

# C-kit mutacija u akutnoj mijeloičnoj leukemiji s preuredbom gena grupe CBF

---

**Bilać, Jakov**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:016299>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-02**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Jakov Bilać**

**C-kit mutacija u akutnoj mijeloičnoj leukemiji s  
preuredbom gena grupe CBF**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2019.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Jakov Bilać**

**C-kit mutacija u akutnoj mijeloičnoj leukemiji s  
preuredbom gena grupe CBF**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2019.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Dubrava pod vodstvom prof. dr. sc. Rajka Kušeca i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

## Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu

**ADP** – adenzin difosfat

**AKT** – protein kinaza B

**AML** – akutna mijeloična leukemija

**AML1** – gen i protein akutne mijeloične leukemije-1 (engl. *acute myeloid leukemia 1*)

**AML M2** – akutna mijeloična leukemija sa sazrijevanjem

**AML M4Eo** – akutna mijelomonocitna leukemija s eozinofilijom

**ATP** – adenzin trifosfat

**BAD** – Bcl-2 pridruženi letalni promotor (engl. *Bcl-2-associated death promoter*)

**CBF** – transkripcijski faktor, središnji vezni faktor (engl. *core binding factor*)

**CBFB** – transkripcijski faktor, središnji vezni faktor beta (engl. *core-binding factor subunit beta*)

**CFU-GM** – stanična jedinica koja stvara granulocitno - monocitne kolonije *in vitro* (engl. *colony forming unit, granulocyte, monocyte*)

**CN-AML** – akutna mijeloična leukemija s normalnim kariotipom (engl. *cytogenetically normal acute myeloid leukemia*)

**CR** – kompletna remisija (engl. *complete remission*)

**DIK** – diseminirana intravaskularna koagulacija

**ECOG** – Istočnoamerička kooperativna onkološka skupina (engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*)

**ETO** – jezgrin korepresorski gen (engl. *eight-twenty-one*)

**FAB** – podjela akutnih leukemija francusko-američkog-britanskih autora

**FISH** – fluorescentna *in situ* hibridizacija

**FLT3** – enzim tirozin kinaze, regulator hematopoeze (engl. *FMS-like tyrosine kinase 3*)

**FOS** – FBJ onkogen osteosarkoma (engl. *FBJ osteosarcoma oncogene*)

**Grb2** – adaptorski protein uključen u prijenos signala (engl. *growth factor receptor-bound protein 2*)

**GTG** – tehnika pruganja kromosoma tripsin/gimzom (engl. *G-banding with trypsin/Giemsa*)

**GTP** – gvanozin trifosfat

**inv** – translokacija

**IL-3** – interleukin 3

**ITD** – unutarnja duplikacija (engl. *internal tandem duplication*)

**JAK2** – Janus pridružena kinaza 2 (engl. *Janus associated kinase 2*)

**KB** – Klinička bolnica

**LMS** – leukemijska matična stanica

**MAPK** – mitogenom aktivirana protein kinaza (engl. *mitogen activated protein kinase*)

**MDS** – mijelodisplastični sindrom

**MiS** – mijeloidni sarkom

**MPN** – mijeloproliferativni zloćudni tumori (engl. *myeloproliferative neoplasms*)

**MYH11** – glavni kontraktilni protein miozin (engl. *myosin heavy chain*)

**NCoR** – kompleks jezgrinog represora

**NK stanice** – stanice prirodne ubojice (engl. *natural killer*)

**OS** – sveukupno preživljenje (engl. *overall survival*)

**PDGFR** – receptori faktora rasta trombocitnog porijekla (engl. *platelet-derived growth factor receptors*)

**PI3K** – enzim fosfatidilinozitol 3 kinaza (engl. *phosphatidylinositol 3-kinase*)

**RAS** – stanični prijenosnik signala (engl. *rat sarcoma*)

**RTK** – receptor tirozin kinaze

**RT-PCR** – polimerazna lančana reakcija obrnute transkriptaze (engl. *reverse transcriptase polymerase chain reaction*)

**RUNX1** – kržljajući transkripcijski faktor (engl. *runt-related transcription factor-1*)

**RUNX1T1** – RUNX1 translokacijski partner (engl. *runt-related transcription factor 1, translocated to 1*)

**s-AML** – sekundarna akutna mijeloična leukemija

**SCF** – faktor matičnih stanica (engl. *stem cell factor*)

**SCFR** – receptor faktora matičnih stanica (engl. *stem cell factor receptor*)

**SH2** – Src homologna regija 2 (engl. *Src homology region 2*)

**SMMHC** – gen kontraktilnog proteina miozina (engl. *smooth muscle myosin heavy chain*)

**STAT** – prenositelj signala i aktivator transkripcije (engl. *signal transducer and activator of transcription*)

**t** – translokacija

**t-AML** – AML nakon terapije

**TKD** – tirozin-kinazna domena

**TKI** – inhibitori tirozin kinaze

**WBC** – broj leukocita (engl. white blood cell count)

**WHO** – Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation*)

## Sadržaj

|  |    |
|--|----|
| Sažetak .....  |    |
| Summary .....  |    |
| 1. Uvod.....   | 1  |
| 2. Etiologija .....  | 2  |
| 3. Patogeneza.....   | 3  |
| 4. Klasifikacija.....  | 5  |
| 5. Klinička slika.....   | 7  |
| 6. Dijagnoza.....  | 10 |
| 7. Prognoza .....  | 14 |
| 7.1. Čimbenici vezani za pacijenta .....                           | 14 |
| 7.2. Čimbenici vezani za bolest.....                               | 14 |
| 8. Liječenje .....   | 17 |
| 9. <i>Core binding factor</i> kompleks .....                       | 18 |
| 10. Translokacija t(8;21).....                                     | 18 |
| 11. Inverzija inv(16).....   | 20 |
| 12. Demografske, kliničke i sekundarne citogenetske promjene.....  | 21 |
| 13. Genske mutacije .....  | 22 |
| 13.1. <i>FLT3</i> gen.....   | 22 |
| 13.2. <i>JAK2</i> gen.....   | 24 |
| 13.3. <i>RAS</i> gen.....  | 25 |
| 14. <i>KIT</i> mutacije u CBF AML-u.....                           | 26 |
| 14.1. Signalni putevi .....  | 28 |
| 14.2. Mutacije <i>KIT</i> gena .....                               | 29 |
| 14.3. Prognostička vrijednost <i>KIT</i> mutacija u CBF AML-u..... | 30 |
| 14.4. Terapijska vrijednost <i>KIT</i> mutacija u CBF AML-u.....   | 31 |
| 15. Zaključak .....  | 32 |
| 16. Zahvale .....  | 33 |
| 17. Popis literature .....   | 34 |
| 18. Životopis.....   | 43 |



## Sažetak

**Naslov:** C-kit mutacija u akutnoj mijeloičnoj leukemiji s preuredbom gena grupe CBF

**Autor:** Jakov Bilać

Akutna mijeloična leukemija s preuredbom gena grupe CBF se citogenetski definira prisutnošću  $t(8;21)(q22;q22)$  ili  $inv(16)(p13;q22)/t(16;16)(p13;q22)$  i ona čini 15% svih slučajeva *de novo* AML-a u odraslih. Na molekularnoj razini, obje kromosomske promjene dovode do poremećaja funkcije CBF-a, heterodimernog transkripcijskog faktora koji regulira normalnu hematopoezu. Mutacije CBF gena rezultiraju zaustavljanjem diferencijacije i povećanjem sposobnosti samoobnavljanja hematopoetskih progenitora te na taj način sudjeluju u leukemijskoj transformaciji. Unatoč mnogim zajedničkim karakteristikama, istraživanja pokazuju značajne genetske, kliničke i prognostičke razlike između AML-a s  $t(8;21)$  odnosno  $inv(16)$  što upućuje na činjenicu da ih treba razmatrati kao dva zasebna entiteta. Iako se bolesnici s CBF AML-om svrstavaju u skupinu s povoljnom prognozom, trenutnim načinom liječenja samo polovica uspijeva ostvariti dugogodišnje preživljenje. U svrhu poboljšanja ishoda liječenja potrebna je bolja stratifikacija rizika na temelju kliničkih i/ili genetskih čimbenika te razvoj ciljane antitumorske terapije. Dobar kandidat za to su mutacije *KIT* gena koje se mogu pronaći u rasponu od 17% do čak 46% slučajeva CBF AML-a, što ih čini najučestalijim mutacijama u ovoj skupini. One dovode do konstitucijske aktivnosti c-kit receptora koji tada neovisno o prisutnosti liganda potiče stanicu na proliferaciju. U ovom radu bit će prikazana dosadašnja saznanja o prognostičkoj i terapijskoj vrijednosti *KIT* mutacija u CBF AML-u.

**Ključne riječi:** CBF AML, *KIT* mutacije, stratifikacija rizika, ciljana terapija

## Summary

**Title:** C-kit mutation in acute myeloid leukemia with CBF-gene rearrangement

**Author:** Jakov Bilać

Core binding factor (CBF) acute myeloid leukemia (AML) is cytogenetically defined by the presence of t(8;21)(q22;q22) or inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22) and constitutes approximately 15% of all adult de novo AML cases. At the molecular level, both chromosome changes result in disruption of CBF, a heterodimeric transcription factor that functions as an essential regulator of normal hematopoiesis. Mutations in CBF-encoding genes result in disruption of differentiation and increased self-renewal capacity of the hematopoietic progenitors thus contribute to leukemogenesis. Despite numerous similarities, studies demonstrate significant differences in genetic, clinical, and prognostic features between t(8;21) and inv(16)/t(16;16) AML, thereby supporting the notion that they represent two distinct entities. Although CBF AML patients are considered to have relatively good prognosis, only approximately half of the CBF AML patients achieve long-term survival with current therapy. Improvements in risk stratification based upon clinical and/or genetic factors and development of targeted therapies are needed for better outcomes. *KIT* mutations, most common mutations found in 17-46% of CBF AML cases, are considered to be good potential molecular marker. They lead to constitutive activity of c-kit receptor which in turn induces ligand-independent cell proliferation. This review provides overview of current knowledge regarding prognostic and therapeutic value of *KIT* mutations in CBF AML.

**Key words:** CBF AML, *KIT* mutations, risk stratification, targeted therapy

# 1. Uvod

Akutna mijeloična leukemija (AML) s preuredbom gena grupe CBF (engl. *core binding factor*) je karakterizirana prisutnošću balansirane translokacije između kromosoma 8 i 21 [ $t(8;21)(q22;q22)$ ] i pericentrične inverzije kromosoma 16 [ $inv(16)(p13q22)$ ] ili njegove manje učestale varijante, balansirane translokacije  $t(16;16)(p13;q22)$  (1). Na molekularnoj razini, obje kromosomske promjene dovode do preuredbe gena koji kodiraju različite podjedinice heterodimernog transkripcijskog faktora nazvanog središnji vezni faktor (CBF). S obzirom da je CBF-a važan regulator hematopoeze, nužan za normalnu diferencijaciju krvotvornih stanica, smatra se da novonastali fuzijski kimerični geni sudjeluju u nastanku AML-a (2,3). *Core binding factor* akutna mijeloična leukemija je poprilično učestala, budući da se kod odraslih s *de novo* AML-om,  $t(8;21)$  i  $inv(16)/t(16;16)$  opažaju u oko 7% odnosno 8% bolesnika (4). Razlog zbog kojeg se ove dvije kromosomske promjene često grupiraju zajedno pod nazivom CBF AML je, osim već spomenute zajedničke molekularne podloge, i činjenica da CBF AML bolesnici imaju relativno povoljnu prognozu, osobito u slučaju kada se tijekom terapije u remisiji primjeni više ciklusa visokih doza citarabina (5,6). S druge strane, Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation*, WHO) u svojoj klasifikaciji mijeloidnih neoplazmi prepoznaje  $t(8;21)$  AML i  $inv(16)$  AML kao dva zasebna entiteta (7) budući da među njima ipak postoji značajna klinička, demografska i citogenetska heterogenost (8). Štoviše, unatoč povoljnoj prognozi, samo polovica bolesnika uspijeva postići dugogodišnje preživljenje (9) iz čega proizlazi jasna potreba za određivanjem kliničkih i genskih markera koji bi unutar CBF AML grupe identificirali one bolesnike s malom vjerojatnošću odgovora na trenutnu terapiju te koji bi stoga potencijalno imali koristi od intenzivnije i/ili nove ciljane terapije (2). U ovom preglednom radu će biti opisane mutacije *KIT* gena u kontekstu mogućnosti da se koriste kao prognostički markeri i potencijalna mjesta djelovanja ciljane antitumorske terapije.

## 2. Etiologija

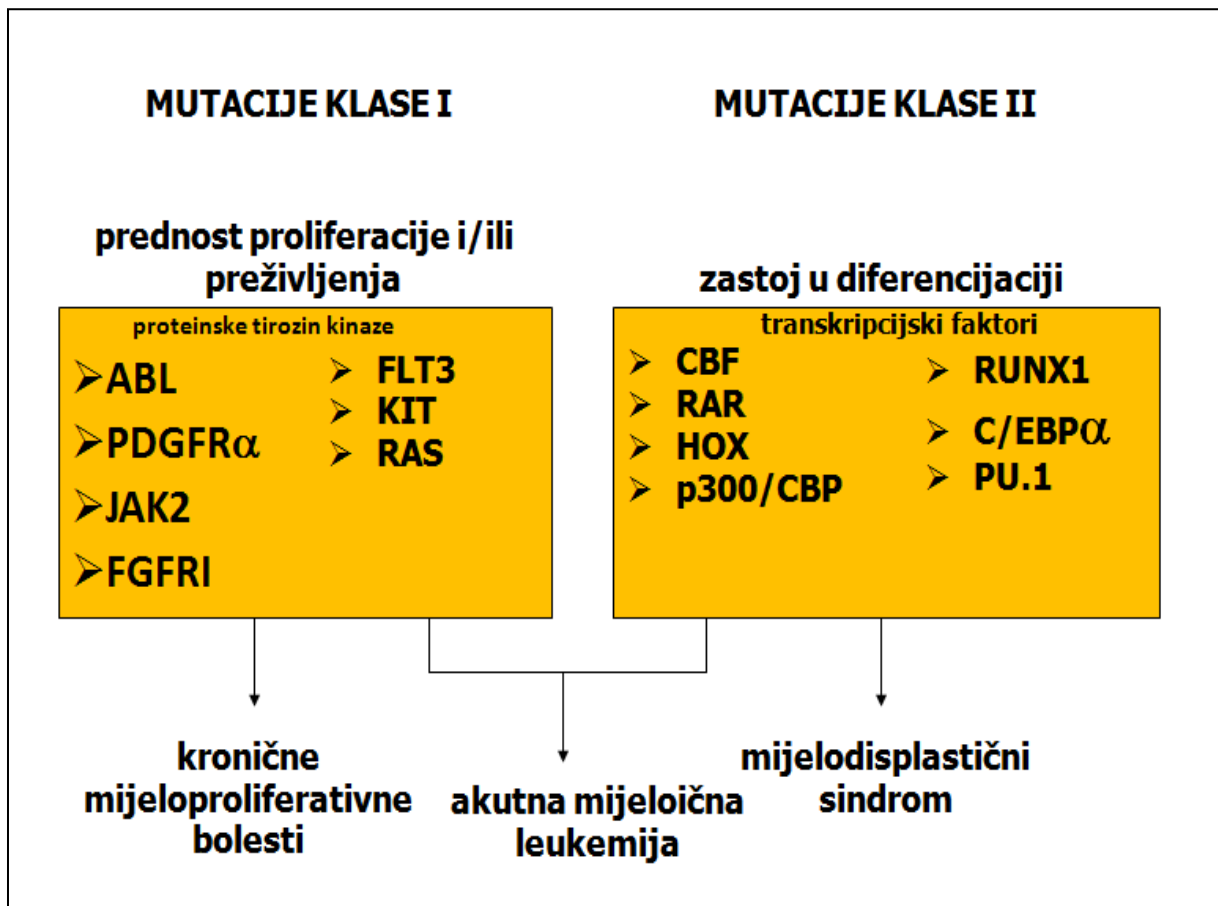
Postoje brojni rizični čimbenici koji mogu uzrokovati genske promjene u hematopoetskoj matičnoj stanici i tako dovesti do razvoja akutne leukemije. Do sada je definitivno dokazana povezanost četiri okolišna čimbenika s razvojem bolesti: ionizirajuće zračenje, izloženost visokim dozama benzena, dugotrajno konzumiranje duhanskih proizvoda (10) i izloženost citotoksičnim lijekovima (11). Leukemija je bila prva maligna bolest povezana s posljedicama eksplozije atomske bombe u Hiroshimi i Nagasakiju. Epidemiološki dokazi sugeriraju da među preživjelim osobama i desetljećima nakon incidenta perzistira povišen rizik za zračenjem induciranim AML (12). Sve veća upotreba citostatika u liječenju raznih malignih bolesti dovela je do povećane učestalosti kako mijeloidnih neoplazmi općenito tako i akutne mijeloične leukemije. Citotoksični lijekovi koji relativno često dovode do AML uključuju lijekove koji pripadaju u skupine antimetabolita, alkilirajućih tvari i inhibitora topoizomeraza II (13). Akutna mijeloična leukemija nakon terapije (t-AML) posljedica je liječenja citostatcima i/ili zračenjem te je stoga klasificirana kao zaseban entitet od strane WHO-a (14). Poznato je da se AML može razviti progresijom drugih stečenih bolesti krvotvorne matične stanice. To se primarno odnosi na kronične mijeloproliferativne bolesti i sindrom mijelodisplazije gdje u toku evolucije bolesti dolazi do daljnje destabilizacije genoma leukemijskih stanica zbog nastanka novih genetskih mutacija i razvoj subklonova s blokadom u diferencijaciji na razini blasta (11). Iako do danas nema jasnog obrasca nasljeđivanja, povećana učestalost akutnih leukemija u nekim nasljednim bolestima upozorava na postojanje nasljedne predispozicije za razvoj AML-a. Budući da su to bolesnici s rijetkim genetskim sindromima, oni zauzimaju samo mali udio u morbiditetu od akutnih leukemija. Primjeri takvih sindroma su Fanconijeva anemija i *Dyskeratosis congenita* gdje rizik za razvoj AML-a može biti i preko 100 puta veći (15,16).

### 3. Patogeneza

Akutna mijeloična leukemija je rezultat višestrukih genskih mutacija i kromosomskih preraspodjela u hematopoetskim prekursorima koje tim stanicama osiguravaju prednost proliferacije i preživljavanja te umanjuju sposobnost diferencijacije (17). Leukemijska transformacija se vjerojatno odigrava na razini primitivne multipotentne matične stanice ili na razini diferenciranije, usmjerenije za pojedinu lozu matične stanice. Fenotipska različitost AML-a u prvom slučaju se objašnjava zadržanom sposobnošću tih stanica da se do nekog stupnja diferenciraju i steknu specifične biljege pojedine loze dok je u drugom slučaju fenotipska razlika posljedica razine diferencijacije na kojoj je došlo do maligne transformacije. Leukemijske stanice koje zadržavaju sposobnost samoobnavljanja, a njih je relativno mali udio, nazivaju se leukemijske matične stanice (LMS) (18). Podatci pokazuju da najveći broj stanica sa tom sposobnošću u AML-u dolaze od stanice koja stvara kolonije granulocita i monocita (engl. *colony forming unit that generates granulocyte and monocyte*, CFU-GM) (19). Iako limfociti T, limfociti B i NK stanice (engl. *natural killer*, NK) najčešće nemaju nikakve citogenetske abnormalnosti u AML-u pa je teorija o porijeklu leukemijske transformacije na razini pluripotentne hematopoetske matične stanice upitna, prema nekim eksperimentalnim dokazima, neki slučajevi AML-a nastaju genskim promjenama upravo u pluripotentnoj hematopoetskoj matičnoj stanici te su stoga one nazivaju preleukemijskim matičnim stanicama (16,20). Ključne onkogenske promjene za nastanak AML-a se često klasificiraju prema modelu dvostrukog udara (engl. *two-hit model*) predloženom od strane Gillilanda i Kelly (21) koji govori da je za nastanak bolesti potrebna suradnja barem dviju velikih skupina (klasa) mutacija odnosno promjena. U prvoj skupini su one promjene koje tipično uzrokuju aberantnu aktivaciju staničnih signalnih puteva te tako osiguravaju leukemijskom klonu prednost preživljenja i/ili proliferacije. Druga skupina obuhvaća mutacije koje dovode do zaustavljanja diferencijacije i povećanja sposobnosti samoobnavljanja budući da često dovode do gubitka funkcije transkripcijskih faktora. Slika 1 prikazuje shematski prikaz opisanog modela s navedenim primjerima gena u pripadajućim skupinama.

Ubrzani tehnološki razvoj u području genomike i upotreba novijih tehnika poput sekvenciranja sljedeće generacije, omogućila je identifikaciju dodatnih mutacija koje se ne mogu svrstati u niti jednu od prethodno navedenih skupina sugerirajući da

je možda „*two-hit model*“ previše pojednostavljen. To su mutacije koje za sada ostaju neklasificirane i koje uglavnom dovode do epigenetskih modifikacija (17,22).



**Slika 1** Model dvostrukog udarca. Modificirano prema: Cools J & Schwaller J. Molecular mechanisms of myeloid malignancies: on the hunt for new therapeutic targets. Drug Discovery Today: Disease Mechanisms. 2004;1(2):259-266

## 4. Klasifikacija

Klasifikacija akutnih mijeloičnih leukemija predložena 1976. godine od strane francusko-američkih-britanskih (engl. *French-American-British*, FAB) autora je bila široko u upotrebi preko dva desetljeća (23). Na temelju morfologije i citokemije, podijelila je AML u šest podtipova. Originalna klasifikacija je revidirana 1985. godine i proširena na 8 podtipova (24). U međuvremenu je ustanovljeno da ova klasifikacije ne odražava uvijek gensku i kliničku raznolikost bolesti, stoga je Svjetska zdravstvena organizacija 2001. godine predložila novu klasifikaciju koja obuhvaća morfološka, citokemijska i imunofenotipska obilježja leukemijskih stanica te citogenetske promjene, ali uzima u obzir i prijašnje liječenje citotoksičnim lijekovima i/ili zračenjem te sindrom mijelodisplazije (25). Tablica 1 prikazuje FAB klasifikaciju, a u tablici 2 je prikazana podjela AML-a prema zadnjoj reviziji klasifikacije iz 2016. godine (7). Kao što je vidljivo iz tablica, aktualna klasifikacija zadržala je većinu morfoloških FAB podtipova unutar skupine „AML koje nisu svrstane drugamo“.

**Tablica 1** FAB klasifikacija AML-a. Prema: Bennett JM, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med.* 103(4):620–5.

| FAB tip     | Definicija                                       |
|-------------|--|
| <b>M0</b>   | Nediferencirana AML                              |
| <b>M1</b>   | AML sa minimalnim sazrijevanjem                  |
| <b>M2</b>   | AML sa znacima sazrijevanja                      |
| <b>M3</b>   | Akutna promijelocitna leukemija                  |
| <b>M4</b>   | Akutna mijelomonocitna leukemija                 |
| <b>M4Eo</b> | Akutna mijelomonocitna leukemija s eozinofilijom |
| <b>M5</b>   | Akutna monocitna leukemija                       |
|             | (a) Monoblastna<br>(b) Monocitna                 |
| <b>M6</b>   | Akutna eritroidna leukemija                      |
| <b>M7</b>   | Akutna megakariocitna leukemija                  |

**Tablica 2** Podjela akutnih mijeloičnih leukemija prema WHO-u. Prema: Arber DA, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127(20):2391–405.

|  |
|--|
| <b>AML s povratnim genskim promjenama</b>                              |
| AML s t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>                         |
| AML s inv(16)(p13.1q22) ili t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>     |
| APL s <i>PML-RARA</i>  |
| AML s t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i>                         |
| AML s t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i>                             |
| AML s inv(3)(q21.3q26.2) ili t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM</i>  |
| AML (megakarioblastna) s t(1;22)(p13.3;q13.3); <i>RBM15-MKL1</i>       |
| Privremeni podtip: AML s <i>BCR-ABL1</i>                               |
| AML s mutacijom <i>NPM1</i>  |
| AML s bialelnom mutacijom <i>CEBPA</i>                                 |
| Privremeni podtip: AML s mutacijom <i>RUNX1</i>                        |
| <b>AML sa znakovima mijelodisplazije</b>                               |
| <b>AML nakon terapije</b>  |
| <b>AML koji nisu svrstane drugamo</b>                                  |
| AML s minimalnom diferencijacijom                                      |
| AML bez sazrijevanja   |
| AML sa sazrijevanjem   |
| akutna mijelomonocitna leukemija                                       |
| akutna monoblastna/monocitna leukemija                                 |
| čista eritoridna leukemija   |
| akutna megakarioblastična leukemija                                    |
| akutna bazofilna leukemija   |
| akutna panmijeloza s mijelofibrozom                                    |
| <b>Mijeloidni sarkom</b>   |
| <b>Mijeloidne proliferacije pri Downovu sindromu</b>                   |
| prolazni poremećaj mijelopoeze   |
| mijeloidna leukemija pri Downovu sindromu                              |
| <b>Zloćudni tumori blastičnih plazmacitoidnih dendritičnih stanica</b> |



## 5. Klinička slika

Klinička slika u akutnoj mijeloičnoj leukemiji rezultat je nekoliko događaja: 1. slabost funkcije normalne koštane srži; 2. bujanje leukemijskog klonu; 3. toksično djelovanje citostatske terapije; 4. metaboličke komplikacije.

U većine bolesnika početni simptomi akutne leukemije nespecifični su i prisutni manje od tri mjeseca te su posljedica supresije normalne hematopoeze. Opća slabost, umor, bljedoća, palpitacije, zamaranje i slabo podnošenje napora posljedica su anemije. Petehije, epistaksa, sklonost modricama i krvarenje iz gingive osobito pri pranju zubi odraz su trombocitopenije i često rana manifestacija bolesti. Ozbiljna krvarenja na početku bolesti u gastrointestinalni, dišni, genitourinarni ili središnji živčani sustav su vrlo rijetka (11). U vrijeme javljanja liječniku, vrućica je prisutna u većine bolesnika. Obično je posljedica lokaliziranih infekcija ili je posljedica same prisutnosti tumora (paraneoplastična vrućica) (26). Kao posljedica sklonosti infekcijama, najčešća manifestacija su pustule i blage piogene infekcije. Teže infekcije poput pneumonije, meningitisa i generaliziranih bakterijskih, virusnih i gljivičnih infekcija nisu uobičajene za početak bolesti već su češće odraz intenzivne citostatke terapije kad je u pravilu pacijentima apsolutni broj neutrofila niži od  $0,5 \times 10^9/L$ . Budući da citostatici narušavaju prirodnu obrambenu barijeru organizma oštećenjem sluznica, predilekcijska mjesta za prodor infekcije u organizam su orofarinks, probavni sustav i donji respiratorni sustav. AML nije samo bolest koštane srži. Leukemijske stanice cirkuliraju i mogu se pronaći u bilo kojem organu u malom broju. U slučaju nakupljanja većeg broja leukemijskih stanica, one mogu ometati funkciju organa što može biti i dominantno u kliničkoj slici. Predilekcijska mjesta su slezena, jetra i limfni čvorovi (18). Dok limfadenopatija nije uobičajena za AML, splenomegalija je prisutna u gotovo četvrtine bolesnika (27,28). Još jedan organ relativno češće zahvaćen ekstramedularnom bolešću je koža. U ovom kontekstu treba razlikovati specifične lezije uzrokovane infiltracijom leukemijskih blasta (*leukemia cutis* i mijeloidni sarkom) od nespecifičnih lezija uzrokovanih komplikacijama kao što su infekcije, reakcije na lijekove i reaktivna stanja (*Sweetov* sindrom, *pyoderma gangrenosum*, *erythema nodosum*). Nespecifične lezije se još nazivaju i leukemidi te nisu uzrokovani infiltracijom leukemijskih stanica. Najčešća morfologija kožnih leukemijskih infiltrata su multiple bezbolne, ružičaste, gumenaste papule ili noduli. Rijetko, mlađi bolesnici s AML-om će se prezentirati ili s vremenom

razviti veliku potkožnu nakupinu mijeloblasta odnosno mijeloidni sarkom (MiS). Mijeloidni sarkom je ekstramedularni mijeloidni zloćudni tumor koji se može pojaviti u 4 oblika: kao prvi znak AML-a u još nedijagnosticiranog pacijenta, u sklopu kliničke slike bolesnika s AML, kao prvi znak relapsa te kao znak blastične transformacije u bolesnika s kroničnom mijeloproliferativnom bolešću ili mijelodisplastičnim sindromom (MDS). Njegova lokalizacija nije ograničena samo na kožu već se može javiti u bilo kojem organu, najčešće u periostu lubanjskih kostiju. Prijašnji naziv za ovaj tumor je bio klorom (lat. *chloroma*) zbog makroskopski vidljive zelene boje novih lezija zahvaljujući velikoj koncentraciji enzima mijeloperoksidaze u mijeloblastima, ali kako je izgled lezija varijabilan, danas se preferira naziv mijeloidni sarkom (još jedan sinonim je granulocitni sarkom). Mijeloidni sarkom se javlja češće u CBF AML-u te takvi pacijenata s t(8;21) ili inv(16) i mijeloidnim sarkomom imaju lošije ishode liječenja od onih koji nemaju ekstramedularne lezije (29–31). Slika 2 prikazuje kožni oblik MiS-a u pacijentice liječene u KB Dubrava.

Poseban klinički oblik leukemije karakteriziran velikim brojem leukemijskih stanica naziva se hiperleukocitarni oblik. Hiperleukocitoza se arbitrarno definira kao broj leukocita veći od  $100 \times 10^9 /L$  i povezana je povećanim mortalitetom i morbiditetom. Incidencija se kreće između 5% i 13% za pacijente s AML-om. Ona može uzrokovati sindrom lize tumora, diseminiranu intravaskularnu koagulaciju (DIK) i sindrom leukostaze osobito tijekom indukcijske kemoterapije. Sindrom lize tumora nastaje kao rezultat velike tumorske mase s visokim staničnim obrtajem te susljednim ubrzanim raspadom tumorskih stanica. Posljedično tome dolazi do vrućice i oslobađanja velikih količina mokraćne kiseline (hiperuricemija), vodikovih iona (acidoza) te elektrolita (hiperkalijemija i hiperfosfatemija). Ovi događaji mogu dovesti do oštećenja bubrežne funkcije i akutnog bubrežnog zatajenja (urična nefropatija), srčanih aritmija i smrti. DIK je posljedica preopterećenja cirkulacije tkivnim faktorom koji se oslobađa iz leukemijskih stanica što dovodi do aktiviranja vanjskog puta zgrušavanja. Na taj način se troše trombociti i faktori zgrušavanja što naposljetku dovodi do potrošne koagulopatije i hemoragijske dijateze. U sindromu leukostaze visok broj leukocita dovodi do stvaranja leukemijski tromba, vaskularne opstrukcije i krvarenja. Najosjetljiviji organi na ta zbivanja su pluća i središnji živčani sustav, ali može biti zahvaćen bilo koji organ. Simptomi zahvaćanja cirkulacije mozga (glavobolja, poremećaj svijesti, poremećaj vida) mogu biti vrlo dramatični i dovesti do

kome pa i smrti. Zahvaćanje plućne cirkulacije se manifestira tahidispnejom i može dovesti do akutnog respiratornog distresnog sindroma (32).

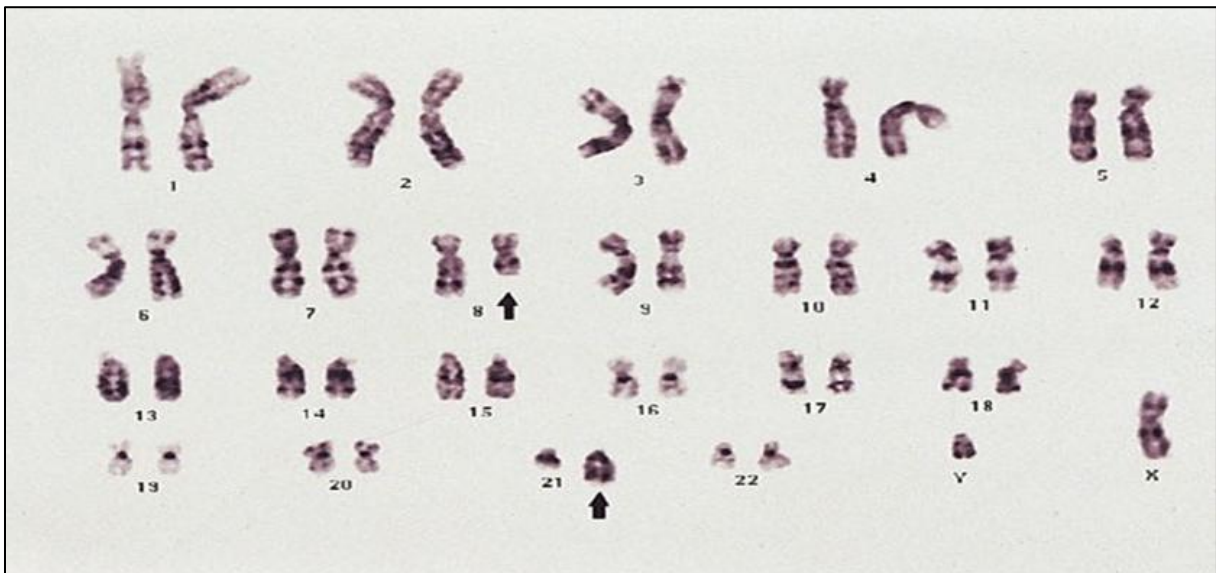


**Slika 2** Kožni oblik Mis-a (*chloroma*) u pacijentice M.B.(56), AML i FLT3-ITD+. S ljubaznošću prof.dr.sc. Rajka Kušeca, Zavod za hematologiju, KB Dubrava

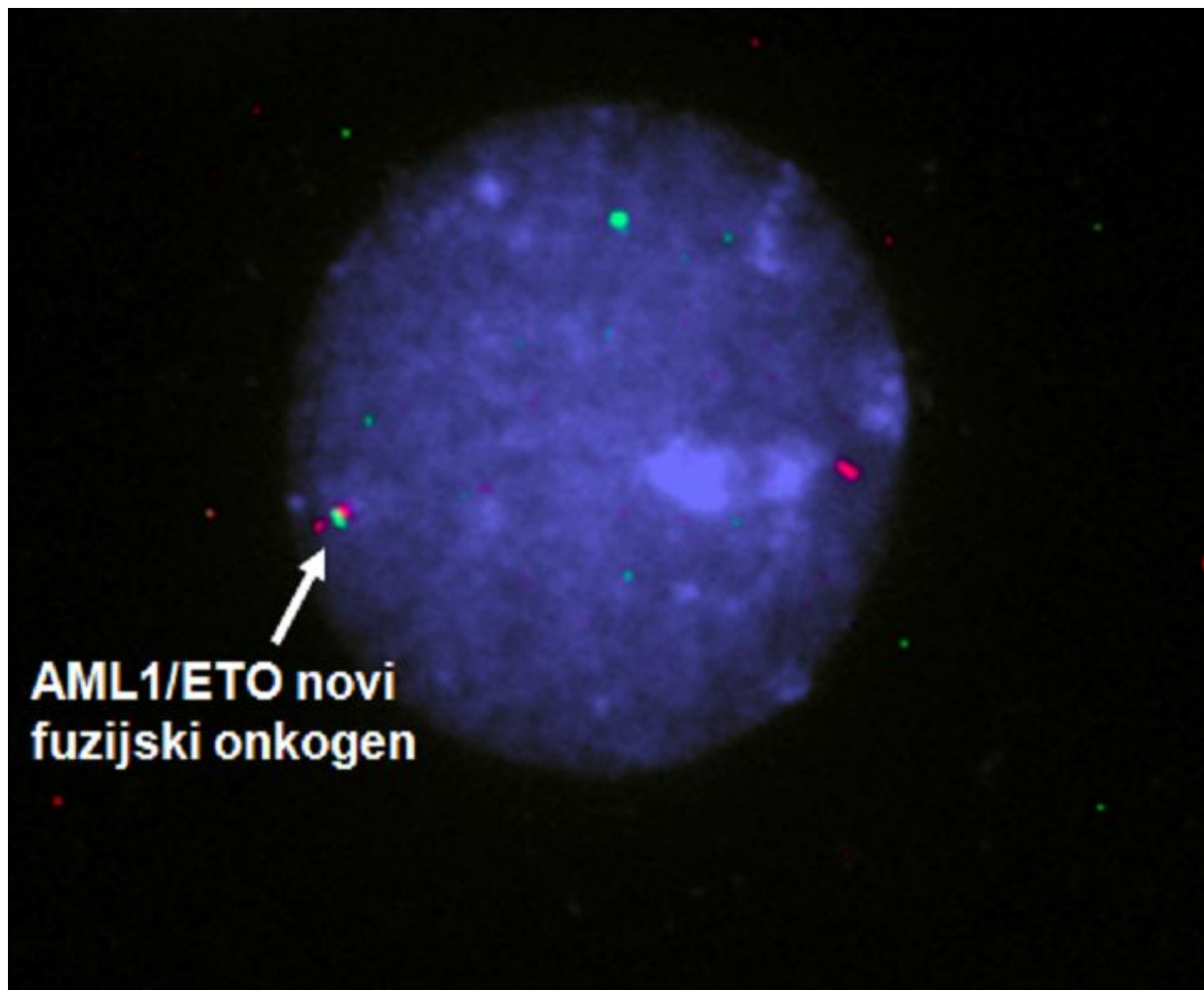
## 6. Dijagnoza

U bolesnika se posumnja na akutnu leukemiju na temelju kliničke slike. Iako ne postoji za bolest patognomoničan simptom, skup simptoma, poput znakova krvarenja i infekcija te brzog nastupa bolesti i naglog pogoršanja stanja upozoravaju na akutnu leukemiju. Prvi korak u dijagnostičkom algoritmu su laboratorijski testovi, odnosno kompletna i diferencijalna krvna slika koji otkrivaju slabost funkcije koštane srži. U rutinskoj obradi zatim dolazi aspiracijska punkcija koštane srži. Biopsija koštane srži nije standardni dijagnostički test, ali bi se trebala napraviti kod bolesnika u kojih nije moguće dobiti citološki uzorak (lat. *punctio sicca*). Razmazi krvi i koštane srži se bojaju specijalnim bojama i morfološki pregledavaju. Da bi se dobio udio blasta, preporuča se prebrojavanje najmanje 200 leukocita u krvnom razmazu odnosno 500 stanica s jezgrom u razmazu koštane srži. Prisutnost 20% i više blasta u razmazu je dijagnostički kriterij za AML. Ovo se ne odnosi na CBF AML gdje se dijagnoza postavlja na temelju prisutnosti t(8;21) ili inv(16) neovisno o udjelu blasta. Sljedeći korak u dijagnostičkoj obradi je dokazivanje mijeloidnog porijekla blasta. Za procjenu zahvaćenosti loze može se koristiti citokemija (na koju se danas sve manje oslanja) te imunofenotipizacija (obično protočnom citometrijom) koja se danas smatra standardom. Konvencionalna citogenetika je daljnja neizostavna komponenta u dijagnostičkoj procjeni. Osam balansiranih translokacija i inverzija, i njihove varijante, uključene su u klasifikaciju WHO-a u kategoriji „AML s povratnim genskim promjenama“, a citogenetika je ključna za svrstavanje bolesnika u jedan od tih podtipova AML-a (33). Da bi kromosomske promjene bile vidljive, metafazni kromosomi se moraju bojanjem oprugati. Najčešće se primjenjuje metoda GTG pruganja (Giemza-Tripsin-Giemza) te je obavezno pregledati minimalno 20 stanica u metafazi da bi se mogla postaviti dijagnoza normalnog odnosno abnormalnog kariotipa (18). Kromosomske abnormalnosti se mogu naći u oko 55% slučajeva AML-a što znači da 45% bolesnika ima normalan kariotip (34). U nekim slučajevima klasična citogenetika nije u mogućnosti otkriti kromosomske promjene. Razlog tome može biti loša kvaliteta uzorka ili ograničena rezolucija pruganja zbog koje je nemoguće vidjeti male, kriptične delecije dijela kromosoma i složene translokacije (18,35). To se nerijetko događa u CBF akutnim mijeloidnim leukemijama budući da *RUNX1/RUNX1T1* fuzijski gen nije uvijek produkt t(8;21) već može biti i posljedica njezinih rijetkih varijanti nastalih složenim translokacijama koje uključuju još jedan ili

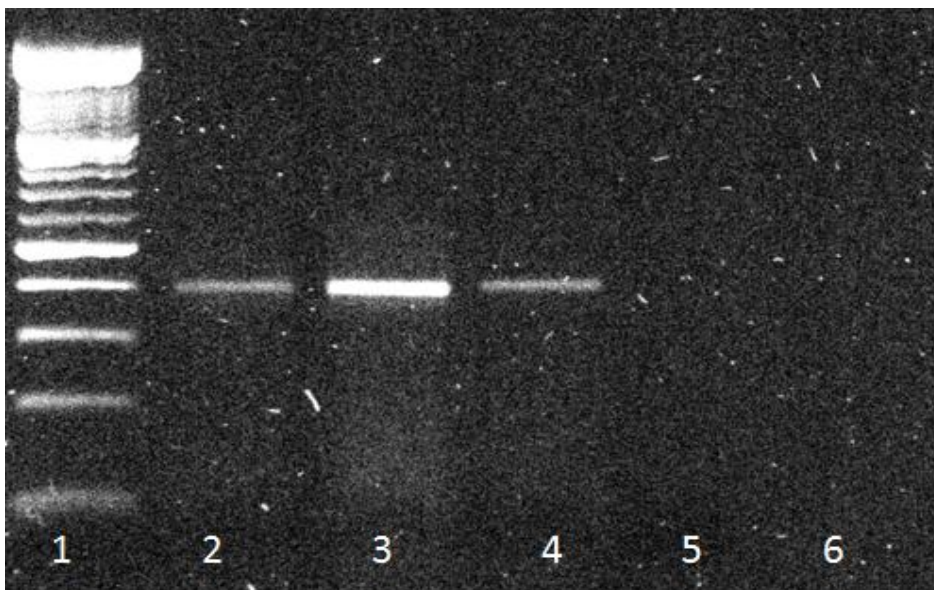
dva dodatna kromosoma te zbog različitih varijanti *inv(16)* koje nastaju zahvaljujući varijabilnim točkama loma na genima *CBFB* i *MYH11* i zbog kriptičnih preuredbi koje dovode do nastanka *CBFB/MYH11* fuzijskog gena (36–38). U tim slučajevima koristi se fluorescentna *in situ* hibridizacija (engl. *fluorescent in situ hybridization*, FISH) kao metoda molekularne citogenetike ili reverzna transkripcija lančane reakcije polimeraze (engl. *reverse transcription-polymerase chain reaction*, RT-PCR) kao metoda molekularne biologije. FISH i RT-PCR bi se svakako trebali koristiti i u situacijama u kojima standardna citogenetika nije uspjela dokazati *t(8;21)* i *inv(16)*, a navedene kromosomske promjene se očekuju s obzirom na morfologiju blasta (FAB M2 i M4Eo). S druge strane, treba istaknuti činjenicu da su lažno pozitivni i lažno negativni nalazi mogući kod RT-PCR-a te stoga ta pretraga ne bi trebala zamijeniti citogenetiku i koristiti se kao jedini dijagnostički test u detekciji CBF AML genskih promjena (36). Slika 3 prikazuje kariogram osobe s kariotipom s recipročnom translokacijom *t(8;21)* dok slika 4 prikazuje FISH metodu s nalazom fuzijskog signala kojim je dokazana ista translokacija. Slike 5 i 6 prikazuju PCR dokaz za *AML1/ETO* fuzijski gen odnosno za D816V mutaciju *KIT* gena.



**Slika 3** Kariotip prikazan metodom GTG pruganja s *t(8;21)*. S ljubaznošću prof.dr.sc. Rajka Kušeca, Zavod za hematologiju, KB Dubrava

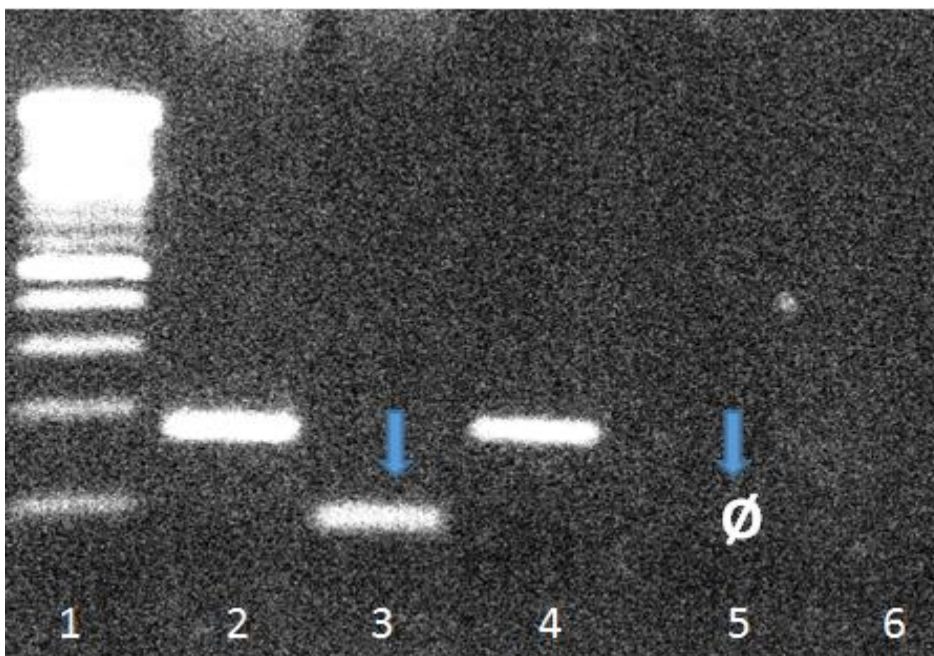


**Slika 4** FISH, dokaz translokacije t(8;21), nalaz fuzijskog signala (označen strelicom).  
S ljubaznošću prof.dr.sc. Rajka Kušeca, Zavod za hematologiju, KB Dubrava



**Slika 5** RT-PCR za dokaz fuzijskog transkripta *AML1-ETO*.

1, ljestvica veličine ulomaka; 2, *AML1-ETO* + kontrola; 3, pacijent s AML, *AML1-ETO* pozitivan, uzorak KS; 4, isti pacijent uzorak PK; 5, pacijent bez t(8;21) = neg. kontrola; 6, kontrola PCR-a, *blank*.  
S ljubaznošću prof. dr. sc. Rajka Kušeca, Zavod za hematologiju, KB Dubrava



**Slika 6** DNA-PCR za dokaz mutacije D816V *KIT* gena. 1, ljestvica veličine ulomaka; 2, AML1-ETO+ pacijent, kontrolni umnožak *KIT* gena; 3, uzorak istog pacijenta umnožen mutacijski-alel specifičnim primerom, 4 i 5, isti test kod pacijenta bez mutacije D816V *KIT*.

S ljubaznošću prof. dr. sc. Rajka Kušeca, Zavod za hematologiju, KB Dubrava

## 7. Prognoza

Prognostički pokazatelji u AML-u se generalno mogu podijeliti u dvije skupine: na one vezane za pacijenta i njegovo opće stanje te na one vezane za samu bolest, to jest karakteristike malignog mijeloidnog klonu. Prva skupina pokazatelja je odgovorna za smrtnost uzrokovanu liječenjem koja nastupa prije mogućnosti procjene odgovora na terapiju dok druga skupina predviđa uspješnost liječenja odnosno rezistenciju na terapiju (33).

### 7.1. Čimbenici vezani za pacijenta

Starija životna dob je neovisni prognostički čimbenik povezan s lošijom prognozom (39). Ipak, ona sama ne bi smjela biti razlog da se starijim bolesnicima ne ponudi potencijalno kurativna terapija budući da godine nisu najvažniji prognostički pokazatelj niti za smrtnost uzrokovanu liječenjem niti za rezistenciju na terapiju. Nadalje, rizični čimbenik je i bolesnikovo „zdravstveno stanje“, tj. njegovo psihofizičko stanje i pridružene bolesti (komorbiditeti) jer oni utječu na podnošenje kemoterapije (33,40). Dok za procjenu psihofizičkog statusa postoje bodovne skale poput Karnofskyjevog bodovnog skora (41) i ECOG (engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) psihofizičkog statusa (42), za procjenu komorbiditeta nije razvijen specifičan indeks. Bodovanje komorbiditeta je trenutno područje istraživanja koje bi trebalo doprinijeti boljem definiranju pacijenata „neprikladnih“ za standardnu intenzivnu kemoterapiju (33).

### 7.2. Čimbenici vezani za bolest

U čimbenike vezane za AML spadaju: broj leukocita u krvi (engl. *white blood count*, WBC) pri dijagnozi, prijašnje liječenje citotoksičnim lijekovima, prethodno postojanje MDS-a ili mijeloproliferative neoplazme (MPN) te citogenetske i molekularne promjene u mijeloidnim blastima detektirane pri dijagnozi. Visok WBC negativno utječe na prognozu bolesnika. AML nastao iz MPN-a ili MDS-a (sekundarna akutna mijeloidna leukemija, s-AML) i t-AML su obično rezistentniji na standardnu terapiju od *de novo* AML-a pa se također povezuju s lošijom prognozom (43). Najvažniji prediktor rezistencije na terapiju su citogenetske i molekularne promjene. Kariotip leukemijskih stanica je najsnažniji prognostički pokazatelj odgovora na indukcijsku kemoterapiju i preživljenje (34). Na temelju njega se



bolesnici s AML-om mogu svrstati u tri rizične skupine: povoljnu, srednje povoljnu i nepovoljnu (tablica 3). Kao što je vidljivo iz tablice, CBF AML bolesnici spadaju u rizičnu skupinu s povoljnom prognozom. Identifikacija genskih mutacija i promjene genske ekspresije služi za stratifikaciju bolesnika s normalnim kariotipom (engl. *cytogenetically normal acute myeloid leukemia*, CN-AML) u jednu od navedene tri rizične skupine budući da bolesnici s CN-AML-om nisu jedinstvena već heterogena citogenetska grupa. S druge strane, sekundarne genske promjene se još ne mogu koristiti u tu svrhu u slučaju balansiranih translokacija ili inverzija s obzirom da je njihov utjecaj ovdje manje jasan i zahtjeva daljnju procjenu. Ipak, ovaj rad će dati kratak pregled o trenutnim saznanjima o utjecaju odabranih genskih mutacija (u prvom redu KIT mutacija) na prognozu bolesnika u okviru CBF akutne mijeloične leukemije. Na kraju treba istaknuti opažanje kako incidencija nepovoljnih citogenetskih abnormalnosti, t-AML-a i s-AML-a raste s životnom dobi. Čak i kada se uzmu obzir kao rizični faktori u multivarijantnoj analizi, stariji pacijenti i dalje imaju lošiju prognozu od mlađih što potvrđuje činjenicu da je starija životna dob neovisan prognostički čimbenik i sugerira postojanje još neutvrđenih čimbenika vezanih uz dob (33,35).

**Tablica 3** Prognostička podjela AML-a. Prema: Döhner H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017;129(4):424-447

| Rizična skupina         | Citogenetske promjene  |
|-------------------------|--|
| <b>Povoljna</b>         | t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i><br>inv(16)(p13.1q22) ili t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i><br>Mutacija <i>NPM1</i> bez <i>FLT3-ITD</i> (normalni kariotip)<br>Mutacija <i>NPM1</i> i <i>FLT3-ITD</i> <sup>nizak</sup> (normalni kariotip)<br>Bialelna mutacija <i>CEBPA</i> (normalni kariotip)  |
| <b>Srednje povoljna</b> | Mutacija <i>NPM1</i> i <i>FLT3-ITD</i> <sup>visok</sup> (normalni kariotip)<br>Normalni <i>NPM1</i> bez <i>FLT3-ITD</i> (normalni kariotip)<br>Normalni <i>NPM1</i> i <i>FLT3-ITD</i> <sup>nizak</sup> (normalni kariotip)<br>t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i><br>Citogenetske promjene koje nisu u skupini povoljnih niti nepovoljnih   |
| <b>Nepovoljna</b>       | t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i><br>t(v;11q23.3); preustrojen <i>KMT2A</i><br>t(9,22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i><br>inv(3)(q21.3q26.2) ili t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM(EVI1)</i><br>-5 ili del(5q); -7; -17/abnl(17p)<br>Kompleksni kariotip, monosomski kariotip<br>Normalni <i>NPM1</i> i <i>FLT3-ITD</i> <sup>visok</sup><br>Mutacija <i>RUNX1</i><br>Mutacija <i>ASXL1</i><br>Mutacija <i>TP53</i> |

## 8. Liječenje

Liječenje AML-a se može podijeliti u dvije faze. Prvo se uvodnom terapijom pokušava bolesnika uvesti u kompletnu remisiju koja se definira kao odsutnost kliničkih znakova ekstramedularne bolesti uz normocelularnu koštanu srž slobodnu od leukemijskih stanica s ponovno uspostavljenom normalnom hematopoezom koja rezultira povišenjem koncentracije neutrofila i trombocita u perifernoj krvi do referentnih vrijednosti. Standardna uvodna terapija je kombinacija citarabina i antraciklinskog antibiotika, najčešće u programu liječenja poznatom kao „3+7“ program (daunorubicin kroz 3 dana i citarabin kroz 7 dana) (16). Ovakvim načinom liječenja se postiže kompletna remisija u gotovo 90% bolesnika s CBF AML-om (9,44,45).

Druga faza predstavlja terapiju u remisiji koja sve više ima za cilj izliječiti bolest, a ne samo produžiti trajanje kompletne remisije. Ako se bolesnici u remisije ne nastave liječiti, neminovno će doći do relapsa AML-a unutar nekoliko mjeseci (18). Konvencionalna terapija u remisiji se sastoji od intenzivne konsolidacijske kemoterapije odmah po postizanju remisije iza koje obično slijedi autologna ili alogena transplantacija krvotvornih matičnih stanica (35). Primjereno liječenje za većinu bolesnika s CBF AML-om je visokim dozama citarabina primijenjenim u 4 ciklusa. Druga opcija su 2 ciklusa visokim dozama citarabina nakon kojih slijedi autologna transplantacija (11). Na ovaj način se uspijeva postići petogodišnje preživljenje u 50% bolesnika (44).

Kao što vidimo, iako bolesnici s CBF AML-om u usporedbi s drugim citogenetskim grupama imaju povoljniju prognozu, poboljšanje u terapiji je potrebno budući da polovica bolesnika ostaje neizliječena. To bi se moglo postići boljom stratifikacijom rizika pacijenata pri dijagnozi u čemu bi od veliki pomoći mogli biti dodatni genetski markeri. Na taj način bi se među CBF AML bolesnicima potencijalno identificirali oni koji zahtijevaju drugačiji terapijski pristup, temeljen na agresivnijem liječenju ili ciljanoj terapiji (1).

## 9. Core binding factor kompleks

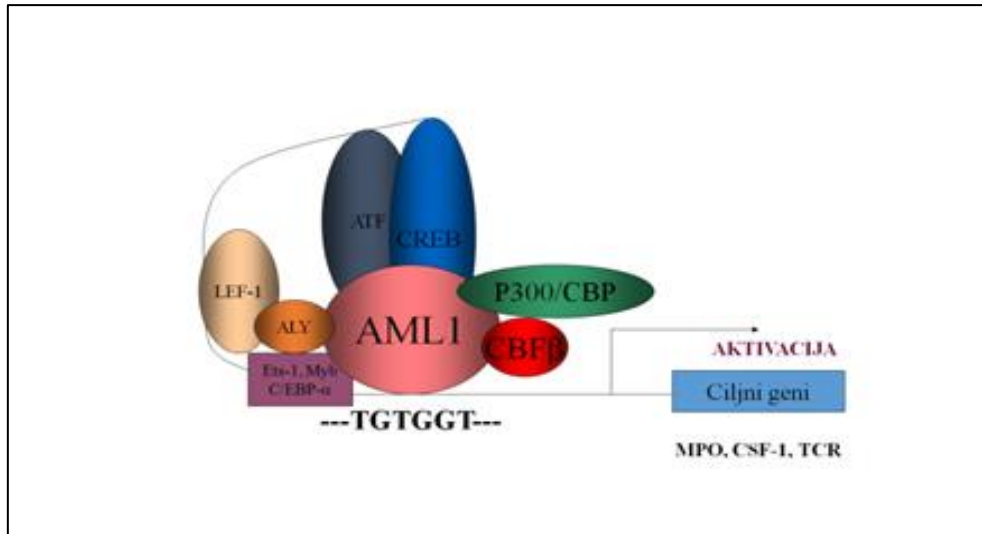
Heterodimerni transkripcijski faktori, CBF, sastoje se od  $\beta$  podjedinice i jedne od triju mogućih  $\alpha$  podjedinica. Za DNA se veže  $\alpha$  podjedinica i kodirana je jednim od triju gena iz CBF obitelji: *RUNX1* (engl. *runt-related transcription factor 1*) poznat još i kao *AML1* (engl. *acute myeloid leukemia 1*), *RUNX2* i *RUNX3*. Čini se kako potonja dva gena nemaju ulogu u leukemogenezi. Zajedničku  $\beta$  podjedinicu kodira *CBFB* gen i ona se ne veže direktno za DNA već vezivanjem na  $\alpha$  podjedinicu povećava 40-ak puta njen afinitet vezanja te štiti kompleks od proteolize (46,47).

Kompleks *RUNX1/CBF $\beta$*  je važan regulator hematopoeze, pri čemu aktivira brojne gene važna za razvoj limfoidne i mijeloidne loze. Koliko je esencijalna za normalnu hematopoezu ekspresija *AML1* i *CBFB* gena, vidljivo je iz mišjih *knock-out* modela, kod kojih gubitak homozigotnosti za bilo koja od ova dva gena dovodi do identičnog fenotipa: embrionalne smrti i snažne blokade definitivne hematopoeze (48,49).

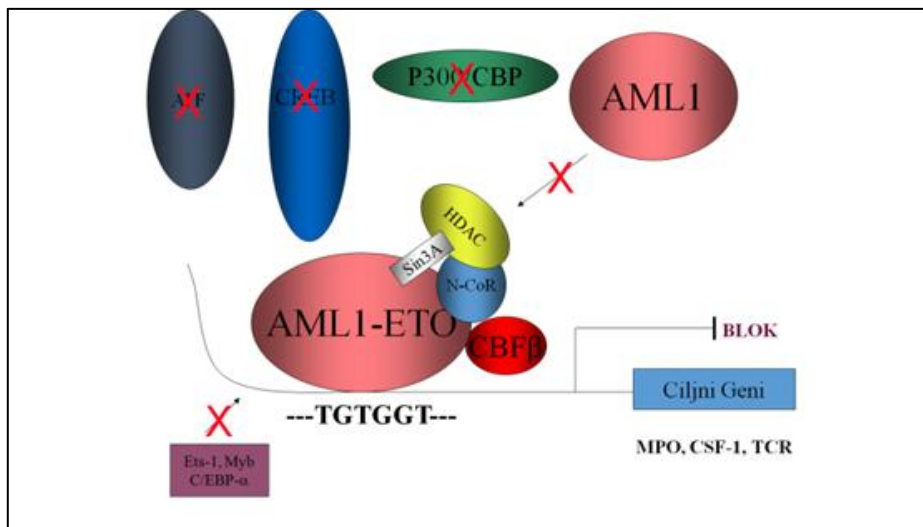
## 10. Translokacija t(8;21)

Kromosomsku translokaciju t(8;21) prvi je opisao Rowley 1973. godine (50) pri kojoj dolazi do fuzije *RUNX1* gena na kromosomu 21 s *RUNX1T1* (engl. *RUNX1 translocation partner 1*) zvanim još i *ETO* gen koji se nalazi na kromosomu 8. Kao rezultat nastaje novi kimerički *RUNX1/RUNX1T1* (*AML1/ETO*) fuzijski gen identificiran 1992. godine (51). Mehanizam kojim *RUNX1/RUNX1T1* sudjeluje u leukemogenezi je samo djelomično razjašnjen. Naime, kod nemutiranog *RUNX1* proteina, N-terminalni kraj sadrži *runt* domenu koja je odgovorna za interakciju s CBF beta podjedinicom i pomoću koje se veže na promotorske regije DNA gena potrebnih za odvijanje normalne hematopoeze, poput interleukina 3 (IL-3), mijeloperoksidaze i drugih. Taj događaj omogućava C-terminalnom kraju na kojem se nalazi transaktivacijska domena da pomoću acetiliranja lizinskih ostataka histona remodelira kromatin te tako omogući transkripciju spomenutih ciljanih gena (52). U novonastalom fuzijskom *RUNX1/RUNX1T1* proteinu transaktivacijska domena je izgubljena i zamijenjena gotovo cijelim *RUNX1T1* proteinom (izuzev prvih 30 aminokiselina N-terminalnog kraja) koji pomoću svoje domene motiva cinkova prstena aberantno veže kompleks nuklearnog korepresora (NCoR) i histonske deacilaze. Deacetiliranjem *RUNX1* ciljanih gena, novonastali protein djeluje kao

transkripcijski „prigušivač“. Slike 7 i 8 prikazuju normalan odnosno mutiran heterodimerni CBF transkripcijski faktor (53,54).



**Slika 7** Središnji vezni faktor – CBF i njegovo djelovanje. S ljubaznošću prof.dr.sc. Rajka Kušeca, Zavod za hematologiju, KB Dubrava



**Slika 8** Djelovanje CBF fuzijskog gena. S ljubaznošću prof.dr.sc. Rajka Kušeca, Zavod za hematologiju, KB Dubrava

## 11. Inverzija inv(16)

Le Beau i suradnici, 1993. godine u svom istraživanju, opisuju inv(16) u 18 ispitanika s akutnom mijelomonocitnom leukemijom s eozinofilijom (AML-M4eo) te sugeriraju postojanje novog podtipa AML-a s povoljnom prognozom (55). Gensku podlogu te kromosomske promjene čini pericentrična inverzija kromosoma 16 i njegova manje učestala varijanta translokacija t(16;16). One dovode do fuzije *CBFB* gena na dugom kraku kromosoma 16 s genom za teški lanac miozina, *MYH11* (engl. *myosin heavy chain 11*), smještenom na kratkom kraku istog kromosoma (8). Kao rezultat ove kromosomske promjene nastaju dva nova kimerička gena, *CBFB/MYH11* i *MYH11/CBFB*, od kojih čini se samo prvi ima ulogu u leukemogenezi. Budući da je razina ekspresije *MYH11/CBFB* gena u leukemijskim stanicama ispod razine detekcije ili je kod bolesnika s nerekipročnom inverzijom gen čak deletiran, malo je vjerojatno da je ta promjena od bilo kakvog značaja u razvoju leukemije (56). U mišjim *knock-in* modelima demonstriran je dominantno negativan učinak fuzijskog kimeričnog *CBFB/MYH11* gena na hematopoezu. Metodom homologne rekombinacije *CBFB/MYH11* gen je uveden u genom mišjih embrija umjesto jedne kopije normalnog *CBFB* gena. Tako heterozigotni embriji su ekspimirali sličan fenotip kao i homozigotni miševi s inaktivnim *CBFB* genom ili *RUNX1* genom (embrionalna smrti i blokada hematopoeze) što je ukazalo na postojanje zajedničkog mehanizma svim tim mutacijama(57).

Prisustvo proteina CBF $\beta$ /SMMHC (engl. *smooth muscle myosin heavy chain*), produkta fuzijskog gena *CBFB/MYH11*, u leukemijskim stanicama je prvi put dokazao Liu 1996. godine (58). Mehanizam kojim bi se objasnio negativan učinak CBF $\beta$ /CMMHC kimeričnog proteina nije do kraja razjašnjen. Istraživanja su pokazala da mutiran protein za razliku od nemutiranog može tvoriti dimere i multimere preko štapićaste domene miozinskog lanca (59,60). Smatra se da pomoću tog novog svojstva on sekvstrira RUNX1 protein u citoplazmi onemogućujući mu smještaj i djelovanje u jezgri gdje normalno regulira transkripciju svojih ciljanih gena bitnih za hematopoezu (56). Također, čini se da CBF $\beta$ /CMMHC protein može djelovati na sličan način kao RUNX1/RUNX1T1: vezivanjem korepresorskog kompleksa i regrutiranjem histonske deacetilaze te posljedičnim utišavanjem ciljanih gena (61).

## 12. Demografske, kliničke i sekundarne citogenetske promjene

*Core binding factor* akutne mijeloične leukemije dijele puno zajedničkih karakteristika, ali isto tako postoji i znatna heterogenost u ovoj grupi bolesti. Tipična FAB morfologija u t(8;21) je M2 (AML sa sazrijevanjem) dok se većina bolesnika s inv(16) prezentira s FAB M4Eo morfologijom (akutna mijelomonocitna leukemija s eozinofilijom). Mijeloblasti u t(8;21) obično imaju uleknutu jezgru, bazofilnu citoplazmu s perinuklearnim nakupljanjem azurofilnih granula. Auerovi štapići su prisutni, a u koštanoj srži se obično nađe eozinofilija (za razliku od eozinofila u inv(16), nemaju abnormalnu granulaciju). U koštanoj srži bolesnika s inv(16) nalaze se blasti granulocitne i monocitne loze te patološki eozinofili u svim stadijima sazrijevanja s nezrelim bazofilnim granulama (62). Bolesnici s t(8;21) su mlađi od onih s inv(16) s medijanom godina od 36 naprema 41te su rjeđe pripadnici bijele rase odnosno češće pripadnici crne rase. Inverzija inv(16) je povezana većim brojem leukocita i većim postotkom blasta u koštanoj srži i perifernoj krvi pri dijagnozi te češćom ekstramedularnom prezentacijom bolesti (9,44).

Sekundarne kromosomske abnormalnosti se opažaju u oko 40% bolesnika s inv(16) te čak 70% bolesnika s t(8;21) i uključuju jednu od sljedećih promjena: gubitak spolnog kromosoma (ili X ili Y), deleciju dugog krak kromosoma 9 te trisomije kromosoma 8,21 i 22. Prve dvije su učestalije u bolesnika s t(8;21) dok su potonje tri karakterističnije za inv(16) (9,44). Prognostička vrijednost ovih promjena nije još dovoljno istražena i daljnja istraživanja su potrebna iako većina dosadašnjih studija dominantno ne nalazi negativan utjecaj na prognozu kako u skupini bolesnika s t(8;21) tako i u skupini inv(16). Također, potencijalni kritični geni na spomenutim kromosomima koji bi pridonjeli leukemogenezi ostaju neutvrđeni kao i molekularna patogeneza iza njihovih mutacija (2). Iznimka su *TEL1* i *TEL4* geni smješteni na kromosomu 9 koji su zahvaćeni del(9q). Oni su predloženi od strane Dayyanija i surdanika (63) kao potencijalni tumorsupresorski geni koji sudjeluju u leukemijskoj transformaciji. Autori su u svom istraživanju pokazali da smanjena ekspresija spomenutih gena dovodi do povećane brzine proliferacije leukemijskih mijeloblasta s t(8;21) dok njihova forsirana ekspresija vodi iste stanice u apoptozu i tako uzrokuje njihovu smrt. Inaktivacija drugih gena na dugom kraku kromosoma 9 nije uzrokovala navedene ili slične promjene. Ovi rezultati sugeriraju mogućnost da

haploinsuficijencija *TEL1* i *TEL4* gena surađuje s *RUNX1/RUNX1T1* mutiranim genom u leukemogenezi t(8:21) bolesnika s del(9q) (63).

### 13. Genske mutacije

Normalna ekspresija *RUNX1* i *CBFB* gena nužna je za uredno odvijanje hematopoeze (64). Također, *in vitro* modeli kao i mišji *knock-out* modeli pokazuju da su fuzijski proteini kodirani *RUNX1/RUNX1T1* i *CBFB/MYH11* genima kritični za razvoj AML-a djelujući dominantno negativno na normalnu transkripcijsku aktivnost *RUNX1*. Međutim, prema istraživanjima na istim modelima niti jedan od dva fuzijska proteina nije dostatan za induciranje leukemije te su dodatne genske alternacije poput mutacija drugih gena potrebne za leukemijsku transformaciju (65,66). To je u skladu s aktualnim modelom dvostrukog udara predloženim od strane Gillilanda i Kelly (21) kojim se pokušava objasniti patogeneza AML-a, u kojem je za razvoj leukemijskog fenotipa potrebna suradnja dviju skupina mutacija. U kontekstu ovog modela, kimerični fuzijski CBF geni spadaju u drugu skupinu mutacija (engl. *class II mutations*) koja obuhvaća pretežno transkripcijske faktore i u kojoj dolazi do poremećaja sposobnosti diferencijacije hematopoetskih stanica. Za razvoj leukemijskog fenotipa ova skupina mutacija treba sinergistički djelovati s prvom skupinom mutacija (engl. *class I mutations*) koja obuhvaća gene koji kodiraju proteine uključene u stanične signalizacijske puteve i čija mutacija osigurava leukemijskom klonu proliferacijsku prednost i/ili prednost preživljenja. Primjeri prve skupine mutacija su mutacije gena za receptore tirozin kinaze kao što su *FLT3* i *KIT*, *JAK2* tirozin kinazu te GTP-azu *RAS* (1). S obzirom da je tema ovog preglednog rada c-kit mutacija, *KIT* gen će biti opisan u zasebnom poglavlju.

#### 13.1. *FLT3* gen

Gen *FLT3* (engl. *FMS-like tyrosine kinase 3*), nalazi se na kromosomu broj 13 i kodira transmembranski receptor tirozin kinaze (engl. *receptor tyrosine kinase*, RTK) koji pripada istoj obitelji, klasi III receptora tirozin kinaze (engl. *RTK class III*) kao i *KIT* i receptori za trombocitni faktor rasta (engl. *platelet-derived growth factor receptors*, PDGFRs). Receptori tirozin kinaze klase III se sastoje od izvanstaničnog dijela koji nalikuje imunoglobulinskom, transmembranskog, jukstamembranskog i unutarstaničnog dijela s aktivnošću tirozin kinaze. U normalnoj hematopoezi, vezanjem liganda za *FLT3* receptor dolazi do njegove dimerizacije i aktivacije kroz



autofosforilaciju. Aktivirana receptorska kinaza započinje signalnu kaskadu fosforiliranjem drugih signalnih molekula koji dalje prenose signal nizvodno i aktiviraju PI3K/AKT, RAS/MAPK i JAK2/STAT5 signalne puteve koji promoviraju staničnu proliferaciju i inhibiraju staničnu apoptozu (67). FLT3 se normalno nalazi na mijeloidnim progenitornim stanicama i kao što je opisano igra važnu ulogu u njihovoj proliferaciji. Jednom kada se hematopoetske stanice diferenciraju, izražaj FLT3 receptora se gubi (68). Proliferativna uloga FLT3 je dodatno potvrđena na mišjim *knock-out* modelima koji su pokazali suptilne deficite hematopoeze u smislu smanjenja broja krvotvornih stanica. Unatoč tome ispitivani miševi nisu imali smanjen životni vijek što znači da uloga FLT3 u proliferaciji nije esencijalna (69).

U akutnoj mijeloičnoj leukemiji, povratne mutacije *FLT3* uključuju unutrašnju duplikaciju (ITD – engl. *internal tandem duplication*) jukstamembranskog dijela u 95% slučajeva što za posljedicu ima gubitak autoinhibitorne funkcije tog dijela receptora te točkastu mutaciju unutar aktivacijske petlje tirozin kinazne domene (engl. *tyrosine kinase domain*, TKD) u preostalih 5% slučajeva. U oba slučaja, neovisno o prisutnosti liganda, dolazi do konstitucijske aktivacije receptora i posljedične promocije proliferacije odnosno inhibicije apoptoze (67). Smatra se da *FLT3* mutacija omogućuje neograničen rast leukemijskim stanicama. Pokazano je da retroviralna transdukcija mišjih stanica koštane srži s ljudskim *FLT3* mutiranim genom ne dovodi do razvoja leukemije već uzrokuje oligoklonalnu mijeloproliferativnu bolest s leukocitozom i splenomegalijom što ide u prilog ovoj hipotezi (70). Potpuni fenotip akutne leukemije razvije se tek kada su *FLT3* mutacije udruže s genskim promjenama za koje se zna da dovode do blokade u staničnoj diferencijaciji poput mutacije *RUNX1* ili *CBFB* gena (71). Uz sve napisano treba i istaknuti da *FLT3* mutacije nisu toliko učestale u CBF leukemijama. Mutacija *FLT3-ITD*, opaža se u 2-9% bolesnika s t(8;21) odnosno 0-7% s inv(16). Situacija je obrnuta u slučaju *FLT3-TKD* mutacije koja je učestalija kod bolesnika s inv(16) (6-24%) nego u onih s t(8;21) (2-7%) (72). Usporedno s tim, gledajući sveukupno sve podtipove akutne mijeloične leukemije zajedno, iste mutacije se nađu u oko 30% bolesnika. Za pacijente s AML-om i normalnim kariotipom, prisutnost ove mutacije je povezana sa slabijim odgovorom na terapiju i lošijim sveukupnim preživljenjem. Za bolesnike s CBF AML-om ova veza je puno manje jasna i dodatna istraživanja su potrebna (8).

## 13.2. *JAK2* gen

Gen *JAK2* (engl. *Janus kinase 2*) kodira istoimenu citoplazmatsku tirozin kinazu koja zajedno s *JAK1*, *JAK3* i *TYK2* čini *JAK* (engl. *Janus associated kinase*) obitelj tirozin specifičnih kinaza uključenih u staničnu signalizaciju putem raznih membranskih receptora združenih s tirozin kinazama kao što su obitelj receptora za IL-3, Gp130 receptorska obitelj, obitelj tipa 2 receptora za citokine i drugi. Ligandi za spomenute receptore su razni faktori rasta i citokini koji reguliraju brojne aspekte hematopoeze i imunskog odgovora putem *JAK/STAT* signalnog puta. Ti receptori nemaju citosolne dijelove s katalitičkom aktivnošću već vezanjem liganda dolazi do konformacijskih promjena odnosno multimerizacije receptorskih podjedinica koja dovodi dvije molekule *JAK*-a u neposrednu blizinu jednu drugoj što omogućuje proces prijenosa fosfata tj. transfosforilaciju. Aktivirani *JAK* fosforilira tirozinske ostatke receptora koji služe kao mjesto pristajanja glavnom supstratu ovog signalnog puta, *STAT* proteinima (engl. *signal transducer and activator of transcription*). Po svom vezivanju na receptor, *STAT* proteini također bivaju fosforilirani od strane *JAK*-a što omogućuje njihovu dimerizaciju, disocijaciju sa svog veznog mjesta i translokaciju u jezgru gdje se vežu za specifično regulacijsko sekvencijsko mjesto DNA (pojačivač) te tako potiču transkripciju određenih gena (73). Važno je naglasiti da kinaze mogu imati i druge efektorske proteine odnosno signalne puteve. Tako aktivacijom *JAK*-a može nastupiti i proliferacija stanica (aktivacijom *RAS/RAF* puta) kao i inhibicija apoptoze aktivacijom protein kinaze B koja blokira apoptozu (74).

Jedan od novijih dodataka listi potencijalnih mutagena koji sudjeluju u leukemogenezi CBF-AML-a je aktivirajuća *JAK2V617F* mutacija u kojoj se valin zamjenjuje fenilalaninom u pseudokinaznoj domeni JH2 koja ima inhibitornu funkciju na JH1 kinaznu domenu *JAK2* tirozin kinaze. Posljedično, mutirani enzim ima pojačanu aktivnost kinaze i tako dovodi do pretjerane aktivacije gore spomenutih silaznih signalnih puteva koji dovode do pojačane stanične proliferacije i inhibicije apoptoze. Ova mutacija je karakteristična za kronične mijeloproliferativne bolesti, gdje je prisutna kod većine bolesnika, dok je za razliku od tog iznimno rijetka u CBF AML-u (2,67). Međutim, incidencija od 3.6% prisutna među CBF AML bolesnicima je značajno veća u usporedbi s drugim AML bolesnicima (0.6%) (75). Također, u studiji provedenoj od strane Döhnera i suradnika, *JAK2V617F* mutacija je bila prisutna u 4 od 64 bolesnika s t(8;21) (6%) i u niti jednog od 99 bolesnika s inv(16) (76).

Zanimljivo je istraživanje od strane Schnittgera i suradnika koji su pronašli *JAK2* mutaciju u dva od tri bolesnika s t-AML-om s t(8;21) dok istu mutaciju nisu pronašli kod niti jednog bolesnika s *de novo* t(8;21) AML-om što sugerira povezanost mutacije s AML-om nakon liječenja antraciklinima i inhibitorima topoizomeraze (77). Utjecaj *JAK2* mutacije na prognozu bolesnika s AML-om još nije ispitana.

### 13.3. *RAS* gen

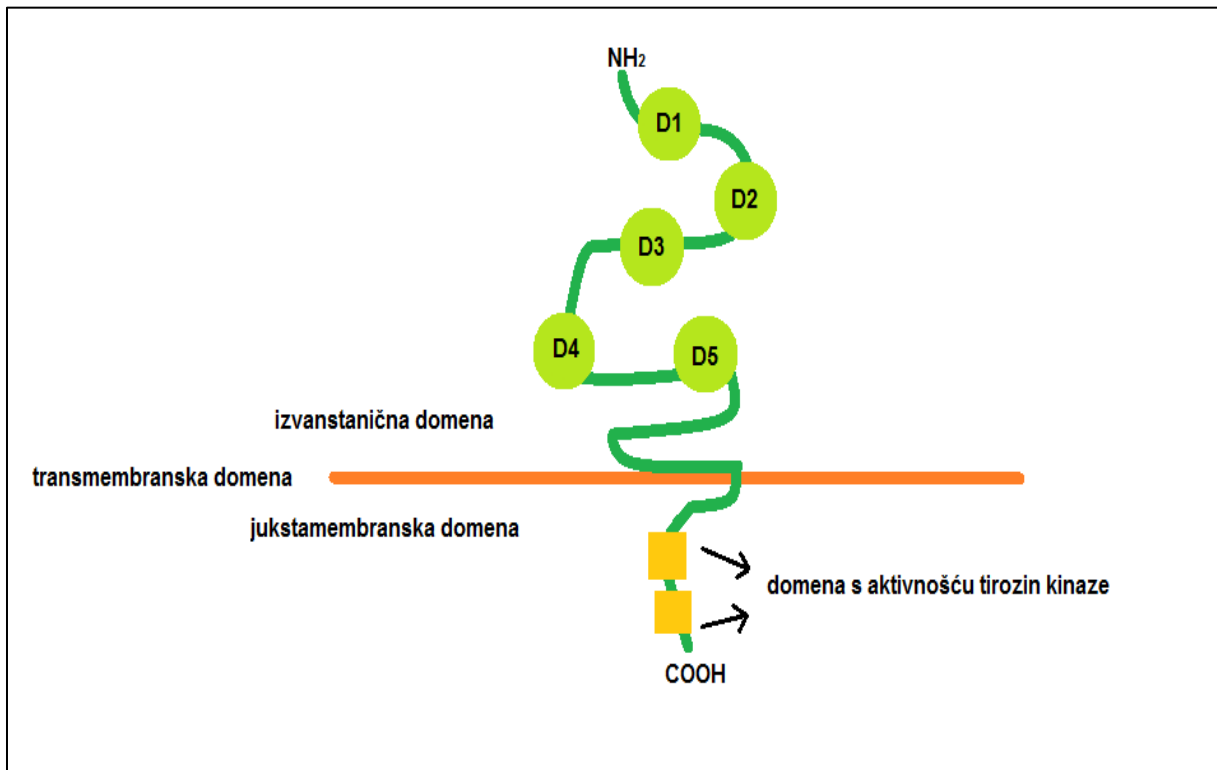
Protoonkogeni *RAS* su među najčešće mutiranim genima kako u hematološkim neoplazmama tako i u solidnim tumorima. Oni kodiraju obitelj malih GTP-aznih proteina koji igraju važnu ulogu u regulaciji staničnog ciklusa. U normalnim uvjetima Ras proteini su u ravnoteži između svog aktivnog oblika (kada vežu GTP) i inaktivnog oblika (kada je vezan GDP). Aktivirani Ras potiče kaskadu prijenosa signala u stanici stupajući u interakciju s brojnim nizvodnim efektorskim molekulama tvoreći tako signalni put koji dovodi do stanične proliferacije (78). Geni *N-RAS* i *K-RAS* su najčešći onkogeni u ljudskim neoplazmama u kojima dolazi do točkastih mutacija u kodonima 12,13 ili 61 što za posljedicu ima gubitak intrinzične GTP-azne aktivnosti Ras proteina što ih čini trajno aktivnima (79). Važno je istaknuti da osim što aberantno Ras stanično signaliziranje može biti direktna posljedica spomenutih mutacija, aktivacija Ras onkogenog puta također može biti odraz konstitucijske aktivacije tirozin-kinaze zbog mutacije FLT3 ili KIT receptora (78).

Mutacije *N-RAS* i *K-RAS* su učestalije u bolesnika s inv(16) (36%) u odnosu na bolesnike s t(8;21) (8%) (72). Suprotno istraživanjima mijelodisplastičnog sindroma koja pokazuju povezanost *RAS* mutacija s progresijom MDS u AML (80,81), negativan utjecaj istih mutacija na prognozu bolesnika s AML-om nije dokazan (72,82,83). Štoviše, u istraživanju Bachera i suradnika, četvero bolesnika kojima je detektirana *N-RAS* mutacija pri dijagnozi, tu istu mutaciju više nisu imali u relapsu bolesti čime je postavljena razumna sumnja na primarnu ulogu *RAS* mutacija u nastanku akutne mijeloične leukemije (83).

## 14. *KIT* mutacije u CBF AML-u

Protoonkogen *KIT* smješten je na dugom kraku kromosoma 4 i kodira transmembranski glikoprotein relativne molekulske mase 145 kDa poznat pod nazivom c-kit. Kao i već opisan FLT3, c-kit je član klase III RTK obitelji (84). Identificiran je i kloniran 1987. godine kao stanični homolog virusnog v-kit onkogeno izoliranog godinu dana ranije iz mačjeg *Hardy-Zuckerman* 4 transformirajućeg retrovirusa (85,86). Kao i svi receptori klase III RTK obitelji, c-kit se sastoji od izvastaničnog dijela karakteriziranog s 5 domena (D1-D5) nalik imunoglobulinskim, transmembranskog dijela i unutarstaničnog repa koji sadrži jukstamembransku domenu i domenu s aktivnošću tirozin kinaze podijeljenu slijedom od oko 80 aminokiselina u dva dijela (Slika 9) (87). Identificirane su četiri izoforme c-kit proteina u ljudi, nastale alternativnim RNA izrezivanjem (engl. *alternative RNA splicing*). One se razlikuju po prisutnosti odnosno odsutnosti niza od četiri aminokiseline (glicin-asparagin-asparagin-lizin) u izvanstaničnom dijelu receptora tik uz transmembransku domenu te po prisutnosti odnosno odsutnosti serinskog ostatka u međukinaznoj domeni. Značenje ovih izoformi nije do kraja istraženo i razjašnjeno, ali čini se da se aktivacija receptora neovisna o ligandu javlja samo u izoformi bez tetrapeptidne sekvence (88). C-kit tirozin kinazna aktivnost regulirana je vezanjem korespondentnog liganda, faktora matičnih stanica (engl. *stem cell factor*, SCF) kojeg luče stromalne stanice koštane srži koje tvore niše za hematopoetske matične stanice, pa se tako c-kit također naziva i receptorom za faktor matičnih stanica (SCFR). SCF djeluje na pluripotentnu, ali i na primitivnu mijeloidnu i limfoidnu matičnu stanicu te produljuje njihovo preživljenje i regulira samoobnavljajući kapacitet (18,89). U čak 80% slučajeva AML-a prisutna je ekspresija *KIT* gena i njegovog produkta (90). Suprotno tome, u normalnim uvjetima samo oko 4% stanica koštane srži izražava c-kit receptor budući da se njegova ekspresija smanjuje kako napreduje diferencijacija krvotvornih stanica od matične. To ne vrijedi za mastocite koji kao zrele, do kraja diferencirane stanice pokazuje visok izražaj c-kit receptora i čije preživljenje, funkcija i rast ovise o prijenosu signala pomoću tog receptora (84,91). Vezanje SCF-a na izvanstanični dio receptora omogućuju njegove, imunoglobulinu nalik, vezajuće D1, D2 i D3 domene. Posljedično tome dolazi do konformacijskih promjena receptora u smislu reorijentacije i međusobnog približavanja D4 i D5 domena koje sada mogu savladati elektrostatsko odbijanje koje ih inače održava u inaktivnoj formi monomera. Konačan

rezultat interakcije liganda i receptora je njegova homodimerizacija i aktivacija autofosforilacijom vlastitih tirozinskih ostataka koji time postaju vezna mjesta za nizvodne prijenosnike signala koji sadrže evolucijski dobro očuvanu SH2 domenu (engl. *Src homology 2*) pomoću koje stupaju u vezu s receptorom i preuzimaju signal (87).



**Slika 9** Građa c-kit receptora. Modificirano prema: Liang J, et al. The C-Kit Receptor-Mediated Signal Transduction and Tumor-Related Diseases. *Int J Biol Sci.* 2013;9(5):435–43.

## 14.1. Signalni putevi

Signalni putevi SCF/c-kit igraju važnu ulogu u proliferaciji, diferencijaciji, migraciji i preživljenju hematopoetskih matičnih stanica i do sada ih je identificirano nekoliko (Slika 10):

### Ras/Erk signalni put

Adapterski protein Grb2 (engl. *Growth factor receptor-bound protein 2*) veže se na fosforilirane tirozinske ostatke SCFR-a te potom tvori kompleks s proteinom Sos. Pretvorbom GTP-a u GDP, Sos prenosi fosfatnu skupinu na mali GTP-azni protein Ras i tako ga aktivira koji posljedično tome veže Raf-1 protein. Raf-1 je serin-treonin kinaza koja fosforilira čitav niz drugih MAP kinaza (engl. *mitogen-activated protein kinase*, MAPK) poput Mek1/2 i Erk1/2, a oni opet fosforiliraju različite transkripcijske faktore Jun i Fos koji odlaze u jezgru i reguliraju transkripciju gena važnih za diferencijaciju, proliferaciju i preživljavanje stanice.

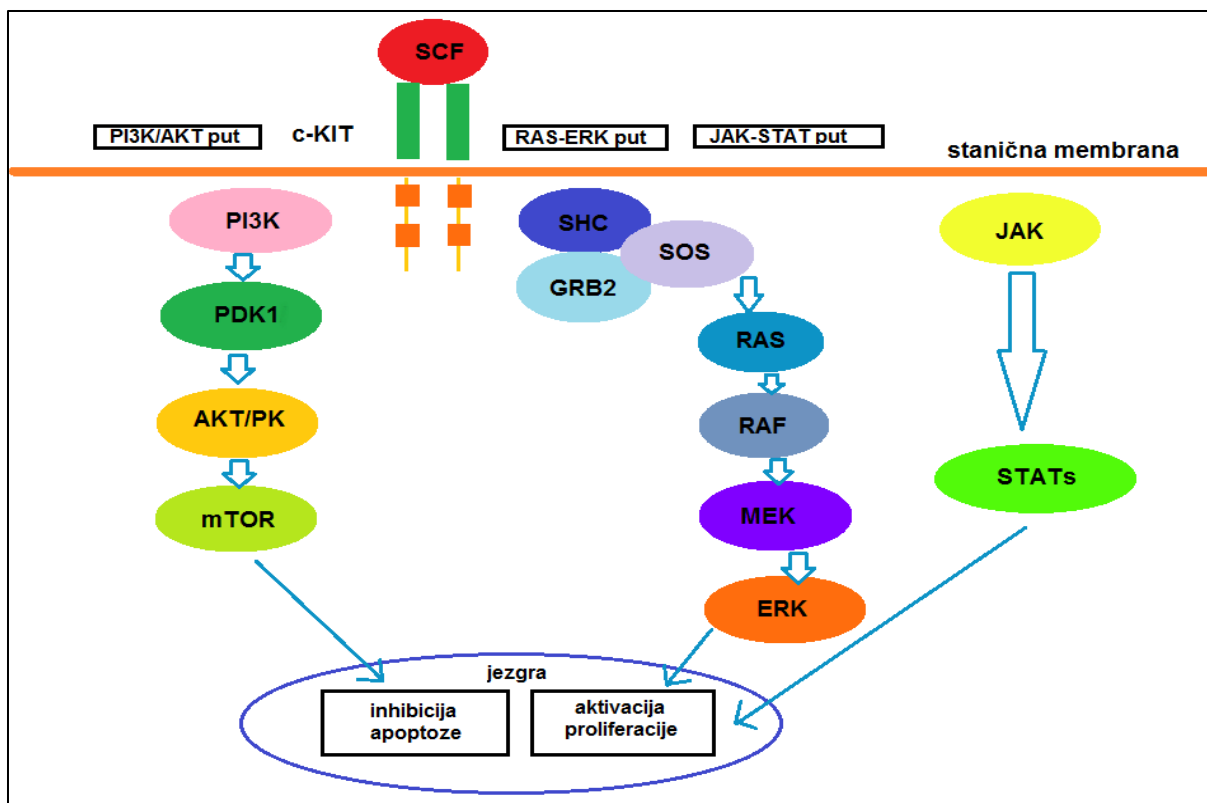
### PI3K/AKT signalni put

Aktivirani c-kit privlači fosfatidilinozitol 3-kinazu (PIK3) koja aktivira serin-treonin protein kinazu Akt odgovornu za fosforilaciju apoptotičnog proteina BAD (engl. *Bcl-2-associated death promoter*). Rezultat fosforilacije BAD-a je njegova inaktivacije čime se promovira stanično preživljavanje.

### JAK/STAT signalni put

Ovaj signalni put već je opisan u dijelu o JAK2 mutaciji.

Iz svega napisanog o *FLT3*, *KIT*, *JAK2* i *RAS* genima, kandidatima za prvi skupinu mutacija prema modelu dvostrukog udara, i njihovih signalnim putevima, jasno je da je riječ o vrlo kompleksnim putevima koji međusobno konvergiraju i povezuju se te imaju zajedničko djelovanje, a to je promocija staničnog preživljavanja i proliferacije. Stoga nije niti čudno da aktivacija jednog od opisanih onkogenih puteva može biti posljedica mutacije bilo kojeg od navedenih gena (87,89,92).



**Slika 10** SCF/c-kit signalni putevi. Modificirano prema: Abbaspour Babaei M, et al. Receptor tyrosine kinase (c-Kit) inhibitors: a potential therapeutic target in cancer cells. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:2443–59.

## 14.2. Mutacije *KIT* gena

Konstitucijska aktivnost c-kit receptora, neovisno o prisutnosti liganda, može biti uzrokovana različitim mutacijama. One obuhvaćaju *in-frame* inserciju ili deleciju egzona 8 odgovornog za dimerizacijsku domenu u izvastaničnom dijelu receptora, ITD egzona 11 za jukstamembranski dio koji na taj način gubi svoju autoinhibitornu funkciju te supstituciju jedne aminokiseline egzona 17 (najčešće dolazi do zamjene asparaginske kiseline valinom na poziciji 816, D816V) u aktivacijskoj petlji domene s aktivnošću tirozin kinaze (67). Incidencija c-kit mutacija u CBF akutnoj mijeloičnoj leukemiji varira između 17% pa sve do 46.1% što ih čini značajno učestalijima u toj citogenetskoj podgrupi AML-a u odnosu na sve ostale. C-kit mutacije su najčešće mutacije u CBF AML-u i rijetko se viđaju u drugim podtipovima (93–95). Najčešće mutacije su one koje se događaju u egzonima 8 i 17 i one se opažaju u 20-25% bolesnika s t(8;21) odnosno u 30% bolesnika s inv(16) (96).

### 14.3. Prognostička vrijednost *KIT* mutacija u CBF AML-u

Do sada je mnogo opažajnih studija pokušalo procijeniti utjecaj *KIT* mutacija na prognozu CBF AML-a. Iako dobiveni podatci nisu u potpunosti dosljedni, čini se da mutacije imaju negativan utjecaj na incidenciju relapsa te da smanjuju sveukupno preživljenje u bolesnika s t(8;21) dok je prognostička važnost u inv(16) puno manje jasna (93,95–98). Suprotno tome, u skupini pedijatrijskih CBF AML bolesnika, većina istraživanja pokazuje da *KIT* mutacije nemaju značajnu prognostičku ulogu (99,100). Zbog pomalo kontradiktornih podataka, danas imamo diskrepanciju u vidu korištenja *KIT* mutacija kao prognostičkog markera. Naime, *International European Leukemia Net* ne preporuča testiranje *KIT* mutacijskog statusa kao dio inicijalne rutinske dijagnostičke obrade i kategorizira CBF AML u skupinu leukemija s povoljnom prognozom neovisno o *KIT* mutaciji (33). Nasuprot tome, *National Comprehensive Cancer Network Guidelines* preporuča korištenje *KIT* mutacijskog statusa kao prognostičkog markera tako da CBF AML bolesnike pozitivne na mutaciju ne svrstava više u skupinu s povoljnom prognozom već u skupinu sa srednjom prognozom (101). Chen i suradnici (102) objavljuju 2016. godine meta-analizu 11 relevantnih kohortnih studija u cilju rasvjetljenja problematike vezane uz utjecaj *KIT* mutacija na prognozu bolesnika s CBF AML-om (72,96–99,103–108). Da bi procijenili prognostičko značenje *KIT* mutacijskog statusa u bolesnika s CBF AML-om, analizirali su tri primarna ishoda: kompletnu remisiju (engl. *complete remission*, CR) i sveukupno preživljenje (engl. *overall survival*, OS) definirane i standardizirane za klinička ispitivanja 1990.godine od strane Chesona i suradnika (33,109) te rizik relapsa. Studija je pokazala da *KIT* mutacije zaista jesu povezane s većim rizikom relapsa u bolesnika s t(8;21), ali ne i bolesnika s inv(16) na koje nemaju nikakav utjecaj. Također, negativno utječu na CR i OS, ali samo kod pripadnika nebijele rase (engl. *non Caucasians*) dok se kod bijelaca taj učinak ne opaža. To je u skladu s prijašnjim istraživanjem Wang i sur. koje nije uključivalo pripadnike bijele rase (110) te je u skladu s istraživanjem Marcuccija i sur. (44) gdje su pripadnici bijele rase s t(8;21) uz prisutnost određenih sekundarnih citogenetskih abnormalnosti imali duži OS i češće uspješnu indukcijsku terapiju u odnosu na pripadnike drugih rasa čime su prvi istaknuli rasu kao važan prediktor. Svim rečenim, ova meta-analiza podržava uključivanje testiranja *KIT* mutacijskog statusa u inicijalnu rutinsku dijagnostiku, ali samo u slučaju AML-a s t(8;21).



#### 14.4. Terapijska vrijednost *KIT* mutacija u CBF AML-u

Detekcija *KIT* mutacija u CBF AML-u je važna, ne samo zbog prognostičkog značenja, već i zbog terapijskih implikacija budući da aktivirajuće mutacije c-kit receptora predstavljaju potencijalno mjesto djelovanja inhibitora tirozin-kinaze (engl. *tyrosine kinase inhibitors*, TKI) (1). Inhibitorna *in vitro* aktivnost TKI-a prve generacije, imatiniba, dokazana je u slučajima kada su mutirani egzon 8 (111) i egzon 17 na kodonu N822 (112), ali ne i kada je mutiran kodon D816 (113) što je jedna od najčešćih mutacija *KIT* gena u CBF AML-u. Na potonju mutaciju uspješno djeluju dasatinib, još jedan lijek uz imatinib, odobren u liječenju *Philadelphia* pozitivne kronične mijeloične leukemije zbog svoje mogućnosti inhibiranja Abl kinaze. Stoga, individualno određivanje točnog tipa *KIT* mutacije kod svakog bolesnika je nužno za odabiranje prikladnog inhibitora tirozin kinaze koji će imati ciljano antitumorsko djelovanje. Na temelju ovih opažanja, nadolazeća klinička istraživanja još moraju procijeniti učinkovitost TKI-a u monoterapiji ili u kombinaciji s kemoterapijom u liječenju *KIT* pozitivnih CBF AML bolesnika (1).

## 15. Zaključak

*Core binding factor* akutne mijeloične leukemije s povratnim genskim promjenama, translokacijom t(8;21) i inverzijom inv(16), imaju povoljniju prognozu u odnosu na druge citogenetske promjene. Inkorporacija visokih doza citarabina kao terapija u remisiji je značajno poboljšala ishode liječenja bolesnika s CBF AML-om, osobito kad se primjenjuju u višestrukim ciklusima. Tako primjenjivan program omogućuje dugogodišnje preživljenje u oko polovice bolesnika kako onih s t(8;21) tako i s inv(16). S druge strane, CBF akutne mijeloične leukemije također predstavljaju klinički, genetski i prognostički vrlo heterogenu skupinu. Kada se ti prognostički čimbenici uzmu u obzir u multivarijantnoj analizi, postaje jasno da su t(8;21) i inv(16) dva zasebna entiteta i da se ne bi trebale grupirati zajedno.

S obzirom da se trenutnim načinom liječenja samo polovica bolesnika s t(8;21) i inv(16) uspijeva ostvariti dugogodišnje preživljenje, u svrhu poboljšanja ishoda liječenja, potrebna je identifikacija prognostičkih markera za bolju stratifikaciju rizika i prilagodbu terapiju. Mutacije *KIT* gena zasigurno su jedne od potencijalnih markera budući da su najčešća sekundarna genska promjena kod ovih bolesnika i da imaju važnu ulogu u leukemogenezi. *KIT* mutacije dovode do veće incidencije relapsa i smanjenja sveukupnog preživljenja (kod pripadnika svih rasa isključujući bijelu rasu) te su se na taj način pokazale ključnim rizičnim prognostičkim čimbenikom kod bolesnika s t(8;21), dok u slučaju inv(16) nemaju utjecaj na prognozu. Ove mutacije su također i potencijalna mjesta djelovanja TKI-a, ali njihova korisnost u liječenju *KIT* pozitivnih bolesnika tek treba biti evaluirana od strane nadolazećih kliničkih istraživanja. Daljnjim spoznajama o patofiziološkoj podlozi *KIT* mutacija, identifikacijom drugih relevantnih prognostičkih markera i napretkom u ciljanoj terapiji zasigurno će doći do unapređenja strategije dijagnostike i liječenja ovih bolesnika.

## **16. Zahvale**

Zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Rajku Kušecu na izdvojenom vremenu, savjetima, razumijevanju i podršci prilikom pisanja diplomskog rada.

Zahvaljujem članovima komisije na evaluaciji ovog rada.

Posebno zahvaljujem svojim roditeljima, sestri i ostaloj obitelji na bezuvjetnoj ljubavi i podršci tijekom cijelog školovanja i studiranja.

Posebno zahvaljujem svojoj djevojci na strpljenju, psihološkoj podršci i velikodušnoj pomoći oko tehničkih detalja vezanih uz diplomski rad te neizmjerne ljubavi koju mi pruža svakodnevno u životu.

## 17. Popis literature

1. Paschka P. Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia. *Semin Oncol.* 2008;35(4):410–7.
2. Mrózek K, Marcucci G, Paschka P, Bloomfield CD. Advances in molecular genetics and treatment of core-binding factor acute myeloid leukemia. *Curr Opin Oncol.* 2008;20(6):711–8.
3. Speck NA, Gilliland DG. Core-Binding Factors in Haematopoiesis and Leukaemia. 2002:502–13.
4. Byrd JC, Mrózek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood.* 2002;100(13):4325–36.
5. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC, Carroll A, Pettenati MJ, Tantravahi R, et al. Frequency of Prolonged Remission Duration after High-Dose Cytarabine Intensification in Acute Myeloid Leukemia Varies by Cytogenetic Subtype1 Validation of Using Cytogenetically Defined Patients on the. 1998;4173–80.
6. Byrd JC, Ruppert AS, Mro K, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Repetitive Cycles of High-Dose Cytarabine Benefit Patients With Acute Myeloid Leukemia and inv(16)(p13q22) or t(16;16 )(p13;q22): Results from CALGB 8461. 2015;22(6):1087–94.
7. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM Le, Bloomfield CD, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127(20):2391–405.
8. Solh M, Yohe S, Weisdorf D, Ustun C. Core-binding factor acute myeloid leukemia: Heterogeneity, monitoring, and therapy. *Am J Hematol.* 2014;89(12):1121–31.
9. Appelbaum FR, Kopecky KJ, Tallman MS, Slovak ML, Gundacker HM, Kim HT, et al. The clinical spectrum of adult acute myeloid leukaemia associated with core binding factor translocations. *Br J Haematol.* 2006;135(2):165–73.
10. Fircanis S, Merriam P, Khan N, Castillo JJ. The relation between cigarette smoking and risk of acute myeloid leukemia: An updated meta-analysis of epidemiological studies. *Am J Hematol.* 2014;89(8):125–32.
11. K Kaushansky, M Lichtman, J Prchal, M Levi, O Press, L Burns, M Caligiuri. *Williams Hematology.* 9th edition. New York: McGraw Hill; 2015; p.1-2393
12. Tsushima H, Miyazaki Y, Iwanaga M. Late effect of Atomic bomb radiation on myeloid disorders: Leukemia and myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol.* 2012;95(3):232–8.
13. Godley LA, Larson RA. Therapy-Related Myeloid Leukemia. *Semin Oncol.* 2008;35(4):418–29.

14. Vardiman JW. The World Health Organization (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues: An overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chem Biol Interact.* 2010;184(1–2):16–20.
15. Alter BP, Giri N, Savage SA, Peters JA, Loud JT, Leathwood L, et al. Malignancies and survival patterns in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndromes cohort study. *Br J Haematol.* 2010;150(2):179–88.
16. Neumann RD. *Neoplastic diseases of the blood*, 6th edition. Cham: Springer; 2018. p.1-1307
17. Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V, Gómez-Guijosa MÁ, Cortes-Penagos C. Acute myeloid leukemia—genetic alterations and their clinical prognosis. *Int J Hematol Stem Cell Res.* 2017;11(4):329–39.
18. Duraković N, Labar B, Gjadrov Kuveždić K, Batinić D, Davidović S DL. Akutne mijeloične leukemije i slični zloćudni tumori. In: Labar B i sur, editor. *Hematologija*. Zagreb: Školska knjiga; p. 270-307.
19. Majeti R, Weissman IL. Human acute myelogenous leukemia stem cells revisited: There's more than meets the eye. *Cancer Cell.* 2011;19(1):9–10.
20. Pandolfi A, Barreyro L, Steidl U. Concise Review: Preleukemic Stem Cells: Molecular Biology and Clinical Implications of the Precursors to Leukemia Stem Cells. *Stem Cells Transl Med.* 2013;2(2):143–50.
21. Kelly LM, Gilliland DG. Genetics of Myeloid Leukemias. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2002;3(1):179–98.
22. Takahashi S. Current findings for recurring mutations in acute myeloid leukemia. *Journal of Hematology & Oncology.* 2011;1–11.
23. Bennett JM, Catovsky D, Daniel M -T, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, et al. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias French-American-British (FAB) Co-operative Group. *Br J Haematol.* 1976;33(4):451–8.
24. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR SC. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med.* 103(4):620–5.
25. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms Review article The World Health Organization ( WHO ) classification of the myeloid neoplasms. October. 2009;100(7):2292–302.
26. Burke PJ, Braine HG, Rathbun HK, Owens AH. The clinical significance and management of fever in acute myelocytic leukemia. *Johns Hopkins Med J.* 1976;139(1):1–12.
27. Patrick Burns C, Frey AL, Dick FR, Jordan JE, Woolson RF. Analysis of the Presenting Features of Acute Leukemia: The French-American-

- British Classification. Vol. 47, Cancer. 1981.
28. Gollard RP, Robbins BA, Piro L, Saven A. Acute myelogenous leukemia presenting with bulky lymphadenopathy. Case report and literature review. *Acta Haematol.* 1996;95(2):129–34.
  29. WD James, T Berger DE. *Andrew's Diseases of the Skin: Clinical Dermatology.* Saunders; 2006. p. 744
  30. Byrd BJC, Edenfield WJ, Shields DJ, Dawson NA. Extramedullary Myeloid Cell Tumors in Acute Nonlymphocytic Leukemia: A Clinical Review. 1995;13(7):1800–16.
  31. Byrd BJC, Weiss RB, Arthur DC, Lawrence D, Baer MR, Davey F, et al. Extramedullary Leukemia Adversely Affects Hematologic Complete Remission Rate and Overall Survival in Patients With t ( 8 ; 21 )( q22 ; q22 ): Results From Cancer and Leukemia Group B 8461. 1997;15(2):466–75.
  32. Ganzel C, Becker J, Mintz PD, Lazarus HM, Rowe JM. Hyperleukocytosis, leukostasis and leukapheresis: Practice management. *Blood Rev.* 2012;26(3):117–22.
  33. Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: Recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood.* 2010;115(3):453–74.
  34. Mrózek K, Heerema NA, Bloomfield CD. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev.* 2004;18(2):115–36.
  35. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Vol. 129, *Blood.* 2017. 424-447 p.
  36. Mrózek K, Prior TW, Edwards C, Marcucci G, Carroll AJ, Snyder PJ, et al. Comparison of Cytogenetic and Molecular Genetic Detection of t(8;21) and inv(16) in a Prospective Series of Adults With De Novo Acute Myeloid Leukemia: A Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol.* 2001;19(9):2482–92.
  37. Huang L, Abruzzo L V., Valbuena JR, Medeiros LJ, Lin P. Acute Myeloid Leukemia Associated with Variant t(8;21) Detected by Conventional Cytogenetic and Molecular Studies : A Report of Four Cases and Review of the Literature. *Am J Clin Pathol.* 2006;125(2):267–72.
  38. Mitterbauer M, Laczika K, Novak M, Mitterbauer G, Hilgarth B, Pirc-Danoewinata H, et al. High Concordance of Karyotype Analysis and RT-PCR for CBF beta/MYH11 in Unselected Patients With Acute Myeloid Leukemia. *Am J Clin Pathol.* 2000;113(3):406–10.
  39. Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR, Slovak ML, Willman CL, Godwin JE, et al. Age and acute myeloid leukemia. 2016;107(9):3481–6.
  40. Juliusson G, Antunovic P, Derolf Å, Lehmann S, Möllgård L, Stockelberg D, et

- al. Age and acute myeloid leukemia : real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry Age and acute myeloid leukemia : real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. 2013;4179–87.
41. Péus D, Newcomb N, Hofer S. Appraisal of the Karnofsky Performance Status and proposal of a simple algorithmic system for its evaluation. *BMC Med Inform Decis Mak.* 2013;13:72.
  42. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1982;5(6):649–55.
  43. Kern W, Haferlach T, Schnittger S, Hiddemann W, Schoch C. Prognosis in Therapy-Related Acute Myeloid Leukemia and Impact of Karyotype. *J Clin Oncol.* 2004;22(12):2510–1.
  44. Marcucci G, Mrózek K, Ruppert AS, Maharry K, Kolitz JE, Moore JO, et al. Prognostic factors and outcome of core binding factor acute myeloid leukemia patients with t(8;21) differ from those of patients with inv(16): A Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol.* 2005;23(24):5705–17.
  45. Schlenk RF, Benner A, Krauter J, Büchner T, Sauerland C, Ehninger G, et al. Individual Patient Data–Based Meta-Analysis of Patients Aged 16 to 60 Years With Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: A Survey of the German Acute Myeloid Leukemia Intergroup. *J Clin Oncol.* 2004;22(18):3741–50.
  46. Gu TL, Goetz TL, Graves BJ, Speck NA. Auto-inhibition and partner proteins, core-binding factor beta (CBFbeta) and Ets-1, modulate DNA binding by CBFalpha2 (AML1). *Mol Cell Biol.* 2000;20(1):91–103.
  47. Huang G, Shigesada K, Ito K, Wee HJ, Yokomizo T, Ito Y. Dimerization with PEBP2beta protects RUNX1/AML1 from ubiquitin-proteasome-mediated degradation. *EMBO J.* 2001;20(4):723–33.
  48. Okuda T, Van Deursen J, Hiebert SW, Grosveld G, Downing JR. AML1, the target of multiple chromosomal translocations in human leukemia, is essential for normal fetal liver hematopoiesis. *Cell.* 1996;84(2):321–30.
  49. Wang Q, Stacy T, Binder M, Marin-Padilla M, Sharpe AH, Speck NA. Disruption of the Cbfa2 gene causes necrosis and hemorrhaging in the central nervous system and blocks definitive hematopoiesis. *Proc Natl Acad Sci.* 2002;93(8):3444–9.
  50. Rowley JD. Identificaton of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. *Ann Genet.* 1973;16(2):109–12.
  51. Erickson P, Gao J, Chang KS, Look T, Whisenant E, Raimondi S, et al. Identification of breakpoints in t(8;21) acute myelogenous leukemia and isolation of a fusion transcript, AML1/ETO, with similarity to Drosophila segmentation gene, runt. *Blood.* 1992;80(7):1825–31.
  52. Peterson LF, Zhang D-E. The 8;21 translocation in leukemogenesis. *Oncogene.* 2004;23(24):4255–62.

53. Miyoshi H, Kozu T, Shimizu K, Enomoto K, Maseki N, Kaneko Y, et al. The t(8;21) translocation in acute myeloid leukemia results in production of an AML1-MTG8 fusion transcript. *EMBO J.* 1993;12(7):2715–21.
54. Gelmetti V, Zhang J, Fanelli M, Minucci S, Pelicci PG, Lazar MA. Aberrant recruitment of the nuclear receptor corepressor-histone deacetylase complex by the acute myeloid leukemia fusion partner ETO. *Mol Cell Biol.* 1998;18(12):7185–91.
55. Le Beau MM, Larson RA, Bitter MA, Vardiman JW, Golomb HM, Rowley JD. Association of an Inversion of Chromosome 16 with Abnormal Marrow Eosinophils in Acute Myelomonocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 1983;309(11):630–6.
56. Adaya N, Stacy T, Speck NA, Liu PP. The leukemic protein core binding factor beta (CBFbeta)-smooth-muscle myosin heavy chain sequesters CBFalpha2 into cytoskeletal filaments and aggregates. *Mol Cell Biol.* 1998;18(12):7432–43.
57. Castilla LH, Wijmenga C, Wang Q, Stacy T, Speck NA, Eckhaus M, et al. Failure of embryonic hematopoiesis and lethal hemorrhages in mouse embryos heterozygous for a knocked-in leukemia gene CFBF-MYH11. *Cell.* 1996;87(4):687–96.
58. Liu PP, Wijmenga C, Hajra A, Blake TB, Kelley CA, Adelstein RS, et al. Identification of the chimeric protein product of the CFBF-MYH11 fusion gene in inv(16) leukemia cells. *Genes Chromosomes Cancer.* 1996;16(2):77–87.
59. Liu P, Seidel N, Bodine D, Speck N, Tarlé S, Collins FS. Acute myeloid leukemia with Inv (16) produces a chimeric transcription factor with a myosin heavy chain tail. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 1994;59:547–53.
60. Liu PP, Hajra A, Wijmenga C, Collins FS. Molecular pathogenesis of the chromosome 16 inversion in the M4Eo subtype of acute myeloid leukemia. *Blood.* 1995;85(9):2289–302.
61. Durst KL, Lutterbach B, Kummalu T, Friedman AD, Hiebert SW. The inv(16) fusion protein associates with corepressors via a smooth muscle myosin heavy-chain domain. *Mol Cell Biol.* 2003;23(2):607–19.
62. Bitter MA, Le Beau MM, Rowley JD, Larson RA, Golomb HM, Vardiman JW. Associations between morphology, karyotype, and clinical features in myeloid leukemias. *Hum Pathol.* 1987;18(3):211–25.
63. Dayyani F, Wang J, Yeh J-RJ, Ahn E-Y, Tobey E, Zhang D-E, et al. Loss of TLE1 and TLE4 from the del(9q) commonly deleted region in AML cooperates with AML1-ETO to affect myeloid cell proliferation and survival. *Blood.* 2008;111(8):4338–47.
64. Downing JR. The core-binding factor leukemias: lessons learned from murine models. *Curr Opin Genet Dev.* 2003;13(1):48–54.
65. Peterson LF, Boyapati A, Ahn E-Y, Biggs JR, Okumura AJ, Lo M-C, et al. Acute myeloid leukemia with the 8q22;21q22 translocation: secondary mutational events and alternative t(8;21) transcripts. *Blood.* 2007;110(3):799.



66. Müller AMS, Duque J, Shizuru JA, Lübbert M. Complementing mutations in core binding factor leukemias: from mouse models to clinical applications. *Oncogene*. 2008;27(44):5759–73.
67. Renneville A, Roumier C, Biggio V, Nibourel O, Boissel N, Fenaux P, et al. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia*. 2008;22(5):915–31.
68. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood*. 2002;100(5):1532–42.
69. Mackarechtschian K, Hardin JD, Moore KA, Boast S, Goff SP, Lemischka IR. Targeted disruption of the flk2/flt3 gene leads to deficiencies in primitive hematopoietic progenitors. *Immunity*. 1995;3(1):147–61.
70. Kelly LM, Liu Q, Kutok JL, Williams IR, Boulton CL, Gilliland DG. FLT3 internal tandem duplication mutations associated with human acute myeloid leukemias induce myeloproliferative disease in a murine bone marrow transplant model. *Blood*. 2002;99(1):310–8.
71. Small D. FLT3 Mutations: Biology and Treatment. *Hematology*. 2006;2006(1):178–84.
72. Boissel N, Leroy H, Brethon B, Philippe N, de Botton S, Auvrignon A, et al. Incidence and prognostic impact of c-Kit, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML). *Leukemia*. 2006;20(6):965–70.
73. Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, Schindler CW. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene*. 2002;285(1–2):1–24.
74. Rane SG, Reddy EP. JAKs, STATs and Src kinases in hematopoiesis. *Oncogene*. 2002;21(21):3334–58.
75. Illmer T, Schaich M, Ehninger G, Thiede C, DSIL2003 AML study group. Tyrosine kinase mutations of JAK2 are rare events in AML but influence prognosis of patients with CBF-leukemias. *Haematologica*. 2007;92(1):137–8.
76. Döhner K, Du J, Corbacioglu A, Scholl C, Schlenk RF, Döhner H. JAK2V617F mutations as cooperative genetic lesions in t(8;21)-positive acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2006;91(11):1569–70.
77. Schnittger S, Bacher U, Kern W, Haferlach C, Haferlach T. JAK2 seems to be a typical cooperating mutation in therapy-related t(8;21)/ AML1-ETO-positive AML. *Leukemia*. 2007;21(1):183–4.
78. Ayllón V, Rebollo A. Ras-induced cellular events (review). *Mol Membr Biol*. 2000;17(2):65–73.
79. Beaupre DM, Kurzrock R. RAS and Leukemia: From Basic Mechanisms to Gene-Directed Therapy. *J Clin Oncol*. 1999;17(3):1071–1071.
80. Christiansen DH, Andersen MK, Desta F, Pedersen-Bjergaard J. Mutations of

- genes in the receptor tyrosine kinase (RTK)/RAS-BRAF signal transduction pathway in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2005;19(12):2232–40.
81. Shih L-Y, Huang C-F, Wang P-N, Wu J-H, Lin T-L, Dunn P, et al. Acquisition of FLT3 or N-ras mutations is frequently associated with progression of myelodysplastic syndrome to acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2004;18(3):466–75.
  82. Bowen DT, Frew ME, Hills R, Gale RE, Wheatley K, Groves MJ, et al. RAS mutation in acute myeloid leukemia is associated with distinct cytogenetic subgroups but does not influence outcome in patients younger than 60 years. *Blood*. 2005;106(6):2113–9.
  83. Bacher U, Haferlach T, Schoch C, Kern W, Schnittger S. Implications of NRAS mutations in AML: a study of 2502 patients. *Blood*. 2006;107(10):3847–53.
  84. Abbaspour Babaei M, Kamalidehghan B, Saleem M, Huri HZ, Ahmadipour F. Receptor tyrosine kinase (c-Kit) inhibitors: a potential therapeutic target in cancer cells. *Drug Des Devel Ther*. 2016;10:2443–59.
  85. Besmer P, Murphy JE, George PC, Qiu F, Bergold PJ, Lederman L, et al. A new acute transforming feline retrovirus and relationship of its oncogene v-kit with the protein kinase gene family. *Nature*. 1986;320(6061):415–21.
  86. Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull TJ, et al. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J*. 1987;6(11):3341–51.
  87. Liang J, Wu Y-L, Chen B-J, Zhang W, Tanaka Y, Sugiyama H. The C-Kit Receptor-Mediated Signal Transduction and Tumor-Related Diseases. *Int J Biol Sci*. 2013;9(5):435–43.
  88. Lyman SD, Jacobsen SE. c-kit ligand and Flt3 ligand: stem/progenitor cell factors with overlapping yet distinct activities. *Blood*. 1998;91(4):1101–34.
  89. Ray P, Krishnamoorthy N, Ray A. Emerging functions of c-kit and its ligand stem cell factor in dendritic cells: regulators of T cell differentiation. *Cell Cycle*. 2008;7(18):2826–32.
  90. Ikeda H, Kanakura Y, Tamaki T, Kuriu A, Kitayama H, Ishikawa J, et al. Expression and functional role of the proto-oncogene c-kit in acute myeloblastic leukemia cells. *Blood*. 1991;78(11).
  91. Beghini A, Cairoli R, Morra E, Larizza L. In Vivo Differentiation of Mast Cells from Acute Myeloid Leukemia Blasts Carrying a Novel Activating Ligand-Independent C-kit Mutation. 1998;24:262–70.
  92. Reber L, Da Silva CA, Frossard N. Stem cell factor and its receptor c-Kit as targets for inflammatory diseases. *Eur J Pharmacol*. 2006;533(1–3):327–40.
  93. Boissel N, Leroy H, Brethon B, Philippe N, de Botton S, Auvrignon A, et al. Incidence and prognostic impact of c-Kit, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML). *Leukemia*.

2006;20(6):965–70.

94. Beghini A, Ripamonti CB, Cairoli R, Cazzaniga G, Colapietro P, Elice F, et al. KIT activating mutations: incidence in adult and pediatric acute myeloid leukemia, and identification of an internal tandem duplication. *Haematologica*. 2004;89(8):920–5.
95. Schnittger S, Kohl TM, Haferlach T, Kern W, Hiddemann W, Spiekermann K, et al. KIT-D816 mutations in AML1-ETO-positive AML are associated with impaired event-free and overall survival. *Blood*. 2006;107(5):1791–9.
96. Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, Mrózek K, Chen H, Kittles RA, et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8;21): A Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol*. 2006;24(24):3904–11.
97. Shimada A, Taki T, Tabuchi K, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, et al. KIT mutations, and not FLT3 internal tandem duplication, are strongly associated with a poor prognosis in pediatric acute myeloid leukemia with t(8;21): A study of the Japanese ChildhoodAMLCooperative Study Group. *Blood*. 2006;107(5):1806–9.
98. Cairoli R, Beghini A, Grillo G, Nadali G, Elice F, Ripamonti CB, et al. Prognostic impact of c-KIT mutations in core binding factor leukemias: An Italian retrospective study. *Blood*. 2006;107(9):3463–8.
99. Pollard JA, Alonzo TA, Gerbing RB, Ho PA, Zeng R, Ravindranath Y, et al. Prevalence and prognostic significance of KIT mutations in pediatric patients with core binding factor AML enrolled on serial pediatric cooperative trials for de novo AML. *Blood*. 2010;115(12):2372–9.
100. Shih LY, Liang DC, Huang CF, Chang YT, Lai CL, Lin TH, et al. Cooperating mutations of receptor tyrosine kinases and Ras genes in childhood core-binding factor acute myeloid leukemia and a comparative analysis on paired diagnosis and relapse samples. *Leukemia*. 2008;22(2):303–7.
101. National Comprehensive Cancer. Network clinical practice guidelines in oncology (NCCN Guidelines): acute myeloid leukemia. Version 1; 2015. [Internet]. Available from: [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp%0A19](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp%0A19).
102. Chen W, Xie H, Wang H, Chen L, Sun Y, Chen Z, et al. Prognostic Significance of KIT Mutations in Core-Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos one*. 2016; 11(1):e0146614. doi: 10.1371/journal.pone.0146614. eCollection 2016.
103. Riera L, Marmont F, Toppino D, Frairia C, Sismondi F, Audisio E, et al. Core binding factor acute myeloid leukaemia and c-KIT mutations. *Oncol Rep*. 2013;29(5):1867–72.
104. Allen C, Hills RK, Lamb K, Evans C, Tinsley S, Sellar R, et al. The importance of relative mutant level for evaluating impact on outcome of KIT, FLT3 and CBL mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia. *Leukemia*.

- 2013;27(9):1891–901.
105. Paschka P, Du J, Schlenk RF, Gaidzik VI, Bullinger L, Corbacioglu A, et al. Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16): A study of the German-Austrian AMLStudy Group (AMLSTG). *Blood*. 2013;121(1):170–7.
  106. Park SH, Chi HS, Min SK, Park BG, Jang S, Park CJ. Prognostic impact of c-KIT mutations in core binding factor acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2011;35(10):1376–83.
  107. Cairoli R, Beghini A, Turrini M, Bertani G, Nadali G, Rodeghiero F, et al. Old and new prognostic factors in acute myeloid leukemia with deranged core-binding factor beta. *Am J Hematol*. 2013;88(7):594–600.
  108. Qin YZ, Zhu HH, Jiang Q, Jiang H, Zhang LP, Xu LP, et al. Prevalence and prognostic significance of c-KIT mutations in core binding factor acute myeloid leukemia: A comprehensive large-scale study from a single Chinese center. *Leuk Res*. 2014;38(12):1435–40.
  109. Cheson BD, Cassileth PA, Head DR, Schiffer CA, Bennett JM, Bloomfield CD, et al. Report of the National Cancer Institute-sponsored workshop on definitions of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 1990;8(5):813–9.
  110. Wang D, Qiao C, Xiao M, Geng Z, Shang Z, He J, et al. Integrative analysis of prognostic factors in Chinese core binding factor leukemia. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;428(3):411–5.
  111. Cammenga J, Horn S, Bergholz U, Sommer G, Besmer P, Fiedler W, et al. Extracellular KIT receptor mutants, commonly found in core binding factor AML, are constitutively active and respond to imatinib mesylate. *Blood*. 2005;106(12):3958–61.
  112. Wang Y-Y, Zhou G-B, Yin T, Chen B, Shi J-Y, Liang W-X, et al. AML1-ETO and C-KIT mutation/overexpression in t(8;21) leukemia: Implication in stepwise leukemogenesis and response to Gleevec. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;102(4):1104–9.
  113. Gowney JD, Clark JJ, Adelsperger J, Stone R, Fabbro D, Griffin JD, et al. Activation mutations of human c-KIT resistant to imatinib mesylate are sensitive to the tyrosine kinase inhibitor PKC412. *Blood*. 2005;106(2):721–4.

## **18. Životopis**

### **OSOBNI PODATCI**

Ime i prezime: Jakov Bilać

Datum rođenja: 17. veljače 1995.

Adresa: Mostarska 22, 22000 Šibenik

E-mail: jalesija.bilac@gmail.com

### **OBRAZOVANJE**

2013.-2019. Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet

2009.-2013. Gimnazija „Antun Vrančić“, Šibenik

2001.-2009. Osnovna škola „Tin Ujević“, Šibenik

### **AKTIVNOSTI**

2018./2019. demonstrator na Katedri za pedijatriju

2016.-2019. voditelj Odbora za mušku košarku pri udruzi „SportMEF“

2016.-2019. suorganizator tradicionalne cestovne utrke „162 stube“

2014.-2019. sudionik međunarodnog sportsko-edukacijskog susreta biomedicinskih fakulteta „Humanijada“

2014./2015. demonstrator na Katedri za histologiju i embriologiju

### **PRIZNANJA I NAGRADE**

2016./2017. Dekanova nagrada za najboljeg studenta četvrte godine studija medicine

2015./2016. drugo mjesto na Sveučilišnom prvenstvu grada Zagreba u košarci

### **POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE**

Iskusno korištenje engleskog jezika u govoru i pisanju (samoprocjena, A razina državne mature)

Osnovno korištenje njemačkog jezika u govoru i pisanju (A2)

Sportske aktivnosti: košarka i boks

Ronilac s jednom zvijezdom („Open Water Diver“, Scuba Schools International, SSI)