



Mijelodisplastični sindromi

IMMUNOEXPRESSION OF BONE MARROW HAEMATOPOIETIC CELLS 5-METHYLCYTOSINE (5-mC) AND CYTOGENETICS IN PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROMES

SUČIĆ M.¹, Ljubić N.¹, Županić Krmek D.², Ivanović D.¹, Perković L.³, Magazin M.³, Frković Solomun G.²

¹Division of Cytology, Department of Pathology and Cytology, Clinical Hospital "Sveti Duh", Zagreb, Croatia

²Division of Haematology, Clinical Department of Internal Medicine, Clinical Hospital "Sveti Duh", Zagreb, Croatia

³Special Hospital AGRAM – Polyclinic Zagreb, Zagreb, Croatia

mirna.sucic@yahoo.com

Keywords: myelodysplastic syndromes, cytogenetics, DNA methylation, 5-methylcytosine (5-mC), immunocytochemistry

Although both DNA hypermethylation and hypomethylation are associated with tumors, hypermethylation of DNA is essential for the molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes (MDS). Immunostaining score of 5-methylcytosine (5-mC) in bone marrow (BM) haematopoietic mononuclear cells (HMCs) is higher in MDS patients than in normal control group and prognosis of the disease correlated with global DNA methylation.

The aim of this study was to analyse immunocytochemical expression of 5-mC in BM HMCs in 13 MDS patients and in the control group – 13 patients with anaemia of chronic disease (ACD), as well as cytogenetics in MDS patients.

Results of our study revealed that immunopositivity of 5-mC BM HMCs was statistically significantly higher in our MDS patients than in patients with ACD and in most of MDS patients (11 out of 13) a higher 5-mC immunopositivity of BM HMCs (above 10%) was found. However, in the subgroup of MDS patients with a higher risk, one of our MDS-EB-2 patients had a lower percentage of 5-mC BM immunopositive HMCs (8%) probably related to DNA hypomethylation that could be also found in MDS. In 5 of 13 MDS patients, cytogenetic analysis was done and two MDS patients (1 MLD, 1 EB-2) with normal karyotype were in the good prognostic subgroup, one EB-2 patient in the intermediate prognostic subgroup had 8 trisomy and two patients (1 RS-SLD, 1 MLD) were in the very poor prognostic subgroup due to more than 3 complex cytogenetic abnormalities found. Although these 5 patients were in different cytogenetic prognostic subgroups, they all had intermediate 5-mC immunopositivity of BM HMCs ranging from 12% to 19%.

In conclusion, immunopositivity of 5-mC BM HMCs was statistically significantly higher in our MDS patients than in patients with ACD. However, lower 5-mC immunopositivity does not exclude the diagnosis of MDS and also could be found in higher risk MDS patients. Moreover, some of our MDS patients had different outcomes although they were in the same cytogenetic prognostic subgroup. Thus, many other prognostic factors including BM blast percentage, number of cytopenias, mutated genes, global DNA methylation and specific DNA methylation patterns influence on the prognosis of MDS

IZRAŽAJ CIRKULIRAJUĆIH MIKRORNA U BOLESNIKA S MIJELODISPLASTIČNIM SINDROMOM

MANDAC I.¹, Kardum-Paro M. M.¹, Milunović V.¹, Rinčić G.², Martinović M.¹, Radić Krišto D.¹, Ostojčić Kolonić S.¹

¹Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Republika Hrvatska

imandac@yahoo.com

Ključne riječi: MDS, mikroRNA

Uvod: Mijelodisplastični sindrom (MDS) je skupina heterogenih klonskih hematoloških poremećaja hematopoetskih matičnih stanica, praćenih neučinkovitom hematopoezom jedne ili više staničnih linija uz pojavu posljedičnih citopenija s povišenim rizikom od progresije u akutnu mijeloidnu leukemiju.

Mikroglasničke ribonukleinske kiseline (miRNA) kratke su, nekodirajuće molekule duljine 18 do 25 nukleotida, koje imaju važnu ulogu u regulaciji razvoja i metabolizma stanica, njihovoj diferencijaciji i proliferaciji, regulaciji staničnog ciklusa i stanične smrti. U literaturi se genska ekspresija miRNA dovodi u vezu s dijagnozom, klasifikacijom i progresijom različitih bolesti.

Provedena su istraživanja o molekularnim mehanizmima i epigenetičkim putovima u MDS te njihovu prognostičkom i terapijskom značenju, ali je ograničen broj studija dokazao važnost miRNA u dijagnostici MDS.

Cilj: Ispitivanje razine promjene genskih ekspresija specifičnih miRNA (miR-125a, miR-99b, miR-126, miR-125b, miR-let-7a) u plazmi zdravih dobrovoljaca (20) i ispitanika s dijagnozom MDS (41).

Metode: Dijagnoza MDS postavljena je na temelju laboratorijskih parametara, citomorfološke analize stanica periferne krvi i koštane srži te citogenetičke analize stanica koštane srži sukladno hrvatskim smjernicama Radne skupine za MDS Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (KROHEM). Genske ekspresije specifičnih miRNA (125a, 99b, 126, 125b i let7a) određene su u laboratoriju za molekularnu dijagnostiku Kliničkog zavoda za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu Kliničke bolnice Merkur, akreditiranom prema normi EN ISO 15189:2012.

Rezultati: Analiziran je ukupno 41 bolesnik s MDS. Medijan dobi bio je 70 godina, većina analiziranih bolesnika bili su muškarci (70,7%). Najčešći podtip MDS bio je MDS s unilinijskom displazijom (29,2%).

Dokazana je značajna razlika između ispitivane skupine i zdrave kontrole u razini miR-99b, gdje se kod normaliziranih vrijednosti u odnosu na miR-126, uočava povećana razina kod ispitanika u odnosu na kontrolu za 4,521 puta ($P=0,004$).

Uočena je dijagnostička, ali i prognostička važnost miR-125a koji negativno korelira s brojem eritrocita i razinom hemoglobina kod dijagnoze MDS.

Zaključak: Unatoč malom broju MDS bolesnika, rezultati ovog rada ukazuju na klinički važnost miR-99b te dijagnostičku i prognostičku važnost miR-125a.

Cirkulirajuća miRNA može biti dodatni parametar koji će doprinijeti većoj osjetljivosti i specifičnosti neinvazivnih dijagnostičkih testova. Praćenje razine promjene miRNA u plazmi pomoglo bi na neinvazivan način u praćenju MDS bolesnika niskog ili intermedijarnog rizika.

LIJEČENJE LIJEKOVIMA KOJI STIMULIRAJU ERITROPOEZU U BOLESNIKA S MIJELODISPLASTIČNIM SINDROMOM I ANEMIJOM – REZULTATI KBC-A ZAGREB NAKON PRODUŽENOG PRAĆENJA

RONČEVIĆ P.¹, Ostojić A.¹, Bašić Kinda S.¹, Aurer I.^{1,2}, Vodanović M.¹, Serventi Seiwerth R.¹, Sertić D.¹, Mikulić M.¹, Dujmović D.¹, Desnica L.¹, Batinić J.¹, Dreta B.¹, Vrhovac R.^{1,2}, Pulanić D.^{1,2}, Boban A.^{1,2}, Duraković N.^{1,2}, Perić Z.^{1,2}, Krečak I.³, Holik H.⁴, Zekanović I.⁵, Radman I.¹

¹ Klinički bolnički centar Zagreb

² Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

³ Opća bolnica Šibenik

⁴ Opća bolnica "Dr. J. Benčević" – Slavonski Brod

⁵ Opća bolnica Zadar

Kronac@gmail.com

Ključne riječi: MDS, ESA, anemija

Cilj: Opisati karakteristike bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom (MDS) i anemijom na terapiji lijekovima koji stimuliraju eritropoezu (ESA), te ishode liječenja nakon produženog praćenja.

Metode: Retrospektivna analiza bolesnika s MDS-om liječenih u KBC Zagreb od 1/2015. do Obilježja bolesnika prikazana su klasičnim deskriptivnim metodama, kontinuirane varijable prikazane su medijanom i rasponom, udjeli postocima. Procjena terapijskog odgovora provedena je prema Chesonovim kriterijima (Blood, 2000./2006.). Kontinuirane varijable u različitim vremenskim točkama analizirane su Wilcoxon-Prat testom. Ukupno preživljenje (OS) i preživljenje bez događaja (EFS; događaji: izostanak ili gubitak prethodno postignutog odgovora, te smrt) analizirani su Kaplan-Meier metodom uz usporedbe grupa log-rank testom.

Rezultati: U navedenom razdoblju 33 bolesnika s MDS-om liječeni su ESA-om (epoetin beta [n=14] i darbopoetin alfa [n=19]). Medijan dobi pri početku liječenja bio je 74 godine (21–86), a muških bolesnika bilo je 19.

Laboratorijski parametri pri dijagnozi bili su: Lkc $5.1 \times 10^9/L$ (1,3–9,7), Hb 83 g/L (40–118), Trc $210 \times 10^9/L$ (39–845), blasti u koštanoj srži 2% (0–8%), eritropoetin 55 IU/L (1–390). Prema R-IPSS-u, bolesnici su bili vrlo niskog (n=5), niskog (n=22), intermedijarnog (n=3) i visokog (n=3) rizika bolesti; 61% bilo je ovisno o transfuzijama. Nakon 76 dana (40–112) terapije, eritroidni odgovor (EI) postiglo je 55% [37–72%] bolesnika. Treći i 6. mjesec od početka ESA, Hb je porastao na 99 (51–131, $p < 0,001$) i 92 (53–147, $p = 0,002$) g/L. U istim vremenskim točkama bolesnici s EI su imali porast Hb na 115 (89–131, $p < 0,001$), odnosno 101 (89–147, $p < 0,001$) g/L. Medijan praćenja od početka terapije iznosio je 559 (48–1925) dana, a vrijeme trajanja terapije 281 (42–1221) dan. Medijan EFS iznosio je 308 dana (95%CI 112-ND), a EFS na 6 mjeseci, 1 i 2 godine 61% (46–80%), 43% (29–65%) i 39% (24–61%). U univarijatnoj analizi niži R-IPSS ($p = 0,036$) povezan je sa statistički značajno dužim EFS. Medijan OS iznosio je 1236 (803-ND) dana, uz 6-mjesečno, 1- i 2-godišnje OS 90% (82–100%), 85% (74–98%) i 68% (52–88%). Bolesnici s EI su imali statistički značajno duži medijan OS (ND [ND-ND] prema 551 [207-ND], $p < 0,0001$).

Zaključak: Naši rezultati su u skladu s onim već publiciranim te upućuju da bolesnici s nižim R-IPSS-om bolje odgovaraju na ESA uz mogući povoljan učinak na OS.