

Nilai Prognostik FLT3 Pada Pasien Leukemia Mieloid Akut

Hendra Asputra*

ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) is a disease characterized by neoplastic transformation and abnormality of progenitor cells differentiation from myeloid cells. In AML there is a heterogeneous abnormality in hematopoietic progenitor cells, this abnormality has been identified and affects the balance between proliferation, survival and differentiation of body cells. Mutation of FMS-like tyrosin kinase 3 (FLT3) gene causes overexpression which is one of the most often found mechanism that has been identified could trigger genetic changes that can disturb intracellular signaling tissue in pathogenesis of leukemia. Besides being used as a diagnostic tool, FLT3 overexpression can also be used to assess the prognosis of AML.

Keywords: FLT3, Acute Myeloid Leukemia

Leukemia mieloid akut (LMA) adalah suatu penyakit yang ditandai dengan transformasi neoplastik dan gangguan diferensiasi sel-sel progenitor dari sel mieloid. Bila tidak diobati, penyakit ini akan menyebabkan kematian secara cepat dalam waktu beberapa minggu sampai bulan sesudah diagnosis.^{1,2}

Insidensi leukemia mieloid akut (LMA) terjadi sekitar 30% dari semua leukemia pada orang dewasa, dan sekitar 18.300 kasus baru didiagnosis di Eropa setiap tahun, sekitar 0,6% dari semua kanker. Di *United State (US)* tahun 2011, didapatkan insidensi LMA sebanyak 25.320 kasus per tahun dengan angka mortalitas sebanyak 12.740 kasus per tahun, dan merupakan 80% dari semua leukemia pada dewasa. *European Society Medical Oncologi (ESMO)* tahun 2005 melaporkan insidensi LMA sebanyak 5-8/100.000 populasi dengan angka mortalitas 4-6/100.000 populasi. Sedangkan di RS Kanker Dharmais tahun 2006 dilaporkan kejadian LMA sebesar 53,3% dari seluruh leukemia. Secara keseluruhan, LMA adalah leukemia yang paling umum pada orang dewasa, dengan angka kejadian lima kali lebih sering pada usia dibawah 50 tahun.

Terlihat kecenderungan insidensi LMA semakin lama semakin meningkat.^{3,4}

Kemajuan dalam sel dan biologi molekular telah merevolusi pemahaman kita tentang hematopoiesis normal. Secara umum survival, proliferasi dan diferensiasi adalah tiga proses selular yang mendasari perkembangan sel hematopoietik normal.^{5,6} Pada LMA terdapat kelainan heterogen pada sel progenitor hematopoietik, kelainan ini telah diidentifikasi dan mempengaruhi keseimbangan antara proliferasi, survival dan diferensiasi sel. Kelainan ini mengakibatkan ekspansi dari klon sel induk abnormal. Selama beberapa tahun terakhir, beberapa studi telah menyimpulkan bahwa leukemogenesis adalah proses di mana beberapa kegiatan yang meliputi perubahan genetik independen pada proto-onkogen atau gen-supressor, bersama dengan faktor epigenetik atau faktor lingkungan, yang berkontribusi pada perkembangan fenotip ganas.^{7,8}

Meskipun banyak kontrol yang mengatur hematopoiesis, mutasi pada gen regulator mampu mempromosikan leukemogenesis. *FLT3 receptor tirosin kinase encode* memainkan peran penting dalam mengontrol kelangsungan hidup, proliferasi dan diferensiasi sel hematopoietik. Overekspresi pada gen ini dapat menyebabkan deregulasi keseimbangan antara proliferasi dan diferensiasi sel.^{8,9}

* Corresponding author: hendraasputra_dr@yahoo.co.id

¹ KJFD Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Riau/ RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia.

Mutasi gen *FMS-like tirosin kinase 3 (FLT3)* menyebabkan overekspresi yang merupakan salah satu dari yang paling sering diidentifikasi dari perubahan genetik yang mengganggu jaringan *signaling* intraselular yang berperan dalam patogenesis leukemia. Overekspresi *FLT3* selain digunakan sebagai alat diagnosis, juga dapat digunakan untuk menilai prognosis. Oleh karena relevansinya dengan prognostik, klasifikasi dari *World Health Organization (WHO)* saat ini merekomendasikan penilaian mutasi gen *FLT3* untuk semua pasien dengan LMA. Berikut penulis paparkan tinjauan pustaka mengenai nilai prognostik *FLT3* pada pasien LMA.

Epidemiologi LMA

Leukemia mieloid akut adalah kategori penyakit yang ditandai dengan kelainan imunofenotip dan heterogenitas dari genetik, yang didefinisikan sebagai proliferasi sel klon imatur dari progenitor hematopoietik dengan diferensiasi mieloid (*myeloblast*) di sumsum tulang, darah perifer atau jaringan ekstraseluler. Secara epidemiologi, LMA menunjukkan distribusi tertinggi di kelompok usia muda. Pada usia yang lebih tua LMA terjadi sekitar 25% dari semua kasus leukemia.^{5,6,7}

Patogenesis LMA

Patogenesis utama LMA adalah adanya blokade maturitas yang menyebabkan proses diferensiasi sel-sel seri mieloid terhenti pada sel-sel muda (*blast*) dengan akibat terjadi akumulasi *blast* di sum-sum tulang. Akumulasi *blast* dalam sum-sum tulang akan menyebabkan gangguan hematopoiesis normal dan pada gilirannya akan mengakibatkan sindroma kegagalan sum-sum tulang (*bone marrow failure syndrome*) yang ditandai dengan adanya sitopenia (anemia dan trombositopenia). Adanya anemia menyebabkan pasien mudah lelah dan pada kasus yang lebih berat bisa sesak nafas, adanya trombositopenia akan menyebabkan tanda-tanda perdarahan, sedangkan adanya leukopenia akan menyebabkan pasien akan rentan terhadap infeksi, termasuk infeksi oportunistik dari flora bakteri normal yang ada di dalam tubuh manusia. Selain itu sel-sel *blast* yang terbentuk juga punya kemampuan untuk migrasi keluar sum-sum tulang dan berinfiltrasi ke organ-organ lain seperti kulit, tulang, jaringan lunak dan sistem saraf pusat dan merusak organ-organ tersebut dengan segala akibatnya.^{10,11}

Hal mendasari blokade maturitas ini adalah kelainan genetik yang disebabkan oleh mutasi gen. Mutasi gen ini dibagi atas mutasi kelas I, kelas II dan *unclassified* seperti yang terlihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 1. Mutasi kelas I, II dan tidak terklasifikasi¹²

Mutasi Kelas I	Mutasi Kelas II	Mutasi Tak Terklasifikasi
Mutasi FLT3	PML-RARa	NPM1
Mutasi c-KIT	AML 1-ETO	Dnmt3a
Mutasi N-or K-Ras	CBFb-MYH11	
PTPN11	Mutasi AML1	
	Mutasi C/EBPa	
	MLL-PTD	

Manifestasi Klinis LMA

Tanda dan gejala utama LMA adalah rasa lelah, perdarahan dan infeksi yang disebabkan sindroma kegagalan sumsum tulang. Perdarahan biasanya terjadi dalam bentuk purpura atau petekie yang sering dijumpai di ekstremitas bawah atau berupa epistaksis, perdarahan gusi atau retina. Perdarahan yang lebih berat jarang terjadi kecuali pada kasus yang disertai dengan DIC. Kasus DIC ini paling sering dijumpai pada kasus LMA tipe M3. Infeksi

sering terjadi di tenggorokan, paru-paru, kulit dan daerah perirektal.^{10,11}

Leukositosis terjadi pada lebih dari 50% kasus LMA, sekitar 15% pasien mempunyai angka leukosit yang normal dan sekitar 35% pasien mengalami neutropenia, meskipun demikian sel-sel blast dalam jumlah yang signifikan dalam sel-sel darah tepi akan ditemukan pada lebih 85% kasus LMA. Pada pasien dengan angka leukosit yang sangat tinggi (lebih dari 100.000/mm³), sering terjadi leukostasis,

yaitu terjadinya gumpalan leukosit yang menyumbat aliran pembuluh darah vena maupun arteri. Gejala leukostasis sangat bervariasi, tergantung lokasi sumbatannya. Angka leukosit yang sangat tinggi juga sering menimbulkan gangguan metabolisme berupa hiperurisemia dan hipoglikemia. Infiltrasi sel-sel *blast* akan menyebabkan tanda/gejala yang bervariasi tergantung organ yang diinfiltrasi.^{10,11}

Diagnosis LMA

Pendekatan diagnostik pada leukemia akut telah terjadi perubahan yang signifikan selama 20-30 tahun terakhir, dan mencerminkan kemajuan dalam pemahaman tentang perubahan genetik dan molekuler yang berkontribusi pada leukemogenesis.^{10,11}

Secara garis besar diagnostik kerja leukemia akut yaitu berdasarkan pemeriksaan sumsum tulang pada pasien yang dicurigai berdasarkan klinis dan laboratorium. Kemudian dapat dilakukan pemeriksaan morfologi, sitokimia dan immunofenotip. Setelah itu dapat dilakukan

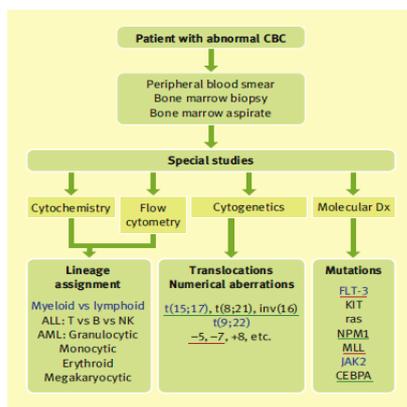
pemeriksaan lanjutan yaitu pemeriksaan sitogenetik dan molekuler, namun ini membutuhkan waktu yang agak lama, namun hasil yang diperoleh dapat digunakan untuk klasifikasi dan diagnosis definitif penyakit.^{10,11}

Secara klasik diagnosis LMA ditegakkan berdasarkan pemeriksaan fisik, morfologi sel dan pengecatan sitokimia dan ada pemeriksaan terbaru yaitu *immunophenotyping* dan analisis sitogenetik. Berdasarkan pemeriksaan morfologi dan pengecatan sitokimia, gabungan ahli hematologi Amerika, Perancis dan Inggris menetapkan klasifikasi LMA yang terdiri dari 8 sub tipe (M0 sampai M7). Klasifikasi ini dikenal dengan nama klasifikasi FAB (*French American British*). Klasifikasi FAB hingga saat ini masih menjadi diagnosis dasar LMA. Pengecatan sitokimia yang penting untuk pasien LMA adalah *Sudan Black B (SBB)* dan *Mieloperoksidase (MPO)*. Kedua pengecatan sitokimia tersebut akan memberikan hasil positif pada pasien LMA tipe M1, M2, M3, M4 dan M6.^{10,11,13}

Tabel 2. Klasifikasi LMA berdasarkan FAB¹⁰

Subtipe	Diagnosis
M0	<i>Acute undifferentiated leukemia</i>
M1	<i>AML with minimal differentiation</i>
M2	<i>AML with differentiation</i>
M3, M3V	<i>Acute promyelocytic leukemia, microgranular variant</i>
M4, M4eo	<i>Acute myelocytic leukemia, with abnormal eosinophilis</i>
M5a, M5b	<i>Acute monoblastic leukemia poorly differentiated, with differentiation</i>
M6	<i>Acute erythroleukemia</i>
M7	<i>Acute megakaryoblastic leukemia</i>

Zuo Z *et al* (2009) merekomendasikan langkah-langkah dalam menegakkan diagnosis leukemia akut seperti terlihat pada gambar berikut ini.⁶



Gambar 1. Pemeriksaan sitokimia, sitogenetik dan molekuler pasien leukemia akut.⁶

Terlihat bahwa upaya dalam menegakkan diagnosis leukemia akut memerlukan pemeriksaan sitomorfologi, sitokimia, *immunophenotyping* dengan *flowcytometry*, sitogenetik dan molekuler.

Penyimpangan kromosom, mutasi gen, perubahan ekspresi dan prognosis pada leukemia mieloid akut

Leukemia mieloid akut (LMA) adalah proses multistep yang memerlukan kolaborasi minimal dua kelas mutasi, terdiri dari mutasi kelas I yang mengaktifkan jalur sinyal transduksi yang berpengaruh pada proliferasi sel-sel hematopoietik dan atau survival sel serta mutasi kelas II yang mempengaruhi faktor transkripsi dan merusak

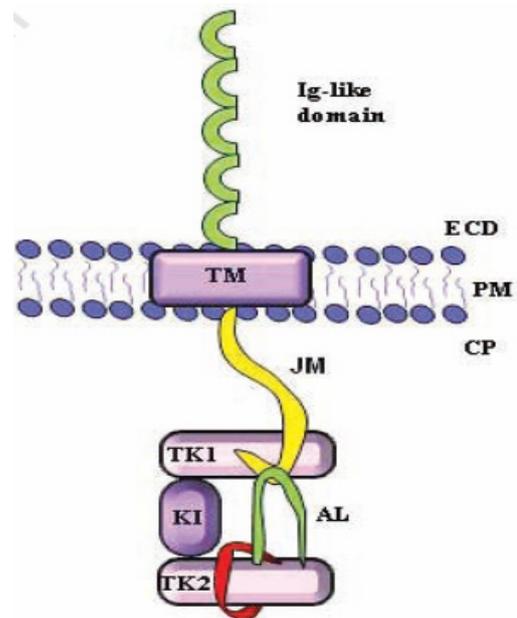
diferensiasi sel hematopoitik. Analisis komprehensif pada penelitian *Ishikawa et al*, pada 144 pasien LMA yang baru didiagnosis didapatkan bahwa terdapat *overlapping* mutasi antara mutasi kelas I dan kelas II. Selain sering terjadinya mutasi pada *FLT3* itu sendiri, juga terdapat mutasi dengan molekul lain (misalnya *NPM1*, *c-KIT*, *CBFβ/MYH11 rearrangement*), mereka menemukan bahwa 2 dari 35 pasien dengan mutasi *FLT3* juga memiliki mutasi pada *NPM-1*, *c-KIT* dan *AML1/ETO*. Secara kolektif, mutasi *FLT3* memainkan peran kunci dalam leukemogenesis yang bekerja sama secara fungsional dengan molekul lain.^{6,7,10,12,13,14}

Struktur *FLT3*

Reseptor *FLT3* (*Fms-like tirosin kinase 3*), juga dikenal sebagai *FLK2* (*fetal liver tyrosine kinase 2*), *STK-1* (*stem cell tyrosine kinase 1*) atau *CD135*, dikodekan oleh gen *FLT3* pada kromosom 13q12. Gen ini terdiri dari 24 ekson dan mencakup sekitar 96 kb, ukuran pasti belum diketahui karena adanya intron besar (>50 kb) terletak antara ekson 2 dan 3. Panjang transkripsi yaitu 3.7 kb dan berisi *pseudogene* dengan rangka terbuka membaca 2979 bp. Protein yang mengkodekan adalah reseptor transmembran dari 933 asam amino dengan berat molekul 155-160 kDa yang merupakan kelas III *family reseptor tyrosine kinase (RTK)*.^{12,14,15}

Struktur *FLT3* terdiri dari empat daerah (gambar 2), yaitu^{12,14,15}:

- a) *N-terminal ekstraselular region (541aa)* terdiri dari 5 *immunoglobulin-like domain*, dimana tiga paling distal dari membran plasma yang terlibat dalam pengikatan ligan, sementara domain proksimal terlibat dalam dimerisasi dari reseptor
- b) *Transtransmembrane portion (21aa)*
- c) *Juxtamembrane (JM) domain*
- d) *Intraselular C-terminal region (431aa)* dengan *split kinase domain*.



Gambar 2. Struktur *FLT3*.^{12,21,27}

FLT3 ligand

Eksposur *FLT3* pada ligan merupakan langkah penting dalam mengatur kegiatan reseptor. *FL* merupakan protein transmembran tipe 1, bagian dari faktor pertumbuhan yang merangsang proliferasi dan diferensiasi sel hematopoetik.^{16,17,18}

Ada dikenal tiga isoforms:

- 1) Glikoprotein 30 kDa dengan empat transmembran alfa-heliks, domain aminoterminal dan area sitoplasmik, yang merupakan bentuk yang paling sering, untuk mengikat dan mengaktifkan reseptor.
- 2) Biologis aktif yang larut, dihasilkan melalui pemotongan isoform transmembran
- 3) Dalam bentuk larut.

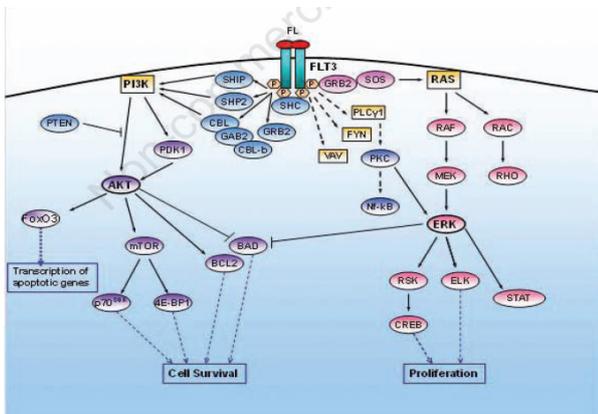
FL diekspresikan oleh sebagian besar jaringan, termasuk organ pembentuk darah (limpa, timus, darah perifer dan sumsum tulang), prostat, ovarium, ginjal, paru-paru, colon, usus kecil, testis, hati dan plasenta, dengan tingkat ekspresi yang lebih tinggi pada permukaan *sel blast* sum-sum tulang dan darah perifer.^{16,17}

Aktifitas *FL* akan minimal ketika bertindak sendirian, tapi itu sangat sinergis dengan sitokin

lain. Pada leukemia mieloid akut, rangsangan *FLT3* oleh ligan yang mempromosikan proliferasi dan kelangsungan hidup sel *blast* leukemia diekspresikan oleh reseptor. Progenitor hematopoietik dapat dirangsang oleh sekresi lokal *FL* atau dari kontak langsung dengan *FL* yang diekspresikan pada permukaan sel mononuklear, ini menunjukkan kontrol dari aktivasi *FLT3* melalui *loop paracrine* atau kontrol umpan balik *autocrin*.^{13,14}

Jaringan sinyal transduksi yang diaktifkan *FLT3*

Eksresi *FLT3* memiliki peran penting dalam banyak proses regulasi sel hematopoietik, termasuk metabolisme fosfolipid, transkripsi, proliferasi, apoptosis, dan hubungan dengan jalur *RAS* dan juga terlibat dalam leukemogenesis, seperti yang terlihat pada gambar 3. *FLT3* menyebabkan aktivasi jaringan sinyal transduksi terutama melalui *phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)* dan kaskade *RAS*, mendukung aktivasi *AKT (protein kinase B, PKB)*, *signal transducer and activator transcription factor (STAT)* dan *ekstraselular signal regulated kinase 1 dan 2 (ERK1/2)*.^{13,14,17}

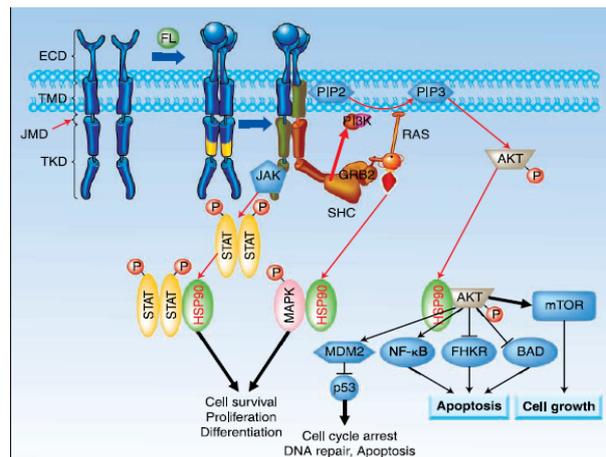


Gambar 3. Jalur aktivasi sinyal oleh FLT3-WT⁷.

Dalam keadaan tidak terstimulasi, reseptor *FLT3* ada dalam bentuk monomer, dalam bentuk tidak terfosforilasi dengan bagian kinase inaktif. Pada interaksi reseptor dengan *FLT3* ligan (*FL*), reseptor mengalami perubahan konformasi, yang menyebabkan pemaparan dari domain dimerisasi, yang memungkinkan dimerisasi reseptor-reseptor untuk mengambil tempat. Dimerisasi reseptor ini adalah awal dari aktivasi enzim tirosin kinase, yang menyebabkan fosforilasi berbagai situs di domain

intraseluler.^{13,14,17}

Reseptor yang teraktivasi merekrut sejumlah protein dalam sitoplasma untuk membentuk kompleks interaksi protein-protein dalam domain intraseluler. Protein *SHC*, *GRB2*, *SHIP*, *CBL*, dan *CBLB* adalah beberapa dari banyak protein adaptor yang berinteraksi dengan reseptor *FLT3* yang teraktivasi. Karena setiap protein mengikat kompleks, akan menjadi aktif pada gilirannya, yang menghasilkan kaskade reaksi fosforilasi yang memuncak dalam aktivasi dari sejumlah mediator sekunder, termasuk jalur sinyal transduksi *MAP kinase*, *STAT*, dan *AKT*. Sekali diaktifkan, mediator yang teraktivasi ini dikawal ke nuklir interfase oleh *HSP90*, dalam pemindahan pesan ke nukleus. Pada inti ini mediator transkripsi memicu serangkaian peristiwa yang berpuncak pada regulasi diferensiasi sel, proliferasi apoptosis, dan kelangsungan hidup sel (Gambar 4).^{13,14,17}



Gambar 4. Jalur aktivasi sinyal oleh *FLT3*.¹⁷

FLT3 dan Leukemia Mieloid Akut

FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) diekspresikan pada tingkat tinggi dalam beberapa spektrum keganasan hematologik, yaitu 93% dari kasus LMA. Ini menunjukkan bahwa overekspresi reseptor ini dapat berperan dalam kelangsungan hidup dan proliferasi dari sel leukemia. Data ini menunjukkan bahwa *signaling FLT3* penting dalam subtype leukemia tertentu dan juga terlibat dalam jalur *signaling autocrine, paracrine atau intracrine*.^{13,14,19,20}

Dalam beberapa tahun terakhir, telah menunjukkan bahwa *somatic activation mutation*

dari gen *FLT3* merupakan kelainan genetik yang paling umum pada LMA dan memiliki dampak yang signifikan pada prognosis. Sekitar 30-70% dari kasus yang diagnosis LMA memiliki mutasi gen *FLT3*, secara khusus 70% dari pasien dengan normal kariotipe dan 35% dari pasien dengan t(15;17), dan frekuensi lebih tinggi pada *de novo* LMA. Pasien wanita lebih sering, dan mutasi ini dikaitkan dengan hiperselularitas dan insiden rekurensi yang tinggi.^{13,14,19,20}

Perubahan genetik pada *FLT3* akan menyebabkan ekspresi *constitutive* dari *activated tyrosine kinase receptor* pada *blast* LMA, dan aktivasi ini menyebabkan leukemogenesis, mengatur karakteristik fungsional dari *blast* leukemia. Pada pasien LMA terdapat dua jenis utama yang mengaktifkan mutasi, *ITD* di daerah coding untuk domain *JM*, ditentukan oleh urutan masuknya asam amino yang berulang-ulang, dan titik mutasi yang menyebabkan substitusi asam amino dalam lingkaran aktivasi *TKD*.^{19,20}

PENUTUP

Pasien AML dengan mutasi pada FLT 3 memiliki prognosis yang lebih buruk daripada pasien tanpa mutasi pada FLT3. Mutasi pada gen FLT3 merupakan salah satu dari yang paling sering diidentifikasi dari perubahan genetik yang berperan dalam patogenesis leukemia mieloid akut. Oleh karena itu perlunya pemeriksaan FLT3 pada pasien yang didiagnosis AML sehingga dapat menentukan prognosis dan sekaligus rencana terapi target.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wetzler M. Acute and chronic myeloid leukemia. *Harrisons principles of internal medicine*. 16th edition. Mc graw Hill. 2005;1:631-641.
2. Mehta A & Hoffbrand V. Leukemia akut. *Klasifikasi dan diagnosis. At a glance hematology*. Airlangga. 2008;2:52-3.
3. Suzanna E, Sirait T, Rahayu PS, Shalmont G, Anwar E, Andalusia R, *et al*. Registrasi kanker berbasis rumah sakit di rumah sakit kanker dharmais. *Pusat kanker nasional. Indonesian Journal of Cancer* 2012;6(4):181-196.
4. Fey MF, Greil R, Jost LM. ESMO Clinical recommendations for the diagnosis, treatment and follow-up of acute myeloblastic leukemia (AML) in adult patients. *Annals of Oncology* 2005;16(1):40-49.
5. Bakta IM. *Hematologi Klinik*. EGC. Jakarta. 2006:121-149.
6. Zuo Z, Chandra P, Wen YH, Koeppen H. Molecular diagnostics of acute myeloid leukemia. *Diagnostic Histopathology* 2009;15(11):531-9.
7. Abdel WO & Zuckerman. Molecular genetics of acute myeloid leukemia: Clinical implications and opportunities for integrating genomics into clinical practice. *Hematology* 2012;17(1):39-42.
8. Mrozek K & Bloomfield CD. Chromosome aberrations, gene mutations and expression changes, and prognosis in adult acute myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006;2006(1):169-177.
9. Vora HH, Shukla SN, Brahambhatt BV, Mehta SV, Patel N, Parikh SK, *et al*. Clinical relevance of FLT3 receptor protein expression in Indian patients with acute leukemia. *Asia Pacific Journal Of Clinical Oncology* 2010:306-319.
10. Kurnianda J. Leukemia mieloid akut. Dalam *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi kelima, jilid II*, editor Sudoyo A dkk. Interna Publishing, Jakarta. 2009:1234-1240.
11. Smith M, Barnett M, Bassan R, Gemma G, Tondini C and Kern W. Adult acute myeloid leukemia. *Crit rev oncol hematol* 2004;50(3):197-222.
12. Takahashi S. Downstream molecular pathways of FLT3 in the pathogenesis of acute myeloid leukemia: biology and therapeutic implications. *J Hematol Oncol* 2011:1-10.
13. Arber DA, Carter NH, Ikle D and Slovak M. Value of combined morphologic, cytochemical, and immunophenotypic features in predicting recurrent cytogenetic abnormalities in acute myeloid leukemia. *Human Pathology* 2003;35(5):1-9.
14. Grafone T, Palmisano M, Nicci C, Storti S. An Overview on the Role of FLT3-tyrosine kinase receptor in acute myeloid leukemia: biology and treatment. *Oncol Rev* 2012;6(1):65-74.

15. Testa U & Pelosi E. The Impact of FLT3 mutations on the development of acute myeloid leukemias. *Leukemia Research and Treatment* 2013;1-14.
16. Kim KT, Levis M, Small D. Constitutively activated FLT3 phosphorylates BAD partially through pim1. *Br J Haematol* 2006;134:500-9.
17. Ikeda A, Shankar DB, Watanabe M, Tamanoi F, Moore TB, Sakamoto KM. Molecular targets and the treatment of myeloid leukemia. *Mol Genet Metab* 2006;88(3):216-24.
18. Meshinchi S & Appelbaum FR. Structural and functional alteration of FLT3 in acute myeloid leukemia. *Molecular Pathways. Clin Cancer Res.* 2009;15(13):4263-9.
19. Qian Z, Joslin JM, Tennant TR, Reshmi SC, Young DJ, Stoddart A, *et al.* Cytogenetic and genetic pathways in therapy-related acute myeloid leukemia. *Chem Biol Interact* 2010;184(0):50-57.
20. Del Poeta, Ammatuna E, Lavorgna S, Capelli G, Zaza S, Luciano F, *et al.* The genotype nucleophosmin mutated and FLT3-ITD negative is characterized by high bx/bcl-2 ratio and favourable outcome in acute myeloid leukemia. *Br J Haematol* 2010;149(3):383-7.