

Ohliadnutie za 50. výročnou cytogenetickou konferenciou

Andrea Blahová

Medirex, a. s., Bratislava

NewsLab, 2018; roč. 9 (1): 56 – 58

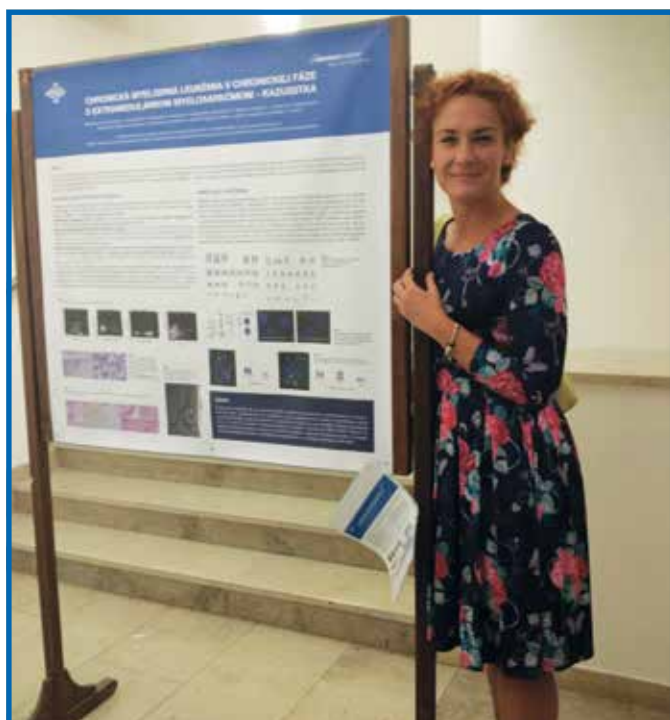
V dňoch 7. – 8. 9. 2017 sa konala v Prahe-Dejviciach pod záštitou rektora Karlovej Univerzity prof. MUDr. Tomáša Zimu, DrSc., jubilejná 50. cytogenetická konferencia s medzinárodnou účasťou. Spoločnosť lekárskej genetiky je súčasťou Českej lekárskej spoločnosti Jana Evangelistu Purkyňa a ako samostatná spoločnosť začala svoju činnosť v roku 1967 a jej vznik je úzko spojený s rozvojom genetiky vo vtedajšom Československu. Prvá časť konferencie bola preto venovaná histórii a mapovala uplynulých 50 rokov v českej a slovenskej genetike. Ďalšia časť konferencie bola rozdelená na onkocytogenetiku, prenatálnu a postnatálnu genetiku a kolegovia z rôznych pracovísk prezentovali svoje najnovšie práce a výsledky z nich.

Na konferencii sme sa zúčastnili aktívne a naše oddelenie genetiky sme prezentovali tromi posterami. Prvý od RNDr. Marty Bombarovej, PhD., Mgr. Aleny Žákovičovej, Mgr. Dominiky Veselyniovej a kol. s názvom „Chronická myeloidná leukémia (CML) v chronickej fáze s extramedulárnym myelosarkómom – kazuistika“ opisuje kazuistiku 39-ročného muža, ktorý trpel silnými bolesťami chrbtice v krížovej oblasti. Po vyšetrení v neurologickej ambulancii bol pre vysokú leukocytózu odoslaný aj do onkohematologickej, v ktorej vyslovili podozrenie na diagnózu MPN/CML. Tá bola po prvotnom cytogenetickom a FISH vyšetrení kostnej drene potvrdená, keď boli detegované dva Ph pozitívne patologické klony –

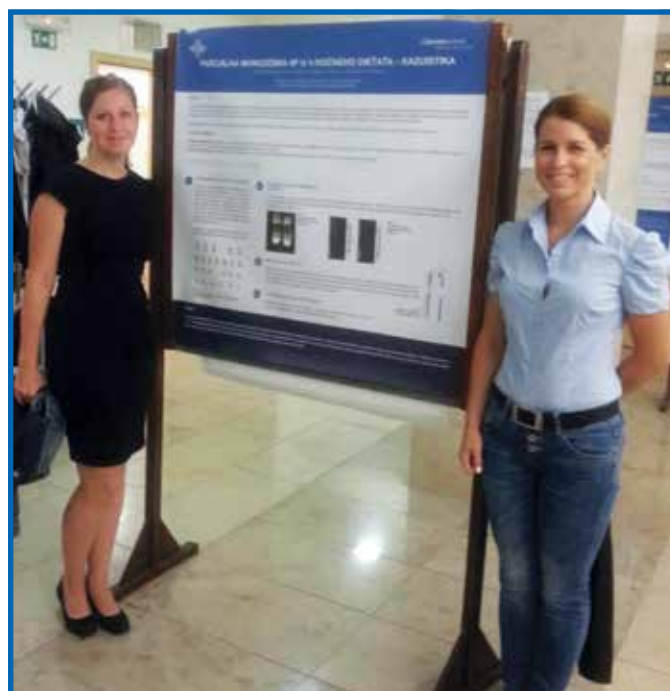
den s klasickou translokáciou t(9;22) a druhý klon s variantnou translokáciou t(9;22;11), do ktorej okrem chromozómov 9 a 22 bol zahrnutý tretí chromozóm – 11. MRI vyšetrenie odhalilo extramedulárny myelosarkóm, čo je z klinického hľadiska zaujímavý nález, pretože v chronickej fáze CML je manifestovaný veľmi zriedka. V súčasnosti je pacient, napriek horšej prognóze, po neurochirurgickom odstránení tumorovej masy v kompletnej hematologickej remisii (**obrázok 1**).

Druhý poster s názvom „Parciálna monoizómia 9p u 4-ročného dieťaťa – kazuistika“ vypracovali kolegyne z neonkologickej a prenatálnej cytogenetiky RNDr. Csilla Kozmér, PhD., RNDr. Vladimíra Verchovodková a kol. Cytogenetickou analýzou bola u pacienta trpiaceho autizmom odhalená delécia krátkych ramienok chromozómu 9 a bol stanovený karyotyp 46,XY,del(9)(p22). Pomocou array-CGH boli miesta zlomov spresnené – 9p24.3-23 a bola potvrdená delécia s veľkosťou 13 Mb. U rodičov bol stanovený normálny karyotyp. Fenotyp pacienta koreluje s fenotypom publikovaných prípadov s deléciou 9p (mentálna retardácia, vývojové zaostávanie, psychomotorické poruchy, faciálna dysmorfia, u niektorých chlapcov aj porucha vývoja pohlavných orgánov). Kazuistika poukazuje aj na výhody kombinácie cytogenetických a molekulových metód, ako napríklad array-CGH, nielen kvôli spresneniu nálezu, ale poskytujú nám tiež možnosť predikcie zdravotného stavu pacienta do budúcnosti (**obrázok 2**).

Obrázok 1. Mgr. Alena Žákovičová pri svojom poster



Obrázok 2. RNDr. Csilla Kozmér, PhD., a RNDr. Vladimíra Verchovodková po prezentácii príspevku



NEBALANSOVANÁ PRESTAVBA der(18)t(9;18)(p12;p11) U PACIENTKY S POLYCYTÉMIOU VERA (kazuistika)

RNDr. Andrea Blahová, Mgr. Kristína Lengyelová, Mgr. Alena Žákovičová, Mgr. Kristína Juríková, Mgr. Jakub Petrik, RNDr. Miroslav Tomka, PhD., RNDr. Renata Lukačková
Odd. klinickej genetiky, Medirex a.s., Bratislava

ÚVOD

Myeloproliferatívne neoplázie sú klonálne ochorenia charakteristické zvýšenou produkciou zreplých krvných buniek.

MPN philadelphia negatívne predstavujú heterogénnu skupinu ochorení s niekoľkými podjednotkami:

- > Pravá polycytémia (PV)
- > Esenciálna trombocytémia (ET)
- > Primárna myelofibróza (PMF)

Rozdiely medzi nimi sú v diagnostike, výskyte komplikácií, v klinickej stratifikácii a v manažmente a liečbe choroby.

Polycytémia vera (pravá polycytémia, PV) je charakteristická zvýšenou produkciou erytrocytov v kostnej dreň, čo má za následok zníženie prietoku krvi. Ochorenie sa môže transformovať do myelofibrózy alebo akútnej leukémie. Medián prežívania je 8 – 11 rokov a priemerný vek v čase diagnózy je nad 60 rokov, zriedka sa ochorenie vyskytne u mladších ako 30 rokov. Príčina polycytémie vera je neznáma.

Ochorenie je zvyčajne získané, vo vzácných prípadoch môže byť dedičné. U približne 95% všetkých ľudí trpiacich týmto ochorením sa v krvných bunkách vyskytuje mutácia V617F JAK2 génu. Gén JAK2 je lokalizovaný na chromozóme 9p24 a jeho produktom je proteín tyrozín kináza. Enzym Janusova kináza 2 je súčasťou signálnej dráhy vedúcej spôsobik tvorbe krvných buniek. Keď telo potrebuje viac krvných buniek, vyšle signál JAK2, a ten následne signalizuje bunkám, aby začali rásť a deliť sa. Mutácia, že sa JAK2 stane trvalo aktívnym, čo znamená, že nedokáže prestať vysielat bunkám signál, aby rástli a delili sa, hoci organizmus už nové bunky nepotrebuje. Je to chronické ochorenie, ktoré nemožno vyliečiť, ale správnu liečbou je možné ju dlhodobo efektívne zvladať.

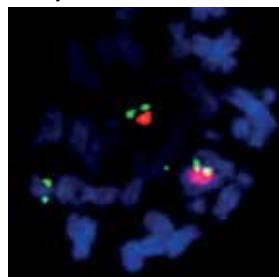
O polycytémii vera svedčí aj nález:

- > Mutácia V617F JAK2 – v približne 95% prípadov.
- > Nízka hladina hormónu erythropoetínu (EPO), ktorý je zodpovedný za produkciu červených krviniek.
- > Zmnoženie krvných buniek v kostnej dreň zistené biopsiou kostnej drene.

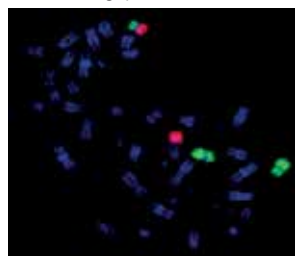
Obr. 1.: G- band po 24hodinovej kultivácii kostnej drene. V metafáze šípkou označený derivovaný chromozóm.



Obr. 3.: FISH analýza za použitia sondy CDKN2 SG/CEP 9 SO



Obr. 2.: FISH analýza pomocou celochromozómových sond wcp 9 (spectrum Green) a wcp 18 (spectrum Orange)



Obr. 4.: FISH analýza so sondou XA X/Y/18



KAZUISTIKA

V marci 2017 bola 79 ročná pacientka odoslaná obvodným lekárom na odd. hematológie pre polyglobúliu, bolesti hlavy, miernu hyperémiu tváre. Pacientka nemala žiadne závažné predchorenie, bola len liečená pre artériovú hypertenziu. Pacientke bola stanovená diagnóza polycytémia vera.

Zároveň sme na naše odd. klinickej genetiky prijali vzorky kostnej drene a periférnej krvi od pacientky, ktoré sme vyšetrili dostupnými genetickými metódami.

METÓDY a VÝSLEDKY

Cytogenetika

Na cytogenetickej úrovni sme uskutočnili 24-hodinovú kultiváciu kostnej drene. Po spracovaní a zafarbení sme zhodnotili 20 metafáz. V ôsmych sme zaznamenali zriedkavú prestavbu medzi chromozómom 9 a 18. Stanovili sme karyotyp 46,XX,der(18)t(9;18)(p12;p11)[8]/46,XX[12] (obr.1). Následkom prestavby je trizómia krátkych ramien chromozómu 9 a monozómia krátkych ramien chromozómu 18.

FISH analýza

FISH analýza bola uskutočnená na vzorkách kostnej drene po 24-hodinovej kultivácii pomocou sond:

- > celochromozómových wcp 9 a wcp 18 (Metasystems, Alogo) (obr.2),
- > Ysis CDKN2A SG/ CEP 9 SO FISH so Probe Kit (Zytovision), ktorá hybridizuje do oblastí 9p21 a centromerovej 9p11-q11 (obr.3),
- > centromerovej XA X/Y/18 (Metasystems, Alogo) (obr.4).

Pomocou uvedených sond sme upresnili a potvrdili prítomnosť derivovaného chromozómu 18.

Molekulová analýza

Molekulovú analýzu JAK2 génu sme uskutočnili metódou RT PCR – alelická diskriminácia, pomocou kitu JAK2 Mutascreeen (Qiagen) a potvrdili sme prítomnosť mutácie V617F v géne JAK2. Zároveň sme stanovili kvantitu pozitívnej JAK2 alely na 10,06%.

Vyšetrili sme aj BCR-ABL zlomy, ktoré nepotvrdili prítomnosť BCR-ABL transkriptu.

ZÁVER

V čase diagnózy máva väčšina pacientov prítomný normálny karyotyp, chromozómové zmeny sa objavujú zväčša s progresiou ochorenia. Výskyt popisovanej nebalansovanej prestavby der(18)t(9;18)(p12;p11) je v čase diagnózy zriedkavý. Aktivačná JAK2 V617F mutácia je prítomná u väčšiny PV pacientov a predpokladá sa, že má primárnu úlohu v patogenéze myeloproliferatívnych ochorení. JAK2 gén je lokalizovaný do oblasti 9p24 a preto pacienti s trizómiou 9p majú navyše jednu kópiu génu, či už v normálnej alebo mutovanej forme, čoho následkom je zvýšenie expresie génu (gain of function).

Súčasný výskyt chromozómovej prestavby s mutáciou JAK V617F zapríčiňuje proliferatívny fenotyp ochorenia s vysokou pravdepodobnosťou transformácie do postpolycytemickej myelofibrózy a potencionálne do akútnej leukémie.

Pacientka je t.č. nastavená na liečbe Hydroxyureou v dávke 1-1-1 s dobrou toleranciou a účinnosťou. Redukcia cefaley je o 75%. Napriek tomu, že spoločný výskyt chromozómovej prestavby der(18)t(9;18) s mutáciou JAK2 V617F je v literatúre spájaný s progresiou ochorenia, je pacientka v stabilizovanom stave a má sa dobre.

LITERATÚRA

1. CASE REPORTS in HAEMATOLOGY. 2. (Paper co-edited with the European LeukemiaNet)Unbalanced rearrangement der(9;18)(p10;q10) in a patient with polycythemia vera Xinjie Xu, Xueyan Chen, Elizabeth A Rauch, Eric B Johnson, Kate J Thompson, Jennifer JS Laffin, Gordana Raca, Daniel F Kurtycz,2010-04. 3. CASE REPORTS in HAEMATOLOGY. 4. (Paper co-edited with the European LeukemiaNet)Unbalanced rearrangement, der(9;18)(p10;q10) in a patient with myeloproliferative neoplasm. Case 0001M. Kavita S Reddy,2011-03. 5. CASE REPORTS in HAEMATOLOGY. 6. (Paper co-edited with the European LeukemiaNet)Unbalanced rearrangement der(9;18)(p10;q10) and JAK2 V617F mutation in a patient with AML following post-polycythemic myelofibrosis. Francesca Cambosu, Giuseppina Fogu, Paola Maria Campus, Claudio Fozza, Luigi Podda, Andrea Montella, Maurizio Longinotti.2011-09

Tretí poster pod názvom „Nebalansovaná prestavba der(18)t(9;18)(p12;p11) u pacientky s polycytémia vera (kazuistika)“ od RNDr. Andrey Blahovej a kol. predstavuje prípad 79-ročnej pacientky, ktorej hematológ stanovil diagnózu polycytémia vera (PV). Vyšetřili sme vzorku kostnej drene a molekulovou analýzou sme detegovali prítomnosť mutácie V617F v géne *JAK2*. Cytogenetickou a FISH analýzou sme odhalili zriedkavú prestavbu karyotypu – 46,XX,der(18)t(9;18)(p12;p11), následkom ktorej je prítomná trizómia krátkych ramien chromozómu 9 a monoizómia krátkych ramien chromozómu 18. Aktivačná *JAK2* V617F mutácia je prítomná u väč-

šiny PV pacientov a predpokladá sa, že má primárnu úlohu v patogenéze myeloproliferatívnych ochorení. *JAK2* gén je lokalizovaný do oblasti 9p24, preto súčasný výskyt danej chromozómovej prestavby s mutáciou *JAK2* V617F zapríčiňuje proliferatívny fenotyp ochorenia s vysokou pravdepodobnosťou transformácie do postpolycytemickej myelofibrózy a potenciálne do akútnej leukémie (**obrázok 3**).

Poznatky z konferencie sú veľkým prínosom pre našu ďalšiu prácu, umožňujú nám zlepšovať diagnostiku ochorení a pomáhajú vyriešiť nové zaujímavé prípady, ktoré budeme môcť prezentovať na ďalších kongresoch.



RNDr. Andrea Blahová

Medirex, a. s.

Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava

e-mail: andrea.blahova@medirex.sk