VIA MEDICA

OPIS PRZYPADKU

Hematologia
2021, tom 1, supl. D, D6–D14
Copyright © 2021 Via Medica
ISSN 2081–0768
e-ISSN 2081–3287

Skuteczność skojarzonego leczenia midostauryną i standardową chemioterapią oraz wysokodawkowaną chemioterapią i przeszczepieniem alogenicznych macierzystych komórek krwiotwórczych u chorego na ostrą białaczkę szpikową wysokiego ryzyka z towarzyszącymi mutacjami *FLT3*-TKD oraz *NPM1*

Effectiveness of combined therapy with midostaurin and standard chemotherapy and high dose chemotherapy with allogeneic stem cell transplantation in high risk acute myeloid leukemia with *FLT3*-TKD and *NPM1* mutations

Elżbieta Patkowska[1], Monika Prochorec-Sobieszek[2], Ewa Lech-Marańda[1], Barbara Nasiłowska-Adamska[3]

[1]Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa
[2]Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa
[3]Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

W przebiegu ostrej białaczki szpikowej obserwuje się wiele zaburzeń genetycznych. Mutacje genu nukleofosminy (NPM) oraz genu receptora kinazy tyrozynowej FLT3 są najczęściej stwierdzanymi mutacjami somatycznymi u chorych na AML. Mutacja NPM1 występuje u ponad połowy chorych i wiąże się z korzystnym rokowaniem, natomiast mutacje FLT3, to jest wewnętrzna tandemowa duplikacja (ITD) pogarszają przebieg białaczki i wyniki leczenia, a w przypadku mutacji punktowych domeny kinazy tyrozynowej (TKD) znaczenie rokownicze nie jest do końca jasne. Perspektywą dla poprawy wyników leczenia i wydłużenia przeżycia chorych na AML, obciążonych mutacją genu FLT3 jest zastosowanie inhibitorów kinazy tyrozynowej FLT3. U chorych na AML FLT3-TKD, z uwagi na mechanizm działania, znajdują zastosowanie inhibitory FLT3 pierwszego typu, w tym midostauryna i gilterytynib.

W pracy przedstawiono przypadek 30-letniego chorego na AML z obecnością mutacji NPM1 oraz FLT3-TKD, włóknieniem retikulinowym szpiku oraz lokalizacjami pozaszpikowymi AML przy rozpoznaniu. W leczeniu chorego zastosowano chemioterapię indukującą według schematu DA „3 + 7" skojarzonego z midostauryną, osiągnięto całkowitą remisję potwierdzoną badaniem histopatologicznym szpiku. Następnie zastosowano dwa cykle chemioterapii konsolidującej i przeprowadzono przeszczepienie alogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych od dawcy niespokrewnionego po zastosowaniu kondycjonowania mieloablacyjnego. Pacjent pozostaje w remisji całkowitej białaczki 22 miesiące od rozpoznania.

Słowa kluczowe: ostra białaczka szpikowa, mutacja *FLT3*-TKD, mutacja *NPM1*, midostauryna

Hematologia 2021; 1, supl. D: D6–D14

Adres do korespondencji: Elżbieta Patkowska, Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel. 22 34 96 322, faks 22 34 96 213, e-mail: epatkowska@ihit.waw.pl

Abstract

Many genetic disorders occur in patients suffering from acute myeloid leukaemia (AML). The most common mutations found in such patients are in the nucleophosmin (NPM) gene and the FLT3 tyrosine kinase receptor gene. NPM1 mutation is observed in over half of AML patients, showing a favourable prognosis, however FLT3 mutations worsen the course of leukaemia and treatment outcomes; ie. when internal tandem duplication (ITD) and point mutations occur in the tyrosine kinase (TKD) domain. Deploying FLT3 tyrosine kinase inhibitors thus offers a prospect for improving treatment and prolonging the survival of patients with AML, burdened with the FLT3 gene mutation. Midostaurin and gilteritinib are first type FLT3 inhibitors which are used to treat patients with AML FLT3-TKD due to their mechanism of action.

This paper presents the case of a 30-year-old AML patient diagnosed with NPM1 and FLT3-TKD mutations, reticulin bone marrow fibrosis and extramedullary sites of AML. Treatment was individualised and induction chemotherapy was combined with midostaurin. After first-line treatment with midostaurin, complete remission was achieved, as confirmed by histopathological examination of the bone marrow. Subsequently, two cycles of consolidation chemotherapy were given and allogeneic haematopoietic stem cells were transplanted from an unrelated donor after myeloablative conditioning. The patient has remained in complete leukaemia remission, 22 months after diagnosis.

Key words: acute myeloid leukemia, *FLT3*-TKD, *NPM1*, midostaurin

Hematologia 2021; 1, supl. D: D6–D14

Wprowadzenie

Aktualny stan wiedzy wskazuje, że najistotniejszymi i niezależnymi czynnikami prognostycznymi u chorych na ostre białaczki szpikowe (AML, *acute myeloid leukemia*) są aberracje cytogenetyczne i molekularne w komórkach białaczkowych. Obserwowany na przestrzeni ostatnich lat dynamiczny rozwój genetyki i udoskonalanie metod diagnostycznych przyczyniły się do postępu w poznawaniu biologii tej choroby, odkrywaniu kolejnych zaburzeń genetycznych i umożliwiły wprowadzenie do terapii leków celowanych [1–4]. Terapia celowana polega na hamowaniu określonych szlaków sygnałowych zaangażowanych w procesy onkogenezy przy wykorzystaniu preparatów selektywnie modyfikujących właściwości komórek nowotworowych lub otaczającego je środowiska [5]. Selektywne działanie leków wobec komórek białaczkowych optymalizuje leczenie chorych, co przekłada się na poprawę wyników leczenia i przeżycie chorych [1, 3].

Największą grupę chorych na AML stanowią chorzy o pośrednim ryzyku cytogenetycznym (około 60–70%), w tym osoby z prawidłowym kariotypem (około 40–45%), u których ocena zmian genetycznych za pomocą metod molekularnych ma istotne znaczenie w diagnostyce, określeniu rokowania i wyborze odpowiedniej terapii [6–8].

W momencie rozpoznania u chorych na AML zalecane i rekomendowane są, poza analizami cytogenetycznymi, badania w kierunku mutacji w genach: *NPM1, FLT3, CEBPA, RUNX1* oraz *TP53* i *ASXL1* [6].

Gen *FLT3* (*fms-like tyrosine kinase 3*) koduje w komórkach progenitorowych układu krwiotwórczego receptorową kinazę tyrozynową. Białka regulatorowe o aktywności kinaz tyrozynowych w warunkach fizjologicznych są ważnymi regulatorami szlaków przekazywania sygnałów, kontrolują procesy komórkowe, w tym między innymi wzrost, różnicowanie, cykl komórkowy i transkrypcję. Mutacje w obrębie genu *FLT3* są zaś odpowiedzialne za stałą aktywację receptora kinazy tyrozynowej, niekontrolowaną proliferację komórek białaczkowych, hamowanie apoptozy i aktywację dróg sygnałowych [9, 10]. Najczęściej występującymi mutacjami genu *FLT3* u chorych na AML są: wewnątrztandemowa duplikacja (ITD, *internal tandem duplication*) oraz mutacje punktowe w domenie kinazy tyrozynowej (TKD, *tyrosine kinase domain*) [11–13].

Mutację *FLT3*-ITD stwierdza się u około 20–30% chorych na AML, w grupie cytogenetycznej zarówno o dobrym, jak i pośrednim, a także złym rokowaniu [8, 14]. Obecność mutacji *FLT3*-ITD stanowi niezależny, niekorzystny czynnik rokowniczy, pomocny w stratyfikacji chorych, zwłaszcza w grupie o pośrednim rokowaniu cytogenetycznym, a wśród nich w grupie o prawidłowym kariotypie

[10, 13]. Występowanie *FLT3*-ITD wiąże się u tych chorych z krótszym czasem trwania całkowitej remisji (CR, *complete remission*), krótszym czasem przeżycia wolnym od choroby (DFS, *disease-free survival*) oraz krótszym czasem całkowitego przeżycia (OS, *overall survival)* [14].

Mutacje punktowe domeny kinazy tyrozynowej *FLT3* wykrywa się u około 8% chorych na AML [12, 14]. Najczęściej zlokalizowane są one w pętli aktywacyjnej w obszarze kodonów 835–836 [15]. W jednej z metaanaliz potwierdzono negatywny wpływ występowania tego defektu na DFS, w innym badaniu natomiast rokowanie u chorych z *FLT3*-TKD było jednak lepsze niż u pacjentów *FLT3*-ITD [16, 17].

Leki celowane zastosowane do leczenia chorych na AML z obecnością mutacji *FLT3* jako pierwsze zostały zarejestrowane przez Agencję ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Agency*), a następnie przez Europejską Agencję Leków (EMA, *European Medicine Agency*). Midostauryna uzyskała rejestrację w pierwszej linii leczenia AML w skojarzeniu z intensywną chemioterapią, natomiast gilterytynib w kolejnych liniach leczenia opornej/nawrotowej AML w monoterapii [18, 19].

Inhibitory FLT3 pierwszego typu, w tym midostauryna, gilterytynib, krenolanib, sunitynib, lestaurytynib, z uwagi na swój mechanizm działania, okazały się skuteczne w leczeniu chorych na AML *FLT3*-TKD [10].

Mutacje genu nukleofosminy (*NPM1, nucleophosmin 1)* lub eksonu 12 *NPM* występują u ponad połowy chorych na AML z prawidłowym kariotypem i są najczęściej występującymi pojedynczymi mutacjami somatycznymi w AML o korzystnym rokowaniu [20–22]. Gen *NPM1* koduje sekwencję „wędrującego" białka nukleocytoplazmatycznego (*nuclear-shutling factor*) regulującego szlak przekazywania sygnałów p53 [23, 24]. Istotnym elementem klinicznym jest możliwość monitorowania minimalnej choroby resztkowej (MRD, *minimal residual disease*) za pomocą ilościowego badania reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR, *real-time polimerase chain reaction*) w AML obciążonej mutacją genu *NPM1* [25, 26].

W pracy przedstawiono przypadek 30-letniego mężczyzny z AML *NPM1*^{mut} *FLT3*-TKD i z włóknieniem szpiku, cechami wieloliniowej dysplazji (MLD, *multilineage dysplasia*) oraz dużym prawdopodobieństwem zajęcia kości przy rozpoznaniu. Dzięki dostępności midostauryny w programie wczesnego dostępu (MAP, *Managed Access Program*) firmy Novartis, w leczeniu chorego zastosowano chemioterapię indukującą według schematu DA (daunorubicyna, arabinozyd cytozyny) „3 + 7" skojarzonego z midostauryną. Po podaniu pierwszej linii leczenia z midostauryną osiągnięto CR. Z uwagi na „suche" punkcje szpiku, odpowiedź na leczenie oceniano za pomocą badania histopatologicznego trepanobioptatu. Następnie choremu podano dwa cykle chemioterapii konsolidującej z wykorzystaniem wysokich dawek arabinozydu cytozyny skojarzonych z midostauryną. Z uwagi na czynniki niekorzystnego rokowania, w tym obecność nasilonego włóknienia retikulinowego szpiku, lokalizacje pozaszpikowe: splenomegalia, limfadenopatia obwodowa, prawdopodobieństwo zajęcia kości, chorego zakwalifikowano do przeszczepienia alogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych (alo-HSCT, *alogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) od dawcy niespokrewnionego. Aktualnie remisja całkowita utrzymuje się u chorego 15 miesięcy od przeszczepienia.

Opis przypadku

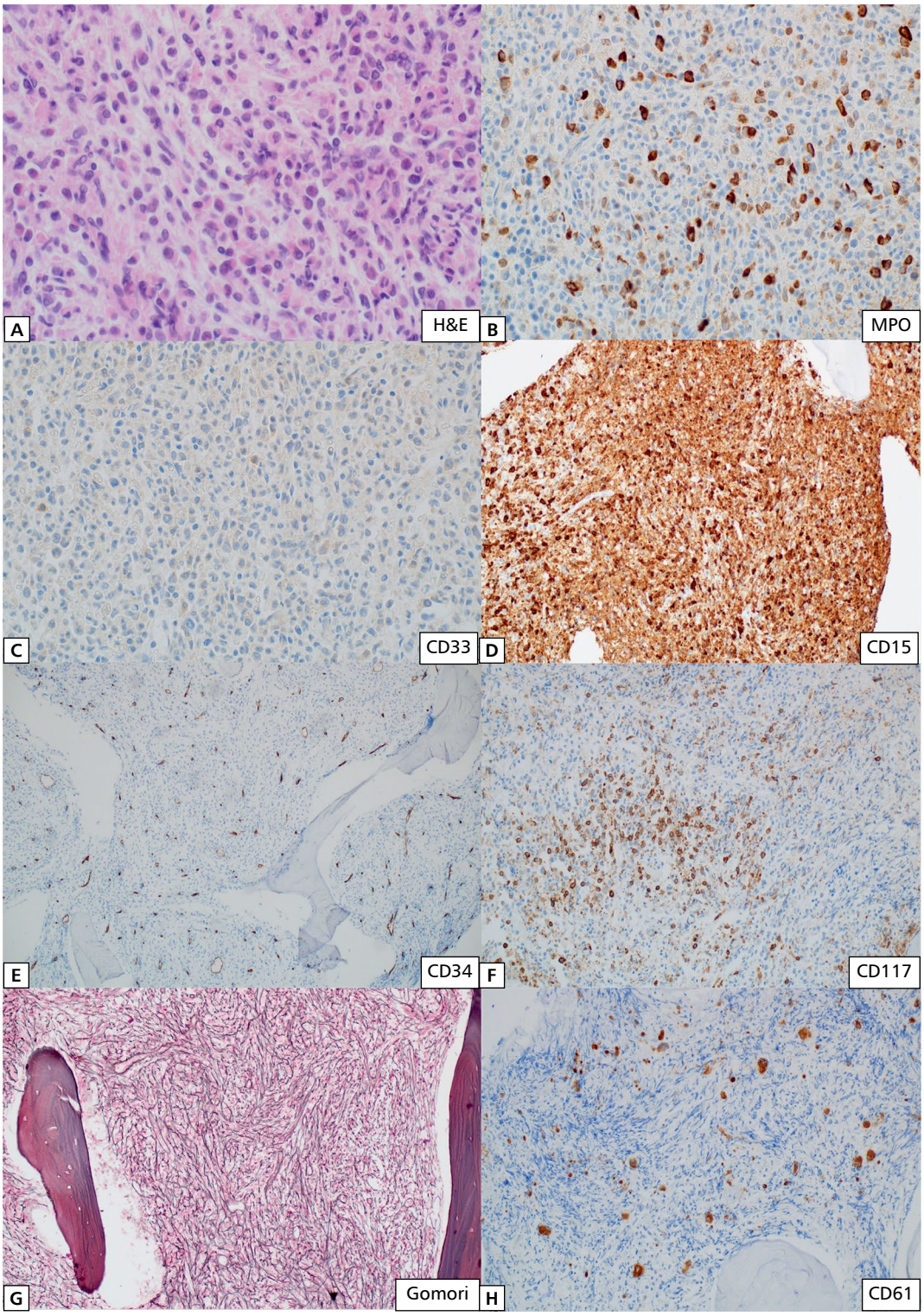
Trzydziestoletni mężczyzna został przeniesiony do Kliniki Hematologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii (IHiT) w marcu 2019 roku ze Szpitalnego Oddziału Ratunkowego (SOR) Szpitala Klinicznego w Warszawie z powodu podejrzenia ostrego rozrostu układu krwiotwórczego. W wywiadzie chory zgłaszał uogólnione bóle kostne, stawowe, najbardziej nasilone w okolicy stawów biodrowych, utratę masy ciała (około 2–3 kg w ciągu 2 tygodni), poty nocne, okresowo bóle głowy. W badaniu podmiotowym chory zgłosił wirusowe zapalenie wątroby typu B w wywiadzie, a w badaniu przedmiotowym wykazano uogólnioną limfadenopatię obwodową i splenomegalię (4 cm poniżej lewego łuku żebrowego). W morfologii krwi obwodowej stwierdzono: podwyższoną leukocytozę z liczbą krwinek białych (WBC, *white blood cell count*) — 18,57 g/l, niedokrwistość normocytową (hemoglobina — 9,7 g/dl, MCV — 83,1 fl), małopłytkowość z liczbą płytek (PLT, *platelets*) — 41 g/l. W rozmazie krwi obwodowej stwierdzono przesunięcie w lewo z obecnością 9% blastów, 12% promielocytów, 13% mielocytów, 6% metamielocytów, 11% pałek, 14% segmentów, 3% bazofilów, 1% monocytów, 31% limfocytów oraz anizocytozę, mikrocytozę, makrocytozę krwinek czerwonych. W badaniach dodatkowych wykazano podwyższoną aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH, *lactate dehydrogenase*) wynoszącą 2709 U/l. W badaniu cytologicznym szpiku opisano szpik średnio ubogokomórkowy z obecnością 16% blastów oraz 10% promielocytów. W badaniu szpiku

metodą cytometrii przepływowej stwierdzono 18% mieloblastów z cechami dysplazji. W badaniach molekularnych wykluczono obecność aberracji *PML-RARAα*. Na tym etapie diagnostyki wyniki badań uniemożliwiały postawienie rozpoznania, oczekiwano na wynik trepanobiopsji. Następnie uzyskano wyniki pozostałych badań molekularnych. W badaniu analizy długości fragmentów DNA (*Gene scan*) nie wykryto obecności frakcji zmutowanego allela *FLT3*-ITD, natomiast w badaniu polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych metodą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR-RFLP, *polymerase chain reaction-restriction fragments length polymorphism*) stwierdzono obecność mutacji punktowej D835/I836 w domenie kinazowej *FLT3*. Metodą sekwencjonowania bezpośredniego wykazano obecność wariantu patogennego W288fs*12 w eksonie 12 genu *NPM1* (układ heterozygotyczny) — typ A.

W tym czasie u chorego nasiliły się bóle stawów biodrowych oraz bóle kostne wymagające stosowania opioidowych leków przeciwbólowych. W rentgenogramie (RTG) stawów biodrowych nie stwierdzono nieprawidłowości. W badaniu ultrasonograficznym (USG) tkanek miękkich okolicy pachwiny prawej wykazano powiększone węzły chłonne pachwinowe. W badaniu tomografii komputerowej (TK) niskodawkowanej kośćca opisano nieregularne utkanie beleczkowe, szczególnie w zakresie obu kości biodrowych, kości krzyżowej oraz trzonów kręgosłupa lędźwiowego, w obu jamach szpikowych kości udowych uwidoczniono zmiany tkankowe mogące odpowiadać naciekom szpikowym. Jednocześnie obserwowano dalszy wzrost leukocytozy do 42 G/l w morfologii krwi oraz wzrost odsetka blastów do 30% w rozmazie krwi obwodowej, potwierdzone badaniem immunofenotypowym krwi z obecnością 26% mieloblastów. W związku z tym zostały spełnione kryteria rozpoznania AML — obecność powyżej 20% blastów w badaniu cytologicznym krwi. Wystąpiono o darowiznę midostauryny w ramach programu wczesnego dostępu MAP firmy Novartis. Zastosowano chemioterapię indukującą remisję według schematu DA „3 + 7" (DA, daunorubicyna w dawce 60 mg/m^2/dobę w dniach 1.–3., arabinozyd cytozyny w dawce 200 mg/m^2/dobę w dniach 1.–7.) w skojarzeniu z następowym leczeniem midostauryną w dawce 2 × 50 mg/dobę w dniach 8.–21. Leczenie przebiegało bez powikłań. Midostauryna była dobrze tolerowana. Jednocześnie z powodu obecności DNA wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV, *hepatitis B virus*) we krwi, prowadzono leczenie początkowo lamiwudyną, a następnie entekawirem. W okresie pancytopenii po zakończeniu leczenia midostauryną wystąpiło obustronne zapalenie płuc. Zastosowano szerokospektralną antybiotykoterapię, kaspofunginę oraz sulfametoksazol/trimetoprim w dawkach terapeutycznych, uzyskując ustąpienie zmian zapalnych.

Na dalszym etapie leczenia otrzymano wynik badania cytogenetycznego szpiku metodą prążkową z prawidłowym kariotypem męskim. Uzyskano również wynik badania histopatologicznego szpiku, w którym opisano naciek 95% niskozróżnicowanych komórek blastycznych: CD15+ MPO+/– CD33–/+ CD163+/CD68PGM1+, CD117+ CD71– CD61– TdT– CD30– MCT– CEAmono– CD25–CD1a– CD20– CD3– CD34–, istotnie wzmożony rysunek włókien retikulinowych podścieliska (MF-3), obraz odpowiadający rozpoznaniu AML z mutacją *NPM1* (ryc. 1). W różnicowaniu uwzględniono ostrą panmielozę z mielofibrozą (APMF, *acute panmyelosis with myelofibrosis*), transformację z mielofibrozy do AML, czy też AML z cechami zależnymi od mielodysplazji (AML-MRC, *acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes*) z mielofibrozą. Dlatego też przy obecnym wzmożonym włóknieniu szpiku i splenomegalii przeprowadzono dodatkową diagnostykę molekularną. W badaniu reakcji PCR poprzedzonej odwrotną transkrypcją (RT-PCR, *reverse transcriptase*-PCR) wykluczono obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1* p190, p210, p230, w badaniu ARMS-PCR (*amplification-refractory mutation system*-PCR) wykluczono obecność mutacji *JAK2 V617F*, a za pomocą sekwencjonowania Sangera wykluczono obecność wariantów patogennych w eksonie 12 genu *ASXL1*, w eksonie 10 genu *MPL*, w eksonie 9 w genie *CARL*. Ostatecznie postawiono rozpoznanie AML z mutacją *NPM1* jako jednostki tymczasowej w grupie AML z powtarzalnymi aberracjami genetycznymi w klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia 2016 (WHO, *World Health Organization*), z korzystnym ryzykiem cytogenetyczno/molekularnym według klasyfikacji Europejskiej Sieci Białaczek (ELN, *European LeukemiaNet*) z 2017 roku.

W celu oceny efektów leczenia cytostatycznego wykonano biopsję aspiracyjną szpiku, jednak uzyskano zbyt małą ilość materiału do badań cytologicznych. W związku z powyższym wykonano trepanobiopsję. W badaniu histopatologicznym opisano szpik wybitnie hipoplastyczny z utkaniem krwiotwórczym zajmującym około 15–20% jamek szpikowych, z pojedynczymi komórkami blastycznymi z ekspresją CD34 i CD117, włóknieniem retikulinowym podścieliska (MF2), z widocznymi zmianami zwyrodnieniowymi w podścielisku. Nie stwierdzono ewidentnych nacieków AML,



Rycina 1A–H. Obraz mikroskopowy trepanobiopsji szpiku u chorego na ostrą białaczkę szpikową (AML, *acute myeloid leukemia*) z mutacją *NPM1 i FLT3*-TKD. Szpik bogatokomórkowy z rozrostem z niskozróżnicowanych komórek linii mieloidalnej, niewielkie dojrzewanie (barwienie hemotoksyliną–eozyną). Fenotyp komórek rozrostu: MPO (ekspresja w części komórek), CD33 (słaba ekspresja), CD15 (dodatnie), CD34 (ujemne), CD117 (dodatnie w ok. 30% komórek), CD61 (dodatnie w dysplastycznych megakariocytach); włóknienie retikulinowe podścieliska (Gomori, MF = 3); *FLT3* (*fms-like tyrosine kinase 3*) — kinaza tyrozynowa podobna do FMS-3; MF (*myelofibrosis*) — mielofibroza, czyli włóknienie szpiku; *NPM1* (*nucleophosmin 1*) — nukleofosmina; TKD (*tyrosine kinase domain*) — domena kinazy tyrozynowej

potwierdzono CR białaczki. Następnie pacjentowi podano 2 cykle chemioterapii konsolidującej remisję z wykorzystaniem wysokich dawek arabinozydu cytozynyw w dawce 2 g/m^2 co 12 godzin w dniach 1., 3., 5. oraz midostauryny w dawce 2 × 50 mg/ /dobę w dniach 8.–21. Midostauryna była dobrze tolerowana, nie obserwowano istotnych działań niepożądanych. W październiku 2019 roku u chorego przeprowadzono alo-HSCT od dawcy niespokrewnionego zgodnego 10/10 w zakresie leukocytarnych antygenów zgodności tkankowej (HLA, *human leukocyte antigen*). Po kondycjonowaniu mieloablacyjnym według schematu: fludarabina 30 mg/m^2/dobę przez 5 dni, busulfan 3,2 mg/kg mc./ /dobę przez 4 dni oraz tymoglobulinę w dawce całkowitej 4,5 mg/kg mc., przetoczono 5,3 × 10^6/kg komórek CD34 pobranych z krwi obwodowej. W profilaktyce choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD, *graf-versus-host disease*) zastosowano standardowo cyklosporynę A oraz metotreksat. Uzyskano wszczepienie i regenerację układu krwiotwórczego. W okresie potransplantacyjnym, w około +60. dobie, obserwowano postać skórną ostrej choroby GvHD w stopniu nasilenia II/III według klasyfikacji Gluckberga [27]. Zastosowano leczenie glikokortykosteroidami z dobrym efektem według przyjętych standardów leczenia ostrej GvHD.

Pacjent pozostaje w CR, ze 100-procentowym chimeryzmem dawcy monitorowanym metodą PCR opartą na analizie krótkich powtórzeń tandemowych (STR-PCR, *short-tandem repeat* PCR), nie prezentuje objawów GvHD i nie wymaga leczenia immunosupresyjnego.

Dyskusja

Ostra białaczka szpikowa z mutacją *NPM1* stanowi odrębną jednostkę w klasyfikacji WHO 2016. Rozwija się *de novo* u osób z prawidłowym kariotypem. Klinicznie obserwuje się zajęcie narządów pozaszpikowych, takich jak dziąsła, węzły chłonne i skóra oraz niedokrwistość, małopłytkowość, leukocytozę. Obecność mutacji *NPM1* wiąże się z korzystnym rokowaniem, wydłużeniem przeżyć wolnych od zdarzeń (EFS, *event-free survival*) oraz OS [28]. Komórki białaczkowe mają najczęściej morfologię mielomonocytarną lub monocytarną; w 1/4 przypadków występuje wieloliniowa dysplazja (MLD). Komórki blastyczne nie wykazują ekspresji CD34 przy dodatnich następujących antygenach CD117, CD123, CD33^{high}, CD13^{low} [29]. Z uwagi na specyficzne cechy, w tym MLD, czy włóknienie szpiku, podobnie jak w prezentowanym przypadku, podtyp AML *NPM1*^{mut} może stanowić duże wyzwanie diagnostyczne [30]. Dlatego też, w diagnostyce różnicowej AML z mutacją *NPM1* i włóknieniem, uwzględniono APMF, transformację z mielofibrozy do AML oraz AML-MRC. Ostra panmieloza z mielofibrozą charakteryzuje się ostrą trójliniową proliferacją ze zwiększonym odsetkiem blastów (≥ 20%) i włóknieniem. Szpik jest bogatokomórkowy z cechami rozrostu prekursorów trzech linii oraz dysplazją (dysplazja dotyczy głównie megakariocytów) i włóknieniem. Choroba rozwija się *de novo*, ma nagły początek. U pacjentów z APMF zazwyczaj występują nasilone objawy ogólne, bóle kostne, pancytopenia, nieznaczne powiększenie śledziony lub jego brak [31, 32]. Rokowanie jest poważne. Mieloblasty wykazują ekspresję CD34, CD13, CD33, CD117; odczyn z mieloperoksydazą jest ujemny. W badaniach genetycznych kariotyp jest złożony [33]. W opisywanym przypadku obserwowano rozrost tylko jednej linii krwiotworzenia oraz prawidłowy kariotyp, co przemawia przeciwko rozpoznaniu APMF. Zgodnie z kryteriami WHO 2016, jeśli ostry rozrost dotyczy tylko jednej linii (np. mieloblastów) i towarzyszy mu mielofibroza klasyfikuje się jednostkę jako specyficzny podtyp AML z mielofibrozą [29]. Cechami wykluczającymi transformację pierwotnej mielofibrozy (PMF, *primary myelofibrosis*) do AML było: brak wywiadu PMF, inna niż w PMF morfologia megakariocytów oraz brak typowych dla PMF zmian genetycznych (mutacje *JAK-2* V617F, *MPL*, *CARL*) [34]. Ze względu na obecność zmian dysplastycznych w linii megakariocytowej i granulocytowej w diagnostyce różnicowej wzięto pod uwagę rozpoznanie AML-MRC [30]. Cechy wykluczające to rozpoznanie obejmowały brak wywiadu zespołu mielodysplastycznego (MDS, *myelodysplastic syndrome*) oraz brak typowych dla MDS zmian w kariotypie, takich jak między innymi złożony kariotyp oraz ubytki w zakresie chromosomów 5 i 7 [29]. Ostatecznie rozpoznano AML z obecnością mutacji NPM1 jako jednostki tymczasowej w grupie AML z powtarzalnymi aberracjami genetycznymi według WHO 2016.

Podtyp AML-MRC, w którym występują cechy mielodysplazji lub jego wystąpienie poprzedzone jest MDS, czy też stwierdza się zmiany genetyczne związane z mielodysplazją, charakteryzuje się z niekorzystnym rokowaniem w porównaniu z AML bez cech MRC [6]. W literaturze odnotowywane są niższe odsetki remisji całkowitych po zastosowaniu intensywnej chemioterapii, a mediana przeżycia całkowitego wynosi około 9–12 miesięcy [35–37]. Odmienne obserwacje poczyniono w przypadku AML *NPM1*^{mut} z obecnością wieloliniowej

dysplazji. Wpływ obecności MLD na przeżycia u chorych na AML *NPM1*^{mut} oceniono w pracy Falini i wsp. Nie wykazano istotnych różnic w zakresie OS i EFS u chorych na AML *NPM1*^{mut} w zależności od obecności lub braku MLD [38].

Oceniono także wpływ włóknienia retikulinowego na rokowanie chorych na AML *NPM1*^{mut}. W pracy Naous i wsp. wśród 14 na AML *NPM1*^{mut} u 78,6% wykazano obecność włóknienia retikulinowego w stopniu drugim lub większym, a u 45,5% obecność mutacji *FLT3*. U wszystkich chorych obciążonych mutacjami *FLT3* i *NPM1* wykazano zwiększone włóknienie retikulinowe w szpiku. Pacjenci z włóknieniem retikulinowym charakteryzowali się niekorzystnym rokowaniem. Wysnuto więc wniosek, że jego obecność jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym [39].

Mutacje *FLT3* często współistnieją z mutacjami *NPM1* [24, 40]. Współistnienie mutacji *FLT3*-TKD z *NPM1* wiąże się z korzystniejszym rokowaniem niż w przypadku mutacji *FLT3*-ITD z *NMP1*, a przede wszystkim izolowanej mutacji *NPM1* [41]. W pracy Boddu i wsp. wykazano, że współistnienie mutacji *FLT3*-TKD i *NPM1* wiąże się z korzystniejszymi przeżyciami wolnymi od nawrotu AML w porównaniu z chorymi z izolowaną mutacją *NPM1* [42]. Ponadto Pappaemmanuil i wsp. stwierdzili istotne wydłużenie OS u chorych na AML *FLT3*-TKD z *NPM1* w porównaniu z ogólną populacją chorych na AML [8].

Patogenetyczna rola mutacji *NPM1* w rozwoju AML nie została do końca poznana, nie odkryto również leków celowanych stosowanych w przypadku jej obecności. Odmiennie sytuacja wygląda w przypadku mutacji *FLT3,* znana jest jej rola patogenetyczna, także wiele inhibitorów kinazy FLT3 ocenia się w badaniach klinicznych (www.clinicaltrials.gov). Dodatkowo, od kilku lat, standardem leczenia jest skojarzenie midostauryny z intensywną chemioterapią u chorych z rozpoznaniem AML oraz możliwość wykorzystania gilterytynibu w monoterapii u chorych na oporną/nawrotową AML.

W badaniu o akronimie RATIFY (CALGB10603) wykazano, że skojarzone leczenie midostauryny z intensywną chemioterapią istotnie poprawia wyniki leczenia i wydłuża EFS u chorych na AML obciążonych mutacją *FLT3*-TKD [18]. Ponadto stwierdzono, że współwystępowanie mutacji *NPM1* z *FLT3*-TKD wiąże się u tych chorych z istotnym wydłużeniem OS w porównaniu z chorymi nieposiadającymi mutacji *NPM1* [43].

Do alo-HSCT w pierwszej remisji AML kwalifikuje się chorych uwzględniając grupy ryzyka cytogenetycznego i molekularnego według ELN 2017, natomiast w przypadku nawrotu AML u każdego chorego należy rozważyć alo-HSCT [6]. Grupa korzystnego ryzyka według ELN 2017 nie stanowi wskazania do alo-HSCT w pierwszej remisji choroby, chyba że występują dodatkowe czynniki ryzyka, przede wszystkim dodatnia MRD [44]. W grupie pośredniego ryzyka wskazaniem do alo-HSCT jest dodatnia MRD w CR1, natomiast u chorych z ujemną MRD alo-HSCT jest opcją przy niskim ryzyku śmiertelności związanej z leczeniem (TRM, *treatment-related mortality*). W przypadku białaczki wysokiego ryzyka u wszystkich chorych należy rozważyć alo-HSCT jako leczenie poremisyjne [44].

Chorych z obecnością mutacji *FLT3*-TKD oraz *NPM1* kwalifikuje się do grupy chorych o korzystnym rokowaniu i wdraża odpowiednie metody terapeutyczne. W badaniu Perry i wsp. mutacja *NPM1* współwystępowała z mutacją *FLT3*-TKD u 9,5% chorych, a wyniki leczenia w tej grupie chorych były korzystne, co ciekawe zaobserwowano, że mutacja *NPM1* „traciła" swoje korzystne działanie u chorych, u których nie stwierdzano mutacji *FLT3*-TKD [45].

W prezentowanym przypadku chory został zakwalifikowany do alo-HSCT, mimo korzystnego układu mutacji genetycznych *NPM1* oraz *FLT3*--TKD, z uwagi na obecność dodatkowych czynników ryzyka, w tym nacieków pozaszpikowych oraz nasilonego włóknienia retikulinowego szpiku. Wydaje się, że alo-HSCT było właściwym wyborem leczenia u tego chorego, pozostaje on bowiem w całkowitej remisji białaczki.

Dotychczasowe wyniki leczenia chorych na ostrą białaczkę nie są satysfakcjonujące, wciąż eksplorowane są nowe leki, które mogłyby poprawić efektywność leczenia. Szczególnie ważne wydaje się poszukiwanie kolejnych zmian genetycznych oraz zależności przy ich współwystępowaniu. Poznawanie złożonej struktury i hierarchii zmian genetycznych i molekularnych może utorować drogę dalszemu rozwojowi terapii celowanej w AML, umożliwić skojarzenia chemioterapii czy leków hipometylujących już nie z jednym lekiem celowanym, a ich połączeniami — dubletami, tripletami czy też w sekwencyjnym zastosowaniu leków celowanych.

Piśmiennictwo

1. Winer ES, Stone RM. Novel therapy in Acute myeloid leukemia (AML): moving toward targeted approaches. Ther Adv Hematol. 2019; 10: 2040620719860645, doi: 10.1177/2040620719860645, indexed in Pubmed: 31321011.

2. Kayser S, Levis MJ. Advances in targeted therapy for acute myeloid leukaemia. Br J Haematol. 2018; 180(4): 484–500, doi: 10.1111/bjh.15032, indexed in Pubmed: 29193012.
3. Bohl SR, Bullinger L, Rücker FG. New Targeted Agents in Acute Myeloid Leukemia: New Hope on the Rise. Int J Mol Sci. 2019; 20(8), doi: 10.3390/ijms20081983, indexed in Pubmed: 31018543.
4. Rowe JM. Will new agents impact survival in AML? Best Pract Res Clin Haematol. 2019; 32(4): 101094, doi: 10.1016/j.beha.2019.101094, indexed in Pubmed: 31779986.
5. Lee YT, Tan YiJ, Oon CE. Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity. Eur J Pharmacol. 2018; 834: 188–196, doi: 10.1016/j.ejphar.2018.07.034, indexed in Pubmed: 30031797.
6. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017; 129(4): 424–447, doi: 10.1182/blood-2016-08-733196, indexed in Pubmed: 27895058.
7. Ley TJ, Miller C, Ding Li, et al. Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 2013; 368(22): 2059–2074, doi: 10.1056/NEJMoa1301689, indexed in Pubmed: 23634996.
8. Gerstung M, Papaemmanuil E, Martincorena I, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. N Engl J Med. 2016; 374(23): 2209–2221, doi: 10.1056/NEJMoa1516192, indexed in Pubmed: 27276561.
9. Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V. FLT3-ITD and its current role in acute myeloid leukaemia. Med Oncol. 2017; 34(6): 114, doi: 10.1007/s12032-017-0970-x, indexed in Pubmed: 28470536.
10. Daver N, Schlenk RF, Russell NH, et al. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence. Leukemia. 2019; 33(2): 299–312, doi: 10.1038/s41375-018-0357-9, indexed in Pubmed: 30651634.
11. Iwai T, Yokota S, Nakao M, et al. Internal tandem duplication of the flt3 gene found in acute myeloid leukemia. Leukemia. 1996; 10(12): 1911–1918, indexed in Pubmed: 8946930.
12. 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(12): 4326–4335, doi: 10.1182/blood.v99.12.4326, indexed in Pubmed: 12036858.
13. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y, et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. Blood. 1999; 93(9): 3074–3080, indexed in Pubmed: 10216104.
14. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 2012; 366(12): 1079–1089, doi: 10.1056/NEJMoa1112304, indexed in Pubmed: 22417203.
15. 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(8): 2434–2439, doi: 10.1182/blood.v97.8.2434, indexed in Pubmed: 11290608.
16. 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(8): 1345–1349, doi: 10.1038/sj.leu.2403838, indexed in Pubmed: 15959528.
17. 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(4): 1262–1270, doi: 10.1182/blood-2006-04-015826, indexed in Pubmed: 17456725.
18. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. N Engl J Med. 2017; 377(5): 454–464, doi: 10.1056/NEJMoa1614359, indexed in Pubmed: 28644114.
19. Gorcea CM, Burthem J, Tholouli E. ASP2215 in the treatment of relapsed/refractory acute myeloid leukemia with FLT3 mutation: background and design of the ADMIRAL trial. Future Oncol. 2018; 14(20): 1995–2004, doi: 10.2217/fon-2017-0582, indexed in Pubmed: 29498296.
20. Boissel N, Renneville A, Biggio V, et al. Prevalence, clinical profile, and prognosis of NPM mutations in AML with normal karyotype. Blood. 2005; 106(10): 3618–3620, doi: 10.1182/blood-2005-05-2174, indexed in Pubmed: 16046528.
21. Schnittger S, Schoch C, Kern W, et al. Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. Blood. 2005; 106(12): 3733–3739, doi: 10.1182/blood-2005-06-2248, indexed in Pubmed: 16076867.
22. Suzuki T, Kiyoi H, Ozeki K, et al. Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. Blood. 2005; 106(8): 2854–2861, doi: 10.1182/blood-2005-04-1733, indexed in Pubmed: 15994285.
23. Cazzaniga G, Dell'Oro MG, Mecucci C, et al. GIMEMA Acute Leukemia Working Party. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. N Engl J Med. 2005; 352(3): 254–266, doi: 10.1056/NEJMoa041974, indexed in Pubmed: 15659725.
24. Falini B, Nicoletti I, Martelli MF, et al. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): biologic and clinical features. Blood. 2007; 109(3): 874–885, doi: 10.1182/blood-2006-07-012252, indexed in Pubmed: 17008539.
25. Hills RK, Ivey A, Grimwade D, et al. UK National Cancer Research Institute (NCRI) AML Working Group, UK National Cancer Research Institute AML Working Group. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. N Engl J Med. 2016; 374(5): 422–433, doi: 10.1056/NEJMoa1507471, indexed in Pubmed: 26789727.
26. Krönke J, Schlenk RF, Jensen KO, et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. J Clin Oncol. 2011; 29(19): 2709–2716, doi: 10.1200/JCO.2011.35.0371, indexed in Pubmed: 21555683.
27. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. Transplantation. 1974; 18(4): 295–304, doi: 10.1097/00007890-197410000-00001, indexed in Pubmed: 4153799.
28. Thiede C, Koch S, Creutzig E, et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). Blood. 2006; 107(10): 4011–4020, doi: 10.1182/blood-2005-08-3167, indexed in Pubmed: 16455956.
29. Appendix 2: WHO Classification of Tumours of Haemopoietic and Lymphoid Tissues. Postgraduate Haematology. : 1023–1024, doi: 10.1002/9780470987056.app2.
30. Xu Z. AML with myelodysplasia-related changes masquerades as acute panmyelosis with myelofibrosis. Blood. 2017; 130(15): 1775, doi: 10.1182/blood-2017-06-793554, indexed in Pubmed: 29025719.
31. Thiele J, Kvasnicka HM, Zerhusen G, et al. Acute panmyelosis with myelofibrosis. Leuk Lymphoma. 2004; 45(4): 681–687, doi: 10.1080/10428190310001625692, indexed in Pubmed: 15160939.

32. Thiele J, Kvasnicka HM, Zerhusen G, et al. Acute panmyelosis with myelofibrosis: a clinicopathological study on 46 patients including histochemistry of bone marrow biopsies and follow-up. Ann Hematol. 2004; 83(8): 513–521, doi: 10.1007/s00277-004-0881-8, indexed in Pubmed: 15173958.
33. Orazi A, O'Malley DP, Jiang J, et al. Acute panmyelosis with myelofibrosis: an entity distinct from acute megakaryoblastic leukemia. Mod Pathol. 2005; 18(5): 603–614, doi: 10.1038/modpathol.3800348, indexed in Pubmed: 15578075.
34. Appendix 2: WHO Classification of Tumours of Haemopoietic and Lymphoid Tissues. Postgraduate Haematology. : 1023–1024, doi: 10.1002/9780470987056.app2.
35. Koenig KL, Sahasrabudhe KD, Sigmund AM, et al. AML with Myelodysplasia-Related Changes: Development, Challenges, and Treatment Advances. Genes (Basel). 2020; 11(8), doi: 10.3390/genes11080845, indexed in Pubmed: 32722092.
36. Østgård LSG, Nørgaard JM, Sengeløv H, et al. Comorbidity and performance status in acute myeloid leukemia patients: a nation-wide population-based cohort study. Leukemia. 2015; 29(3): 548–555, doi: 10.1038/leu.2014.234, indexed in Pubmed: 25092141.
37. Montalban-Bravo G, Kanagal-Shamanna R, Class CA, et al. Outcomes of acute myeloid leukemia with myelodysplasia related changes depend on diagnostic criteria and therapy. Am J Hematol. 2020; 95(6): 612–622, doi: 10.1002/ajh.25769, indexed in Pubmed: 32112433.
38. Falini B, Macijewski K, Weiss T, et al. Multilineage dysplasia has no impact on biologic, clinicopathologic, and prognostic features of AML with mutated nucleophosmin (NPM1). Blood. 2010; 115(18): 3776–3786, doi: 10.1182/blood-2009-08-240457, indexed in Pubmed: 20203266.
39. Naous R, Gentile T, Vajpayee N. 201 Evaluation of Bone Marrow Fibrosis in NPM-Positive AML: A Retrospective Study. American Journal of Clinical Pathology. 2018; 149(suppl_1): S85–S86, doi: 10.1093/ajcp/aqx121.200.
40. Falini B, Nicoletti I, Bolli N, et al. Translocations and mutations involving the nucleophosmin (NPM1) gene in lymphomas and leukemias. Haematologica. 2007; 92(4): 519–532, doi: 10.3324/haematol.11007, indexed in Pubmed: 17488663.
41. 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(5): 2527–2537, doi: 10.1182/blood-2007-05-091215, indexed in Pubmed: 17965322.
42. Boddu P, Kantarjian H, Borthakur G, et al. Co-occurrence of -TKD and mutations defines a highly favorable prognostic AML group. Blood Adv. 2017; 1(19): 1546–1550, doi: 10.1182/bloodadvances.2017009019, indexed in Pubmed: 29296796.
43. Voso MT, Larson RA, Jones D, et al. Midostaurin in patients with acute myeloid leukemia and FLT3-TKD mutations: a subanalysis from the RATIFY trial. Blood Adv. 2020; 4(19): 4945–4954, doi: 10.1182/bloodadvances.2020002904, indexed in Pubmed: 33049054.
44. Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N. ed. The EBMT handbook. Hematopoietic stem cell transplantation and cellular therapies. Springer Open, Cham 2019: 507–521.
45. Perry M, Bertoli S, Rocher C, et al. FLT3-TKD Mutations Associated With NPM1 Mutations Define a Favorable-risk Group in Patients With Acute Myeloid Leukemia. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2018; 18(12): e545–e550, doi: 10.1016/j.clml.2018.06.006, indexed in Pubmed: 30082225.