

DOI: 10.33741/0435-1991.42.06

ДІАГНОСТИЧНЕ ТА ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ТРАНСЛОКАЦІЇ t(8;21)(q22;q22) ТА ГЕНА *RUNX1/RUNX1T1* ПРИ ГОСТРІЙ МІЄЛОЇДНІЙ ЛЕЙКЕМІЇ З ОЗНАКАМИ ДОЗРІВАННЯ

Зотова О. В.¹, Шалай О. О.¹, Лук'янова А. С.², Вальчук М. О.³,
Кароль Ю. С.⁴, Логінський В. Є.¹

¹ ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України»,
Львів, Україна

² Медико-біологічний центр «Геном», Київ, Україна

³ Лабораторія ДНК досліджень «LeoGEN», Львів, Україна

⁴ КНП «Львівське територіальне медичне об'єднання «Клінічна лікарня планового
лікування реабілітації та паліативної допомоги», Львів, Україна

Резюме

Вступ. Гострі мієлоїдні лейкемії (ГМЛ) характеризуються різноманітним клінічним перебігом і різною чутливістю до терапії. Враховуючи значну їхню поширеність, проводиться інтенсивний пошук нових прогностичних критеріїв, які можуть визначити індивідуальний прогноз та підібрати найоптимальнішу тактику лікування хворих на ГМЛ.

Метою роботи була оцінка діагностичного та прогностичного значення транслокації t(8;21)(q22;q22) та відповідного химерного гена *RUNX1/RUNX1T1* (AML1/ETO) при ГМЛ з ознаками дозрівання (ГМЛ М2).

Матеріали і методи. Цитогенетичні дослідження клітин периферичної крові (ПК) та/або кісткового мозку (КМ) проведено у 29 пацієнтів з ГМЛ М2 (хворі віком від 27 до 85 років, серед них 19 чоловіків та 10 жінок). Використовували метод класичної цитогенетики (GTG) та флуоресцентну *in situ* гібридизацію (FISH). Цитогенетичні дослідження було виконано згідно стандартних методик, а каріотипи – описано відповідно до International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN, 2020).

Результати. Виявлено цитогенетичні аномалії різного характеру, які включали t(8;21)(q22;q22), ген *RUNX1/RUNX1T1*, -Y, перебудови 3q21q26, del(9)(q22), моносомний каріотип та інші, у 55% хворих на ГМЛ М2. Наявність деяких генетичних аномалій (химерний ген *RUNX1/RUNX1T1*) встановлено за допомогою молекулярно-генетичних методів (FISH). Транслокацію t(8;21)(q22;q22) та/або ген *RUNX1/RUNX1T1* виявлено у 9 (31%) пацієнтів з ГМЛ М2. Підтверджено варіант ГЛ згідно з класифікацією BOOЗ (2016, 2022) у 48% пацієнтів. З урахуванням виявлених цитогенетичних аномалій хворих на ГМЛ М2 класифіковано на три групи ризику: група хворих з несприятливими цитогенетичними маркерами (17%) (перебудови 3q21q26, комплексний каріотип

(≥ 3 аномалій)), група проміжного ризику без прогностично значущих маркерів (52%) (рідкісні або нетипові перебудови, нормальний каріотип) та група хворих з сприятливими факторами прогнозу (31%) $t(8;21)(q22;q22)$, ген *RUNX1/RUNX1T1*). Різниця у виживанні пацієнтів з ГМЛ M2 1 і 2 та 1 і 3 груп була статистично достовірною ($p < 0,05$). Встановлено, що прогностично сприятливі $t(8;21)(q22;q22)$ та ген *RUNX1/RUNX1T1* при ГМЛ M2 частіше спостерігають у молодих осіб, тоді як несприятливі маркери прогнозу – у осіб старшого віку.

Висновки. Цитогенетичні аномалії різного характеру виявлено у 55% пацієнтів з ГМЛ M2. З урахуванням виявлених аномалій хворих класифіковано на три цитогенетичні групи прогнозу: група хворих з несприятливими цитогенетичними маркерами, група проміжного ризику та група хворих зі сприятливими факторами прогнозу. Різниця у виживанні пацієнтів 1 і 2 та 1 і 3 груп була статистично достовірною. Частота виявлення $t(8;21)(q22;q22)$ та/або гена *RUNX1/RUNX1T1* становила 31%. Цитогенетичні методи повинні бути включені у стандарти обстеження хворих на ГМЛ для діагностики, прогнозування перебігу та підбору оптимальної тактики лікування. Крім обов'язкового аналізу диференціально-зафарбованих хромосом, у хворих на ГМЛ необхідно застосовувати молекулярно-генетичні дослідження.

Ключові слова: гостра мієлоїдна лейкемія; каріотип; цитогенетичні аномалії; діагноз; прогноз.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування: дослідження не мало спонсорської підтримки.

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF TRANSLOCATION $t(8;21)(q22;q22)$ AND *RUNX1/RUNX1T1* GENE IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA WITH MATURATION

Zotova O. V.¹, Shalay O. O.¹, Lukianova A. S.²,
Valchuk M. O.³, Karol Y. S.⁴, Loginsky V. Ye.¹

¹ SI «Institute of Blood Pathology and Transfusion Medicine,
NAMS of Ukraine», Lviv, Ukraine

² Medical Biology Centre «Genom», Kyiv, Ukraine

³ Laboratory of DNA research «LeoGEN», Lviv, Ukraine

⁴ MNE «Lviv Territorial Medical Union «Clinical Hospital for Planned Treatment,
Rehabilitation and Palliative Care»», Lviv, Ukraine

Abstract

Introduction Acute myeloid leukemias (AML) are characterized by different clinical courses and different sensitivity to therapy. Taking into consideration their significant prevalence, an intensive search for new prognostic criteria is conducted that may determine individual prognosis and define the most appropriate treatment approach for patients with MLL.

Aim of the study was to detect diagnostic and prognostic significance of translocation $t(8;21)(q22;q22)$ and corresponding *RUNX1/RUNX1T1* (AML1/ETO) chimeric gene in AML with maturation (AML M2).

Materials and methods. Cytogenetic investigations of peripheral blood (PB) and/or bone marrow (BM) cells from 29 patients with AML M2 (range: 27–85 years, 19 males and 10 females) were performed. The method of conventional cytogenetics (GTG) and fluorescence in situ hybridization (FISH) were used. Cytogenetic methods were performed using standard techniques and karyotypes were described according to the International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN, 2020).

Results. Cytogenetic abnormalities of various kinds were found, namely $t(8;21)(q22;q22)$, *RUNX1/RUNX1T1* gene, $-Y$, $3q21q26$ rearrangements, $del(9)(q22)$, monosomal karyotype and others, in 55% of patients with AML M2. Some genetic abnormalities (*RUNX1/RUNX1T1* fusion gene) were detected by molecular genetic method (FISH). Translocation $t(8;21)(q22;q22)$ and/or *RUNX1/RUNX1T1* gene was found in 9 (31%) patients with AML M2. The type of AL was confirmed according to the WHO classification (2016, 2022) in 48% of patients. Taking into consideration the identified cytogenetic abnormalities AML M2 patients were classified into three prognostic groups: the group of patients with adverse prognosis factors (17%) ($3q21q26$ rearrangements, complex karyotype (≥ 3 abnormalities)), the intermediate prognostic group without significant cytogenetic markers (52%) (rare or atypical abnormalities, normal karyotype) and the group of patients with favorable prognostic markers (31%) ($t(8;21)(q22;q22)$, *RUNX1/RUNX1T1* gene). The difference in survival rates between AML M2 patients in the first and second groups, and the first and third groups, was statistically significant ($p < 0.05$). Confirmed that prognostically favorable $t(8;21)(q22;q22)$ and *RUNX1/RUNX1T1* gene in AML M2 are more often observed in young people, whereas unfavorable prognostic markers – in older people.

Conclusions. Chromosomal abnormalities of various kinds were found in 55% patients with AML M2. Taking into consideration the identified abnormalities patients were classified into three cytogenetic prognostic groups: the group of patients with adverse prognosis factors, the intermediate prognostic group and the group of patients with favorable prognostic markers. The difference in survival rates between patients in the first and second groups, and the first and third groups, was statistically significant. The frequency of $t(8;21)(q22;q22)$ and/or *RUNX1/RUNX1T1* gene was 31%. Cytogenetic investigations should be included in the standard examination of patients with AML for diagnosis, prognosis and selection of the optimal treatment strategy. Besides the analysis of differential banding pattern chromosomes for AML patients it is necessary to apply molecular genetic studies.

Keywords: acute myeloid leukemia; karyotype; cytogenetic abnormalities; diagnosis; prognosis.

Competing interests: the authors declare no conflict of interests in relation to this article.

Financing resources: research had no industry funding.

Вступ

Збалансовану транслокацію $t(8;21)(q22;q22)$ виявляють у 5–10% хворих на гостру мієлоїдну лейкемію (ГМЛ) та у 10–22% пацієнтів з ГМЛ з ознаками дозрівання (ГМЛ М2). Частота виявлення вказаної перебудови знижується з віком: найчастіше її спостерігають у дітей та молоді, тоді як у людей старше 60 років – дуже рідко. Інколи виявляють варіантні транслокації $t(8;21;v)$, причому партнером може бути будь-яка хромосома, в частині випадків – мікроінсерції [1]. В 60–70% випадків, крім $t(8;21)(q22;q22)$, спостерігають додаткові аномалії каріотипу, а саме – втрату X- або Y-хромосоми, делецію довгого плеча хромосоми 9 – $del(9q)$, додаткові копії хромосом 4, 8 і 21 та інші [1–3]. В результаті транслокації $t(8;21)(q22;q22)$ утворюється химерний ген *RUNX1/RUNX1T1* (*AML1/ETO*) та відповідний химерний білок RUNX1/RUNX1T1 (*AML1/ETO*). Лейкемогенез пов'язаний зі змінами функції основного фактору зв'язування – core binding factor (CBF). Відбувається блокування процесу транскрипції та зупиняється нормальне дозрівання клітин [4, 5]. Обидва гетеродимерні компоненти CBF – CBF α (*AML1*) та CBF β задіяні у хромосомних перебудовах, пов'язаних з ГМЛ, а саме – з $t(8;21)(q22;q22)$ та $t(16;16)(p13;q22)/inv(16)(p13q22)$, в результаті яких утворюються химерні гени *RUNX1/RUNX1T1* та *CBF β /MYH11*, відповідно [6, 7]. Однак обидва гени злиття CBF необхідні, але недостатні для того, щоб викликати лейкемію, і потрібні додаткові мутації для розвитку онкологічного процесу. У хворих на CBF-асоційовану ГМЛ часто додатково виявляються мутації генів *c-KIT*, *FLT3*, *NPM1* та *RAS* [7, 8]. Оскільки, роль вищезгаданих перебудов у патогенезі ГМЛ, їх діагностичне та прогностичне значення, вплив на виживання хворих не досліджено остаточно і є актуальним, тому завданням нашої роботи було з'ясувати ефект транслокації $t(8;21)(q22;q22)$ та відповідного химерного гена *RUNX1/RUNX1T1*, пов'язаного зі змінами функції основного фактору зв'язування, на перебіг ГМЛ М2.

Метою роботи була оцінка діагностичного та прогностичного значення транслокації $t(8;21)(q22;q22)$ та відповідного химерного гена *RUNX1/RUNX1T1* у хворих на ГМЛ М2.

Матеріали і методи

Цитогенетичні дослідження клітин периферичної крові (ПК) та/або кісткового мозку (КМ) проведено у 29 хворих на ГМЛ М2. Діагностику ГМЛ здійснювали на основі результатів клінічного обстеження, цитологічного, цитохімічного та імунофенотипового дослідження ПК

та/або КМ. Варіанти ГМЛ виділяли відповідно до ФАБ-класифікації та вимог класифікації ВООЗ неоплазій гемопоетичної і лімфоїдної тканин (2016 р., 2022 р.), яка передбачає ширше використання цитогенетичних та молекулярно-генетичних методів дослідження [9, 10] та згідно з загальноприйнятими критеріями [11, 12]. Обстежено пацієнтів віком від 27 до 85 років, серед них 19 (66%) чоловіків та 10 (34%) жінок. Усі пацієнти були госпіталізовані до гематологічного відділення ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини» (Львів, Україна) або відділення гематології та інтенсивної терапії КНП «Львівське територіальне медичне об'єднання» «Клінічна лікарня планового лікування, реабілітації та паліативної допомоги» (Львів, Україна). Відповідність дослідження біоетичним стандартам було схвалено комітетом з етики ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини» (Львів, Україна). Усі пацієнти дали свою згоду на участь у дослідженні.

Усім хворим проведено стандартне цитогенетичне дослідження (каріотипування) та молекулярно-цитогенетичний метод флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH). При стандартному цитогенетичному дослідженні використовували загальноприйнятий метод 24- та 48-годинного культивування клітин ПК та/або КМ *in vitro*. Обробку клітин проводили за загальноприйнятою методикою, яка включала дію колхіцину, гіпотонізацію, фіксацію і приготування препаратів [13–16]. Аналіз метафазних хромосом проводили із застосуванням G-методики диференційного забарвлення. Забарвлені препарати аналізували при збільшенні $\times 1000$ під світловим мікроскопом Olympus BX41 (Olympus, Японія) з використанням системи для хромосомного аналізу CytoVision (Applied Imaging, Великобританія). Проводили аналіз не менше 20 метафазних пластинок. Роздільна здатність аналізу становила 200–500 сегментів на гаплоїдний набір. При проведенні дослідження FISH підготовку препаратів та процедуру гібридизації здійснювали за Pinkel et al. [17] з урахуванням рекомендацій виробника зонда. Аналіз препаратів та мікрофотографування проводили на флуоресцентному мікроскопі Olympus BX41 (Olympus, Японія) з відповідним набором світлофільтрів при збільшенні $\times 1000$ за допомогою системи для аналізу CytoVision (Applied Imaging, Велика Британія). Для підрахунку відсотка клітин з досліджуваною перебудовою оцінювали не менше 200 інтерфазних ядер.

Всі дослідження (каріотипування та FISH) виконано у лабораторії імунології та генетики неоплазій крові ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України»; зав. лабораторії – к. мед. н., с. н. с. О. О. Шалай, свідоцтво про атестацію лабораторії № РЛ 008/19,

чинне до 25 лютого 2024 р. При аналізі та описі результатів каріотипування та FISH дотримувались критеріїв International System for Human Cytogenetic Nomenclature – ISCN, 2020 [18].

Результати та їх обговорення

Дослідна група включила 29 хворих на ГМЛ М2 (табл. 1), які перебували у гострій стадії хвороби. Стандартним цитогенетичним методом каріотипування встановлено наявність комплексного каріотипу з множинними кількісними та/або структурними змінами (≥ 3) у 3 хворих (№№ 1–3), двох перебудов у каріотипі – в 5 пацієнтів (№№ 4–8) та однієї перебудови – у 7 хворих (№№ 9–15). Серед 3 пацієнтів з множинними аномаліями каріотипу: в 2 хворих (№№ 1, 2) виявлено моносомний каріотип, тобто відсутності двох чи більшої кількості автосом або ж відсутність однієї автосоми у поєднанні хоча б з однією структурною перебудовою. Таким чином, у 15 (52%) (№№ 1–15) із 29 обстежених хворих спостерігали цитогенетично видимі хромосомні перебудови різного характеру.

Зазвичай при стандартному цитогенетичному аналізі клітин КМ хворих на ГМЛ М2, крім аномального клону клітин, також було виявлено і клон клітин з нормальним каріотипом, причому відсоток аномальних клітин як правило корелював з відсотком бластів у КМ. При дослідженні клітин ПК такої кореляції виявлено не було.

Молекулярно-цитогенетичний метод FISH-дослідження для виявлення фузійного гена *RUNX1/RUNX1T1* проведено на інтерфазних ядрах усіх 29 пацієнтів з ГМЛ М2. Наявність химерного гена *RUNX1/RUNX1T1* підтверджено у 9 хворих (№№ 3, 5–8, 11–13, 16), тоді як у 20 пацієнтів (№№ 1, 2, 4, 9, 10, 14, 15, 17–29) – спростовано. У хворого № 16 наявність химерного гена *RUNX1/RUNX1T1* було підтверджено лише дослідженням FISH, оскільки проаналізувати весь каріотип не вдалось через відсутність придатних для аналізу метафазних пластинок у дослідженому матеріалі.

Таким чином, загалом, у 16 (55%) із 29 обстежених пацієнтів з ГМЛ М2 (№№ 1–16), які перебували у гострій стадії захворювання, спостерігали цитогенетичні перебудови різного характеру. У зразках, отриманих від 13 (45%) хворих (№№ 17–29), виявлено нормальний чоловічий або жіночий каріотип.

В обстеженій групі пацієнтів з ГМЛ М2 (табл. 1) найчастішою цитогенетично видимою перебудовою була транслокація $t(8;21)(q22;q22)$. Вона виявлена у 8 хворих (№№ 3, 5–8, 11–13). У 3 (37%) з них (№№ 11–13) це була єдина перебудова в каріотипі. В 5 (63%) пацієнтів (№№ 3, 5–8),

Таблиця 1. Результати цитогенетичних досліджень
лейкемічних клітин у хворих на ГМЛ М2

№ з/п	Стать	Вік	Каріотип	Дослідження FISH
1	Ч	56	45,XY,add(2)(q36),der(10)t(10;18)(p12;q12),-18[13]/45,XY,-7,der(12)t(12;18)(p12;q12),der(14)t(7;14)(q11;q21)[7]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (-)
2	Ч	85	45,XY,-5,del(6)(q13),add(12)(p13),del(13)(q12q22),-16,+mar[13]/46,XY[12]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (-)
3	Ж	41	48~51,XX,del(9)(q22),der(21)t(8;21)(q22;q22)×1~2,+1~5mar[cp20]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (78%)
4	Ж	62	46,XX,del(3)(q21q26),t(9;11)(p21;q23)[21]/46,XX[1]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (-)
5	Ч	28	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22)[21]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (92%)
6	Ч	39	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22)[14]/46,XY[6]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (48%)
7	Ч	60	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22)[13]/46,XY[14]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (58%)
8	Ч	69	45,XY,t(8;21)(q22;q22),-20[14]/46,XY[6]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (53%)
9	Ж	69	46,XX,inv(3)(q21q26)[10]/46,XX[12]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (-)
10	Ч	40	46,XY,inv(3)(q21q26)[20]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (-)
11	Ч	34	46,XY,t(8;21)(q22;q22)[16]/46,XY[7]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (50%)
12	Ч	39	46,XY,t(8;21)(q22;q22)[18]/46,XY[2]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (50%)
13	Ч	29	46,XY,t(8;21)(q22;q22)[11]/46,XY[10]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (84%)
14	Ч	27	46,XY,del(9)(q22)[18]/46,XY[2]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (-)
15	Ж	49	47,XX,+21[14]/46,XX[6]	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (-)
16	Ч	44	Відсутні метафази	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (84%)
17–29	Ч/Ж	30–69	46,XY або 46,XX	<i>RUNX1/RUNX1T1</i> (-)

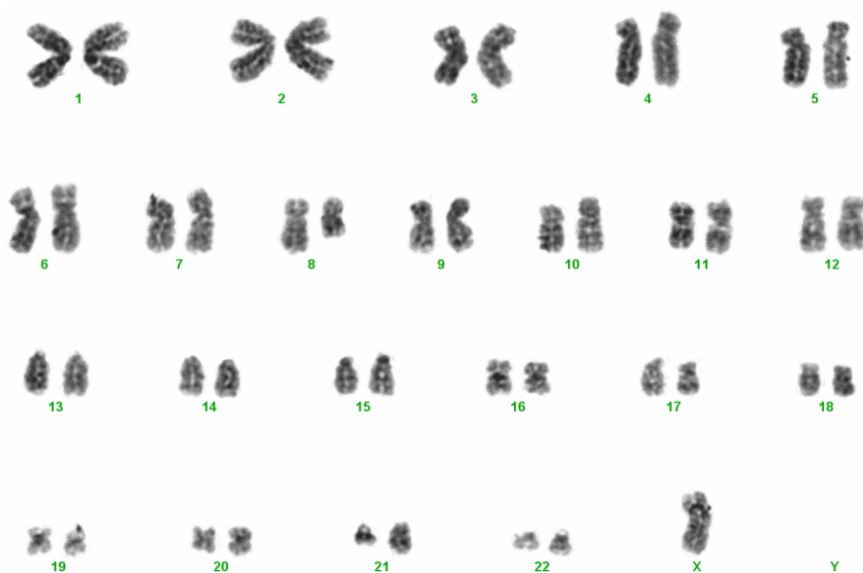


Рисунок 1. Каріотип хворого № 5 – 45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22)

крім $t(8;21)(q22;q22)$, спостерігали додаткові цитогенетичні аномалії – відсутність хромосоми Y (-Y) (3 випадки, №№ 5–7) (рис. 1), моносомію хромосоми 20 (-20) (1 випадок, № 8), делецію $del(9)(q22)$ у складі комплексного каріотипу (1 випадок, № 3). У всіх вищезгаданих пацієнтів (№№ 3, 5–8, 11–13) наявність транслокації $t(8;21)(q22;q22)$ було підтверджено дослідженням FISH, яке показало наявність химерного гена *RUNX1/RUNX1T1* (рис. 2). В хворого № 16 у зв'язку з відсутністю придатних для аналізу метафазних пластинок виконано дослідження FISH, яке встановило наявність фузійного гена *RUNX1/RUNX1T1*. Оскільки химерний ген *RUNX1/RUNX1T1* утворюється в результаті транслокації $t(8;21)(q22;q22)$, тому вищезгаданого пацієнта (№ 16) віднесено до когорти хворих з $t(8;21)(q22;q22)$ та/або геном *RUNX1/RUNX1T1*.

Таким чином, загалом у 9 із 29 обстежених хворих на ГМЛ M2 було виявлено транслокацію $t(8;21)(q22;q22)$ та/або відповідний химерний ген *RUNX1/RUNX1T1*, що становить 31%.

Однак, крім транслокації $t(8;21)(q22;q22)$ та відповідного химерного гена *RUNX1/RUNX1T1*, які найчастіше спостерігають при ГМЛ M2, в обстеженій групі хворих виявлено й інші цитогенетичні аномалії, а саме:

відсутність хромосоми Y (-Y) (3 випадки, №№ 5–7); перебудови 3q21q26 (3 випадки, №№ 4, 9, 10) – делецію del(3)(q21q26) (1 випадок, № 4) та інверсію inv(3)(q21q26) (2 випадки, № № 9, 10); делецію del(9)(q22) (2 випадки, №№ 3, 14); моносомний каріотип (2 випадки, № № 1, 2) та інші.

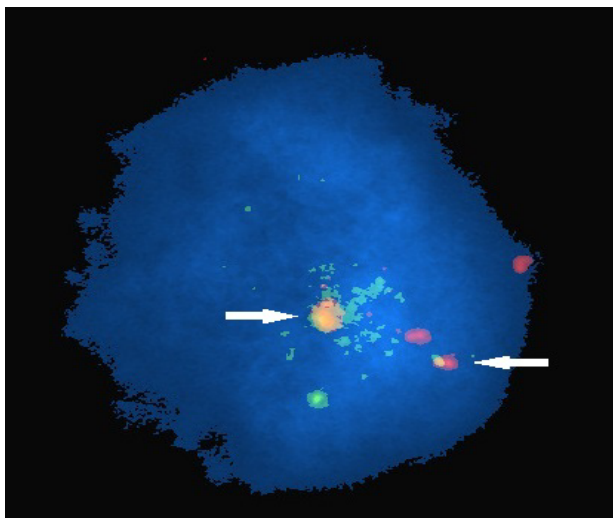


Рисунок 2. Результат FISH-аналізу на інтерфазному ядрі (2Y1R1G) при виявленні гена RUNX1/RUNX1T1 із застосуванням флуоресцентної мітки AML1/ETO Translocation, DF Probe у хворого № 5.

Стрілками вказані два колокалізаційні сигнали жовтого кольору, які знаходяться на похідних хромосом 8 (ген RUNX1T1/RUNX1) та 21 (ген RUNX1/RUNX1T1)

Спектр цитогенетичних та молекулярно-генетичних аномалій на різних етапах перебігу ГМЛ (при встановленні діагнозу, у випадку рецидиву та під час ремісії) набуває щораз більшого діагностичного та прогностичного значення для підбору оптимальної тактики лікування хворих. Цитогенетичні методи дослідження необхідні для встановлення, підтвердження або спростування діагнозу, а також для проведення диференційної діагностики варіанту ГМЛ та прогнозування її перебігу. Це можливо завдяки наявності характерних генетичних аномалій-маркерів, деякі з них можуть бути одночасно і діагностичними, і прогностичними маркерами. Їх можна виявити як методом каріотипування, так і FISH-аналізом. Після проведеного лікування за допомогою

цитогенетичного дослідження можна точніше оцінити вплив препаратів на лейкемічний клон. Поява клітин з нормальним каріотипом свідчить про його елімінацію, повна нормалізація каріотипу – про наявність цитогенетичної ремісії. Тому особливого значення цитогенетичні методи набувають при застосуванні сучасних препаратів цільової дії. Виявлення нових змін в наявному клоні клітин або нових клонів є маркером прогресії ГМЛ та сигналізує про необхідність модифікації режиму лікування. Повторна поява клітин з аномальним каріотипом після досягнення цитогенетичної ремісії є однією з ознак рецидиву. Дуже важливе проведення цитогенетичного дослідження при встановленні діагнозу перед початком лікування, оскільки пізніше не буде відомо, чи були виявлені аномалії первинно, чи вони виникли під час еволюції хвороби або індуковані лікуванням.

За повідомленнями доступних літературних та інформаційних джерел при цитогенетичному дослідженні лейкемічних клітин клональні хромосомні аномалії різного характеру загалом виявляють у 50–60% дорослих хворих на ГМЛ [2, 19]. Транслокацію $t(8;21)(q22;q22)$ та/або відповідний химерний ген *RUNX1/RUNX1T1*, спостерігають у 5–10% пацієнтів. Вищезгадані перебудови, які є маркерними для ГМЛ M2 та характерні для 10–22% таких хворих [1, 2], передбачені й класифікацією ВООЗ (2016 р., 2022 р.) [9, 10]. У нашому дослідженні ми спостерігали наявність транслокації $t(8;21)(q22;q22)$ та/або гена *RUNX1/RUNX1T1* у 9 обстежених пацієнтів з ГМЛ M2, що становить 31% хворих даної групи. Середній вік хворих із $t(8;21)(q22;q22)$ та/або геном *RUNX1/RUNX1T1* на час проведення обстеження становив 43 роки. В 60–70% випадків, крім $t(8;21)(q22;q22)$, спостерігають додаткові аномалії каріотипу, а саме – втрату X- або Y-хромосоми, делецію $del(9q)$, додаткові копії хромосом 4, 8 і 21 та інші [1–3]. Так, в нашому дослідженні у 63% хворих, крім $t(8;21)(q22;q22)$, ми спостерігали додаткові аномалії (-Y, -20, $del(9q)$ та інші), значення і вплив на перебіг хвороби деяких з них ще не є остаточно з'ясовано. Відомо, що відсутність статевих хромосом у хворих на ГМЛ з $t(8;21)(q22;q22)$ слабо впливає на прогноз перебігу захворювання або ж не впливає взагалі [1]. В групі хворих на ГМЛ з $t(8;21)(q22;q22)$ та делецією $del(9q)$ деякі автори спостерігали збільшену частоту рецидивів у 2 рази [2].

Однак, крім транслокації $t(8;21)(q22;q22)$ та відповідного химерного гена *RUNX1/RUNX1T1*, які найчастіше спостерігають при ГМЛ M2, в обстеженій групі хворих було виявлено й інші діагностичні (маркерні) аномалії – транслокацію $t(9;11)(p21;q23)$, аномалію $3q21q26$ – інверсію $inv(3)(q21q26)$, МДС-асоційовані перебудови (комплексний каріотип (≥ 3 змін), -7, $del(13q)$). Загалом підтверджено варіант ГЛ відповідно до класифікації ВООЗ (2016 р., 2022 р.) [9, 10] у 14 із 29 обстежених пацієнтів з ГМЛ M2, що становить 48%.

Отримані результати цитогенетичного аналізу дозволили розподілити пацієнтів з ГМЛ М2 (29 випадків), згідно з рекомендаціями European LeukemiaNet [20] на три групи ризику перебігу хвороби: група хворих з несприятливими цитогенетичними маркерами, група проміжного ризику без прогностично значущих маркерів та група зі сприятливими факторами прогнозу.

До першої групи включено 5 випадків ГМЛ М2 з несприятливими цитогенетичними маркерами (17%), а саме: 3 пацієнтів з перебудовами 3q21q26 та 2 хворих з комплексним каріотипом. Ще одна пацієнтка з комплексним каріотипом не увійшла в цю групу, оскільки в неї виявлено сприятливий маркер прогнозу (транслокація t(8;21)(q22;q22)) у складі комплексного каріотипу, і вона була включена до третьої групи ризику. Зазвичай ГМЛ з такими змінами погано відповідають на лікування або не відповідають взагалі і тривалість їх життя значно скорочується, а якість погіршується [2, 20].

До другої групи включено 15 випадків ГМЛ М2 з маркерами проміжного прогнозу (52%), а саме: 2 хворих з рідкісними або нетиповими хромосомними перебудовами та 13 пацієнтів з нормальним чоловічим або жіночим каріотипом. Хворі другої групи характеризуються різними клініко-гематологічними показниками, перебігом хвороби та по-різному відповідають на цитостатичну терапію. Результати лікування цих хворих значно відрізняються один від одного [2, 20]. Це може бути зумовлено тим, що субмікроскопічні перебудови, які не викликають змін морфології хромосом, можуть мати важливе прогностичне значення. До прикладу, у хворих на ГМЛ з нормальним каріотипом виявлення мутацій генів *RUNX1*, *FLT3*, *RAS*, *c-KIT*, тандемних повторів гена *MLL* змінюють прогноз хвороби із проміжного на несприятливий, а наявність мутацій гена *CEBRA*, *NPM1* – визначає чутливість до хіміотерапії та відносно сприятливий прогноз перебігу захворювання [21].

До останньої групи включено 9 випадків ГМЛ М2 з прогностично сприятливими цитогенетичними маркерами (31%), а саме: 9 хворих з транслокацією t(8;21)(q22;q22) та/або відповідним химерним геном *RUNX1/RUNX1T1*. Зазвичай ГМЛ з такими змінами характеризуються сприятливим перебігом захворювання [2, 20].

У нашому дослідженні медіана виживання пацієнтів з ГМЛ М2 становила: 2 місяці для хворих із несприятливими цитогенетичними маркерами, 10 місяців для пацієнтів з маркерами проміжного прогнозу та 15 місяців для хворих із сприятливими цитогенетичними факторами. Різниця у виживанні пацієнтів з ГМЛ М2 1 і 2 та 1 і 3 груп була статистично достовірною ($p < 0,05$) (рис. 3). Середній вік хворих 1, 2 та 3 груп на момент

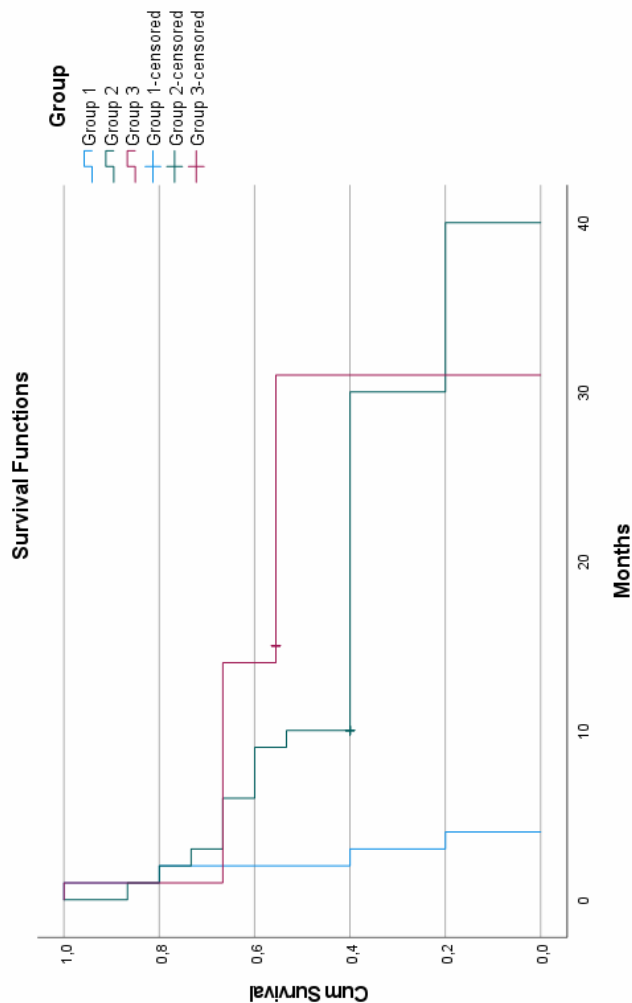


Рисунок 3. Кумулятивні криві виживання Каплана-Майєра для хворих на ГМЛ у групах із несприятливими цитогенетичними маркерами (Group 1), маркерами проміжного прогнозу (Group 2) та сприятливими цитогенетичними факторами (Group 3)

$\chi^2 = 3,990$, $df = 1$, $p = 0,046$
Group 1 і Group 2 – log-rank test; $p = 0,024$
Group 1 і Group 3 – log-rank test; $p = 0,048$
Group 2 і Group 3 – log-rank test; $p = 0,479$

цитогенетичного обстеження був 62, 49 та 43 роки, відповідно. Це свідчить про те, що прогностично сприятливі транслокація $t(8;21)(q22;q22)$ та ген *RUNX1/RUNX1T1* при ГМЛ M2 частіше спостерігають у молодих осіб, тоді як несприятливі маркери прогнозу – у осіб старшого віку. Розподіл хворих на групи ризику відповідно до виявлених прогностичних маркерів дозволив підібрати найоптимальнішу тактику їх лікування.

Висновки

Цитогенетичні дослідження дозволили виявити асоційовані з ГМЛ M2 цитогенетичні аномалії різного характеру, які включали $t(8;21)(q22;q22)$, ген *RUNX1/RUNX1T1*, -Y, перебудови 3q21q26, del(9)(q22), моносомний каріотип та інші, у 55% хворих. Транслокацію $t(8;21)(q22;q22)$ та/або ген *RUNX1/RUNX1T1* виявлено у 9 (31%) пацієнтів з ГМЛ M2. Відповідно до виявлених діагностичних (маркерних) аномалії – $t(8;21)(q22;q22)$, гена *RUNX1/RUNX1T1*, $t(9;11)(p21;q23)$, inv(3)(q21q26), МДС-асоційованих перебудов (комплексний каріотип (≥ 3 змін), -7, del(13q)) – встановлено варіант ГЛ згідно з класифікацією ВООЗ (2016 р., 2022 р.) у 48% хворих. На основі цитогенетичного аналізу хворих на ГМЛ M2 класифіковано на три групи ризику: група хворих з несприятливими цитогенетичними маркерами (17%) (перебудови 3q21q26, комплексний каріотип (≥ 3 аномалій)), група проміжного ризику без прогностично значущих маркерів (52%) (рідкісні або нетипові перебудови, нормальний каріотип) та група хворих з сприятливими факторами прогнозу (31%) ($t(8;21)(q22;q22)$, ген *RUNX1/RUNX1T1*). Встановлено статистично достовірну різницю ($p < 0,05$) у виживанні пацієнтів з ГМЛ M2 1 і 2 та 1 і 3 груп. Виявлено, що прогностично сприятливі транслокація $t(8;21)(q22;q22)$ та ген *RUNX1/RUNX1T1* при ГМЛ M2 частіше спостерігають у молодих осіб, тоді як несприятливі маркери прогнозу – у осіб старшого віку. Таким чином, цитогенетичні методи повинні бути включені у стандарти обстеження хворих на ГМЛ для діагностики, прогнозування перебігу та підбору оптимальної тактики лікування. Крім обов'язкового аналізу диференціально-зафарбованих хромосом, у хворих на ГМЛ необхідно застосовувати молекулярно-генетичні дослідження.

Література

References

- | | |
|---|---|
| 1. Reikvam H., Hatfield K. J. Kittang A. O., Hovland R., Bruserud O. Acute myeloid leukemia with the $t(8;21)$ translocation: clinical consequences and | 1. Reikvam H., Hatfield K. J. Kittang A. O., Hovland R., Bruserud O. Acute myeloid leukemia with the $t(8;21)$ translocation: clinical consequences |
|---|---|

- biological implications. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2011; 2011:104631.
<https://doi.org/10.1155/2011/104631>
2. Heim S., Mitelman F. Cancer Cytogenetics. 4 ed. NY: Wiley-Blackwell; 2015. 648 p.
<https://doi.org/10.1002/9781118795569>
 3. Krauth M.-T., Eder C., Alpermann T., Bacher U., Nadarajah N., Kernet W., et al. High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/*RUNX1-RUNX1T1*: frequency and impact on clinical outcome. Leukemia. 2014; 28(7): 1449–58.
<https://doi.org/10.1038/leu.2014.4>
 4. Linggi B., Muller-Tidow C., van de Locht L., Hu M., Nip J., Serveet H., et al. The t(8;21) fusion protein, AML1/ETO, specifically represses the transcription of the p14ARF tumor suppressor in acute myeloid leukemia. Nature Medicine. 2002; 8(7): 743–50.
<https://doi.org/10.1038/nm726>
 5. Al-Harbi S., Aljurf M., Mohty M., Almohareb F., Ahmed S.O.A. An update on the molecular pathogenesis and potential therapeutic targeting of AML with t(8;21)(q22;q22.1); *RUNX1-RUNX1T1*. Blood Advances. 2020; 4(1):229–38.
<https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000168>
 6. Sinha C., Cunningham L.C., Liu P.P. Core binding factor AML: new prognostic categories and therapeutic opportunities. Seminars in Hematology. 2015; 52(3):215–22.
<https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2015.04.002>
 7. Sangle N.A., Perkins S.L. Core-binding factor acute myeloid leukemia. and biological implications. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2011; 2011:104631.
<https://doi.org/10.1155/2011/104631>
 2. Heim S., Mitelman F. Cancer Cytogenetics. 4 ed. NY: Wiley-Blackwell; 2015. 648 p.
<https://doi.org/10.1002/9781118795569>
 3. Krauth M.-T., Eder C., Alpermann T., Bacher U., Nadarajah N., Kernet W., et al. High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/*RUNX1-RUNX1T1*: frequency and impact on clinical outcome. Leukemia. 2014; 28(7): 1449–58.
<https://doi.org/10.1038/leu.2014.4>
 4. Linggi B., Muller-Tidow C., van de Locht L., Hu M., Nip J., Serveet H., et al. The t(8;21) fusion protein, AML1/ETO, specifically represses the transcription of the p14ARF tumor suppressor in acute myeloid leukemia. Nature Medicine. 2002; 8(7): 743–50.
<https://doi.org/10.1038/nm726>
 5. Al-Harbi S., Aljurf M., Mohty M., Almohareb F., Ahmed S.O.A. An update on the molecular pathogenesis and potential therapeutic targeting of AML with t(8;21)(q22;q22.1); *RUNX1-RUNX1T1*. Blood Advances. 2020; 4(1):229–38.
<https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000168>
 6. Sinha C., Cunningham L.C., Liu P.P. Core binding factor AML: new prognostic categories and therapeutic opportunities. Seminars in Hematology. 2015; 52(3):215–22.
<https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2015.04.002>
 7. Sangle N.A., Perkins S.L. Core-binding factor acute myeloid leukemia.

- Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 2011; 135(11):1504–9. <https://doi.org/10.5858/arpa.2010-0482-RS>
8. Quan X., Deng J. Core binding factor acute myeloid leukemia: advances in the heterogeneity of *KIT*, *FLT3*, and *RAS* mutations (Review). Molecular and Clinical Oncology. 2020; 13(2): 95–100. <https://doi.org/10.3892/mco.2020.2052>
9. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J., Le Beau M.M., et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016; 127(20): 2391–405. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>
10. Khoury J.D., Solary E., Abla O., Akkari Y., Alaggio R., Apperley J.F., et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. Leukemia. 2022; 36(7):1703–19. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1>
11. Виговська Я. І., Новак В. Л. Стандарти в гематології (Standarty v hematolohiyi). Львів: ПП «Кварт»; 2002. 165 с.
12. Матлан В. Л., Шпарик Я. В. Онкогематологія: Класифікації. Клінічні рекомендації. Режим медикamentозної терапії. Львів: Галицька видавнича спілка; 2009. 180 с.
13. Андреева С.В., Дроздова В.Д. Стандарти аналізу препаратів хромосом при неоплазіях кровотворення: методичні рекомендації. Київ; 2007. 44 с.
14. Pińkowska-Grela B, Brycz-Witkowska J, Chmarzynska-Mróż E. Analiza Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 2011; 135(11):1504–9. <https://doi.org/10.5858/arpa.2010-0482-RS>
8. Quan X., Deng J. Core binding factor acute myeloid leukemia: advances in the heterogeneity of *KIT*, *FLT3*, and *RAS* mutations (Review). Molecular and Clinical Oncology. 2020; 13(2): 95–100. <https://doi.org/10.3892/mco.2020.2052>
9. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J., Le Beau M.M., et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016; 127(20): 2391–405. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>
10. Khoury J.D., Solary E., Abla O., Akkari Y., Alaggio R., Apperley J.F., et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. Leukemia. 2022; 36(7):1703–19. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1>
11. Vygovska Ya.I., Novak V.L. Standarty v gematologiyi (Standarty v hematolohiyi). Lviv: PP «Kvart»; 2002. 165 c.
12. Matlan V.L., Shparyk Ya.V. Onkogematologiya: Klyasyfikatsiyi. Klinichni rekomendatsiyi. Rezhym medykamentoznoyi terapiyi. Lviv: Galyczka vydavnycha spilka; 2009. 180 s.
13. Andreyeva S.V., Drozdova V.D. Standarty analizu preparativ khromosom pry' neoplaziyax krovotvorenniya: metody'chni rekomendatsiyi. Kyiv; 2007. 44 s.
11. Pińkowska-Grela B, Brycz-Witkowska J, Chmarzynska-Mróż E. Analiza

- cytogenetyczna w nowotworach hematologicznych: poradnik. Warszawa: Centrum Onkologii; 2004. 59 s.
15. Wan T.S.K. Cancer Cytogenetics. Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology. NY: Humana Press; 2017. 340 p.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6703-2>
16. Haferlach C., Rieder H., Lillington D.M., Dastugue N., Hagemeijer A., Harbott J., et al. Proposals for standardized protocols for cytogenetic analyses of acute leukemias, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, chronic myeloproliferative disorders, and myelodysplastic syndromes. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007; 46(5):494–9.
<https://doi.org/10.1002/gcc.20433>
17. Pinkel D., Straume T., Gray J.W. Cytogenetic analysis using quantitative high sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986; 83(9):2934–8.
<https://doi.org/10.1073/pnas.83.9.2934>
18. McGowan-Jordan J., Hastings R.J., Moore S. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger; 2020. 170 p.
<https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-06867-2>
19. Mrozek K., Heerema N.A., Bloomfield C.D. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Reviews*. 2004; 18(2):115–36.
[https://doi.org/10.1016/S0268-960X\(03\)00040-7](https://doi.org/10.1016/S0268-960X(03)00040-7)
20. Mrozek K., Marcucci G., Nicolet D., Maharry K.S., Becker H., Whitman S.P., et al. Prognostic significance of the European LeukemiaNet
- cytogenetyczna w nowotworach hematologicznych: poradnik. Warszawa: Centrum Onkologii; 2004. 59 s.
12. Wan T.S.K. Cancer Cytogenetics. Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology. NY: Humana Press; 2017. 340 p.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6703-2>
13. Haferlach C., Rieder H., Lillington D.M., Dastugue N., Hagemeijer A., Harbott J., et al. Proposals for standardized protocols for cytogenetic analyses of acute leukemias, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, chronic myeloproliferative disorders, and myelodysplastic syndromes. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007; 46(5):494–9.
<https://doi.org/10.1002/gcc.20433>
14. Pinkel D., Straume T., Gray J.W. Cytogenetic analysis using quantitative high sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986; 83(9):2934–8.
<https://doi.org/10.1073/pnas.83.9.2934>
15. McGowan-Jordan J., Hastings R.J., Moore S. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger; 2020. 170 p.
<https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-06867-2>
16. Mrozek K., Heerema N.A., Bloomfield C.D. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Reviews*. 2004; 18(2):115–36.
[https://doi.org/10.1016/S0268-960X\(03\)00040-7](https://doi.org/10.1016/S0268-960X(03)00040-7)
17. Mrozek K., Marcucci G., Nicolet D., Maharry K.S., Becker H., Whitman S.P., et al. Prognostic significance of the European LeukemiaNet

standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2012; 30(36):4515–23.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2012.43.4738>

21. Di Nardo C. D., Cortes J. E. Mutations in AML: prognostic and therapeutic implications. *Hematology. American Society of Hematology Education Program*. 2016; 2016(1): 348–55.
<https://doi.org/10.1182/asheducation-2016.1.348>

standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2012; 30(36):4515–23.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2012.43.4738>

18. Di Nardo C. D., Cortes J. E. Mutations in AML: prognostic and therapeutic implications. *Hematology. American Society of Hematology Education Program*. 2016; 2016(1): 348–55.
<https://doi.org/10.1182/asheducation-2016.1.348>

Стаття надійшла 20.03.2023 р.
Контакти: lnkzotova@gmail.com