Olgu Sunumu *Case Report*

Pamukkale Tıp Dergisi
Pamukkale Medical Journal

doi:https://dx.doi.org/10.31362/patd.557577

MDS/MPN olgusunda klonal evolüsyon gösteren kompleks karyotip bulguları

Complex karyotype with clonal evolution in a MDS/MPN case

R. Dilhan Kuru, Ayşe Çırakoğlu, Şükriye Yılmaz, Seda Ekizoğlu, Yelda Tarkan Argüden, Şeniz Öngören, Ayhan Deviren

Gönderilme tarihi:24.04.2019 Kabul tarihi:30.07.2019

Özet

Myelodisplastik/myeloproliferatif neoplaziler (MDS/MPN) displastik ve proliferatif özellikleri bir arada taşıyan klonal myeloid hastalıklardır. MDS/MPN patofizyolojisi myeloid yolakların düzenlenmesindeki bozuklukları kapsamaktadır. En yaygın nedenlerin başında RAS yolağı sinyal proteinlerindeki düzensizlikler gelir. Bu hastalarda BCR/ABL füzyon geni negatiftir.

Gerçek zamanlı-polimeraz zincir tepkimesi ile BCR/ABL p210 transkripti (-) ve allele özgü polimeraz zincir tepkimesi yöntemi ile JAK2 V617F mutasyonu (+) saptanan MDS/ MPN ile uyumlu olgunun kemik iliği aspirasyon materyaline 24 ve 48 saatlik standart hücre kültürü uygulanmıştır. GTL bantlama yöntemiyle yapılan sitogenetik inceleme sonucunda, klonal evolüsyon ile meydana gelen idic(18)(p11.2), t(11;idic)(18))(p11.1;q11) ve dic(11;18)(q24;p11) yeniden düzenlenmelerini de içeren kompleks karyotip tespit edilmiştir. Yaptığımız literatür araştırmasında hematolojik kanserlerde 18 ve 11 numaralı kromozomların katıldığı yeniden düzenlenmeler gözlenirken, bu kromozom düzensizliklerinin kırık noktaları bizim olgumuzdakinden farklı bulunmuştur. Trizomi/ kısmi trizomi 18 lenfoproliferatif hastalıklarda ve MDS'de gözlenen anomalilerden birisi olarak bildirilmektedir. Önemli apoptoz düzenleyici gen ailelerinden biri olan BCL-2, 18. kromozomun uzun kolunda yer almaktadır. Olgumuzda da 18. kromozomun uzun kolunun artışı söz konusudur. Sunduğumuz sitogenetik bulgular kanser genetiği ve alternatif tedavi araştırmalarında hedef bölge olması açısından dikkat çekici olmuştur.

Anahtar Kelimeler: MDS/MPN, kemik iliği, idic(18), trizomi 18, kromozom 11 anomalileri.

Kuru RD, Çırakoğlu A, Yılmaz Ş, Ekizoğlu S, Argüden YT, Öngören Ş, Deviren A. MDS/MPN tanılı bir olguda klonal evolüsyon gösteren kompleks karyotip bulguları. Pam Tıp Derg 2019;12:585-590.

Abstract

Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN) are clonal myeloid disorders that have both dysplastic and proliferative features. Pathophysiology of MDS/MPN includes abnormalities in regulation of myeloid pathways. Patients with MDS/MPN do not have BCR/ABL fusion gene. Abnormalities in regulation of the RAS pathway of signaling proteins appear to be a common finding in these diseases. In this study we present a MDS/ MPN case with complex karyotype. By Real Time-PCR, BCR/ABL p210 transcript (MBCR) was negative, and by allele-specfic PCR, JAK2 V617F mutation was positive. By cytogenetics, a complex karyotype was observed with, idic (18)(p11.2), t(11;idic(18))(p11.1;q11) and dic(11;18)(q24;p11) which were formed through clonal evolution. The results included different rearrangements and partial gain of chromosome 18. Rearrangements involving chromosomes 11 and 8 have been previously reported in hematological malignancies but with different breakpoints from ours. Trisomy/ partial trisomy 18 had been reported in lymphoproliferative disorders and MDS. The genes on chromosome 18 are considered important, being associated with carcinogenesis. BCL-2 family, whose members are important apoptosis regulators, is localized on the long arm of chromosome 18. Cytogenetic findings we present are remarkable as target regions in cancer genetics and alternative treatment research.

Key Words: MDS/MPN, bone marrow, idic(18), trisomy 18, chromosome 11 abnormalities.

R. Dilhan Kuru, Dr. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İSTANBUL, e-posta: dilhank@istanbul.edu.tr (orcid.org/0000-0001-8088-5336) (Sorumlu yazar)

Ayşe Çırakoğlu, Doç. Dr. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İSTANBUL, e-posta: aysecirakoglu@yahoo.com (orcid.org/0000-0003-0330-2277)

Şükriye Yılmaz, Dr. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İSTANBUL, e-posta: skryilmaz@yahoo.com (orcid.org/0000-0001-8076-3080)

Seda Ekizoğlu, Araş. Gör. Dr. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İSTANBUL, e-posta: ekizoglu.seda@gmail.com (orcid.org/0000-0003-4785-8189)

Yelda Tarkan Argüden, Doç.Dr. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İSTANBUL, e-posta: yeldata@istanbul.edu.tr (orcid.org/0000-0002-5405-3365)

Şeniz Öngören, Prof.Dr. İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İSTANBUL, e-posta: senizongoren@hotmail.com (orcid.org/0000-0002-2809-5510)

Ayhan Deviren, Prof Dr. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İSTANBUL, e-posta: devirena@istanbul.edu.tr (orcid.org/0000-0002-5405-3365)

Kuru RD, Çırakoğlu A, Yılmaz Ş, Ekizoğlu S, Argüden YT, Öngören Ş, Deviren A. Complex karyotype with clonal evolution in A MDS/MPN case. Pam Med J 2019;12:585-590.

Giriş

Displastik ve proliferatif özellikleri bir arada taşıyan klonal myeloid hastalıklar Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından Myelodisplastik/ Myeloproliferatif neoplaziler (MDS/MPN) olarak sınıflandırılmıştır [1, 2]. MDS/MPN etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, myeloid yolakların düzenlenmesindeki bozuklukların neden olduğu düşünülmektedir. En yaygın nedenlerin başında RAS yolağı sinyal proteinlerindeki düzensizlikler gelir [3, 4]. Bu hastalarda *JACK2* genindeki V617F mutasyonu pozitif ve *BCR/ABL* füzyon geni ise negatiftir [4]. Bu çalışmada kompleks sitogenetik bulgusu olan bir MDS/MPN olgusu sunulmuştur.

Olgu sunumu

62 yaşındaki erkek hasta halsizlik, bacaklarında güçsüzlük, 2 aydır devam eden, vücudunda çeşitli büyüklüklerde-yaygın morluk yakınmasıyla İ.Ü. CTF Hematoloji BD polikliniğine başvurmuştur. Sistem muayenelerinde solukluk, yaygın peteşi-purpura, kot kenarını 2 cm geçen hepatomegali ve 10 cm geçen splenomegali bulunmuş, laboratuvar tetkiklerinde Hb 10,8 gr/dL, MCV 93,4 fL, lökosit 7680/mm^3 (monosit 530/mm^3), trombosit 19.000/mm^3 saptanmıştır. Demir, folik asit ve B12 vitamini düzeyi normal sınırlarda iken, diğer biyokimya parametreleri ve eritropoetin seviyeleri de normal bulunmuştur. Çevresel kan yaymasında gözyaşı şeklinde eritrositler ve lökoeritroblastoz, anizotrombi, trombosit kümeleri görülmesi üzerine yapılan kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi hipersellüler ilikte (%100 hücresellik) fibrozis (grade III-IV), megakaryosit sayısında belirgin artış, kümeleşme gösteren displastik megakaryositler ve blast artışının gözlendiği MPN/MDS-U ile uyumlu bulunmuştur. IPSS skoru: Orta-1, R-IPSS skoru: yüksek değerlerde belirlenmiştir. Aralık 2012 yılında bu klinik tablo ile gelen olguda moleküler yöntemlerle BCR-ABL p210 transkripti ve *JACK2* genindeki V617F mutasyonu araştırılmıştır. Alınan kemik iliği aspirasyon materyalinde konvansiyonel sitogenetik inceleme yapılmıştır.

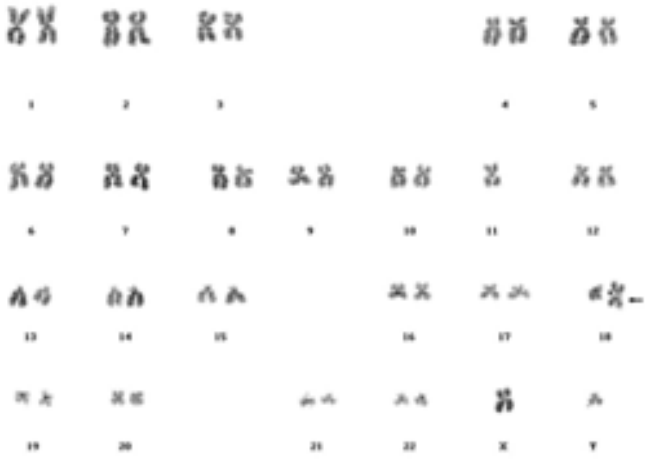
7 ay tedavisiz izlemden sonra Kasım 2009'da talidomid 100 mg/gün ile prednisolon 10 mg/gün po ve aspirin profilaksisine başlanmış, Ağustos 2012'ye kadar stabil seyir izleyen hastada ilk kez Hb: 8.8 gr/dL'ye kadar düşmüş ve transfüzyon ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Aralık 2012'de lökosit: 1600/mm3 (Nötrofil: 600/mm3), Hb: 7,58 g/dL, trombosit: 20.000/mm3 bulunarak kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi tekrarlanmıştır. Tanı sırasındaki biyopsiye ilave olarak fibrotik alanların sayısında artma izlenmiş ve tedaviye Danazol 600 mg/gün ilave edilmiştir. Ağustos 2013'de Akut Myeloid Lösemi dönüşümü izlenen hasta Ekim 2013'de araya giren febril nötropenik atakla kaybedilmiştir.

JAK2 (Janus Kinase 2) genindeki V617F mutasyonu ve BCR-ABL p210 transkripti (Mbcr) tesbiti için hastadan EDTA'lı kan tüplerine perifer kanı alınmıştır. *JAK2* genindeki V617F mutasyonu allele özgü polimeraz zincir tepkimesi yöntemi ile BCR-ABL p210 transkripti (Mbcr) ise gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesi ile analiz edilmiştir. V617F mutasyonunun tespiti için, EDTA'lı kandan DNA elde edilmiştir. "Seeplex JAK2 ACE Genotyping Kit" (Seegene, Kore) kullanılarak polimeraz zincir tepkimesi gerçekleştirilmiştir. Tepkime ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve jel görüntüleme sisteminde (UV ışık altında) incelenmiştir. BCR-ABL p210 transkripti (Mbcr) analizi için, EDTA'lı kandan "Ficoll Separating Solution" (Biochrom, Almanya) ile lenfosit elde edilmiş ve lenfositlerden "PureLink™ RNA Mini Kit" (Ambion, Amerika) kullanılarak elde edilen RNA'dan "RevertAid First-Strand cDNA Synthesis Kit" (Fermentas, Litvanya) ile cDNA sentezlenmiştir. cDNA'dan BCR-ABL p210 transkripti (Mbcr) tespiti için "BCR-ABL Mbcr IS-MMR Kit" (Ipsogen, Fransa) ile gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesi uygulanmıştır.

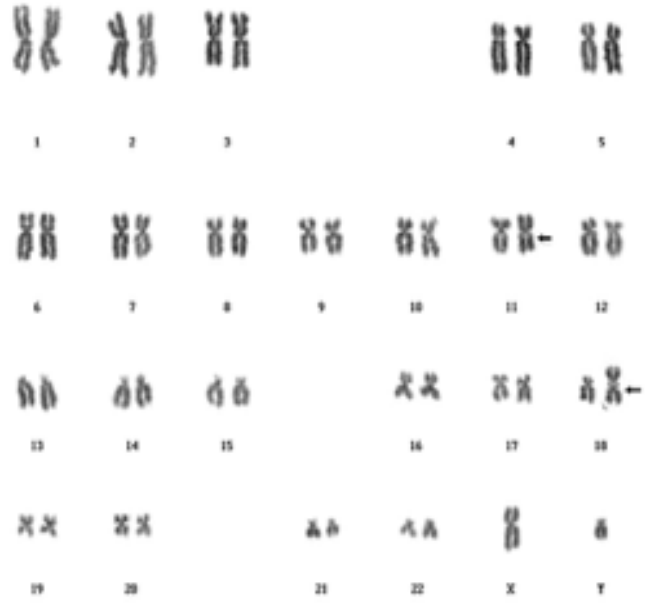
Heparinli enjektöre alınan kemik iliği aspirasyon materyali 24 ve 48 saatlik hücre kültürü yapılarak, GTL (G bantlama-Tripsin-Leishman) bantlama yöntemiyle ışık mikroskobunda sitogenetik olarak incelenerek, 20 metafaz analiz edilmiştir. Bulgular, güncellenen ISCN 2016'ya göre tekrar değerlendirilmiştir [5].

BCR-ABL p210 transkripti (Mbcr) negatif, *JACK2* genindeki V617F mutasyonu pozitif olarak saptanmıştır.

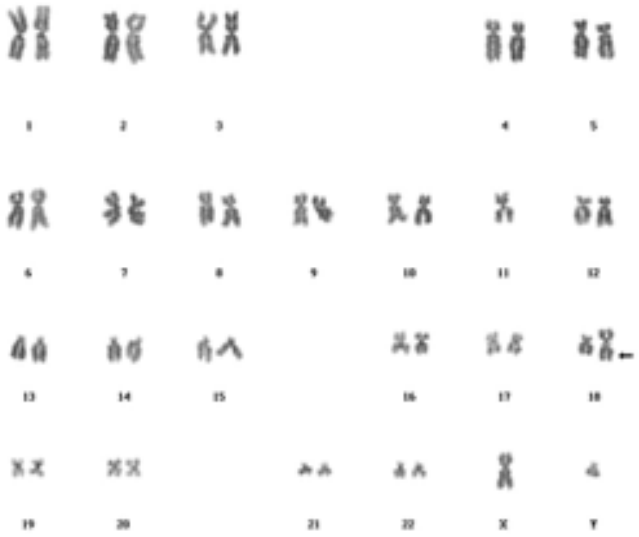
Yapılan sitogenetik inceleme sonucu; 45, XY, -11[3], idic(18)(p11.2)[4][cp4]/45~46, XY, t(11;idic(18)(p11.2))(p11.1;q11)[cp5]/42~45, XY, -11[5], der(idic(18) (p11.2))t(11;idic(18)(p11.2))(p11.1; q11)[5][cp5]/42, XY, der(11)t(11; idic(18)(p11.2))(p11.1; q11), -16, -18, -19, -22[1]/45, XY, dic(11;18)(q24;p11)[1]/46, XY[1] karyotip formülü elde edilmiştir (Resim 1a-c,2).



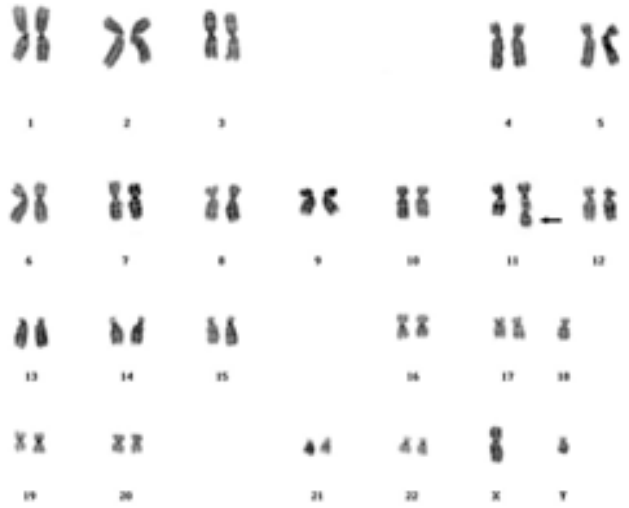
Resim 1a: 45, XY, -11,idic(18)(p11.2) karyotipli metafaz ve karyogram örneği.



Resim1b: 46, t(11;idic(18)(p11.2))(p11.1;q11) karyotipli metafaz ve karyogram örneği.



Resim1c: 45, XY, -11,der(idic(18))t(11;idic (18)(p11.2))(p11.1;q11) karyotipli metafaz ve karyogram örneği.



Resim2: 45, XY, dic(11;18)(q24;p11) karyotipli metafaz ve karyogram örneği.

Tartışma

MDS/MPN tüm myeloid neoplazilerin %5'inden azını oluşturur. Klinik özellikleri ve prognostik özellikleri iyi tanımlanmamıştır [6]; ancak, küçük olgu serilerinden elde edilen veriler trombositozun eşlik ettiği ring sideroblastlı refraktör anemi (RARS-T) hariç [2] kötü prognozlu olduğu yönündedir. Standardize edilmiş bir prognostik ya da tedavi algoritması da yoktur [6].

DiNardo ve arkadaşlarının yaptığı, 1987-2013 yıllarını kapsayan ve 85 sınıflandırılamayan MDS/MPN'li (MDS/MPN-U) hastayı içeren çalışmada 4 klinik değişkenin iyi prognostik gidişi gösterebileceği saptanmıştır: <60 yaş, trombositoz, çevresel kanda blast olmayışı ve kemik iliği blast oranı <%5 olması. Serideki ortanca sağ kalım 12,4 aydır (0,3-138,7 ay), hastamız ise toplam 55 ay izlenmiştir. Hastaların hem MDS, hem de MPN özellikleri göstermesi nedeniyle her iki gruba ait prognostik skorlama sistemleri uygulandığında da MDS-IPSS skoru ile anlamlı farklılık gözlenmiştir. Bu açıdan bakıldığında ise ortalama yaşam beklentisi IPSS'e göre 17,7 ay, R-IPSS'e göre 11,5 aydır. DiNardo ve ark.'nın serisinde sitogenetik

incelemede %49 diploid, %15 trizomi 8, %12 kompleks karyotip gözlenmiştir. Trizomi 8 dikkat çekici bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Kompleks karyotipi olan hastalarda beklendiği üzere prognoz kötü olup ortanca sağ kalım 8,3 aydır [6]. MDS/MPN olgularında gözlenen BCR-ABL p210 transkripti (-) ve *JACK2* V617F mutasyonu (+)bulguları birlikteliği olgumuzda da saptanmıştır [4]. Farklı lösemi ve lenfoma olgularında 11 ve 18 numaralı kromozomların eşlik ettiği yeniden düzenlenmeler rapor edilmekle birlikte [6], bizim olgumuzdaki kadar kompleks karyotipe rastlanmamıştır. Trizomi/kısmi trizomi 18 bulgusu da, lenfoproliferatif hastalıklarda ve MDS'de gözlenen anomalilerden birisi olarak bildirilmektedir. 18. kromozom kanserle ilişkili çok sayıda geni üzerinde taşıdığı için dikkat çekmektedir. Bunların arasında yer alan önemli genlerden biri de 18q21.3 te lokalize olan *BCL2* (B-cell CLL/lymphoma 2) genidir [7-12]. MDS'nin çok aşamalı patogenezinin erken evrelerinde proliferasyon avantajlı klon artışları olmaktadır. Bu aşamada artan apoptozis ile hücre artışı kontrol edilebilmektedir. Lösemi oluşumu sırasında bloke olan programlanmış hücre ölümü ile apoptozis azalır. Programlanmış hücre ölümünü düzenleyen apoptotik yolakların önemli düzenleyicilerinden biri de *BCL-2* ailesidir. Bu düzenleyici proteinlerin fonksiyonları anti apoptotik moleküllere karşı proapoptotik oranıyla olmaktadır. *BCL-2* gen ailesindeki düzensizlikler hematolojik kanserlerin de içinde yer aldığı çeşitli kanserlerde gösterilmektedir. MDS hastalarında bir pro-apoptotik Bcl-2 proteini olan Bax ile karşılaştırıldığında anti-apoptotik Bcl-2 proteininin arttığı gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda Bcl-2'de ki bu artış, özellikle AML hastalarında kemoterapiye direnç ve kısa hayatta kalım süresi ile ilişkilendirilmektedir. Aynı şekilde konvansiyonel tedavi ile sonuç alınamayan MDS ve MPN hastalarında da Bcl-2 proteinlerinde önemli bir artış tespit edilmiştir. Bu gen ürününü hedef alan epigenetik tedavi yöntemleri geliştirilmektedir [13, 14]. Bizim olgumuzda da idic(18) (p11.2) sonucunda 18. kromozomun uzun kolunun kısmi trizomisi oluşmuştur. Olgumuzun klinik tablosunun Akut Myeloid Lösemiye dönüşüm göstermesi ve daha sonra da febril nötropenik atakla kaybedilmesi nedeniyle bu bölgede yer alan *BCL-2* geninin ve gen ürününün de artışının söz konusu olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan sitogenetik inceleme sonucu klonal evolüsyonla bu anormal kromozomun eşlik ettiği daha ileri yeniden düzenlenmelerin meydana geldiği saptanmıştır. İlk olarak oluşan idic(18) kromozomu (Resim 1a), daha sonra 11. kromozom ile translokasyon yaparak ikinci bir klon (Resim 1b) oluşturmuştur. Bu klondan oluşan t(11;idic(18) translokasyon ürünü olan der(idic (18)) kromozom yapısının tek başına bulunduğu 3. (Resim 1c), ve der(11) in tek başına yer aldığı 4. klonların oluştuğu tespit edilmiştir (Resim 1a, b ve c). Ayrıca bir metafazda da 11 ve 18. kromozomların farklı kırık noktalarının translokasyonuyla oluşan farklı bir yeniden düzenlenme de tespit edilmiştir (Resim 2). Olguya ait örneğin yeterli miktarda olmaması nedeniyle sonuçlarımız FISH yöntemi ile konfirme edilememiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda sunulan MDS/MPN olgusu literatürde rastlamadığımız kompleks yeniden düzenlenimlere sahiptir. Üzerinde taşıdığı *BCL-2* gen ailesi ve kanserle ilişkilendirilen değişik gen bölgeleriyle 18 numaralı kromozom önem kazanmaktadır. Bu nedenle tespit ettiğimiz bu yeniden düzenlenimlerin kanser genetiği çalışmaları ve özellikle de konvansiyonel tedaviye direnç gösteren MDS/MPN hastalarında yeni alternatif tedavi araştırmaları için önemli bir bulgu olduğunu düşünmekteyiz.

Çıkar İlişkisi: Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan eder.

Kaynaklar

1. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. Blood 2002;100:2292-2302. https://doi.org/10.1182/blood-2002-04-1199
2. Foucar K. Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms. Am J Clin Pathol 2009;132:281-289. https://doi.org/10.1309/AJCPJ71PTVIKGEVT
3. Go´mez-Seguı´ I, Makishima H, Jerez A, Yoshida K. Novel recurrent mutations in the RAS-like GTP-binding gene RIT1 in myeloid malignancies. Leukemia 2013;27:1943-1946. https://doi.org/10.1038/leu.2013.179
4. Bacher U, Schnittger S, Kern W, Weiss T. Distribution of cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndromes, Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms, and the overlap MDS/MPN category. Ann Hematol 2009;88:1207-1213. https://doi.org/10.1007/s00277-009-0745-3

5. Simons A, Schmid M. Karger, ISCN (2016) An international system for human cytogenetic nomenclature, McGowan-Jordan J, 2016;149:1-2.
6. DiNardo CD, Daver N, Jain N, et al. Myelodysplastic/ Myeloproliferative Neoplasms, Unclassifiable (MDS/ MPN, U): Natural history and clinical outcome by treatment strategy Leukemia. 2014;28:958-961. https://doi.org/10.1038/leu.2014.8
7. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/Anomliste.html Erişim tarihi 8 Mart 2019. (Accessed March 8,2019.)
8. Kominato S, Nakayama T, Sato F, Yamada S, Xia H. Characterization of chromosomal aberrations in thymic MALT lymphoma. Pathol Int 2012;62:93-98 https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2011.02764.x
9. Dunlap J, Kelemen K, Leeborg N, Braziel R, Olson S, Press R. Association of *JAK2* mutation status and cytogenetic abnormalities in myeloproliferative neoplasms and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. Am J Clin Pathol 2011;135:709-719. https://doi.org/10.1309/AJCPS6C8EVYCQNRM
10. Slovak ML, Smith DD, Bedell V, Hsu Y-H, O'Donnell M. Assessing karyotype precision by microarray based comparative genomic hybridization in the myelodysplastic/myeloproliferative syndromes. Molecular Cytogenetics 2010,3:23 https://doi.org/10.1186/1755-8166-3-23
11. Zhu D, Ikpatt OF, Dubovy SR, et al. Molecular and genomic aberrations in Chlamydophila psittaci negative ocular adnexal marginal zone lymphomas. Am J Hematol 2013;88:730-735. https://doi.org/10.1002/ajh.23490
12. Deviren A, Gürsel İM, Kuru D, et al. Cytogenetic evaluation in 221 untreated patients with myelodysplastic syndrome. Tedavi almamış 221 miyelodisplastik sendromlu hastada sitogenetik değerlendirme. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2012;32:15-23. https://doi.org/10.5336/medsci.2010-20908
13. Parker JE, Mufti GJ, Rasool F, Mijovic A, Devereux S, Pagliuca A. The role of apoptosis, proliferation, and the Bcl-2–related proteins in the myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia secondary to MDS. Blood 2000;96:3932-3938.
14. Bogenberger JM, Kornblau SM, Pierceall WE, et al. BCL-2 family proteins as 5-Azacytidine-sensitizing targets and determinants of response in myeloid malignancies Leukemia 2014;28:1657-1665 https://doi.org/10.1038/leu.2014.44

XIII.Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresinde poster olarak sunulmuştur. Sayfa 405,Poster PS-10 29, 27-30 Ekim,2013 Kuşadası,Türkiye.