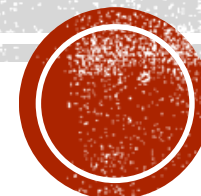


AKUTNÍ PROMYELOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE



Buliková Alena

Oddělení klinické hematologie FN Brno

Interní hematologická a onkologická klinika Masarykovy Univerzity

AKUTNÍ PROMYELOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE

- skupina klonálních nádorových chorob řazených do AML s rekurentní cytogenetickou abnormitou
- cca 8% AML u mladších jedinců, u starších nemocných i u dětí je relativně méně častá
- incidence 0,08/100 000 obyvatel
- v ČR cca 20 pacientů s tímto onemocněním ročně



APL V ČESKÉ LITERATUŘE

- Vnitřní lékařství 2008; 54 (7&8)
- souhrnné literární dílo v českém jazyce k uvedené problematice zahrnující
 - historii průkazu onemocnění
 - leukemogenezi resp. velmi podrobnou patofyziologii
 - diagnostiku, se zdůrazněním jejího rychlého procesu včetně morfologicky dokumentovaných případů
 - léčebné postupy
 - řešení komplikací (koagulopatie, ATRA syndrom)
 - tehdejší výsledky léčby
 - prezentace „case reports“

Bez ohledu na 13 let od vydání je tato publikace zásadním přínosem pro lékaře, kteří se chtějí uvedenou problematikou zabývat.

Dle abecedy: Ballingová I, Cetkovský P, Dvořáková D, Kačírková P, Kořístek Z, Kozák T, Marková J, Marinov I, Mayer J, Michalová K, Mikulenkova D, Schwartz J, Starý J, Žák P.



HISTORIE

- 1957 popis klinicko-laboratorní jednotky
 - zavádějící, protože nádorové elementy nenaplňují morfologické charakteristiky promyelocytů, které jsou nyní všeobecně akceptovány
- tomuto závěru (dle Schwarze z 2008) předcházelo prakticky 130leté bádání
 - včetně role českého lékaře dr. Libánského s vysokou pravděpodobností s popisem APL z roku 1939

Hillestad LK. Acute promyelocytic leukemia. Acta Med Scand. 1957; 159: 189-195

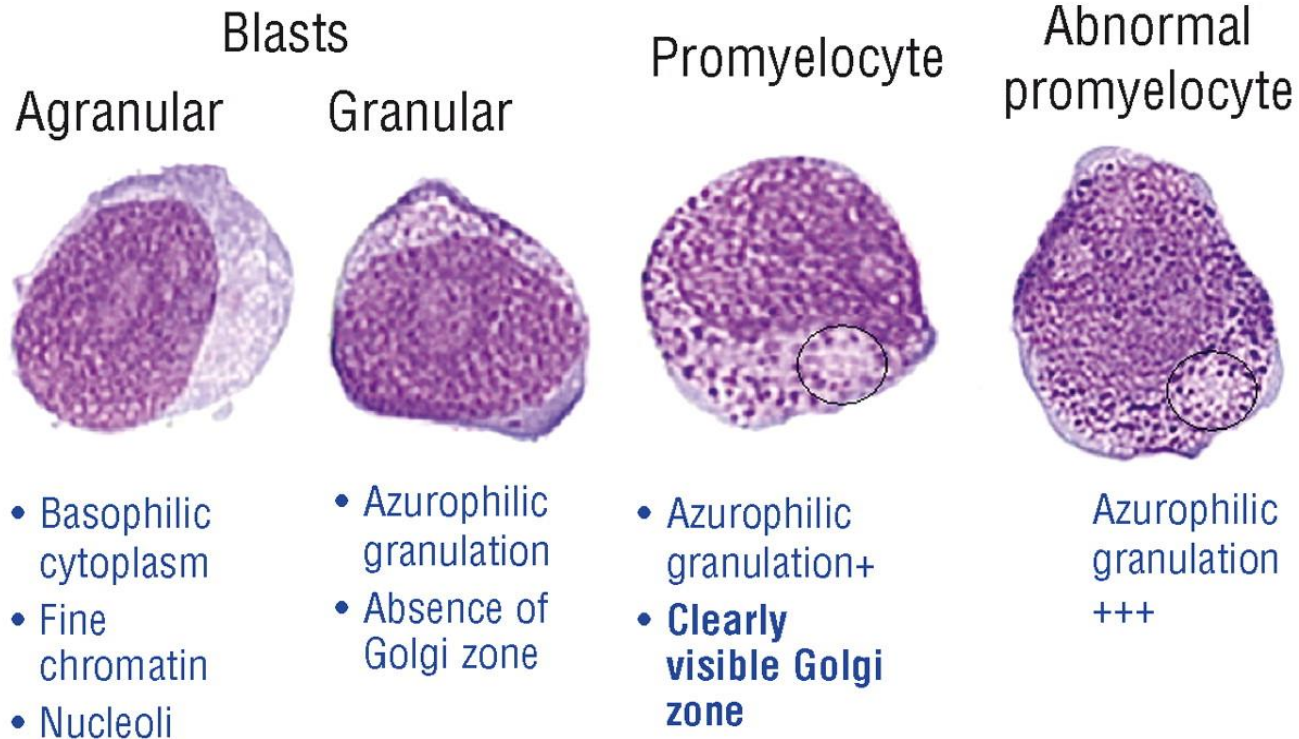
Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International working group on morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. Hematologica 2008; 93: 1712-1717

Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias (FAB Co-operative Group). Br J Haematol 1976; 33: 451-458

Schwartz J. Odchloromu k akutní promyelocytární leukémii – pohledy do historie. Vnitř Lék 2008; 54: 686-700



Blasts, promyelocytes, abnormal promyelocytes



Mufti, G. J. et al. *Haematologica* 2008;93:1712-1717



HISTORIE

- 1957 morfologický popis
 - zavádějící, protože nádorové elementy nenaplňují morfologické charakteristiky promyelocytů, které jsou nyní všeobecně akceptovány
- 1976 první klasifikace akutních myeloidních leukémií FAB
 - samostatná kategorie AML M3
- 1977 popis cytogenetické abnormality
- 1990 rozpoznání molekulárně genetické povahy nového onkogenu

Hillestad LK. Acute promyelocytic leukemia. Acta Med Scand. 1957; 159: 189-195

Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International working group on morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. Hematologica 2008; 93: 1712-1717

Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias (FAB Co-operative Group). Br J Haematol 1976; 33: 451-458

Rowley JD, Golomb HM, Dougherty C. 15/17 translocation, a consistent chromosomal change in acute promyelocytic leukemia. Lancet 1977; 1: 549-550

de Thé H, Chomienne C, Lanotte M, et al. The t (15;17) translocation of acute promyelocytic leukaemia fuses the retinoic acid receptor alpha gene to a novel transcribed locus. Nature 1990; 347: 558-561



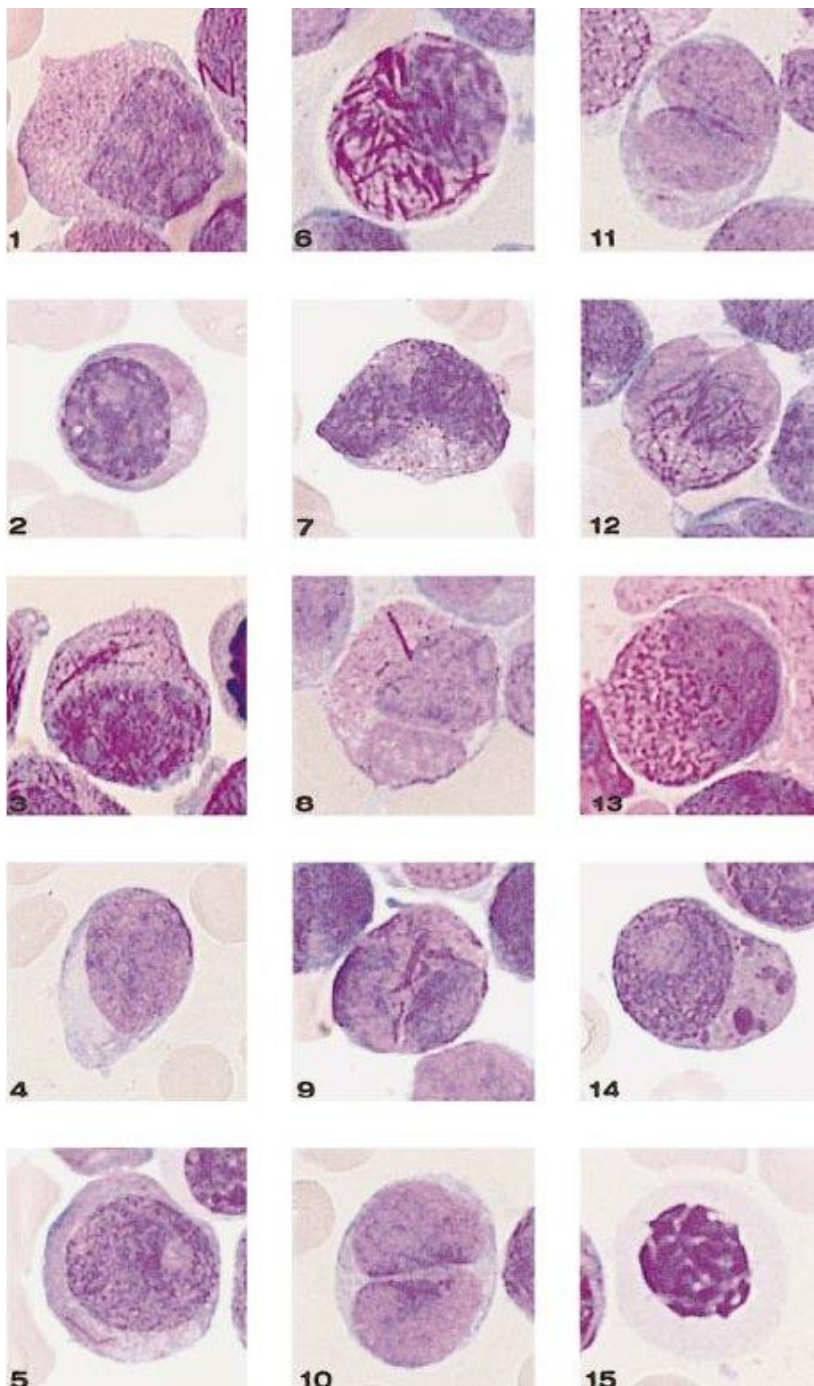
HISTORIE

- v průběhu 90-tých let se začaly objevovat případy variantních translokací u klasického průběhu APL
- 1993 jako první popsána varianta genu pro kyselinu all-transretinovou na chromozomu 17 s genem „Kruppel-like zinc finger“ tedy původně PLZF/RARA dnes ZBTB16-RARA na chromozomu 11 (dodnes nejčastější varianta)
- Monza Itálie červen 1997
 - systém morfologické klasifikace APL k odlišení případů molekulárně genetických variantních forem zejména APL

Chen Z, et al. Fusion between a novel Kruppel-like zinc finger gene and retinoid acid receptor –a due to a variant t(11;17) translocation with acute promyelocytic leukaemia EMBO j 1993; 12: 1161-1167

Sainty D, et al. A new morphologic classification system for acute promyelocytic leukemia distinguishes cases with PLZF/RARA gene rearrangements. Blood 2000; 96: 1287-1296



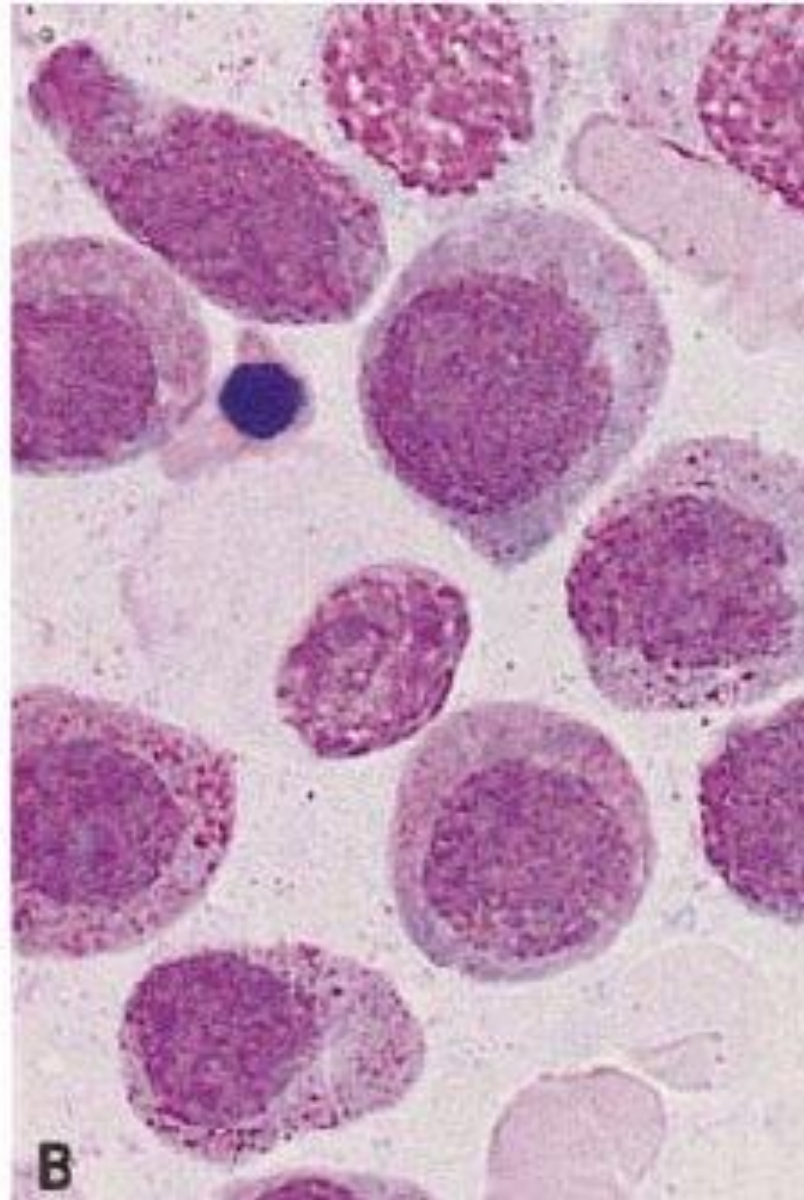
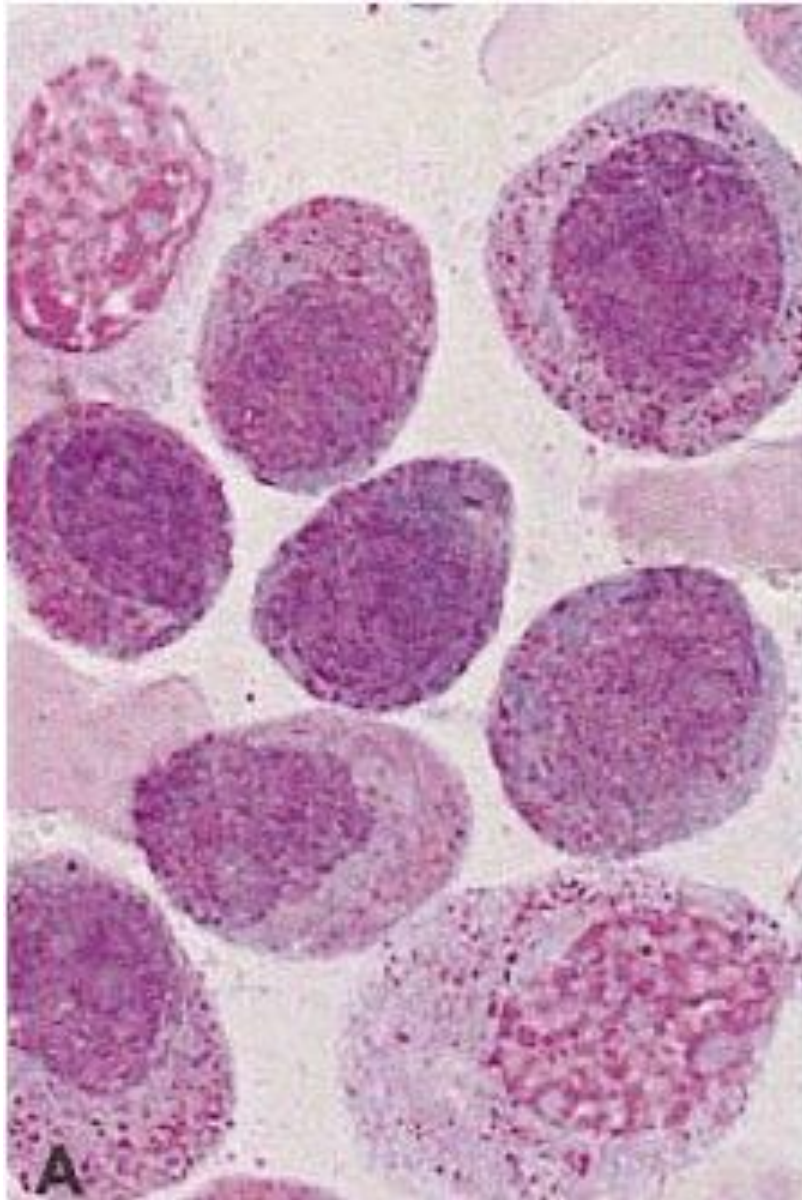


- zahrnuli 60 pacientů s APL bez t(15;17)
- popsali 15 buněčných kategorií užitečných pro diferenciální diagnostiku
- identifikovali nevýznačnější morfologické odchylky v té době známých molekulárně-genetických variant zejména PLZF/RARA a NPM/RARA

I dnes může být tato morfologická klasifikace užitečná při podezření na APL zejména jejích molekulárně variantních forem.

Sainty D, et al. A new morphologic classification system for acute promyelocytic leukemia distinguishes cases with PLZF/RARA gene rearrangements. Blood 2000; 96: 1287-1296





Morfologicky definována tzv. kulatobuněčná varianta APL s PLZF/RARA

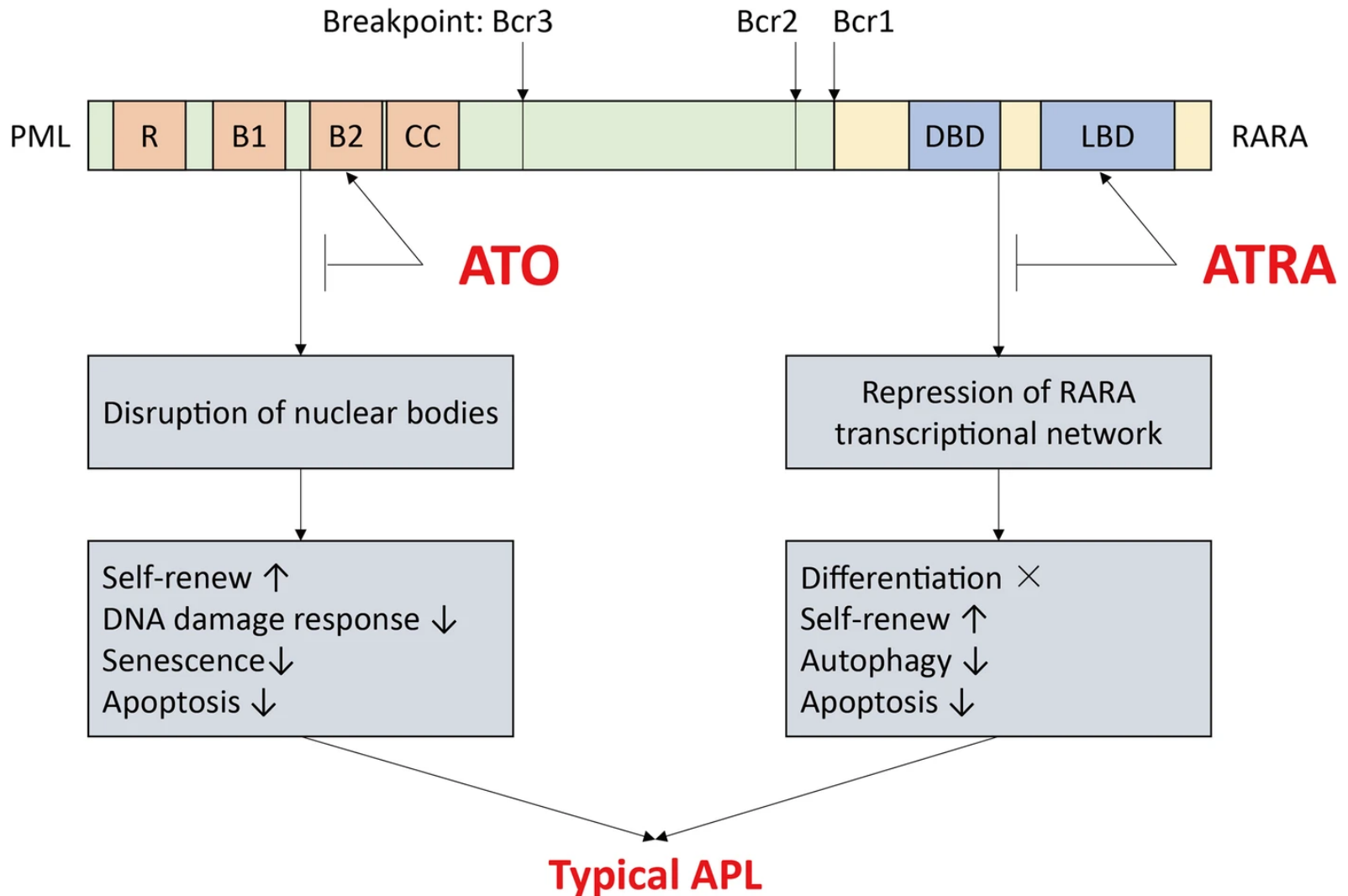


SOUČASNOST

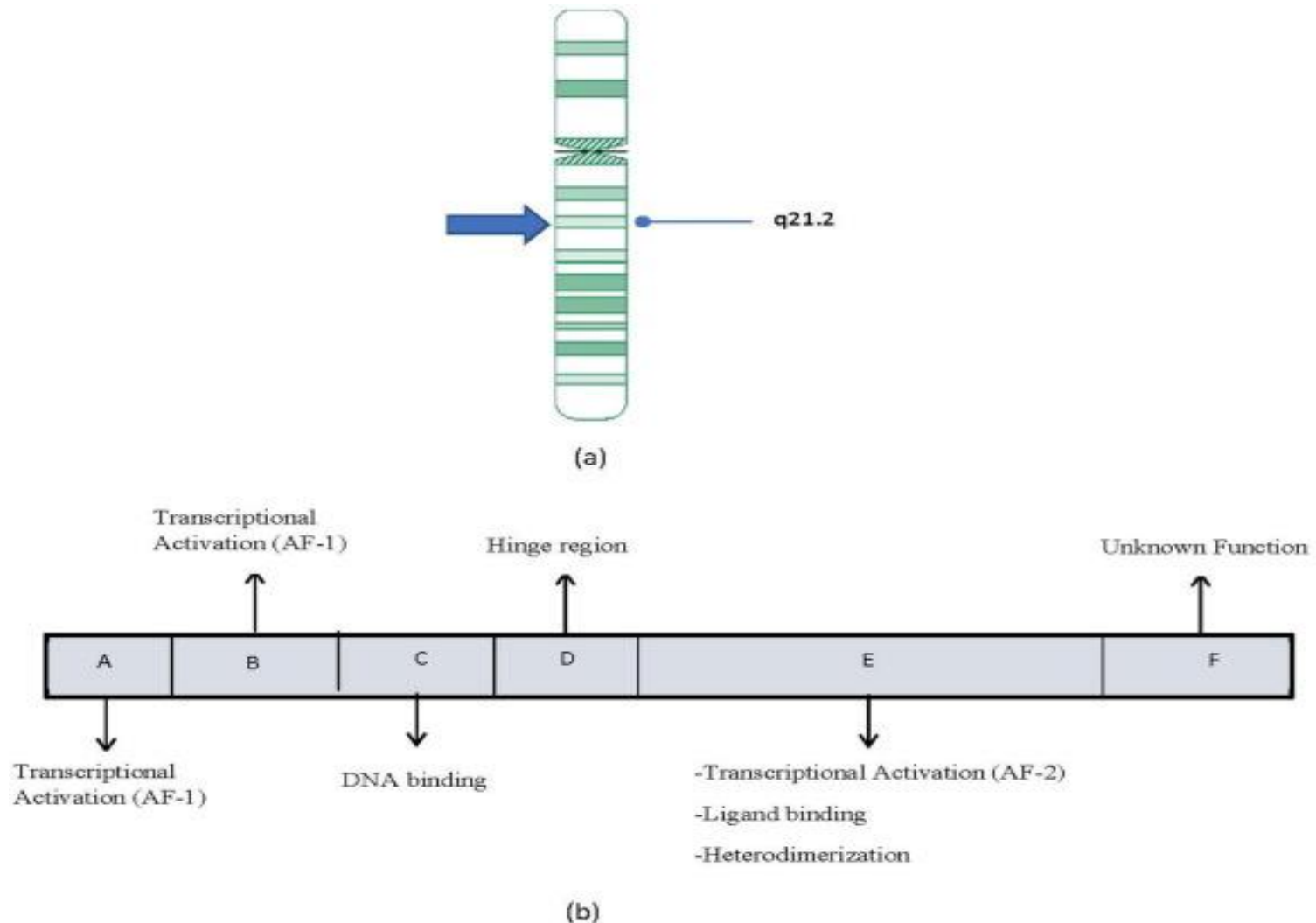
- onkogen PML/RARA je detekován u téměř 99% případů APL a je pokládán za příčinu vzniku onemocnění
- jako varianty místo genu PML bylo identifikováno 15-17 jiných genů
 - vzhledem k tomu, že část případů bylo popsáno jen jedenkrát, je v některých případech asociace s APL ne zcela jistá
- mimo RARA byly popsány i případy přestavby genů RARB (3p24) a RARG – první s translokací s NUP98 t(11;12)(p15;q13) s fenotypovými projevy APL



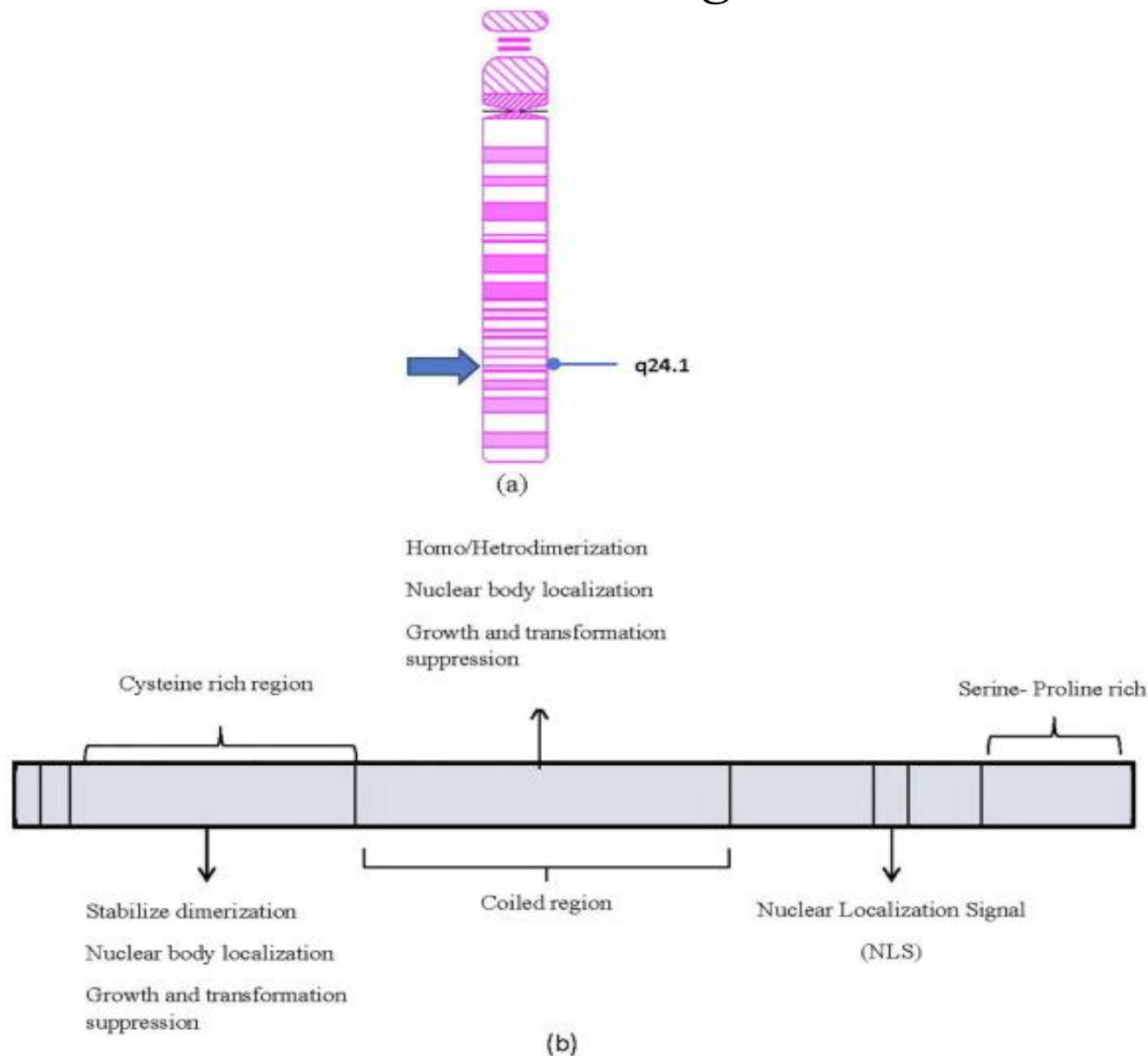
PML-RARA/t(15;17)



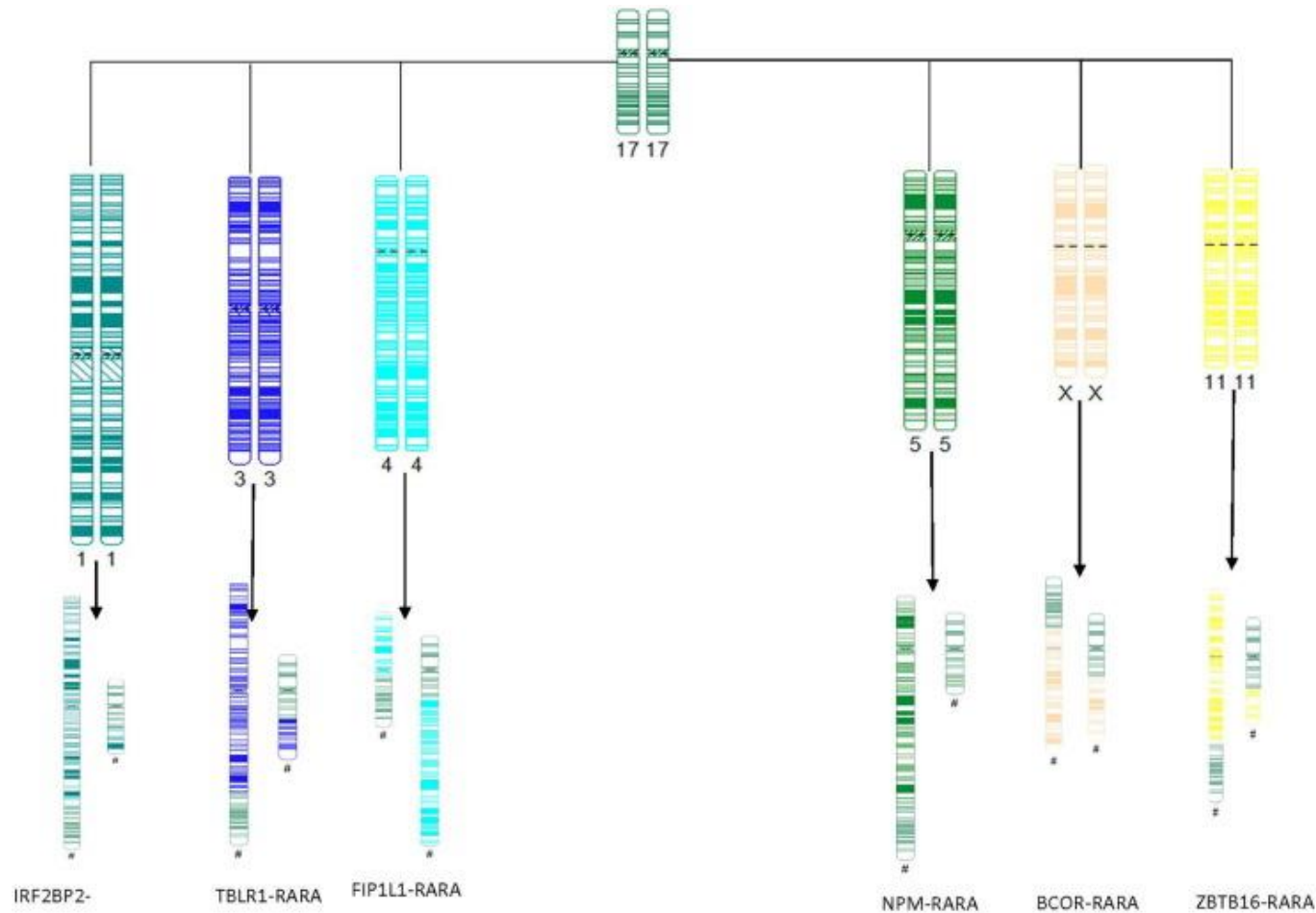
Chromozom 15 s lokalizací genu PML na q24.1



Chromozom 17 s lokalizací genu RARA na q21.2



Variantní translokace nejčastějších genů u APL s onkogenem RARA (nezahrnuje varianty s vlastním chromozomem 17 tj. STAT5B-RARA a STAT3-RARA)



VARIANTNÍ GENY PRO FÚZI S RARA PŘI DIAGNÓZE APL

gen	Translokace	funkce resp. její odchylka	ATRA/ATO účinek
ZBTB16	t(11;17)(q23;q21)	regulace diferenciace, apoptózy, buněčného cyklu, proliferace	neúčinné oba preparáty
NPM1	t(5;17)(q35;q21)	regulace řady nádorových supresorů, interakce s c-myc ke kontrole syntézy proteinů, biogenese ribozomů	ATRA citlivé, ATO?
STAT5B	der(17)	buněčná transdukce růstových faktorů, cytokinů a hormonů	neúčinné oba preparáty
IRF2BP2	t(1;17)(q42;q21)	regulace transkripce interferonu typu 1	citlivé oba preparáty
FIP1L1	t(4;17)(q12;q21)	zpracování m-RNA	ARTA citlivé, ATO?
BCOR	t(X;17)(p11;q21)	represe funkce BCL6	ATRA citlivé, ATO ne
NUMA1	t(11;17)(q13;q21)	ovlivňuje mitózu	ATRA citlivé, ATO?
PRKAR1A	t(17;17)(q21;q24) del(17)(q21;q24)	základní komponenta proteinové kinázy typu 1, mediátor signálu cAMP	citlivé oba preparáty
NABP1/OBFC2A	t(2;17)(q32;q21)	genomická stabilita, poškození DNA	ATRA citlivé, ATO?
GTF2I	t(7;17)(q11;q21)	role v transkripci, signalizaci růstových faktorů a imunitním systému	neúčinné oba preparáty
TBLR1	t(3;17)(q26;q21)	aktivace transkripce	ATRA ne, ATO citlivé
FNDC3B	t(3;17)(q26;q21)	možná role v abiogenezi	citlivé oba preparáty
ADAMST17	-	nejasné (zahrnut do více chorob)	ATRA citlivé, ATO?
STAT3	der(17)	buněčná transdukce důležitá pro cytokiny	ATRA resistantní, ATO?
TFG	t(3;14;17) (q12;q11;q21)	funkce endoplasmatického retikula, dysfunkce Golgiho aparátu	ATRA citlivé, ATO?
NUP98	-	ovlivnění nukleo-cytoplazmatického transportu	ATRA citlivé v kombinaci
TNRC18	-	ovlivnění signálních molekul a intranukleární distribuce	ATRA necitlivé

oranžová více než 30 případů, růžová – více než 10 případů, modrá – pospán jediný případ



APL S PML/RARA

- naprosto nejčastější typ APL
- vyskytuje se ve dvou morfologických variantách
 - klasická hypergranulární varianta
 - je častější
 - v periferní krvi je často cytopenie až pancytopenie
 - obvykle lze nalézt nádorové elementy byť je nutné po nich cíleně pátrat (preparát z buffy coatu)
 - většinou je přítomna charakteristická koagulopatie s hyperfibrinolýzou
 - mikrogranulární varianta
 - je méně častá
 - častější je leukocytóza
 - je odchýlný vzhled nádorových elementů
 - koagulopatie je stejně častá
- existují smíšené či diskordantní formy (častěji mikrogranulární v periferní krvi, hypergranulární v kostní dřeni)



APL S PML/RARA

- distribuce zlomových míst je stejná u americké a evropské populace
 - bcr 1 50-55%, bcr 2 8-20%, bcr 3 27-49%
 - ve Španělsku bcr 1 75%, což ukazuje na jistou genetickou predispozici
- u jedné třetiny nemocných lze konvenční cytogenetickou analýzou zjistit přídatnou karyotypovou abnormitu, nejčastěji trizomii 8
- na molekulárně genetické úrovni pak zjišťujeme
 - cca u třetiny případů mutaci FLT3
 - u 14% mutaci genu WT1
 - u 10% mutaci genu NRAS
 - u 4% mutaci genu KRAS

Tyto nálezy pak mohou ovlivňovat celý průběh choroby a její léčbu



APL S PML/RARA

- kostní dřeň je nejčastěji hypercelulární
 - vzácně popsány případy s nadměrnou retikulinovou fibrózou, pak jsou aspiráty zejména při současné pancytopenii i významně hypocelulární
- abnormální promyelocyty jsou zařazeny do ekvivalentů blastů
- při prokázané typické rekurentní odchylce dle WHO klasifikace není nezbytná, aby jejich počet dosahoval 20 a více procent všech jaderných buněk dřeně

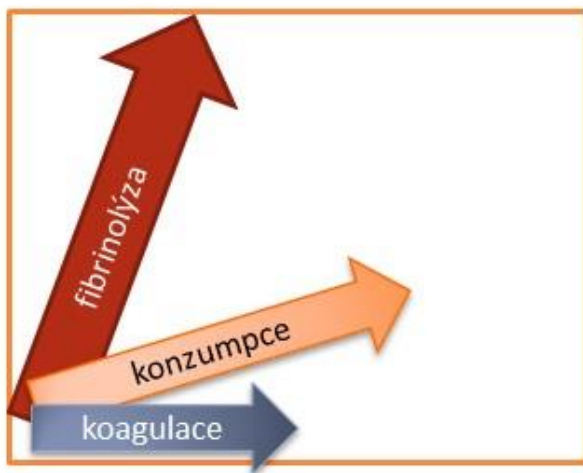


APL S PML/RARA - KOAGULOPATIE

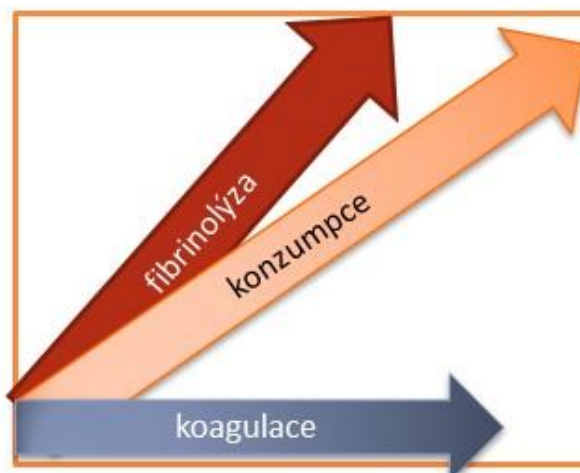
- je pro onemocnění typická
- jde o zcela unikátní typ koagulopatie, který má patofyziologicky nejblíže hyperfibrinolytickému typu DIC
- podílí se:
 - aktivace plazmatické koagulace cestou
 - exprese TF
 - exprese membránového receptoru pro FV
 - produkce nádorové prokoagulantu a cysteinových proteáz
 - aktivace fibrinolýzy
 - nádorové elementy obsahují uPA i t-PA, abnormálně vysoký obsah annexinu II s následnou zvýšenou produkcí t-PA
 - elastázy patologických neutrofilů přímo štěpí fibrinogen a lyzují alfa2antiplazmin a C1 esterázu (jako důležité inhibitory plazminu)
 - zvýšená sekrece prozánětlivých cytokinů (IL1, TNF) zasahuje do hemostázy na více úrovních nejspíše cestou tvorby neutrofilových extracelulárních pastí a tím k rozvoji klasické DIC



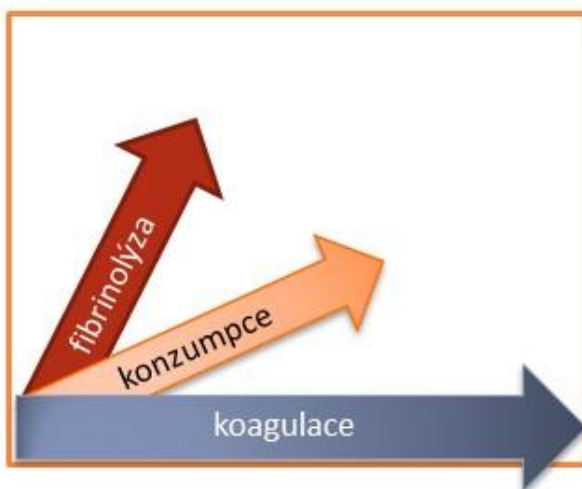
Krvácivý hyperfibrinolytický typ



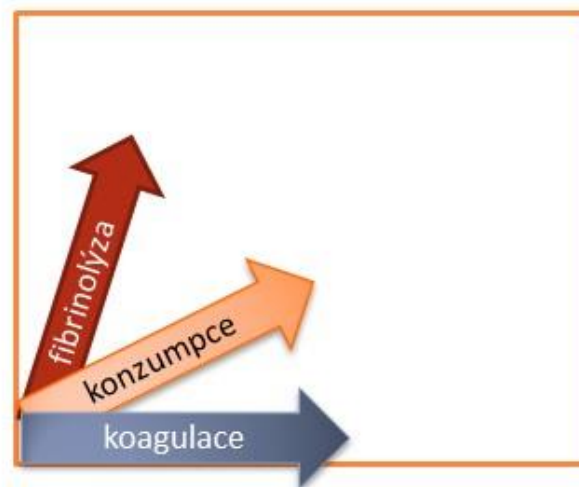
Masivně krvácivý konzumpční typ

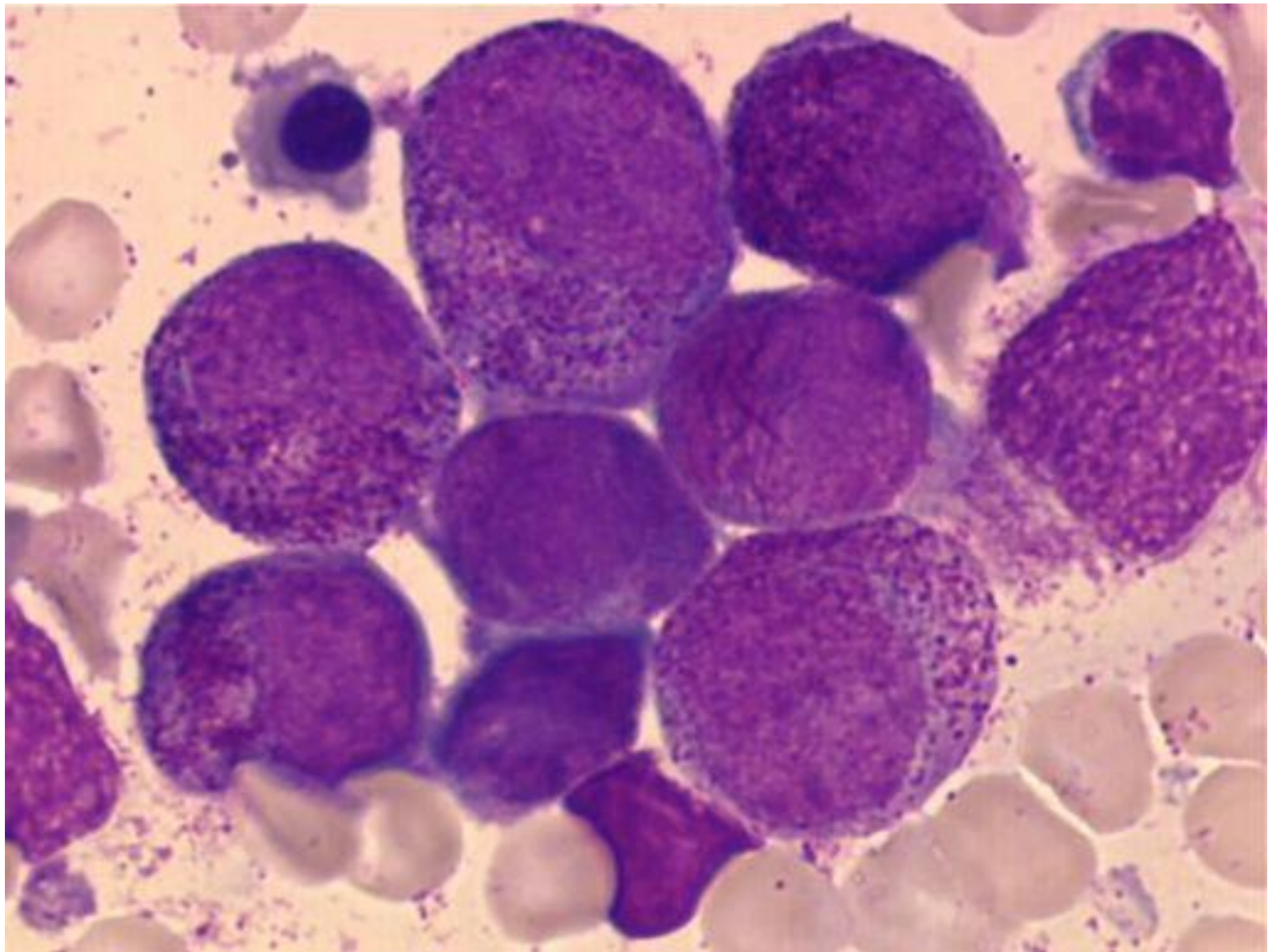


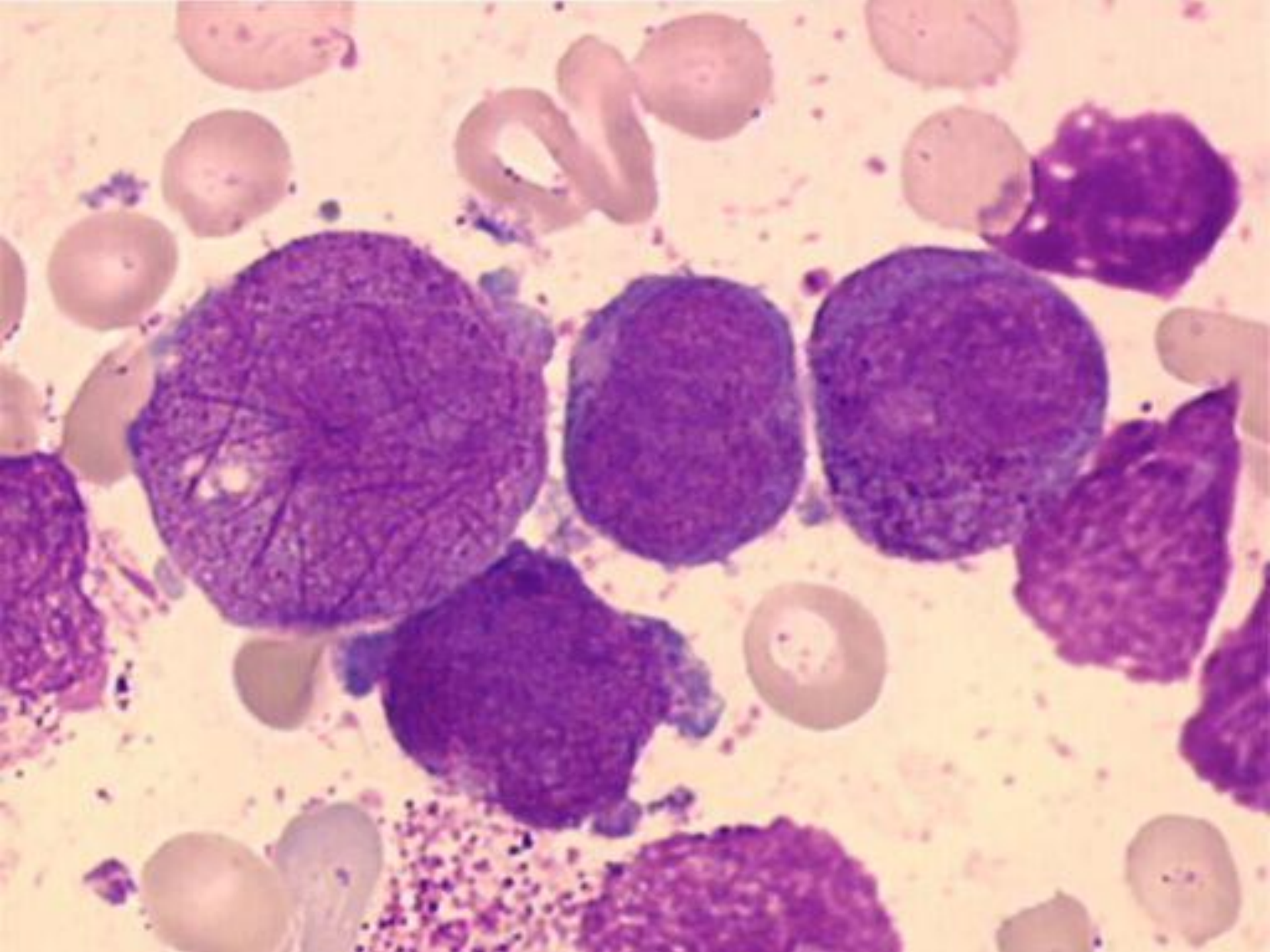
Typ s orgánovým selháním (trombotický)

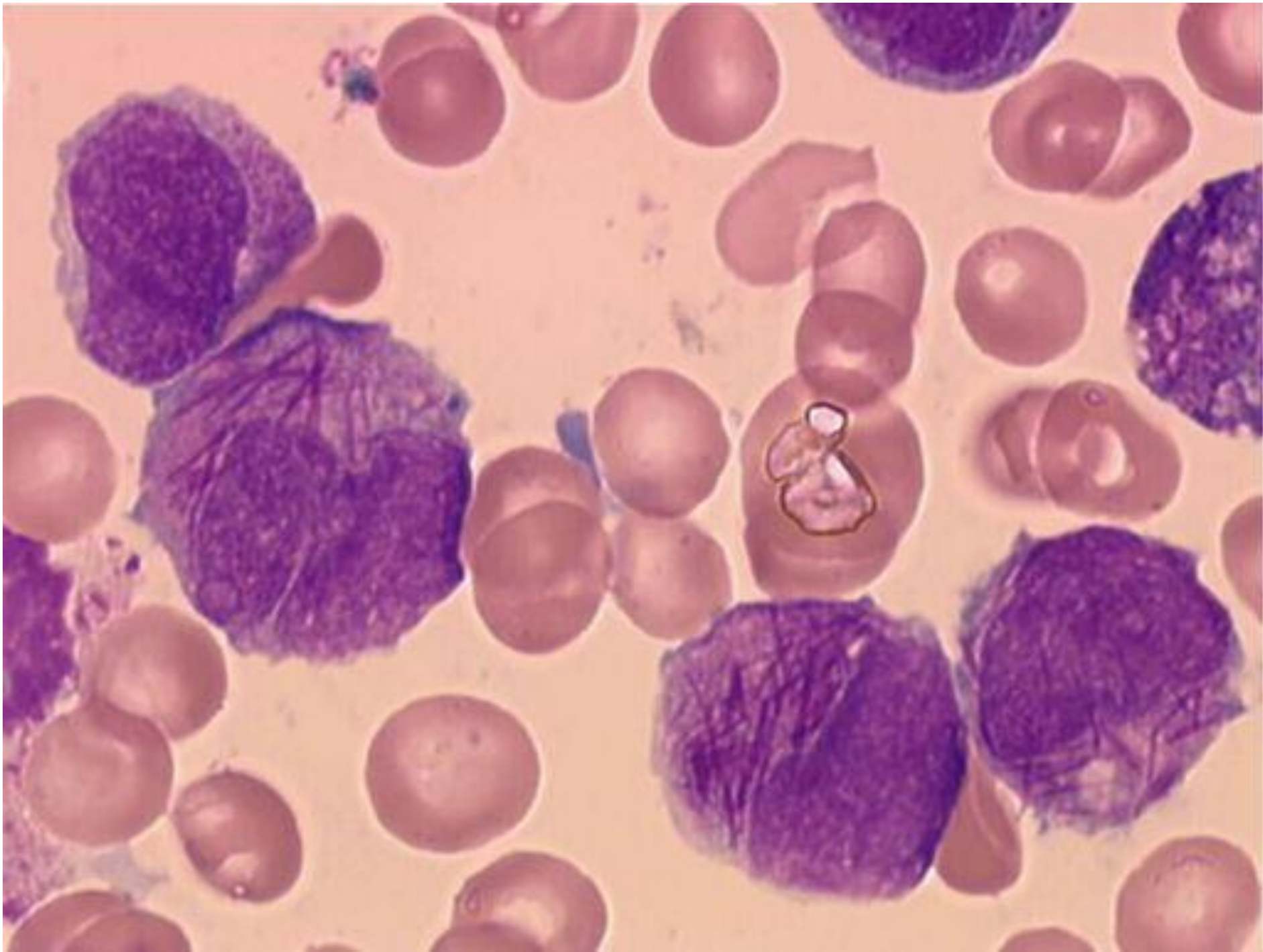


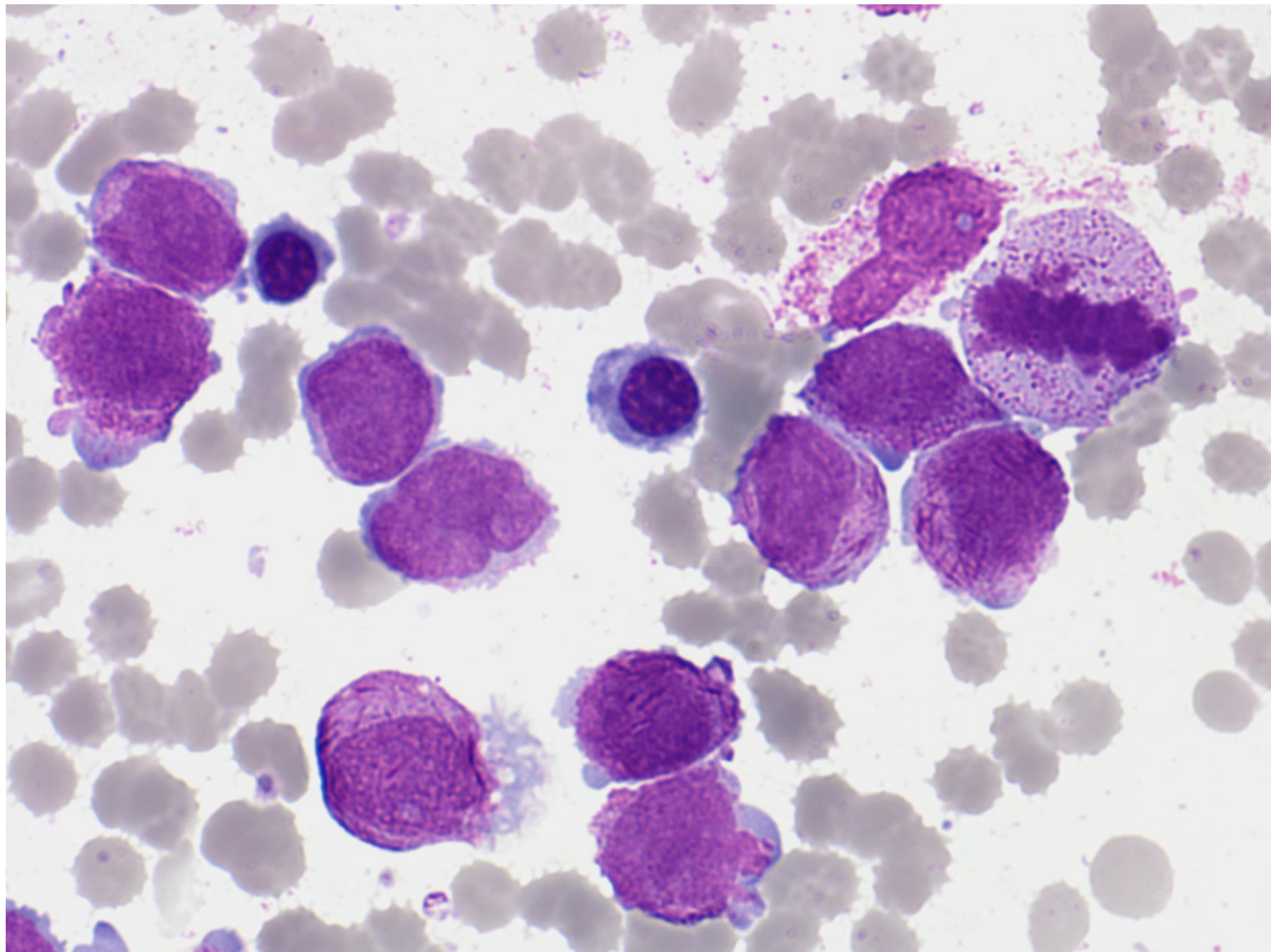
Asymptomatický – pre-DIC typ

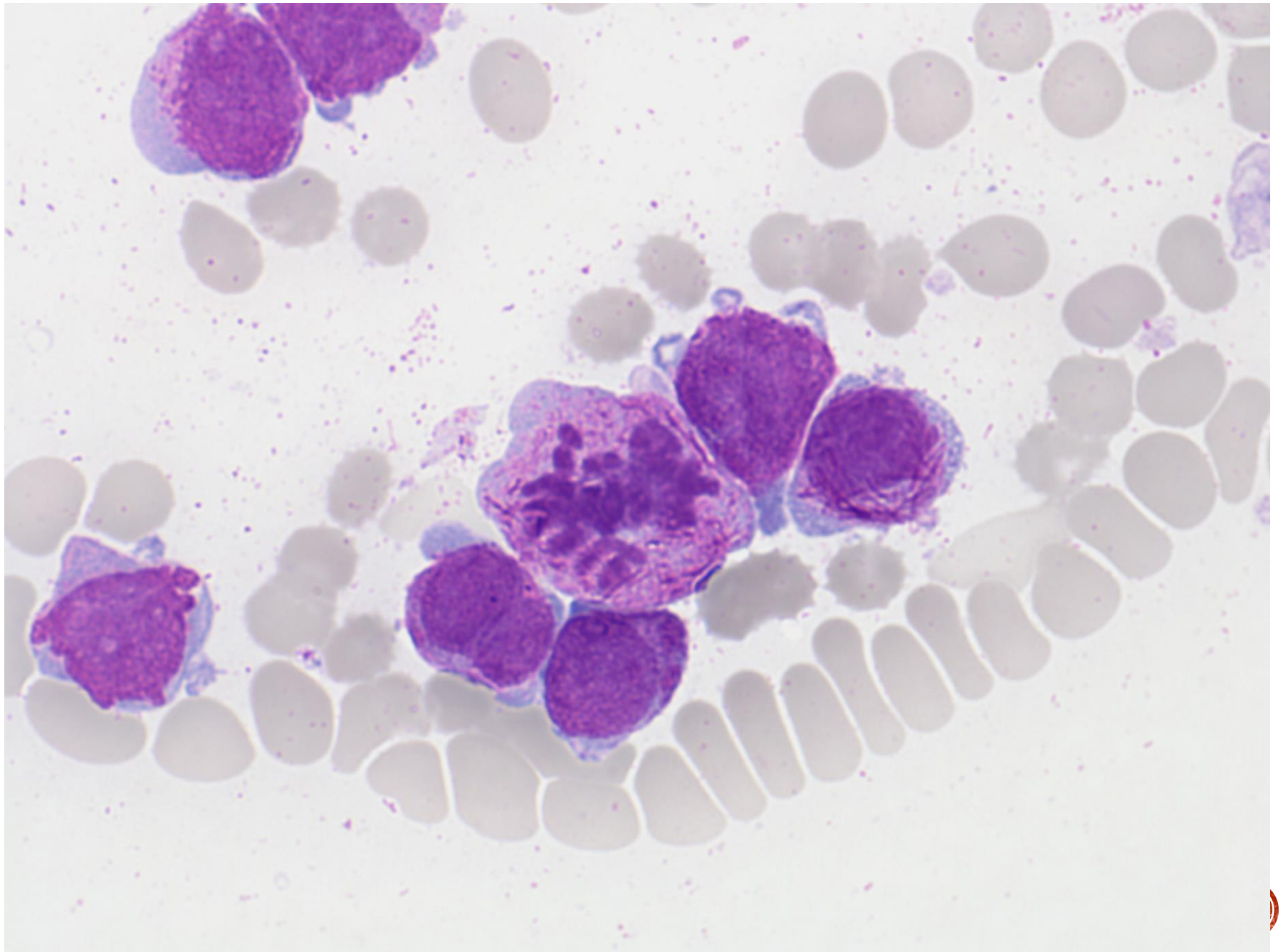




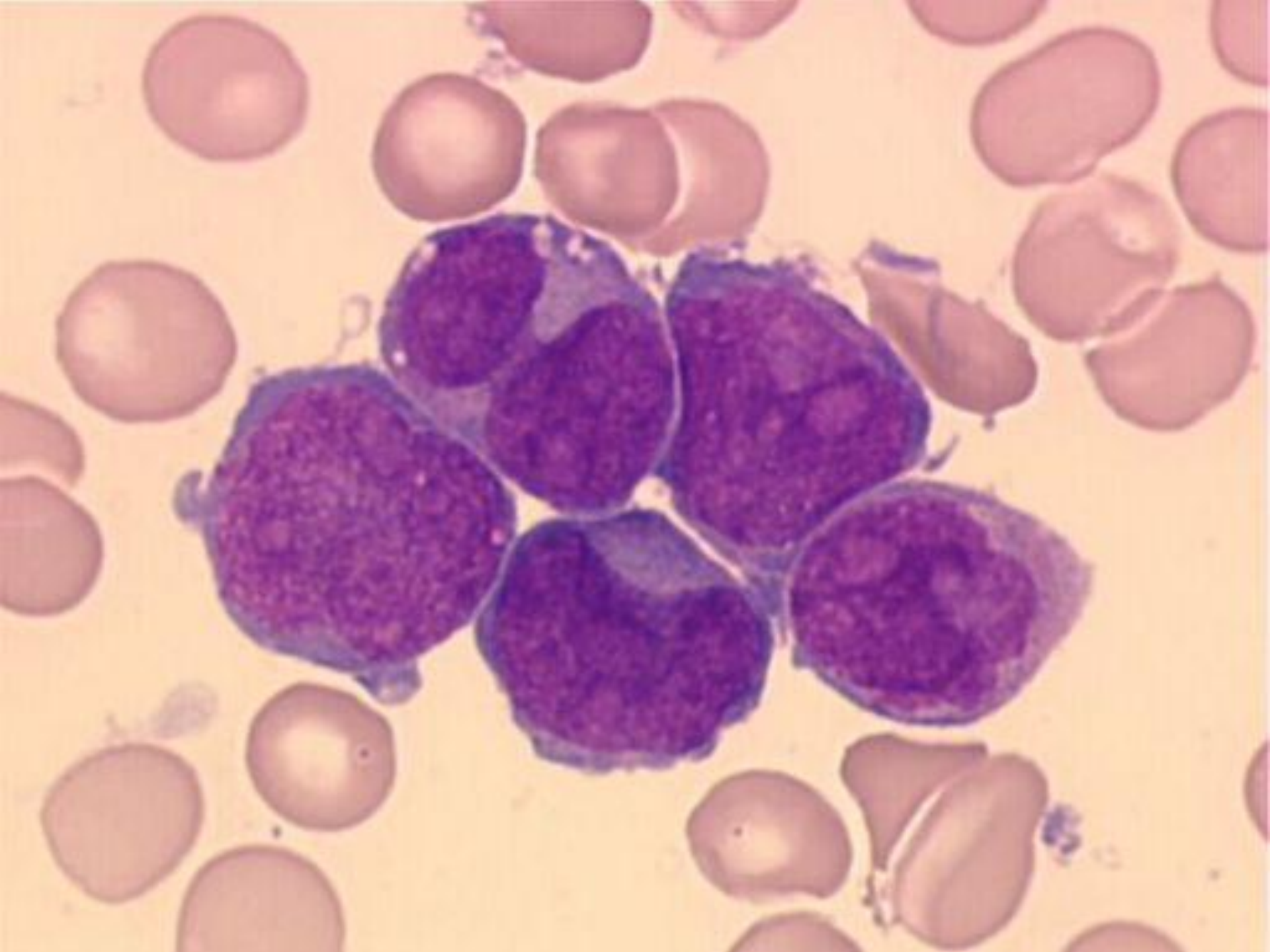


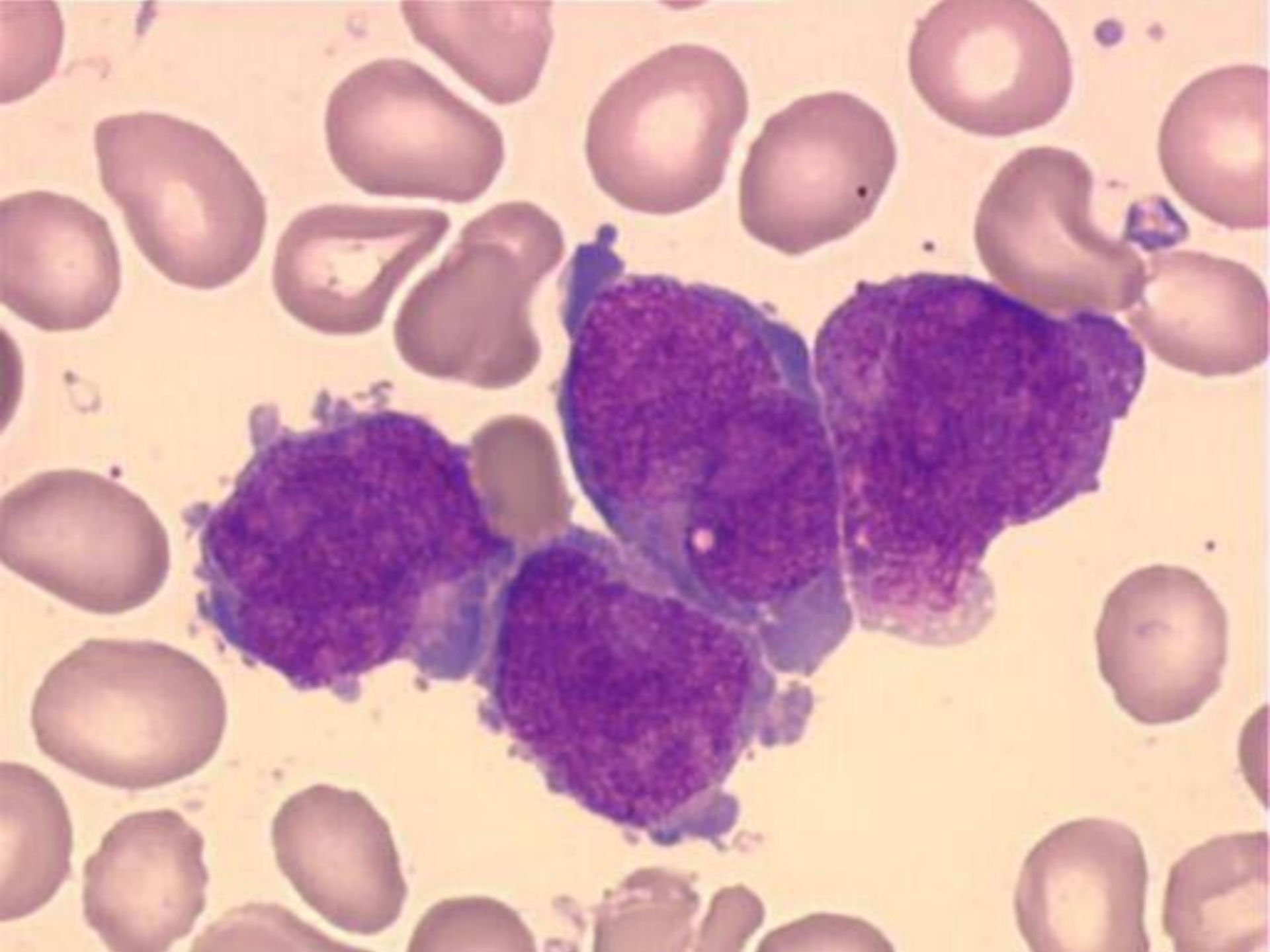


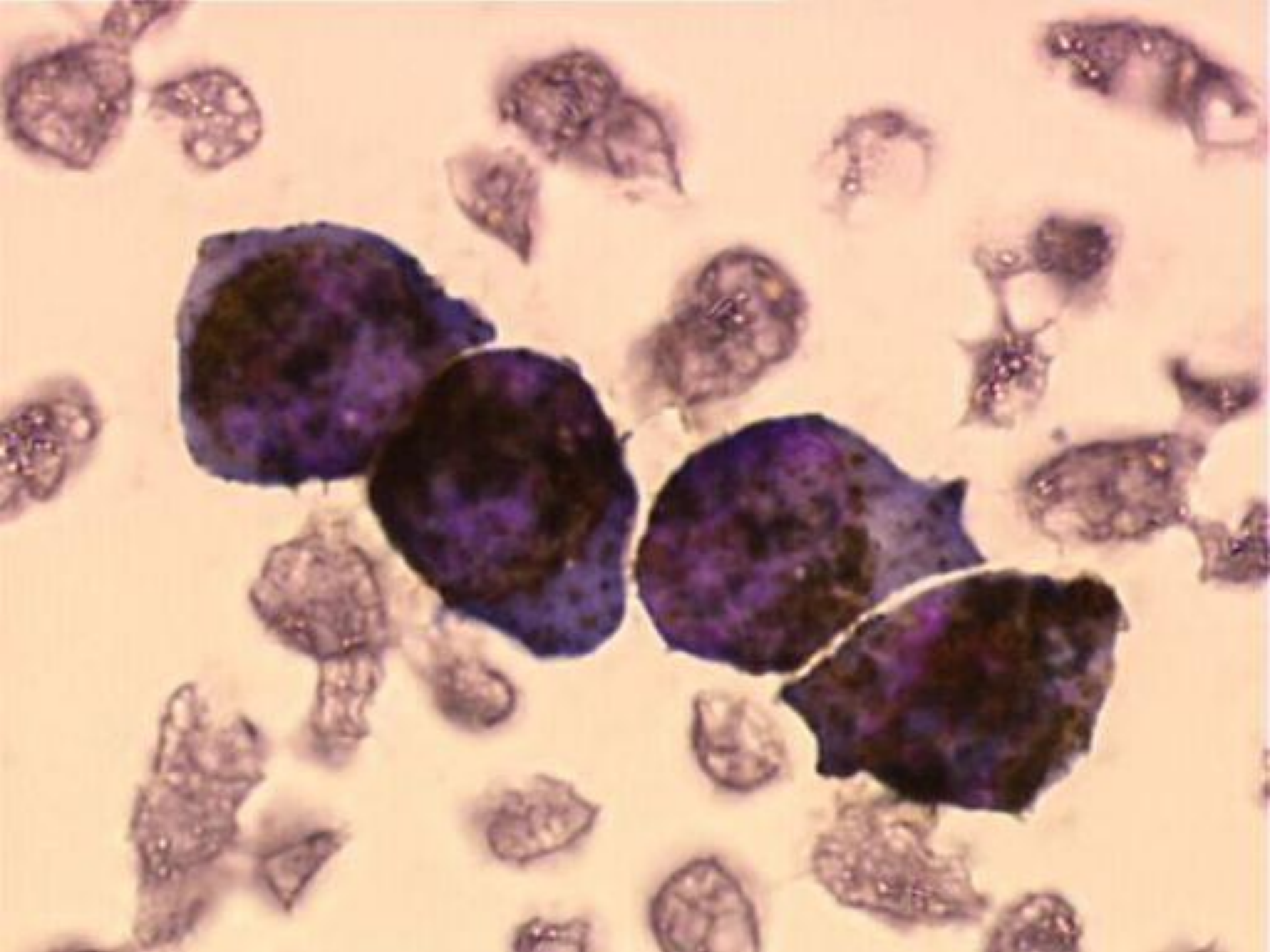












IMUNOFENOTYPIZACE

- chybí CD34 a HLA-DR u klasické formy; některé případy variantní formy s leukocytózou mohou mít CD34 (pak často současně CD2)
- chybí nebo jen slabě jsou pozitivní CD11a, CD11b a CD18
- je pozitivita CD33 a variantně CD13
- 20% nemocných může mít CD56 – tento náález je spojen s horší prognózou



MOLEKULÁRNÍ GENETIKA

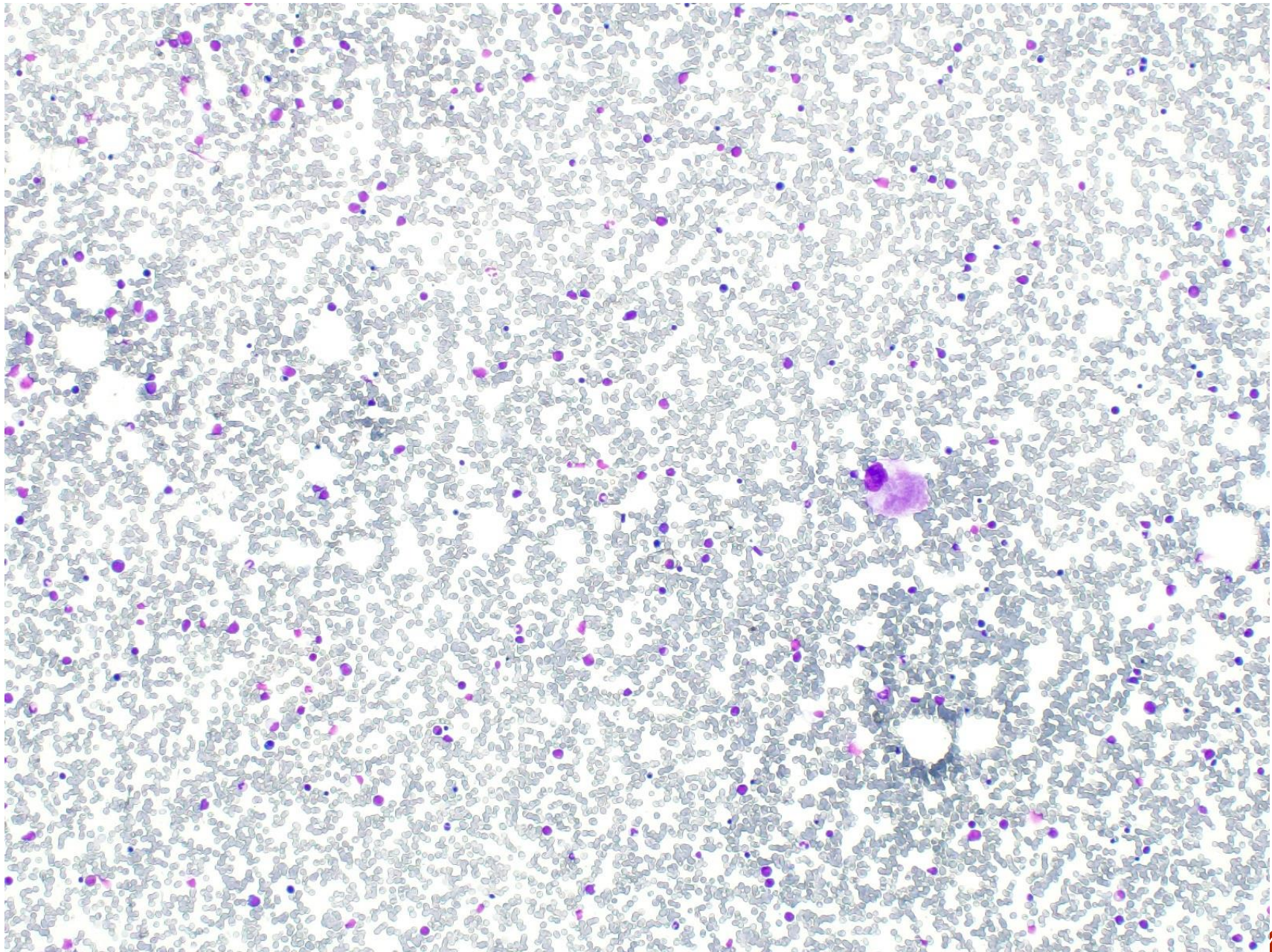
- fúzní genový produkt PML/RAR α
 - RAR α gen pro α -receptor kyseliny retinové na 17q21
 - PML - gen promyelocytární leukémie na 15q24
- 34-45% nemocných má navíc
 - FLT3-ITD či FLT3-TDK
 - často opět mikrogranulární varianta s hyperleukocytózou

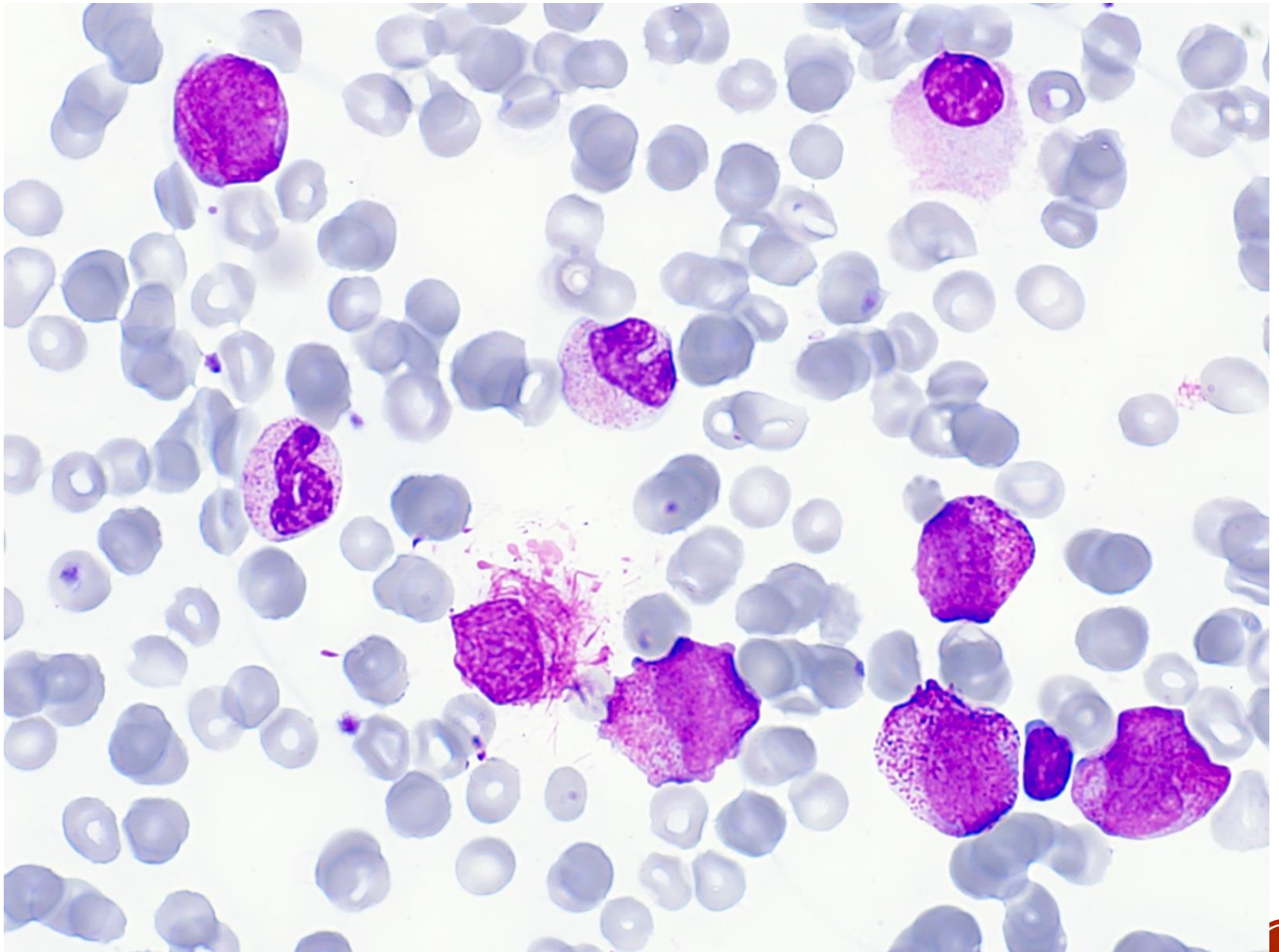


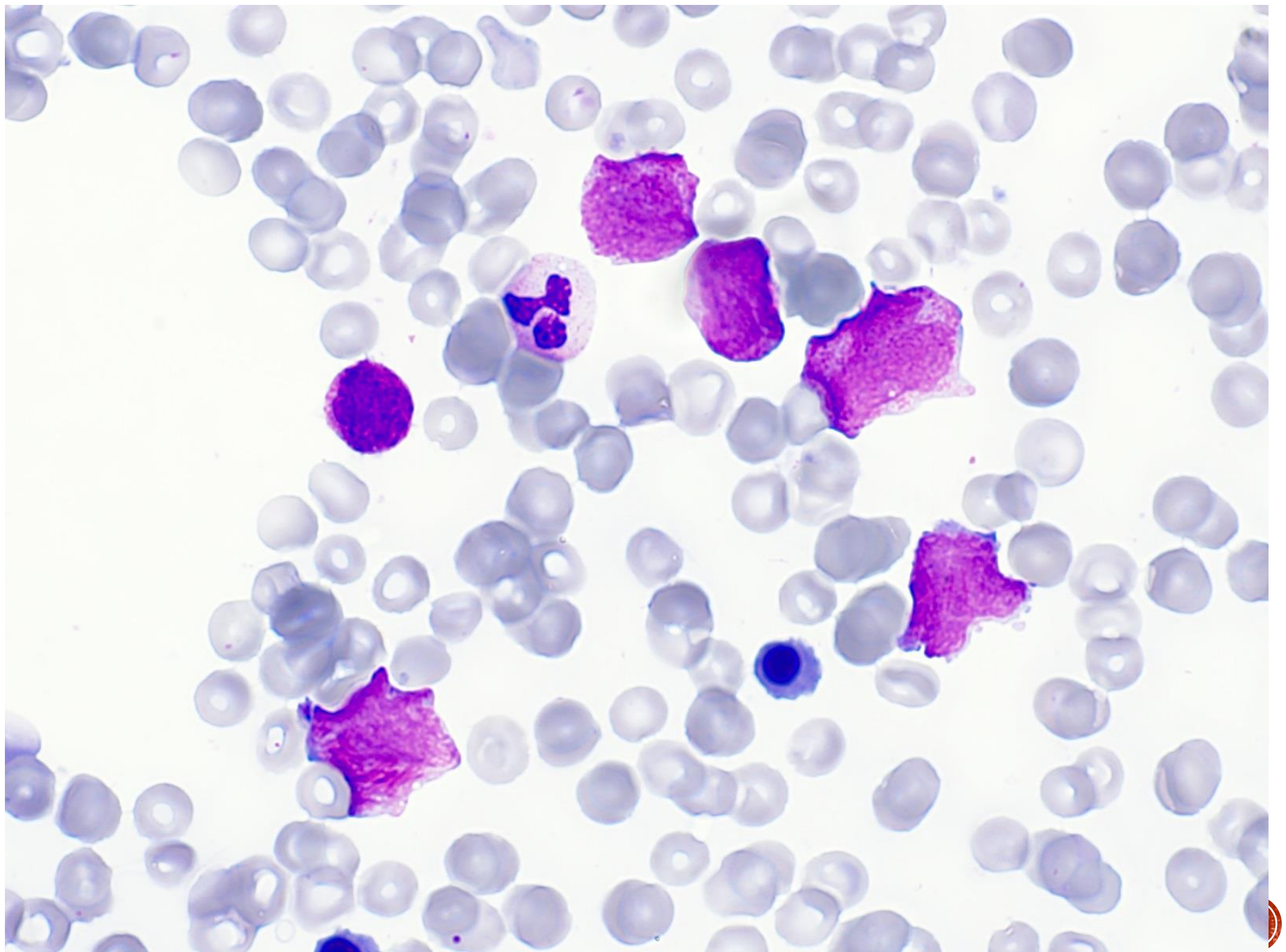
APL S PML/RARA SPOJENÁ S LÉČBOU

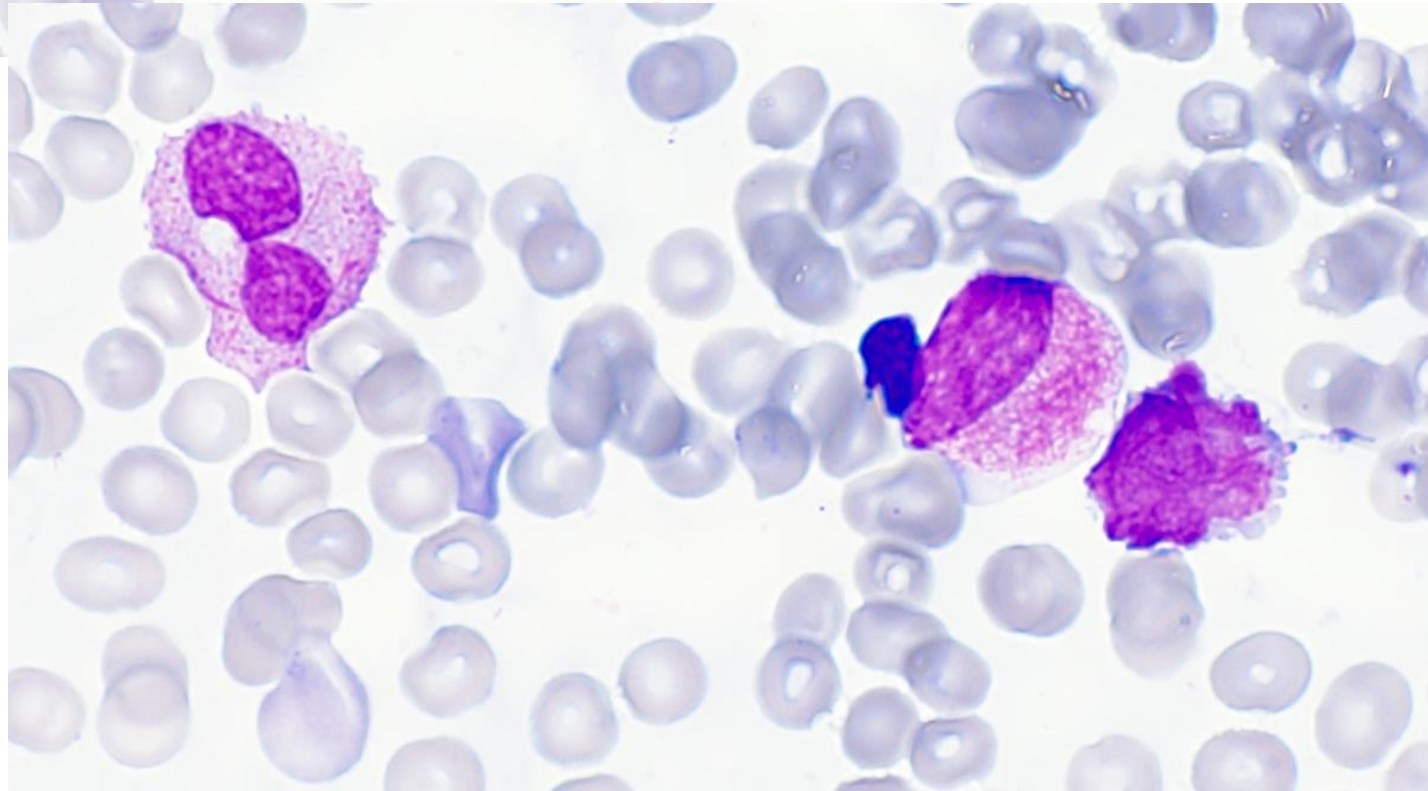
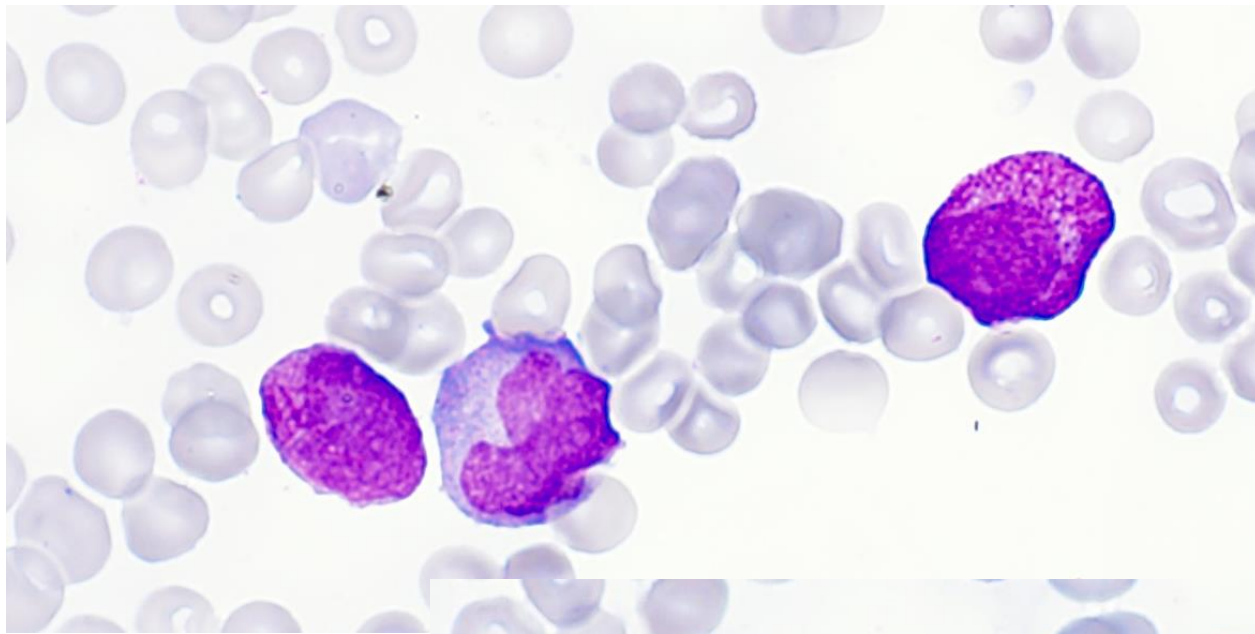
- vzniká vzácně byt' se v posledních letech frekvence výskytu zvyšuje (až 15-20% popisovaných případů)
- při stanovení diagnózy AML s reciprokou translokací s současně s anamnézou prodělané cytostatické léčby či radioterapie nelze s jistotou rozlišit, zda jde o de novo APL s PML/RARA nebo therapy-related AML charakteru APL s PML/RARA; rozlišení může přinést až reakce na léčbu, která je v případě therapy-related APL méně příznivá
- u typické therapy-related APL bývá v čase diagnózy více dysplastických rysů
- klasická léčba ATRA spíše selhává v porovnání s kombinovanou terapií či podáváním ATO

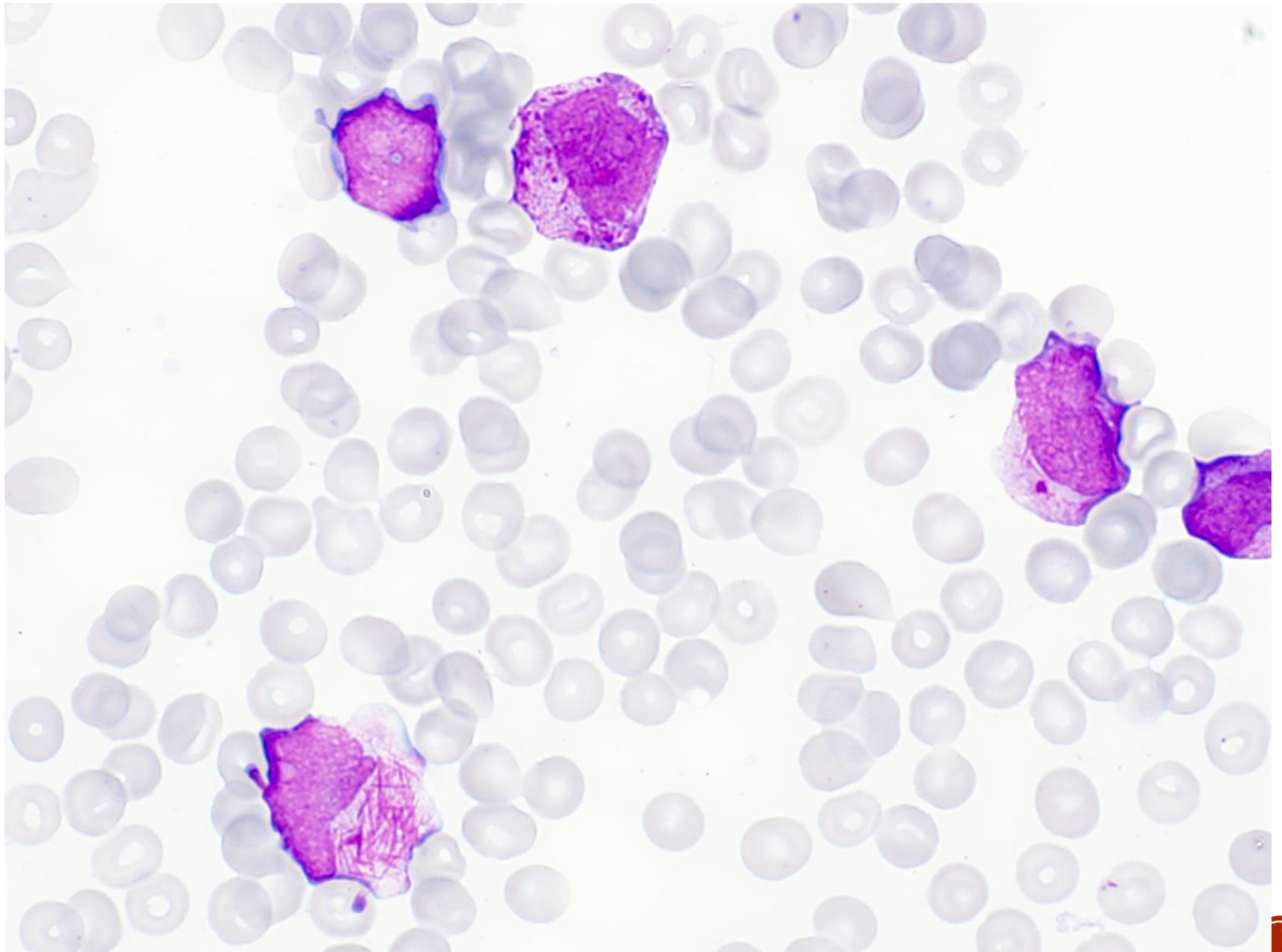


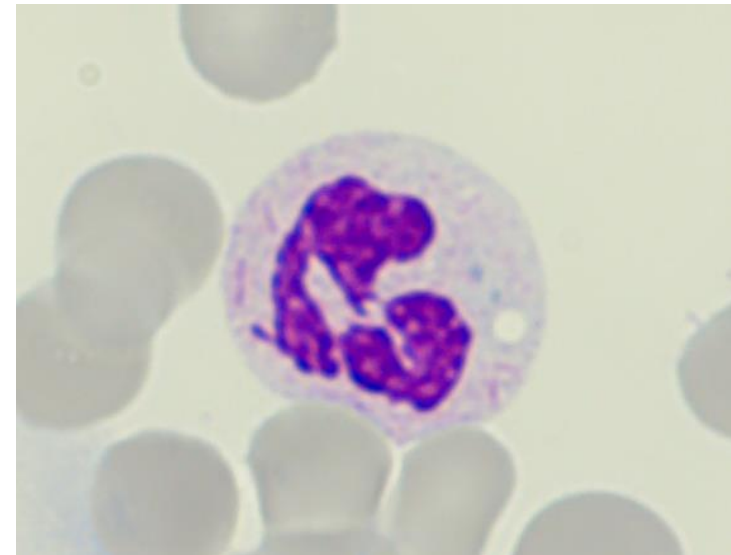
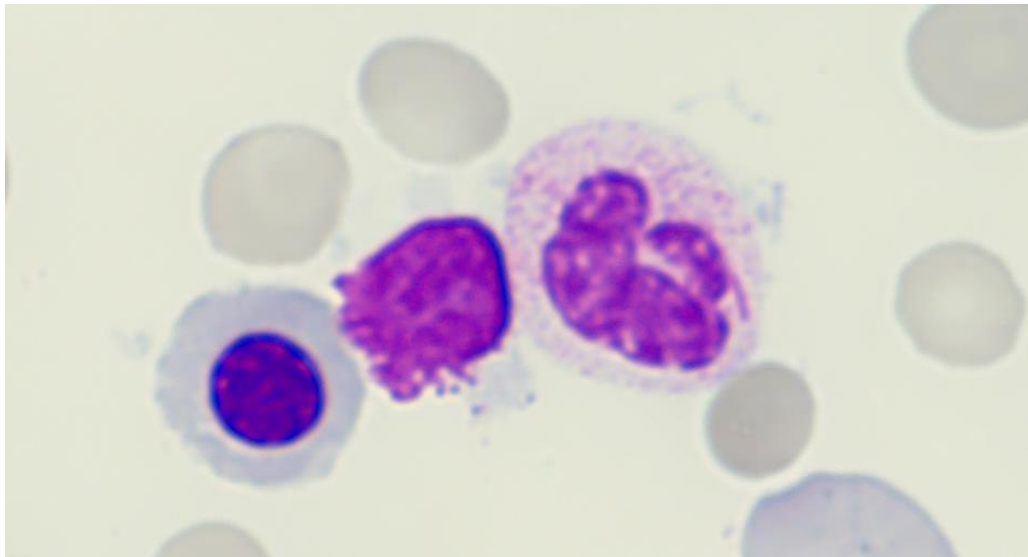
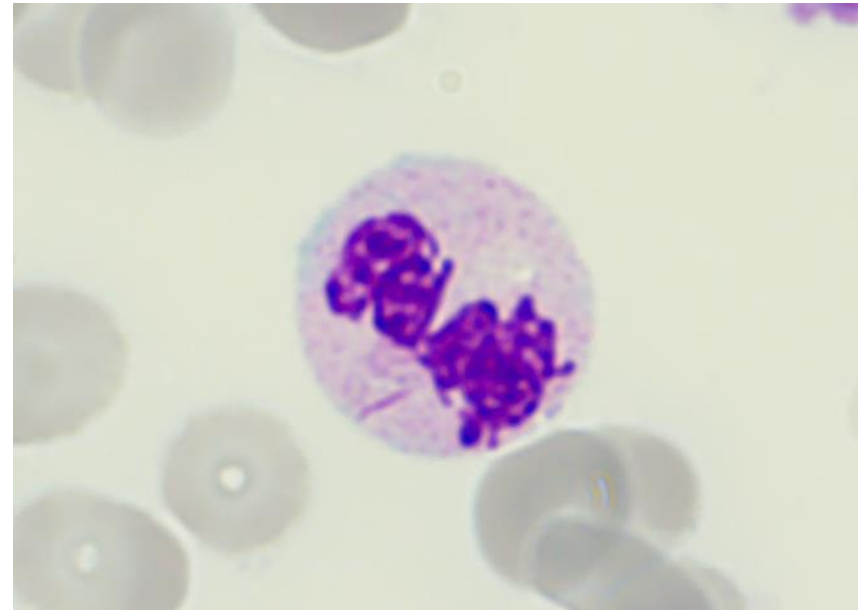
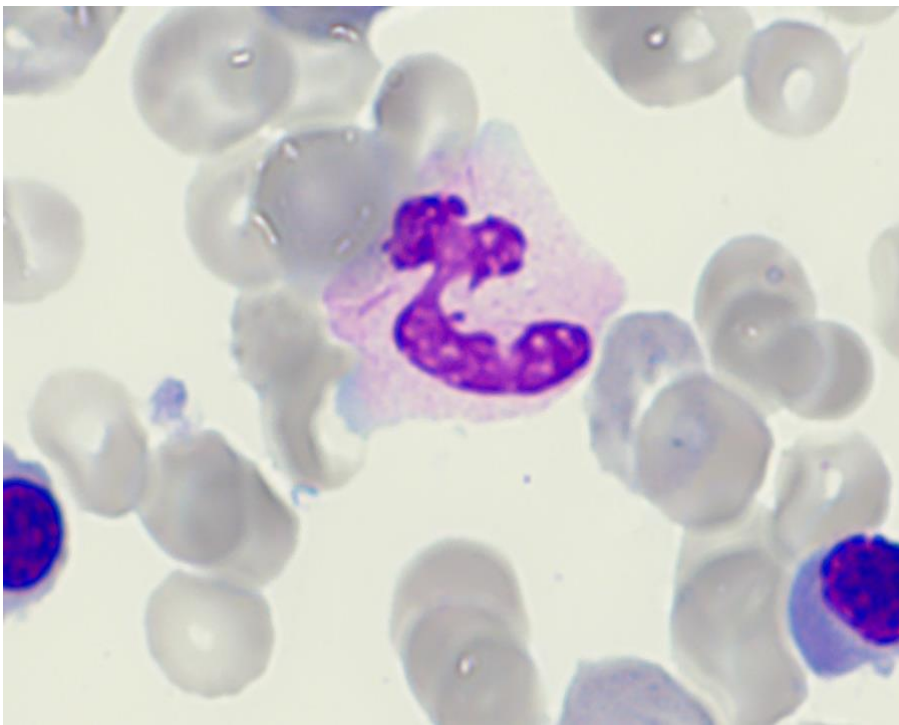








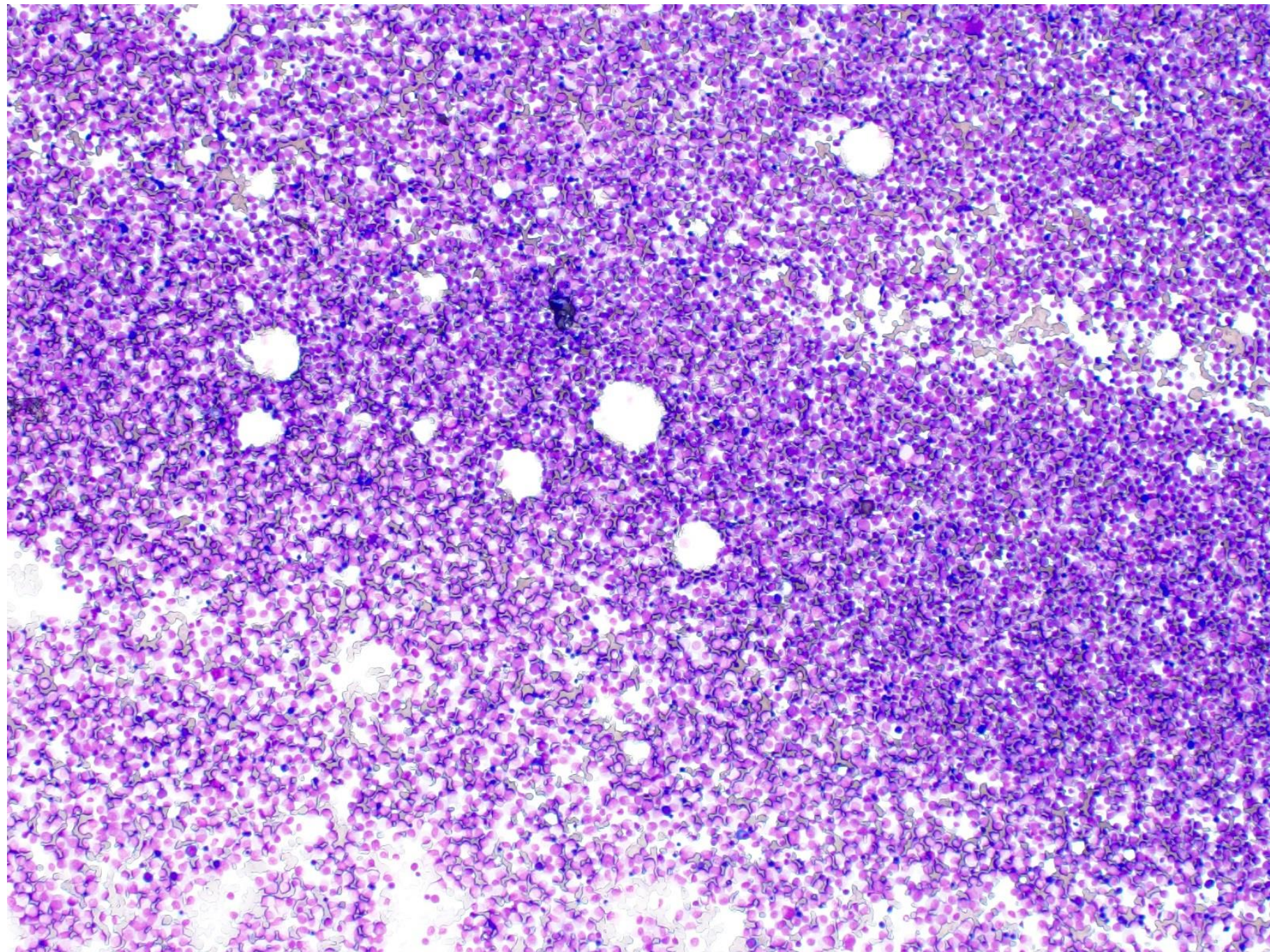


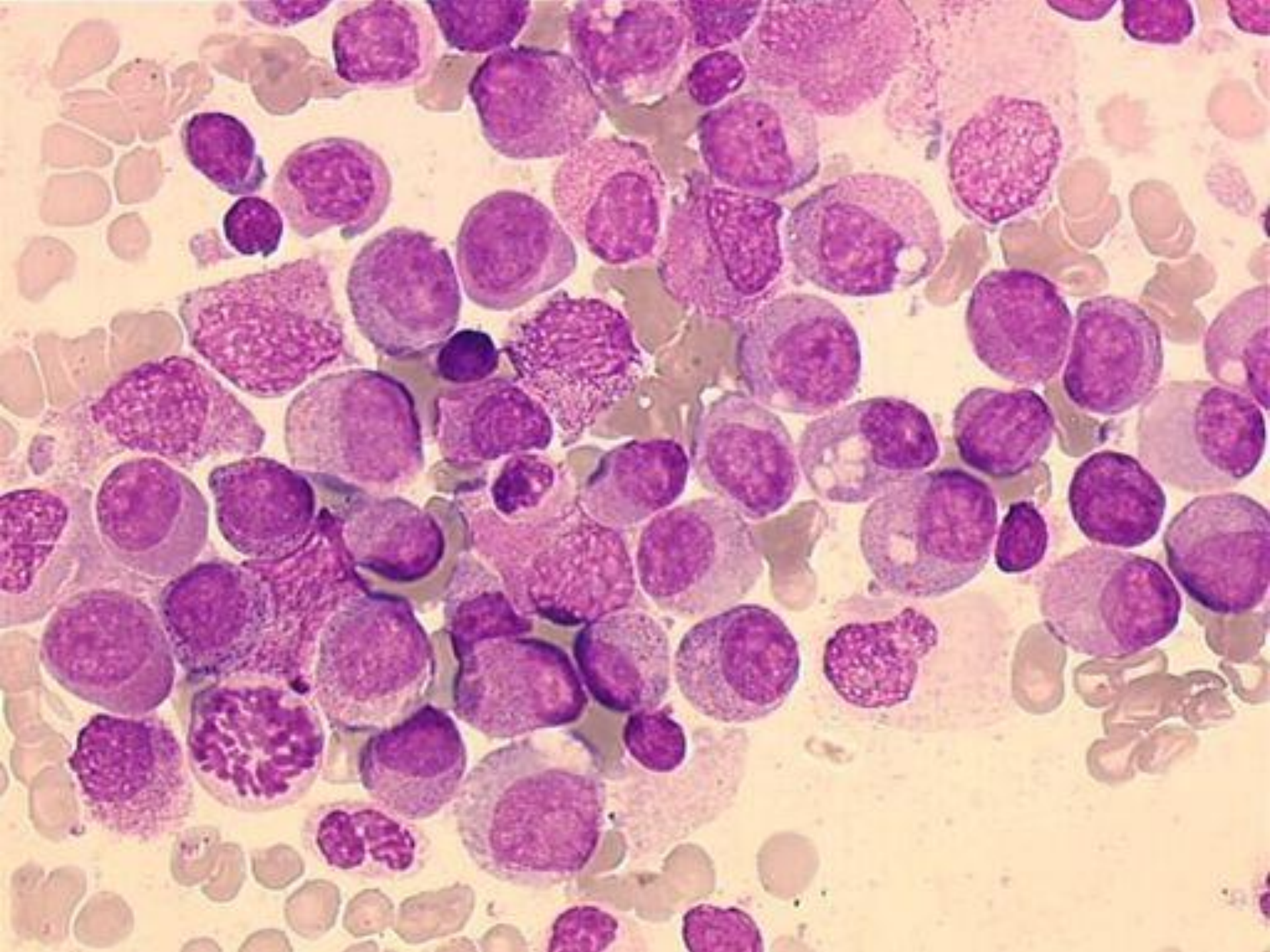


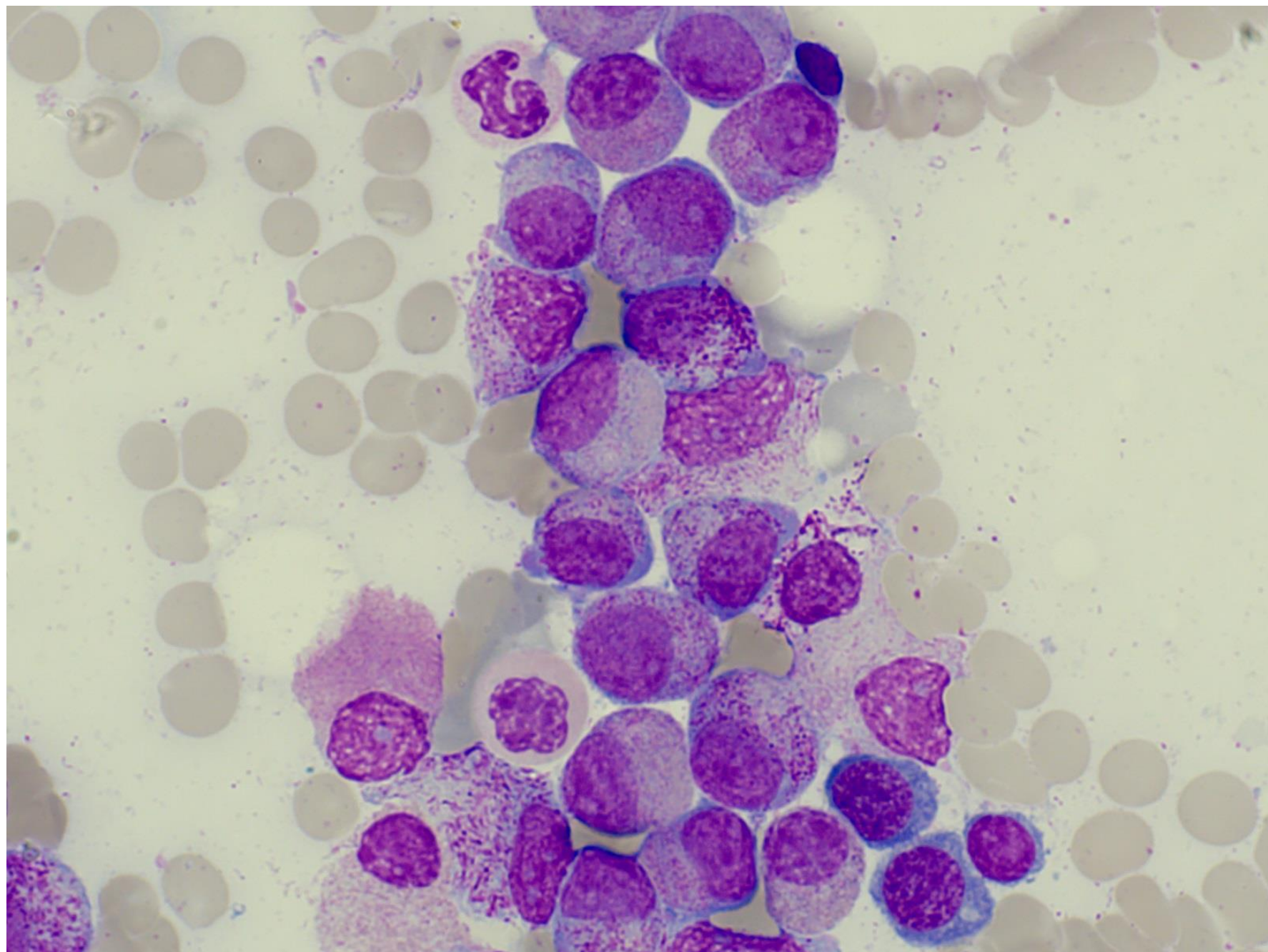
APL S ZBTB16 (PLZF)/RARA

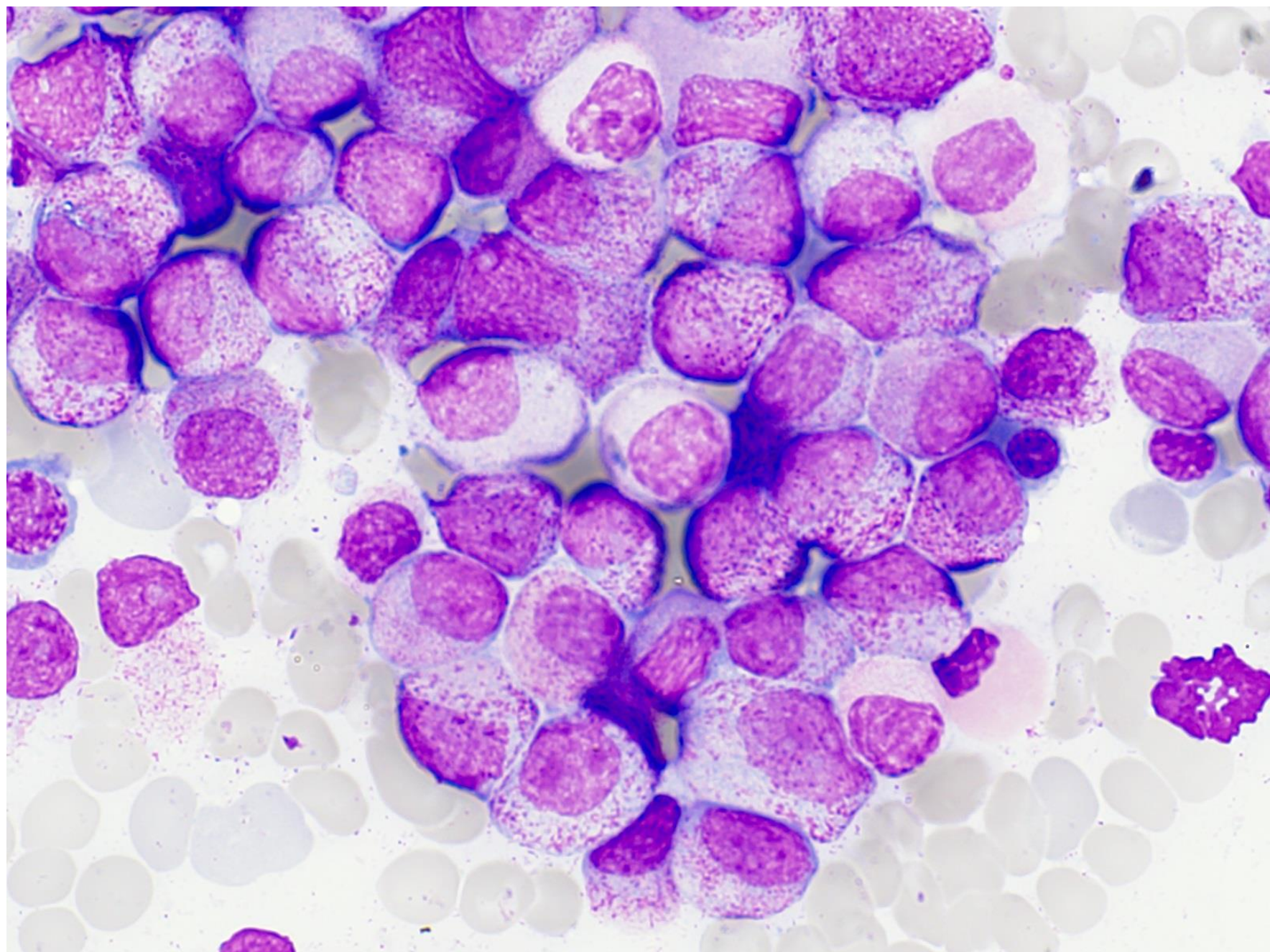
- vzniká translokací $t(11;17)(q23;q21)$
- jde o nejčastější variantu APL, která je popisována až u 1% nemocných
- exprese genu ZBTB16 (PLZF) je spojen s řadou buněčných procesů jako je diferenciace, apoptóza, proliferace a bylo prokázáno, že inhibuje buněčný cyklus mezi G0/G1; je spojován s řadou nádorových chorob, včetně tumorů střeva, plic, štítné žlázy, nádorů varlat a prostaty
- gen ZBTB16 je exprimován na hemopoetických kmenových buňkách a progenitorech; tato exprese klesá v závislosti s buněčným vyžíváním
- zvýšená exprese genu prodlužuje přežití HSC, což ovlivňuje buněčnou diferenciaci.

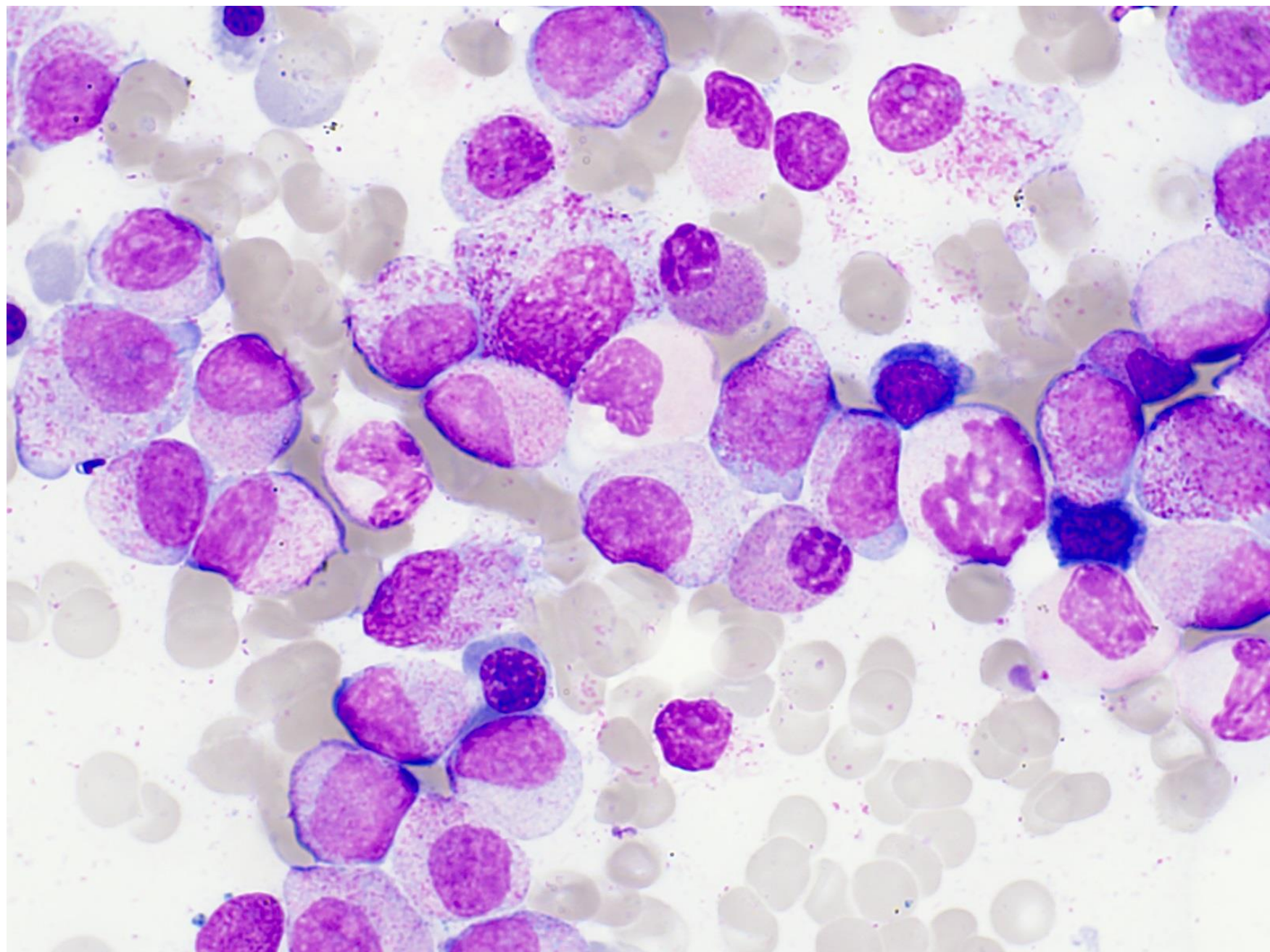


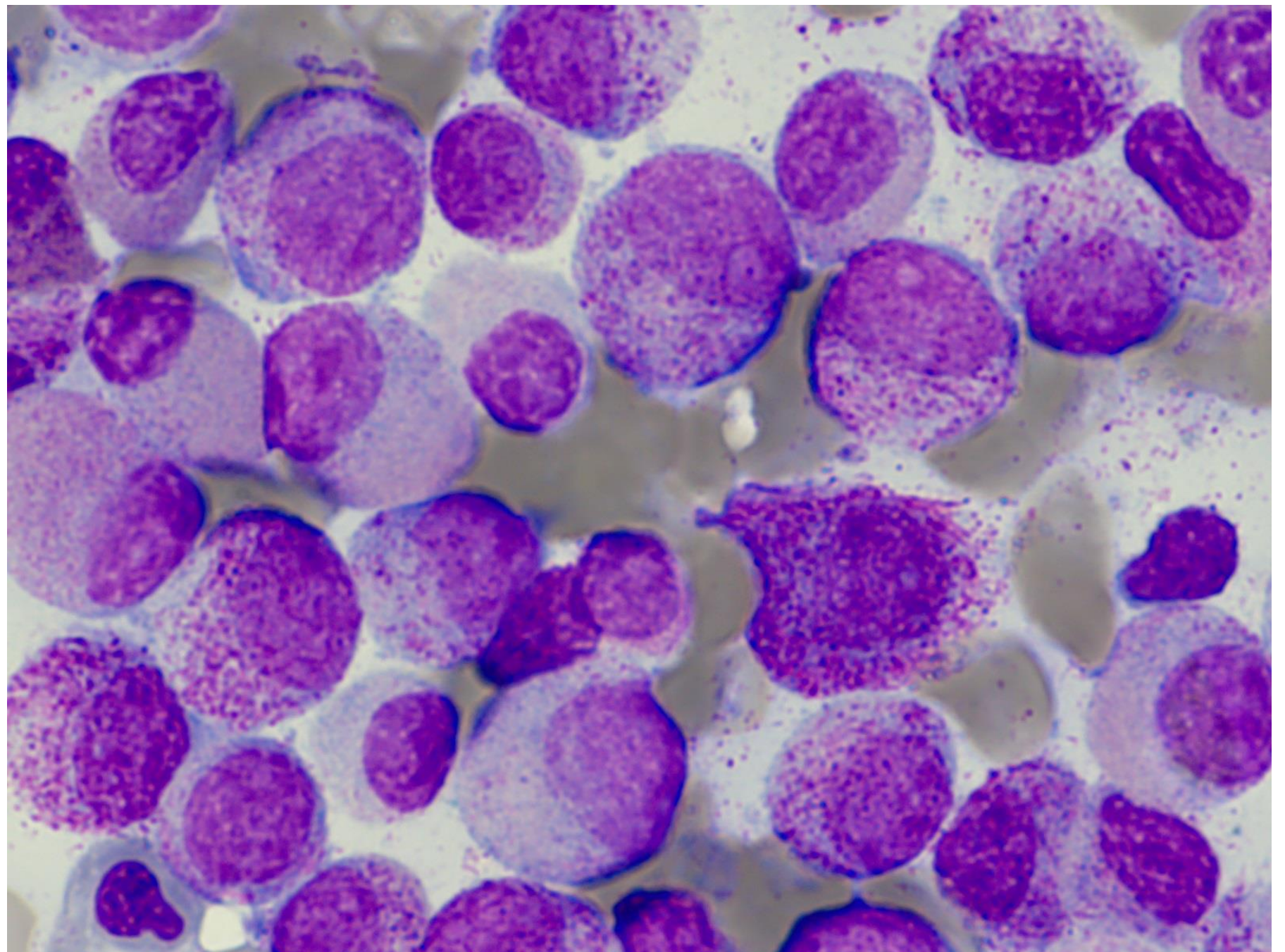


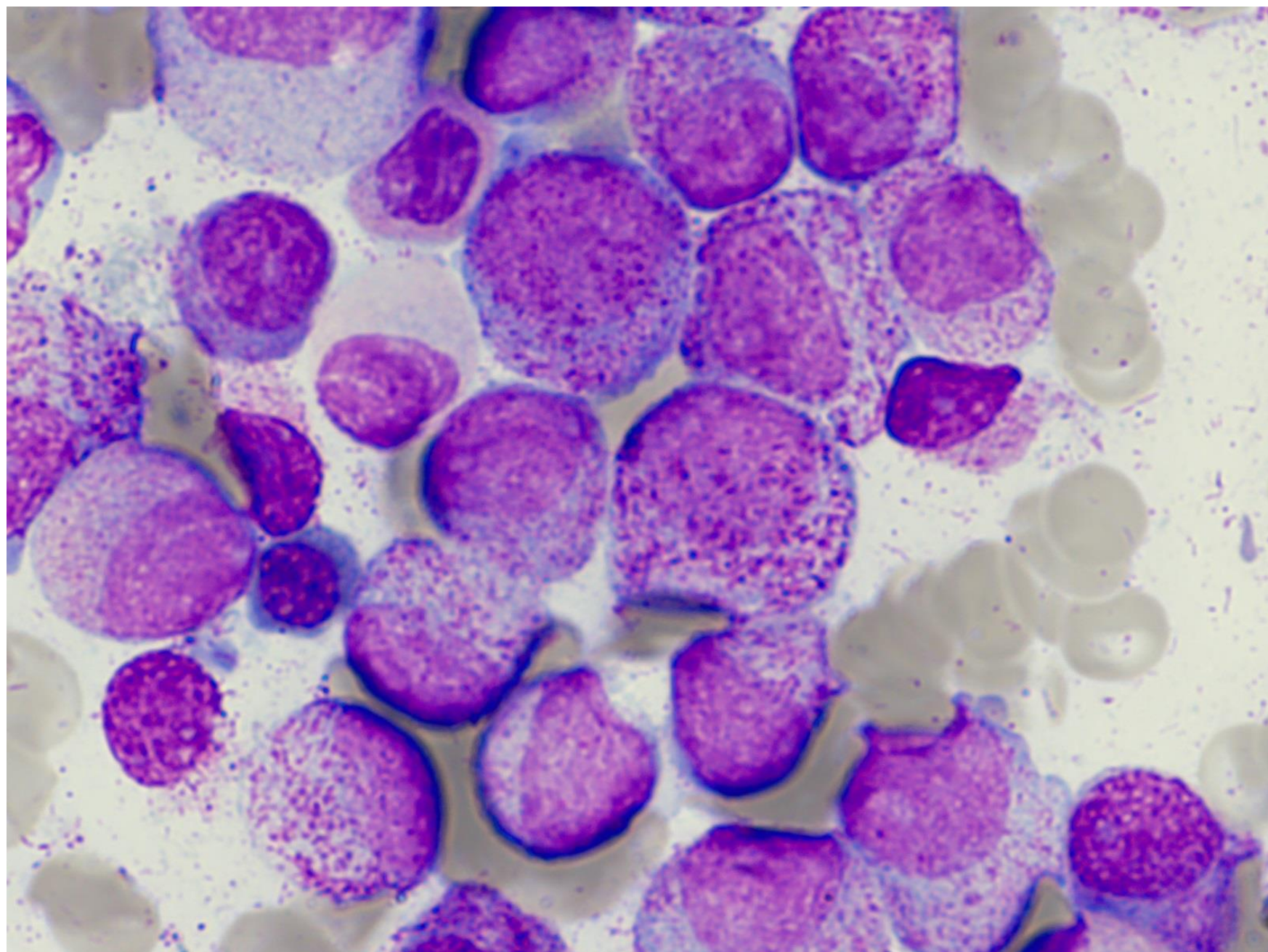


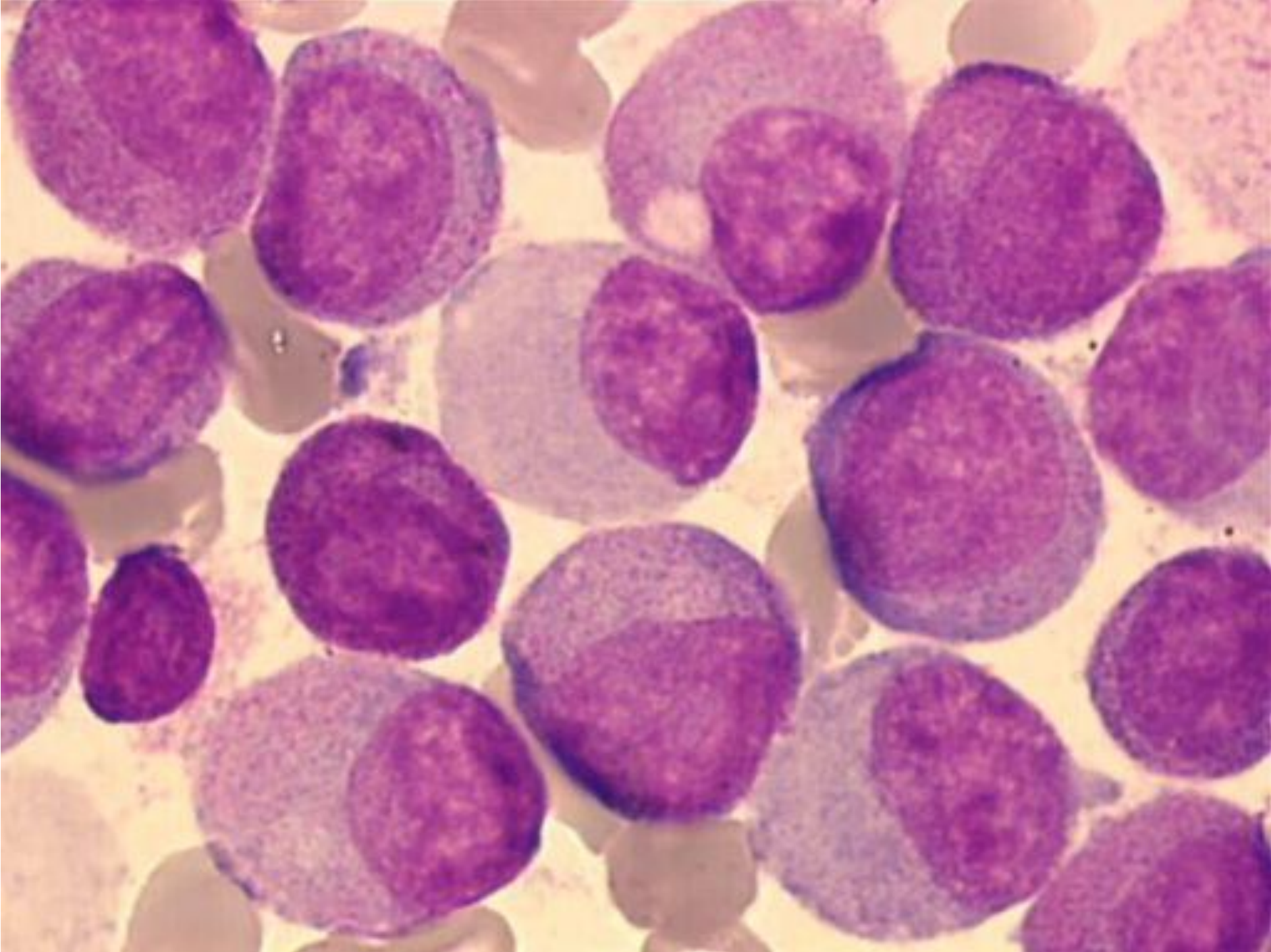


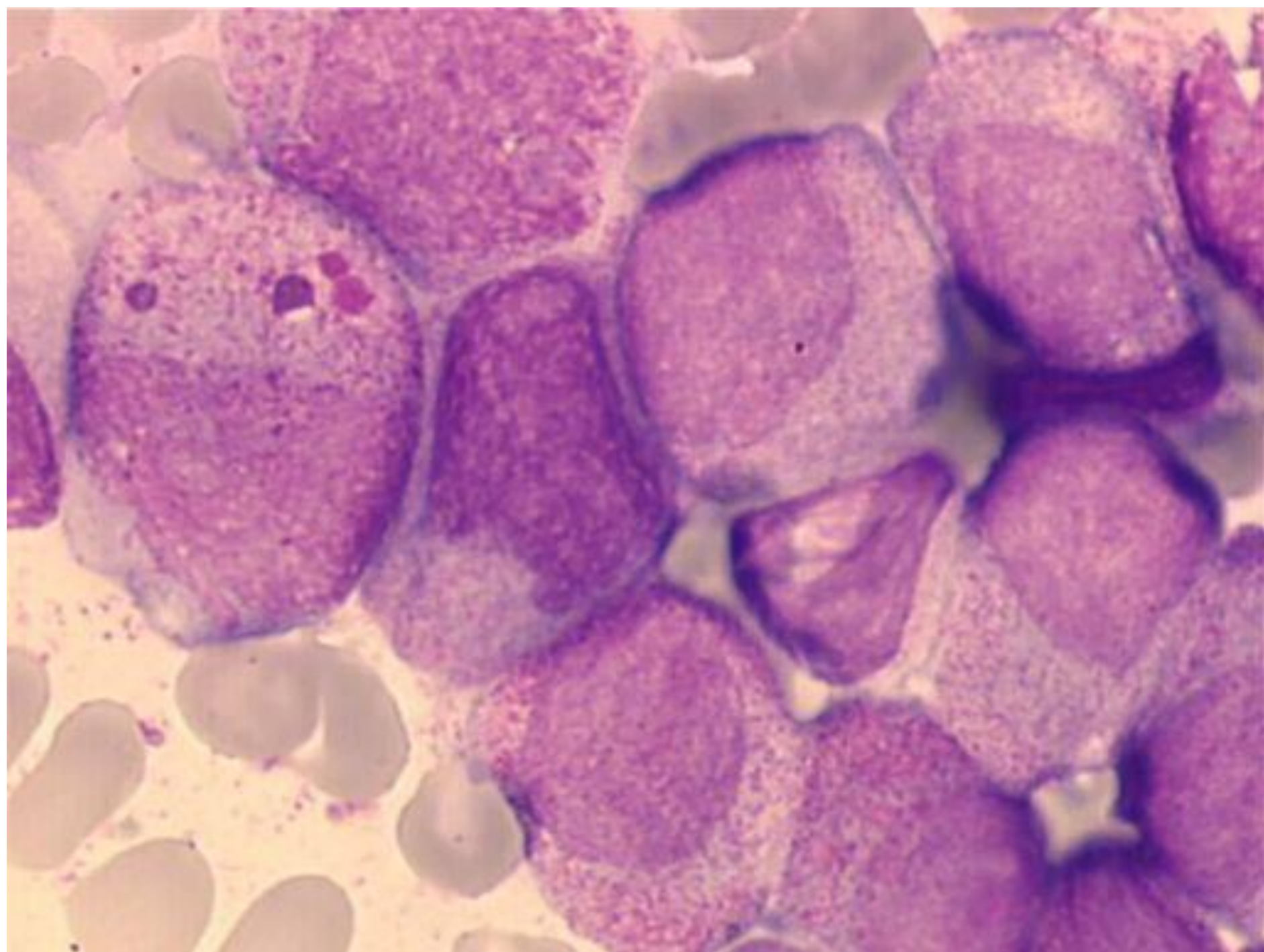


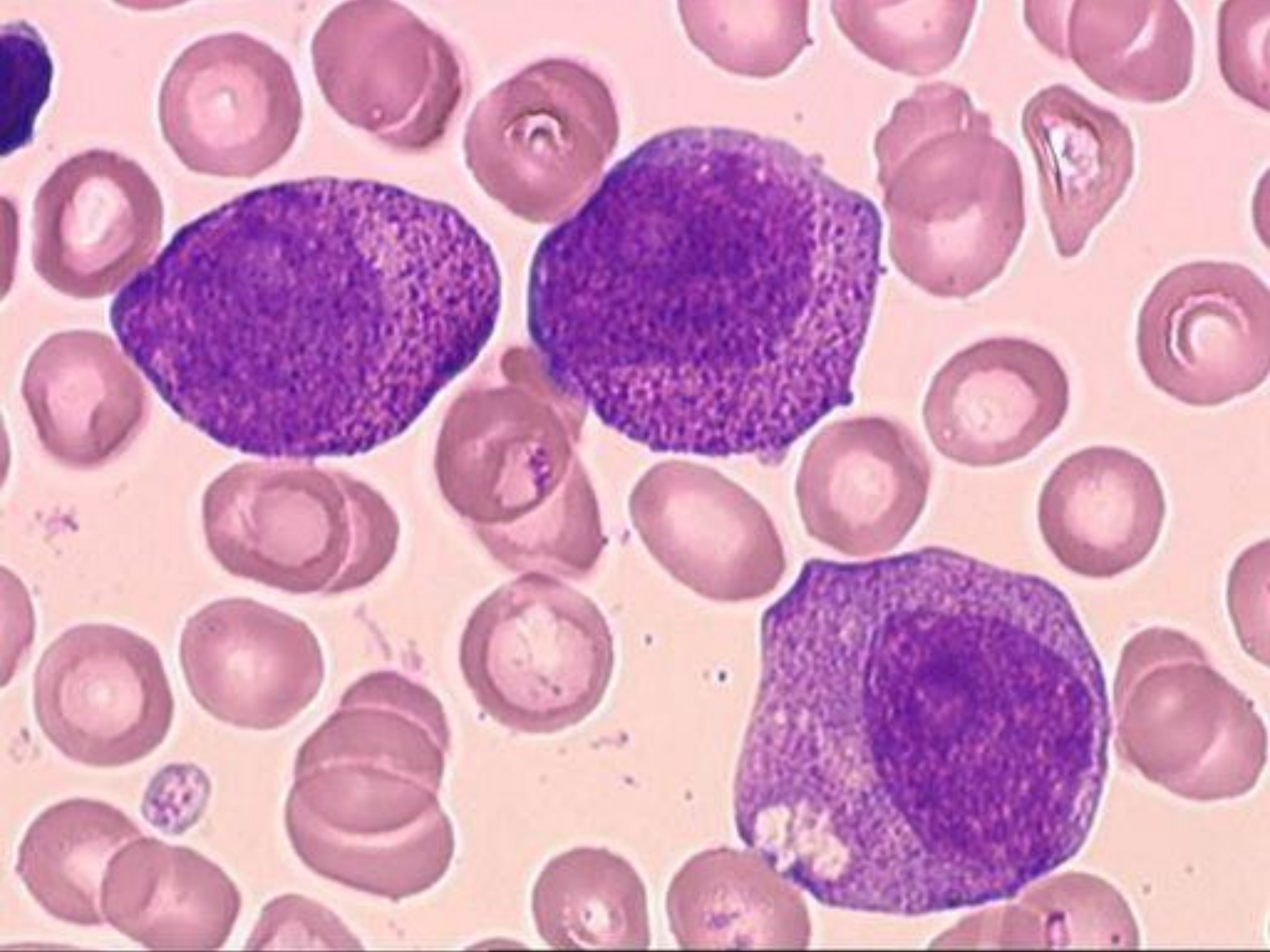








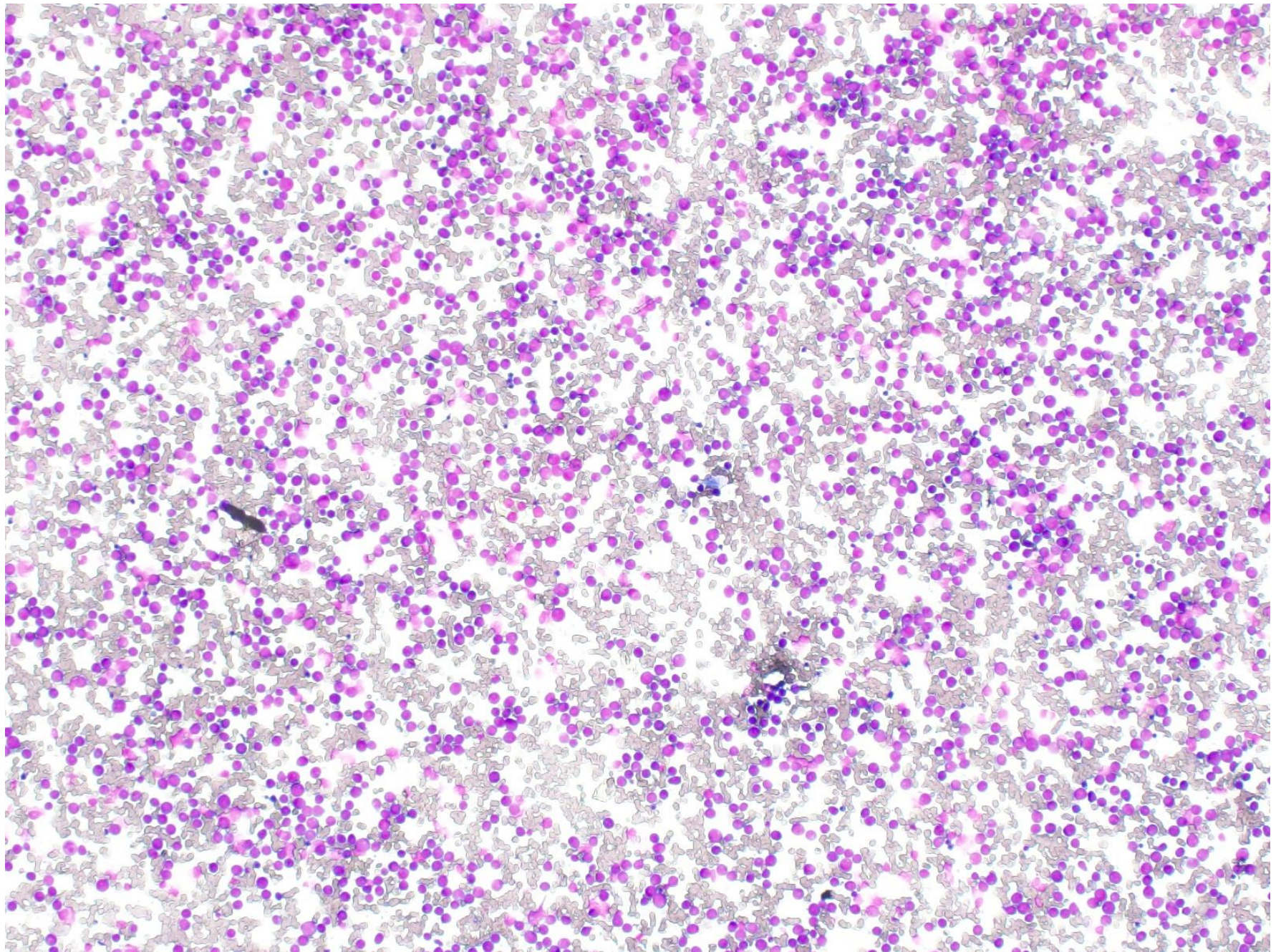


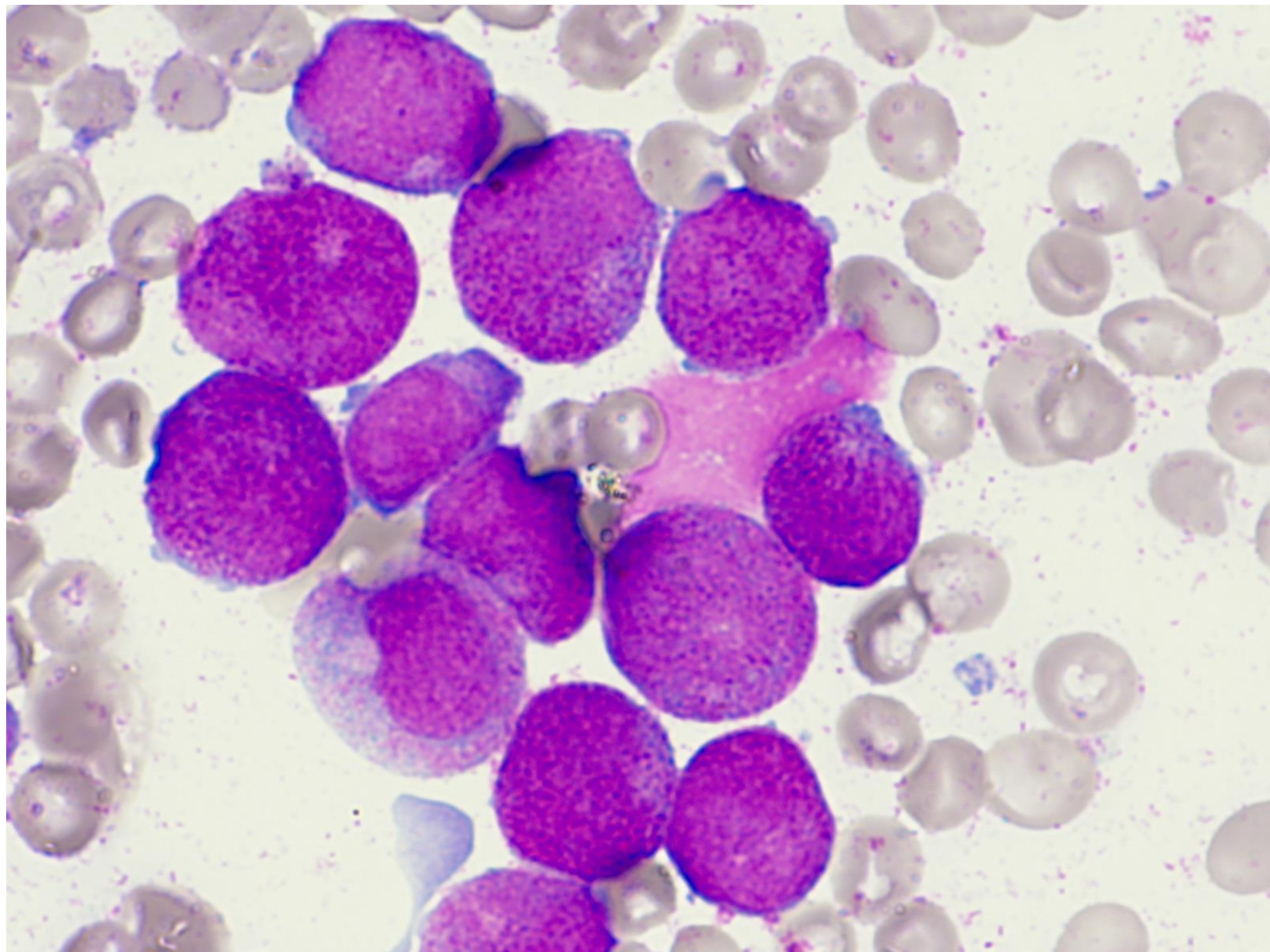


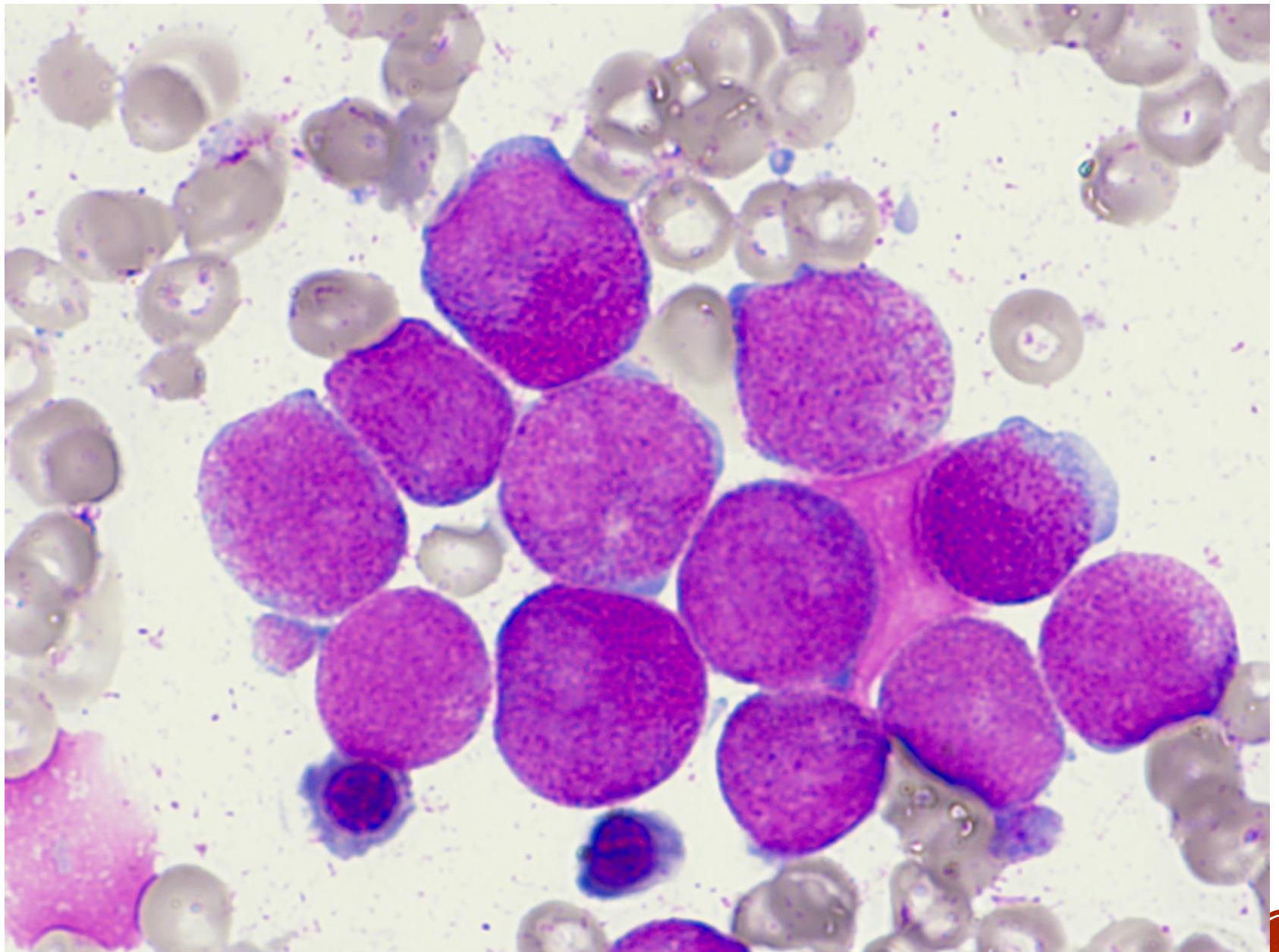
APL S NPM1/RARA

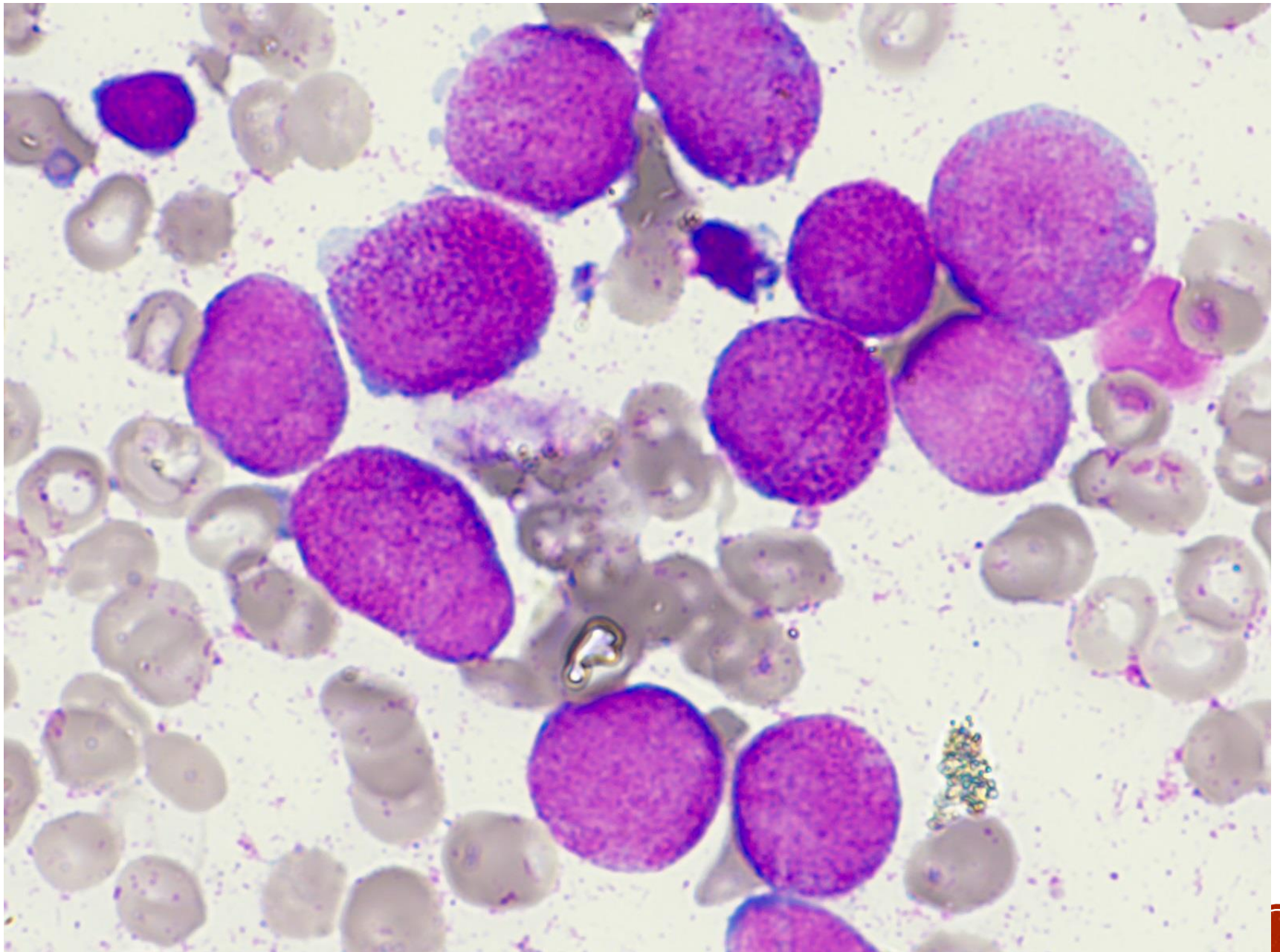
- druhá nejčastější varianta APL
- fúzní onkogen vzniká v důsledku $t(5;17)(q35;q21)$
- jaderný protein nukleofosmin (NPM1) hraje roli v regulační aktivitě řady nádorových supresorových genů (MDM2, p53, ARF), zasahuje do biogeneze ribosomů resp. cestou přímé interakce s c-myc zasahuje do syntézy proteinů
- alterace či mutace genu NPM1 je popsána u řady onkologických chorob, včetně kolorektálního karcinomu, nemalobuněčného tumoru plic, či různých typů AML
- morfologicky může připomínat klasickou formu APL jak hypergranulární tak mikrogranulární, často však chybějí Auerovy tyče
- APL koagulopatie je obvykle přítomná

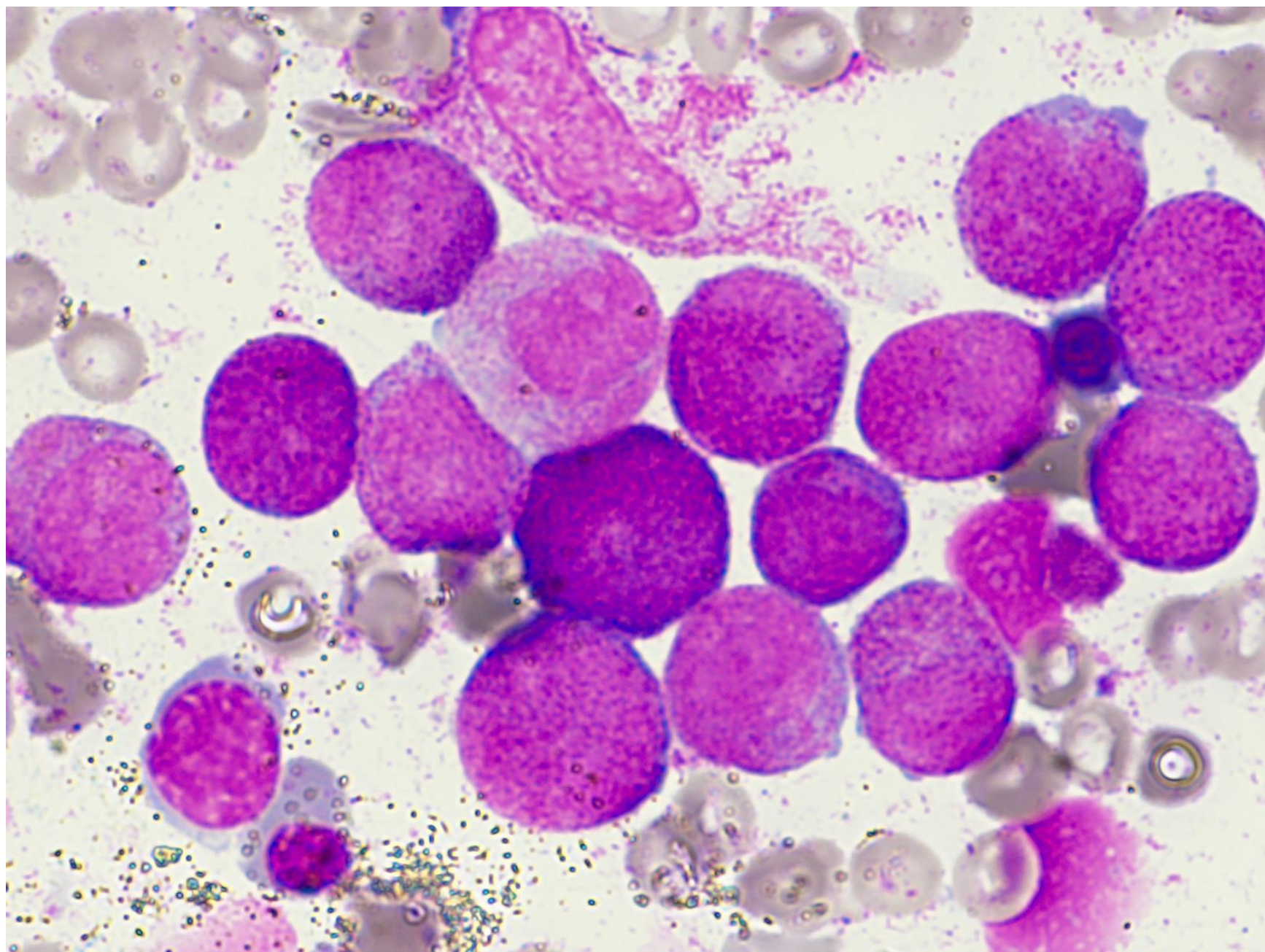


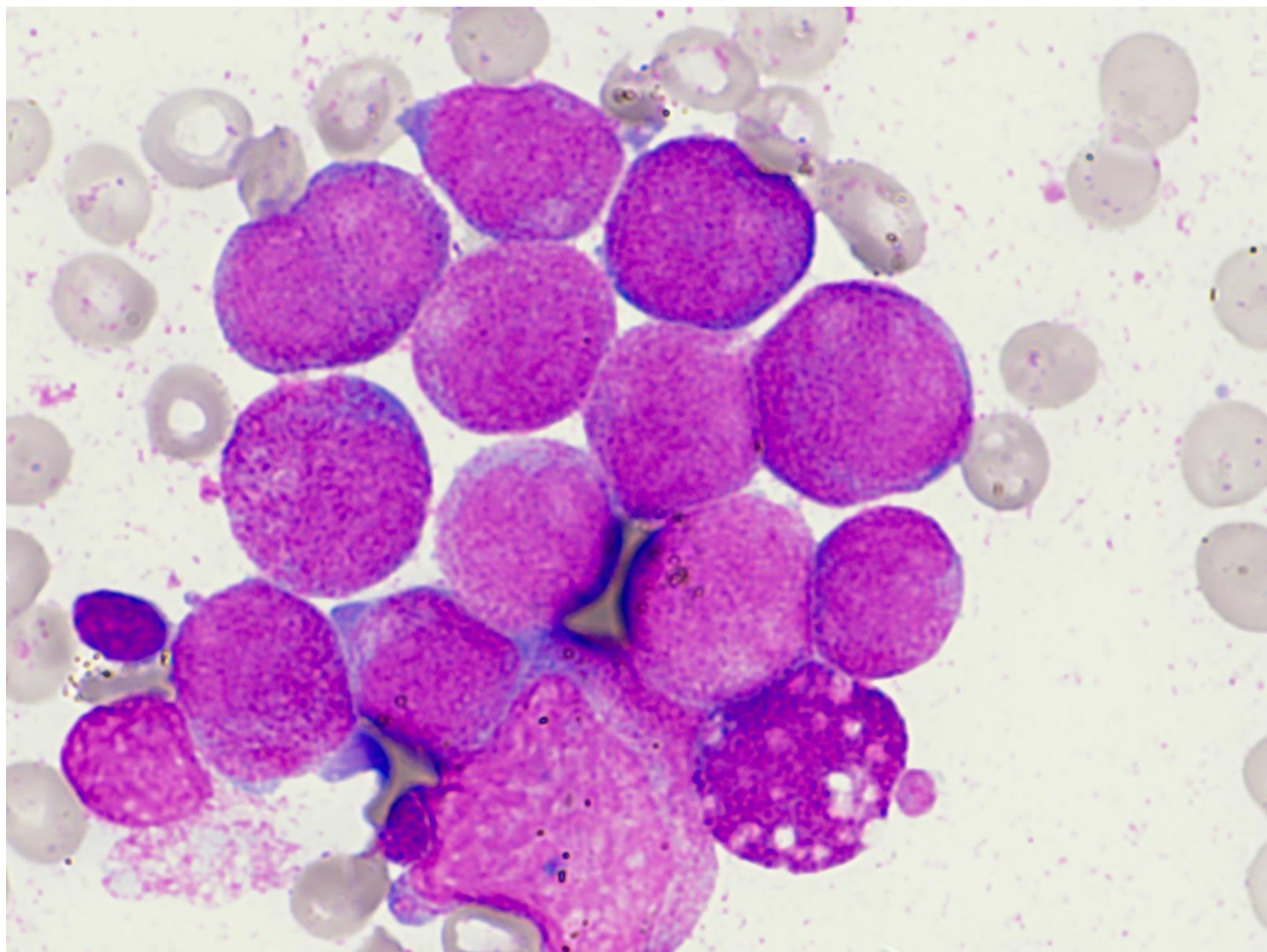








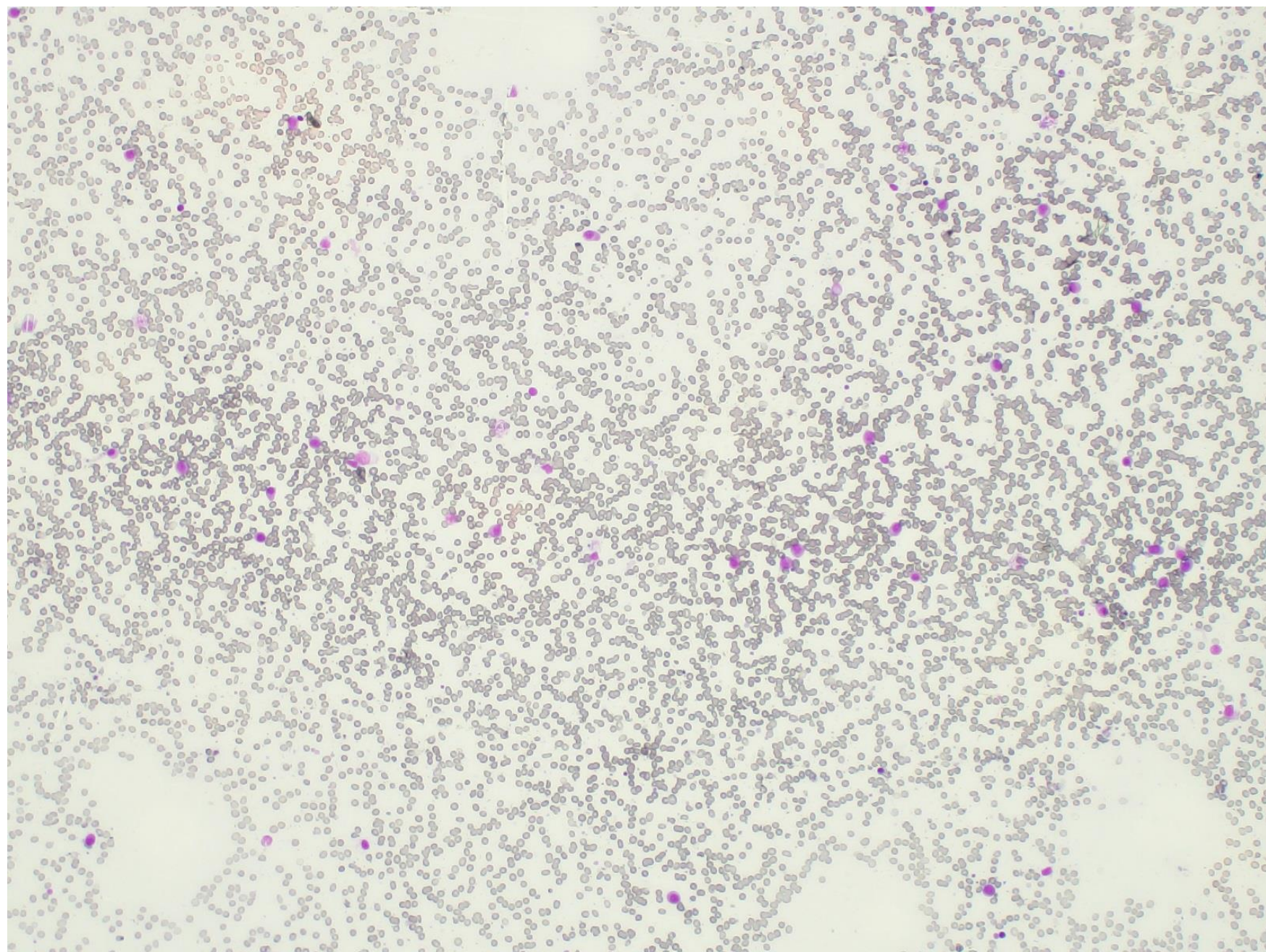


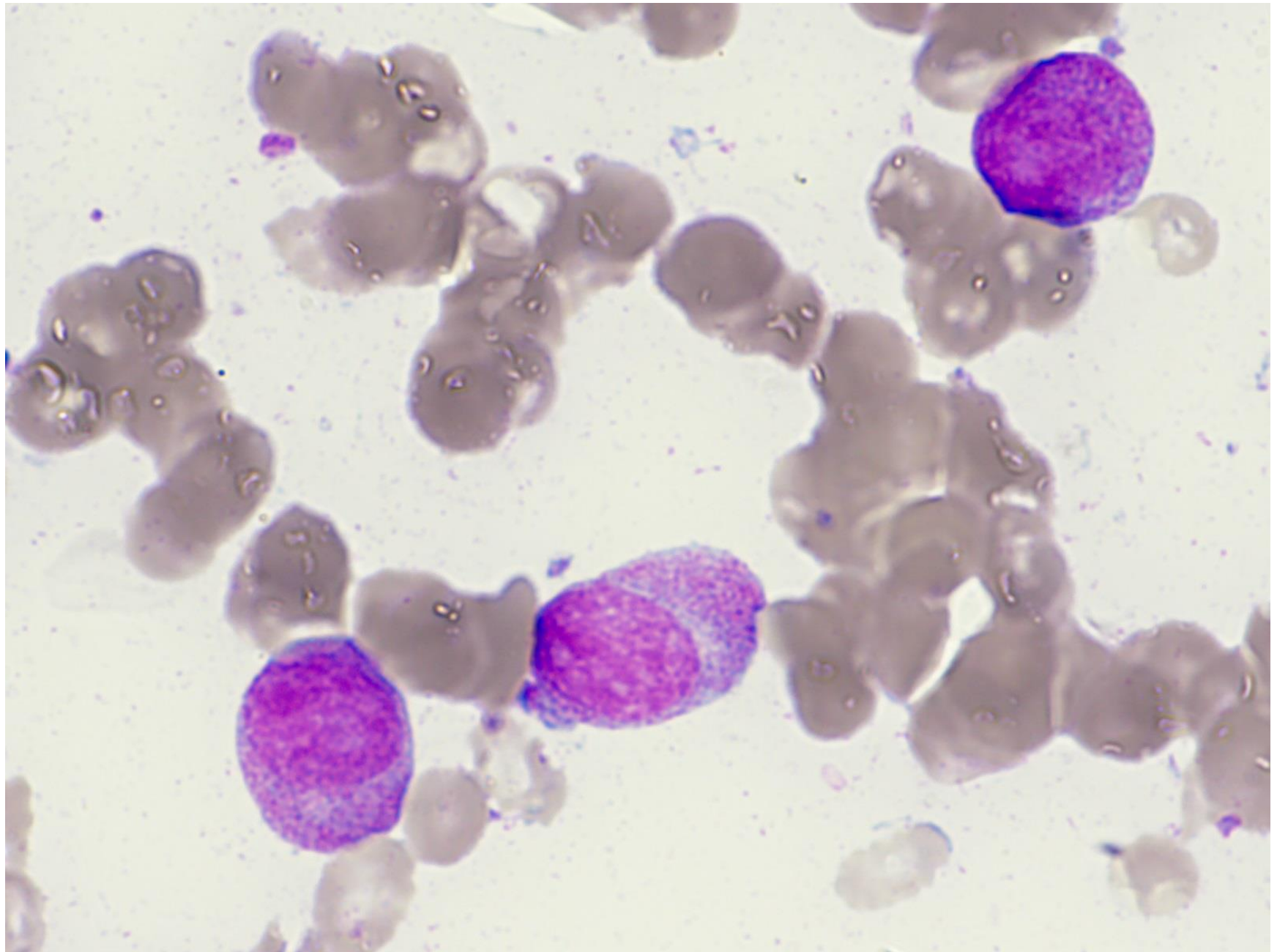


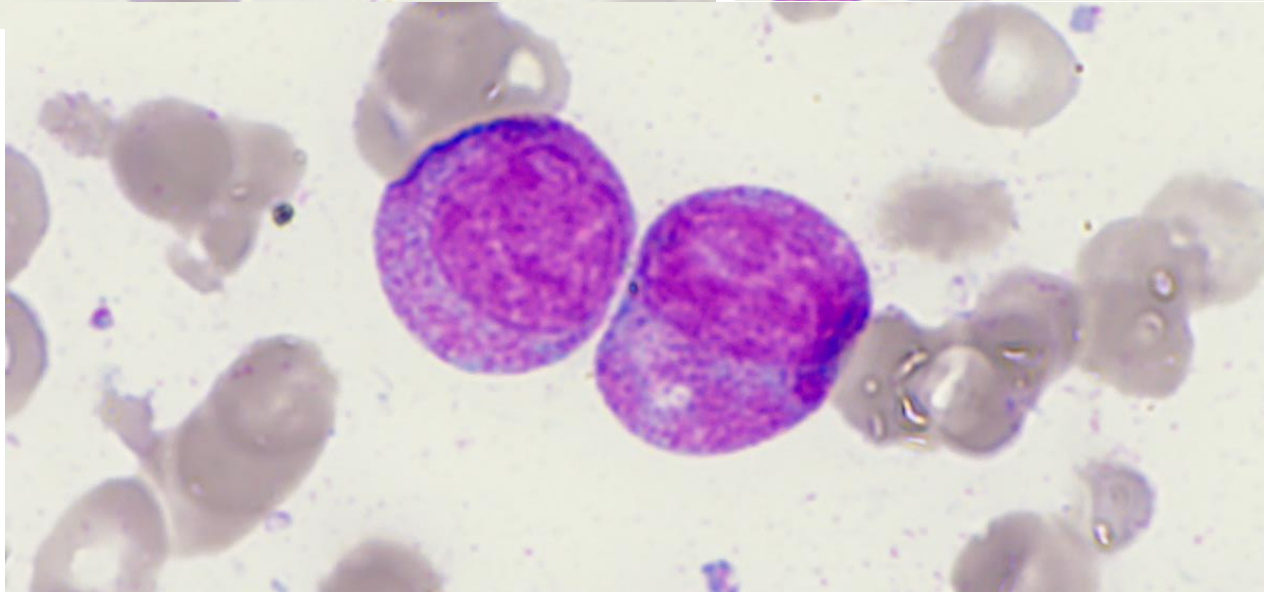
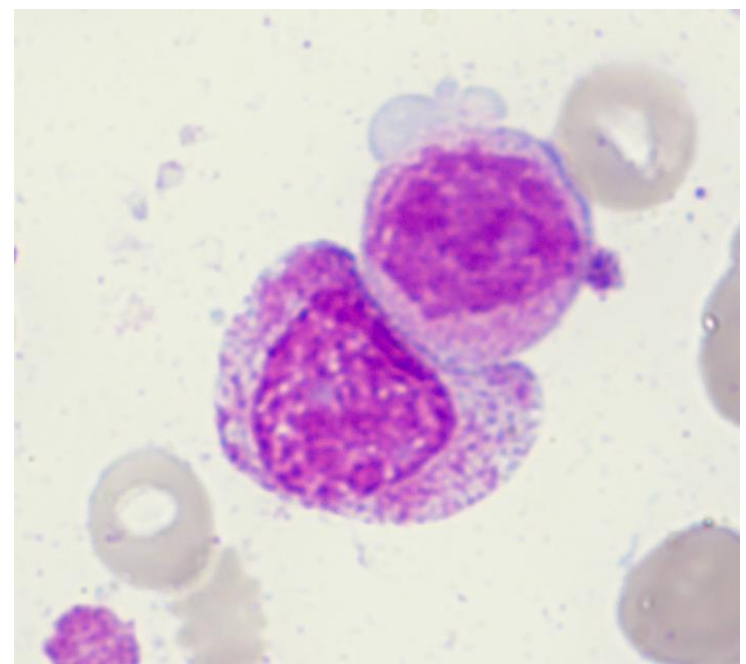
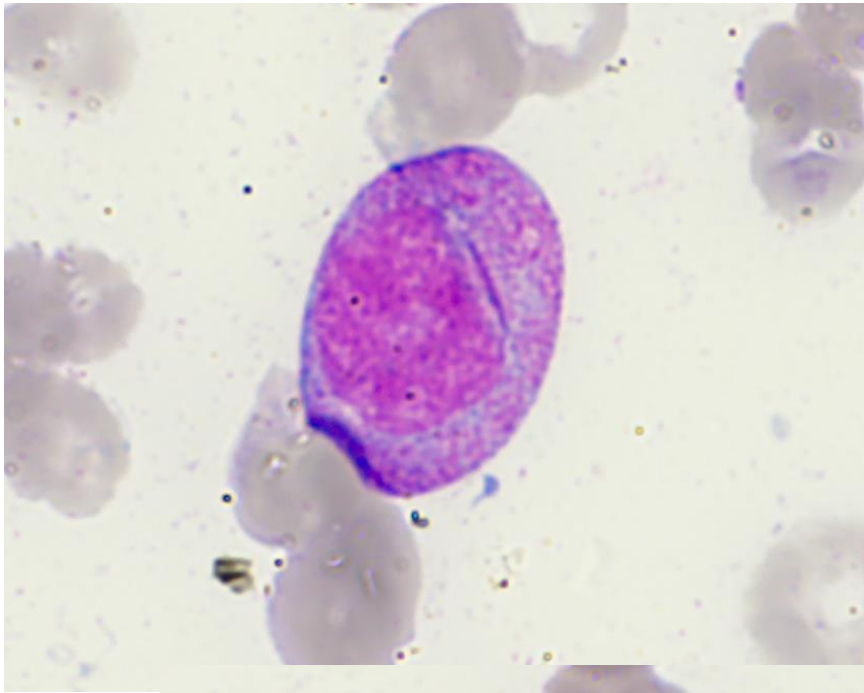
APL SE STAT5B/RARA

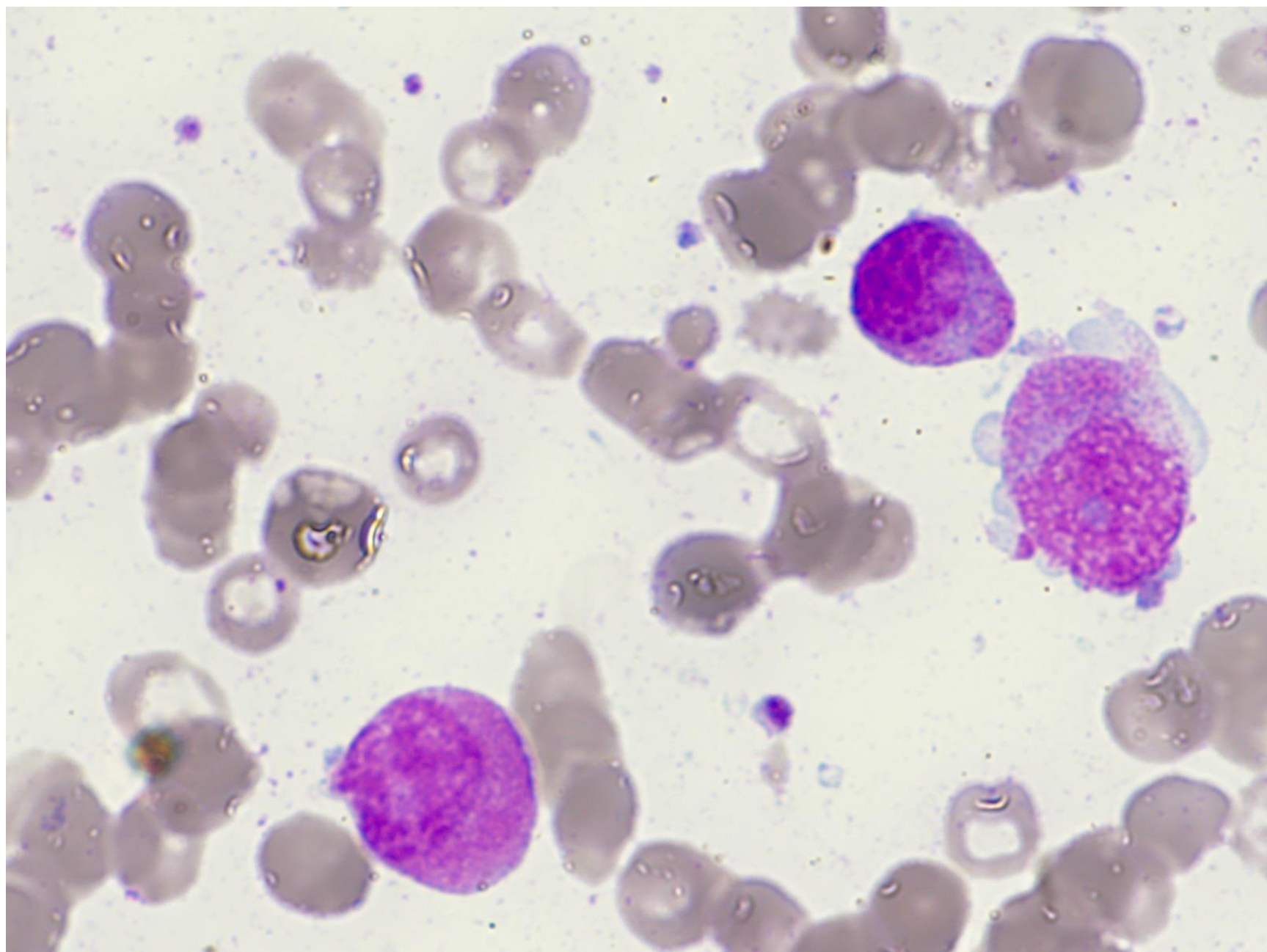
- relativně častá varianta, popsáno více než 10 případů
- vzniká mikrodeleci nebo inverzí chromozomu 17; STAT5B gen je lokalizován na 17q21 (stejně jako RARA)
- fúzní protein STAT5B-RARA blokuje myeloidní diferenciaci
- většina popsáných případů má klasickou morfologickou prezentaci jako u klasické APL
- většinou je přítomna APL koagulopatie

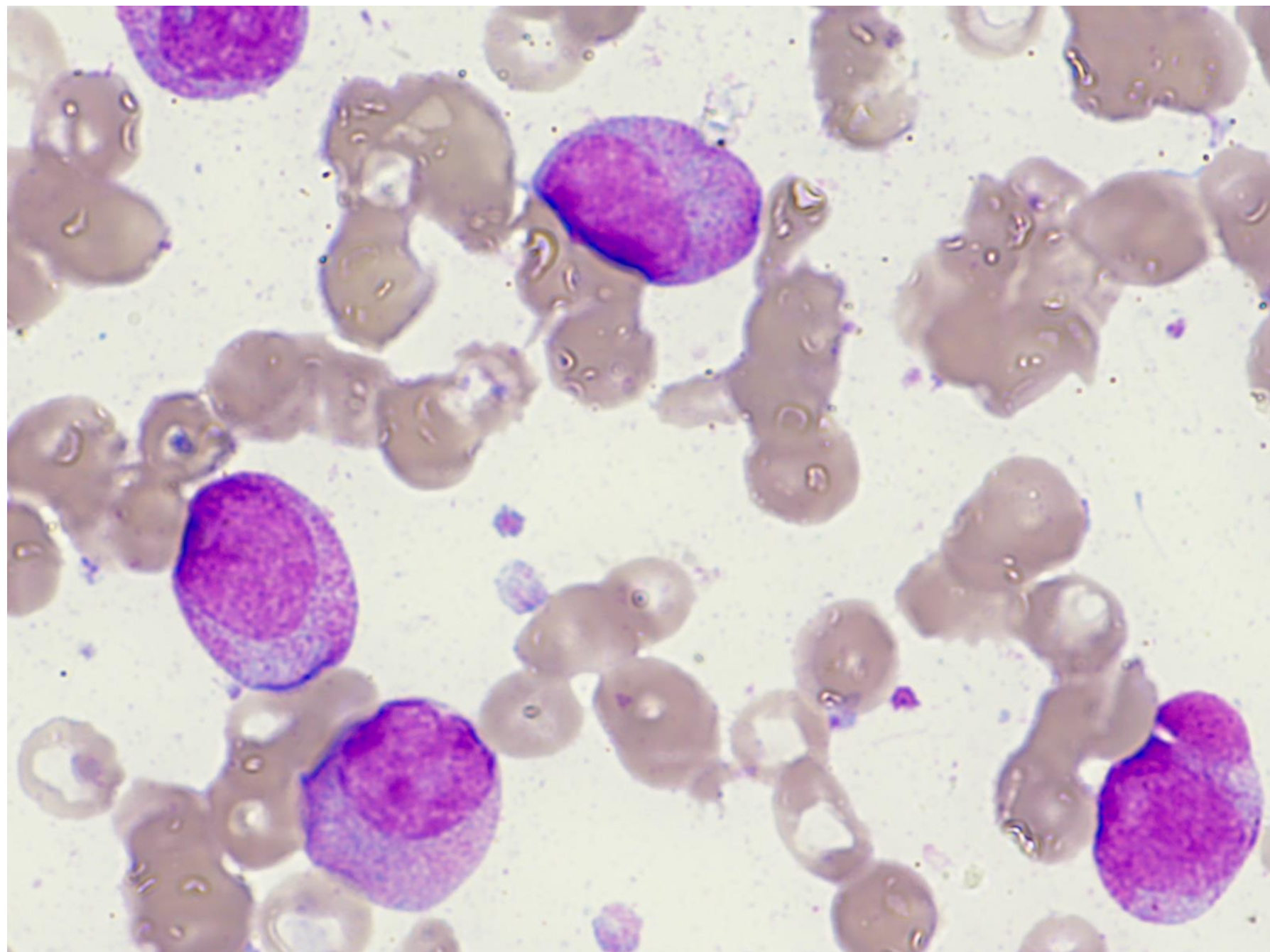












ZÁVĚR

- APL patří k urgentním stavům v hematologické diagnostice
 - možné akutní fatální vyústění versus nejlepší terapeutické výsledky v rámci AML
 - nutná urgentní diagnostika
 - morfologický nález v periferní krvi
 - morfologický nález v kostní dřeni
 - koagulogram
 - imunoferotypizace
 - PCR
- u cytopenie resp. zejména pancytopenie by měla být tato diagnóza vždy zvažována
 - nezbytné provedení morfologického diferenciálního rozpočtu resp. včetně cíleného pátrání po „suspektních“ buňkách (včetně preparátu z „buffy coat“)
 - v současné době jsou zaváděny do praxe metody na principu digitální morfologie, které dovedou nádorové elementy APL rozeznat
 - přítomnost koagulopatie může diagnostice napomoci



ZÁVĚR

- při morfologickém podezření na APL, zejména je-li podpořeno výskytem koagulopatie, kdy není prokázán typický fúzní transkript PML/RARA je nutno pomýšlet na variantní molekulárně genetické odchylky tohoto onemocnění a tímto směrem cílit další došetření
- variantní molekulárně genetické odchylky u APL mohou mít i odchylné morfologické rysy, zejména nejčastější kulatobuněčná varianta s ZBTB16(PLZF)/RARA, která je bohužel na klasickou léčbu APL většinou resistantní což má vliv na léčbu



PODĚKOVÁNÍ

- MUDr. Mikulenkové, vedoucí laboratoře morfologické diagnostiky ÚHKT za zapůjčení preparátů vzácných případů variantních mutací APL, které zde byly prezentovány
- kolektivu laboratoře speciální morfologie OKH FN Brno pod vedením MUDr. Kissové Ph.D za zajištění našich nálezů k prezentaci
- Vám všem za pozornost

Práce byla podpořena MZ ČR – RVO (FNBr – 65269705).

