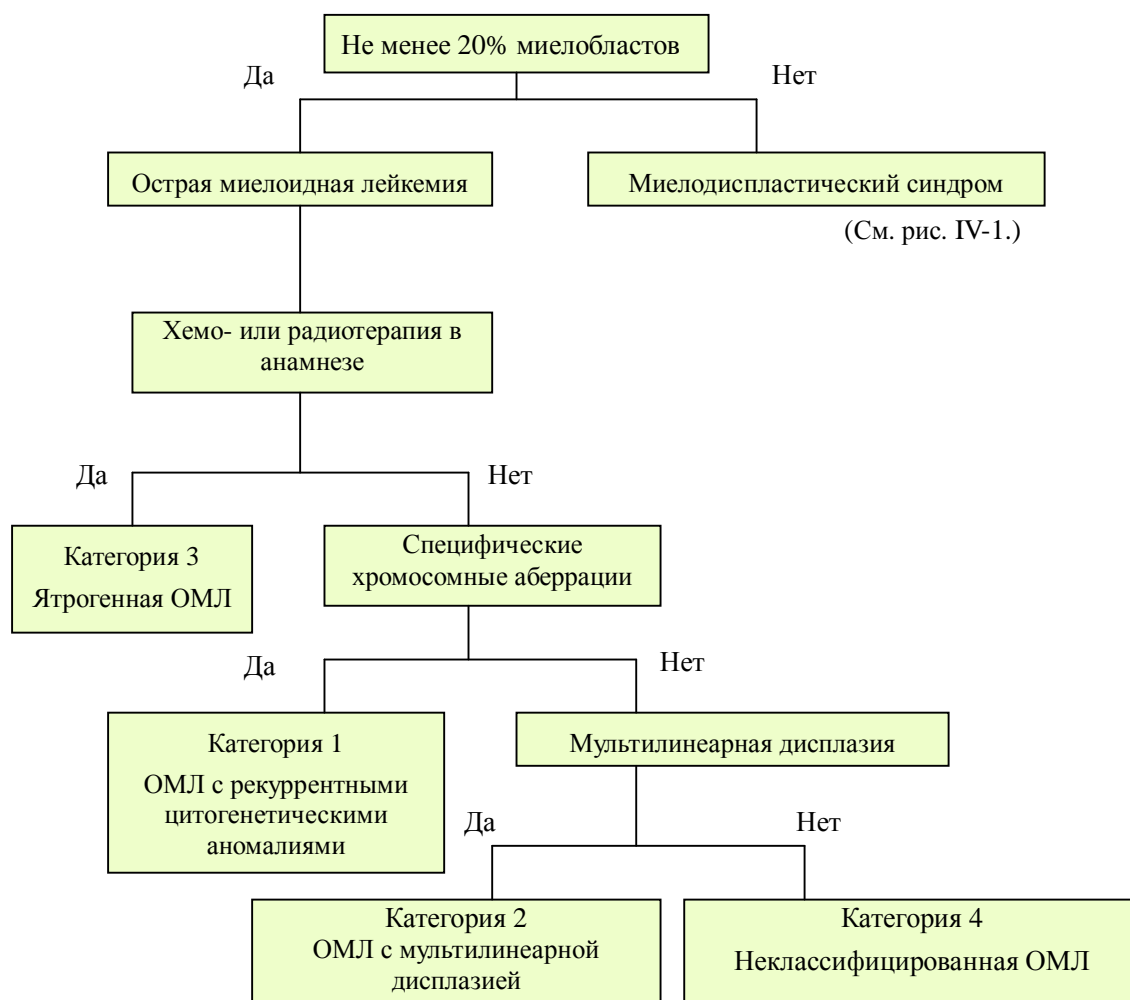


## Глава 5. Острая миелоидная лейкемия (ОМЛ).

1. Острая миелоидная лейкемия с рекуррентными цитогенетическими аномалиями.
2. Острая миелоидная лейкемия с мультилинейарной дисплазией.
3. Острая миелоидная лейкемия с миелодиспластическим синдромом, ятрогенная.
4. Острая миелоидная лейкемия, неклассифицированная.
5. Острая миелоидная лейкемия неясного клеточного происхождения.

Острая миелоидная лейкемия по классификации ВОЗ охарактеризована с учетом накопившихся наблюдений, касающихся морфологии/хромосом/иммунофенотипов/генов, а также эффективности лечения, и включает в себя пять типов, причем нижний уровень миелобластов в крови и костном мозге считается равным 20%, а не 30%.



(См. рис. V-53.)

Рис. V-1. Схема диагностики острой миелоидной лейкемии.

770

## 1. Острая миелоидная лейкемия с рекуррентными цитогенетическими аномалиями

- 1) Острая миелоидная лейкемия с транслокацией (8;21)(q22;q22), [AML1(CBF $\beta$ )/ETO]
- 2) Острая миелоидная лейкемия с аномалиями эозинофилов костного мозга: inv(16)(p13q22) или t(16;16)(p13q22), [CBF $\beta$ /MYH11]
- 3) Острая промиелоцитарная лейкемия [ОМЛ с транслокацией (15;17)(q22;q12), (PML/RAR $\alpha$ ) и ее варианты]
- 4) Острая миелоидная лейкемия с аномалиями 11q23 (MLL)

К этой группе относят случаи с транслокацией 8;21, инверсией 16, транслокацией 15;17 и аномалией 11q23. Результатом этих аномалий является продукция специфических химерных белков, которую можно выявлять высокочувствительной методикой ОТ-ПЦР, что дает возможность для прямого распознавания и отслеживания биологических свойств лейкозных клеток, облегчает контроль лечения и ремиссии и способствует раннему выявлению рецидивов. Ремиссия в этой группе лейкозиев более длительная, чем в других случаях острой лейкемии.

### 1) Острая миелоидная лейкемия с транслокацией 8;21: t(8;21)(q22;q22), (AML1/ETO)

**Краткая история острой миелоидной лейкемии с транслокацией 8;21**

1. Первое сообщение о подострой миелоидной лейкемии с хромосомной транслокацией Cq $^{-}$ ;Gq $^{+}$  и низкой активностью щелочной фосфатазы в нейтрофилах (Kamada 1968)
2. Открыта транслокация (8;21)(q22;q22) (Rowley, 1973)
3. В международной классификации лейкозиев (1976) выделена группа FAB M2.
4. Ген c-mos в патогенезе не участвует (1985).
5. Получена клеточная линия t(8;21) Kasumi-1 (1991).
6. На 21-й хромосоме открыт ген AML1 (21) (1991).
7. На 8-й хромосоме открыт ген ETO/MTG8 (1992)
8. Ген CBF $\beta$ , подобный гену AML1, отмечен в случае inv(16).

770

Рис. V-2. Краткая история острой миелоидной лейкемии с транслокацией 8;21.

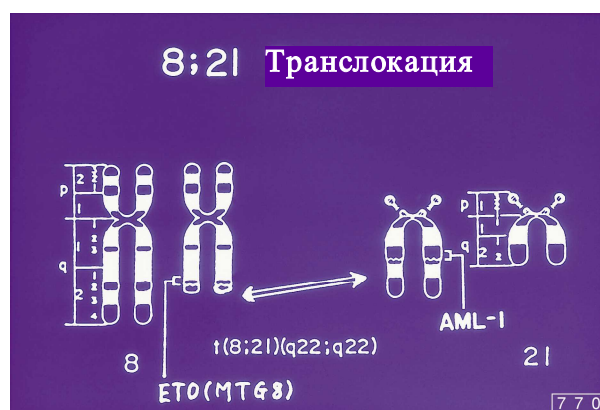


Рис. V-3. Схема транслокации 8;21. Взаимная транслокация хромосомы 8 (ген ETO) и хромосомы 21 (ген AML1)

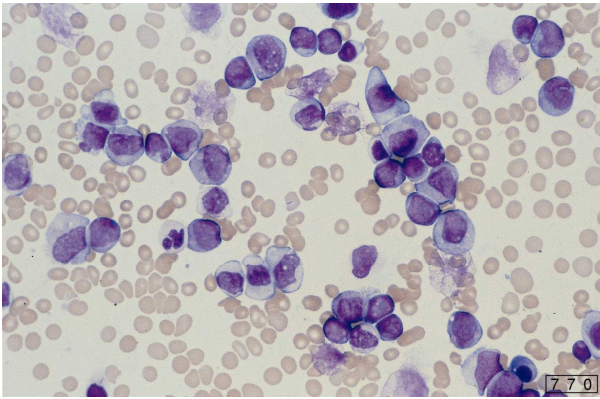


Рис. V-4. Клетки с транслокаций 8;21 (FAB M2). Видны зрелые бласты. Они характеризуются наличием гранул (три клетки чуть ниже центра), локализованных в цитоплазме.

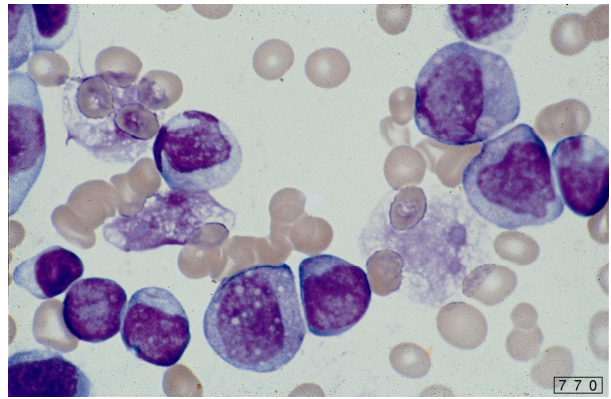


Рис. V-5. Клетки с транслокаций 8;21 (FAB M2). Имеется много клеток, содержащих палочки Ауэра, (направление на 12 часов от нижней левой части рисунка). Кроме того, можно видеть псевдоаномалию ядер типа Пелджера-Хьюэта (Pelger-Huet) и нейтрофильные гранулы, отрицательные по миелопероксидазе. Наблюдается низкая активность щелочной фосфатазы нейтрофилов.

**Подробная информация:** Анализ сложных случаев транслокации 8;21 флуоресцентной гибридизацией in situ (p94)

**Подробная информация:** Предсказание лейкемии с транслокацией 8;21 на основании клинических данных (p94)

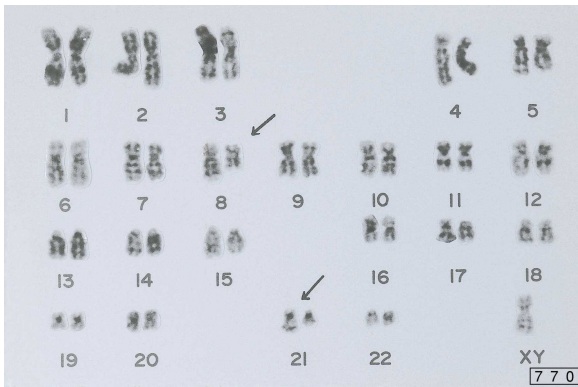


Рис. V-6. Кариотип с транслокацией 8;21. В 30% таких случаев происходит потеря половых хромосомы (Y и X).

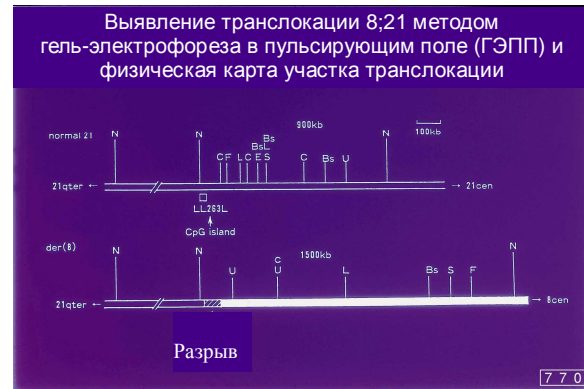


Рис. V-7. Генная карта транслокации 8;21. Верхняя часть: нормальная хромосома 21; нижняя часть: аномальная хромосома 8, в которую транслоцирована часть хромосомы 21.

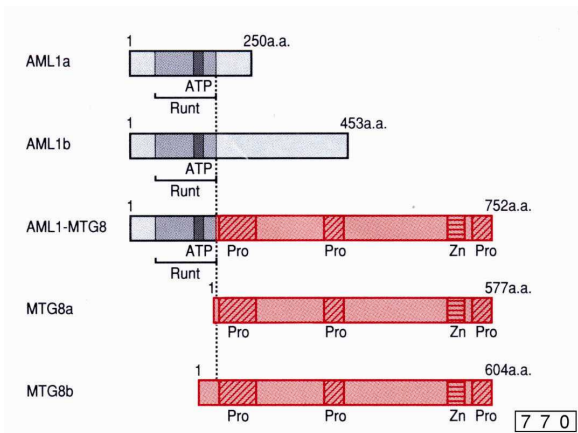


Рис. V-8. Продукты слияния генов AML1, MTG8 и AML1-MTG8.

Как AML1, так и MTG8 кодируют по меньшей мере два белка, что является результатом альтернативного сплайсинга. Обозначения: Runt – домен Runt; ATP – мотив связывания АТФ; Pro – богатый пролином домен; Zn – мотив цинковопалости (из ссылки 11 с модификациями).

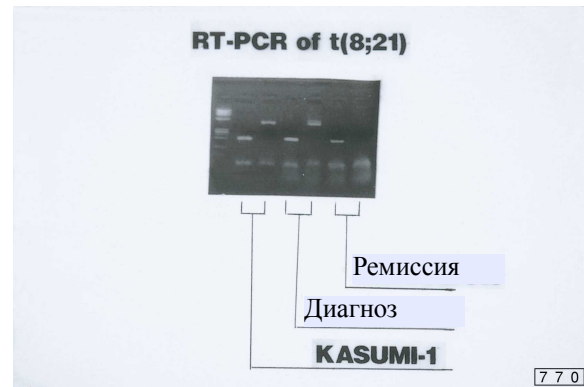


Рис. V-9. Диагноз с помощью ОТ-ПЦР. Клетки линии KASUMI-1 имеют транслокацию 8;21. Рисунок показывает диагноз и состояние ремиссии одного и того же случая. Продукты химерных генов при ремиссии не обнаруживаются (крайний справа вариант).



Рис. V-10. Результаты, полученные методом FISH на клетках с транслокацией 8;21.

С помощью двух зондов, которые перекрывают точку разлома гена AML-1 (сY3 и сY8, см. рис. V-11), показано, что ген фрагментирован (см. рис. I-9). Сильный сигнал в позиции 1 час и слабые сигналы в позициях 11 часов и 4 часа показывают нормальную хромосому 21 и фрагментированный ген AML-1 на этой хромосоме, соответственно.

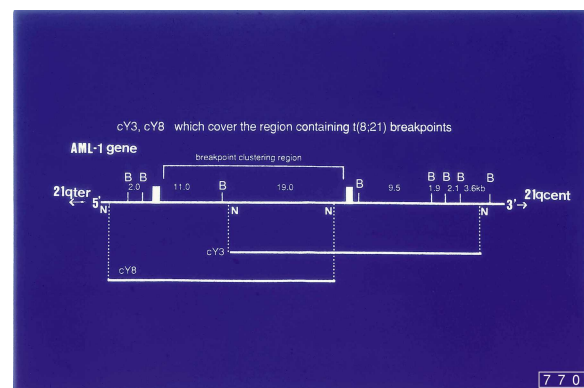


Рис. V-11. Генная карта хромосомы 21 в участке зонда для FISH, использованного для демонстрации транслокации 8;21.

Верхняя и нижняя части показывают точку разлома гена AML-1 (домен bcr) и два зонда, перекрывающих этот участок (сY8b сY3), соответственно.

2) ОМЛ с аномальными эозинофилами костного мозга,  $inv(16)$  (p13q22) или  $t(16;16)(p13;q22)$ , (CBF /MYH11)

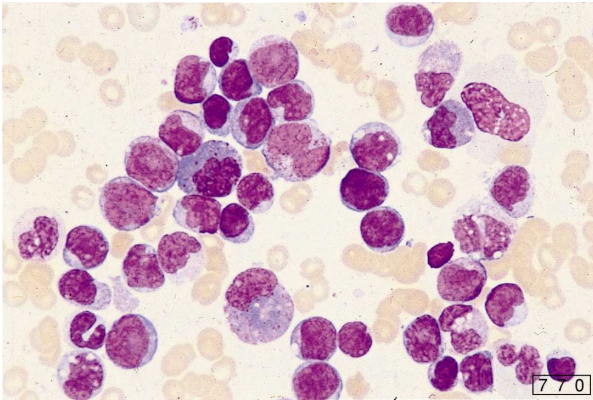


Рис. V-12. ОМЛ М4ео.  
Показаны незрелые эозинофилы аномального вида.

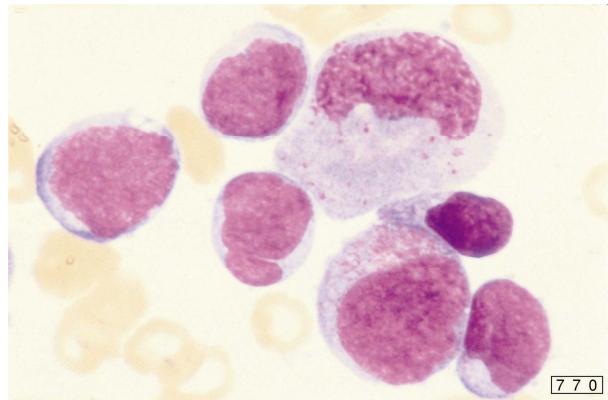


Рис. V-13. ОМЛ М4ео.  
Клетки костного мозга в случае  $inv(16)$ . Эозинофилы аномального вида видны в верхней правой части.

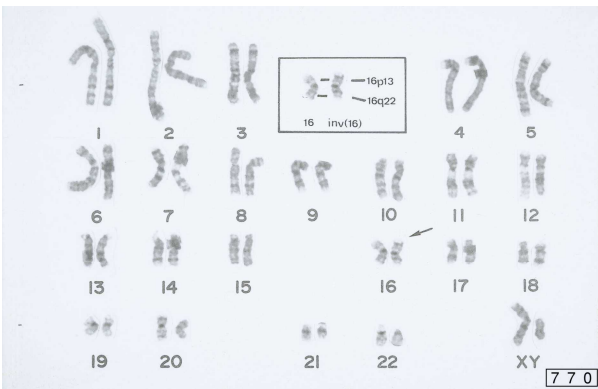


Рис. V-14. Кариотип с  $inv(16)$ .

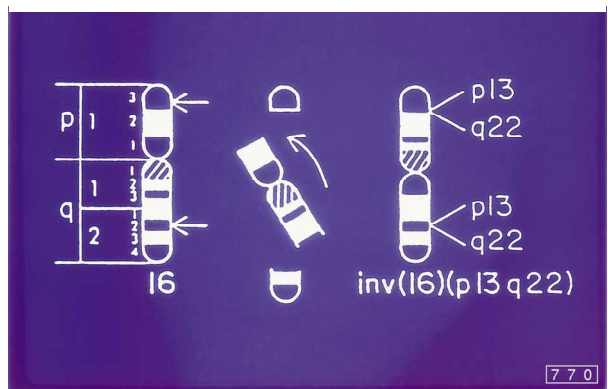


Рис. V-15. Схема  $inv(16)(p13q22)$ .

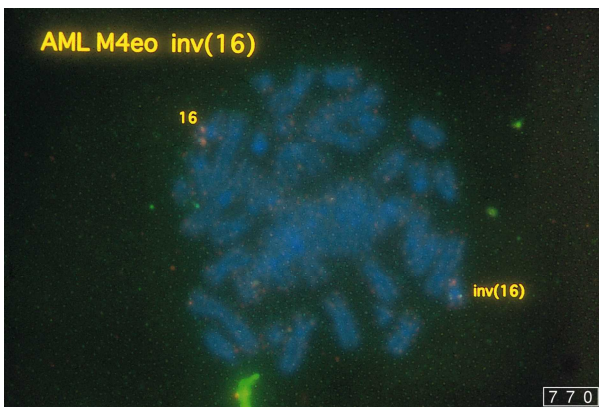


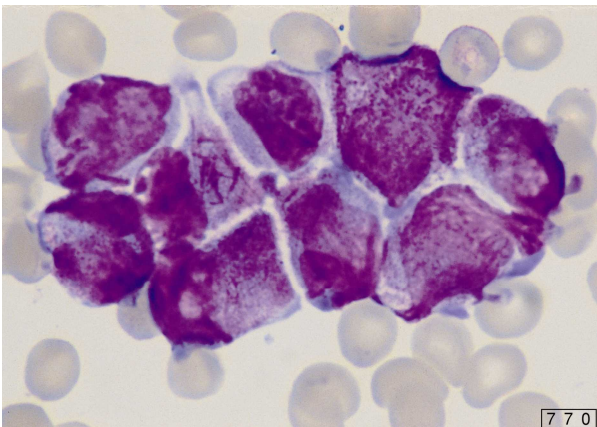
Рис. V-16. Вид метафазы с  $inv(16)$  при исследовании методом FISH.  
Зонд содержит  $CBF\beta$  и MYH11.

- 3) Острая промиелоцитарная лейкемия [ОМЛ с транслокацией (15;17)(q22;q12), (PML/RAR ) и ее варианты]

### Краткая история острой промиелоцитарной лейкемии с транслокацией 15;17

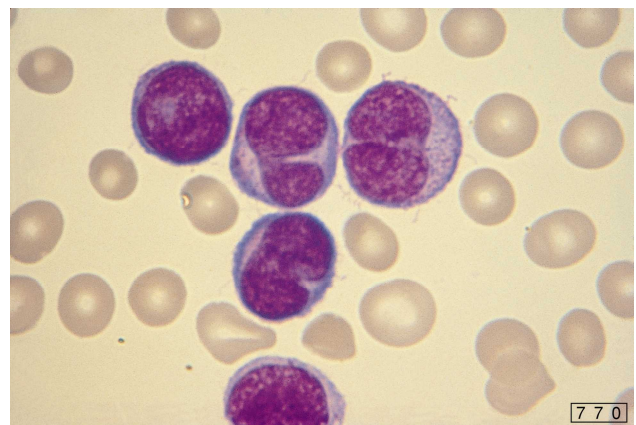
1. Эта лейкемия была впервые описана как заболевание с сильным кровотечением, избытком гранулярных клеток и плохим прогнозом (1964).
2. В Международной классификации лейкоemий она была отнесена к группе FAB M3 (1976).
3. Транслокация 15;17 была продемонстрирована методом дифференциального окрашивания хромосом хинакрином (1977). Успешно пролечена дауномицином (начало 1980-х).
4. Открыт ген RARA, одного из рецепторов к ретиноидам (1987).
5. Оказалось, что клеточная дифференцировка может вызываться ретиноевой кислотой (1988).
6. Разлом хромосомы 17 приходится на ген RARA (1990).
7. Ген PML (исходно myl) найден на хромосоме 15 (1991).
8. Транслокация обоих генов продемонстрирована на интерфазном ядре методом FISH (1992).
9. Ретиноевая кислота становится преобладающим средством лечения этой лейкемии (1996).

770



770

Рис. V-17. ОМЛ М3 (костный мозг). Видно избытие гранул, образующих характерную связку (пучок палочек Ауэра).



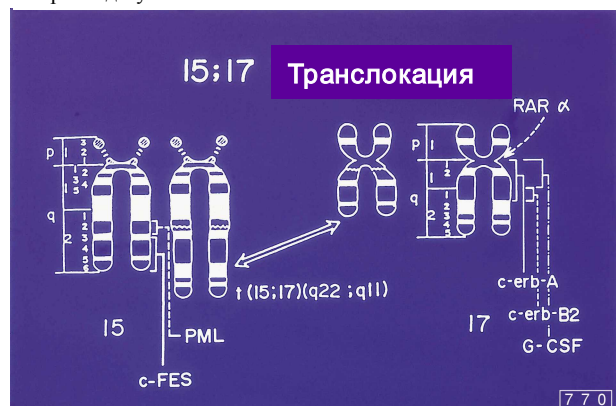
770

Рис. V-18. Вариант лейкемии с транслокацией 15;17. Часто наблюдается двудольное ядро. Мелкие гранулы (250 мкм) видны в клетке, наиболее сильно окрашиваемой на пероксидазу.



770

Рис. V-19. Кариотип с транлокацией 15;17.



770

Рис. V-20. Схема транслокации 15;17.

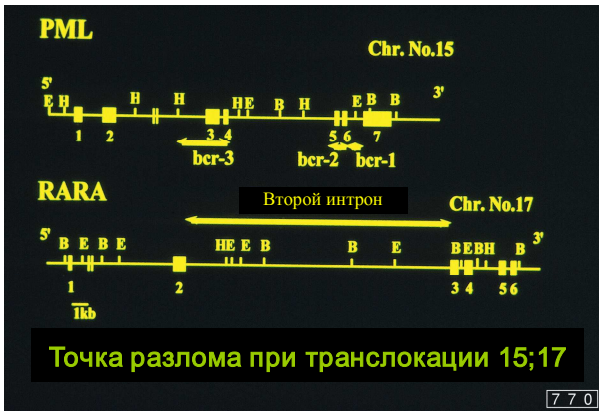


Рис. V-21. Генная карта транслокации 15;17. Верхняя часть: Имеется три участка с кластерами разломов (bcr-1, -2 и -3) гена PML (на хромосоме 15). Нижняя часть: Разлом гена RARA (на хромосоме 17) центрирован на втором интроне.

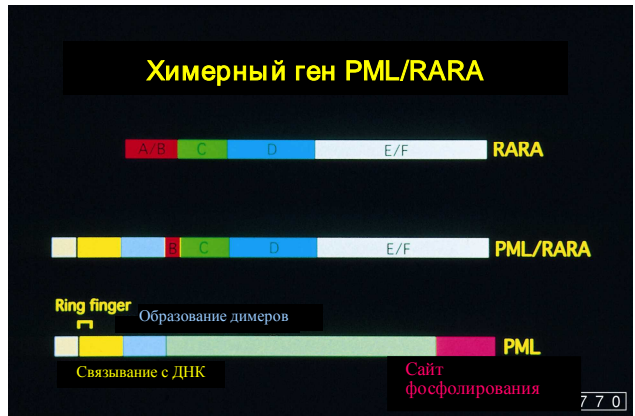


Рис. V-22. Белки химерного гена PML/RARA. Верх: Белки гена RARA. Середина: Белки химерного гена PML/RARA. Низ: Белки гена PML.



Рис. V-23. Выявление транслокации 15;17 методом ОТ-ПЦР.

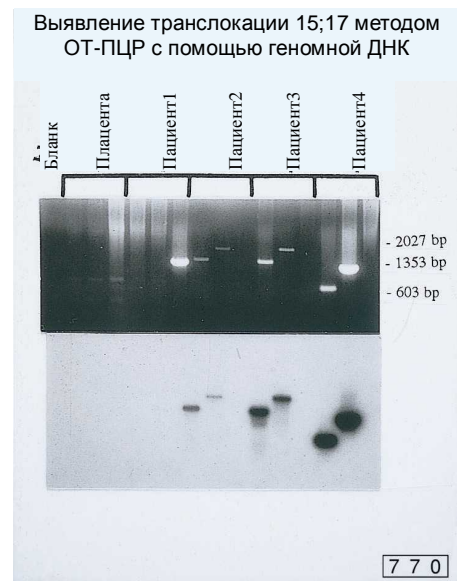


Рис. V-24. Методика ПЦР, использующая геномную ДНК.

Верх: Электрофорез  
Низ: Демонстрирование радиоизотопной меткой



Рис. V-25. Выявление транслокации 15;17 методом FISH. Стрелка показывает der (17).

ОПМЛ без транслокации 15	
1. 47,XX,del(5)(q23q34), +i(8)(q10)	вставка (RAR $\alpha$ $\rightarrow$ PML)
2. 46,XY,t(4;16)(p14;q22), t(9;12)(q22;q24)	вставка (PML $\rightarrow$ RAR $\alpha$ )
3. 46,XY,t(11;17)(q23;q12) : PLZF-RAR $\alpha$	Не выявляется зондами на RAR $\alpha$ в PML

Grimwade D, et al. (Blood 90; 4876, 1997)

Рис. V-26. Случаи ОПМЛ без транслокации 15;17

Даже если транслокация 15;17 не наблюдается, есть случаи, при которых RAR $\alpha$  оказывается вставленным в ген PML или наоборот.

4) ОМЛ с аномалиями 11q23 (MLL)

### Краткая история острой миелоидной лейкемии с аномалиями 11q23

1. Сообщено о 10 случаях ОМЛ с транслокаций (4;11)(q21;23) (1980, Berger).
2. Клетки с транслокаций 4;11 дифференцируются в моноциты (1983, Nagasaka).
3. Открыты новые транслокации 6;11, 9;11 и 11;19 (1987, 4-я Хромосомная конференция).
4. Транслокации 4;11 происходит при вторичной лейкемии (1985).
5. Связь с этозидом (1989, Lennard)
6. Открыты аномалии с участием 11q23 при В- и Т-клеточных острых лимфоцитарных лейкемиях, ОМЛ и лимфомах, сообщено о гене ALL1 (1991, Cleary).
7. Сообщено о гене MLL (миелоидная-лимфоидная лейкемия или мультилинеарная лейкемия) (1991, Diaz).
8. На участвующих в транслокации хромосомах 19, 4 и 9 открыты гены Enl, AF4 и AF9 (1992).
9. Ген, к которому транслоцируется 11q23, имеет такую же генетическую структуру (1993, Nakamura).
10. Около 80% детских лейкемий имеют аномалии в гене MLL и плохой прогноз (Rubnig, 1996).

770

Рис. V-27. Краткая история острых миелоидных лейкемий с аномалиями 11q23.



Рис. V-28. Хромосомы, участвующие в транслокации с 11q23.

При миелоцитарных и лимфоцитарных лейкемиях наблюдаются транслокации 11q23 (MLL), в которых участвуют 20 или больше хромосом.

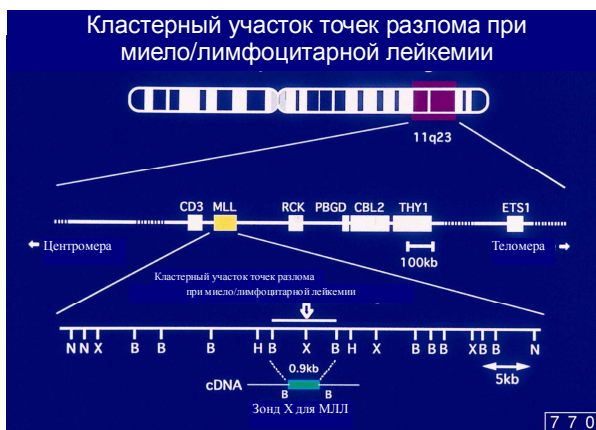


Рис. V-29. Генная карта MLL.

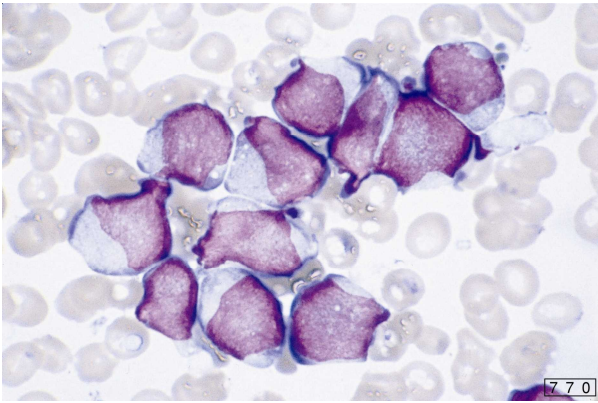


Рис. V-30. Клетки костного мозга при транслокации 6;11.

Мужчина 17 лет, содержание белых клеток крови  $57,5 \times 10^9/\text{л}$ , острая миелоидная лейкемия клеток  $\text{CD13}^+$ ,  $\text{CD33}^+$  (FAB M5A).

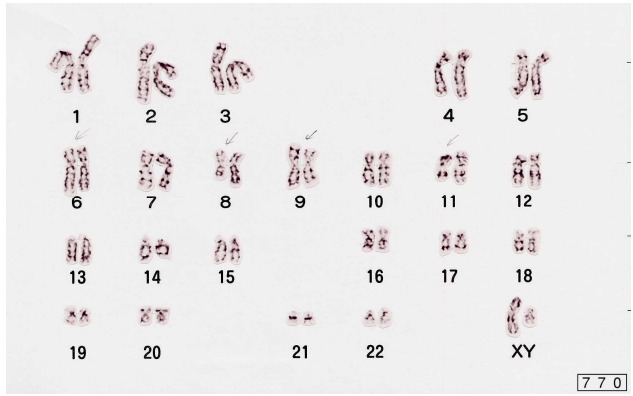


Рис. V-31. Кариотип для случая на рисунке слева.

46, XY, t(6;11)(q27;23), t(8;9)(q13;p13).

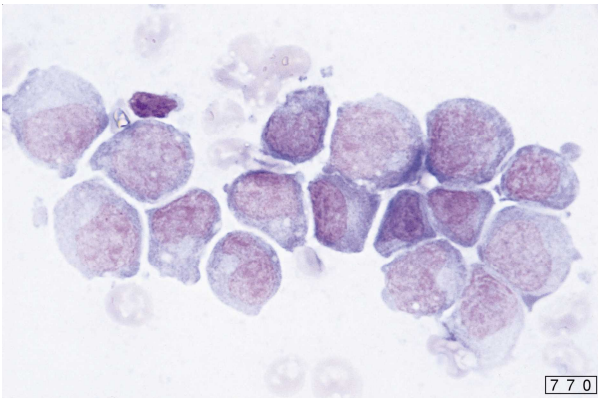


Рис. V-32. Клетки костного мозга при транслокации 9;11.

Пациент в возрасте 90 лет,  $44,3 \times 10^9/\text{л}$ ,  $\text{CD13}^+$ ,  $\text{CD14}^+$ ,  $\text{CD33}^+$ ,  $\text{CD34}^-$ ,  $\text{PO}^-$ , окраска бутиратом (+), окраска хлорацетатом (-), острая миелоидная лейкемия (FAB M5A)

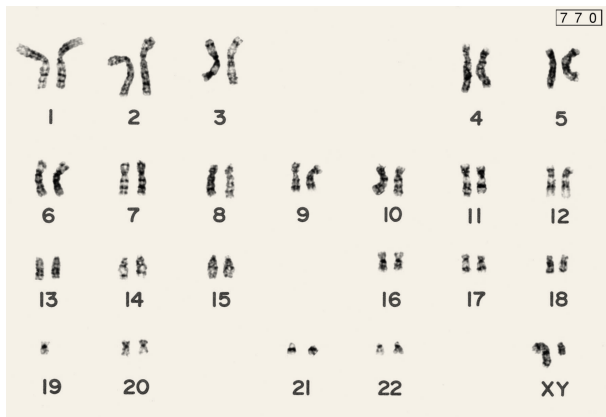


Рис. V-33. Кариотип для случая на рисунке слева.

46, XY, t(9;11)(p22;q23)

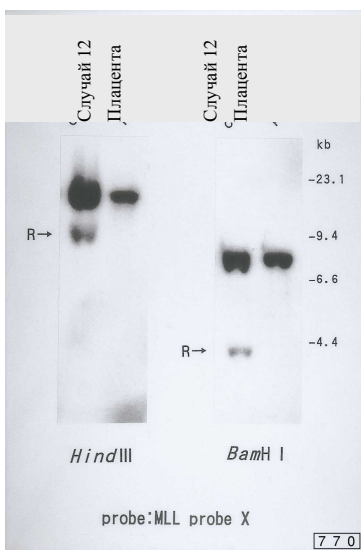


Рис. V-34. Саузерн-блоттинг при транслокации 11q23.

R: Измененная полоса.

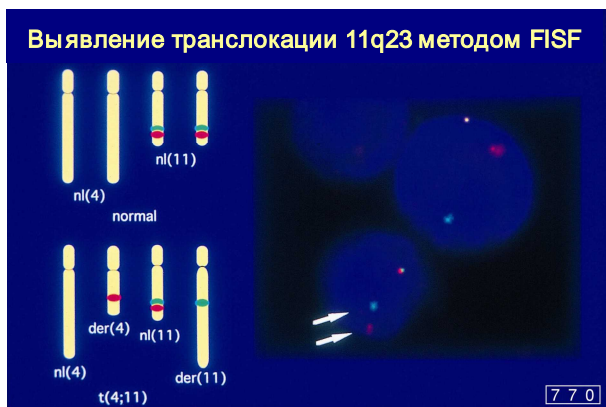


Рис. V-35. Выявление транслокации 11q23 методом FISH.

При использовании зонда для FISH, который отмечает проксимальную и дистальную части места разрыва 11q23 (MLL) на транслоцированной хромосоме имеются только однонаправленные метки.