

Klonski poremećaji kromosoma i mutacija gena u bolesnika s akutnom mijeloičnom leukemijom

Karlović, Marko

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:105:995306>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-29**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Marko Karlović

Klonski poremećaji kromosoma i mutacija gena u bolesnika s akutnom mijeloičnom leukemijom

Diplomski rad



Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za hematologiju Klinike za internu medicinu Kliničke bolnice Merkur pod vodstvom prof. dr. sc. Slobodanke Ostojić Kolonić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA

abn	abnormalnost
ALL	akutna limfoblastična leukemija
allo-HSCT	engl. <i>allogeneic hematopoietic stem cell transplantation</i> , alogena transplantacija krvotvornih matičnih stanica
AML	akutna mijeloična leukemija
APL	akutna promijelocitna leukemija
ATRA	engl. <i>all-trans retinoic acid</i> , all-trans retinoična kiselina
CBF	engl. <i>core binding factor</i> , središnji vezni faktor
CIR	engl. <i>cumulative incidence of relapse</i> , kumulativna incidencija relapsa
CML	engl. <i>chronic myeloid leukemia</i> , kronična mijeloična leukemija
CN-AML	engl. <i>cytogenetically normal acute myeloid leukemia</i> , akutna mijeloična leukemija s normalnim kariotipom
CR	engl. <i>complete remission</i> , kompletna remisija
CR1	engl. <i>first complete remission</i> , prva kompletna remisija
del	delecija
EFS	engl. <i>event free survival</i> , preživljenje bez događaja
ELN	engl. <i>European LeukemiaNet</i> , Europska leukemijska mreža
FAB	francusko-američko-britanska skupina

HiDAC	engl. <i>high-dose cytarabine</i> , visoka doza citarabina
HMA	engl. <i>hypomethylating agents</i> , hipometilirajuća sredstva
HSC	engl. <i>hematopoietic stem cells</i> , krvotvorne matične stanice
inv	inverzija
ITD	engl. <i>internal tandem duplication</i> , unutarnja tandemska duplikacija
MDS	mijelodisplastični sindrom
MPN	mijeloproliferativne neoplazme
MRD	engl. <i>minimal residual disease</i> , minimalna rezidualna bolest
OS	engl. <i>overall survival</i> , ukupno preživljenje
Ph	Philadelphia kromosom
PTD	engl. <i>partial tandem duplication</i> , djelomična tandemska duplikacija
r/r AML	engl. <i>relapsed/refractory acute myeloid leukemia</i> , relapsirajuća/refraktorna akutna mijeloična leukemija
RFS	engl. <i>relapse-free survival</i> , preživljenje bez relapsa
t	translokacija
t-AML	engl. <i>therapy related acute myeloid leukemia</i> , akutna mijeloična leukemija povezana s terapijom
TKD	tirozin kinazna domena
TKI	engl. <i>tyrosine kinase inhibitor</i> , inhibitor tirozin kinaze
WHO	engl. <i>World Health Organization</i> , Svjetska zdravstvena organizacija

SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD.....	1
2. GENETSKE ABNORMALNOSTI U AML-u	3
2.1 AML s citogenetskim i kromosomskim preslagivanjima	3
2.1.1 AML s balansiranim kromosomskim preslagivanjima	4
2.1.2 AML s raznim citogenetskim abnormalnostima.....	11
2.1.3 AML s kompleksnim kariotipom	13
2.2 AML s normalnim kariotipom i genskim mutacijama	14
2.2.1 AML s mutacijama nukleofosmina.....	15
2.2.2 AML s mutacijama signalnih i kinaznih puteva.....	17
2.2.3 AML s mutacijama transkripcijskih faktora.....	20
2.2.4 AML s mutacijama regulatora DNA metilacije	23
2.2.5 AML s mutacijama modifikatora kromatina	27
2.2.6 AML s mutacijama RNA splicing faktora	31
2.2.7 AML s mutacijama kohezina	31
2.2.8 AML s mutacijama tumor supresorskih gena	32
2.2.9 AML s prekomjernom ekspresijom <i>BAALC</i> i <i>MN1</i> gena	33
3. ZAKLJUČAK	35
4. ZAHVALE	36
5. LITERATURA.....	37
6. ŽIVOTOPIS	41

SAŽETAK

Marko Karlović

Klonski poremećaji kromosoma i mutacija gena u bolesnika s akutnom mijeloičnom leukemijom

Akutna mijeloična leukemija (AML) najčešća je akutna leukemija u odraslih, a karakterizira ju proliferacija i aberantna diferencijacija mijeloidnih prekursora. Riječ je o vrlo heterogenoj hematološkoj malignosti koja je posljedica različitih kromosomskih abnormalnosti, genskih mutacija te epigenetskih aberacija. Citogenetske abnormalnosti u AML-u uključuju uravnotežene i neuravnotežene translokacije, inverzije, delecije, monosomije, trisomije te složeni kariotip, koji predstavlja najmanje 3 stečene kromosomske aberacije. Citogenetski profil koristi se za raslojavanje bolesnika u povoljnu, srednju i nepovoljnu rizičnu skupinu. Genske mutacije u AML-u javljaju se unutar funkcionalnih kategorija kao što su kinazna signalizacija, tumorski supresori, transkripcijski čimbenici, prekrajanje RNA, kohezin, metilacija DNA te modifikatori kromatina. Prognoza AML-a promjenljiva je ovisno o kliničkim značajkama, kao i genetskim značajkama specifičnim za leukemiju, stoga se genetska karakterizacija određuje u vrijeme dijagnoze, za vrijeme potpune remisije te u relapsu. Genomska heterogenost i složenost unutar AML-a ne omogućuju samo preciznu dijagnozu i prognostičku klasifikaciju, nego, također, i raslojavanje rizika te primjenu personalizirane i ciljane terapije. Kako nova tehnologija napreduje, istraživat će se više mutacija gena, a razvijat će se i nove ciljne terapije koje će u bliskoj budućnosti koristiti većem broju pacijenata s AML-om.

Ključne riječi: akutna mijeloična leukemija, kromosomske abnormalnosti, genske mutacije, prognoza, terapija

SUMMARY

Marko Karlović

Clonal disorders of chromosomes and gene mutations in patients with acute myeloid leukemia

Acute myeloid leukemia (AML) is the most common acute leukemia in adults characterized by the proliferation and aberrant differentiation of myeloid precursors. It is a highly heterogeneous hematological malignancy resulting from various chromosomal abnormalities, gene mutations and epigenetic aberrations. Cytogenetic abnormalities in AML include balanced and unbalanced translocations, inversions, deletions, monosomies, trisomies, and complex karyotype representing at least 3 acquired chromosomal aberrations. Cytogenetic profile is used to stratify patients into favorable, intermediate and unfavorable risk group. Gene mutations in AML occur within functional categories such as kinase signaling, tumor suppressors, transcription factors, RNA splicing, cohesin, DNA methylation and chromatin modifiers. The prognosis of AML is variable, based on clinical features, as well as leukemia-specific genetic features. Therefore, genetic characterization is performed at the time of diagnosis, at the time of complete remission, and at the time of relapse. The genomic heterogeneity and complexity within AML not only provide a precise diagnosis and prognostic classification but also risk stratification and an implementation of a personalized and targeted therapy. As the new technology advances, more gene mutations will be explored and new targeted therapies will be developed and benefit more AML patients in the near future.

Key words: acute myeloid leukemia, chromosomal abnormalities, gene mutations, prognosis, therapy

1. UVOD

Akutna mijeloična leukemija (AML) skupina je heterogenih hematoloških bolesti koje karakterizira klonsko širenje mijeloidnih prekursora sa smanjenom sposobnošću diferencijacije. Predstavlja 15 do 20% slučajeva akutne leukemije u djece te oko 80% slučajeva u odraslih, što ju čini najčešćim oblikom akutne leukemije u odraslih (1). AML je posljedica različitih kromosomskih preslagivanja i genskih mutacija koje potiču proliferaciju i preživljavanje mijeloidnih prekursora, narušavaju procese diferencijacije i apoptoze te promiču epigenetsku modifikaciju (2). Široki spektar čimbenika rizika koji pridonose razvoju genetskih oštećenja uključuje izloženost visokim dozama zračenja, kroničnu izloženost visokim dozama benzena, kronično pušenje duhana, kemoterapijska sredstva te ostale rizične čimbenike koji različitim mehanizmima oštećuju staničnu DNA. Osim kao *de novo* malignost, AML može nastati i progresijom drugih klonskih poremećaja mijeloidnih prekursora, poput mijeloproliferativnih novotvorina (MPN) ili mijelodisplastičnog sindroma (MDS), kao rezultat stjecanja dodatnih mutacija (1). Znakovi i simptomi AML-a uglavnom su posljedica smanjenog broja eritrocita, trombocita i funkcionalnih leukocita, uzrokovanog infiltracijom koštane srži leukemijskim stanicama, a najčešće uključuju umor, krvarenje, vrućicu te infekcije. Leukemijska infiltracija drugih tkiva i organa uzrokuje hepatomegaliju, splenomegaliju te limfadenopatiju, a moguća je i zahvaćenost kože, gingiva te središnjega živčanog sustava (1,2). Dijagnoza AML-a temelji se na prisutnosti najmanje 20% blasta u punktatu koštane srži ili na razmazu periferne krvi, međutim, zbog detekcije kromosomskih preslagivanja i genskih mutacija, svi dijagnostički uzorci podvrgavaju se i dodatnim imunološkim, citogenetskim te molekularnim pretragama (1,3). Heterogenost u genetskim mehanizmima AML-a očituje se morfološkom varijabilnošću stanica koja, uz citogenetsko bojenje, čini osnovu za prvotno predloženu klasifikaciju francusko-američko-britanske (FAB) skupine. Ona razlikuje osam jedinstvenih podtipova AML-a (M0-M7), ali ne odražava uvijek genetsku i kliničku raznolikost bolesti, stoga je uvedena klasifikacija

Svjetske zdravstvene organizacije (WHO), koja se temelji na kliničkim, morfološkim, imunološkim, citogenetskim i molekularnim karakteristikama bolesti, a uključuje pet jedinstvenih podskupina AML-a: AML s rekurentnim genetskim abnormalnostima, AML s mijelodisplastičnim promjenama, AML povezan s terapijom, mijeloidni sarkom te mijeloidnu proliferaciju povezanu s Downovim sindromom. Slučajevi koji ne zadovoljavaju kriterije ovih podskupina klasificiraju se kao podskupina AML-a bez drugih osobitosti, koja se općenito temelji na FAB klasifikaciji (3). Stratifikacija rizika AML-a prema Europskoj leukemijskoj mreži (ELN) temelji se na citogenetskim obilježjima i statusu genskih mutacija, a omogućuje raslojavanje bolesnika u tri klase – klasu povoljne, srednje i nepovoljne prognoze (4). Liječenje AML-a uključuje početnu indukcijsku terapiju i postremisijsku terapiju. Cilj je indukcijske terapije postići kompletnu remisiju (CR), po mogućnosti bez minimalne rezidualne bolesti (MRD). Za sve bolesnike s AML-om koji su zdravstveno sposobni za podnošenje kemoterapije, okosnica terapije sastoji se od kontinuirane infuzije citarabina tijekom 7 dana s dodatkom antraciklina, tipično daunorubicina, svakodnevno tijekom prva 3 dana. Ova indukcijska terapija kolokvijalno je poznata kao „7 + 3“ režim, a ishodi su se dodatno poboljšali dodatkom različitih ciljanih lijekova. Cilj je postremisijske terapije spriječiti relaps bolesti. Dvije najčešće korištene strategije uključuju dodatnu citotoksičnu kemoterapiju, s ili bez ciljane terapije, te alogenu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica (allo-HSCT). Svi bolesnici s nepovoljnim rizikom te većina bolesnika sa srednjim rizikom zadovoljavaju kriterije za allo-HSCT, dok je u povoljnoj rizičnoj skupini indukcijska terapija praćena definitivnom konsolidacijskom terapijom s visokim dozama citarabina (HiDAC) (5). Unatoč tome, klinički ishodi bolesnika s AML-om liječenih ovim citotoksičnim lijekovima, nisu zadovoljavajući, čak ni u kombinaciji s allo-HSCT-om, čime se ističe hitna potreba za novim terapijskim opcijama sa svrhom poboljšanja ukupnog preživljenja (OS) (4). Ovaj diplomski rad posvećen je pregledu najrelevantnijih citogenetskih abnormalnosti i molekularnih alteracija u AML-u te njihovih kliničkih implikacija na preciznu dijagnozu, prognostičku klasifikaciju, stratifikaciju rizika te implementaciju ciljane i personalizirane terapije.

2. GENETSKE ABNORMALNOSTI U AML-U

U skladu s citogenetskom i molekularnom analizom, genetske aberacije u AML-u podijeljene su u tri kategorije: neslučajne kromosomske aberacije (uključujući balansirane translokacije, inverzije, delecije, monosomije i trisomije), zatim višestruke genske mutacije te, u konačnici, epigenetske alteracije. AML je posljedica najmanje triju velikih klasa genetskih aberacija. Prema modelu dvaju pogodaka, genetske promjene klase I aktiviraju puteve transdukcije signala te pojačavaju proliferaciju i preživljavanje krvotvornih matičnih stanica (HSC), a primjeri mutacija iz ove klase uključuju mutacije gena *FLT3*, *KIT*, *RAS* i dr. Genetske promjene klase II, kao sekundarne aberacije, reduciraju diferencijaciju i apoptozu HSC-a, a uključuju, između ostaloga, fuzije gena *RUNX1-RUNX1T1* i *PML-RARA* te mutacije gena *CEBPA* i *NPM1*. U konačnici, genetske promjene klase 0/III, poput mutacija gena *DNMT3A* ili *IDH1/2*, promiču epigenetsku modifikaciju kromatina, a mogu se pojaviti i prije genetskih promjena klase I (2,3).

2.1 AML S CITOGENETSKIM I KROMOSOMSKIM PRESLAGIVANJIMA

Neslučajne kromosomske aberacije uključuju citogenetske abnormalnosti prisutne u oko 50–60% novodijagnosticiranih bolesnika s AML-om koje su snažan prognostički čimbenik unutar WHO klasifikacije (1,6). Podjela AML-a s obzirom na citogenetske abnormalnosti uključuje AML s balansiranim translokacijama/inverzijama, zatim AML s raznim citogenetskim abnormalnostima (uključujući nebalansirane translokacije, delecije, monosomije i trisomije) te, u konačnici, AML s kompleksnim kariotipom (najmanje 3 stečene kromosomske aberacije). Gore navedene skupine citogenetskih abnormalnosti redom su klasificirane kao kategorija s povoljnom, srednjom te nepovoljnom prognozom (1,2).

2.1.1 AML S BALANSIRANIM KROMOSOMSKIM PRESLAGIVANJIMA

Balansirana kromosomska preslagivanja, odnosno balansirane translokacije ili inverzije, uključuju $inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)$, $t(8;21)(q22;q22)$,

$inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2)$, $t(6;9)(p23;q34)$, $t/inv(11q23)$, $t(15;17)(q24;q21)$ i dr.

Navedene aberacije nisu samostalno dostatne za indukciju AML-a, naime, za leukemogenezu su, uz balansirana kromosomska preslagivanja, nužne i sekundarne genetske aberacije (7,8).

Core-binding factor (CBF) leukemija određena je pericentričnom inverzijom $inv(16)(p13.1q22)$, manje čestom balansiranom translokacijom $t(16;16)(p13.1;q22)$ ili balansiranom translokacijom $t(8;21)(q22;q22.1)$, a dijagnoza AML-a postavlja se bez obzira na udio blasta u koštanoj srži (9).

Navedena preslagivanja ujedno su i najčešće aberacije pronađene u AML-u, naime, CBF-AML predstavlja 15-25% svih slučajeva AML-a (2). Fuzije gena *CBFβ-MYH11*, karakteristične za $inv(16)/t(16;16)$, kao i fuzije gena *RUNX1-RUNX1T1* u $t(8;21)$, zahvaćaju gene CBF kompleksa – glavnog regulatora hematopoeze temeljem kojega je i imenovana ova vrsta leukemije.

Normalni proteini CBF obitelji djeluju u obliku $RUNX1(CBFα)/CBFβ$ kompleksa koji regulira gensku ekspresiju, a nastaje heterodimerizacijom $RUNX1(CBFα)$ podjedinice, koja nakon vezanja za DNA djeluje kao transkripcijski faktor, te $CBFβ$ podjedinice, koja nema sposobnost vezanja za DNA, ali povećava afinitet $RUNX1(CBFα)$ podjedinice za to. Međutim, fuzijski proteini koji uključuju CBF, poput *RUNX1-RUNX1T1* ili *CBFβ--MYH11* proteina, natječu se s normalnim proteinima $RUNX1$ i $CBFβ$ za heterodimerizaciju i/ili vezanje za DNA, regrutiraju korepresore te inhibiraju ciljne tumor supresorske gene (1). CBF-AML povezuje se s povoljnom prognozom, a nakon indukcijske kemoterapije bazirane na kombinaciji antraciklina i citarabina oko 90% pacijenata postiže CR, nakon čega se preferiraju 3-4 ciklusa postremisijske HiDAC kemoterapije. Allo-HSCT u prvoj kompletnoj remisiji (CR1) uglavnom se ne primjenjuje u ovoj skupini bolesnika (9). Uz citogenetske aberacije, za točnu dijagnozu i ispravno liječenje CBF-AML-a potrebno je razmotriti i mutacije specifičnih gena poput *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA*, *RAN*, *KIT* i

RAS mutacija, koje različito utječu na prognozu CBF-AML-a. Primjerice, supostojanje *FLT3* ili *KIT* mutacija povezano je s nepovoljnom prognozom (2,9). Dodatno, stupanj redukcije *CBFβ-MYH11/RUNX1-RUNX1T1* transkripata važan je prognostički faktor koji korelira s razinom MRD-a (9).

AML s *inv(16)(p13.1q22)/t(16;16)(p13.1;q22)(CBFβ-MYH11, CBF)*

Inverzija *inv(16)(p13.1q22)* zabilježena je u oko 8% slučajeva AML-a te rezultira nastankom onkogenog *CBFβ-MYH11* (engl. *core binding factor beta-smooth muscle myosin heavy chain 11*) čiji onkoproteinski produkt pripada CBF proteinskoj obitelji (6). Fuzijski protein *CBFβ-MYH11* nakon heterodimerizacije s *RUNX1(CBFα)* proteinom stječe leukemogene učinke potiskivanjem transkripcije tumor supresorskih gena poput *PTEN, BCL-2, CEBPA, ARF* i *PSGL-1* gena (2). Sekundarne mutacije često zahvaćaju *KIT* gen. Incidencija *inv(16)/t(16;16)* viša je u odraslih nego u pedijatrijskih bolesnika s AML-om, dok se navedena preslagivanja povezuju s povoljnom prognozom, dobrim odgovorom na konvencionalnu kemoterapiju, temeljenu na kombinaciji antraciklina i citarabina, te potpunim remisijama. Fenotipski se *inv(16)(p13.1q22)* povezuje s akutnom mijelomonocitnom leukemijom s eozinofilijom (M4Eo podtip FAB klasifikacije) (1,7).

AML s *t(8;21)(q22;q22)(AML1/RUNX1-ETO/RUNX1T1, CBF)*

Recipročna translokacija *t(8;21)(q22;q22)* rezultira fuzijom gena *RUNX1-RUNX1T1(AML1-ETO)* te nastankom istoimenog fuzijskog onkoproteina. *RUNX1(AML1)* protein transkripcijski je faktor koji pripada CBF proteinskoj obitelji, dok *RUNX1T1(ETO)* gen kodira protein s aktivnošću transkripcijskog represora (6,10). *c-KIT* mutacije često se pojavljuju kao sekundarne aberacije te predstavljaju nezavisan biomarker nepovoljne prognoze u ovoj skupini

bolesnika. Fenotipski se t(8;21)(q22;q22) predominantno povezuje s AML-om sa sazrijevanjem (M2 podtip FAB klasifikacije), a najvišu incidenciju ima u dječjoj dobi (1,2). Translokacija t(8;21) povezuje se s relativno povoljnom prognozom, a praćena je visokom stopom remisije, dugim medijanom preživljenja te dobrim odgovorom na konvencionalnu kemoterapiju baziranu na kombinaciji antraciklina i citarabina. Odraslima se preporučuju i 3-4 ciklusa intenzivne postremisijske kemoterapije temeljene na HiDAC-u (1,7).

AML s inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21.3;q26.2)(GATA2, MECOM)

Akutna mijeloična leukemija s inv(3)/t(3;3) obuhvaća 1-2% slučajeva AML-a, a pojavljuje se uglavnom u odraslih bolesnika (11). Spomenutim preslagivanjima zahvaćen je *EVI1(MECOM)* gen čiji je produkt epigenetski modifikator sa sposobnošću utišavanja te aktivacije određenih gena, a navedeni učinci postižu se djelovanjem na transkripcijske faktore poput GATA2, PBX1 i PLM, čime se regulira samoobnova HSC-a (1). Također, inv(3)/t(3;3) repositionira i GATA2 pojačivač koji potom aktivira ekspresiju *EVI1(MECOM)* gena, posljedica čega je povećana proliferacija i zastoj stanične diferencijacije te leukemijska preobrazba. U 98% slučajeva AML-a s inv(3)/t(3;3) prisutne su i mutacije gena uključenih u RAS/RTK signalne puteve, što može biti podloga za primjenu ciljane terapije, a česte su i mutacije *GATA2*, *RUNX1* i *SF3B1* gena te gena koji kodiraju epigenetske modifikatore (1,12). AML s inv(3)/t(3;3) često se prezentira kao AML bez sazrijevanja (podtip M1 FAB klasifikacije), akutna mijelomonocitna leukemija (M4) te akutna megakarioblastična leukemija (M7) (1). AML s inv(3)/t(3;3) povezuje se s nepovoljnom prognozom i kratkim preživljenjem, a trenutno ne postoji specifična terapija ove visoko rizične bolesti – tek jedna trećina pacijenata postiže CR unatoč intenzivnoj indukcijskoj kemoterapiji (11).

AML s t(6;9)(p23;q34)(DEK-NUP214)

Balansirana translokacija t(6;9) prisutna je u samo 1-2% slučajeva AML-a, a povezuje se s nepovoljnom prognozom u odraslih, kao i u pedijatrijskih bolesnika s AML-om. Rezultira nastankom fuzijskog gena *DEK-NUP214* čiji proteinski produkt djeluje kao aberantni transkripcijski faktor – izmjenjuje nuklearni transport vezanjem topivih transportnih čimbenika te pojačava sintezu proteina u mijeloidnim stanicama. U oko 90% bolesnika s AML-om s t(6;9) prisutne su i *FLT3*-ITD mutacije, čiji je utjecaj na prognozu bolesti kontroverzan, dok se sekundarne citogenetske aberacije pojavljuju u približno 20% slučajeva (9,13). AML s t(6;9) uglavnom se prezentira kao AML sa sazrijevanjem (podtip M2 FAB klasifikacije) ili kao akutna mijelomonocitna leukemija (M4) (1). Allo-HSCT poboljšava preživljenje ako se primijeni rano tijekom CR1 te može nadvladati nepovoljni utjecaj translokacije t(6;9) u bolesnika s AML-om (13).

AML s 11q23 translokacijama, delecijama i duplikacijama (*MLL* mutacije)

Hematopoetske matične stanice sveprisutno izražavaju histonsku metiltransferazu *MLL* (engl. *mixed-lineage leukemia*) – glavni regulator hematopoeze s DNA-vezujućom aktivnošću, koji regulira ekspresiju *HOX* gena (1,6). Gen *MLL* lociran je na kromosomu 11 na poziciji 11q23, a njegova preslagivanja uključuju translokacije, delecije i duplikacije koje najčešće rezultiraju fuzijom gena *MLL* te drugih partnerskih gena (10,14). Fuzijski proteini koji uključuju *MLL* nalaze se u jezgri HSC-a gdje pojačavaju transkripciju *HOX* gena, poput *HOXA9* ili *HOXA10* gena, dovodeći do proliferacije stanica i reaktivacije sposobnosti samoobnove (1,2). Učestalost preslagivanja *MLL* gena oko 4 je puta veća u djece u odnosu na odrasle bolesnike s AML-om, a navedena preslagivanja pojavljuju se u 5-10% slučajeva AML-a, uglavnom kao sekundarni događaj ili u sklopu leukemije povezane s terapijom, osobito terapijom inhibitorima

topoizomeraze II (15). Fuzija gena *MLL* s partnerskim genima, poput *AF4*, *AF9*, *ENL*, *AF10* ili *ELL* gena, zabilježena je u mnogim translokacijama s leukemogenim učincima. Tako je fuzija gena *MLL* i *AF6* zabilježena u translokaciji t(6;11)(q27;q23), fuzija gena *MLL* i *AF9* u translokaciji t(9;11)(p22;q23), fuzija gena *MLL* i *AF10/MLLT10* u translokaciji t(10;11)(p12;q23), a fuzija gena *MLL* i *ELN* u translokaciji t(11;19)(q23;p13.3) (7,10). Fuzijski gen *MLL-AF9*, prisutan kod translokacije t(9;11)(p22;q23), najčešća je aberacija u AML-u s preslagivanjima *MLL* gena, a obično je povezan s akutnom monocitnom leukemijom (podtip M5 FAB klasifikacije) te akutnom mijelomonocitnom leukemijom (M4) (1). Preslagivanja na poziciji 11q23 povezuju se sa srednjom do nepovoljnom prognozom, koja uglavnom ovisi o partnerskim genetskim aberacijama, te sa srednjim odgovorom na konvencionalnu indukcijsku kemoterapiju baziranu na kombinaciji antraciklina i citarabina, nakon koje slijedi 1-2 ciklusa konsolidacijske kemoterapije bazirane na HiDAC-u te, u konačnici, allo-HSCT (7,10). Istraživanja pokazuju kako je ključni medijator AML-a s *MLL* preslagivanjima upravo histonska metiltransferaza DOTIL koja bi mogla postati značajnom terapijskom metom, zbog čega se dodatni napori ulažu u razvoj DOTIL inhibitora (9).

AML s t(15;17)(q24;q21)(*PML-RARA*)

Akutna promijelocitna leukemija (APL, podtip M3 FAB klasifikacije) obuhvaća 10-15% slučajeva AML-a, a određena je balansiranom translokacijom t(15;17)(q24;q21), koja rezultira fuzijom *RARα* gena na kromosomu 17 te *PML* gena na kromosomu 15, pri čemu nastaje *PML-RARα* (engl. *promyelocytic leukemia-retinoic acid receptor alpha*) onkogen. Translokacija t(15;17)(q24;q21) i onkoprotein *PML-RARα* prisutni su u oko 98% svih slučajeva APL-a te su stoga dobar marker za ovu vrstu leukemije, a spomenuto preslagivanje dostatno je za dijagnozu AML-a bez obzira na udio blasta u koštanoj srži kod dijagnoze (2,9). U normalnim stanicama nuklearni receptor retinoične kiseline (*RARα*) s retinoidnim X receptorom (*RXRα*) tvori *RAR-*

RXR heterodimer koji se veže za DNA elemente odgovora na retinoičnu kiselinu (*RARE*) u promotorima mnogih gena. RAR-RXR heterodimer se u odsutnosti retinoične kiseline ponaša kao transkripcijski represor koji regrutira korepresore te na taj način utišava mnoge promotore. Međutim, u prisutnosti retinoične kiseline događaju se konformacijske promjene RAR-RXR heterodimera koje uzrokuju disocijaciju korepresora te transkripcijsku aktivaciju gena potrebnih za diferencijaciju promijelocita. U APL-u se fuzijski protein PML-RARA natječe s RAR α u tvorbi heterodimera s RXR α , a zatim potiskuje transkripciju održavajući stabilniju interakciju s korepresorskim kompleksom, čime je onemogućena diferencijacija promijelocita. Sekundarne mutacije uglavnom uključuju mutacije *FLT3* gena (1,2). Prisutnost *PML-RAR α* onkogen prediktor je povoljnog odgovora na terapiju kombinacijom arsenovog trioksida i all-trans retinoične kiseline (ATRA), koja je postala standardnom prvom linijom liječenja i u odraslih i u djece s ovom vrstom leukemije, naime, navedenom terapijom postiže se 100%-tni CR te 97%-tno dvogodišnje preživljenje bez događaja (EFS) (10). ATRA u farmakološkim koncentracijama reaktivira transkripciju inducirajući disocijaciju korepresora od PML-RAR α kompleksa, omogućujući premoštenje diferencijacijskog bloka te pretvorbu nezrelih leukemijskih promijelocita u zrele granulocite (6,15).

AML s t(9;22)(q34;q11)(*BCR-ABL1*)

Akutna mijeloična leukemija s fuzijskim onkogenom *BCR-ABL1* obuhvaća <1% slučajeva AML-a, a u trenutnu WHO klasifikaciju uključena je kao privremeni entitet. Posljedica je balansirane translokacije t(9;22)(q34;q11) (2,9). *ABL1* protoonkogen kodira tirozinsku kinazu i lociran je na kromosomu 9, a njegove sekvence u t(9;22) stapaju se sa sekvencama *BCR* gena na kromosomu 22 – rezultat je trajna aktivacija tirozinske kinaze s leukemogenim učinkom. Posljedično spomenutoj translokaciji nastaje Philadelphia (Ph) kromosom, koji se obično pojavljuje u sklopu kronične mijeloične leukemije (CML), ali i u akutnoj limfoblastičnoj leukemiji

(ALL). Bolesnici s Ph kromosomom uglavnom su adolescenti ili mlade odrasle osobe, s često povišenim brojem leukocita te bolešću središnjega živčanog sustava (7,10). U mnogim slučajevima nejasna je razlika između *de novo* AML-a s fuzijskim onkogenom *BCR-ABL1* te CML-a u blastičnoj krizi, međutim, delecija gena za teški lanac imunoglobulina ili gena za T-stanični receptor, zatim delecija *IKZF1* i/ili *CDKN2A* gena, podupiru AML kao vjerojatniju dijagnozu. Prognoza AML-a s fuzijskim onkogenom *BCR-ABL1* nepovoljna je i uglavnom ovisi o citogenetskoj i molekularnoj podlozi, a manje o samoj prisutnosti *BCR-ABL1* (16). Iako se liječenje inhibitorima tirozinske kinaze (TKI), poput imatiniba, dasatiniba ili nilotiniba, ne može preporučiti kao terapija prve linije, zbog nedostatka kliničkih podataka, ipak se TKI mogu kombinirati s intenzivnom kemoterapijom i/ili primijeniti kao most do allo-HSCT-a (9).

AML s t(1;22)(p13;q13)(*OTT-MAL*)

Fuzijski gen *OTT-MAL(RBM15-MKL1)* posljedica je translokacije t(1;22)(p13.3;q13.1), koja se fenotipski povezuje s akutnom megakarioblastičnom leukemijom (podtip M7 FAB klasifikacije) (1). Spomenuta translokacija karakteristična je za dječju dob, a rijetko se pojavljuje u odraslih pacijenata (2). Translokacija t(1;22) uglavnom se pojavljuje izolirano te rezultira nastankom *OTT-MAL(RBM15-MKL1)* fuzijskog gena, koji je najvjerojatnije uključen u modulaciju organizacije kromatina, diferencijaciju induciranu *HOX* genima te izvanstanične signalizacijske puteve (1). Povezuje se i s Downovim sindromom, a zabilježeni su i kongenitalni slučajevi. Podatci o prognostičkom utjecaju translokacije t(1;22) kontradiktorni su, naime, određena istraživanja pokazuju dobar odgovor pedijatrijskih pacijenata sa spomenutom translokacijom na intenzivnu kemoterapiju, dok druga istraživanja povezuju ovaj entitet s visokim rizikom i niskim preživljenjem (9). U akutnoj megakarioblastičnoj leukemiji koja nije povezana s Downovim sindromom, uz *OTT-MAL(RBM15-MKL1)*, zabilježeni su i brojni drugi onkogeni poput

CBFA2T3-GLIS2, *MLL* i *NUP98-KDM5A*, koji se povezuju s nepovoljnom prognozom. Stoga se bolesnici u kojih su ovi geni eksprimirani smatraju kandidatima za allo-HSCT (17).

AML s balansiranom t(12;22)(TEL-MN1)

Protoonkogen *MN1* (engl. *meningioma 1*) nalazi se na kromosomu 22 te može biti zahvaćen balansiranom translokacijom t(12;22). Spomenuta translokacija rezultira nastankom fuzijskog proteina *TEL-MN1* koji potiče proliferaciju i zaustavlja diferencijaciju HSC-a. Razina ekspresije gena *MN1* prediktivni je marker u liječenju AML-a jer visoka razina ekspresije korelira s rezistencijom na ATRA liječenje, što je osobito važno u starijih pacijenata (2,14).

2.1.2 AML S RAZNIM CITOGENETSKIM ABNORMALNOSTIMA

Akutna mijeloična leukemija s raznim citogenetskim abnormalnostima uključuje nebalansirane translokacije, monosomije poput monosomije 7, zatim delecije dijelova ili cijelih kromosoma 5 ili 7 te, u konačnici, trisomije poput trisomije 8,11,13 ili 21 (10,18). Najčešće trisomije u *de novo* AML-u obuhvaćaju trisomiju 8, 22,13, 21 i 11 (7). Spomenute kromosomske abnormalnosti predstavljaju alteracije klase I, dok se *CEBPA* i *NPM1* mutacije u ovoj vrsti AML-a pojavljuju kao alteracije klase II (6,8).

AML s monosomijom 7

Monosomija 7 jedna je od najčešćih kromosomskih aberacija u bolesnika s AML-om, u kojih se povezuje s nepovoljnom prognozom. Predstavlja alteraciju klase I, a često je superponirana na Ph kromosom u CML-u te u raznim predisponirajućim poremećajima u kojima se razvija AML (2).

AML s trisomijom 8

Trisomija 8 također je jedna od najčešćih citogenetskih alteracija u AML-u, a povezuje se s izrazitom kliničkom heterogenošću te srednjom do nepovoljnom prognozom. Rezultira amplifikacijom protoonkogenih značajnih za leukemogenezu, poput *c-myc*, *c-mos* i *ETO* protoonkogenih (2,19).

AML s trisomijom 11

Trisomija 11 rijetka je citogenetska abnormalnost sa srednjom do nepovoljnom prognozom koja se fenotipski povezuje s AML-om bez sazrijevanja (M1 podtip FAB klasifikacije). Predstavlja alteraciju klase I povezanu s proliferacijom i staničnim preživljavanjem klona. Na kromosomu 11 locirani su protoonkogeni poput *Cyclin D1*, *MLL* i *WT1* protoonkogenih, stoga trisomija 11 često rezultira porastom njihove produkcije, a slučajevi MDS-a s trisomijom 11 pokazuju visok rizik progresije u AML (7,10).

AML s trisomijom 13

Trisomija 13 također je rijetka kromosomska abnormalnost karakterizirana nepovoljnom prognozom. Predstavlja alteraciju klase I povezanu s amplifikacijom i prekomjernom ekspresijom protoonkogenih *FOX* i *FLT3* kao potencijalnim mehanizmom leukemogeneze. Fenotipski se povezuje s minimalno diferenciranim AML-om (M0 podtip FAB klasifikacije), a *RUNX1* mutacije te mutacije gena za splicing faktore pojavljuju se s vrlo visokom učestalošću (80-100%) u ovoj skupini bolesnika (8,20).

2.1.3 AML S KOMPLEKSNIM KARIOTIPIKOM

Akutna mijeloična leukemija s kompleksnim kariotipom, odnosno sekundarnim citogenetskim aberacijama, čini prognostički najnepovoljniju skupinu bolesnika s AML-om. Uključuje sve slučajeve AML-a bez balansiranih kromosomskih preslagivanja, poput t(8:21), inv(16)/t(16;16) ili t(15;17), ali s najmanje 3 stečene kromosomske aberacije. Obuhvaća 10-12% slučajeva AML-a, a njegova učestalost povećava se s dobi. Moguća je i pojava mutacija *NPM1*, *FLT3*, *CEBPA*, *RAS* i *KIT* gena, dok su monosomije povezane s posebno lošom prognozom (2,18). Mutacije *TP53* gena te gubitak funkcije p53 proteina prisutni su u oko 2/3 slučajeva AML-a s kompleksnim kariotipom, stoga se smatraju glavnim mehanizmom nastanka genske nestabilnosti u ovoj vrsti AML-a, dok ostali česti mehanizmi uključuju delecije i amplifikacije gena, poput delecije *RPS14* gena ili amplifikacije protoonkogena *ETS* genske obitelji (2,8). Česte citogenetske aberacije u AML bolesnika s kompleksnim kariotipom uključuju inv(11), t(7;11), t(5;11), abn(21q) i del(7q) (2).

AML s inv(11)(p15.5;q31)/t(7;11)(p15;p15.5)/t(5;11)(q35;p15.5)(*NUP98*)

Gen *NUP98* (engl. *nucleoporin 98*) lociran je na poziciji 11p15.5, a njegova preslagivanja uključuju inv(11)(p15.5;q31), t(7;11)(p15;p15.5) i t(5;11)(q35;p15.5). U navedenim preslagivanjima gen *NUP98* fuzioniran je s genom iz grupe *HOX* ili non-*HOX* partnerskih gena. Primjerice, rijetka translokacija t(7;11)(p15;p15.5) izaziva fuziju *NUP98* i *HOXA9* gena, dok inverzija inv(11)(p15.5;q31), koja se češće pojavljuje u AML-u povezanom s terapijom (t-AML), rezultira fuzijom *NUP98* i *DDX10* gena. Delecija 5q, povezana s t(5;11)(q35;p15.5), također remeti *NUP98* gen, a često se pojavljuje u pedijatrijskom AML-u. Incidencija preslagivanja gena *NUP98* općenito je niska u djece s AML-om, u kojih se inače povezuje s nepovoljnom prognozom (10,21).

AML s rekurentnom amplifikacijom 21q (prekomjerna ekspresija *EST2/ERG*)

Gen *ERG* (engl. *ETS-related gene*) lociran je na poziciji 21q22 te pripada *ETS* genskoj obitelji, čiji su članovi uključeni u prijenos signala u putevima koji potiču staničnu proliferaciju. Gen *ERG* često je amplificiran u bolesnika s AML-om s kompleksnim kariotipom, što rezultira njegovom prekomjernom ekspresijom te agresivnim malignim fenotipom. Također, visoka ekspresija *ERG* gena u prisutnosti *MLL*-PTD prediktor je nepovoljne prognoze (7).

AML s monosomijom 7 i delecijom 7q

Akutna mijeloična leukemija s monosomijom 7 i delecijom 7q obuhvaća 5-7% slučajeva AML-a, a povezuje se s nepovoljnom prognozom. Često nastaje sekundarno kao posljedica brojnih stanja karakteriziranih delecijom 7q kao jedinom citogenetskom abnormalnosti, poput MDS-a, Fanconijeve anemije, kongenitalne neutropenije ili neurofibromatoze. Regije 7q22 i 7q32-q35 sadrže tumor supresorski gen koji kontrolira mijeloidni rast i diferencijaciju pa njihov gubitak uslijed balansiranih preslagivanja kromosoma 7 rezultira leukemijskom transformacijom (10,18).

2.2 AML S NORMALNIM KARIOTIPOM I GENSKIM MUTACIJAMA

Citogenetski normalni AML (CN-AML) s genskim mutacijama velika je podskupina AML-a koja obuhvaća 40-50% odraslih te oko 25% djece s AML-om. AML s normalnim kariotipom povezuje se sa srednjim rizikom te petogodišnjim preživljenjem između 24% i 42%. U CN-AML-u zabilježene su mutacije specifičnih gena, poput *NPM1*, *FLT3*, *CEBPA*, *MLL*, *NRAS*, *WT1* i *RUNX1* gena. Iako su mutacije ovih gena najčešće u CN-AML-u, također se pojavljuju i u AML-u s abnormalnim kariotipom kao sekundarne abnormalnosti (2).

2.2.1 AML S MUTACIJAMA NUKLEOFOSMINA

AML s mutacijama *NPM1* gena

Gen *NPM1* (engl. *nucleophosmine 1*) kodira nukleofosmin, fosfoprotein koji sudjeluje u brojnim staničnim procesima poput sinteze i transporta ribosoma, održavanja genomske stabilnosti i popravka DNA, udvostručenja centrosoma, regulacije DNA transkripcije te regulacije ARF-p53 tumor supresorskog puta, a ima i ulogu histonskog šaperona. Nalazi se uglavnom u jezgri, iako brzo migrira između jezgre i citoplazme (1). *NPM1* mutacije imaju leukemogene učinke, a pojavljuju se gotovo isključivo unutar egzona 12. Prisutne su u otprilike jedne trećine odraslih pacijenata s AML-om te u polovici slučajeva CN-AML-a (22). Uzrokuju aberantnu lokalizaciju nukleofosmina u citoplazmi zbog promjena C-terminalnoga kraja proteina, koji je inače važan za lokalizaciju u jezgri, a incidencija *NPM1* mutacija viša je u odraslih u odnosu na djecu s AML-om (1,23). Fenotipski se *NPM1* mutacije povezuju s akutnom monocitnom i akutnom mijelomonocitnom leukemijom, odnosno M5 i M4 podtipom FAB klasifikacije, a smatraju se jednom od tri najčešće mutacije u AML-u, uz *DNMT3A* i *FLT3* mutacije. Karakterizira ih stabilnost u tijeku bolesti (1,22). U AML-u s *NPM1* mutacijama često se nalaze i mutacije poput *DNMT3A*, *FLT3-ITD*, *NRAS*, *TET2* te *PTPN11* mutacija, među kojima se *NPM1* mutacije smatraju sekundarnim mutacijama, dok se *DNMT3A*, *ASXL1*, *IDH1/2* i *TET2* mutacije pojavljuju vrlo rano tijekom leukemogeneze (24). *NPM1* mutacije međusobno su isključive s *RUNX1*, *CEPBA* i *TP53* mutacijama, ali i s tandemom *FLT3-ITD* i *MLL* mutacija (1,25). Nekoliko istraživanja pokazalo je kako prognostički značaj *NPM1* mutacija ovisi o supostojanju *FLT3-ITD* mutacija, naime, AML s *NPM1* mutacijama, a bez *FLT3-ITD* mutacija, povezuje se s nižim rizikom od relapsa i smrti te boljim kliničkim ishodima, dok se allo-HSCT nije pokazao korisnim u ovoj skupini pacijenata (26). U pacijenata s *NPM1* mutacijama i visokim *FLT3-ITD* alelnim omjerom (≥ 0.5) izostaje povoljan prognostički utjecaj *NPM1* mutacija, za razliku od pacijenata s *NPM1* mutacijama i niskim *FLT3-ITD* alelnim omjerom (< 0.5), koji imaju povoljnije prognostičke

ishode (11). Čak i pacijenti s *NPM1* mutacijama i visokim alelnim omjerom *FLT3*-ITD mutacija, inače svrstani u skupinu sa srednjim rizikom, imaju bolju prognozu u odnosu na one s izoliranim *FLT3*-ITD mutacijama (27). Nedavna istraživanja pokazuju kako se za optimalnu terapiju AML-a, uz *NPM1* i *FLT3*-ITD mutacije, u obzir moraju uzeti i *DNMT3A* mutacije (28). Naime, *DNMT3A* mutacije povezuju se s lošijim OS-om u CN-AML-u s *NPM1* mutacijama bez *FLT3*-ITD mutacija, zbog čega se u toj skupini pacijenata smatraju nepovoljnim prognostičkim čimbenikom. AML sa supostojanjem *NPM1*, *DNMT3A* i *FLT*-ITD mutacija povezuje se s najgorom prognozom te zahtjeva konsolidacijsku terapiju allo-HSCT-om. Istraživanja provedena u skupini bolesnika s AML-om s *NPM1* mutacijama bez *FLT3*-ITD mutacija pokazala su proturječne rezultate vezane uz prognostički utjecaj supostojanja *TET2* ili *IDH1/2* mutacija, dok prisutnost *NRAS* mutacija nema prognostički utjecaj u ovoj skupini pacijenata (24). Odnedavno su *NPM1* mutacije u prisustvu *RAD21* ili *NRAS*-G12/13 mutacija povezane s izrazito povoljnim ishodima, a prisutnost fuzijskog gena *NPM-MLF1*, nastalog posljedično translokaciji t(3;5)(q25;q34), povezuje se s lošim kliničkim ishodima (29,30). *NPM1* mutacije povezuju se s osjetljivošću na nove lijekove poput venetoklaksa, a istraživanja provedena među pacijentima s AML-om s *NPM1* mutacijama pokazala su viši medijan OS-a u skupini liječenoj visokim dozama daunorubicina u odnosu na skupinu liječenu standardnim dozama daunorubicina (31,32). Neka istraživanja sugeriraju aktivnost ATRA i aktinomicina D u liječenju AML-a s *NPM1* mutacijama (33,34). *NPM1* mutacije pouzdan su marker za detekciju MRD-a s visokom osjetljivošću, pri čemu se QRT-PCR-om kvantificiraju mutirani transkripti te procjenjuje prisutnost MRD-a, a samim time i rizik od relapsa nakon kemoterapije (2,9).

2.2.2 AML S MUTACIJAMA SIGNALNIH I KINAZNIH PUTEVA

Mutacije gena ključnih za signalizaciju i kinazne puteve, koje rezultiraju aberantnom aktivacijom staničnih signalnih puteva i proliferacijom HSC-a, uključuju mutacije *FLT3*, *KRAS*, *NRAS*, *PTPN11*, *NF1* i *KIT* gena te su zabilježene u približno dvije trećine slučajeva AML-a (27).

AML s mutacijama *FLT3* gena

Genske mutacije tirozin-kinaznog receptora *FLT3* (engl. *FMS-like tyrosine kinase 3*) među najčešćima su u pacijenata s AML-om, a prisutne su u oko 30% slučajeva. Među njima razlikujemo češća interna dupliciranja tandema (ITD), koja se pojavljuju u jukstamembranskoj domeni receptora u oko 25% slučajeva AML-a, te rjeđe točkaste mutacije tirozin-kinazne domene (TKD), prisutne u oko 7% slučajeva AML-a (25,30). *FLT3* gen regulira različite stanične procese, poput proliferacije, diferencijacije i apoptoze, a oba tipa mutacija *FLT3* gena rezultiraju konstitutivnom aktivnošću *FLT3* receptora, pri čemu su aktivirani RAS, MAPK, STAT5 i PI3K signalni putevi s posljedičnom proliferacijom blasta (1,2). *FLT3*-ITD mutacije najčešće su u mlađih pacijenata, do 60 godina, a povezuju se s normalnim kariotipom, *NPM1* i *DNMT3A* mutacijama te s citogenetskim abnormalnostima poput t(15;17)(q22;q12)(*PML-RARA*) i t(6;9)(p23;q34)(*DEK-NUP214*) (1,22). Fenotipski se minimalna razina ekspresije *FLT3* gena povezuje s akutnom promijelocitnom leukemijom (M3 podtip FAB klasifikacije), a maksimalna s akutnom monocitnom leukemijom (M5) (2). *FLT3*-TKD mutacije nemaju jasnu prognostičku vrijednost, dok se *FLT3*-ITD mutacije povezuju s nepovoljnim ishodima, visokom stopom relapsa te smanjenim OS-om, međutim, za optimalno predviđanje prognoze, uz *FLT3*-ITD mutacije, u obzir se moraju uzeti i *FLT3*-ITD alelni omjer te supostojanje *NPM1* mutacija (1,22). Naime, niski *FLT3*-ITD alelni omjer (<0.5), posebice u prisustvu *NPM1* mutacija, povezuje se s

povoljnijim ishodima, a osobito nepovoljnu prognostičku podskupinu čine pacijenti s visokim *FLT3*-ITD alelnim omjerom (≥ 0.5) i/ili odsutnošću *NPM1* mutacija (4,22). Oni se liječe allo-HSCT-om u CR1, što se povezuje s nižim rizikom od relapsa. Pacijenti s *NPM1* mutacijama bez *FLT3*-ITD mutacija ili uz niski *FLT3*-ITD alelni omjer rutinski se ne liječe allo-HSCT-om u CR1 (4,9). Najnepovoljniji ishodi zabilježeni su u pacijenata sa supostojanjem *FLT3*-ITD i *DNMT3A* mutacija, koji su također kandidati za allo-HSCT (30). Utjecaj duljine ITD duplikacija na ishod bolesti još je uvijek nejasan, naime, određena istraživanja sugeriraju kako duljina ITD duplikacija nema utjecaj na prognozu, jedno istraživanje povezuje kraće ITD duplikacije s nepovoljnom prognozom, dok većina istraživanja povezuje dulje ITD duplikacije s nepovoljnom prognozom (9). Inhibitori FLT3 receptora značajno su popravili prognozu u pacijenata s AML-om s *FLT3* mutacijama, a ispitani su u novodijagnosticiranim slučajevima AML-a s *FLT3* mutacijama u kombinaciji s indukcijskom i konsolidacijskom kemoterapijom kao prva linija liječenja (9,27). *FLT3*-ITD alelni omjer, kao i duljina ITD-a, indikatori su ishoda bolesti i odgovora na FLT3 inhibitore (30). S obzirom na specifičnost za FLT3 receptore razlikujemo prvu i drugu generaciju FLT3 inhibitora. Prvoj generaciji pripadaju pan-kinazni inhibitori poput midostaurina, sorafeniba i lestaurtiniba, dok druga generacija uključuje selektivnije i potentnije lijekove poput kvizartiniba, krenolaniba i gliteritiniba (35). Kvizartinib i sorafenib inhibiraju samo FLT3-ITD receptore, dok krenolanib, gliteritinib i midostaurin inhibiraju i FLT3-ITD i FLT3-TDK receptore (27). Midostaurin osigurava značajno dulji OS bez obzira na *FLT3* mutacijski status (ITD ili TDK) ili *FLT3*-ITD alelni omjer (9). Međutim, u pacijenata s AML-om s *FLT3* mutacijama i dalje je prisutna visoka stopa relapsa, unatoč liječenju allo-HSCT-om te primjeni FLT3 inhibitora (23). *FLT3*-ITD mutacije nisu pouzdan marker za detekciju MRD-a (9).

AML s mutacijama *RAS* gena

Protoonkogeni *RAS* kodiraju obitelj G proteina udruženih s membranom koji reguliraju prijenos signala nakon vezanja liganda na različite citokinske receptore, a uključeni su u signalne, puteve poput *RAS/RAF/MEK/ERK* signalnih puteva, koji potiču proliferaciju i preživljavanje HSC-a (2,22). Sva tri funkcionalna *RAS* gena, dakle *NRAS*, *HRAS* i *KRAS*, mogu biti zahvaćeni transformirajućim mutacijama u kodonima 12/13/61 koje rezultiraju konstitutivnom aktivnošću *RAS* proteina (2). *NRAS* mutacije prisutne su u 8-12% slučajeva AML-a, s podjednakom učestalošću u odraslih i u djece, dok su *KRAS* mutacije zabilježene u 2-5% slučajeva AML-a, s višom učestalošću u odraslih (4,23). Također, mutacije *RAS* protoonkogeni najčešće su mutacije u CBF-AML-u, u kojem se povezuju s nepovoljnim ishodima, a *NRAS* mutacije prisutne su u oko 45% slučajeva CBF-AML-a (2). *RAS* mutacije uz prisutne *NPM1* ili *DNMT3A* mutacije povezuju se s povoljnijim ishodima, uz minimalnu prognostičku važnost ostalih supostojećih mutacija (28). Prisutnost *RAS* mutacija ima važan utjecaj na donošenje odluka o terapiji AML-a, s obzirom da AML s *RAS* mutacijama pokazuje dobar odgovor na postremisijsku terapiju HiDAC-om te posljedično smanjenje stope relapsa (2,4). Razvoj ciljne terapije za AML s *RAS* mutacijama, koja uključuje MEK, ERK, PI3K i mTOR inhibitore, kompliciran je brzim razvojem rezistencije te aktivacijom zaobilaznih signalnih puteva u slučaju primjene jednoga lijeka (22).

AML s mutacijama *KIT* gena

Protoonkogen *KIT* (engl. *proto-oncogene receptor tyrosine kinase*) kodira receptor faktora matičnih stanica (SCFR), poznat i kao klaster diferencijacije 117 (CD117), koji pripada obitelji tirozinskih kinaza uključenih u regulaciju preživljavanja te proliferacije HSC-s (4,23). *KIT* mutacije zabilježene su u oko 25% slučajeva CBF-AML-a, definiranog prisutnošću t(8;21) ili

inv(16)/t(16;16), dok su u ostalim tipovima AML-a rijetko prisutne (4,27). Češće su u djece nego u odraslih s AML-om, a najčešće zahvaćaju egzone 8 i 17 *KIT* protoonkogena. Nekoliko je istraživanja potvrdilo kako AML s t(8;21) u slučaju supostojanja *KIT* mutacija ima povišenu stopu relapsa te smanjen OS, posebice u slučaju mutacija u egzonu 17, dok prognostički utjecaj *KIT* mutacija u AML-u s inv(16)/t(16;16) nije u potpunosti jasan (4,36). Istraživanja pokazuju kako dodavanje midostaurina ili dasatiniba, multikinaznih inhibitora s aktivnošću protiv *KIT* mutacija, u kemoterapiju poboljšava prognozu pacijenata s CBF-AML-om s *KIT* mutacijama. HiDAC se također pokazao korisnim u ovoj skupini pacijenata (27).

2.2.3 AML S MUTACIJAMA TRANSKRIPCISKIH FAKTORA

Mutacije gena koji kodiraju transkripcijske faktore zabilježene su u 20-25% pacijenata s AML-om, a uključuju mutacije *RUNX1*, *CEBPA* i *GATA2* gena (27).

AML s mutacijama *RUNX1* gena

Transkripcijski faktor *RUNX1* (engl. *runt-related transcription factor 1*) član je CBF proteinske obitelji ključne za regulaciju diferencijacije i homeostaze HSC-a (22,24). Kodiran je *RUNX1* genom, lociranim na kromosomu 21, koji je često zahvaćen mutacijama, ali i mnogim kromosomskim translokacijama karakterističnim za AML (30). Primjerice, *RUNX1/RUNX1T1* fuzijski protein posljedica je translokacije t(8;21), jedne od najčešćih translokacija u AML-u, koja definira CBF leukemiju, a pronađen je u oko 12% slučajeva AML-a (30,32). Dok su fuzije gena koje uključuju *RUNX1* gen povezane s povoljnom prognozom, *RUNX1* mutacije odlikuju se vrlo nepovoljnom prognozom, rezistencijom na kemoterapiju, visokim stopama relapsa te niskim OS-om. *RUNX1* mutacije zabilježene su u 5-13 % slučajeva AML-a, a otprilike 2/3 mutacija pronađene su u CN-AML, u kojem njihova incidencija raste s dobi (9,23). Osobito su česte u

pacijenata s prethodnim hematološkim poremećajima ili sekundarnim AML-om koji se razvio iz MDS-a (22,27). Zabilježene su i monoalelne *RUNX1* mutacije u zametnoj liniji s obiteljskom predispozicijom za AML. Zbog značaja *RUNX1* mutacija, novi privremeni entitet „AML s mutiranim *RUNX1* genom“ pridodan je trenutnoj WHO klasifikaciji (9). *RUNX1* mutacije međusobno su isključive s *NPM1* i bialelnim *CEBPA* mutacijama te s AML-om s citogenetskim abnormalnostima poput *CBFB-MYH11*, *RUNX1-RUNX1T1* i *PML-RARA* (9,29). Nadalje, često su povezane s *ASXL1*, *MLL-PTD* i *IDH1/2* mutacijama (24). Supostojanje mutacija kromatina i splicing faktora, poput mutacija *ASXL1*, *SF3B1*, *SRSF2* te *PHF6* gena, povezuje su s negativnim utjecajem na OS, dok se prisutnost *IDH2* mutacija povezuje s boljim kliničkim ishodima (27,29). Allo-HSCT uspješnija je postremisijska terapija u pacijenata s AML-om s *RUNX1* mutacijama u usporedbi s konvencionalnom konsolidacijskom terapijom (37).

AML s mutacijama *CEBPA* gena

Gen *CEBPA* (engl. *CCAAT/enhancer-binding protein alpha*) kodira transkripcijski faktor ključan za diferencijaciju neutrofila, stoga njegove mutacije, koje su prisutne u oko 10% pacijenata s AML-om, rezultiraju nedovoljnom diferencijacijom neutrofila (9). Transkripcija *CEBPA* gena, a time i diferencijacija neutrofila, može biti inhibirana i fuzijskim proteinom *RUNX1-RUNX1T1*, prisutnim u AML-u s translokacijom t(8;21), a *CEBPA* mutacije moguće je naslijediti i preko zametne linije, kada se povezuju s razvojem obiteljskog AML-a (2,30). *CEBPA* mutacije najčešće su prisutne u AML-u s normalnim kariotipom, a fenotipski se povezuju s minimalno diferenciranim AML-om (podtip M0 FAB klasifikacije) te s AML-om sa sazrijevanjem (M2) (1,22). Bialelne *CEBPA* mutacije obuhvaćaju oko 2/3 *CEBPA* mutacija, a njihova incidencija otprilike je dvostruko veća u djece nego u odraslih s AML-om (22,23). Samo se AML s bialelnim mutacijama *CEBPA* gena povezuje s povoljnom prognozom, zbog čega se u WHO klasifikaciji izdvaja kao zasebni entitet koji se biološki i prognostički razlikuje od AML-a s

monoalelnim mutacijama *CEBPA* gena (9,25). Prognostički ishodi monoalelnih mutacija još uvijek nisu u potpunosti jasni (23). U AML-u s *CEBPA* mutacijama najčešće supostojeće mutacije uključuju *TET2*, *GATA2*, *WT1*, *DNMT3A*, *ASLX1*, *RAS*, *IDH1/2* i *FLT3-ITD* mutacije, od kojih se *IDH2* i *TET2* mutacije povezuju s nepovoljnom, a *GATA2* mutacije s povoljnom prognozom. Također, povoljan prognostički utjecaj bialelnih *CEBPA* mutacija izostaje u prisustvu *FLT3-ITD* mutacija (9). Pacijenti bez prisutnih *CEBPA* mutacija u dijagnostičkome uzorku imaju povoljne ishode bolesti ako *CEBPA* mutacije steknu za vrijeme relapsa (38). Među pedijatrijskom populacijom s AML-om zabilježeni su povoljni ishodi u pacijenata s bialelnim, ali i s monoalelnim mutacijama *CEBPA* gena, ali i značajno preklapanje *CEBPA* i *CSF3R* mutacija, što se povezuje s nepovoljnijom prognozom (30). U pacijenata s bialelnim *CEBPA* mutacijama relaps je i dalje glavni uzrok neuspjeha terapije, stoga se u CR1 prepoučuje konsolidacijska kemoterapija bazirana na HiDAC-u (9,27). Određena istraživanja sugeriraju duže preživljenje bez relapsa (RFS) u pacijenata liječenih HSCT-om u CR1 u usporedbi s onima liječenim HiDAC-om u CR1 (39). *CEBPA* mutacije nisu pouzdan biomarker MRD-a (30).

AML s mutacijama *GATA2* gena

Gen *GATA2* kodira transkripcijski faktor ključan za mijeloidnu hematopoezu, a njegove raznovrsne mutacije rezultiraju *GATA2* haploinsuficijencijom. *GATA2* mutacije zabilježene su u oko 5% slučajeva AML-a te u oko 25% slučajeva AML-a s *CEBPA* mutacijama, u kojemu kao supostojeće mutacije ne utječu na inače povoljne ishode bialelnih *CEBPA* mutacija (22).

2.2.4 AML S MUTACIJAMA REGULATORA DNA METILACIJE

Epigenetska regulacija omogućuje modifikaciju transkripcije i genske ekspresije bez promjena gena, što se postiže dvama glavnim mehanizmima: posttranskripcijskom modifikacijom histona te metilacijom i hidroksimetilacijom DNA (1). Mutacije epigenetskih modifikatora zabilježene su u više od 50% slučajeva AML-a, a klonalna hematopoeza povezana s dobi (ARCH), zabilježena u više od 10% starijih od 65 godina, predominantno je definirana upravo prisustvom navedenih mutacija (22). Spomenute mutacije zahvaćaju gene ključne za metilaciju DNA (*DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*), modifikaciju histona (*ASXL1*, *EZH2*, *MLL*) te RNA splicing (*SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*, *LUC7L2*, *DDX41*) (30). One pripadaju genetskim promjenama klase 0/III te mogu biti najranije alteracije u HSC-u (2). Međutim, mutacije epigenetskih modifikatora same su nedostatne za inicijaciju leukemijske transformacije, za koju su potrebne naknadne mutacije, poput *NPM1*, *FLT3* ili *RAS* mutacija (22,30). Tako su mutacije regulatora metilacije DNA, poput *DNMT3A*, *IDH1/2* i *TET2* mutacija, uglavnom prisutne u AML-u s *NPM1* i *CEBPA* mutacijama, a postoje i dokazi kako *TET2* s *FLT3* mutacijama te *IDH1* s *NPM1* mutacijama induciraju AML (2). Mutacije *ASXL1*, *TET2* i *DNMT3A* gena te *MLL* preslagivanja povezuju se s lošom prognozom. Indukcijska kemoterapija bazirana na visokim dozama daunorubicina, u usporedbi sa standardnim dozama daunorubicina, poboljšava OS među pacijentima s *DNMT3A* mutacijama te *MLL* preslagivanjima, a određena istraživanja sugeriraju poboljšanje prognoze nakon allo-HSCT-a u CR1 u pacijenata s *MLL* preslagivanjima, *DNMT3A*, *ASXL1* i *IDH* mutacijama (4). Epigenetske promjene mogu se ispraviti molekulama koje reaktiviraju epigenetski utišane gene, čime poboljšavaju ishode bolesti (2). Ciljana terapija za pacijente s mutacijama epigenetskih modifikatora i dalje se istražuje, a već je dostupna za AML s *IDH*, *MLL* i *EZH2* mutacijama (4).

AML s mutacijama *DNMT3A* gena

Enzim *DNMT3A* (engl. *DNA methyltransferase 3A*) djeluje kao DNA metiltransferaza važna za epigenetsku regulaciju i gensku transkripciju, a katalizira *de novo* metilaciju citozina u CpG dinukleotidnim otocima, prevodeći citozin u 5-metilcitozin. Enzim je kodiran *DNMT3A* genom čije su mutacije prisutne u 15-20 % slučajeva AML-a, osobito u CN-AML-u, a pojavljuju se rano tijekom patogeneze AML-a (9). Njihova je incidencija veća u starijih pacijenata, dok su rijetke u pedijatrijskoj populaciji s AML-om (23). Oko 60% *DNMT3A* mutacija zahvaća argininski ostatak u kodonu R882, rezultirajući inhibicijom metiltransferazne aktivnosti enzima, proliferacijom te zastojem u diferencijaciji HSC-a (9,22). Fenotipski se *DNMT3A* mutacije povezuju s akutnom monocitnom i akutnom mijelomonocitnom leukemijom, odnosno M5 i M4 podtipom FAB klasifikacije. *DNMT3A* mutacije često se pojavljuju uz *FLT3*-ITD, *NPM1* i *IDH1/2* mutacije, ali gotovo nikada uz t(15;17), inv(16), t(8;21) ili preslagivanja *MLL*-a (1,25). Njihov prognostički značaj još uvijek nije u potpunosti jasan, iako je većina istraživanja pokazala povezanost s nepovoljnim ishodima, rezistencijom na kemoterapiju i relapsom bolesti (22). Trenutna istraživanja među AML pacijentima s *NPM1* mutacijama povezuju supostojanje *DNMT3A* mutacija s lošom prognozom, dok se pacijenti s AML-om sa supostojanjem *NPM1*, *FLT3*-ITD i *DNMT3A* mutacija povezuju s najgorom prognozom (27). U pogledu terapije, navodi se potencijalna korist viših doza antraciklina u liječenju pacijenata s AML-om s *DNMT3A* mutacijama (25). Naime, visoke doze daunorubicina u indukcijskoj kemoterapiji poboljšavaju OS u ovoj skupini pacijenata, a istraživanja pokazuju i korist allo-HSCT-a u CR1 (4). Dodatno, na pacijente s AML-om s *DNMT3A* mutacijama povoljno djeluju i specifični DNMT inhibitori poput decitabina i azacitidina te hipometilirajući lijekovi (HMAs) (2). Novi DNMT inhibitor gvadecitabin pokazao se uspješnim u liječenju pacijenata s relapsirajućim/refraktornim (r/r) AML-om (30). Nekoliko istraživanja provedenih na pacijentima s AML-om s *DNMT3A* mutacijama zabilježilo je ponovnu pojavu istih *DNMT3A* mutacija u relapsu bolesti, sugerirajući njihovu visoku stabilnost,

zbog čega se ove mutacije smatraju potencijalnim markerom MRD-a (40). Ipak, postoje i istraživanja koja upotrebu *DNMT3A* mutacija kao prikladnog biomarkera za MRD smatraju upitnim, upravo zbog dugotrajne prisutnosti *DNMT3A* mutacija u odraslih pacijenata u remisiji, a bez pojave relapsa (41).

AML s mutacijama *IDH1/2* gena

Geni *IDH1/2* (engl. *isocitrate dehydrogenase 1/2*) kodiraju dvije izoforme enzima izocitrat dehidrogenaze, od kojih je *IDH1* smještna u citoplazmi i peroksisomima, a *IDH2* u mitohondrijima. *IDH* je enzim ključan za brojne metaboličke i epigenetske procese, a ubrzava oksidativnu dekarboksilaciju izocitrata u α -ketoglutarat (α -KG) (1,30). Točkaste mutacije *IDH1/2* gena prisutne su u oko 20% slučajeva AML-a, a pojavljuju se rano tijekom leukemogeneze te rezultiraju nastankom aberantnog enzima *IDH*, koji stječe sposobnost redukcije α -KG-a u onkometabolit 2-hidroksiglutarat (2-HG), posljedica čega je nedostatak α -KG-a te nakupljanje 2-HG-a (4,35). α -KG je kofaktor *TET2* enzima, koji posreduje hidroksimetilaciju DNA i demetilaciju histona, stoga njegov nedostatak u konačnici dovodi do epigenetskih alteracija u obliku hipermetilacije DNA, aberantne genske ekspresije, stanične proliferacije i abnormalne diferencijacije (4,30). Također, 2-HG je kompetitivni inhibitor hidroksimetilacije DNA te demetilacije histona posredovane *TET2* enzimom (22). *IDH1* mutacije, prisutne u 5-10 % slučajeva AML-a, zahvaćaju argininske ostatke na poziciji R132 ili R170, a *IDH2* mutacije, prisutne u oko 10 % slučajeva AML-a, na poziciji R140 ili R172 (25). *IDH1/2* mutacije povezuju se s normalnim kariotipom, podmaklom životnom dobi te nepovoljnom prognozom. Češće se pojavljuju s *NMP1* mutacijama, dok su međusobno isključive s *TET2* mutacijama (22). *IDH1* i *IDH2* mutacije također su međusobno isključive (24). Podatci o prognostičkim ishodima AML-a s *IDH1/2* mutacijama često su proturječni, naime, u skupini bolesnika s prisutnim *NMP1* mutacijama, a odsutnim *FLT3*-ITD mutacijama, dva su istraživanja pokazala nepovoljan

prognostički utjecaj supostojanja *IDH1/2* mutacija, dok jedno istraživanje sugerira povoljan utjecaj *IDH* mutacija u navedenoj skupini bolesnika (9). *IDH2* mutacije prognostički su raznovrsnije, naime, *IDH2-R140* mutacije često se povezuju s *NMP1* mutacijama i prognostički su povoljnije, dok su *IDH2-R172* mutacije karakterizirane ozbiljnijim metaboličkim aberacijama, međusobnom isključivošću s *NMP1* mutacijama te lošijom prognozom (32). Enasidenib, oralni selektivni inhibitor *IDH2* enzima, odobren je za liječenje r/r AML-a s *IDH2* mutacijama, dok je ivosidenib, specifični inhibitor *IDH1* enzima, odobren za liječenje odraslih pacijenata s r/r AML-om s *IDH1* mutacijama (25). Također, pacijenti s *IDH1/2* mutacijama bolje odgovaraju na liječenje BCL-2 inhibitorima (27). *IDH1/2* mutacije, kao pouzdani markeri MRD-a, mogu se iskoristiti za predviđanje pojave relapsa bolesti (9).

AML s mutacijama *TET2* gena

Gen *TET2* (*engl. ten-eleven translocation*) kodira metilcitozin dioksidazu 2, enzim ključan za epigenetsku regulaciju koji prevodi 5-metilcitozin u 5-hidroksimetilcitozin, čime se postiže demetilacija tumor supresorskih gena (2,25). *TET2* mutacije zabilježene su u 10-20% slučajeva AML-a, a rezultiraju gubitkom funkcije *TET2* enzima, koja se povezuje sa smanjenom hidroksimetilacijom te pojačanom metilacijom tumor supresorskih gena, što u konačnici dovodi do pojačane samoobnove i zastoja u diferencijaciji HSC-a (2,22). *TET2* mutacije pojavljuju se rano tijekom leukemogenze, a povezane su sa srednjim rizikom i kratkim OS-om. Njihova incidencija povećava se s dobi pa su češće prisutne u odraslih nego u djece s AML-om. Međusobno su isključive s *IDH1/2* mutacijama, ali djeluju na istome putu kao i *IDH1/2* mutacije (2,23).

2.2.5 AML S MUTACIJAMA MODIFIKATORA KROMATINA

Akutna mijeloična leukemija s mutacijama gena za kromatin i splicing faktore druga je najveća podgrupa u novoj klasifikaciji AML-a, zabilježena u oko 20% slučajeva AML-a. Ovu izrazito heterogenu podgrupu sačinjavaju geni koji reguliraju modifikaciju kromatina (*ASXL1*, *STAG2*, *BCOR*, *MLL-PTD*, *EZH2* i *PHF6*), RNA splicing (*SRF2*, *SFB1*, *U2AF1* i *ZRSR2*) te transkripciju (*RUNX1*). Proteini kodirani ovim genima obavljaju ulogu epigenetskih modifikatora, transkripcijskih ili splicing faktora te su ključni u samoobnovi i diferencijaciji HSC-a. Gotovo sve genske mutacije ove podgrupe, uključujući i mutacije njenih dvaju najistaknutijih gena – *ASXL1* i *RUNX1*, prepoznate su kao nepovoljni prognostički markeri. Ova se podgrupa AML-a povezuje sa starijom životnom dobi, rezistencijom na indukcijsku kemoterapiju, niskim stopama CR-a, visokom smrtnošću povezanom s relapsom te lošijim dugoročnim ishodima (24,29).

AML s mutacijama *ASXL1/2* gena

Geni *ASXL1/2* (engl. *additional sex combs-like 1/2*) ključni su za modifikaciju kromatina, a kodiraju kromatin-vezujući protein koji pojačava ili utišava transkripciju gena (23). *ASXL1* mutacije prisutne su u oko 5% *de novo* slučajeva AML-a te u oko 25% slučajeva sekundarnog AML-a (25). Predstavljaju mutacije gubitka funkcije koje, barem djelomično, djeluju preko gubitka interakcije s PRC2 histonskom metiltransferazom, rezultirajući poremećajem hematopoeze (30). *ASXL1* mutacije vjerojatno se pojavljuju rano tijekom leukemogeneze te mogu poslužiti kao marker za *r/r* AML, a imaju negativan utjecaj na OS, zbog čega se AML s *ASXL1* mutacijama klasificira kao AML nepovoljnog rizika (25,30). Učestalost *ASXL1* mutacija znatno je veća u odraslih (5-17%) nego u djece s AML-om (1%), dok je učestalost *ASXL2* mutacija gotovo jednaka u odraslih i djece (24%). Prognostički utjecaj *ASXL1/2* mutacija u djece s AML-om nije u potpunosti jasan (23). *ASXL1* mutacije češće su povezane s abnormalnim

kariotipom, poput trisomije kromosoma 8 ili aberacija kromosoma 11, a 9-12% *ASXL1* mutacija zabilježeno je i u CN-AML-u (24,30). U AML-u s *ASXL1* mutacijama češće su i ostale mutacije, poput *TET2*, *EZH2*, *IDH2*, *RUNX1*, *NRAS* te *DNMT3A* mutacija, među kojima su najčešće upravo *RUNX1* mutacije, koje se povezuju s lošom prognozom (30). Također, *ASXL1* mutacije češće su povezane s t(8;21) i *CEBPA* mutacijama, a međusobno isključive s *NPM1* i *FLT3* mutacijama (32). Uspostavljene su i nove obećavajuće terapijske strategije koje blokiraju interakcije *ASXL1* i pridruženih epigenetskih regulatora (30).

AML s mutacijama *EZH2* gena

Protein *EZH2* (engl. *enhancer of zeste homolog 2*) katalitička je podjedinica *PRC2* histonske metiltransferaze – *H3K27* metiltransferaze koja metilira lizinski ostatak histona H3 na poziciji 27 te na taj način suzbija transkripciju. *EZH2* gen lociran je na kromosomu 7, a igra ključnu ulogu u hematopoezi kroz regulaciju diferencijacije i obnove stanica. Njegove mutacije smanjuju metilaciju histona i povećavaju relaksaciju kromatina te mogu rezultirati tumorigenezom, a prisutne su u oko 2% odraslih te u oko 1% djece s AML-om. Češće su u akutnoj megakarioblastičnoj leukemiji (M7 podtip FAB klasifikacije), a povezuju se s nepovoljnom prognozom (23). *EZH2* mutacije mogu imati potpuno različite mehanizme tumorigeneze, primjerice, u pacijenata s limfoidnim malignostima pronađene su onkogene mutacije dobitka funkcije, dok su u mijeloidnim novotvorinama, uključujući i AML, pronađene mutacije gubitka funkcije. Također, u različitim fazama AML-a *EZH2* enzim može imati potpuno različite učinke, naime, za vrijeme indukcije AML-a *EZH2* enzim djeluje kao tumorski supresor, dok za vrijeme održavanja AML-a *EZH2* enzim vrši funkciju onkogeni, koji može biti terapijska meta, a ova su saznanja potaknula trenutni razvoj *EZH2* inhibitora (4). *EZH2* inhibitor 3-deazaneplanocin (DZNep) potencijalni je lijek za konsolidaciju ili održavanje terapije u pacijenata s AML-om s *EZH2* mutacijama. DZNep eliminira leukemijske stanice rezistentne na

konvencionalnu kemoterapiju temeljenu na citarabinu i daunorubicinu te na taj način smanjuje mogućnost relapsa (23).

AML s mutacijama *MLL* gena

Gen *MLL* (engl. mixed-lineage leukemia), poznat i kao *KMT2A* (engl. lysine (*K*)-specific methyltransferase 2A) gen, lociran je na kromosomu 11 čija su preslagivanja zabilježena u oko 10% slučajeva AML-a, a kodira histonsku metiltransferazu koja regulira *HOX* gene uključene u hematopoezu. *MLL* gen često je zahvaćen spomenutim preslagivanjima, na temelju kojih se klasificira kao jedinstvena podskupina AML-a – „AML s fuzijom *MLL* gena, t(x;11)(x;23)“, a fenotipski je uglavnom riječ o akutnoj monocitnoj (M5 podtip FAB klasifikacije) ili o akutnoj mijelomonocitnoj (M4) leukemiji. *MLL* gen može biti zahvaćen i *MLL*-PTD mutacijama, koje karakterizira parcijalna tandemska duplikacija (PTD) *MLL* gena (9). *MLL*-PTD mutacije prisutne su u 3-5% slučajeva *de novo* AML-a te u oko 10% slučajeva CN-AML-a, a češće se pojavljuju u starijih pacijenata ili uz trisomiju kromosoma 11 (9,24). Ishodi pacijenata s preslagivanjima *MLL* gena ili *MLL*-PTD mutacijama nepovoljni su. *MLL*-PTD mutacije ne mogu samostalno transformirati HSC te izazvati AML, naime, njima najčešće prethode inicijacijske mutacije poput *IDH1/2*, *TET2* i *U2AF1* mutacija, dok nakon njih slijede proliferacijske mutacije poput *FLT3* i *RAS* mutacija. *MLL*-PTD mutacije međusobno su isključive s *DNMT3A* i *NPM1* mutacijama, dok su u oko 25% pacijenata s *MLL*-PTD mutacijama zabilježene i *FLT3*-ITD mutacije, što se povezuje s lošom prognozom (9). Supostojanje *NRAS* mutacija također se povezuje s nepovoljnim ishodima (30). *MLL*-PTD protein zadržava sve funkcionalne domene histonske metiltransferaze, stoga suprimira divlji tip *MLL* alela epigenetskim mehanizima, međutim, kombinacija decitabina i depsipectida inhibira navedene epigenetske mehanizme te reaktivira transkripciju divljeg tipa *MLL* alela, inducirajući staničnu smrt u blastima (2).

AML s mutacijama *BCOR* gena

Gen *BCOR* (engl. *BCL6 corepressor*) lociran je na kromosomu X, a kodira nuklearni protein koji je ključan transkripcijski regulator hematopoeze. Njegove mutacije pripadaju mutacijama gubitka funkcije, a rezultiraju pojačanom proliferacijom i diferencijacijom HSC-a (24). Učestalost *BCOR* mutacija podjednaka je u djece i u odraslih s AML-om te iznosi oko 3%, međutim, učestalost u odraslih s CN-AML-om iznosi čak 17%. *BCOR* mutacije povezane su s lošijom prognozom, osim u djece s AML-om, kod koje trogodišnji OS ne ovisi o njihovoj prisutnosti (23). *DNMT3A* mutacije česte su supostojeće mutacije u pacijenata s AML-om s *BCOR* mutacijama (24).

AML s mutacijama *PHF6* gena

Tumor supresorski gen *PHF6* (engl. *plant homeodomain finger 6*) lociran je na kromosomu X, a važan je za remodelaciju kromatina. Njegove mutacije zabilježene su u 3-8% slučajeva odraslih s AML-om, češće u muškaraca nego u žena, a pripadaju mutacijama gubitka funkcije. *PHF6* mutacije prediktor su lošijeg OS-a u skupini pacijenata s AML-om sa srednjim rizikom i bez prisutnih *FLT-ITD* mutacija, a s učestalošću od 20% ipak su češće u T-staničnim akutnim limfoblastičnim leukemijama (23,24). *PHF6* mutacije najvjerojatnije nastaju tijekom inicijacije leukemogeneze, a također su česte i u relapsu, stoga mogu poslužiti kao potencijalni prediktivni biomarker relapsa AML-a (23).

2.2.6 AML S MUTACIJAMA RNA SPLICING FAKTORA

Splicing RNA posttranskripcijski je proces ključan za regulaciju gena i povećanje genomske raznolikosti, a njegovi poremećaji često rezultiraju inicijacijom i progresijom tumorigeneze/leukemogeneze (4). Mutacije gena za splicing faktore, poput mutacija *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1* i *ZRSR2* gena, zabilježene su u oko 10% slučajeva AML-a te izazivaju aberantni RNA splicing, utječući na stanični transkriptom i proteom (27). Navedene mutacije najvjerojatnije se pojavljuju rano tijekom leukemogeneze, a često su prisutne u stanjima koja prethode razvoju leukemije, poput MDS-a. U novodijagnosticiranome AML-u smatraju se patognomoničnima za sekundarni AML koji se razvija iz MDS-a (32). Različite mutacije gena za splicing faktore međusobno su isključive, a povezuju se s podmaklom životnom dobi, rezistencijom na standardnu kemoterapiju te kraćim OS-om (22,27). Nedavna istraživanja pokazala su kako mnogi inhibitori splicing faktora, poput modulatora SF3b kompleksa dostupnih u oralnom obliku, imaju terapijski potencijal u AML-u s mutacijama gena za splicing faktore (42).

2.2.7 AML S MUTACIJAMA KOHEZINA

Kohezin je veliki proteinski kompleks u obliku prstena koji se sastoji od 4 velike podjedinice: SMC1A, SMC3, RAD21 i STAG1/2, a ključan je ne samo za koheziju i separaciju sestrinskih kromatida tijekom mitoze, već i za popravak oštećenja DNA te regulaciju genske ekspresije (32). Mutacije kohezinskih podjedinica rezultiraju gubitkom funkcije kohezina te remete hematopoetsku diferencijaciju, a zabilježene su u oko 10% slučajeva AML-a (23,32). Mutacije *SMC3* gena osobito su česte u klonova u relapsu, a vjerojatno su inducirane štetnim učincima citotoksične kemoterapije, međutim, potrebna su dodatna istraživanja o koristi kohezina kao prognostičkog biomarkera u AML-u (23,24). Česte supostojeće mutacije uključuju mutacije *NPM1*, *DNMT3A*, *TET2* i *RUNX1* gena (32).

2.2.8 AML S MUTACIJAMA TUMOR SUPRESORSKIH GENA

AML s mutacijama *TP53* gena

Gen *TP53* (engl. *tumor protein p53*) tumor supresorski je gen lociran na kromosomu 17, a kodira transkripcijski faktor ključan za zaustavljanje staničnog ciklusa, popravak DNA te apoptozu (9,25). *TP53* mutacije nisu osobito karakteristične za hematološke malignosti, već prevladavaju u ostalim tipovima tumora (2). Prisutne su u oko 8% slučajeva AML-a, uglavnom t-AML-a ili sekundarnog AML-a s učestalošću od 20-37%, a obuhvaćaju čak 70% slučajeva AML-a s kompleksnim kariotipom. *TP53* mutacije biomarker su najgore prognoze u AML-u, a povezane su s podmaklom životnom dobi, rezistencijom na kemoterapiju, niskim stopama CR-a, visokim stopama relapsa te lošim preživljenjem (27,30). *TP53* mutacije pripadaju mutacijama gubitka funkcije, zbog čega loše odgovaraju na trenutne terapijske strategije. Unatoč liječenju intenzivnom kemoterapijom, vrijednosti OS-a i dalje su niske, međutim, uočeno je kako decitabin smanjuje razinu mutiranog p53 proteina te poboljšava prognozu pacijenata s *TP53* mutacijama. *TP53* mutacije prediktor su povoljnog odgovora na MDM2 i BCL-2 inhibitore poput venetoklaksa (27). Također, lijek romidepsin može prevenirati kemorezistenciju i relaps u ovoj skupini pacijenata (30). Nedavno je otkriven i novi lijek, nazvan PANDAS, koji može stabilizirati strukturu mutiranoga proteina p53, obnoviti njegovu aktivnost te potaknuti apoptozu tumorskih stanica (27).

AML s mutacijama *WT1* gena

Gen *WT1* (engl. *Wilms tumor*) tumor supresorski je gen čije su mutacije zabilježene u oko 10% slučajeva AML-a, uglavnom u egzonima 7 i 9 (2,25). *WT1* mutacije pripadaju klasi I mutacija, a rezultiraju konstitutivnom aktivacijom *WT1* transkripcijskog faktora – onkogeni koji potiče proliferaciju i zaustavlja diferencijaciju HSC-a. Često se pojavljuju uz *FLT3*-ITD mutacije.

WT1 mutacije loše odgovaraju na standardnu indukcijsku kemoterapiju, a mogu poslužiti kao pouzdan marker za procjenu MRD-a, naime, ekspresijska razina *WT1* gena oko 10 puta je veća u leukemijskim stanicama u odnosu na normalne HSC, a pomaže u identifikaciji pacijenata s visokim rizikom od relapsa nakon indukcijske kemoterapije, dakle onih čija postindukcijska terapija zahtjeva intenzifikaciju (2). Prognostički ishodi nepovoljni su i u djece i u odraslih s *WT1* mutacijama, čak i nakon allo-HSCT-a (23,25).

2.2.9 AML S PREKOMJERNOM EKSPRESIJOM BAALC I MN1 GENA

AML s prekomjernom ekspresijom BAALC gena

Gen *BAALC* (engl. *brain and acute leukemia cytoplasmic*) nalazi se na kromosomu 8, a njegova ekspresija zabilježena je u neuronima i hematopoetskim matičnim stanicama, u kojima je specifični biljeg proliferacijske faze. Svi podtipovi CD34+ progenitorskih stanica, iz normalne ili abnormalne koštane srži, eksprimiraju *BAALC* gen, stoga on može poslužiti kao novi zajednički biljeg mijeloidnih, limfoidnih i eritroidnih puteva. Stoga je i u AML-u moguće zabilježiti prekomjernu ekspresiju *BAALC* gena, koja inducira gen višestruke rezistencije na lijekove (*MDR1*) te biljege matičnih stanica (CD133, CD34, KIT). Pacijenti s prekomjernom ekspresijom *BAALC* gena imaju višu stopu primarno rezistentne leukemije, višu kumulativnu incidenciju relapsa (CIR) te niži OS. Visoka ekspresija *BAALC* gena povezuje se s minimalno diferenciranim AML-om (M0 podtip FAB klasifikacije) te s AML-om bez sazrijevanja (M1), dok se niska ekspresija *BAALC* gena povezuje s akutnom monocitnom leukemijom (M5). U ovoj skupini pacijenata češće su zabilježene i *FLT3*-ITD, *CEBPA*, *MLL*-PTD te *ERG* mutacije. S obzirom na rezistenciju na kemoterapiju te nepovoljne ishode, u ovoj skupini pacijenata potrebno je prilagoditi indukcijsku kemoterapiju te pojačati postremisijsku konsolidacijsku kemoterapiju. AML pacijentima s visokom ekspresijom *BAALC* gena koristi i konsolidacija allo-HSCT-om (2).

AML s prekomjernom ekspresijom *MN1* gena

Hematopoetske matične stanice eksprimiraju visoke razine *MN1* (engl. *meningioma 1*) gena, za razliku od diferenciranih CD34+ stanica. Prekomjerna ekspresija *MN1* gena pojavljuje se u CN-AML-u s nemutiranim *NPM1* genom, a neovisan je prognostički marker lošeg odgovora na indukcijsku kemoterapiju, visoke stope relapsa, kraćeg RFS-a te kraćeg OS-a. Za razliku od pacijenata s visokim razinama ekspresije *MN1* gena, oni s niskim razinama ekspresije *MN1* gena pokazuju povoljan odgovor na ATRA terapiju (2).

3. ZAKLJUČAK

Akutna mijeloična leukemija biološki je i klinički heterogena bolest nastala kao posljedica različitih citogenetskih abnormalnosti i genskih mutacija, koje se koriste kao markeri značajni za preciznu dijagnozu, prognostičku klasifikaciju bolesti, stratifikaciju rizika te praćenje bolesnika. Primjerice, među citogenetskim abnormalnostima se *inv(16)/t(16;16)*, *t(8;21)* i *t(15;17)* povezuju s povoljnom prognozom, dok su *t(9;11)*, trisomija 8,11 ili 13 te neklasificirane citogenetske abnormalnosti povezane sa srednjom prognozom, a *inv(3)/t(3;3)*, *t(6;9)*, *t(9;22)*, *t(1;22)*, *del(5q)*, *del(7q)*, *abn(11q23)*, *abn(21q)* te kompleksni i monosomalni kariotip prediktori su nepovoljne prognoze. Nadalje, prisutnost *NPM1*, bialelnih *CEBPA* ili *IDH2* mutacija u korelaciji je s povoljnom prognozom, dok *FLT3-ITD*, *KIT*, *IDH1*, *ASXL1*, *EZH2*, *MLL-PTD*, *BCOR* i *PHF6* mutacije koreliraju s lošijom prognozom, a *RUNX1*, *TP53* i *WT1* mutacije prediktori su najgorih ishoda. Prognostička značajnost *FLT3-TKD*, *RAS*, *DNMT3A*, *TET2*, *SMC3*, *RAD21* i *STAG2* mutacija neutralna je ili nejasna. Napretkom nove tehnologije širi se spektar poznatih citogenetskih abnormalnosti i genskih mutacija, što je važan korak naprijed u razumijevanju genetske kompleksnosti AML-a, individualnom terapijskom odlučivanju te potencijalnom razvoju novih terapijskih meta u skladu s načelima personalizirane i precizne medicine.

4. ZAHVALE

Prije svega, zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Slobodanki Ostojić Kolonić, dr. med., na pristupačnosti, stručnoj pomoći i savjetima tijekom pisanja ovog diplomskog rada. Posebno zahvaljujem svojoj majci Marici, ocu Mati, braći Mateju i Luki, baki Kaji te djedu Marku na bezuvjetnoj podršci, strpljenju i razumijevanju tijekom studija. Na kraju, zahvaljujem svojim prijateljima na iskrenom prijateljstvu, vrijednim savjetima i ohrabrenju kojima su olakšali studentske dane.

5. LITERATURA

1. Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V, Gómez-Guijosa MÁ, Cortes-Penagos C. Acute Myeloid Leukemia—Genetic Alterations and Their Clinical Prognosis. *Int J Hematol-Oncol Stem Cell Res.* 01. listopad 2017.;11(4):328–39.
2. Pourrajab F, Zare-Khormizi MR, Hashemi AS, Hekmatimoghaddam S. Genetic Characterization and Risk Stratification of Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Manag Res.* 25. ožujak 2020.;12:2231–53.
3. De Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. „Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update“. *Blood Cancer J.* 01. srpanj 2016.;6(7):e441.
4. Hou H-A, Tien H-F. Genomic landscape in acute myeloid leukemia and its implications in risk classification and targeted therapies. *J Biomed Sci [Internet].* 21. srpanj 2020. [citirano 08. svibanj 2021.];27. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7372828/>
5. Pelcovits A, Niroula R. Acute Myeloid Leukemia: A Review. *R I Med J* 2013. 01. travanj 2020.;103(3):38–40.
6. Chiaretti S, Gianfelici V, Ceglie G, Foà R. Genomic characterization of acute leukemias. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent.* 2014.;23(6):487–506.
7. Mrózek K, Heerema NA, Bloomfield CD. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev.* lipanj 2004.;18(2):115–36.
8. Döhner K, Döhner H. Molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Haematologica.* srpanj 2008.;93(7):976–82.
9. Kayser S, Levis MJ. Clinical implications of molecular markers in acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol.* siječanj 2019.;102(1):20–35.
10. Braoudaki M, Tzortzatou-Stathopoulou F. Clinical cytogenetics in pediatric acute leukemia: an update. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* kolovoz 2012.;12(4):230–7.
11. Lugthart S, Gröschel S, Beverloo HB, Kayser S, Valk PJM, van Zelderen-Bhola SL, i ostali. Clinical, molecular, and prognostic significance of WHO type *inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2)* and various other 3q abnormalities in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20. kolovoz 2010.;28(24):3890–8.
12. Gröschel S, Sanders MA, Hoogenboezem R, de Wit E, Bouwman BAM, Erpelinck C, i ostali. A single oncogenic enhancer rearrangement causes concomitant *EVI1* and *GATA2* deregulation in leukemia. *Cell.* 10. travanj 2014.;157(2):369–81.
13. Slovak ML, Gundacker H, Bloomfield CD, Dewald G, Appelbaum FR, Larson RA, i ostali. A retrospective study of 69 patients with *t(6;9)(p23;q34)* AML emphasizes the need for a prospective, multicenter initiative for rare „poor prognosis“ myeloid malignancies. *Leukemia.* srpanj 2006.;20(7):1295–7.

14. Zaidi SZ, Owaidah T, Al Sharif F, Ahmed SY, Chaudhri N, Aljurf M. The challenge of risk stratification in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* rujun 2008.;1(3):141–58.
15. Prada-Arismendy J, Arroyave JC, Röthlisberger S. Molecular biomarkers in acute myeloid leukemia. *Blood Rev.* siječanj 2017.;31(1):63–76.
16. Neuendorff NR, Burmeister T, Dörken B, Westermann J. BCR-ABL-positive acute myeloid leukemia: a new entity? Analysis of clinical and molecular features. *Ann Hematol.* kolovoz 2016.;95(8):1211–21.
17. de Rooij JDE, Branstetter C, Ma J, Li Y, Walsh MP, Cheng J, i ostali. Pediatric non-Down syndrome acute megakaryoblastic leukemia is characterized by distinct genomic subsets with varying outcomes. *Nat Genet.* ožujak 2017.;49(3):451–6.
18. Haferlach C, Alpermann T, Schnittger S, Kern W, Chromik J, Schmid C, i ostali. Prognostic value of monosomal karyotype in comparison to complex aberrant karyotype in acute myeloid leukemia: a study on 824 cases with aberrant karyotype. *Blood.* 01. ožujak 2012.;119(9):2122–5.
19. Bakshi SR, Brahmabhatt MM, Trivedi PJ, Dalal EN, Patel DM, Purani SS, i ostali. Trisomy 8 in leukemia: A GCRI experience. *Indian J Hum Genet.* siječanj 2012.;18(1):106–8.
20. Herold T, Metzeler KH, Vosberg S, Hartmann L, Röllig C, Stölzel F, i ostali. Isolated trisomy 13 defines a homogeneous AML subgroup with high frequency of mutations in spliceosome genes and poor prognosis. *Blood.* 21. kolovoz 2014.;124(8):1304–11.
21. Gulley ML, Shea TC, Fedoriw Y. Genetic tests to evaluate prognosis and predict therapeutic response in acute myeloid leukemia. *J Mol Diagn JMD.* siječanj 2010.;12(1):3–16.
22. DiNardo CD, Cortes JE. Mutations in AML: prognostic and therapeutic implications. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 02. prosinac 2016.;2016(1):348–55.
23. Aziz H, Ping CY, Alias H, Ab Mutalib N-S, Jamal R. Gene Mutations as Emerging Biomarkers and Therapeutic Targets for Relapsed Acute Myeloid Leukemia. *Front Pharmacol* [Internet]. 07. prosinac 2017. [citirano 08. svibanj 2021.];8. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5725465/>
24. Wang M, Yang C, Zhang L, Schaar DG. Molecular Mutations and Their Cooccurrences in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia. *Stem Cells Int* [Internet]. 2017. [citirano 08. svibanj 2021.];2017. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5288537/>
25. Madanat YF, Kalaycio ME, Nazha A. Advances in Acute Myeloid Leukemia Genomics, where do we stand in 2018? *Acta Medica Acad.* 26. lipanj 2019.;48(1):35–44.
26. Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, i ostali. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 01. svibanj 2008.;358(18):1909–18.

27. Gu R, Yang X, Wei H. Molecular landscape and targeted therapy of acute myeloid leukemia. *Biomark Res* [Internet]. 08. studeni 2018. [citirano 08. svibanj 2021.];6. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6225571/>
28. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, i ostali. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 09. lipanj 2016.;374(23):2209–21.
29. Moarii M, Papaemmanuil E. Classification and risk assessment in AML: integrating cytogenetics and molecular profiling. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 08. prosinac 2017.;2017(1):37–44.
30. Yu J, Li Y, Zhang D, Wan D, Jiang Z. Clinical implications of recurrent gene mutations in acute myeloid leukemia. *Exp Hematol Oncol* [Internet]. 27. ožujak 2020. [citirano 08. svibanj 2021.];9. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7099827/>
31. Luskin MR, Lee J-W, Fernandez HF, Abdel-Wahab O, Bennett JM, Ketterling RP, i ostali. Benefit of high-dose daunorubicin in AML induction extends across cytogenetic and molecular groups. *Blood*. 24. ožujak 2016.;127(12):1551–8.
32. Marando L, Huntly BJP. Molecular Landscape of Acute Myeloid Leukemia: Prognostic and Therapeutic Implications. *Curr Oncol Rep* [Internet]. 2020. [citirano 08. svibanj 2021.];22(6). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7261725/>
33. Falini B, Brunetti L, Martelli MP. Dactinomycin in NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 17. rujun 2015.;373(12):1180–2.
34. Burnett AK, Hills RK, Green C, Jenkinson S, Koo K, Patel Y, i ostali. The impact on outcome of the addition of all-trans retinoic acid to intensive chemotherapy in younger patients with nonacute promyelocytic acute myeloid leukemia: overall results and results in genotypic subgroups defined by mutations in NPM1, FLT3, and CEBPA. *Blood*. 04. veljača 2010.;115(5):948–56.
35. Papayannidis C, Sartor C, Marconi G, Fontana MC, Nanni J, Cristiano G, i ostali. Acute Myeloid Leukemia Mutations: Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci* [Internet]. 03. lipanj 2019. [citirano 08. svibanj 2021.];20(11). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6600275/>
36. Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, Mrózek K, Chen H, Kittles RA, i ostali. 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 Off J Am Soc Clin Oncol*. 20. kolovoz 2006.;24(24):3904–11.
37. Gaidzik VI, Bullinger L, Schlenk RF, Zimmermann AS, Röck J, Paschka P, i ostali. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia: results from a comprehensive genetic and clinical analysis from the AML study group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 01. travanj 2011.;29(10):1364–72.
38. Tawana K, Wang J, Renneville A, Bödör C, Hills R, Loveday C, i ostali. Disease evolution and outcomes in familial AML with germline CEBPA mutations. *Blood*. 03. rujun 2015.;126(10):1214–23.

39. Schlenk RF, Taskesen E, van Norden Y, Krauter J, Ganser A, Bullinger L, i ostali. The value of allogeneic and autologous hematopoietic stem cell transplantation in prognostically favorable acute myeloid leukemia with double mutant CEBPA. *Blood*. 29. kolovoz 2013.;122(9):1576–82.
40. Hou H-A, Kuo Y-Y, Liu C-Y, Chou W-C, Lee MC, Chen C-Y, i ostali. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and clinical implications. *Blood*. 12. siječanj 2012.;119(2):559–68.
41. Pløen GG, Nelderby L, Guldborg P, Hansen M, Ebbesen LH, Jensen UB, i ostali. Persistence of DNMT3A mutations at long-term remission in adult patients with AML. *Br J Haematol*. studeni 2014.;167(4):478–86.
42. Seiler M, Yoshimi A, Darman R, Chan B, Keaney G, Thomas M, i ostali. H3B-8800, an orally available small-molecule splicing modulator, induces lethality in spliceosome-mutant cancers. *Nat Med*. svibanj 2018.;24(4):497–504.

6. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 7. srpnja 1996. godine u Zagrebu. Osnovnu školu pohađao sam u Vukovini, a opću gimnaziju u Velikoj Gorici. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 2015. godine. Dobitnik sam dekanove nagrade za uspjeh u akademskoj godini 2016./2017. Aktivno sam sudjelovao na 9. hrvatskom kongresu o infektivnim bolestima u Splitu 2019. godine, kada sam predstavio znanstveni rad iz područja infektologije u čijem sam provođenju sudjelovao na Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“. Tijekom 2021. godine obavljao sam farmakovigilancijske poslove u farmaceutskoj tvrtki Mibe Pharmaceuticals. Aktivno govorim engleski jezik, a posjedujem i osnovno znanje njemačkog jezika. U medicini me zanimaju hematologija i radiologija.