

# Določitev mutacije D816V v genu C-KIT pri slovenskih bolnikih z akutno mieloidno levkemijo in sistemsko mastocitozo

Determination of D816V mutation in the C-KIT gene in the Slovenian patients with acute myeloid leukemia and systemic mastocytosis

Martina Fink, Peter Černelč, Tadej Pajič

Klinični oddelek za hematologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana

## Korespondenca/ Correspondence:

Martina Fink, Klinični oddelek za hematologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana, tel; 01 522 48 54, email; martina.fink@kclj.si

## Ključne besede:

mutacija D816V, C-KIT, sistemsko mastocitozo, akutna mieloidna levkemija

## Key words:

C-KIT, mutation D816V, systemic mastocytosis, acute myeloid leukemia

## Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012; 81 supl 2: II-168–173

Prispelo: 19. apr. 2012,  
Sprejeto: 20. jun. 2012

## Izvleček

**Izhodišče:** Mutacija D816V v genu *C-KIT* je prisotna pri več kot 90 % bolnikov s sistemsko mastocitozo (SM) in pri 2–7 % bolnikov z akutno mieloidno levkemijo (AML). Mutacijo D816V povzroča zamenjava adenina s timinom na mestu 2447 nukleotidnega zaporedja v genu *C-KIT*. Ta nukleotidna zamenjava povzroči, da se aspartatna kislina zamenja z valinom v kodonu 816 proteina KIT. Protein KIT z mutacijo D816V deluje kot konstitutivno aktivna tirozin kinaza, ki pospešuje celično proliferacijo in zavira apoptozo. Z našo raziskavo smo želeli določiti pogostost pojavljanja omenjene mutacije pri slovenskih bolnikih z AML in pri bolnikih s sumom na sistemsko mastocitozo.

**Bolniki in metode:** V retrospektivno raziskavo smo vključili 71 bolnikov z AML in 25 bolnikov, pri katerih je obstajal sum sistemske mastocitoze. Mutacijo D816V v proteinu KIT smo določili z verižno reakcijo s polimerazo (PCR), nastale produkte reakcije PCR pa analizirali z agarozno gelsko elektroforezo.

**Rezultati:** Mutacijo D816V v proteinu KIT smo določili pri 7 % bolnikov z AML in pri 32 % bolnikov s sumom na sistemsko mastocitozo.

**Zaključki:** Določitev mutacije D816V v proteinu KIT izvajamo ob sumu na sistemsko mastocitozo, ko pripomore k postavitvi diagnoze in izbiri načina zdravljenja. Ugotovitev mutacije D816V v proteinu KIT pri bolnikih z AML in hkratne genske spremembe RUNX-RUNX1T1 (značilno za translokacijo t(8;21) (q22;q22)) ali CBF-MYH11, ki je posledica inverzije na kromosomu 16–inv(16)(p13;q22), nakazuje na hitrejši potek bolezni in je slab napovedni dejavnik. Ugotovitev mutacije pri drugih bolnikih z AML lahko pomeni hkratno prisotnost AML in SM, česar pa pri naših bolnikih nismo ugotovili.

## Abstract

**Background:** D816V mutation in the *C-KIT* gene is present in more than 90 % of patients with systemic mastocytosis (SM) and 2–7 % of patients with acute myeloid leukemia (AML). D816V mutation is caused by the substitution of adenine with thymine at 2447 nucleotide sequence in the *C-KIT* gene. This nucleotide substitution causes the replacement of aspartate acid by valine at codon 816 of the KIT protein. KIT protein with D816V mutation acts as constitutively active tyrosine kinase that promotes cell proliferation and inhibits apoptosis. The purpose of our study was to determine the incidence of D816V mutation in the *C-KIT* gene in Slovenian patients with AML and in patients with suspected systemic mastocytosis.

**Patients and methods:** In the retrospective study, 71 patients with AML and 25 patients with suspected systemic mastocytosis were included. D816V mutation in the *C-KIT* gene was determined by polymerase chain reaction (PCR) and the resulting PCR products were analyzed by agarose gel electrophoresis.

**Results:** D816V mutation in KIT protein was determined in 7 % of patients with AML and in 32 % patients with suspected systemic mastocytosis.

**Conclusions:** Identification of D816V mutation in the *C-KIT* gene must always be performed in patients with suspected systemic mastocytosis. The determination of this mutation contributes to the diagnosis and treatment selection. The finding of D816V mutation in the *C-KIT* gene in patients with AML and concomitant genetic modifications RUNX-RUNX1T1 (typical translocation t(8; 21) (q22, q22)) or CBF-MYH11, which is the result of inversion on chromosome 16–(inv (16) (p13, q22)), however, indicates a

faster, more aggressive course of the disease and predicts a worse outcome. The finding of the mutation in other patients with AML may indi-

cate the presence of concomitant AML and SM, which was not found in our patients.

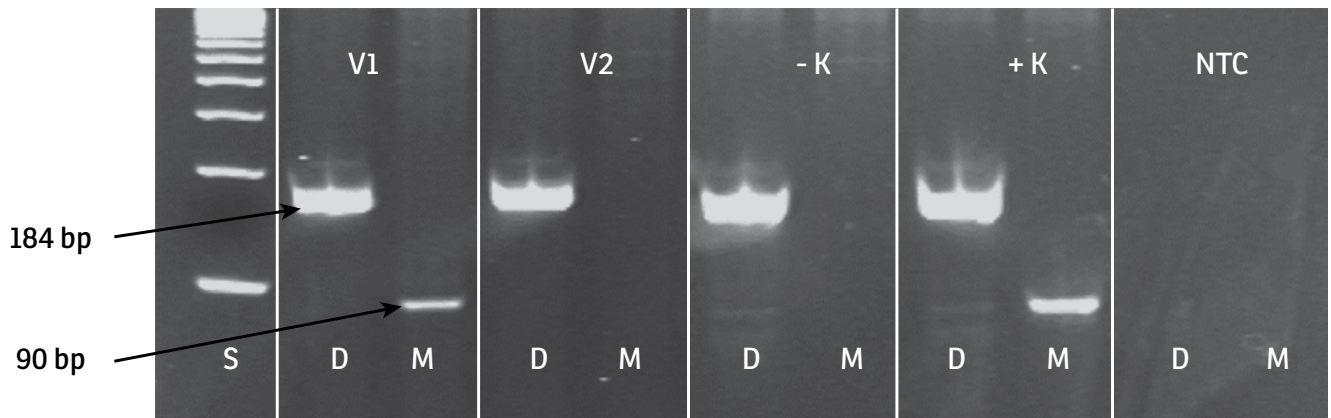
## Uvod

Akutna mieloična levkemija (AML) je heterogena skupina bolezni mieloične matične celice, ki so posledica pridobljenih somatskih mutacij. Vzrok bolezni so najverjetneje spontano pridobljene mutacije, ki so lahko kromosomske ali genske in prizadenejo le posamezne gene. Posledica kromosomskih nepravilnosti so pogosto zlitni geni, ki kodirajo himerne proteine, ki jih pri zdravih posameznikih običajno ne najdemo in so verjetno vzrok za nastanek levkemij. Številne kromosomske nepravilnosti se ponavljajo, glede na njihovo prisotnost pa lahko napovemo potek bolezni.<sup>1-5</sup> Med genske nepravilnosti, ki napovedujejo ugoden potek AML, uvrščamo tudi RUNX-RUNX1T1 (značilna za translokacijo t(8;21) (q22;q22)) in CBFβ-MYH11, ki je posledica inverzije na kromosomu 16 inv(16)(p13;q22). Pri približno polovici bolnikov z AML kromosomskih nepravilnosti s standardno citogenetsko analizo ne ugotovimo. V teh primerih govorimo o AML z normalnim kariotipom. Z molekularno-genetskimi tehnikami lahko določimo genske spremembe, ki prizadenejo le posamezne gene. Za določitev napovedi izida bolezni pri bolnikih z AML z normalnim kariotipom so najpomembnejše mutacije v genih tirozin kinaze 3 (*FLT3*), nukleofozmina (*NPM1*) in CCAAT/pospeševalec vezavni protein alfa (CCAAT/enhancer-binding protein alpha-*CEBPA*). Mutacije v genu *FLT3* napovedujejo bolj agresiven potek bolezni.<sup>1,2,4</sup> Pri bolnikih z mutacijami v genih *NPM1* in *CEBPA*, kjer niso prisotne mutacije v genu *FLT3*, lahko pričakujemo bolj ugoden potek bolezni. V levkemogenezo vpleteni geni uravnavajo celično proliferacijo in diferenciacijo, zato se mieloične krvne celice nenadzorovano delijo, a običajno ne dozorevajo, zato se nezrele krvne celice kopičijo v kostnem mozgu in periferni krvi.<sup>2</sup> Pri bolnikih z AML se pojavljajo tudi druge genske spremembe, najpomembnejše pa

so mutacije v genu *C-KIT*, ki se pojavljajo pri 5–10 odstotkov vseh bolnikov z AML in pri kar 15–25 % bolnikov s t(8;21) in inv(16). Bolniki z omenjenima kromosomskima nepravilnostima in mutacijami v genu *C-KIT* imajo običajno bolj agresiven potek bolezni kot bolniki brez mutacij v genu *C-KIT*. Pri ostalih bolnikih z AML prisotnost mutacij v genu *C-KIT* nakazuje na soobstoj AML in sistemske mastocitoze.<sup>2,6,7</sup>

Mastocitoza je heterogena skupina mieloproliferativnih novotvorb tkivnih bazofilcev – mastocitov, ki verjetno nastanejo iz enakih matičnih celic kot krvni bazofilci. Posledica bolezni je kopičenje mastocitov v različnih organih in tkivih – koži, prebavilih, jetrih, bezgavkah, vranici, kostnem mozgu. To povzroča nenadzorovano sproščanje histamina in občasne bolečine v trebuhu, rdečine, tahikardije in hipotenzije. Če so prizadeta jetra, lahko pride tudi do povišanja vrednosti alkalne fosfataze, aminotransferaz in hepatomegalije. Sistemska mastocitoza (SM) je redka bolezen, ki najpogosteje prizadene kostni mozeg, bezgavke, jetra, vranico in prebavila, koža pa običajno ni prizadeta. Potek mastocitoz je zelo različen, od benignega do zelo agresivnega, ki lahko hitro povzroči celo bolnikovo smrt.<sup>3,8,9</sup> Ob postavitvi diagnoze sistemska mastocitoza je smiselno, da določimo mutacije D816V v genu *C-KIT*, ki se pojavlja pri več kot 90 % bolnikov. Prisotnost te mutacije je eden manjših diagnostičnih meril za sistemska mastocitozo. Sistemska mastocitoza se lahko pojavlja hkrati z drugimi novotvorbami krvi in krvotvornih bolezni, zato je določitev mutacije D816V v genu *C-KIT* smiselna ne le pri bolnikih s sumom na sistemska mastocitozo, ampak tudi pri drugih klonskih, predvsem mieloproliferativnih novotvorbah.<sup>8,9</sup>

Gen *C-KIT* se nahaja na kromosomu 4q12 in kodira protein KIT, ki ga imenujemo tudi CD117. Protein KIT je velik 145 kDa in deluje kot receptorska tirozin kinaza vrste III. Ligand KIT-a je faktor matičnih celic



**Slika 1:** Določitev mutacije D816V v genu C-KIT. V1 in V2 sta vzorca bolnikov. - K: negativna kontrola; + K: pozitivna kontrola; NTC vzorec, pri katerem smo v reakcijo PCR dodali vodo namesto DNA. Oznaka D označuje vzorce, pri katerih smo pomnoževali interno kontrolo, M pa reakcije, kjer smo uporabili začetni oligonukleotid, ki prepozna mutirano zaporedje v genu C-KIT.

(*angl.* stem cell factor, SCF). Protein KIT je vezan v celični membrani in je sestavljen iz zunajcelične domene, ki deluje kot receptor, transmembranskega dela in znotrajcelične domene, ki ima funkcijo tirozin kinaze. Ve-zava SCF povzroči dimerizacijo dveh molekul KIT, kar vodi do avtofosforilacije, to pa povzroča aktivacijo številnih signalnih poti.<sup>10,11</sup> Genske spremembe v genu *C-KIT* povzročajo konstitutivno aktivnost tirozin kinaze in se pojavljajo pri gastrointestinalnih tumorjih (GIST), karcinomih debelega črevesa, melanomu in mieloproliferativnih boleznih.<sup>8,12</sup> Mutacija D816V deluje aktivatorsko in je posledica zamenjave enega nukleotida z drugim na mestu 2447 nukleotidnega zaporedja gena (NM\_000222). Ta nukleotidna substitucija povzroči zamenjavo aminokislinske aspartatne kisline (D) v kodonu 816 z amino kislino valin (V). Protein KIT s prisotno mutacijo D816V deluje kot konstitutivno aktivna tirozin kinaza, kar pospeši celično proliferacijo in zavira programirano celično smrt – apoptozo. Mutacija D816V povzroča tudi odpornost na zdravljenje z imatinibom.<sup>8-10</sup>

V raziskavi smo želeli ugotoviti pogostost pojavljanja mutacije D816V v genu *C-KIT* pri slovenskih bolnikih s sumom na sistemsko mastocitozo. Želeli smo tudi ugotoviti, ali prisotnost preiskovane mutacije lahko določamo v vzorcih DNA in RNA. Določiti smo želeli tudi pogostost pojavljanja mutacije D816V v proteinu KIT pri slovenskih bolnikih z akutno mieloično levkemijo.

## Bolniki in metode

### Bolniki

Za retrospektivno raziskavo smo uporabili vzorce bolnikov z AML, ki so jih zdravili na Kliničnem oddelku za hematologijo UKC Ljubljana. Posamezne vzorce smo dobili tudi z drugih oddelkov UKC Ljubljana. Vzorce kostnega mozga ali periferne krvi smo odvzeli bolnikom z akutno mieloično levkemijo ob postavitvi diagnoze v času med septembrom 2010 in decembrom 2011. Analizirali smo vzorce 71 bolnikov z AML, od katerih je bilo 35 moških (49 %) in 36 žensk (51 %). Mediana starosti vseh bolnikov je bila 61 let. 66 (93 %) od vseh vzorcev je bilo vzorcev kostnega mozga, 5 vzorcev (7 %) pa je bilo vzorcev periferne krvi, v kateri je bilo več kot 20 % blastnih celic.

Med julijem 2009 in decembrom 2011 smo dobili vzorce bolnikov s sumom na sistemsko mastocitozo iz KO za hematologijo, hematološke ambulante KOH, drugih oddelkov UKC Ljubljana ter Splošnih bolnišnic Celje in Novo mesto. Analizirali smo vzorce 25 bolnikov, od katerih je bilo 14 moških (56 %) in 11 žensk (44 %). Mediana starosti vseh bolnikov je bila 55 let. Vzorcev kostnega mozga so predstavljali 80 % (20 vzorcev), vzorcev periferne krvi pa 20 % (5 vzorcev).

### Metode

Mononuklearne celice smo osamili iz punkatata kostnega mozga ali periferne krvi s centrifugiranjem v gradientu fikola. Pri vseh bolnikih z AML smo iz mononuklearnih celic osamili RNA. Pri bolnikih s sumom na sistemsko mastocitozo smo iz mo-

nonuklearnih celic osamili DNA ali RNA. Po osamitvi RNA smo jo prepisali v cDNA z reagentnim kompletom cDNA Vilo (Invitrogene) po navodilih proizvajalca. DNA in cDNA smo pomnoževali z verižno reakcijo s polimerazo z začetnimi oligonukletidi c-kit-F-wt, c-kit-F-mut in c-kit-R. Metodo smo povzeli in priredili po Schumacherju in sod.<sup>13</sup> Z začetnima oligonukleotidoma c-kit-Fwt in c-kit-R smo pomnožili interno kontrolo, označeno z D (dolžina 184 bp) na Sliki 1. Z začetnima oligonukleotidoma c-kit-F-mut in c-kit-R smo pomnožili mutirani alel gena *C-KIT* (dolžina 90 bp), kar je na Sliki 1 označeno z M. Vse vzorce smo pomnoževali v verižni reakciji s polimerazo (PCR) z obema kombinacijama začetnih oligonukleotidov. Nastale produkte PCR smo analizirali na 4 % agaroznem gelu SyberSafe (Invitrogene). V vzorcih s prisotno mutacijo smo zaznali pomnoževanje z obema kombinacijama začetnih oligonukleotidov (Slika 1, vzorca V1 in +K). Če v vzorcu ni bilo prisotne mutacije D816V v genu *C-KIT*, smo zaznali le pomnoževanje interne kontrole (Slika 1, kolone D v vzorcih V2 in -K).

## Rezultati

V obdobju med julijem 2009 in decembrom 2011 smo v laboratorij dobili vzorce kostnega mozga ali periferne krvi 25 bolnikov s sumom na sistemsko mastocitozo. 20 je bilo vzorcev kostnega mozga (80 %) in 5 vzorcev periferne krvi (20 %). Iz vzorcev smo osamili DNA (14 bolnikov; 56 %) ali RNA (5 vzorcev; 20 %), iz 6 vzorcev (24 %) pa smo osamili DNA in RNA. Samo RNA smo osamili iz vzorcev bolnikov, kjer so bile

naročene še druge preiskave in je bilo izhodiščnega materiala premalo, da bi osamili tudi DNA. Takih vzorcev je bilo 5 (20 %). Če je bilo izhodiščnega materiala dovolj, smo izolirali tako DNA kot RNA in analizo določitve mutacije D816V opravili na obeh vrstah nukleinskih kislin. To je bilo mogoče za 6 (24 %) vzorcev. Mutacijo D816V v proteinu KIT smo določili pri 8 bolnikih (32 %), 6 vzorcev je izhajalo iz kostnega mozga in 2 iz periferne krvi. Ko smo primerjali rezultate določitve mutacije D816V v proteinu KIT na vzorcih DNA in RNA, smo ugotovili, da so rezultati identični in da lahko določitev mutacije D816V v KIT napravimo tudi na vzorcih RNA. To smo uporabili pri določitvi mutacije D816V v proteinu KIT pri bolnikih z AML, kjer pogosto nimamo dovolj materiala za osamitev RNA in DNA iz mononuklearnih celic in kjer je prednostna priprava RNA.

Prisotnost mutacije D816V v genu *C-KIT* smo določali pri 71 bolnikih z AML, trije od njih so imeli translokacijo t(8;22). Bolnike s translokacijo t(8;21) smo analizirali skupaj z ostalimi bolniki z AML, ker je pojavnost te kromosomske nepravilnosti pri bolnikih z AML prenizka, da bi jih bilo smiselno obravnavati posebej. Rezultati določitve mutacije D816V v genu *C-KIT* prikazujemo v Tabeli 1. Mutacijo D816V v genu *C-KIT* smo določili pri 5 bolnikih z AML, kar predstavlja 7 %. Mutacija je v enakem deležu prisotna pri moških in ženskah. Mutacije nismo določili pri nobenem od bolnikov s translokacijo t(8;22).

**Tabela 1:** Rezultati določitve mutacije D816V v genu *C-KIT* pri bolnikih z AML in s sumom na sistemsko mastocitozo.

	Vsi bolniki	Moški	Ženske
<b>AML</b>			
Pozitivni	5 (7 %)	2 (6 %)	3 (8 %)
Negativni	66 (93 %)	33 (94 %)	33 (92 %)
<b>Sistemska mastocitosa</b>			
Pozitivni	8 (32 %)	4 (29 %)	4 (36 %)
Negativni	17 (68 %)	10 (71 %)	7 (64 %)

## Razpravljanje

Pridobljene somatske mutacije v genu *C-KIT* se pojavljalo pri številnih malignih boleznih, kot so sistemska mastocitoza, akutna mieloična levkemija, gastrointestinalni stromalni tumor in melanomi.<sup>7,10,12,14</sup> Poznamo različne mutacije, ki so večinoma značilne za posamezno bolezen. Mutacija D816V je med najpogostejšimi mutacijami in se pojavlja pri mastocitozi, akutni mieloični levkemiji in seminomih.<sup>11</sup> Določitev mutacije D816V v proteinu KIT je zelo pomembna pri diagnosticiranju sistemske mastocitoze, saj jo določimo pri več kot 90 % bolnikov in je eden manjših diagnostičnih meril.<sup>3,9,12,13</sup> Mutacijo D816V v genu *C-KIT* smo določali pri 25 bolnikih, pri katerih je obstajal sum na sistemska mastocitozo in njeno prisotnost potrdili pri 8 (32 %) bolnikih. Verjetno smo mutacijo D816V v genu *C-KIT* dokazali pri tako majhnem deležu bolnikov, ker smo jo določali pri bolnikih, kjer je obstajal le sum na bolezen in diagnoza sistemske mastocitoze še ni bila potrjena. Metoda določitve preiskovane mutacije je občutljiva, saj je občutljivost uporabljene metode 1%.<sup>13</sup> Ta velika občutljivost metode nakazuje na možnost, da bi mutacijo D816V v proteinu KIT lahko določali tudi v periferni krvi, če je le bolezen dovolj razširjena in ni omejena le na prizadeta tkiva in kostni mozeg. To hipotezo smo tudi dokazali, saj smo mutacijo določili tudi pri 2 od 5 vzorcev, kjer je bila izhodiščni vzorec periferna kri. Kljub temu pa odsotnost mutacije D816V v periferni krvi ne pomeni, da genetska sprememba v genu *C-KIT* pri bolniku ni prisotna. Zato v takem primeru svetujemo ponovitev analize na vzorcu kostnega mozga in svetujemo ponovni odvzem periferne krvi le v izjemnih primerih, ko punkcija kostnega mozga ni priporočljiva. Mutacija D816V se pojavlja pri več kot 90 % bolnikov s sistemsko mastocitozo in je eden manjših diagnostičnih meril pri diagnosticiranju sistemske mastocitoze.<sup>3,12</sup> Pomembna pa je za izbiro zdravljenja, saj povzroča neodzivnost na zdravljenje z imatinibom in narekuje izbiro drugih zdravil.<sup>7,8,11</sup> Določitev mutacije D816V v proteinu KIT je pomembna tudi pri bolnikih z AML z genskima spremembama

RUNX-RUNX1T1 (značilno za translokacijo t(8;21) (q22;q22)) ali CFBF-MYH11, ki je posledica inverzije na kromosomu 16-inv(16) (p13;q22). Nakazuje na agresivni potek in slabšo napoved izida bolezni.<sup>15-17</sup> Analizirali smo vzorce treh bolnikov z AML in s translokacijo t(8;21), pri katerih pa mutacije D816V nismo določili. Mutacije v genu *C-KIT* se pojavljajo pri 16–30 % teh bolnikov.<sup>4,15,17</sup> Vzrokov, da preiskovane mutacije pri naših bolnikih nismo določili, je več. Najpomembnejši je verjetno majhno število bolnikov, možno pa je tudi, da pri bolnikih obstajajo druge mutacije v genu *C-KIT*. Ker nam trenutna metoda omogoča le določitev mutacije D816V v genu *C-KIT*, prisotnosti drugih mutacij ne moremo izključiti. Prisotnost vseh drugih mutacij bi lahko določili predvsem s sekvencioniranjem celotnega gena *C-KIT*, kjer pa je občutljivost metode precej nižja. Občutljivost določitve mutacij s sekvencioniranjem je 20 %, občutljivost določitve mutacij z reakcijo alelna specifičnega PCR pa je vsaj 1%.<sup>13</sup> Mutacije v genu *C-KIT* se pojavljajo tudi pri drugih bolnikih z AML s pogostostjo 3–15%.<sup>17,18</sup> Njihov pomen še ni poznan. Obstajajo poročila o soobstoju akutne mieločne levkemije in sistemske mastocitoze, kjer je še zlasti pomembna mutacija D816V.<sup>6,19</sup> To mutacijo smo določili tudi pri 5 (7 %) slovenskih bolnikov z AML, kar se ujema s podatki iz literature.<sup>17,18</sup> Pri nobenem od bolnikov, pozitivnih za mutacijo D816V, ni drugih meril za sistemska mastocitozo. Zato lahko pri vseh petih bolnikih izključimo soobstoj akutne mieločne levkemije in sistemske mastocitoze. Določitev mutacije D816V v genu *C-KIT* je nujna pri bolnikih, pri katerih obstaja sum na sistemska mastocitozo, in pri bolnikih z AML genskima spremembama t(8;21) in inv(16). Določitev mutacije D816V v genu *C-KIT* je potrebna tudi drugih bolnikih z akutno mieloično levkemijo, kjer je mogoča prisotnost sistemske mastocitoze.

## Zaključki

Analiza mutacije D816V v genu *C-KIT* je pokazala, da lahko preiskovano mutacijo enako zanesljivo določamo v vzorcih DNA in RNA in da preiskovano mutacijo lahko

določimo tudi v mononuklearnih celicah periferne krvi, če je le bolezen dovolj razširjena. Vseeno pa priporočamo odvzem vzorca kostnega mozga. Mutacija D816V se pojavlja pri 7 % slovenskih bolnikov AML, pri nobenem od njih pa ne gre za soobstoj AML in sistemske mastocitoze. Mutacije D816V nismo dokazali pri nobenem od treh bolnikov s translokacijo t(8;21). Preiskovano mutacijo D816V v genu *C-KIT* smo dokazali pri 32 % bolnikov s sumom na sistemske mastocitozo.

## Literatura

- Licht JD, Sternberg DW. The molecular pathology of acute myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005; 137–42.
- Zver S. Akutne levkemije, v Andolšek D. ur. Bolezni krvi in krvotvornih organov, v Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, Černelč P, Koželj M. *Interna Medicina, Littera Picta d.o.o. Slovensko medicinsko društvo Ljubljana*. 2011, 1301–1308.
- Pretnar J. Mastocitoze, v Andolšek D. ur. Bolezni krvi in krvotvornih organov, v Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, Černelč P, Koželj M. *Interna Medicina, Littera Picta d.o.o. Slovensko medicinsko društvo Ljubljana*. 2011, 1320–1321.
- Estey EH. Acute myeloid leukemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2012; 87: 89–99.
- Podgornik H, Prijatelj A, Černelč P. citogenetske preiskave pri slovenskih bolnikih z akutno levkemijo. *Zdrav Vestn*. 2008. 77: 43–46.
- Fritsche-Polanz R, Fritz M, Huber A, Sotlar K, Sperr WR, Mannhalter C, et al. High frequency of concomitant mastocytosis in patients with acute myeloid leukemia exhibiting the transforming KIT mutation D816V. *Mol Oncol*. 2010; 4: 335–346.
- Corless CL, Harrell P, Lacouture M, Bainbridge T, Le C, Gatter K, et al. Allele-specific polymerase chain reaction for the imatinib-resistant KIT D816V and D816F mutations in mastocytosis and acute myelogenous leukemia. *J Mol Diagn*. 2006; 8: 604–12.
- Pardanani A. Systemic mastocytosis in adults: 2011 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2011; 86: 362–71.
- Akin C. Molecular diagnosis of mast cell disorders: a paper from the 2005 William Beaumont Hospital Symposium on Molecular Pathology. *J Mol Diagn*. 2006; 8: 412–9.
- Akin C, Metcalfe DD. The biology of Kit in disease and the application of pharmacogenetics. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 114: 13–9;
- Patnaik MM, Tefferi A, Pardanani A. Kit: molecule of interest for the diagnosis and treatment of mastocytosis and other neoplastic disorders. *Curr Cancer Drug Targets*. 2007; 7: 492–503.
- Orfao A, Garcia-Montero AC, Sanchez L, Escribano L. Recent advances in the understanding of mastocytosis: the role of KIT mutations. *Br J Haematol*. 2007; 138: 12–30.
- Schumacher JA, Elenitoba-Johnson KS, Lim MS. Detection of the c-kit D816V mutation in systemic mastocytosis by allele-specific PCR. *J Clin Pathol*. 2008; 61: 109–14.
- Laine E, Chauvot de Beauchêne I, Perahia D, Auclair C, Tchertanov L. Mutation D816V alters the internal structure and dynamics of C-KIT receptor cytoplasmic region: implications for dimerization and activation mechanisms. *PLOS Comput Biol*. 2011; 7.
- Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, Mrózek K, Chen H, Kittles RA, et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8; 21): a Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 3904–11.
- Boissel N, Leroy H, Brethon B, Philippe N, de Botton S, Auvrignon A, et al. Incidence and prognostic impact of c-Kit, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML). *Leukemia*. 2006; 20: 965–70.
- Stirewalt DL, Meshinchi S. Receptor tyrosine kinase alterations in AML—biology and therapy. *Cancer Treat Res*. 2010; 145: 85–108.
- Döhner K, Döhner H. Molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2008; 93: 976–82.
- Ustun C, Corless CL, Savage N, Fiskus W, Manaloor E, Heinrich MC, et al. Chemotherapy and dasatinib induce long-term hematologic and molecular remission in systemic mastocytosis with acute myeloid leukemia with KIT D816V. *Leuk Res*. 2009; 33: 735–41.