

## Παθγένεια των Μυελοδυσπλαστικών Συνδρόμων I. Ο ρόλος της απόπτωσης

Αγάπη Παρχαρίδου<sup>1</sup>, Παναγιώτα-Εφαίνη Τσόπλου<sup>2</sup>, Αργύρης Συμεωνίδης<sup>3</sup>

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ:** Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (ΜΔΣ) αποτελούν ετερογενή ομάδα νοσημάτων, με κοινές κλινικές εκδηλώσεις κυτταροπενίες, κλωνική αιμοποίηση και εξέλιξη σε οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ). Η προσέγγιση της παθγένειας τους τα τελευταία χρόνια ανέδειξε ότι τα νοσήματα αυτά προκύπτουν από διαταραχή τόσο των αιμοποιητικών κυττάρων όσο και του μυελικού μικροπεριβάλλοντος. Καθοριστικό εύρημα ήταν η διαπίστωση σημαντικού βαθμού απόπτωσης των αιμοποιητικών κυττάρων στο μυελό, σαν αποτέλεσμα παρακρινών και αυτοκρινών επιδράσεων ποικίλων παραγόντων, υιοθετώντας το μοντέλο του σπόρου (seed) και του εδάφους (soil), όπως παραστατικά έχει περιγραφεί για τη νεοπλασματική μεταμόρφωση. Το κυρίως μοντέλο του παρακρινούς μηχανισμού συνιστούν οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες στο μυελικό μικροπεριβάλλον, οι οποίες όμως δεν μπορούν να ερμηνεύσουν την απόπτωση των κλωνικών μυελικών κυττάρων με τον αυτοκρινή μηχανισμό. Νεότερες θεωρίες υποστηρίζουν ότι η απόπτωση μπορεί, μεταξύ των άλλων μηχανισμών, να ενεργοποιηθεί και ως αποτέλεσμα απορρύθμισης της ριβοσωματικής βιογένεσης και της απάντησης του κυττάρου στο stress που υφίστανται μέσω της μεταγωγής μηνύματος του γονιδίου p53. Διαταραγμένη ριβοσωματική βιογένεση σαν βασικός παθογενετικός μηχανισμός έχει βρεθεί σε διάφορες συγγενείς αναιμίες, και πρόσφατα προς μεγάλη έκπληξη διαπιστώθηκε ότι και οι ασθενείς με ΜΔΣ- Del(5q) έχουν απλο-ανεπάρκεια της ριβοσωματικής πρωτεΐνης RPS14. Ανάλογα ευρήματα διαταραχής του σχηματισμού ριβοσωματιών διαπιστώθηκαν και σε άλλες ομάδες ασθενών με ΜΔΣ, καθιστώντας έτσι το εύρημα αυτό μια νέα κοινή διαταραχή με παθογενετική σημασία. Επιπρόσθετα, ενοχοποιούνται και άλλες γενετικές ανωμαλίες όπως μονογονεϊκή δισωμία, μεταλλάξεις του TET2 γονιδίου και επιγενετικά φαινόμενα, που επίσης συναντώνται σε πολλούς τύπους ΜΔΣ. Η ανασκόπηση αυτή συνοψίζει τα διαφορετικά μοριακά φαινόμενα που επηρεάζουν κατά γνωστό η άγνωστο μέχρι στιγμής τρόπο τη συμπεριφορά του κυττάρου στα ΜΔΣ και την έκφραση της απόπτωσης σε αυτά.

Haema 2011; 2(2): 153-161 Copyright EAE

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρόοδοι της βιολογίας έχουν συμβάλει σημαντικά στην κατανόηση των υποκείμενων παθογενετικών μηχανισμών πολλών νοσημάτων. Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (ΜΔΣ), μια ετερογενής ομάδα αιματολογικών δυσκρασιών, αποτελούν ένα τέτοιο παράδειγμα. Τα νοσήματα αυτά εμφανίζονται κυρίως σε ηλικιωμένους και

χαρακτηρίζονται από ποικίλης βαρύτητας κυτταροπενίες, ενώ περίπου 30% των ασθενών εξελίσσεται σε οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ). Η αρχική βλάβη επισυμβαίνει στο επίπεδο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου, το οποίο αποκτά «πλεονέκτημα ανάπτυξης» σε σχέση με τα υπόλοιπα κύτταρα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κλώνου παθολογικών κυττάρων και κλωνικής αιμοποίησης. Μελέτες κινητικής του κυτταρικού κύκλου σε προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα ασθενών με ΜΔΣ έδειξαν αυξημένη δραστηριότητα πολλαπλασιασμού, και μεγαλύτερο ποσοστό κυττάρων στην S-φάση, από ότι αντίστοιχα κύτταρα φυσιολογικών ατόμων. Το παράδοξο αυτό φαινόμενο, της περιφερικής (παν)κυτταροπενίας, συγχρόνως με τον αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού των προγονικών κυττάρων, προσπάθησαν να διαλευκάνουν πλείστες μελέτες

<sup>1</sup>Επιμελήτρια Α', ΕΣΥ, 3η Παθολογική Κλινική Νοσοκομείο Κοργιαλένιο - Μπενάκειο, ΝΕΕΣ Αθήνα, agapipar@gmail.com

<sup>2</sup>ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ, Τμήμα Γενετικής, Αθήνα

<sup>3</sup>Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογίας Πανεπιστημίου Πατρών, Αιματολογικό Τμήμα Παθολογικής Κλινικής Πανεπιστημίου Πατρών, Ρίο Πατρών

Διεύθυνση Αλληλογραφίας: Ιωάννης Κοτσιανίδης, Δραγάνα, Αλεξανδρούπολη, 68100, e-mail: ikotsian@med.duth.gr, jankots@yahoo.gr

και έρευνες των τελευταίων δεκαετιών.

Η μελέτη του φαινομένου του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου/απόπτωσης, ήρθε να φωτίσει αυτή την άγνωστη πλευρά της παθογένειας των ΜΔΣ, αλλά και να θέσει νέους προβληματισμούς. Η απόπτωση των αιμοποιητικών κυττάρων εντός του μυελικού περιβάλλοντος αποτελεί τη βασική ερμηνεία αυτής της παραδοξότητας και το κύριο βιολογικό χαρακτηριστικό, που συναντάται σε ποικίλο βαθμό στις διάφορες κατηγορίες των ΜΔΣ, ενώ παράλληλα οριοθετεί τα φυσιολογικά, δυσπλαστικά και λευχαιμικά κύτταρα, δίνοντας για πρώτη φορά μια ιδιαίτερη υπόσταση στα ΜΔΣ από βιολογική άποψη.

Ακολούθησαν πλήθος μελετών, που διαφώτισαν περαιτέρω τη βιολογία των ΜΔΣ. Έτσι, η έναρξη της νόσου σχετίζεται με απορύθμιση διαφορετικών ενδοκυττάρων μεταβολικών οδών (pathways), ορισμένοι από τις οποίες ακόμα διερευνώνται ή παραμένουν άγνωστοι. Ως πιθανοί παθογενετικοί μηχανισμοί θεωρούνται μεταλλάξεις σε λειτουργικές περιοχές πρωτο-ογκογονιδίων, διαταραχές στη λειτουργία των μιτοχονδρίων και στο μικροπεριβάλλον του μυελού και απορρύθμιση του μηχανισμού της απόπτωσης<sup>1</sup>. Σε μοριακό επίπεδο πλήθος γονιδίων, όπως τα CDKN2B, TET2, EVI1, NRAS, TP53 και FLT3 παρουσιάζουν τροποποιημένη λειτουργία, λόγω μεταλλάξεων ή ελλείψεων στις δομικές τους περιοχές ή μεθυλίωσης του υποκινητή τους. Καθεμιά από τις παραπάνω μεταβολές στο ένα αλληλόμορφο μπορεί να συνοδεύεται από επιγενετική μεταβολή στο άλλο και έτσι να επηρεάζεται καθοριστικά η έκφραση ογκοκατασταλτικών γονιδίων<sup>2</sup>. Ο πίνακας 1 συνοψίζει τα βιολογικά φαινόμενα που διαπιστώνονται στα ΜΔΣ.

## ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΣΤΑ ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

Η αρχική διαπίστωση ήταν ότι γυναίκες με ΜΔΣ, ετεροζυγώτες για το ένζυμο G6PD, εμφάνιζαν κλωνική αιμοποίηση, εύρημα που οδήγησε στην υπόθεση ότι τα ΜΔΣ είναι κλωνική νόσος. In vivo μελέτες του κυτταρικού κύκλου, που περιελάμβαναν εγχύσεις βρωμο- και ιωδο- δεοξουριδίνης, αποκάλυψαν ότι υπάρχει ένας κλώνος ταχέως πολλαπλασιαζόμενων προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων στον μυελό<sup>3-5</sup>. Στις αρχές της δεκαετίας του '90, βρέθηκε ότι ο αυξημένος πολλαπλασιασμός των αιμοποιητικών κυττάρων των ασθενών με ΜΔΣ, συνοδεύεται και από αυξημένη απόπτωση των ίδιων κυττάρων<sup>6,7,8</sup>. Η απόπτωση μελετήθηκε σε όλες τις κατηγορίες των ΜΔΣ και βρέθηκε περισσότερο αυξημένη στα χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ, ενώ στις κατηγορίες με αυξημένο ποσοστό βλαστών ελαττωνόταν. Όπου η απόπτωση ήταν αυξημένη, πρωταγωνιστούσαν πολλές προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως ο TGF-β, ο TNF-α και η IL-1α, οι οποίες μάλιστα υπερεκφράζονταν στον μυελό των

### Πίνακας 1. Βιολογικά φαινόμενα που παρατηρούνται στα ΜΔΣ

- Κλωνική αιμοποίηση
- Διαταραγμένος κυτταρικός πολλαπλασιασμός - Απόπτωση
- Διαταραχές της μιτοχονδριακής λειτουργίας
- Παθολογικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί / ανοσολογικές διαταραχές
- Παθολογικό profile κυτταροκινών στον μυελό
- Διαταραχή της αγγειογένεσης του μυελού
- Ποικίλες γενετικές βλάβες
- Επιγενετικές βλάβες

ασθενών αυτών<sup>8-11</sup>. Ανάλογα διαφοροποιείται η έκφραση και των διαφόρων αποπτωτικών δεικτών, όπως έκφραση γονιδίων, μόρια προσκόλλησης και κυτταρικοί υποδοχείς<sup>12</sup>.

Υπήρξαν πολλές προσπάθειες για την ερμηνεία του παράδοξου αυτού φαινομένου. Έχει προταθεί ότι η γενεσιουργός βλάβη που συμβαίνει στο αρχέγονο κύτταρο, του προσδίδει πλεονέκτημα ανάπτυξης<sup>8</sup>. Ο TNF-α παίζει πολύ σημαντικό ρόλο και διαφοροποιεί τη συμπεριφορά των κυττάρων, οδηγώντας τα σε αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τέλος σε μονοκλωνικότητα. Τα ωριμότερα κύτταρα δέχονται την επίδραση ποικίλων κυτταροκινών, και άλλων δυναμικά προ-αποπτωτικών ερεθισμάτων, με ποικίλη απάντηση σε αυτά. Έτσι, κύτταρα με μεγαλύτερη ευαισθησία πεθαίνουν νωρίς στο περιβάλλον του μυελού, ενώ όσα κατορθώνουν και επιβιώνουν, εξέρχονται, και μάλιστα χαρακτηρίζονται από ανθεκτικότητα στην απόπτωση. Πράγματι, πολυμορφοπύρρηνα ασθενών με ΜΔΣ, που αποτελούν προϊόντα διαφοροποίησης μιας κλωνικής αιμοποίησης, είναι πολύ πιο ανθεκτικά στην απόπτωση, σε σχέση με τα πολυκλωνικά πολυμορφοπύρρηνα υγιών μαρτύρων<sup>13</sup>. Συνοπτικά φαίνεται ότι αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα του μυελού ασθενών με ΜΔΣ, αποκτούν για άγνωστο λόγο πλεονέκτημα ανάπτυξης, με αποτέλεσμα την κλωνική ανάπτυξη και επικράτηση. Θυγατρικά κύτταρα αυτού του κλώνου χαρακτηρίζονται από αυξημένη ευαισθησία στον κυτταρικό θάνατο υπό την επίδραση προ-φλεγμονωδών κυτταροκι-

### Πίνακας 2. Μοριακά φαινόμενα σε ΜΔΣ Χαμηλού Κινδύνου

Αύξηση Έκφρασης	Μείωση Έκφρασης
Apo 2.7 TRAIL	Bcl-2
Fas/CD95	TNFR-2
CFLARs Erk 16	NF-kB
TNFR-1 p38	CFLARL

νών. Στον πίνακα 2, αναφέρονται συνοπτικά τα βασικά βιολογικά χαρακτηριστικά των ΜΔΣ, τα οποία επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα τα φαινόμενα της απόπτωσης, του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης.

## Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΩΝ ΜΔΣ

Η απόπτωση, που πυροδοτείται στο μικροπεριβάλλον του μυελού, ρυθμίζεται σε διάφορα επίπεδα από πρωτεΐνες ογκογονιδίων, αιμοποιητικούς αυξητικούς παράγοντες και από κυτταρικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αιμοποιητικών κυττάρων και κυττάρων του στρώματος, με μόρια προσκόλλησης και κυτταροκίνες<sup>14</sup>. Οι τελευταίες (TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  και TGF- $\beta$ ), ευνοούν τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών, που μέσω οξειδωτικού stress προκαλούν βλάβες στο DNA. Ενδείξεις για τη βλαπτική επίδραση του οξειδωτικού stress στο DNA αποτελούν: 1) η αυξημένη συγκέντρωση μαλονυλ-διαλδεϋδης, που παράγεται από υπεροξείδωση λιπιδίων και ανιχνεύεται στο πλάσμα των ασθενών με ΜΔΣ<sup>15</sup>, 2) η ανίχνευση οξειδωμένων βάσεων του DNA, όπως η 7,8-διυδροξυ-8-οξογουανίνη σε CD34+ και CD34- κύτταρα<sup>16</sup>, αλλά και σε λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος και στα ούρα των ασθενών<sup>17</sup> και 3) τα αυξημένα επίπεδα ROS (Reactive Oxygen Species) και τα ελαττωμένα επίπεδα γλουταθειόνης στα ερυθροκύτταρα και τα αιμοπετάλια<sup>18</sup>. Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν ότι το οξειδωτικό stress έχει καθοριστικό ρόλο στη μη αποδοτική αιμοποίηση των ΜΔΣ<sup>19</sup>. Η χαμηλή συγκέντρωση ενδοκυττάρων αντιοξειδωτικών, μειώνει την ικανότητα επιδιόρθωσης των βλαβών του DNA, οδηγώντας σε γονιδιωματική αστάθεια, που ευνοεί επιπλέον θραύσεις του δίκλωνου DNA<sup>17</sup>.

Σε διαγονιδιακά ποντίκια/μοντέλα ΜΔΣ, η απόπτωση των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων συνδέθηκε με την παραγωγή ROS, που οδηγεί σε έντονο οξειδωτικό stress (π.χ. μέσω φωσφορυλίωσης της MAPK). Αυτό με τη σειρά του ρυθμίζει το ισοζύγιο κυτταρικής ανάπτυξης/ απόπτωσης των φυσιολογικών και παθολογικών προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων. Συναγορητικό των παραπάνω είναι ότι η in vitro εφαρμογή αναστολέων της φωσφορυλίωσης της MAPK, μειώνει δραστικά την απόπτωση των CD34+ κυττάρων ασθενών με ΜΔΣ, αυξάνοντας τον σχηματισμό ερυθροποιητικών και κοκκυτταρικών αποικιών<sup>20</sup>.

Μολονότι πολλά καθοριστικά σημεία του μηχανισμού δράσης των ROS δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένα, μια σειρά μοριακών μεταβολών, όπως υπερέκφραση προ-αποπτωτικών κυτταροκινών, ενεργοποίηση ογκογονιδίων και «ατέλειες» των κυττάρων του στρώματος, συμβάλλουν μαζί με άλλους παράγοντες στην πρόκλη-

ση οξειδωτικού stress, που οδηγεί σε αποπτωτικό θάνατο τα κύτταρα των ΜΔΣ<sup>19</sup>.

## ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΗ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΣΙΔΗΡΟΥ - Η ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΜΔΣ

Εντός των μιτοχονδρίων υπάρχει μία ειδική μιτοχονδριακή φερριτίνη (FtMt) που διαθέτει αντιοξειδωτική δράση, ενθουλακώνοντας τον πλεονάζοντα σίδηρο και αναστέλλοντας την επαγωγή οξειδωτικού stress στον ενδομιτοχονδριακό χώρο, προστατεύοντας έτσι τα κύτταρα από την ενεργοποίηση της απόπτωσης<sup>21</sup>. Σε ασθενείς με RARS έχουν παρατηρηθεί διαταραχές του μεταβολισμού του σιδήρου και συσσώρευση του στους ερυθροβλάστες. Πιθανώς γι' αυτό τον λόγο παρατηρείται υπερέκφραση της FtMt, σε μια προσπάθεια να προστατεύσει τα μιτοχόνδρια από καταστροφή του DNA τους, και να αυξήσει την αντοχή τους στο οξειδωτικό stress. Αν όμως ανασταλεί η βιοσύνθεση της αίμης, η περαιτέρω συσσώρευση σιδήρου μπορεί να προκαλέσει αποδόμηση της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, απελευθέρωση κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα, ενεργοποίηση των εκτελεστικών κασπασών και πυροδότηση της απόπτωσης, αναδεικνύοντας έτσι έναν πολύ πιο σύνθετο μηχανισμό ρύθμισης της απόπτωσης στα ΜΔΣ<sup>21</sup>. Πολλές μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία (αυξημένη παραγωγή ROS και συσσώρευση σιδήρου) παίζει καθοριστικό ρόλο στην παθογένεια της αναιμίας της RARS<sup>22,23</sup>. Είναι πιθανό η απόπτωση να ελέγχει την ομοιοστασία όλων των ιστών, μέσω των μιτοχονδρίων, που είναι τα επιτελικά κυτταρικά οργανίδια επεξεργασίας των αποπτωτικών μηνυμάτων.

## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΩΝ ΑΠΟ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ

Στα αιμοποιητικά κύτταρα των ΜΔΣ, η εξασφάλιση ισορροπίας μεταξύ κυτταρικής αύξησης και απόπτωσης επιτυγχάνεται μέσω δύο διαφορετικών μοριακών οδών, του οξειδωτικού stress των μιτοχονδρίων και της υπερέκφρασης των αποπτωτικών μεμβρανικών υποδοχέων. Τα αιμοποιητικά κύτταρα υπερεκφράζουν CD95 (FAS), ενώ τα μακροφάγα του στρώματος και τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα τον TNF- $\alpha$  υποδοχέα<sup>24</sup>. Οι δύο αυτές οδοί προκαλούν ενεργοποίηση των κασπασών και οδηγούν σε απόπτωση.<sup>1</sup> Ακόμα και η απόπτωση που προκαλείται μέσω των μιτοχονδρίων δεν είναι γνωστό εάν είναι πρωτογενής ή εάν προκύπτει από ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων.

Στις περιπτώσεις RA και RARS, τα αιμοποιητικά κύτ-

ταρα οδηγούνται σε απόπτωση μετά από απελευθέρωση κυτοχρώματος-c από τα μιτοχόνδρια. Ένα πιθανό παθογενετικό μοντέλο περιλαμβάνει την αυξημένη εναπόθεση σιδήρου στα περιφερητικά μιτοχόνδρια, γεγονός που οδηγεί αλυσιδωτά σε παραγωγή ελευθέρων ριζών O<sup>·</sup>, επαγωγή οξειδωτικού stress, απελευθέρωση κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα και ενεργοποίηση της κασπάσης -9, που οδηγεί σε αποπτωτικό θάνατο<sup>25</sup>. Η αυξημένη απόπτωση φαίνεται ότι περιορίζει τον πολλαπλασιασμό των παθολογικών κυττάρων. Με σύγκριση της σχέσης απόπτωσης/πολλαπλασιασμού στις διάφορες ομάδες ΜΔΣ, διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με RAEB έχουν μικρότερη σχέση απ' ό,τι εκείνοι με RA και RARS, ενώ ο ρυθμός πολλαπλασιασμού είναι παρόμοιος<sup>26</sup>. Αυτό προκύπτει πιθανώς από «αστοχίες» ή «αποτυχίες ολοκλήρωσης» της αποπτωτικής διαδικασίας. Χαρακτηριστική είναι η χαμηλή έκφραση του μορίου CD95 και των προαποπτωτικών μελών της BCL-2 υπερικογενείας γονιδίων, ενώ αντίθετα σημαντικά αυξημένες είναι οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από αντιαποπτωτικά γονίδια<sup>27</sup>. Μια πιθανή ερμηνεία για τον αυξημένο κίνδυνο εκτροπής σε ΟΜΑ των υψηλού κινδύνου ΜΔΣ, δίνεται από την αντίσταση των κυττάρων αυτών των ασθενών να οδηγηθούν σε απόπτωση, ενώ ενδεχομένως για το ίδιο λόγο, οι ασθενείς μετά τη εκτροπή τους παρουσιάζουν αντοχή στη χημειοθεραπεία<sup>28</sup>. Η διαφορετική εξέλιξη της απόπτωσης του παθολογικού κλώνου επηρεάζεται και από τη σχετική συγκέντρωση κυτταροκινών. Αυξημένα επίπεδα TNF-α παρατηρούνται τόσο σε χαμηλού, όσο και σε υψηλού κινδύνου ΜΔΣ, αλλά στην πρώτη περίπτωση μετά από δέσμευση στον υποδοχέα τύπου-1 του TNFα (TNFR1) πυροδοτείται ο αποπτωτικός μηχανισμός, ενώ στη δεύτερη, σύνδεση με τον υποδοχέα τύπου-2 (TNFR-2) καταστέλλει την απόπτωση<sup>29</sup>.

## ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ

Η νουκλεοφωσμίνη-1 (NPM1), είναι μια φωσφοπρωτεΐνη που μετακινείται ταχέως μεταξύ πυρήνα και κυτταροπλάσματος και συμμετέχει στη βιοσύνθεση των ριβοσωμάτων. Αντιδρά σε κάθε ερέθισμα που προκαλεί stress και βοηθά στη διατήρηση της σταθερότητας του γονιδιώματος, αναστέλλοντας τη δράση της p53 και την ενεργοποίηση των κασπασών που οδηγούν σε απόπτωση. Μεταλλαγμένη NPM1, έχει ανιχνευθεί σε ασθενείς με de novo ΟΜΑ και φυσιολογικό καρυότυπο. Είναι πιθανό οι μεταλλάξεις να περιορίζουν τη φυσιολογική δράση της NPM1, ευοδώνοντας την επιβίωση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, κάτι που σημαίνει ότι η NPM1 είναι απαραίτητη για την προστασία των κυττάρων έναντι της απόπτωσης<sup>30</sup>.

Εξ άλλου, ποντίκια που εκφράζουν τη χιμαιρική πρωτεΐνη NUP98-HOXD13 σε προγονικά αιμοποιητικά τους

κύτταρα, αναπτύσσουν μετά πάροδο 4-7 μηνών τυπική εικόνα ΜΔΣ, με κυτταροπενίες και αυξημένη απόπτωση. Μετά από 10 μήνες, ορισμένα από αυτά εκτρέπονται σε ΟΜΑ ή πεθαίνουν από βαριά αναιμία και λευκοπενία. Για την εκτροπή τους σε λευχαιμία, μεταλλάξεις στα γονίδια N-RAS και K-RAS, δρουν συμπληρωματικά προς τη χιμαιρική πρωτεΐνη, αναστέλλοντας την απόπτωση<sup>31</sup>.

Η NUP98-HOXD13 πρωτεΐνη παράγεται από μετάθεση t(2;11)(q31;p15) και έχει περιγραφεί τόσο σε ΜΔΣ, όσο και σε ΟΜΑ.

## ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (SEED) ΚΑΙ ΜΥΕΛΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ (SOIL): Ο ΣΠΟΡΟΣ ΚΑΙ ΤΟ ΕΔΑΦΟΣ

Πρόκειται για ενιαίο μοντέλο συμπεριφοράς και αλληλεπιδράσεων, που λειτουργεί και σε άλλες νεοπλασματικές παθήσεις, τροποποιώντας την ισχύουσα αντίληψη για την αιτιοπαθογένεια και τη θεραπευτική προσέγγιση αυτών. Από μόνη της μια γενετική ή μοριακή βλάβη δεν είναι ικανή να οδηγήσει ένα κύτταρο στον συγκεκριμένο παθολογικό φαινότυπο, αν δεν λειτουργήσει συμπληρωματικά και το περιβάλλον το οποίο έχει ήδη προετοιμαστεί κατάλληλα προς αυτή την κατεύθυνση. Έρευνες γύρω από τον ρόλο του μικροπεριβάλλοντος του μυελού ασθενών με ΜΔΣ υποστηρίζουν ότι μιμείται ένα κατάλληλο υπόστρωμα για να εξελιχθεί μια προ-φλεγμονώδης αντίδραση, με συμμετοχή ανοσορυθμιστικών κυττάρων, αυξημένη παρουσία προ-αποπτωτικών κυτταροκινών όπως TNF-α, IL-1β, TGF-β και αυξημένη αγγειογένεση.<sup>10,11,13,14</sup>

Βασικό κλινικό χαρακτηριστικό των ΜΔΣ είναι οι ποικίλοι τύποι και βαρύτητας κυτταροπενίες, που αποδίδονται στην προδιάθεση των διαφοροποιούμενων κυττάρων να αποπίπτουν στο περιβάλλον του μυελού. Ενώ η απόπτωση ευοδώνεται από φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, τα παραγόμενα κλωνικά κύτταρα επίσης διακατέχονται από αποπτωτική διάθεση και εκτός των ορίων του μυελού. Επιπλέον, παρακρινείς και αυτοκρινείς μηχανισμοί, συνεισφέρουν στην αυξημένη απόπτωση. Έτσι ενώ οι κυτταροκίνες αντιπροσωπεύουν βασικά στοιχεία του παρακρινούς μηχανισμού, ένα γενετικό γεγονός μπορεί να αποτελέσει σημαντικό ευοδωτικό στοιχείο απόπτωσης κατά την αυτοκρινή διαδικασία. Το γεγονός αυτό μπορεί να είναι η ελαττωματική βιοσύνθεση ριβοσωμάτων, ή η διαταραχή της μιτοχονδριακής λειτουργίας.

Υπάρχουν όμως ακόμα αρκετά αναπάντητα ερωτήματα που αμφισβητούν την κλινική σημασία της απόπτωσης. Η απόπτωση των αιμοποιητικών κυττάρων που ανήκουν στον δυσπλαστικό κλώνο παρουσιάζεται αυξημένη έναντι των φυσιολογικών σε ποσοστό που δεν ξεπερνά το 5%<sup>27</sup>. Η αυξημένη απόπτωση που παρατηρείται σε κύτταρα, μετά από καλλιέργεια, μπορεί να αποτελεί "in vitro artifact" και να οφείλεται στη σύσταση των καλλι-

εργητικών υλικών, καθώς δεν υπάρχει η αλληλεπίδραση με τις κυτταροκίνες και το στρώμα. Ακόμα και ο τρόπος λήψης του μυελού φαίνεται ότι επηρεάζει τα ποσοστά ανιχνευόμενης απόπτωσης, και οι οστεομυελικές βιοψίες συνοδεύονται από υψηλότερη απόπτωση, σε σχέση με αναρροφήματα μυελικών κυττάρων<sup>28</sup>.

Εξ άλλου, εκτός από τα διαφορετικά γονιδιακά profile, οι εκάστοτε χρωμοσωμικές διαταραχές τροποποιούν την αποπτωτική διαδικασία προς διαφορετικές κατευθύνσεις. Έτσι οι ασθενείς με τρισωμία 8 χαρακτηρίζονται από μεγάλο ποσοστό CD34+ προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων, ενώ σε ασθενείς με Del-5q ο κυτταρικός κύκλος αναστέλλεται στη G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> φάση. Η εξέλιξη των ΜΔΣ σε ΟΜΑ συνοδεύεται από αποδυνάμωση της αποπτωτικής διαδικασίας και ενίσχυση του μιτωτικού δυναμικού του δυσπλαστικού κλώνου, μέσα από ενεργοποίηση των μεταγραφικών οδών REL<sub>A</sub>/NF-κB και PI3K-C2A/AKT1. Για την εξέλιξη σε ΟΜΑ όμως απαιτούνται και επιπρόσθετα ερεθίσματα, η ακριβής φύση των οποίων δεν είναι πλήρως γνωστή έως σήμερα<sup>14</sup>.

## ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΤΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΡΙΒΟΣΩΜΑΤΙΩΝ

Εκτός από τις διαταραχές που προαναφέρθηκαν και αφορούν τη συμπεριφορά του κυττάρου και του περιβάλλοντός του, τα τελευταία χρόνια η βιβλιογραφία περιλαμβάνει πλήθος μελετών που αναφέρονται σε διαταραγμένη βιοσύνθεση ριβοσωματίων. Η ενδιαφέρουσα αυτή ιστορία ξεκίνησε με μια μελέτη επί ασθενών με Del-5q. Η περιοχή που λείπει στο 5q μπορεί να ποικίλλει σε μήκος, αλλά υπάρχει μια κοινώς ελλείπουσα περιοχή μήκους 1.5 MB, η οποία όταν επισημάνθηκε με τα γονίδια D5S413 και GLRA1, βρέθηκε να περιλαμβάνει 40 περίπου γονίδια και ονομάζεται Commonly Deleted Region (CDR)<sup>32</sup>. Περαιτέρω διερεύνηση της περιοχής αυτής με σκοπό να εντοπιστούν γονίδια η διαταραχή των οποίων θα είχε παθογενετική σημασία για το σύνδρομο αυτό οδήγησε στην αναγνώριση μεταξύ των άλλων και δύο ριβοσωματικών γονιδίων, των RBM22 και RPS14, για τα οποία δεν διαπιστώθηκε κάποια μετάλλαξη. Έτσι λοιπόν οι Boulwood και συν. διαπίστωσαν ότι η έκφραση των γονιδίων αυτών είναι ελαττωμένη<sup>32,33</sup> ενώ οι Ebert και συν. προκαλώντας knock-down στο γονίδιο RPS14 στην CDR περιοχή, σε CD34+ κύτταρα φυσιολογικών μυελών, κατάφεραν να οδηγήσουν σε απόπτωση κύτταρα της ερυθράς σειράς μόνο, ενώ παρέμενε ανεπηρέαστη η μεγακαρυοκυτταρική σειρά<sup>34</sup>. Η δομική πρωτεΐνη RPS14 είναι απαραίτητη για τον σχηματισμό του μορίου 18S/18S της 40S ριβοσωματικής υπομονάδας. Συνεπώς η απλοτυπική ανεπάρκεια του γονιδίου RPS14 στα Del-5q ΜΔΣ οδηγεί σε ανεπαρκή σχηματισμό του μορίου 18S του rRNA, με επακόλουθο την αναστολή διαμόρφωσης της 40S υπομονάδας και τον

πλημμελή σχηματισμό πλήρων ριβοσωματίων. Επιπλέον, η απλοτυπική ανεπάρκεια του RPS14 γονιδίου μπορεί να ερμηνεύσει το παράδοξο της σύγχρονης εμφάνισης αναιμίας με υψηλό αριθμό αιμοπεταλίων. Πράγματι, η ανεπαρκής σύνθεση αιμοσφαιρίνης στα ερυθροποιητικά κύτταρα των ασθενών με Del-5q τα οδηγεί σε αποπτωτικό θάνατο, ενώ τα βραδέως πολλαπλασιαζόμενα, χωρίς έντονη πρωτεϊνοσύνθεση θρομβοποιητικά κύτταρα διεκπεραιώνουν επιτυχώς τον κυτταρικό κύκλο και τον πολλαπλασιασμό τους, έστω και με μειωμένη ριβοσωματική λειτουργία. Ένα αδύναμο στοιχείο της θεωρίας αυτής για την ερμηνεία του φαινοτύπου σε συνδυασμό με τη μοριακή παθογένεια της συγκεκριμένης κατηγορίας ΜΔΣ είναι ότι δεν ερμηνεύει την κλωνική ανάπτυξη, παρά μόνον την παρατηρούμενη αυξημένη απόπτωση. Πιο πρόσφατα βρέθηκε ότι η έκφραση και άλλων γονιδίων που σχετίζονται με τη ριβοσωματική βιογένεση είναι μειωμένη στα CD34+ κύτταρα των ασθενών με Del-5q, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες ή με ασθενείς με ΜΔΣ-RA και φυσιολογικό καρύοτυπο<sup>35</sup>. Άλλη μελέτη αναφέρει μειωμένη έκφραση του RPS14 και σε ΜΔΣ χωρίς del-5q<sup>36</sup>. Τα δεδομένα αυτά σαφώς ενισχύουν τη θεωρία της διαταραγμένης βιοσύνθεσης ριβοσωματίων σαν μια αιτιοπαθογενετική διαταραχή των ΜΔΣ συνολικότερα, και όχι μιας μόνο υποκατηγορίας η μιας κυτταρογενετικής διαταραχής. Έτσι όπως περιγράφεται η διαταραγμένη ριβοσωματική λειτουργία στα ΜΔΣ συμπληρώνεται και υποστηρίζεται από παράλληλες παρατηρήσεις που υπάρχουν σε συγγενή σύνδρομα με προεξάρχουσα κλινική εκδήλωση την αναιμία, όπως η συγγενής δυσκεράτωση, η αναιμία Blackfan-Diamond, το σύνδρομο Shwachman-Diamond κα<sup>37-41</sup>.

## Η ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΗΣ ΑΥΞΗΜΕΝΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΔΣ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ P53

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 έχει μελετηθεί αρκετά στο παρελθόν σε σχέση με τον ρόλο του στον κυτταρικό κύκλο, τον πολλαπλασιασμό και την απόπτωση. Πρόσφατες μελέτες διαπίστωσαν αυξημένη έκφραση του p53 στα ΜΔΣ, ως απάντηση στο ριβοσωματικό stress.<sup>42,43</sup> Οι Barlow και συν. βρήκαν αυξημένα επίπεδα p53, αυξημένη απόπτωση και μορφολογικά στοιχεία δυσπλασίας στην ερυθρά σειρά, σε ποντίκια από τα οποία απουσιάζει το γονίδιο RPS14 και όλη η περιοχή 5q24. Θα μπορούσε λοιπόν να υποτεθεί ότι οι κυτταροπενίες στα ΜΔΣ είναι το αποτέλεσμα διαταραχής του σχηματισμού των ριβοσωματίων, που οδηγεί σε ενεργοποίηση του p53 και αυτή με τη σειρά της σε αυξημένη απόπτωση<sup>44,45</sup>.

## ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ TET-2 ΣΕ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΜΥΕΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η αρχική βλάβη που

οδηγεί σε κλωνική αιμοποίηση, πιθανόν να είναι κοινή στις μυελικές νεοπλασίες, περιλαμβανομένων των ΜΔΣ, των μυελουπερπλαστικών συνδρόμων και της ΟΜΑ. Μεταλλάξεις του γονιδίου TET2 ανευρίσκονται στο 15% των ασθενών με μυελικές νεοπλασίες (19% στα ΜΔΣ, 12% στα ΜΥΣ και 24% σε ΟΜΑ).<sup>46,47</sup> Το γονίδιο έχει εντοπιστεί στην περιοχή 4q και ο βιολογικός του ρόλος δεν έχει διευκρινισθεί. Το μη μεταλλαγμένο γονίδιο TET2 εμπλέκεται στη λεπτή ισορροπία μεταξύ απόπτωσης, επιβίωσης και διαφοροποίησης του κυττάρου στη φυσιολογική αιμοποίηση. Μεταλλάξεις η διαταραχές στη δομή του γονιδίου βρέθηκαν σε ποσοστό 23% των ασθενών με ΜΔΣ. Και μολονότι οι ασθενείς με μεταλλαγμένο TET2 δεν διέφεραν στην κλινική ή την αιματολογική εικόνα, από αυτούς με μη μεταλλαγμένο TET2, η πενταετής επιβίωση των ασθενών με τη μεταλλαγμένη μορφή άγγιζε το 77%, έναντι 18% των ασθενών που έφεραν τη μη μεταλλαγμένη μορφή του γονιδίου. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στο συμπέρασμα ότι οι μεταλλάξεις του TET2 συνδέονται με καλή πρόγνωση. Πιθανόν οι ασθενείς που φέρουν τη μετάλλαξη, να μη εξελίσσονται σε ΟΜΑ με τον ίδιο ρυθμό, γεγονός που αποτελεί πλεονέκτημα επιβίωσης για αυτούς. Σε πολυπαραγοντική ανάλυση, η παρουσία μεταλλαγμένου TET2, συνιστά ανεξάρτητο παράγοντα ευνοϊκής πρόγνωσης, αφού η απουσία της μετάλλαξης συνδέεται με πέντε φορές υψηλότερο κίνδυνο θανάτου<sup>48</sup>. Η παρουσία μεταλλαγμένου TET2 μπορεί να αποτελέσει μια ισχυρή παράμετρο σε ένα νέο σύστημα προγνωστικής ταξινόμησης των ΜΔΣ.

## ΜΟΝΟΓΟΝΕΪΚΗ ΔΙΣΩΜΙΑ (UPD)

Αφ' ότου έγινε δυνατό με ανάλυση υψηλής ευκρίνειας να μελετηθούν οι πολυμορφισμοί μονήρους νουκλεοτιδίου με συστοιχίες (SNP arrays), οι ερευνητές κατόρθωσαν να απομονώσουν και να μελετήσουν μικρές γενετικές βλάβες του τύπου της μονογονεϊκής δισωμίας. Όταν μελετήθηκαν ασθενείς με ΜΔΣ βρέθηκε ότι ένα ποσοστό 15% εξ αυτών που είχαν φυσιολογικό καρυότυπο διέθεταν ολόκληρες περιοχές του ΌΝΑ, οι οποίες προέρχονταν από τον ένα γονέα μόνον. Αυτό το φαινόμενο χαρακτηρίστηκε και ορίστηκε ως μονογονεϊκή δισωμία.<sup>49-51</sup> Επιπλέον ήταν δυνατόν να ανιχνευθούν μικρές γενετικές βλάβες, όπως ενισχύσεις ή ελλείψεις τμημάτων γονιδίων, οι οποίες δεν ήταν τεχνικά δυνατόν να ανιχνευθούν με κλασική κυτταρογενετική ή με FISH. Το ότι οι περιοχές UPD αποτελούν συστατικές περιοχές του ΌΝΑ και δεν περιορίζονται μόνον στα προερχόμενα από τον κλώνο κύτταρα, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι οι ενισχύσεις ή απώλειες του γενετικού υλικού αποτελούν επίκτητο γεγονός. Τα ευρήματα αυτά βοήθησαν περισσότερο την ερμηνεία αυτών των δεδομένων, δηλαδή ότι οι ασθενείς με συστατικό UPD είναι προδιατεθειμένοι σε γενετική

αστάθεια και άρα εμφάνιση ΜΔΣ. Για άλλη μια φορά, διαταραχές της βιολογικής συμπεριφοράς βρέθηκε να αφορούν τόσο τους χαμηλού- όσο και τους υψηλού κινδύνου ασθενείς με ΜΔΣ.

## ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ

Δεν είναι μόνον οι γενετικές βλάβες που μπορεί να οδηγήσουν ένα κύτταρο σε κακοήγη εξαλλαγή, αλλά και οι επιγενετικές μεταβολές του γενετικού υλικού συμβάλλουν στην εμφάνιση νεοπλασματικού φαινοτύπου.<sup>52,53</sup> Τα ΜΔΣ ως γνωστόν απαντώνται κυρίως σε ηλικιωμένους ασθενείς και το αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο σε αυτούς πιθανόν να έχει συσσωρεύσει επιγενετικές μεταβολές στο DNA, καθιστώντας τελικά το κύτταρο ευάλωτο σε όλα τα αίτια που μπορούν να οδηγήσουν σε νεοπλασματική εξαλλαγή.<sup>53</sup>

## ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΕΣ ΚΑΙ ΝΕΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Στα ΜΔΣ η έναρξη της νόσου δεν συνδέεται μόνο με διαταραχές του μηχανισμού της απόπτωσης, αλλά και με απορύθμιση ποικίλων μοριακών-βιοχημικών οδών, ορισμένοι από τους οποίους παραμένουν άγνωστοι μέχρι σήμερα. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν τη συμμετοχή των sRNAs (μικρά RNA χωρίς δυνατότητα μετάφρασης σε πρωτεΐνη), και κυρίως των mi-RNAs, στην παθογένεια και εξέλιξη των ΜΔΣ.<sup>54,55</sup> Ανάλυση των mi-RNAs από προγονικά κύτταρα μυελού ασθενών με ΜΔΣ με την τεχνική next generation sequencing (ανάγνωση μικρής νουκλεοτιδικής αλληλουχίας από δέκα έως πολλά εκατομμύρια φορές σε μια μόνο αντίδραση, που αποδίδει ολοκληρωμένη εικόνα της δομής και λειτουργίας του γονιδιώματος) και με χρήση εξειδικευμένων αλγορίθμων, που χαρτογραφούσαν κάθε mi-RNA στην αντίστοιχη θέση του στο ανθρώπινο γονιδίωμα, και μελέτη των διαφορετικών ειδών RNA και της σχετικής τους θέσης σε γνωστά εξόνια, έδειξαν ότι 70% των RNAs, αντιστοιχούσαν σε θέσεις του γονιδιώματος, 21% δεν είχε καμιά αντιστοιχισι και περίπου 10% είχε περισσότερες από 25 πιθανές θέσεις. Επιπλέον έδειξαν ότι τα mi-RNAs ρυθμίζουν τις μοριακές διεργασίες και τις βιοχημικές οδούς που προσδιορίζουν το πρώιμο ή προχωρημένο στάδιο της νόσου και τη γονιδιακή έκφραση κάθε σταδίου. Ακόμη ότι η ρύθμιση του υποκινητή της DNA-πολυμεράσης II, σε κάθε στάδιο της νόσου γίνεται από mi-RNAs και μεταγραφικούς παράγοντες, και τέλος ότι υπάρχει ένα πιθανό μοντέλο ανατροφοδότησης, που πιθανά συμβάλει στην ελαττωμένη έκφραση των mi-RNAs, σε υψηλού κινδύνου ΜΔΣ.<sup>56</sup> Στη συνέχεια έγινε σύγκριση των mi-RNAs, αναλύοντας 13.000.000 αναγνώσεις μικροαλληλουχιών ανά δείγμα, μεταξύ ασθενών με RA και RAEB-2. Στα

χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ τα mi-RNAs αντιπροσώπευαν το 35% του συνολικού RNA, ενώ στα υψηλού κινδύνου μόλις το 14%. Αναλύοντας και τα άλλα είδη RNA, έγινε φανερό ότι το ποσοστό tRNA (που μετατρέπονται σε rRNA) είναι πολύ υψηλότερο σε ασθενείς με RAEB-2.

Δεδομένου ότι τα tRNAs είναι απαραίτητα στην πρωτεϊνοσύνθεση κατά τη διάρκεια της μετάφρασης, και ότι σε καρκινικά κύτταρα τα επίπεδα tRNA ανιχνεύονται μέχρι και κατά 20 φορές αυξημένα, σε σύγκριση με φυσιολογικά<sup>57</sup> και τέλος ότι τα tRNAs αναστέλλουν την απόπτωση που ενεργοποιείται από το κυτόχρωμα c,<sup>56</sup> είναι πιθανό η υψηλή περιεκτικότητα σε tRNAs να συμβάλει στη δημιουργία των δύο βασικών χαρακτηριστικών των υψηλού κινδύνου ΜΔΣ, δηλαδή στη μειωμένη απόπτωση και στο υψηλά ποσοστό εκτροπής σε ΟΜΛ.<sup>58</sup>

Ανιχνεύεται επίσης για πρώτη φορά έκφραση piRNA (νέα κατηγορία RNA που δεν έχει τη δυνατότητα κωδικοποίησης πρωτεϊνών) στα κύτταρα του μυελού κυρίως στους χαμηλού κινδύνου ασθενείς, χωρίς να υπάρχουν άλλα στοιχεία για τον πιθανό ρόλο τους στην παθογένεια των ΜΔΣ.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:

### ΠΙΣΩ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΜΔΣ ΥΠΑΡΧΕΙ ΜΙΑ ΕΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΟΝΤΟΤΗΤΑ?

Για πολλά χρόνια και μέχρι σήμερα έχει γίνει παραδεκτό ότι ο όρος ΜΔΣ δεν αντιστοιχεί σε μια νοσολογική οντότητα. Τελευταία καταγράφεται μια προσπάθεια να εντοπισθούν κοινά βιολογικά χαρακτηριστικά, που θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν τη βιολογική συμπεριφορά όλων των κατηγοριών που αναγνωρίζονται υπό τον όρο ΜΔΣ. Η απόπτωση, αποτέλεσε τον πρώτο συνδετικό κρίκο αυτής της ομάδας νοσημάτων, η οποία είναι υπεύθυνη για τις κυτταροπενίες, που προβάλλουν ως οι κύριες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου. Παραδόξως, η προδιά-

θεση για αποπτωτικό θάνατο δεν αποτελεί «προνόμιο» του προγονικού κυττάρου των ΜΔΣ, διότι αν ήταν έτσι, δεν θα μπορούσε να αναπτυχθεί κλωνική αιμοποίηση. Πιθανόν οι κυτταροκίνες του μικροπεριβάλλοντος του μυελού να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, παρέχοντας ισχυρά σήματα για την έναρξη της αποπτωτικής διαδικασίας. Έχει αποδειχθεί ότι κατά τη διαδικασία ωρίμανσης των δυ-σπλαστικών προγονικών κυττάρων, αυτά είναι ικανά να εκφράζουν τους κατάλληλους υποδοχείς κυτταροκινών για να ξεκινήσει και να ολοκληρωθεί ο πρώιμος αποπτωτικός θάνατος.<sup>56</sup> Τα ευρήματα αυτά συνέβαλαν σε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις της νόσου, με αντικυτταροκίνες, ώστε να αποκατασταθούν οι κυτταροπενίες προστατεύοντας τα ώριμα κλωνικά κύτταρα από τον αποπτωτικό θάνατο. Αυτή η στρατηγική υιοθετήθηκε χωρίς σοβαρούς προβληματισμούς για επαγωγή λευχαιμικής εκτροπής, καθώς όπως αναφέρθηκε η απόπτωση δεν αφορά τα πολύ αρχέγονα κύτταρα, και απέδωσε περισσότερο σε ΜΔΣ χαμηλού κινδύνου, όπου δοκιμάστηκαν θεραπείες αντι-TNFα (θαλιδομίδη, λεναλιδομίδη, infliximab, etanercept) με ενθαρρυντικά αποτελέσματα για ορισμένους ασθενείς. Ακόμη όμως και στα υψηλού κινδύνου ΜΔΣ η απόπτωση αφορά τα ωριμάζοντα κύτταρα, όχι όμως τα άωρα-βλαστικά, που διαφεύγουν τον αποπτωτικό θάνατο. Παράλληλα, ανακεφαλαιώνοντας πολλές νέες γνώσεις ήρθαν στο φως από αναπάντεχα γνωστικά πεδία όπως της ριβοσωματικής βιογένεσης. Στα ΜΔΣ είναι η πρωτεΐνη RPS14 που καταλογίζεται ως υπεύθυνη για την εκδήλωση του 5q συνδρόμου. Η διαταραγμένη βιοσύνθεση ριβοσωματίων και το stress που προκαλεί έχει φανεί ότι οδηγεί το κύτταρο στην απόπτωση δια της ρυθμιστικής οδού του p53. Τέλος υπάρχει μοριακή εξήγηση για την απόπτωση των κλωνικών κυττάρων των ΜΔΣ δια της αυτοκρινούς οδού. Τόσο οι μεταλλάξεις του TET2, όσο και η μονογονεϊκή δισωμία είναι βιολογικά γεγονότα ενδεικτικά γενετικής αστάθειας, και η παρουσία τους καθιστά το πάσχον κύτταρο επιρρεπές για εξέλιξη του ΜΔΣ σε επιθετικότερο κλινικό σύνδρομο ή ΟΜΛ.

## Pathogenetic aspects of MDS: the role of apoptosis

by Agapi Parcharidou<sup>1</sup>, Panagiota Tsoplou<sup>2</sup>, Argiris Symeonidis<sup>3</sup>

<sup>1</sup>3rd Dept of Internal Medicine, Korgialeneio-Benakeio Hospital of Athens, <sup>2</sup>BIOIATRICKI Laboratories, Dept of Human Genetics, Athens, <sup>3</sup>Hematology Division, Dept of Internal Medicine, University of Patras Medical School, Patras.

**ABSTRACT:** Myelodysplastic syndromes (MDS) have traditionally been classified on the basis of clinical and morphological criteria. Despite many similarities, there is substantial heterogeneity among these syndromes, such as peripheral blood cytopenias, clonal hematopoiesis and evolution to acute myelogenous leukemia (AML). Recent insight however, has shown that they result from defects of both, a hematopoietic stem-cell and of the bone marrow microenvironment. A common and dominant feature is the detection of increased progenitor cell apoptosis, as a result of various autocrine and paracrine fac-

tors, elaborating in the bone marrow, implicating both, seed (stem cells) and soil (bone marrow stroma) in the pathophysiology of these disorders. Pro-inflammatory cytokines in the marrow microenvironment, and particularly TNF- $\alpha$ , are the main paracrine mediators of apoptosis, but the mechanisms of the clonal cells' suicide process have remained a mystery for decades. It has recently been shown that the ribosomal biogenesis can initiate a stress response in the cell, through the p53 signaling pathway, as a result of mutations/deletions of the ribosomal protein genes in a similar way with some congenital anemias. Surprisingly, it was found that patients with the Del-5q syndrome exhibit haplo-insufficiency of the ribosomal protein gene RPS14, which appears to participate substantially in the pathogenesis of anemia in this MDS subtype. Similar ribosomal deregulation has also been found in other categories of MDS, rendering this finding an additional unique feature of MDS. In addition to these findings, there are other DNA-related abnormalities such as uniparental disomy, mutations in the TET2 gene, and epigenetic phenomena, as well as mitochondrial malfunction and damage, associated with elevated intracellular oxidative stress, which can be observed across all types of MDS. This review summarizes the pathogenetic aspects in relation to apoptosis which are observed in this heterogeneous group of diseases.

## Βιβλιογραφία

1. Corey SJ, Minden DL, Barber LD, Kantarjian H, Wang Y, Schimmer AD: Myelodysplastic syndromes: the complexity of stem-cell diseases. *Nature Rev. Cancer.* 2007; 7:118-129.
2. Kundson AG. Hereditary cancer: two hits revisited. *J Cancer Res. Clin. Oncol.* 1996; 122:135-140.
3. Raza A, Preisler HD, Mayers GL, Bankert R. Rapid enumeration of S-phase cells by means of monoclonal antibodies. *N Engl J Med* 1984; 310:991.
4. Raza A, Spiridonidis C, Ucar K, et al. Double labeling of S-phase murine cells with bromodeoxyuridine and a second DNA-specific probe. *Cancer Res* 1985; 45:2283-2287.
5. Raza A, Maheshwari Y, Preisler HD. Differences in cell cycle characteristics among patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 1987; 69:1647-1653.
6. Raza A, Gezer S, Mundle S, et al. Apoptosis in bone marrow biopsy samples involving stromal and hematopoietic cells in 50 patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 1995; 86:268-276.
7. Raza A, Mundle S, Shetty V, et al. Novel insights into the biology of myelodysplastic syndromes: Excessive apoptosis and the role of cytokines. *Int J Hematol* 1996; 63:265-278.
8. Raza A, Gregory SA, Preisler HD. The myelodysplastic syndromes in 1996: Complex stem cell disorders confounded by dual actions of cytokines. *Leuk Res* 1996; 20:881-890.
9. Mundle SD, Ali A, Carlidge JD, et al. Evidence for involvement of tumor necrosis factor- $\alpha$  in apoptotic death of bone marrow cells in myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 1999; 60:36-47.
10. Claessens YE, Bouscary D, Dupont JM, et al. In vitro proliferation and differentiation of erythroid progenitors from patients with myelodysplastic syndromes: evidence for Fas-dependent apoptosis. *Blood* 2002; 99:1594-1601.
11. Campioni D, Secchiero P, Corallini F, et al. Evidence for a role of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in the anemia of myelodysplastic syndromes. *Am J Pathol* 2005; 166:557-563.
12. Bernasconi P. Molecular pathways in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: relationships and distinctions-a review. *Br. J of Haematol.* 2008; 142:695-708.
13. Horikawa K, Nakakuma H, Kawaguchi T, et al. Apoptosis resistance of blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, aplastic anemia, and myelodysplastic syndrome. *Blood.* 1997; 90:2716-2722.
14. Nimer SD. Myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2008; 111:4841-4851.
15. Cortezzi A, Cattaneo C, Cristiani S. Non transferrin bound iron in myelodysplastic syndrome: a marker of ineffective erythropoiesis *J Hematol.* 2000; 1:153-158.
16. Peddie CM, Wolf CR, MnLellan, Collins AR, Bowen DT. Oxidative DNA damage of CD34+ myelodysplastic cells are associated with intracellular redox changes and elevated plasma tumor necrosis factor alpha concentration. *Br J Hematology;* 1997; 99:625-631.
17. Jankowska AM, Gondek LP, Szpurka H. Base excision repair dysfunction in a subgroup of patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia.* 2008; 22:551-558.
18. Ghoti H, Amer J, Winder A. oxidative stress in red blood cells, platelets and polymorphonuclear leukocytes from patients with myelodysplastic syndromes. *Eur. J Haematol.* 2007; 79:463-467.
19. Invernizzi R. Iron overload, oxidative damage and ineffective in Myelodysplastic syndromes. *Europ. Haematology.* 2010; 4: 34-38.
20. Navas TA, Mohindru M, Estes M: Inhibition of overactivated p38MAPK can restore hematopoiesis in myelodysplastic syndrome progenitors. *Blood.* 2006; 108:4179-4177.
21. Lu Z, Nie G, Li Y. Overexpression of mitochondrial ferritin sensitizes cells to oxidative stress via an intron-mediated mechanism. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11:1791-1803.
22. Boultonwood J, Pellagatti A, Nikpour M. The role of the iron transporter ABCB7 in RARs. *Plos One.* 2008; 3:1970.
23. Invernizzi R, Travaglio E, Della Porta MG. Characterization of a cellular model of mitochondrial ferritin psychopathological role in sideroblastic erythropoiesis. *Haematologica.* 2008; 93(Suppl. 2): S17
24. Allampallam K, Shetty V, Mundle S et al. Biological sig-

- nificance of proliferation, apoptosis and monocyte/macrophage cells in bone marrow biopsies of 145 patients with myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol* 2002; 75:289-297.
26. Tehranchi R, Rosangela I, Grandien A et al. Aberrant mitochondrial iron distribution and maturation arrest characterize early erythroid precursors in low-risk myelodysplastic syndromes. *Int. J. Haematol.* 2005; 106:247-253.
  27. Albitar M, Manshoury T, Sheen Yu et al. Myelodysplastic syndrome is not merely “preleukemia”. *Blood.* 2002; 100:791-798.
  28. Boudard D, Sordet O, Vasselon C, et al. Expression and activity of caspases-1 and -3 in myelodysplastic syndromes. *Leukemia.* 2000; 14:2045-2051.
  29. Shetty V, Hussaini S, Broady-Robinson L, et al. Intramedullary apoptosis of hematopoietic cells in myelodysplastic syndrome patients can be massive: apoptotic cells recovered from high-density fraction of bone marrow aspirates. *Blood.* 2000; 96:1388-1392.
  30. Sawanobori M, Yamaguchi S, Hasegawa M, et al. Expression of TNF receptors and related signaling molecules in the bone marrow from patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2003; 27:583-591.
  31. Grisendi S, Bernardi R, Rossi M, et al. Role of Nucleophosmin in embryonic development and tumorigenesis. *Nature* 2005; 437:147-153.
  32. Slape C, Liu LY, Beachy S, Aplan PD. Leukemic transformation in mice expressing a NUP98-HOXD13 transgene is accompanied by spontaneous mutations in N-ras, K-ras, and C-abl. *Blood.* 2008; 112:2017-2019.
  33. Boultonwood J, Fidler C, Strickson AJ, et al. Narrowing and genomic annotation of the commonly deleted region of the 5q- syndrome. *Blood* 2002; 99:4638-4641.
  34. Boultonwood J, Pellagatti A, Cattani H, et al. Gene expression profiling of CD34+ cells in patients with the 5q- syndrome. *Br J Haematol* 2007; 139:578-589.
  35. Ebert BL, Pretz J, Bosco J, et al. Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature* 2008; 451:335-339.
  36. Pellagatti A, Hellstrom-Lindberg E, Giagounidis A, et al. Haploinsufficiency of RPS14 in 5q- syndrome is associated with deregulation of ribosomal- and translation-related genes. *Br J Haematol* 2008; 142:57-64.
  37. Sohal D, Pellagatti A, Zhou L, et al. Downregulation of ribosomal proteins is seen in non 5q- MDS. *Am Soc Hematol Annual Meeting* 2008, abstr 854.
  38. Heiss NS, Knight SW, Vulliamy TJ, et al. X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutations in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nat Genet* 1998; 19:32-38.
  39. Ridanpaa M, van Eenennaam H, Pelin K, et al. Mutations in the RNA component of RNase MRP cause a pleiotropic human disease, cartilage-hair hypoplasia. *Cell* 2001; 104:195-203.
  40. Draptchinskaia N, Gustavsson P, Andersson B, et al. The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia. *Nat Genet* 1999; 21:169-175.
  41. Boocock GR, Morrison JA, Popovic M, et al. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genet* 2003; 33:97-101.
  42. Austin KM, Leary RJ, Shimamura A. The Shwachman-Diamond SBDS protein localizes to the nucleolus. *Blood* 2005; 106:1253-1258.
  43. McGowan KA, Li JZ, Park CY, et al. Ribosomal mutations cause p53-mediated dark skin and pleiotropic effects. *Nat Genet* 2008; 40:963-970.
  44. Vousden KH, Prives C. Blinded by the light: The growing complexity of p53. *Cell* 2009; 137:413-431.
  45. Pellagatti A, Marafioti T, Paterson JC, et al. Induction of p53 and up-regulation of the p53 pathway in the human 5q- syndrome. *Blood* 2010; 115:2721-2723.
  46. Barlow JL, Drynan LF, Hewett DR, et al. A p53-dependent mechanism underlies macrocytic anemia in a mouse model of human 5q- syndrome. *Nat Med* 2010; 16:59-66.
  47. Jankowska AM, Szpurka H, Tiu RV, et al. Loss of heterozygosity 4q24 and TET2 mutations associated with myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2009; 113:6403-6410.
  48. Langemeijer SM, Kuiper RP, Berends M, et al. Acquired mutations in TET2 are common in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet* 2009; 41:838-842.
  49. Kosmider O, Gelsi-Boyer V, Cheok M, et al. TET2 mutation is an independent favorable prognostic factor in myelodysplastic syndromes (MDSs). *Blood.* 2009; 114:3285-3291.
  50. Gondek LP, Tiu R, O’Keefe CL, et al. Chromosomal lesions and uniparental disomy detected by SNP arrays in MDS, MDS/MPD, and MDS-derived AML. *Blood.* 2008; 111:1534-1542.
  51. Mohamedali A, Gaken J, Twine NA, et al. Prevalence and prognostic significance of allelic imbalance by single-nucleotide polymorphism analysis in low-risk myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2007; 110:3365-3373.
  52. Heinrichs S, Kulkarni RV, Bueso-Ramos CE, et al. Accurate detection of uniparental disomy and microdeletions by SNP array analysis in myelodysplastic syndromes with normal cytogenetics. *Leukemia.* 2009; 23:1605-1613.
  53. Garcia-Manero G. Modifying the epigenome as a therapeutic strategy in myelodysplasia. *Hematology Am Soc Hematol Educational Program* 2007: 405-411.
  54. Granbaek K, Hother C, Jones PA. Epigenetic changes in cancer. *APMIS* 2007; 115:1039-1059.
  55. Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med.* 2010; 16:49-84.
  56. Gaken J, Mohamedali A, Mufti G. P054 MicroRNA expression profiling of high and low risk MDS. *Leukemia Res.* 2009; 33: 590.
  57. Beck D, Ayers S, Wen J, et al. Integrative analysis of next generation sequencing for small non-coding RNAs and transcriptional regulation in Myelodysplastic Syndromes. *BMC Medical Genomics.* 2011; 4:1-16.
  58. Pavon-Eternod M, Gomes S, Geslain R, Dai Q, Rosner MR, Pan T. tRNA over-expression in breast cancer and functional consequences. *Nucleic Acids Res.* 2009; 37:7268-7280.
  59. van Raam BJ, Salvessen GS. Transferring death: a role for tRNA in apoptosis regulation. *Mol Cell.* 2010; 37:591-592.