

TRANSFORMACJE NOWOTWOROWE KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH U OSÓB Z TRISOMIĄ 21 CHROMOSOMU

CANCEROUS TRANSFORMATIONS OF HEMATOPOIETIC
CELLS IN PEOPLE WITH TRISOMY 21

Anna CZYŻ¹, Magdalena KRÓL¹, Oskar PRZYBYSZEWSKI¹,
Anna RADAJEWSKA¹, Helena MOREIRA², Ewa BARG²

¹Studenckie Koło Naukowe Cytometrii Przepływowej i Badań Biomedycznych,
Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych,
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
² Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych,
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Streszczenie: Przemijająca nieprawidłowa mielopoeza (TAM) to unikalne zaburzenie komórek hematologicznych, które występuje u 5-10% noworodków z zespołem Downa (DS). TAM jest uważana za samoograniczającą się chorobę, która ujawnia się w ciągu pierwszych kilku miesięcy po urodzeniu. Blisko 20% pacjentów z TAM umiera w okresie niemowlęcym z powodu nowotworów komórek hematopoetycznych lub niewydolności wątroby z powodu włóknienia hepatocytów.

Dzieci z trisomią 21 chromosomu (DS) mają wyraźnie zwiększone ryzyko rozwoju transformacji nowotworowych komórek hematopoetycznych zarówno z linii megakariocytowej (białaczka M7 wg klasyfikacji FAB – French-American-British) – mieloidalnej (Ostra białaczka szpikowa – AML) jak i limfoidalnej (ostra białaczki limfoblastyczna typu B – ALL). Unikalne cechy białaczek związanych z DS nie tylko wskazują na kluczową rolę komórek, w których wystąpiła aberracja w postaci trisomii 21 chromosomu w ich patogenezie, ale mogą pozwolić na poznanie całkiem nowych mechanizmów indukowania białaczek na poziomie komórek embrionalnych. Oznacza to, że sama trisomia 21 zmienia funkcjonowanie komórek macierzystych płodu, włącznie z komórką macierzystą hematopoezy (HSC), powodując liczne nieprawidłowości w mielopoezie i limfopoezie. Ponadto stwierdzono, że płytkowy czynnik wzrostu (PDGF) i transformujący czynnik wzrostu (TGF-β1) wykazują silną ekspresję w megakarioblastach, co może wyjaśniać zwłóknienie wątroby u pacjentów z DS, u których stwierdzono TAM. Wykazano również, że stan wątroby może pogarszać się nawet po remisji hematologicznej.

Celem naszej pracy jest ukazanie zależności pomiędzy trisomią 21 chromosomu a występowaniem zespołu TAM, przedstawienie patomechanizmu niewydolności wątroby u osób z TAM oraz omówienie markerów wytwarzanych przez komórki, które mogą korelować z jej zaawansowaniem. Zaprezentujemy także kilka immunofenotypów komórek blastycznych osób z zespołem TAM oraz ich podobieństwa i różnice względem ludzi z prawidłowym kariotypem, którzy zachorowali na nowotwór komórek szpiku kostnego.

Słowa kluczowe: przemijająca nieprawidłowa mielopoza (TAM), zespół Downa, trisomia 21, zmiany genetyczne i molekularne, cytokiny

Summary: Transient abnormal myelopoiesis (TAM) is a unique haematological disorder that occurs in 5-10% of newborns with Down Syndrome (DS). TAM is considered a self-limiting disease that is manifested in the first few months after birth. However, about 20% of patients with TAM die in infancy from hematopoietic cell tumours or hepatocyte fibrosis, leading to liver failure.

It has long been recognized that children with trisomy 21 chromosome (DS) have a clearly increased risk of acute leukaemia, both acute megakaryocytic leukemia (M7 FAB – French-American-British) – myeloid (AML) and type B acute lymphoblastic leukemia (B-ALL). The unique characteristics of DS-associated leukemia not only indicate the key role of trisomy 21 in the pathogenesis of chromosome, but may allow the study to know completely new mechanisms of inducing leukemia at the embryonic level. This means that trisomy 21 alters the functioning of fetal stem cells, including the stem cell of haematopoiesis (HSC), causing numerous abnormalities in myelopoiesis and lymphopoiesis. In addition, platelet-derived growth factor (PDGF) and transforming growth factor (TGF- β 1) were found to be strongly expressed on megakaryoblasts, which may explain liver fibrosis in patients with DS with TAM, and studies have also shown that the liver deteriorates even after hematologic remission.

The aim of our work is to show the relationship between trisomy 21 chromosome and the occurrence of TAM syndrome, the presentation of pathomechanism of liver failure in people with TAM and the discussion of markers correlating with its advancement. We will also present several immunophenotypes of blast cells of people suffering from TAM syndrome and their similarities and differences in relation to people with normal karyotype who have contracted bone marrow cancer.

Keywords: Transient abnormal myelopoiesis (TAM), Down syndrome, trisomy 21, genetic and molecular modifications, cytokines

ZMIANY GENETYCZNE W TRISOMII 21 (ZESPOLE DOWNA)

Trisomia 21 (Zespół Downa – DS) jest aberracją chromosomową polegającą na występowaniu dodatkowego chromosomu 21 lub jego części. Do tej aneuploidii może dojść na kilka różnych sposobów, m.in. na skutek nondysjunkcji chromosomów w podziale mejotycznym, w wyniku mozaicyzmu, czyli sytuacji, gdy część komórek ma prawidłowy kariotyp, a część jest aneuploidalna. Nadmiar materiału genetycznego chromosomu 21 w komórce może być spowodowany również tzw. Translokacją Robertsonowską. W takim przypadku długie ramię chromosomu 21 zostaje przyłączone do innego chromosomu, często jest to chromosom 14 (zapis kariotypu wygląda wówczas następująco – 45,XX,t(14;21q)) albo pozostaje przyłą-

czony do innego chromosomu 21. Takie połączenie określa się mianem izochromosomu i oznacza zapisem 45,XX,t(21q;21q). Prawidłowy podział mejotyczny prowadzący do powstania gamet obarczony jest wówczas znacznym ryzykiem powstania aneuploidalnych komórek płciowych. Translokacyjny zespół Downa określa się czasem jako „rodzinny zespół Downa” i jest on przyczyną ok. 2-3% wszystkim przypadków tej choroby. Nie stwierdza się zależności od wieku matki, a translokacja może być zarówno matczyne, jak i ojcowskiego pochodzenia [10, 31].

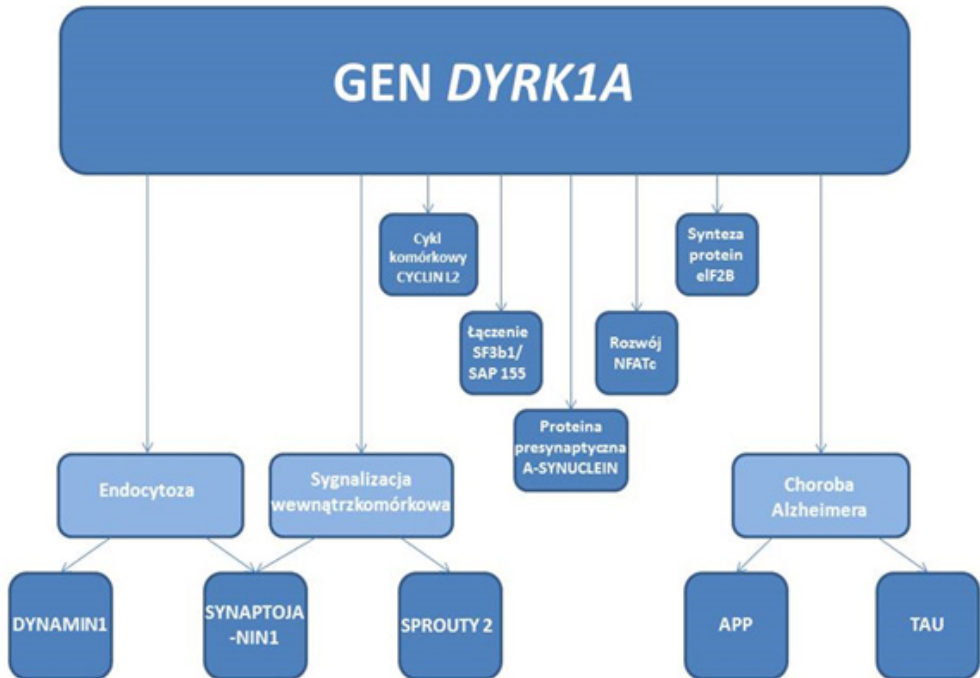
Za rozwinięcie się zespołu TAM u dzieci z DS oprócz nieprawidłowości wynikających z przyczyn nadmiernej ekspresji niektórych genów mogą odpowiadać także współwystępujące ze sobą dysregulacje na poziomie epigenetycznym. Występują anomalie w metylacji DNA i w acetylacji histonów [3]. Zaburzone procesy wynikają z potrojenia chromosomu 21 i zwiększonej ekspresji genu *DYRK 1 A*, który wpływa na tzw. kompleks SWI/SNIF odpowiedzialny za odpowiedni układ chromatyny. Gen *DYRK 1 A* powoduje, iż chromatyna przybiera nieco luźniejszą strukturę, co zgodnie z najnowszym stanem wiedzy przemawia za przewagą acetylacji. Jednocześnie zmiana wywołana działaniem potrojonego genu kompleks SWI/SNIF powoduje wzmocnienie ekspresji genu typu *HDMT*, czyli takiego, który osłabia metylację na histonie JARID1D, ale też aktywizuje metylację na histonie poprzez metylotransferazę histonów (HMT). Zaburzenia te powodują dysregulację w działaniu organizmu ludzkiego, dodatkowo zwiększona ekspresji czynników transkrypcyjnych (np. sirtuiny 1 – SIRT 1), która skutkuje nieprawidłowymi wzorcami acetylacji histonów, potwierdza istotną rolę genu *DYRK 1 A* w tych procesach [1, 27, 40] (tab. 1).

TABELA 1. Podsumowanie głównych epigenetycznych zmian w zespołach związanych z niepełnosprawnością umysłową [13]

TABLE 1. Summary of the main epigenetic changes associated with mental disability [13]

CHOROBA	GENY	MECHANIZMY	SKUTKI
Trisomia 21 (Zespół Downa)	kompleks SWI/SNF	Niezbalansowany	Spowolnione dojrzewanie neuronów
	<i>CBP</i>	Niezbalansowany	Nieprawidłowe wzorce acetylacji histonów
	<i>DNMT3L</i>	Zwiększona ekspresja	Nieprawidłowe wzorce metylacji DNA
	<i>MeCP2</i>	Zmniejszona regulacja	Upośledzenie funkcji neuronalnych
	<i>SIRT1</i>	Niezbalansowany	Nieprawidłowe wzorce acetylacji histonów

Gen *DYRK1* reguluje aktywność białka NFATc. Zwiększona ekspresja tego genu sprawia, że NFATc lokalizuje się przede wszystkim w cytoplazmie, a nie w jądrze komórkowym, gdzie odpowiada za zainicjowanie replikacji materiału genetycznego [11] (ryc. 1).



RYCINA 1. Rola genu *DYRK 1 A* w organizmie człowieka [44]

FIGURE 1. The role of the *DYRK 1 A* gene in the human body [44]

Wystąpienie TAM u dzieci z trisomią 21 może być spowodowane nieokreślonym genem polimorficznym występujących w proksymalnej części 21q. W potrojonej ilości gen ten może powodować przejściową białaczkę i być może jest odpowiedzialny także za niektóre przypadki białaczki wrodzonej u pacjentów bez DS. L. Iselius et al. analizując 215 przypadków białaczki oraz przejściowej białaczki w zespole Downa, stwierdzili, że znacznie częściej występuje ona u pacjentów z DS, ale ze współistniejącym mozaicyzmem chromosomu 21. Nondysjunkcja chromosomów podczas mejozy jest raczej rzadka w przypadku przejściowej białaczki, co sugeruje, iż istnieją różne etiologie białaczki oraz przejściowej białaczki [7].

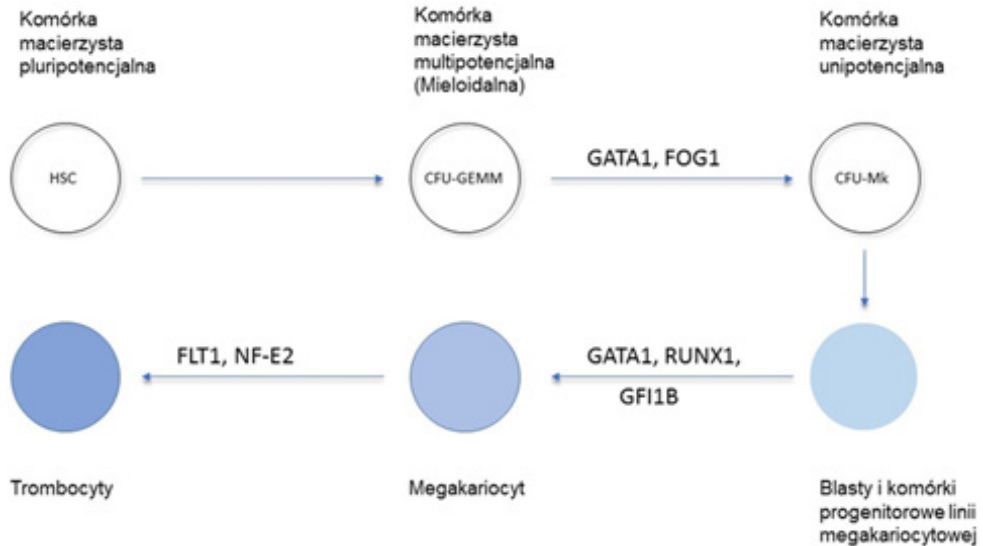
Wydaje się zatem, że zarówno zaburzenia chromosomalne w DS, jak i też epigenetyczne zmiany wynikające ze zwiększonej ekspresji białek wpływających na cykl komórkowy oraz replikację DNA, mają związek z powstawaniem oraz rozwojem u dzieci przejściowego zespołu mieloproliferacyjnego. Zaburzenia genetyczne mogą zatem wpływać nie tylko na różnego rodzaju dysregulacje w organizmie człowieka, ale również decydować o czasie pojawienia się oraz długości trwania zespołu TAM, wpływać na efekty leczenia oraz przeżywalność pacjentów.

BIOLOGIA MOLEKULARNA KOMÓREK W TAM

AMKL (ostra białaczka megakarioblastyczna) występuje u 10% noworodków z DS, charakteryzującym się trisomią konstytucyjną (prostą) 21. chromosomu. Chociaż w większości przypadków komórki białaczki znikają spontanicznie po pierwszych miesiącach życia, nieodwracalna ostra białaczka megakarioblastyczna (M7 wg klasyfikacji FAB) rozwija się u 20% tych osób w ciągu 4 lat. Występowanie trisomii 21. chromosomu można bezpośrednio połączyć z nadekspresją genów somatycznych znajdujących się na tym chromosomie, które pod wpływem nadmiaru materiału genetycznego będą produkować większą ilość produktu danego genu. Może to powodować wystąpienie kolejnych innych zaburzeń cytogenetycznych i/lub molekularnych, spowodowanych np. mutacjami lub powstawanie genów fuzyjnych (występujące również u chorych na białaczkę z prawidłowym kariotypem, np. gen fuzyjny *BCR-ABL*). Mogą one prowadzić do zaburzeń czynników transkrypcyjnych, odgrywających kluczową rolę w zatrzymywaniu migracji linii komórek krwiotwórczych ze szpiku kostnego, poprzez pozytywną regulację ekspresji specyficznych genów. Do czynników transkrypcyjnych ważnych w megakariopoezie należą: GATA1 (ang. *GATA binding protein 1*) [24], FOG1 (ang. *C2H2-type zinc finger protein*; Transcription regulation) [14], NF-E2 (ang. *Transcription factor NF-E2 45 kDa subunit*) [9], FLT1(ang. *Fms related tyrosine kinase 1*) [23] oraz GFI1b (ang. *Growth Factor Independent 1B Transcriptional Repressor*) [5]). Dalsze losy komórek krwi podczas rozwoju, prawdopodobnie, nie będą prostym wynikiem obecności lub braku pojedynczego czynnika transkrypcyjnego, ale mogą zależeć od względnych poziomów takiego czynnika lub funkcjonalnego wyniku kombinacji agonistów i antagonistów danego czynnika.

Komórki białaczki są typowym siedliskiem mutacji somatycznych genów, w tym genu *GATA1*, niezbędnego regulatora transkrypcyjnego prawidłowego różnicowania megakariocytarnego oraz ważnego regulatora różnicowania linii erytroidalnej. Białka GATA są członkami rodziny czynników transkrypcji (GATA1-6), które mają wspólną zdolność wiązania się z określonym fragmentem sekwencji DNA, dzięki czemu pełnią rolę regulacyjną podczas hematopoezy [25]. Gen ten zlokalizowany jest na chromosomie X, a jego ekspresja zachodzi w linach erytrocytarnych, megakariocytowych, eozynofilowych oraz w wielopotencjalnej komórce macierzystej. Ekspresja genu *GATA1* w eozynofilach i mastocytach została opisana znacznie wcześniej, ale jej rolę w linii megakariocytowej oraz w pozostałych komórkach wykazano niedawno [32] (ryc. 2).

Całkowity brak funkcji genu *GATA1* in vivo powoduje śmierć podczas rozwoju zarodków myszy (zwykle około 10-12-dnia) z powodu zatrzymania dojrzewania erytroblastów na poziomie proerytroblasta, ulegających apoptozie. GATA1 jest wyraźnie niezbędna dla normalnego różnicowania megakariocytowego, dla-

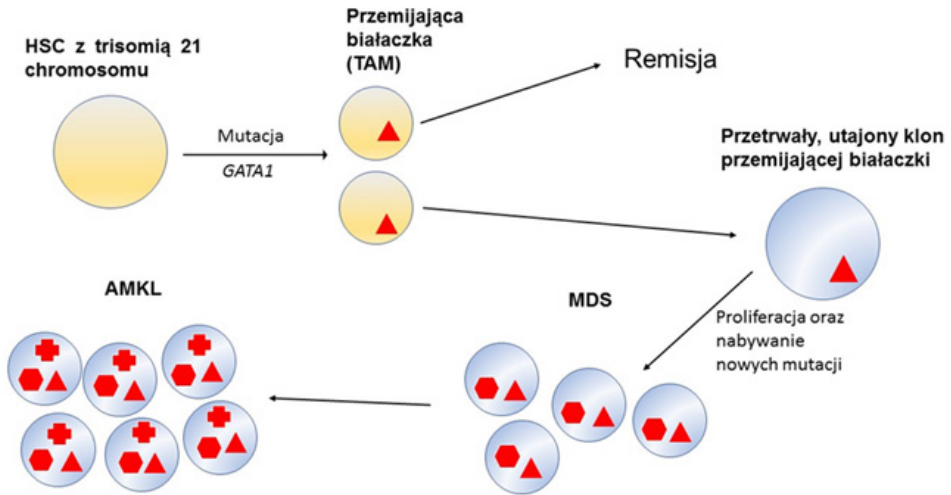


RYCINA 2. Różnicowanie szlaku megakariocytowego. Wielopotencjalne komórki macierzyste (HSC) różnicują się do komórek o coraz mniejszym potencjale różnicowania. W linii megakariocytarnej komórki prekursorowe (megakarioblasty) dojrzewają stając się megakariocytem z możliwością produkcji płytek krwi. Cały ten proces wspomagają czynniki transkrypcyjne megakariopoezy [18]

FIGURE 2. Differentiation of the megakaryocyte pathway. Multipotential stem cells (HSCs) differentiate into cells with smaller differentiation potential. In the megakaryocytic line, precursor cells (megakaryoblasts) mature and become megakaryocytes with the ability of producing platelets. The whole process is supported by transcription factors of megakaryopoiesis [18]

tego też mutacje tego genu występują we wszystkich przypadkach AMKL związanej z trisomią 21. chromosomu oraz TAM, gdzie różnicowanie megakarioblastów jest nieprawidłowe, ale proliferacja trwa nadal jako proces nowotworowy. Brak funkcji GATA1 w linii megakariocytowej, powoduje zmniejszenie produkcji płytek krwi, wzrost proliferacji oraz akumulację dysmorficznych megakariocytów w szpiku kostnym i śledzionie, które morfologicznie przypominają komórki obserwowane w zespołach mielodysplastycznych. Postawiono hipotezę, że mutacje genu *GATA1* reprezentują wczesne – prawdopodobnie prenatalne – zdarzenie podczas procesu złośliwej transformacji. Wykazano podobieństwo między rozwojem megakarioblastów w szpiku kostnym u osób z DS-AMKL, a modelem eksperymentalnym, w którym aktywność GATA1 jest nieobecna w linii megakariocytarnej [30].

Mutacje genu *GATA1* wykryte w blastach białaczkowych DS-AMKL składają się z różnych krótkich delecji, insercji i mutacji punktowych w obrębie exonu 2. i powodują przedwczesne odczytanie kodonów stop (ryc. 3). Mutant 40-kDa GATA1 (mutacja N-końcowa), nazywany GATA1s, nie posiada aminowo-terminalnej domeny aktywacji transkrypcji, ale zachowuje zdolność wiązania DNA

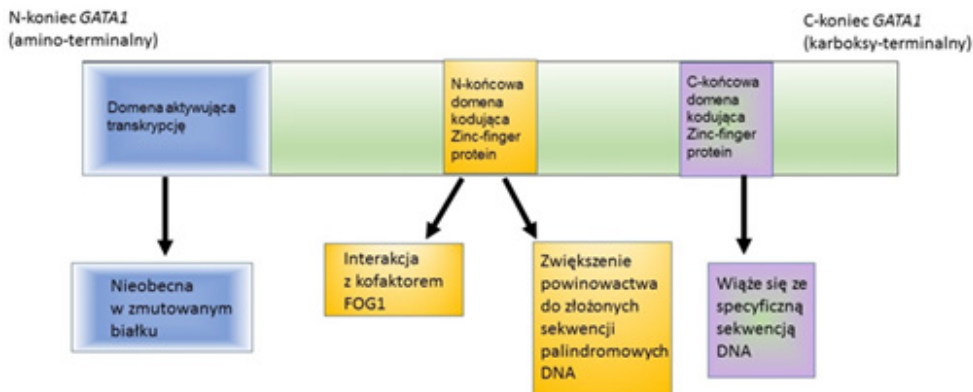


RYCINA 3. Rozwój białaczki megakariocytowej u osób z DS poprzez mutację *GATA1*, do nabycia dodatkowych mutacji w wyniku transformacji nowotworowej [18]

FIGURE 3. The development of megakaryocytic leukemia in people with DS through the *GATA1* mutation, to acquire additional mutations as a result of neoplastic transformation [18]

i interakcji z FOG1. In vitro, GATA1s jest w stanie tworzyć heterodimery i wiązać DNA (podobnie jak białko dzikiego typu), ale jest znacznie słabszym aktywatorem transkrypcyjnym (ryc. 4). Jednakże, wyrażona na wysokim poziomie GATA1s jest w stanie zapobiec letalności embrionu, kompensując w pewnym stopniu niedobór GATA1. Ponadto GATA1s wykryto również w wątrobie płodowej, co wskazuje na to, że może ona odgrywać rolę we wczesnych stadiach rozwoju komórek krwiotwórczych. Mutacje genu *GATA1* mają charakter somatyczny, w związku z czym nie są już wykrywalne po wejściu białaczki w stan remisji. Mutacje genu *GATA1* zostały potwierdzone jedynie w blastach AMKL u osób z DS [18].

Została dokonana analiza roli GATA1 w ewolucji AMKL z blastów pobranych podczas TAM, wykorzystując mutacje somatyczne GATA1 jako marker specyficzny dla klonów [18]. Zidentyfikowano identyczną mutację w blastach u pacjenta, który z fazy TAM przeszedł w AMKL w czasie 3 miesięcy. To odkrycie było zgodne z koncepcją, w której blasty nabywają dodatkowe mutacje w wieloetapowym procesie złośliwej transformacji do DS-AMKL. W nadzorowanej analizie wykazano zwiększoną ekspresję onkogenu *MYCN* i obniżone poziomy *CDKN2C*, genu efektorowego zatrzymania cyklu komórkowego za pośrednictwem *GATA1* [28]. Natomiast wyniki badań TAM transformującej do AMKL wykazały, na podstawie ekspresji genów, takich jak apolipoproteina C1, składnik MYL4 miozyny i spermidyny/sperminy N-acetyltransferazy, które komórki są klonalną ewolucją TAM i wcześniej nie były związane z transformacją nowotworową [18].



RYCINA 4. Mapa genu *GATA1* [18]
 FIGURE 4. Map of the *GATA1* gene [18]

Badając ekspresję genu guza Wilmsa (WT1) u niemowląt z TAM wykazano, że poziom WT1 był wyższy, podobnie jak w przypadku AML (ostra białaczka szpikowa). W dłuższej obserwacji poziom WT1 ulegał normalizacji u większości pacjentów. Może to sugerować, że brak normalizacji poziomu WT1 może być predyktorem rozwoju białaczki, a ekspresja WT1 wskaźnikiem monitorowania minimalnej pozostałości chorób [15].

Etiologii TAM również można doszukiwać się w bezpośredniej przyczynie trisomii ze względu na obecność dodatkowego chromosomu, a tym samym większą ilość materiału genetycznego. Kilka genów kodowanych na 21. chromosomie, np. *RUNX1*, *BACH1*, *ETS2*, *ERG*, *DYRK1A* i *GABPA* syntetyzują białka o znanych funkcjach w komórkach hematopoetycznych, jednak wykazano zwiększoną ekspresję tylko 4 genów: *DYRK1a*, *BACH1*, *GABPA* i *SON* [33].

RUNX1 jest niezbędny dla końcowego zróżnicowania progenitorów megakariocytarnych. Zasadniczo uważa się, że przemiana w ostrą białaczkę wymaga co najmniej dwóch współpracujących mutacji – jednej blokującej różnicowania i drugiej promującej proliferację lub przetrwanie komórek. Uwidacznia to, że mutacje genu *GATA1* występujące w blastach TAM i AMKL w DS zakłócają interakcję *GATA1* z *RUNX1* in vivo, to w tym modelu aktywność *GATA1*, która jest wymagana dla normalnego zróżnicowania megakariocytowego, jest zmniejszona w mutantach *GATA1s*. Jednocześnie ze względu na obecność trisomii 21. i zmniejszone wiązanie przez *GATA1s*, dostępna jest zwiększona ilość *RUNX1*. To połączenie obniżonej funkcji *GATA1* i zwiększonej funkcji *RUNX1* może odgrywać ważną rolę w predyspozycji osób z DS do rozwoju AMKL [46]. *ETS2* jest pochodną szlaku RAS/RAF/ERK, który odgrywa kluczową rolę w rozwoju nowotworu złośliwego. Jednakże kliniczny wpływ ekspresji *ETS2* w AML pozostaje

nieznany [12]. Wykazano korelację pomiędzy nadekspresją genu *ERG* z chorobą mieloproliferacyjną u myszy, wzrost produktów ekspresji *ERG* może wiązać się z promowaniem megakariopoezy i indukowaniem białaczki megakaroblastycznej bez obecności trisomii 21. Nie ma jednak dowodów na to, że gen *ERG* ulega nadmiernej ekspresji w ludzkich komórkach wątroby płodu z trisomią 21. Zarówno w profilowaniu ekspresji genów, jak i w badaniach funkcjonalnych zidentyfikowano *DYRK1A* jako gen promujący nowotwór megakarioblastyczny w położeniu częściowej trisomii 21. w kooperacji z *GATA1* [33].

Należy jednak pamiętać, że podczas trwania transformacji nowotworowej, komórki nabywają nowych nieprawidłowości chromosomowych (ACA), co może wpływać na mniej korzystne rokowanie choroby. Opisano złożony kariotyp pacjenta, który po 3 miesiącach wykazał nowe niezidentyfikowane wcześniej aberracje chromosomalne [36]. Ponadto istnieje wiele doniesień o występowaniu TAM, u pacjentów, którzy mają mozaikowatą trisomię 21 [48]. Stwierdzono, że u tych dzieci, wszystkie komórki białaczkowe mają trisomię 21. chromosomu. U tych pacjentów w biopsji fibroblastów skóry lub limfocytów stymulowanych fitohemaglutyniną (PHA), zwykle ujawnia się niewielki odsetek komórek, w których jest obecna trisomia 21 chromosomu. Wskazuje to, że trisomia występuje w przeważającym stopniu w hematopoetycznych komórkach macierzystych. Wzmocnienie ekspresji genu *HMGNI* (obecnego na 21. chromosomie), niezbędnego dla fenotypowania limfocytów B, powoduje wzmocnienie acetylacji histonu H3K27, co sprzyja znacznemu wzrostowi ryzyka wystąpienia ostrej białaczki limfoblastycznej [29]. W DS.-ML i TAM, stwierdzono nadekspresję miR-125b w porównaniu ze zwykłymi megakariocytami [33].

IMMUNOFENOTYP KOMÓREK BLASTYCZNYCH W ZESPOLE DOWNA

Ostra białaczka szpikowa (AML) jest najczęstszą postacią nowotworu układu krwiotwórczego, która pojawia się u dzieci z DS. Szacuje się, że ryzyko jej wystąpienia jest około 10 do 18 razy wyższe niż u dzieci z prawidłowym kariotypem [45]. Komórki białaczkowe charakteryzują się często zmianami genomowymi i ekspresją antygenów powierzchniowych charakterystycznych dla danej linii komórkowej. Ciekawym zjawiskiem występującym u dzieci z DS jest przemijające zaburzenie mieloprolifracji (TAM). TAM może pojawić się jeszcze w życiu płodowym lub niedługo po urodzeniu i ustąpić samoistnie bez dodatkowej terapii [19,42]. Niekiedy jednak może przekształcić się w ostrą białaczkę megakarioblastyczną (AMKL) lub prowadzić do zwłóknienia wątroby [4, 19]. Ważna zatem jest szybka diagnoza i rozpoznanie, czy problem nieprawidłowej mieloprolifracji jest jedynie przejściowy, czy doszło do rozwoju AMKL. W tym wypadku przy-

datne wydaje się zastosowanie cytometrii przepływowej do badania antygenów ekspresjonowanych na powierzchni komórek krwi i szpiku. Badanie antygenowości komórki ma również swoje uzasadnienie, kiedy chcemy porównać komórki zmienione nowotworowo w przypadku ostrej białaczki nie związanej z DS. (non DS-AMKL) z tą związaną z trisomią (DS –AMKL).

Białaczka AMKL występuje zwykle u dzieci powyżej 1 roku życia, a TAM u noworodków [17]. Jednak znane są przypadki wrodzonej ostrej białaczki szpikowej, co znacznie utrudnia postawienie rozpoznania [26]. Różnice dotyczą parametrów morfologicznych, takich jak hematokryt, czy liczba płytek krwi. W przypadku TAM hematokryt jest w granicach normy oraz liczba płytek krwi jest prawidłowa, podczas, gdy ostrą białaczkę charakteryzuje cytopenia, zdarzają się jednak wyjątki, co może wpływać na podjęcie decyzji terapeutycznej [20].

Wyniki przeprowadzonych badań z zastosowaniem 3-4 [20, 41] lub 6-8 [4] kolorowych paneli znakowanych przeciwciał przeciw różnym antygenom komórki, wskazują podobieństwa w garniturze blastów TAM i AMKL (Tabela 2). Wszystkie komórki wykazywały na swojej powierzchni obecność CD45, CD38, CD33. Nie stwierdzono obecności markerów dojrzałych komórek mieloidalnych: CD15 i CD16. Wykazano ekspresję CD36, markery monocytowe: CD14 były ujemne, a CD64 był dodatni w tylko jednym przypadku AMKL. Zaobserwowano ekspresję zarówno CD41 jak i CD61, czyli markerów megakariocytów.

W przypadku markera CD41 ekspresja wszystkich przeanalizowanych przypadków (22 pacjentów z DS – AMKL lub TAM) wynosiła ponad 90%. Nie wszyscy pacjenci mieli wykonaną analizę z przeciwciałem anti-CD41, jednak wyniki uzyskane z pozostałych analiz wskazują, że wykorzystanie przeciwciał przeciw antygenom megakariocytów może dać klinicznie istotne wyniki. U wszystkich badanych stwierdzono obecność CD71+. Nie przeanalizowano w większości przypadków innych markerów erytroidalnych, więc nie można wykluczyć erytroidalnego różnicowania blastów. Wyniki badań z użyciem przeciwciał anti-CD235a nie wykazały różnicowania erytroidalnego – brak antygeny CD235a na powierzchni blastów. Na powierzchni blastów nie stwierdzono obecności markerów T i B komórkowych, poza wysoką ekspresją CD7 (91,6%). Antygen ten może być istotnym, w klasyfikacji dzieci z podejrzeniem DS.-AMKL. Wśród różnic między immunofenotypem komórek blastycznych DS – AMKL i TAM można wymienić odmienną ekspresję antygenów powierzchniowych CD11b i CD13 [4,20,41]. CD13 jest antygenem linii mieloidalnej obecny już na wczesnym etapie prawidłowo rozwijającego się blasta w większości przypadków AML [8, 37, 39]. CD11b jest względnym markerem dojrzewania na etapie promielocyta/mielocyta. W analizowanych przypadkach stwierdzono wysoką częstość ekspresji tych markerów w przypadku DS-AMKL (około 89%), natomiast znacznie rzadsze pojawianie się tego markera na komórkach TAM (21-22%). Odwrotna sytuacja jest widoczna w przypadku HLA-DR. Ten marker komórkowy znacznie częściej pojawia się w przypadku komórek TAM niż AMKL. Wyniki badań Nitin J. Karandikar i wsp.

wykazały, że 7/9 przypadków blastów TAM wykazuje ekspresję tego antygenu powierzchniowego (78%), a u 3/9 przypadków AMKL stwierdzono jego obecność na komórkach badanych (33%) [20]. Inni autorzy nie potwierdzili wysokiej ekspresji HLA-DR (20%) [41, 4]. Porównując grupy pacjentów DS-AMKL i non-DS-AMKL wykazano, że ekspresja HLA-DR na powierzchni komórki w przypadku dzieci z trisomią 21 chromosomu wynosi ok.30% [41]. Trudno zakwalifikować HLA-DR jako marker charakterystyczny dla TAM, który pozwoliłby odróżnić to zaburzenie od ostrej białaczki megakarioblastycznej, jednak w połączeniu z innymi oznaczanymi antygenami może pomóc w określeniu, czy doszło do transformacji nowotworowej.

TABELA 2. Antygeny powierzchniowe komórek blastycznych [4, 20, 41]

TABLE 2. Surface antigens of blast cells [4, 20, 41]

	DS-AMKL ^{20,41}	%	TAM ^{4,20}	%	Non-DS-AMKL ^{20,41}	%
CD45	22/22	100,0	9/9	100,0	8/9	88,9
CD38	22/22	100,0	9/9	100,0	7/9	77,8
CD33	22/22	100,0	14/14	100,0	5/9	55,6
CD34	16/22	72,7	14/14	100,0	4/9	44,4
CD15	2/22	9,0	2/9	22,2	2/9	22,2
CD16	1/9	11,1	0/9	0,0	ND	ND
CD36	21/21	100,0	9/9	100,0	3/8	37,5
CD14	0/8	0,0	0/11	0,0	ND	ND
CD64	1/9	11,1	0/9	0,0	ND	ND
CD41	13/14	92,9	7/9	77,8	6/6	100,0
CD61	7/20	35,0	7/12	58,3	8/8	100,0
CD71	10/10	100,0	2/2	100,0	3/3	100,0
CD7	21/21	100,0	11/14	78,6	1/8	12,5
CD56	15/21	71,4	9/14	64,3	5/8	62,5
CD11b	20/22	90,9	2/9	22,2	0/8	0,0
CD13	21/22	95,5	3/14	21,4	5/9	55,6
CD117	2/2	100,0	4/5	80,0	2/2	100,0
HLA-DR	7/22	31,8	8/14	31,8	3/8	37,5
MPO	2/5	40,0	0/5	0,0	2/6	33,3
CD235a	0/2	0,0	0/2	0,0	0/2	0,0

ND-nie wykonano

Komórki blastyczne wśród pacjentów z DS-AMKL i non-DS-AMKL różnią się nie tylko pod względem różnych anomalii genetycznych i mutacji, ale także pod względem immunofenotypu komórek [41]. Cytometria przepływowa z wykorzystaniem panelu przeciwciał 3-4 kolorowych pozwala na porównanie obu populacji i dostrzeżenia istotnych klinicznie różnic, co może mieć wpływ na późniejszą decyzję terapeutyczną. Wszystkie analizowane przypadki były pozytywne dla markerów komórkowych: CD45, CD38, CD33, CD71, CD7 i CD117 [41]. Większość wykazywała również ekspresję CD36, CD41, CD11b, CD13 (powyżej 90%) oraz CD61 (około 80%). W porównaniu z komórkami blastycznymi DS.-AMKL, noworodki bez zdiagnozowanego Zespołu Downa, ale z ostrą białaczką megakarioblastyczną wykazywały znacznie mniejszą ekspresję niektórych markerów, szczególnie CD7 i CD11b. Stwierdzono obecność tych antygenów na komórkach jedynie w 12,5% badanych przypadków. Zauważalna jest również mniejsza liczba pacjentów z ekspresją antygenów CD34 i CD36 na powierzchni komórek. AMKL należy do rzadkiej heterogennej, podgrupy ostrej białaczki szpikowej [41, 43]. W przypadku DS-AMKL i non-DS-AMKL, różnice stwierdza się w odpowiedzi na chemioterapię i prognozie remisji choroby [41]. Ponadto stwierdza się istotne różnice w immunofenotypie komórek blastycznych populacji DS-AMKL i non-DS-AMKL (tab. 2).

Wyniki badań wykazują podobieństwa i różnice, pomiędzy pacjentami z zespołem Downa i AMKL, pacjentami bez trisomii i z AMKL oraz pacjentami z TAM. Ocena antygenów komórki przy pomocy cytometrii przepływowej może być przydatna w wykazaniu biologicznych różnic w przypadkach trudnych diagnostycznie.

WPŁYW CYTOKIN I CHEMOKIN NA PROCES WŁÓKNIENIA WĄTROBY DZIECI Z TAM

Przemijające zaburzenie mieloproliferacyjne u dzieci z zespołem Downa zwykle nie kojarzy się z poważnymi zaburzeniami wątroby. Charakteryzuje się wzrostem komórek megakarioblastycznych we krwi obwodowej i jej spontaniczną regresją w wieku 2 lub 3 miesięcy. Wyniki przeprowadzonych badań wykazują niejednokrotnie współistnienie zaburzeń zagrażających życiu. U niektórych pacjentów z TAM, nieprawidłowa proliferacja blastów utrzymuje się i czasami może powodować śmiertelne zwłóknienie kilku narządów, zwłaszcza wątroby, co objawia się postępującą żółtaczką obturacyjną z wzrastającym stężeniem bilirubiny bezpośrednio, prowadzącym do skrajnej niewydolności wątroby [2, 4, 6, 22, 34, 47, 48].

Wydaje się, że w procesie tym rolę odgrywają niektóre cytokiny, w tym płytkowy czynnik wzrostu (PDGF) oraz silna ekspresja transformującego czynnika wzrostu $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) [16, 38]. Komórkowy mechanizm zwłóknienia wątroby

i jego modulacja przez czynniki wzrostu (np. płytkopochodny czynnik wzrostu – PDGF), wydaje się powiązana patogenetycznie z TAM i rozwojem zwłóknienia wątroby u noworodków z zespołem Downa. Związek tej triady nie wydaje się już przypadkowy [34].

Ostre zwłóknienie szpiku często wiąże się z ostrą białaczką megakarioblastyczną (AMKL). Pewne czynniki humoralne z komórek megakarioblastycznych, prekursorów płytek krwi, mogą być zaangażowane w zwiększenie syntezy kolagenu. Przeprowadzono zatem szereg badań możliwej patogennej roli transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- β), o którym wiadomo, że jest bardzo silnym czynnikiem stymulującym kolagen obecnym w płytkach krwi w mielofibrozje AMKL. Kilka z nich przedstawiono poniżej [38].

Uzyskane wyniki były następujące:

1. Kondycjonowane pożywki z megakarioblastów obwodowych pobranych od pacjenta AMKL i z ustalonych linii komórkowych megakarioblastów (MEG-01) miały znacznie większy wpływ stymulujący na syntezę kolagenu w fibroblastach szpiku kostnego niż pożywki kondycjonowane z innych typów komórek białaczkowych.
2. Na podstawie oceny tworzenia kolonii na agarze miękkim stwierdzono większą aktywność TGF-beta w pożywkach, które były kondycjonowane z megakarioblastów niż w pożywkach z innych typów komórek białaczkowych.
3. W porównaniu z innymi typami komórek białaczkowych, megakarioblasty wykazały znacznie większą ekspresję mRNA TGF-beta.
4. Dodanie przeciwciała anti-TGF-beta hamowało stymulujące działanie pożywki kondycjonowanej megakarioblastem na syntezę kolagenu w fibroblastach szpiku kostnego [33, 34, 38].

Aby ustalić, czy czynnik wzrostu pochodzący od płytek (PDGF) i transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) są zaangażowane w zwłóknienie narządów u pacjentów z przemijającym zaburzeniem mieloproliferacyjnym (TAM) w zespole Downa, oraz ekspresję mRNA PDGF i TGF- $\beta 1$ w komórkach blastycznych TAM użyto ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym. Blasty i tkanka wątroby od pacjentów z TAM ze zwłóknieniem wątroby wykazywały znacząco podwyższoną ekspresję genu *PDGF*. Ekspresja genu *TGF- $\beta 1$* również była wyraźnie wyższa niż w grupie kontrolnej. PDGF uznano za najsilniejszy induktor zwłóknienia wątroby [16].

Wyniki badań potwierdzają hipotezę, że blasty megakariocytowe TAM mogą atakować tkankę wątroby i indukować zwłóknienie poprzez nadekspresję PDGF w obecności TGF- β [16]. Wykazano istotnie wyższe stężenie IL-1 β , TNF- α , IFN- γ u noworodków DS z TAM w porównaniu do noworodków bez TAM w badaniu przy użyciu wysoce czułego systemu fluorescencyjnych mikrosfer [35]. Wydaje się zatem, że również wysokie stężenia krążących chemokin CXCL8, CXCL9,

CXCL10, CCL2 i CCL5 stwierdzane u pacjentów z TAM mogą prognozować o postępującej niewydolności wątroby u dzieci z DS [21].

Chemokina CXCL8, inaczej IL-8, czynnik aktywujący neutrofile w stanach zapalnych, przyciąga je głównie poprzez receptory CXCR1 i CXCR2, które uwalniają reaktywne formy tlenu, a także proteazy, wywołując tym samym martwicę hepatocytów. Zwiększona ekspresja CXCL8 w komórkach wątroby, miejscowych makrofagach wątrobowych i komórkach T, wraz z krążącymi CXCL8, może przyczyniać się do nasilania procesów zwłóknienia oraz odgrywać ważną rolę w zapaleniu i zwłóknieniu wątroby u pacjentów z atrezią żółciową, najczęstszą przyczyną cholestazy noworodków [21].

CCL2 (monocytowe białko chemotaktyczne 1, MCP-1) jedna z kluczowych chemokin w procesie włóknienia wątroby. W stanie przewlekłego zapalenia wątroby CCL2 jest wydzielany przez hepatocyty, komórki nabłonkowe dróg żółciowych, komórki Kuppera i wątrobowe komórki gwiazdziste (HSC) [21].

Poziomy CXCL8 i CCL2 w surowicy w momencie rozpoznania były znacząco podwyższone u pacjentów z DS, u których rozwinęło się TAM i postępująca choroba wątroby. Stwierdzono, że poziomy CCL2 są niezależnie związane z rozwojem niewydolności wątroby, a wysoki poziom CXCL8 jest dodatkowo niezależnie związany z przedwczesną śmiercią pacjentów z TAM. Wyniki te łącznie z zwiększonym poziomem bilirubiny ujawniają potrzebę opracowania odpowiedniej strategii terapeutycznej do kontrolowania chorób wątroby związanej z TAM [21].

U pacjentów z TAM, PDGF i TGF- β były produkowane przez komórki blastyczne i przyczyniały się do przyspieszenia cholestazy. Poziom TGF- β 1 w surowicy był dodatnio skorelowane z poziomami CCL2 w momencie rozpoznania. Naciek megakarioblastów był histologicznie widoczny w zwłóknieniu wątroby u pacjentów z TAM [16, 21, 38].

Podsumowując, wykazano, że cytokiny/chemokiny wydzielane przez megakarioblasty mogą rekrutować HSC i wątrobowe makrofagi, które podtrzymują trwałe zapalenie i uszkodzenie tkanki, co prowadzi do zwłóknienia wątroby.

PODSUMOWANIE

Wyniki badań wykazały, jak wiele zmian na poziomie komórki zachodzi na etapie różnicowania w przypadku osób z trisomią 21 (Zespołem Downa). Niektóre zmiany genetyczne i molekularne, jak mutacja genu *GATA1* może spowodować, że wystąpi transformacja nowotworowa komórki hematopoetycznej, odpowiedzialnej za różnicowanie megakariocytów. Mutacja wykrywana w przypadku TAM i DS-AMKL sugeruje, że jeszcze w życiu płodowym zostaje zaburzone prawidłowe krwiotworzenie, a nabywane dodatkowe mutacje somatyczne mogą do-

prowadzić do transformacji białaczkowej. Zmutowane komórki hematopoetyczne w trisomii 21, charakteryzuje także odmienny immunofenotyp oraz dodatkowo nadprodukcja cytokin wywołujących włóknienie wątroby.

Przedstawione zagadnienia wykazały, że dzieci z trisomią 21 w przypadku nieprawidłowej mielopojezy lub TAM wykazują zwykle inny przebieg choroby, któremu towarzyszyć mogą dodatkowe schorzenia m.in. ostra białaczka megakarioblastyczna i włóknienie narządów. Wymaga to od zespołu terapeutycznego bardzo wnikliwego monitorowania.

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana ze środków statutowych Katedry i Zakładu Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

LITERATURA

- [5] ABEL T, ZUKIN R. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Curr Opin Pharmacol.* 2008; **8**(1): 57-64.
- [6] AL-KASIM F, DOYLE JJ, MASSEY G V, WEINSTEIN HJ, ZIPURSKY A, PEDIATRIC ONCOLOGY GROUP. Incidence and treatment of potentially lethal diseases in transient leukemia of Down syndrome: Pediatric Oncology Group Study. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2002; **24**(1): 9-13.
- [7] ANTONARAKIS SE, LYLE R, DERMITZAKIS ET, REYMOND A, DEUTSCH S. Chromosome 21 and Down syndrome: from genomics to pathophysiology. *Nat Rev Genet.* 2004; **5**(10): 725-738.
- [8] BALODA V, SUBRAMANIAN PG, BADRINATH Y, ET AL. Transient abnormal myelopoiesis: A case series and review of the literature. *Pediatr Hematol Oncol J.* 2017; **2**(1): 14-18.
- [9] BEAUCHEMIN H, SHOOSHTARIZADEH P, VADNAIS C, VASSEN L, PASTORE YD, MÖRÖY T. Gfi1b controls integrin signaling-dependent cytoskeleton dynamics and organization in megakaryocytes. *Haematologica.* 2017; **102**(3): 484-497.
- [10] BECROFT DM, ZWI LJ. Perinatal visceral fibrosis accompanying the megakaryoblastic leukemoid reaction of Down syndrome. *Pediatr Pathol.* 1990; **10**(3): 397-406.
- [11] BHATNAGAR N, NIZERY L, TUNSTALL O, VYAS P, ROBERTS I. Transient Abnormal Myelopoiesis and AML in Down Syndrome: an Update. *Curr Hematol Malig Rep.* 2016; **11**(5): 333-341.
- [12] CREUTZIG U, HARBOTT J, SPERLING C, ET AL. Clinical significance of surface antigen expression in children with acute myeloid leukemia: results of study AML-BFM-87. *Blood.* 1995; **86**(8): 3097-3108.
- [13] DEVEAUX S, COHEN-KAMINSKY S, SHIVDASANI RA, ET AL. p45 NF-E2 regulates expression of thromboxane synthase in megakaryocytes. *EMBO J.* 1997; **16**(18): 5654-5661.
- [14] DREWA G, FERENC T, BRATKOWSKA W. Podstawy Genetyki : Dla Studentów i Lekarzy. Wydaw. Med. Urban & Partner; 2003.
- [15] EPSTEIN CJ, AVRAHAM KB, LOVETT M, ET AL. Transgenic mice with increased Cu/Zn-superoxide dismutase activity: animal model of dosage effects in Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987; **84**(22): 8044-8048.
- [16] FU L, FU H, WU Q, ET AL. High expression of ETS2 predicts poor prognosis in acute myeloid leukemia and may guide treatment decisions. *J Transl Med.* 2017; **15**(1): 159.

- [17] GARDINER K, HERAULT Y, LOTT IT, ANTONARAKIS SE, REEVES RH, DIERSSEN M. Down Syndrome: From Understanding the Neurobiology to Therapy. *J Neurosci*. 2010; **30**(45): 14943-14945.
- [18] GREGORY GD, MICCIO A, BERSENEV A, ET AL. FOG1 requires NuRD to promote hematopoiesis and maintain lineage fidelity within the megakaryocytic-erythroid compartment. *Blood*. 2010; **115**(11): 2156-2166.
- [19] HASLE H, LUND B, NYVOLD CG, HOKLAND P, ØSTERGAARD M. WT1 gene expression in children with Down syndrome and transient myeloproliferative disorder. *Leuk Res*. 2006; **30**(5): 543-546.
- [20] HATTORI H, MATSUZAKI A, SUMINOE A, IHARA K, NAKAYAMA H, HARA T. High expression of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta1 in blast cells from patients with Down Syndrome suffering from transient myeloproliferative disorder and organ fibrosis. *Br J Haematol*. 2001; **115**(2): 472-475.
- [21] HAYASHI Y, EGUCHI M, SUGITA K, ET AL. Cytogenetic findings and clinical features in acute leukemia and transient myeloproliferative disorder in Down's syndrome. *Blood*. 1988; **72**(1): 15-23.
- [22] HITZLER JK, ZIPURSKY A. Origins of leukaemia in children with Down syndrome. *Nat Rev Cancer*. 2005; **5**(1): 11-20.
- [23] ISELIUS L, JACOBS P, MORTON N. Leukaemia and transient leukaemia in Down syndrome. *Hum Genet*. 1990; **85**(5): 477-485.
- [24] KARANDIKAR NJ, AQUINO DB, MCKENNA RW, KROFT SH. Transient Myeloproliferative Disorder and Acute Myeloid Leukemia in Down Syndrome. *Am J Clin Pathol*. 2001; **116**(2): 204-210.
- [25] KINJO T, INOUE H, KUSUDA T, ET AL. Chemokine levels predict progressive liver disease in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis. *Pediatr Neonatol*. 2018; **S1875-9572**(18): 30128-1.
- [26] KLUSMANN J-H, CREUTZIG U, ZIMMERMANN M, ET AL. Treatment and prognostic impact of transient leukemia in neonates with Down syndrome. *Blood*. 2008; **111**(6): 2991-2998.
- [27] LEE T-H, SENG S, SEKINE M, ET AL. Vascular Endothelial Growth Factor Mediates Intracrine Survival in Human Breast Carcinoma Cells through Internally Expressed VEGFR1/FLT1. Kerbel RS, ed. *PLoS Med*. 2007; **4**(6): e186.
- [28] LEE WY, WEINBERG OK, EVANS AG, PINKUS GS. Loss of Full-Length GATA1 Expression in Megakaryocytes Is a Sensitive and Specific Immunohistochemical Marker for the Diagnosis of Myeloid Proliferative Disorder Related to Down Syndrome. *Am J Clin Pathol*. 2018; **149**(4): 300-309.
- [29] LENTJES MH, NIESSEN HE, AKIYAMA Y, DE BRUÏNE AP, MELOTTE V, VAN ENGELAND M. The emerging role of GATA transcription factors in development and disease. *Expert Rev Mol Med*. 2016; **18**: e3.
- [30] LIANG DC, MA SW, LU TH, LIN ST. Transient myeloproliferative disorder and acute myeloid leukemia: study of six neonatal cases with long-term follow-up. *Leukemia*. 1993; **7**(10): 1521-1524.
- [31] LICCIARDI P V, KARAGIANNIS TC. Regulation of immune responses by histone deacetylase inhibitors. *ISRN Hematol*. 2012; **2012**: 690901.
- [32] MCELWAINE S, MULLIGAN C, GROET J, ET AL. Microarray transcript profiling distinguishes the transient from the acute type of megakaryoblastic leukaemia (M7) in Down's syndrome, revealing PRAME as a specific discriminating marker. *Br J Haematol*. 2004; **125**(6): 729-742.
- [33] MOWERY CT, REYES JM, CABAL-HIERRO L, ET AL. Trisomy of a Down Syndrome Critical Region Globally Amplifies Transcription via HMGN1 Overexpression. *Cell Rep*. 2018; **25**(7): 1898-1911.e5.
- [34] OHNEDA K, MORIGUCHI T, OHMORI S, ET AL. Transcription Factor GATA1 Is Dispensable for Mast Cell Differentiation in Adult Mice. *Mol Cell Biol*. 2014; **34**(10): 1812-1826.
- [35] PETERSEN MB, TRANEBJAERG L, MCCORMICK MK, MICHELSEN N, MIKKELSEN M, ANTONARAKIS SE. Clinical, cytogenetic, and molecular genetic characterization of two unrelated patients with different duplications of 21q. *Am J Med Genet Suppl*. 1990; **7**: 104-109.
- [36] ROBERTS I, ALFORD K, HALL G, JUBAN G, ET AL. GATA1-mutant clones are frequent and often unsuspected in babies with Down syndrome: identification of a population at risk of leukemia. *Blood*. 2013; **122**(24): 3908-3917

- [37] ROBERTS I, O'CONNOR D, ROY A, COWAN G, VYAS P. The impact of trisomy 21 on foetal haematopoiesis. *Blood Cells Mol Dis.* 2013; **51**(4): 277-281.
- [38] RUCHELLI ED, URI A, DIMMICK JE, ET AL. Severe perinatal liver disease and Down syndrome: an apparent relationship. *Hum Pathol.* 1991; **22**(12): 1274-1280.
- [39] SHIMADA A, HAYASHI Y, OGASAWARA M, ET AL. Pro-inflammatory cytokinemia is frequently found in Down syndrome patients with hematological disorders. *Leuk Res.* 2007; **31**(9): 1199-1203.
- [40] DE SOUZA DC, DE FIGUEIREDO AF, NEY GARCIA DR, ET AL. A unique set of complex chromosomal abnormalities in an infant with myeloid leukemia associated with Down syndrome. *Mol Cytogenet.* 2017; **10**: 35.
- [41] TERSTAPPEN LW, LOKEN MR. Myeloid cell differentiation in normal bone marrow and acute myeloid leukemia assessed by multi-dimensional flow cytometry. *Anal Cell Pathol.* 1990; **2**(4): 229-240.
- [42] TERUI T, NIITSU Y, MAHARA K, ET AL. The production of transforming growth factor-beta in acute megakaryoblastic leukemia and its possible implications in myelofibrosis. *Blood.* 1990; **75**(7): 1540-1548.
- [43] VENDITTI A, DEL POETA G, BUCCISANO F, ET AL. Prognostic relevance of the expression of Tdt and CD7 in 335 cases of acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 1998; **12**(7): 1056-1063.
- [44] VOLMAR C-H, WAHLESTEDT C. Histone deacetylases (HDACs) and brain function. *Neuroepigenetics.* 2015; **1**: 20-27.
- [45] WANG L, PETERS JM, FUDA F, ET AL. Acute megakaryoblastic leukemia associated with trisomy 21 demonstrates a distinct immunophenotype. *Cytom Part B Clin Cytom.* 2015; **88**(4): 244-252.
- [46] WEINSTEIN HJ. Congenital leukaemia and the neonatal myeloproliferative disorders associated with Down's syndrome. *Clin Haematol.* 1978; **7**(1): 147-154.
- [47] WEN Q, GOLDENSON B, CRISPINO JD. Normal and malignant megakaryopoiesis. *Expert Rev Mol Med.* 2011; **13**: e32.
- [48] WISEMAN FK, ALFORD KA, TYBULEWICZ VLJ, FISHER EMC. Down syndrome--recent progress and future prospects. *Hum Mol Genet.* 2009; **18**(R1): R75-R83.
- [49] XAVIER AC, GE Y, TAUB JW. Down syndrome and malignancies: a unique clinical relationship: a paper from the 2008 william beaumont hospital symposium on molecular pathology. *J Mol Diagn.* 2009; **11**(5): 371-80.
- [50] YONEZAWA T, TAKAHASHI H, SHIKATA S, ET AL. The ubiquitin ligase STUB1 regulates stability and activity of RUNX1 and RUNX1-RUNX1T1. *J Biol Chem.* 2017; **292**(30): 12528-12541.
- [51] ZIPURSKY A, ROSE T, SKIDMORE M, THORNER P, DOYLE J. Hydrops fetalis and neonatal leukemia in Down syndrome. *Pediatr Hematol Oncol.* **13**(1): 81-87.
- [52] ZIPURSKY A. Transient leukaemia – a benign form of leukaemia in newborn infants with trisomy 21. *Br J Haematol.* 2003; **120**(6): 930-938.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 09.05.2019

Przyjęto: 16.06.2019

Anna Radajewska

Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

tel.: 509852306

e-mail: aniaradajewska96@gmail.com

