

STEČENI POREMEĆAJI GENOMA SEKUNDARNIH TUMORSKIH BOLESTI

ISKRA PETKOVIĆ*

Suvremene metode liječenja tumorskih bolesti često su popraćene kasnim komplikacijama i pojavom sekundarnih tumora nekoliko godina nakon postavljanja dijagnoze primarne bolesti. Česte komplikacije liječenja tumorskih bolesti su mijelodisplazije ovisne o liječenju (tMDS) i akutna mijeloična leukemija (tAML). U ovom radu dat je kratak pregled dosad objavljenih rezultata ispitivanja genoma u bolesnika s tMDS-om i tAML-om, a prema podacima iz svjetske znanstvene literature. Posebna pozornost posvećena je stečenim promjenama genoma, specifičnim klonskim poremećajima kromosoma, mutacijama gena, međudjelovanju citotoksičnog agensa i genoma te citogenetičkim, molekularnim i kliničkim svojstvima pojedinih podtipova bolesti. Rezultati objavljenih istraživanja upućuju na to da su citogenetičke i molekularne analize genoma od praktične koristi u dijagnostici i praćenju bolesnika s tMDS/tAML-om, a ujedno pridonose razumijevanju procesa leukemogeneze i uloge citotoksičnih agensa u etiologiji akutnih leukemija.

Deskriptori: SEKUNDARNI TUMORI – etiologija, genetika; MIJELOIČNA LEUKEMIJA, AKUTNA - etiologija, genetika; MIJELODISPLASTIČNI SINDROMI - etiologija, genetika; PROTUTUMORSKI LIJEKOVI – neželjeni učinci; KROMOSOMSKE ABERACIJE

UVOD

Citogenetika je pridonijela razumijevanju uloge genetičkog materijala u procesu zloćudne preobrazbe stanica. Ispitivanja genoma otkrila su osnovna citogenetička svojstva populacije tumorskih stanica, omogućila preciznu lokalizaciju gena koji imaju bitnu ulogu u etiologiji zloćudnih novotvorina te pridonijela razumijevanju molekularnih mehanizama aktivacije onkogeni i inaktivacije tumor supresorskih gena u nastanku i evoluciji tumorske bolesti. Nove spoznaje su naišle na praktičnu primjenu pa su danas genetička ispitivanja sastavni dio rutinske dijagnostičke obrade i praćenja bolesnika s tumorskom bolešću.

U posljednjih dvadesetak godina postignut je znatan napredak u liječenju bolesnika s tumorskom bolešću. Danas su na raspolaganju agresivni protokoli liječenja i primjenjuje se učinkovitije potporno liječenje, što poboljšava postizanje kompletne remisije, omogućava dugotrajnije preživljavanje, a u mnogim slučajevima izlječenje. Tako je, primjerice, prije pedesetak godina uspješno liječeno samo 30% oboljelih, a danas se u više od 75% djece s tumorskom bolešću postiže dugotrajno preživljavanje i izlječenje. Nove metode liječenja, međutim, imaju neželjenih posljedica za bolesnika. Citotoksični agensi uništavaju stanicu tumora, ali imaju štetan učinak i za zdravu stanicu organizma, čime povećavaju rizik zloćudne preobrazbe stanica i pojavu nove (sekundarne) tumorske bolesti nekoliko godina nakon prestanka liječenja.

ne remisije, omogućava dugotrajnije preživljavanje, a u mnogim slučajevima izlječenje. Tako je, primjerice, prije pedesetak godina uspješno liječeno samo 30% oboljelih, a danas se u više od 75% djece s tumorskom bolešću postiže dugotrajno preživljavanje i izlječenje. Nove metode liječenja, međutim, imaju neželjenih posljedica za bolesnika. Citotoksični agensi uništavaju stanicu tumora, ali imaju štetan učinak i za zdravu stanicu organizma, čime povećavaju rizik zloćudne preobrazbe stanica i pojavu nove (sekundarne) tumorske bolesti nekoliko godina nakon prestanka liječenja.

SEKUNDARNE TUMORSKE BOLESTI

Sekundarne tumorske bolesti mogu biti leukemije, limfomi ili solidni tumori. Malo znamo o učestalosti sekundarnih neoplazmi nakon liječenja tumorskih bolesti dječje dobi. Dosad provedena istraživanja su malobrojna i nedostatna. Neglia i sur. procjenjuju da učestalost sekundarnih neoplazmi iznosi 3,2% 20 godina nakon provedenog liječenja primarne bolesti (1). Hijiyama i sur. upućuju na to da učestalost sekundarnih neoplazmi postupno raste i iznosi 4,17%

nakon 15 godina, odnosno 10,85% 30 godina nakon postavljanja dijagnoze akutne limfocitne leukemije u djece, a to znači da bolesnici nose 13,5 puta veći rizik u odnosu na opću populaciju (2). Provedena istraživanja upućuju na to da je rizik za pojavu sekundarnog tumora varijabilan i ovisan o (1):

1. histološkom tipu primarnog tumora
2. primijenjenom protokolu liječenja
3. primijenjenoj dozi lijeka
4. dužini trajanja izlječenja primarne bolesti
5. bolesnikovom spolu i dobi
6. genetičkoj predispoziciji bolesnika.

Provedena ispitivanja pokazuju da je u osoba koje su u dječjoj dobi preboljele Hodgkinovu bolest rizik razvitka kasnih komplikacija liječenja osobito visok (3). Procjenjuje se da je u takvih osoba 18 puta veći rizik za pojavu karcinoma štitne žlijezde i 30 puta veći rizik za razvitak tumora dojke, 30 godina nakon postavljanja dijagnoze primarne bolesti u odnosu na opću populaciju (4).

SEKUNDARNE MIJELODISPLAZIJE I AKUTNE MIJELOIDNE LEUKEMIJE

Leukemije su najčešće sekundarne tumorske bolesti i mogu biti akutne limfo-

* Klinika za dječje bolesti Zagreb, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Iskra Petković, dr. rer. nat., Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, 10000 Zagreb

citne (ALL) i akutne mijeloidne leukemije (AML). Sekundarni ALL-i (sALL-i) relativno su rijetki, dok su sekundarni AML-i (sAML-i) znatno češća pojava (5). Procjenjuje se da sALL-i čine 10,5%, a sAML-i 89,5% svih sekundarnih leukemija (6).

Pojam sekundarne leukemije nije jasno definiran i prema podacima iz literature obuhvaća (6-8):

1. akutnu leukemiju koja se javlja nakon mijelodisplazije ili kroničnog mijeloproliferativnog poremećaja,
2. akutnu leukemiju koja se javlja nakon liječenja citotoksičnim lijekovima i/ili zračenjem u slučajevima tumorskih ili netumorskih bolesti. Da bi se naglasila ijtrogena priroda bolesti, u literaturi se često rabi naziv „mijelodisplazija ovisna o liječenju“ (tMDS) (therapy - related MDS) ili „akutna mijeloidna leukemija ovisna o liječenju“ (tAML) (therapy - related AML). Razlikuju se dvije skupine mijelodisplazija i akutnih mijeloidnih leukemija ovisnih o liječenju, i to (8):
 - tMDS/tAML nakon provedenog liječenja zloćudnih novotvorina,
 - tMDS/tAML nakon liječenja drugih tipova bolesti kao što su, primjerice, autoimune bolesti,
3. akutna leukemija koja se povezuje sa štetnim djelovanjem čimbenika okoline,
4. akutna leukemija u osoba koje su preboljele tumorsku bolest, a nisu liječene citotoksičnim agensima.

Procjenjuje se da tAML čine 5-10% svih AML-a (5). Akutna mijeloidna leukemija ovisna o liječenju relativno je česta komplikacija liječenja tumorskih bolesti i javlja se nakon liječenja različitih novotvorina kao npr. Hodgkinove bolesti, non-Hodgkinovog limfoma, akutne limfocitne leukemije, multiplog mijeloma, tumora jajnika i drugih. Smatra se da je rizik pojave AML-a u osoba koje su preboljele Hodgkinovu bolest 10 do 80 puta veći u odnosu na opću populaciju (6). Ispitivanja pokazuju da rizik pojave tAML-a iznosi 3,8% 6 godina nakon uspješno liječenog ALL-a u dječjoj dobi, i 4,6%-8,0% 10 godina nakon liječenja non-Hodgkinovog limfoma (6).

STEČENI POREMEĆAJI GENOMA U BOLESNIKA S tMDS-OM I tAML-OM

O liječenju ovisne mijelodisplazije i akutne mijeloidne leukemije heterogena

su skupina bolesti. Citogenetička i molekularna ispitivanja genoma otkrila su veliku varijabilnost klonalnih poremećaja kromosoma i mutacija gena. Stečeni poremećaji kromosoma u bolesnika s tMDS/tAML-om mogu biti numerički i strukturni. Mnogi klonalni poremećaji su relativno česti i otkriveni u većem broju ispitanih bolesnika, dok su drugi rijetki i svojstvo malog broja tMDS/tAML-a (9). U tablici 1 navedeni su neki od relativno čestih balansiranih i nebalansiranih klonalnih poremećaja kromosoma u bolesnika s tMDS/tAML-om. Od posebnog su interesa ispitivanja mutacija gena koji imaju važnu ulogu u hematopoezi (10,11). Ispitivanjem su obuhvaćeni geni za receptore s tirozin kinaznom aktivnošću, prijenosnike signala, čimbenike transkripcije i tumor supresorske gene (tablica 2).

Analizom klonalnih poremećaja kromosoma i mutacija gena utvrđene su sličnosti i razlike između tAML-a i *de novo* AML-a (9, 12-17). Sličnosti se odnose na tipove poremećaja, a razlike na učestalost i složenost poremećaja kariotipa. Tako su klonalni poremećaji kromosoma češća pojava u bolesnika s tAML-om u odnosu na bolesnike s *de novo* AML-om (6). Aberantan klon prisutan je u 80%-90% tAML-a u odnosu 50%-70% bolesnika s *de novo* AML-om (15-19). AML ovisan o liječenju obilježava izrazita nestabilnost genoma i prisutnost njegovih složenih poremećaja. Tako se multipli poremećaji kromosoma nalaze u 38%-58% bolesnika s tAML-om, za razliku od 10-23% ispitanih *de novo* AML-a (9,17-19). Hipodiploidan kariotip prisutan je u 21%-50%, a

Tablica 1. Stečeni nebalansirani i balansirani poremećaji kromosoma u tMDS-u i tAML-u
Table 1. Acquired unbalanced and balanced chromosome aberrations in tMDS and tAML

Nebalansirani poremećaji kromosoma <i>Unbalanced chromosome aberrations</i>	Balansirani poremećaji kromosoma <i>Balanced chromosome aberrations</i>
-7	t(1;3)(p36;q21)
del(7q)	inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26)
-5	t(6;11)(q27;q23)
del(5q)	t(6;9)(p23;q34)
+8	t(8;16)(p11;p13)
11q-	t(8;21)(q22;q22)
13q-	t(9;11)(p22;q23)
-17	t(11;19)(q23;p13)
-18	t(11q23)
20q-	t(15;17)(q22;q12)

Tablica 2. Mutacije gena u tMDS-u i tAML-u
Table 2. Gene mutations in tMDS and tAML

Tirozin kinaze/tyrosine kinase	
<i>FLT3</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
<i>cKIT</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
<i>cFMS</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
<i>JAK2</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
Prijenosnici signala/ <i>signal transducers</i>	
<i>KRAS</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
<i>NRAS</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
<i>BRAF</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
<i>PTPN11</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
Čimbenici transkripcije/ <i>Transcription factors</i>	
<i>AML1</i>	Fuzijski produkt/ <i>Fusion product</i>
<i>CBFB</i>	Fuzijski produkt/ <i>Fusion product</i>
<i>AML1</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
<i>MLL</i>	Fuzijski produkt/ <i>Fusion product</i>
<i>RARA</i>	Fuzijski produkt/ <i>Fusion product</i>
<i>NPM1</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>
<i>EVII</i>	Fuzijski produkt/ <i>Fusion product</i>
Tumor supresorski gen/ <i>Tumor suppressor gene</i>	
<i>p53</i>	Točkasta mutacija/ <i>Point mutation</i>

hiperdiploidan u 45% tAML-a, u odnosu na 8% hipodiploidija i 12,5% hiperdiploidija u *de novo* AML-a (13, 17, 18). Citogenetski nepovezani aberantni klonovi identificirani su u 3% tAML-a, dok su izuzetno rijetki u *de novo* AML-u (13, 18). Značajne razlike između *de novo* AML-a i tAML-a utvrđene su ispitivanjem učestalosti specifičnih poremećaja kromosoma (13). Nebalansirani poremećaji kromosoma prisutni su u 10% do 25% *de novo* AML-a i u čak 50%-60% tMDS/tAML-a, dok ne postoje razlike u učestalosti balansiranih poremećaja (11, 13). Balansirane translokacije i inverzije su otkrivene u 10%-20% *de novo* AML-a i u 10%-20% bolesnika s tAML-om (11, 13). Uredan kariotip je prisutan u 30%- 50% bolesnika s *de novo* AML-om i u 10%-20% bolesnika s tAML-om (9, 17- 20). Ispitivanja mutacija gena također upućuju na sličnosti i razlike između *de novo* MDS/AML-a i tMDS/tAML-a (21, 22). Tako je, na primjer, otkrivena visoka učestalost točkaste mutacije gena *p53* i podjednaka učestalost mutacija gena *AML1*, *RAS* i *PTPN11* u bolesnika s tMDS/tAML-om u odnosu na *de novo* MDS/AML (11). Od interesa su citogenetičke analize leukemija koje se povezuju sa štetnim djelovanjem citotoksičnih agensa iz okoline. Otkriveni poremećaji kariotipa su vrlo slični poremećajima u bolesnika s tAML-om (13).

CITOTOKSIČNI AGENSI
I POREMEĆAJI GENOMA

Posebna pozornost je posvećena ispitivanju povezanosti vrste upotrijebljenog lijeka pri liječenju prve tumorske bolesti i poremećaja genoma sekundarnog tumorskog procesa.

Nalaz specifičnog poremećaja kromosoma u bolesnika s tMDS/tAML-om povezuje se sa štetnim djelovanjem pojedinih citotoksičnih agensa tijekom liječenja prethodne bolesti (9, 23). Tako se mnogi nebalansirani poremećaji kromosoma, kao primjerice gubitak kromosoma 7, 5, 18 i delecije specifičnih regija kromosoma, povezuju s djelovanjem alkilirajućih agensa, dok se balansirani poremećaji kao npr. t(8;21) ili inv (16) smatraju posljedicom djelovanja inhibitora topoizomerase II. (23).

Eksperimentalnim putem potvrđena je pretpostavka da su poremećaji kromosoma stanica tumora posljedicom neposrednog djelovanja citotoksičnih lijekova. Provedeno je ispitivanje djelovanja alkilirajućih agensa i inhibitora topoizomerase II. na učestalost i tipove poremećaja kromosoma u kulturi stanica periferne krvi i upućeno na to da su poremećaji kromosoma primarna i izravna posljedica djelovanja citotoksičnih agensa (24, 25). Dodatna ispitivanja su pokazala da je djelovanje pojedinih citostatika usmjereno na određene kromosomske regije, te se njihovo djelovanje povezuje s pojavom specifičnih balansiranih poremećaja kromosoma (26).

Biološka i klinička svojstva sekundarnih tumora ovise o prirodi i načinu djelovanja upotrijebljenog citotoksičnog agensa prilikom liječenja prethodne tumorske bolesti. Mehanizmi štetnog djelovanja razlikuju se od agensa do agensa. Tako se inhibitori topoizomerase II. povezuju s lomovima dvostrukog lanca DNA, grješkama u popravku oštećenja i pojavom balansiranih poremećaja kromosoma, fuzijskoga gena i genskog produkta (27,28). Mehanizam djelovanja alkilirajućih agensa nije u cijelosti poznat. Povezuju se s nebalansiranim poremećajima kromosoma, lomovima u centromeričnim i pericentromeričnim regijama kromosoma, grješkama u popravku oštećenja, gubitkom čitavog ili dijela kromosoma i inaktivacijom tumor supresorskih gena (10, 29).

Budući da su različiti poremećaji kromosoma, različiti su i molekularni mehanizmi zloćudne preobrazbe stanica. Gubitak genetičkog materijala povezuje se s

gubitkom samo jednog alela tumor supresorskog gena, te su u procesu zloćudne preobrazbe stanica potrebni dodatni genetički poremećaji, što znatno produžuje vrijeme latencije i pojavu novog tumorskog procesa. Balansirani poremećaji kromosoma uzrokuju pojavu fuzijskih gena koji djeluju kao dominantni onkogeni, te je za pojavu tumora potreban manji broj mutacija uz bržu evoluciju bolesti. Rezultati kliničkih ispitivanja su u skladu s molekularnim mehanizmima tumorske preobrazbe i upućuju na povezanost djelovanja alkilirajućih agensa i nastanka tMDS-a (5-7 godina i duže nakon liječenja prve tumorske bolesti) te inhibitora topoizomerase II. i nastanka tAML-a (1-3 godine nakon liječenja prve tumorske bolesti) (8, 10). Ispitivanja su posebno korisna za razumijevanje uloge poremećaja genoma u etiologiji tAML-a. Tako je npr. pokazano da je tAML posljedica uzajamnog djelovanja dvaju tipova mutacija (30,31). Mutacije gena za receptore s tirozin kinaznom aktivnošću (*FLT3*, *c-KIT*, *JAK2*) ili prijenosnike signala (*NRAS* i *KRAS*) stimuliraju proliferaciju i/ili omogućuju bolje preživljavanje stanica, dok mutacije druge skupine dovode do inaktivacije čimbenika transkripcije (*AML1*, *MLL*, *RARA*), te se povezuju s poremećajima diferencijacije stanica (11).

PODTIPOVI TMDS/TAML-A

Citogenetička, molekularna i klinička ispitivanja upućuju na genetičku heterogenost tMDS-a i tAML-a. Pedersen – Bjergaard i sur. su 2002. godine predložili 8 različitih genetičkih skupina tMDS/tAML-a, a nekoliko godina poslije upotpunili novim spoznajama o povezanosti citogenetičkih, molekularnih i kliničkih svojstava pojedinih podtipova bolesti (10, 32):

Skupina 1:

Skupina uključuje bolesnike s tMDS/tAML-om, gubitkom kromosoma 7 ili dijela njegova dugog kraka, uz uredan nalaz kromosoma br. 5 (32). Promjene kromosoma 7 su najčešći poremećaji genoma u tMDS-u i tAML-u nakon liječenja alkilirajućim agensima. Poremećaj se katkad javlja tijekom evolucije kariotipa i kao obilježje subklona, pa prevladava mišljenje da poremećaji drugih kromosoma imaju bitnu ulogu u evoluciji bolesti. Bolesnici slabo reaguju na primijenjene protokole liječenja te je prognoza tijekom

bolesti loša. U ovoj skupini bolesnika su relativno česte mutacije gena *RAS* i metilacija promotora gena *p15*. Mutacije gena ne znače primarni genetički poremećaj, već se pojavljuju u kasnijim stadijima evolucije tumorskog klona. Posebno je zanimljiva točkasta mutacija gena *AML1* otkrivena u oko 38% bolesnika (10). Po učestalosti je na drugome mjestu genetičkih poremećaja u bolesnika s tMDS-om i tAML-om (11). Točkasta mutacija gena *AML1* povezuje se s djelovanjem alkilirajućih agensa, tMDS-om, progresijom tMDS-a u tAML i poremećajima 7q-/7. Poremećaji kromosoma broj 7 otkriveni su u više od 77% bolesnika s točkastom mutacijom gena *AML1*.

Skupina 2:

Skupina obuhvaća bolesnike s monosomijom ili gubitkom dijela dugog kraka kromosoma broj 5 (32). Poremećaji kromosoma 5 su česti i na drugome su mjestu po učestalosti u bolesnika s tMDS/tAML-om nakon liječenja alkilirajućim agensima. Poremećaj je u pravilu prisutan u svim ispitanim metafazama, nije zamićen kao rezultat evolucije kariotipa ili svojstava subklona. Smatra se da poremećaji kromosoma br. 5 imaju važniju ulogu u procesu leukemogeneze u odnosu na poremećaje kromosoma br. 7. Uz poremećaje kromosoma br. 5 u ovoj skupini bolesnika opisane su dodatne promjene, i to: prisutnost marker kromosoma, katkad delecija 7q, monosomija 7 ili duplikacija 11q23. Točkasta mutacija gena *p53* vrlo je česta u ovoj skupini i otkrivena u 76% bolesnika s poremećajem kromosoma 5 (10, 11). Mutacija gena *p53* smatra se najčešćom mutacijom u bolesnika s tMDS-om, često je popraćena složenim poremećajima kariotipa, duplikacijama i amplifikacijama 11q23 i 21q22 uz uredan nalaz gena *MLL* i *AML1* (11). Prognoza bolesti je izuzetno loša, posebice u bolesnika s mutacijom gena *p53* i gubitkom heterozigotnosti.

Skupina 3:

Skupina uključuje bolesnike s balansiranim translokacijama kromosoma 11 s lomom u regiji q23 (10, 32). Balansirane translokacije 11q23 su često jedini poremećaji kromosoma tumorskog klona i smatraju se najčešćim poremećajima u bolesnika s tAML-om nakon liječenja s epipodofilotoksinima. Poremećaj je čest u dječjoj dobi. Nakon intenzivnog liječenja,

postizaje se kompletna remisija, uza čestu pojavu relapsa i lošu prognozu tijekom bolesti. Poremećaj uzrokuje prestrukturiranje gena *MLL* u regiji 11q23, pojavu fuzijskog produkta s jednim od genskih partnera na drugom kromosomu. Novija ispitivanja upućuju na asocijaciju fuzijske mutacije gena *MLL* i mutacija gena *RAS* i *BRAF* (11). Mutacije gena *p53* su rijetke.

Skupina 4:

Skupina obuhvaća bolesnike s balansiranim translokacijama 21q22 ili 16q22 i pojavom fuzijskih produkata gena *AML1* (21q22) ili gena *CBFB* (16q22) s jednim od partnera na drugom kromosomu (10). Poremećaji su povezani s prethodnim liječenjem inhibitorima topoizomeraze II. (najčešće antraciklini) i tAML-a. Relativno su česti dodatni poremećaji kromosoma. Otprilike 50% bolesnika s translokacijom 21q22 i fuzijskim produktom gena *AML1* ima aberaciju dugoga kraka kromosoma broj 7. Bolesnici dobro reagiraju na intenzivne protokole liječenja i dugo preživljavaju.

Skupina 5:

Ova skupina obuhvaća promijelocitnu leukemiju ovisnu o liječenju s t(15;17) (q22;q12-21) i fuzijskim produktom gena *PML* i *RARA* (10,32). Leukemije su povezane s prethodnim liječenjem inhibitorima topoizomeraze II. ili samo zračenjem. Bolesnici dobro reagiraju na intenzivno liječenje i liječenje retinoičnom kiselinom.

Skupina 6:

Uključuje heterogenu skupinu rijetkih bolesnika s tMDS-om i tAML-om, balansiranim translokacijom 11p15, fuzijskim produktom gena *NUP98* i odgovarajućeg gena na drugom kromosomu (32). U otprilike polovine pacijenata bolest se javlja nakon liječenja etoposidom ili antraciklinom, ili njihovom kombinacijom.

Skupina 7:

Uključuje bolesnike s tAML-om i normalnim kariotipom (10, 32). Bolesnici dobro reagiraju na intenzivne protokole liječenja. Zasad malo znamo o biološkim, kliničkim i molekularnim svojstvima bolesti. Uredan kariotip je često svojstvo atipičnih tMDS-a i tAML-a, i zasad nije povezan sa specifičnim citotoksičnim lije-

kovima. Posebno su zanimljive mutacije gena *FLT3* (receptor s tirozin kinaznom aktivnošću), *CEBPA* (transkripcijski čimbenik) i *NPM1* (regulator transkripcije) u bolesnika urednog kariotipa (33, 34). Malo znamo o etiologiji genskih mutacija. Provedena istraživanja upućuju na povezanost mutacije gena *FLT3* i liječenja zračenjem (34, 35). Mutaciju gena *NPM1* zasad nije moguće povezati s određenim citotoksičnim agensom, 70% *NPM1* pozitivnih tMDS/tAML-om ima uredan kariotip, mutacija nije povezana s poremećajem kromosoma 7 i oko 50% bolesnika nosi mutaciju gena *FLT3* (36).

Skupina 8:

Uključuje heterogenu skupinu bolesnika s različitim poremećajima kromosoma, za koje zasad nije dokazana specifična povezanost s tMDS-om i tAML-om (10, 32). Poremećaji kromosoma nisu povezani s određenim tipom prethodnog liječenja.

Ovaj kratak pregled upućuje na složenost klonskih poremećaja genoma u bolesnika s tMDS-om i tAML-om. Nalaz jednakih citogenetičkih poremećaja i genskih mutacija upućuje na to da su *de novo* MDS/AML i MDS/AML ovisni o terapiji isti klinički entitet (11). Ispitivanja poremećaja kromosoma i mutacija gena u bolesnika s tMDS/tAML-om pridonijela su razumijevanju procesa transformacije MDS-a u AML te otkrivanju etiologije i patogeneze ove heterogene skupine bolesti (11). Danas znamo da u etiologiji MDS-a i AML-a značajnu ulogu imaju: endogeni i egzogeni metaboliti s alkilirajućim svojstvima, grješke u rekombinaciji gena kao posljedica djelovanja inhibitora topoizomeraze II. i spontane mutacije ili mutacije inducirane zračenjem (11). Na kraju je nužno naglasiti da su potrebna dodatna i sustavna ispitivanja genetičkih poremećaja u bolesnika s tMDS-om i tAML-om, a kako bi se detaljno upoznala patogeneza bolesti i otkrila povezanost i interakcija različitih tipova poremećaja kromosoma i genskih mutacija te tako pridonijelo otkrivanju novih metoda liječenja i zbrinjavanju bolesnika s tMDS/tAML-om.

LITERATURA

1. Neglia JP, Friedman DL, Yasui Y, Mertens AC, Hammond S, Stovall M, Donaldson SS, Meadows AT, Ribison LL. Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: childhood cancer survivor study. *J Nat Cancer Inst* 2001; 93: 618-629.

2. Hijiya N, Hudson MM, Lensing S, Zacher M, Onciu M, Behm FG, Razzouk BI, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Sandlund JT, Rivera GK, Evans WE, Relling MV, Pui CH. Cumulative incidence of secondary neoplasms as a first event after childhood acute lymphoblastic leukemia. *JAMA* 2007; 297: 1207-1215.
3. Metayer C, Lynch CF, Clarke EA, Glimelius B, Storm H, Pukkala E, Joensuu T, van Leeuwen FE, van't Veer MB, Curtis RE, Holowaty EJ, Andersson M, Wiklund T, Gospodarowicz M, Travis LB. Second cancer among long-term survivors of Hodgkin's disease diagnosed in childhood and adolescence. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2435-2443.
4. von der Weid NX. Adult life after surviving lymphoma in childhood. *Support Care Cancer* 2008; 16: 339-345.
5. Hijiya N, Ness KK, Ribeiro RC, Hudson MM. Acute leukemia as a secondary malignancy in children and adolescents: current findings and issues. *Cancer* 2009; 115: 23-35.
6. Leone G, Mele L, Pulsoni A, Equitani F, Pagano L. The incidence of secondary leukemias. *Haematologica* 1999; 84: 937-945.
7. Larson RA. Etiology and management of therapy-related myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2007; 2007: 435-459.
8. Rund D, Ben-Yehuda D. Therapy-related leukemia and myelodysplasia: evolving concept of pathogenesis and treatment. *Hematology* 2004; 9: 179-187.
9. Mauritzson N, Albin M, Rylander L, Billstrom R, Ahlgren T, Mikocz Z, Bjork J, Stromberg U, Nilsson PG, Mitelman F, Hagmar L, Johansson B. Pooled analysis of clinical and cytogenetic features in treatment-related and *de novo* adult acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes based on a consecutive series of 761 patients analyzed 1976-1993 and on 5098 unselected cases reported in the literature 1974-2001. *Leukemia* 2002; 16: 2366-2378.
10. Pedersen-Bjergaard J, Christiansen DH, Desta F, Andersen MK. Alternative genetic pathways and cooperating genetic abnormalities in the pathogenesis of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukaemia. *Leukemia* 2006; 20: 1943-1949.
11. Pedersen-Bjergaard J, Andersen MK, Andersen MT, Christiansen DH. Genetics of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2008; 22: 240-248.
12. Sozzi G, Miozzo M, Orazi A, Calderone C, Castellano M, Viviani S, Santoro A, Pierotti MA, Della Porta G. Cytogenetic study in therapy-related myelodysplastic syndromes (t-MDS) and acute non-lymphocytic leukemia (t-ANLL). *Br J Cancer* 1990; 61: 425-428.
13. Heim S, Mitelman F. *Cancer cytogenetics*. Second edition. Wiley-Liss New York 1995: 108-110.
14. Pedersen-Bjergaard J, Philip P, Larsen SO, Andersson M, Daugaard G, Ersboll J, Hansen SW, Hou-Jensen K, Nielsen D, Sigsgaard TC, Specht L, Osterlind K. Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Cytogenetic characteristics of 115 consecutive cases and risk in seven cohorts of patients treated intensively for malignant diseases in the Copenhagen series. *Leukemia* 1993; 7: 1975-1986.
15. Group Français de cytogenetique hematologique (GFCH). Acute leukemia treated with intensive chemotherapy in patients with a history of previous chemo- and/or radiotherapy: prognostic significance of karyotype and preceding myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 1994; 8: 87-91.
16. Smith SM, Le Beau MM, Hou D, Karrison T, Sobecks RM, Anastasi J, Vardiman JW, Rowley JD, Larson RA. Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: the University of Chicago series. *Blood* 2003; 102: 43-52.

17. Swolin B, Rodger S, Westin J. Therapy-related patterns of cytogenetic abnormalities in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome post polycythemia vera. Single center experience and review of literature. *Ann Hematol* 2008; 87: 467-474.
18. Petković I, Konja J, Nakić M. Cytogenetic analysis in children with acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 58: 155-159.
19. Mrozek K, Heerema NA, Bloomfield CD. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev* 2004; 18: 115-136.
20. Pedersen-Bjergaard J, Pedersen M, Roulston D, Philip P. Different genetic pathways in leukemogenesis for patients presenting with therapy-related myelodysplasia and therapy-related acute myeloid leukemia. *Blood* 1995; 86: 3542-3552.
21. Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Mutation of AML1 are common in therapy-related myelodysplasia following therapy with alkylating agents and are significantly associated with deletion or loss of chromosome arm 7q and with subsequent leukemic transformation. *Blood* 2004; 104: 1474-1481.
22. Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Mutations with loss of heterozygosity of p53 are common in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia after exposure to alkylating agents and significantly associated with deletion or loss of 5q, a complex karyotype, and a poor prognosis. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1405-1413.
23. Pedersen-Bjergaard J, Rowley JD. The balanced and the unbalanced chromosome aberrations of acute myeloid leukemia may develop in different ways and may contribute differently to malignant transformation. *Blood* 1994; 83: 2780-2786.
24. Mamuris Z, Prieur M, Dutrillaux B, Aurias A. The chemotherapeutic drug melphalan induces breakage of chromosome regions rearranged in secondary leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 37: 65-77.
25. Maraschin J, Dutrillaux B, Aurias A. Chromosome aberrations induced by etoposide (VP-16) are not random. *Int J Cancer* 1990; 46:808-812.
26. Pommier Y, Orr A, Kohn KW, Riou JF. Differential effects of amsacrine and epipodophyllotoxins on topoisomerase II cleavage in the human c-myc protooncogene. *Cancer Res* 1992;52: 3125-1330.
27. McClendon AK, Osheroff N. DNA topoisomerase II, genotoxicity, and cancer. *Mutat Res* 2007; 623: 83-97.
28. Felix CA, Kolaris CP, Osheroff N. Topoisomerase II and the etiology of chromosomal translocations. *DNA Repair* 2006; 5: 1093-1108.
29. Andersen MK, Christiansen DH, Pedersen-Bjergaard J. Centromeric breakage and highly rearranged chromosome derivatives associated with mutations of TP53 are common in therapy-related MDS and AML after therapy with alkylating agents: an M-FISH study. *Genes, Chromosomes Cancer* 2005; 42:358-371.
30. Deguchi K, Gilliland DG. Cooperativity between mutations in tyrosine kinases and in hematopoietic transcription factors in AML. *Leukemia* 2002; 16: 740-744.
31. Kelly LM, Gilliland DG. Genetics of myeloid leukemias. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2002; 3: 179-1798.
32. Pedersen-Bjergaard J, Andersen MK, Christiansen DH, Nerlov C. Genetic pathways in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukaemia. *Blood* 2002; 99: 1909-1912.
33. Andersen MT, Andersen MK, Christiansen DH, Pedersen-Bjergaard J. NPM1 mutations in therapy-related acute myeloid leukemia with uncharacteristic features. *Leukemia* 2008; 22: 951-955.
34. Christiansen DH, Pedersen-Bjergaard J. Internal tandem duplications of the FLT3 and MLL genes are mainly observed in atypical cases of therapy-related acute myeloid leukemia with a normal karyotype and are unrelated to type of previous therapy. *Leukemia* 2001;15:1848-1851.
35. Christiansen DH, Andersen MK, Desta F, Pedersen-Bjergaard J. Mutations of genes in the receptor tyrosine kinase (RTK)/RAS-BRAF signal transduction pathway in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2005; 19: 2232-2240.
36. Falini B. Therapy-related acute myeloid leukaemia with mutated NPM1: treatment induced or de novo in origin? *Leukemia* 2008; 22: 891-892.

Summary

ACQUIRED GENETIC CHANGES IN SECONDARY TUMOR DISEASES

I. Petković

Recent years have seen significant progress in the treatment of patients with malignancies, but have increased the risk of late complications including secondary cancers. Frequent complications are therapy related myelodysplastic syndrome (tMDS) and acute myeloid leukaemia (tAML). This article reviews the results published so far on genetic investigations of patients with tMDS and tAML. The review focuses on acquired genetic changes, specific clonal chromosomal aberrations, gene mutations, current knowledge of the relationship between cytotoxic agents used in previous treatment with genome abnormalities, and classification of tMDS/tAML according to genetic and clinical characteristics. The available results indicate that cytogenetic and molecular analysis have clinical usefulness in the diagnosis and management of patients with tMDS/tAML, they contribute to the understanding of leukemogenesis and the role of cytotoxic agents in the etiology of acute leukaemia.

Descriptors: NEOPLASMS, SECOND PRIMARY – etiology, genetics; LEUKEMIA, MYELOID, ACUTE - etiology, genetics; MYELODYSPLASTIC SYNDROME - etiology, genetics; ANTINEOPLASTIC AGENTS – adverse effects; CHROMOSOME ABERRATIONS

Primljeno/Received: 17. 11. 2008.

Prihvaćeno/Accepted: 27. 01. 2009.