

# Prognostička vrijednost flouescencijske in situ hibridizacije (FISH) u bolesnika s kroničnom limfocitnom leukemijom

---

**Burić, Marko**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:842951>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-13**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U  
OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I  
DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINA**

**Marko Burić**

**PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST  
FLUORESCENCIJSKE IN SITU  
HIBRIDIZACIJE (FISH) U  
BOLESNIKA S KRONIČNOM  
LIMFOCITNOM LEUKEMIJOM**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U  
OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I  
DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINA**

**Marko Burić**

**PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST  
FLUORESCENCIJSKE IN SITU  
HIBRIDIZACIJE (FISH) U  
BOLESNIKA S KRONIČNOM  
LIMFOCITNOM LEUKEMIJOM**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2023.**

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Vlatka Periša, dr. med.

Diplomski rad ima 21 stranicu, 9 tablica i 1 sliku.

## **ZAHVALE**

*Prije svega, zahvaljujem se mentorici na njezinoj pomoći, stručnosti, odvojenom vremenu i izrazitoj susretljivosti, ljubaznosti i strpljenju prilikom pisanja i oblikovanja ovoga rada. Stoga za sve navedeno, jedno veliko hvala!*

*Zahvaljujem se svojoj obitelji bez koje sve ovo ne bi bilo moguće. Hvala im na strpljenju, bezuslovnoj ljubavi i potpori koju su mi oduvijek pružali.*

*Zahvaljujem se i prijateljima koji su bili sastavni dio ovoga puta, kao i svima koji su na bilo koji način pomogli u ostvarenju ovoga rada. Još jednom veliko Vam hvala svima!*

*I za kraj, zahvaljujem se tetama u referadi, a na osobit način gđi Jurić i teti Nadi koja je u mirovini, a koje su mi nebrojeno puta pomogle!*

## SADRŽAJ

POPIS KRATICA .....	II
1. UVOD .....	1
1.1. Kronična limfocitna leukemija .....	1
1.1.1. Definicija .....	1
1.1.2. Epidemiologija .....	1
1.1.3. Etiologija .....	1
1.1.4. Klinička slika i tijek bolesti.....	2
1.1.5. Dijagnoza .....	2
1.1.6. Procjena proširenosti bolesti .....	3
1.1.7. Liječenje .....	3
1.1.8. Odgovor na terapiju .....	4
1.2. Prognostička vrijednost fluorescencijske in situ hibridizacije .....	5
2. HIPOTEZA .....	6
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	7
4. ISPITANICI I METODE .....	8
4.1. Ustroj studije.....	8
4.2. Ispitanici .....	8
4.3. Metode .....	8
5. REZULTATI.....	9
6. RASPRAVA .....	13
7. ZAKLJUČAK .....	15
8. SAŽETAK .....	16
9. SUMMARY .....	17
10. LITERATURA.....	18
11. ŽIVOTOPIS .....	21

## POPIS KRATICA

ATM – ataksija-telangiektazija mutirani gen (engl. *Ataxia-telangiectasia mutated gen*)

BTK – Bruton tirozin kinaza (engl. *Bruton's tyrosine kinase*)

CLL - kronična limfocitna leukemija (engl. *Chronic lymphocytic leukemia*)

FISH - fluorescencijska in situ hibridizacija (engl. *Fluorescence in situ hybridization*)

HSC - hematopoetska matična stanica (engl. *Hematopoetic stem cell*)

IGHV - geni varijabilne regije teškog lanca imunoglobulina (engl. *immunoglobulin heavy chain variable region genes*)

iwCLL – Međunarodna radionica o kroničnoj limfocitnoj leukemiji (engl. *International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia*)

KBC - Klinički bolnički centar

OS - ukupno preživljenje (engl. *Overall survival*)

TTM – ukupna tumorska masa (engl. *Total Tumor Mass*)

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*)

## 1. UVOD

Kronična limfocitna leukemija (CLL od engl. *Chronic lymphocytic leukemia*) je indolentna zloćudna novotvorina zrelih B-limfocita. Velik broj istraživanja usmjeren je na ispitivanje i primjenu novih oblika liječenja, no jednako je tako važno ispitivanje i pronalaženje različitih parametara koji bi se mogli koristiti kao relevantan prognostički čimbenik u liječenju ili ishodu liječenja navedene bolesti.

### 1.1. Kronična limfocitna leukemija

#### 1.1.1. Definicija

CLL je oblik leukemije koju karakterizira klonalna proliferacija i nakupljanje zrelih, tipično CD5-pozitivnih limfocita u koštanoj srži, perifernoj krvi, limfnim čvorovima i slezeni (1). U više od 95 % slučajeva radi se o B-limfocitima, dok se u ostalom, manjem broju slučajeva (<5 %) radi o T-limfocitima ili NK-stanicama (2). Svjetska zdravstvena organizacija (WHO, od engl. *World Health Organization*) klasificirala je CLL zajedno s limfomom malih stanica u neoplazme B-stanica, a temeljna je njihova razlika u mjestu nastanka bolesti, tj. CLL nastaje u koštanoj srži i krvi, a limfom malih stanica nastaje u limfnom tkivu (2).

#### 1.1.2. Epidemiologija

CLL predstavlja oblik leukemije koji se najčešće susreće u Zapadnim zemljama (3). U Republici Hrvatskoj CLL čini 42 % svih leukemija, s time da postoji razlika u incidenciji između spolova, koja je za muškarce procijenjena na 2,59 na 100 000 muškaraca, a za žene 1,6 na 100 000 žena godišnje (4). Prosječna je incidencija od 4 do 5 novootkrivena bolesnika na 100 000 stanovnika (5). Prilikom postavljanja dijagnoze medijan dobi iznosi 72 godine, dok se bolest rijetko pojavljuje u osoba mlađih od 40 godina i češće se pojavljuje u muškaraca (6). CLL ima najveću stopu incidencije u zemljama s visokim sociodemografskim indeksom kao što su zemlje Zapadne Europe, Sjeverne Amerike i Australije, dok najnižu stopu incidencije imaju zemlje Južne Azije, Središnje subsaharne Afrike i Zapadne subsaharne Afrike (7). Postoji određena genetska sklonost za pojavu bolesti te je kod osoba koje u obitelji imaju oboljelog od CLL-a relativni rizik obolijevanja oko 8 do 9 puta veći u odnosu na osobe koje imaju negativnu obiteljsku anamnezu (8).

#### 1.1.3. Etiologija

Kako je već navedeno, CLL nastaje kao posljedica klonalne proliferacije zrelih B-limfocita, rjeđe T-limfocita ili NK-stanica, a točan uzrok i mehanizam te ekspanzije ostaje nepoznat (2). Međutim, određene spoznaje upućuju na mogućnost da je za stvaranje klonalnih



B-limfocita potrebna hematopoetska matična stanica (HSC od engl. *Hematopoetic stem cell*), što sugerira da bi primarni leukemogeni događaj mogao uključivati multipotentnu HSC (9). U velikim kohortnim studijama u kojima je sveobuhvatno opisan genom stanica u CLL-u, uočeno je da bolest često može biti potaknuta delecijom ili adicijom kromosomskog materijala, kao što je primjerice delecija 13q, delecija 11q, trisomija 12 i sl., nakon čega slijede dodatne mutacije koje mogu bolest učiniti još agresivnijom (10). Od genetskih mutacija koje se povezuju s CLL-om najčešće je riječ o mutacijama TP53, SF3B1, MYD88, ATM i NOTCH1 (2).

#### **1.1.4. Klinička slika i tijek bolesti**

Kod većine je bolesnika CLL asimptomatska bolest koja se uglavnom slučajno dijagnosticira prilikom laboratorijske obrade u kojoj se uočava limfocitoza nejasne etiologije, a također uz to može biti prisutna i limfadenopatija (2, 11). Kod bolesnika koji imaju simptomatsku bolest najčešće su prisutni nespecifični simptomi poput gubitka tjelesne težine, umor, malaksalost, povišena tjelesna temperatura te može biti prisutno noćno znojenje (12). Povećani broj klonalnih leukemijskih stanica može uzrokovati infiltraciju bilo kojeg organskog sustava, međutim to se obično nalazi u bolesnika koji imaju uznapredovalu bolest (13). Kako bolest napreduje tako klonalne stanice infiltriraju koštanu srž zbog čega dolazi do supresije normalne hematopoeze te se posljedično tome javlja simptomatska anemija, trombocitopenija i neutropenija zbog čega je povećana sklonost infekcijama, osobito onima koje su uzrokovane gram-negativnim bakterijama i gljivicama (2, 14). Treba napomenuti da recidivirajuće oportunističke infekcije virusima i gljivicama, kao i teške infekcije uzrokovane inkapsuliranim mikroorganizmima, nisu samo posljedica neutropenije već i hipogamaglobulinemije i poremećenog imunološkog odgovora (15).

#### **1.1.5. Dijagnoza**

Glavni je laboratorijski nalaz prisutnost apsolutne limfocitoze  $\geq 5 \times 10^9/L$  monoklonalnih B-limfocita u perifernoj krvi (16, 17). Apsolutna limfocitoza ujedno je i najčešći nalaz koji budi sumnju na CLL, a koja se u većini slučajeva (70 % - 80 %) otkrije prilikom rutinske pretrage krvi, dok u manjem broju slučajeva (20 % - 30 %) limfadenopatija i/ili splenomegalija ili simptomi povezani sa CLL-om predstavljaju nalaz koji budi sumnju na bolest (17). Za dijagnozu B-CLL fenotipa, imunofenotipizacijski je potrebno dokazati restrikciju lakih lanaca imunoglobulina te prisutnost biljega CD5 uz pozitivnost na jedan ili više B-staničnih biljega (CD19, CD20, CD23) (2, 17). Citogenetska i molekularna dijagnostika nemaju veći dijagnostički značaj, međutim, određene citogenetske i/ili molekularne promjene povezuju se s različitim kliničkim ishodom zbog čega se ove pretrage primarno koriste u prognostičke svrhe

(2). Tako se, primjerice, prisutnost delecije 13q povezuje s boljim kliničkim ishodom, dok se prisutnost delecije 11q i delecije 17p povezuje s lošijim kliničkim ishodom (2).

### 1.1.6. Procjena proširenosti bolesti

Za procjenu proširenosti bolesti u kliničkoj se praksi najčešće koriste Rai i Binet klasifikacija (Tablica 1) (18, 19). Prema Rai klasifikaciji CLL se može podijeliti u 5 stadija koji se numerički označavaju od 0 do IV. Binet klasifikacija dijeli CLL u tri stadija koja se obilježavaju slovima A, B i C. Osim ovih dviju klasifikacija, često se koristi i TTM (engl. *Total Tumor Mass*) klasifikacija koja kvantitativno procjenjuje tumorsku masu u 3 glavna stanična odjeljka neovisno o insuficijenciji koštane srži (17). Tri temeljna odjeljka u kojima je raspoređena tumorska masa jesu: periferna krv i koštana srž (TM1), limfni čvorovi (TM2) i slezena (TM3) (2). Također, TTM klasifikacija omogućuje procijeniti dinamiku progresije bolesti i odgovor na terapiju (20).

Tablica 1. Rai i Binet klasifikacija

<b>Rai stadiji</b>		
STADIJ	OPIS	RIZIK
0	Limfocitoza u perifernoj krvi $>15 \times 10^9/L$ i 40% u koštanoj srži	Nizak
I	Stadij 0 uz povećani limfni čvor (čvorove)	Umjereni
II	Stadij 0-I uz splenomegaliju, hepatomegaliju ili oboje	Umjereni
III*	Stadij 0-II uz hemoglobin $< 110 \text{ g/L}$	Visoki
IV*	Stadij 0-III uz trombocite $< 100 \times 10^9/L$	Visoki
<b>Binet stadiji</b>		
STADIJ	OPIS	RIZIK
A	Hemoglobin $\geq 100 \text{ g/L}$ i trombociti $\geq 100 \times 10^9/L$ i $< 3$ zahvaćene regije†	Niski
B	Hemoglobin $\geq 100 \text{ g/L}$ i trombociti $\geq 100 \times 10^9/L$ i $\geq 3$ zahvaćene regije	Umjereni
C*	Hemoglobin $< 100 \text{ g/L}$ i/ili trombociti $< 100 \times 10^9/L$ i bilo koji broj zahvaćenih regija	Visoki

\*imune citopenije ne ulaze u ovu definiciju stadija

†regije limfnih čvorova: cervikalna, aksilarna, ingvinalna, hepatomegalija, splenomegalija

### 1.1.7. Liječenje

Prema smjernicama Međunarodne radionice o kroničnoj limfocitnoj leukemiji (iwCLL, od engl. *International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia*), liječenje je indicirano kada je ispunjen barem jedan od sljedećih kriterija: a) manifestna mijelosupresija, tj. teška anemija i/ili trombocitopenija, b) masivna ili progresivna splenomegalija i/ili limfadenopatija, d) progresija bolesti koja se očituje povećanjem broja limfocita, e) pojava izraženih B simptoma, f) razvoj autoimune hemolitičke anemije i/ili trombocitopenije koji imaju slabi odgovor na terapiju glukokortikoidima, g) funkcionalna ili simptomatska ekstranodalna

manifestacija (21). Međutim, većina bolesnika ne zahtjeva specifično liječenje već samo redovito praćenje i kontroliranje (2). Utvrđeno je da je pet čimbenika neovisno povezano s ukupnim preživljenjem i predviđanjem vremena do započinjanja prve terapije u bolesnika s prethodno neliječenom bolesti, a ti čimbenici uključujuću dob > 65 godina, Rai stadij I-IV, serumski beta-2 mikroglobulin > 3,5 mg/L, nemutirane gene varijabilne regije teškog lanca imunoglobulina (IGHV, od eng. *immunoglobulin heavy chain variable region genes*) i delecija 17p ili mutacija TP53 (22). Prisutnost ovih čimbenika smanjuje vrijeme do započinjanja prve terapije i smanjuje ukupno petogodišnje preživljenje (22). Dva su pristupa u liječenju CLL-a. Prvi pristup odnosi se na antineoplastičnu terapiju koja uključuje primjenu kemoterapije, monoklonskih protutijela, inhibitora B-staničnih signalnih putova, bcl-2 inhibitora, radioterapiju i transplantaciju koštane srži (17). Osim antineoplastičnog, liječenje može biti i potpuno. U zadnje se vrijeme promijenio način liječenja bolesnika s CLL-om na način da kemoterapija više nije prvi izbor liječenja nego primarni izbor liječenja predstavljaju tzv. kemo-free terapijski postupci koji se odnose na primjenu inhibitora Bruton tirozin kinaze (BTK, od engl. *Bruton's tyrosine kinase*) i bcl-2 inhibitora (23). BTK inhibitori (ibrutinib, akalabrutinib) primjenjuju se kao kontinuirana terapija, dok se bcl-2 inhibitor (venetoklaks) uz obinutuzumab primjenjuje kao terapija ograničenog trajanja (1 godina), a FCR protokol (fludarabin, ciklofosfamid, rituksimab), koji je prije bio prva linija liječenja, danas i dalje može biti opcija za bolesnike s CLL-om koji imaju mutirani IGHV (23). Stariji bolesnici i bolesnici lošije kondicije kao prvu liniju liječenja mogu koristiti bendamustin ili klorambucil s ili bez rituksimaba (2). Drugu liniju liječenja mogu činiti anti-CD20 antitijela, a na raspolaganju su ofatumumab i obinutuzumab (2). U jednom je istraživanju dodavanje ublituksimaba (anti-CD20 antitijelo) ibrutinibu rezultiralo statistički višom stopom ukupnog odgovora bez utjecaja na sigurnosni profil monoterapije ibrutinibom u bolesnika s relapsom ili refraktornom visokorizičnim CLL-om (24). Osim spomenutih lijekova na raspolaganju se nalaze i noviji lijekovi poput inhibitora B-staničnih putova (2). Ukoliko se navedenim medikamentim liječenjem ne postigne zadovoljavajući odgovor, u obzir dolazi i transplantacija koštane srži (2).

### **1.1.8. Odgovor na terapiju**

Kako se BTK inhibitori primjenjuju kao kontinuirana terapija, procjena se terapijskog odgovora radi svakih 6 mjeseci, dok se kod lijekova koji se ne primjenjuju kontinuirano terapijski odgovor procjenjuje najmanje 2 mjeseca nakon završetka terapije te se za svrhu procjene terapijskog odgovora koriste kriteriji koji su predloženi od strane iwCLL-a, a mogući

terapijski odgovori su: kompletna remisija (KR), parcijalna remisija (PR), stabilna bolest (SB) i progresija bolesti (PB) (21).

### **1.2. Prognostička vrijednost fluorescencijske in situ hibridizacije**

Fluorescencijska in situ hibridizacija (FISH od eng. *Fluorescence in situ hybridization*) tehnika je molekularne genetike koja omogućuje vizualizaciju promjena koje su prisutne u metafaznim kromosomima i u interfaznim jezgrama, a temelji se na hibridizaciji dviju komplementarnih sekvenci, što predstavlja jedno od temeljnih načela molekularne genetike. 2000. godine Dohner i sur. objavili su studiju u kojoj su pokazali da se primjenom FISH metode u više od 80% slučajeva mogu otkriti kromosomske aberacije leukemoidnih stanica u interfazi (25). Rezultati studije pokazali su da se u više od 50% slučajeva radilo o deleciji 13q, dok su ostale najčešće promjene uključivale deleciju 11q, trisomiju 12, deleciju 17p i deleciju 6q (25). Promjene koje su pokazale da imaju najkraće vrijeme do pojave progresije bolesti i koje se povezuju s lošijim kliničkim ishodom jesu delecija 17q i delecija 11q (25). Tumor supresorski gen p53 nalazi se na lokusu 17p13.1. te je on u većini slučajeva zahvaćen delecijom 17p (25, 26). Delecija 11q dovodi do zahvaćanja ATM gena (eng. *Ataxia-telangiectasia mutated gen*) koji se nalazi na lokusu 11q22-23 (27). ATM gen kodira kinazu koja sudjeluje u regulaciji tumor supresorskog gena p53 (28). Bitna uloga tumor supresorskog gena p53 je da je on čuvar genoma, tj. on kontrolira popravak i eliminira stanicu koja ima oštećen DNK, a sudjeluje i u regulaciji mitoze i apoptoze (26, 29). Identifikacija navedenih citogenetskih promjena rezultirala je novim spoznajama te je potaknula provođenje novih studija u kojima se ispituju i traže nove prognostičke vrijednosti citogenetskih promjena na samu terapiju i klinički ishod u bolesnika s CLL-om.

## 2. HIPOTEZA

Bolesnici s dijagnosticiranom kroničnom limfocitnom leukemijom, a kojima su dokazane citogenetske promjene primjenom fluorescencijske in situ hibridizacije, imati će lošiji terapijski odgovor na konvencionalnu kemoimunoterapiju i kraće preživljenje u odnosu na bolesnike koji nemaju dokazane citogenetske promjene.

### 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. ispitati zastupljenost citogenetskih promjena u oboljelih od kronične limfocitne leukemije koji su dijagnosticirani u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Osijek.
2. ispitati postoji li povezanost citogenetskih promjena u oboljelih od kronične limfocitne leukemije s odgovorom na kemoimunoterapiju i preživljenje.

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ustroj studije

Studija je ustrojena kao presječno istraživanje s povijesnim podacima.

### 4.2. Ispitanici

U istraživanje su uključeni pacijenti kojima je u razdoblju od 01.siječnja 2017. do 01.siječnja 2021. utvrđena dijagnoza CLL-a u KBC Osijek. Iz istraživanja su isključeni pacijenti kojima pri dijagnozi nije učinjena FISH analiza. Pregledom arhiva Zavoda za hematologiju KBC-a Osijek identificirani su pacijenti koji ispunjavaju kriterije za uključivanje u istraživanje.

### 4.3. Metode

Iz dostupne medicinske dokumentacije prikupili su se sljedeći podatci o bolesniku: dob, spol, datum postavljanja dijagnoze, inicijalna laboratorijska obilježja novodijagnosticiranih pacijenata s CLL-om (vrijednost eritrocita, hemoglobina, leukocita, limfocita, trombocita, širina distribucije eritrocita, laktat dehidrogenaze, C-reaktivnog proteina, serumska koncentracija albumina, beta-2 mikroglobulina), terapija, datum početka terapije, odgovor na terapiju, datum posljednje kontrole i status bolesnika (tj. je li bolesnik živ ili je preminuo). Iz medicinskih zapisa Zavoda za patologiju preuzeli su se rezultati FISH analize novodijagnosticiranih pacijenata s CLL-om. Kategorički su podaci predstavljeni apolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike u kategoričkim podacima testirale su se  $\chi^2$  testom, a po potrebi Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom. Kontinuirani podaci su opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Za testiranje razlika kontinuiranih varijabli između dvije skupine koristio se Mann Whitney U test. Coxovom regresijom ispitala se prediktivna vrijednost citogenetskih promjena na preživljenje, koje je prikazano Kaplan – Meier-ovim krivuljama. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na Alpha = 0,05. Za analizu podataka korišten je statistički program MedCalc® Statistical Software version 20.218 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2023) i IBM SPSS 23 (IBM Corp. Released 2015. Armonk, NY: IBM Corp.).

## 5. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 62 bolesnika, od kojih je 37 (60 %) muškaraca i 25 (40 %) žena. Medijan dobi bolesnika je 67 godina, u rasponu od najmanje 33 do najviše 83 godine (Tablica 2).

Tablica 2. Osnovna obilježja bolesnika

Spol [n(%)]	
Muškarci	37 (60)
Žene	25 (40)
Dob kod postavljanja dijagnoze (godine) [Medijan (IQR)]	67 (61 – 74)

Citogenetske promjene dokazane su FISH metodom kod 31 (50 %) bolesnika i to najčešće trisomija 12 kod 9 (15 %) bolesnika i del 13q14.3 kod 8 (13 %) bolesnika, dok se ostale promjene nalaze kod manjeg broja bolesnika (Tablica 3).

Tablica 3. Raspodjela po prisutnosti i vrsti citogenetskih promjena otkrivenih FISH metodom

	Broj (%) bolesnika
Citogenetske promjene dokazane FISH metodom	31 (50)
FISH promjene	
delecija 13q14.3	8 (13)
trisomija 12	9 (15)
delecija ATM*	3 (5)
delecija p53†	1 (2)
delecija 13q14.3 + delecija p53	1 (2)
delecija 13q14.3 + delecija ATM	3 (5)
delecija 13q14.3 + monosomija 12	1 (2)
delecija p53 + delecija ATM	1 (2)
delecija p53 + trisomija 12	2 (3)
delecija ATM + trisomija 12	1 (2)
delecija 13q14.3 + trisomija 12	1 (2)

\*ataksija-telangiektazija mutirani gen

†tumor supresorski gen p53



Od 62 bolesnika, kod njih 28 (45 %) je bilo potrebno započeti liječenje. Najčešće je primjenjivan ibrutinib kod 7/28 (25 %) bolesnika, te kod 6/28 (21 %) bolesnika je terapija bendamustin uz rituksimab (protokol R-bendamustin) (Tablica 4).

Tablica 4. Raspodjela bolesnika u odnosu na terapiju

	Broj (%) bolesnika
Terapija (n = 28)	
acalabrutinib	1 (4)
kortikosteroidna terapiju uz klorambucil	2 (8)
klorambucil	1 (4)
R-FC protokol (rituksimab, fludarabin, ciklofosfamid)	5 (18)
bendamustin uz rituksimab (protokol R-bendamustin)	6 (21)
obinutuzumab uz klorambucil (G-klorambucil protokol)	4 (14)
ibrutinib	7 (25)
rituksimab uz klorambucil	2 (7)

Kod 4/28 (14 %) ispitanika terapija je rezultirala stabilnom bolesti, kod 17/28 (61 %) ispitanika došlo je do parcijalne remisije, a kod 7/28 (25 %) bolesnika do kompletne remisije. Smrtni ishod imalo je 7/62 (11 %) bolesnika (Tablica 5).

Tablica 5. Odgovor na terapiju i ishod liječenja

	Broj (%) bolesnika
Odgovor na terapiju (n = 28)	
stabilna bolest	4 (14)
parcijalna remisija	17 (61)
kompletna remisija	7 (25)
progresija bolesti	0 (0)
Ishod (n = 62)	
Živ	55 (89)
Smrtni ishod	7 (11)

Nema značajnih razlika u spolu, odgovoru na terapiju ili u ishodu s obzirom na dokazane citogenetske promjene FISH metodom (Tablica 6).

Tablica 6. Raspodjela bolesnika po spolu, odgovoru na terapiju i ishodu s obzirom na dokazane citogenetske promjene FISH metodom

	Broj (%) bolesnika s obzirom na dokazane citogenetske promjene FISH metodom			P*
	Bez promjena	Promjene	Ukupno	
<b>Spol</b>				
Muškarci	19 (61,3)	18 (58,1)	37 (59,7)	0,80
Žene	12 (38,7)	13 (41,9)	25 (40,3)	
<b>Odgovor na terapiju</b>				
stabilna bolest	1 (8,3)	3 (18,75)	4 (14,3)	0,96 <sup>†</sup>
parcijalna remisija	8 (66,7)	9 (56,25)	17 (60,7)	
kompletna remisija	3 (25,0)	4 (25,0)	7 (25,0)	
<b>Ishod</b>				
Živ	30 (96,8)	25 (81)	55 (89)	0,10 <sup>†</sup>
Smrtni ishod	1 (3,2)	6 (19)	7 (11)	

\* $\chi^2$  test; <sup>†</sup>Fisherov egzaktni test

Nema značajnih razlika u dobi bolesnika i u biokemijskim pokazateljima kod bolesnika s obzirom na dokazane citogenetske promjene FISH metodom (Tablica 7).

Tablica 7. Dob ispitanika te biokemijski pokazatelji u bolesnika s obzirom na dokazane citogenetske promjene FISH metodom

	Medijan (interkvartilni raspon) kod bolesnika s obzirom na dokazane citogenetske promjene FISH metodom			P*
	Bez promjena	Promjene	Ukupno	
Dob (godine)	65 (60 – 71)	69 (61 – 75)	67 (61 – 74)	0,21
<b>Biokemijski pokazatelji</b>				
Eritrociti ( $\cdot 10^{12}$ )	4,54 (3,8 - 5,11)	4,5 (3,9 - 4,8)	4,54 (3,86 - 4,92)	0,61
Hemoglobin	140 (111 - 154)	134 (112 - 143)	135 (112 - 147)	0,41
Leukociti ( $\cdot 10^9$ )	26,9 (15,9 - 52,2)	26,1 (17,3 - 51,8)	26,5 (16,68 - 51,9)	0,77
Limfociti ( $\cdot 10^9$ )	20,3 (9,2 - 43,9)	22 (12,8 - 109,1)	21,08 (11,9 - 55,8)	0,29
Trombociti ( $\cdot 10^9$ )	178 (151 - 232)	170 (137 - 212)	173 (141,8 - 214,8)	0,25
RDW <sup>†</sup>	14 (13,2 - 14,9)	14,3 (13,6 - 17,8)	14 (13,5 - 15,6)	0,21
LDH <sup>‡</sup>	180 (154 - 213,5)	183,5 (151 - 242,3)	183 (153 - 235)	0,75
CRP <sup>§</sup>	1,6 (0,9 - 5,9)	1,7 (1,1 - 3,7)	1,6 (0,9 - 4,4)	0,84
Albumin	45 (43,8 - 46,5)	44 (40,5 - 46,1)	44,2 (42,5 - 46,2)	0,23
$\beta 2$ -mikroglobulin	2 (1,8 - 4,2)	2,6 (2,4 - 3,1)	2,5 (1,9 - 3,9)	0,46

\*Mann Whitney U test

<sup>†</sup>Širina distribucije eritrocita

<sup>‡</sup>Laktat dehidrogenaza

<sup>§</sup>C – reaktivni protein

Cox-ovom regresijskom analizom nismo potvrdili da je lošija prognoza za bolesnike s dokazanom citogenetskom promjenom FISH metodom (Tablica 8).

Tablica 8. Procjena preživljenja s obzirom na citogenetske promjene (Cox-ova regresija)

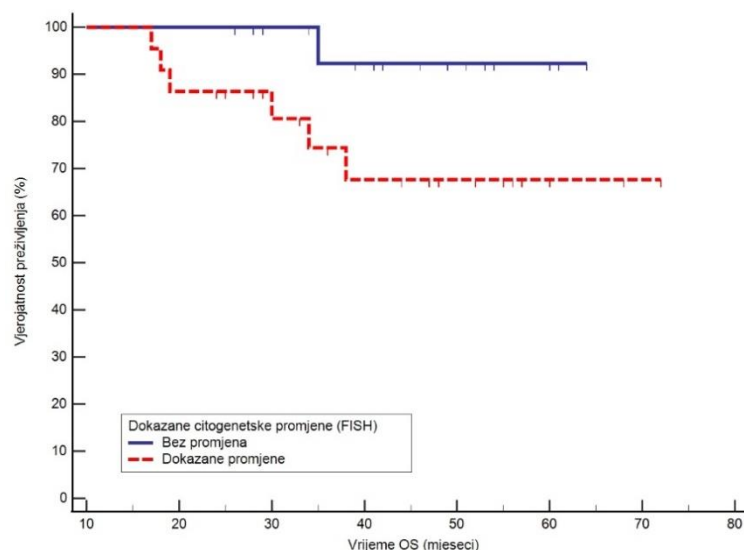
	$\beta$	$P$	HR (95% raspon pouzdanosti)
Ukupno preživljenje			
Citogenetske promjene (dokazane vs. bez promjena)	2,04	0,06	7,70 (0,92 do 64,41)

$\beta$  – regresijski koeficijent

Kaplan Meierovom krivuljom prikazali smo ukupno preživljenje (OS) s obzirom na citogenetske promjene, koje je značajno kraće kod bolesnika s dokazanim citogenetskim promjenama (log-rank test,  $P = 0,03$ ) (Tablica 9, Slika 1).

Tablica 9. Preživljenje (OS) u odnosu na citogenetske promjene

Citogenetske promjene	Aritmetička sredina (mjeseci)	95% raspon pouzdanosti	Log – rank test	Preživljenje (%)
Bez promjena	69,6	65,4 – 73,8	0,03	80
Dokazane promjene	57,3	49,8 – 64,7		56
Ukupno	64,4	59,5 – 69,3		69



Slika 1. Kaplan – Meierova krivulja ukupnog preživljenja (OS) u odnosu na citogenetske promjene FISH metodom

## 6. RASPRAVA

CLL se pojavljuje kao oblik leukemije koji se u Zapadnim zemljama današnjice najčešće susreće (3). Razvoj novih lijekova i njihovo primjenjivanje u liječenju ove bolesti, kao i primjena novih protokola u liječenju, utječe na poboljšanje ishoda ove bolesti. Isto tako nova istraživanja stavljaju važnost i naglasak na ispitivanje i pronalazak različitih čimbenika koji bi bili relevantni prognostički čimbenici u predviđanju terapijskog odgovora i kliničkog ishoda s obzirom na prisutnost citogenetskih promjena.

Provedenim je istraživanjem ispitana prognostička vrijednost citogenetskih promjena, dokazanih FISH metodom, na terapijski odgovor i klinički ishod kod bolesnika s dijagnosticiranim CLL-om. U ovom istraživanju primjenom FISH metode dokazane su citogenetske promjene u 31/62 (50 %) bolesnika. Pri tome je najčešća promjena bila trisomija 12 koja je nađena u 9/62 (15 %) bolesnika, a druga najčešća promjena je bila del 13q14.3 koja je dokazana u 8/62 (13 %) bolesnika. Međutim, tu je riječ o samostalnim citogenetskim promjenama, ali ako se u obzir uzmu i bolesnici koji imaju dokazane dvije citogenetske promjene, onda dolazimo do zaključka da se kao najčešća promjena pojavljuje delecija 13q14.3 koja se, sveukupno gledajući, može naći u 14/62 (23 %) bolesnika. Na isti se način, sveukupno gledajući, trisomija 12 nalazi u 13/62 (21 %) bolesnika, dok se delecija 17p (tj. delecija p53) nalazi u 4/62 (6 %) bolesnika. Različita su istraživanja pokazala različitu učestalost pojave citogenetskih promjena. U jednom od istraživanja koje je bilo provedeno na 325 bolesnika uočeno je da se u više od 80 % bolesnika mogu naći citogenetske promjene (25). Studija koju su proveli Quijano, López i suradnici, a koja je provedena na 180 bolesnika, pokazala je da je prisutnost citogenetskih promjena dokazana u 50 % bolesnika, što je identično ovom istraživanju, dok je studija koju su proveli Rahimi, Sadeghian i suradnici, pokazala učestalost citogenetskih promjena u 45 % bolesnika (30, 31). Isto tako, nekoliko je studija pokazalo da je najčešće dokazana citogenetska promjena bila delecija 13q, dok se od ostalih promjena često nalazi delecija 11q, delecija 17p i trisomija 12 (25, 30, 31). Što se tiče Republike Hrvatske, u istraživanju koje je provedeno 2017. godine u Kliničkoj bolnici Merkur, na uzorku od 70 bolesnika, učestalost citogenetskih promjena dokazana je tek u 28,6 % bolesnika, a najčešće dokazana promjena bila je delecija 13q14, nakon koje slijedi delecija 17p, dok je trisomija 12 nađena u samo jednog bolesnika (32).

Gledajući odgovor na terapiju, kod 4/28 (14 %) bolesnika postignuta je stabilna bolest, 17/28 (61 %) bolesnika postiglo je parcijalnu remisiju, dok je kompletnu remisiju postiglo 7/28 (25 %) bolesnika.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da nema značajnih razlika u odgovoru na terapiju s obzirom na citogenetske promjene, tj. bolesnici koji imaju prisutne citogenetske promjene nisu imali značajne razlike u odgovoru na terapiju u odnosu na bolesnike koji nemaju citogenetske promjene, a isto tako prisutnost citogenetskih promjena nije pokazala statistički značajan utjecaj na ishod bolesti. Međutim, OS u bolesnika s dokazanim citogenetskim promjenama je kraće u odnosu na bolesnike bez dokazanih promjena. Ovi se rezultati djelomično razlikuju od drugih istraživanja, uključujući istraživanje provedeno u Republici Hrvatskoj iz 2017. godine, u kojima je uočeno da delecija 17p predstavlja statistički značajan čimbenik u ishodu bolesti te da bolesnici s tom promjenom imaju najlošiji ishod i najkraće preživljenje (25, 32).

U ovom je istraživanju 28/62 (45 %) bolesnika primalo terapiju, s time da je najčešće primijenjena terapija bio ibrutinib kojeg je uzimalo 7/28 (25 %) bolesnika. Druga najčešća terapija bila je bendamustin uz rituksimab (R-bendamustin protokol) koji su bili korišteni u 6/28 (21 %) bolesnika, a u 5/28 (18 %) bolesnika primjenjivao se rituksimab, fludarabin i ciklofosamid (R-FC protokol). Usporedbe radi, u istraživanju iz 2017. godine u KB Merkur, najčešća primijenjena terapija bila je R-FC protokol, koji se primjenjivao u 50 % bolesnika, nakon čega po učestalosti slijedi monoterapija klorambucilom (31 %) i klorambucil s rituksimabom (15 %) (32). To je potpuno shvatljivo jer se do prije nekoliko godina kao prva linija liječenja najčešće primjenjivao R-FC protokol, dok danas tendenciju za prvu liniju liječenja, kako je već navedeno, predstavljaju kemo-free terapijske opcije (23).

Nadalje, neke su studije pokazale kako postoji mogućnost da tijekom bolesti dođe do razvoja novih citogenetskih promjena te je uočena veća pojava delecije 17p u bolesnika koji su liječeni, u odnosu na bolesnike koji nisu liječeni (33). Upravo se iz tog razloga preporučuje ponoviti FISH metodu prije ordiniranja nove terapije.

Ovo istraživanje ima nekoliko bitnih ograničenja koja se trebaju uzeti u obzir. Nedostaci su relativno mali broj bolesnika koji su sudjelovali u ovom istraživanju, relativno mali broj bolesnika koji imaju dokazane citogenetske promjene te mali broj bolesnika kojima je indicirana terapija (45 %). Također je jedno od ograničenja i činjenica da je istraživanje provedeno na bolesnicima jednog kliničkog centra.

Zaključno, citogenetske promjene dokazane FISH metodom mogu pružiti relevantne prognostičke vrijednosti u oboljelih od CLL-a, međutim za daljnje spoznaje i poboljšanje predviđanja terapijskog odgovora i ishoda bolesti, potrebno je provesti istraživanja koja će obuhvatiti veći broj bolesnika.

## 7. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata dobivenih provedenim istraživanjem mogu se predočiti sljedeći zaključci:

- Nije uočena značajna razlika u odgovoru na terapiju u bolesnika koji imaju dokazane citogenetske promjene u odnosu na bolesnike koji nemaju dokazane citogenetske promjene.
- Nije uočena značajna razlika u ishodu bolesti kod bolesnika kojima su dokazane citogenetske promjene u odnosu na bolesnike koji nemaju dokazane citogenetske promjene.
- U bolesnika s dokazanim citogenetskim promjenama uočeno je značajno kraće ukupno preživljenje u odnosu na bolesnike bez dokazanih citogenetskih promjena.

## 8. SAŽETAK

**Cilj:** Ispitati zastupljenost citogenetskih promjena u oboljelih od kronične limfocitne leukemije (CLL) te ispitati imaju li bolesnici s dokazanim citogenetskim promjenama lošiji terapijski odgovor na konvencionalnu kemoimunoterapiju i kraće preživljenje u odnosu na bolesnike koji nemaju dokazane citogenetske promjene.

**Nacrt studije:** Presječno istraživanje s povijesnim podacima.

**Ispitanici i metode:** U studiju su uključeni oboljeli od CLL-a kojima je pri dijagnozi učinjena FISH analiza, a kod kojih je bolest dijagnosticirana u razdoblju od 01.siječnja 2017. do 01.siječnja 2021. u KBC Osijek.

**Rezultati:** Istraživanje je provedeno na 62 bolesnika od kojih je 37 (60 %) muškaraca i 25 (40 %) žena. Medijan dobi bolesnika iznosi 67 godina, a kreće se u rasponu od najmanje 33 do najviše 83 godine. Citogenetske su promjene dokazane FISH metodom kod 31 (50 %) bolesnika i to najčešće trisomija 12 kod 9 (15 %) bolesnika i del 13q14.3 kod 8 (13 %) bolesnika. Kod 4/28 (14 %) bolesnika postignuta je stabilna bolest, parcijalnu remisiju postiglo je 17/28 (61 %) bolesnika, a kod 7/28 (25 %) bolesnika došlo je do kompletne remisije. Smrtni ishod imalo je 7/62 (11 %) bolesnika. Ukupno preživljenje (OS) s obzirom na citogenetske promjene, statistički je značajno kraće kod bolesnika s dokazanim citogenetskim promjenama (log-rank test,  $P = 0,03$ )

**Zaključak:** Nije pronađena značajna razlika u odgovoru na terapiju i ishodu bolesti, ali je ukupno preživljenje u bolesnika koji imaju dokazane citogenetske promjene kraće u odnosu na bolesnike koji nemaju dokazane citogenetske promjene.

**Ključne riječi:** citogenetske promjene; fluorescencijska in situ hibridizacija; kronična limfocitna leukemija

## 9. SUMMARY

### **Prognostic value of fluorescence in situ hybridization (FISH) in patients with chronic lymphocytic leukemia**

**Objectives:** The aim of study is to test prevalence of cytogenetic changes in patients with chronic lymphocytic leukemia and to examine whether patients with proven cytogenetic changes have a worse therapeutic response to conventional chemoimmunotherapy and shorter survival compared to patients without proven cytogenetic changes.

**Study design:** cross-sectional survey with historical data.

**Participants and methods:** Subjects of the study are patients with chronic lymphocytic leukemia who were diagnosed with FISH analysis and whose disease was diagnosed between January 1, 2017 and January 1, 2021 at the Osijek Clinical Hospital Center.

**Results:** The research was conducted on 62 patients, of whom 37 (60 %) were men and 25 (40 %) were women. The median age of the patients is 67 years, ranging from a minimum of 33 to a maximum of 83 years. Cytogenetic changes were proven by the FISH method in 31 (50 %) patients, most often trisomy 12 in 9 (15 %) patients and del 13q14.3 in 8 (13 %) patients. Stable disease was achieved in 4/28 (14 %) patients, partial remission was achieved in 17/28 (61 %) patients, and complete remission was achieved in 7/28 (25 %) patients. 7/62 (11 %) patients had a fatal outcome. Overall survival (OS) with regard to cytogenetic changes is statistically significantly shorter in patients with proven cytogenetic changes (log-rank test,  $P = 0.03$ ).

**Conclusion:** No significant difference was found in the response to therapy and the outcome of the disease, but overall survival in patients with proven cytogenetic changes is shorter compared to patients without proven cytogenetic changes.

**Key words:** chronic lymphocytic leukemia; cytogenetic changes; fluorescence in situ hybridization



**10. LITERATURA**

1. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011;117(19):5019–32.
2. Mihić D, Mirat J, Včev A. *Interna medicina udžbenik za studente medicine*. Osijek : Medicinski fakultet Osijek; 2021.
3. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*. 2022;72(1):7–33.
4. Novak I, Jaksić O, Kulis T, Batinjan K, Znaor A. Incidence and mortality trends of leukemia and lymphoma in Croatia, 1988-2009. *Croat Med J*. 2012;53(2):115–23.
5. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007;57(1):43–66.
6. Cartwright RA, Gurney KA, Moorman AV. Sex ratios and the risks of haematological malignancies: Sex Ratios and the Risks of Haematological Malignancies. *Br J Haematol*. 2002;118(4):1071–7.
7. Zhang N, Wu J, Wang Q, Liang Y, Li X, Chen G, et al. Global burden of hematologic malignancies and evolution patterns over the past 30 years. *Blood Cancer J*. 2023;13(1):82.
8. Goldin LR, Björkholm M, Kristinsson SY, Turesson I, Landgren O. Elevated risk of chronic lymphocytic leukemia and other indolent non-Hodgkin's lymphomas among relatives of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2009;94(5):647–53.
9. Kikushige Y, Ishikawa F, Miyamoto T, Shima T, Urata S, Yoshimoto G, et al. Self-renewing hematopoietic stem cell is the primary target in pathogenesis of human chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell*. 2011;20(2):246–59.
10. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, Stewart C, Reiter JG, Bahlo J, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature*. 2015;526(7574):525–30.
11. Rozman C, Montserrat E. Chronic Lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 1995;333(16):1052–7.
12. Labar B, Hauptmann E. *Hematologija*. 4. prerađeno izd. Zagreb: Školska knjiga, 2007.
13. Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, Levi MM, Press OW, Burns LJ i sur. *Williams Hematology*, 9e. New York: McGraw Hill; 2015. 1530 str.

14. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment: HALLEK. *Am J Hematol.* 2017;92(9):946–65.
15. Tsiodras S, Samonis G, Keating MJ, Kontoyiannis DP. Infection and immunity in chronic lymphocytic leukemia. *Mayo Clin Proc.* 2000;75(10):1039–54.
16. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, Ghia P, Niemann CU, Kater AP, et al. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2021;32(1):23–33.
17. Jakšić B, Pejša V, Ostojić-Kolonić S, Kardum-Skelin I, Bašić-Kinda S, Coha B, et al. Guidelines for diagnosis and treatment of chronic Lymphocytic leukemia. *Krohem B-cell 2017. Acta Clin Croat.* 2018;57(1):190–215.
18. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1975;46(2):219-234. *Blood.* 2016;128(17):2109.
19. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer.* 1981;48(1):198–206.
20. Jaksic O, Vitale B, Jaksic B. An old and simple solution for a new problem--more on clinical staging and evaluation of response in B-cell chronic lymphocytic leukaemia in the era of new therapies. *Br J Haematol.* 2014;165(5):737–40.
21. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood.* 2018;131(25):2745–60.
22. Hampel PJ, Parikh SA. Chronic lymphocytic leukemia treatment algorithm 2022. *Blood Cancer J.* 2022;12(11):161.
23. Wierda WG, Brown J, Abramson JS, Awan F, Bilgrami SF, Bociek G, et al. NCCN guidelines® insights: Chronic Lymphocytic leukemia/small Lymphocytic lymphoma, version 3.2022: Featured updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022;20(6):622–34.
24. Sharman JP, Brander DM, Mato AR, Ghosh N, Schuster SJ, Kambhampati S, et al. Ublituximab plus ibrutinib versus ibrutinib alone for patients with relapsed or refractory high-risk chronic lymphocytic leukaemia (GENUINE): a phase 3, multicentre, open-label, randomised trial. *Lancet Haematol.* 2021;8(4):e254–66.

25. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2000;343(26):1910–6.
26. Döhner H, Fischer K, Bentz M, Hansen K, Benner A, Cabot G, et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood.* 1995;85(6):1580–9.
27. Phan LM, Rezaeian A-H. ATM: Main features, signaling pathways, and its diverse roles in DNA damage response, tumor suppression, and cancer development. *Genes (Basel).* 2021;12(6):845.
28. Ueno S, Sudo T, Hirasawa A. ATM: Functions of ATM kinase and its relevance to hereditary tumors. *Int J Mol Sci.* 2022;23(1):523.
29. Patil MR, Bihari A. A comprehensive study of p53 protein. *J Cell Biochem.* 2022;123(12):1891–937.
30. Quijano S, López A, Rasillo A, Sayagués JM, Barrena S, Sánchez ML, et al. Impact of trisomy 12, del(13q), del(17p), and del(11q) on the immunophenotype, DNA ploidy status, and proliferative rate of leukemic B-cells in chronic lymphocytic leukemia. *Cytometry B Clin Cytom.* 2008;74(3):139–49.
31. Rahimi H, Sadeghian MH, Keramati MR, Jafarian AH, Shakeri S, Shams SF, et al. Cytogenetic abnormalities with interphase FISH method and clinical manifestation in chronic Lymphocytic leukemia patients in North-East of Iran. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2017;11(3):217–24.
32. Drmić Ž. Prognostički značaj fluorescencijske in situ hibridizacije (FISH) u bolesnika s kroničnom limfocitnom leukemijom. University of Zagreb. School of Medicine. Chair of Internal Medicine; 2017. [Internet]. Dostupno na adresi: <https://repozitorij.mef.unizg.hr/en/islandora/object/mef%3A1670>  
Datum pristupa: 31.05.2023.
33. Stilgenbauer S, Sander S, Bullinger L, Benner A, Leupolt E, Winkler D, et al. Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia: acquisition of high-risk genomic aberrations associated with unmutated VH, resistance to therapy, and short survival. *Haematologica.* 2007;92(9):1242–5.

## 11. ŽIVOTOPIS

### OPĆI PODACI

Marko Burić

Medicinski fakultet Osijek

J. Huttlera 4, 31 000 Osijek

Datum i mjesto rođenja: 27. listopad 1996., Osijek

Adresa: I. B. Mažuranić 7, 31551 Belišće

Mobitel: 0958886799

E-mail: mburic@mefos.hr

### OBRAZOVANJE

2017. – 2023.: Medicinski fakultet Osijek, Sveučilišni integrirani prijediplomski i diplomski studij Medicina, Osijek

2011. – 2015.: Opća gimnazija, Srednja škola Valpovo, Valpovo

2003. – 2011.: Osnovna škola Ivana Kukuljevića, Belišće