

Κυτταρογενετικές ανωμαλίες στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα: Κλινική και προγνωστική σημασία

Χαρίκλεια Κελαϊδή¹, Κωνσταντίνα Σαμπάνη²

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Το πεδίο της κυτταρογενετικής στα Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (ΜΔΣ) εξακολουθεί να εμπλουτίζεται με τη θεμελίωση και διεύρυνση της προγνωστικής της αξίας, όπως αυτή αναγνωρίζεται στο αναθεωρημένο IPSS (IPSS-R), καθώς και με την ευρείας κλίμακας ανίχνευση γονιδιακών αλλαγών, μη ορατών στον καρυότυπο. Το επίκεντρο των ερευνών μετατοπίζεται από τα κλασικά ογκογονίδια σε γονιδιωματικές αλλαγές και νέα μοντέλα μοριακής παθογένεσης που περιλαμβάνουν την επιγενετική ρύθμιση του γονιδιώματος, τη γονιδιωματική αστάθεια, το ρόλο ρυθμιστικών μικρο-ριβονουκλεϊκών οξέων και τις ριβοσωματοπάθειες. Τα νεότερα δεδομένα αποσαφηνίζουν τα συστατικά της ετερογένειας των ΜΔΣ, ενισχύουν τη διαγνωστική και προγνωστική ομαδοποίηση των ασθενών και εμπνέουν νέες στοχευμένες θεραπείες, ενώ αρχίζει να διαφαίνεται ο συσχετισμός μεταξύ ειδικών βλαβών και απόκρισης στις υπάρχουσες θεραπείες.

Haema 2011; 2(2): 177-186 Copyright EAE

ΛΗΜΜΑΤΑ

Κυτταρογενετικές ανωμαλίες, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, IPSS, πρόγνωση, 5q-, ριβοσωματοπάθεια, λεναλιδομίδη, TET2, ASXL1, EZH2.

Τα Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (ΜΔΣ) χαρακτηρίζονται από μη τυχαίες, επανεμφανιζόμενες κυτταρογενετικές ανωμαλίες που εμπλέκονται στην αιτιοπαθογένεια των ετερογενών αυτών νοσημάτων, καταδεικνύουν την κλωνικότητα, τεκμηριώνουν τη διάγνωση, καθορίζουν την πρόγνωση και την επιλογή της θεραπείας. Αποτελούν ένα κυτταρογενετικό μοντέλο λευχαιμογένεσης, κατά το οποίο ο ίδιος κλωνικός πληθυσμός είναι δυνατόν να εξελιχθεί από την ήπια χρόνια φάση σε οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ), με την απόκτηση δευτερογενών χρωμοσωματικών αλλαγών.¹

Η κυτταρογενετική εκτίμηση ενός δείγματος αναρρόφησης μυελού αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της κλινικής πράξης. Στα ΜΔΣ ο καρυότυπος, με την ανάλυση μεταφασικών κυττάρων, αναδεικνύεται ως ο σπουδαιό-

τερος προγνωστικός δείκτης.^{2,3} Οι συχνότερες καρυοτυπικές αλλαγές είναι μη ισοζυγισμένες, σε αντίθεση με την ΟΜΛ, στην οποία υπερτερούν οι αμοιβαίες μεταθέσεις με το σχηματισμό υβριδικών γονιδίων. Συγκεκριμένα, στα ΜΔΣ ανιχνεύονται ενδιάμεσες ελλείψεις χρωμοσωματικών τμημάτων, μονοσωμίες (ολικές ελλείψεις χρωμοσωμάτων), τρισωμίες και μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις, ενώ σπανιότερα ανευρίσκονται ισοζυγισμένες, αμοιβαίες μεταθέσεις. Η κλασική κυτταρογενετική με την αξιολόγηση μεταφάσεων αναδεικνύει χρωμοσωματικές αλλαγές στο 60% περίπου των ασθενών με πρωτοπαθές (*de novo*) ΜΔΣ και στο 90% των ασθενών με ΜΔΣ σχετιζόμενο με προηγούμενη (χημειο-)θεραπεία. Οι συνηθέστερες χαρακτηριστικές χρωμοσωματικές ανωμαλίες είναι: έλλειψη στο 5q (*del*(5q)) (6%), *-7/del*(7q) (2%), +8 (4.5%), *del*(20q) (1.7%) και *-Y* (2%).^{4,5} Η συχνότητά τους φαίνεται να παρουσιάζει εθνογεωγραφική ποικιλότητα. Στη χώρα μας η συχνότερη κυτταρογενετική αλλαγή στα ΜΔΣ είναι η τρισωμία 8.⁶

Ο καρυότυπος με την κατάδειξη χρωμοσωματικών ανωμαλιών εισήχθη για πρώτη φορά σε προγνωστικό σύστημα το 1993 και από το 1997 αποτελεί ένα από τα τρία στοιχεία που συνθέτουν το διεθνές προγνωστικό σύστημα IPSS (International Prognostic Scoring System).² Η προγνωστική βαρύτητα του καρυότυπου στα ΜΔΣ κατέστησε τη διενέργειά του απαραίτητη. Το σύστημα IPSS αναθεωρήθηκε πρόσφατα (IPSS-R), αναγνωρίζοντας με-

¹Αιματολογική Κλινική – ΜΜΜΟ, Γ. Νοσοκομείο «Γ. Παπανικολάου», Εξοχή, Θεσσαλονίκη και

²Εργαστήριο Υγειοφυσικής & Περιβαλλοντικής Υγείας, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή, Αθήνα

Διεύθυνση Αλληλογραφίας: Χαρίκλεια Κελαϊδή, E-mail: charikleia.kelaidi@gmail.com

Κωνσταντίνα Σαμπάνη, E-mail: csambani@ipta.demokritos.gr

γαλύτερη προγνωστική βαρύτητα στην κυτταρογενετική ανάλυση και δευτερευόντως στον αριθμό των βλαστών, ιδιαίτερα ως προς την εκτροπή σε ΟΜΛ. Επιπλέον, λαμβάνει υπόψη ευρύτερο φάσμα κυτταρογενετικών αλλοιώσεων, π.χ. τις διπλές αλλοιώσεις και τον αριθμό των αλλοιώσεων (<3 vs ≥3) στα πλαίσια σύνθετου καρυότυπου (Πίνακες 1 και 2).⁷

ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Μονοσωμία 5 και del(5q)

Αλλοιώσεις του χρωμοσώματος 5, δηλαδή απώλεια ενός χρωμοσώματος 5 ή έλλειψη στο μεγάλο βραχίονά του, -5/del(5q), ανιχνεύονται στο 10% περίπου των ΜΔΣ χαμηλού κινδύνου και στο 40% υψηλού κινδύνου και σε δευτεροπαθή ΜΔΣ/ΟΜΛ. Στην τελευταία περίπτωση απα-

ντώνται συνήθως σε συνδυασμό με άλλες χρωμοσωματικές ανωμαλίες στα πλαίσια ενός σύνθετου καρυότυπου, οπότε υποδηλώνεται κακή πρόγνωση με ανθεκτικότητα στη θεραπεία και ταχεία εξέλιξη σε οξεία λευχαιμία.⁸

Το σύνδρομο 5q-, που αναγνωρίζεται ως μία διακριτή κλινική οντότητα από την αναθεωρημένη ταξινόμηση WHO,⁹ αντιπροσωπεύει συγκεκριμένο αιματολογικό φαινότυπο και χαρακτηρίζεται από έλλειψη στο 5q ως μοναδική ανωμαλία στον καρυότυπο. Η υπολόβωση του πυρήνα και τα μικρο-μεγακαρυοκύτταρα είναι χαρακτηριστικά της μεγακαρυοκυτταρικής δυσπλασίας. Η μακροκυτταρική αναιμία είναι συνήθως βαριά και οι ανάγκες μεταγγίσεων ερυθρών σημαντικές.¹⁰ Οι ασθενείς έχουν την καλύτερη των προγνώσεων από τους υπόλοιπους ασθενείς με ΜΔΣ, με μικρή πιθανότητα λευχαιμικού μετασχηματισμού και μεγάλο προσδόκιμο επιβίωσης,^{2,11} η παρουσία όμως επιπρόσθετων ανωμαλιών επηρεάζει τη

Πίνακας 1. Κυτταρογενετικές προγνωστικές υπο-ομάδες του IPSS-R. Αφορά σε de novo ΜΔΣ. Οι προσθήκες σε σχέση με το σύστημα IPSS-R αναφέρονται σε ιταλική γραφή.⁷

Πολύ καλή	Καλή	Ενδιάμεση	Κακή	Πολύ κακή
del(11q), -Y	Φυσιολογικός καρυότυπος, del(20q), μεμονωμένη και διπλή del(5q), del(12p), der(1;7)	+8, -7/7q, i(17q), +19, +21, οποιαδήποτε άλλη μεμονωμένη ή διπλή αλλοίωση, ανεξάρτητοι κλώνοι	der(3)q21/q26, διπλές αλλοιώσεις συμπεριλαμβανομένων -7/7q, σύνθετοι καρυότυποι με 3 ανωμαλίες	Σύνθετοι καρυότυποι με >3 ανωμαλίες

Πίνακας 2. Υπολογισμός του IPSS-R και έκβαση ανάλογα με την προγνωστική ομάδα.⁷

	Score				
	Πολύ καλή	Καλή	Ενδιάμεση	Κακή	Πολύ κακή
Κυτταρογενετική	0	2	4	6	8
% μυελικών βλαστών	<5%	5-10%	11-20%	21-30%	
Hb	≥10	<10			
Ουδετερόφιλα	>0.8	≤0.8			
Αιμοπετάλια	≥100	<100			
	0	1			
	IPSS-R				
	1	2	3	4	5
	Πολύ καλή	Καλή	Ενδιάμεση	Κακή	Πολύ κακή
Score	0-2	>2-5	>5-7	>7-9	>9-18
Διάμεση ολική επιβίωση, έτη	9.0	5.5	2.9	1.7	0.7
ΟΜΛ, 25%	NR	10.7	3.8	1.4	0.7

*Πρώην RAEB-t σύμφωνα με την κατάταξη FAB (French-American-British)

μακροπρόθεσμη έκβαση. Έτσι, η del(5q) συνοδευόμενη από μία ή περισσότερες ανωμαλίες συνδέεται με διάμεση ολική επιβίωση 106 και 45 μηνών αντιστοίχως, ενώ ο αριθμός των ανωμαλιών αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα.^{12,13} Επιπλέον, περίπου 18% των ασθενών με κλασικό σύνδρομο 5q- φέρουν μεταλλάξεις του γονιδίου *TP53* οι οποίες ανιχνεύονται σε πρώιμα στάδια της νόσου και συνδέονται με χειρότερη πρόγνωση και εκτροπή σε OMA.¹⁴

Οι ελλείψεις στο 5q παρουσιάζουν ετερογένεια, με την κοινή ελλείπουσα περιοχή (Commonly Deleted Region, CDR) να τοποθετείται μεταξύ των περιοχών 5q31 και 5q33.1.^{15,16} Το σύνδρομο 5q- αποτελεί μοντέλο απλοτυπικής ανεπάρκειας. Η στοχευμένη εξουδετέρωση καθενός από τα 40 εκφραζόμενα γονίδια της περιοχής αυτής έδειξε ότι η απλοανεπάρκεια της ριβοσωματικής πρωτεΐνης RPS14 ευθύνεται για τη δυσπλασία και απόπτωση της ερυθράς σειράς, καθώς η ριβοσωματική δυσλειτουργία ενεργοποιεί την οδό TP53 επιλεκτικά στην ερυθρά σειρά.^{17,18} Εντός και εκτός της CDR, έχουν χαρακτηριστεί ως εμπλεκόμενα στη φυσιοπαθολογία του συνδρόμου 5q- τα μικρο-ριβονουκλεϊκά οξέα miR-145 και miR-146a και τα γονίδια που κωδικοποιούν τις ακόλουθες πρωτεΐνες: α-κατενίνη και EGR1 (early growth response protein 1), των οποίων η επιγενετική αποσιώπηση συνδέεται με την πρόοδο της νόσου, SPARC [secreted protein, acidic cysteine-rich (osteonectin)] η οποία πιθανόν ορίζει τη σχέση των κυττάρων που φέρουν την εν λόγω κυτταρογενετική ανωμαλία με το μυελικό-μεσεγγυματικό μικροπεριβάλλον, CDC25 και PP2Aca, φωσφατάσες ελέγχου του κυτταρικού κύκλου, τις οποίες αναστέλλει με ιδιαίτερη επιτυχία η λεναλιδομίδη, και NPM1 της οποίας η απλοανεπάρκεια συνδέεται με επιπρόσθετες της del(5q) κυτταρογενετικές ανωμαλίες και επομένως με ΜΔΣ υψηλού κινδύνου.¹⁹⁻²¹ Η στοχευμένη δράση της λεναλιδομίδης στην del(5q) φαίνεται να οφείλεται στην αναστολή της CDC25, με τόσο ειδική αποτελεσματικότητα σαν να επρόκειτο για σχεδιασμένο αναστολέα CDC25, που διευκολύνεται περαιτέρω από την απλοανεπάρκεια του γονιδίου *CDC25* στα ΜΔΣ με 5q-, γεγονός που εξηγεί την εξειδίκευση της λεναλιδομίδης σε αυτή την ένδειξη.²²

Μονοσωμία 7 και del(7q)

Ως μοναδική αλλοίωση απαντάται στο 5% περίπου των *de novo* ΜΔΣ⁵ και, σε συνδυασμό με άλλες ανωμαλίες, στο περίπου 50% των δευτεροπαθών.²³ Ο ρόλος της μονοσωμίας 7 στην παθογένεια και την εξέλιξη των ΜΔΣ υπογραμμίζεται από το ότι είναι η συχνότερη ανωμαλία κατά την εξέλιξη συγγενών αιματολογικών νοσημάτων σε ΜΔΣ, όπως συμβαίνει στη νεανική μυελομονοκυτταρική λευχαιμία και σε συγγενή σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας, όπως η αναιμία Fanconi και η βαριά συγγενής

ουδετεροπενία.²⁴ Η μονοσωμία 7 απαντάται σε όλους τους υποτύπους, είναι όμως συνηθέστερη σε υψηλού κινδύνου ΜΔΣ, και συνοδεύεται από παρουσία μικρο-μεγακαρουκυττάρων, δυσλειτουργία των ουδετεροφίλων και δυσπλασία και των τριών κυτταρικών σειρών.²⁴

Όπως και στις περιπτώσεις ελλείψεων στο 5q, οι ελλείψεις στο 7q είναι ετερογενείς, με την περιοχή 7q22 να είναι η συχνότερα εμπλεκόμενη. Γονίδια που να εδράζονται στην ελλείπουσα περιοχή και να ευθύνονται για την παθογένεση των αλλοιώσεων του χρωμοσώματος 7 δεν έχουν ακόμη αναφερθεί.²⁵

Απώλεια του φυλετικού χρωμοσώματος -Y

Η κλινική και βιολογική σημασία της απώλειας του χρωμοσώματος Y είναι άγνωστη. Η απώλεια Y έχει παρατηρηθεί σε μεγάλο αριθμό νεοπλασιών, αλλά επίσης έχει αναφερθεί ως φαινόμενο σχετιζόμενο με τη φυσιολογική γήρανση.²⁶ Δεδομένου ότι ανιχνεύεται περίπου στο 10% των ηλικιωμένων χωρίς αιματολογική νεοπλασία και με την ίδια συχνότητα σε ηλικιωμένους με ΜΔΣ, η αριθμητική αυτή αλλοίωση δεν είναι αξιόπιστη για την τεκμηρίωση νεοπλασματικής διεργασίας. Ωστόσο, η απώλεια Y σε μεγάλο ποσοστό μεταφάσεων (>75%) φαίνεται να στοιχειοθετεί με ακρίβεια κακοήθη αιματολογική νόσο. Επιπλέον, αποτελεί κλωνικό δείκτη, αφού το ποσοστό των κυττάρων με -Y μπορεί να μειωθεί, ή να μηδενισθεί μετά από θεραπεία.²⁷ Η απώλεια Y ως μοναδική ανωμαλία συγκαταλέγεται στην ομάδα καλής πρόγνωσης.²⁷

Τρισωμία 8

Η συχνότητα της +8 είναι 19% σε ασθενείς με χρωμοσωματικές ανωμαλίες και 6% στο σύνολο των ασθενών με ΜΔΣ. Πρόκειται για την πιο συχνή μονήρη ανωμαλία τόσο σε ΜΔΣ όσο και OMA. Η συχνότητά της είναι μεγαλύτερη στους άνδρες και φαίνεται να βαίνει αυξανόμενη με την ηλικία. Παρά το ότι συνδέεται κυρίως με *de novo* ΜΔΣ, το γεγονός ότι είναι η πιο συχνή δευτερογενής αλλοίωση κατά την εξέλιξη του κυτταρογενετικά αλλοιωμένου κλώνου, συνηγορεί υπέρ του δευτερογενούς χαρακτήρα της +8 στην ογκογένεση. Μελέτες φθορίζοντος *in situ* υβριδισμού και μονογονεϊκής δισωμίας δεν έχουν αναδείξει κρύφια αλλοιώσεις στα τρία αντίγραφα του χρωμοσώματος 8, ούτε μεταλλάξεις, διπλασιασμούς και αναδιατάξεις στα -σχετιζόμενα με τη λευχαιμία και εδραζόμενα στο χρωμόσωμα 8- γονίδια *FGFR1*, *MYST3*, *RUNX1T1 (ETO)* και *MYC*.²⁸

Επιδημιολογικά δεδομένα που δείχνουν ποικιλότητα της συχνότητας της αλλοίωσης όσον αφορά το γένος, την ηλικία και την εθνογεωγραφία, υποδεικνύουν το ρόλο ενδογενών (γενετικών) και/ή εξωγενών (περιβαλλοντικών) παραγόντων στην προέλευση και το σχηματισμό της +8.²⁹

Η τρισωμία 8 συγκαταλέγεται στην ομάδα ενδιάμεσης πρόγνωσης σύμφωνα με την ταξινόμηση IPSS, αν και έχει δείχθει ότι ασθενείς με +8 ως μοναδική αλλοίωση έχουν χειρότερη κλινική πορεία απ' ό,τι αναμενόταν για μια ενδιάμεσου κινδύνου ομάδα ασθενών.^{4,5}

Η παρουσία τρισωμίας 8 συνδέεται με απαντήσεις σε ανοσοκατασταλτική θεραπεία με αντιλεμφοκυτταρικό ορό, σε συνδυασμό ή όχι με άλλους δείκτες (απλότυπος DR15, ΜΔΣ χαμηλού κινδύνου σε ασθενείς <60 ετών, υποπλαστικό ΜΔΣ, παρουσία κλώνου PNH). Η τρισωμία 8 διεγείρει την έκπτυξη ολιγοκλωνικών CD8+ T λεμφοκυτταρικών πληθυσμών, ένας από τους αντιγονικούς στόχους των οποίων είναι η πρωτεΐνη WT1, η οποία με τη σειρά της υπερεκφράζεται από τα μονοπύρρηνα κύτταρα μυελού ασθενών με +8.³⁰ Η ανοσοκατασταλτική θεραπεία καταστέλλει μεν τους κυτταροτοξικούς λεμφοκυτταρικούς κλώνους, ανατάσσοντας κατ' αυτόν τον τρόπο την αιμοποίηση, προκαλεί όμως την αύξηση των κυττάρων που φέρουν την τρισωμία 8, καθώς αυτά παύουν να υπόκεινται σε ανοσολογικό έλεγχο.

Έλλειψη στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 20, del(20q)

Η έλλειψη στο 20q είναι ειδική καρυοτυπική ανωμαλία στις μυελογενείς νεοπλασίες. Η συχνότητά της στα ΜΔΣ είναι 3-7%, και ανιχνεύεται κυρίως στην ανθεκτική αναιμία (RA, refractory anemia) και στην ανθεκτική αναιμία με δακτυλοειδείς σιδηροβλάστες (RARS, refractory anemia with ring sideroblasts). Μορφολογικά, συνδέεται με δυσπλασία της ερυθράς και της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς. Η πλειονότητα των ελλείψεων 20q είναι μεγάλες, με το μήκος της ελλείπουσας περιοχής να ποικίλει. Μελέτες φθορίζοντος *in situ* υβριδισμού έχουν ταυτοποιήσει την ενδιάμεση ελάχιστη ελλείπουσα περιοχή (μεγέθους 4 Mb) στην χρωμοσωματική περιοχή 20q12. Παρά ταύτα, κανένα από τα 19 εδραζόμενα στην περιοχή γονίδια δεν φαίνεται να εμπλέκεται στην παθολογία μυελογενούς νεοπλασίας.³¹

Κλινικά, η θρομβοπενία και η αύξηση ερυθροβλαστών και δικτυοερυθροκυττάρων είναι πιο σημαντικές από ό,τι σε άλλα ΜΔΣ χαμηλού κινδύνου. Τα ευρήματα αυτά είναι πιθανόν να οδηγήσουν σε εσφαλμένη διάγνωση αυτοάνοσης κυτταροπενίας.³²

Η πρόγνωση είναι καλή για τη μονήρη del(20q) με διάμεση ολική επιβίωση 45 μήνες, ενώ η επιβίωση είναι περίπου 1 έτος όταν η αλλοίωση αποτελεί μέρος σύνθετου καρυοτύπου.³²

Λοιπές χρωμοσωματικές ανωμαλίες

Εκτός από τα πλέον συχνά κυτταρογενετικά ευρήματα που η προγνωστική τους αξιολόγησή υποδεικνύεται από

το IPSS (φυσιολογικός καρυότυπος, del(5q), del(20q), -Y, +8, del(7q)/-7, σύνθετος καρυότυπος με ≥ 3 ανωμαλίες), αρκετές σπάνιες, αλλά επαναλαμβανόμενες κυτταρογενετικές ανωμαλίες έχουν συνδεθεί με τα ΜΔΣ. Οι αλλοιώσεις αυτές υποδεικνύουν διάγνωση ΜΔΣ σε ασθενείς με εμμένουσα κυτταροπενία, ακόμη και όταν δεν εδραιώνεται εμφανής δυσπλασία.^{9,33} Η προγνωστική αξία τους διερευνάται, προκειμένου να εμπλουτιστεί και να βελτιωθεί το IPSS (IPSS-R, Πίνακες 1 και 2).⁷

Αλλοιώσεις του χρωμοσώματος 17, όπως η μονοσωμία 17, το ισοχρωμόσωμα 17q [i(17q)], και αλλοιώσεις που διαταράσσουν τη δομή του γονιδίου *TP53*, όπως η έλλειψη στο μικρό βραχίονα του [del(17p)], καθώς και μη ισοζυγισμένες μεταθέσεις απαντώνται στο 7% ΜΔΣ προχωρημένου σταδίου, κυρίως δευτεροπαθών, και συνήθως στα πλαίσια σύνθετου καρυοτύπου.³⁴ Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις, το αποτέλεσμα είναι η απώλεια ενός αλληλομόρφου *TP53*, ενώ είναι συχνή η μετάλλαξη, ή η έλλειψη του εναπομείναντος αλληλομόρφου στο μορφολογικά φυσιολογικό 17, ιδιαίτερα κατά την εξέλιξη της νόσου. Η del(17p) συνδέεται με δυσπλαστικές αλλοιώσεις της κοκκιδώδους σειράς (ψευδο-Pelger-Huet, υπολόβωση ουδετεροφίλων, κοκκία μικρού μεγέθους, κυτταροπλασματικά κενοτόπια).³⁵ Οι αλλοιώσεις του χρωμοσώματος 17 υποδηλώνουν κακή πρόγνωση.

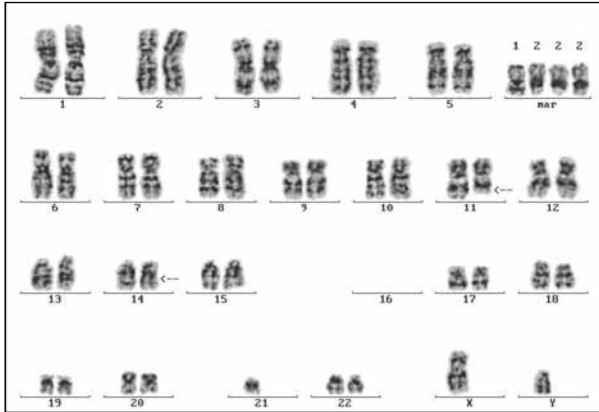
Μεταθέσεις και αναστροφές με εμπλοκή της χρωμοσωματικής περιοχής 3q26, t(3;3)(q21;q26) / inv(3)(q21q26), απαντώνται σε <2% *de novo* και ~5% δευτεροπαθή ΜΔΣ. Συνοδεύονται συχνά από δευτερογενείς αλλοιώσεις, τις -7/del(7q), del(5q) και +8. Ανιχνεύονται επίσης σε OMA και σε βλαστική κρίση ΧΜΛ. Στα ΜΔΣ, απαντώνται συχνότερα σε ασθενείς με ηλικία <55 έτη και κλινικά συνοδεύονται από θρομβοκυττάρωση, δυσπλασία των τριών κυτταρικών σειρών και κυρίως της μεγακαρυοκυτταρικής. Το εμπλεκόμενο ογκογονίδιο είναι το *EVII* στην περιοχή 3q26.³⁶

Η έλλειψη στο μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 12, del(12)(p13), σχετίζεται κυρίως με RAEB (refractory anemia with excess of blasts) και RAEB-t (RAEB in transformation). Η έλλειψη εμπεριέχει τα γονίδια *ETV6* (ets variant 6), αρνητικό ρυθμιστή της μεταγραφής, και το γονίδιο *CDKN1B* (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) που κωδικοποιεί τον ρυθμιστή του κυτταρικού κύκλου p27.³⁷

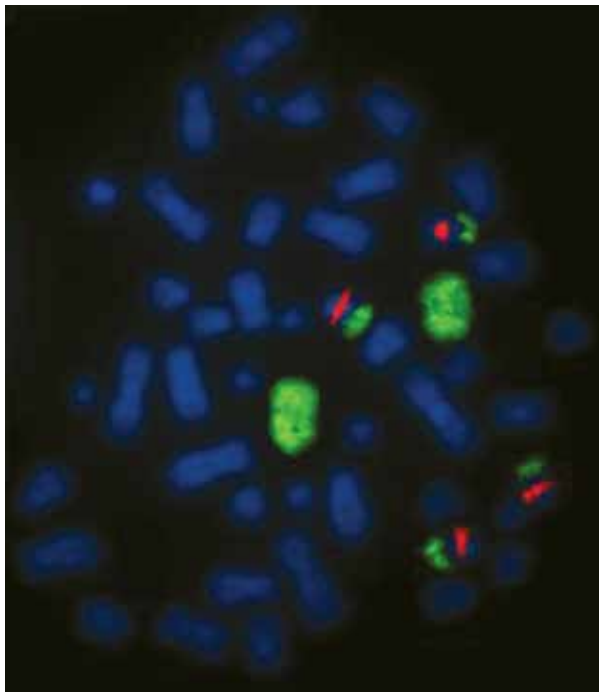
Το ισοδικεντρικό χρωμόσωμα Xq [idic(X)(q13)] απαντάται σε γυναίκες ασθενείς >65 ετών. Η αλλοίωση σχετίζεται με υπερφόρτωση σιδήρου στο μυελό.³⁸

Η μετάθεση t(3;5) έχει ως μοριακό αποτέλεσμα την δημιουργία υβριδίου από την αναδιάταξη και ένωση των γονιδίων *NPM* (νουκλεοφωσμίνη) που εδράζεται στο 5q34 και *MLF1* (myelodysplasia/myeloid leukemia factor 1) στο 3q25.1.³⁹ Η νουκλεοφωσμίνη μεταβαίνει από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα και λειτουργεί ως συνοδός πρωτεΐνης (chaperone) ριβοσωματικών πρωτεϊνών.

Ανωμαλίες στη χρωμοσωματική περιοχή 11p οδηγούν συνήθως σε αναδιατάξεις του γονιδίου *NUP98* (nucleoporin 98kDa) που εδράζεται στην περιοχή 11p15.1 και κωδικοποιεί μια νουκλεοπορίνη, η οποία μετακινείται μεταξύ πυρήνα και κυτταροπλάσματος λειτουργώντας ως



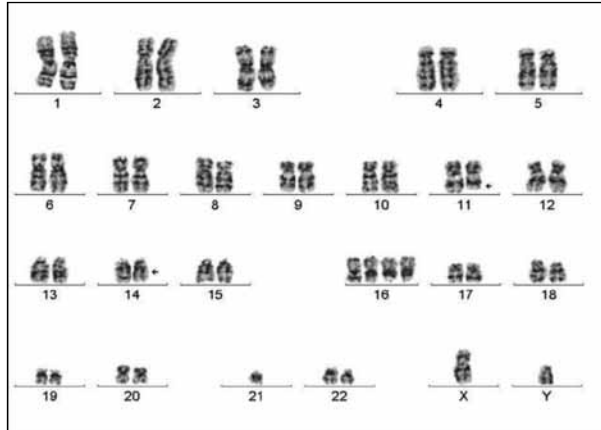
Α. Καρυότυπος με υπερδιπλοειδία, που φέρει αναδιάταξη στην περιοχή 11q23, παράγωγο χρωμόσωμα 14, ασωμία 16, μονοσωμία 21 και τέσσερα χρωμοσώματα-δείκτες, εκ των οποίων τα 3 είναι όμοια αντίγραφα.



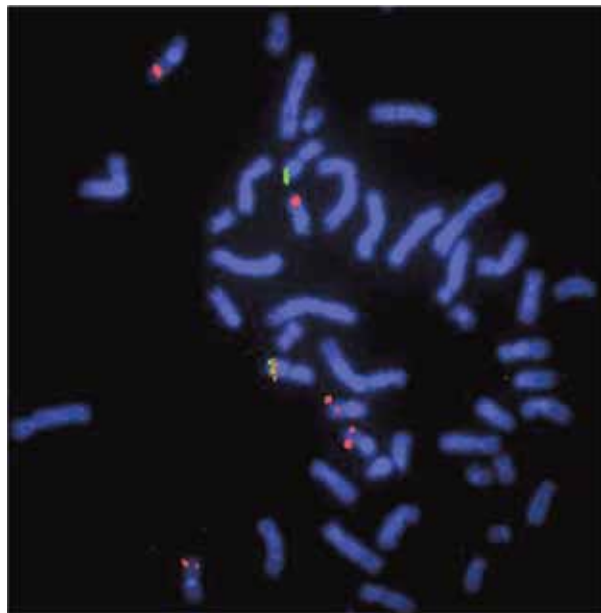
Β. Εφαρμογή FISH με χρωμοσωματικό ιχνηθέτη για το χρωμόσωμα 11 (πράσινο) και κεντρομεριδιακό ιχνηθέτη για το χρωμόσωμα 16 (κόκκινο). Τα χρωμοσώματα-δείκτες (πράσινο + κόκκινο) ταυτοποιούνται ως παράγωγα χρωμοσώματα $der(16)t(11;16)$.

chaperone RNA και πρωτεϊνών.⁴⁰ Το *NUP98* εμπλέκεται σε μεταθέσεις σε δευτεροπαθή ΜΔΣ και ΟΜΛ, όπως η μετάθεση $t(2;11)$ που οδηγεί στο σχηματισμό του υβριδικού γονιδίου *NUP98-HOXD13*.⁴¹

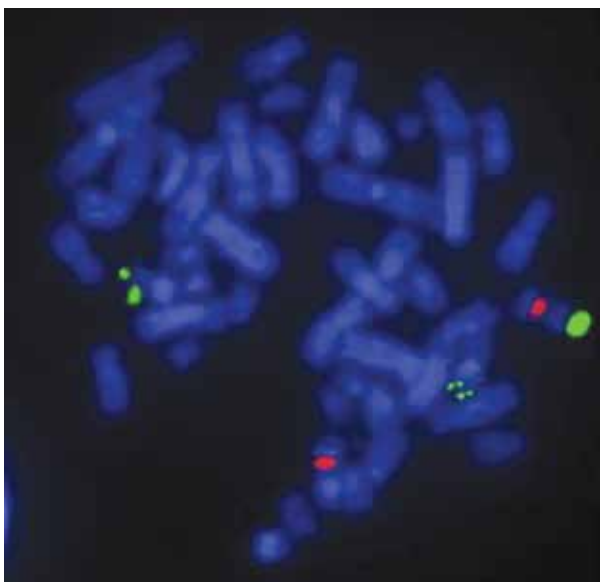
Η μετάθεση $t(11;16)(q23;p13.3)$ είναι σπάνια και απα-



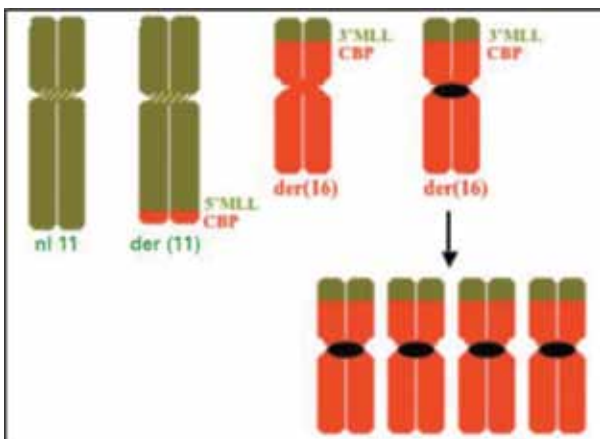
Γ. Αναθεωρημένος καρυότυπος που φέρει αναδιάταξη στην περιοχή 11q23 ($der11$), τέσσερα αντίγραφα παραγώγων χρωμοσωμάτων 16 ($der16$) προερχόμενων από μετάθεση $t(11;16)$ με εμπλοκή και των δύο ομολόγων 16, παράγωγο χρωμόσωμα 14, και μονοσωμία 21. (Sambani *et al.*⁴³ *Haematologica*. 2004;89:403-7. Obtained from *Haematologica/the Hematology journal website* <http://www.haematologica.org>).



Δ. Με τη χρήση ιχνηθετών για το γονίδιο 3'MLL (κόκκινο) και 5'MLL (πράσινο), ανιχνεύθηκαν φθορίζοντα σήματα υβριδισμού στο φυσιολογικό χρωμόσωμα 11 (πράσινο + κόκκινο), στο $der11$ (πράσινο) και σε όλα τα $der16$ (κόκκινο).



Ε. Ιχνηθέτες για το γονίδιο CBP (πράσινο) έδωσαν διακεκομμένα σήματα στα der16 και στο der11. Το κόκκινο σήμα υβριδισμού αντιστοιχεί στο κεντρομερίδιο του 11.



ΣΤ. Σχηματική παράσταση των σύνθετων χρωμοσωματικών αναδιατάξεων που οδηγούν στη μετάθεση t(11;16)(q23;p13.3) και το σχηματισμό του υβριδικού γονιδίου MLL-CBP μεταξύ ενός χρωμοσώματος 11 και των δύο ομολόγων 16. Η αμοιβαία μετάθεση και ο μιτωτικός ανασυνδιασμός οδηγούν σε ένα der11 και δύο der16. Στη συνέχεια ο μηχανισμός του μιτωτικού μη διαχωρισμού ευθύνεται για την εμφάνιση πολλαπλών αντιγράφων ενός der16 στον καρυότυπο. (Sambani *et al.*⁴³ Haematologica. 2004;89:403-7. Obtained from Haematologica/the Hematology journal website <http://www.haematologica.org>).

Εικόνα 1. Κυτταρογενετική διερεύνηση ασθενούς με σύνθετο καρυότυπο μυελού: Ταυτοποίηση σύνθετων χρωμοσωματικών αναδιατάξεων και ανάδειξη σπανίων γενετικών μηχανισμών που διέπουν το σχηματισμό κρύφιας μετάθεσης t(11;16)(q23;p13.3) και του υβριδικού γονιδίου MLL-CBP, μεταξύ ενός χρωμοσώματος 11 και των δύο ομολόγων χρωμοσωμάτων 16.

ντάται κυρίως σε δευτεροπαθή ΜΔΣ και RAEB-t/OMΛ. Προκαλεί την ένωση του γονιδίου *MLL* που εδράζεται στην χρωμοσωματική περιοχή 11q23 με το *CBP* στην περιοχή 16 p13.3 με αποτέλεσμα το σχηματισμό του υβριδικού γονιδίου *MLL-CBP* (Εικόνα 1).^{42,43} Η θραύση στο *MLL* (mixed-lineage leukemia) συνδέεται με την έκθεση σε αναστολείς της τοποϊσομεράσης II, ιδίως σε παράγωγα επιποδοφυλλοτοξινών σε υψηλή δόση. Η δυσλειτουργία του *MLL* διαταράσσει την έκφραση γονιδίων που ρυθμίζουν την ομοιόσταση των στελεχιαίων αιμοποιητικών κυττάρων. Η πρωτεΐνη CBP (CREB binding protein) δρα φυσιολογικά ως ακετυλιωτής ιστονών. Ελλείψεις και μεταλλάξεις του *CBP* ενέχονται στο συγγενές σύνδρομο νεοπλασματικής προδιάθεσης και νοητικής καθυστέρησης Rubinstein-Taybi.

ΜΟΝΤΕΛΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ

Η ανάλυση μεταφάσεων είναι ο «χρυσός κανόνας» της κυτταρογενετικής ανάλυσης στην Αιματολογία. Η εκρηκτική πρόοδος της μοριακής γενετικής ανάλυσης, με την ενσωμάτωση νέων κυτταρογενετικών εργαλείων και τη διεξοδική μελέτη αλληλουχίας γονιδιώματος, έχει οδηγήσει στην ανάδειξη αυξημένων χρωμοσωματικών αλλαγών.⁴⁴ Τα νέα καρυοτυπικά εργαλεία υψηλής ανάλυσης αποτελούν ο φθορίζων *in situ* υβριδισμός (FISH) και οι εφαρμογές του, ο βασιζόμενος σε μικροσυστοιχίες συγκριτικός γονιδιωματικός υβριδισμός (aCGH) και οι μικροσυστοιχίες πολυμορφισμού νουκλεοτιδίων (SNP-A), έχουν συμβάλει στην ανακάλυψη γονιδίων και μηχανισμών διαταραγμένης γονιδιακής έκφρασης. Με βάση τα νεότερα δεδομένα, τα ακόλουθα μοντέλα μοριακής παθογένειας έχουν αρχίσει να διαμορφώνονται:

1. RAS και CBL και ενεργοποίηση υποδοχέων αυξητικών παραγόντων

Οι μεταλλάξεις της οδού RAS δηλαδή είτε των *NRAS/KRAS* είτε των φωσφατασών, που φυσιολογικά καταστέλλουν την ενεργοποίησή της (PTPN11, NF1) προσδίδουν υπερευαισθησία στον αυξητικό παράγοντα GM-CSF. Αρχέτυπο μοντέλο αυτής της ενεργοποίησης σε συγγενή μορφή είναι η νεανική μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (JMML), με ή χωρίς ανωμαλίες συστημάτων, πλην του αιμοποιητικού (σύνδρομο Noonan, κ.ά.). Ασθενείς με JMML χωρίς μεταλλάξεις της οδού RAS, φέρουν συχνά κληρονομικές μεταλλάξεις της CBL (Casitas B-lymphoma ligase), μέλος της οικογένειας E3 ubiquitin ligase, που κανονικά απενεργοποιεί τη σηματοδότηση κινασών της τυροσίνης.⁴⁵ Οι μεταλλάξεις της CBL αίρουν την ανασταλτική αυτή ιδιότητα, με αποτέλεσμα, όπως και στην περίπτωση των μεταλλάξεων της οδού RAS, την υπερε-

νεργοποίηση της σηματοδότησης υποδοχέων αυξητικών παραγόντων. Σε υπόστρωμα JMML μπορεί να εμφανιστεί δευτερογενώς μονοσωμία 7.

2. Ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων 3 και 7 και κρύφειες αναδιατάξεις 21q/μεταλλάξεις RUNX1 (AML1) κατά την πρόοδο σε ΜΔΣ

Κατά την εξέλιξη της αναιμίας Fanconi από το στάδιο της μυελικής υποπλασίας/απλαστικής αναιμίας σε ΜΔΣ/ΟΜΛ, εμφανίζονται αλλοιώσεις στο 3q, -7/7q- και κρύφειες αναδιατάξεις του γονιδίου *RUNX1*.⁴⁶ Μεταλλάξεις του *RUNX1* ανευρίσκονται γενικά σε υψηλού κινδύνου ΜΔΣ, καθώς και σε ΟΜΛ, προσδίδοντας κακή πρόγνωση και στις δύο περιπτώσεις. Στο χρωμόσωμα 3q εδράζεται το γονίδιο *EVII*. Η ενθετική ενεργοποίηση του *EVII* σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε γονιδιακή θεραπεία με το γονίδιο της *NADPH* για χρόνια κοκκιοματώδη νόσο, είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ΜΔΣ με μονοσωμία 7 και γονιδιακή αστάθεια.⁴⁷ Διαπιστώνεται ότι η μονοσωμία 7 είναι κοινό φαινόμενο της παθολογίας και της εξέλιξης των ΜΔΣ, είτε ως αποτέλεσμα γονοτοξικότητας (ΜΔΣ μετά από χημειο/ακτινοθεραπεία), είτε κατά την πρόοδο συγγενών νοσημάτων της αιμοποίησης (JMML, αναιμία Fanconi).

3. Απόκριση στις βλάβες του DNA και εξέλιξη ΜΔΣ

Η απενεργοποίηση του μηχανισμού απόκρισης στις βλάβες του DNA (DNA damage response, DDR) φαίνεται να συνοδεύει την εξέλιξη σε ΜΔΣ υψηλού κινδύνου ή/και ΟΜΛ. Οι δείκτες DDR δεν ανιχνεύονται σε ΜΔΣ χαμηλού κινδύνου. Παρουσιάζονται σταδιακά και σχετίζονται άμεσα με την κατηγορία κινδύνου κατά την πρόοδο της νόσου, ενώ παύουν να ανιχνεύονται κατά την εκτροπή σε ΟΜΛ.⁴⁸ Η DDR είναι επομένως ένα φράγμα κατά της ογκογένεσης, που προτάσσεται ως φυσιολογικός αμυντικός μηχανισμός έναντι γονιδιακών βλαβών, εξασφαλίζοντας την απόπτωση, η οποία παύει κατά την εκτροπή σε επιθετική κακοήθεια.

Αρχικά το μοντέλο αυτό είχε περιγραφεί κατά την σταδιακή καρκινογένεση συμπαγών όγκων, όπως ο καρκίνος του εντέρου. Στην αναιμία Fanconi που είναι σύνδρομο γονιδιακής αστάθειας, η ενεργοποίηση της DDR σταματά τον κυτταρικό κύκλο με αποτέλεσμα τη μυελική ανεπάρκεια.⁴⁹ Ο μηχανισμός όμως αυτός παρακάμπτεται σε ορισμένους ασθενείς, οι οποίοι έχουν μεν βελτιωμένο φαινότυπο ως προς τη μυελική ανεπάρκεια, εμφανίζουν όμως υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης ΜΔΣ/ΟΜΛ.

4. Ριβοσωματοπάθειες

Στο σύνδρομο 5q-, η απλοτυπική ανεπάρκεια, ως αποτέλεσμα της απώλειας του ενός εκ των δύο αλληλομόρφων της ριβοσωματικής πρωτεΐνης RPS14, προκαλεί υποπλασία της ερυθράς σειράς, κατ' αναλογία με τον φαινότυπο του συγγενούς συνδρόμου αμιγούς απλασίας της ερυθράς σειράς της αναιμίας Diamond-Blackfan, στην παθογένεια της οποίας ενέχονται σε μεγάλο αριθμό περιπτώσεων μεταλλάξεις της ριβοσωματικής πρωτεΐνης RPS19.¹⁶ Στο πλαίσιο της διαταραγμένης ριβοσωματογένεσης σε ΜΔΣ μπορούν να ενταχθούν και οι κυτταρογενετικές αλλοιώσεις της νουκλεοφωσμίνης και του *NUP98* (t(3;5) και t(2;11), αντίστοιχα). Η διαταραγμένη ριβοσωματογένεση προκαλεί συσσώρευση της P53 και απόπτωση με αποτέλεσμα τη δημιουργία φαινότυπου απρόσφορης αιμοποίησης τόσο σε χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ, όσο και σε συγγενή σύνδρομο μυελικής ανεπάρκειας της ερυθράς σειράς (αναιμία Diamond-Blackfan, RPS19), αλλά και άλλων σειρών όπως η ουδετεροπενία στο σύνδρομο Schwachman-Bodian-Diamond (μεταλλάξεις της ριβοσωματικής πρωτεΐνης SBDS).⁵⁰

5. Βλάβες γονιδίων με επιγενετική δράση: TET2 και πρωτεΐνες του συμπλέγματος Polycomb

Η πρωτεΐνη TET2 υδροξυλιώνει μεθυλιωμένα νησίδα CpG μετατρέποντάς τα σε υδροξυμεθυλιωμένα CpG. Η ενζυματική της δράση απαιτεί α-κετογλουταρικό οξύ. Η παρουσία υδροξυμεθυλιωμένων CpG φαίνεται να αποτελεί ενδιάμεσο στάδιο απομεθυλίωσης των αντίστοιχων τόπων και γονιδίων.⁵¹ Η TET2 φέρεται λοιπόν να συμμετέχει στη γενική επιγενετική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης και η μείωση της λειτουργικότητάς της συνδέεται, αφενός με ελάττωση των υδροξυμεθυλιωμένων CpG, αφετέρου με συνολική υπομεθυλίωση του γονιδιώματος.⁵² Επιπλέον, είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική ωρίμανση της μυελομονοκυτταρικής σειράς. Αναδιατάξεις της πρωτεΐνης TET2 (μεταλλάξεις και ελλείψεις) ανιχνεύονται με συχνότητα 20% σε ΜΔΣ, 30% στη χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία, σε ΟΜΛ και Ph(-) μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα, στο σύνολο δηλαδή των μυελογενών κακοηθειών.⁵³ Αποτελούν πιθανώς πρώιμο παθογενετικό γεγονός. Στα ΜΔΣ, συνδέονται με φυσιολογικό καρυότυπο και η προγνωστική τους σημασία δεν είναι ακόμη ξεκάθαρη.

Οι πρωτεΐνες μεθυλίωσης των ιστονών παίζουν επίσης κεντρικό ρόλο στην επιγενετική ρύθμιση, με κυριότερες τις πρωτεΐνες του συμπλέγματος polycomb (polycomb repressive complex, PRC1/2).⁵⁴ Πρόκειται για πρωτεΐνες που κρατούν σε καταστολή ομοιωτικούς και άλλους τόπους κατά την εμβρυογένεση αλλά και στα πλαίσια της

ομοιόστασης των στελεχειαίων αιμοποιητικών κυττάρων. Η EZH2 (enhancer of zeste homolog 2), μέλος PRC2 και μεθυλιωτής ιστονών σε θέσεις λυσίνης, και η ASXL1 (additional sex comb-like 1), μέλος PRC1, είναι δύο τέτοιες πρωτεΐνες, των οποίων μεταλλάξεις απαντώνται σε ΜΔΣ.^{55,56} Μεταλλάξεις EZH2 συνδέονται εξάλλου με μονογονεϊκή δισωμία (Uniparental Disomy, UPD) και μικροσκοπικές ελλείψεις περιοχών του 7q. Ο μεταλλάξεις ASXL1 και EZH2 συνδέονται με χειρότερη πρόγνωση.^{57,58}

Επιγενετικές βλάβες όπως οι μεταλλάξεις *TET2* και *EZH2* φαίνεται ότι προσδίδουν μεγαλύτερη ευαισθησία στους υπομεθυλιωτικούς παράγοντες, όπως η αζακυτιδίνη.^{59,60} Ασθενείς με μετάλλαξη *TET2* απαντούν σε αζακυτιδίνη σε ποσοστό 65% έναντι 30% των ασθενών με μη μεταλλαγμένο γονίδιο *TET2* (P=0.01). Αντίστοιχα, οι πρώτες μελέτες δείχνουν μεγαλύτερο ποσοστό απάντησης στην αζακυτιδίνη ασθενών με μεταλλάξεις *EZH2*, κατ' αναλογία με τη μεμονωμένη μονοσωμία 7, καθώς, όπως αναφέρθηκε, οι μεταλλάξεις *EZH2* συνδέονται με UPD και μικροελλείψεις στο 7q.

ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΤΩΝ ΜΔΣ

Συνολικά, μεταλλάξεις των γονιδίων *TET2*, *ASXL1*, *RUNX1* και *TP53* ανιχνεύονται σε 20%, 14%, 8% και 7% των ΜΔΣ αντίστοιχως, μεταλλάξεις *NRAS/KRAS*, *CBL*, *PTEN*, *IDH1*, *NPM1*, *CDNK2A*, *JAK2*, *DNMT3A* σε <10%, ενώ στο ~50% των ασθενών η γονιδιακή βλάβη είναι άγνωστη.^{58,59} Οι μεταλλάξεις *PRC* και *TP53* ανευρίσκονται σε διαφορετικές ομάδες ασθενών, οι μεν πρώτες συνδέονται με ΜΔΣ και ΜΔΣ/MYN καλής και ενδιάμεσης κυτταρογενετικής ομάδας πρόγνωσης και με φυσιολογικό καρυότυπο, οι δε δεύτερες, καθώς και οι με-

ταλλάξεις *RUNX1* συνδέονται με ΜΔΣ προχωρημένου σταδίου, θρομβοπενία (γεγονός που θυμίζει το οικογενές σύνδρομο θρομβοπενίας και λευχαιμογένεσης με συγγενείς μεταλλάξεις *RUNX1*) και βραχύτερη επιβίωση. Οι μεταλλάξεις *TP53* ορίζουν μια ομάδα ασθενών με σύνδρομο 5q- και μεγαλύτερη πιθανότητα εκτροπής σε ΟΜΛ.¹⁴ Η μετάλλαξη V617F του γονιδίου *JAK2* απαντάται στο 10% περίπου των ΜΔΣ με del(5q) και στο 50% των ανθεκτικών αναμιμών με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες και θρομβοκυττάρωση.^{61,62}

Ειδικά η χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία έχει ωφεληθεί από τη μοριακή κυτταρογενετική, δεδομένου ότι ο καρυότυπος είναι φυσιολογικός στις περισσότερες περιπτώσεις. Άνω του 80% των ασθενών με χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία φέρουν μεταλλάξεις ενός, ή περισσότερων από τα ακόλουθα γονίδια: *TET2* 44%, *ASXL1* και *EZH2* 45%, *NRAS/KRAS* 35%, *CBL* 22%, *JAK2* 10%, *RUNX1* 8%.^{55,56} Το φάσμα των μεταλλάξεων αυτών καθιστά τη χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία είτε επιγενετική νόσο (*TET2*, *PRC*) είτε νόσο υπερ-ενεργοποίησης υποδοχέων αυξητικών παραγόντων (*NRAS/KRAS*, *CBL*, *JAK2*).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ενώ στην πράξη ο καρυότυπος παραμένει η κεντρική εξέταση χαρακτηρισμού των ΜΔΣ, οι νέες τεχνικές υψηλότερης κυτταρογενετικής ανάλυσης και μοριακής γενετικής, αν και όχι ακόμη ενσωματωμένες στην καθημερινή κλινική πράξη, προάγουν την κατανόηση της ετερογένειας και της παθοβιολογίας των ΜΔΣ και αναμένεται να εμπνεύσουν το σχεδιασμό νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων, πιθανώς εξατομικευμένων, στο μέλλον.

Cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndromes: Clinical and prognostic impact

by Charikleia Kelaidi¹, Constantina Sabani²

¹Department of Haematology and Bone Marrow Transplantation, G. Papanikolaou Hospital, Thessaloniki, Greece ²Laboratory of Health Physics & Environmental Health, National Center for Scientific Research "Demokritos", Athens, Greece.

ABSTRACT: Evolving epidemiological data further establish the importance of cytogenetics in Myelodysplastic Syndromes (MDS). The prognostic impact of recurrent cytogenetic abnormalities is emphasized in the recently revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). Genome-wide detection of copy number variations and next generation sequencing of targeted genes have revealed new gene mutations and cryptic chromosome rearrangements. Emerging models of molecular pathogenesis including epigenetic deregulation, genomic instability, haploinsufficiency of microRNAs and ribosomopathies may explain the heterogeneity of MDS, improve diagnostic and prognostic stratification of patients and determine new therapeutic targets. Moreover, existing treatments could be tailored to specific mutations.

Βιβλιογραφία

1. Mecucci C. Molecular features of primary MDS with cytogenetic changes. *Leukemia Res.* 1998; 22:293-302.
2. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood.* 1997; 89:2079-2088.
3. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol.* 2007; 25:3503-3510.
4. Solé F, Luño E, Sanzo C, et al. Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes. *Haematologica.* 2005; 90:1168-1178.
5. Haase D, Germing U, Schanz J, et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood.* 2007; 110:4385-4395.
6. Stavropoulou C, Sambani C, Rigana H, et al. the Hellenic MDS Study Group. Low frequency of the glutathione-S-transferase T1-null genotype in patients with primary myelodysplastic syndrome and 5q deletion. *Leukemia.* 2008; 22:1643-1646.
7. Greenberg P, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R), developed by the international Prognostic Working Group for Prognosis in MDS (IWG-PM). 11th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes, Edinburgh 18-21 May, 2011. *Leuk Res.* 2011; 35S1: S6
8. Vallespi T, Imbert M, Mecucci C, et al. Diagnosis, classification, and cytogenetics of myelodysplastic syndromes. *Haematologica.* 1998; 83:258-275.
9. Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med.* 2009; 361:1872-1885.
10. Van Den Berghe H, Cassiman JJ, David G, et al. Distinct hematological disorder with deletion of long arm of no. 5 chromosome. *Nature.* 1974; 251:437-438.
11. Boultonwood J, Lewis S, Wainscoat JS. The 5q- syndrome. *Blood.* 1994; 84:3253-3260.
12. Giagounidis AA, Germing U, Haase S, et al. Clinical, morphological, cytogenetic, and prognostic features of patients with myelodysplastic syndromes and del(5q) including band q31. *Leukemia.* 2004; 18:113-119
13. Mallo M, Cervera J, Schanz J, et al. Impact of adjunct cytogenetic abnormalities for prognostic stratification in patients with myelodysplastic syndrome and deletion 5q. *Leukemia.* 2011; 25:110-120
14. Jädersten M, Saft L, Smith A, et al. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol.* 2011; 29:1971-1979
15. Zhao N, Stoffel A, Wang PW, et al. Molecular delineation of the smallest commonly deleted region of chromosome 5 in malignant myeloid diseases to 1-1.5 Mb and preparation of a PAC-based physical map. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94:6948-6953
16. 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
17. 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
18. Dutt S, Narla A, Lin K, et al. Haploinsufficiency for ribosomal protein genes causes selective activation of p53 in human erythroid progenitor cells. *Blood.* 2011; 117:2567-2576
19. 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; 16:49-58
20. Boultonwood J, Pellagatti A, McKenzie AN, Wainscoat JS. Advances in the 5q- syndrome. *Blood.* 2010; 116:5803-5811
21. La Starza R, Matteucci C, Gorello P, et al. NPM1 deletion is associated with gross chromosomal rearrangements in leukemia. *PLoS One.* 2010; 5:e12855
22. Wei S, Chen X, Rocha K, et al. A critical role for phosphatase haploinsufficiency in the selective suppression of deletion 5q MDS by lenalidomide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106:12974-12979
23. Godley LA, Larson RA. The syndrome of therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia. In: Bennett JM, editor. *The Myelodysplastic Syndromes: Pathobiology and Clinical Management.* New York: Marcel Dekker Inc., 2002; pp 136-176
24. Kalra R, Dale D, Freedman M, et al. Monosomy 7 and activating RAS mutations accompany malignant transformation in patients with congenital neutropenia. *Blood.* 1995; 86:4579-4586
25. Wong JC, Zhang Y, Lieu KH, et al. Use of chromosome engineering to model a segmental deletion of chromosome band 7q22 found in myeloid malignancies. *Blood.* 2010; 115:4524-4532
26. Wong AK, Fang B, Zhang L, et al. Loss of the Y chromosome: An age-related or clonal phenomenon in acute myelogenous leukemia/myelodysplastic syndrome? *Arch Pathol Lab Med.* 2008; 132:1329-1332
27. Wiktor A, Rybicki BA, Piao ZS, et al. Clinical significance of Y chromosome loss in hematologic diseases. *Genes Chromosom Cancer.* 2000; 27:11-16
28. Paulsson K, Johansson B. Trisomy 8 as the sole chromosomal aberration in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Pathol Biol (Paris).* 2007; 55:37-48
29. Paulsson K, Säll T, Fioretos T, et al. The incidence of trisomy 8 as a sole chromosomal aberration in myeloid malignancies varies in relation to gender, age, prior iatrogenic genotoxic exposure, and morphology. *Cancer Genet Cytogenet.* 2001; 130:160-165
30. Sloand EM, Melenhorst JJ, Tucker ZC, et al. T-cell immune responses to Wilms tumor 1 protein in myelodysplasia responsive to immunosuppressive therapy. *Blood.* 2011; 117:2691-2699
31. Bench AJ, Nacheva EP, Hood TL, et al. Chromosome 20 deletions in myeloid malignancies: Reduction of the common deleted region, generation of a PAC/BAC contig and

- identification of candidate genes. UK Cancer Cytogenetics Group (UKCCG). *Oncogene*. 2000; 19:3902-3913
32. Braut T, de Botton S, Taksin AL, et al. Characteristics and outcome of myelodysplastic syndromes (MDS) with isolated 20q deletion: A report on 62 cases. *Leuk Res*. 2011 Mar 9
 33. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: Rationale and important changes. *Blood*. 2009; 114:937-951
 34. Merlat A, Lai JL, Sterkers Y, et al. Therapy-related Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with 17p deletion. A report on 25 cases. *Leukemia*. 1999; 13:250-257
 35. Wang P, Spielberger RT, Thangavelu M, et al. dic(5;17): a recurring abnormality in malignant myeloid disorders associated with mutations of TP53. *Genes Chromosom Cancer*. 1997; 20:282-291
 36. Poppe B, Dastugue N, Vandesompele J, et al. EVI1 is consistently expressed as principal transcript in common and rare recurrent 3q26 rearrangements. *Genes Chromosom Cancer*. 2006; 45:349-356
 37. O'Connor HE, Butler TA, Clark R, et al. Abnormalities of the ETV6 gene occur in the majority of patients with aberrations of the short arm of chromosome 12: a combined PCR and Southern blotting analysis. *Leukemia*. 1998; 12:1099-1106.
 38. Mackinnon WB, Michael PM, Webber LM, et al. Isodicentric X chromosomes involving the Xq13 breakpoint in myelodysplasia and acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*. 1988; 30:43-52.
 39. Arber DA, Chang KL, Lyda MH, et al. Detection of NPM/MLF1 fusion in t(3;5)-positive acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *Hum Pathol*. 2003; 34:809-813.
 40. La Starza R, Gorello P, Rosati R, et al. Cryptic insertion producing two NUP98/NSD1 chimeric transcripts in adult refractory anemia with an excess of blasts. *Genes Chromosom Cancer*. 2004; 41:395-399.
 41. Slape C, Lin YW, Hartung H, et al. NUP98-HOX translocations lead to myelodysplastic syndrome in mice and men. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2008; 39:64-68
 42. Rowley JD, Reshmi S, Sobulo O, et al. All patients with the t(11;16)(q23;p13.3) that involves MLL and CBP have treatment-related hematologic disorders. *Blood* 1997; 90:535-41
 43. Sambani C, La Starza R, Roumier C, et al. Partial duplication of the MLL oncogene in patients with aggressive acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2004; 89:403-7
 44. 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
 45. Niemeyer CM, Kang MW, Shin DH, et al. Germline CBL mutations cause developmental abnormalities and predispose to juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet*. 2010; 42:794-800
 46. Quentin S, Cuccuini W, Ceccaldi R, et al. Myelodysplasia and leukemia of Fanconi anemia are associated with a specific pattern of genomic abnormalities that includes cryptic RUNX1/AML1 lesions. *Blood*. 2011; 117:e161-170
 47. Stein S, Ott MG, Schultze-Strasser S, et al. Genomic instability and myelodysplasia with monosomy 7 consequent to EVI1 activation after gene therapy for chronic granulomatous disease. *Nat Med*. 2010; 16:198-204
 48. Boehrer S, Adès L, Tajeddine N, et al. Suppression of the DNA damage response in acute myeloid leukemia versus myelodysplastic syndrome. *Oncogene*. 2009; 28:2205-2218
 49. Ceccaldi R, Briot D, Larghero J, et al. Spontaneous abrogation of the G2 DNA damage checkpoint has clinical benefits but promotes leukemogenesis in Fanconi anemia patients. *J Clin Invest*. 2011; 121:184-194
 50. Narla A, Ebert BL. Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. *Blood*. 2010; 115:3196-3205
 51. Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science*. 2009; 324:930-935
 52. Ko M, Huang Y, Jankowska AM, et al. Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature*. 2010; 468:839-843
 53. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med*. 2009; 360:2289-2301
 54. Sauvageau M, Sauvageau G. Polycomb group proteins: multi-faceted regulators of somatic stem cells and cancer. *Cell Stem Cell*. 2010; 7:299-313
 55. Grossmann V, Kohlmann A, Eder C, et al. Molecular profiling of chronic myelomonocytic leukemia reveals diverse mutations in >80% of patients with TET2 and EZH2 being of high prognostic relevance. *Leukemia*. 2011; 25:877-879
 56. Makishima H, Jankowska AM, Tiu RV, et al. Novel homo- and hemizygous mutations in EZH2 in myeloid malignancies. *Leukemia*. 2010; 24:1799-1804
 57. Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Roquain J, et al. ASXL1 mutation is associated with poor prognosis and acute transformation in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2010; 151:365-375
 58. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. Point mutations in myelodysplastic syndromes are associated with clinical features and are independent predictors of overall survival. *Blood*. 2010; 116:136a
 59. Kulasekararaj AG, Mohamedali AM, Smith AE, et al. Polycomb Complex Group gene mutations and their prognostic relevance in 5-Azacitidine treated myelodysplastic syndrome patients. *Blood*. 2010; 116:61a
 60. Itzykson R, Kosmider O, Cluzeau T, et al. Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 2011; 25:1147-1152
 61. Ingram W, Lea NC, Cervera J, et al. The JAK2 V617F mutation identifies a subgroup of MDS patients with isolated deletion 5q and a proliferative bone marrow. *Leukemia*. 2006; 20:1319-1321
 62. Schmitt-Graeff AH, Teo S-S, Olschewski M, et al. JAK2-V617F mutation status identifies subtypes of refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. *Haematologica*. 2008; 93:34-40