

З.В. Масляк

В.О. Логінський

А.А. Мазурок

М.Р. Лозинська

Ю.С. Кароль

Я.І. Виговська

Інститут патології крові та
трансфузійної медицини
АМН України, Львів, Україна

ПЕРСПЕКТИВИ ВДОСКОНАЛЕННЯ КЛАСИФІКАЦІЇ ГОСТРИХ МІЕЛОЇДНИХ ЛЕЙКЕМІЙ

Резюме. Запропоновано новий підхід до класифікації гострих мієлоїдних лейкемій на основі імунофенотипічного та цитогенетичного методів дослідження бластних клітин та шляху розвитку лейкемії (*de novo* і *post* МДС).

Ключові слова: гостра мієлоїдна лейкемія, класифікація.

ВСТУП

Для класифікації гострих мієлоїдних лейкемій (ГМЛ) запропоновано кілька систем, в яких враховані ті чи інші характеристики лейкемічних клітин. Найбільш поширеною є франко-американо-британська (ФАБ) класифікація, яка використовується в гематології вже близько 25 років і базується головним чином на цитогістоморфологічних ознаках бластів [1, 2]. Враховуючи певні її недоліки, деякі автори наголошували на важливості впровадження імунологічної класифікації ГМЛ, оскільки імунофенотип клітин дозволяє більш точно охарактеризувати не лише їх лінійну належність, але й ступінь диференціювання [3–7]. Відповідно до пропозицій Європейської групи з імунологічної класифікації лейкемій [8] виділяють 6 імунологічних підваріантів ГМЛ: мієломонцитарний, еритроїдний, мегакаріоцитарний, ранній мієлоїдний, TdT-позитивний та підваріант з експресією лімфоїдних маркерів. Деякі автори пропонують комбіновані класифікації, наприклад цитоморфологічно-імунологічну [9] або морфологічно-імунологічно-цитогенетичну [10, 11]. Експерти ВООЗ [12] розробили пропозиції щодо нової класифікації ГМЛ за цитогенетичними ознаками (ГМЛ з відомими цитогенетичними транслокаціями), з урахуванням шляху становлення лейкемії (ГМЛ після мієлодиспластичного синдрому (*post* МДС), ГМЛ *de novo*, а також вторинна лейкемія) або подібно до ФАБ-класифікації виділяти 9 підваріантів (для хворих, які не ввійшли до попередніх груп).

Усвідомлюючи необхідність удосконалення класифікацій, які базуються на рутинних методах дослідження, ми поставили за мету порівняти клініко-прогностичну цінність різних принципів класифікації ГМЛ у групі хворих, які протягом тривалого часу перебували під нашим спостереженням, і на цій основі виявити переваги та недоліки цих класифікацій з метою їх адаптації до гематологічної клініки.

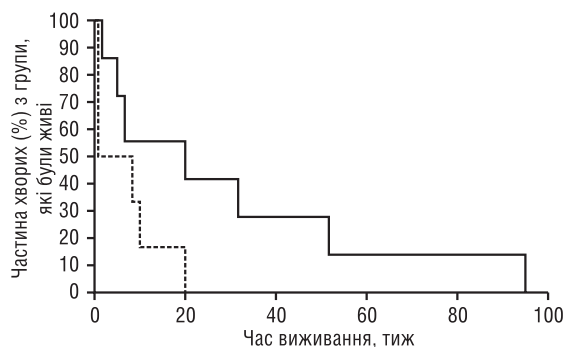
ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У базовому гематологічному відділі протягом 1995–1998 рр. обстежували 61 хворого на ГМЛ.

Проводили загальноклінічні, цитоморфологічні, цитохімічні методи дослідження, імунофенотипування за допомогою моноклональних антитіл методом непрямой імуофлюоресценції, застосовували класичний цитогенетичний метод з використанням диференційного G забарвлення хромосом.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно з параметрами, запропонованими як базові в аналізованих класифікаціях, хворих розподіляли на групи. Першим з параметрів ми обрали шлях розвитку лейкемії, відповідно до якого виділено 3 групи хворих: ГМЛ *de novo* (44 хворих), ГМЛ — *post* МДС (15 хворих) та вторинна ГМЛ (2 хворих), хоча надалі дві останні групи було об'єднано в одну. Групи відрізнялись між собою за рівнем лейкоцитозу та бластемії (вищі у 1-й групі), часткою дозрілих форм гранулоцитів (більша у 2-й групі) та ознаками дисплазії (наявні у 2-й групі). У клінічному плані найбільш суттєвою відмінністю між цими групами була відповідь на лікування: у 1-й ремісія досягнута в 36%, а у 2-й — лише в 11% випадків, дані про виживання хворих обох груп представлені на рисунку. Наступними параметрами для розподілу хворих були цитоморфологічні критерії ФАБ-класифікації,



Рисunek. Виживання хворих на ГМЛ *de novo* (суцільна лінія) та на ГМЛ *post* МДС (пунктир)

згідно з якими виділено 6 підваріантів захворювання (ми не спостерігали жодного випадку ГМЛ М7), причому частота окремих ФАБ-підваріантів відрізнялась у хворих з ГМЛ *de novo* та ГМЛ *post* МДС (табл. 1).

Таблиця 1
Розподіл хворих на ГМЛ згідно з ФАБ-класифікацією

ФАБ-підваріант ГМЛ	ГМЛ <i>de novo</i>		ГМЛ <i>post</i> МДС		Вторинна ГМЛ	
	Кількість хворих	%	Кількість хворих	%	Кількість хворих	%
М0	0		1	6,7	0	
М1	17	38,6	5	33,3	0	
М2	14	31,8	3	20,0	2	100
М3	1	2,3	0		0	
М4	6	13,7	4	26,7	0	
М5	3	6,8	0		0	
М6	3	6,8	2	13,3	0	
Всього	44	100	15	88,2	2	100

Виділені підваріанти не мали чітких клініко-гематологічних відмінностей, аналіз результатів лікування при окремих з них також не виявив статистично значущої різниці у частоті досягнення ремісії. При підваріанті М1 вона була досягнута в 17%, при М2 — в 27%, при М4 — в 36% випадків. У хворих з підваріантами М5 та М6 повної клініко-гематологічної ремісії не досягнуто в жодному випадку, клінічне покращання спостерігали у 60% хворих з підваріантом М5 і у 33% — з М6.

Наступними параметрами були імунофенотипічні характеристики бластних клітин, за допомогою яких ми аналізували здатність ФАБ-підваріантів відображати ступінь зрілості клітин та їх лінійне спрямування. Результати досліджень представлені в табл. 2. З одного боку, виявлено різницю відносно експресії антигенів CD34 та CD15 між підваріантами М1 та М2 та антигену CD14 між підваріантами М1–М2 та М4–М5. З іншого — привертають увагу експресія антиге-

Таблиця 2
Частота виявлення мієлоїдних антигенів при ФАБ-підваріантах ГМЛ

Підваріант ГМЛ	Частота виявлення антигенів, %					
	HLA-DR	CD34	CD13	CD11b	CD15	CD14
М1	92	86	58	78	45	8
М2	75	30	78	92	64	33
М3	0	0	100	100	100	Н/в
М4	50	50	33	71	71	83
М5	0	0	100	100	100	100
М6	100	100	100	100	66	0

ну CD34 майже у $\frac{1}{3}$ хворих з підваріантом М2 та у половини хворих — з М4, які прийнято вважати «дозрілими», а також експресія антигенів CD15 та CD11b при «незрілому» підваріанті М1 ГМЛ. Суперечними є також результати визначення антигенів CD34 та CD14 при ГМЛ М4. Розподіливши хворих на дві групи (з ремісією і без), ми провели дослідження частоти виявлення і рівня експресії окремих антигенів у кожній з них. Різниця частоти виявлення експресії антигенів CD34 і CD15 між групою хворих з повною ремісією та групою хворих з прогресуванням лейкемії на фоні лікування є достовірною. Ці висновки підтверджено визначенням показника кореляції між

досягненням ремісії і експресією на бластних клітинах окремих антигенів. Встановлено достовірний прямий корелятивний зв'язок між досягненням ремісії і частотою виявлення антигенів CD15 і CD22, а також зворотний кореляційний зв'язок — при порівнянні частоти досягнення ремісії з експресією антигену CD34.

Результати статистичного аналізу дали нам підстави для виділення таких імунологічних підваріантів ГМЛ:

- «незрілий» підваріант, або ГМЛ з мінімальними ознаками мієлоїдної диференціації бластів (HLA-DR^{+/+}; CD34⁺; CD13^{+/+}; CD15⁻; CD11b⁻; CD14⁻; BSA09⁻);
- «дозріваючий» підваріант, або ГМЛ з ознаками гранулоцитарної диференціації бластів (HLA-DR⁺; CD34^{+/+}; CD13⁺; CD15⁺; CD11b⁺; CD14⁻; BSA09⁻);
- промієлоцитарна лейкемія (HLA-DR⁻; CD34⁻; CD13⁺; CD15^{+/+}; CD11b^{+/+}; CD14⁻; BSA09⁻);
- мієломоноцитарний проміжний підваріант, або гостра мієломоноцитарна лейкемія (HLA-DR⁺; CD34^{+/+}; CD13^{+/+}; CD15^{+/+}; CD11b^{+/+}; CD14⁺; BSA09⁺);
- моноцитарний підваріант ГМЛ — HLA-DR⁺; CD34^{+/+}; CD13^{+/+}; CD15^{+/+}; CD11b^{+/+}; CD14⁺; BSA09⁻);
- еритроїдний підваріант, або гостра еритролейкемія (HLA-DR^{+/+}; CD34^{+/+}; CD13^{+/+}; CD15⁻; CD11b⁻; CD14⁻; BSA09⁻; HAE9⁺).

При порівнянні ФАБ-класифікації та імунологічної класифікації ГМЛ встановлено, що збіг цитоморфологічного та імунологічного підваріантів спостерігався приблизно в 75% випадків (підваріанти М1 та «незрілий», а також М2 і гранулоцитарний відрізнялися). Особливістю імунологічної класифікації ГМЛ була наявність 4 випадків гібридної лейкемії, діагностувати яку можна було лише на підставі імунофенотипування. Слід відзначити, що серед хворих на ГМЛ з «незрілим» імунологічним підваріантом 75% становили пацієнти, у яких лейкемія розвинулася після МДС.

У 13 хворих проаналізовано можливість використання для класифікації ГМЛ цитогенетичних параметрів. Проведені дослідження виявили, що у 5 хворих з лейкемією, яка виникла після мієлодисплазії або у випадку вторинної лейкемії, розвиваються більш складні зміни каріотипу порівняно з 8 хворими на ГМЛ *de novo*. При останній у 25% хворих каріотип клітин кісткового мозку взагалі був нормальним, 62,5% хворих мали по одній хромосомній аномалії, а складне порушення каріотипу зафіксовано лише в одному випадку. Такі типові цитогенетичні аномалії, як t(8;21), inv(16), ми не виявили і лише у 1 хворого на ГМЛ М3 ідентифіковано t(15;17). При ГМЛ *post* МДС нормальний каріотип клітин крові був у 1 (16,6%) хворої, у 2 виявлено негативну в прогностичному плані аномалію — моносомію 7, у 2 інших — складні порушення каріотипу. Залежності між частотою порушень каріотипу і ФАБ-підваріантом ГМЛ не встановлено.

Результати проведеного аналізу дають можливість зробити наступні узагальнення. Незважаючи на низку переваг, ФАБ-класифікація суттєво обмежує можливості дослідження лінійної належності та ступеня зрілості лейкоцитних клонів. У цьому плані більш об'єктивну інформацію можна отримати при аналізі імунофенотипу лейкоцитних клітин, тому імунологічна класифікація з виділенням 5 підтипів ГМЛ є, з нашої точки зору, більш прийнятною. Можливо, передчасно відводити самостійну діагностичну роль цитогенетичним дослідженням при ГМЛ, оскільки лише кілька відомих хромосомних аномалій характеризуються клінічними особливостями та різняться за відповіддю на терапію. Коректніше розглядати цитогенетичні знахідки при ГМЛ як важливий прогностичний фактор. Найбільш перспективною виглядає міжнародна класифікація ГМЛ, представлена експертами ВООЗ [12]. Разом з тим ми вважаємо, що для класифікації певної групи захворювань необхідно користуватись єдиним стандартним набором високоінформативних тестів, що не враховано в класифікації ВООЗ. У ній 1-ша група сформована на підставі цитогенетичних досліджень, 2-га і 3-тя — з урахуванням патогенезу лейкемії, а 4-та практично об'єднує підваріанти ФАБ-класифікації з включенням базофільної лейкемії і ГМЛ з мієлофіброзом. Враховуючи вищевказані аргументи і результати власних досліджень, ми пропонуємо розподіляти ГМЛ на 2 групи: ГМЛ *de novo* та ГМЛ *post* МДС. Можливо, недоцільним є виділення вторинної ГМЛ, обумовленої застосуванням хіміотерапії або впливу іонізуючого опромінення, оскільки у цих випадках так чи інакше лейкемії передують МДС у вигляді одно-, дво- або трьохлінійної дисплазії. Важливість виділення ГМЛ *de novo* та ГМЛ *post* МДС підтверджують отримані нами дані стосовно того, що ці форми лейкемії суттєво відрізняються за кількісними та якісними характеристиками лейкоцитних клонів. Наступні етапи класифікації — встановлення лінійного спрямування та ступеня диференціювання клітин (виділення імунологічних підваріантів), а також визначення особливостей каріотипу. Отже, діагноз ГМЛ матиме три складові: *de novo* або *post* МДС; імунологічний варіант; каріотип клітин крові або кісткового мозку. Для прикладу: ГМЛ *post* МДС, «незрілий» підваріант, 46XX, -7 або ГМЛ *de novo*, «дозріваючий» підваріант, 46 XX. Запропоноване формулювання діагнозу передбачає не лише прогнозування відповіді на терапію, але вже на момент діагностики закладає основу для контролю резидуальних клонів у випадку досягнення клініко-гематологічної ремісії. Безумовно, запропонований підхід вимагає достатнього рівня обстежень у спеціалізованих відділеннях, чого на даному етапі розвитку гематології в нашій країні важко досягти. За відсутності можливості проведення імунофенотипічного та цитогенетичного дослідження можна обмежитись встановленням двох

принципово відмінних груп лейкемії: ГМЛ *post* МДС та ГМЛ *de novo* з наступним використанням ФАБ-класифікації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage (M7). *Ann Intern Med* 1985; **103**: 460–2.
2. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML M0). *Brit J Haematol* 1991; **78**: 325–9.
3. Krawczynska A, Robak T, Krykowski E, et al. Fenotyp antygenowy komurek białaczkowych w ostrej białaczce szpikowej. Znaczenie prognostyczne koekspresji antygenów limfoidalnych. *Acta Haematol. Pol* 1996; **27**: 271–80.
4. Venditti A, Delpoeta G, Stasi R, et al. Minimally differentiated acute myeloid leukemia (AML-MO) — cytochemical, immunophenotypic and cytogenetic analysis of 19 cases. *Brit J Haematol* 1994; **88**: 784–93.
5. Majakova SA, Protasova AK, Tupitsin NN. Association between clinical features and morphology, immunology, karyotype in myeloid leukemias in children. In: XII Meeting of the Int Soc Haematol. (Europ and Afr Division), Vienna, Austria. *Book of Abstr* 1993; 572.
6. Глузман ДФ, Надгорная ВА, Скляренко ЛМ и др. ФАБ-класифікація острих лейкозов и иммунологические маркеры бластных клеток. В: «Диагностика острих лейкозов и миелодиспластических синдромов» 1996: 1–12.
7. Логінський ВО, Виговська ЯІ, Масляк ЗВ та ін. Значення імунологічного фенотипування бластных клітин в діагностиці гострої мієлоїдної лейкемії у дорослих. *Експерим онкол* 1996; **18**: 146–51.
8. Бене МК, Кастолди Г, Напп К и др. Предложения для иммунологической классификации острих лейкозов. *Гематол и трансфузиол* 1996; **41**: 43–5.
9. Pintkowska-Jakubas B, Balana-Nowak A, Skotnicki AB. Wysoka ekspresja antygenu CD34 w immunofenotypach ostrzych białaczek limfoblastycznych dorosłych chorych — niekorzystny czynnik prognostyczny. *Acta Med Pol* 1999; **30**: 301.
10. Van den Berge H. Morphologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukaemias. *Brit J Haematol* 1988; **68**: 487–94.
11. Creutzig U, Harbott J, Sperling C, et al. Clinical Significance of Surface Antigen Expression in Children With Acute Myeloid Leukemia Results of Study AML-BPM-87. *Blood* 1995; **86**: 3097–108.
12. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. The World Health Organization Classification of Neoplasms of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting — Airlie House, Virginia, November, 1997. *Hematol J* 2000; **1**: 53–66.

POSSIBILITIES TO IMPROVE THE CLASSIFICATION OF ACUTE MYELOID LEUKEMIAS

Z.V. Maslyak, V.O. Loginsky, A.A. Mazurok, M.R. Lozynska, Yu.S. Karol', Ya.I. Vygovska

Summary. A new approach to the classification of acute myeloid leukemia is proposed. The proposed approach is based on immunophenotypic and cytogenetic studies of blast cells and on the leukemia establishment (*de novo* and *post* myelodysplastic syndrome).

Key Words: acute myeloid leukemia, classification.