

Akútna myeloblastová leukémia s alteráciami *MLL* protoonkogénu (11q23/*MLL*+ AML)

Acute Myeloblastic Leukaemia with Alternations of *MLL* Proto-Oncogene Protein (11q23/*MLL*+ AML)

Mikulášová Z.¹, Ilencíková D.^{1,2}, Slamka T.¹, Ďurovčíková D.²

¹ Oddelenie onkologickej genetiky, Národný onkologický ústav, Bratislava, Slovenská republika

² Katedra lekárskej genetiky SZU-FZŠŠ, Bratislava, Slovenská republika

Súhrn

U akútnej myeloblastovej leukémie je chromozómový prúžok 11q23 jedným z najčastejších zlomových regiónov. Analýza tejto oblasti viedla k objavu mimoriadne promiskuitného génu *MLL*, u ktorého bolo dodnes popísaných viac ako 60 *MLL* translokačných partnerov. Medzi najčastejšie patria t(9;11)(p21–22;q23)/*MLL-AF9*, t(10;11)(p13;q23)/*MLL-AF10*, t(11;19)(q23;p13)/*MLL-ELL*, *ENL* a t(6;11)(q27;q23)/*MLL-AF6*. Predložená práca poskytuje prehľad o molekulárnych mechanizmoch, pri ktorých sa *MLL* proto-onkogén môže zmeniť na onkogén. Genetické zmeny *MLL* protoonkogénu predstavujú okrem translokácií aj komplexné chromozómové prestavby, deľcie, inzercie, parciálne tandemové duplikácie, amplifikácie a zisky. V práci sú opísané z hľadiska diagnostického a prognostického. Abnormality *MLL* protoonkogénu sa obvykle spájajú so zlou prognózou. Z tohto dôvodu sa v onkologickej praxi venuje mimoriadna pozornosť zavádzaniu genetických metód na ich identifikáciu. Uvedená práca prehľadne informuje o rozličných typoch a výsledkoch genetických testov, ktoré môžu pomôcť onkológom predikovať prognózu, monitorovať minimálnu reziduálnu chorobu a modifikovať liečbu onkologického pacienta.

Kľúčové slová

akútna myeloblastová leukémia – *MLL* protoonkogén – chromozómové translokácie

Summary

One of the most common chromosomal breakpoint regions in acute myeloid leukaemia is the chromosome band 11q23. The analysis of this region led to the discovery of the extremely promiscuous *MLL* gene, in which more than 60 *MLL* translocation partner genes have been described. Among the most frequent are t(9;11)(p21–22;q23)/*MLL-AF9*, t(10;11)(p13;q23)/*MLL-AF10*, t(11;19)(q23;p13)/*MLL-ELL*, *ENL* and t(6;11)(q27;q23)/*MLL-AF6*. The presented work provides an overview of the molecular mechanisms by means of which *MLL* proto-oncogene can be converted into oncogene. Genetic alternations of the *MLL* Proto-Oncogene Protein besides translocation are also represented by complex chromosomal rearrangements, deletions, insertions, partial tandem duplications, amplifications and gains. These genetic alterations are described in the work from the diagnostic and prognostic point of view. Abnormalities of the *MLL* Proto-Oncogene Protein are usually connected with bad prognosis. For that reason, in oncological practice, particular attention is paid to introducing new genetic methods for their identification. The above work gives well arranged information about different types of genetic tests and their outcomes, which can help oncologists in predicting the prognosis, in minimal residual disease monitoring and in modifying oncological patient treatment.

Key words

acute myeloid leukaemia – *MLL* Proto-Oncogene Protein – chromosomal translocations

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



doc. MUDr. Denisa Ilencíková, PhD.
Klinika lekárskej genetiky SZU a FNŠP
Limbová 5
833 05
Bratislava
e-mail:
denisa.ilencikova9@gmail.com

Obdrženo/Submitted: 4. 1. 2010

Přijato/Accepted: 10. 3. 2010

Úvod

Akútna myeloblastová leukémia (AML) je charakterizovaná malígnou transformáciou myeloidnej bunky, pri ktorej dochádza k vzniku patologického klonu buniek – myeloblastov. Tieto strácajú schopnosť diferenciácie, maturácie, nepodliehajú regulačným mechanizmom a potláčajú ostatné zložky normálnej hemopoézy.

AML nie je jednou nozologickou jednotkou, ale zahŕňa množstvo podtypov, ktoré je možné ďalej klasifikovať podľa FAB a SZO klasifikácie, imunofenotypu a genetického nálezu.

Incidencia ochorenia

Vo všeobecnosti je incidencia AML 2,7 na 100 000 obyvateľov [1]. AML je častejšia u mužov a celkovo v európskej populácii. Vyššia incidencia AML sa vyskytuje u pacientov trpiacich dedičnými ochoreniami asociovanými s fragilitou chromatinu, ako je napr. Bloomov syndróm, Fanconiho anémia, Kostmannov syndróm, Wiskott-Aldrichov syndróm alebo Ataxia teleangiectasia. Zvýšený výskyt AML bol zaznamenaný aj u niektorých častých, konštitučne podmienených numerických chromozómových anomálií, ako sú Downov (trizómia 21. chromozómu) a Klinefelterov (XXY a varianty) syndrom [2].

AML s alteráciami *MLL* protoonkogénu, tzv. 11q23/*MLL*+ AML, predstavuje 3–4 % zo všetkých AML prípadov a častejšie sa vyskytuje u mladých ľudí s de novo AML (5–7 %) a u terapiou indukovaných AML pacientov t-AML (10–15 %). U starších pacientov (60 a viac-ročných) sa pozoruje zriedkavo [3]. AML s prestavbami *MLL* protoonkogénu sa častejšie vyskytuje u dojčiat ako u dospelých a zvyčajne sa prejavuje AML M4M5 fenotypom [4]. Celkovo sa incidencia prestavieb *MLL* protoonkogénu u detí s AML pohybuje v rozmedzí 35–50 % [5]. Percentuálne zastúpenie sa u jednotlivých štúdií mierne odlišuje, pretože zastúpenie 11q23/*MLL*+

Tab. 1. Časté génové fúzie zapríčinené chromozómovými abnormalitami a asociované s akútnou myeloblastovou leukémiou a myelodysplastickým syndrómom (MDS) [21].

Chromozómová abnormalita	FAB podtyp AML	*Frekvencia	**Fúzny gén
t(8;21) (q22;q22)	AML– M2	18 % (30 %)	<i>AML1– ETO</i>
t(15;17) (q21–q11–22)	AML– M3	10 % (98 %)	<i>PML– RARα</i>
t(11;17) (q23;q21)	AML– M3	zriedkavý	<i>PLZF– RARα</i>
Inv(16) alebo t(16;16)	AML– M4Eo	8 % (~100 %)	<i>CBFβ– MYH11</i>
t(9;11) (p22;q23)	AML– M4	11 % (30 %)	<i>MLL– AF9</i>
t(6;11) t(10;11) t(11;17) t(11;19) t(4;11)	AML– M5	~ 35 % AML	<i>MLL–AF6/AF6q21</i> <i>MLL–AF10; CALM–AF10</i> <i>MLL–AF17/AF17q25</i> <i>MLL–ENL/ENL/EEN</i> <i>MLL–AF4</i>
t(6;9) (p23;q34)	AML– M1, M2, M4, M5	1 %	<i>DEK– KAN</i>
t(16;21) (p11;q22)	AML	< 1 %	<i>TLS(FUS)– ERG</i>
t(16;21) (q24;q22)	t-AML, MDS	< 1 %	<i>AML1– MTG16</i>
t(3;21)	AML	< 1 %	<i>AML1– EVI1, EAP, MDS1</i>
t(7;11) (p15;p15)	AML– M2, M4	< 1 %	<i>NUP98– HOX49</i>
t(1;11) (q23;p15)	AML– M2	< 1 %	<i>NUP98– PMX1</i>
t(8;16) (p11;p13)	AML– M4, M5	< 1 %	<i>MOZ– CBP</i>
Inv(8) (p11;q13)	AML– M0, M1, M5	< 1 %	<i>MOZ– TIF2</i>
t(8;22) (p11;p13)	AML– M5	< 1 %	<i>MOZ– p300</i>
t(12;22) (p13;q23)	AML– M4, CML	< 1 %	<i>TEL– MN1</i>
t(5;12) (q33;p12)	CMMoL	2–5 %	<i>TEL– PDGFRβ</i>
t(1;19) (q23;p13)	AML– M7	< 1 %	<i>OTT– MAL</i>

* Percentuálne zastúpenie translokácií u podtypov AML. Hodnoty uvedené v zátvorkách udávajú frekvenciu v rámci morfológického alebo imunologického podtypu choroby.

** Percentá sa vzťahujú na frekvenciu recipročných produktov vzniknutých chromozómovou translokáciou.

AML – akútna myeloblastová leukémia; t-AML (therapy-related AML) – s terapiou spojená AML; MDS – myelodysplastický syndróm; CMMoL – chronická myelomonocytová leukémia

AML závisí od metódy detekcie. *MLL* protoonkogén tiež býva relatívne častým cieľom kryptických prestavieb [6].

Etiológia a patogenéza

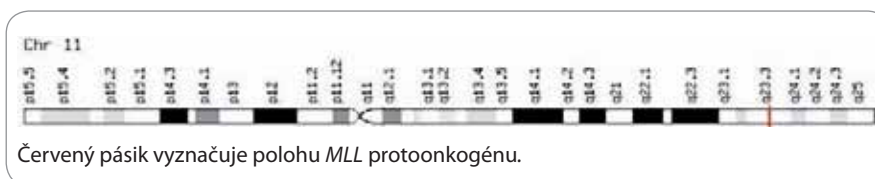
Príčina vzniku 11q23/*MLL*+ AML nie je známa, ale významnú úlohu nepochybne zohráva ionizujúce žiarenie (najvyšší výskyt sa pozoroval päť až sedem rokov po expozícii žiarenia), chemické látky, ako je benzén a rôzne organické rozpúšťadlá, z liekov predovšetkým cytostatiká, z fyzikálnych faktorov elektromagnetické polia a iné. Patogenéza akútnej myeloblastovej leukémie (AML) súvisí i s onkogénnymi fúznymi proteínmi, ktoré vznikajú v dôsledku chromozómových translokácií alebo inverzií [7] (tab. 1).

AML s abnormalitami *MLL* protoonkogénu

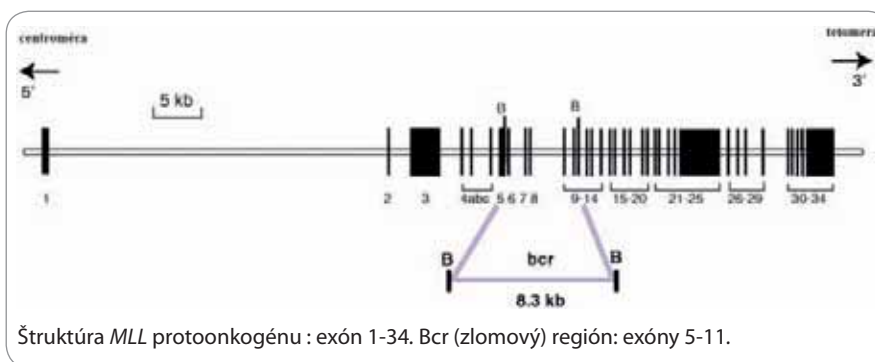
Svetová zdravotnícka organizácia (SZO) navrhla v roku 1999 špecifikovať 11q23/*MLL*+ AML v rámci ALL ako samostatnú jednotku s opakujúcimi sa cytogenetickými translokáciami. Táto myšlienka bola ďalej podporená biologickými štúdiami, microarray analýzami, ktoré ukázali, že 11q23/*MLL*+ AML má osobitý profil génovej expresie a že *MLL*+ leukemické blasty sa podobajú veľmi nezrelým progenitorovým bunkám [8]. AML s prestavbami *MLL* protoonkogénu je charakteristická vysokým stupňom klinickej a imunologickej heterogenity s variabilitou imunofenotypu, zodpovedajúca myeloidnému/monocytovému pôvodu [9]. Prognóza ochorenia je nepriaznivá, premenlivá podľa typu translokácie, fenotypu a veku pacienta s AML. Prognostický efekt 11q23 aberácií môže závisieť od *MLL* partnerských génov. Mnohé štúdie dokázali, že translokácie t(6;11)(q27;q23) a t(10;11)(p12;q23) sú asociované so zlou prognózou, avšak translokácia t(9;11)(p22;q23) je spájaná s výrazne dlhším prežívaním pacientov [9,10]. Priaznivú prognózu však nemá žiadna z horeuvedených zmien.

MLL protoonkogén

MLL protoonkogén bol identifikovaný v roku 1991 a následne o rok kompletne charakterizovaný a klonovaný. Pôvod predchádzajúceho označenia *ALL1* siaha až do roku 1970, kedy van den Bergh



Obr. 1. Chromozóm č. 11 [22].



Obr. 2. Štruktúra *MLL* protoonkogénu.

prvýkrát opísal prestavbu jeho oblasti u pacienta s lymfoblastickou leukémiou [9]. Neskôr vedci charakteristiku tohto génu skompletizovali a na základe translokácie 11q23 pozorovanej u myeloblastových i lymfoblastových leukémií dostal názov *MLL* (mixed-lineage leukemia). Má ďalšie synonymá: *HRX* (human trithorax) a *Htrx1* vyjadrujúce jeho homológiu s trithorax (*trx*) génom u *Drosophila melanogaster*.

MLL (*ALL1*, *HRX*, *Htrx*) gén je lokalizovaný na dlhom ramienku 11. chromozómu (11q23) telomericky k *PLFZ* génu a centromericky od *RCK* génu (obr. 1).

Pozostáva z 36 exónov zaberajúcich veľkosť vyše 100 kb. Produktom 12kb mRNA je proteín s 3 968 aminokyselinami a molekulovou hmotnosťou cca 430 kD. Jeho transkripčia prebieha od centroméry k teloméru. Väčšina, ale nie všetky zlomy *MLL* protoonkogénu sú lokalizované v 8,3 kb zlomovom regióne (bcr – breakpoint cluster region). Bcr región môže byť rozdelený na centromerickú a telomerickú časť. Zlomy *MLL* protoonkogénu u kojeneckej a t-AML leukémie sa vyskytujú prevažne v telomerickej oblasti, kým zlomy u pacientov s de novo AML smerujú do blízkosti centroméry [11] (obr. 2).

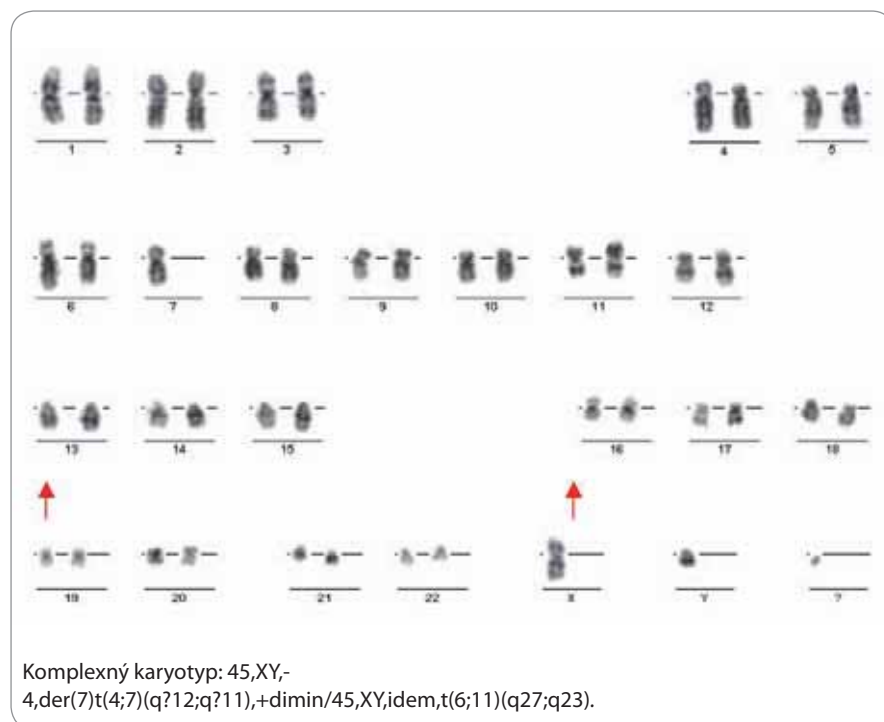
MLL proteín

Produktom *MLL* protoonkogénu je veľký multidoménový jadrový proteín s obsa-

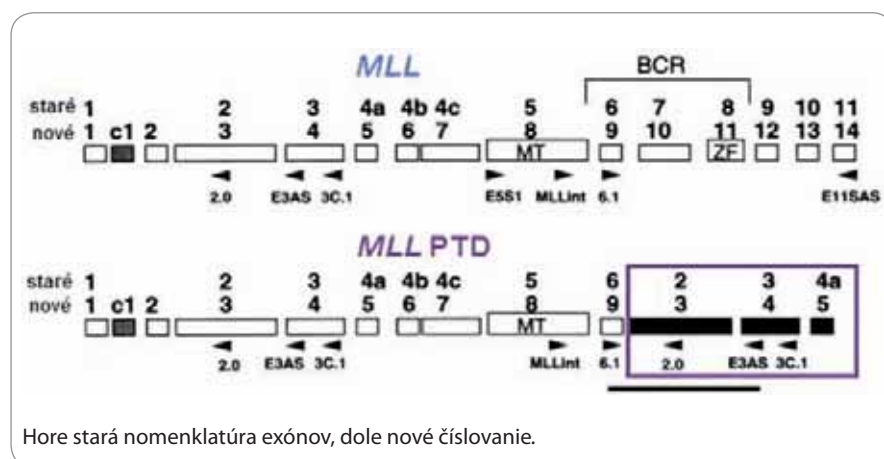
hom 3 968 aminokyselin s predpokladanou molekulovou hmotnosťou 430 kD. *MLL* proteín sa exprimuje v rôznych tkanivách, napr. v mozgu, v hrubom čreve, v pečeni, v slezine, v týmuse, v obličkách, v mandliach, v srdci, v pľúcach, v testes a v štítnej žľaze. Tento proteín patrí do skupiny tzv. trithorax (*trx*-G) proteínov, ktoré sú zodpovedné za udržiavanie expresie génov počas vývinu. Predpokladá sa, že *MLL* proteín kontroluje expresiu *HOX* génov. Viaceré *HOX* gény sa podieľajú na regulácii normálnej i leukemickej hemopoézy. Produkty *HOX* génov sú lokalizované v jadre a reprezentujú hlavnú triedu transkripčných faktorov kontrolujúcich bunkovú proliferáciu/diferenciáciu počas skorého embryonálneho vývinu [12].

Mechanizmy premeny *MLL* proto-onkogénu na onkogén

Rozsiahle cytogenetické a molekulové štúdie odhalili, že 11q23/*MLL* je vysoko promiskuitný lokus. Na základe výsledkov súčasného a predchádzajúceho výskumu bolo doposiaľ charakterizovaných 64 *MLL* translokačných partnerských génov a ich špecifických zlomových regiónov, z čoho 35 chromozómových translokácií *MLL* protoonkogénu bolo špecifikovaných iba na cytogenetickej úrovni. Nedávno Meyer et al sekvenovaním odhalili 5 nových *MLL* partnerských

Obr. 3. Komplexný karyotyp s translokáciou *MLL/AF6*.

Obr. 4. Výsledok fluorescenčnej analýzy interfázneho jadra, získaný zosnímaním CCD kamerou vo fluorescenčnom mikroskope.

Obr. 5. *MLL* protoonkogén a *MLL* PTD [18].

lokusov [13]. Tieto lokusy však neobsahovali žiadny doposiaľ známy gén. *MLL* „rekombinóm“ v súčasnosti pozostáva zo 104 rôznych fúzných oblastí, otázkou zostáva, koľko ich ešte nepoznáme?

***MLL* proto-onkogén sa môže zmeniť na onkogén viacerými mechanizmami, ako sú:**

- chromozómové translokácie
- komplexné chromozómové prestavby, delécie, inverzie v oblasti 11q, inzercie *MLL* protoonkogénu do iných chromozómov alebo inzercia chromatinového materiálu do *MLL* protoonkogénu
- parciálne tandemové duplikácie
- amplifikácie a zisky (gainy)

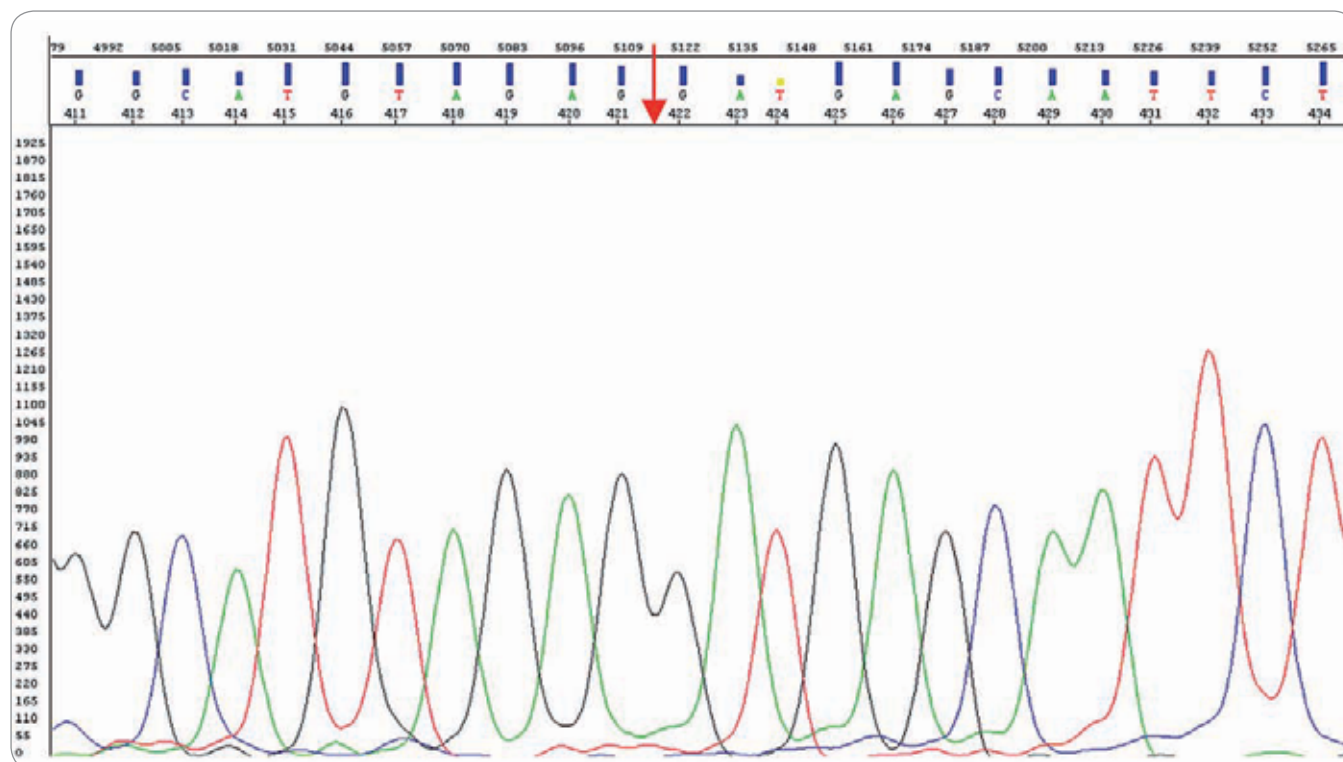
A. Translokácie: *MLL* protoonkogén sa často zapája do chromozómových translokácií s inými génmi, ktoré vedú k zlomu v lokuse *MLL* a partnerskom géne so vznikom nového fúzneho génu. *MLL* fúzne proteíny (produkty týchto fúzných génov) sú často asociované s vývojom akútnych myeloblastových leukémií a ich onkogénne charakteristiky boli rozsiahle študované *in vitro* aj *in vivo* na myších modeloch [14].

Najčastejšie translokácie u 11q23/*MLL*+ AML sú:

- t(9;11)(p22;q23)/*MLL*-AF9
- t(10;11)(p12;q23)/*MLL*-AF10
- t(6;11)(q27;q23)/*MLL*-AF6
- t(11;19)(q23;p13)/*MLL*-ELL, ENL (obr. 3, 4)

B. Parciálna tandemová duplikácia (PTD) a amplifikácia *MLL* protoonkogénu

Okolo 7,5 % AML pacientov s normálnym karyotypom ukrýva PTD *MLL* protoonkogénu. *MLL* PTD je jedinečne odlišená od ostatných prestavieb *MLL* protoonkogénu, ktoré majú za následok chimérické génové fúzie. Pri *MLL* PTD sa zachovávajú všetky proteínové domény kódované *MLL* protoonkogénom [15]. *MLL* parciálna tandemová duplikácia je častá u dospelých, ale nie u detských pacientov s AML. Na nízkej úrovni bola tak tiež identifikovaná i u zdravých ľudí [16]. Frekvencia *MLL* PTD u kojencov s AML, rovnako ako aj u starších detí s AML nie je dostatočne objasnená. U dospelých pacientov s *de novo* AML a normál-



Obr. 6. Sekvenčný elektroforegram *MLL* PTD znázorňujúci zlom exón8/exón2 (exón3/exón11). exón 8 exón 2.

ným karyotypom sa prítomnosť *MLL* PTD oproti jej chýbaniu spája so zlou prognózou (kratšia doba remisie) [17] (obr. 5, 6).

Predchádzajúce štúdie spájali *MLL* PTD s AML podtypom M1 a M2. V súčasnosti podľa FAB (najčastejšie používanej klasifikácie AML pochádzajúcej od francúzsko-americko-britskej skupiny z roku 1976) sa asociácia *MLL* PTD nepotvrdila so žiadnym špecifickým FAB podtypom AML. Naopak translokácie *MLL* sa vyskytujú prevažne u myelomonocytového (M4) a monocytového (M5) podtypu AML [18] (obr. 7).

Pre niektorých AML pacientov je charakteristický zvýšený počet kópií *MLL* protoonkogénu v podobe tzv. „double minute“ chromozómov alebo homogénne sa farbiacich regiónov. Amplifikácia *MLL* protoonkogénu môže vznikáť preskokovými translokáciami, pri ktorých sa amplikón z 11. chromozómu integruje do jedného alebo viacerých iných chromozómov, čím vznikajú mnohonásobné kópie *MLL* protoonkogénu. Vo všeobecnosti pod amplifikáciou génu rozumieme zmnženie štruktúrne normálnych kópií génu, ktoré spôsobia nadprodukcii onkogénneho stimulačného proteínu. Tieto

nadbytočné kópie protoonkogénu zvyšujú v bunke množstvo génového produktu, čím indukujú neobmedzenú bunkovú proliferáciu. Amplifikácia génu sa cytogeneticky zväčša manifestuje buď intrachromozomálne ako homogénne sa farbiaci región (homogeneously staining region – hsr), alebo extrachromozomálne ako tzv. „double minute“ chromozómy (dmin). Identifikáciu génov v amplifikovanom regióne nám umožňuje fluorescenčná in situ hybridizácia.

Amplifikácia génov, častá u širokého spektra tumorov, je u akútnych leukémií pozorovaná zriedkavo. Cytogenetickou analýzou sa v podobe dmin (oblasť *MLL* protoonkogénu) zistí približne u 1 % pacientov s AML [19].

Zistilo sa, že pacienti s amplifikáciou *MLL* protoonkogénu zdieľajú viacero spoločných charakteristík: sú starší ako 60 rokov, majú de novo AML, komplexný karyotyp, krátku dobu prežívania a 90 % z nich aj deléciu 5q (obr. 8).

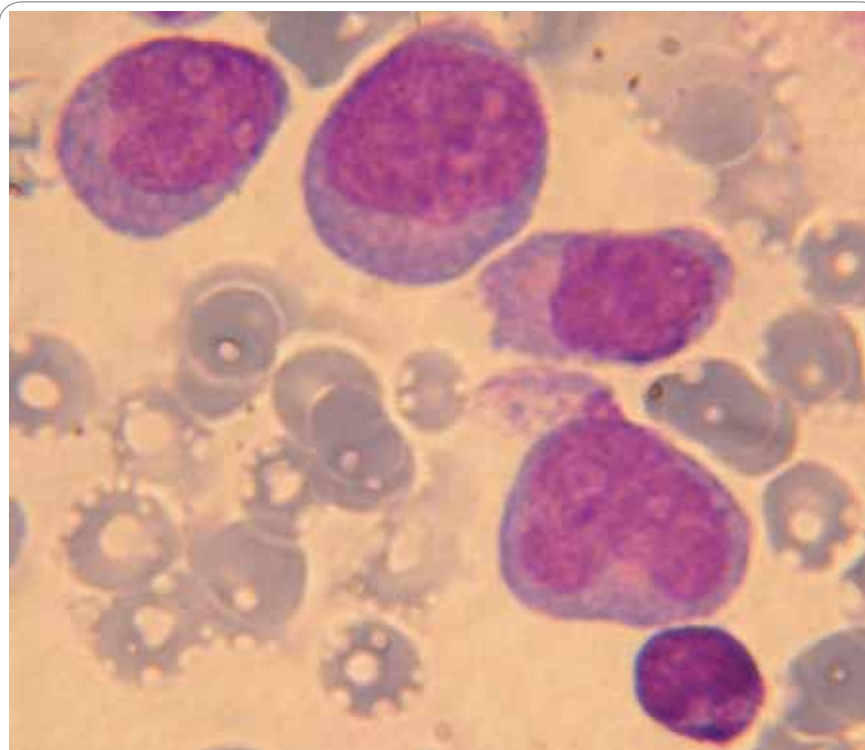
Metódy detekcie prestavieb *MLL* protoonkogénu

V súčasnej dobe cielenej protinádorovej terapie pacienta sa identifikácia genetic-

kých aberácií u leukémie stáva čím ďalej významnejšou. Výsledky genetických testov slúžia pre zatriedenie jednotlivých pacientov do príslušných prognostických skupín a umožnia modulovať špecifitu a intenzitu ich terapie. V diagnostike sa na identifikáciu rôznych preskupení *MLL* protoonkogénu rutinne používa cytogenetická analýza, fluorescenčná *in situ* hybridizácia (FISH) a reverzne-transkriptázová polymerázová reťazová reakcia (RT-PCR). Spektrum metód plánujeme v blízkej dobe rozšíriť o LDI-PCR (long-distance inverse PCR), ktorá slúži na detekciu všetkých preusporiadaní *MLL* protoonkogénu na molekulovej úrovni.

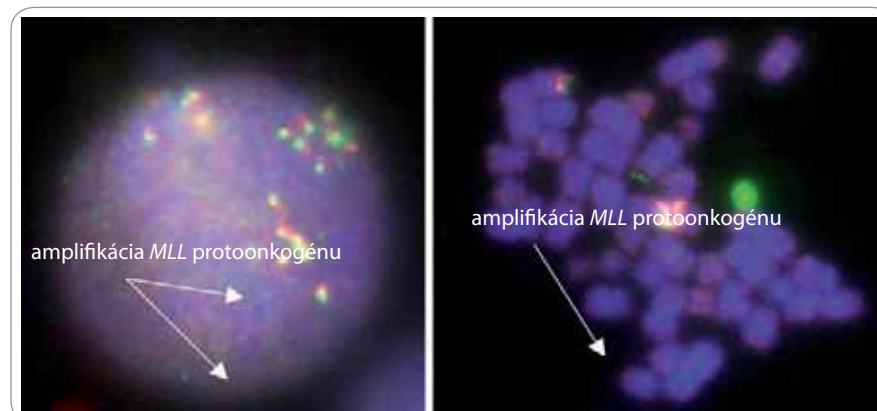
Klasická cytogenetika slúži na stanovenie celkového karyotypového obrazu ochorenia a monitorovanie priebehu ochorenia. Poskytuje celkový prehľad o kvalitatívnych a kvantitatívnych odchýlkach karyotypu a odhaľuje primárne a sekundárne klonálne zmeny.

Fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH) patrí k metódam molekulovej cytogenetiky a umožňuje detegovať špecifické nukleotidové sekvencie s rozsahom od jednej po niekoľko sto kilobáz. Princíp tejto metódy spočíva v schop-



Morfológia pacienta s AML-M4 vyšetreného na Oddelení detskej hematológie DFNSP, v Bratislave pod vedením primárky MUDr. Zuzany Striežencovej.

Obr. 7. Morfológia pacienta s AML-M4.



Obr. 8. Výsledok fluorescenčnej analýzy získaný CCD kamerou. Vľavo interfázne jadro, vpravo mitóza. Amplifikácia *MLL* (9 kópií) u pacienta s karyotypom 44, XY, -5, hsr(11)(q23), -18, +21, +mar (C).

nosti jednoreťazcovej DNA sondy viazať sa s komplementárnym úsekom vyšetrovanej jednovláknovej DNA pacienta. Pomocou špecifických sond možno identifikovať počet chromozómov, odlíšiť jednotlivé alebo identifikovať špecifické chromozómové oblasti (lokusy). Tým, že je FISH metóda aplikovateľná na metafázne i interfázne bunky, prekonal sa jeden z najväčších problémov klasickej cytoge-

netickej analýzy. Na detekciu prestavieb, amplifikácií a delécií *MLL* protoonkogénu sa využíva prestavbová sonda **LSI® *MLL* Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe** (Vysis).

RT-PCR (reverzne transkriptázová PCR) je vhodná, hlavne ak sa nepozná vnútorná organizácia exónov a intrónov v géne. Prvý krok predstavuje izolácia mRNA príslušného génu z tkaniva.

Z mRNA sa za pomoci enzýmu reverznej transkriptázy a oligo dT primeru vytvorí komplementárna DNA (cDNA), ktorá slúži ako templát pre PCR. S využitím vhodných primerov sa potom špecifická sekvencia cDNA amplifikuje prostredníctvom PCR. Výsledný produkt sa následne vizualizuje na agarózovom géli.

MRT-PCR (multiplexná reverzne transkriptázová PCR)

Andersson et al vyvinuli túto rýchlu a presnú metódu na identifikáciu šiestich najčastejších translokácií *MLL* protoonkogénu: *MLL/AF4* (akútna lymfoblastová leukémia), *MLL/AF6*, *MLL/AF9*, *MLL/AF10*, *MLL/ENL*, *MLL/ELL* [20]. PMRT-PCR je založená na dvoch individuálnych krokoch. V prvom kroku sa využíva mix vonkajších („out“) primerov a v druhom kroku mix vnútorných („in“) primerov, čím sa umožňuje detekcia šiestich fúzných génov v dvoch multiplex PCR reakciách. Teda každá vzorka je testovaná na prítomnosť príslušného fúzneho génu hneď dvakrát. Primery sú navrhnuté tak, že v prvom kroku vzniká významne väčší produkt ako v druhom, čo zvyšuje špecificitu tejto metódy. V prípade potreby sa PMRT-PCR analýza môže rozšíriť o vyšetrenie ďalších fúzných génov [20].

Záver

Pri AML sa doposiaľ identifikovalo množstvo štruktúrových a numerických chromozómových aberácií. Slúžia nielen ako diagnostické markery pre špecifické podtypy AML, ale predstavujú dôležité prognostické faktory pre dosiahnutie kompletnej remisie, rizika relapsu a celkového prežívania pacienta. Aberácie *MLL* protoonkogénu u pacientov s AML predikujú nepriaznivú prognózu, čím sa ich identifikácia horeuvedenými molekulovo-genetickými vyšetřovacími metódami stala klinicky mimoriadne významnou.

Na Slovensku sa ich detekcii venuje Oddelenie onkologickej genetiky Národného onkologického ústavu v Bratislave. V rámci medzinárodnej spolupráce s Diagnostickým centrom akútnej leukémie Inštitútu farmaceutickej biológie vo Frankfurte zabezpečuje pre detských a dospelých AML pacientov na Slovensku vyšetrenie *MLL* protoonkogénu v celej šírke uvedených diagnostických metód.

Takáto komplexná diagnostika *MLL* protoonkogénu upresňuje diagnostiku podtypu AML, predikuje prognózu a umožňuje monitorovať liečbu pacienta.

Literatúra

- Jabbour EJ, Estey E, Kantarjian HM et al. Adult Acute Myeloid Leukemia. *Mayo Clin Proc* 2006; 81(2): 247–260.
- Pedersen-Bjergaard J, Christiansen DH, Andersen MK et al. Causality of myelodysplasia and acute myeloid leukemia and their genetic abnormalities. *Leukemia* 2002; 16(11): 2177–2184.
- Schoch C, Schnittger S, Klaus M et al. AML with 11q23/*MLL* abnormalities as defined by the WHO classification: incidence, partner chromosomes, FAB subtype, age distribution, and prognostic impact in an unselected series of 1897 cytogenetically analyzed AML cases. *Blood* 2003; 102(7): 2395–2402.
- Haferlach T, Schoch C, Schnittger S et al. Distinct genetic patterns can be identified in acute monoblastic and acute monocytic leukaemia (FAB AML M5a and M5b): a study of 124 patients. *Br J Haematol* 2002; 118(2): 426–431.
- Arnaud B, Douet-Guilbert N, Morel F et al. Screening by fluorescent in situ hybridization for *MLL* status at diagnosis in 239 unselected patients with acute myeloblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 161(2): 110–115.
- Cox MC, Panetta P, Lo-Coco F et al. Chromosomal Aberration of the 11q23 Locus in Acute Leukemia and Frequency of *MLL* Gene Translocation: results in 378 adult patients. *Am J Clin Pathol* 2004; 122(2): 298–306.
- Alcalay M, Meani N, Gelmetti V et al. Acute myeloid leukemia fusion proteins deregulate genes involved in stem cell maintenance and DNA repair. *J Clin Invest* 2003; 112(11): 1751–1761.
- Armstrong SA, Staunton JE, Silverman LB et al. *MLL* translocations specify a distinct gene expression profile that distinguishes a unique leukemia. *Nat Genet* 2002; 30(1): 41–47.
- Cimino G, Rapanotti MC, Sprovieri T et al. *ALL1* gene alterations in Acute leukemia: biological and clinical aspects. *Haematologica* 1998; 83(4): 350–357.
- Wakui M, Kuriyama K, Miyazaki Y et al. Diagnosis of acute myeloid leukemia according to the WHO classification in the Japan Adult Leukemia Study Group AML-97 protocol. *Int J Hematol* 2008; 87(2): 144–151.
- Broeker PL, Super HG, Thirman MJ et al. Distribution of 11q23 breakpoints within the *MLL* breakpoint cluster region in de novo acute leukemia and in treatment-related acute myeloid leukemia: correlation with scaffold attachment regions and topoisomerase II consensus binding sites. *Blood* 1996; 87(5): 1912–1922.
- Giampaolo A, Felli N, Diverio D et al. Expression pattern of *HOXB6* homeobox gene in myelomonocytic differentiation and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2002; 16(7): 1293–1301.
- Meyer C, Kowarz E, Hofmann J et al. New insights to the *MLL* recombinome of acute leukemias. *Leukemia* 2009; 23(8): 1490–1499.
- Ayton PM, Cleary ML. Molecular mechanisms of leukemogenesis mediated by *MLL* fusion proteins. *Oncogene* 2001; 20(40): 5695–5707.
- Whitman SP, Liu S, Vukosavljevic T et al. The *MLL* partial tandem duplication: evidence for recessive gain-of-function in acute myeloid leukemia identifies a novel patient subgroup for molecular-targeted therapy. *Blood* 2005; 106(1): 345–352.
- Libura M, Asnafi V, Tu A et al. *FLT3* and *MLL* intragenic abnormalities in AML reflect a common category of genotoxic stress. *Blood* 2003; 102(6): 2198–2204.
- Caligiuri MA, Strout M, Lawrence D et al. Rearrangement of *ALL1 (MLL)* in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *Cancer Res* 1998; 58(1): 55–59.
- Schnittger S, Kinkelin U, Schoch C et al. Screening for *MLL* tandem duplication in 387 unselected patients with AML identify a prognostically unfavorable subset of AML. *Leukemia* 2000; 14(5): 796–804.
- Tanaka K, Takechi M, Nishimura S. et al. Amplification of the c-MYC oncogene and point mutation of N-RAS oncogene in acute myelocytic leukemia with double minute chromosomes. *Leukemia* 1993; 7(3): 469–473.
- Andersson A, Höglund M, Johansson B et al. Paired multiplex reverse-transcriptase polymerase chain reaction (PMRT-PCR) analysis as a rapid and accurate diagnostic tool for the detection of *MLL* fusion genes in hematologic malignancies. *Leukemia* 2001; 15(8): 1293–1300.
- Rego EM. Molecular basis of Acute myelogenous Leukemia. *Rev bras hematol hemoter* 2002; 24(3): 163.
- Gene Cards. The Human Gene Compendium. *MLL* Gene. Dostupné z <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MLL&search=MLL>.