

lek. Małgorzata Gajewska, Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii WIM-PIB

Promotor: prof. dr hab. n. med. Kazimierz Sułek

Zastosowanie oceny stref organizatorów jąderkotwórczych (*AgNOR ang. argyrophilic nucleolar organizer region*) w ostrych białaczkach

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Celem pracy było ustalenie, czy ocena wskaźników AgNOR jest przydatna w różnicowaniu ostrych białaczek i czy wraz z analizą zaburzeń cytogenetycznych pozwoli na szybką ocenę grupy ryzyka.

U pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML) i u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) w komórkach blastycznych mierzono następujące parametry: średnią liczbę AgNOR, średnią powierzchnię AgNOR oraz stosunek powierzchni AgNOR do powierzchni jądra komórkowego. Analizie poddano również kształt i rozmieszczenie struktur AgNOR w komórkach. Aspiraty szpiku 70 pacjentów z ostrymi białaczkami poddano ocenie morfologicznej, immunofenotypowej i genetycznej. Wszystkie aspiraty szpiku poddano barwieniu azotanem srebra.

Celem badań będących przedmiotem serii publikacji było:

- 1) analiza struktur AgNOR w ostrych białaczkach u dorosłych,
- 2) ocena wartości diagnostycznej i różnicującej wybranych wskaźników AgNOR w AML u dorosłych,
- 3) ustalenie wartości rokowniczej AgNOR w ostrych białaczkach.

W publikacji **Analysis of Argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in acute leukemia in adults** wykazano wyższe wartości wszystkich mierzonych parametrów AgNOR u pacjentów z AML w porównaniu z pacjentami ALL. W grupie pacjentów z AML wykazano wyższe wartości średniej powierzchni AgNOR w grupie cytogenetycznej ELN3 w porównaniu do pacjentów z grupy cytogenetycznej ELN2. Wyższą wartość średniej liczby AgNOR wykazano w grupie pacjentów $WBC > 12 \times 10^9 / L$ w porównaniu z grupą pacjentów $WBC < 12 \times 10^9 / L$, a także w grupie pacjentów z odsetkiem blastów we krwi obwodowej $> 20\%$. W ALL, wykazano wyższą wartość stosunku powierzchni AgNOR do powierzchni jądra w grupie pacjentów z obecnością

chromosomu Philadelphia. Analiza AgNOR w ostrych białaczkach u dorosłych jest dobrą metodą różnicującą wstępnie AML i ALL.

Celem pracy **AgNOR patterns and configurations in adult acute leukemias patients** było także ustalenie czy analiza liczby i konfiguracji AgNOR w odniesieniu do określonych zaburzeń cytogenetyczno-molekularnych pozwoliłyby na szybką ocenę zmian cytogenetycznych i kwalifikację pacjenta do określonej grupy ryzyka. Analizie poddano kształt, pole powierzchni i rozmieszczenie struktur AgNOR w komórkach blastycznych szpiku kostnego u dorosłych pacjentów z ostrymi białaczkami. Zaobserwowano statystycznie znaczne różnice wśród struktur AgNOR prostych, mieszanych oraz złożonych w ostrej białaczce szpikowej (AML) w porównaniu z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL). Wykazano statystycznie znaczącą różnicę w rozkładzie konfiguracji AgNOR wśród grup ryzyka cytogenetycznego AML. Wykazano statystycznie znaczącą różnicę średniej liczby AgNOR w ALL-T w porównaniu do grupy chorych z ALL-B wśród struktur SD (mała kropka). W AML oraz ALL wykazaliśmy różnorodność w rozkładzie struktur AgNOR oraz w ich dominujących wzorcach. Analiza konfiguracji AgNOR może być użyteczną metodą różnicowania pacjentów z ostrymi białaczkami oraz z ryzykiem cytogenetycznym.

W publikacji **Can AgNOR counts and configuration predict complete remission in adult acute myelogenous leukemia patients** analiza AgNOR została przeprowadzona u pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML) w celu weryfikacji roli parametrów AgNOR w przewidywaniu całkowitej remisji (CR). Aspiraty szpiku kostnego od 24 pacjentów z AML poddano analizie morfologicznej, immunofenotypowej, genetycznej i barwiono azotanem srebra. Mierzono następujące parametry: średnią liczbę AgNOR w jądrze, średnią powierzchnię AgNOR oraz stosunek powierzchni AgNOR do powierzchni jądra komórkowego. Po chemioterapii indukującej pacjenci, którzy osiągnęli całkowitą remisję (CR) otrzymali chemioterapię konsolidującą. U 15 pacjentów przeprowadzono allogeniczną transplantację szpiku. Wyższy średni stosunek powierzchni AgNOR do powierzchni jądra stwierdzono w grupie chorych ze statusem CR.

SUMMARY

The assessment of argyrophylic nucleolar region (AgNOR) in adult acute leukemia

The aim of this study was to determine whether the assessment of AgNOR parameters is useful in the differentiation of acute leukemia and, together with cytogenetic changes, would allow for a quick evaluation of the risk group.

In leukemic cells, the mean AgNORs number, mean AgNOR area, and mean AgNOR area-to-nucleus- area ratio were calculated in patients with acute myeloid leukemia (AML) and patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL). The AgNOR structures were also analyzed in terms of shape and distribution in bone marrow cells. Bone marrow aspirates from 70 patients with acute leukemia underwent morphological, immunophenotypic, and genetic assesment and were stained with silver nitrate.

The objective of research being the subject of the the publications in the series was to:

- 1) analysis of AgNOR structures in acute leukemias in adults,
- 2) diagnostic and differentiating value of selected AgNOR indicators in acute leukemia in adults,
- 3) determination of prognostic value of AgNOR in acute leukemias.

In publication **Analysis of Argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in acute leukemia in adults** a higher value of all measured AgNOR parameters was observed in patients with AML compared to the ALL group. In AML patients, a higher mean AgNOR area was found in the ELN3 cytogenetic group compared to the ELN2 cytogenetic group. A higher value of the mean AgNOR count was observed in patients with WBC $>12 \times 10^9$ /L than in the group with WBC $<12 \times 10^9$ /L, as well as in patients with $>20\%$ blasts in PB. In the ALL group, a higher mean AgNOR-area-to-nucleus-area ratio was found in group with the presence of Philadelphia chromosome Ph(+) than without the Philadelphia chromosome Ph(-). AgNOR parameter analysis is valuable method for differeentiation of AML and ALL in adults.

The aim of the study in publication **AgNOR patterns and configurations in adult acute leukemias patients** was to determine whether the assessment of AgNOR parameters is useful in the differentiation of acute leukemias and, together with cytogenetic changes, would allow for a quick evaluation of the risk group. The AgNOR

structures were analyzed in terms of the shape, surface area and distribution in bone marrow blast cells in patients with acute leukemias. We observed significant differences in the AgNOR structures, simple, compound and complex patterns between acute myeloid leukemia (AML) and acute lymphoblastic leukemia (ALL). Complex structures were more numerous in ALL than in AML patients. There were significant differences in the distribution of AgNOR configuration among various cytogenetic AML risk groups. We observed a significant difference in the mean number of AgNOR between ALL-T and ALL-B among SD (small dot) structures. We detected diversity in the AgNOR structures and pattern map in AML and ALL. Thus, presentation of a variety of AgNOR configurations is innovative and can be a useful method of differentiating patients with acute leukemia types and cytogenetic risk.

In publication **Can AgNOR counts and configuration predict complete remission in adult acute myelogenous leukemia patients** the analysis of the AgNORs was performed in patients with acute myeloid leukemia (AML) to verify the role of AgNOR parameters in predicting complete remission (CR). Bone marrow aspirates from 24 patients with AML underwent morphological, immunophenotypic, and genetic assessment and were stained with silver nitrate. The mean AgNORs number, mean AgNORs area, and the mean AgNOR area-to-nucleus-area ratio were calculated for each case. After induction therapy, patients who achieved complete remission (CR) received intensive consolidation treatment. Fifteen patients underwent allogeneic bone marrow transplantation. A higher mean AgNOR area-to-nucleus-area ratio was found in group with the CR status.