

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный  
медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

Латыпова Мария Вадимовна

РОЛЬ МНОГОЦВЕТНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ *IN SITU* ГИБРИДИЗАЦИИ  
В КАЧЕСТВЕ УТОЧНЯЮЩЕГО МЕТОДА КАРИОТИПИРОВАНИЯ ПРИ  
МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМАХ

3.1.28. Гематология и переливание крови

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель  
доктор медицинских наук,  
Т.Л. Гиндина

Санкт-Петербург – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У БОЛЬНЫХ МДС.....	12
1.1. Цитогенетические исследования при МДС .....	12
1.2. Основные цитогенетические изменения при МДС.....	15
1.2.1. Аномалии хромосомы 5 .....	15
1.2.2. Аномалии хромосомы 7 .....	18
1.2.3. Аномалии хромосомы 8 .....	22
1.2.4. Аномалии хромосомы 17 .....	23
1.2.5. Аномалии хромосомы 3 .....	25
1.2.6. Аномалии других хромосом .....	26
1.2.7. Моносомный кариотип .....	28
1.2.8. Сложный кариотип.....	29
1.3. Место флуоресцентной <i>in situ</i> гибридизации (FISH) в уточнении характера перестроек хромосом у больных МДС .....	30
1.4. Экспрессия молекулярных маркеров <i>BAALC</i> и <i>WT1</i> у больных МДС.....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	35
2.1. Характеристика пациентов.....	35
2.2. Методы обследования.....	39
2.2.1. Стандартное цитогенетическое исследование.....	39
2.2.2. Многоцветная флуоресцентная <i>in situ</i> гибридизация.....	41
2.2.3. Анализ уровней экспрессии генов <i>BAALC</i> и <i>WT1</i> .....	42
2.3. Статистическая обработка результатов исследования .....	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	44

3.1. Общая цитогенетическая характеристика больных МДС .....	44
3.2. Место многоцветной FISH в уточнении характера выявленных хромосомных изменений .....	45
3.3. Результаты цитогенетического анализа при отдельных цитогенетических вариантах МДС, уточненные техникой многоцветной FISH .....	46
3.3.1. Особенности хромосомных изменений 5-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС .....	46
3.3.2. Особенности хромосомных изменений 7-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС .....	56
3.3.3. Особенности хромосомных изменений 8-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС .....	68
3.3.4. Особенности хромосомных изменений 3-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС .....	77
3.3.5. Особенности хромосомных изменений 12-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС .....	83
3.3.6. Особенности хромосомных изменений 13-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС .....	89
3.3.7. Обобщенные результаты анализа СК с применением метода mFISH с углубленным изучением сложноперестроенных дериватных и маркерных хромосом .....	97
3.4. Анализ уровней экспрессии генов <i>BAALC</i> и <i>WT1</i> у пациентов с разными цитогенетическими вариантами МДС.....	106
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ .....	115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	120
ВЫВОДЫ.....	121

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	123
ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	127

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Миелодиспластические синдромы (МДС) представляют собой гетерогенную группу заболеваний системы крови опухолевой природы, в основе которых лежит поражение гемопоэтических стволовых клеток крови, возникающее вследствие генетических мутаций и эпигеномных нарушений, дающих преимущество в пролиферации патологическому клону клеток по сравнению с нормальным [1, 76]. Это приводит к нарушению дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественниц гемопоэза и повышенной чувствительности их к проапоптотическим факторам, вследствие чего возникает неэффективный гемопоэз (дисэритропоэз, дисгранулоцитопоэз и дисмегакариоцитопоэз), что клинически проявляется себя цитопениями в периферической крови. Для терминальной стадии МДС характерно накопление бластных элементов в костном мозге с высоким риском трансформации заболевания в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) [10, 26]. МДС преимущественно встречаются у людей старшей возрастной группы [93], в связи с чем проведение аллогенной трансплантации ГСК – единственного на данный момент метода излечения – у таких пациентов с учетом их коморбидности весьма затруднительно [11]. Патогенез МДС изучен до сих пор недостаточно. У половины таких пациентов встречаются хромосомные аномалии (ХА), при этом у части больных могут быть обнаружены сложные хромосомные aberrации (СХА) [4, 55]. Точный анализ СХА затруднен ограничениями стандартного цитогенетического исследования (СЦИ) хромосом [15, 47]. Многоцветная флуоресцентная *in situ* гибридизация (mFISH) является методом FISH нового поколения, который позволяет одновременно идентифицировать все хромосомы в одном эксперименте [72, 117]. Данный подход, с одной

стороны, позволяет прояснить природу СХА, выявить скрытые межхромосомные обмены, определить истинную природу дериватных и маркерных хромосом, а с другой – открывает дорогу для выяснения роли отдельных хромосом в патогенезе заболевания [97, 117]. С клинической точки зрения данные цитогенетического анализа являются неотъемлемой составной частью диагностики и стратификации риска больных МДС. Современные системы оценки риска этого заболевания помимо клинической информации включают данные цитогенетики, в том числе такие категории как сложный (СК) и моносомный кариотипы (МК). Выделение моносомного кариотипа в СХА без mFISH проводить непросто из-за ограничений СЦИ [3, 111], поэтому довольствоваться только GTG-бэндингом в этих случаях неприемлемо. В последние годы появляется больше исследований, посвященных изучению патогенеза МДС, механизмов его прогрессии и возникновения рецидива [26, 42, 89]. При этом ведущее место в этих исследованиях занимает анализ не только драйверных мутаций, но и специфических молекулярных маркеров, таких как гены *BAALC* и *WT1* [9, 75, 85]. В процессе изучения экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у пациентов с ОМЛ [7, 69, 70] были получены данные, которые свидетельствовали о наличии связи с экспрессирующими их ранними (*BAALC*) и более зрелыми (*WT1*) лейкозными клетками-предшественницами миелопоэза, что позволяет оценивать динамику содержания этих клеток методом стандартной количественной ПЦР в реальном времени и открывает перспективы к пониманию патогенеза различных цитогенетических вариантов МДС.

#### Степень разработанности научной темы

Цитогенетическое исследование является стандартом диагностики и стратификации риска у больных МДС, в том числе леченных алло-ТГСК [10, 18]. В то же время, подключение к анализу СК новых молекулярно-

цитогенетических методов исследования у больных МДС и ОМЛ проводили не часто [19, 23, 102, 105, 111]. При этом детальный анализ сложных дериватных и маркерных хромосом, как правило, не выполнялся. По аналогии с этим, экспрессию гена *BAALC* и *WT1* в костном мозге больных МДС изучали недостаточно, без учета отдельных цитогенетических вариантов МДС [26, 75, 100].

### Цель исследования

Оценить значение многоцветного и стандартного кариотипирования клеток костного мозга в изучении хромосомных нарушений при МДС и связанных с ними ОМЛ.

### Задачи исследования

1. Изучить частоту встречаемости, клинические особенности, структуру aberrаций отдельных хромосом в изолированном варианте и в составе СК у пациентов с МДС и связанных с ними ОМЛ.
2. На основании детального анализа хромосомных нарушений с помощью многоцветной FISH проанализировать СК у пациентов с МДС и связанных с ними ОМЛ; изучить в них частоту вовлечения отдельных хромосом и структуру СХА с определением неслучайных межхромосомных обменов.
3. Сопоставить результаты исследования сложных и моносомных кариотипов у пациентов с МДС и связанных с ними ОМЛ, которые были получены с помощью техник: стандартного и многоцветного кариотипирования.

4. Изучить частоту вовлечения генетического материала различных хромосом в составе сложных дериватных и маркерных хромосом у пациентов с МДС и связанных с ними ОМЛ.
5. Изучить уровни экспрессии генов *BAALC* и *WT1* в клетках костного мозга у пациентов с различными цитогенетическими вариантами МДС.

#### Основные положения, выносимые на защиту

1. Хромосомные аберрации при МДС гетерогенны, определяются с разной частотой в изолированном варианте и составе СК, а также различаются у детей и взрослых.
2. Многоцветная FISH является важным молекулярно-цитогенетическим инструментом для уточнения сложных хромосомных аберраций, которые представляются закономерными при МДС и ОМЛм.
3. Использование mFISH подхода для анализа сложного кариотипа у больных МДС и ОМЛм необходимо для точного определения истинных моносомий.
4. Анализ сложных кариотипов с помощью многоцветного кариотипирования создает условия для уточнения роли отдельных хромосом в патогенезе МДС. В сложных кариотипах хромосома 7 является самым частым донором генетического материала.
5. Повышенные уровни экспрессии генов *BAALC* и *WT1*, тесно связанные с экспрессирующими их лейкозными стволовыми клетками отмечены у большинства больных МДС. В противоположность этому, они находятся ниже порогового уровня у 3/4 больных с синдромом изолированной делеции 5q, что объясняется особой биологией данного варианта, и нуждается в дальнейшем углублённом изучении.



## Научная новизна

1. Использование метода mFISH у больных МДС и связанных с ними ОМЛ со сложными кариотипами позволило впервые определить состав сложно-перестроенных дериватных и маркерных хромосом и выявить неслучайное вовлечение в их формирование генетического материала 7-й, 4-й, 8-й и 12-й пар хромосом.
2. С помощью метода mFISH впервые установлены неслучайные хромосомы-партнеры при формировании СК: для хромосомы 3 – 17-я; для 5-й – 7, 8, 12, 17-я; для 7-й – 2, 5, 12-я; для 8-й – 5, 12-я; для 12-й – 5, 7-я; для 13-й – 1, 5, 7-я.
3. Впервые показано, что экспрессия гена *BAALC* у 3/4 обследованных больных с синдромом изолированной делеции 5q была ниже порогового уровня, что объясняет особенности биологии этой патологии.

## Теоретическая и практическая значимость

Применение современных молекулярно-цитогенетических методов исследования позволяет точно идентифицировать вовлечённые в перестройки хромосомы в составе сложно-перестроенных кариотипов, что оправдывает их более активное использование в клинике. В условиях современной лаборатории метод определения уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* в клетках костного мозга больных МДС легко реализуется, что открывает путь для более глубокого изучения патогенеза МДС и оценки эффективности лечения на уровне гемопоэтических стволовых клеток.

## Методология и методы исследования

Методология исследования основана на системном подходе к изучаемой проблеме с характеристикой цитогенетических нарушений у больных МДС и связанных с ними ОМЛ, в том числе леченных с использованием алло-ТГСК. В работе использованы клиничко-лабораторные, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические и статистические методы исследования.

## Степень достоверности и апробация результатов

Материалы диссертационного исследования представлены на IV Конгрессе гематологов России (Санкт-Петербург, 2018), VI научно-практической конференции «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» (Санкт-Петербург, 2021) и на 13-й Международной Европейской конференции по цитогеномике (онлайн формат, 2021). По теме диссертационного исследования опубликовано 8 научных работ, из которых 5 публикаций - в журналах, индексируемых в базе данных Scopus, из них 4 статьи - в изданиях, рекомендованных в перечне ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

## Внедрение результатов исследования

Основные положения диссертации внедрены в практическую и научно-исследовательскую работу отделения онкогематологии СПб ГБУЗ «Детская городская больница №1», научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.

## Структура работы

Диссертационная работа основана на анализе клинических и лабораторных данных 130 пациентов клиники НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачёвой. Она изложена на 140 страницах машинописного текста, иллюстрирована 37 рисунками и дополнена 13 таблицами. Диссертация состоит из введения, обзора литературных данных, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы разработки темы, списка сокращений и списка литературы. Последний включил 118 литературных источников, в том числе 13 отечественных и 105 зарубежных авторов.

## ГЛАВА 1. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У БОЛЬНЫХ МДС (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

### 1.1. Цитогенетические исследования при МДС

В 1960-е годы после описания частичных делеций и перицентрических инверсий в хромосомах из группы G (19-я и 20-я пары) у нескольких больных сидеробластной анемией J. Grouchy с соавт. [37] высказали предположение о клональной природе МДС. Далее, в костном мозге больных «предлейкозом» были описаны неслучайные клональные изменения хромосом, в частности, трисомия 8,  $-7/\text{del}(7q)$  и  $-5/\text{del}(5q)$  [92]. При этом не было сомнений, что наличие этих хромосомных аномалий в кариотипе не только отрицательно влияет на продолжительность жизни больных, но и ассоциируется с более частой трансформацией МДС в острый лейкоз [12]. В зависимости от варианта МДС клональные хромосомные aberrации при стандартном цитогенетическом исследовании (СЦИ) костного мозга выявляются у 50 % пациентов при установлении диагноза первичного МДС, в то время как при вторичном МДС хромосомные поломки обнаруживают у 80 % пациентов [49, 64, 79, 114].

Основные хромосомные аномалии при МДС перечислены в таблице 1. Наиболее характерными для МДС считаются такие несбалансированные aberrации как нерцепрокные транслокации, делеции, дупликации хромосомного материала, анеуплоидии (чаще моносомии, трисомии), инсерции хромосомного материала и дицентрические хромосомы. Напротив, сбалансированные хромосомные аномалии у больных МДС встречаются реже. Согласно последней международной классификации [18] наличие в кариотипе характерных для МДС цитогенетических аномалий, таких как  $-7$ ,  $\text{del}(7q)$ ,  $\text{del}(5q)$ , а также сложного кариотипа, считается достаточным для

подтверждения диагноза МДС у пациентов с цитопениями, даже при отсутствии диспластических изменений.

Таблица 1. Основные хромосомные aberrации при миелодиспластических синдромах

Вид поломки	Нарушения хромосом	
	Сбалансированные	Несбалансированные
Транслокации	t(1;3)(p36;q21); t(1;6)(p36;p21); t(1;7)(p36;p12); t(1;16)(q11;q11); t(1;21)(p36;q22); t(2;8)(q12;p11); t(2;11)(p21;q23); t(2;11)(q31;p15); t(2;12)(q31;p13); t(3;3)(p24;q26); <b>t(3;3)(q21;q26)</b> t(3;4)(p21;q34); t(3;11)(p25;p15); t(3;11)(q12;p15); t(3;12)(q26;p13); t(3;16)(q21;q22); t(3;18)(q26;q11); t(3;21)(q26;q11); t(3;21)(q26;q22); t(4;5)(q31;q31); t(4;11)(p12;q23); t(5;7)(q33;q11); t(5;12)(q33;p13); t(5;16)(q32;p13); t(5;17)(q33;p11.2); t(5;17)(q33;p13); t(5;17)(q35;q21); t(5;21)(q13;q22); t(6;8)(q27;p12); t(6;9)(p22;q34); t(6;9)(p23;q34); t(6;12)(p21;p13); t(6;17)(p21;p13); t(6;20)(q13;q12); t(6;21)(p22;q22); t(7;12)(p12;q13); t(8;9)(p22;p24); t(8;12)(q12;p13); t(8;13)(p11;q12); t(8;21)(q22;q22); t(8;21)(q23;q22); t(9;11)(p22;q23); t(9;12)(q22;p13); t(9;22)(q34;q11); t(10;12)(q24;p13); t(11;14)(p15;q22); t(11;16)(q23;p13); t(11;17)(q23;q25); t(11;17)(p15;q21); t(11;20)(p15;q11); t(11;21)(q13;q22); t(11;21)(q24;q11); t(12;12)(p13;q13); t(12;14)(q13;q31); t(12;15)(p13;q25); t(12;17)(p13;p13); t(12;18)(p13;q12); t(12;20)(q15;q11); t(12;22)(p13;q11); t(14;21)(q22;q22); t(15;21)(q22;q22); t(16;21)(q24;q22); t(20;21)(q13;q22); t(20;21)(q13.2;q22.12)	der(2)t(1;2)(q12-21;q37); der(4)t(1;4)(q11-32;q34-35); der(7)t(1;7)(q10;p10); der(11)t(11;11)(p15;q13); der(12)t(1;12)(q11-21;p11-13); der(17)t(5;17)(p11;p11); der(18)t(1;18)(q10-25;q11-23); der(19)t(11;19)(q13;p13); der(21)t(1;21)(q11-12;p11-13); der(21)t(1;21)(q21-32;p11-13); der(Y)t(Y;1)(q12;q21); dic(5;17)(q11;p11)

## Продолжение таблицы 1

Вид поломки	Нарушения хромосом	
	Сбалансированные	Несбалансированные
Инверсии	inv(3)(p36q21); <b>inv(3)(q21q26)</b> ; inv(6)(p25q13); inv(11)(p15q23); inv(11)(q21q23); inv(12)(p13q15); inv(16)(p13q22); inv(18)(p11q21)	
Изохромосомы		i(7q); i(14)(q10); i(17)(q10); i(21)(q10); i(X)(p10); i(X)(q13)
Делеции	del(3)(q21); del(4)(q25); <b>del(5)(q11q31)</b> ; <b>del(5)(q11q33)</b> ; <b>del(5)(q12q33-34)</b> ; <b>del(5)(q13)</b> ; <b>del(5)(q13q22-23)</b> ; <b>del(5)(q13q31-35)</b> ; <b>del(5)(q14q32-34)</b> ; <b>del(5)(q15)</b> ; <b>del(5)(q15q31)</b> ; <b>del(5)(q15q33)</b> ; <b>del(5)(q15q35)</b> ; <b>del(5)(q22)</b> ; <b>del(5)(q22q33)</b> ; <b>del(5)(q22q35)</b> ; <b>del(5)(q23q32)</b> ; <b>del(5)(q31)</b> ; <b>del(5)(q31q33)</b> ; <b>del(5)(q31q35)</b> ; del(6)(q13); del(6)(q21); del(6)(q23); <b>del(7)(p11)</b> ; <b>del(7)(q11q22)</b> ; <b>del(7)(q21)</b> ; <b>del(7)(q21q34)</b> ; <b>del(7)(q22q34)</b> ; <b>del(7)(q22q36)</b> ; <b>del(7)(q31)</b> ; <b>del(7)(q31q36)</b> ; <b>del(7)(q32)</b> ; del(8)(q22); del(9)(q11q22); del(9)(q13q22); del(11)(q13q23); del(11)(q22); <b>del(12)(p11)</b> ; <b>del(12)(p11p12)</b> ; <b>del(12)(p11p13)</b> ; <b>del(12)(p12)</b> ; <b>del(12)(p12p13)</b> ; del(13)(q12q14); del(13)(q12q21-22); del(15)(q21); del(16)(q22); del(17p); del(17)(q12); del(18)(q21-22); <b>del(20)(q11-13)</b> ; <b>del(20)(q11q13)</b> ; <b>del(20)(q12q13)</b> ; del(21)(q21); del(21)(q21q22); del(22)(q11);	
Моносомии	<b>5, 7, Y</b>	

Примечание: **жирным шрифтом** выделены наиболее часто встречающиеся хромосомные аномалии при МДС

Вместе с тем, некоторые из наиболее распространенных цитогенетических аномалий, например, делеция 20q и трисомия 8-й хромосомы, не являются МДС-определяющими, поскольку нередко могут быть обнаружены у больных с апластической анемией и другими цитопеническими синдромами. К списку исключения относится также потеря

Y-хромосомы, которая очень свойственна мужчинам старшей возрастной группы [17].

## 1.2. Основные цитогенетические изменения при МДС

### 1.2.1. Аномалии хромосомы 5

В 1974г. J. van den Berghe [104] была выявлена первая, прогностически значимая, цитогенетическая поломка в клетках костного мозга больных миелодиспластическими синдромами. Она касалась интерстициальной делеции длинного плеча хромосомы 5 у пациентов с макроцитарной анемией, тромбоцитозом, дисэритропоэзом и гиполобулярными мегакариоцитами. Как оказалось, перестройка этой хромосомы является самой частой (до 40 %) цитогенетической находкой при МДС взрослых пациентов [44, 64]. При этом было выделено несколько типов делеций, в том числе с вовлечением сегментов q13-q31, q13-q33, q12-q31, q14-q31 и q23-q32. На рисунке 1 показаны наиболее часто удаляемые регионы длинного плеча хромосомы 5, в которых расположено приблизительно 40 генов, потенциально способных участвовать в патогенезе МДС. Как показали дальнейшие исследования [29], важнейшую роль в патогенезе заболевания играют гены *RPS14* (5q33.1), *EGR1* (5q31.2) и *CSNK1A1* (5q31.2). Размер делеции длинного плеча хромосомы 5 различается у пациентов с МДС, хотя в большинстве наблюдений удаляется регион 5q31. Было также подмечено, что делеция проксимального региона 5q31.1-q31.2 часто ассоциируется с высоким риском трансформации МДС в ОМЛ. Вместе с тем, были описаны наблюдения миелоидной малигнизации при атипичных делециях, не включающих регион 5q31 [33]. Что касается участия в патогенезе «5q-синдрома» дистальной

делеции региона 5q32-5q33, прогноз при этом варианте делеции благоприятный.

У подавляющего же большинства пациентов с МДС (>95 %) имеет место делеция, в которую нередко вовлечены оба удаленных региона, а также другие сегменты хромосомы 5 [14]. Помимо часто удаляемых регионов (CDR), выделяют также часто остающиеся регионы (CRR) (рисунок 1).

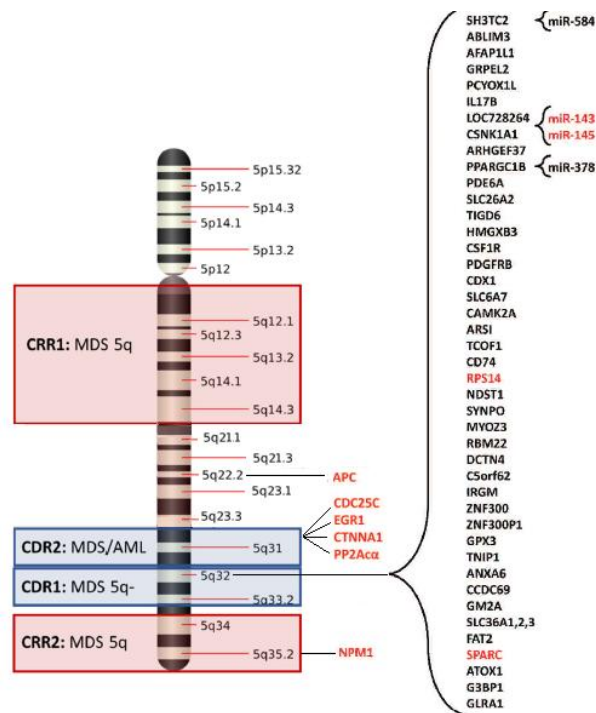


Рисунок 1 – Схематичное изображение 5-й хромосомы с часто удаляемыми и часто остающимися регионами (CDR1/CDR2 и CRR1/CRR2, соответственно). Красным выделены гены, участвующие в патогенезе заболевания. Гены, расположенные вне CDR, но связанные с миелодисплазией, трансформацией в лейкоз или механизмами действия леналидомида, также показаны красным цветом (заимствовано из Jädersten M. с соавт., 2011; Acha P. с соавт., 2022)

Так, одна из работ [61] показывает, что при 5q-синдроме проксимальная и терминальная области всегда сохраняются. Таким образом, были описаны два CRR: CRR1 для проксимальной области (до локуса 5q14.2), а CRR2 - для дистальной области (с локуса 5q34). При этом пациенты с CRR имели



меньшее количество мутаций в геноме и коррелировали с хорошим прогнозом. При других же формах МДС и ОМЛ с del(5q) выявить CRR не удалось.

Пациенты с делецией 5q относятся к благоприятной группе риска и имеют хорошие показатели выживаемости. В качестве иллюстрации могут быть рассмотрены данные следующей работы [46], в которой ОВ и вероятность прогрессии в ОМЛ в течение 5 лет составила 60,9 % и 17,6 %, соответственно. Независимым предиктором прогрессии в ОМЛ была трансфузионная зависимость пациентов ( $p=0,05$ ), а также наличие в кариотипе двух и более дополнительных к делеции 5q ХА. В этом исследовании, основанном на изучении 381 пациента с делецией 5q, изолированную поломку обнаружили у 82 % пациентов, делецию 5q в сочетании с одной дополнительной ХА – у 14 %, а в сочетании с двумя и более ХА (комплексный кариотип) – у 4 % пациентов. В другой работе [115] ОВ пациентов с делецией 5q в составе СК составила 2 месяца. При этом в когорте больных с комплексными цитогенетическими нарушениями хромосома 5-й пары чаще вовлекалась в различные несбалансированные перестройки, включая транслокации и инсерции. В то же время вопрос о частоте встречаемости моносомии 5-й хромосомы у больных МДС остался дискуссионным. В частности, в ряде работ [3, 43, 115] наличие моносомии 5-й хромосомы подтвердить не удалось. На наш взгляд показательное исследование Гребенюк с соавторами [3], которое включало 15 пациентов с МДС и СК, у 11 из которых распознанная после СЦИ 5-я хромосома на самом деле была представлена только делецией 5q31. При этом у 9 больных она была вовлечена в транслокации, в том числе комплексные, с хромосомами 1-й, 2-й, 3-ей, 11-й, 12-й, 15-й, 17-й, 20-й, 21-й и 22-й пар. В другой похожей работе [43] моносомия 5-й хромосомы была подтверждена у двух из 12 пациентов с первичным и вторичным МДС, в то время как в

остальных наблюдениях речь шла лишь о делетированной 5-й хромосоме, маскирующейся в составе различных маркеров.

В целом, пациенты с делецией 5q относятся к группе низкого риска и демонстрируют неплохие результаты, как на поддерживающей терапии, так и иммуномодулирующей терапии леналидомидом. Вместе с тем часть пациентов оказываются резистентными к проводимой терапии, или же теряют достигнутый ответ в ходе дальнейшего лечения [96, 98].

### 1.2.2. Аномалии хромосомы 7

История изучения моносомии 7 началась в 1964 году с сообщения о новом клиническом синдроме, названном рефрактерной анемией, где в клетках костного мозга отсутствовала одна из хромосом группы C [56]. Среди аномалий 7-й хромосомы при МДС чаще встречаются моносомия 7 и делеция 7q, причем эти аберрации в 10 % случаев наблюдаются у пациентов с первичным диагнозом, а в 30 % - со вторичным [56, 58, 64]. Другой нередкой цитогенетической находкой при МДС является несбалансированная транслокация  $der(1;7)(q10;p10)$ , которая формирует частичную трисомию по длинному плечу 1-й хромосомы и частичную моносомию 7q. Как правило, она связана с предшествующей терапией алкилирующими агентами или с воздействием радиации, а определяется чаще у лиц мужского пола [20, 54].

Предполагается, что патогенез МДС при  $del(7q)$  или  $-7$  обусловлен гаплонедостаточностью генов, которые расположены в часто удаляемых регионах 7q22, 7q32-33 и 7p35-36. Таковыми считают гены *CUX1*, *EZH2*, *MLL3*, *SAMD9* и *SAMD9L* (рисунок 2) [56,78, 108].

Моносомия 7 у пациентов с МДС ассоциируется с ранним дебютом, тяжелой рефрактерной цитопенией, повышенной частотой инфекционных

осложнений (чаще бактериальных), быстрым прогрессированием заболевания и резистентностью к проводимой терапии [45, 56]. Среди аномалий 7-й хромосомы, встречаются как изолированные варианты, так и сочетания моносомии 7 с одной или несколькими дополнительными хромосомными нарушениями, что формирует моносомный или сложно-моносомный кариотипы.

При изолированной моносомии 7 и моносомии 7 с одной дополнительной ХА (ДХА) средняя общая выживаемость равнялась 14 месяцам, а при моносомии 7 в составе сложного кариотипа (с 2 и более дополнительными ХА) она укорачивалась до 8 месяцев [50].

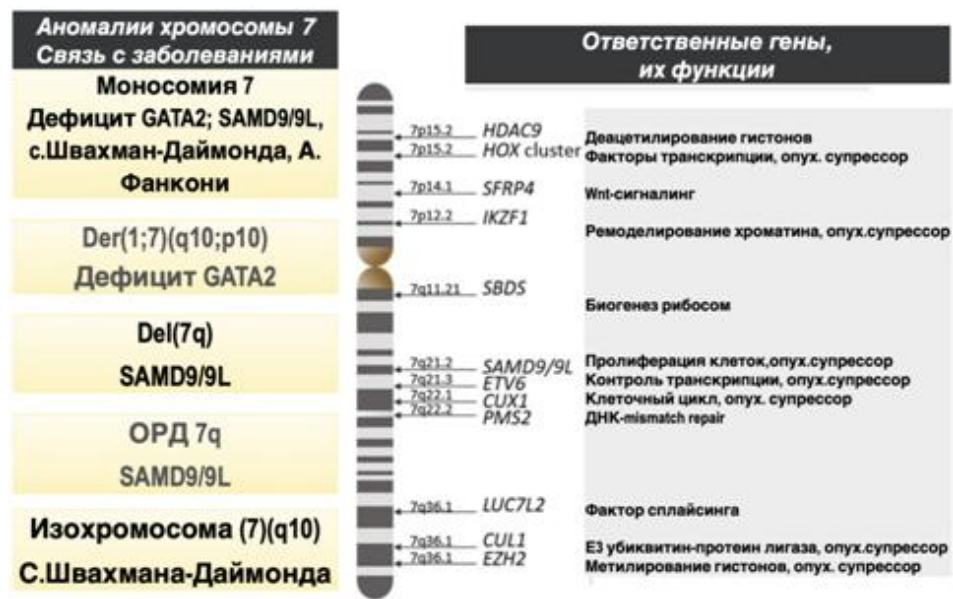


Рисунок 2 – Схематичное изображение генов, расположенных на 7-й хромосоме и краткое описание их функций (Заимствовано из Wlodarski с соавт., 2018)

Пациенты с делецией 7q, как единственной аномалией кариотипа, имеют лучший прогноз, чем пациенты с изолированной полной моносомией хромосомы 7. Согласно мнению ряда авторов, пациенты с МДС и изолированной делецией 7q не должны объединяться в одну группу цитогенетического риска вместе с пациентами с моносомией 7 [25, 50, 83],

что находит отражение в пересмотренной классификации IPSS-R. С этим представлением утверждением согласуются результаты исследования [35], где больные МДС были стратифицированы на четыре группы: 1) с моносомией 7; 2) моносомией 7 и ДХА; 3) делецией 7q; и 4) делецией 7q и ДХА. Медиана ОВ пациентов с делецией 7q и пациентов с изолированной моносомией 7-й хромосомы составила 40,8 и 16 месяцев соответственно ( $p=0,011$ ). Более низкая выживаемость была свойственна больным с делецией 7q и ДХА, в отличие от пациентов с изолированной делецией 7q (7,2 и 40,8 мес. соответственно,  $p=0,001$ ). В то же время выживаемость пациентов с делецией 7q в сочетании с ДХА и таковых с моносомией 7 с дополнительными ХА, также как между группами пациентов с изолированной моносомией 7 и моносомией 7 в сочетании с ДХА не отличалась. По аналогии с этим пациенты с делецией 7q в сочетании с одной, двумя и тремя ДХА имели примерно одинаковую медиану ОВ. Время трансформации в ОМЛ у пациентов с аномалией 7-й хромосомы в данном исследовании составило в среднем 32 месяца. При этом, безлейкозная выживаемость оказалась выше у пациентов с изолированной делецией 7q в сравнении с таковыми с делецией 7q в сочетании с ДХА ( $p=0,01$ ).

Далее следует отметить, что аномалии 7-й хромосомы, в частности моносомия 7, являются нередкими цитогенетическими находками (до 31 %) у детей с МДС [16, 73], причем у половины детей с рефрактерной анемией выявляется моносомия хромосомы 7 [63]. Данный цитогенетический вариант МДС у детей характеризуется неэффективным эритропозом, костномозговой дисплазией и высоким риском лейкозной трансформации в ОЛ, включая ОЛЛ [16, 71, 73]. Что касается алло-ТГСК, она является эффективным терапевтическим методом у данной группы пациентов и, более того, сочетается с хорошими показателями выживаемости [1, 101].

В недавнем исследовании с включением в работу 426 детей и подростков первичным МДС, конституциональная мутация *GATA2* была

обнаружена у 37 % пациентов с моносомией 7-й хромосомы [109]. Данная мутация чаще определялась в подростковом возрасте (72 %) и не была выявлена у больных со вторичными МДС, а также у детей младше 4-х лет. Дополнительными хромосомными аномалиями в этой когорте пациентов чаще выступали трисомия хромосом 8 и 21, в то время как сложных кариотипов зафиксировано не было. Зависимости между ОВ, исходами после трансплантации, наличием мутации *GATA2* у детей с МДС и моносомией 7 не удалось выявить в большом исследовании Европейской рабочей группы по МДС (EWOG-MDS), хотя проведенный многофакторный анализ показал негативное влияние на выживаемость продвинутой стадии заболевания, а также наличия в кариотипе моносомии 7-й хромосомы [28]. Здесь следует также остановиться на недавно полученных данных о возможности развития МДС с моносомией 7 у детей младшего возраста, имевших герминальную мутацию в генах *SAMD9/SAMD9L*. По этому поводу была высказана гипотеза, что появление моносомии 7 в такой ситуации может быть связано с клеточной адаптацией [81]. Дело в том, что мутированные гены *SAMD9* и *SAMD9L* оказывают супрессивное влияние на пролиферацию клеток. Потеря же мутантного аллеля сохраняет потенциал роста клеток костного мозга благодаря анеуплоидии. При этом теряется либо весь мутантный аллель (моносомия 7), либо его часть (делеция 7q), что ведет к развитию МДС. Кроме того, изменённая таким образом клетка может накапливать дополнительные соматические мутации в генах, в том числе в *SETBP1*, *KRAS*, *EZH2*, *PTPN11*, и *ETV6* [27]. Другой механизм избавления клетки от мутантного аллеля *SAMD9* или *SAMD9L* выглядит безобиднее, поскольку он может привести к самокоррекции этого клона из-за реверсии моносомии хромосомы 7 вследствие однородительской дисомии по 7-й хромосоме. В нескольких наблюдениях [81] у пациентов с транзиторной моносомией 7 была отмечена генетическая реверсия, когда первоначальный кариотип с моносомией хромосомы 7 исчезал, а гемопоэз восстанавливался. Как

следствие этого, пациенты оставались здоровыми до 20 лет после первоначально установленного диагноза.

### 1.2.3. Аномалии хромосомы 8

Наиболее частой патологией при МДС является трисомия 8-й хромосомы, которая встречается у 5 - 15 % этих пациентов [50, 88]. Пациенты с трисомией хромосомы 8 относятся к группе промежуточного риска [91], а продолжительность ОВ у таких пациентов зависит от наличия дополнительных к трисомии 8 хромосомных аномалий. Так, медиана ОВ пациентов с МДС с трисомией 8-й хромосомы в изолированном варианте и с 1 ДХА составила 34,3 и 40 месяцев, соответственно. При этом отмечалось ее снижение до 23,4 и 5,8 месяцев, соответственно, в случае сочетания трисомии 8 с двумя ДХА и тремя и более ДХА ( $p < 0,001$ ). Многофакторный анализ показал, что статистически значимым было сочетание в кариотипе трисомии хромосомы 8 с двумя и более дополнительными хромосомными aberrациями, которые ассоциировались с резким ухудшением ОВ в данной когорте пациентов ( $p < 0,001$ ). Вероятность 2-летней трансформации в острый лейкоз у больных с трисомией 8-й хромосомы равняется 17,7 % [88]. Авторы другого исследования [50] также отмечают более высокие показатели ОВ пациентов с трисомией 8 и 1 ДХА по сравнению с изолированной трисомией 8-й хромосомы (44 месяца против 22 месяцев, соответственно).

В заключение следует остановиться на недавно опубликованной работе Копита с соавторами [67], которые провели исследование в когорте ( $n=361$ ) взрослых (старше 16 лет) пациентов с МДС на предмет влияния на исходы алло-ТГСК: а) изолированной трисомии 8-й хромосомы; и б) её сочетания с одной, двумя и более ДХА. Многофакторный анализ показал негативное влияние на ОВ трисомии 8 в сочетании с 2 и более ХА, возраста пациентов

старше 50 лет и статуса заболевания на момент алло-ТГСК. При этом различия ОВ пациентов в группах с изолированной трисомией 8 и её сочетанием с 1 дополнительной ХА оказались статистически не значимыми. Такие же выводы были сделаны недавно Saumell с соавт. [88] и Yue с соавт. [113], которые анализировали ОВ пациентов с аналогичной патологией у 134 и 84 пациентов, соответственно. Одним из приемлемых объяснений этого феномена может быть повышенная экспрессия гена *MUC* у больных с трисомией 8, который по данным экспериментальных исследований может оказывать негативное влияние на патогенетически значимые при МДС апоптотические белки [95].

#### 1.2.4. Аномалии хромосомы 17

Аномалии 17-й хромосомы выявляются у 2 % пациентов с МДС, причем в половине наблюдений определяется изохромосома 17q [87, 114]. Хотя изохромосома 17q относится к промежуточной группе прогноза, роль моносомии 17 и других aberrаций 17-й хромосомы пока до конца не ясна [40]. Это касается и делеции 17p, поскольку последняя в качестве самостоятельной ХА пока не внесена в прогностическую шкалу IPSS-R. Медиана ОВ пациентов с изолированными аномалиями 17-й хромосомы составляет 72 месяца. Она снижается до 49 месяцев у пациентов с одной ДХА и резко сокращается до 5 месяцев у пациентов с 2 и более ДХА [87], причем отмечается влияние на продолжительность жизни варианта aberrации хромосомы 17. Так, худшую выживаемость и короткое время трансформации в ОМЛ демонстрируют пациенты с моносомией 17-й хромосомы по сравнению с пациентами с изохромосомой 17q (6 и 10 месяцев против 13 и 37 месяцев,  $p=0,011$  и  $p=0,035$ , соответственно).

На коротком плече хромосомы 17 (17p13.1) локализован ген *TP53*, который является геном-супрессором опухоли и его потеря ведет к нарушению естественных процессов апоптоза. Помимо делеции 17p или моносомии 17, другие аномалии хромосомы 17 также могут вести к изменениям в пути p53 [87], причем иногда в лучшую для пациента сторону. Так, в наблюдении [68] молодая пациентка с первичным МДС, имея в своем кариотипе две казалось бы две неблагоприятные ХА, такие как трисомия 1q и t(1;17), ведущая к потере 17p, успешно наблюдалась в течение 4-х лет. Кроме того, у 10 % пациентов с МДС *de novo* и до 35 % у пациентов с вторичным МДС определяются мутации в гене *TP53* [13, 80], которые являются независимыми факторами резистентности к проводимой терапии, быстрой трансформации в ОМЛ и плохого исхода [64]. При мутации этого гена отмечается высокая частота хромосомных aberrаций, в частности del(17p)/i(17q), del(5q), моносомные кариотипы, включая моносомии/делеции хромосом 5 и 7, сложные кариотипы [51, 112]. Наличие мутации в гене *TP53* ухудшает течение МДС. Так, 20% пациентов с делецией 5q имеют мутацию в гене *TP53*, что отражается на резистентности к терапии леналидомидом, агрессивности течения заболевания, повышенном риске трансформации в ОМЛ и плохом исходе после алло-ТГСК [59, 77]. Кроме того, мутация гена *TP53* - одна из немногих генетических аномалий, включенных в пересмотренную классификацию опухолей гемопоэтической и лимфоидной ткани ВОЗ, и определяющих подтип МДС [65].

Участие 17-й хромосомы в aberrациях в составе сложного кариотипа было зафиксировано с помощью метода mFISH у 55 % пациентов, при этом она являлась второй по частоте вовлечения в СК хромосомой после хромосомы 5. В большинстве наблюдений (57 %) aberrации хромосомы 17 были представлены несбалансированными транслокациями [111]. В одной из работ [107], куда вошли данные от 178 пациентов с МДС и ОМЛ, неслучайные aberrации хромосомы 17 были описаны в составе der(5;17).



Основываясь на различных точках разрыва, эти авторы выделили 4 типа хромосомных аномалий, включая  $der(5;17)(p10;q10)$ ,  $der(5)t(5;17)(q?;p?)$ ,  $dic(5;17)$ ,  $der(17)t(5;17)$ , которые встречались с частотой выявления 33 %, 32 %, 24 % и 10 %, соответственно. Помимо этого, хромосома 17 может принимать участие в образовании сложных дериватов. В этом отношении заслуживают внимания данные следующей работы [3], в которой с помощью mFISH в составе сложнейшего деривата был найден фрагмент хромосомы 17, считавшейся утерянной после СЦИ (рисунок 3). К тому же, этими авторами было доказано отсутствие истинной моносомии 17-й хромосомы в данном наблюдении.

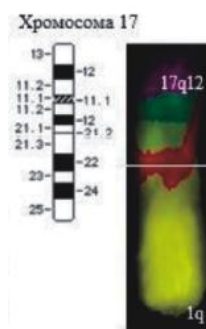


Рисунок 3 – Селективная кариограмма больной МДС, демонстрирующая вовлечение материала 17-й хромосомы в состав сложного деривата в транслокации  $t(1;5;7;13;14;15;17;20)$  (Заимствовано из Гребенюк с соавт., 2018)

Кроме того, у 70 % больных МДС со сложным кариотипом была обнаружена мутация в гене *TP53*, что ассоциировалось с повышенной хромосомной нестабильностью, быстрым наступлением рецидива заболевания после терапии и укорочением общей выживаемости [76].

### 1.2.5. Аномалии хромосомы 3

Аномалии 3-й хромосомы свойственны 10 – 16 % пациентов с МДС [31, 36]. Ген *EVII*, который расположен на длинном плече 3-ей хромосомы в составе

локуса *MESOM* (3q26), является важным фактором транскрипции, который необходим для регуляции самообновления гемопоэтических стволовых клеток [36]. Онкогенные свойства гиперэкспрессии *EVII* в настоящее время не вызывают сомнений. В то же время обращает внимание исследователей хорошо установленный факт наличия высокой экспрессии гена *EVII* у части больных с отсутствием в кариотипе явных аномалий 3-ей хромосомы в локусе q26, но с делециями 7q- и моносомиями 7 или реаранжировками гена *KMT2A*. При этом биология *EVII*-позитивных лейкозов, также как их реакция на проводимую терапию у детей и взрослых различались [6, 22].

Самыми частыми абберациями хромосомы 3 с вовлечением локуса 3q26 являются инверсии 3q, транслокации t(3;3), t(3;21), t(2;3) и t(3;12), частота выявления которых среди всех аномалий 3-й хромосомы составляет 29,6 %, 20,4 %, 20,4 %, 11,2 %, 3,1 %, соответственно [21, 36].

Пациенты с аномалиями 3q относятся к группе плохого прогноза. Медиана ОВ у них составляет 23,8 месяцев, а время прогрессии в ОМЛ – 7,9 месяцев [91]. Что касается терапии, неплохие результаты удается получить в результате применения эпигенетической терапии и ретиноевой кислоты. Поскольку на сегодняшний день лучшим, излечивающим МДС способом следует считать алло-ТГСК, она способна увеличить среднюю ОВ и у больных с гиперэкспрессией гена *EVII* [86].

#### 1.2.6. Аномалии других хромосом

Из других хромосомных аномалий в кариотипе пациентов с МДС стоит уделить внимание абберациям хромосомы 12, в первую очередь делеции 12p. Она встречается в 0,6 – 5 % наблюдений как изолированное хромосомное поражение, а в 4 % наблюдений в сочетании с ДХА [50, 91]. По шкале IPSS-R изолированную делецию 12p относят к повреждениям хорошего

цитогенетического риска. Медиана ОВ при этой патологии равна 76 месяцам. При этом часто удаляемый регион имеет небольшую протяженность. Он располагается между локусами 12p12.2 и 12p13.2, а потеря связана с утратой ответственного за процессы транскрипции гена *ETV6* [30, 50]. Одно из исследований [30] показывает преимущество использования возможностей метода флуоресцентной *in situ* гибридизации в выявлении делеции 12p. В частности, в большой когорте больных МДС (n=367) делеция 12p была выявлена в 7,6 % наблюдений с помощью метода FISH и только у 1,6 % методом стандартной цитогенетики. При этом, у 89 % обследованных больных [30] делеция короткого плеча 12-й хромосомы сочеталась с 2 и более ДХА.

Чуть реже, чем аномалия 12, больным МДС свойственны повреждения хромосом 13-й пары. Например, делеция 13q была представлена у 2 % пациентов, причем была отмечена её связь со вторичными прогностически неблагоприятными МДС и ОМЛ [20, 114]. Напротив, делеции 13q у больных с неклассифицируемым МДС отличались хорошими ответами на иммуносупрессивную терапию. При этом ОВ у больных с изолированной делецией 13q и таковой с ДХА, равнялась 83 % и 67 % соответственно [52]. Как известно, в удаляемом регионе 13q14.2 расположен ген ретинобластомы *RBI* [20], который считается геном-супрессором опухоли, принимающим активное участие в контроле клеточного цикла и клеточной дифференцировке.

В свою очередь, трисомия 13-й хромосомы встречается у 0,8 % пациентов с МДС, Она может быть как в изолированном варианте, так и в сочетании с одной или несколькими ДХА [49, 50]. Как правило, данная патология преобладает у мужчин старше 70 лет, а наличие её в кариотипе обычно ассоциируется с продвинутыми стадиями МДС с избытком бластных элементов и умеренной или тяжелой панцитопенией. При этом медиана ОВ составляет 9,5 месяцев [20, 114]. С другой стороны, с этим повреждением

генома ассоциирована гиперэкспрессия гена *FLT3*, который также расположен на хромосоме 13, и участвует в таких функциях гемопоэтических клеток как рост и пролиферация. Обращает внимание, что трисомия 13 тесно связана с мутациями гена *RUNX1*, который не только является важным фактором транскрипции, но может участвовать в клеточной дифференцировке [41].

### 1.2.7. Моносомный кариотип

Под моносомным кариотипом понимают наличие в клетке как минимум двух аутосомных моносомий или одной аутосомной моносомии и минимум одной дополнительной структурной аномалии [32]. При МДС прогностическая роль моносомного кариотипа остается неясной. По мнению ряда авторов, МК является независимым негативным предиктором общей выживаемости при МДС [39, 74, 110]. По данным одних авторов медиана ОВ у пациентов с МДС с моносомным кариотипом и без такового составила 8 и 83 месяца, соответственно ( $p=0,001$ ) [110], а кумулятивная частота возникновения рецидива у пациентов с моносомным кариотипом составила 49 % [39]. Напротив, другие исследования [90] показали, что моносомный кариотип представлял собой независимый предиктор низкой выживаемости только у пациентов с количеством хромосомных аномалий до 4, но не в случаях с очень сложными кариотипами ( $\geq 5$  ХА). Отсюда следует, что цитогенетическая сложность aberrаций, а не наличие моносомий, является фактором, ухудшающим прогноз при МДС. К аналогичным выводам в своей работе пришла другая группа исследователей [66] на трансплантационной когорте больных МДС. В этой работе было выделено 4 группы пациентов в соответствии с наличием или отсутствием моносомного кариотипа (МК+, МК-), а также в зависимости от группы цитогенетического риска – высокий

или очень высокий. Так, было установлено, что наличие моносомного кариотипа оказывает дополнительное прогностическое влияние на БРВ и ОВ, но только в группе высокого риска ( $p=0,003$  для БРВ,  $p=0,004$  для ОВ). В частности, 5-летняя БРВ в группах высокого риска с МК-, высокого риска с МК+, очень высокого риска с МК- и очень высокого риска с МК+ составили 27 %, 9 %, 12 % и 4 %, соответственно.

Наиболее часто встречающимися при МДС являются моносомии хромосом 5 и/или 7 [82, 118]. Следом, с убывающей частотой встречаемости, располагаются хромосомы 13-й, 17-й и 20-й пар [24]. При этом моносомию 7-й хромосомы относят к прогностически неблагоприятным аномалиям [56, 45]. Так, 3-летняя БСВ у пациентов с МК+ равнялась 27 % против 39 % в группе больных с МК- [103]. Что касается ОВ, она была равна 29 % против 47 % у больных с МК-. Выяснение влияния моносомного кариотипа на выживаемость леченных алло-ТГСК пациентов показало, что наличие у них МК коррелирует с более высокой, смертностью, связанной с трансплантацией и повышенной частотой возникновения рецидивов заболевания, а также с более короткой ОВ [80, 84].

#### 1.2.8. Сложный кариотип

Сложным считается кариотип, включающий 3 и более хромосомные аномалии на метафазу. Такие хромосомные нарушения встречаются в 10-20 % *de novo* МДС и у половины со вторичным МДС. Они ассоциируются с плохим прогнозом и высоким риском трансформации в ОМЛ [48, 111, 116].

В исследовании чешских авторов [116], которое было выполнено на 182 пациентах с МДС и комплексными хромосомными нарушениями кариотипа, было показано, что в 78 % этих наблюдений имела место клональная гетерогенность, причем 65 % пациентов свойственен

хромотриписис. Достоверных различий в общей выживаемости у пациентов с клональной гетерогенностью и с одним aberrантным клоном получено не было. Помимо этого, у 95 % таких пациентов родственные клоны имеют в своём составе делецию 5q, которая участвовала в различных несбалансированных перестройках, а в 44 % наблюдений была зафиксирована делеция 17p.

В целом, это соответствует полученным ранее данным, указывающим на частое присутствие в составе СК [102, 111] или изолированной делеции 5q - или её нахождение в составе разных транслокаций. Среди них связанная с делецией или моносомией потеря длинного плеча 7-й хромосомы (70 %) и трисомия 8-й хромосомы (до 45 % наблюдений). Пациенты со сложным кариотипом относятся к группе плохого (3 aberrации на кариотип) и очень плохого (4 и более aberrации на кариотип) прогноза [91]. Медиана ОВ у больных МДС с СК составляет 14 месяцев [110], причем наличие моносомного кариотипа в составе СК укорачивает ее до 6 месяцев [74]. Таким образом, МДС с комплексными кариотипами представляют собой весьма разнородную группу, где общая выживаемость и течение заболевания во многом зависит от входящих в их состав aberrаций.

### 1.3. Место флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) в уточнении характера перестроек хромосом у больных МДС

Представленный выше анализ показывает, что из-за сложности хромосомных перестроек у больных МДС методы стандартной цитогенетики могут быть беспомощными, что делает актуальным активное использование в работе молекулярно-цитогенетических подходов [5, 97]. Один из них – флуоресцентная *in situ* гибридизация с локус-специфичными и центромерными ДНК-зондами, чувствительность которой значительно выше,

чем у стандартного цитогенетического исследования. Это позволяет: а) обнаружить криптические хромосомные аномалии; б) проводить анализ непролиферирующих клеток (поскольку FISH выполняется на интерфазных ядрах); и в) использовать этот подход для контроля ответа на терапию. Вместе с тем, и FISH-диагностика не лишена ряда серьёзных недостатков. Дело в том, что ввиду специфичности ДНК-проб для выполнения FISH, исследователь должен знать конкретную перестройку, которую нужно искать у того или иного пациента.

Особого внимания требует идентификация сложных хромосомных перестроек, при которых в кариотипе могут возникнуть сложные хромосомные aberrации или мелкие маркерные хромосомы, распознавание которых с помощью стандартной цитогенетики затруднительно. В этих случаях целесообразно прибегать к помощи таких молекулярно-цитогенетических методов исследования, как многоцветная FISH или SKY-FISH, а также mBAND. Помимо идентификации маркерных хромосом, эти методы позволяют выявить истинно моносомный кариотип в составе сложного, что для стратификации больных по степени риска крайне важно. Метод сегментного бэндрования отдельных хромосом (mBAND) помогает в уточнении точек разрыва при внутрихромосомных (инверсии, делеции) и межхромосомных (транслокации) aberrациях.

Одна из первых работ, использующих метод многоцветной FISH при анализе сложных кариотипов, была выполнена бельгийскими исследователями [105]. Анализируя структуры сложных кариотипов у больных МДС (n=11) и не связанных с МДС ОМЛ (n=25), они сумели выделить несколько цитогенетических подгрупп. Среди них: а) с моносомия 5 с делецией 5q (86 %); б) моносомия 7 с делецией 7q (47 %); в) реаранжировка в локусе 3q26 (19 %); и г) амплификация числа копий гена *KMT2A (MLL)* (17 %). Дополнительный анализ этого материала показал, что сложные комбинации нарушений, как и изолированная аномалия хромосомы

7 у больных МДС и ОМЛ, встречались одинаково часто. В то же время изолированное вовлечение в перестройки хромосомы 5 у больных ОМЛ наблюдалось в 2 раза чаще, чем при МДС. Самыми же частыми изменениями кариотипа стали несбалансированные транслокации (n=146). По данным этих исследователей маркерные хромосомы представляли собой гетерогенную группу перестроек по отношению к вовлеченным хромосомным областям и типам aberrаций. Чаще всего, маркерные хромосомы, содержали фрагменты из 4 различных хромосом, которые были производными несбалансированных транслокаций, реже - делеций, инсерций и кольцевых хромосом. Другая работа [19] включила 37 больных МДС в стадии трансформации в ОМЛ, а также не связанных с МДС ОМЛ. Исследователи отметили частое вовлечение в состав СК аномалий хромосом 5-й, 7-й и/или 11-й пар (81 %), причем одновременное повреждение хромосом 5 и 7, 5 и 11, 7 и 11 выявлялось в 16 %, 11 % и 3 % наблюдений, соответственно. При этом в двух наблюдениях (5 %) было зафиксировано одновременное повреждение хромосом 5, 7 и 11. Самым же частым типом хромосомных аномалий стали несбалансированные транслокации, в то время как количественные нарушения чаще других (n=6, 16 %) были представлены трисомией 8-й хромосомы. В другой сходной работе [111] проводилось аналогичное изучение частоты повреждения отдельных хромосом в составе СК, причем в объединённой группе больных МДС (n=16) и ОМЛ (n=22) было выявлено в общей сложности 206 нарушений хромосом, в том числе 73 количественных и 133 структурных. Углублённый анализ показал, что изменения затрагивали все хромосомы, хотя чаще других в перестройках была представлена 5-я хромосома (57,9 %), за которой с убывающей частотой (55,3 %, 44,7 %, 36,8 %, 34,2 % и 34,2 %) следовали хромосомы 17-й, 8-й, 11-й, 7-й и 21-й пар соответственно. Как и в предыдущей работе, преобладающими нарушениями кариотипов оказались несбалансированные транслокации (n=98). Кроме того, в этой смешанной когорте больных встретились 14 реципрокных



транслокаций, 55 моносомий, 15 частичных делеций и 18 трисомий. Дериваты 5-й и 8-й пар хромосом встречались чаще всего (n=9 для каждой пары). Затем, с убывающей частотой следовали *der(11)* и *der(12)* (n=7 для каждой пары), *der(7)*, *der(14)*, *der(15)* и *der(17)* (n=6 для каждой пары). После проведения mFISH уточнению подлежали 37/38 кариотипов (97,4 %), причём в результате анализа удалось уточнить 47 нераспознанных ранее маркерных хромосом и 24 хромосомы с дополнительным материалом неизвестного происхождения.

Несмотря на данное обстоятельство, выявленные в этой работе находки показали несомненную мощь многоцветной FISH при изучении тонкой структуры СК у больных МДС и ОМЛ и открыли дорогу для активного использования данного подхода в клинике [97].

#### 1.4. Экспрессия молекулярных маркеров *BAALC* и *WT1* у больных МДС

В последние годы стало появляться больше исследований, посвященных изучению патогенеза МДС, механизмов его прогрессии и рецидива [26, 42, 89]. Надежные молекулярные маркеры, такие как те, что в настоящее время устоялись для ОМЛ, только идентифицируются у пациентов с МДС. При этом ведущее место в этих исследованиях занял анализ драйверных мутаций [53, 94, 106]. Кроме того, было показано, что помимо генных мутаций важными прогностическими маркерами при ОМЛ, но не МДС, являются уровни экспрессии генов, таких как гены *BAALC* и *WT1* [9, 75, 85]. До 90 % пациентов с МДС и ОМЛ имеют высокую экспрессию гена *WT1* [62, 85]. На сегодняшний день известно, что экспрессия гена *WT1* четко связана с уровнем бластов в костном мозге [38] и не зависит от цитогенетического профиля у пациентов с ОМЛ и МДС [34]. Установление особенностей экспрессии генов и оценка их влияния на выживаемость пациентов привели к важному пониманию биологии заболеваний. Другим

панспецифическим маркером, гиперэкспрессия которого была обнаружена впервые при ОМЛ с трисомией 8-й хромосомы, на длинном плече которой он картирован, был ген *BAALC* [99]. Позднее его гиперэкспрессия была подтверждена практически при всех вариантах ОМЛ [7, 60]. Накопленный к настоящему времени опыт показывает, что в случае как нормального, так и лейкозного гемопоэза экспрессия гена *BAALC* является чрезвычайно специфичной для CD34-позитивных клеток-предшественниц костного мозга, но значительно снижена в CD34-негативных клетках [7, 69]. Согласно данным Thol с соавторами [100], повышенная экспрессия гена *BAALC* вкупе как минимум с одним из генов группы МЕМЕ (*MNI*, *ERG*, *BAALC* и *EVII*), ведет к укорочению ОВ и быстрой трансформации в ОМЛ у больных МДС. В работе Minetto et al [75] было показано, что у больных МДС с одновременной гиперэкспрессией генов *BAALC* и *WT1* повышается риск трансформации в ОМЛ по сравнению с пациентами с низкими уровнями экспрессии этих молекулярных маркеров. Недавняя работа Jeon с соавторами [60] подтвердила, что среди ряда исследуемых генов только гиперэкспрессия гена *BAALC* оказывала негативное влияние на продолжительность ОВ у пациентов с ОМЛ и МДС. В процессе изучения генов *BAALC* и *WT1* у пациентов с ОМЛ [69, 70] были получены данные, которые свидетельствовали о наличии связи с экспрессирующими их ранними (*BAALC*) и более зрелыми (*WT1*) клетками-предшественницами миелопоэза, что, в свою очередь, позволяет оценивать динамику содержания этих клеток методом стандартной количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (РВ-кПЦР). У больных МДС такой подход к изучению гемопоэза освещался недостаточно [26, 75, 100].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика пациентов

В исследование включены 130 пациентов с МДС, которые проходили лечение в клинике НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р. М. Горбачевой в период с 2008 по 2022 годы. СЦИ осуществляли на этапе установления диагноза, а у части пациентов – также до выполнения алло-ТГСК. У 27 пациентов со СК была выполнена mFISH. Помимо этого, у 25 больных проводили определение уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* перед ТГСК. Общая структура выполненного исследования представлена на рисунке 4.

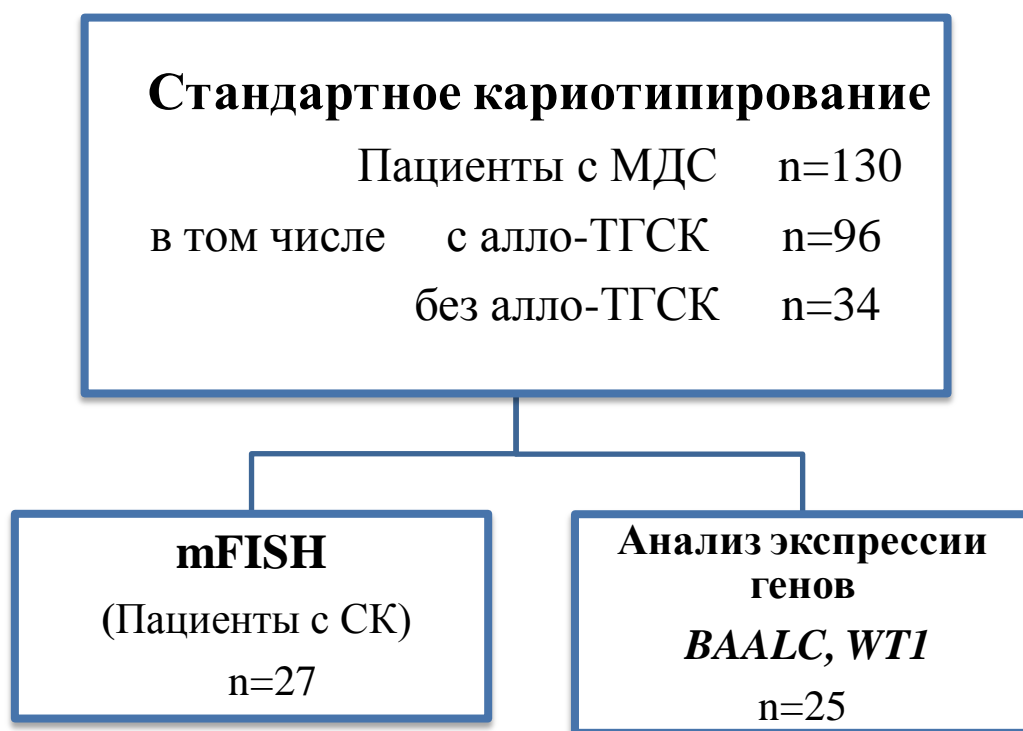


Рисунок 4 – Структура исследования

Возраст больных варьировал от 1 до 87 лет (медиана 43 года), среди них была 71 женщина (55 %) и 59 мужчин (45 %), в том числе 19 (15 %) детей и 111 (85 %) взрослых (рисунок 5).

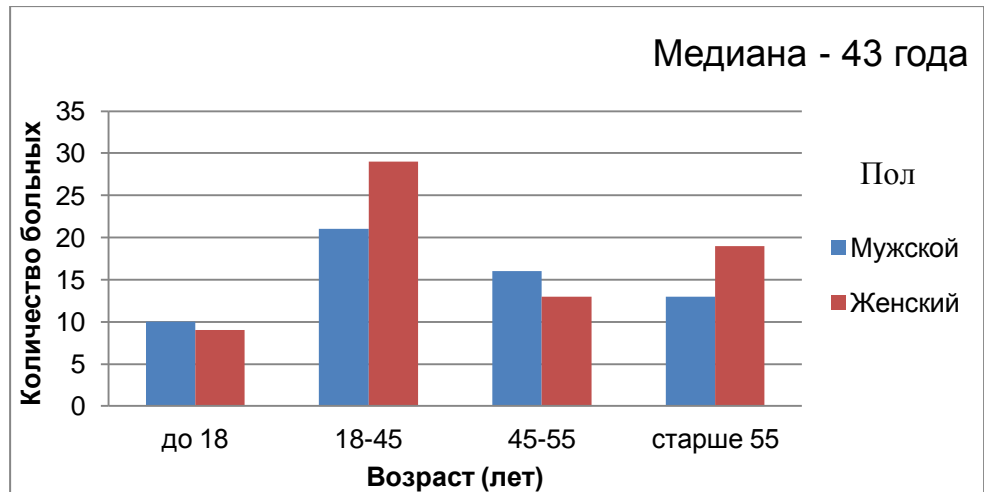


Рисунок 5 – Распределение пациентов с МДС в зависимости от возраста на момент постановки диагноза и пола

Согласно классификации ВОЗ 2016 года, у 93 (72 %) пациентов был установлен диагноз МДС с избытком бластных элементов (МДС-ИБ), где у 33 (26 %) больных - МДС-ИБ1, а у 60 (46 %) – МДС-ИБ2. Среди них были также пациенты с диагнозом МДС с многолинейной дисплазией (МДС-МД) (n=11, 9 %), МДС с однолинейной дисплазией (МДС-ЛД) (n=4, 3 %), с кольцевыми сидеробластами (МДС-КС) (n=3, 2 %), с кольцевыми сидеробластами и многолинейной дисплазией (МДС-КС/МД) (n=2, 1 %). Синдром изолированной делеции 5q- (МДС-5q) был установлен у 4 (3 %) больных. Сто семнадцать из 130 (90 %) обследованных пациентов отвечали критериям первичного МДС, а 13 других (10 %) – вторичного (втМДС). Прогрессия в ОМЛ была зафиксирована у 22/130 (17 %) пациентов, в том числе у 10 больных - в посттрансплантационном периоде и у 1 пациента – в предтрансплантационном. Аллогенная ТГСК была выполнена у 96/130 (74 %) пациентов (таблица 2).

Таблица 2 – Основные клинические и лабораторные характеристики больных МДС

<b>Показатель</b>	<b>Число больных, n (%)</b>
<b>Общее число больных</b>	130 (100)
<b>Пол</b>	
Женский	71 (55)
Мужской	59 (45)
<b>Возраст, лет</b>	
< 18	19 (15)
18-44	50 (38)
45-55	29 (22)
> 55	32 (25)
<b>Распределение по морфологическим вариантам, n (%)</b>	
МДС-ОЛД, МДС-МД, МДС-КС (ОЛД, МД)	20 (15)
МДС-ИБ1	33 (26)
МДС-ИБ2	60 (46)
МДС-5q	4 (3)
в т.ч. первичный МДС	117 (90)
вторичный МДС	13 (10)
Трансформация в ОМЛ	22 (17)

Продолжение таблицы 2

Показатель	Число больных, n (%)
<b>Цитогенетические аномалии, n (%)</b>	
Аномалии 3 хромосомы	13 (10)
Аномалии 5 хромосомы	14 (11)
Аномалии 7 хромосомы	23 (18)
Аномалии 8 хромосомы	9 (7)
Сложный кариотип	35 (27)
Другие	5 (3)
Нормальный кариотип	31 (24)
<b>Дополнительные исследования</b>	
Многоцветная FISH, n (%)	27 (21)
Уровень экспрессии генов <i>BAALC</i> и <i>WT1</i> , n (%)	25 (19)
<b>Количество бластных клеток (КМ)</b>	
< 5 %	37 (28)
5-19 %	93 (72)
<b>Выполнено алло-ТГСК, n (%)</b>	96 (74)

Примечание: МДС - миелодиспластический синдром; МДС-ИБ1 - то же с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 - то же с избытком бластов-2; МДС-5q - то же с изолированной делецией 5 хромосомы; МДС-КС - то же с кольцевыми сидеробластами; МДС-ОЛД/МД – то же с однолинейной/мультилинейной дисплазией; ОМЛ - острый миелоидный лейкоз; СК - сложный кариотип; ХА- хромосомные аномалии; КМ - костный мозг; алло-ТГСК - аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

## 2.2. Методы обследования

### 2.2.1. Стандартное цитогенетическое исследование

Материалом для цитогенетического исследования служили аспираты костного мозга, полученные при пункции грудины. Транспортировку материала в лабораторию осуществляли в вакутейнере, содержащем гепарин. Культивирование клеток проводили в питательной среде RPMI-1640 (Биолот, Россия) с добавлением 20 % эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США) в течение 24 часов. Для остановки деления клеток на стадии метафазной пластинки использовали 25 мкл раствора колхицина в концентрации  $1 \times 10^{-5}$ /л, который вносили во флаконы с костным мозгом после 5 часов культивирования. На следующий день осуществляли отмывку и центрифугирование со средой RPMI-1640, снятие надосадочной жидкости, а затем производили гипотоническую обработку клеток 0,55 % раствором хлорида калия, выдерживая культуру в CO<sub>2</sub> инкубаторе при температуре +37<sup>0</sup>С в течение 40 минут. К осадку добавляли 0,5 мл фиксатора, который состоял из 1 части ледяной уксусной кислоты и 3 частей карбинола. Далее пробирки с материалом центрифугировали 8 минут при скорости 1400 оборотов в минуту, надосадочную жидкость удаляли, а к осадку (для лизиса эритроцитов) добавляли 3 % уксусную кислоту. После перемешивания клеточной массы, пробирку вновь центрифугировали с использованием прежнего режима. Надосадочную жидкость удаляли, к осадку добавляли фиксатор, с которым пробирка в течение 10 минут находилась в холодильнике при температуре +4<sup>0</sup>С. После очередного центрифугирования в течение 6 минут при скорости 1600 оборотов в минуту, надосадочную жидкость удаляли, к осадку добавляли фиксатор, а пробирку снова помещали в холодильник на 10 минут. Последний этап, начиная с добавления

фиксатора, повторяли 2 или 3 раза. Далее, на холодные и влажные предметные стекла раскапывали по 3-4 капли полученной клеточной суспензии. Препараты тут же оценивали под микроскопом на предмет наличия метафазных пластинок. При наличии последних, препараты, для высушивания и “старения”, сохраняли при комнатной температуре в течение одного или нескольких дней.

Дифференциальное окрашивание хромосом по GTG-технике производили с использованием 0,025 % рабочего раствора трипсина, приготовленного на BSS буфере, GKN буфер и краситель эозин метиленовый синий по Май-Грюнвальду. Готовые для окраски препараты обрабатывали раствором трипсина, причем индивидуальное время обработки рассчитывали экспериментальным путем, оценивая качество окраски каждого окрашенного препарата. После обработки 0,025 % раствором трипсина препарат опускали на 15 секунд в GKN буфер, затем промывали дистиллированной водой и окрашивали в течение 5 минут по Май-Грюнвальду. Заканчивали эту процедуру двухкратным промыванием в дистиллированной воде.

Анализ числа и структуры хромосом осуществляли с помощью микроскопа AxioImager (Carl Zeiss, Германия) и программного обеспечения Ikaros (Meta-Systems, Германия). Для каждого пациента оценивали не менее 20 метафазных пластинок. Анализ хромосомных нарушений и запись кариотипа проводили в соответствии с критериями Международной цитогенетической номенклатуры ISCN 2020 [57]. Клональными считали структурные ХА и числовые ХА с увеличением числа хромосом, если они встречались в двух и более метафазных пластинках. При числовых ХА с уменьшением количества хромосом клональными считали нарушения, которые встречались в трех и более метафазах.



### 2.2.2. Многоцветная флуоресцентная *in situ* гибридизация

В своей работе мы использовали такой вид флуоресцентной *in situ* гибридизации как многоцветная FISH (mFISH). Данный метод проводится на метафазных пластинках и используется для детального анализа сложных кариотипов и идентификации состава маркерных хромосом.

При постановке многоцветной FISH использовали коммерческий 24XСyte ДНК-зонд, который представляет собой смесь хромоспецифичных ДНК-зондов, окрашивающих 24 различные хромосомы человека своим цветом благодаря уникальному смешиванию флуорохромов DAPI (для фонового окрашивания хромосом), SpO, FITC, TxRed, Cy5 и DEAC. Предметное стекло с клеточной суспензией опускали в разогретый на водяной бане до 70°C раствор 2xSSC на полчаса, после чего доставали стакан с препаратом из водяной бани и позволяли ему остыть в течение 20 минут при комнатной температуре. Затем препарат проводили поочередно через емкости с растворами 0,1xSSC комнатной температуры, 0,07N NaOH (для денатурации), 0,1xSSC при температуре +4°C, 2xSSC при температуре +4°C, после этого - через серию этиловых спиртов с концентрациями 70 %, 85 %, 100 %. Во всех вышеупомянутых растворах препарат держали по 1 минуте. Затем предметному стеклу с клеточной суспензией давали высохнуть на воздухе. Для денатурации ДНК-зонда в этом случае использовали ПЦР-амплификатор iQ4 (BioRAD, США) с последовательной сменой температурных режимов в программе: 75°C – 5 минут, 10°C – полминуты и 37°C – 30 минут. После денатурации ДНК-зонд наносили на исследуемую область препарата, закрывали покровным стеклом и заклеивали резиновым клеем. Для последующей гибридизации препарат помещали в гибридайзер на 12-16 часов при температуре 37°C или во влажную камеру в термостат при аналогичных условиях. На следующее утро производили постгибридизационную отмывку препарата: после снятия покровного стекла

препарат помещали в разогретый на водяной бане до 73°C раствор 0,4xSSC на 2 минуты, а затем на 1 минуту - в раствор 2xSSC с 0,05 % Tween40 уже при комнатной температуре. После высушивания препарата на воздухе добавляли в исследуемую область краситель DAPI/antifade в концентрации 250 нг/мл, накрывали покровным стеклом и заклеивали бесцветным лаком. После этого помещали препарат в пластиковом контейнере в холодильник до высыхания лака и затем проводили анализ с помощью люминисцентного микроскопа.

Анализировали готовый препарат на микроскопе AxioImager M2 (Carl Zeiss, Германия), который оснащен моторизованными компонентами и модулями, а также имеет в данной комплектации набор узкополосных флуоресцентных фильтров к флуорохромам DAPI, SpO, FITC, TxRed, Cy5 и DEAC. Компьютерный анализ препарата производили с использованием программного обеспечения ISIS (MetaSystems, Германия), которое позволяло совместить воедино изображения, полученные в ходе последовательной съемки через 6 вышеупомянутых флуоресцентных фильтров. Специальные алгоритмы программы переводили полученное RGB изображение хромосом, состоящее из 1-3 цветов, в псевдоцвета, благодаря чему каждая хромосома имела индивидуальную псевдоокраску.

### 2.2.3. Анализ уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1*

Определение уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* проводили с помощью количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени по стандартному протоколу в лаборатории трансплантологии и молекулярной гематологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова». Исследование состояло из последовательных этапов выделения общей РНК из лейкоцитов костного мозга, проведения реакции обратной транскрипции с

использованием гексамерных праймеров и ПЦР в реальном времени с праймерами и зондами, специфичными к последовательностям транскриптов *BAALC* и *WT1* и контрольного гена *ABL1*. Число транскриптов гена *BAALC* ( $CN_{BAALC}$ ) и контрольного гена *ABL1* ( $CN_{ABL1}$ ) определяли по калибровочной кривой, построенной на основании соответствующих ДНК-стандартов («Иноген», Россия). Относительный уровень экспрессии рассчитывали по формуле:  $CN_{BAALC}/CN_{ABL1} \times 100$  %. В качестве порогового уровня экспрессии гена *BAALC* использовали величину в 31 %. Определение уровня экспрессии гена *WT1* в исследуемом образце рассчитывалось на основании соотношения количества транскриптов изучаемого гена и референсного гена *ABL1*, используемого для нормализации. На основании уровней экспрессии гена *WT1*, определенных в костном мозге здоровых доноров, для разграничения нормы и патологии была определена величина в 250 копий/ $10^4$  копий *ABL1*.

### 2.3. Статистическая обработка результатов исследования

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics Version 20. Применяли методы описательной статистики, определяли процентные доли, медианы, среднее значение, минимум и максимум. Использовали непараметрические методы статистики с анализом таблиц сопряженности (критерий Хи-квадрат и точный критерий Фишера). Корреляционный анализ проводили с вычислением коэффициента попарной корреляции Пирсона для анализа парных связей. Статистически достоверными считали различия при значимости  $p < 0,05$ .

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Предваряя анализ собственных данных, следует заметить, что цитогенетическое исследование осуществляли на этапе установления диагноза, а у части пациентов – также до выполнения алло-ТГСК.

### 3.1. Общая цитогенетическая характеристика больных МДС

Хромосомные аномалии кариотипа были выявлены у 99/130 (76 %) больных МДС, в том числе у 14 (74 %) детей и 85 (77 %) взрослых. Структурные и количественные ХА наблюдались у 30 (30 %) и 23 (23 %) пациентов, соответственно, причём у 46/99 (47 %) больных МДС они имели смешанный характер. По характеру ХА были сформированы несколько групп, куда вошли как пациенты с соответствующими изолированными ХА (в том числе с 1 ДХА), так и с ХА в составе СК (рисунок 6).

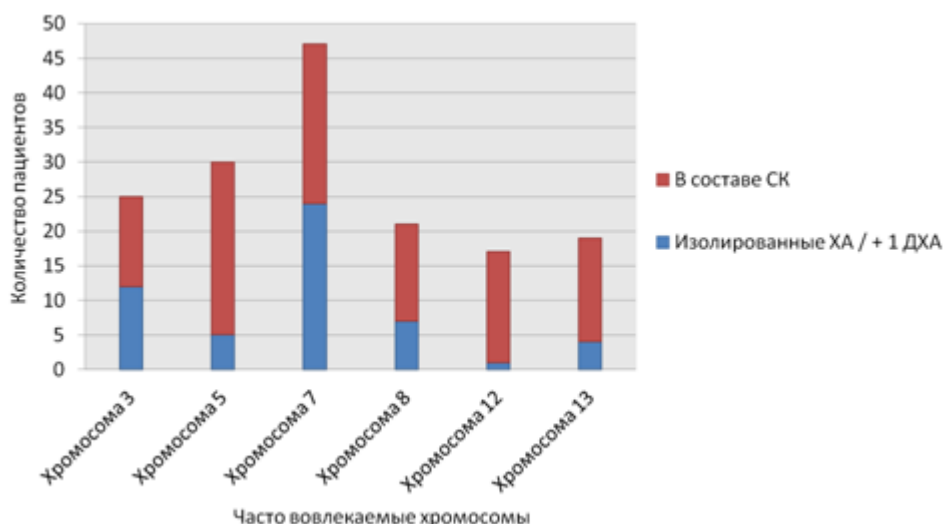


Рисунок 6 – Распределение пациентов с МДС на группы с часто вовлекаемыми хромосомами (включая изолированные, с 1 ДХА, в составе СК)

Наибольшая группа была представлена 47 (36 %) больными с аномалиями хромосом 7-й пары. Другие, менее многочисленные группы были представлены пациентами со структурными и численными повреждениями хромосом 5-й (n=30, 23 %), 3-й (n=25, 19 %), 8-й (n=21, 16 %), 13-й (n=19, 15 %) и 12-й (n=17, 13 %) пары.

Дополнительно с помощью многоцветной FISH были проанализированы сложные кариотипы 27 (21 %) пациентов. Кроме того, у 25 (19 %) больных МДС был определен уровень экспрессии генов *BAALC* и *WT1* в сформированных цитогенетических подгруппах, самая многочисленная из которых состояла из 15 пациентов с делецией 5q.

### 3.2. Место многоцветной FISH в уточнении характера выявленных хромосомных изменений

Помимо стандартных методов цитогенетического исследования, в последнее время все чаще применяются методы молекулярно-цитогенетического исследования. Особенно это бывает оправдано у пациентов со сложными хромосомными aberrациями, при наличии моносомий и маркерных хромосом. В частности, встает вопрос об отнесении пациентов в группу моносомного кариотипа, который, по последним представлениям, может быть предиктором наихудшего прогноза [39, 66, 74, 80, 103, 110]. Многоцветная флуоресцентная *in situ* гибридизация дополнила стандартное цитогенетическое исследование у 27 из 35 пациентов со сложными хромосомными перестройками. У остальных пациентов исследование выполнить не удалось ввиду отсутствия достаточного количества материала. Стоит отметить, что кариотипы всех больных были пересмотрены после проведения mFISH.

### 3.3. Результаты цитогенетического анализа при отдельных цитогенетических вариантах МДС, уточненные техникой многоцветной FISH

#### 3.3.1. Особенности хромосомных изменений 5-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС

В группу МДС со структурными и численными нарушениями 5-й хромосомы было включено 30 больных (таблица 3). Изолированная делеция 5q была зарегистрирована у 4 (16 %) взрослых пациентов, у одного - она сочеталась с 1 ДХА (трисомия 8-й хромосомы). Все пациенты были с *de novo* МДС, в том числе с МДС-ИБ1 (n=1), МДС-ИБ2 (n=3), МДС-5q (n=1). В то же время у большинства больных (n=25, 84 %) аномалии 5-й хромосомы входили в состав комплексного кариотипа, клинические характеристики которых будут рассмотрены в соответствующем разделе.

Таблица 3 – Кариотипы пациентов с МДС с аномалиями хромосомы 5

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
1	57, ж	МДС-ИБ2	46,XX, <b>del(5)(q13q31)</b> [2]/46,XX[18]
2	59, ж	МДС-ИБ2	46,XX, <b>del(5)(q31q35)</b> [6]/46,XX[14]
3	57, м	МДС-ИБ1	46,XY, <b>del(5)(q13q33)</b> [19]/46,XY[1]
4	43, м	МДС-5q	46,XY, <b>del(5)(q22q35)</b> [20]
5	57, ж	МДС-ИБ2	46,XX, <b>del(5)(q13q33)</b> [3]/92,idemx2[1]/184,idemx2[1]/47,XX,+8[2]/46,XX[8]
6	74, ж	МДС-ИБ1	ish.45,XX,der(1)t(13;1;13;1),der(4)t(4;7)(?p15;p12), <b>del(5)(q22q35)</b> , -7,der(13)t(13;7;13;4)[24Xcyte]

Продолжение таблицы 3

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
7	60, ж	МДС-ИБ1*	45,XX,-4, <b>del(5)(q13q33)</b> ,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)(?:p?),der(22)t(20;22)(?:q13),del(22)(q11),+22[24XCyte]
8	10, ж	МДС-ИБ1*	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;?), <b>del(5)(q13)</b> ,+del(6)(q13), +6,+8,+der(10) del(10)(p11.2)del(10)(q21),der(12)t(12;20;12),der(12)t(3;12;2),+15,+18,+19, +der(20)t(10;20)(?:q?11), <b>+der(20)t(5;20)(?:q?13)</b> , +21[cp5] [24XCyte]
9	50, ж	МДС-ИБ1*	ish.44,XX,der(2)t(2;10)(q37;?), <b>del(5)(q13q33)</b> , <b>der(5)t(5;18)(p11;q21)</b> , <b>+der(5)t(4;5)(?:?)</b> ,der(6)dup(6)(p21p22)t(6;13)(p22;?)-7,der(10)t(4;10)(q?:p13),del(12)(p13),der(12)t(14;4;12),ins(14;7)(q11;??),-18[24XCyte]
10	57, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,dup(1)(q21q32),del(3)(q21q27), <b>der(5)t(5;7)(q13;?)</b> ,-7,del(12)(p11p12)[24XCyte]
11	51, м	МДС-КС	ish.43,XY,der(2)t(2;7)(q31;q?),-3,del(4)(p11), <b>der(5)t(3;5)(?:q22)</b> ,der(7)t(2;7)(q?:?),-12,inv(13)(p11q14),-15,der(15)t(15;18)(p11;q21),der(16)t(15;16)(q21;p13),der(17)t(4;12;3;17), del(18)(q12)[24XCyte]
12	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), <b>der(5)t(2;5)(?:q22)</b> , <b>+der(5)t(5;8)(q11;p11)</b> ,-7,i(8)(q10)x1-2,del(12)(p11),+19, t(20;22)(q11;p11)[24XCyte]
13	63, м	МДС-ИБ1*	ish.46-47,XY,der(4)t(21;4;7), <b>der(5)t(5;18;8)</b> ,-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)t(21;7;4) [24XCyte]
14	56, м	МДС-ИБ1*	ish.47,X,-Y, <b>der(5)t(5;12)(q31;q2?4)</b> ,-7,+8,i(8)(q10), <b>der(12)t(12;5;7)</b> ,dic(13;19)(p11;p13)del(13)(q?),+der(13)t(13;16)(p?:?),-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]
15	40, ж	МДС-ИБ2	ish.47,XX,der(1)t(1;13)(p3?4;q?),der(3)t(1;3)(?:p21), <b>der(5)del(5)(p11)del(5)(q11)</b> ,der(7)del(7)(p11)del(7)(q11),+8, <b>der(13)t(5;13)(?:q12)</b> ,der(14)t(3;14)(?:q?), <b>der(17)t(5;17)(?:p11)</b> [24XCyte]
16	57, м	МДС-ИБ2*	ish.75-76<4n>,XY,-X,-Y,-2x2,-3,der(3)t(3;14)(p11;q11),-4,-5, <b>der(5)t(2;5)(q11;q11)</b> ,der(7)t(2;7)(q21;q22)x2,+8x2,-9,-10,-11x2,-12,-16x2,-17,del(17)(q25),-20,-22[24XCyte]
17	55, ж	МДС-ИБ2	ish.46-48,XX, <b>der(5)t(5;7)(q11;q?)</b> ,-7,del(13)(q12q22),t(18;20)(q11;q11), +18,+19,+21[24XCyte]

Продолжение таблицы 3

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
18	36, ж	МДС-ИБ2*	ish.46,XX, <b>der(5)t(5;7;5;7),-7,der(12)t(12;13)(p13;q?)</b> , del(13)(q11),+r(13) [24XCyte]
19	60, ж	МДС-ИБ1*	44,XX,der(3)t(3;17)(p21;??),-5,der(7)t(7;21;22),del(8)(p21),+ <b>der(8)t(5;8)(?;p21)</b> ,der(12)t(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]
20	22, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,t(1;12)(p36;p13),der(2)t(2;11)(q35;?),der(4)t(7;8;4), <b>der(5)t(5;8)(q13;q22)</b> ,-7,der(8)t(8;7;8;4)x2,der(8)t(8;7;8;7;8;4), <b>der(8)t(5;8)(?;q22)</b> , der(8)t(12;8;7),der(13)t(13;8;12) [cp10][24XCyte]
21	76, м	МДС-ИБ2*	ish.44,XY,-2,dup(2)(q31q36),der(4)del(4)(p14)del(4)(q2?), <b>der(5)t(5;10)(q11;q?)</b> ,-7,-11,+14,del(14)(q11),-18,+19,del(19)(p13),qdp(19)(q12q13.4),der(18)t(11;18;7;2;22)[24XCyte]
22	37, ж	втМДС	ish.44,XX,t(3;15)(q21;q13),del(4)(q31), <b>der(5)t(5;12)(q11;q11)</b> ,-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]
23	36, ж	МДС-ИБ2	ish.46,XX,t(3;15)(p22;q15), <b>der(5)t(5;12)(p11;q13)del(5)(q13q33)</b> ,der(8)t(1;8)(q21;p11), <b>der(12)t(5;12)(?;q13)</b> ,der(19)t(1;19)(q21;p13),der(22)t(1;22)(q21;p12)[24XCyte]
24	46, м	МДС-ИБ1*	ish.43,XY, <b>der(5)t(5;13)(p10;q10)</b> ,-7,-13,-16,der(17)t(16;17)(p1?p11),der(21)t(13;21)(q14;p11)[24XCyte]
25	28, м	втМДС	ish.43,XY,-3,del(4)(q26), <b>der(5)t(5;17)(q11;q11)</b> ,-7,t(8;12)(q22;p11),der(9)t(3;9)(q25;q22),-17[24XCyte]
26	87,ж	МДС-ИБ1	ish.77<4n>,XX,der(X)t(21;X;21;12),der(1)t(14;20;1)x2,ins(3;8)(?;??),-5x2,-7x2,der(7)t(2;7)(?;p2?1),der(7)t(7;12)(p1?3;?),-8,der(10)t(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)t(7;1;14),-15x2,-16,del(16)(p?),der(17)t(X;1;18;11;17;X;8),-18x2,+19x2,del(19)(p13),der(19)del(19)(p12)del(19)(q12),der(19)t(12;19;12;19;11;19), <b>der(19)t(19;11;19;11;19;5)</b> ,der(20)t(14;20;14;X),-21,-22,der(22)t(7;11;7;12;22)[24XCyte]
27	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]
28	38, ж	втМДС*	ish.45-46,XX,der(1)t(1;19)(q11;?),der(3)t(1;3)(q32;p25),del(4)(q11), <b>der(5)t(5;11)(q13;q14)</b> ,-7,der(7)t(2;7)(?;q22),+8,der(11)t(11;17)(?;?),der(12)t(7;12)(?;p11),ins(7;15)(?;q??),der(17)t(4;17)(q13;q23),der(19)t(1;19)(p21;p12)[24XCyte]



Продолжение таблицы 3

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
29	54, м	втМДС	ish.47,X,-Y,der(3)del(3)(p11)del(3)(q11), <b>dic(5;17)(q11;p11)</b> ,del(12)(p11),del(13)(q12),der(17)t(3;17)(?:p11),+21,dup(21)(q21q22)x2,+22[24XcYTE]
30	32,ж	МДС-ИБ2	46-47,XX,-7[5], <b>del(5)(q31q33)</b> [5],+19[7],add(21)(p11)[5],+22[6],+mar1[4],+mar2[2],+mar3[3][cp19]/46,XX[1]

Примечание: МДС-ИБ1 - миелодиспластический синдром с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 - то же с избытком бластов-2; МДС-5q - то же с изолированной делецией 5 хромосомы; МДС-КС - то же с кольцевыми сидеробластами; втМДС - вторичный МДС; \*- произошла трансформация в острый миелобластный лейкоз; **жирным шрифтом** выделены аномалии 5-й хромосомы; кариотипы сложных дериватов записаны без уточнения точек разрыва хромосом

Многоцветная FISH была проведена всем пациентам со сложным кариотипом, кроме одного пациента с недостаточным количеством материала (№30).

Делеции длинного плеча 5-й хромосомы методом стандартной цитогенетики были выявлены в 14 наблюдениях (№1-14, №30), в том числе у 4 пациентов (№1-4) в изолированном варианте, у одного пациента (№5) - в сочетании с трисомией хромосомы 8. У 9 пациентов (№6-14, №30) имелись дополнительные к делеции 5q хромосомные aberrации, которые формировали сложный кариотип. В следующих 13 наблюдениях со сложным кариотипом (№15-27) в ходе проведения стандартной цитогенетики была выявлена моносомия хромосомы 5, ввиду чего данные кариотипы должны быть отнесены к группе сложно-моносомных. Однако после дополнительного проведения многоцветной FISH этим больным характер выявленных аномалий существенно изменился (таблица 3). Так, наличие делеции длинного плеча 5-й хромосомы подтвердилось у 4/9 пациентов с СК, во всех остальных случаях за кажущейся делецией 5q на самом деле

скрывалась несбалансированная транслокация с участием делетированной хромосомы 5. Делеции длинного плеча 5-й хромосомы были подтверждены у пациентов №6-9, причем у двух из них они сочетались с дополнительным вовлечением в перестройки хромосомы 5. Так, у пациентки №8 материал хромосомы 5-й пары участвовал в несбалансированной транслокации с хромосомой 20, а у пациентки №9 помимо делеции 5q в кариотипе имели место два деривата хромосомы 5, образованные вследствие несбалансированных транслокаций t(4;5) и t(5;18). Делеции длинного плеча хромосомы 5, выявленные методом стандартной цитогенетики в наблюдениях №10-14, после уточнении многоцветной FISH оказались несбалансированными транслокациями с участием делетированной 5-й хромосомы (рисунок 7).

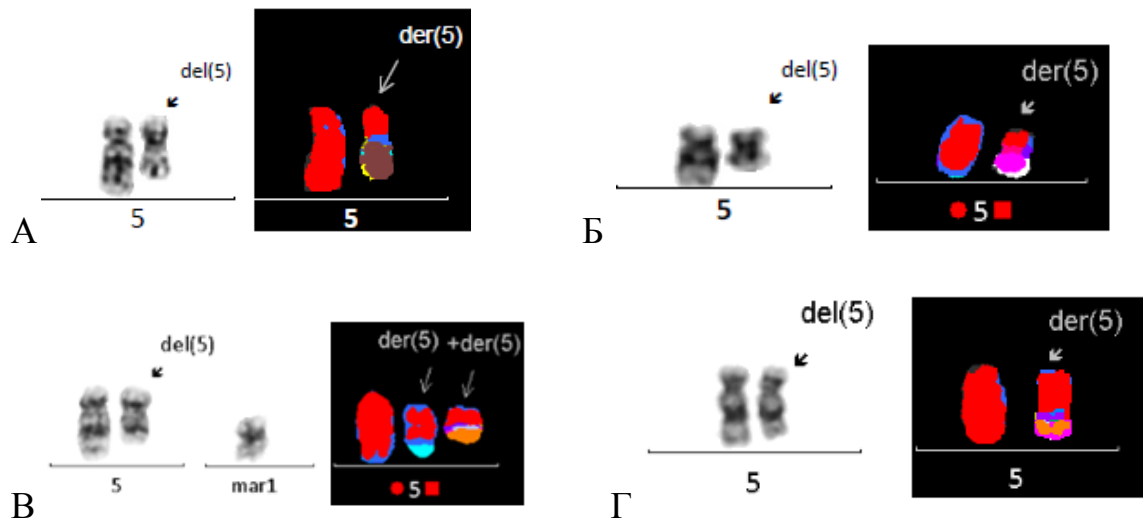


Рисунок 7 – Селективные кариограммы пациентов с МДС и СК, демонстрирующие расхождение при определении типа хромосомных аномалий 5-й хромосомы методами G-бэндинга и mFISH у пациентов А - №10; Б - №11; В - №12; Г - №13

Так, у пациентки №10 за делецией 5q скрывалась несбалансированная транслокация t(5;7), а у пациента №11 делетированная хромосома 5 образовала дериват с хромосомой 3. У пациентов №12 и №13 вовлечения в

абберрации хромосомы 5 были сложнее. В первом случае, при стандартном цитогенетическом исследовании дериват от несбалансированной транслокации  $t(2;5)$  был принят за делецию хромосомы 5, а обнаруженный после проведения mFISH дериват  $der(5)t(5;8)$  при стандартном кариотипировании распознан не был. Во втором наблюдении (№13) материал делетированной хромосомы 5 участвовал в формировании сложного деривата, состоящего из хромосом 5, 18, 8, который при стандартном цитогенетическом исследовании выглядел как делеция хромосомы 5.

У пациента №14 за делецией хромосомы 5 скрывалась несбалансированная транслокация  $t(5;12)$ , кроме этого был выявлен сложный дериват, образованный на основе хромосомы 12 и содержащий материал хромосом 5 и 7. В наблюдении №15, напротив, методом mFISH была выявлена делеция хромосомы 5, которая осталась нераспознанной после проведения стандартного кариотипирования, так как были удалены оба плеча 5-й хромосомы, при этом оставшийся фрагмент был назван маркерной хромосомой и была определена моносомия хромосомы 5. Помимо делеции, благодаря многоцветной FISH было установлено, что материал хромосомы 5 участвовал также в несбалансированных транслокациях  $t(5;13)$  и  $t(5;17)$ .

В целом, в данной группе исследования методом стандартной цитогенетики было выявлено 13 пациентов с СК и моносомией 5-й пары хромосом. Однако методом многоцветной FISH ни одной моносомии хромосомы 5 подтверждено не было. Во всех наблюдениях хромосомный материал, принадлежащий хромосоме 5-й пары, был обнаружен в составе различных абберраций. Так, у пациентки №16 на основе хромосомы 5 был сформирован дериват от несбалансированной транслокации  $t(2;5)$ . В наблюдениях №17 и №18 хромосома 5 взаимодействовала с 7-й парой хромосом, в результате были образованы дериваты  $der(5)t(5;7)$  и  $der(5)t(5;7;5;7)$ , соответственно. В следующих наблюдениях (№19-21) характер массивных хромосомных изменений указывал на возможную роль

хромотрипсиса в их формировании, но хромосома 5 не была в них задействована. Её материал участвовал в образовании простых дериватов с хромосомой 8 -  $der(8)t(5;8)$  у пациентки №19 и  $der(5)t(5;8) der(8)t(5;8)$  у пациентки №20, и  $der(5)t(5;10)$  с хромосомой 10 у пациента №21. Совершенно разные несбалансированные транслокации с участием хромосомы 12 были выявлены с помощью mFISH у пациенток № 22 и 23. В первом наблюдении материал хромосомы 12 был обнаружен на концевом локусе делегированного q-плеча хромосомы 5, как и в большинстве несбалансированных транслокаций этой группы. Во втором же наблюдении (рисунок 8, А-Г) делегированное q-плечо хромосомы 5 осталось интактно, а материал хромосомы 12 был обнаружен на коротком плече 5-й хромосомы.

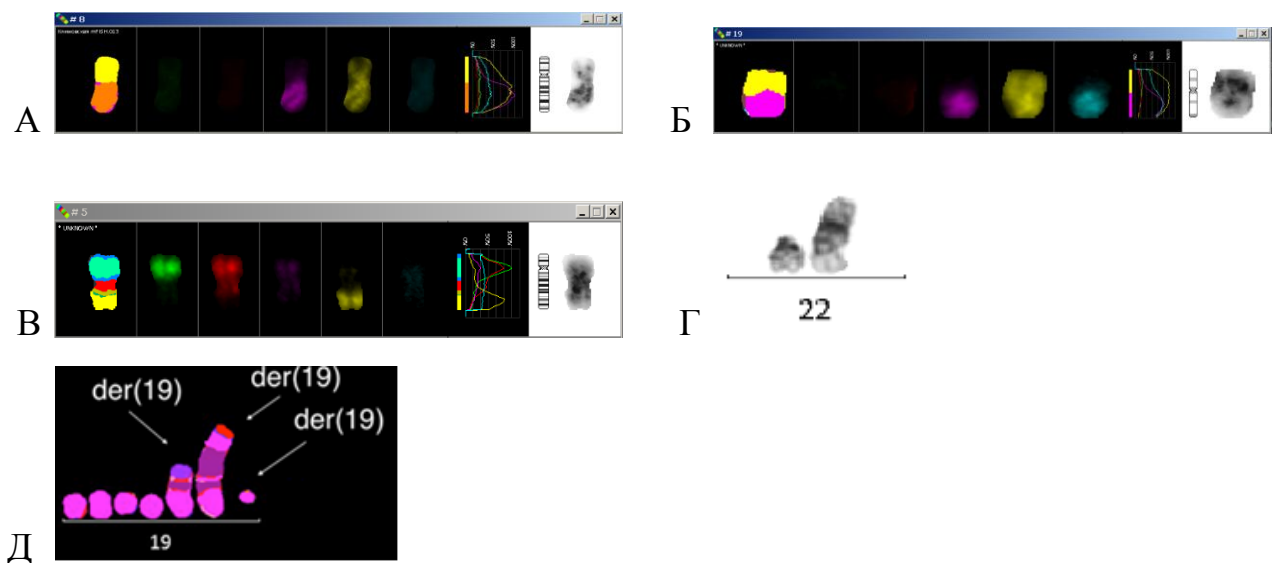


Рисунок 8 – Селективные кариограммы клеток КМ пациентов с МДС и СК, выполненные в технике mFISH (А-В,Д) и GTG (Г) и демонстрирующие: “прыгающую” транслокацию сегмента 1q21 на хромосомы А-8; Б-19; Г-22; В-дериватную хромосому  $der(5)t(5;12)$ ; Д – сложный дериват хромосомы 19 с вовлечением материала 5-й хромосомы -  $der(19)t(19;11;19;11;19;5)$

К сожалению, возможности mFISH не безграничны. Так, в последнем из наблюдений пациентов с ложной моносомией 5 (№27), после выполнения

многоцветной FISH материал 5-й хромосомы был обнаружен в кариотипе больной, однако установить природу дериватной хромосомы не удалось – она так и осталась маркерной (рисунок 9).

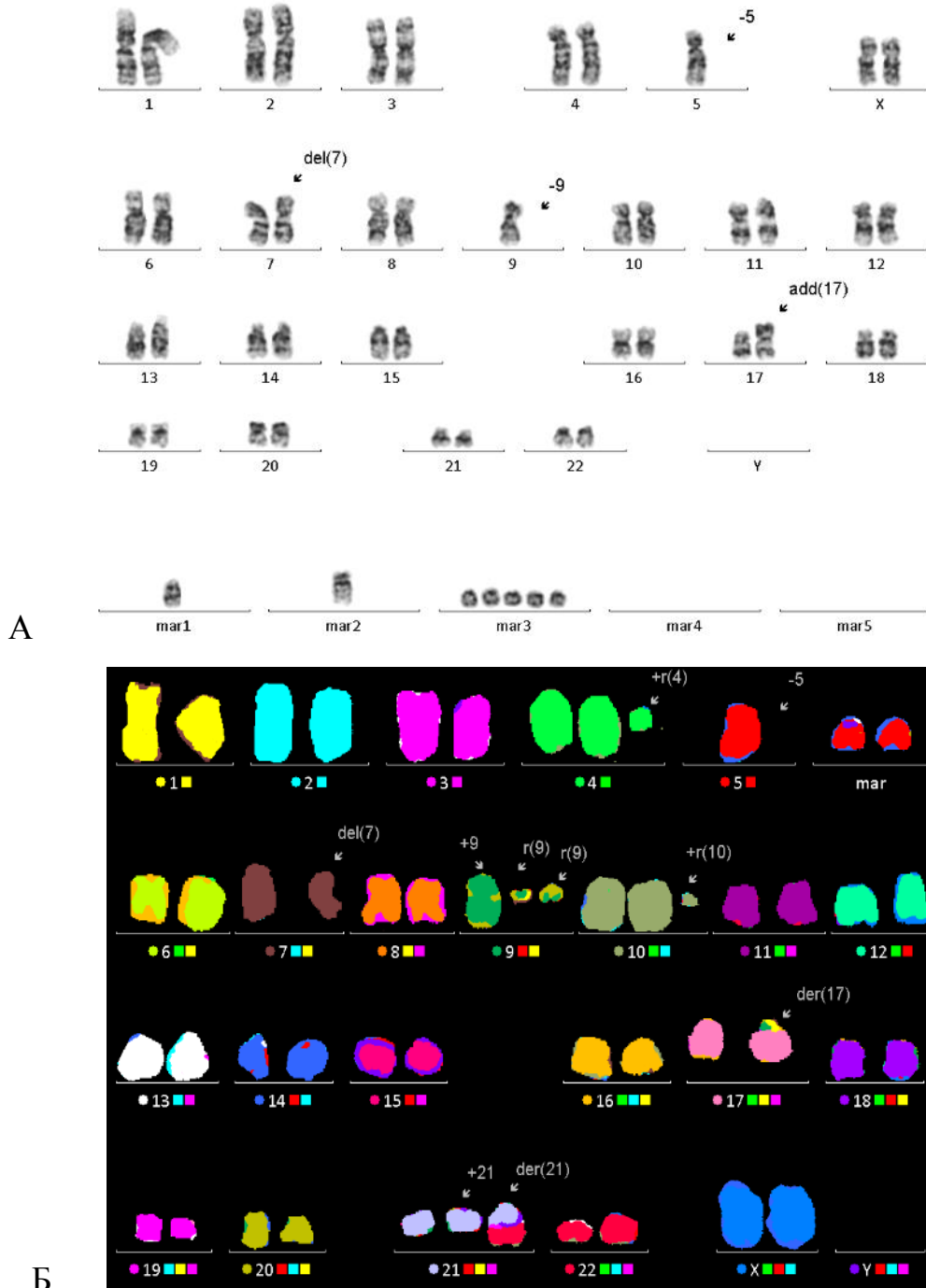


Рисунок 9 – Сложный кариотип клеток костного мозга больной МДС (№27), выполненный в технике G-бэндинга (А) и уточненный с помощью mFISH (Б)

Зато были определены все остальные маркерные хромосомы, которые при стандартном кариотипировании остались нераспознанными. В большинстве своем они были представлены кольцевыми хромосомами – r(4), r(9), r(10), а один из маркеров являлся дериватом хромосомы 21, образованным в результате несбалансированной транслокации t(21;22).

Дериват хромосомы 5  $der(5)t(5;11)$  в кариотипе больной №28 был правильно идентифицирован еще на этапе стандартного цитогенетического анализа, а затем подтвержден с помощью многоцветной FISH. То же касается и дицентрической хромосомы  $dic(5;17)$  в наблюдении №29, в котором mFISH лишь подтвердила находку стандартного кариотипирования.

Таким образом, изолированная делеция 5q была выявлена у 5 (16 %) пациентов, из них у одного - она сочеталась с 1 ДХА. В то же время у большинства больных (n=25, 84 %) аномалии 5-й хромосомы входили в состав СК. Среди aberrаций 5-й хромосомы в составе СК делеция 5q была представлена в 5 (20 %) наблюдений. Делеции 5q, в основном, были интерстициальными и сопровождались потерей хромосомных областей: 5q13-5q33 (n=4), 5q22-5q35 (n=2), 5q12-5q31 (n=1), 5q31-5q35 (n=1) и 5q13 (n=1) (рисунок 10).

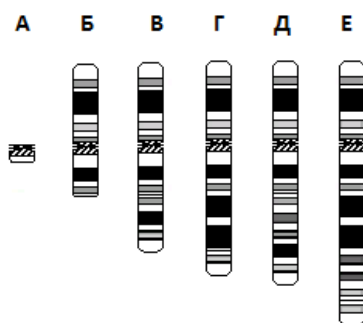


Рисунок 10 – Схематичное изображение различных вариантов делеции 5-й хромосомы у пациентов с МДС: А -  $der(5)del(5)(p11)del(5)(q11)$ , Б -  $del(5)(q13)$ , В -  $del(5)(q13q33)$ , Г -  $del(5)(q22q35)$ , Д -  $del(5)(q13q31)$ , Е -  $del(5)(q31q35)$

Кроме того, у одного пациента наблюдалась одновременная делеция и короткого, и длинного плеча 5-й хромосомы  $der(5)del(5)(p11)del(5)(q11)$ .

Большинство перестроек 5-й хромосомы в СК ( $n=21$ , 84 %) представляли собой несбалансированные транслокации, причём самыми частыми хромосомами-партнерами были представители 7-й и 8-й пар ( $n=4$  для каждой), а также 12-й и 17-й пар ( $n=3$  для каждой) (рисунок 11). Хромосомный сегмент 5q11 чаще других ( $n=5$ ) участвовал в межхромосомных обменах.

В данной группе методом СЦИ было выявлено 13 пациентов со СК и моносомией 5-й пары хромосом. Однако методом многоцветной FISH ни одной моносомии хромосомы 5 подтвердить не удалось. Во всех наблюдениях хромосомный материал, принадлежащий хромосоме 5-й пары, был обнаружен в составе простых и сложных дериватных хромосом. Последние состояли из 3 и более фрагментов, и были образованы как на основе хромосомы 5 -  $der(5)t(5;18;8)$  и  $der(5)t(5;7;5;7)$ , так и с включением её материала в состав других дериватных хромосом в виде  $der(12)t(12;5;7)$  и  $der(19)t(19;11;19;11;19;5)$ .

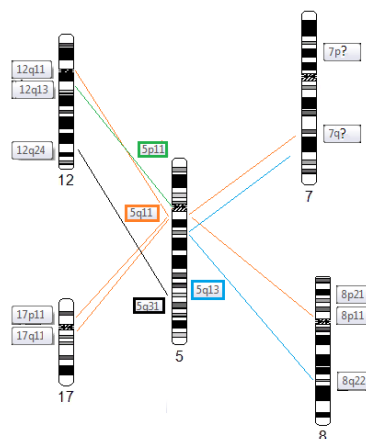


Рисунок 11 – Схематичное изображение хромосомных обменов между хромосомой 5 и хромосомами - партнерами 7,8,12 и 17

### 3.3.2. Особенности хромосомных изменений 7-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС

В группу МДС со структурными и численными нарушениями 7-й хромосомы было включено 47 больных. Изолированные аномалии 7-й хромосомы были выявлены у 16 (34 %) пациентов, с 1 ДХА - у 8 (17 %), в том числе у 14 (58 %) взрослых и 10 (42 %) детей. В этой группе преобладали пациенты с *de novo* МДС (n=23, 96 %), а также с морфологическими вариантами МДС-ИБ1 (n=9, 39 %), МДС-ИБ2 (n=8, 35 %), реже с МДС-ЛД (n=3, 13 %), МДС-МД (n=3, 13 %). У 1 (4 %) пациента была зафиксирована трансформация в ОМЛ. Практически у половины больных (n=23, 49 %) аномалии 7-й хромосомы входили в состав СК, характеристики которых будут рассмотрены в соответствующем разделе. Многоцветная FISH была проведена во всех наблюдениях со сложным кариотипом (№20-46). Исключение составила больная №47, у которой из-за недостаточного количества взятого для исследования материала, молекулярно-цитогенетическое исследование провести не удалось, что поставило перед необходимостью использовать её данные лишь частично. Основные цитогенетические нарушения представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Кариотипы больных МДС с аномалиями хромосомы 7

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
1	54, ж	МДС-ИБ2*	45,XX,-7[4]/46,XX[16]
2	15, м	МДС-ИБ1	45,XY,-7[6]/XY[14]
3	22, м	МДС-МД	45,XY,-7[9]/46,XY[1]
4	57, м	МДС-ИБ1	45,XY,-7[10]/46,XY[10]



Продолжение таблицы 4

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
5	39, ж	МДС-ИБ2	45,XX,-7[17]/46,XX[3]
6	46, м	МДС-ИБ1	45,XY,-7[18]/46,XY[2]
7	31, ж	МДС-ИБ2	45 XX,-7[18]/46,XX[2]
8	14, ж	МДС-ЛД	45,XX,-7[19]/46,XX[1]
9	17, м	МДС-МД	45,XY,-7[20]
10	10, м	МДС-ИБ1	45,XY,-7[20]
11	22, м	МДС-ИБ1	45,XY,-7[20]
12	18, ж	МДС-ИБ2	45,XX,-7[20]
13	40, ж	МДС-ИБ2	45,XX,-7[20]
14	48, м	МДС-ИБ2	46,XY,inv(3)(q21q26)[17]/45,idem,-7[3]
15	61, ж	МДС-ИБ2	45,XX,-7,del(12)(p11)[6]/46,XX[5]
16	2, ж	МДС-ЛД	44,XX,-7,rob(13;14)(q10;q10)[20]
17	7, ж	МДС-ЛД	44,XX,-7,rob(13;14)(q10;q10)[20]
18	29, м	МДС-ИБ1	46,XY,-7,+21[19]/46,XY[1]
19	18, ж	МДС-ИБ2	45,XX,-7[4]/ 46,XX,-7,+21[3]/ 47,XX,-7,+21,+21[1]/ 46,XX[2]
20	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)(?;q22),+der(5)t(5;8)(q11;p11),-7,i(8)(q10)x1-2, del(12)(p11), +19, t(20;22)(q11;p11)[24XCyte]
21	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]
22	46, м	МДС-ИБ1*	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]
23	50, ж	МДС-ИБ1*	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)t(14;4;12), <b>ins(14;7)(q11;??)</b> , -18 [24XCyte]

Продолжение таблицы 4

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
24	38, ж	втМДС*	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(2;7)(?;q22),+8,der(11)t(11;17)(?;?), <b>der(12)t(7;12)(?;p11),ins(15;7)(q??;?)</b> ,der(17)t(4;17)(q13;q23),der(19)t(1;19)(p21;p12)[24XCyte]
25	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), <b>der(10)t(7;10)(p14;p14)</b> ,+del(11)(q23),-12,t(13;18)(q33;p11),-16,i(21)(q10)[24XCyte]
26	57, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,dup(1)(q21q32),del(3)(q21q27), <b>der(5)t(5;7)(q13;?)</b> ,-7,del(12)(p11p12)[24XCyte]
27	55, ж	МДС-ИБ2	ish.46-48,XX, <b>der(5)t(5;7)(q11;q?)</b> ,-7,del(13)(q12q22),t(18;20)(q11;q11),+18,+19,+21[24XCyte]
28	56, м	МДС-ИБ1*	ish.47,X,-Y,der(5)t(5;12)(q31;q2?4),-7,+8,i(8)(q10), <b>der(12)t(12;5;7)</b> ,dic(13;19)(p11;p13)del(13)(q?),+der(13)t(13;16)(p?;?),-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]
29	36, ж	МДС-ИБ2*	ish.46,XX, <b>der(5)t(5;7;5;7)</b> ,-7,der(12)t(12;13)(p13;q?),del(13)(q11),+r(13) [24XCyte]
30	74, ж	МДС-ИБ1	ish.45,XX,der(1)t(13;1;13;1), <b>der(4)t(4;7)(?p15;p12)</b> ,del(5)(q22q35),-7, <b>der(13)t(13;7;13;4)</b> [24XCyte]
31	63, м	МДС-ИБ1*	ish.46-47,XY, <b>der(4)t(21;4;7)</b> ,der(5)t(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), <b>der(21)t(21;7;4)</b> [24XCyte]
32	22, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,t(1;12)(p36;p13),der(2)t(2;11)(q35;?), <b>der(4)t(7;8;4)</b> ,der(5)t(5;8)(q13;q22),-7, <b>der(8)t(8;7;8;4)x2,der(8)t(8;7;8;7;8;4)</b> ,der(8)t(5;8)(?;q22), <b>der(8)t(12;8;7)</b> ,der(13)t(13;8;12)[cp10][24XCyte]
33	76, м	МДС-ИБ2*	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), <b>der(18)t(11;18;7;2;22)</b> [24XCyte]

Продолжение таблицы 4

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
34	87, ж	МДС-ИБ1	ish.77<4n>,XX,der(X)t(21;X;21;12),der(1)t(14;20;1)x2,ins(3;8)(?;??),-5x2,-7x2,der(7)t(2;7)(?;p2?1),der(7)t(7;12)(p1?3;?),-8,der(10)t(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)t(7;1;14),-15x2,-16,del(16)(p?),der(17)t(X;1;18;11;17;X;8),-18x2,+19x2,del(19)(p13),der(19)del(19)(p12)del(19)(q12),der(19)t(12;19;12;19;11;19),der(19)t(19;11;19;11;19;5),der(20)t(14;20;14;X),-21,-22,der(22)t(7;11;7;12;22)[24XCyte]
35	8, ж	МДС-ИБ1	46,XX,del(7)(q11.2),dup(21)(q?) [4]/46,XX[16]
36	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]
37	3, ж	МДС-ИБ1	46,XX,der(7)del(7)(p11)del(7)(q21),der(21)r(21)amp(21) or der(21)amp(21) [15]
38	40, ж	МДС-ИБ2	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)(p11)del(7)(q11),+8,der(13)t(5;13)(?;q12),der(14)t(3;14)(?;q?),der(17)t(5;17)(?;p11)[24XCyte]
39	1, ж	МДС-ИБ1	46,XX,i(7)(q10)[11]/46,XX[4]
40	33, ж	МДС-ИБ2*	ish.48,XX,der(3)t(3;9)(q11;?),dic(7;16)(p11;p11),+del(9)(q11),der(9)t(3;9;3;9),-18,t(19;21) (?q11;p11),+21x2[24XCyte]
41	10, м	вТМДС	46,XY,der(7)t(7;?)(p13;?) [13] /46,XY[7]
42	32, м	МДС-МД	46,XY,der(7)t(1;7)(q12;p22)[11]/46,XY[4]
43	57, м	МДС-ИБ2*	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]
44	51, м	МДС-КС	ish.43,XY,der(2)t(2;7)(q31;q?),-3,del(4)(p11),der(5)t(3;5)(?;q22),der(7)t(2;7)(q?;?),-12,inv(13)(p11q14),-15,der(15)t(15;18)(p11;q21),der(16)t(15;16)(q21;p13),der(17)t(4;12;3;17),del(18)(q12)[24XCyte]
45	60, ж	МДС-ИБ1*	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)(?;p?),der(22)t(20;22)(??;q13), del(22)(q11), +22[24XCyte]

## Продолжение таблицы 4

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
46	60, ж	МДС-ИБ1*	44,XX,der(3)t(3;17)(p21;??),-5, <b>der(7)t(7;21;22)</b> ,del(8)(p21),+der(8)t(5;8)(??;p21), <b>der(12)t(13;7;3;17;12)</b> ,del(13)(q14),der(17)del(17)(p11)del(17)(q22),der(19)t(19;20)(q13;??),del(20)(q11),-21,-22 [24XСyte]
47	32,ж	МДС-ИБ2	46-47,XX,-7[5],del(5)(q31q33)[5],+19[7],add(21)(p11)[5],+22[6],+mar1[4],+mar2[2],+mar3[3][cp19]/46,XX[1]

Примечание: МДС-ИБ1 - миелодиспластический синдром с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 - то же с избытком бластов-2; МДС-ЛД - то же с однолинейной дисплазией; МДС-МД - то же с мультилинейной дисплазией; МДС-КС - то же с кольцевыми сидеробластами; втМДС – вторичный МДС; \* - произошла трансформация в острый миелобластный лейкоз; **жирным шрифтом** выделены аномалии 7-й хромосомы; кариотипы сложных дериватов записаны без уточнения точек разрыва хромосом

Из этих данных следует, что моносомия 7-й хромосомы была выявлена у 22 (48 %) пациентов, причём у 13 она была изолированная (№1-13), а у 6 - сочеталась с дополнительной аномалией кариотипа, а именно: а) инверсией 3-й хромосомы (№14); б) делецией 12p (№15); в) робертсоновской транслокацией rob(13;14) (№16 и №17); г) трисомией 21-й пары хромосом (№18 и №19), что позволило рассматривать этих больных с позиций моносомного кариотипа.

В трех наблюдениях (№20-22), помимо моносомии хромосомы 7, в кариотипах было выявлено более 2 дополнительных хромосомных аномалий, вследствие чего были все основания считать эти кариотипы как сложные или, точнее, сложно-моносомные. При этом отсутствие материала хромосомы 7-й пары среди других aberrаций кариотипа было показано с помощью многоцветной FISH (рисунок 12).

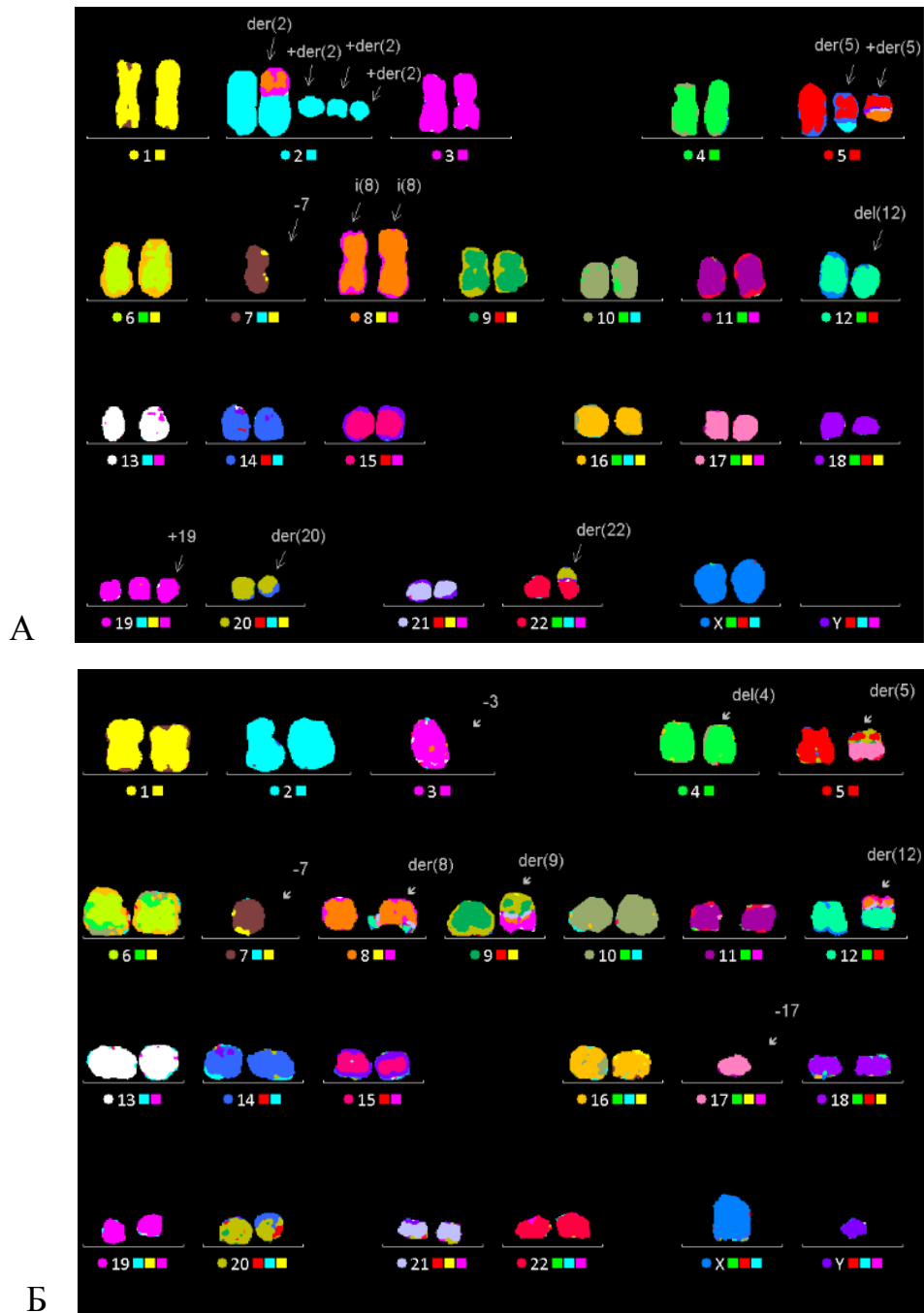


Рисунок 12 – Примеры сложных кариотипов пациентов №20 (А) и №21 (Б) с МДС, выполненные в технике многоцветной FISH и подтверждающие наличие истинной моносомии 7-й хромосомы

Напротив, у следующих 12 пациентов, после подключения к работе метода mFISH, наличие материала 7-й пары хромосом, нераспознанного в условиях стандартного цитогенетического анализа, было убедительно доказано. Говоря иначе, предполагаемые моносомии 7-й хромосомы в этих

наблюдениях оказались ложными. В частности, у больной №23 материал 7-й хромосомы был встроен в длинное плечо 14-й хромосомы (рисунок 13, А), в то время как у больной №24 инсерция материала 7-й хромосомы находилась на хромосоме 15 -  $ins(15;7)$  (рисунок 13, Б).

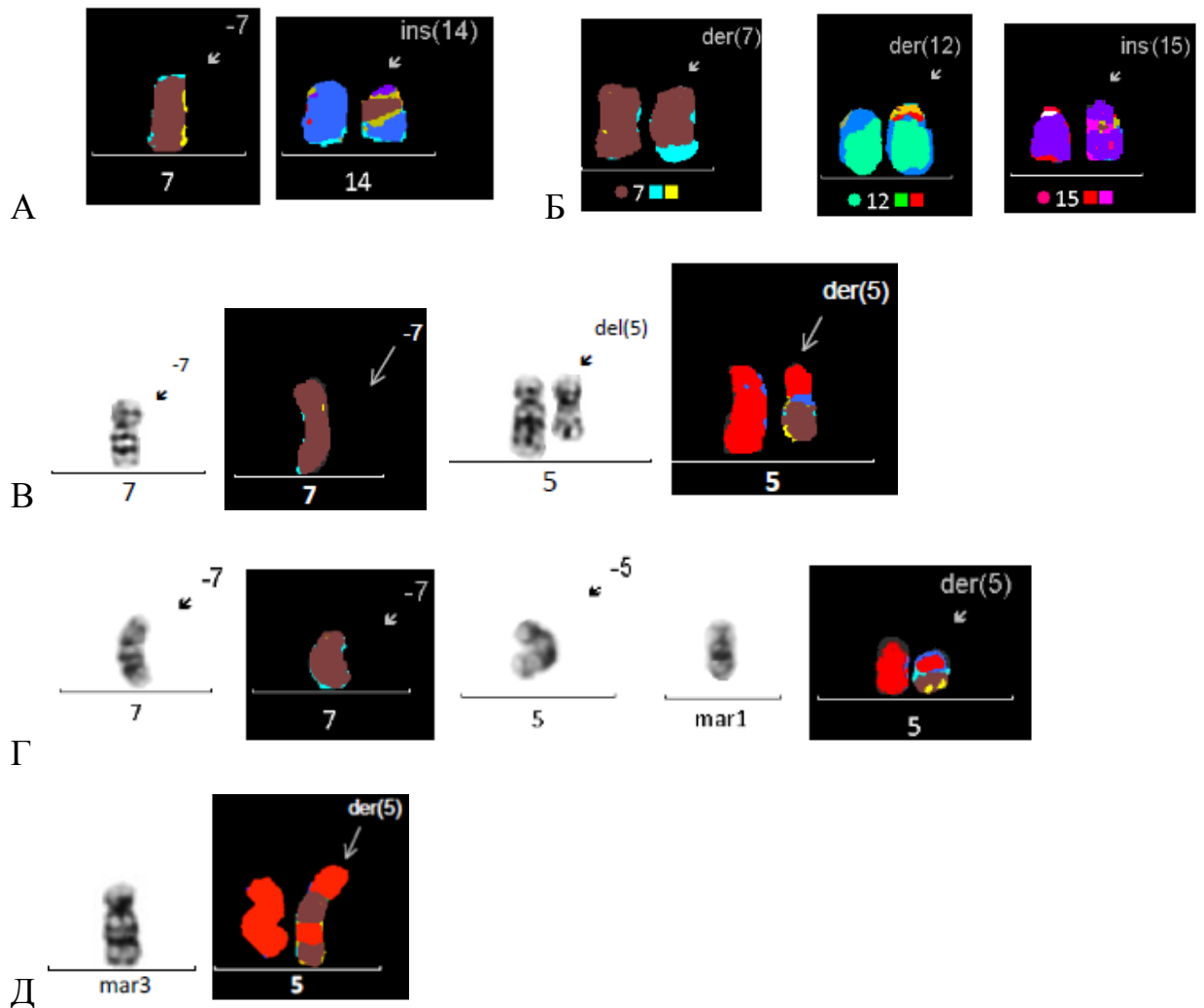


Рисунок 13 – Селективные кариограммы клеток костного мозга больных МДС со сложным кариотипом, в которых только с помощью mFISH удалось убедительно показать наличие вовлечения в перестройки материала хромосомы 7-й хромосомы

Кроме того, у этой больной в ходе несбалансированных транслокаций были образованы дериваты  $der(7)t(2;7)$  и  $der(12)t(7;12)$  (рисунок 13, Б). Хромосома 7 в наблюдении №25 по данным уточняющего анализа mFISH участвовала в формировании деривата  $der(10)t(7;10)$ . В следующих 4

наблюдениях (№26 - 29) хромосома 7 принимала участие в формировании неоднотипных несбалансированных транслокаций с 5-й хромосомой. В частности, у больных №26 и №27 хромосомы 5 и 7 формировали дериваты на основе материала хромосомы 5-й пары (рисунок 13, В, Г).

В последних двух наблюдениях этой подгруппы образованные хромосомами 5 и 7 дериваты были гораздо сложнее по структуре. Например, у пациента №28 они формировали необычный дериват на основе хромосомы 12 –  $der(12)t(12;5;7)$ , который в стандартно окрашенных препаратах из-за недостаточного качества метафазных пластинок был расценен как аномалия 11-й хромосомы. У пациентки же №29 сложный дериват, производный хромосомы 5, состоял из чередующихся участков хромосом 5 и 7 –  $der(5)t(5;7;5;7)$ , который после стандартного цитогенетического исследования был помещён в раздел маркеров (рисунок 13, Д).

У пациентов №30-34 состоящие из 3 и более хромосом сложные дериваты были результатом несбалансированных перестроек с вовлечением хромосомы 7. Стоит отметить, что пациенты данной подгруппы в большинстве своем (80 %) относились к старшей возрастной категории (63-87 лет). Структуру таких сложных дериватов стало возможно достоверно определить лишь с помощью уточняющей методики mFISH. Была отмечена повышенная частота встречаемости в структуре дериватов комбинаций хромосом 4 и 7. Так, в кариотипе пациентки №30 часть материала хромосомы 7 была обнаружена в составе несбалансированной транслокации  $t(4;7)$ , а фрагмент хромосомного материала 7-й пары был выявлен в составе сложного деривата 13-й хромосомы -  $der(13)t(13;7;13;4)$ , при этом вторая 13-я хромосома отсутствовала (рисунок 14, А). В следующем наблюдении (№31) до проведения многоцветной FISH была определена реципрокная транслокация  $t(4;21)$ , однако с помощью уточняющего молекулярно-цитогенетического метода было зафиксировано участие хромосомы 7 в образовании сложных дериватов на основе хромосом 4 и 21, к тому же в

части метафаз имела место делеция длинного плеча второй хромосомы из 7-й пары (рисунок 14, Б).

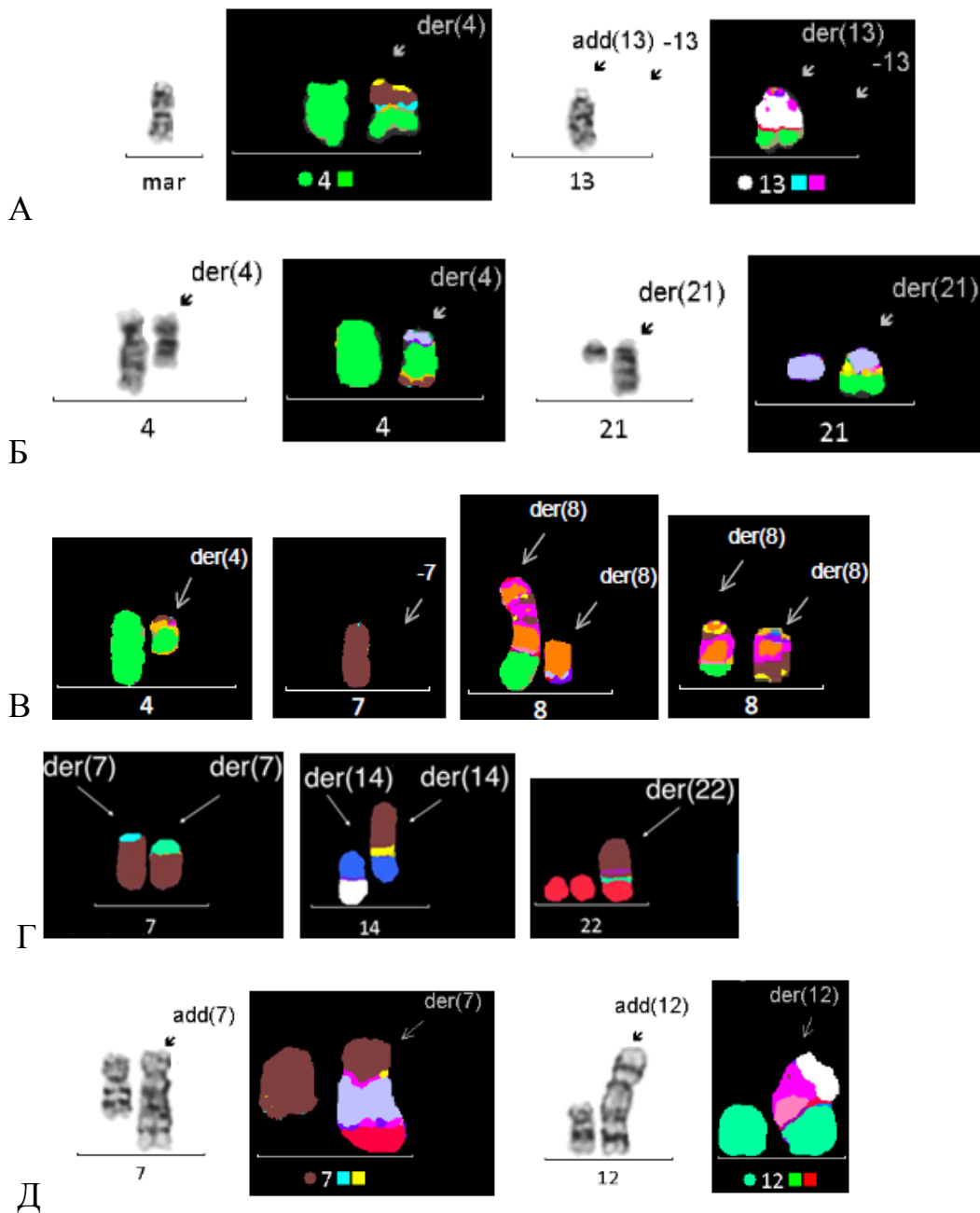


Рисунок 14 – Селективные кариограммы пациентов с МДС и СК в технике G-бэндинга и mFISH, демонстрирующие вовлечение в aberrации хромосомы 7

Материал 7-й хромосомы пациентки №32 был обнаружен в составе сложных дериватов на основе 4-й и 8-й хромосом -  $der(4)t(7;8;4)$ ,



der(8)t(8;7;8;4), der(8)t(8;7;8;7;8;4), der(8)t(12;8;7) (рисунок 14, В). У пациента №33 материал казавшейся утерянной хромосомы 7-й пары был вовлечен в формирование сложного деривата на основе хромосомы 18 - der(18)t(11;18;7;2;22).

Кариотип самой возрастной пациентки (№34, 87 лет) в нашем исследовании поражает сложностью хромосомных aberrаций. Так, в гипердиплоидном кариотипе обе 7-е хромосомы принимали участие в несбалансированных транслокациях с формированием der(7)t(2;7) и der(7)t(7;12). Кроме того, материал 7-й хромосомы участвовал в образовании сложных дериватов на основе 14-й и 22-й хромосом - der(14)t(7;1;14) и der(22)t(7;11;7;12;22) (рисунок 14, Г). Без сомнения, aberrации данной пациентки, как и в предыдущем наблюдении, были образованы не без участия хромотрипсиса.

Делеция хромосомы 7 была второй по частоте aberrацией после моносомии 7-й пары и встречалась в 5 наблюдениях, при этом в 3 из них (№31, №35-36) делеции подвергалось длинное плечо 7-й хромосомы, а в 2 наблюдениях (№37-38) отмечалась высокая делеция, затрагивающая и p, и q-плечо хромосомы 7. Стоит отметить, что в кариотипе 4 из 5 больных с делециями 7-й хромосомы имели место различные aberrации 21-й пары хромосом. Так, у пациентов №35 и №37 частичная моносомия 7-й хромосомы сочеталась с дупликацией и амплификацией 21-й хромосомы, соответственно. В остальных наблюдениях делеция хромосомы 7 была частью сложного кариотипа, сочетаясь у одного из вышеописанных больных (№31) с несбалансированными транслокациями с участием хромосом 4, 7, 21, а у другого – с трисомией по 21-й паре хромосом и несбалансированной транслокацией t(21;22). У следующих двух пациентов частичная утрата материала короткого плеча 7-й хромосомы была обусловлена формированием изохромосомы 7 (№39) и дицентрической хромосомы dic(7;16) (№40). В следующих наблюдениях аномалии 7-й хромосомы были

представлены в виде несбалансированных транслокаций с участием материала хромосом 1 (№42), 2 (№43,44), 11 (№45) и неустановленной хромосомы (№41), а также сочетались с комплексными изменениями кариотипа у пациентов №43-46, в том числе с образованием сложных дериватов  $der(7)t(7;21;22)$  и  $der(12)t(13;7;3;17;12)$  (№46) (рисунок 14, Д).

Стандартное цитогенетическое исследование кариотипа пациентки №47 выявило моносомию хромосомы 7-й пары, но подтвердить истинная ли она возможности не представлялось. Так, материал 7-й хромосомы мог входить в состав одной или нескольких маркерных хромосом, как это было в наблюдении №30, либо дополнительный хромосомный материал неизвестного происхождения, который был определен на р-плече хромосомы 21 и мог принадлежать 7-й паре хромосом, как у пациента №31. Также, не исключено участие материала 7-й хромосомы в несбалансированной транслокации с делетированной хромосомой 5.

Таким образом, в группе МДС с аномалиями 7-й хромосомы aberrации хромосомы 7 в изолированном варианте были выявлены у 16 (34 %) пациентов, а у 8 (17 %) пациентов она сочеталась с 1 дополнительной хромосомной аномалией. Из них моносомия хромосомы 7 была обнаружена у 13 (81 %) пациентов, делеция 7q – у 2 (25 %). У 8 (17 %) больных помимо аномалий 7-й хромосомы имелись ДХА: у 2 детей это была Робертсоновская транслокация  $t(13;14)$ , а у взрослых - инверсия 3q26 ( $n=1$ ), делеция 12p ( $n=1$ ) и трисомия 21-й хромосомы ( $n=2$ ). При этом у 23 (49 %) больных аномалии 7-й хромосомы входили в состав сложного кариотипа, для точной идентификации которых требовалось применение многоцветной FISH. Среди aberrаций 7-й хромосомы в составе СК моносомия 7-й хромосомы при СЦИ была зарегистрирована у 15 (65 %) больных. Между тем, при использовании в работе mFISH моносомный кариотип удалось подтвердить лишь у 3/15 (20 %) пациентов, поскольку у 12/15 (80 %) материал 7-й хромосомы был обнаружен в составе других aberrантных хромосом. Делеции 7-й хромосомы

в СК определялись в 5 (22 %) наблюдениях. Они чаще затрагивали q-плечо, причём удалению подвергались различные области: 7q11 (n=1), 7q22-7q32 (n=1) и 7q32-7q36 (n=1). Кроме того, у двух пациентов делеции затрагивали оба плеча 7-й хромосомы с образованием дериватов  $der(7)del(7)(p11)del(7)(q11)$  и  $der(7)del(7)(p11)del(7)(q21)$  (рисунок 15).

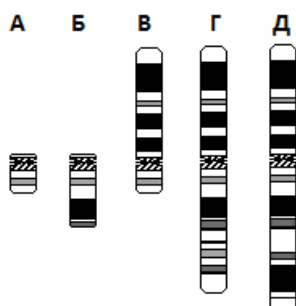


Рисунок 15 – Схематичное изображение различных вариантов делеции 7-й хромосомы у пациентов с МДС:  $der(7)del(7)(p11)del(7)(q11)$  (А);  $der(7)del(7)(p11)del(7)(q21)$  (Б);  $del(7)(q11)$  (В);  $del(7)(q22q32)$  (Г);  $del(7)(q32q36)$  (Д)

Многоцветная FISH показала, что большинство перестроек 7-й хромосомы в СК (83 % пациентов) представляли собой несбалансированные транслокации с участием хромосом 1-5, 8, 10-18, 21 и 22. При этом самыми частыми хромосомами-партнерами для 7-й хромосомы были 2-я (n=5), 5-я (n=4) и 12-я (n=3). На рисунке 16 представлены идиограммы хромосом 2, 5, 7 и 12, где цветные линии соединяют участвующие в транслокациях точки разрывов хромосом. Кроме того, что у 6 пациентов участвующий в межхромосомных обменах фрагмент хромосомы 7 был настолько мал, что не подлежал точной верификации локусов.

Следует также отметить, что хромосома 7 была самым частым донором хромосомного материала при формировании сложных дериватных хромосом (n=7), чем, очевидно, можно объяснить низкий процент истинных моносомных кариотипов, верифицированных с помощью многоцветной

FISH. Кроме этого, на основе материала 7-й хромосомы были образованы простые дериваты с участием хромосом 11 и 12, а также сложный дериват с хромосомой 21 и амплифицированной хромосомой 22.

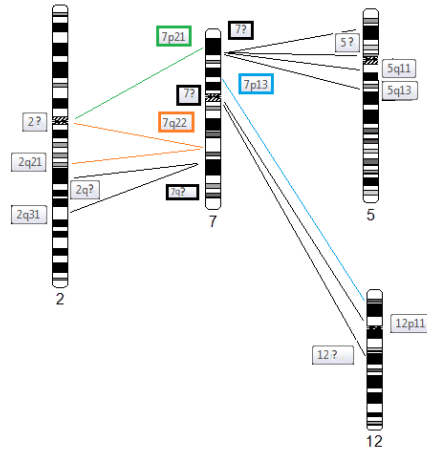


Рисунок 16 – Схематичное изображение хромосомных обменов между хромосомой 7 и хромосомами - партнерами 2,5 и 12

### 3.3.3. Особенности хромосомных изменений 8-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС

В группу МДС со структурными и численными нарушениями 8-й хромосомы был включен 21 больной (таблица 5). Изолированная трисомия хромосомы 8 была отмечена у 5 (71 %) взрослых пациентов и 2 (29 %) детей, из них у 1 ребенка она сочеталась с 1 ДХА (инсерцией в 1q неизвестного хромосомного материала). Эту группу составили пациенты с *de novo* МДС, где преобладали варианты МДС-ИБ1 (n=2, 29 %), МДС-ИБ2 (n=2, 29 %), реже были установлены другие морфологические варианты: МДС-ЛД (n=1, 14 %), МДС-МД (n=1, 14 %) и МДС-КС (n=1, 14 %). У большинства пациентов (n=14, 67 %) аберрации 8-й хромосомы входили в состав СК, и их клинические характеристики будут рассмотрены в соответствующем разделе.

Из данных, представленных в таблице 5, следует, что у большинства пациентов (№1-6) трисомия 8-й пары хромосом была единственным нарушением кариотипа. Однако у больного №7 она сочеталась с ДХА, а именно включением хромосомного материала неизвестной природы в длинное плечо хромосомы 1. У 6 больных увеличение количества материала 8-ой хромосомы сочеталось со сложными изменениями кариотипа (№8-13), а в одном из этих наблюдений помимо трисомии 8-й хромосомы определялась также изохромосома 8. У больной №14 хромосома 8 стала одним из партнеров 1-й хромосомы в “прыгающей” транслокации с участием локуса 1q21.

Таблица 5 – Кариотипы пациентов с МДС с вовлечением в перестройки хромосомы 8

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
1	27, м	МДС-ИБ2	47,XY,+8[4]/46,XY[16]
2	51, ж	МДС-ИБ2	47,XX,+8[7]/46,XX[13]
3	48, ж	МДС-КС	47,XX,+8[10]/46,XX[6]
4	4, м	МДС-ИБ1	47,XY,+8[11]/46,XY[9],
5	18, м	МДС-МД	47,XY,+8[15]
6	18, ж	МДС-ИБ1	47,XX,+8[15]
7	11, м	МДС-ЛД	47,XY,ins(1;?)(q21;?),+8[20]
8	23, ж	МДС-МД	48,XX,t(1;19)(q23;q13),+8,+der(19)t(1;19)[4] /96, idem,x2[1]/46,XX[15]
9	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)(p11)del(7)(q11),+8,der(13)t(5;13)(?:q12),der(14)t(3;14)(?:q?),der(17)t(5;17)(?:p11)[24XСyte]

Продолжение таблицы 5

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
10	38, ж	вТМДС*	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)(?;q??), der(17)t(4;17)(q13;q23),der(19)t(1;19)(p21;p12)[24XCyte]
11	10, ж	МДС-ИБ1*	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)t(12;20;12),der(12)t(3;12;2),+15,+18,+19,+der(20)t(10;20)(?;q?11), +der(20)t(5;20)(?;q?13),+21[cp5][24XCyte]
12	57, м	МДС-ИБ2*	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]
13	56, м	МДС-ИБ1*	ish.47,X,-Y,der(5)t(5;12)(q31;q2?4),-7,+8,i(8)(q10),der(12)t(12;5;7),dic(13;19)(p11;p13)del(13)(q?),+der(13)t(13;16)(p?;?),-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]
14	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)[cp10][24XCyte]
15	60, ж	МДС-ИБ1*	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)(?;p?),der(22)t(20;22)(??;q13), del(22)(q11),+22[24XCyte]
16	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]
17	60, ж	МДС-ИБ1*	44,XX,der(3)t(3;17)(p21;??),-5,der(7)t(7;21;22),del(8)(p21),+der(8)t(5;8)(??;p21),der(12)t(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]
18	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)(?;q22),+der(5)t(5;8)(q11;p11),-7,i(8)(q10)x1-2,del(12)(p11), +19,t(20;22)(q11;p11) [24XCyte]
19	63, м	МДС-ИБ1*	ish.46-47,XY,der(4)t(21;4;7),der(5)t(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)t(21;7;4)[24XCyte]

Продолжение таблицы 5

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
20	87, ж	МДС-ИБ1	ish.77<4n>,XX,der(X)t(21;X;21;12),der(1)t(14;20;1)x2, <b>ins(3;8)(?;??)</b> , -5x2,-7x2,der(7)t(2;7)(?;p2?1),der(7)t(7;12) (p1?3;?), <b>-8</b> ,der(10)t(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)t(7;1;14),-15x2,-16,del(16)(p?), <b>der(17)t(X;1;18;11;17;X;8)</b> , -18x2,+19x2,del(19)(p13),der(19)del(19)(p12)del(19)(q12),der(19)t(12;19;12;19;11;19),der(19)t(19;11;19;11;19;5),der(20)t(14;20;14;X),-21,-22,der(22)t(7;11;7;12;22)[24XcYte]
21	22, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,t(1;12)(p36;p13),der(2)t(2;11)(q35;?), <b>der(4)t(7;8;4)</b> , <b>der(5)t(5;8)(q13;q22)</b> , -7, <b>der(8)t(8;7;8;4)x2</b> , <b>der(8)t(8;7;8;7;8;4)</b> , <b>der(8)t(5;8)(?;q22)</b> , <b>der(8)t(12;8;7)</b> , <b>der(13)t(13;8;12)</b> [cp10][24XcYte]

Примечание: МДС-ИБ1 - миелодиспластический синдром с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 -то же с избытком бластов-2; МДС-МД - то же с мультилинейной дисплазией; МДС-КС - то же с кольцевыми сидеробластами; втМДС - вторичный МДС; \* - произошла трансформация в острый миелобластный лейкоз; **жирным шрифтом** выделены аномалии 8-й хромосомы; кариотипы сложных дериватов записаны без уточнения точек разрыва хромосом

Аберрации с участием 8-й пары хромосом у следующих 8 пациентов (№14-21) были гораздо сложнее. И если выявление трисомии по 8-й паре не вызывало трудностей, то вовлечение материала хромосомы 8 в структурные перестройки не всегда определялось методом стандартной цитогенетики. Так, например, у пациента №15 дериват хромосомы 8, образованный несбалансированной транслокацией t(8;10), остался незамеченным при проведении стандартной цитогенетики и был выявлен лишь благодаря методу многоцветной FISH (рисунок 17, А).

У пациента со вторичным МДС (№16) методом mFISH была установлена реципрокная транслокация t(8;12), которая при стандартном

кариотипировании выглядела как дополнительный хромосомный материал на 8q и делеция 12p (рисунок 17, Б).

В следующих наблюдениях (№17-19) частым партнером в несбалансированных транслокациях выступала хромосома 5, что выяснилось лишь после проведения дополнительного молекулярно-цитогенетического анализа.

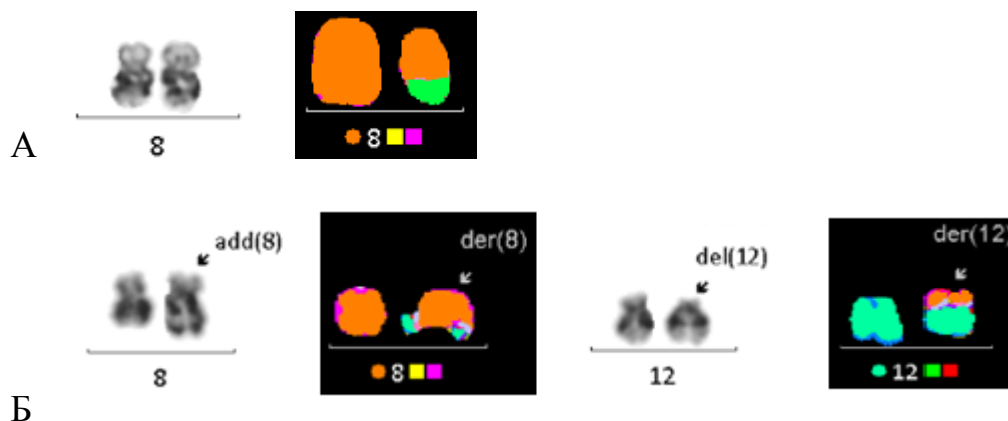


Рисунок 17 – Селективные кариограммы пациентов №15 (А) и №16 (Б) с МДС и СК, которые демонстрируют выявленное с помощью метода mFISH вовлечение в хромосомные aberrации материала 8-й хромосомы

Так, у пациентки №17 методом стандартной цитогенетики была достоверно определена делеция короткого плеча хромосомы 8, а также описан дополнительный хромосомный материал на 8p, происхождение которого было установлено после проведения mFISH. Им оказался фрагмент 5-й хромосомы, при этом сама хромосома 5 была утеряна, что до проведения уточняющего анализа выглядело как «ложная» моносомия по хромосоме 5 (рисунок 18, А).

В следующем наблюдении (№18) благодаря mFISH было подтверждено наличие изохромосомы 8, а также были выявлены несбалансированные транслокации t(2;8) и t(5;8). Дериват от первой из них на стандартной цитогенетике остался незамеченным – обе хромосомы 2-й пары выглядели



нормальными, а дериват от второй также не был определен и попал в число маркерных хромосом. Помимо этого, среди маркеров были определены дополнительные дериваты хромосомы 2, образованные высокой делецией 2p и 2q, количество которых варьировало от 1 до 3 в разных метафазных пластинках. Кроме того, материал хромосомы 2 был обнаружен на q-плече делетированной 5-й хромосомы (рисунок 18, Б).

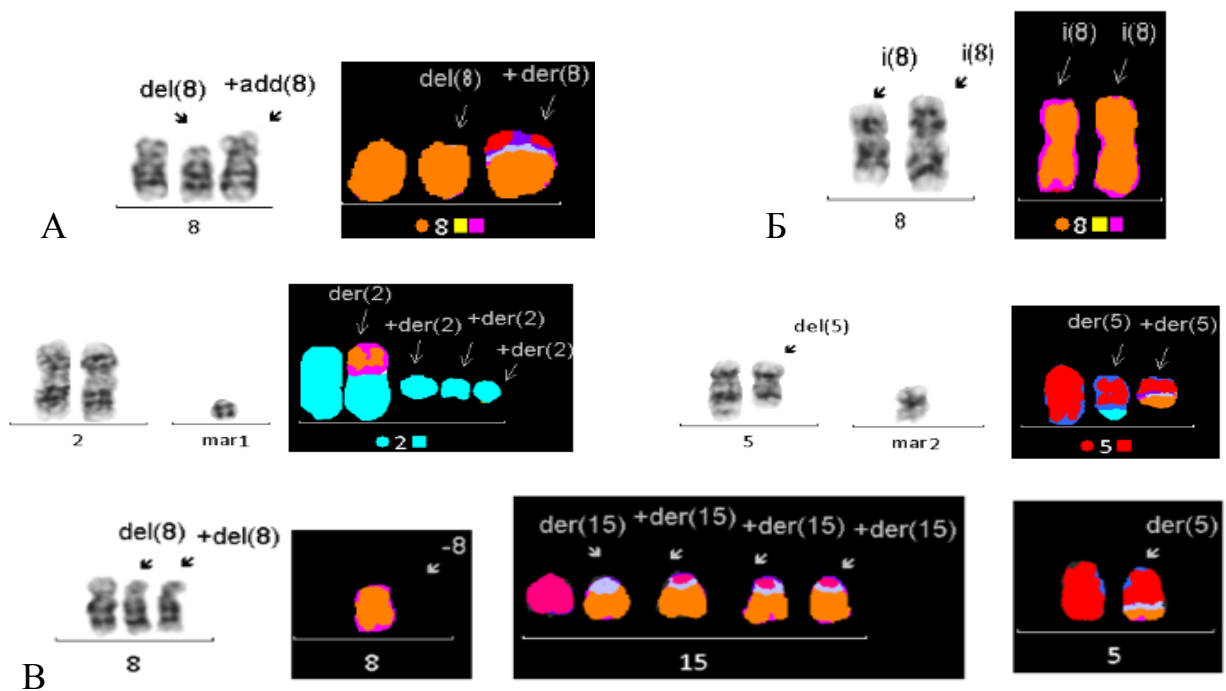


Рисунок 18 – Селективные кариограммы пациентов №17 (А), №18 (Б), №19 (В) с МДС и СК, которые демонстрируют выявленное с помощью метода mFISH вовлечение в хромосомные aberrации материала 8-й хромосомы

Хромосомные aberrации у следующего пациента (№19) после проведения многоцветной FISH оказались намного сложнее, чем выглядели на первый взгляд. Так, делеция 5q, выявленная при стандартном цитогенетическом исследовании, оказалась сложным дериватом хромосомы 5 -  $der(5)t(5;18;8)$  (рисунок 18, В), а делеция 8p на самом деле являлась дериватом несбалансированной транслокации -  $der(15)t(8;15)$ , причем количество таких дериватом варьировало от 2 до 4 на метафазу в разных клетках (рисунок 18, В).

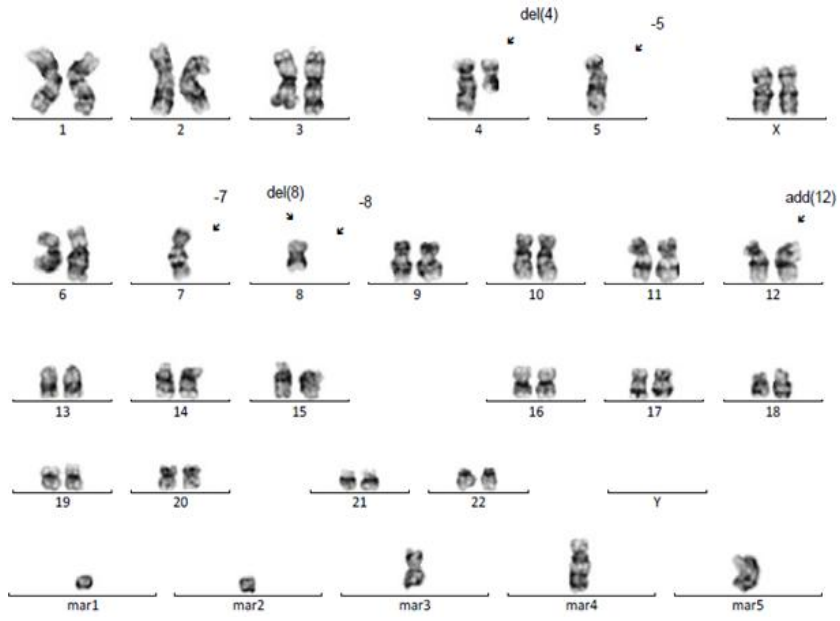
У следующих двух пациенток, 8-я хромосома была вовлечена в образование крайне сложных хромосомных структур, состоящих из 6 хромосом. В обоих наблюдениях прослеживается роль хромотрипсиса в образовании столь сложных хромосомных aberrаций. В первом наблюдении (№20) хромосома 8 выступила лишь партнером в формировании сложной несбалансированной транслокации на основе хромосомы 17 -  $der(17)t(X;1;18;11;17;X;8)$ , помимо этого кариотип пациентки включал также инсерцию хромосомного материала 8-й пары в короткое плечо хромосомы 3 (рисунок 19).



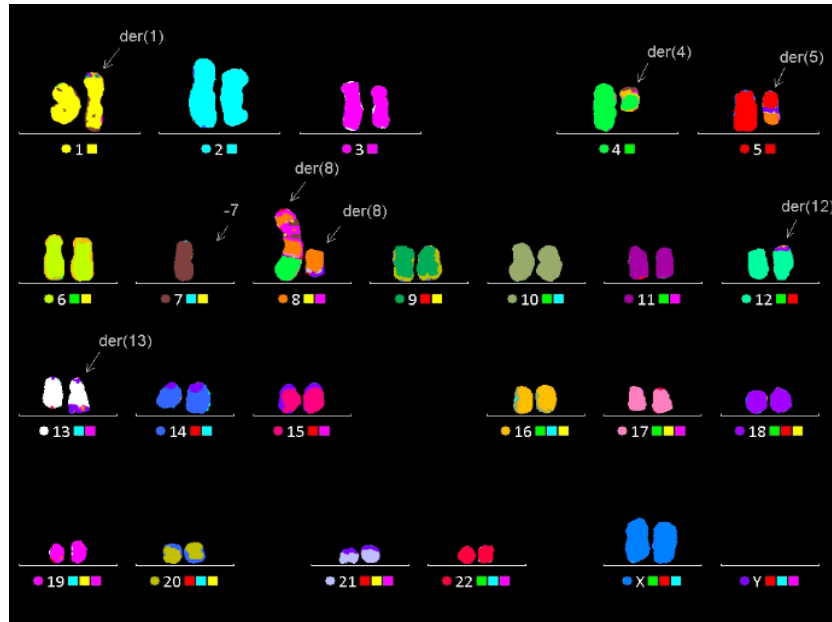
Рисунок 19 – Селективные кариограммы пациента №20 с МДС и СК, которые демонстрируют выявленное с помощью метода mFISH вовлечение в хромосомные aberrации материала 8-й хромосомы

В последнем наблюдении из этой группы в кариотипе молодой пациентки 22 лет было выявлено большое количество сложных маркеров, связанных с множественными изменениями хромосомы 8-й пары (рисунок 20).

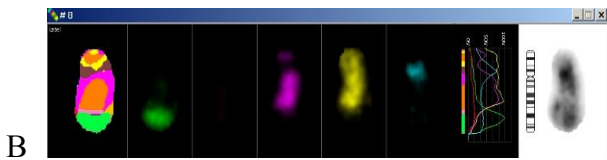
Причем, это были либо дериваты, образованные на основе хромосомы 8 -  $der(8)t(5;8)$ ,  $der(8)t(12;8;7)$ ,  $der(8)t(8;7;8;4)$ ,  $der(8)t(8;7;8;7;8;4)$  (рисунок 20, В-Е), либо дериваты других хромосом, но образованные с участием хромосомы 8 -  $der(4)t(7;8;4)$ ,  $der(5)t(5;8)$ ,  $der(13)t(13;8;12)$  (рисунок 20, Ж-И). Кроме того, в кариотипе имелась реципрокная транслокация  $t(1;12)$ , а часть метафаз содержала также несбалансированную транслокацию  $t(2;11)$ .



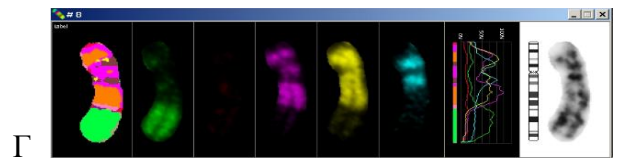
A



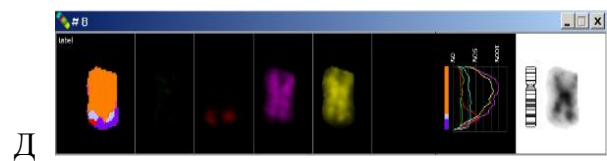
B



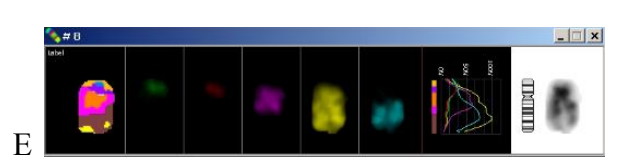
B



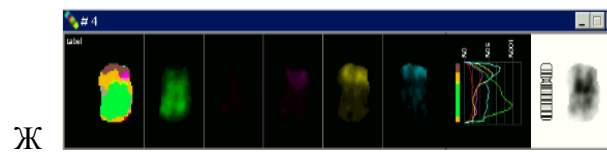
Г



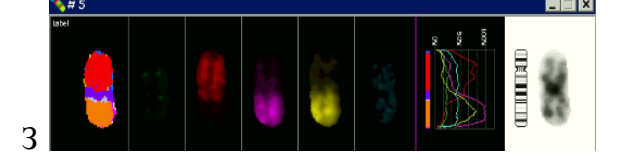
Д



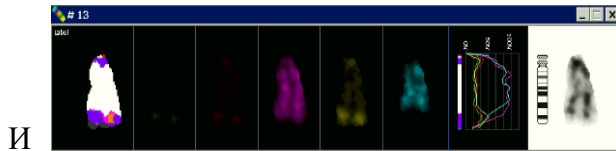
E



Ж



3



И

Рисунок 20 – Сложные кариотипы клеток костного мозга больной 22 лет с диагнозом МДС (№21), выполненных в технике GTG-бэндинга (А) и mFISH (Б), вкуче с селективными кариограммами из разных метафазных пластинок, демонстрирующих вовлечение в перестройки 8-й хромосомы:  $der(8)t(8;7;8;4)(B)$ ;  $der(8)t(8;7;8;7;8;4)(Г)$ ;  $der(8)t(5;8)$  (Д);  $der(8)t(12;8;7)$  (Е);  $der(4)t(7;8;4)(Ж)$ ;  $der(5)t(5;8)(З)$ ;  $der(13)t(13;8;12)(И)$

Пересмотренный после выполнения mFISH кариотип (рисунок 20, Б) в данном наблюдении никоим образом не был связан с моносомией 7-й пары, как полагалось после проведения G-бэндинга (рисунок 20, А). Сложная структура хромосомных aberrаций у данной пациентки с МДС указывает на вероятность развития у неё феномена хромотрипсиса с непосредственным участием хромосомы 8. Но, несмотря на сложность хромосомных aberrаций в данном наблюдении, молодая пациентка достигла стойкой клинической и цитогенетической ремиссии и до сих пор остается под наблюдением.

Таким образом, изолированная трисомия хромосомы 8 была отмечена у 5 (71 %) взрослых пациентов и 2 (29 %) детей, из них у 1 ребенка она сочеталась с 1 ДХА (инсерцией в 1q неизвестного хромосомного материала). В то время как у большинства больных ( $n=14$ , 67 %) аномалии хромосомы 8 входили в состав сложного кариотипа. Подключение к анализу СК mFISH показало, что трисомия 8-й хромосомы в составе СК имела место в 6 (43 %) наблюдениях, в то время как изохромосома 8 была свойственна 2 (14 %) больным. У большинства пациентов со СК ( $n=8$ , 57 %) aberrации хромосомы 8 были представлены несбалансированными транслокациями с участием хромосом X, 1-5, 7, 10, 12, 13, 15 и 18, где самыми частыми хромосомами-партнерами были хромосомы 5 ( $n=4$ ) и 12 ( $n=2$ ). На рисунке 21 представлены

идиограммы хромосом 5, 8 и 12, где цветные линии соединяют участвующие в транслокациях точки разрывов хромосом.

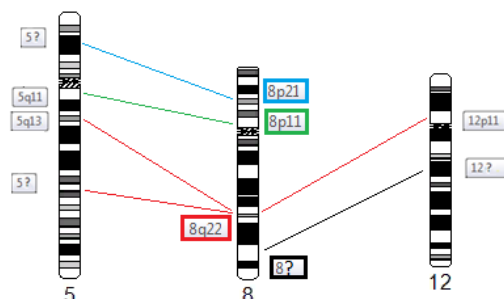


Рисунок 21 – Схематичное изображение хромосомных обменов между хромосомой 5 и хромосомами - партнерами 5, 8 и 12

Следует отметить, что в несбалансированных транслокациях хромосомный сегмент 8q21-22 участвовал в межхромосомных обменах чаще других ( $n=4$ ), реже точки разрыва были представлены в 8p11 ( $n=2$ ) и 8q11 ( $n=2$ ) и других сегментах. Кроме того, материал хромосомы 8 участвовал в формировании сложных дериватов в трех наблюдениях, причем в одном из них (№21) были выявлены сразу 5 сложных дериватов с участием этой хромосомы.

#### 3.3.4. Особенности хромосомных изменений 3-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС

В группу МДС со структурными и численными нарушениями 3-й хромосомы было включено 25 больных (таблица 6). Изолированные aberrации были отмечены у 8 (32 %) взрослых пациентов и включали классические инверсии и транслокации с участием локуса 3q26 и гена *MESOM*. У 4 (16 %) пациентов они сочетались с 1 ДХА. Это были исключительно взрослые пациенты с *de novo* МДС ( $n=12$ , 48 %) с

преобладающим морфологическим вариантом МДС-ИБ2 (n=11, 92 %), где у 3 (25 %) пациентов была зафиксирована трансформация в ОМЛ. У половины пациентов (n=13, 52 %) аномалии хромосомы 3 входили в состав СК, клинические характеристики которых будут рассмотрены в соответствующем разделе. Многоцветная FISH для окончательной идентификации перестроенных хромосом была осуществлена в дополнение к стандартному цитогенетическому исследованию у всех 13 больных (№13-25) со сложными кариотипами.

Данные, представленные в таблице 6, показывают, что у 8 пациентов перестройка локуса 3q26 была одиночной аномалией, а у 4 других она была ассоциирована с одной дополнительной aberrацией. При этом у одного пациента (№5) была зарегистрирована утрата из кариотипа Y-хромосомы, а у другого (№6) – потеря 7-й хромосомы. Классическая инверсия 3-й хромосомы с участием локусов 3q21 и 3q26 гена *MESOM* была обнаружена у 6 пациентов (№1-6). У других 6 пациентов вовлечение в перестройки интересующего нас локуса 3q26 произошло в результате реципрокных транслокаций t(2;3) (№7-10), t(3;5) (№11) и t(3;21) (№12). При этом, в двух наблюдениях (№8 и №12) в патологических клетках, помимо отмеченных транслокаций, имели место трисомии хромосом 21 и 13 соответственно.

Таблица 6 – Основные клинические и лабораторные характеристики больных МДС с аномалиями хромосомы 3

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
1	44, ж	МДС-ИБ2*	46,XX, <b>inv(3)(q21q26)</b> [4]/46,XX[16]
2	55, м	МДС-ИБ2	46,XY, <b>inv(3)(q21q26)</b> [8]/46,XY[12]
3	44, ж	МДС-ИБ2	46,XX, <b>inv(3)(q21q26)</b> [9]/46,XX[1]

Продолжение таблицы 6

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
4	32, ж	МДС-ИБ2	46,XX, <b>inv(3)(q21q26)</b> [20]
5	42, м	МДС-ИБ2	46,XY, <b>inv(3)(q21q26)</b> [11]/45,idem,-Y[6]
6	48, м	МДС-ИБ2	46,XY, <b>inv(3)(q21q26)</b> [17]/45,idem,-7[3]
7	56, м	МДС-ИБ2	46,XY, <b>t(2;3)(p21;q26)</b> [15]
8	51, ж	МДС-ИБ1*	46,XX, <b>t(2;3)(p21;q26)</b> [18]/47,idem,+21[2]
9	40, ж	МДС-ИБ2	46,XX, <b>t(2;3)(p23;q26)</b> [20]
10	44, м	МДС-ИБ2	46,XY, <b>t(2;3)(q35;q26)</b> [20]
11	54, м	МДС-ИБ2	46,XY, <b>t(3;5)(q26;q34)</b> [15]/46,XY[5]
12	22, м	МДС-ИБ2*	47,XY, <b>t(3;21)(q26;q22)</b> ,+13[18]/46,XY[2]
13	37, ж	втМДС	ish.44,XX, <b>t(3;15)(q21;q13)</b> ,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]
14	36, ж	МДС-ИБ2	ish.46,XX, <b>t(3;15)(p22;q15)</b> ,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]
15	38, ж	втМДС*	ish.45-46,XX,der(1)t(1;19)(q11;?), <b>der(3)t(1;3)(q32;p25)</b> ,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)(?;q??),der(17)t(4;17)(q13;q23),der(19)t(1;19)(p21;p12)[24XCyte]
16	40, ж	МДС-ИБ2	ish.47,XX,der(1)t(1;13)(p3?4;q?), <b>der(3)t(1;3)(?;p21)</b> ,der(5)del(5)(p11)del(5)(q11),der(7)del(7)(p11)del(7)(q11),+8,der(13)t(5;13)(?;q12), <b>der(14)t(3;14)(?;q?)</b> ,der(17)t(5;17)(?;p11)[24XCyte]
17	51, м	МДС-КС	ish.43,XY,der(2)t(2;7)(q31;q?),-3,del(4)(p11), <b>der(5)t(3;5)(?;q22)</b> ,der(7)t(2;7)(q?;?),-12,inv(13)(p11q14),-15,der(15)t(15;18)(p11;?q21),der(16)t(15;16)(q21;p13), <b>der(17)t(4;12;3;17)</b> ,del(18)(q12)[24XCyte]
18	33, ж	МДС-ИБ2*	ish.48,XX, <b>der(3)t(3;9)(q11;?)</b> ,dic(7;16)(p11;p11),+del(9)(q11), <b>der(9)t(3;9;3;9)</b> ,-18,t(19;21)(?q11;p11),+21x2[24XCyte]
19	28, м	втМДС	ish.43,XY,-3,del(4)(q26),der(5)t(5;17)(q11;q11),-7,t(8;12)(q22;p11), <b>der(9)t(3;9)(q25;q22)</b> ,-17[24XCyte]

## Продолжение таблицы 6

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
20	10, ж	МДС-ИБ1*	ish.53-59,XX,+1,+del(1)(q12),+2,+der(2)t(X;2)(?;p24),+der(2)t(2;16)(q21;q24), <b>der(3)t(3;13)(q21;?)</b> ,del(5)(q13),+del(6)(q13),+6,+8,+der(10)del(10)(p11.2)del(10)(q21),der(12)t(12;20;12), <b>der(12)t(3;12;2)</b> ,+15,+18,+19,+der(20)t(10;20)(?;q?11),+der(20)t(5;20)(?;q?13),+21[24XCyte]
21	57, м	МДС-ИБ2*	ish.75-76<4n>,XY,-X,-Y,-2x2,- <b>3,der(3)t(3;14)(p11;q11)</b> ,-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]
22	60, ж	МДС-ИБ1*	ish.44,XX, <b>der(3)t(3;17)(p21;?)</b> ,-5,der(7)t(7;21;22),del(8)(p21),+der(8)t(5;8)(??;p21), <b>der(12)t(13;7;3;17;12)</b> ,del(13)(q14),der(17)del(17)(p11)del(17)(q22),der(19)t(19;20)(q13;??),del(20)(q11),-21,-22 [24XCyte]
23	57, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,dup(1)(q21q32), <b>del(3)(q21q27)</b> ,der(5)t(5;7)(q13;?),-7,del(12)(p11p12) [24XCyte]
24	54, м	втМДС	ish.47,X,-Y, <b>der(3)del(3)(p11)del(3)(q11)</b> ,dic(5;17)(q11;p11),del(12)(p11),del(13)(q12), <b>der(17)t(3;17)(?;p11)</b> ,+21,dup(21)(q21q22)x2,+22[24XCyte]
25	87,ж	МДС-ИБ1	ish.77<4n>,XX,der(X)t(21;X;21;12),der(1)t(14;20;1)x2, <b>ins(3;8)(?;?)</b> ,-5x2,-7x2,der(7)t(2;7)(?;p2?1),der(7)t(7;12)(p1?3;?),-8,der(10)t(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)t(7;1;14),-15x2,-16,del(16)(p?),der(17)t(X;1;18;11;17;X;8),-18x2,+19x2,del(19)(p13),der(19)del(19)(p12)del(19)(q12),der(19)t(12;19;12;19;11;19),der(19)t(19;11;19;11;19;5),der(20)t(14;20;14;X),-21,-22,der(22)t(7;11;7;12;22)[24XCyte]

Примечание: МДС-ИБ1 - миелодиспластический синдром с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 - то же с избытком бластов-2; МДС-МД - то же с мультилинейной дисплазией; МДС-КС - то же с кольцевыми сидеробластами; втМДС - вторичный МДС; \* - произошла трансформация в острый миелобластный лейкоз; **жирным шрифтом** выделены аномалии 3-й хромосомы; кариотипы сложных дериватов записаны без уточнения точек разрыва хромосом

Еще у 2 пациентов (№13,14) были отмечены сбалансированные транслокации – t(3;15) (рисунок 22, А, Б), но уже в составе сложного кариотипа, при этом локус 3q26 затронут не был.



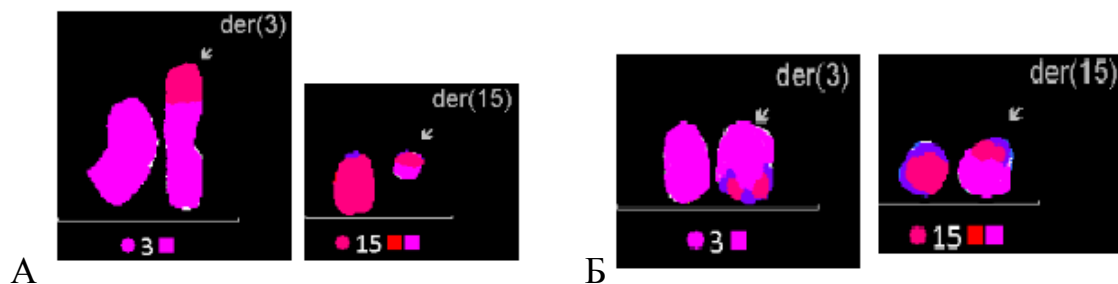


Рисунок 22 – Селективные кариограммы пациенток (А - №13, Б - №14) с МДС и СК, окрашенные с помощью mFISH

В наблюдениях (№15-22) транслокации с участием хромосомы 3 носили несбалансированный характер, при этом в кариотипе были обнаружены более двух дополнительных хромосомных аномалий. Так, у пациенток №15 и №16 были выявлены дериваты хромосомы 3, образованные в результате нерцепрокной транслокации  $t(1;3)$ , причем во втором случае материал хромосомы 3 также принимал участие в несбалансированной транслокации  $t(3;14)$ . В следующих наблюдениях (№17-22), помимо формирования простых дериватов с хромосомами 5 (№17), 9 (№18,19), 13 (№20), 14 (№21), 17 (№22), фрагменты 3-й пары хромосом были обнаружены в структуре сложных дериватных хромосом -  $der(17)t(4;12;3;17)$ ,  $der(9)t(3;9;3;9)$ ,  $der(12)t(3;12;2)$ ,  $der(12)t(13;7;3;17;12)$  у пациентов № 17, 18, 20 и 22 соответственно. Благодаря методу многоцветной FISH удалось достоверно определить материал 3-й хромосомы, вовлеченный в сложные aberrации (рисунок 23, А-Г), поскольку при проведении стандартного цитогенетического анализа четко идентифицировать принадлежность перестроенного хромосомного материала не всегда представлялось возможным.

Кроме того, у 2 пациентов аномалии 3-й хромосомы были представлены интерстициальной делецией 3q (№23) и терминальными делециями 3p и 3q в-сочетании с несбалансированной транслокацией  $t(3;17)$

(№24). В сложном кариотипе пациента №25 наблюдалась инсерция хромосомного материала 3-й пары в хромосому 8.

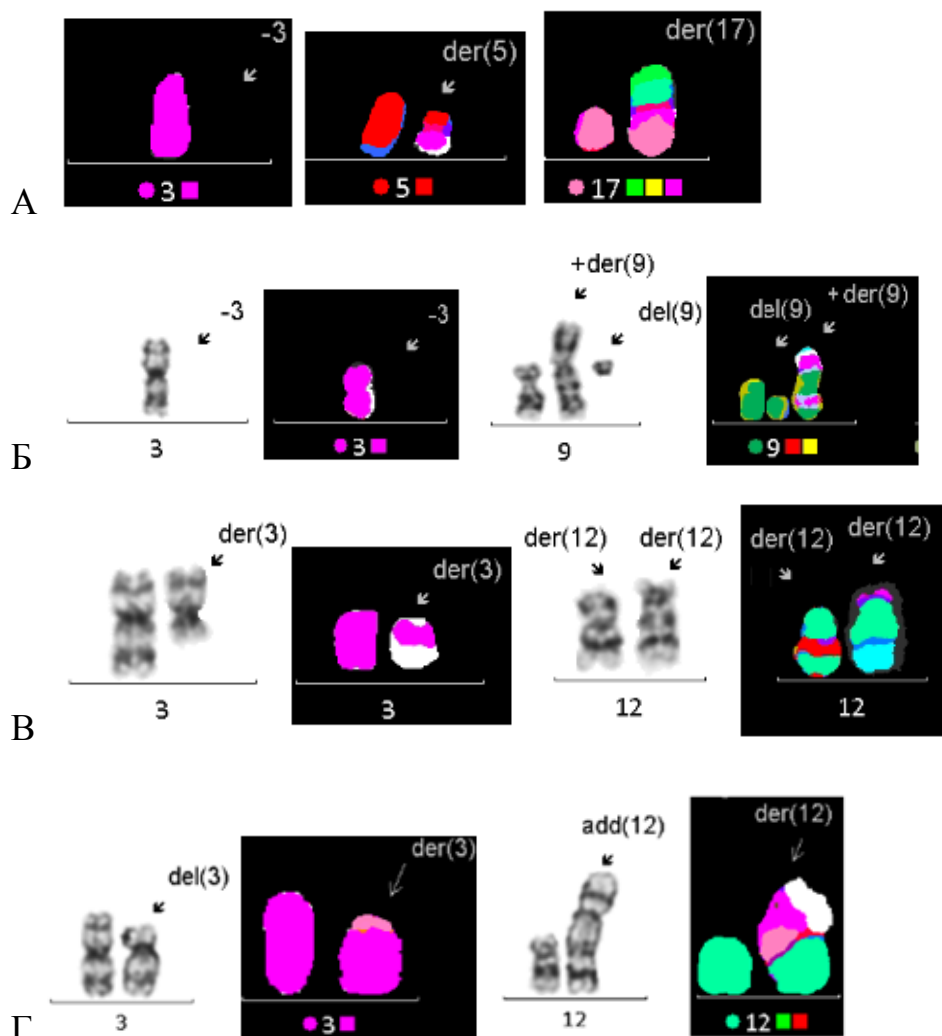


Рисунок 23 – Селективные кариограммы пациентов с МДС и СК, выполненные в технике G-бэндинга и mFISH, демонстрирующие вовлечение материала 3-й пары хромосом в формирование сложных дериватов в наблюдениях А - №17, Б - №18, В - №20, Г- №22

Таким образом, изолированные aberrации были отмечены у 8 (32 %) взрослых пациентов и включали классические инверсии и транслокации с участием локуса 3q26 и гена *MESOM*. У 4 (16 %) пациентов они сочетались с 1 ДХА: потерей Y-хромосомы (n=1), моносомией хромосомы 7 (n=1),

трисомией 13-й (n=1) и 21-й (n=1) хромосомной пары. У половины пациентов (n=13, 52 %) аномалии хромосомы 3 входили в состав СК. Следует отметить, что в СК классических транслокаций с участием локуса 3q26 не было зарегистрировано. Применение mFISH показало, что в большинстве наблюдений (n=11, 69 %) были выявлены несбалансированные транслокации, где неслучайным партнером в транслокациях 3-й хромосомы была хромосома 17 (n=4). На рисунке 24 представлены идиограммы хромосом 3 и 17, где цветные линии соединяют участвующие в транслокациях точки разрывов хромосом. Следует отметить, что из-за размера перестроенных участков хромосом точная идентификация вовлеченных локусов была затруднена.

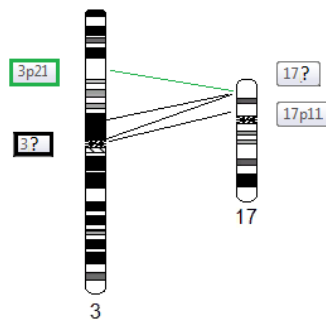


Рисунок 24 – Схематичное изображение хромосомных обменов между хромосомой 3 и хромосомой 17

При этом ни одного сложного деривата, образованного на основе 3-ей хромосомы, выявлено не было, хотя фрагменты её были отмечены в сложных дериватах, образованных на основе хромосом 9 (n=1), 12 (n=2) и 17 (n=1).

### 3.3.5. Особенности хромосомных изменений 12-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС

В группу МДС со структурными и численными нарушениями 12-й хромосомы было включено 17 больных (таблица 7). В данной группе

изолированных aberrаций 12-й хромосомы выявлено не было. У одного (6 %) взрослого пациента с МДС-ИБ2, возникшим de novo, была отмечена делеция 12p с 1 ДХА. При этом практически у всех больных (n=16, 94 %) aberrации 12-й хромосомы входили в состав СК, клинические характеристики которых будут рассмотрены в соответствующем разделе. Многоцветная FISH для окончательной идентификации перестроенных хромосом была осуществлена в дополнение к стандартному цитогенетическому исследованию у всех 16 больных (№2-17) со сложными кариотипами.

Таблица 7 – Основные клинические и лабораторные характеристики больных МДС с аномалиями хромосомы 12

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
1	61, ж	МДС-ИБ2	45,XX,-7, <b>del(12)(p11)</b> [6]/46,XX[5]
2	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)(?:q22),+der(5)t(5;8)(q11;p11),-7,i(8)(q10)x1-2, <b>del(12)(p11)</b> ,+19,t(20;22)(q11;p11)[24XCyte]
3	54, м	вМДС	ish.47,X,-Y,der(3)del(3)(p11)del(3)(q11),dic(5;17)(q11;p11), <b>del(12)(p11)</b> ,del(13)(q12),der(17)t(3;17)(?:p11),+21,dup(21)(q21q22)x2,+22[24XCyte]
4	57, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,dup(1)(q21q32),del(3)(q21q27),der(5)t(5;7)(q13;?),-7, <b>del(12)(p11p12)</b> [24XCyte]
5	50, ж	МДС-ИБ1*	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), <b>del(12)(p13)</b> , <b>der(12)t(14;4;12)</b> ,ins(14;7)(q11;??),-18[24XCyte]
6	57, м	МДС-ИБ2*	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]
7	51, м	МДС-КС	ish.43,XY,der(2)t(2;7)(q31;q?),-3,del(4)(p11),der(5)t(3;5)(?:q22),der(7)t(2;7)(q?:?),-12,inv(13)(p11q14),-15,der(15)t(15;18)(p11;?q21),der(16)t(15;16)(q21;p13), <b>der(17)t(4;12;3;17)</b> ,del(18)(q12)[24XCyte]

## Продолжение таблицы 7

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
8	87, ж	МДС-ИБ1	ish.77<4n>,XX, <b>der(X)t(21;X;21;12)</b> ,der(1)t(14;20;1)x2,ins(3;8)(?;?),-5x2,-7x2,der(7)t(2;7)(?;p2?1), <b>der(7)t(7;12)(p1?3;?)</b> ,-8,der(10)t(18;X;10),-11x2,- <b>12x2</b> ,der(13)t(13;22)(p10;p10),i(13)(q10),-14x2,der(14)t(13;14)(q24;14),der(14)t(7;1;14),-15x2,-16,del(16)(p?),der(17)t(X;1;18;11;17;X;8),-18x2,+19x2,del(19)(p13),der(19)del(19)(p12)del(19)(q12), <b>der(19)t(12;19;12;19;11;19)</b> ,der(19)t(19;11;19;11;19;5),der(20)t(14;20;14;X),-21,-22, <b>der(22)t(7;11;7;12;22)</b> [24XCyte]
9	37, ж	вТМДС	ish.44,XX,t(3;15)(q21;q13),del(4)(q31), <b>der(5)t(5;12)(q11;q11)</b> ,-7,t(8;20)(q24;q11),der(10)t(7;10)(p14;p14),+del(11)(q23),- <b>12</b> ,t(13;18)(q33;p11),-16,i(21)(q10)[24XCyte]
10	36, ж	МДС-ИБ2	ish.46,XX,t(3;15)(p22;q15), <b>der(5)t(5;12)(p11;q13)del(5)(q13q33)</b> ,der(8)t(1;8)(q21;p11), <b>der(12)t(5;12)(?;q13)</b> ,der(19)t(1;19)(q21;p13),der(22)t(1;22)(q21;p12)[24XCyte]
11	56, м	МДС-ИБ1*	ish.47,X,-Y, <b>der(5)t(5;12)(q31;q2?4)</b> ,-7,+8,i(8)(q10), <b>der(12)t(12;5;7)</b> ,dic(13;19)(p11;p13)del(13)(q?),+der(13)t(13;16)(p?:?),-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]
12	38, ж	вТМДС*	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)(?;?), <b>der(12)t(7;12)(?;p11)</b> ,ins(7;15)(?;q??),der(17)t(4;17)(q13;q23),der(19)t(1;19)(p21;p12)[24XCyte]
13	36, ж	МДС-ИБ2*	ish.46,XX,der(5)t(5;7;5;7),-7, <b>der(12)t(12;13)(p13;q?)</b> ,del(13)(q11),+r(13)[24XCyte]
14	60, ж	МДС-ИБ1*	44,XX,der(3)t(3;17)(p21;??),-5,der(7)t(7;21;22),del(8)(p21),+der(8)t(5;8)(??;p21), <b>der(12)t(13;7;3;17;12)</b> ,del(13)(q14),der(17)del(17)(p11)del(17)(q22),der(19)t(19;20)(q13;??),del(20)(q11),-21,-22 [24XCyte]
15	10, ж	МДС-ИБ1*	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), <b>der(12)t(12;20;12)</b> , <b>der(12)t(3;12;2)</b> ,+15,+18,+19,+der(20)t(10;20)(?;q?11),+der(20)t(5;20)(?;q?13),+21[cp5][24XCyte]

## Продолжение таблицы 7

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
16	22, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,t(1;12)(p36;p13),der(2)t(2;11)(q35;?),der(4)t(7;8;4),der(5)t(5;8)(q13;q22),-7,der(8)t(8;7;8;4)x2,der(8)t(8;7;8;7;8;4),der(8)t(5;8)(q?q22), <b>der(8)t(12;8;7),der(13)t(13;8;12)</b> [cp10] [24XСyte]
17	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 [24XСyte]

Примечание: МДС-ИБ1 - миелодиспластический синдром с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 - то же с избытком бластов-2; МДС-КС - то же с кольцевыми сидеробластами; втМДС - вторичный МДС; \* - произошла трансформация в острый миелобластный лейкоз; **жирным шрифтом** выделены аномалии 12-й хромосомы; кариотипы сложных дериватов записаны без уточнения точек разрыва хромосом

Данные, представленные в таблице 7, показывают, что большинство аномалий хромосомы 12 (16/17) входили в состав комплексного кариотипа (№2-17). Так, делеции 12-й хромосомы были выявлены в 29 % наблюдений (№1-5), при этом у пациента №1 делеция сочеталась с моносомией 7-й хромосомы, формируя моносомный кариотип у данного пациента. В наблюдениях №2-4 делеция 12p была единственной абберацией 12-й хромосомы, в то время как в наблюдении №5 помимо делеции 12p была выявлена также несбалансированная транслокация с образованием сложного деривата на основе хромосомы 12 - der(12)t(14;4;12). Стоит отметить, что во всех пяти наблюдениях делеции подвергалось короткое плечо 12-й хромосомы, а именно локусы 12p11 (№1-3), 12p11-12 (№4) и 12p13 (№5) (рисунок 25 А, Б и В, соответственно).

Моносомия хромосомы 12 была выявлена у пациентов №6-9, причем у пациента №6 это был истинно моносомный кариотип, в то время как в кариотипе остальных пациентов (№7-9) были обнаружены дополнительные абберации хромосомы 12, а именно ее вовлечение в несбалансированные транслокации.

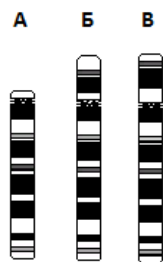


Рисунок 25 – Схематичное изображение различных вариантов делеции 12-й хромосомы у пациентов с МДС: А - del(12)(p11); Б - del(12)(p11p12); В - del(12)(p13)

При этом в наблюдениях №7 и 8 материал хромосомы 12 принимал участие в формировании сложных дериватов, состоящих из 3 и более хромосом. Так, у пациента №7 был выявлен дериват der(17)t(4;12;3;17), а у пациента №8 – три сложных деривата с участием хромосомы 12 - der(X)t(21;X;21;12), der(19)t(12;19;12;19;11;19), der(22)t(7;11;7;12;22) и один простой - der(7)t(7;12)(p1?3;?) (рисунок 26). Сложность и характер хромосомных изменений в данных наблюдениях может указывать на роль хромотрипсиса в формировании дериватов.

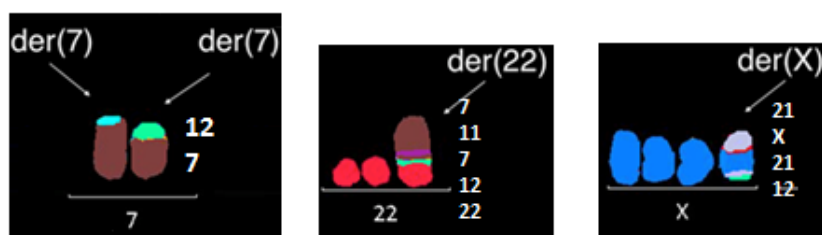


Рисунок 26 – Селективные кариограммы пациента №8 с МДС, которые демонстрируют выявленное с помощью метода mFISH вовлечение в хромосомные aberrации материала 12-й хромосомы

В наблюдениях №9-11 партнером 12-й хромосомы в несбалансированных транслокациях была хромосома 5, причем в двух наблюдениях фрагмент 12-й хромосомы был обнаружен на делетированном

q-плече хромосомы 5, а в третьем наблюдении (№10) фрагмент хромосомы 12 присоединился к короткому плечу 5-й хромосомы, в то время как делетированный участок 5q остался интактным. При этом в одном из вышеупомянутых наблюдений (№11) на основе хромосомы 12 также был образован сложный дериват  $der(12)t(12;5;7)$ . Нерцепрокные транслокации в следующих наблюдениях (№12-15) формировали производные на основе хромосомы 12. Так были обнаружены простые дериваты с хромосомами 7 и 13 у пациентов №12 и №13, соответственно, и сложные дериваты -  $der(12)t(13;7;3;17;12)$  у пациента № 14,  $der(12)t(12;20;12)$  и  $der(12)t(3;12;2)$  у пациента №15. Сбалансированные транслокации с участием хромосомы 12 встречались значительно реже (2/17). У пациента №16 была выявлена реципрокная транслокация  $t(1;12)$ . Помимо этого, фрагменты хромосомы 12 были обнаружены в составе сложных дериватов  $der(8)t(12;8;7)$  и  $der(13)t(13;8;12)$ . Во втором наблюдении (№17) хромосома 12 принимала участие в сбалансированной транслокации с хромосомой 8.

Таким образом, в группе МДС с аномалиями 12-й хромосомы изолированная aberrация хромосомы 12 не была зарегистрирована ни в одном наблюдении, при этом у 1 (6 %) пациента была выявлена делеция 12 хромосомы с 1 ДХА, представленной моносомией 7-й хромосомы. В то время как у большинства больных (n=16, 94 %) аномалии хромосомы 12 входили в состав сложного кариотипа, для точного понимания которого потребовалось проведение многоцветной FISH. Среди аномалий 12-й хромосомы в составе СК делеция 12p была зарегистрирована в 4 (25 %) наблюдениях, а истинная моносомия 12-й хромосомы была выявлена у 1 (6%). В то же время, у большинства пациентов с СК (n=11, 69 %) aberrации хромосомы 12 были представлены несбалансированными транслокациями с участием хромосом 1-5, 7, 8, 13, 17, 19 и 20-22. При этом случайными партнерами в транслокациях были хромосомы 5 и 7 (n=3 для каждой). На



рисунке 27 представлены идиограммы хромосом 5, 7 и 12, где цветные линии соединяют участвующие в транслокациях точки разрывов хромосом.

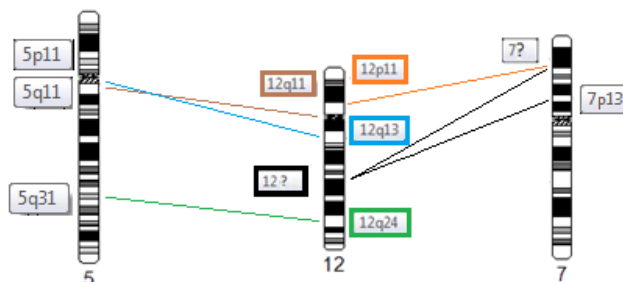


Рисунок 27 – Схематичное изображение хромосомных обменов между хромосомой 12 и хромосомами - партнерами 5 и 7

В несбалансированных транслокациях участвовали хромосомные сегменты 12p11(n=1), 12q11(n=1), 12q13(n=1) и 12q24(n=1), при этом в двух наблюдениях точки разрыва установить не удалось. Следует отметить, что хромосома 12 часто принимала участие в формировании сложных дериватов (n=7), причём как в качестве реципиента хромосомного материала (n=4), так и его донора (n=3).

### 3.3.6. Особенности хромосомных изменений 13-й хромосомы и их связь с клинической характеристикой больных МДС

В группу МДС со структурными и численными нарушениями 13-й хромосомы было включено 19 больных (таблица 8). Изолированная абберация 13-й хромосомы была отмечена у 1 (5 %) взрослого пациента. У 3 (16 %) пациентов она сочеталась с 1 ДХА: реципрокной транслокацией t(3;21) у 1 взрослого пациента и моносомией 7 у 2-х пациентов детского возраста. У всех 4 пациентов был установлен диагноз de novo МДС с морфологическими вариантами МДС-ИБ1 (n=1), МДС-ЛД (n=2), МДС-МД (n=1).

Таблица 8 – Основные клинические и лабораторные характеристики больных МДС с аномалиями хромосомы 13

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
1	55, ж	МДС-МД	46,XX, <b>del(13)(q12q14)</b> [5]/46,XX[15]
2	2, ж	МДС-ЛД	44,XX,-7, <b>rob(13;14)(q10;q10)</b> [20]
3	7, ж	МДС-ЛД	44,XX,-7, <b>rob(13;14)(q10;q10)</b> [20]
4	22, м	МДС-ИБ2	47,XY,t(3;21)(q26;q22),+13[18]/46,XY[2]
5	36, ж	МДС-ИБ2*	ish.46,XX,der(5)t(5;7;5;7),-7, <b>der(12)t(12;13)(p13;q?), del(13)(q11),+r(13)</b> [24XCyte]
6	54, м	вТМДС	ish.47,X,-Y,der(3)del(3)(p11)del(3)(q11),dic(5;17)(q11;p11),del(12)(p11), <b>del(13)(q12)</b> ,der(17)t(3;17)(?;p11),+21,dup(21)(q21q22)x2,+22[24XCyte]
7	55, ж	МДС-ИБ2	ish.46-48,XX,der(5)t(5;7)(q11;q?),-7, <b>del(13)(q12q22)</b> ,t(18;20)(q11;q11),+18,+19,+21[24XCyte]
8	60, ж	МДС-ИБ1*	45,XX,-4,del(5)(q13q33),der(7)t(7;11)(q11;??),der(8)t(8;10)(q21;q?), <b>del(13)(q12q22)</b> ,der(18)t(4;18)(?;q11),-20,der(21)t(20;21)(?;p?),der(22)t(20;22)(?;q13),del(22)(q11),+22[24XCyte]
9	60, ж	МДС-ИБ1*	44,XX,der(3)t(3;17)(p21;??),-5,der(7)t(7;21;22),del(8)(p21),+der(8)t(5;8)(?;p21), <b>der(12)t(13;7;3;17;12)</b> , <b>del(13)(q14)</b> ,der(17)del(17)(p11)del(17)(q22),der(19)t(19;20)(q13;??),del(20)(q11),-21,-22 [24XCyte]
10	56, м	МДС-ИБ1*	ish.47,X,-Y,der(5)t(5;12)(q31;q2?4),-7,+8,i(8)(q10),der(12)t(12;5;7), <b>dic(13;19)(p11;p13)del(13)(q?),+der(13)t(13;16)(p?;?)</b> , -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]
11	10, ж	МДС-ИБ1*	ish.53-59,XX,+1,+del(1)(q12),+2,+der(2)t(X;2)(?;p24),+der(2)t(2;16)(q21;q24), <b>der(3)t(3;13)(q21;?)</b> , del(5)(q13),+del(6)(q13),+6,+8,+der(10)del(10)(p11.2)del(10)(q21),der(12)t(12;20;12),der(12)t(3;12;2),+15,+18,+19,+der(20)t(10;20)(?;q?11),+der(20)t(5;20)(?;q?13),+21[cp5][24XCyte]
12	46, м	МДС-ИБ1*	ish.43,XY, <b>der(5)t(5;13)(p10;q10)</b> ,-7,-13,-16,der(17)t(16;17)(p1?;p11), <b>der(21)t(13;21)(q14;p11)</b> [24XCyte]
13	40, ж	МДС-ИБ2	ish.47,XX, <b>der(1)t(1;13)(p3?4;q?)</b> ,der(3)t(1;3)(?;p21),der(5)del(5)(p11)del(5)(q11),der(7)del(7)(p?)del(7)(q?),+8, <b>der(13)t(5;13)(?;q12)</b> ,der(14)t(3;14)(?;q?),der(17)t(5;17)(?;p11)[24XCyte]
14	74, ж	МДС-ИБ1	ish.45,XX, <b>der(1)t(13;1;13;1)</b> ,der(4)t(4;7)(?p15;p12),del(5)(q22q35), -7, <b>der(13)t(13;7;13;4)</b> [24XCyte]

Продолжение таблицы 8

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
15	87, ж	МДС-ИБ1	ish.77<4n>,XX,der(X)t(21;X;21;12),der(1)t(14;20;1)x2,ins(3;8)(?;??),-5x2,-7x2,der(7)t(2;7)(?;p2?1), der(7)t(7;12)(p1?3;?),-8,der(10)t(18;X;10),-11x2,-12x2, <b>der(13)t(13;22)(p10;p10), i(13)(q10)</b> , -14x2, <b>der(14)t(13;14)(q24;14)</b> , der(14)t(7;1;14),-15x2,-16,del(16)(p?), der(17)t(X;1;18;11;17;X;8),-18x2,+19x2,del(19)(p13),der(19)del(19)(p12)del(19)(q12),der(19)t(12;19;12;19;11;19), der(19)t(19;11;19;11;19;5),der(20)t(14;20;14;X),-21,-22,der(22)t(7;11;7;12;22)[24XCyte]
16	22, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,t(1;12)(p36;p13),der(2)t(2;11)(q35;?),der(4)t(7;8;4),der(5)t(5;8)(q13;q22),-7,der(8)t(8;7;8;4)x2,der(8)t(8;7;8;7;8;4),der(8)t(5;8)(q?;q22),der(8)t(12;8;7), <b>der(13)t(13;8;12)</b> [cp10][24XCyte]
17	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, <b>t(13;18)(q33;p11)</b> , -16,i(21)(q10)[24XCyte]
18	51, м	МДС-КС	ish.43,XY,der(2)t(2;7)(q31;q?),-3,del(4)(p11),der(5)t(3;5)(?;q22),der(7)t(2;7)(q?;?),-12, <b>inv(13)(p11q14)</b> , -15,der(15)t(15;18)(p11;?q21), der(16)t(15;16)(q21;p13),der(17)t(4;12;3;17),del(18)(q12)[24XCyte]
19	50, ж	МДС-ИБ1*	ish.44,XX,der(2)t(2;10)(q37;?),del(5)(q13q33),der(5)t(5;18)(p11;q21),+der(5)t(4;5)(?;?), <b>der(6)dup(6)(p21p22)t(6;13)(p22;?)</b> , -7,der(10)t(4;10)(q?p13),del(12)(p13),der(12)t(14;4;12),ins(14;7)(q11;??),-18[24XCyte]

Примечание: МДС-ИБ1 - миелодиспластический синдром с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 - то же с избытком бластов-2; МДС-ЛД - то же с однолинейной дисплазией; МДС-МД - то же с мультилинейной дисплазией; МДС-КС - то же с кольцевыми сидеробластами; втМДС - вторичный МДС; ОМЛм \* - произошла трансформация в острый миелобластный лейкоз; **жирным шрифтом** выделены аномалии 13-й хромосомы; кариотипы сложных дериватов записаны без уточнения точек разрыва хромосом

У большинства больных (n=15, 79 %) аномалии хромосомы 13 входили в состав СК, клинические характеристики которых будут рассмотрены в соответствующем разделе. Многоцветная FISH проведена во всех наблюдениях со сложным кариотипом (№5-19).

Данные таблицы 8 показывают, что в группе пациентов с МДС в одном наблюдении была выявлена изолированная делеция 13q, в трех наблюдениях

абберрации хромосомы 13 сочетались с 1 дополнительной перестройкой кариотипа, а в остальных наблюдениях – с 2 и более дополнительными хромосомными аномалиями, формируя сложный кариотип. Так, среди наших наблюдений присутствовал семейный случай МДС (№2 и №3), при котором оба ребенка унаследовали от матери Робертсоновскую транслокацию с участием хромосом 13 и 14. Симптомы МДС у данных пациенток проявились в раннем возрасте, при цитогенетическом анализе дополнительно к транслокации  $t(13;14)$  в кариотипе обеих была обнаружена моносомия 7-й хромосомы. У другого пациента (№4) сбалансированную транслокацию  $t(3;21)$  дополняла трисомия по хромосоме 13. В кариотипе больных №1, 5-10 имела место делеция 13 хромосомы, причем у больных №6-8 она была единственной перестройкой 13-й пары хромосом и затрагивала локусы 13q12 (№6) и 13q12-13q22 (№7,8), а у пациента №1 – единственной аномалией кариотипа с потерей локусов 13q12-13q14. В то время как у пациентов №5,9,10 были выявлены множественные перестройки 13-й пары хромосом. Так, у пациента №5 кроме терминальной делеции 13q11, была выявлена также несбалансированная транслокация  $t(12;13)$  и кольцевая хромосома 13. В наблюдении №9 одна хромосома из 13-й пары подверглась терминальной делеции, в то время как вторая участвовала в формировании сложного деривата на основе хромосомы 12 -  $der(12)t(13;7;3;17;12)$ . Делеция 13-й хромосомы в следующем наблюдении (№10) была сопряжена с образованием дицентрической хромосомы  $dic(13;19)$ , а также сочеталась с несбалансированной транслокацией  $t(13;16)$ .

Нереципрокные транслокации были самой частой аномалией хромосомы 13, они были выявлены в наблюдениях №5, 9-16, причем в большинстве из них обнаруженные методом стандартной цитогенетики аномалии подверглись корректировке после выполнения mFISH. У пациента №11 была определена несбалансированная транслокация с хромосомой 3, а у пациентов №12 и 13 – с хромосомой 5. При этом, в наблюдении №12

присутствовала также моносомия хромосомы 13, а фрагмент 13-й пары участвовал в несбалансированной транслокации с хромосомой 21. В наблюдении №13, помимо  $der(13)t(5;13)$  была обнаружена также несбалансированная транслокация с хромосомой 1. Более сложный вариант несбалансированной транслокации с 1-й хромосомой был обнаружен в кариотипе пожилой больной №14. В нем было выявлено чередования фрагментов хромосом 1 и 13 с образованием  $der(1)t(13;1;13;1)$  (рисунок 28, А). Кроме того, кариотип данной пациентки содержал еще один сложный дериват, образованный на основе хромосомы 13 -  $der(13)t(13;7;13;4)$  (рисунок 28, Б). Стоит отметить, что при проведении стандартной цитогенетики вышеупомянутые дериваты не были определены и были приняты за трипликацию хромосомы 1 и дополнительный хромосомный материал на хромосоме 13, соответственно. Только после проведения многоцветной FISH удалось точно описать сложные хромосомные изменения у пациента №14.

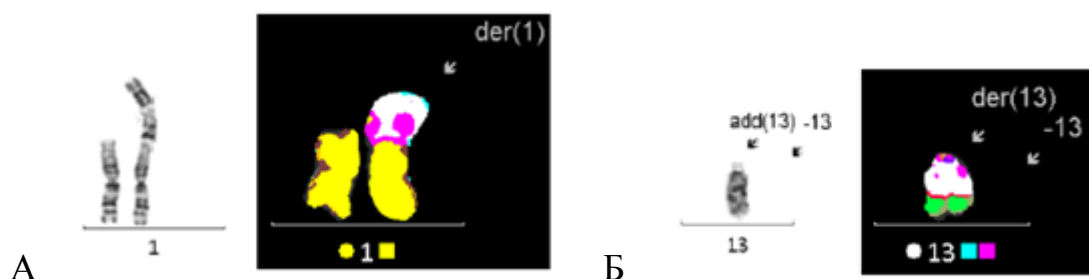


Рисунок 28 – Селективные кариограммы пациента №14 с МДС, которые демонстрируют выявленное с помощью метода mFISH вовлечение в хромосомные aberrации материала 13-й хромосомы: А-  $der(1)t(13;1;13;1)$ ; Б-  $der(13)t(13;7;13;4)$

В кариотипе самой возрастной пациентки №15 были выявлены несбалансированные транслокации на основе хромосомы 13 –  $t(13;22)$  и хромосомы 14 –  $t(13;14)$ , а также изохромосома 13. У пациентки №16 был обнаружен сложный дериват на основе хромосомы 13 -  $der(13)t(13;8;12)$ , хромосомы-участники данной несбалансированной транслокации были

определены также с помощью mFISH. Кариотип пациента №17 включал несколько реципрокных транслокаций, реже встречающихся при МДС, в том числе транслокацию с вовлечением хромосомы 13 - t(13;18). В наблюдении №18 была выявлена инверсия хромосомы 13, а aberrация в наблюдении №19 была еще сложнее – на основе хромосомы 6 был образован дериват, вследствие транслокации t(6;13) и дупликации материала р-плеча 6-й хромосомы.

Таким образом, среди пациентов с МДС с аномалиями 13-й хромосомы только в одном (5 %) наблюдении была выявлена изолированная aberrация хромосомы 13, в то время как в трех (16 %) наблюдениях аномалии 13-й хромосомы сочетались с одной ДХА: реципрокной транслокацией t(3;21) у 1 взрослого пациента и моносомией 7 у 2-х пациентов детского возраста. При этом в большинстве наблюдений (n=15, 79 %) аномалии хромосомы 13 входили в состав сложного кариотипа, для точной идентификации которых была применена техника mFISH. Результаты mFISH показали, что в составе СК у 5 (33 %) пациентов была зарегистрирована делеция хромосомы 13, где чаще встречалось удаление сегментов 13q12-13q22 (n=2), реже утрачивались сегменты 13q12-13q14 (n=1), 13q11 (n=1) и 13q14 (n=1) (рисунок 29).

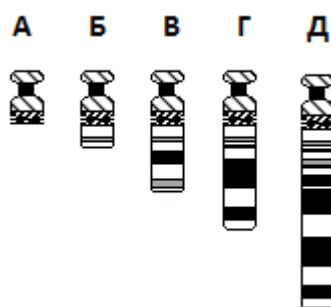


Рисунок 29 – Схематическое изображение различных вариантов делеции 13-й хромосомы у пациентов с МДС: А – del(13)(q11); Б – del(13)(q12); В – del(13)(q14); Г – del(13)(q12q22); Д – del(13)(q12q14)

В то же время более половины aberrаций 13-й хромосомы в СК (n=9, 60 % пациентов) представляли собой несбалансированные транслокации с участием хромосом 1, 3-5, 7, 8, 12, 14, 16, 19, 21 и 22, где самыми частыми партнерами в этих транслокациях были 1-я, 5-я и 7-я хромосомы (n=2 для каждой, рисунок 30). Следует заметить, что материал 13-й хромосомы активно принимал участие в формировании сложно-перестроенных дериватных и маркерных хромосом (n=4).

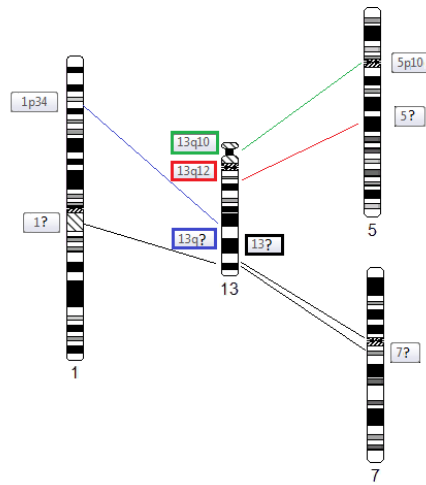


Рисунок 30 – Схематичное изображение хромосомных обменов между хромосомой 13 и хромосомами - партнерами 1, 5 и 7

Все выявленные цитогенетические аномалии хромосом 3, 5, 7, 8, 12 и 13 отображены в таблице 9. Изолированные аномалии хромосом 3, 5 и 12 были выявлены только у взрослых пациентов, в то время как изолированные aberrации хромосом 7, 8 и 13 были зарегистрированы как у детей, так и у взрослых. Самой частой ХА в детском возрасте по нашим наблюдениям стала моносомия хромосомы 7 (n=10, 71 %) как в изолированном варианте (n=4, 40 %), так и с 1 ДХА (n=6, 60 %). Частота вовлеченности хромосом в изолированные перестройки и в состав СК была разная. Так, ХА 7-й хромосомы (n=16, 34 %) были чаще изолированными нарушениями по сравнению с aberrациями 12-й (n=0, 0 %) p=0,003 и 13-й (n=1, 5 %) p=0,015 хромосомных пар. В то же время, aberrации 12-й хромосомы (n=16, 94 %)

чаще регистрировались в составе СК по сравнению с ХА 3-й (n=13, 52 %)  $p=0,004$ , 8-й (n=14, 67 %)  $p=0,04$  и 7-й (n=23, 49 %) хромосомных пар  $p=0,002$ .

Таблица 9 – Структура аномалий хромосом 3, 5, 7, 8, 12 и 13 пары у пациентов с МДС

Хромосомные аберрации	Хромосомы						
	3 (n=25)	5 (n=30)	7 (n=47)	8 (n=21)	12 (n=17)	13 (n=19)	p
Изолированная ХА, n (%)	8 (32 %)	4 (13 %)	16 (34 %)	6 (29 %)	0 (0 %)	1 (5 %)	<b>&lt;0,01</b>
Изолированная ХА + 1 ДХА, n (%)	4 (16 %)	1 (3 %)	8 (17 %)	1 (4 %)	1 (6 %)	3 (16 %)	>0,05
ХА в составе СК, n (%)	13 (52 %)	25 (84 %)	23 (49 %)	14 (67 %)	16 (94 %)	15 (79 %)	<b>&lt;0,01</b>
В том числе в составе СК:							
Делеция, n (%)	2 (15 %)	5 (20 %)	5 (22 %)	0 (0 %)	4 (25 %)	5 (33 %)	>0,05
Истинная моносомия, n (%)	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (13 %)	0 (0 %)	1 (6 %)	0 (0 %)	>0,05
Трисомия, n (%)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	6 (43 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	<b>&lt;0,01</b>
Несбалансированная транслокация, n (%)	9 (69 %)	21 (84 %)	19 (83 %)	8 (57 %)	11 (69 %)	9 (60 %)	>0,05
Реципрокная транслокация, n (%)	2 (15 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	1 (7 %)	>0,05
Изохромосома, n (%)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (14 %)	0 (0 %)	1 (7 %)	>0,05
Основные хромосомы - партнеры в СХА	17	7, 8, 12, 17	2, 5, 12	5, 12	5, 7	1, 5, 7	

Примечание: ХА – хромосомные аномалии, СК – сложный кариотип, СХА – сложные хромосомные аберрации



### 3.3.7. Обобщенные результаты анализа СК с применением метода mFISH с углубленным изучением сложноперестроенных дериватных и маркерных хромосом

Группу больных МДС со сложным кариотипом составили 35/130 (27 %) пациентов с МДС, где преобладали взрослые пациенты (n=33, 94 %) с *de novo* МДС (n=28, 80 %). В этой группе преобладали такие морфологические варианты как МДС-ИБ1 (n=11, 31 %) и МДС-ИБ2 (n=14, 40 %), реже были зарегистрированы МДС-МД (n=2, 6 %) и МДС-КС (n=1, 3 %). У пациентов со СК диагноз вторичного МДС был установлен чаще, по сравнению с общей группой пациентов с изолированными ХА 3, 5, 7, 8, 12, 13 хромосомных пар, где преобладали варианты *de novo* МДС (n=7/35 (20 %) vs n=1/53 (1,9 %), p=0,004). Кроме того, у пациентов со СК трансформация в ОМЛм была отмечена чаще по сравнению с группой пациентов с изолированными аберрациями хромосом 3, 5, 7, 8, 12, 13 (n=15/35 (42,9 %) vs. n=4/53 (8,7%) p<0,001). Алло-ТГСК в качестве метода лечения применяли у 15 пациентов (43 %).

Для точной идентификации хромосом всем пациентам с доступным для исследования материалом (n=27, 77 %) с МДС/ОМЛм и сложным кариотипом в дополнение к СЦИ была выполнена mFISH. Был произведен подсчет всех типов хромосомных аномалий, доказанных с помощью mFISH, результаты представлены в таблице 10.

В формировании СК у больных МДС принимали участие все хромосомы, хотя частота их вовлеченности различалась. Чаще других участником СХА была 5-я хромосома (n=25, 93 %). За ней, по мере снижения частоты встречаемости, следовали хромосомы 7 (n=23, 85 %), 12 (n=16, 59 %), 13 (n=15, 56 %), 8 (n=14, 52 %) и 3 (n=13, 48 %). Кроме того, у 21/27 (78 %) больного со СК имело место сочетанное повреждение хромосом 5 и 7, причём у 12 (44 %) пациентов оно было ассоциировано с перестройками 8-й

хромосомы. В то же время ожидаемо высокой частоты встречаемости делеций 5q и 7q, также как моносомии 7 и трисомии 8 в составе СК установлено не было.

Таблица 10 – Характер изменений хромосом в составе сложных кариотипов (n=27) в костном мозге больных МДС, установленных с помощью многоцветной FISH

№ хромосом	Кол-во наблюдений, n (%)	Всего перестроек, n	Транслокации		Делеции, n (%)	Трисомии, n (%)	Моносомии, n (%)	Другие нарушения, n (%)
			Несбалансированные, n (%)	Сбалансированные, n (%)				
1	10	18	14	1	1	1		dup(1)-1
2	8	17	13		1	2		dup(2)-1
<b>3</b>	<b>13 (48)</b>	<b>19</b>	<b>14 (74)</b>	<b>2</b>	<b>2</b>			<b>ins(3;8)-1</b>
4	12	20	12		5	1	1	r(4)-1
<b>5</b>	<b>25 (93)</b>	<b>34</b>	<b>27 (79)</b>		<b>5 (15)</b>	<b>1 (3)</b>		dic(5;17)-1 (3)
6	2	4	1		1	1		dup(6)-1
<b>7</b>	<b>23 (85)</b>	<b>33</b>	<b>24 (73)</b>		<b>3 (9)</b>		<b>3 (9)</b>	dic(7;16)-1, ins(14;7)-1, ins(7;15)-1 (9)
<b>8</b>	<b>14 (52)</b>	<b>25</b>	<b>13 (52)</b>	<b>2 (8)</b>	<b>1 (4)</b>	<b>6 (24)</b>		i(8)-2, ins(3;8)-1 (12)
9	5	12	4		2	3	1	i(9)-1, r(9)-1
10	8	12	7		1	2	1	r(10)-1
11	8	12	9		1	2		
<b>12</b>	<b>16 (59)</b>	25	18	2	4		1	
<b>13</b>	<b>15 (56)</b>	26	14 (54)	1	5	2		r(13)-1, inv(13)-1, dic(13;19)-1, i(13)-1
14	6	10	7		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

Продолжение таблицы 10

№ хромосом	Кол-во наблюдений, n (%)	Всего перестроек, n	Транслокации		Делеции, n (%)	Трисомии, n (%)	Моносомии, n (%)	Другие нарушения, n (%)
			Несбалансированные, n (%)	Сбалансированные, n (%)				
17	10	15	11		2		1	dic(5;17)-1
18	11	16	9	2	2	2	1	
19	11	19	8	1	3	5		qdp(19)-1, dic(13;19)-1
20	11	18	10	3	2	1	2	
21	12	18	8	1		7		i(21)-1, dup(21)-1
22	10	13	8	1	1	2	1	
X	3	6	5				1	
Y	3	3					3	

Примечание: **жирным шрифтом** выделены хромосомы, наиболее часто вовлекаемые в aberrации (**3,5,7,8,12,13**)

К примеру, самая частая хромосомная aberrация при МДС – делеция 5q – у больных со СК определялась у 5/27 (19 %), делеция 7q и моносомия 7 – у 5/27 (19 %) и 3/27 (11 %), соответственно, а трисомия 8-й хромосомы – у 6/27 (22 %) больных. В свою очередь, несбалансированные транслокации с участием этих хромосом были преобладающими нарушениями генома и наблюдались у 21/27 (78 %), 19/27 (70 %) и 8/27 (30 %), соответственно. При этом большая часть (n=5, 55 %) делеций длинного плеча 5-й хромосомы скрывалась в несбалансированных транслокациях (рисунок 7).

При первичном анализе СК с помощью СЦИ были выявлены 68 моносомий различных хромосом у 22/27 (81 %) пациентов, в том числе моносомии 5 и 7 у 13/27 (48 %) и 15/27 (56 %) пациентов, соответственно. Однако только 6/68 (9 %) моносомий были подтверждены методом mFISH у 6/22 (27 %) пациентов, в том числе моносомия 7 у 3/15 (20 %) пациентов.

Остальные моносомии, включая все моносомии 5-й хромосомы, оказались ложными.

Следует отметить, что сбалансированных транслокаций в составе СК от 27 пациентов было всего 8, здесь речь идёт 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). По нашим данным, делеции были более свойственны 5-й, 7-й, 12-й и 13-й хромосомам, а трисомии – хромосомам 8-й, 19-й и 21-й пар.

В большинстве наблюдений (n=16/22, 73 %) разновеликие фрагменты отсутствующих хромосом, окрашенных в технике mFISH, были обнаружены в числе маркерных и/или дериватных хромосом. Анализ состава всех несбалансированных транслокаций (n=103) показал, что некоторые хромосомы вступали во взаимодействие друг с другом намного чаще, чем другие. В частности, самыми распространенными партнерами в несбалансированных транслокациях были хромосомы 2 и 7 (n=5); 5 и 7, 5 и 8, 3 и 17 (n=4 для каждой пары хромосом); 5 и 12, 7 и 12, 5 и 17 (n=3 для каждой пары хромосом).

Учитывая тесную связь хромосомы 17 (с картированным на её коротком плече геном *TP53*) со СК, мы рассматриваем её хромосомные aberrации в этом разделе. В изолированном варианте аномалии 17-й хромосомы обнаружены не были. В то же время материал хромосомы 17 участвовал в формировании СК у 10 (37 %) взрослых пациентов, среди которых у 7 (70 %) заболевание возникло *de novo*, а у 3 (30 %) – на фоне предшествующей терапии. У 2 (20 %) больных определялась делеция, затрагивающая в одном случае q-плечо, а в другом – оба плеча 17-й хромосомы. У большинства пациентов (n=9, 90 %) материал хромосомы 17 был выявлен в составе несбалансированных транслокаций с участием хромосом 3-5, 9, 11, 12, 16 и X-хромосомы. При этом неслучайным повторяющимся партнером в транслокациях была хромосома 3 (n=4), а часто вовлекаемым локусом – 17p11 (n=3). Кроме того, при участии хромосомы 17

были образованы сложные дериваты  $\text{der}(17)t(X;1;18;11;17;X;8)$ ,  $\text{der}(17)t(4;12;3;17)$  и  $\text{der}(12)(13;7;3;17;12)$ .

Отдельное внимание было уделено составу сложноустроенных маркеров, которые включали фрагменты трёх и более хромосом и были зарегистрированы у 11/27 (41 %) пациентов с МДС с комплексными кариотипами (таблица 11). Возраст пациентов данной группы варьировал от 2 до 87 лет (медиана – 56 лет). Среди них было 2 (18 %) детей и 9 (82 %) взрослых, в том числе 7 (64 %) женщин и 4 (36 %) мужчины. На момент выполнения цитогенетического исследования у 7 (64 %) пациентов произошла прогрессия в ОМЛ, у 2 (18 %) пациентов определялся МДС с избытком бластов 1 и 2, у одного пациента был поставлен диагноз МДС с кольцевыми сидеробластами, еще в одном наблюдении вариант МДС установить не удалось. Структуру сложных дериватов удалось расшифровать благодаря проведению многоцветной FISH, поскольку методы стандартной цитогенетики не позволяли точно идентифицировать все вовлекаемые в aberrации хромосомы.

Таблица 11 – Кариотипы больных с МДС, имеющие в своем составе сложные дериваты

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
1	2, ж	МДС-ИБ2*	$\text{ish.48,XX,der}(4)t(4;19;1),+11,\text{der}(19)t(1;19)(?;p13),+21[24X\text{Cyte}]$
2	50, ж	МДС-ИБ1*	$\text{ish.44,XX,der}(2)t(2;10)(q37;?),\text{del}(5)(q13q33),\text{der}(5)t(5;18)(p11;q21),+\text{der}(5)t(4;5)(?;?),\text{der}(6)\text{dup}(6)(p21p22)t(6;13)(p22;?)-7,\text{der}(10)t(4;10)(q?;p13),\text{del}(12)(p13),\text{der}(12)t(14;4;12),\text{ins}(14;7)(q11;?)-18 [24X\text{Cyte}]$
3	56, м	МДС-ИБ1*	$\text{ish.47,X,-Y,der}(5)t(5;12)(q31;q2?4),-7,+8,i(8)(q10),\text{der}(12)t(12;5;7),\text{dic}(13;19)(p11;p13)\text{del}(13)(q?),+\text{der}(13)t(13;16)(p?;?)-16,-18,\text{del}(18)(p11),\text{del}(19)(p13),\text{der}(19)\text{del}(19)(p13)\text{del}(19)(q13),+\text{der}(21)t(20;21)(p11;p12)x2,\text{der}(22)t(18;22)(q12;p11),+\text{mar} [24X\text{Cyte}]$

Продолжение таблицы 11

Пациент		Вариант МДС	Кариотип
№	Возраст (лет), пол		
4	10,ж	МДС-ИБ1*	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)t(12;20;12), <b>der(12)t(3;12;2)</b> ,+15,+18,+19,+der(20)t(10;20)(?;q?11), +der(20)t(5;20)(?;q?13),+21[24XCyte]
5	74, ж	МДС-ИБ1	ish.45,XX,der(1)t(13;1;13;1),der(4)t(4;7)(?p15;p12),del(5)(q22q35),-7, <b>der(13)t(13;7;13;4)</b> [24XCyte]
6	51, м	МДС-КС	ish.43,XY,der(2)t(2;7)(q31;q?),-3,del(4)(p11),der(5)t(3;5)(?;q22),der(7)t(2;7)(q?;?),-12,inv(13)(p11q14),-15,der(15)t(15;18)(p11;?q21),der(16)t(15;16)(q21;p13), <b>der(17)t(4;12;3;17)</b> , del(18)(q12)[24XCyte]
7	76, м	МДС-ИБ2*	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), <b>der(18)t(11;18;7;2;22)</b> [24XCyte]
8	60, ж	МДС-ИБ1*	44,XX,der(3)t(3;17)(p21;??),-5, <b>der(7)t(7;21;22)</b> ,del(8)(p21),+der(8)t(5;8)(?;p21), <b>der(12)t(13;7;3;17;12)</b> ,del(13)(q14),der(17)del(17)(p11)del(17)(q22),der(19)t(19;20)(q13;??),del(20)(q11),-21,-22 [24XCyte]
9	63, м	МДС-ИБ1*	ish.46-47,XY, <b>der(4)t(21;4;7)</b> , <b>der(5)t(5;18;8)</b> ,-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), <b>der(21)t(21;7;4)</b> [24XCyte]
10	22, ж	МДС-ИБ2	ish.45,XX,t(1;12)(p36;p13),der(2)t(2;11)(q35;?), <b>der(4)t(7;8;4)</b> ,der(5)t(5;8)(q13;q22),-7, <b>der(8)t(8;7;8;4)x2</b> , <b>der(8)t(8;7;8;7;8;4)</b> ,der(8)t(5;8)(?;q22), <b>der(8)t(12;8;7)</b> , <b>der(13)t(13;8;12)</b> [cp10][24XCyte]
11	87,ж	МДС-ИБ1	ish.77<4n>,XX, <b>der(X)t(21;X;21;12)</b> , <b>der(1)t(14;20;1)x2</b> ,ins(3;8)(?;??),-5x2,-7x2,der(7)t(2;7)(?;p2?1),der(7)t(7;12)(p1?3;?),-8, <b>der(10)t(18;X;10)</b> ,-11x2,-12x2,der(13)t(13;22)(p10;p10),i(13)(q10),-14x2,der(14)t(13;14)(q24;14), <b>der(14)t(7;1;14)</b> ,-15x2,-16,del(16)(p?), <b>der(17)t(X;1;18;11;17;X;8)</b> ,-18x2,+19x2,del(19)(p13),der(19)del(19)(p12)del(19)(q12), <b>der(19)t(12;19;12;19;11;19)</b> , <b>der(19)t(19;11;19;11;19;5)</b> , <b>der(20)t(14;20;14;X)</b> ,-21,-22, <b>der(22)t(7;11;7;12;22)</b> [24XCyte]

Примечание: МДС-ИБ1 - миелодиспластический синдром с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 - то же с избытком бластов-2; МДС-КС - то же с кольцевыми сидеробластами; МДС-н - то же неуточненный; \* - прогрессия в острый миелобластный лейкоз; **жирным шрифтом** выделены сложные дериваты, состоящие из 3-х и более хромосом; кариотипы сложных дериватов записаны без уточнения точек разрыва хромосом

Данные таблицы 11 показывают, что у 6 (№1-5, №9) пациентов были выявлены сложные дериваты, состоящие из 3 хромосом, причем у половины из них они были сформированы на основе хромосомы 12. У пациента №9 было выявлено 3 сложных деривата, образованных на основе хромосом 4, 5 и 21. По одному деривату, состоящему из 4-х и 5-ти хромосом, соответственно, было обнаружено в кариотипе больных № 6 и №7, при этом основой для них служили хромосомы 17 и 18. В кариотипе пациентки №8 были выявлены два сложных деривата на основе хромосом 7 и 12, состоящие из материала трех и пяти хромосом, соответственно. Наибольшее количество сложных дериватов (n=5 и n=9) было выявлено у пациенток №10 и 11 (рисунок 31).

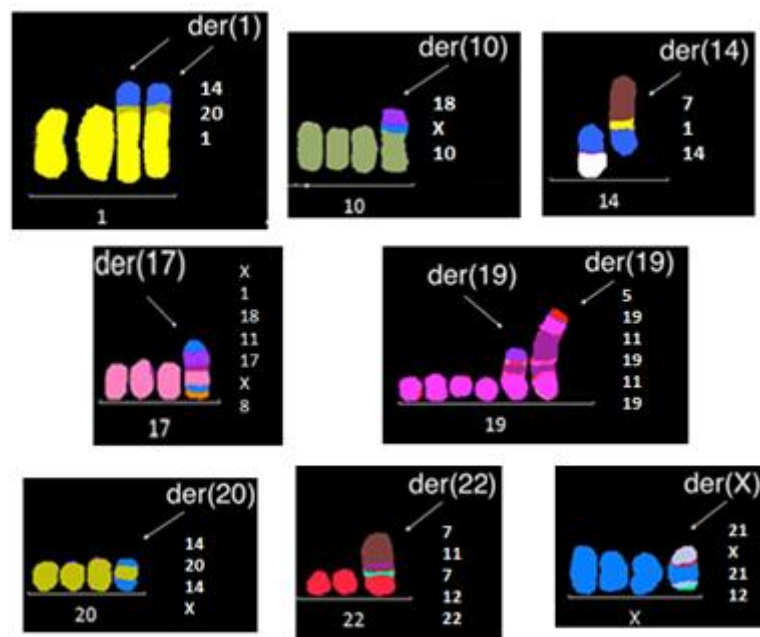


Рисунок 31 – Селективные кариограммы пациента №11 с МДС, демонстрирующие многочисленные сложные дериваты в кариотипе, состав которых уточнен с помощью метода mFISH

При этом молодая пациентка (№10), имея в своем кариотипе сложные дериваты с вовлечением хромосомы 8, смогла достичь полной клинико-гематологической и цитогенетической ремиссии после алло-ТГСК, жива и до сих пор находится под наблюдением. Самая возрастная пациентка в нашем исследовании (№11) имеет в своем кариотипе 9 сложнейших дериватов,

состоящих из 3-6 хромосом (рисунок 31). Здесь снова прослеживается роль хромотрипсиса в образовании столь сложноустроенных хромосомных аномалий. Всего в кариотипах 11 пациентов было распознано 26 сложноустроенных дериватных хромосом, состоящих из фрагментов от 3 до 6 различных хромосом, причём в состав 13/26 (50 %) дериватов хромосом входил генетический материал 7-й хромосомы (таблица 12).

Таблица 12 – Характеристика сложных дериватных и маркерных хромосом, состоящих их трёх и более фрагментов, идентифицированных с помощью многоцветной FISH

№№ п/п	Сложные дериваты из трех и более фрагментов разных хромосом
1	der(1)t(14;20;1)
2	der(4)t(4;19;1)
3	der(4)t(7;8;4)
4	der(4)t(21;4;7)
5	der(5)t(5;18;8)
6	der(7)t(7;21;22)
7	der(8)t(8;7;8;4)
8	der(8)t(8;7;8;7;8;4)
9	der(8)t(12;8;7)
10	der(10)t(18;X;10)
11	der(12)t(13;7;3;17;12)
12	der(12)t(3;12;2)
13	der(12)t(12;5;7)
14	der(12)t(14;4;12)
15	der(13)t(13;7;13;4)
16	der(13)t(13;8;12)
17	der(14)t(7;1;14)
18	der(17)t(4;12;3;17)
19	der(17)t(X;1;18;11;17;X;8)
20	der(18)t(11;18;7;2;22)
21	der(19)t(12;19;12;19;11;19)
22	der(19)t(19;11;19;11;19;5)
23	der(20)t(14;20;14;X)
24	der(21)t(21;7;4)
25	der(22)t(7;11;7;12;22)
26	der(X)t(21;X;21;12)

Примечание: кариотипы сложных дериватов записаны без уточнения точек разрыва хромосом



Далее, по мере уменьшения количества образованных дериватов, были следующие хромосомы: 12 (10/26, 38 %), 4 (9/26, 35 %) и 8 (7/26, 27 %). При этом СХА предпочтительно формировались на основе хромосом 12 (4/26, 15 %), 4 (3/26, 11 %) и 8 (3/26, 11 %), а самым частым партнёром и донором хромосомного материала выступала 7-я хромосома (12/26, 46 %).

Скорее всего именно эта находка объясняет низкий процент выявления истинных моносомий 7-й хромосомы в окрашенных в технике mFISH препаратах. Несколько реже в образовании сложных маркеров выступали хромосомы 4 (6/26, 23 %), 12 (6/26, 23 %), 11 (5/26, 19 %) и 8 (4/26, 15 %). Следует заметить, что по нашим данным хромосомы 6, 9, 15, 16 и Y не принимали участие в формировании сложных дериватов (рисунок 32)

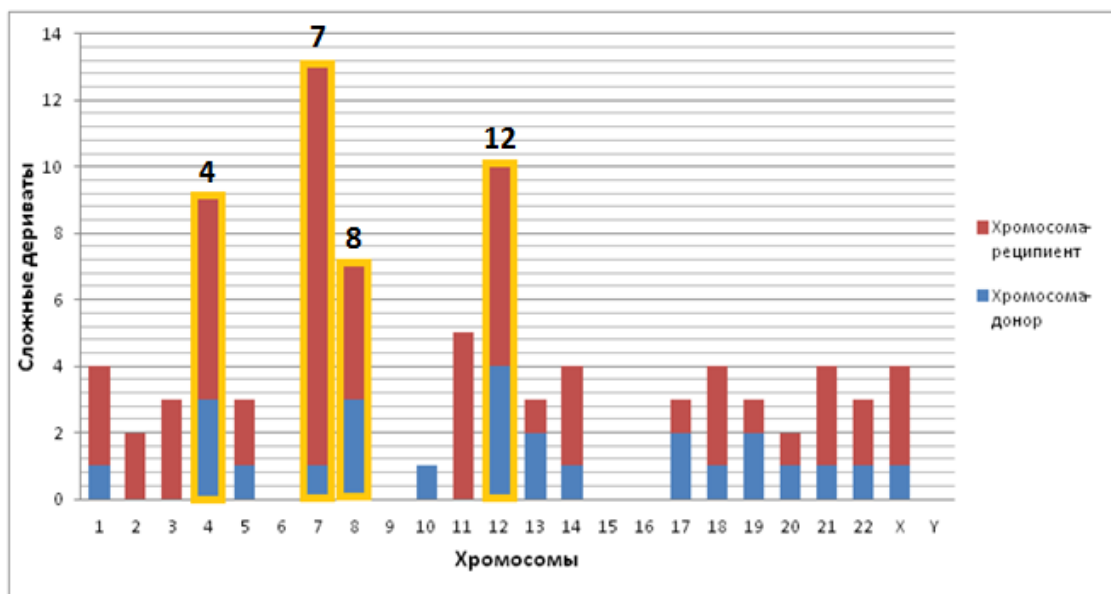


Рисунок 32 – Хромосомы, участвующие в сложных хромосомных обменах с образованием дериватов из 3 и более фрагментов разных хромосом

Таким образом, СЦИ полностью оправдывает себя при анализе простых кариотипов, однако, точный анализ СК стандартными методами весьма затруднен. Применение в работе mFISH позволило существенно дополнить и/или скорректировать результаты СЦИ у 100 % пациентов с комплексным кариотипом.

### 3.4. Анализ уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у пациентов с разными цитогенетическими вариантами МДС

Последним этапом нашего исследования было изучение экспрессии генов *BAALC* и *WT1* в клетках костного мозга больных МДС с разными цитогенетическими вариантами. В исследуемую группу были включены 25 взрослых пациентов с МДС, где преобладали морфологические варианты МДС-ИБ2 (n=13, 52 %) и МДС-ИБ1 (n=7, 28 %). У 3 (12 %) пациентов был МДС-5q, у 1 (4 %) - втМДС и у 1 (4 %) больного – МДС-МД. Хромосомные нарушения верифицировали методами СЦИ и mFISH. Среди них было 15 пациентов с делецией 5q, как в изолированном варианте, так и с ДХА, а также 10 пациентов с другими ХА: инверсией локуса 3q26, трисомией хромосомы 8, сложным и нормальным кариотипом (таблица 13).

Таблица 13 – Основные клинические и лабораторные данные пациентов с МДС

Пациент, №	Возраст (лет), пол	Диагноз	Кариотип	<i>BAALC</i> , %	<i>WT1</i> , копии	Бласты в КМ, %	ОВ, дни
<b>Изолированная делеция 5q</b>							
1	59, ж	МДС-5q	46,XX,del(5)(q13q33)[16]/46,XX[4]	2	59	1,8	3227
2	56, м	МДС-ИБ1	46,XY,del(5)(q13q33)[5]/46,XY[5]	10	30	0,8	687*
3	52, ж	МДС-ИБ1	46,XX,del(5)(q13q35)[4]/46,XX[16]	3	100	1,8	1628
4	63, ж	МДС-5q	46,XX,del(5)(q22q35)[5]/46,XX[15]	1	2	1,2	398
5	42, ж	МДС-ИБ1	46,XX,del(5)(q22q35)[7]/46,XX[8]	5	2	5	357
6	68, м	МДС-ИБ2	46,XY,del(5)(q22q35)[3]/46,XY[17]	62	660	5,8	281*
7	54, ж	МДС-ИБ2	46,XX,del(5)(q13q33)[3]/92,idemx2[1]/184,idemx2[1]/47,XX,+8[2]/46,XX[8]	55	1759	11,6	1728
8	40, ж	МДС-5q	46,XX,del(5)(q13q33)[1]/46,XX[19]	<31	184	0,2	1212
<b>Делеция 5q с дополнительными нарушениями хромосом</b>							
9	53, ж	МДС-ИБ1	45,XX,-7[2]/45,idem,del(5)(q13q31)[1]/46,XX[17]	<31	3114	9,2	429
10	36, ж	МДС-ИБ1	46,XX,der(5)t(5;6)(q12;p21),del(6)(p21)[5]/46,XX[15]	29	66	8,8	594

Продолжение таблицы 13

Па-ци-ент, №	Воз-раст (лет), пол	Диагноз	Кариотип	BAALC, %	WTI, копии	Блас-ты в КМ, %	ОВ, дни
11	68, ж	МДС-ИБ2 (ОМЛМ)	46,XX, <b>del(5)(q13q31)[7]</b> /46,idem, dup(2)(q12)[2]/47,idem,+11[3]/46,XX,t(X;5)(q13; <b>q31</b> )[2]/46,XX[1]	74	173	17,4	354
12	63, ж	МДС-ИБ1	52-54,XX, <b>del(5)(q13q33),+8,+11,+13,del(17)(p11),+19,+20,del(20)(q11)x2,+rx2,+mar[13]</b> /104-106,idem,x2[2]	64	1384	5,6	302
13	36, ж	МДС-ИБ2	ish.46,XX,t(3;15)(p22;q15), <b>der(5)t(5;12)(p11;q13)del(5)(q13q33),der(8)t(1;8)(q21;p11),der(12)t(5;12)(?:q13)[9],der(19)t(1;19)(q21;p13),der(22)t(1;22)(q21;p12)[24Xyte]</b>	56	115	7,6	1444*
14	61, м	втМДС	44,XY, <b>del(5)(q13q35),-13,-14[14]</b> /46,XY[1]	30	234	3,6	1148
15	46, ж	МДС-МД	46-47,X,-X,add(3)(p25),add(3)(q21), <b>del(5)(q13q31),del(15)(q22),add(16)(p11),add(18)(q23),+21,+mar[14]</b> /46,XX[1]	<31	2069	8,6	2191*
<b>Другие цитогенетические варианты</b>							
16	48, м	МДС-ИБ1	46,XY[20]	264	547	5,6	341*
17	41, ж	МДС-ИБ2	46,XX[20]	259	2631	10,4	199
18	62, ж	МДС-ИБ2	46,XX, <b>inv(3)(q21q26),add(7)(p22),t(8;12)(q22;q13)[4]</b> /46,XX[5]	217	1441	17	170
19	42, м	МДС-ИБ2	46,XY, <b>inv(3)(q21q26)[11]</b> /45,idem,-Y[6]/46,XY[3]	154	813	11,6	334*
20	81, ж	МДС-ИБ2 (ОМЛМ)	46,XX, <b>inv(3)(q21q26)[8]</b> /46,XX[12]	119	746	18,2	104*
21	44, ж	МДС-ИБ2 (ОМЛМ)	46,XX, <b>inv(3)(q21q26)[4]</b> /46,XX[16]	293	1239	27,6	666
22	56, м	МДС-ИБ2	48,XY,+8,+mar[5]	76	21	11,8	498
23	59, ж	МДС-ИБ2 (ОМЛМ)	47,XX,+8[6]/46,XX[9]	52	н/д	15,8	191
24	52, м	МДС-ИБ2	45,X,-Y[8]/45,idem,i(14)(q10)[2]/46,XY[5]	45	76	9,2	728
25	57, ж	МДС-ИБ2 (ОМЛМ)	46,XX, <b>-7,del(17)(q21),+mar[20]</b>	39	1845	15,8	453*

Примечание: МДС-5q - миелодиспластический синдром с изолированной делецией 5-й хромосомы; МДС-МД - то же с многолинейной дисплазией; МДС-ИБ1 - то же с избытком бластов-1; МДС-ИБ2 - то же с избытком бластов-2; втМДС – вторичный МДС; ОМЛМ – трансформация в острый миелобластный лейкоз; ОВ – общая выживаемость (рассчитывалась с момента постановки диагноза); н/д – нет данных; max- максимальное значение за период наблюдения; КМ- костный мозг; **полужирным шрифтом** выделены хромосомные аномалии, определяющие цитогенетическую подгруппу; \*-Ex. Letalis

Как видно из данных, представленных в таблице №13, изолированная делеция длинного плеча хромосомы 5 имела место у 6 пациентов (№1-6). У половины из них (№1-3) потери начинались с локуса 5q13, а у остальных (№4-6) с локуса 5q22. Кроме того, у двух других больных (№7, 8) с первым вариантом поломки в последующих анализах, помимо 5q-, была выявлена трисомия 8. С другой стороны, группа больных с 5q- и дополнительными изменениями хромосом включала 7 пациентов (№9-15). У двух из них была выявлена одна поломка, представленная или моносомией 7 (№9), или делецией 6p, причём в последнем наблюдении делеция 5q входила в состав несбалансированной транслокации t(5;6). Что касается обследованной группы с большим, чем 1, числом дополнительных хромосом в кариотипе, она включала 5 пациентов (№11-15). Характер дополнительных нарушений хромосом был неодинаков. При этом обращало внимание наличие в некоторых кариотипах прогностически значимых трисомий 8, 11, 13 и 20 (№12) или 21 (№15), а также делеции 17p (№12). Как видно из данных этой таблицы, общая выживаемость колебалась в больших пределах, от 104 до 3227 дней со дня постановки диагноза.

Уровни экспрессии генов *BAALC* и *WT1* были исследованы у всех 25 пациентов до трансплантации. Уровни экспрессии гена *BAALC* варьировали от 1 % до 293 % (медиана - 58,00 %, среднее - 88,52 %). Уровни экспрессии гена *WT1* варьировали от 2 до 3114 копий *WT1/10<sup>4</sup>* копий гена *ABL* (медиана - 234 копии, среднее - 663,76 копий). При этом содержание бластных элементов в тех же аспиратах костного мозга находилось в пределах от 0,2 до 27,6 % (медиана 8,8 %, среднее - 9,4 %).

Анализ уровней экспрессии гена *BAALC* в рассмотренной группе пациентов выявил следующее (рисунок 33). Низкая экспрессия гена *BAALC* (<31 %) была отмечена у 10 (66,7 %) пациентов с делецией 5q-, из них у 6/8 (75 %) больных МДС с изолированной делецией 5q и у 4/7 (57 %) больных с 5q- и ДХА. Повышенный уровень экспрессии гена *BAALC* (от 45 % до 74 %)

в группе больных с делецией 5q- был зарегистрирован у 5 (33,3 %) больных. Это был самый пожилой пациент (68 лет) с делецией 5q, пациент с ДХА (трисомия 8-й хромосомы), а также 3 пациента с делецией 5q в составе СК. В общей группе больных с отличными от 5q- цитогенетическими вариантами МДС, уровни экспрессии гена *BAALC* варьировали от 39 % до 293 %. Неожиданно высокими они оказались у больных с нормальными кариотипами и у пациентов с *EVII*-позитивными МДС. Таким образом, низкая экспрессия гена *BAALC* наблюдалась только у пациентов с делецией 5q-, при других цитогенетических вариантах МДС экспрессия этого гена была выше порогового уровня (рисунок 33).

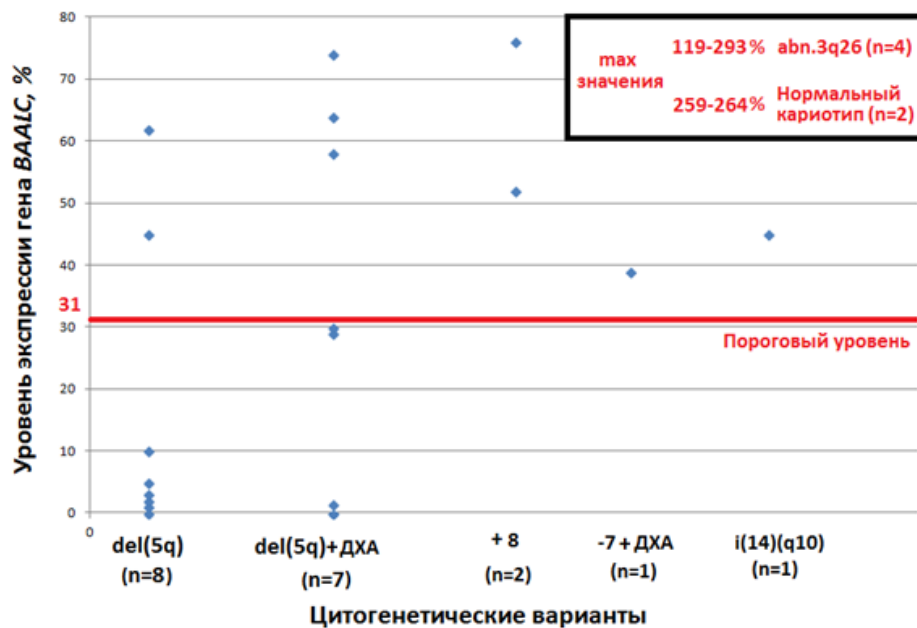


Рисунок 33 – Уровни экспрессии гена *BAALC* в клетках костного мозга при различных цитогенетических вариантах МДС

Из других, параллельно измеренных в клетках костного мозга молекулярных маркеров, заслуживают внимания низкие уровни экспрессии гена *WT1* у больных с делецией 5q в изолированном варианте (n=6, 75 %) и с ДХА (n=4, 57 %) (рисунок 34).

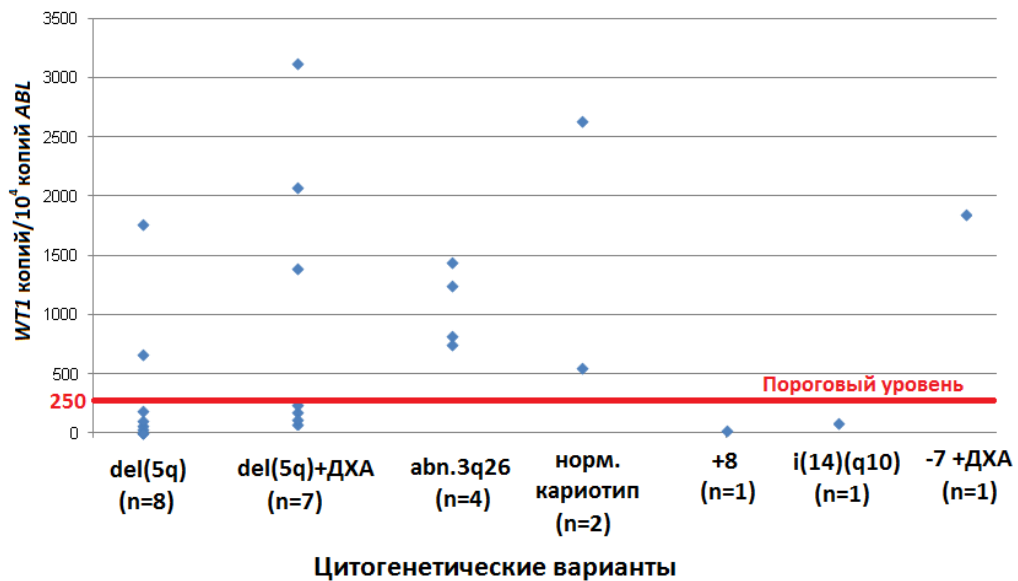


Рисунок 34 – Уровни экспрессии гена *WT1* в клетках костного мозга при различных цитогенетических вариантах МДС

Сравнительный анализ экспрессии гена *WT1* в разных цитогенетических группах МДС показал, что пациенты с изолированной делецией 5q также чаще имели экспрессию гена *WT1* ниже порогового уровня по сравнению с другими цитогенетическими вариантами ( $n=6$  (75 %) vs.  $n=5$  (31,25 %);  $p=0,043$ ), разница статистически значима ( $p=0,043$ ). Пациенты с делецией 5q в общей группе (изолированная 5q- или 5q- с ДХА) чаще имели экспрессию гена *WT1* ниже порогового уровня по сравнению с другими цитогенетическими вариантами ( $n=9$  (60 %) vs.  $n=2$  (22 %)) разница статистически не значима ( $p=0,073$ ).

Корреляционный анализ был проведен для 21 пациента. Сопоставление уровней экспрессии гена *BAALC* и содержания бластов в костном мозге пациентов с МДС выявило прямую корреляционную зависимость между этими показателями ( $r=+0,61$ ,  $p=0,003$ ) (рисунок 35, А). Корреляционный анализ обнаружил также прямую зависимость между уровнем экспрессии гена *WT1* и содержанием бластов в костном мозге пациентов с МДС ( $r=+0,47$ ,

$p=0,03$ ) (рисунок 35, Б), а также между уровнями экспрессии самих генов *WT1* и *BAALC* ( $r=+0,57$ ,  $p=0,007$ ) (рисунок 35, В).

Молекулярный мониторинг результатов аллогенной ТГСК от неродственного донора у одной пациентки с МДС (№13) представлял не меньший научный интерес.

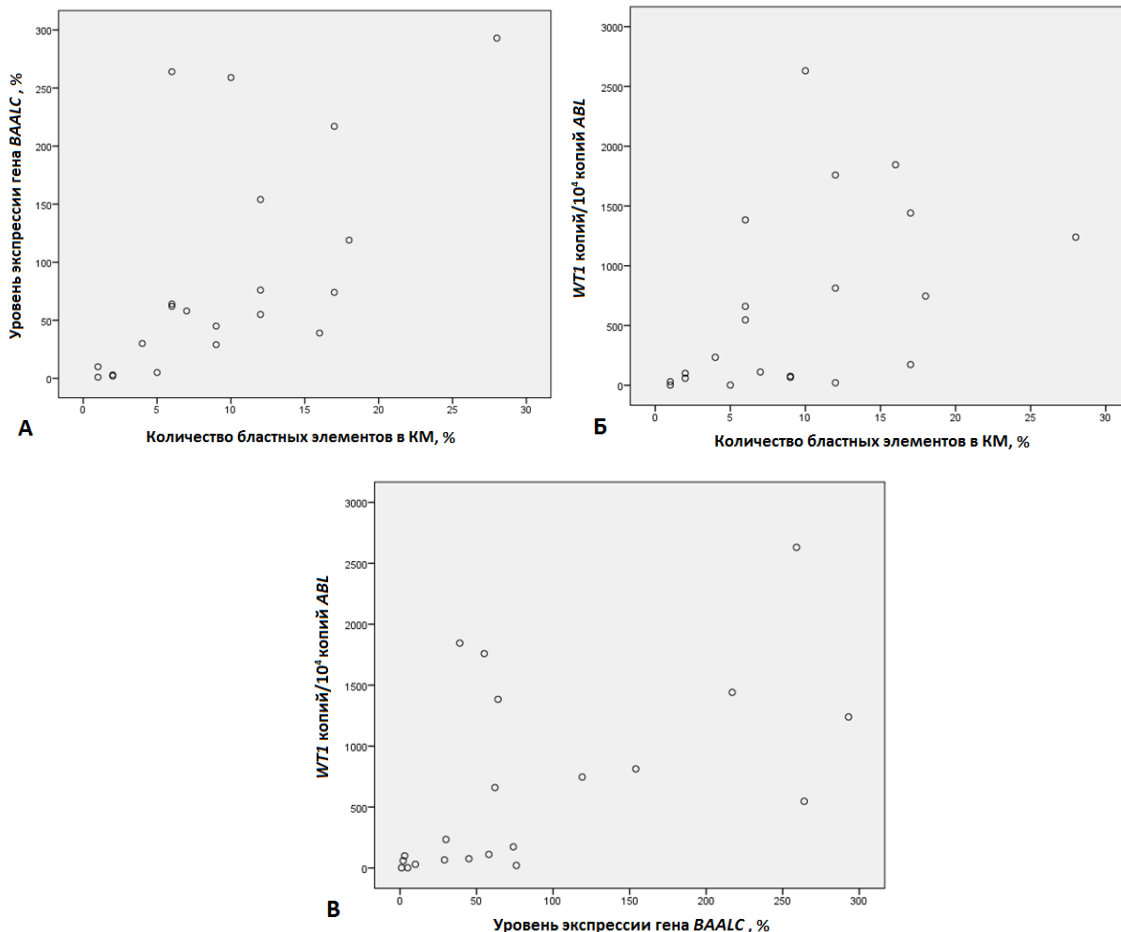


Рисунок 35 – Корреляционная зависимость между уровнями экспрессии генов *BAALC* (А) и *WT1* (Б) и содержанием бластных элементов в КМ, а также между уровнями экспрессии генов *BAALC* и *WT1* между собой (В) у пациентов с МДС

Так, с помощью комбинации методов стандартного цитогенетического исследования и многоцветной FISH у больной №13 были выявлены комплексные хромосомные aberrации, включающие сбалансированную транслокацию  $t(3;15)$ , а также несбалансированные транслокации  $t(1;8)$ ,  $t(1;19)$ ,  $t(1;22)$ ,  $t(5;12)$ , причем последняя транслокация сочеталась также с делецией длинного плеча 5-й хромосомы (рисунок 36).

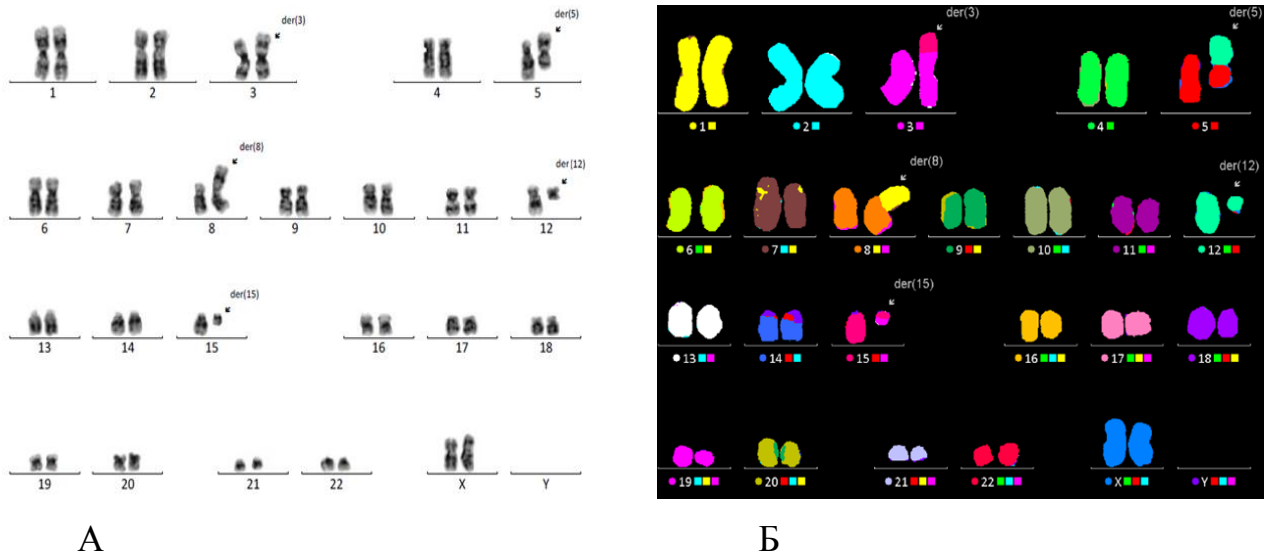


Рисунок 36 – Кариограммы двух клеток костного мозга пациентки с МДС (№13) и СК, выполненные в технике GTG (А) и многоцветной FISH (Б)

Учитывая возраст, течение и прогноз заболевания, а также наличие комплексных хромосомных изменений, пациентка являлась кандидатом на проведение алло-ТГСК, однако отсутствие сиблингов в семье отодвигало по срокам эту процедуру. В период с 23.08.19 пациентка получала гипометилирующие препараты в сочетании с гласдегибом (в общей сложности 3 курса), которые она перенесла удовлетворительно, несмотря на повышенное содержание бластных элементов в костном мозге (до 15,8 %). Тем временем в международном регистре был найден полностью совместимый неродственный донор женского пола и 11.12.2019 была проведена алло-ТГСК. Пациентка получила миелоаблативный режим кондиционирования (бусульфан 10 мг/кг и флударабин 180 мг/м<sup>2</sup>), а в качестве профилактики РТПХ были использованы циклофосамид, такролимус и микофенолата мофетил. Источником трансплантата послужили гемопоэтические стволовые клетки периферической крови, общее количество перелитых CD34+ клеток составило 6,4 на 10<sup>6</sup>/кг массы тела. Уровень экспрессии гена *BAALC* на предтрансплантационном этапе был в пределах пороговых значений, в то время как была зафиксирована



гиперэкспрессия гена *WT1* – 6478 копий при норме до 250 копий. Уровень экспрессии гена *WT1* по отношению к количеству бластных элементов оказался несоразмерно высок, ввиду чего правомерно допущение, что у данной пациентки существенный вклад в его экспрессию могли внести более зрелые клетки-предшественницы миелопоэза. После проведения алло-ТГСК показатели экспрессии гена *WT1* снизились до пороговых значений (111 копий). При этом сохранялось увеличенное до 7,4 % содержание бластных элементов в костном мозге, которое сочеталось с повышенным до 58 % уровнем экспрессии гена *BAALC* (рисунок 37).

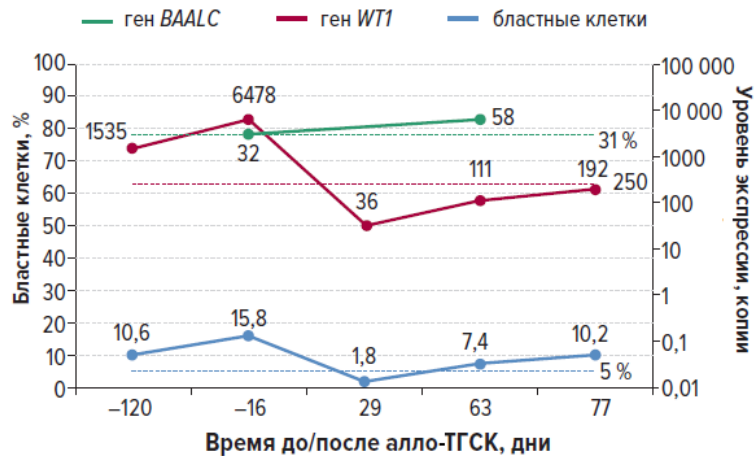


Рисунок 37 – Серийное определение уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1*, а также содержания бластных элементов в аспиратах КМ больной МДС (№ 13)

В раннем посттрансплантационном периоде возникло состояние панцитопении, развился мукозит ротовой полости II степени, нейтропеническая лихорадка, отвечавшая на антибактериальную терапию, были выявлены лабораторные признаки печеночной токсичности II степени. На Д+19 было зафиксировано приживание трансплантата, но до Д+61 пациентка продолжала получать ростовые факторы и заместительную терапию компонентами крови в связи с гипофункцией трансплантата. Первый морфологический рецидив был зафиксирован 12.02.2020. Для

проведения дальнейшего наблюдения пациентка была переведена в отделение гематологии Красноярской КБ № 2 по месту жительства, где получила курс противорецидивной терапии по протоколу Aza + Ida + AraC (азациитидин + идарубицин + цитарабин) с добавлением интерлейкина-2 в дозе 2 млн ЕД/сут. Противорецидивный курс осложнился гематологической токсичностью IV степени с явлениями фебрильной нейтропении, тяжелой тромбоцитопении и анемического синдрома средней степени тяжести. Пациентке были выполнены трансфузии тромбоцитарной и эритроцитарной массы, проведена комбинированная антибактериальная, противовирусная и антигрибковая терапия. На фоне лечения отмечалось улучшение состояния, наблюдался регресс анемического, геморрагического и интоксикационного синдромом. На 16-й день после окончания химиотерапии было зафиксировано восстановление костномозгового кроветворения в виде увеличения количества лейкоцитов и гемоглобина, но тромбоцитопения сохранялась. 14.04.2020 г. общее состояние больной ухудшилось, отмечалось нарастание астенического синдрома. На фоне проводимых гемотрансфузий произошла потеря сознания. Реанимационные мероприятия, осуществляемые в течение 30 мин, к успеху не привели. Возможной причиной смерти могло быть кровоизлияние в мозг, данные вскрытия получены не были.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ

Хромосомные aberrации наблюдаются у 50 % пациентов с *de novo* МДС и у 90 % пациентов с вторичным МДС, их наличие влияет на прогноз заболевания и нередко тактику ведения пациентов. В то же время комплексные хромосомные нарушения определяются у 10-50 % пациентов с МДС и ассоциированы с плохим прогнозом и повышенным риском трансформации в ОМЛ [48, 111, 116]. Повреждение отдельных хромосом в составе СК крайне сложно идентифицировать методами стандартной цитогенетики. В данных случаях необходимо прибегать к молекулярно-цитогенетическим методам диагностики, таким как многоцветная FISH. В своей работе мы применяли метод mFISH для полной идентификации ХА в составе СК, что позволило точно определить частоту вовлечения отдельных хромосом в aberrации у больных МДС как в общей когорте, так и среди пациентов с СК. При этом роль отдельных хромосом в составе СК, а также в формировании сложных дериватов, до сих пор освещалась недостаточно. В нашем исследовании хромосомные аномалии кариотипа были выявлены у 76 % больных МДС. Самой частой цитогенетической находкой в нашей работе были повреждения 7-й хромосомы (36 %), в отличие от литературных данных [50, 64, 83, 114], где самой частой патологией при МДС являлась делеция 5q. Вероятно, это связано с тем фактом, что большая часть (74 %) наших пациентов относилась к трансплантационной когорте больных, в которую в меньшей степени входят пациенты с благоприятными aberrациями, в том числе делецией 5q. По нашим данным, далее в общей когорте пациентов по уменьшению частоты вовлечения в aberrации расположились хромосомы 5, 3, 8, 13 и 12 с частотой выявления 23 %, 19 %, 16 %, 15 % и 13 %, соответственно. При этом, ХА 7-й хромосомы чаще определялись в изолированном варианте (n=16, 34 %) по сравнению с хромосомами 12 (n=0, 0 %) и 13 (n=1, 5 %), а ХА 12-й хромосомы (n=16, 94

%) чаще входили в состав СК по сравнению с абберациями хромосом 3 (n=13, 52 %), 8 (n=14, 67 %) и 7 (n=23, 49 %). Неожиданным наблюдением в ходе работы было то, что изолированные аномалии хромосом 3, 5 и 12 были выявлены только у взрослых пациентов, в то время как изолированные абберации хромосом 7, 8 и 13 были зарегистрированы как у детей, так и у взрослых. Самой частой ХА в детском возрасте по нашим наблюдениям стала моносомия хромосомы 7 (n=10, 71 %) как в изолированном варианте (n=4, 40 %), так и с 1 ДХА (n=6, 60 %), что находит подтверждение в литературе [2, 16].

Что касается СК у больных МДС, то в его формировании чаще принимали участие хромосомы 5-й, 7-й, 12-й, 13-й, 8-й и 3-й пар с частотой встречаемости 93 %, 85 %, 59 %, 56 %, 52 % и 48 %, соответственно. В зарубежных исследованиях [19, 105, 115] также показано частое вовлечение в состав сложных кариотипов хромосом 5 и 7 у больных МДС, однако в других исследованиях [23, 111] чаще регистрировались аномалии хромосом 5 и 17, и несколько реже - аномалии хромосом 11-й [3, 19, 105], 3-й [105, 115], 8-й [111] пар. Следует отметить, что в вышперечисленные исследования входили пациенты с МДС и *de novo* ОМЛ, в то время как в нашу работу были включены только пациенты с МДС и ОМЛ, развившиеся после МДС. Как раз с этим может быть и связан тот факт, что в формировании сложных кариотипов были затронуты разные хромосомы. Не вызывает сомнений, что самой вовлекаемой в сложные перестройки является хромосома 5 [50, 115], при этом в большинстве наблюдений материал 5-й пары участвует в несбалансированных транслокациях, сочетающихся с делецией 5q, что было продемонстрировано в нашей работе практически у половины больных с абберациями хромосомы 5 в СК (n=12, 48 %). Это может наводить на мысль об этапности формирования и усложнения хромосомных аббераций с течением времени, а именно первоочередном появлении клона с делецией 5q и дальнейшем накоплении хромосомных аббераций ввиду развития

генетической нестабильности генома. Похожие данные были получены и в работе чешской группы исследователей [115]. Кроме того, эти исследователи единственные провели анализ несбалансированных транслокаций с участием хромосомы 5 и выявили, что чаще в эти aberrации вовлекались хромосомы 17-й, 3-й, 7-й и 18-й пар. В нашем исследовании эти данные частично подтверждены, где было продемонстрировано, что неслучайными партнерами 5-й хромосомы в несбалансированных транслокациях являются хромосомы 7, 8, 12 и 17. Делеция 5q в нашей работе была выявлена в 20 % наблюдений, при этом удалению чаще подвергались локусы 5q13-5q33 (n=4). В работах зарубежных авторов были отмечены такие же точки разрыва на длинном плече 5-й хромосомы [105, 111].

Как известно, моносомный кариотип является предиктором худшей выживаемости, в том числе при наличии сложных хромосомных изменений [39, 74, 110]. Однако большинство исследователей не определяли МК в составе СК методом mFISH [55, 110, 118], а применяли для этих целей интерфазную FISH, которая охватывает не весь генетический материал исследуемой хромосомы, или стандартное кариотипирование. В нашей работе благодаря методу mFISH мы выделили среди пациентов МДС со СК истинно моносомные кариотипы, которые составили только 9 % (n=6) от моносомий, первоначально обнаруженных методами СЦИ. Так, моносомия хромосомы 7 была ложной у 12/15 (80 %) пациентов, а моносомия хромосомы 5 – у 13 (100 %) пациентов. В остальных наблюдениях разновеликие фрагменты отсутствующих хромосом были обнаружены в числе маркерных и/или дериватных хромосом. Сходные данные были опубликованы в работе Гребенюк с соавт. [3], где методом mFISH моносомия хромосомы 7 была подтверждена в 1 наблюдении, а моносомия хромосомы 5 во всех наблюдениях была ложной.

В составе СК у больных МДС не было выявлено ни одной классической транслокации с перестройкой локуса 3q26. Реципрокные

транслокации (26 %) редко встречались в СК, в то время как несбалансированные транслокации были самым частым (96 %) вариантом ХА у больных МДС. В свою очередь анализ состава несбалансированных транслокаций показал, что некоторые хромосомы вступали во взаимодействие друг с другом намного чаще, чем другие. В частности, самыми распространенными партнерами в несбалансированных транслокациях были хромосомы 2 и 7 (n=5); 5 и 7, 5 и 8, 3 и 17 (n=4 для каждой пары хромосом); 5 и 12, 7 и 12, 5 и 17 (n=3 для каждой пары хромосом). Кроме того, с помощью многоцветной FISH удалось определить, что в 78 % (n=21) наблюдений со СК присутствует одновременное повреждение хромосом 5 и 7, причем 12 (44 %) из них так же ассоциировано с аномалиями 8-й хромосомы. Данные, касающиеся сочетанного повреждения хромосом в составе несбалансированных транслокаций в СК, в литературе представлены скудно. Только чешские исследователи в двух работах отметили неслучайное вовлечение хромосом при формировании СК. Так, в работе Vabicka с соавт. [19], в которую вошли пациенты с МДС и de novo ОМЛ, авторы отметили частое вовлечение в состав СК аномалий хромосом 5 и/или 7 и/или 11 (81 %), причем в 16 %, 11 % и 3 % наблюдений имелось одновременное повреждение 5 и 7, 5 и 11, 7 и 11 хромосом, соответственно. Помимо этого, в работе Zemanova с соавт. [115] было отмечено неслучайное вовлечение хромосом 17-й, 3-й, 7-й и 18-й пар в несбалансированные транслокации с участием хромосомы 5.

Помимо этого, нами впервые был проведен анализ состава сложных дериватных и маркерных хромосом при МДС, состоящих из 3 и более фрагментов, где было выявлено, что в состав 50 % (13 из 26) дериватов входил генетический материал 7-й хромосомы. При этом СХА предпочтительно формировались на основе хромосом 12 (4/26, 15 %), 4 (3/26, 11 %) и 8 (3/26, 11 %), а самым частым партнёром и донором хромосомного материала выступала 7-я хромосома (12/26, 46 %). Скорее всего именно эта

находка объясняет низкий процент выявления истинных моносомий 7-й хромосомы в окрашенных в технике mFISH кариотипах. Следует заметить, что по нашим данным хромосомы 6, 9, 15, 16 и Y не принимали участие в формировании сложных дериватов.

Из других важных наблюдений стоит остановиться на нашем опыте изучения уровней экспрессии генов *BAALC* и *WT1* у больных МДС с разными цитогенетическими вариантами. Как показала работа, надпороговое повышение уровня экспрессии гена *BAALC* было отмечено у большинства обследованных больных МДС. Оно было самым высоким у пациентов с неизменённым кариотипом и при *EVII*-позитивных МДС. С другой стороны, отсутствие повышенной экспрессии гена *BAALC* впервые было показано у большинства взятых в исследование больных с делецией 5q. Важно отметить, что у большинства пациентов с делецией 5q уровень экспрессии гена *WT1* также не превышал пороговое значение. Кроме того, сопоставление уровней экспрессии гена *BAALC* и *WT1* с содержанием бластов в костном мозге выявило прямую корреляционную зависимость между этими показателями, также как и прямую корреляционную связь между уровнями экспрессии самих этих генов, что подтверждает данные исследования De Marchi с соавторами [38]. Наши данные также находятся в согласии с результатами работы Thol с соавторами [100], которые выявили корреляцию между высокими уровнями экспрессии гена *BAALC* и кариотипом высокого риска у больных МДС. Поскольку уровни экспрессии гена *BAALC* и *WT1* гипотетически могут соответствовать массам их экспрессирующих лейкозных стволовых клеток и клеток-предшественниц миелопоэза [8], правомочно допущение, что у больных с делецией 5q таких клеток сформировано пока недостаточно. Между тем, это объясняет относительно благоприятное течение этих вариантов МДС, их положительную реакцию на терапию леналидомидом и гипометилирующими агентами, что, в целом, настраивает на продолжение углублённых исследований в этой области.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные при МДС цитогенетические и молекулярные данные показывают, что в силу своих биологических характеристик эта патология может быть исследовательской площадкой для изучения тонких изменений генома опухолевых клеток. При этом, в силу сложности перестроенных при МДС кариотипов, активное внедрение в работу специализированных лабораторий возможностей точной идентификации вовлечённых в перестройки хромосом с помощью mFISH представляется необходимым.



## ВЫВОДЫ

1. Результаты СЦИ и mFISH показали, что в ХА при МДС и ОМЛм чаще принимают участие хромосомы 7, 5, 3, 8, 13 и 12 с разной частотой вовлеченности в ИХА и состав СК. Так, ХА 7-й хромосомы чаще являются изолированными по сравнению с хромосомами 12 и 13 ( $n=16, 34\%$  vs  $n=0, 0\%$ ;  $p=0,003$ ; vs  $n=1, 5\%$ ;  $p=0,015$ ). ХА 12-й хромосомы ( $n=16, 94\%$ ) чаще определяются в СК по сравнению с абберациями хромосом 3 ( $n=13, 52\%$ )  $p=0,004$ ; 8 ( $n=14, 67\%$ )  $p=0,04$ ; и 7 ( $n=23, 49\%$ )  $p=0,002$ . ИХА 3-й, 5-й, 12-й пар хромосом наблюдаются только у взрослых, а ИХА 7-й, 8-й, 13-й – и у детей, и у взрослых. У пациентов со СК трансформация в ОМЛм происходит чаще по сравнению с пациентами с ИХА ( $n=15, 42,9\%$  vs.  $n=4, 8,7\%$ ;  $p<0,001$ ).
2. По данным mFISH в СК у пациентов с МДС и ОМЛм чаще принимают участие хромосомы 5 ( $n=25, 93\%$ ), 7 ( $n=23, 85\%$ ), 12 ( $n=16, 59\%$ ), 13 ( $n=15, 56\%$ ), 8 ( $n=14, 52\%$ ) и 3 ( $n=13, 48\%$ ). В СК сочетание аббераций хромосом 5/7 ( $n=21, 78\%$ ) и 5/7/8 ( $n=12, 44\%$ ) является самым частым, где преобладают несбалансированные транслокации ( $n=26, 96\%$ ). В СК классические перестройки локуса 3q26 отсутствуют, при этом доминируют несбалансированные ХА 3-й пары ( $n=11, 69\%$ ). Основные хромосомы-партнеры в СХА неслучайны (для хромосомы 3 это 17-я; для 5-й – 7, 8, 12, 17; для 7-й – 2, 5, 12; для 8-й – 5, 12; для 12-й – 5, 7; для 13-й – 1, 5, 7 хромосомы).
3. Сравнение результатов кариотипирования показало, что mFISH дополняет и/или корректирует результаты СЦИ у 100 % пациентов со СК. Так, выявленные СЦИ 22 МК были подтверждены лишь у 6 (27 %) пациентов. Все 13 (100 %) моносомий 5-й хромосомы и 15 (80 %) моносомий 7-й хромосомы оказались ложными. За определяемыми

СЦИ делециями 5-й хромосомы у 5 (55 %) пациентов скрываются несбалансированные транслокации с участием 5q.

4. Анализ состава сложных дериватных и маркерных хромосом у пациентов с МДС и ОМЛм с помощью mFISH показал неслучайное их формирование с участием хромосом 7 (n=13, 50 %), 12 (n=10, 38 %), 4 (n=9, 35 %) и 8 (n=7, 27 %). Самым частым донором генетического материала является хромосома 7 (n=12, 46 %), в свою очередь, хромосомы 6, 9, 15, 16 и Y не входят в состав сложных дериватных хромосом.
5. Уровень экспрессии гена *BAALC* в клетках костного мозга увеличен у 60 % (n=15) больных с различными цитогенетическими вариантами МДС. В то же время только у пациентов с делецией 5q (n=10, 66,7 %) он находится ниже порогового уровня (<31 %). Кроме того, пациенты с изолированной делецией 5q чаще имеют экспрессию гена *WT1* ниже порогового уровня по сравнению с пациентами МДС с другими ХА (n=6, 75 % vs. n=5, 31,3 %; p=0,043). Обнаружена прямая корреляционная связь между содержанием бластов в костном мозге и уровнем экспрессии генов *BAALC* (r=+0,61, p=0,003), *WT1* (r=+0,47, p=0,03), а также между уровнями экспрессии генов *BAALC* и *WT1* (r=+0,57, p=0,007) у пациентов с МДС.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Цитогенетический анализ является обязательным этапом диагностики и стратификации риска больных МДС и должен выполняться на этапе установления диагноза, рецидива или прогрессии заболевания, до и после алло-ТГСК. В случаях со СК СЦИ следует дополнять mFISH для точной идентификации вовлеченных в абберации хромосом, а также выделения самой неблагоприятной генетической группы при МДС и ОМЛм - моносомного кариотипа.

Определение уровня экспрессии гена *BAALC* позволяет изучать патогенез и прогноз у больных с различными вариантами МДС и связанными с ними ОМЛ на уровне *BAALC*-экспрессирующих стволовых клеток.

## ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты, полученные при выполнении этого исследования, могут являться базой для продолжения изучения фундаментальных вопросов, касающихся геномных дисбалансов при миелодиспластических синдромах, что поможет расширить представление о генетических профилях больных МДС. Актуальными темами для дальнейшего исследования могут быть следующие: углубленное изучение неслучайных повреждений хромосом в СК с помощью многоцветного бэндинга для более точного определения участвующих в СХА хромосомных сегментов, а также с помощью молекулярно-генетических исследований, в частности, ВПС с анализом транскриптома. Перспективным видится изучение экспрессии гена *BAALC* у пациентов с МДС без хромосомных aberrаций, а также у других онкогематологических пациентов с целью ранней верификации прогноза заболевания.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Алло-ТГСК – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

БРВ – безрецидивная выживаемость

БСВ – бессобытийная выживаемость

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ВПС – высокопроизводительное секвенирование

ГА – гипометилирующие агенты

ГСК – гемопоэтические стволовые клетки

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДХА – дополнительные хромосомные аномалии

ИХА – изолированные хромосомные аномалии

КМ – костный мозг

МАК – миелоаблативный режим кондиционирования

МДС – миелодиспластический синдром

МДС-5q – миелодиспластический синдром с изолированной делецией 5q

МДС-ЛД – миелодиспластический синдром с однолинейной дисплазией

МДС-МД – миелодиспластический синдром с многолинейной дисплазией

МДС-КС – миелодиспластический синдром с кольцевыми сидеробластами

МДС-ИБ1 – миелодиспластический синдром с избытком бластов 1

МДС-ИБ2 – миелодиспластический синдром с избытком бластов 2

МК – моносомный кариотип

ОВ – общая выживаемость

ОЛ – острый лейкоз

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ОМЛм – ОМЛ из предшествующего МДС

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

- РИК – редуцированная интенсивность кондиционирования
- РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»
- СК – сложный (комплексный) кариотип
- СКПК – стволовые клетки периферической крови
- СХА – сложные хромосомные aberrации
- СЦИ – стандартное цитогенетическое исследование
- ХА – хромосомные аномалии
- BAALC* -э ЛСК – *BAALC* экспрессирующие лейкозные стволовые клетки
- CDR1/CDR2 (commonly deleted regions) - часто удаляемые регионы 1 и 2
- CRR1/CRR2 (commonly retained regions) - часто остающиеся регионы 1 и 2
- FISH – fluorescence *in situ* hybridization
- IPSS-R – Revised International prognostic scoring system (Пересмотренная международная прогностическая балльная система )
- LSI – Locus Specific Identifier, локус-специфичный ДНК-зонд
- mFISH – многоцветная FISH

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афанасьев, Б.В., Алмазов В.А. Родоначальные кроветворные клетки человека: Физиология и патология. / Б. В. Афанасьев, В.А. Алмазов – Л.: Наука, 1985. – 204 с.
2. Афанасьев, Б.В. Миелодиспластический синдром у детей. / Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2018. – Т. 5. – № 3. – С. 23–35.
3. Гребенюк, Л.А. Аномалии хромосом 5, 7, 11 и 17 в комплексном кариотипе при миелодиспластических синдромах и острых миелоидных лейкозах / Л.А. Гребенюк, Т.Н. Обухова, Е.Н. Паровичникова [и др.] // Медицинская генетика. – 2018. – Т. 17. – № 6. – С. 39–47.
4. Грицаев, С.В. Цитогенетический профиль больных с первичным миелодиспластическим синдромом / С.В. Грицаев, И.С. Мартынкевич, Е.В. Петрова [и др.] // Терапевтический архив. — 2013. — Т. 85. — №7. — С. 43-49.
5. Кохно, А.В. Выявление скрытых аномалий кариотипа при миелодиспластическом синдроме / А.В. Кохно, М.А. Пименова, Е.Н. Паровичникова [и др.] // Гематология и трансфузиология. — 2014. — Т. 59. — № 1. — С. 25-28.
6. Мамаев, Н.Н. *EVI1*-позитивные лейкозы и миелодиспластические синдромы: теоретические и клинические аспекты (обзор литературы) / Н.Н. Мамаев, А.И. Шакирова, Е.В. Морозова, Т.Л. Гиндина // Клиническая онкогематология. – 2021. – Т. 14. – № 1. – С. 103–117.
7. Мамаев, Н.Н. Ведущая роль *BAALC*-экспрессирующих клеток-предшественниц в возникновении и развитии посттрансплантационных рецидивов у больных острыми миелоидными лейкозами / Н.Н. Мамаев, А.И. Шакирова, И.М. Бархатов [и др.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2020. – Т. 13. – № 1. – С. 75–88.
8. Мамаев, Н.Н. Роль *BAALC*-экспрессирующих лейкозных клеток-предшественниц в патогенезе миелодиспластических синдромов / Н. Н. Мамаев, М.

В. Латыпова, А. И. Шакирова [и др.] // Клиническая онкогематология. – 2022. – Т. 15. – № 1. – С. 62–68.

9. Мамаев, Н.Н. Гиперэкспрессия гена *WT1* при злокачественных опухолях системы крови: теоретические и клинические аспекты (обзор литературы) / Н.Н. Мамаев, Я.В. Гудожникова, А.В. Горбунова // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2016. – Т. 9. – № 3. – С. 257–264.

10. Миелодиспластический синдром: клинические рекомендации. – М.: Ассоциация онкологов России, 2020. – 94 с.

11. Морозова, Е.В. Новые перспективы в лечении пациентов с миелодиспластическим синдромом промежуточного-2 и высокого риска. / Морозова Е. В., Цветков Н. Ю., Барабанщикова М. В. [и др.] // Онкогематология.. – 2022. – Т. 17. – № 4. – С. 106–117.

12. Паровичникова, Е.Н. Хромосомные аномалии в кроветворных и стромальных клетках-предшественниках при миелодиспластическом синдроме / Е.Н. Паровичникова, М.А. Пименова, А.В. Кохно, В.Г. Савченко // Гематология и трансфузиология. – 2013. – Т. 58. – № 4. – С. 33–40.

13. Цветков, Н.Ю. Прогностическое значение результатов секвенирования нового поколения у пациентов с миелодиспластическим синдромом / Н.Ю. Цветков, Е.В. Морозова, И.М. Бархатов [и др.] // Клиническая онкогематология. — 2020. — Т. 13. – №2. — С. 170–175.

14. Acha, P. Myelodysplastic syndromes with isolated del(5q): value of molecular alterations for diagnostic and prognostic assessment / P. Acha, M. Mallo, F. Sole // *Cancers*. – 2022. – Vol. 14. – № 22. – P. 5531.

15. Akkari, Y. Guiding the global evolution of cytogenetic testing for hematologic malignancies study / Yasmine M. N. Akkari, Linda B. Baughn, Adrian M. Dubuc [et al.] // *Blood*. – 2022. – Vol. 139. – № 15. – P. 2273–2284

16. Aktas, D. Myelodysplastic syndrome associated with monosomy 7 in childhood: a retrospective study / D. Aktas, E. Tuncbilek // *Cancer Genetics and Cytogenetics*. – 2006. – Vol. 171. – № 1. – P. 72–75.



17. Arber, D.A. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia / D.A. Arber, A. Orazi, R. Hasserjian [et al.] // *Blood*. – 2016. – Vol. 127. – № 20. – P. 2391–2405.
18. Arber, D.A. The International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: Integrating Morphological, Clinical, and Genomic Data / D.A. Arber, A. Orazi, R. Hasserjian [et al.] // *Blood*. – 2022. – Vol. 140. – № 11. – P. 1200–1228.
19. Babicka, L. Analysis of complex chromosomal rearrangements in adult patients with MDS and AML by multicolor FISH / L. Babicka, S. Ransdorfova, J. Brezinova [et al.] // *Leukemia Research*. – 2007. – Vol. 31. – № 1. – P. 39–47.
20. Bacher, B. Rare cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndromes / U. Bacher, J. Schanz, F. Bräulke, D. Haase // *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. – 2015. – Vol. 7. – № 1. – P. e2015034.
21. Baldazzi, C. Complex chromosomal rearrangements leading to MECOM overexpression are recurrent in myeloid malignancies with various 3q abnormalities / C. Baldazzi, S. Luatti, E. Zuffa [et al.] // *Genes, Chromosomes & Cancer*. – 2016. – Vol. 55. – № 4. – P. 375–388.
22. Balgobind, B.V. *EVII* overexpression in distinct subtypes of pediatric acute myeloid leukemia / B.V. Balgobind, S. Lugthart, I.H. Hollink [et al.] // *Leukemia*. – 2010. – Vol. 24. – № 5. – P. 942–949.
23. Barouk-Simonet, E. Role of multiplex FISH in identifying chromosome involvement in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias with complex karyotypes: a report on 28 cases / E. Barouk-Simonet, V. Soenen-Cornu, C. Roumier [et al.] // *Cancer Genetics and Cytogenetics*. – 2005. – Vol. 157. – № 2. – P. 118–126.
24. Belli, C.B. Partial and total monosomal karyotypes in myelodysplastic syndromes: Comparative prognostic relevance among 421 patients / C.B. Belli, R. Bengio, P.N. Aranguren [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2011. – Vol. 86. – № 7. – P. 540–545.
25. Bernasconi, P. Incidence and prognostic significance of karyotype abnormalities in de novo primary myelodysplastic syndromes: a study on 331 patients

from a single institution / P. Bernasconi, C. Klersy, M. Boni [et al.] // *Leukemia*. – 2005. – Vol. 19. – № 8. – P. 1424–1431.

26. Bersanelli, M. Classification and personalized prognostic assessment on the basis of clinical and genomic features in myelodysplastic syndromes / M. Bersanelli, E. Travaglino, M. Meggendorfer [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2021. – Vol. 39. – № 11. – P. 1223–1233.

27. Bluteau, O. A landscape of germ line mutations in a cohort of inherited bone marrow failure patients / O. Bluteau, M. Sebert, T. Leblanc [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 131. – № 7. – P. 717–732.

28. Bortnick, R. Hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents with GATA2-related myelodysplastic syndrome / R. Bortnick, M. Wlodarski, V. de Haas [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2021. – Vol. 56. – № 11. – P. 2732–2741.

29. Boulwood, J. Molecular mapping of uncharacteristically small 5q deletions in two patients with the 5q-syndrome: delineation of the critical region on 5q and identification of a 5q-breakpoint / J. Boulwood, C. Fidler, S. Lewis [et al.] // *Genomics*. – 1994. – Vol. 19. – № 3. – P. 425–432.

30. Braulke, F. Frequency of del(12p) is commonly underestimated in myelodysplastic syndromes: results from a German diagnostic study in comparison with an international control group / F. Braulke, C. Muller-Thomas, K. Gotze [et al.] // *Genes Chromosomes and Cancer*. – 2015. – Vol. 54. – № 12. – P. 809–817.

31. Breems, D. Acute myeloid leukemia with monosomal karyotype at the far end of the unfavorable prognostic spectrum / D.A. Breems, B. Lowenberg // *Haematologica*. – 2011. – Vol. 96. – № 4. – P. 491–493.

32. Breems, D.A. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype / D.A. Breems, W.L.J. van Putten, G.E. de Greef [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2008. – Vol. 26. – № 29. – P. 4791–4797.

33. Brezinova, J. Deletion of the long arm but not the 5q31 region of chromosome 5 in myeloid malignancies / J. Brezinova, Z. Zemanova, D. Bystricka [et al.] // *Leukemia Research*. – 2012. – Vol. 36. – № 3. – P. 43–45.

34. Casalegno-Gardu, R. Immune responses to WT1 in patients with AML or MDS after chemotherapy and allogeneic stem cell transplantation / R. Casalegno-Gardu, A. Schmitt, A. Spitschak [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2015. – Vol. 138. – № 5. – P. 1792–1801.
35. Cordoba, I. Better prognosis for patients with del(7q) than for patients with monosomy 7 in myelodysplastic syndrome / I. Cordoba, J.R. González-Porras, B. Nomdedeu [et al.] // *Cancer.* – 2012. – Vol. 118. – № 1. – P. 127–133.
36. De Braekeleer, M. 3q26/*EVII* rearrangements in myeloid hemopathies: a cytogenetic review / M. De Braekeleer, M.-J. Le Bris, E. De Braekeleer [et al.] // *Future Oncology.* – 2015. – Vol. 11. – № 11. – P. 1675–1686.
37. De Grouchy, J. Analyses chromosomiques dans l'anémie sideroblastique idiopathique acquise / J. de Grouchy, C. de Nava, R. Zittoun, J. Bousser // *Nouvelle Revue Francaise d'hematologie.* – 1966. – № 6. – P. 367–389.
38. De Marchi, F. Concomitant monitoring of *WT1* and *FLT3-ITD* expression in *FLT3-ITD* Acute Myeloid Leukemia patients: which should we trust as a minimal residual disease marker? / F. De Marchi, A. Candoni, M. Zannier [et al.] // *American Journal of Hematology.* – 2017. – Vol. 92. – № 5. – P. 72–74.
39. Della Porta, M.G. Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with MDS stratified according to the revised IPSS-R / M.G. Della Porta, E.P. Alessandrino, A. Bacigalupo [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 123. – № 15. – P. 2333–2342.
40. Diamantopoulos, P. The prognostic significance of chromosome 17 abnormalities in patients with myelodysplastic syndrome treated with 5-azacytidine: Results from the Hellenic 5-azacytidine registry / P. Diamantopoulos, D. Koumbi, I. Kotsianidis // *Cancer Med.* — 2019. — Vol. 8. — № 5. — P. 2056–2063.
41. Dicker, F. Trisomy 13 is strongly associated with *AML1/RUNX1* mutations and increased *FLT3* expression in acute myeloid leukemia / F. Dicker, C. Haferlach, W. Kern [et al.] // *Blood.* – 2007. – Vol. 110. – № 4. – P. 1308–1316.
42. Gadji, M. From cellular morphology to molecular and epigenetic anomalies of myelodysplastic syndromes / M. Gadji, A.R. Pozzo // *Genes Chromosomes Cancer.* – 2019. – Vol. 58. – № 7. – P. 474–483.

43. Galvan, A.B. Does monosomy 5 really exist in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia? / A.B. Galvan, M. Mallo, L. Arenillas [et al.] // *Leukemia Research*. – 2010. – Vol. 34. – № 9. – P. 1242–1245.
44. Garderet, L. Allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic patients with a 5Q deletion / L. Garderet, D. Ziagkos, A. van Biezen [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2017. – Vol. 24. – № 3. – P. 507–513.
45. Geelani, S.A. Myelodysplastic syndrome with monosomy 7 – a rare case of morphological and cytogenetic remission with lenalidomide / S.A. Geelani, F. Manzoor, N. Bashir [et al.] // *Case Study Report*. – 2015. – Vol. 5. – № 1. – P. 1–4.
46. Germing, U. Survival, prognostic factors and rates of leukemic transformation in 381 untreated patients with MDS and del(5q): a multicenter study / U. Germing, M. Lauseker, B. Hildebrandt [et al.] // *Leukemia*. – 2012. – Vol. 26. – № 6. – P. 1286–1292.
47. Granada, I. Cytogenetics in the genomic era / I. Granada, L. Palomob, N. Ruiz-Xivilléa [et al.] // *Best Practice & Research Clinical Haematology*. – 2020. – Vol. 33. – № 3. – P. 101–116.
48. Greenberg, P.L. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes / P.L. Greenberg, H. Tuechler, J. Schanz [et al.] // *Blood*. – 2012. – Vol. 120. – № 12. – P. 2454–2465.
49. Haase, D. Cytogenetic features in myelodysplastic syndromes / D. Haase // *Annals of Hematology*. – 2008. – Vol. 87. – № 7. – P. 515–526.
50. Haase, D. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients / D. Haase, U. Germing, J. Schanz [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 110. – № 13. – P. 4385–4395.
51. Haase, D. TP53 mutation status divides myelodysplastic syndromes with complex karyotypes into distinct prognostic subgroups / D. Haase, K.E. Stevenson, D. Neuberg [et al.] // *Leukemia*. – 2019. – Vol. 33. – № 7. – P. 1747–1758.
52. Hosokawa, K. Favorable outcome of patients who have 13q deletion: a suggestion for revision of the WHO 'MDS-U' designation / K. Hosokawa, T. Katagiri, N. Sugimori [et al.] // *Haematologica*. – 2012. – Vol. 97. – № 12. – P. 1845–1849.

53. Hosono, N. Genetic abnormalities and pathophysiology of MDS / N. Hosono // *International Journal of Clinical Oncology*. – 2019. – Vol. 24. – № 8. – P. 885–892.
54. Hsiao, H.H. Additional cytogenetic changes and previous genotoxic exposure predict unfavorable prognosis in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with der(1;7)(q10;p10) / H.-H. Hsiao, G. Sashida, Y. Ito [et al.] // *Cancer Genetics and Cytogenetics*. – 2006. – Vol. 165. – № 2. – P. 161–166.
55. Hwang, K.-L. Monosomal and complex karyotypes as prognostic parameters in patients with International Prognostic Scoring System higher risk myelodysplastic syndrome treated with azacitidine / K.-L. Hwang, M.-K. Song, H.-J. Shin [et al.] // *Blood Res.* — 2014. — Vol. 49. — № 4. — C. 234-240.
56. Inaba, T. The enigma of monosomy 7 / T. Inaba, H. Honda, H. Matsui // *Blood*. – 2018. – Vol. 131. – № 26. – P. 2891–2898.
57. ISCN Online [Electronic resource]: website. – URL: <https://iscn.karger.com/> (date of treatment: 16.04.2023).
58. Itonaga, H. Clinical impact of the loss of chromosome 7q on outcomes of patients with myelodysplastic syndromes treated with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / H. Itonaga, K. Ishiyama, K. Aoki [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2019. – Vol. 54. – № 9. – P. 1471–1481.
59. Jadersten, M. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression / M. Jadersten, L. Saft, A. Smith [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2011. – Vol. 29. – № 15. – P. 1971–1979.
60. Jeon, M. Performance evaluation and clinical impact of the OncoPrint Myeloid Research Assay for gene expression analysis in myeloid haematologic malignancies / M. Jeon, E.Yu, D. Kim [et al.] // *J Clin Pathol*. – 2022. – URL: <https://jcp.bmj.com/content/early/2022/08/23/jcp-2022-208425>.
61. Jerez, A. Topography, clinical, and genomic correlates of 5q myeloid malignancies revisited / A. Jerez, L.P. Gondek, A.M. Jankowska [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30. – № 12. – P. 1343–1349.

62. Jiang, Y. The Wilms' tumor gene-1 is a prognostic factor in myelodysplastic syndrome: a meta analysis / Y. Jiang, L. Liu, J. Wang [et al.] // *Oncotarget*. – 2018. – Vol. 9. – № 22. – P. 16205-16212.
63. Kardos, G. Refractory anemia in childhood: a retrospective analysis of 67 patients with particular reference to monosomy 7 / G. Kardos, I. Baumann, S.J. Passmore [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 102. – № 6. – P. 1997–2003.
64. Kawankar, N. Cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndrome: an overview / N. Kawankar, B.R. Vundinti // *Hematology*. – 2011. – Vol. 16. – № 3. – P. 131–138.
65. Khoury, J. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms / J. Khoury, E. Solary, O. Abla [et al.] // *Leukemia*. – 2022. – Vol. 36. – P. 1703–1719.
66. Koenecke, C. Impact of the revised International Prognostic Scoring System, cytogenetics and monosomal karyotype on outcome after allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia evolving from myelodysplastic syndromes: a retrospective multicenter study of the European Society of Blood and Marrow Transplantation / C. Koenecke, G. Göhring, L.C. de Wreede [et al.] // *Haematologica*. – 2015. – Vol. 100. – № 3. – P. 400–408.
67. Konuma, T. Outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults patients with myelodysplastic syndrome harboring trisomy 8 / T. Konuma, Y. Miyazaki, N. Uchida [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2017. – Vol. 23. – № 1. – P. 75–80.
68. Mamaev, N.N. Combined trisomy 1q and monosomy 17p due to translocation t(1;17) in a patient with myelodysplastic syndrome / N. N. Mamaev, S. E. Mamaeva, V. A. Pavlova, D. Patterson // *Cancer Genet Cytogenet*. — 1988. —Vol. 37. — № 7. — P. 21-5.
69. Mamaev, N.N. New opportunities for assay of leukemia initiating cells (LICs) participating in post-transplant relapse development in the patients with acute myeloid leukemia / N.N. Mamaev, A.I. Shakirova, I.M. Barkhatov, T.L. Gindina // *The 3rd Annual Meeting of the International Academy for Clinical Hematology IACH: Focus on Leukemia*. – Paris, 2020. – P. 388–396.

70. Mamaev, N.N. Quantitative study of *BAALC*- and *WT1*-expressing cell precursors in the patients with different cytogenetic and molecular AML variants treated with Gemtuzumab ozogamicin and hematopoietic stem cell transplantation / N.N. Mamaev, A.I. Shakirova, T.L. Gindina [et al.] // Cellular Therapy and Transplantation. – 2021. – Vol. 10. – № 1. – P. 55–62.
71. Manor, E. Myelodysplastic syndrome (MDS) associated with EBV infection in a pediatric patient / E. Manor // Open Journal of Pediatrics. – 2013. – Vol. 3. – № 1. – P. 28–34.
72. Marino, F. Multitarget fluorescence in situ hybridization diagnostic applications in solid and hematological tumors / F. Z. Marino, M. Brunelli, G. Rossi [et al.] // Expert Review of Molecular Diagnostics. – 2021. – Vol. 21. – № 2. – P. 161–173.
73. McDonald, S. Acquired monosomy 7 myelodysplastic syndrome in a child with clinical features suggestive of dyskeratosis congenita and IMAGE association / S. McDonald, D.B. Wilson, E. Pumbo [et al.] // Pediatric Blood & Cancer. – 2010. – Vol. 54. – № 1. – P. 154–157.
74. McQuilten, Z.K. Monosomal karyotype predicts inferior survival independently of a complex karyotype in patients with myelodysplastic syndromes / Z.K. McQuilten, V. Sundararajan, N. Andrianopoulos [et al.] // Cancer. – 2015. – Vol. 121. – № 17. – P. 2892–2899.
75. Minetto, P. Combined assessment of *WT1* and *BAALC* gene expression at diagnosis may improve leukemia-free survival prediction in patients with myelodysplastic syndromes / P. Minetto, F. Guolo, M. Clavio [et al.] // Leukemia Research. – 2015. – Vol. 39. – № 8. – P. 866–873.
76. Montalban-Bravo, G. Myelodysplastic syndromes: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management / G. Montalban-Bravo, G. Garcia-Manero // Am J Hematol. – 2018. – Vol. 93. – P. 129–147.
77. Mossner, M. Prevalence, clonal dynamics and clinical impact of TP53 mutations in patients with myelodysplastic syndrome with isolated deletion (5q) treated with lenalidomide: results from a prospective multi-center study of the German MDS Study Group (GMDS) / M. Mossner, J.-C. Jann, D. Nowak [et al.] // Leukemia. – 2016. – Vol. 30. – № 9. – P. 1956–1959.

78. Nagata, Y. Germline loss-of-function SAMD9 and SAMD9L alterations in adult myelodysplastic syndromes / Y. Nagata, S. Narumi, Y. Guan [et al.] // *Blood* 2018. – Vol. 132. – № 21. – P. 2309–2313.
79. Ogawa, S. Genetics of MDS / S. Ogawa // *Blood*. – 2019. – Vol. 133. – № 10. – P. 1049–1059.
80. Pasquini, M.C. Hematopoietic cell transplantation outcomes in monosomal karyotype myeloid malignancies / M.C. Pasquini, M.-J. Zhang, B.C. Medeiros [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2016. – Vol. 22. – № 2. – P. 248–257.
81. Pastor, V.B. Constitutional SAMD9L mutations cause familial myelodysplastic syndrome and transient monosomy 7 / V.B. Pastor, S.S. Sahoo, J. Boklan [et al.] // *Haematologica*. – 2018. – Vol. 103. – № 3. – P. 427–437.
82. Patnaik, M.M. Monosomal karyotype in myelodysplastic syndromes, with or without monosomy 7 or 5, is prognostically worse than an otherwise complex karyotype / M.M. Patnaik, C.A. Hanson, J.M. Hodnefield [et al.] // *Leukemia*. – 2011. – Vol. 25. – № 2. – P. 266–270.
83. Pozdnyakova, O. Cytogenetic abnormalities in a series of 1029 patients with primary myelodysplastic syndromes: a report from the US with a focus on some undefined single chromosomal abnormalities / O. Pozdnyakova, P.M. Miron, G. Tang [et al.] // *Cancer*. – 2008. – Vol. 113. – № 12. – P. 3331–3340.
84. Prem, S. Allogeneic stem cell transplant in myelodysplastic syndrome-factors impacting survival / S. Prem, E.G. Atenafu, W. Lam [et al.] // *European Journal of Haematology*. – 2020. – Vol. 104. – № 2. – P. 116–124.
85. Rautenberg, C. Prognostic impact of pretransplant measurable residual disease assessed by peripheral blood *WT1*-mRNA expression in patients with AML and MDS / C. Rautenberg, M. Lauseker, J. Kaivers [et al.] // *Eur J Haematol*. – 2021. – Vol. 107. – № 2. – P. 283-292.
86. Sallman, D.A. Hypomethylating agent therapy in myelodysplastic syndromes with chromosome 3 abnormalities / D.A. Sallman, J. Barnard, N.H. Al Ali [et al.] // *Clinical Lymphoma, Myeloma Leukemia*. – 2020. – Vol. 20. – № 9. – P. 597–605.
87. Sanchez-Castro, J. Characterization and prognostic implication of 17 chromosome abnormalities in myelodysplastic syndrome / J. Sanchez-Castro, V. Marco-



Betes, X. Gomez-Arbones [et al.] // *Leukemia Research*. – 2013. – Vol. 37. – № 7. – P. 769–776.

88. Saumell, S. Prognostic value of trisomy 8 as a single anomaly and the influence of additional cytogenetic aberrations in primary myelodysplastic syndromes / S. Saumell, L. Florensa, E. Luno [et al.] // *British Journal of Haematology*. – 2012. – Vol. 159. – № 3. – P. 311–321.

89. Schanz, J. Detailed analysis of clonal evolution and cytogenetic evolution patterns in patients with myelodysplastic syndromes (MDS) and related myeloid disorders / J. Schanz, N. Cevik, C. Fonatsch [et al.] // *Blood Cancer Journal*. – 2018. – Vol. 8. – № 3. – P. 28.

90. Schanz, J. Monosomal karyotype in MDS: explaining the poor prognosis? / J. Schanz, H. Tuchler, F. Sole [et al.] // *Leukemia*. – 2013. – Vol. 27. – № 10. – P. 1988–1995.

91. Schanz, J. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge / J. Schanz, H. Tuchler, F. Sole [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30. – № 8. – P. 820–829.

92. Second international workshop on chromosomes in leukemia // *Cancer Research*. – 1980. – Vol. 40. – № 12. – P. 4826–4827.

93. SEER\*Stat Databases: November 2017 submission [Electronic resource] // *Nation Cancer Institute: Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*: [website]. – URL: <https://seer.cancer.gov/data-software/documentation/seerstat/nov2017/> (date of treatment: 16.04.2023).

94. Shallis, R.M. The genetic and molecular pathogenesis of myelodysplastic syndromes / R.M. Shallis, R. Ahmad, A.M. Zeidan // *European Journal of Haematology*. – 2018. – Vol. 101. – № 3. – P. 260–271.

95. Sloand, E.M. CD34+ cells from patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome (MDS) express early apoptotic markers but avoid programmed cell death by upregulation of antiapoptotic proteins / E.M. Sloand, L. Pfannes, G. Chen [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 109. – № 6. – P. 2399–2405.

96. Slovaka, M. L. Does MDS with der(1;7)(q10;p10) constitute a distinct risk group? A retrospective single institutional analysis of clinical/pathologic features compared to -7/del(7q) MDS / M.L. Slovak, M. O'Donnell, D.D. Smith, K. Gaal // *Cancer Genetics and Cytogenetics*. – 2009. – Vol. 193. – № 2. – P. 78–85.
97. Song, Q. Techniques for detecting chromosomal aberrations in myelodysplastic syndromes / Q. Song, M. Peng, Y. Chu, S. Huang // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – № 37. – P. 62716–62729.
98. Stewart, B. Outcome following haematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplasia and del(5q) karyotypes / B. Stewart, M. Verdugo, K.A. Guthrie [et al.] // *British Journal of Haematology*. – 2003. – Vol. 123. – № 5. – P. 879–885.
99. Tanner, S. *BAALC*, the human member of a novel mammalian neuroectoderm gene lineage, is implicated in hematopoiesis and acute leukemia / S. Tanner, J. Austin, G. Leone [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2001. – Vol. 98. – № 24. – P. 13901–13906
100. Thol, F. Prognostic significance of combined *MNI*, *ERG*, *BAALC*, and *EVII* (MEBE) expression in patients with myelodysplastic syndromes / F. Thol, H. Yun, A.-K. Sonntag [et al.] // *Ann Hematol*. – 2012. – Vol. 91. – № 1. – P. 1221–1233.
101. Trobaugh-Lotrario, A.D. Monosomy 7 associated with pediatric acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndrome (MDS): successful management by allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HSCT) / A.D. Trobaugh-Lotrario, M. Kletzel, R.R. Quinones [et al.] // *Bone Marrow Transplantation*. – 2005. – Vol. 35. – № 2. – P. 143–149.
102. Trost, D. Molecular cytogenetic profiling of complex karyotypes in primary myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia / D. Trost, B. Hildebrandt, M. Beier [et al.] // *Cancer Genetics and Cytogenetics*. – 2006. – Vol. 165. – № 1. – P. 51–63.
103. Ustun, C. Monosomal karyotype at the time of diagnosis or transplantation predicts outcomes of allogeneic hematopoietic cell transplantation in myelodysplastic syndrome / C. Ustun, B.J. Trottier, Z. Sachs [et al.] // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2015. – Vol. 21. – № 5. – P. 866–872.

104. Van Den Berghe, H. Distinct haematological disorder with deletion of long arm of no. 5 chromosome / H. van den Berghe, J.J. Cassiman, G. David [et al.] // *Nature*. – 1974. – Vol. 251. – № 5474. – P. 437–438.
105. Van Limbergen, H. Identification of cytogenetic subclasses and recurring chromosomal aberrations in AML and MDS with complex karyotypes using M-FISH / H. Van Limbergen, B. Poppe, L. Michaux [et al.] // *Genes, Chromosomes & Cancer*. – 2002. – Vol. 33. – № 1. – P. 60–72.
106. Veryaskina, Y.A. Prognostic markers of myelodysplastic syndromes / Y.A. Veryaskina, S.E. Titov, I.B. Kovynev [et al.] // *Medicina (Kaunas)*. – 2020. – Vol. 56. – № 8. – P. 376–392.
107. Warnstorf, D. Unbalanced translocation der(5;17) resulting in a *TP53* loss as recurrent aberration in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with complex karyotype / D. Warnstorf, R. Bawadi, A. Schienke [et al.] // *Genes Chromosomes Cancer*. — 2021. — Vol. 6. — № 60. — P. 452-457.
108. Wlodarski, M.W. Monosomy 7 in pediatric myelodysplastic syndromes / M.W. Wlodarski, S.S. Sahoo, C.M. Niemeyer // *Hematology-Oncology Clinics of North America*. – 2018. – Vol. 32. – № 4. – P. 729–743.
109. Wlodarski, M.W. Prevalence, clinical characteristics, and prognosis of GATA2-related myelodysplastic syndromes in children and adolescents / M.W. Wlodarski, S. Hirabayashi, V. Pastor [et al.] // *Blood*. – 2016. – Vol. 127. – № 11. – P. 1387–1397.
110. Xing, R. Monosomal karyotype is an independent predictor of survival in patients with higher-risk myelodysplastic syndrome / R. Xing, C. Li, R.P. Gale [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2014. – Vol. 89. – № 10. – P. 163-168.
111. Xu, W. Multiplex fluorescence *in situ* hybridization in identifying chromosome involvement of complex karyotypes in de novo myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia / W. Xu, J.-Y. Li, Q. Liu [et al.] // *International Journal of Laboratory Hematology*. – 2010. – Vol. 32. – № 1. – Pt. 1. – P. 86–95.
112. Yoshizato, T. Genetic abnormalities in myelodysplasia and secondary acute myeloid leukemia: impact on outcome of stem cell transplantation / T. Yoshizato, Y. Nannya, Y. Atsuta [et al.] // *Blood*. – 2017. – Vol. 129. – № 17. – P. 2347–2358.

113. Yue, Q.F. Clinical prognostic factors in 86 Chinese patients with primary myelodysplastic syndromes and trisomy 8: a single institution experience / Q.F. Yue, L. Chen, X.M. She [et al.] // *Yonsei Medical Journal*. – 2016. – Vol. 57. – № 2. – P. 358–364.
114. Zahid, M.F. Cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndromes: an overview / M.F. Zahid, U.A. Malik, M. Sohail [et al.] // *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research*. – 2017. – Vol. 11. – № 3. – P. 231–239.
115. Zemanova, Z. Involvement of deleted chromosome 5 in complex chromosomal aberrations in newly diagnosed myelodysplastic syndromes (MDS) is correlated with extremely adverse prognosis / Z. Zemanova, K. Michalova, H. Buryova [et al.] // *Leukemia Research*. – 2014. – Vol. 38. – № 5. – P. 537–544.
116. Zemanova, Z. Mechanism of formation of complex chromosomal aberrations in patients with myelodysplastic syndromes (MDS): clonal evolution or chromothripsis? / Z. Zemanova, K. Michalova, J. Brezinova [et al.] // *Leukemia Research*. – 2015. – Vol. 39. – № 1. – P. 86–87.
117. Zhang, C. Multicolor Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) Approaches for Simultaneous Analysis of the Entire Human Genome / C. Zhang, E. Cerveira, W. Rens [et al.] // *Current Protocols in Human Genetics*. – 2018. – e70. doi: 10.1002/cphg.70.
118. Zhang, T. Monosomal karyotype of chromosome 5/7 was an independent poor prognostic factor for Chinese myelodysplastic syndrome patients / T. Zhang, Y. Xu, J. Pan [et al.] // *Cancer Genetics*. – 2016. – Vol. 209. – № 9. – P.423–42