

Особенности цитогенетической диагностики синхронно протекающих хронического лимфолейкоза и миелодиспластического синдрома: описание клинического случая

М.А. Кислицына, Т.Н. Обухова, А.В. Кохно, Л.А. Гребенюк, А.В. Лучкин, Л.А. Кузьмина, В.Н. Двирнык, А.М. Ковригина, И.В. Гальцева, Б.В. Бидерман, В.В. Троицкая, Е.Н. Паровичникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4

Контакты: Мария Анатольевна Кислицына makislitsyna@gmail.com

При хроническом лимфолейкозе значительно увеличен риск развития вторых опухолей, в том числе опухолевых заболеваний системы крови, с которыми чаще всего связывают применение аналогов пуриновых нуклеозидов и алкилирующих препаратов в терапии хронического лимфолейкоза. Сочетанное выявление данного заболевания и различных гематологических опухолей — редкое событие в гематологической практике. Применение цитогенетического метода исследования позволяет не только дифференцировать 2 опухоли, но и подтвердить различие генетических нарушений в разных клонах и на разных уровнях дифференцировки клеток.

В настоящей статье представлен клинический случай синхронного течения хронического лимфолейкоза и миелодиспластического синдрома с 2 клонами с различными цитогенетическими аномалиями — частичной трисомией хромосомы 12 и делецией длинного плеча хромосомы 5, сформированными на разных уровнях дифференцировки клеток.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, миелодиспластический синдром, цитогенетическое исследование, делеция 5q, частичная трисомия 12, синхронные опухоли

Для цитирования: Кислицына М.А., Обухова Т.Н., Кохно А.В. и др. Особенности цитогенетической диагностики синхронно протекающих хронического лимфолейкоза и миелодиспластического синдрома: описание клинического случая. Онкогематология 2019;14(3):69–76.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-3-69-76

Features of cytogenetic diagnosis of simultaneous chronic lymphocytic leukemia and myelodysplastic syndrome: clinical case report

M.A. Kislitsyna, T.N. Obukhova, A.V. Kokhno, L.A. Grebenyuk, A.V. Luchkin, L.A. Kuzmina, V.N. Dvirnyk, A.M. Kovrigina, I.V. Galtseva, B.V. Biderman, V.V. Troitskaya, E.N. Parovichnikova

National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zыkovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

In chronic lymphocytic leukemia, the risk of second tumors including hematological malignancies, with which the use of purine nucleosides and alkylating agents in treatment of chronic lymphocytic leukemia is most often associated, is significantly increased. Concurrent detection of this disease and various hematological tumors is a rare occurrence in hematological practice. Use of cytogenetic method or analysis allows to differentiate between 2 tumors and confirm differences in genetic abnormalities in different clones and on different levels of cell differentiation.

This article presents a clinical case of simultaneous chronic lymphocytic leukemia and myelodysplastic syndrome with 2 clones with different cytogenetic abnormalities: partial trisomy of chromosome 12 and deletion of the long arm of chromosome 5 formed at different levels of cell differentiation.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, myelodysplastic syndrome, cytogenetic analysis, deletion 5q, partial trisomy 12, concurrent neoplasm

For citation: Kislitsyna M.A., Obukhova T.N., Kokhno A.V. et al. Features of cytogenetic diagnosis of simultaneous chronic lymphocytic leukemia and myelodysplastic syndrome: clinical case report. Onkogematologiya = Oncohematology 2019;14(3):69–76.

Введение

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) — клональное лимфопролиферативное заболевание, характеризующееся накоплением атипичных зрелых CD5/CD19/CD23-положительных В-лимфоцитов преимущественно в крови, костном мозге, лимфатических узлах, печени и селезенке. Известно, что у больных ХЛЛ увеличена частота возникновения вторых опухолей, среди которых самыми распространенными являются меланома и другие опухоли кожи [1, 2]. По данным популяционных исследований, риск развития злокачественных новообразований при ХЛЛ увеличен в 2 раза и более, а риск развития меланомы в 8–22 раза в зависимости от возраста [3]. В некоторых исследованиях сообщается о высоком риске развития неходжкинских лимфом, множественной миеломы и острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) при ХЛЛ [2, 4].

В мировой и отечественной литературе представлены данные о сочетании ХЛЛ и опухолевых заболеваний системы крови. Описаны случаи развития множественной миеломы, волосатоклеточного лейкоза, периферической Т-клеточной лимфомы, хронического миелолейкоза и Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний, миелодиспластического синдрома (МДС) и ОМЛ одновременно с ХЛЛ или последовательно [5–11]. В развитии вторых опухолей определенную роль играют такие факторы, как иммунодефицит, характерный для больных ХЛЛ, генетическая нестабильность и постоянная антигенная стимуляция [3, 11]. По мнению ряда авторов, предшествующая химиотерапия повышает риск возникновения злокачественных образований [12, 13].

Синхронное развитие ХЛЛ и МДС у одного пациента является крайне редким событием в гематологической практике. По данным анализа 1196 больных с МДС без предшествующей терапии, проведенного L. Florensa и соавт., частота встречаемости ХЛЛ у больных с МДС составляет лишь 0,5 % [14]. В литературе представлены единичные случаи синхронного выявления ХЛЛ и МДС. Большинство случаев МДС и ОМЛ описаны у больных ХЛЛ, получавших терапию аналогами пуриновых нуклеозидов (флударабин) и алкилирующими препаратами (хлорамбуцил и циклофосфамид), с миелотоксическим действием которых связывают возникновение вторичных миелоидных опухолей [11–13, 15]. Медиана времени развития МДС и ОМЛ составляет 6,4 года от установления диагноза ХЛЛ и 5 лет от начала лечения [13].

В исследовании F.P. Tambaro и соавт. показано, что медиана времени развития МДС и ОМЛ у больных ХЛЛ без предшествующей химиотерапии значительно меньше, чем у больных, получавших лечение, — 21 и 54 мес соответственно [15]. Кроме этого, в данном исследовании выявлены достоверные различия выживаемости в группах больных без лечения ХЛЛ и получавших более 2 курсов химиотерапии: медиана общей выживаемости составила 37 и 6 мес соответственно.

Патогенез 2 синхронно протекающих заболеваний до конца неизвестен. Существует 2 гипотезы возникновения синхронно протекающих гематологических опухолей: генетические нарушения происходят в разных клетках-предшественниках либо в одной стволовой гемопоэтической клетке. Y. Kikushige и соавт. предположили, что клетки ХЛЛ происходят не из дифференцированных зрелых лимфоцитов, а из гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) [16]. В связи с этим изучение генетической структуры ГСК при ХЛЛ является предметом особого интереса. Использование гистологического, иммунофенотипического (ИФТ) и цитогенетического методов исследования позволяет дифференцировать гематологические опухоли. В то же время только цитогенетическая диагностика предоставляет возможность подтверждать независимое происхождение опухолевых клонов [17–21].

Мы представляем клинический случай синхронного течения ХЛЛ и МДС с трансформацией в ОМЛ, в котором выполненное цитогенетическое исследование позволило доказать независимое возникновение 2 опухолевых клонов на разном уровне дифференцировки клеток.

Клинический случай

У больного, 57 лет, в ноябре 2015 г. при диспансеризации по данным клинического анализа крови был выявлен лимфоцитоз $3,7 \times 10^9/\text{л}$ при уровне лейкоцитов $5,4 \times 10^9/\text{л}$. Был предположен диагноз ХЛЛ, но от дальнейшего обследования пациент отказался. В течение года нарастали лейкоцитоз ($23,9 \times 10^9/\text{л}$) и лимфоцитоз ($15,2 \times 10^9/\text{л}$), развились анемия (93 г/л) и тромбоцитопения ($92 \times 10^9/\text{л}$), выявлены лимфаденопатия, спленомегалия. В октябре 2016 г. по месту жительства (г. Калуга) пациенту было проведено ИФТ-исследование костного мозга и периферической крови, по результатам которого выявлены 2 клеточные популяции, соответствующие бластным клеткам миелоидной направленности (12 %) и атипичным В-лимфоцитам (35 %). В миелограмме на момент обследования выявлено 3 % бластных клеток и 71 % лимфоидных клеток.

При обследовании в НИИЦ гематологии в ноябре 2016 г. в гемограмме обнаружены анемия (113 г/л), тромбоцитопения ($83 \times 10^9/\text{л}$), нейтропения ($0,2 \times 10^9/\text{л}$) и лимфоцитоз ($6,8 \times 10^9/\text{л}$). В миелограмме — 14,8 % бластных клеток, 48,0 % лимфоидных клеток, редукция эритроидного и гранулоцитарного ростков, отсутствие мегакариоцитов. При ИФТ-исследовании клеток крови и костного мозга было подтверждено наличие 2 клеточных клонов со следующими фенотипами:

- *CD45+CD19^κ+CD20^{low}+CD23+CD5+CD22+CD11c+CD25+CD38+CD43+CD38+CD43+CD81+CD200+ (71 % в крови, 38 % в костном мозге), характерный для ХЛЛ;*
- *CD45+CD117+CD34+CD33+CD13+CD38+CD11c+ (18 % в костном мозге, кровь*

не исследовали), соответствующий бластам миелоидной направленности.

При иммунохимическом исследовании крови и мочи моноклональной секреции не выявлено. При гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях трепанобиоптата определялась картина композитной опухоли миелоидной и лимфоидной природы: участки гиперклеточного костного мозга с признаками дисмиелопоэза по 3 росткам кроветворения («блок» созревания гранулоцитарного ростка, дизэритропоэз в виде мегалобластоидных форм эритрокариоцитов, сниженное количество диспластичных мегакариоцитов), скопления CD34+ бластных клеток и крупные скопления В-лимфоцитов (CD5+CD20+CD23+).

В целях определения мутационного статуса генов варибельного региона тяжелой цепи иммуноглобулинов (IGHV), имеющего прогностическое значение при ХЛЛ, было выполнено молекулярное исследование крови, по результатам которого выявлен немутированный вариант генов IGHV (неблагоприятный прогноз в случае ХЛЛ).

Стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ) клеток костного мозга и периферической крови проводили с использованием различных видов культур: 1) краткосрочная (24 ч) культура без стимуляторов деления клеток; 2) 72-часовая культура с применением комбинации В-клеточных митогенов липополисахарида и ТРА (LPS + ТРА); 3) 72-часовая культура с применением комбинации олигонуклеотида DSP30 и интерлейкина 2 (DSP30 + IL-2). В краткосрочной культуре костного мозга выявлена делеция длинного плеча хромосомы 5 — *del(5)(q15q33)*. В культуре с LPS + ТРА обнаружен дериват хромосомы 16 — предположительно наличие дополнительного участка длинного плеча хромосомы 12 (*12q14→12qter*) на длинном плече

хромосомы 16 (частичная трисомия 12). Два клона одновременно выявлены в периферической крови при культивировании с DSP30 + IL-2: *del(5)(q15q33)* в 45 % клеток и дериват хромосомы 16 в 30 % клеток (рис. 1).

При флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) мононуклеаров крови с ДНК-зондом (Vysis CLL FISH Probe Kit, Abbott, США) характерные для ХЛЛ хромосомные нарушения (делеции 11q22, 13q14, 17p13 и трисомия 12) не выявлены. Проведено FISH-исследование с использованием ДНК-зонда к локусу 12q15 и центромере 12 (XL MDM2, Metasystems, Германия), которое обнаружило дополнительный сигнал от локуса 12q15 в 30 % ядер мононуклеаров крови и 21 % клеток аспирата костного мозга, что подтвердило наличие частичной трисомии 12q (рис. 2а).

При FISH-исследовании с ДНК-зондом (XL 5q31/5q33/5p15, Metasystems, Германия) делеция 5q обнаружена в 71 % мононуклеаров крови и 75 % клеток костного мозга (рис. 2б). Сочетанное применение ДНК-зондов к локусам 12q15 и 5p15, 5q31, 5q33, центромере 12 при исследовании клеток культуры с DSP30 + IL-2 подтвердило наличие 2 неродственных цитогенетических клонов, выявленных при СЦИ. Дополнительный сигнал от локуса 12q15 и отсутствие сигналов от локусов 5q31 и 5q33 визуализировались в разных клетках; оба хромосомных нарушения — делеция 5q и трисомия 12q — ни в одной клетке не обнаружены (рис. 3).

При помощи метода позитивной иммуномагнитной селекции (CD34 MicroBead Kit human, Miltenyi Biotec, Германия) была выделена клеточная линия ГСК (CD34+) и проведено цитогенетическое исследование. FISH-анализ показал наличие только делеции 5q (в 84 % ядер) и отсутствие трисомии 12q в клетках CD34+. Молекулярное исследование в целях определения мутации гена

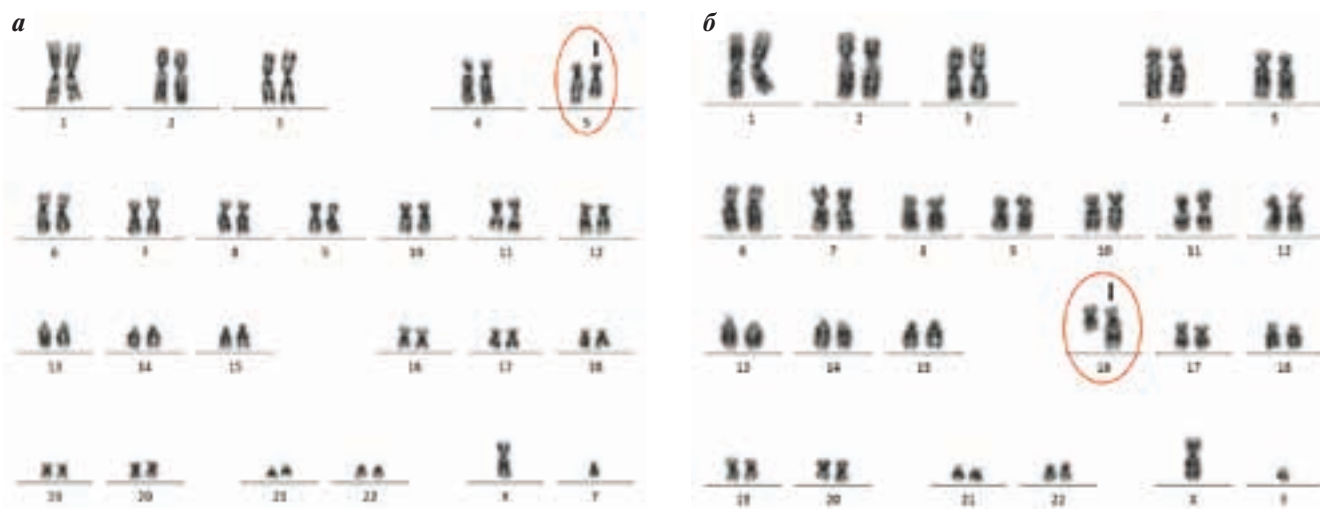


Рис. 1. Стандартное цитогенетическое исследование клеток крови с использованием при культивировании олигонуклеотид DSP30 и интерлейкин 2. Выявлены 2 независимых клон: с делецией длинного плеча хромосомы 5 — *del(5)(q15q33)* и с дериватом хромосомы 16 — *der(16)(16pter→16q23::12q13→12qter)*: а — кариотип: 46,XY,*del(5)(q15q33)*; б — кариотип: 46,XY,*der(16)(16pter→16q23::12q13→12qter)*

Fig. 1. Chromosome banding analysis of blood cells using DSP30 oligonucleotide and interleukin 2 in cultivation. Two independent clones were identified: with deletion of the long arm of chromosome 5 — *del(5)(q15q33)* and with a derivative of chromosome 16 — *der(16)(16pter→16q23::12q13→12qter)*: а — karyotype: 46,XY,*del(5)(q15q33)*; б — karyotype: 46,XY,*der(16)(16pter→16q23::12q13→12qter)*

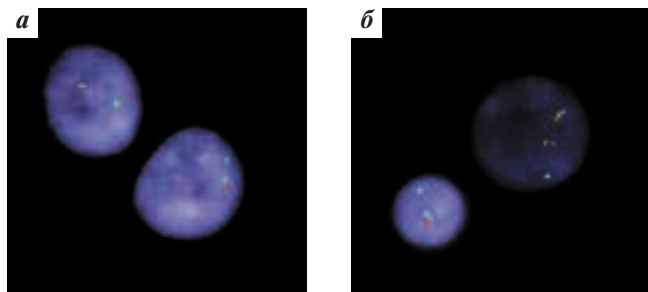


Рис. 2. FISH-исследование: а — с ДНК-зондом к локусу 12q15 и центромере хромосомы 12: в нормальном ядре визуализируется 2 зеленых сигнала от центромеры 12 и 2 красных сигнала от локуса 12q15; в ядре с частичной трисомией 12q — 2 сигнала от центромеры и 3 сигнала от локуса 12q15; б — с ДНК-зондом к локусам 5p15, 5q31 и 5q33: в нормальном ядре визуализируется 2 голубых сигнала от локуса 5p15, 2 красных сигнала от локуса 5q31 и 2 зеленых сигнала от локуса 5q33; в ядре с делецией 5q15–q33 — 2 сигнала от локуса 5p15 и по 1 сигналу от локусов 5q31 и 5q33

Fig. 2. FISH analysis: a — with DNA probe for locus 12q15 and the centromere of chromosome 12: in a normal nucleus 2 green signals from the centromere 12 and 2 red signals from locus 12q15 are visualized; in a nucleus with partial trisomy 12q: 2 signals from the centromere and 3 signals from 12q15; б — with DNA probe to loci 5p15, 5q31 and 5q33: in a normal nucleus 2 blue signals from locus 5p15, 2 red signals from locus 5q31 and 2 green signals from locus 5q33 are visualized; in a nucleus with 5q15–q33 deletion: 2 signals from locus 5p15 and 1 signal from loci 5q31 and 5q33

TP53 проводили в 2 популяциях клеток — в клетках периферической крови и ГСК, в обеих популяциях мутация гена TP53 не определялась.

На основании полученных данных был сформулирован диагноз, отражающий синхронное течение 2 заболеваний: МДС с избытком бластов 2 (МДС-ИБ2; Всемирная организация здравоохранения, 2017), 2-я (промежуточная) группа риска (IPSS), высокая группа риска (IPSS-R) и ХЛЛ, стадия В по классификации J. Vinet, промежуточная группа риска (международный прогностический индекс).

С учетом отсутствия у пациента показаний к лечению ХЛЛ была начата 1-я линии терапия МДС по программе DasIdaAra-C (децитабин, идарубицин, цитарабин). После 1-го курса терапии в миелограмме выявлены 0,8 % бластов и выраженная инфильтрация лимфоидными клетками (93 %). При СЦИ клеток костного мозга обнаружена несбалансированная транслокация *der(16)(16pter→16q23::12q13→12qter)* в 5 % клеток, методом FISH делеция 5q не определялась. На основании полученных результатов констатирована костно-мозговая и цитогенетическая ремиссия МДС. Планировалось выполнение аллогенной трансплантации ГСК (алло-ТГСК) от неродственного донора. Специфическая терапия МДС в этот период времени не проводилась.

Через 3 мес после окончания 1-го курса полихимиотерапии сохранялась умеренная трехклеточная цитопения (уровни гемоглобина 110 г/л, эритроцитов $3,5 \times 10^{12}/л$, тромбоцитов $55,0 \times 10^9/л$, лейкоцитов $5,5 \times 10^9/л$, лимфоциты 83 %), была выявлена бластемия (14 %). В миелограмме — 29 % бластных клеток и 63 %

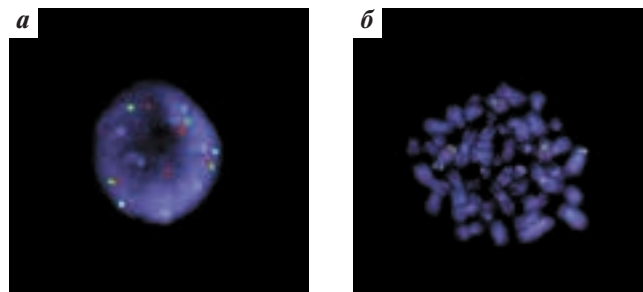


Рис. 3. FISH-исследование с использованием комбинации ДНК-зондов к локусу 12q15, центромере хромосомы 12 и к локусам 5p15, 5q31, 5q33: а — в ядре с частичной трисомией 12 не выявлена делеция 5q; б — в метафазе с делецией 5q не выявлена частичная трисомия 12

Fig. 3. FISH analysis using a combination of DNA probes for locus 12q15, the centromere of chromosome 12 and loci 5p15, 5q31, 5q33: а — in a nucleus with partial trisomy 12, no 5q deletion is detected; б — in the metaphase with 5q deletion, no partial trisomy 12 is detected

лимфоцитов. При FISH-исследовании аспирата костного мозга определены делеция 5q в 40 % ядер, частичная трисомия 12 в 30 % ядер. Таким образом, диагностирована трансформация МДС в ОМЛ. Проведение полихимиотерапии было продолжено по той же схеме. После достижения полной клинико-гематологической и цитогенетической ремиссии была выполнена разнополая алло-ТГСК от неродственного донора.

Через 2,5 мес после алло-ТГСК отмечено полное донорское кроветворение с полным восстановлением показателей крови. При FISH-исследовании выявлено 2 % ядер с мужским кариотипом и 98 % ядер с женским кариотипом, делеция 5q не определялась. Проводили сеансы фотофереза и иммуносупрессивной терапии по поводу кожной формы острой реакции «трансплантат против хозяина».

Через 4 мес после алло-ТГСК у пациента зарегистрирован рецидив ОМЛ. При контрольном обследовании в миелограмме — 17,6 % бластных клеток и 19,6 % лимфоцитов. По данным ИФТ-исследования обнаружены популяция бластных клеток миелоидной направленности (30 %) и остаточная популяция клеток ХЛЛ (2,068 %). При СЦИ клеток костного мозга определялся нормальный женский кариотип, при FISH-анализе в 40 % ядер выявлены мужской кариотип (клетки реципиента) и делеция 5q, частичная трисомия 12 определена в 2,5 % ядер. В целях индукции ремиссии был проведен курс полихимиотерапии по программе «7 + 3» с митоксантроном, после которого в миелограмме выявлено 0,8 % бластных клеток и 2,8 % лимфоцитов, зарегистрирована цитогенетическая ремиссия ОМЛ (методом FISH делеция 5q и частичная трисомия 12 не обнаружены) и 100 % донорский химеризм. В течение всего периода наблюдения больной получал иммуносупрессивную терапию по поводу реакции «трансплантат против хозяина».

Через 1 мес в костном мозге пациента появились клетки реципиента (5 % по результатам FISH), сохранялась тромбоцитопения. Начата терапия азацитидином,

но после 3-го курса был констатирован цитогенетический рецидив заболевания: в 15 % клеток определялись мужской кариотип (клетки пациента) и делеция 5q при FISH-исследовании (в 1 % ядер определялась частичная трисомия 12) с последующим развитием развернутого рецидива ОМЛ.

Несмотря на проводимую сочетанную терапию азацитидином в сочетании с венетоклаксом и последующим курсом «7 + 3» с митоксантроном, больной скончался от рефрактерного рецидива на фоне тяжелых инфекционных осложнений в период миелотоксического агранулоцитоза.

Обсуждение

Наиболее часто в случаях сочетания ХЛЛ и МДС описываются вторичные МДС, возникающие у больных ХЛЛ после проведенной химиотерапии [11–13]. Однако возможно синхронное выявление 2 онкогематологических заболеваний, и такое событие крайне редкое в гематологической практике. Синхронным считается обнаружение 2 первичных опухолей, не являющихся рецидивом или метастазированием одной опухоли в другую, одновременно и последовательно в течение 6 мес, а метакронным — диагностирование 2 опухолей в период более 6 мес [22].

В представленном нами случае ХЛЛ и МДС были диагностированы одновременно в сентябре 2016 г. Однако в ноябре 2015 г. в клиническом анализе крови был выявлен лимфоцитоз, но дальнейшее обследование не проводилось в течение 10 мес, поэтому в данном случае 2 гематологических заболевания трактовались как синхронно выявленные. Тактика терапии в таких случаях определяется стадией каждого заболевания и ведущими клиническими симптомами. В данном клиническом наблюдении тяжесть состояния была определена МДС-ИБ2 с показаниями к началу лечения, в то время как при ХЛЛ со стадией В по классификации J. Vinet не требовалось проведения специфической терапии. С учетом 2 онкогематологических заболеваний, одно из которых было отнесено к группе высокого риска, при котором было предусмотрено проведение алло-ТГСК, больному выполнялась только терапия МДС, на фоне чего через 3 мес произошла трансформация в ОМЛ. После достижения ремиссии ОМЛ была выполнена алло-ТГСК, после которой диагностировано полное донорское кроветворение. На момент рецидива ОМЛ после алло-ТГСК определялись минимальные признаки ХЛЛ — по результатам ИФТ-исследования популяция клеток ХЛЛ составила 2,068 %, при FISH-исследовании частичная трисомия 12 была выявлена в 2,5 % ядер. По данным литературы, трансплантация ГСК в случае синхронно протекающих гематологических заболеваний может быть эффективным методом лечения как МДС, так и ХЛЛ [23].

До сегодняшнего дня патогенез синхронно протекающих опухолей до конца не изучен и остается

открытым вопрос об их независимом происхождении. Цитогенетическое исследование позволяет выявлять неродственные клоны с хромосомными нарушениями и подтверждать независимое происхождение 2 опухолевых заболеваний [17–21]. Однако в литературе представлено небольшое количество клинических случаев синхронного течения ХЛЛ и МДС/ОМЛ, в которых выполненное цитогенетическое исследование позволило выявить различные хромосомные нарушения в опухолевых клонах.

Нами были проанализированы опубликованные в литературе 14 клинических случаев синхронного течения ХЛЛ и МДС/ОМЛ, в 11 из которых представлены результаты цитогенетического исследования [17, 19, 24–32]. В 3 случаях при СЦИ выявлены различные хромосомные aberrации в 2 опухолевых клонах ХЛЛ и МДС/ОМЛ: в 1 — трисомия 12 и делеция длинного плеча хромосомы 5; в 1 — трисомия 12 в сочетании с делецией del(14)(q21) и трисомия 84; в 1 — комплексные нарушения кариотипа в обоих клонах клеток [17–19]. Следует отметить, что в проанализированных работах при СЦИ для стимулирования В-лимфоцитов использовались стандартные В-клеточные и Т-клеточные митогены: LPS, TPA, Pokeweed (PWM) и фитогемагглютинин. У большинства пациентов в стимулированных культурах не определялись хромосомные нарушения, характерные для ХЛЛ, что может быть связано с низкой митотической активностью опухолевых В-лимфоцитов и делением остаточной популяции неопухолевых клеток. В нашем исследовании при культивировании использовали 2 комбинации митогенов: LPS + TPA и DSP30 + IL-2, последний из которых является специфическим активатором деления опухолевых клеток ХЛЛ [33].

В нашем клиническом случае при СЦИ в 1 клоне выявлена изолированная частичная трисомия 12, в другом — изолированная делеция 5q. В литературе у больных ХЛЛ описаны случаи выявления частичной трисомии 12, которая может быть представлена дупликацией всего длинного плеча или его части, включающей регион q13q22, или несбалансированной транслокацией с дополнительным длинным плечом хромосомы 12 на деривате другой хромосомы [34]. В проведенном нами исследовании обнаружена несбалансированная транслокация — выявлен дополнительный участок длинного плеча хромосомы 12 на длинном плече хромосомы 16. FISH-исследование показало преобладание клона с делецией 5q как в клетках костного мозга, так и в мононуклеарах крови — 75 и 71 % соответственно. Использование комбинации зондов позволило подтвердить различие 2 неродственных клонов, выявленных при СЦИ: делеция 5q и частичная трисомия 12 определялись в разных клетках; оба хромосомных нарушения ни в одной клетке не обнаруживались. В мировой литературе представлен только 1 случай выявления ХЛЛ и МДС с трисомией 12 и делецией 5q [19].

Определяемые при цитогенетическом исследовании хромосомные нарушения имеют важное прогностическое значение как при ХЛЛ, так и при МДС [35, 36]. Характерные хромосомные aberrации, такие как делеции 11q22, 13q14, 17p13 и трисомия 12, определяются методом FISH у 80 % больных ХЛЛ [37]. Трисомия 12 является одной из наиболее часто встречающихся хромосомных aberrаций и определяет промежуточный прогноз у пациентов с ХЛЛ [37]. В исследовании Р. Strati и соавт. показано, что в группе больных ХЛЛ с трисомией 12 риск развития вторых опухолей достоверно выше, чем в группах с другими хромосомными нарушениями [38]. Интерстициальная делеция 5q, в том числе региона q15q33, — одна из наиболее часто выявляемых хромосомных aberrаций при МДС. Прогностическое значение делеции 5q зависит от наличия дополнительных хромосомных аномалий, мутаций в различных генах, в частности в гене *TP53*, и количества бластных клеток в костном мозге [39, 40]. В представленном клиническом случае, несмотря на отсутствие мутаций в гене *TP53* и дополнительных хромосомных аномалий, за счет увеличения бластных клеток МДС был отнесен к группам высокого риска по 2 прогностическим шкалам (IPSS, IPSS-R).

Немногочисленные зарубежные публикации посвящены изучению хромосомных нарушений,

характерных для ХЛЛ, как в опухолевых лимфоцитах, так и в ГСК [41–44]. В ряде случаев в ГСК были выявлены часто встречающиеся при ХЛЛ хромосомные нарушения, в том числе и трисомия 12 [41, 42]. Однако в других исследованиях хромосомные aberrации в ГСК у больных ХЛЛ не обнаруживались [43, 44]. У нашего пациента в клетках CD34+ частичная трисомия 12 не была выявлена, обнаружена только делеция 5q. В нашем случае синхронного течения ХЛЛ и МДС с трансформацией в ОМЛ были определены 2 неродственных цитогенетических клона, сформированных на разных уровнях дифференцировки клеток: 1-й клон с *del(5)(q15q33)*, характерной для МДС, 2-й — с несбалансированной транслокацией *der(16)(16pter→16q23::12q13→12qter)*, являющейся случаем частичной трисомии 12, характерной для ХЛЛ.

Заключение

Таким образом, в представленном клиническом случае цитогенетическое исследование позволило выявить 2 независимых опухолевых клона с характерными для ХЛЛ и МДС хромосомными aberrациями, сформированными на разных уровнях дифференцировки. Выявленные аномалии кариотипа учитывались при определении прогноза каждого заболевания и выборе тактики терапии, а также служили цитогенетическими маркерами эффективности проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- McKenna D.B., Stockton D., Brewster D.H., Doherty V.R. Evidence for an association between cutaneous malignant melanoma and lymphoid malignancy: a population-based retrospective cohort study in Scotland. *Br J Cancer* 2003;88(1):74–8. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600692.
- Schollkopf C., Rosendahl D., Rostgaard K. et al. Risk of second cancer after chronic lymphocytic leukemia. *Int J Cancer* 2007;121(1):151–6. DOI: 10.1002/ijc.22672.
- Royle J.A., Baade P.D., Joske D. et al. Second cancer incidence and cancer mortality among chronic lymphocytic leukemia patients: a population-based study. *Br J Cancer* 2011;105(7):1076–81. DOI: 10.1038/bjc.2011.313.
- Tsimberidou A.M., Wen S., McLaughlin P. et al. Other malignancies in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *J Clin Oncol* 2009;27(6):904–10. DOI: 10.1200/JCO.2008.17.5398.
- Chang H., Wechalekar A., Li L., Reece D. Molecular cytogenetic abnormalities in patients with concurrent chronic lymphocytic leukemia and multiple myeloma shown by interphase fluorescence in situ hybridization: evidence of distinct clonal origin. *Cancer Genet Cytogenet* 2004;148(1):44–8.
- Obukhova T.N., Drize N., Doronin V. et al. Cytogenetic evidence for lymphomoid progenitor cells clonal origin in patient with concurrent chronic lymphocytic leukemia and multiple myeloma. *Chromosome Research* 2013;21:S88.
- Аль-Ради Л.С., Самойлова Р.С., Тихонова Л.Ю. и др. Сочетание хронического лимфолейкоза и волосатоклеточного лейкоза. *Терапевтический архив* 2006;78:84–7. [Al-Radi L.S., Samoilova R.S., Tikhonova L.Yu. et al. Combination of chronic lymphoid leukemia and hairy cell leukemia. *Therapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive* 2006;78:84–7. (In Russ.)]
- Sokol L., Agosti S.J. Simultaneous manifestation of chronic lymphocytic leukemia (CLL) and hairy cell leukemia (HCL). *Am J Hematol* 2004;75(2):107–9. DOI: 10.1002/ajh.10459.
- Martin-Subero J.I., Siebert R., Harder L. et al. Cytogenetic and molecular characterization of a patient with simultaneous B-cell chronic lymphocytic leukemia and peripheral T-cell lymphoma. *Am J Hematol* 2001;68(4):276–9.
- Laurenti L., Tarnani M., Nichele I. et al. The coexistence of chronic lymphocytic leukemia and myeloproliferative neoplasms: a retrospective multicentric GIMEMA experience. *Am J Hematol* 2011;86:1007–12. DOI: 10.1002/ajh.22171.
- Chavez J.C., Dalia S., Sandoval-Sus J. et al. Second myeloid malignancies in a large cohort of patients with chronic lymphocytic leukemia: a single institution experience. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2015;15:14–8. DOI: 10.1016/j.clml.2015.03.013.
- Morrison V.A., Rai K.R., Peterson B.L. et al. Therapy-related myeloid leukemias are observed in patients with chronic lymphocytic leukemia after treatment with fludarabine and chlorambucil: results of an intergroup study, cancer and leukemia group B 9011. *J Clin Oncol* 2002;20(18):3878–84. DOI: 10.1200/JCO.2002.08.128.
- Smith M.R., Neuberg D., Flinn I.W. et al. Incidence of therapy-related myeloid neoplasia after initial therapy for chronic lymphocytic leukemia with fludarabine-cyclophosphamide versus fludarabine: long-term follow-up of US Intergroup Study E2997. *Blood* 2011;118(13):3525–7. DOI: 10.1182/blood-2011-03-342485.
- Florensa L., Vallespi T., Woessner S. et al. Incidence and characteristics of lymphoid

- malignancies in untreated myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma* 1996;23(5–6):609–12. DOI: 10.3109/10428199609054871.
15. Tambaro F.P., Garcia-Manero G., O'Brien S.M. et al. Outcomes for patients with chronic lymphocytic leukemia and acute leukemia or myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2016;30(2):325–30. DOI: 10.1038/leu.2015.227.
 16. Kikushige Y., Miyamoto T. Hematopoietic stem cell aging and chronic lymphocytic leukemia pathogenesis. *Int J Hematol* 2014;100(4):335–40. DOI: 10.1007/s12185-014-1651-6.
 17. Mossafa H., Szpiro-tapia S., Pulic M. et al. Chronic lymphocytic leukemia associated with myelodysplastic syndrome and/or chronic myeloid leukemia: evidence for independent clonal chromosomal evolution. *Leuk Lymphoma* 2008;41(3–4):337–41. DOI: 10.3109/10428190109057988.
 18. Aviv H., Tang D., Das K. et al. Simultaneous appearance of trisomy 8 and trisomy 12 in different cell populations in a patient with untreated B-cell chronic lymphocytic leukemia and myelodysplasia. *Leuk Lymphoma* 2004;45(6):1279–83.
 19. Ornellas De Souza M.H., de Souza Fernandez T., Diamond H.R. et al. Cytogenetic and immunophenotypic evidence of independent clonal origins of concomitant chronic lymphocytic leukaemia and acute myeloid leukaemia. *Eur J Haematol* 2001;66(4):281–3.
 20. Crescenzi B., Sacchi S., Marasca R. et al. Distinct genomic events in the myeloid and lymphoid lineages in simultaneous presentation of chronic myeloid leukemia and B-chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2002;16(5):955–6. DOI: 10.1038/sj.leu.2402490.
 21. Beaud J., Modot T., Delhommeau F., Suter L. Chronic myelogenous leukemia occurring in a chronic lymphocytic leukemia patient. *Clin Case Reports* 2018;6(8):1655–6. DOI: 10.1002/ccr3.1572.
 22. Ioachim H.L., Medeiros L.J. Composite lymphomas. *Ioachim's Lymph Node Pathol.* 4th ed, Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2009. Pp. 452–459.
 23. Zimmerman Z., Scott B.L., Gopal A.K. et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome and concurrent lymphoid malignancy. *Bone Marrow Transplant* 2012;47(6):804–9. DOI: 10.1038/bmt.2011.180.
 24. Gottardi M., Gattei V., Degan M. et al. Concomitant chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia: evidence of simultaneous expansion of two independent clones. *Leuk Lymphoma* 2006;47(5):885–9. DOI: 10.1080/10428190500404761.
 25. Bracey A.W., Maddox A.M., Immken L. et al. Coexistence of myelodysplastic syndrome and untreated chronic lymphocytic leukemia with development of acute myeloid leukemia immediately after treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 1989;30(3):174–80.
 26. Strati P., Manning J.T., Ok C.Y. et al. Interaction between myelomonocytic and lymphoid cells in a patient with acute myelomonocytic leukemia and chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2014;55(6):1425–7. DOI: 10.3109/10428194.2013.838234.
 27. Lima M., Porto B., Rodrigues M. et al. Cytogenetic findings in a patient presenting simultaneously with chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1996;87(1):38–40.
 28. Mitterbauer G., Schwarzmeier J., Mitterbauer M. et al. Myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia supervening previously untreated chronic B-lymphocytic leukemia: demonstration of the concomitant presence of two different malignant clones by immunologic and molecular analysis. *Ann Hematol* 1997;74(4):193–7. DOI: 10.1007/s002770050282.
 29. Carulli G., Marini A., Baccelli E. et al. Association of B-chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia. *J Exp Clin Cancer Res* 2007;26(3):421–4.
 30. Barresi G.M., Albitar M., O'Brien S.M. Acute myeloid leukemia, inversion 16, occurring in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2000;38(5–6):621–5. DOI: 10.3109/10428190009059282.
 31. Miller M.K., Strauchen J.A., Nichols K.T., Phelps R.G. Concurrent chronic lymphocytic leukemia cutis and acute myelogenous leukemia cutis in a patient with untreated CLL. *Am J Dermatopathol* 2001;23:334–40.
 32. Lu C.M., Murata-Collins J.L., Wang E. et al. Concurrent acute myeloid leukemia with inv(16)(p13.1q22) and chronic lymphocytic leukemia: molecular evidence of two separate diseases. *Am J Hematol* 2006;81(12):963–8. DOI: 10.1002/ajh.20716.
 33. Decker T., Schneller F., Kronschnabl M. et al. Immunostimulatory CpG-oligonucleotides induce functional high affinity IL-2 receptors on B-CLL cells: costimulation with IL-2 results in a highly immunogenic phenotype. *Exp Hematol* 2000;28(5):558–68. DOI: 10.1016/S0301-472X(00)00144-2.
 34. Juliusson G., Oscier D.G., Fitchett M. et al. Prognostic subgroups in B-Cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N Engl J Med* 1990;323(11):720–4. DOI: 10.1056/NEJM199009133231105.
 35. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D. et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood* 2018;131(25):2745–60. DOI: 10.1182/blood-2017-09-806398.
 36. Schanz J., Tuchler H., Sole F. et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol* 2012;30(8):820–9. DOI: 10.1200/JCO.2011.35.6394.
 37. Dohner H., Stilgenbauer S., Benner A. et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000;343:1910–6. DOI: 10.1056/NEJM200012283432602.
 38. Strati P., Abruzzo L.V., Wierda W.G. et al. Second cancers and Richter transformation are the leading causes of death in patients with trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2015;15(7):420–7. DOI: 10.1016/j.clml.2015.02.001.
 39. 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(1):110–20. DOI: 10.1038/leu.2010.231.
 40. Volkert S., Kohlmann A., Schnittger S. et al. Association of the type of 5q loss with complex karyotype, clonal evolution, TP53 mutation status, and prognosis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Genes Chromosomes Cancer* 2014;53(5):402–10. DOI: 10.1002/gcc.22151.
 41. Gahn B., Schafer C., Neef J. et al. Detection of trisomy 12 and Rb-deletion in CD34+ cells of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1997;89(12):4275–81.
 42. Quijada-Alamo M., Hernandez-Sanchez M., Robledo C. et al. Next-generation sequencing and FISH studies reveal the appearance of gene mutations and chromosomal abnormalities in hematopoietic progenitors in chronic lymphocytic leukemia. *J Hematol Oncol* 2017;10(1):83. DOI: 10.1186/s13045-017-0450-y.
 43. Gahn B., Wendenburg B., Troff C. et al. Analysis of progenitor cell involvement in B-CLL by simultaneous immunophenotypic and genotypic analysis at the single cell level. *Br J Haematol* 1999;105(4):955–9. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1999.01471.x.
 44. Lazaridou A., Miraxtsi C., Tokmaktis A. et al. Detection of genetic markers on different populations of hematopoietic progenitor cells in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2000;95(11):3634–5.

Вклад авторов

М.А. Кислицына: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Т.Н. Обухова, А.В. Кохно, Л.А. Гребенюк: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, редактирование текста рукописи;

А.В. Лучкин: получение данных для анализа;

Л.А. Кузьмина, В.Н. Двирнык, А.М. Ковригина, И.В. Гальцева, Б.В. Бидерман, В.В. Троицкая: предоставление данных;

Е.Н. Паровичникова: редактирование текста рукописи.

Authors' contributions

M.A. Kislitsyna: study design development, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing;

T.N. Obukhova, A.V. Kokhno, L.A. Grebenyuk: study design development, analysis of the obtained data, article editing;

A.V. Luchkin: obtaining data for analysis;

L.A. Kuzmina, V.N. Dvirnyk, A.M. Kovrigina, I.V. Galtseva, B.V. Biderman, V.V. Troitskaya: data provision;

E.N. Parovichnikova: article editing.

ORCID авторов/ORCID of authors

М.А. Кислицына/M.A. Kislitsyna: <https://orcid.org/0000-0003-3337-2487>

Т.Н. Обухова/T.N. Obukhova: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

А.В. Кохно/A.V. Kokhno: <https://orcid.org/0000-0003-0261-5941>

Л.А. Гребенюк/L.A. Grebenyuk: <https://orcid.org/0000-0003-2117-8775>

А.В. Лучкин/A.V. Luchkin: <https://orcid.org/0000-0002-4400-4711>

В.Н. Двирнык/V.N. Dvirnyk: <https://orcid.org/0000-0002-9877-0796>

А.М. Ковригина/A.M. Kovrigina: <https://orcid.org/0000-0002-1082-8659>

И.В. Гальцева/I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

Б.В. Бидерман/B.V. Biderman: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Е.Н. Паровичникова/E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Пациент подписал информированное согласие на публикацию своих данных.

Informed consent. The patient gave written informed consent to the publication of his data.