

Методы молекулярной цитогенетики для диагностики острого мегакариобластного лейкоза

Е.А. Матвеева¹, А.Н. Казакова¹, И.И. Калинина¹, М.Э. Дубровина¹,
Л.В. Байдун², М.А. Масчан¹, Ю.В. Ольшанская¹, А.А. Масчан¹

¹ФГБУ ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва;

²ФГУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва

Контакты: Юлия Вячеславовна Ольшанская yuliaolshanskaya@gmail.com

Острый мегакариобластный лейкоз (ОМЛ М7) — редкое заболевание, характеризующееся плохим ответом на лечение, за исключением варианта с $t(1;22)$ у детей до года. Цитогенетические перестройки при ОМЛ М7 отличаются высокой гетерогенностью. В нашем исследовании мы собрали случаи ОМЛ М7 у детей, чтобы определить цитогенетический профиль этого заболевания. За период с сентября 2009 по март 2012 г. нами с помощью методов флуоресцентной *in situ* гибридизации было исследовано 20 больных ОМЛ М7. Был показан комплексный и гетерогенный характер хромосомных перестроек. Оказалось, что повторяющиеся перестройки практически отсутствуют и цитогенетические маркеры уникальны для каждого пациента. Также обнаружено явление амплификации 19p13, описанное ранее только в миелоидных клеточных линиях.

Ключевые слова: острый мегакариобластный лейкоз, FISH, амплификация, дети

Molecular cytogenetics for acute megakaryocytic leukemia diagnosis

Е.А. Matveeva¹, А.Н. Kazakova¹, I.I. Kalinina¹, M.E. Dubrovina¹,
L.V. Baydun², M.A. Maschan¹, Yu.V. Olshanskaya¹, A.A. Maschan¹

¹D. Rogachev Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow;

²Russian Children Clinical Hospital, Moscow

Acute megakaryocytic leukemia (AML M7) — a rare disease characterized by poor treatment response, except for $t(1;22)$ variant in infants. Cytogenetic abnormalities in AML M7 are highly heterogeneous. We collected samples from children with AML M7 to analyze the disease cytogenetic profile. During September 2009 to March 2012 20 AML M7 patients was studied using fluorescence *in situ* hybridization. Complex and heterogeneous chromosomal abnormalities were revealed. It was found that no recurring abnormalities and cytogenetic markers unique to each patients. Also, the 19p13 amplification described previously only in myeloid cell lines was detected.

Key words: acute megakaryocytic leukemia, FISH, amplification, children

Введение

Острый мегакариобластный лейкоз (ОМКБЛ), М7-вариант согласно French-American-British (FAB) классификации [5] впервые был описан в 1931 г. ОМКБЛ встречается редко как у детей, так и у взрослых: по данным ВОЗ, на его долю приходится менее 5 % [22], хотя у детей частота его может достигать 14 % всех случаев острого миелобластного лейкоза (ОМЛ) [3, 12]. Среди детей с синдромом Дауна на долю М7-варианта приходится от 60 до 93 % случаев ОМЛ [13, 23]. По данным исследовательской группы госпиталя St. Jude (США), 5-летняя бессобытийная выживаемость больных М7-вариантом ОМЛ составляет 10 % (против 42 % при других вариантах ОМЛ) [17]. По данным других исследовательских групп, этот показатель несколько выше — 34 % [17] и 22–28 % [4]. Наиболее благоприятным прогнозом с вероятностью долгосрочной выживаемости около 70–83 % пациентов выделяются 2 группы: вариант с хромосомной транслокацией $t(1;22)$, который встречается главным образом у детей первого года жизни, и ОМКБЛ у пациентов с синдромом Дауна [23].

Цитогенетические перестройки при ОМЛ М7 отличаются большой гетерогенностью. Транслокация $t(1;22)(p13;q13)$ в 80 % случаев встречается у детей младше 1 года (медиана возраста — 4 мес) и является единственной перестройкой, патогномоничной для ОМЛ М7. У пациентов с синдромом Дауна $t(1;22)$ встречается редко [6]. В образовании $t(1;22)(p13;q13)$ участвуют гены *OTT* (1p13) и *MAL* (22p13), в результате транслокации образуется химерный ген *OTT-MAL* на деривате 22-й хромосомы [15].

Кроме того, как для детей, так и для взрослых пациентов характерно большое количество неповторяющихся перестроек, как численных, так и структурных. В сравнении с другими вариантами ОМЛ М7-вариант характеризуется высокой частотой сложных комплексных перестроек, достигая, по данным N. Dastugue et al., 94 %. При этом структурные перестройки, как правило, несбалансированные [8]. Среди численных аномалий самыми распространенными являются трисомия 8, трисомия 21 и трисомия 19 [16].

В нашем исследовании мы проанализировали случаи ОМЛ М7 у детей с целью проанализировать

цитогенетический профиль этого редкого заболевания. В большинстве случаев ОМКБЛ отсутствуют повторяющиеся молекулярные маркеры, что делает невозможным использовать метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления инициальных клональных перестроек с последующим контролем оценки статуса ремиссии. Поэтому на первый план выходит поиск значимых цитогенетических маркеров.

Метод стандартного кариотипирования не всегда позволяет выявить все инициальные клональные перестройки при этом варианте. Поэтому для подробного описания цитогенетических маркеров мы применили методы многоцветной гибридизации *in situ* (multicolor FISH, mFISH) и флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с ДНК-зондами к известным хромосомным перестройкам.

Методы

Костный мозг или периферическая кровь для исследования были взяты до начала химиотерапии у 20 больных, которые получали лечение в различных клиниках России. Материал поступал в лабораторию через несколько часов после забора.

Цитогенетическое исследование проводили на краткосрочных (24 ч) культурах костного мозга (18 случаев) либо периферической крови (2 случая). Кариотипирование выполняли методом G-дифференциального окрашивания [21]. Запись кариотипа проводили в соответствии с Международной цитогенетической номенклатурой (ISCN 2009).

Для исследований методом FISH и mFISH использовали коммерческие зонды согласно инструкции производителей. Исследование методом mFISH проводили на метафазных пластинках с помощью набора для окраски целых хромосом XCyte 24 (MetaSystems). Исследование методом FISH проводили на интерфазных ядрах и метафазных пластинках с помощью олигонуклеотидных зондов Vysis LSI (Abbott Molecular) и MetaSystems XL (MetaSystems). Трисомию 19 и 21 выявляли с помощью зондов Vysis LSI 19p13/19q13 и Vysis LSI 21 соответственно. Перестройки гена *MLL* и сегмента 3q26 определяли с помощью зонда Vysis LSI *MLL* и MetaSystems XL *EV11* соответственно. Для выявления аномалий хромосомы 7 использовали зонды Vysis LSI *EGFR*, Vysis LSI *D7S522/CEP7*, Vysis LSI *D7S486/CEP7*, MetaSystems XL *-7/del(7q)*, MetaSystems XL *7q22/7q36*. Кроме того, перестройки хромосом 17 и 22 подтверждали с помощью зондов Vysis LSI *p53/CEP17* и Vysis LSI *EWSR1* соответственно.

Результаты

За период с сентября 2009 по март 2012 г. исследование было выполнено у 20 вновь диагностированных пациентов (13 мальчиков, 7 девочек) с ОМКБЛ в возрасте от 2 месяцев до 12 лет. Диагноз был пос-

тавлен на основании данных морфологического, цитохимического исследований и иммунофенотипирования. Четверо больных были с синдромом Дауна.

Кариотипирование не удалось провести у 7 пациентов. При отсутствии митозов выполняли исследование методом FISH для выявления наиболее часто встречающихся перестроек, описанных в литературе: трисомия 19, 21 и 8, а также перестройки 22q, 7q, 3q, 11q [3, 8, 20]. В результате была подтверждена трисомия 21 у 1 пациента с синдромом Дауна и найдена трисомия 21 как единственная клональная перестройка у 1 больного без синдрома Дауна. У других 5 пациентов каких-либо цитогенетических аномалий методом FISH обнаружено не было.

Стандартное цитогенетическое исследование удалось провести в 13 случаях. В 5 из них выявлен гиперплоидный кариотип со сложными структурными перестройками (см. таблицу, случаи 3–5, 7, 8). У 2 больных определен гипоплоидный кариотип со сложными структурными перестройками (случаи 1, 2). В 1 случае была найдена перестройка *t(1;22)(p13;q13)* в составе гиперплоидного клона (случай 12). У 1 больного единственной перестройкой была дополнительная хромосома 3 (случай 6). У 1 из пациентов с синдромом Дауна единственной перестройкой была конституциональная трисомия 21 (случай 11). У 3 пациентов клональных перестроек обнаружено не было (случаи 9, 10, 13). Хромосомные перестройки, найденные методом G-окрашивания, и уточненные кариотипы после применения mFISH и FISH для 13 пациентов суммированы в таблице.

В 5 случаях из 13 в кариотипе присутствовала дополнительная хромосома 19 (случаи 3, 4, 7, 8, 12). Кроме того, в 2 случаях были обнаружены дериваты хромосомы 19 (случаи 1 и 5).

В случае 5 при стандартном кариотипировании была выявлена *t(10;11)(p13;q21-23)* и маркерная хромосома. При FISH-исследовании с зондом Vysis LSI *MLL* была исключена перестройка гена *MLL*, а при исследовании методом mFISH был обнаружен дериват хромосомы 19, похожий на делетированную либо кольцевую хромосому 19 (рис. 1а). При дополнительном исследовании с зондом Vysis LSI 19p13/19q13 обнаружили отсутствие сигналов от 19q13, а весь маркер представлял собой материал р-плеча (регион 19p13; рис. 1б). Данное явление было расценено как амплификация 19p13.

В случае 1 при исследовании методом mFISH была заподозрена так называемая «прыгающая» транслокация ("jumping" translocation) с вовлечением хромосомы 19 (рис. 2а). С помощью зонда Vysis LSI 19p13/19q13 был подтвержден «прыгающий» характер транслокации и обнаружена амплификация участка 19p13. При сравнении результатов mFISH и FISH-исследований, выполненных на одних и тех же метафазных пластинках, было обнаружено, что во всех метафазах присутствует *der(15)*

Хромосомные перестройки у пациентов с ОМЛ М7

Паци- ент	Возраст, мес	Кариотип (G-banding)	Кариотип (mFISH + FISH)
1	18	42~44,XX,-1,-4,-6,-8,-14,-15,-18,-19, +7mar,inc[cp20]	42~44,XX,+del(1)(q22),der(4)t(1;4)(?;q31),t(2;5)(q12-14;q13), der(6)(t(4;6)(?;?),-6,t(8;18)(q13;p11.2),t(8;19)(p12;p13), t(8;21)(q22;q11),t(9;15;19)(q13;q11;p13),-14,-18. ish t(8;19)amp(19p13)[cp4]/ 42,XX,+del(1)(q22),der(4)t(1;4)(?;q31),t(2;5;19)(q12-14;q13;p13), der(6)(t(4;6)(?;?),-6,t(8;18)(q13;p11.2),t(8;21)(q22;q11), t(9;15;19)(q13;q11;p13),-14,-18.ish t(2;5;19)amp(19p13)[1]/ 43,XX,+del(1) (q22),der(4)t(1;4)(?;q31),t(2;5)(q12-14;q13), der(6)(t(4;6)(?;?),-6,t(8;18)(q13;p11.2),t(8;19)(q12;p13), t(8;21)(q22;q11),t(9;15;19)(q13;q11;p13),-14,-18. ish t(8;19) amp(19p13)[1]
2	24	44,Y,-X,t(1;3)(q?21;q?23-26),der(2),del(4)(q?), -7,t(7;9)?,-13,-15,-17,der(18),+21c,+2mar[9]/ 44,Y,-X,der(2),del(3)(q?),del(4)(q?), -7,-15,-17,der(18),+21c,+mar[17]	44,Y,t(X;4)(?;q28),t(X;9)(q21;p21),-7, der(13;15)(q21;dup13q?;p12), -17,t(17;18)(q12;q21),+21c[2]
3	11	51,XX,+2,+6 or +8,+10,+19,+21, +der(22) t(?4q31;22q13)[21]	51,XX,+2,t(4;14)(p11;q31),+6, t(7;22)(p15;q13),+10,+19,+21[3]
4	9	47,XY,-7,del(8)(q22),+19,+mar(r)[35]	47,XY,-7, +r(p22?p12q22?) del(8)(q22),+19[10]
5	57	47,XX,t(10;11)(p13;q21-23?), +mar(r?)[13]/46,XX[30]	47,XX,t(10;11)(p13;q21-23?),+der(19)(amp 19p13)[3]
6	12	47,XX,+3[8]/47,XX,+3,rear(3q21-26)?[2]	47,XX,+3 [2]
7	12	50-51,XY,+6,+8,der(9),+19,+21,+mar[cp13]/ 46,XY[10]	50,XY,-4,+6,+8,t(9;11;15)(p13;q23;q14),+14,+19,+21[cp4]
8	11	52,XY,der(6)?add 6q,+8,+13,+19,+21,+21,+21[5]	52 ,XY,add 6q,+8,+13,+19,+21,+21,+21[3]
9	49	46,XY[20]	—
10	12	46,XX[17]	—
11	2	47,XY,+21[25]	—
12	10	49-55,XY,t(1;22)(p13;q13),+der(1)t(1;22) (p13;q13),add(3q27),+der(del(6)(q25)),+der(7), +11,+13,+D,+17,+19,+21[cp7]	49-55,XY,t(1;22)(p13;q13),+der(1)t(1;22)(p13;q13),add(3q27),+der(del(6) (q25)),+der(7),+11,+13,+D,+17,+19,+21[cp7]
13	144	46,XX[15]	—

Примечание. У пациентов № 1—5, 7, 8, 12 со сложными хромосомными перестройками кариотип был значительно уточнен в результате mFISH и FISH-исследования. У пациентов № 1 и 5 обнаружена амплификация 19p13. У пациента № 11 единственной перестройкой является конституциональная трисомия 21. У пациентов № 9, 10, 13 клональных перестроек не обнаружено.

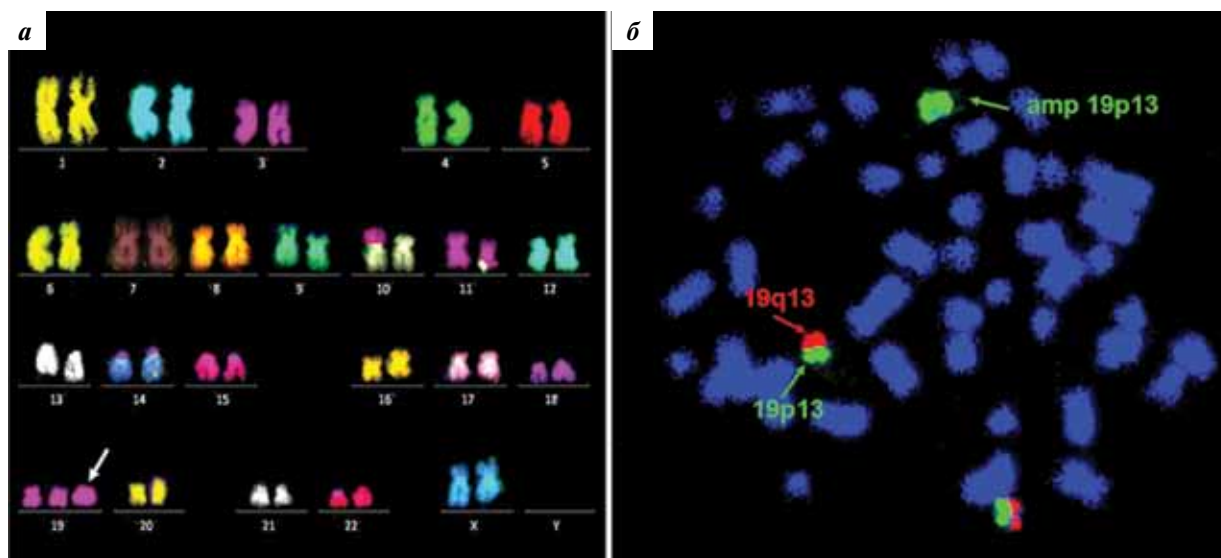


Рис. 1. Пациентка № 5 (4 года 9 мес) с гиперлоидным кариотипом, содержащим t(10;11)(p13;q21-23?) и маркер:
а — при исследовании методом mFISH видно, что маркер (обозначен стрелкой) состоит из материала хромосомы 19;
б — маркер представляет собой амплифицированный участок 19p13 (FISH-исследование с зондом Vysis LSI 19p13/19q13)

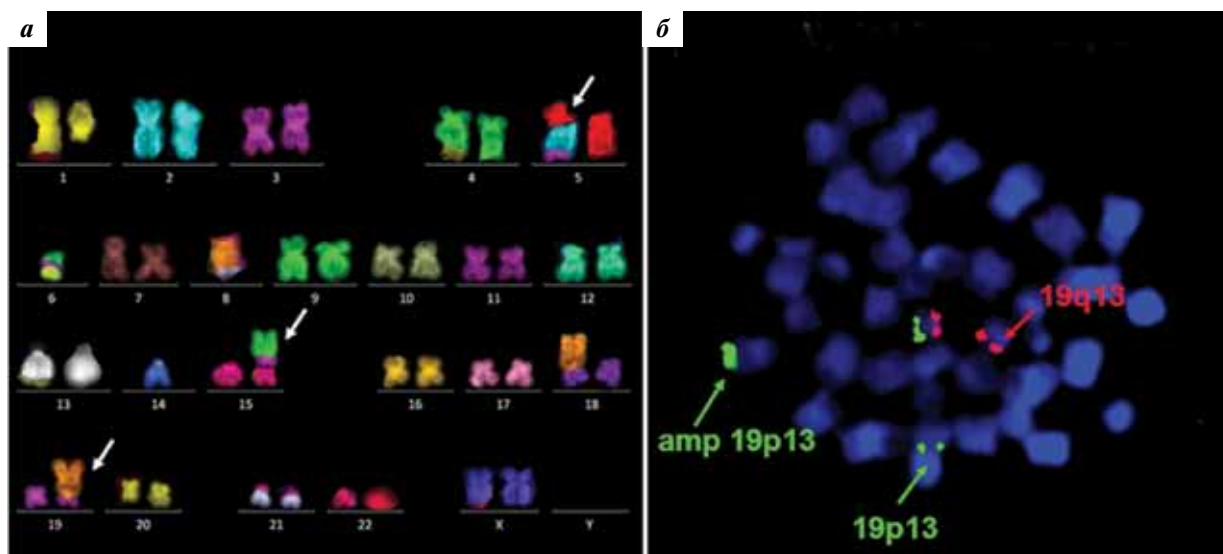


Рис. 2. Пациентка № 1 (1 год 6 мес) с гиподиплоидным кариотипом со множественными структурными перестройками: а — при исследовании методом *mFISH* видно, что материал хромосомы 19 присутствует в нескольких деривативных хромосомах (обозначены стрелками); б — в деривативной хромосоме *der(5)t(2;5;19)(q12-14;q13;p13atp)* содержится амплифицированный участок 19p13 (*FISH*-исследование с зондом *Vysis LSI 19p13/19q13*)

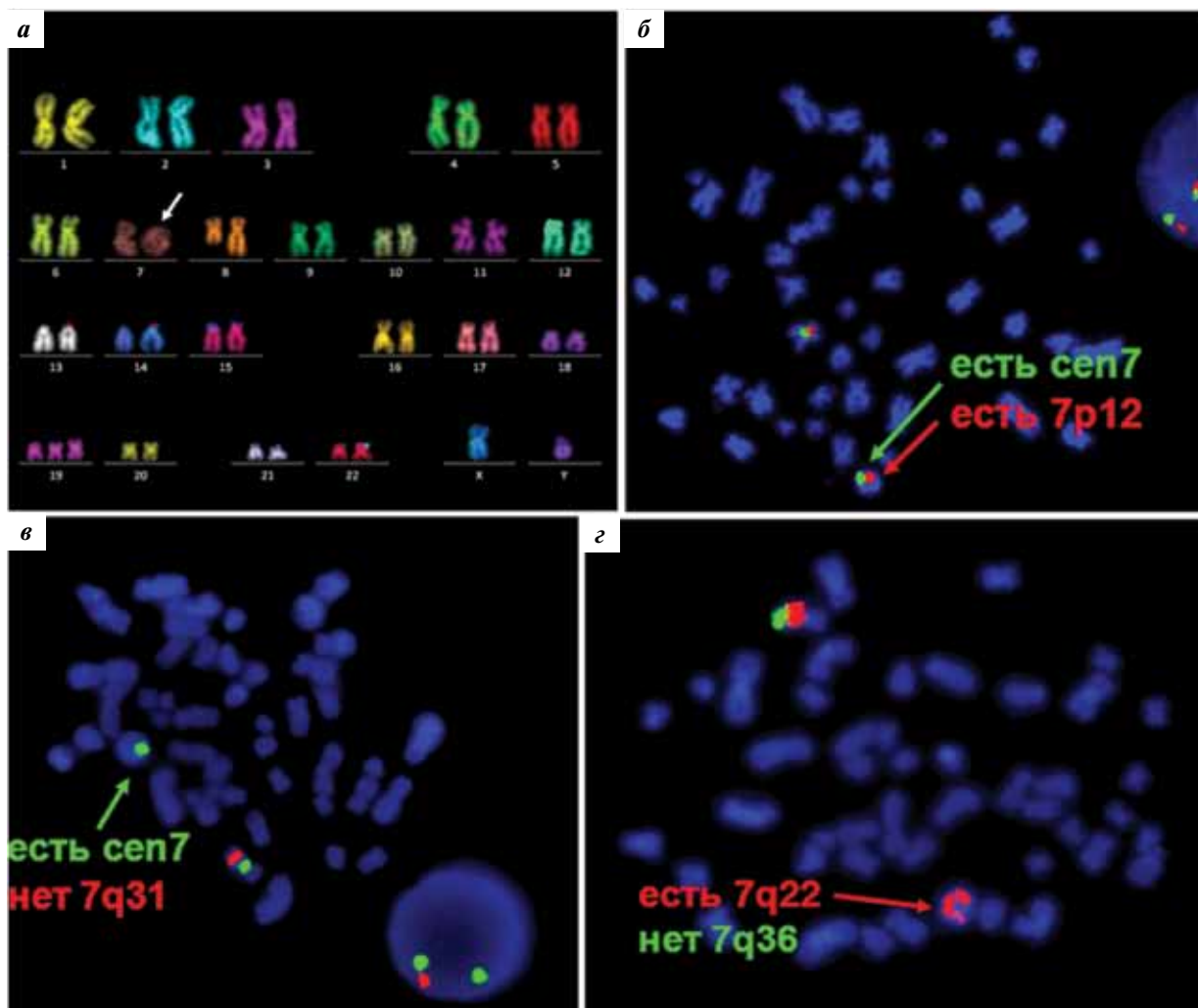


Рис. 3. Пациент № 4 (9 мес) с гипердиплоидным кариотипом, содержащим кольцевую хромосому: а — исследование методом *mFISH* показало, что кольцевая хромосома (обозначена стрелкой) состоит из материала хромосомы 7; б — кольцевая хромосома содержит центромеру и р-плечо хромосомы 7 (*FISH*-исследование с зондом *Vysis LSI EGFR*); в — в кольце имеет место делеция 7q31 (гибридизация с зондом *Vysis LSI D7S522/CEP7*); г — амплификация участка 7q22 в кольцевой хромосоме (зонд *Metasystems XL 7q22/7q36*)

t(9;15;19)(q13;q11;?), с которым связывается зонд 19p13. Кроме того, в 5 метафазах из 6 амплифицированный сегмент 19p13 располагается на der(8)t(8;19)(p12;p13amp). В 1 метафазе из 6 этот сегмент находится на der(5)t(2;5;19)(q12-14;q13;p13amp) (рис. 2б). Таким образом, у данного пациента имела место «прыгающая» транслокация и амплификация 19p13.

В одном случае (4) при стандартном кариотипировании была обнаружена крупная кольцевая хромосома. При исследовании методом mFISH оказалось, что она состоит из материала хромосомы 7 (рис. 3а). Дополнительное исследование методом FISH с зондом Vysis LSI EGFR позволило выяснить, что кольцевая хромосома содержит центромеру и р-плечо хромосомы 7 (рис. 3б), а гибридизация с зондами Vysis LSI D7S522/CEP7 и MetaSystems XL 7q22/7q36 показала, что имеет место делеция 7q31 и, по-видимому, амплификация участка 7q22 (рис. 3в, г).

Трисомия 8 была найдена у 2 пациентов (случаи 7 и 8), причем в обоих случаях имел место гиперплоидный кариотип (50,XY и 52,XY соответственно).

Трисомия 21, не являющаяся конституциональной, была найдена в 4 случаях с выполненными кариотипами (случаи 3, 7, 8, 12) и у 1 пациента без митозов, причем у пациента 8 присутствовали 3 дополнительные хромосомы 21. У пациентов с синдромом Дауна клональных дополнительных хромосом 21 обнаружено не было.

Обсуждение

Из 13 пациентов с успешно выполненными кариотипами хромосомные aberrации были найдены у 10, что составляет 77 %. Это соотносится с данными Nama et al., где частота выявления aberrаций при ОМЛ М7 составила 85 % [12].

Согласно данным литературы, наиболее часто при ОМЛ М7 встречаются численные аномалии — трисомия 8 (18–31 %), трисомия 21 (10,5–43 %), трисомия 19 (9–21 %) [3, 16, 18]. При этом трисомия 21 ассоциирована именно с детскими случаями ОМЛ М7 и редко встречается у взрослых. В нашем исследовании самой частой аномалией была дополнительная хромосома 19 (25 %). Далее следует трисомия 21 (20 %) (согласно данным А. Nama et al., частота встречаемости этой аномалии составляет 17 % [12]). Встречаемость трисомии 8 в нашем исследовании не превышает 10%. Следует отметить, что она наблюдалась только у пациентов без синдрома Дауна. Это соотносится с публикуемыми данными.

Частота встречаемости t(1;22)(p13;q13) составляет от 3,1 до 33 %, по данным разных исследовательских групп [3, 8]. Эта транслокация была выявлена нами при стандартном цитогенетическом исследовании у 1 пациента (случай 12). Частоту встречаемости этой транслокации у пациентов без митозов оказалось невозможно определить, поскольку для ее обнаружения используется метод ПЦР, который в нашем исследовании не применялся. В литературе описано также частое увеличение числа копий 1q в результате

дупликаций, образования изохромосом и несбалансированных транслокаций (особенно у детей с синдромом Дауна) [12]. В нашем исследовании подобное явление встретилось у 1 пациента без синдрома Дауна.

Частота структурных перестроек с вовлечением 7q в нашем исследовании составила 10 %, что соответствует результатам Athale et al. В этом же исследовании сегмент 11q оказался перестроен в 25 % против 10 %, по нашим данным [3].

Перестройки 3q, согласно данным литературы, встречаются в 6,7 % [8]. Среди наших пациентов рearанжировок 3q, в том числе с вовлечением гена *EVII*, обнаружено не было.

Амплификация хромосомных участков и отдельных генов встречается преимущественно при солидных опухолях. При острых лейкозах встречается редко. Тем не менее, хорошо изучено такое явление, как амплификация гена *RUNX1* при острых лимфобластных лейкозах (ОЛЛ). Данная перестройка бывает, как правило, единственной в кариотипе и ассоциирована с худшим прогнозом по сравнению с другими цитогенетическими подгруппами ОЛЛ у детей [18]. Более редкими являются случаи амплификации *MLL*, *ETV6*, *RARa*, и они также ассоциированы с плохим прогнозом [2, 7, 20]. Для ОМЛ М7 описана высокая частота увеличения копияности материала q-плеча хромосомы 19 (19q13 gain) при исследовании методом сравнительной геномной гибридизации — 33,3 % (см. [1]). В нашей группе пациентов мы столкнулись с явлением амплификации 19p13. Очевидно, данное событие неслучайно, поскольку частота встречаемости составила 10 %. Кроме того, как уже было упомянуто, трисомия 19 является характерной для ОМЛ М7. Также в литературе была описана амплификация 19p13 в миелоидной клеточной линии NB-4 [19]. Возможно, на хромосоме 19 локализуются гены, ответственные за развитие ОМКБЛ. Согласно данным Rucker et al., амплификация 19p13 коррелирует с высокой экспрессией адгезионных молекул ICAM1 [19]. Они связываются с LFA1 на поверхности Т-клеток и обладают костимулирующим действием при взаимодействии Т-клеточного рецептора с комплексом МНСII. Возможно, именно гиперэкспрессия ICAM1 «отвечает» за плохой прогноз при ОМЛ М7, поскольку ранее было показано, что высокий уровень костимулирующих молекул связан с плохим ответом на лечение при ОМЛ [11].

Переход части хромосомы-«донора» на 2 и более хромосомы-«реципиента» в различных клеточных клонах называют «прыгающей» ("jumping") транслокацией. Данное событие является нечастым; как правило, эти перестройки являются вторичными и сопряжены с плохим прогнозом [14]. В нашей группе наблюдался 1 случай «прыгающей» транслокации — амплифицированный сегмент 19p13 перестраивался с хромосомой 8 в преобладающем клоне и с хромосомой 5 в минорном клоне (случай 1). У данного пациента наблюдалось резистентное течение заболевания.

Кольцевые хромосомы встречаются в 7,4 % острых нелимфобластных лейкозов. Наиболее часто в состав кольцевых хромосом входит хромосома 11 (15 %), далее следуют хромосомы 7 (14 %) и 21 (9 %) [10]. Нам встретился 1 случай образования кольца из хромосомы 7 (случай 4). Как правило, образование кольцевых хромосом сопряжено с неблагоприятным прогнозом. Тем не менее, существует ряд данных о том, что пациенты с кольцевой хромосомой, состоящей из материала хромосомы 7, отличаются более благоприятным прогнозом по сравнению с моносомией 7 [9].

Заключение

Таким образом, проведенное исследование показывает комплексный и гетерогенный характер хромосомных перестроек у детей при таком редком заболевании, как ОМЛ М7. Совместное применение метода стандартного кариотипирования, mFISH

и FISH позволяет описать эти аберрации с достаточно высокой точностью. Нами показано также, что при этом заболевании практически отсутствуют повторяющиеся перестройки и цитогенетические маркеры уникальны для каждого пациента. Это особенно важно для мониторинга минимальной остаточной болезни, поскольку выбор молекулярных маркеров затруднен и мониторинг возможно проводить методом FISH на уровне чувствительности ДНК-зондов и, конечно, методом иммунофенотипирования. Наше исследование также выявило воспроизводящийся цитогенетический маркер М7-варианта ОМЛ у детей – амплификацию 19p13, что было ранее описано только в миелоидных клеточных линиях. Этот феномен является неслучайным и требует дальнейшего изучения с целью поиска возможных генов, которые могут принимать участие в патогенезе ОМКБЛ.

Л и т е р а т у р а

1. Alvarez S., MacGrogan D., Calasanz M.J. et al. Frequent gain of chromosome 19 in megakaryoblastic leukemias detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 2001;32(3):285–93.
2. Asleson A.D., Morgan V., Smith S. et al. Amplification of the RARA gene in acute myeloid leukemia: significant finding or coincidental observation? *Cancer Genet Cytogenet* 2010;202(1):33–7.
3. Athale U.H., Razzouk B.I., Raimondi S.C. et al. Biology and outcome of childhood acute megakaryoblastic leukemia: a single institution's experience. *Blood* 2001;97(12):3272–32.
4. Barnard D.R., Alonzo T.A., Gerbing R.B. et al. Comparison of childhood myelodysplastic syndrome, AML FAB M6 or M7, CCG 2891: report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* 2007;49(1):17–22.
5. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T. et al. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage (M7). A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985;103(3):460–2.
6. Bernstein J., Dastugue N., Haas O.A. et al. Nineteen cases of the t(1;22)(p13;q13) acute megakaryoblastic leukaemia of infants/children and a review of 39 cases: report from a t(1;22) study group. *Leukemia* 2000;14(1):216–8.
7. Chae H., Kim M., Lim J. et al. B lymphoblastic leukemia with ETV6 amplification. *Cancer Genet Cytogenet* 2010;203(2):284–7.
8. Dastugue N., Lafage-Pochitaloff M., Pages M.P. et al. Cytogenetic profile of childhood and adult megakaryoblastic leukemia (M7): a study of the Groupe Francais de Cytogenetique Hematologique (GFCH). *Blood* 2002;100(2):618–26.
9. Fujino H., Fujita N., Hamamoto K. et al. Ring/marker chromosome derived from chromosome 7 in childhood acute megakaryoblastic leukemia with monosomy 7. *Int J Hematol* 2010;92(2):386–90.
10. Gebhart E. Ring chromosomes in human neoplasias. *Cytogenet Genome Res* 2008;121(3–4):149–73.
11. Graf M., Reif S., Hecht K. et al. High expression of costimulatory molecules correlates with low relapse-free survival probability in acute myeloid leukemia (AML). *Ann Hematol* 2005;84(5):287–97.
12. Hama A., Muramatsu H., Makishima H. et al. Molecular lesions in childhood and adult acute megakaryoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2012;156(3): 316–25.
13. Kudo K., Kojima S., Tabuchi K. et al. Prospective study of a pirarubicin, intermediate-dose cytarabine, and etoposide regimen in children with Down syndrome and acute myeloid leukemia: the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 2007;25(34): 5442–7.
14. Lizcova L., Zemanova Z., E. Malinova, et al. Jumping translocations in bone marrow cells of pediatric patients with hematologic malignancies: a rare cytogenetic phenomenon. *Cancer Genet* 2011;204(6):348–9.
15. Ma Z., Morris S.W., Valentine V. et al. Fusion of two novel genes, RBM15 and MKL1, in the t(1;22)(p13;q13) of acute megakaryoblastic leukemia. *Nat Genet* 2001;28(3): 220–1.
16. Nimer S.D., MacGrogan D., Jhanwar S. et al. Chromosome 19 abnormalities are commonly seen in AML, M7. *Blood* 2002;100(10):3838; author reply 3838–9.
17. Reinhardt D., Diekamp S., Langebrake C. et al. Acute megakaryoblastic leukemia in children and adolescents, excluding Down's syndrome: improved outcome with intensified induction treatment. *Leukemia* 2005;19(8):1495–6.
18. Robinson H.M., Harrison C.J., Moorman A.V. et al. Intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21) may arise from a breakage-fusion-bridge cycle. *Genes Chromosomes Cancer* 2007;46(4):318–26.
19. Rucker F.G., Sander S., Dohner K. et al. Molecular profiling reveals myeloid leukemia cell lines to be faithful model systems characterized by distinct genomic aberrations. *Leukemia* 2006;20(6):994–1001.
20. Sarova I., Brezinova J., Zemanova Z. et al. Cytogenetic manifestation of chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2010;199(2): 121–7.
21. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971;2(7731):971–2.
22. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris, E.S. Jaffe, S.A. Pileri, H. Stein, J. Thiele, J.W. Vardiman, eds.), 4th edition, IARC Press, Lyon, 2008.
23. Zwaan M.C., Reinhardt D., Hitzler J. et al. Acute leukemias in children with Down syndrome. *Pediatr Clin North Am* 2008;55(1):53–70, x.