Trans 4 zlom 11.1.2010 8:15 Str. 229
proLékaře.cz | 1.4.2026

Úloha *FLT3* mutací v patogenezi akutní myeloidní leukemie

Gazdová J., Dvořáková D., Ježíšková I., Rázga F., Jurček T., Mayer J.
Centrum molekulární biologie a genové terapie, Interní hematoonkologická klinika, FN Brno a LF MU

Souhrn
Receptorová tyrozinkináza FLT3 (FMS-like tyrosine kinase 3) je exprimována časnými hematopoetickými progenitorovými buňkami a hraje klíčovou roli v regulaci jejich vývoje a proliferace. Aktivační mutace této kinázy jsou přítomny přibližně u 40 % pacientů s akutní myeloidní leukemií (AML) a patří tak k nejčastějším genetickým aberacím AML. Mutace *FLT3* genu vedou ke konstitutivní fosforylaci receptoru a k následné aktivaci signálních drah vedoucích k nekontrolovanému dělení buněk. Mutační status *FLT3* genu je důležitým prognostickým ukazatelem, zejména přítomnost interních tandemových duplikací v exonech 14 a 15 znamená pro pacienty s normálním karyotypem zhoršení prognózy z hlediska signifikantního zkrácení trvání kompletní remise (CRD) a intervalu bez symptomů nemoci (DFS). Klinický význam bodových mutací v tyrozikinázové doméně *FLT3* genu je méně zřejmý a je stále předmětem diskuse. Vysoká frekvence *FLT3* mutací a jejich prognostická relevance u dospělých i dětských AML z nich dělá ideální terapeutický cíl. V současné době probíhají preklinické a klinické testy řady FLT3 tyrozinkinázových inhibitorů.
Klíčová slova: FLT3 receptorová tyrozinkináza, AML s normálním karyotypem, interní tandemová duplikace, prognostický marker

Summary
Gazdová J., Dvořáková D., Ježíšková I., Rázga F., Jurček T., Mayer J.: The role of *FLT3* mutations in the pathogenesis of acute myeloid leukemia

FLT3 (FMS-like tyrosine kinase 3) is a tyrosine kinase receptor expressed by early hematopoietic progenitor cells and is essential for its normal development and proliferation. Activating mutations of this kinase are found in approximately 40% of all AML cases and are therefore one of the most common genetic alterations observed in AML. Mutations in *FLT3* gene lead to constitutive phosphorylation of the receptor and consecutive activation of downstream signalling pathways resulting in uncontrolled cell proliferation. *FLT3* mutational status, especially internal tandem duplications in exons 14 and 15, appears to be a significant prognostic indicator associated with a distinctly worse clinical outcome in AML patients with normal cytogenetics in terms of shorter complete remission duration (CRD) and disease free survival (DFS). Prognostic impact of point mutations in tyrosine kinase domain is less clear and is still under debate. High frequency of *FLT3* mutations and its prognostic relevance in both adult and pediatric AML makes it an appropriate target for therapy. There are several FLT3 tyrosine kinase inhibitors tested in ongoing preclinical and clinical trials.
Key words: FLT3 receptor tyrosine kinase, cytogenetically normal AML, internal tandem duplication, prognostic marker

Transfuze Hematol. dnes, 15, 2009, No. 4, p. 229–236.

Úvod

Akutní myeloidní leukemie (AML) je hematologické onemocnění charakterizované nekontrolovanou proliferací myeloidních buněk v různém stadiu vývoje, jejichž další diferenciace je blokována. Pacienti s touto agresivní nemocí tvoří geneticky i fenotypicky heterogenní skupinu s velkou variabilitou v genetickém základu leukemogeneze, v klinickém průběhu onemocnění i v odpovědi na terapii. V souvislosti s AML byla dosud popsána celá řada genetických defektů, nejčastěji translokací vedoucích ke vzniku fúzních genů a proteinů s aberantní funkcí. Objev dalších mutací v genech podporujících buněčnou proliferaci (*FLT3*, *cKIT, RAS*), v genech důležitých pro myeloidní diferenciaci (*CEBPA, RUNX1*) a v genech regulujících buněčný cyklus (*p53*, *NPM1*) přispěl k pochopení patologie AML u pacientů s normálním karyotypem (CN-AML). Spolupůsobení mutací udělujících buňce proliferativní výhodu spolu s mutacemi blokujícími diferenciaci vede k transformaci hematopoetické buňky v buňku leukemickou a její následná expanze dává vzniknout leukemickému fenotypu s blasty. Kromě věku pacienta, jeho celkového zdravotního stavu, předchozí léčby chemoterapeutiky a počtu bílých krvinek (WBC) v době propuknutí choroby je důležitým prognostickým faktorem cytogenetický profil, mutace některých genů nebo jejich zvýšená exprese. Jedním z nejvýznamnějších prognostických prediktorů u CN-AML je mutační status genu *FLT3*.

FLT3 gen a jeho proteinový produkt

FLT3 gen je lokalizován na dlouhém raménku chromozomu 13 (13q12.2), sestává ze 24 exonů a jeho otevřený čtecí rámec zahrnuje 2979 bp genomové DNA. Velikost transkriptu je 3,7 kb. Jeho proteinový produkt je tvořen 993 aminokyselinami a jeho posttranslační glykosylace umožňuje vazbu na membránu (1). FLT3 (STK1, FLK2, CD135) je transmembránový protein ze třídy III tyrozin-

Trans 4 zlom 11.1.2010 8:15 Str. 230
proLékaře.cz | 1.4.2026

kinázových receptorů strukturně příbuzný receptorům PDGFR, CSF1R a KIT, s nimiž sdílí vysoký stupeň homologie a spolu s nimiž přispívá k normální diferenciaci a proliferaci hematopoetických buněk. Nižší stupeň homologie sdílí s VEGFR a s NGFR proteinovými rodinami (2). Extracelulární doména receptoru je tvořena pěti podjednotkami, které svou strukturou připomínají imunoglobuliny. K transmembránovému úseku těsně přiléhá intracelulární doména označovaná jako juxtamembránová (JM) a na tuto navazuje doména tyrozinkinázová (TKD), rozdělená hydrofilním inzertem na dvě části. Na extracelulární doménu se váže FLT3 ligand (FL), malý transmembránový cytokin typu I strukturně příbuzný KIT ligandu (KL) a CSF1, exprimovaný v řadě tkání včetně sleziny, brzlíku, srdce, placenty, plic, kosterního svalstva, ledvin a slinivky břišní. Spolu s dalšími cytokiny stimuluje růst a diferenciaci řady buněčných populací. Aby bylo zabráněno hyperstimulaci hematopoetických buněk, je jeho transport z buňky regulován. Narušení této regulace může přispívat k procesu leukemogeneze (3). Vazba FL na receptor aktivuje formaci homodimeru a transfosforylaci JM domén na tyrozinech Y589, Y591. Následná konformační změna odhalí akceptorové místo pro fosfát na tyrozinkinázových doménách (4). Aktivovaná kináza následně fosforyluje a aktivuje široké spektrum cytoplazmatických efektorů jako jsou SHC, SHP2, SHIP, CBL, GAB1, GAB2, GAP, STAT5, ERK1/2, GRB2, VAV, LYN, p90RSK, BAD, fosfolipáza C-γ a další. Vezmeme-li v úvahu buněčné funkce těchto molekul, je zřejmé, že hlavní signální dráhy vedoucí od FLT3 receptoru zahrnují RAS/MAPK, STAT5 a fosfatidylinositol-3-kinázovou (PI3) kaskádu. Aktivovaná PI3 kináza přenáší γ-fosfát na třetí hydroxylovou skupinu fosfatidylinositolu. Tento krok je nezbytný pro aktivaci proteinkinázy B (AKT), enzymu blokujícího apoptózu a regulujícího buněčný cyklus a mnoho dalších buněčných dějů. PI3 kináza dále fosforyluje mTOR, o kterém je známo, že prostřednictvím kinázy $p70^{S6k}$ a ribozomálního proteinu S6 ovlivňuje buněčný růst a proliferaci. Vazba adaptéru GRB2 na aktivní FLT3 receptor umožňuje aktivaci G-proteinu RAS, což je molekulární přepínač participující v celé řadě signálních drah ovlivňujících buněčné přežívání, translaci a proliferaci. RAS protein v aktivním stavu váže serin/threoninovou kinázu RAF, která dále fosforyluje MEK a ta následně aktivuje ERK proteiny. ERK proteiny jsou MAP kinázy v aktivním stavu translokované do jádra buňky, kde mohou fosforylovat a tím aktivovat řadu substrátů. Pozitivně ovlivňují transkripci C-Fos transkripčních faktorů, které spolu s C-Jun regulují aktivitu mnoha genů regulujících diferenciaci a proliferaci buněk. ERK dále fosforylují C-myc transkripční faktor, jež reguluje transkripci až 15 % všech genů. Dalším substrátem ERK kináz je např. ribozomální s6 kináza esenciální v procesu translace.

Exprese FLT3 receptoru

V roce 2008 publikoval Kikushige a kol. práci, která detailně rozebírá rozdílný profil exprese *FLT3* genu u myších a lidských hematopoetických buněk kostní dřeně a pupečníkové krve (5). Navazuje v ní na dvě předchozí publikace, které se zabývaly expresí *FLT3* genu v průběhu myší hematopoézy. Adolfssonova skupina publikovala přítomnost FLT3 proteinu u $CD34^+$ KLS buněčné populace, která si zachovává potenciál vývoje do granulocytární/monocytární linie a do T/B lymfoidní linie, ale nikoli do megakaryocytární/erytroidní linie (6). U myši je multipotentní hematopoetická aktivita omezena na malé procento hematopoetických kmenových buněk (HSCs) kostní dřeně s fenotypem c-Kit^+, Lin^-, Sca-1^+ (KLS buňky). Nejméně vyvinuté KLS buňky s dlouhodobou schopností sebeobnovy (LT-HSCs) neexprimují CD34 povrchový protein typický pro LT-HSCs hematopoézy lidské. U myši je CD34 protein exprimován až v buňkách s krátkodobou sebeobnovovací schopností (ST-HSCs) a v multipotentních progenitorových buňkách bez schopnosti sebeobnovy. Fakt že by část $CD34^+$ KLS buněk měla ztratit potenciál megakaryocytárního/erytroidního vývoje, napovídá existenci nějakého stadia společného granulocytům/monocytům a T a B lymfoidním buňkám (6). O rok později publikovaná práce Forsberga a kol. tato zjištění nepotvrdila a ukázala, že $FLT3^+$ KLS buňky jsou multipotentní a že vývojové stadium společné granulocytárním/monocytárním a lymfoidním liniím navržené Adolfssonem, není součástí hlavní vývojové cesty hematopoetických buněk (7). V pozdějších vývojových stadiích odvozených z ST-HSCs je FLT3 protein přítomen v multipotentních lymfoidních progenitorových buňkách (CLPs) a v malé části myeloidních progenitorů (CMPs) se slabým potenciálem vývoje do B-lymfoidní linie. U myši je FLT3 ligand nezbytný pro správný vývoj CLPs, je však postradatelný pro diferenciaci linie myeloidní. V buněčné populaci LT-HSCs u myši k expresi *FLT3* nedochází (8).

Přesná role FLT3 signalizace v procesu lidské hematopoézy zůstává dosud nejasná, i když je známo, že hraje důležitou úlohu v udržování a sebeobnově LT-HSCs, progenitorů granulocytárních a monocytárních (GMPs) a progenitorů lymfoidních. 40–80 % $CD34^+$ buněk kostní dřeně a pupečníkové krve člověka exprimuje *FLT3*. Na rozdíl od myši je *FLT3* hojně exprimován i v populaci LT-HSCs, dále v časných lymfoidních progenitorech i v populaci CMPs a v progenitorech granulocytů a monocytů (GMPs) (5). U myši i u člověka je exprese potlačena poté, co je buňka předurčena k diferenciaci do megakaryocytární/erytroidní linie (6). *FLT3* gen je hojně exprimován v blastech pacientů s AML a ALL a s menší intenzitou u CML pacientů v blastické krizi (9). Kromě hematopoetického systému byla přítomnost FLT3 pozorována také v placentě, gonádách či mozku, nicméně jeho funkce v těchto tkáních není známá (10).

Mutace ve *FLT3* genu

Aktivační mutace *FLT3* genu vedou ke konstitutivní aktivaci receptoru i v nepřítomnosti ligandu, což přispívá k deregulaci buněčného cyklu a tím i k procesu leukemické transformace. Rozlišujeme v zásadě dva typy takovýchto mutací. Prvním typem jsou délkové mutace

Trans 4 zlom 11.1.2010 8:15 Str. 231
proLékaře.cz | 1.4.2026

(*FLT3*-LM) postihující oblast juxtamembránové domény a druhým typem jsou bodové substituční nebo krátké deleční a inzerční mutace v tyrozinkinázové doméně (*FLT3*-TKD). Délkové mutace zahrnují interní tandemové duplikace (*FLT3*-ITD), které se nejčastěji vyskytují v exonu 14, ale mohou zasahovat až do intronu 14 a exonu 15 (exony 14, 15 byly dříve označovány jako exony 11, 12) (11). Velikost ITDs je velmi různá od 3 bp až po více než 400 bp a často jim předcházejí inzerce jednoho nebo několika málo nukleotidů. Délkové mutace jsou vždy in-frame, čtecí rámec zůstává zachován a vzniká tak funkční protein, nicméně tento má aberantní funkci. V důsledku mutace je narušena autoinhibiční konformace juxtamembránové domény a receptor tak zůstává stále v aktivním stavu (12). Příčina vzniku interních duplikací není dosud objasněna. Uvažuje se o důsledku vzniku vlásenkové struktury v palindromické sekvenci zpožďujícího se DNA vlákna při replikaci mající za následek vznik duplikace, selže-li mechanismus mismatch reparací (2).

Druhá skupina mutací (*FLT3*-TKD) postihuje vysoce konzervovanou sekvenci aktivační smyčky tyrozinkinázové domény, nejčastěji kodon D835, zásadní pro její regulaci. Aktivační mutace korespondujícího aminokyselinového zbytku byly nalezeny u řady dalších receptorů. Přestože oba typy mutací vedou ke konstitutivní aktivaci receptoru, signalizační dráhy aktivované FLT3-ITD a FLT3-TKD jsou odlišné. Signalizace FLT3-TKD podobně jako nemutovaného receptoru vede pouze k slabé fosforylaci STAT5 proteinů (13). Intenzivní STAT5 signalizace je zato pozorována v AML blastech s *FLT3*-ITD. Aktivované STAT proteiny jsou ve formě dimerů translokovány do jádra, kde se váží na regulační sekvence řady genů zúčastněných v procesu buněčné proliferace a tím ovlivňují jejich transkripční aktivitu. Distribuce STAT5 proteinů je signifikantně rozdílná u pacientů bez ITD mutace a s mutací. U první skupiny jsou STAT5 proteiny situovány převážně v cytoplazmě, zatímco u pacientů s *FLT3*-ITD převládá lokalizace jaderná, což by odpovídalo zvýšené transkripční aktivaci. Distribuce STAT5 proteinů je ovlivněna přítomností ITD mutace ve prospěch jaderné lokalizace (14).

Kromě dvou hlavních typů mutací byly ve *FLT3* genu dále identifikovány bodové mutace v exonu 14 v oblasti kódující juxtamembránovou doménu (15, 16). Exprese proteinu s tímto typem mutací vede k růstu myší, na interleukinu-3 závislé Ba/F3 hematopoetické buněčné linie i v nepřítomnosti tohoto cytokinu, k hypersenzitivitě vůči FL a k inhibici apoptózy (16). V porovnání s *FLT3*-ITD a *FLT3*-TKD mutacemi mají bodové mutace JM domény menší transformační potenciál ve smyslu míry autofosforylace a STAT5 aktivace. Krystalografická struktura FLT3 naznačuje narušení stability autoinhibiční konformace JM domény v důsledku těchto mutací. Jejich prevalence u AML pacientů se pohybuje okolo 1 % (17).

Mutace ve *FLT3* genu byly popsány u pacientů s AML, B-ALL a MDS. Dále se vyskytují přibližně v deseti procentech případů v chronické a blastické fázi Ph negativních a *JAK2* V617F negativních chronických myeloproliferativních neoplázií (18). *FLT3*-ITD nese asi 20–30 % dospělých pacientů s *de novo* AML a mutace v tyrozinkinázové doméně 7–12 %, z čehož vyplývá, že cca 40 % AML pacientů má nějakou mutaci ve *FLT3* genu. Nižší je prevalence ITD mutací u dětských AML, kde nepřesahuje 16 % a jejich výskyt je korelován s věkem. U AML pacientů nad deset let věku se prevalence *FLT3*-ITD přibližuje dospělým AML (2). Výskyt *FLT3*-ITD byl potvrzen ve všech FAB subtypech. Vysokou incidenci má u CN-AML a v M3 promyelocytární skupině. Velmi často se vyskytuje u pacientů s přestavbou t(6;9) (p23;q34) vedoucí k fúzi genů *DEK* (6p23) a *NUP214* (9q34) (19). Naopak ITD mutaci zřídka nacházíme u pacientů s cytogenetickým nálezem předznamenávajícím špatnou prognózu, jako je komplexní karyotyp, monozomie chromozomů 5 a 7, delece dlouhého raménka chromozomu 5 (del5q) či abnormality dlouhého raménka chromozomu 3. U pacientů s CBF-AML charakterizovaných přítomností fúzních genů *RUNX1-RUNX1T1* nebo *CBFB-MYH11* může být ojedinělý výskyt ITD mutací jedním z důvodů dobré prognózy.

FLT3 v procesu leukemogeneze

Předpokládá se, že pro efektivní leukemickou transformaci buňky je nutná kooperace dvou typů mutací. Jde jednak o mutace, které udělí buňce proliferační výhodu a podporují její přežívání a dále o mutace interferující s buněčnou diferenciací. Pokud by některý typ mutace pokrýval oba mechanismy účinku, přispívalo by to k jejímu malignímu potenciálu. Že jsou *FLT3*-ITD$^+$ buňky proliferačně autonomní je známo. Na základě detailní expresní analýzy devíti 32D myších myeloidních buněčných linií nesoucích *FLT3*-ITD se zdá, že by tato mutace mohla k procesu leukemogeneze do určité míry přispívat i svým vlivem na buněčnou diferenciaci. Expresní profil testovaných *FLT3*-ITD$^+$ buněk připomínal expresní profily ST-HSCs, MkEP/CMP/LMPP. Zvýšena byla aktivita genů pluripotence a genů typicky exprimovaných v časných erytroidních prekurzorech. Autoři ze zjištěných dat vyvozují potenciální vliv *FLT3*-ITD mutace na přeprogramování buňky směrem k méně diferencovaným vývojovým stadiím (20).

Dosud byla popsána celá řada mechanismů, kterými se mutace *FLT3* genu podílí na maligní transformaci buněk. Konstitutivní aktivace MAPK, PI3 kinázy a STAT5 signalizačních proteinů podporuje mitogenezi a přežívání, jak bylo popsáno dříve. Dále FLT3 signalizace stimuluje expresi antiapoptotického genu *Mcl-1*. Tento gen je nejsilněji exprimován v HSCs a v průběhu diferenciace do lymfoidních a myeloidních progenitorů jeho exprese postupně klesá (21). Inkubace CMPs a GMPs s FL *in vitro* výrazně brání apoptóze rychlou aktivací transkripce *Mcl-1* v těchto progenitorech. AML buňky s aktivační mutací ve *FLT3* genu mají velmi vysokou hladinu Mcl-1 a dojde-li k transdukci *FLT3*-ITD do HSCs, exprese *Mcl-1* narůstá na více než desetinásobek. Takové posílení buněčného přežívání kmenových buněk a myeloidních progenitorů s *FLT3* mutací může napomáhat vzniku AML.

Trans 4 zlom 11.1.2010 8:15 Str. 232
proLékaře.cz | 1.4.2026

Dalším mechanismem, kterým *FLT3*-ITD přispívá k transformaci buněk, je inhibice exprese SHP-1 fosfatázy (22). Za normálních okolností vede zvýšená aktivita tyrozinkináz ke zvýšené aktivaci příslušných fosfatáz, čímž je udržována rovnováha. Signalizace mutantního FLT3 receptoru vede k supresi proteinové tyrozinfosfatázy SHP-1. SHP-1 je tumor supresorový protein myelopoézy, který negativně reguluje aktivitu řady receptorů růstových faktorů a cytokinů. Ztráta jeho funkce nebo jeho deficience povede k hyperproliferativní odpovědi myelomonocytických buněčných populací na růstový faktor. Transformace TF-1 lidské leukemické buněčné linie vektorem s *FLT3*-ITD vede až k trojnásobnému snížení aktivity SHP-1 mechanismem suprese jeho genové exprese. Podobný případ byl pozorován u t(9;22) (q34;q11) translokace, kdy chimérická BCR-ABL kináza inhibuje expresi a fosfatázovou aktivitu SHIP proteinu – negativního regulátoru signalizační dráhy PI3 kinázy. Vzhledem k tomu, že SHP-1 negativně reguluje signalizační dráhy od řady jiných receptorů, není nereálný předpoklad, že *FLT3*-ITD mutace zvyšuje senzitivitu buňky k růstovým faktorům a cytokinům těchto receptorů.

Po transfekci myších hematopoetických progenitorových buněčných linií 32D a Ba/F3 vektorem nesoucím *FLT3*-ITD a ve *FLT3*-ITD$^+$ AML buněčných liniích MOLM-14 a MV-4-11 byla pozorována zvýšená produkce vysoce reaktivních volných kyslíkových radikálů (ROS), pravděpodobně v důsledku aktivace STAT5 a RAC1 G-proteinu. Generování ROS má za následek zvýšenou frekvenci zlomů v dsDNA a chyb v DNA reparačním mechanismu, což zvyšuje genomovou nestabilitu buněk (23).

Mutace v genech participujících v komplexním vícestupňovém procesu degradace FLT3 proteinu mohou být dalším mechanismem napomáhajícím buněčné transformaci u AML. Dosud bylo popsáno několik případů takovýchto mutací u pacientů s AML a MDS a to v genu pro ubiquitin ligázu c-Cbl (24). Dominantně negativní forma ubiquitin ligázy c-Cbl (Cbl-70Z) popř. její mutantní varianty Cbl-R420Q, Cbl-R420G a Cbl s delecemi exonů 8, 9 inhibují proces ubiquitinace a tím i následnou endocytózu a degradaci FLT3 proteinu v lysozomech, což vede k delší signalizaci receptoru.

Konstitutivně aktivovaný FLT3 receptor blokuje funkci CEBPA transkripčního faktoru v důsledku inaktivační fosforylace serinu 21 zprostředkované ERK1/2 kinázou (25). CEBPA je důležitým regulátorem granulopoézy, jeho exprese je detekovatelná v časných myeloidních prekurzorech v důsledku G-CSF signalizace a dále narůstá v průběhu buněčné diferenciace. Myši bez funkčního proteinu nemají žádné zralé neutrofilní granulocyty a v jejich kostní dřeni se hromadí myeloblasty. Kromě své úlohy v procesu diferenciace funguje CEBPA i jako inhibitor buněčného růstu a proliferace. Ztráta funkčního proteinu podporuje růst a dělení transformovaných buněk, což odpovídá vysokému obsahu blastů pozorovanému u AML pacientů s *FLT3*-ITD v době diagnózy (26).

Klinický význam *FLT3*-ITD mutací

Od roku 1996, kdy byly *FLT3*-ITD mutace poprvé identifikovány u pěti AML pacientů (27), proběhla celá řada studií zabývajících se maligním potenciálem a prognostickým významem těchto mutací. Práce zaměřené na dospělé CN-AML shodně potvrzují vysoké hodnoty WBC (více než dvakrát vyšší než u pacientů bez ITD), signifikantně zvýšený počet blastů v periferní krvi a kostní dřeni, snížení OS, DFS a EFS a zvýšení RR u pacientů s ITD mutací, zejména u těch s homozygotní sestavou nebo s vysokým podílem mutované alely (28). U dětských AML pacientů je působení mutace ještě nepříznivější a zdá se, že má vliv i na CR. Levis a Small ve své souhrnné práci udávají 19 % OS u dětských pacientů, číslo vyplývající z šesti nezávislých studií dětských AML. Děti bez mutace dosáhly v těchto studiích 58 % OS (2). Negativní vliv *FLT3*-ITD u CN-AML zmírňuje společný výskyt s mutacemi v *NPM1* genu, prognóza pacientů s oběma typy mutací se jeví spíše intermediární (29).

Klinické důsledky *FLT3*-ITD závisí na tom, s jakými dalšími aberacemi se tato mutace vyskytuje. Např. prognóza APL pacientů s fúzním genem *PML-RARA* je přítomností *FLT3*-ITD ovlivněna málo. Hodnoty CR, EFS, DFS a OS u APL pacientů s ITD mutací a bez ní jsou bez signifikantního rozdílu. Klinicky byla přítomnost ITD mutací u APL pacientů asociována s vysokým WBC, mikrogranulární morfologickou variantou APL (FAB-M3v) a s bcr3 zlomovým místem vedoucím ke vzniku krátké izoformy *PML-RARA* transkriptu. Tyto veličiny jsou spojeny s trombotickými komplikacemi u pacientů léčených podle protokolu zahrnujícího idaurubicin a ATRA (30).

Hodnotit klinický dopad ITD mutací u CBF-AML pacientů je obtížné vzhledem k jejich velmi nízké frekvenci, zdá se však, že v této podskupině leukemií znamenají zhoršení jinak relativně dobré prognózy.

Samotná přítomnost *FLT3*-ITD mutace předznamenává špatnou prognózu, nicméně je tu snaha o další stratifikaci pacientů s *FLT3*-ITD podle rizika určeného poměrem mutované a nemutované alely *FLT3* genu (ITD-AR), délkou ITD a různými expresními profily asociovanými s různými ITDs. Vzhledem k tomu že mutovaný receptor může vytvořit homodimer s dalším FLT3-ITD nebo heterodimer s nemutovaným FLT3, má poměr mutovaných a nemutovaných receptorů v membráně vliv na míru autofosforylace. Pacienti s nízkým ITD-AR mají podobné hodnoty OS a DFS jako pacienti bez mutace (19). Naopak vyšší podíl mutované alely dále navyšuje riziko relapsu a snižuje OS (29). Pacienti s homozygotní sestavou *FLT3*-ITD alel mají signifikantně vyšší WBC a kratší medián přežití než pacienti s detekovatelnou alelou bez mutace (31). Ve snaze o další stratifikaci pacientů podle ITD-AR byl některými autory navržen alelický práh, jehož překročení vymezuje pacienty s obzvlášť nepříznivou prognózou (19, 32). Hladina mutované alely se může lišit v době diagnózy a v době relapsu, stejně jako samotná přítomnost ITD mutace. Zpravidla dochází ke zvýšení podílu mutované alely v době relapsu, což naznačuje zvýšenou proliferaci

Trans 4 zlom 11.1.2010 8:15 Str. 233
proLékaře.cz | 1.4.2026

FLT3-ITD pozitivního buněčného klonu zodpovědného za recidivu choroby (33).

Ve snaze určit, zda má délka interní tandemové duplikace nějaký prognostický význam, porovnávali různí autoři CR, OS, DFS, RFS a další parametry u *FLT3*-ITD+ pacientů rozdělených do podskupin podle délky inzertu. Výsledky těchto srovnání byly nicméně dost odlišné. Ponziani a kol. nenašli žádnou korelaci mezi délkou ITD a dosažených hodnot CR, DFS, OS, WBC či procenta blastů v kostní dřeni, jediný parametr, ve kterém pozorovali signifikantní rozdíl, byl zvýšený počet blastů v periferní krvi u skupiny s delší ITD (nad 33bp) (34). Naproti tomu Stirewalt a kol. pozorovali korelaci délky ITD s klesajícími hodnotami CR, OS a DFS. Možným vysvětlením by snad mohla být částečně zachovaná autoinhibiční funkce JM domény u kratšího inzertu, popř. může mít délka ITD vliv na to, jaké efektory jsou schopné vazby na receptor (35). Na tuto publikaci reagovali opačným výsledkem Kuseca a kol., kteří pozorovali lepší OS u pacientů s delším inzertem (36). Kontroverzní výsledky různých pracovních skupin by naznačovaly, že spíše než délka ITD jako absolutní hodnota, je to typ inzertu ve smyslu jeho konkrétní lokalizace a délky, který determinuje funkci receptoru. Meschinchi a kol. pozorovali ve skupině 59 dětských AML pacientů s *FLT3*-ITD, že ve všech případech byl duplikován alespoň jeden z kodonů Y591-Y597 kódujících oblast přepínače a zipu JM domény. Arginin v pozici 595 se ve funkčních testech ukázal jako klíčový pro stabilizaci aktivní konformace FLT3-ITDs. 24 pacientů mělo duplikované kodony Y589/591- vazebná místa pro STAT5 proteiny. Delší varianta ITD korelovala v této studii se zhoršeným RFS (37).

Klinický význam *FLT3*-TKD mutací

FLT3-ITD a *FLT3*-TKD mutace vedou shodně ke konstitutivní aktivaci receptoru, mají však odlišný klinický dopad. Na rozdíl od *FLT3*-ITD není klinický význam TKD zcela jasný a výsledky popsané v literatuře jsou poněkud kontroverzní. TKD mutace jsou asociovány s vysokými hodnotami WBC a se zvýšeným podílem blastů v kostní dřeni, rozdíl ale není tak výrazný jako u *FLT3*-ITD. Někteří autoři nedosáhli statisticky signifikantních rozdílů v hodnotách DFS u pacientů s mutací a bez ní (38, 39), zatímco jiní prokázali negativní vliv TKD mutací na DFS (40, 41). Maed a kol. zaznamenali dokonce pozitivní prognostický vliv *FLT3*-TKD u pacientů s vyšší hladinou mutované alely (nad 25 %) (10). Možný vliv *FLT3*-TKD na zhoršení prognostických parametrů u pacientů s CBF-AML byl popsán nedávno, dále jej však bude nutné ověřit na větších souborech pacientů (42). Rozpor ve výsledcích může být ovlivněn právě nízkou frekvencí TKD mutací. Dosud nejrozsáhlejší studii jejich prognostické relevance publikovali v roce 2008 Bacher a kol., když testovali 3082 nově diagnostikovaných AML pacientů s normálním karyotypem i s různými cytogenetickými přestavbami (43). Mutaci TKD našli u 147 (4,8 %) pacientů, z nichž 88 mělo normální cytogenetický nález. Vedle korelace s normálním karyotypem pozorovali vysokou incidenci TKD mutací u pacientů s *NPM1*, *CEBPA* a *N-RAS* mutacemi. Společný výskyt mutací *FLT3*-TKD a *FLT3*-ITD nebo *KIT*D816 byl vzácný. Ve srovnání s nemutovaným *FLT3* genem měli CN-AML pacienti s *FLT3*-TKD zvýšený počet leukocytů v periferní krvi, vliv na OS, EFS a CR se však autorům prokázat nepodařilo. V důsledku nízké frekvence TKD mutací v cytogenetických podskupinách s t(8;21), inv(16)/t(16;16), inv(3)/t(3;3), s *MLL* translokacemi, trizomií chromozomu 8 nebo s komplexním karyotypem, nebylo u těchto možné vliv TKD mutací posoudit. V podskupině pacientů s fúzním genem *PML-RARA* došlo k výraznému snížení hodnot EFS, podobně TKD mutace zhoršují už tak nepříznivou prognózu u *MLL*-PTD nebo *FLT3*-ITD pozitivních pacientů. Naopak společný výskyt *FLT3*-TKD s mutacemi v *NPM1* a *CEBPA* genech měl v této studii pozitivní vliv na EFS.

FLT3 mutace jako marker MRD

Časná detekce minimální reziduální nemoci (MRD) umožňuje zahájit terapeutickou intervenci ještě před zjevným klinickým relapsem. U mnoha AML pacientů lze MRD sledovat pomocí kvantitativní real-time PCR (RQ-PCR) vhodných molekulárních markerů, nejčastěji fúzních genů *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11* nebo *PML-RARA*. Analogicky u pacientů s normálním karyotypem je vysoce žádoucí identifikace molekulárního markeru umožňujícího vysoce citlivou kvantitativní detekci. *FLT3*-ITD patří k nejčastějším mutacím dětských i dospělých AML a 90 % pacientů s touto mutací má normální karyotyp. Monitorování hladiny mutantní alely s ITD by mohlo být pro tyto pacienty adekvátním způsobem sledování MRD (44). Komplikací zpochybňující použitelnost této mutace pro detekci MRD je její nestabilita v průběhu choroby. U 4–27 % pacientů pozitivních při záchytu na přítomnost *FLT3*-ITD mutace není tento marker detekován při relapsu onemocnění nebo dochází k jeho změně (44). Ztráta specifické cílové sekvence pro monitorování MRD metodou PCR pak může vést k falešně negativním výsledkům.

Je-li mutace časnou událostí leukemické transformace a je-li přítomna v leukemické kmenové či progenitorové buňce, expanze takovéto buněčné populace při relapsu by korelovala se zvýšením hladiny mutantní alely s ITD pozorovaným u některých pacientů. Ve frakci leukemických buněk pak může dojít až ke ztrátě nemutované alely v důsledku mitotické rekombinace, genové konverze nebo ztráty celého chromozomu 13 a následné duplikace homologního chromozomu s alelou mutantní. Vzhledem k tomu že u části pacientů je mutace v průběhu nemoci ztracena, je pravděpodobné, že v těchto případech dochází ke vzniku interní tandemové duplikace později, v subpopulaci leukemických buněk, které jsou potlačeny chemoterapií a při relapsu už k jejich proliferaci nedochází. Tuto skutečnost podporují zjištěné nízké hodnoty alelického poměru mutované alely u některých pacientů s AML. Pokud by byla ITD mutace přítomna už v leukemické kmenové buňce (LSC), očekávaný poměr mutovaných a nemutovaných alel v buněčné populaci z této LSC odvozené, by byl roven jedné. Očekávaný poměr neod-

Trans 4 zlom 11.1.2010 8:15 Str. 234
proLékaře.cz | 1.4.2026

povídá hodnotám zjištěným u části pacientů a to ani tehdy, vezmeme-li v úvahu kontaminaci vzorku leukemických buněk buňkami netransformovanými a vztáhneme-li hodnotu alelického poměru k procentu blastů ve vzorku.

Podobně jako v případě *FLT3*-ITD může při recidivě nemoci dojít ke ztrátě TKD mutace. Ani tato proto není ideálním markerem pro sledování MRD a pro časnou detekci molekulárního relapsu (32).

FLT3 inhibitory

Publikovaná data naznačují, že přítomnost ITD mutace uděluje leukemickým kmenovým buňkám chemorezistenci spojenou s vyšším rizikem relapsu, která se promítá do snížených hodnot OS a DFS. U pacientů s *FLT3*-ITD byly proto aplikovány agresivnější léčebné postupy, včetně intenzivnější konsolidační terapie s vysokými dávkami cytosin arabinosidu, autologní transplantace krvetvorných buněk nebo u mladších pacientů s vhodným dárcem transplantace alogenní. Transplantace může vést k určitému snížení hodnot RR u pacientů s ITD mutací, nicméně vyžaduje velmi pečlivé zvážení všech prognostických parametrů před volbou tohoto radikálního kroku. Samotná přítomnost ITD mutace není v současné době považována za dostatečný důvod pro rozhodnutí, zda transplantovat či nikoli (45, 46). Ve snaze zmírnit vedlejší účinky spojené s výše jmenovanými léčebnými postupy, jsou vyvíjeny nové léčebné strategie, z nichž by pacienti s *FLT3* mutacemi mohli přednostně profitovat. Díky vysoké prevalenci a prognostické relevanci mutací ve *FLT3* genu se tento jeví být vhodným kandidátním genem pro terapii cílenou (47). V posledních letech jsou proto vyvíjeny FLT3 inhibitory, nejčastěji heterocyklické sloučeniny s purinovým jádrem, které kompetitivním způsobem brání vazbě ATP na tyrozinkinázový receptor. Zatím jsou v různých fázích preklinických a klinických testů, jejichž průběžné výsledky se nezdají být tak optimistické, jak se očekávalo na základě zkušeností s tyrozinkinázovými inhibitory používanými při léčbě CML. Toto zjištění není překvapivé vzhledem k faktu, že transformace hematopoetické buňky závisí na více než jednom genetickém zásahu a FLT3 inhibitory představují cílenou terapii pouze proti aberantní aktivitě jedné tyrozinkinázy zúčastněné v maligní transformaci buňky. Jako první byly testovány inhibitory AG1295, AG1296, po nich následovaly PKC412 (midostaurin), CEP-701 (lestaurtinib), SU11248 (sunitinib), MLN518 (tandutinib), SU5416 (semaxinib), CHIR-258, Ki23819, AG1295, BAY-93006 (sorafinib), ABT869 a další. FLT3 inhibitory vykazují klinickou aktivitu vedoucí k eliminaci blastů v periferní krvi u 30–50 % AML pacientů, v menším procentu případů až trojnásobné redukci počtu blastů v kostní dřeni a několik málo pacientů dosáhlo v průběhu klinických testů remise (48). Aby měl FLT3 inhibitor dostatečný klinický efekt, musí být aktivita FLT3 receptoru snížena velmi výrazně (pod hladinu 10 % své bazální hodnoty). Klinický efekt se nicméně zdá být tranzientní s délkou trvání v řádu týdnů až měsíců. Proto probíhá v současné době několik kombinovaných klinických testů s povzbudivými výsledky, při nichž jsou FLT3 inhibitory podávány spolu s běžnými chemoterapeutiky (cytarabin, daunorubicin) a to jak u nově diagnostikovaných, tak u relabujících AML pacientů. Problémem léčby FLT3 inhibitory není jen jejich dočasný klinický efekt, ale i pozorovaná rezistence vůči jednotlivým inhibitorům, podmíněná různými mechanismy. Samotný typ mutace může navozovat rezistenci vůči konkrétním inhibitorům, v jiném případě může takováto rezistenci navozující mutace vzniknout sekundárně. Dochází ale i k případům, kdy je FLT3 receptor inhibován a cílové proteiny, jejichž funkce je normálně závislá na FLT3 signalizaci, jsou aktivní. Možným vysvětlením je aktivace alternativních signalizačních drah vedoucích k podobnému aktivačnímu výsledku.V některých buněčných liniích rezistentních vůči inhibitorům byly identifikovány aktivační mutace v genu *N-RAS*, není ale jasné jakým mechanismem je zachována aktivace signalizačních drah v buňkách s inhibovaným receptorem, ve kterých nebyly nalezeny jiné RTKs mutace. Jedná-li se o důsledek zvýšené exprese dalších RTKs pozorované u buněk s potlačenou FLT3 aktivitou, nebo zde hrají roli další mutace v AML blastech které mohou podporovat progresi leukemogeneze nezávisle na FLT3 inhibici, je zatím nejasné (49). Inkorporace FLT3 inhibitorů do stávajících chemoterapeutických léčebných protokolů nebo jejich vzájemná kombinace podobně jako kombinace s inhibitory jiných proteinů na stejné signalizační dráze (např. inhibitory MEK-ERK signalizační kaskády, mTOR inhibitory či inhibitory HSP90 chaperonů) může pomoci překonat výše zmíněné problémy. FLT3 inhibitory jsou obecně dobře snášeny. V souladu s předpokladem, že přežití buněk s aktivními onkogeny bývá závislé na mutantní signalizaci, přednostně senzitivní vůči FLT3 inhibitorům jsou právě buňky s mutací. Cytotoxický efekt inhibitorů vůči buňkám s nemutovaným FLT3 je daleko menší.

Kromě FLT3 inhibitorů jsou dále za účelem léčby vyvíjeny specifické protilátky, které se váží na FLT3 receptor a znemožňují tak jeho aktivaci ligandem.

Závěr

Od objevu *FLT3*-ITD mutace uplynulo již třináct let a za tuto dobu proběhla celá řada studií zabývajících se identifikací dalších mutací v tomto genu, jejich prognostickou relevancí a mechanismem účinku. Bylo prokázáno, že interní tandemové duplikace *FLT3* genu mají negativní vliv na prognózu pacientů s CN-AML, vedou ke snížení OS, DFS a EFS a zvyšují riziko relapsu nemoci. Přestože mutace v tyrozinkinázové doméně *FLT3* genu vedou rovněž ke konstitutivní aktivaci receptoru, jejich prognostický význam není dosud zcela jasný. *FLT3* aktivační mutace patří k nejčastějším molekulárním aberacím u pacientů s CN-AML a zdají se být vhodným kandidátem na cílenou terapii tyrozinkinázovými inhibitory. První výsledky klinických testů jednotlivých FLT3 inhibitorů jsou již k dispozici. I když nejsou jejich výsledky tak optimistické, jak se původně čekalo, kombinace těchto in-

Trans 4 zlom 11.1.2010 8:15 Str. 235
proLékaře.cz | 1.4.2026

hibitorů s dalšími léčebnými postupy jistě znamená pro pacienty s AML lepší vyhlídky do budoucna.

Seznam použitých zkratek

AML – acute myeloid leukemia
B-ALL – B acute lymphoblastic leukemia
CBF-AML – core binding factor acute myeloid leukemia
CEBPA – CCAAT/enhancer-binding protein, alpha
CML – chronic myeloid leukemia
CMPs – common myeloid progenitors
CLPs – common lymphoid progenitors
CN-AML – cytogenetically normal acute myeloid leukemia
CR – complete remission
CRD – complete remission duration
CSF1R – colony-stimulating factor 1 receptor
DFS – disease-free survival
EFS – event free survival
FL – FMS-like tyrosine kinase 3 ligand
FLK2 – fetal liver kinase 2
FLT3 – FMS-like tyrosine kinase 3
FLT3-ITD – *FLT3* internal tandem duplication
FLT3-LM – *FLT3* length mutations
FLT3-TKD – *FLT3* tyrosine kinase domain
G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor
GMPs – granulocyte/macrophage progenitors
HSCs – hematopoietic stem cells
LMPP – lympho-myeloid progenitor
LT-HSCs – long-term hematopoietic stem cells
LSC – leukemic stem cell
MAPK – mitogen-activated protein kinase
MDS – myelodysplastic syndrome
MkEP – megakaryocyte/erythroid progenitor
MRD – minimal residual disease
NGFR – nerve growth factor receptor
NPM – nucleophosmin
OS – overall survival
PDGFR – platelet-derived growth factor receptor
RFS – relapse-free survival
ROS – reactive oxygen species
RR – relapse rate
RTKs – receptor tyrosine kinases
RT-PCR – real-time polymerase chain reaction
SHIP – SH2-containing inositol phosphatase
SHP-1 – Src homology (SH) 2 domain-containing protein-tyrosine phosphatase
STK1 – stem cell kinase 1
STAT – signal transducer and activator of transcription
ST-HSCs – short-term hematopoietic stem cells
VEGFR – vascular endothelial growth factor receptor
WBC – white blood cell

Literatura

1. Parcells B. W, Ikeda KA, Simms-Waldrip T, et al. FMS-like tyrosine kinase 3 in normal hematopoiesis and acute myeloid leukemia. Stem Cells 2006; 24: 1174-1184.
2. Levis M, Small D. FLT3: ITDoes matter in leukemia. Leukemia 2003; 17: 1738-1752.
3. Wodnar-Filipowicz A. Flt3 ligand: Role in control of hematopoietic and immune functions of bone marrow. New Physiol Sci 2003; 18: 247-251.
4. Griffith J, Black J, Fearman C, et al. The structural basis for autoinhibition of FLT3 by the juxtamembrane domain. Mol Cell 2004; 13: 169-178.
5. Kikushige Y, Yoshimoto G, Miyamoto T, et al. Human FLT3 is expressed at the hematopoietic stem cell and the granulocyte/macrophage progenitor stages to maintain cell survival. J Immunol 2008; 180: 7358-7367.
6. Adolfsson J, Mansson R, Buza-Vidas N, et al. Identification of Flt3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential a revised road map for adult blood lineage commitment. Cell 2005;121: 295-306.
7. Forsberg EC, Serwold T, Kogan S, et al. New evidence supporting megakaryocyte-erythrocyte potential of flk2/flt3+ multipotent hematopoietic progenitors. Cell 2006; 126: 415-426.
8. Adolfsson J, Borge OJ, Bryder D, et al. Upregulation of Flt3 expression within the bone marrow Lin⁻, Sca1⁻, c-kit⁻ stem cells compartment is accompanied by loss of self-renewal capacity. Immunity 2001; 15: 659-669.
9. Carow CE, Levenstein M, Kaufmann SH, et al. Expression of the hematopoietic growth factor receptor FLT3 (STK-1/Flk2) in human leukemias. Blood 1996; 87: 1089-1096.
10. Mead AJ, Linch DC, Hills RK, et al. FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia. Blood 2007; 110: 1262-1270.
11. Schnittger S, Schoch C, Dugas M, et al. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: Correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. Blood 2002; 100: 59-66.
12. Griffith J, Black J, Fearman C, et al. The structural basis for autoinhibition of FLT3 by the juxtamembrane domain. Mol Cell 2004; 13: 169-178.
13. Choudhary C, Schwable J, Brandts C. AML-associated Flt3 kinase domain mutations show signal transduction differences compared with Flt3 ITD mutations. Blood 2005; 106: 265-273.
14. Bunting KD, Xie XY, Warshawsky I, Hsi ED. Cytoplasmic localization of phosphorylated STAT5 in human acute myeloid leukemia is inversly correlated with Flt3-ITD. Blood 2007; 110: 2775-2776.
15. Stirewalt DL, Meschinchi S, Kussick SJ, et al. Novel FLT3 point mutations within exon 14 found in patients with acute myeloid leukaemia. Brit J Hematol 2004; 124: 481-484.
16. Reindl C, Bagrintseva K, Vempati S, et al. Point mutations in the juxtamembrane domain of FLT3 define a new class of activating mutations in AML. Blood 2006; 107: 3700-3707.
17. Renneville A, Roumier C, Biggio V, et al. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. Leukemia 2008; 22: 915-931.
18. Lin P, Jones D, Medeiros LJ, et al. Activating FLT3 mutations are detectable in chronic and blast phases of chronic myeloproliferative disorders other than chronic myeloid leukemia. Am J Clin Pathol 2006; 126: 530-533.
19. Thiede C, Steudel C, Mohr B, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. Blood 2002; 99: 4326-4335.

Trans 4 zlom 11.1.2010 8:15 Str. 236
proLékaře.cz | 1.4.2026

20. Peková S, Dvořák M. Molecular variability of FLT3/ITD mutants and their impact on the differentiation program of 32D cells: implication for the biological properties of AML blasts. Transfuze Hematol dnes 2009; 15: 38-39.
21. Opterman JT, Iwasaki H, Ong CC, et al. Obligate role of anti-apoptotic MCL-1 in the survival of hematopoietic stem cells. Science 2005; 307: 1101-1104.
22. Chen P, Levis M, Brown P, et al. FLT3/ITD mutation signaling includes suppression of SHP-1. J Biol Chem 2004; 280: 5361-5369.
23. Sallmyr A, Fan J, Datta K, et al. Internal tandem duplication of FLT3 (FLT3/ITD) induces increased ROS production, DNA damage, and misrepair: implications for poor prognosis in AML. Blood 2008; 111: 3173-3182.
24. Reindl C, Quentmeier H, Petropoulos K, et al. CBL exon 8/9 mutants activate the FLT3 pathway and cluster in core binding factor/11q deletion acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome subtypes. Clin Cancer Res 2009; 1: 2238-2247.
25. Radomska HS, Basseres DS, Zheng R, et al. Block of C/EBP alpha function by phosphorylation in acute myeloid leukemia with FLT3 activating mutations. J Exp Med 2006; 20: 371-381.
26. Zheng R, Friedman AD, Levis M, et al. Internal tandem duplication mutation of FLT3 blocks myeloid differentiation through suppression of C/EBPalpha expression. Blood 2004; 103: 1883-1890.
27. Nakao M, Yokota S, Iwai T, et al. Internal tandem duplication of the flt3 gene found in acute myeloid leukemia. Leukemia 1996; 10: 1911-1918.
28. Gregory TK, Wald D, Chen Y, et al. Molecular prognostic markers for adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. J Hematol Oncol 2009; 2: 23.
29. Gale RE, Green C, Allen C, et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. Blood 2008; 111: 2776-2784.
30. Mrózek K, Bloomfield CD. Clinical significance of the most common chromosome translocations in adult acute myeloid leukemia. J Natl Cancer Inst Monographs 2008; 39: 52-57.
31. Whitman SP, Archer KJ, Feng L, et al. Absence of the wild-type allele predicts poor prognosis in adulte de novo myeloid leukemia with normal cytogenetics and the internal tandem duplication of FLT3: a cancer and leukemia group B study. Cancer Res 2001; 61: 7233-7239.
32. Meshinchi S, Todd AA, Stirewalt DL. Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML. Blood 2006; 108: 3654-3661.
33. Shih LY, Huang CF, Wu JH. Internal tandem duplication of FLT3 in relapsed acute myeloid leukemia: a comparative analysis of bone marrow samples from 108 adult patients at diagnosis and relapse. Blood 2002; 100: 2387-2392.
34. Ponziani V, Gianfaldoni G, Mannelli F, et al. The size of duplication does not add to the prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication in acute myeloid leukemia patients. Leukemia 2006; 20: 2074-2076.
35. Stirewalt DL, Kopecky KJ, Meshinchi S, et al. Size of FLT3 internal tandem duplication has prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia. Blood 2006; 107: 3724-3726.
36. Kusec R, Jaksic O, Ostojic S, et al. More on prognostic significance of FLT3/ITD size in acute myeloid leukemia (AML). Blood 2006; 108: 405-406.
37. Meschinchi S, Stirewalt D, Todd AA, et al. Structural and numerical variation of FLT3/ITD in pediatric AML. Blood 2008; 111: 4930-4933.
38. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. Blood 2001; 97: 2434-2439.
39. Frohling S, Schlenk RF, Breitruck J, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML study group Ulm. Blood 2002; 100: 4372-4380.
40. Yanada M, Matsuo K, Suzuki T, et al. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. Leukemia 2005; 19:1345-1349.
41. Whitman SP, Ruppert AS, Radmacher MD, et al. FLT3 D835/I836 mutations are associated with poor disease-free survival and distinct gene-expression signature among younger adults with de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia lacking FLT3 internal tandem duplications. Blood 2008; 111: 1552-1559.
42. Marková J, Trnková Z, Michková P, et al. Monitoring of minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia and the impact of C-KIT, FLT3 and JAK2 mutations on clinical outcome. Leukemia Lymphoma 2009; 14: 1-13.
43. Bacher U, Haferlach C, Kern W, et al. Prognostic relevance of FLT3-TKD mutations in AML: the combination matters-an analysis of 3082 patients. Blood 2008; 111: 2527-2537.
44. Beretta C, Gaipa G, Rossi V, et al. Development of a quantitative-PCR method for specific FLT3/ITD monitoring in acute myeloid leukemia. Leukemia 2004; 18: 1441-1444.
45. Gale RE, Hills R, Panagiotis D, et al. No evidence that FLT3 status should be considered as an indicator for transplantation in acute myeloid leukemia (AML): an analysis of 1135 patients, excluding acute promyelocytic leukemia, from the UK MRC AML 10 and 12 trials. Blood 2005; 106: 3658-3665.
46. Doubek M, Muzik J, Szotkowski T, et al. Is FLT3 internal tandem duplication significant indicator for allogenic transplantation in acute myeloid leukemia? An analysis of patients from the Czech Acute Leukemia Clinical Register (ALERT). Neoplasma 2007; 54: 89-94.
47. Levis M, Small D. FLT3 tyrosine kinase inhibitors. Int J Hematol 2005; 82: 100-107.
48. Small D. Targeting FLT3 for treatment of leukemia. Semin Hematol 2008; 45: 17-21.
49. Piloto O, Wright M, Broen P, et al. Prolonged exposure to FLT3 inhibitors leads to resistance via activation of parallel signaling pathways. Blood 2007; 109: 1643-1652.

Mgr. Jana Gazdová
Centrum molekulární biologie a genové terapie
Interní hematoonkologická klinika
FN Brno
Černopolní 9
625 00 Brno
e-mail: Jana.Gazdova@fnbrno.cz

Korespondující autor
Ing. Dana Dvořáková, CSc.
Centrum molekulární biologie a genové terapie
Interní hematoonkologická klinika
FN Brno
Černopolní 9
625 00 Brno
e-mail: ddvorak@fnbrno.cz

Do redakce doručeno: 24. 8. 2009
Přijato: 23. 9. 2009