транслокаций с участием хромосомы 7 или 8 приходится 73 и 52 % наблюдений соответственно, а трисомия хромосомы 8 имела место лишь у 1/4 обследованных больных.

Интересно и то, что в состав сложно построенных маркеров, включавших 3 хромосомы и более, по мере снижения частоты входили фрагменты хромосом 7, 12, 4 и 8, причем в большинстве наблюдений было зафиксировано участие в перестройках хромосомы 7,

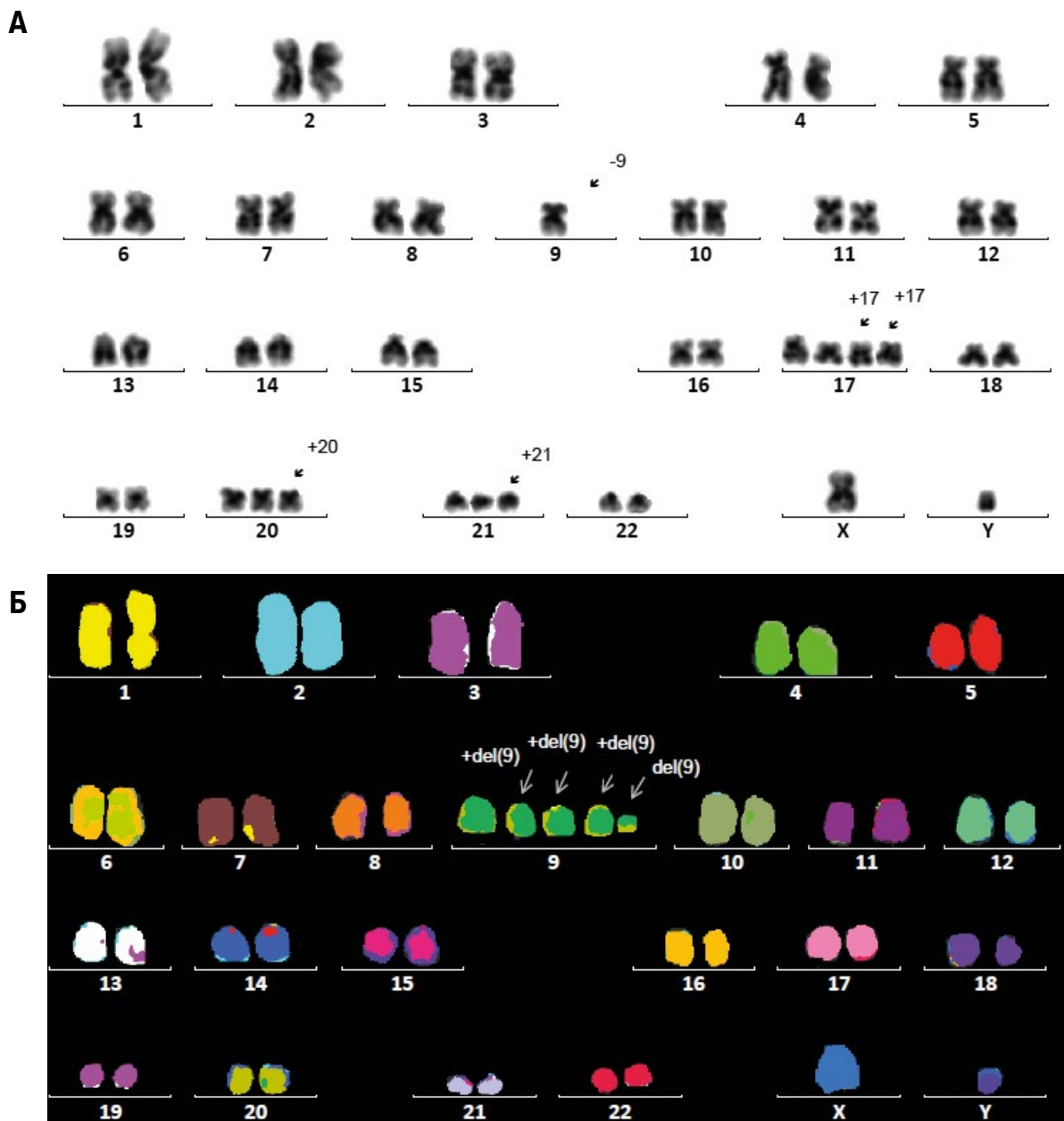


Рис. 12. Сложные кариотипы двух клеток костного мозга у пациента с МДС (№ 14), выявленные с помощью (А) стандартного GTG-окрашивания и (Б) многоцветной FISH. Итоговый кариотип: ish.49, XY, der(9)del(9)(p11)del(9)(q11), +del(9)(q13q34)x3[24X,Cyte]

Fig. 12. Complex karyotypes of two bone marrow cells in male MDS patient No. 14 identified by (A) standard GTG-banding and (B) multicolor FISH. Final karyotype: ish.49, XY, der(9)del(9)(p11)del(9)(q11), +del(9)(q13q34)x3[24X,Cyte]

что может объяснять отсутствие моносомий 7 в окрашенных с помощью mFISH препаратах, вполне ожидаемых после кариотипирования в технике GTG. Чуть реже в качестве партнеров в образовании сложных маркеров выступали хромосомы 5, 8 и 12. Следует отметить, что среди аномалий 27 кариотипов выявлено 107 несбалансированных транслокаций, в то время как сбалансированных было всего 8. Речь идет о транслокациях t(1;12), t(3;15), t(8;12), t(8;20), t(13;18), t(18;20), t(19;21) и t(20;22). Делеции были более свойственны хромосомам 5, 7, 12 и 13, а трисомии чаще других касались хромосом 8, 19 и 21.

В целом полученные нами данные согласуются с ранее опубликованными в этой области онкогематологии в отношении частого вовлечения хромосомы 5 в перестройки [6, 12]. В то же время при редко встре-

чающихся изменениях хромосом различие в данных у разных исследовательских групп оказалось не таким четким. Одной из причин этого может быть неодинаковый состав включаемых в исследовательские когорты пациентов с ОМЛ, о чем упоминалось ранее. Так, в нашей когорте пациентов вслед за общепризнанным лидером обнаружения в перестройках хромосомы 5 по мере убывания следовали хромосомы 7, 13, 8 и 12, в то время как в аналогичной работе китайских коллег этот порядок был иным — 17, 8, 11 и 7.

Анализ общей выживаемости больных МДС и ОМЛ со сложным кариотипом

Несмотря на условный характер выделения цитогенетических подгрупп, они в равной мере были представлены как у больных МДС, так и ОМЛ, что

Таблица 2. Характер индивидуальных изменений хромосом в клетках костного мозга в составе сложных кариотипов у больных МДС (n = 14) и ОМЛ М (n = 13)

Хромосома	Число наблюдений, n	Всего n	Транслокации		Делеции, n	Трисомии, n	Моносомии, n	Другие нарушения, n
			Несбалансированные, n	Сбалансированные, n				
1	10	18	14	1	1	1	1	dup(1) — 1
2	8	17	13		1	2		dup(2) — 1
3	13	19	14	2	2			ins(3;8) — 1
4	13	20	12		5	1	1	r(4) — 1
5	24 (89%)	34	27 (79%)		5 (15%)	1 (3%)		dic(5;17) — 1 (3%)
6	2	4	1		1	1		dup(6) — 1
7	22 (81%)	33	24 (73%)	der(7;7;21amp;22)	3 (9%)		3 (9%)	dic(7;16) — 1 (3%), ins(14;7) — 1 (3%), ins(7;15) — 1 (3%)
8	14 (52%)	25	13 (52%)	der(8;8;7;8;4), der(8;8;7;8;4), der(8)(12;8;7)	1 (4%)	6 (24%)		i(8) — 2 (8%), ins(3;8) — 1 (4%)
9	5	12	4		2	3	1	i(9) — 1, r(9) — 1
10	8	12	7	der(10)(18;X;10)	1	2	1	r(10) — 1
11	8	13	9		1	2	1	
12	16	25	18	der(12)(13;7;3;17;12), der(12)(3;12;2), der(12)(12;5;7), der(12)(14;4;12)	4		1	
13	17 (63%)	26	14 (54%)	der(13)(13;7;13;4), der(13)(13;8;12)	5 (19%)	2 (8%)		r(13) — 1 (4%), inv(13) — 1 (4%), dic(13;19) — 1 (4%), i(13) — 1 (4%)
14	6	10	7	der(14)(7;1;14)	1	1		ins(14;7) — 1
15	7	10	4		2	2	1	ins(7;15) — 1
16	8	9	4		1		3	dic(7;16) — 1
17	10	15	11	der(17)(4;12;3;17), der(17)(X;1;18;11;17;X;8)	2		1	dic(5;17) — 1
18	11	16	9	der(18)(11;18;7;2;22)	2	2	1	
19	11	19	8	der(19)(12;19;12;19;11;19), der(19)(19;11;19;11;19;5)	3	5		qdp(19) — 1, dic(13;19) — 1
20	11	18	10	der(20)(14;20;14;X)	2	1	2	
21	13	18	8	der(21)(21;7;4)		7		i(21) — 1, dup(21) — 1
22	10	13	8	der(22)(7;11;7;12;22)	1	2	1	
X	3	6	5	der(X)(21;X;21;12)			1	
Y	3	3					3	

Полужирным шрифтом выделены хромосомы, наиболее часто вовлекаемые в аберрации (5, 7, 8, 13).

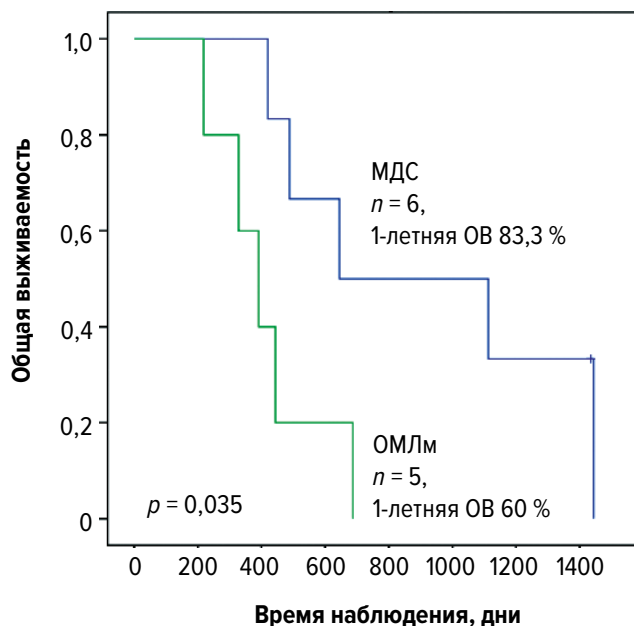


Рис. 13. Общая выживаемость больных МДС ($n = 6$) и ОМЛм ($n = 5$) в объединенных цитогенетических подгруппах 5/7 и 5/7/8

МДС — миелодиспластический синдром; ОБ — общая выживаемость; ОМЛм — острый миелобластный лейкоз из предшествующего МДС.

Fig. 13. Overall survival of patients with MDS ($n = 6$) and AMLm ($n = 5$) in joint cytogenetic subgroups 5/7 and 5/7/8

МДС — myelodysplastic syndrome; ОБ — overall survival; ОМЛм — MDS-associated acute myeloid leukemia.

давало реальный шанс на успешное сопоставление полученных данных в отношении общей выживаемости (ОБ). Как видно из данных табл. 1, ПЖ больных МДС и ОМЛм была ожидаемо невысокой. Между тем различия ОБ в объединенных группах больных МДС и ОМЛм с условно однотипными цитогенетическими подгруппами 5/7 и 5/7/8 оказались статистически значимыми ($p = 0,035$), несмотря на малое число наблюдений. ПЖ пациентов с МДС, подвергшихся аллоТГСК и без таковой, находилась в диапазоне 420–1444 и 52–522 дня соответственно ($p = 0,03$) (рис. 13). ПЖ больных с аллоТГСК на этапе прогрессирования МДС в ОМЛ была еще короче и составила 218–687 дней, в то время как ПЖ пациентов без аллоТГСК была 65–289 дней ($p = 0,04$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленный в настоящей работе анализ показал, что точная трактовка изменений хромосом в составе СК у больных МДС и ОМЛм без активного использования данных mFISH невозможна или связана с большими ошибками. Прежде всего это касается часто выявляемых при ОМЛ различного рода моносомий, в частности хромосом 5 и 7. Поскольку, по нашим данным, в составе СК чаще других претерпевали изменения хромосомы 5, 7 и 8, для дальнейшей работы с материалом мы, как и другие исследователи, сформировали две взаимосвязанные между собой цитогенетические подгруппы. Объединяющим же их моментом стало общее вовлечение в перестройки

хромосом 5 и 7 (5/7), в т. ч. в комбинации с изменениями хромосомы 8 (5/7/8). В результате этого была создана приемлемая основа для сопоставления таких важных клинических параметров, как показатели ОБ, не только в наших группах больных МДС и ОМЛм, но и опубликованных другими, пока немногочисленными, исследователями. При этом оказалось, что частота вовлечения в перестройки хромосомы 5 в различных исследовательских группах была довольно близкой, что менее свойственно другим хромосомам [13]. Не менее интересный факт, нуждающийся в дальнейшем углубленном изучении, — частое вовлечение в образование сложных маркеров генетического материала хромосомы 7. С другой стороны, проведенные нами сопоставления изменений кариотипа с таким важным клиническим параметром, как ОБ, позволили обнаружить неблагоприятное течение заболевания у подавляющего числа включенных в исследование пациентов. При этом необходимо учитывать, что на неблагоприятный исход заболевания влияют не только особенности структуры СК, но и пожилой возраст пациентов. Включение же в протоколы лечения аллоТГСК мало отразилось на общем исходе заболеваний. Единственное исключение — больная 22 лет (№ 11) с резко измененным кариотипом, у которой аллоТГСК принесла несомненный успех. В результате проведенного лечения достигнуты полная клиническая и цитогенетическая ремиссии, которые сохраняются около 5 лет. Одной из причин такого успеха, наряду с молодым возрастом пациентки, могло быть наличие в кариотипе резкого увеличения генетического материала хромосомы 8 (см. рис. 5), что отмечалось нами и ранее [11].

Необходимо отметить возможность участия в формировании, по крайней мере части, СК недавно открытого феномена хромотрипсиса [4]. В одном из исследований показано, что наличие хромотрипсиса было подтверждено у 60 % больных МДС [5]. Вероятность такого развития событий особенно велика у тех больных, у которых в кариотипе клеток отмечается инсерция в состав хромосомы-реципиента нескольких фрагментов другой хромосомы, как это имело место в нашей когорте пациентов (№ 5, 6, 11, 15, 23). Как было показано выше, «подводных камней» при анализе тонкой структуры СК у больных МДС и ОМЛм встречается много. В то же время извлекаемые при этом данные представляются достаточно обнадеживающими и перспективными и ждут своих энтузиастов для окончательного осмысления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В статье представлены результаты детального анализа структурных и численных нарушений хромосом в составе СК у 27 больных МДС и связанных с ними ОМЛ. Работа выполнена с использованием адекватной для этих целей техники mFISH. Поскольку материал нашего анализа включал только связанные с МДС ОМЛ, он представляется более однородным, однако отличается от ранее выполненных исследований рядом особенностей. Общим в этих работах стало частое вовлечение в несбалансированные пере-

стройки хромосомы 5, за которой по мере снижения частоты следовали хромосомы 8 и 7. Интересно, что хромосома 7 чаще других принимала участие в формировании структуры сложных маркеров. Используемое в работе упрощенное разделение основных нарушений хромосом на подгруппы с одновременным участием в перестройках хромосом 5 и 7 (5/7) или 5, 7 и 8 (5/7/8) открыло новые возможности для их сравнения у больных МДС и при разных вариантах ОМЛ.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Н.Н. Мамаев, Т.Л. Гиндина.

Сбор и обработка данных: М.В. Латыпова, Т.Л. Гиндина, Т.Ю. Грачева.

Предоставление материалов исследования: М.В. Латыпова, Т.Л. Гиндина, Т.Ю. Грачева.

Анализ и интерпретация данных: Т.Л. Гиндина, М.В. Латыпова, Н.Н. Мамаев.

Подготовка рукописи: М.В. Латыпова, Н.Н. Мамаев.

Окончательное одобрение рукописи: Н.Н. Мамаев, М.В. Латыпова, Т.Л. Гиндина.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Haase D, Stevansson KE, Neuberg D, et al. TP53 mutation status divides myelodysplastic syndromes with complex karyotypes into distinct prognostic groups. *Leukemia* 2019;33(7):1747–58. doi: 10.1038/s41375-018-0351-2.
- Volkert S, Kohlmann A, Schnittger S, et al. Association of the type 5q loss with complex karyotype? Clonal evolution, TP53 mutation status, and prognosis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Genes Chromosomes Cancer*. 2014;53(5):402–10. doi: 10.1002/gcc.22151.

- Dohner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129(4):424–47. doi: 10.1182/blood-2016-08-7331964.

- Zemanova Z, Michalova K, Brezina J, et al. The incidence and clinical implications of chromothripsis in bone marrow cells of patients with myelodysplastic syndromes (MDS). *Haematologica*. 2016;101:65–70.

- Мамаев Н.Н., Гиндина Т.Л., Бойченко Э.Г. Хромотрипсис в онкологии: обзор литературы и собственное наблюдение. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(2):191–205. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-191-205.

[Mamaev NN, Gindina TL, Boichenko EG. Chromothripsis in Oncology: Literature Review and Case Report. *Clinical oncohematology*. 2017;10(2):191–205. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-191-205. (In Russ)]

- Limbergen HV, Poppe B, Michaux L, et al. Identification of Cytogenetic Subclasses and Recurring Chromosomal Aberrations in AML and MDS with Complex Karyotypes Using M-FISH. *Genes Chromosomes Cancer*. 2002;33(1):60–72. doi: 10.1002/gcc.1212.

- Xu W, Li J-Y, Liu Q, et al. Multiplex fluorescence in situ hybridization in identifying chromosome involvement of complex karyotypes in de novo myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Int J Lab Hematol*. 2010; 2(1 Pt 1):e86–e95. doi: 10.1111/j.1751-553X.2008.01101.

- Zemanova Z, Michalova K, Buryova H, et al. Involvement of deleted chromosome 5 in complex chromosomal aberrations in newly diagnosed myelodysplastic syndromes (MDS) is correlated with extremely adverse prognosis. *Leuk Res*. 2014;38(5):537–44. doi: 10.1016/j.leukres.2014.01.012.

- McGowan-Jordan J, Hastings RJ, Moore S, eds. ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020) (Cytogenetic and Genome Research). S. Karger; 2020.

- Гиндина Т.Л. Характеристика основных цитогенетических изменений у больных острыми лейкозами и их связь с результатами аллогенной трансплантации стволовых клеток: Дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2019. 373 с.

[Gindina TL. Kharakteristika osnovnykh tsitogeneticheskikh izmenenii u bol'nykh ostrymi leukozami i ikh svyaz' s rezul'tatami allogennoi transplantatsii stvolovykh kletok. (The characterization of major cytogenetic changes in acute lymphocytic leukemia patients and their association with the outcomes of allogeneic stem cell transplantation.) [dissertation] Saint Petersburg; 2019. 373 p. (In Russ)]

- Латыпова М.В., Мамаев Н.Н., Гиндина Т.Л. и др. Результаты трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток при миелодиспластических синдромах с трисомией 8 и/или моносомией 7. *Клиническая онкогематология*. 2022;15(2):198–204. doi: 10.21320/2500-2139-2022-15-2-198-204.

[Latypova MV, Mamaev NN, Gindina TL, et al. Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Myelodysplastic Syndromes with Trisomy 8 and/or Monosomy 7. *Clinical oncohematology*. 2022;15(2):198–204. doi: 10.21320/2500-2139-2022-15-2-198-204. (In Russ)]

- Мамаев Н.Н., Латыпова М.В., Шакирова А.И., и др. Роль BAALC-экспрессирующих лейкозных клеток-предшественниц в патогенезе миелодиспластических синдромов. *Клиническая онкогематология*. 2022;15(1):62–8. doi: 10.21320/2500-2139-2022-15-1-62-68.

[Mamaev NN, Latypova MV, Shakirova AI, et al. The Role of BAALC-Expressing Leukemia Precursor Cells in the Pathogenesis of Myelodysplastic Syndromes. *Clinical oncohematology*. 2022;15(1):62–8. doi: 10.21320/2500-2139-2022-15-1-62-68. (In Russ)]

- Barouk-Simonet E, Soenen-Cornu V, Roumier C, et al. Role of multiplex FISH in identifying chromosome involvement in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias with complex karyotypes: a report on 28 cases. *Cancer Genet Cytogenet*. 2005;157(2):118–26. doi: 10.1016/j.cancergenety.2004.06.012.