

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017
УДК 616.155.392.8-036.12-06-036.1

Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю., Казакбаева Х.М.

СЛУЧАЙ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА С РЕДКОЙ ВТОРИЧНОЙ ТРАНСЛОКАЦИЕЙ Т(3;7)(Q26;Q21)

НИИ гематологии и переливания крови Министерства здравоохранения Республики Узбекистан,
100059, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Появление дополнительных хромосомных аномалий при развитии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) может указывать на неблагоприятное течение и прогрессирование заболевания. Агрессивное течение гемобластозов миелоидного типа может быть связано с изменением активности вовлеченного в перестройку онкогена *EV11*, локализованного на длинном плече хромосомы 3. Прогноз ХМЛ, при котором обнаружены структурные aberrации, затрагивающие место дислокации данного гена, остается крайне неблагоприятным. Представленный случай наблюдения демонстрирует редко встречаемую при Ph-положительном ХМЛ транслокацию t(3;7)(q26;q21) у больной в стадии бластного криза и указывает на возможность выявления с помощью стандартного цитогенетического исследования дополнительных генетических перестроек, которые могут быть связаны с прогрессированием заболевания.

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз; цитогенетика; редкая транслокация.

Для цитирования: Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю., Казакбаева Х.М. Случай хронического миелоидного лейкоза с редкой вторичной транслокацией t(3;7)(q26;q21). *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(2): DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-2-101-104>

Karimov H.Ya., Assesorova Yu.Yu., Kazakbaeva H.M.

THE CASE REPORT OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA WITH RARE SECONDARY TRANSLOCATION T(3;7)(Q26;Q21)

Scientific Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Tashkent, 100059, Republic of Uzbekistan

Additional chromosome rearrangements in patients with chronic myeloid leukemia (CML) may point to the unfavorable prognosis and the progression of the disease. The aggressive course of the myeloid hematological malignancies may be associated with the change of the activity of *EV11* oncogene located in the long arm of chromosome 3 and involved in the rearrangement. The CML prognosis is very unfavorable, when structural aberrations include position of this gene. The case report shows the rare secondary translocation t(3;7)(q26;q21) in Philadelphia-positive CML patient with blast crisis. The standard cytogenetic research methods could reveal additional chromosome rearrangements associated with disease progression.

Key words: chronic myeloid leukemia; cytogenetic; rare translocation.

For citation: Karimov H.Ya., Assesorova Yu.Yu., Kazakbaeva H.M. The case report of chronic myeloid leukemia with rare secondary translocation t(3;7)(q26;q21). *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiologiya)*. 2017; 62(2): 101-104. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-2-101-104>

Acknowledgement The authors thank A.K. Mardonov for his help with the clinical data and B.R. Allanazarova, L.K. Mustafina for technical work when writing the article.

Acknowledgments. The study was supported by State Grant of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan (ПШН-10 № АДСС 15.14.2).
Conflict of interest The authors declare about financial interest, connected with the medical equipment and method which are described in the article (the Grant financial support).

Received 17 March 2017

Accepted 29 May 2017

Развитие хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) связано с реципрокной транслокацией t(9;22)(q34;q11.2), цитогенетическим проявлением которой является филадельфийская (Ph) хромосома. Помимо t(9;22)(q11;q34), имеющей диагностическую значимость, при ХМЛ могут возникать и другие цитогенетические перестройки. Дополнительные хромосомные аномалии выявляются и в дебюте заболевания, однако чаще всего их появление предшествует прогрессированию и указывает на

неблагоприятное течение ХМЛ [1–3]. Среди наиболее часто встречаемых вторичных цитогенетических изменений при ХМЛ отмечают такие, как дополнительная Ph-хромосома (+der22), изохромосома 17 по длинному плечу i(17q), дополнительные хромосомы +8, +17, +19, +21, потеря хромосом -7, -17, -Y. Переход заболевания в стадию акселерации и бластного криза могут также сопровождать генетические перестройки с вовлечением хромосомы 3. Такие перестройки являются либо

Для корреспонденции:

Ассесорова Юлиана Юрьевна, кандидат биол. наук, младший научный сотрудник Отдела молекулярной медицины и клеточных технологий Научно-исследовательского института гематологии и переливания крови Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, 100059, г. Ташкент, Республика Узбекистан. E-mail: yuliana-as@mail.ru.

For correspondence:

Assesorova Yuliana Yu., MD, PhD, senior researcher of the Department of molecular medicine and cell technology of Scientific Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Tashkent, 100059, Republic of Uzbekistan. E-mail: yuliana-as@mail.ru.

Information about authors:

Karimov H.Ya., <http://orcid.org/0000-0003-0306-4272>; Assesorova Yu.Yu., <http://orcid.org/0000-0003-2345-100X>;
Kazakbaeva H.M., <http://orcid.org/0000-0001-9642-6847>.



Рис. 1. Метафазная пластинка больной ХМЛ.
Кариотип 46,XX,(Ph+).

Стрелкой указан дериват хромосомы 22 (Ph-хромосома).
Метод окрашивания рутинный с использованием красителя Гимзы.
Ув. 1000.

инверсиями, либо транслокационными обментами с другими хромосомами [4].

Как правило, повреждение хромосомы 3 происходит в локусе 3q26.2, где расположен онкоген *EVII* (*ecotropic virus integration site-1*), увеличение экспрессии которого ассоциировано с прогрессированием миелоидных гемобластозов. Ген *EVII* кодирует ДНК-связывающий протеин цинковых пальцев, локализующийся в ядре, действующий как фактор транскрипции и не экспрессирующийся в нормальных гемопоэтических клетках. Увеличение транскрипции *EVII* происходит в результате перемещения регуляторных последовательностей энхансера на другие гены, вовлеченные в перестройку. Точная роль *EVII* неизвестна, однако предполагается, что его экспрессия в гемопоэтических клетках нарушает регуляцию пролиферации, тормозит дифференцировку клеток и индуцирует клеточную трансформацию [4–6]. Отмечается, что клинические перестройки, затрагивающие 3q26.2/*EVII*, коррелируют с агрессивным течением заболевания и неблагоприятным прогнозом [5].

Среди транслокаций, включающих *EVII*, известны $t(2;3)(p13;q26)$, $t(2;3)(q23;q26)$, $t(3;3)(q21;q26)$, $t(3;6)(q26;q25)$, $t(3;7)(q26;q21)$, $t(3;13)(q26;q13-14)$, $t(3;17)(q26;q22)$, $t(3;21)(q26;q22)$, большинство которых выявляется при миелодиспластическом синдроме и остром миелоидном лейкозе [5, 7, 8]. Встречаемость транслокаций, затрагивающих 3q26.2/*EVII*, при ХМЛ значительно реже. В частности, транслокация $t(3;7)(q26;q21)$ была описана в связи с ХМЛ лишь несколькими исследователями [9–11], и во всех случаях она была обнаружена у пациентов в стадии бластного криза.

Приводим клиническое наблюдение.

Больная К., 65 лет, в январе 2015 г. в НИИ гематологии и переливания крови Минздрава РУз (НИИГ и ПК, Ташкент) был диагностирован ХМЛ. До обращения в специализированное медицинское учреждение отдельные симптомы заболевания ощущались больной на протяжении нескольких лет. Общий анализ крови пациентки при поступлении в гематологическое отделение института: гемоглобин 101 г/л, эритроциты $2,2 \times 10^{12}/л$,

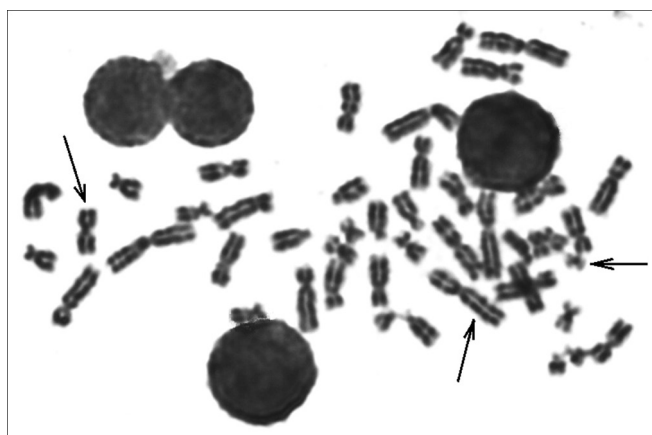


Рис. 2. Метафазная пластинка больной ХМЛ.
Кариотип 46,XX,(Ph+), $t(3;7)(q26;q21)$.

Стрелками (слева направо) указаны дериваты хромосомы 7, 3 и 22 (Ph-хромосома).

Здесь и на рис. 3: метод окрашивания – GTG-бендинг с использованием красителя Гимзы и предварительной обработкой трипсином.
Ув. 1000.

цветной показатель 0,8, тромбоциты $134,2 \times 10^9/л$, л. $351,4 \times 10^9/л$, миелобласты 32%, метамиелобласты 12%, палочкоядерные 5%, сегментоядерные 31%, эозинофилы 10%, базофилы 1%, лимфоциты 3%, моноциты 1%; СОЭ 25 мм/ч. При поступлении: жалобы на общую слабость, головные боли, одышку, сердцебиение, боли в костях, тошноту, отсутствие аппетита, тяжесть и боль в абдоминальной области. Пациентке была назначена терапия, включавшая гидроксимочевину, аллопуринол, нистатин, спазмалин, милдронат, рибоксин и водно-солевую нагрузку. После стабилизации состояния больная была выписана для прохождения лечения по месту жительства.

Ухудшение состояния отмечено в июле 2016 г. В связи со снижением концентрации гемоглобина до 28 г/л больной была проведена инфузионная терапия, заместительная гемокомпонентная терапия (эритроцитарной массой), после чего больную в тяжелом состоянии доставили в НИИГ и ПК (Ташкент) для дальнейшего лечения. Физикальное обследование выявило бледность видимых слизистых оболочек, кожно-геморрагический синдром конечностей, увеличение периферических лимфатических узлов до 2 см, спленомегалию, гепатомегалию. Общий анализ крови: гемоглобин 70 г/л, эритроциты $3,0 \times 10^{12}/л$, цветной показатель 0,7, тромбоциты $6,0 \times 10^9/л$, л. $225,4 \times 10^9/л$, бластные клетки 9%, промиелобласты 7%, миелобласты 17%, метамиелобласты 14%, палочкоядерные 11%, сегментоядерные 40%, эозинофилы 1%, базофилы 0%, лимфоциты 0%, моноциты 0%; СОЭ 4 мм/ч. Цитохимическая реакция бластных клеток на миелопероксидазу была положительной. Изучение цитологического состава костного мозга выявило наличие бластных клеток (15%), угнетение эритрона, гипертрофию нейтрофильного ростка, отсутствие мегакариоцитов, концентрацию лимфоцитов 4,9%. На основании данных клинико-лабораторных исследований у больной было констатировано наличие бластного криза по миелоидному типу. До назначения химиотерапии больной выполнили кариотипирование костного мозга.

Хромосомный анализ проводили методом стандартного цитогенетического исследования (СЦИ) с рутинным окрашиванием красителем Гимзы и GTG-бендингом. Для комплексной оценки кариотипа с целью выявления хромосомных изменений, ассоциированных с ХМЛ, а также поиска неслучайных дополнительных aberrаций, определяющих клональную эволюцию, анализировали метафазные пластинки, полученные из костного мозга больной. Ядерные клетки костного мозга культивировали в краткосрочной культуре (24 ч) при температуре 37 °C на питательной среде, содержащей RPMI-1640 с глутамином и 20% телячьей эмбриональной сыворотки. Остановку клеточного деления в стадии метафазы производили с помощью колхицина (0,01%), который вносили в среду в количестве 4 мкл при посадке.

Гипотонизацию клеток раствором хлорида калия (0,55%) выполняли в течение 25 мин при температуре 37 °С. Фиксацию клеток осуществляли трехкратным проведением через охлажденный до -4 °С фиксатор (этанол/ледяная уксусная кислота – 2,5:1). Хромосомные препараты готовили раскапыванием суспензии ядерных фрагментов клеток на влажные охлажденные предметные стекла. Полученные препараты высушивали при температуре 25 °С, окрашивали по Гимзе с предварительной обработкой 0,25% раствором трипсина и микроскопировали (микроскоп AXIO Scope A1, “Zeiss”). Поиск метафаз осуществляли при ув. 200 (окуляр PI 10×/23, “Zeiss”, объектив EC Plan-Neofluar 20×/05 Ph2 ∞/0,17), анализ метафазных пластинок – при ув. 1000 (окуляр PI 10×/23, “Zeiss”, объектив C Plan-Neofluar 100×/1,3 Oil ∞/0,17). Было проанализировано 34 метафазные пластинки. Хромосомы идентифицировали в соответствии с международной системой цитогенетической номенклатуры ISCN 2009 [12].

Цитогенетический анализ показал, что Ph-хромосома присутствовала в кариотипе в 100% [34/34] клеток костного мозга больной ХМЛ (рис. 1). Кроме того, при анализе метафазных пластинок в 61% [21/34] случаев «отсутствовала» одна из хромосомы 3 и одна из хромосомы 7. При этом выявлены 2 дериватные хромосомы, одна из которых была идентифицирована как der(3) с добавочным фрагментом по q-плечу, а другая – как der(7) с отсутствием фрагмента на q-плече хромосомы (рис. 2).

Относительная длина p- и q-плечей дериватов хромосом 3 и 7 и их гомологов, не затронутых перестройкой, размер транслоцированного фрагмента, а также расположение бендов позволили ориентировочно определить регион разрыва. Место поломки на 3-й хромосоме 3 располагалось в области крупного темноокрашенного бенда на длинном плече, идентифицируемого по системе ISCN 2009 как локус q26. На хромосоме 7 точка разрыва лежала в области q21. Анализ метафазных пластинок с помощью программы Видео Тест-Карио 3.1 подтвердил наличие цитогенетической перестройки с вовлечением хромосом 3 и 7 (рис. 3).

Таким образом, кариотипирование методом СЦИ костного мозга больной ХМЛ в стадии бластного криза позволило выявить два клона клеток: с кариотипами 46,XX,t(9;22)(q34;q11) и 46,XX,t(9;22)(q34;q11),t(3;7)(q26;q21).

Первопричиной ХМЛ является транслокационный обмен фрагментами между длинными плечами хромосом 9 и 22 (у 90–95% больных ХМЛ). Иногда (5–8%) в перестройку вовлечены и другие хромосомы (вариантная транслокация), но во всех случаях перестроек с участием хромосом 9 и 22 происходит формирование химерного гена *BCR-ABL*, кодирующего белок с повышенной тирозинкиназной активностью, который играет ключевую роль в патогенезе ХМЛ.

В результате нестабильности генома онкотрансформированных клеток при ХМЛ часто наблюдается возникновение вторичных хромосомных перестроек, которые вносят дополнительный дисбаланс в функционирование генов и, как правило, усиливают злокачественные свойства опухолевых клеток. Это выражается в интенсификации передачи опухолевым клеткам сигналов к пролиферации, подавлении апоптоза, приобретении резистентности к противоопухолевым препаратам и других проявлениях, и, по-видимому, объясняет то, что возникновение дополнительных хромосомных перестроек предшествует прогрессированию заболевания.

К настоящему времени были получены достаточно убедительные доказательства того, что активация онкогена *EVI1*, расположенного в локусе 3q26, связана с

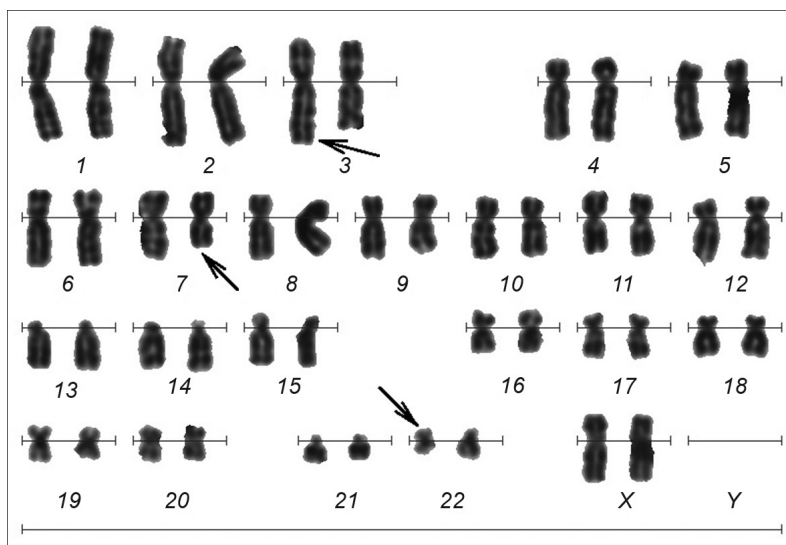


Рис. 3. Анализ метафазной пластинки с помощью программы Видео Тест-Карио 3.1. Кариотип 46,XX,(Ph+), t(3;7)(q26;q21).

Стрелками указаны дериваты хромосомы 3, 7 и Ph-хромосома. Ув. 1000.

прогрессией миелоидного гемобластоза и плохим прогнозом заболевания [4, 6, 8]. При этом было показано, что причиной изменения экспрессии *EVI1* может быть ряд транслокаций, затрагивающих локус q26 на хромосоме 3 и встречающихся с различной частотой [4, 7, 8]. Одной из наиболее редких хромосомных перестроек с участием хромосомы 3 является транслокация t(3;7)(q26;q21). У больных ХМЛ она была описана всего четырьмя исследователями [5, 9, 11, 13], при этом во всех заявленных случаях данная перестройка обнаружена у больных ХМЛ, находящихся в стадии бластного криза. Цитогенетический анализ показал, что t(3;7)(q26;q21) была вторичной аберрацией и сочеталась с присутствием Ph-хромосомы.

В описываемом нами случае перестройка с участием хромосом 3 и 7 также была выявлена у больной ХМЛ в стадии бластного криза на фоне гиперлейкоцитоза, высокого содержания бластных клеток, низкой концентрации лимфоцитов, угнетения эритронов, гипертрофии нейтрофильного ростка и отсутствия мегакариоцитов в костном мозге. Транслокация t(3;7)(q26;q21) была обнаружена только в 61% исследованных метафаз, тогда как Ph-хромосома выявлена в 100% метафазных пластинок. Это, вероятнее всего, свидетельствует о вторичности появления клеточного клона с t(3;7)(q26;q21) и его стремлении как более жизнеспособного к замещению клона, содержащего только Ph-хромосому.

Клинический случай представляет интерес по следующим аспектам:

- описана редко встречающееся при ХМЛ дополнительная транслокация с вовлечением хромосом 3 и 7;
- описанная хромосомная перестройка выявлена у больной ХМЛ в стадии бластного криза, что согласуется с данными других исследователей;
- проведение СЦИ в динамике гемобластоза позволяет выявлять редкие вторичные аберрации, которые могут быть связаны с прогрессированием заболевания.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за помощь в подготовке материалов статьи А.К. Мардонову, Б.Р. Алланазаровой, Л.К. Мустафиной.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Государственного гранта Минздрава Республики Узбекистан (ППИ-10 № АДСС 15.14.2).

Конфликт интересов. Авторы заявляют о финансовом интересе, связанном с описываемыми в статье оборудованием и методом (финансовая поддержка гранта).

ЛИТЕРАТУРА

1. Куцев С.И. Эволюция мониторинга лечения хронического миелоидного лейкоза. *Гематология и трансфузиология*. 2009; 54(4): 37–44.
2. Андреева С.В., Дроздова В.Д., Кавардакова Н.В. Феномен эволюции клональных хромосомных аномалий при остром миелоидном лейкозе в детском возрасте. *Цитология и генетика*. 2010; 3: 41–52.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

1. Kutsev S.I. Evolution of therapy monitoring of chronic myeloid leukemia. *Hematology and Transfusiology. Russian journal (Gematologiya i Transfusiology)*. 2009; 54(4): 37–44. (in Russian)
2. Andreeva S.V., Drozdova V.D., Kavardakova N.V. Phenomenon of the evolution of clonal chromosome aberrations in childhood acute myeloid leukemia. *Cytology and genetic*. 2010; 3: 41–52. (на англ. Springer)
3. Asif M., Hussain A., Rasool M. A rare case of a three way complex variant positive Philadelphia translocation involving chromosome (9;11;22)(q34;p15;q11) in chronic myeloid leukemia: A case report. *Oncol. Lett.* 2016; 12(3): 1986–8.
4. Madrigal I., Carrio A., Go'mez C., Rozman M., Esteve J., Nomdedeu B., et al. Fluorescence in situ hybridization studies using BAC clones of the *EVII* locus in hematological malignancies with 3q rearrangements. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006; 170(2): 115–20.
5. Bobadilla D., Enriquez E.L., Alvarez G., Gaytan P., Smith D., Slovak M.L. An interphase fluorescence in situ hybridisation assay for the detection of 3q26.2/*EVII* rearrangements in myeloid malignancies. *Br. J. Haematol.* 2007; 136(6): 806–13.
6. Haeflrich C., Bacher U., Grossmann V., Schindela S., Zenger M., Kohlmann A., et al. Three novel cytogenetically cryptic *EVII* rearrangements associated with increased *EVII* expression and poor prognosis identified in 27 acute myeloid leukemia cases. *Genes Chromosomes Cancer*. 2012; 51(12): 1079–85. doi: 10.1002/gcc.21992.
7. Poppe B., Dastugue N., Vandesompele J., Cauwelier B., De Smet B., Yigit N., et al. *EVII* is consistently expressed as principal transcript in common and rare recurrent 3q26 rearrangements. *Genes Chromosomes Cancer*. 2006; 45(4): 349–56.
8. De Braekeleer M., Le Bris M.J., De Braekeleer E., Basinko A., Morel F., Douet-Guilbert N. 3q26/*EVII* rearrangements in myeloid hemopathies: a cytogenetic review. *Future Oncol.* 2015; 11(11): 1675–86. doi: 10.2217/fon.15.64.
9. Henzan H., Yoshimoto G., Okeda A., Nagasaki Y., Hirano G., Takase K., et al. Myeloid/natural killer cell blast crisis representing an additional translocation, t(3;7)(q26;q21) in Philadelphia-positive chronic myelogenous leukemia. *Ann. Hematol.* 2004; 83(12): 784–8.
10. Storlazzi C.T., Anelli L., Albano F., Zagaria A., Ventura M., Rocchi M., et al. A novel chromosomal translocation t(3;7)(q26;q21) in myeloid leukemia resulting in overexpression of *EVII*. *Ann. Hematol.* 2004; 83(2): 78–83.
11. Storlazzi C.T., Albano F. t(3;7)(q26;q21). *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* 2006; 10(1): 14–5.
12. Shaffer L.G., Slovak M.L., Campbell L.J., Karger S., eds. *ISCN, 2009. An international system for human cytogenetic nomenclature*. Basel; 2009.
13. Tien H.F., Chuang S.M., Wang C.H., Lee F.Y., Chien S.H., Chen Y.C., et al. Chromosomal characteristics of Ph-positive chronic myelogenous leukemia in transformation. A study of 23 Chinese patients in Taiwan. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1989; 39(1): 89–97.

Поступила 17.03.17

Принята к печати 29.05.17

Министерство Российской Федерации
ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России
ФГБУ «Федеральный Научно-клинический центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава России
НАЦИОНАЛЬНОЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО
НАЦИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВО ДЕТСКИХ ГЕМАТОЛОГОВ И ОНКОЛОГОВ
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО ОНКОГЕМАТОЛОГОВ

проводят

12–14 апреля 2018 г. в Москве

IV Конгресс гематологов России

Конгресс будет проходить по адресу:
Москва, Кутузовский пр., 2/1, стр. 1 (Конгресс – Парк гостиницы Украина)

В Конгрессе примут участие ведущие российские и зарубежные ученые в области гематологии, трансплантации костного мозга, реаниматологии, клинической микробиологии, трансфузиологии, клинических исследований, фундаментальных исследований и других направлений.