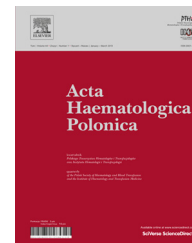


Contents lists available at [ScienceDirect](http://www.sciencedirect.com)

Acta Haematologica Polonica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/achaem

Praca poglądowa/Review

Zaburzenia genetyczne u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną, ich znaczenie kliniczne i terapeutyczne



Genetic aberrations in children with acute lymphoblastic leukaemia, their clinical and therapeutic significance

Magdalena Romiszewska*, Iwona Malinowska

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego,
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Michał Matysiak, Warszawa, Polska

INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 13.02.2017

Zaakceptowano: 07.06.2017

Dostępne online: 03.09.2017

Słowa kluczowe:

- ostra białaczka limfoblastyczna
- ALL u dzieci
- zmiany genetyczne
- terapia celowana

Keywords:

- Acute lymphoblastic leukaemia
- ALL in children
- Genetic aberrations
- Targeted therapy

ABSTRACT

Acute lymphoblastic leukaemia (ALL) is the most common paediatric malignancy. Despite the fact that the outcome of treatment of ALL in children has improved in the last decades, still as many as 20% of children will undergo treatment failure. Over the last years, there have been great efforts to characterize the genetic alterations of leukaemic cells, which could affect the clinical course of the disease and become new markers that may be targeted with novel therapies. Genomic profiling and sequencing studies have not only identified new subtypes of ALL (e.g. Philadelphia chromosome-like ALL, early T-cell precursor ALL) but also helped to understand the genetic basis of leukaemogenesis and predict treatment failure. Those efforts contributed not only to better risk stratification of children with ALL, but also to development of new tailored therapeutic strategies. So far, improvements in survival of children with Ph⁺ ALL (Philadelphia positive ALL) have been demonstrated due to combination of intensive chemotherapy with tyrosine kinase (TK) inhibitor (imatinib). There are also some pre- and clinical testing of other inhibitors (TK, FLT3, PI3K/mTOR, MEK) and specific antibodies (CD19 and CD22). Widespread use of modern diagnostic techniques at the early stage of the disease would enable rapid identification of children with a high-risk leukaemia and use of more intensive and tailored therapy.

© 2017 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

* Adres do korespondencji: Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Żwirki i Wigury 63A, 02-091 Warszawa, Polska. Tel.: +48 22 317 96 21.

Adres email: magdalena.romiszewska@gmail.com (M. Romiszewska).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2017.06.003>

0001-5814/© 2017 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

Wstęp

Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) jest najczęściej występującą chorobą nowotworową wieku dziecięcego, stanowiącą około 30% wszystkich nowotworów rozpoznawanych w tej grupie wiekowej [1]. Najczęściej występującym podtypem ALL u dzieci jest ostra białaczka limfoblastyczna z prekursorów limfocytów B (BCP-ALL, B-ALL), która stanowi około 85% przypadków ALL. Drugim co do częstości występowania podtypem białaczki jest ALL T-komórkowa (T-ALL) [2]. Obecnie ocena ryzyka wystąpienia nawrotu choroby oraz podział na grupy standardowego, pośredniego i wysokiego ryzyka opiera się na analizie czynników prognostycznych, takich jak wiek pacjenta w momencie rozpoznania, początkowa leukocytoza, steroidowrażliwość, poziom minimalnej choroby resztkowej (*minimal residual disease*; MRD) w 15. dobie indukcji remisji oraz występowanie aberracji genetycznych [1]. W ciągu ostatnich dekad wyniki leczenia dzieci z ALL uległy znacznej poprawie i obecnie przeżycie wieloletnie uzyskuje się u ponad 80% pacjentów [2, 3]. Jest to rezultatem ciągłego udoskonalania strategii leczenia białaczek, przede wszystkim zwiększonej precyzji dostosowywania intensywności leczenia do ryzyka nawrotu choroby, ale także wyodrębnienia nowych czynników rokowniczych i dokładniejszej klasyfikacji pacjentów do grup ryzyka. Pomimo tych postępów, około 20% pacjentów z ALL zagrożonych jest wznową choroby, która wciąż pozostaje najczęstszą przyczyną niepowodzenia leczenia dzieci z ALL i wiodącą przyczyną zgonów w wieku rozwojowym [2, 3]. Do chwili obecnej nie zdefiniowano grupy pacjentów niezagrażonych wystąpieniem wznowy. Większość pacjentów (65%), u których wystąpiła wznowa, zakwalifikowana była do grupy pośredniego ryzyka w momencie rozpoznania ALL. Aby poprawić swoistość oceny odpowiedzi na leczenie i wyodrębnić grupę pacjentów obciążonych wysokim ryzykiem wznowy, poszukuje się biologicznych odrębności w komórkach nowotworowych, które w przyszłości mogą stać się nowymi czynnikami ryzyka i potencjalnymi nowymi celami terapii.

Nasze rozumienie genetycznych podstaw rozwoju ALL zmieniło się na przestrzeni ostatnich lat dzięki zaawansowanym badaniom genomu i określaniu profilu ekspresji genów u dzieci z ALL. W wyniku tych badań zidentyfikowano ponad 50 aberracji genetycznych, w większości dotyczących genów odgrywających kluczową rolę w procesach rozwoju układu limfoidalnego i leukemogenezy [3]. Mutacje te występują między innymi w genach kodujących czynniki transkrypcyjne (np. PAX5, IKZF1), regulatory cyklu komórkowego i czynniki supresorowe nowotworów (np. TP53, CDKN2A/CDKN2B) oraz receptory dla cytokin (np. CRLF2, EPOR) [3]. Uważa się, że mogą one zarówno mieć znaczenie w patogenezie białaczek, jak i wpływać na wrażliwość na zastosowane leczenie.

Aberracje związane z wiekiem pacjenta

Wiek w momencie rozpoznania jest ważnym czynnikiem prognostycznym. U dzieci w wieku od roku do 9 lat wyniki

leczenia są znacznie lepsze niż u niemowląt i młodzieży powyżej 10. roku życia, jednak najgorsze rokowania mają niemowlęta w wieku <6 miesięcy. Przeżycie bez niekorzystnych zdarzeń (EFS) po 5 latach obserwacji u dzieci w wieku od roku do 9 lat wynosi 88%, w wieku 10–15 lat 73%, u starszych niż 15 lat 69%, a u niemowląt jedynie 44% [1, 4]. Znaczne różnice w rokowaniu w poszczególnych grupach wiekowych mogą wynikać z odrębności biologicznych komórek nowotworowych. U około 75% niemowląt z B-ALL obserwuje się rearanżacje genu *MLL*, które są złym rokowniczo czynnikiem i wiążą się ze znacznym ryzykiem nawrotu choroby [2, 5, 6]. Częstość występowania ALL zmniejsza się wraz z wiekiem, przy czym największą zachorowalność na ALL obserwuje się u dzieci pomiędzy 2. a 5. rokiem życia [1]. Im dziecko jest starsze, tym częstość występowania korzystnych rokowniczo zaburzeń genetycznych, takich jak hiperdiploidia czy *ETV6-RUNX* maleje, a rośnie ryzyko zmian niekorzystnych, np. *BCR-ABL1* czy wewnątrzchromosomalnej amplifikacji genu *AML1* na chromosomie 21 (*iAMP21*). Wraz z wiekiem zwiększa się również częstość występowania złe rokującego podtypu białaczki, jakim jest Ph-like ALL oraz zmian genetycznych z nim związanych (np. rearanżacje *CRLF2*) [3, 5–7]. To może tłumaczyć lepsze wyniki leczenia u młodszych pacjentów. Dodatkowo starsi pacjenci są bardziej narażeni na działania niepożądane stosowanej chemioterapii [8, 9].

W T-ALL także obserwuje się zależność pomiędzy wiekiem pacjenta a częstością występowania aberracji genetycznych. W białaczce T-komórkowej wraz z wiekiem zmniejsza się częstość występowania nadekspresji *TLX3* i rearanżacji *SIL-TAL1*, a wzrasta częstość rearanżacji *PICALM-MLLT10* i nadekspresji *TLX1* [5].

Ostra białaczka limfoblastyczna z prekursorów limfocytów B (BCP-ALL, B-ALL)

Większość przypadków B-ALL charakteryzuje występowanie licznych zaburzeń genetycznych, które są możliwe do wykrycia za pomocą badania kariotypu, fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) oraz technik molekularnych [3]. Do najczęstszych i istotnych rokowniczo należą wysoka hiperdiploidia (>50 chromosomów), hipodiploidia (<44 chromosomów), translokacje *t(12;21) ETV6-RUNX1*, *t(9;22) BCR-ABL1*, *t(1;19) TCF3-PBX1* oraz rearanżacje genu *MLL* [2, 7]. Do czynników korzystnych rokowniczo należą wysoka hiperdiploidia oraz obecność *ETV6-RUNX1*. Zaś do zmian związanych z bardzo wysokim ryzykiem niepowodzenia leczenia należą hipodiploidia z obecnością mniej niż 44 chromosomów, *BCR-ABL1* oraz rearanżacje genu *MLL* [2, 5].

W retrospektywnych badaniach przeprowadzonych na dużej grupie chorych wykazano, że dzieci z ALL i hipodiploidią mają znacznie gorsze wyniki leczenia, a EFS wynosi zaledwie około 40% [10]. Ze względu na stopień aneuploidii można wyróżnić prawie haploidię NH-ALL (*near haploid ALL*) zawierającą 24–31 chromosomów oraz niską hipodiploidię LH-ALL (*low hypodiploid*) z obecnością 32–44 chromosomów [7]. Prowadzone w ostatnich latach szczegółowe badania genetyczne, między innymi sekwencjonowanie całego genomu (*whole genome sequencing*; WGS), pozwoliły

określić, na czym polega odmiennosc białaczek z hipodiploidią. W NH-ALL bardzo często występują rearanżacje dotyczące sygnalizacji RAS, sygnalizacji poprzez receptory kinazy tyrozynowej oraz genu *IKZF3*, zaś w LH-ALL zmiany obejmują gen *IKZF2*, *CDKN2A/B*, *RB1* i *TP53*. Około połowa dzieci z ALL i hipodiploidią posiada wrodzone mutacje *TP53*, co może sugerować, że ten podtyp białaczki jest objawem zespołu Li-Fraumeni [7].

U około 2% dzieci z B-ALL stwierdza się obecność wewnątrzchromosomalnej amplifikacji genu *AML1* na chromosomie 21 (*iAMP21*) [7]. Dotychczasowe badania retrospektywne wykazały, że obecność *iAMP21* u dzieci z ALL z grupy standardowego ryzyka wpływa na gorsze wyniki leczenia i wiąże się z bardzo niskim 5-letnim przeżyciem wolnym od zdarzeń (EFS) – w zależności od badań wynosił on pomiędzy 29% a 37% [11, 12]. Jednocześnie nie wykazano takiego związku u chorych z *iAMP21* zakwalifikowanych do grupy wysokiego ryzyka, leczonych bardziej agresywną chemioterapią [13–15]. Odpowiednia intensyfikacja chemioterapii u tych pacjentów znacznie poprawia wyniki leczenia bez konieczności HSCT (*hematopoietic stem cell transplantation*) [6, 15].

U około 7% dzieci z B-ALL stwierdza się rearanżacje genów *DUX4* (*double homebox 4*) i *ERG* (*ETS-related gene*). Zmiany te są istotne klinicznie i ich obecność wiąże się z lepszym rokowaniem. *ERG* odgrywa kluczową rolę w różnicowaniu układu hematopoetycznego, zaś jego ekspresja jest regulowana w procesie limfopozy. Niska ekspresja *ERG* częściej współwystępuje z T-ALL niż B-ALL [16]. W niespełna 50% przypadków tych białaczek obecne są także zmiany w genach kodujących czynniki transkrypcyjne, takie jak *IKZF1* – 36,7% czy *PAX5* – 11,3%. U dzieci z *DUX4/ERG* ALL współwystępowanie delecji *IKZF1* nie wiąże się z gorszym rokowaniem [6, 17].

Najczęstsze zmiany genetyczne w B-ALL przedstawiono w tabeli I.

Philadelphia Chromosome-like ALL

Jednym z najistotniejszych odkryć z klinicznego punktu widzenia było wyodrębnienie nowego podtypu ostrej białaczki limfoblastycznej, *Philadelphia chromosome-like* (Ph-like) ALL (inaczej BCR-ABL1-like ALL) [3, 7, 18]. Profil ekspresji genów u pacjentów z tym typem białaczki jest podobny do tego, który występuje w białaczce BCR-ABL1⁺, ale brak jest u nich fuzji BCR-ABL1. Ten typ białaczki stwierdza się u około 15% dzieci z ALL. Częstość jego występowania wzrasta wraz z wiekiem pacjenta i wiąże się z gorszym rokowaniem. Ph-like ALL charakteryzuje się występowaniem różnorodnych zmian genetycznych prowadzących do aktywacji szlaków przekazywania sygnału podobnych, jak w białaczce Ph+ ALL. Do najczęstszych zmian genetycznych w Ph-like ALL należą mutacje/delecje genu *IKZF1*. Dzięki zaawansowanym technikom diagnostycznym, takim jak *next-generation sequencing*, u około 90% dzieci udało się wyodrębnić współistniejące rearanżacje prowadzące do aktywacji kinaz, m.in. rearanżacje *ABL1*, *ABL2*, *CSF1R*, *CRLF2*, *EPOR*, *JAK2*, *PDGFRB* [7, 18]. W około 50% przypadków Ph-like ALL stwierdza się rearanżację *CRLF2* prowadzącą do nadekspresji tego genu. W 10–15% przypadków Ph-like ALL dochodzi do translokacji obejmujących geny *ABL1*, *ABL2*, *CSF1R* oraz *PDGFRB*. Kolejne 10–15% przypadków Ph-like ALL charakteryzuje się występowaniem fuzji genów *JAK2* lub rearanżacji *EPOR* [6, 18]. Ze względu na różnice w aktywacji poszczególnych dróg przekazywania sygnału, Ph-like ALL podzielono na kilka grup. Podział ten przedstawiono w tabeli II.

Niewielka część nowo poznanych aberracji genetycznych ma wpływ na wyniki leczenia B-ALL. Najważniejszymi z dotychczas odkrytych są delecje (oraz mutacje punktowe) genu *IKZF1* kodującego czynnik transkrypcyjny IKAROS. Te

Tabela I – Częstość występowania aberracji genetycznych i ich wartość prognostyczna u dzieci z B-ALL [5, 6]
Table I – Frequency of genetic aberrations and their prognostic value in children with B-ALL [5, 6]

Typ zmian genetycznych i rodzaj mutacji	Częstość występowania	Wartość prognostyczna
Zmiany w liczbie chromosomów		
Hiperdiploidia (51–65 chromosomów)	25%	Korzystna rokowniczo, (zwłaszcza trisomia 4, 10 i 17 w niektórych protokołach)
Hipodiploidia (≤ 44 chromosomów)	1–2%	Niekorzystna rokowniczo: 5-letnie EFS <40%
Translokacje chromosomalne		
BCR-ABL1	3–5%	Niekorzystna rokowniczo, EFS <30%
ETV6-RUNX1	20%	Korzystna rokowniczo
TCF3-PBX1	4%	Korzystna rokowniczo przy intensyfikacji leczenia
Rearanżacje genu <i>MLL</i>	5–6% (Niemowlęta ok. 80%; dzieci >1 r.ż. ok.2%)	Niekorzystna rokowniczo
Inny podtyp B-ALL		
Ph-like ALL	ok. 15% (częstość wzrasta wraz z wiekiem pacjenta)	Niekorzystna rokowniczo
Inne zmiany genetyczne		
<i>CRLF2</i>	ok. 7% w non-DS ALL, w DS ALL ok 50%	Nieokreślona
<i>IKZF1</i> (delecje i mutacje inaktywujące)	10%	Zwiększone ryzyko wznowy
<i>JAK2</i> mutacje aktywujące (rzadziej <i>JAK1</i> i <i>JAK3</i>)	1%	Niekorzystne rokowniczo
<i>iAMP21</i>	2%	Częste w DS-ALL; rzadkie w non-DS high-risk ALL
Rearanżacje <i>DUX4</i> lub dysregulacje <i>ERG</i>	3–7%	Niekorzystna rokowniczo przy standardowej terapii
Rearanżacje <i>MEF2D</i>	3–6%	Korzystne rokowniczo
Rearanżacje <i>ZNF384</i>	4%	Niekorzystne rokowniczo
		Pośrednie ryzyko

Tabela II – Klasyfikacja Ph-like ALL na podstawie zmian genetycznych [6, 7, 18]
Table II Classification of Ph-like ALL based on genetic alterations [6, 7, 18]

Typ i częstość występowania	Rodzaj kinazy objętej rearanzacją	Inhibitor kinazy tyrozynowej (TKI) wykazujący aktywność w danej rearanzacji
Typ I – 22%	ABL1 ABL2 CSF1R PDGFRB	Dasatinib
Typ II – 18%	EPOR JAK2	Inhibitor JAK2
Typ III – 20%	CRLF2 JAK2	Inhibitor JAK2
Typ IV – 20%	JAK1 JAK3 IL2RB TYK2 TSLP IL7R FLT3	Inhibitor JAK1/JAK3 Inhibitor TYK2 Inhibitor JAK2 Nieznane
Typ V – 1%	Inne kinazy	Nieznane
Typ VI – 10%	Ras	Inhibitory RAS, Inhibitory MEK, Inhibitory PI3K/mTOR
Typ VII – 9%	Zmiany nieobjęte kinaz	Nieznane

zmiany genetyczne są obecne u około 15% dzieci z ALL i występują zarówno w białaczce limfoblastycznej BCR-ABL1⁺ (ponad 70% przypadków), jak i BCR-ABL1⁻ (w około 15%) [3]. W obu przypadkach wiąże się to ze znacznie gorszym rokowaniem. Wykazano, że delecje w obrębie genu IKZF1 są niezależnym czynnikiem prognostycznym, bez względu na to, do której grupy ryzyka chory został zakwalifikowany [19–21].

Kolejną istotną zmianą genetyczną są rearanzacje CRLF2 stwierdzane u około 7% dzieci z ALL oraz u 50% dzieci z ALL ze współistnieniem z zespołem Downa (Down syndrome ALL; DS-ALL) [3]. Połowa przypadków ALL z rearanzacją CRLF2 związana jest z obecnością mutacji w obrębie genów JAK1 i JAK2 i odwrotnie, niemal wszystkie przypadki B-ALL z mutacjami JAK1/JAK2 cechują się jednoczesną rearanzacją CRLF2 [3, 7, 22]. Dodatkowo u dzieci z ALL bez zespołu Downa wykazano, że zmiany genetyczne w obrębie CRLF2 i JAK są związane z mutacjami/delecjami IKZF1 oraz profilem ekspresji genów podobnym do tego, który występuje u chorych z ALL BCR-ABL1⁺ [3]. Ma to wpływ na gorsze wyniki leczenia. We wszystkich komórkach białaczkowych z nieprawidłowościami w obrębie CRLF2 dochodzi do aktywacji szlaku JAK-STAT oraz PI3K/mTOR. Jest to istotne z klinicznego punktu widzenia, gdyż komórki te wykazują wrażliwość na działanie inhibitorów JAK (Ruxolitinib) oraz mTOR [3].

Ważne z klinicznego punktu widzenia są również podtypy Ph-like ALL z fuzją EBF1-PDGFRB oraz z rearanzacjami EPOR. Oba te podtypy są związane z gorszym rokowaniem, ale jednocześnie wykazują wrażliwość na działanie inhibitorów kinaz tyrozynowych [18].

Tabela III – Częstość występowania aberracji genetycznych i ich wartość prognostyczna u dzieci z T-ALL [5, 6]
Table III – Frequency of genetic aberrations and their prognostic value in children with T-ALL [5, 6]

Rodzaj mutacji	Częstość występowania	Wartość prognostyczna
Translokacje onkogenów (TLX1, TLX3, TAL1, LMO1, LMO2, HOXA, etc) na geny TCR	40–50%	t(10;14) z nadekspresją TLX1 – lepsze rokowanie; nadekspresja TLX3 – w niektórych badaniach gorsze rokowanie
del(1)(p32) z fuzją SIL-TAL1	20–30%	Brak wartości prognostycznych
Rearanzacje MLL	5–10%	Brak wartości prognostycznych
t(10;11)(p12;q14) z fuzją PICALM-MLL10	10%	Niekorzystne rokowanie
NUP214-ABL1 (episomalna)	5–6%	Brak wartości prognostycznych
Delecje CDKN2A	60–70%	Brak wartości prognostycznych
Mutacje aktywujące NOTCH1	40–50%	Korzystne rokowanie w niektórych protokołach leczenia
Mutacje aktywujące N-RAS	10%	Brak wartości prognostycznych
Mutacje inaktywujące WT1	>10%	Brak wartości prognostycznych

T-ALL

Ostra białaczka limfoblastyczna T-komórkowa występuje u około 10–15% dzieci z ALL [6]. Podobnie, jak w przypadku B-ALL, T-ALL także charakteryzują określone zmiany genetyczne zaburzające przekazywanie sygnałów wewnątrzkomórkowych. W około 40–50% przypadków dochodzi do różnych rearanzacji obejmujących receptor dla limfocytów T (T-cell antygen receptor; TCR) – w tej grupie możemy wyróżnić cztery podtypy T-ALL: I – TLX1, II – LYL1, III – TAL1/LMO2, IV – TLX3 [6, 23]. W pozostałych przypadkach mutacje i delecje dotyczą genów regulujących rozwój i dojrzewanie limfocytów T, a także czynników supresorowych nowotworów. Do najistotniejszych należą mutacje aktywujące NOTCH1, FBXW7, PTEN oraz WT1 [5, 23]. Najczęstsze zmiany genetyczne w T-ALL przedstawiono w tabeli III.

Prowadzone w ostatnich latach badania genetyczne doprowadziły do scharakteryzowania nowego podtypu ostrej białaczki limfoblastycznej T-komórkowej, ETP-ALL (Early T-cell Precursor ALL), występującej w około 10–15% pacjentów z T-ALL [6]. Badanie immunofenotypu tych komórek blastycznych wykazało obecność cząsteczek powierzchniowych CD3 charakterystycznych dla T-ALL, ale brak ekspresji CD1a, CD8 oraz słabą ekspresję lub brak CD5. Dodatkowo blasty te wykazywały nieprawidłową ekspresję cząsteczek powierzchniowych z linii mieloidalnej lub komórek macierzystych [24]. W wyniku tych zmian genetycznych dochodzi do aktywacji m.in. szlaku JAK-STAT oraz PRC2, co może sugerować przydatność w leczeniu inhibitorów JAK oraz czynników modyfikujących chromatynę [7]. Początkowo przypadki ETP-ALL wiązano z gorszym rokowaniem, jednak ostatnie

badania nie są już jednoznaczne i sugerują, że pacjenci z tym typem białaczki rzeczywiście wykazują wolniejszą odpowiedź na wstępne leczenie i częściej są narażeni na niepowodzenie chemioterapii indukcyjnej, ale ich ogólne przeżycie oraz przeżycie wolne od zdarzeń są podobne do pozostałych pacjentów z T-ALL [25, 26].

Zmiany genetyczne we wznowie ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci

We wznowie ALL często występuje oporność na chemioterapię – może być to wynikiem ewolucji istniejących wcześniej opornych klonów komórkowych lub wytworzenia nowych mutacji w trakcie ekspozycji na chemioterapię. Większość chorych ze wznową ALL posiada te same zmiany genetyczne, dotyczące kluczowych procesów leukemogenezy, które obecne były w momencie pierwotnego rozpoznania. Najczęściej zmiany genetyczne obejmują: szlaki przekazywania sygnału Ras (65%) oraz JAK-STAT (25%), czynniki transkrypcyjne regulujące rozwój układu limfoidalnego (85%), metabolizm nukleotydów (45%), zmiany epigenetyczne (65%) i czynniki regulujące cykl komórkowy (60%) [27]. W niemalże wszystkich przypadkach wznowy ALL obecne są także zupełnie nowe rearanżacje, świadczące o ciągłej dynamice choroby [6, 27]. Ciekawą grupę stanowią pacjenci z ALL z wysoką hiperdiploidią (*high hyperdiploidy*; HD) – chociaż rokowanie w tej grupie jest dobre i ryzyko nawrotu choroby jest relatywnie niskie, to zdarzają się przypadki wznowy choroby podstawowej. Może to wynikać z obecności pewnych zmian genetycznych, do których należą przede wszystkim aktywacja szlaku przekazywania Ras oraz rzadsze mutacje CREBBP. Mutacje szlaku Ras oraz receptorów dla kinaz tyrozynowych występują w podobnym odsetku przy rozpoznaniu, jak we wznowie choroby i wydaje się, że nie wpływają one na przebieg kliniczny. Częstość występowania mutacji CREBBP jest wyższa we wznowie choroby niż przy pierwotnym rozpoznaniu. Mutacje CREBBP we wznowie często współwystępują z mutacjami KRAS [28].

Większym ryzykiem wznowy obarczone są również dzieci z ALL z wysoką ekspresją genu CRLF2 z obecnością fuzji P2RY8/CRLF2 lub z translokacją IGH/CRLF2. Zwłaszcza w grupie pacjentów z translokacją IGH/CRLF2 stwierdza się wysoki odsetek (44%) wznow. Pacjenci z tymi rearanżacjami wykazują także większą skłonność do współwystępowania dodatkowych zmian genetycznych, co może się przyczynić do zwiększonego odsetka wznow [29].

Najczęstsze zmiany genetyczne we wznowie ALL przedstawiono w tabeli IV.

Terapia celowana w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci

Identyfikacja nowych zmian genetycznych, poznanie szlaków przekazywania sygnału, które ulegają aktywacji w wyniku tych zmian, oraz ich roli w rozwoju choroby, przyczyniła się do rozwoju badań nad terapią celowaną w ostrych białaczkach limfoblastycznych. Wiele z tych szlaków może potencjalnie stać się celem przy zastosowaniu określonych inhibitorów. Taka dopasowana/spersonalizowana terapia mogłaby

Tabela IV – Częstość występowania aberracji genetycznych i ich wartość prognostyczna u dzieci ze wznową ALL [6, 30]
Table IV – Frequency of genetic aberrations and their prognostic value in children with relapsed ALL [6, 30]

Rodzaj mutacji	Częstość występowania we wznowach	Wartość prognostyczna
CREBBP	20%	Możliwa oporność na glikokortykoidy
NT5C2	20%	Możliwa oporność na analogi nukleozydów
PRPS1	7%	Możliwa oporność na analogi nukleozydów
SETD2	12%	Potencjalna rola w terapii epigenetycznej
Mutacje szlaku RAS	30-50%	

nie tylko zwiększyć efektywność leczenia przeciwbiałaczkowego, ale także zmniejszyć ryzyko wystąpienia wznowy oraz zredukować liczbę toksycznych związków z chemioterapią, a tym samym poprawić jakość życia pacjentów. Wydaje się, że połączenie konwencjonalnej chemioterapii z nowymi inhibitorami jest niezbędne do poprawy wyników leczenia oraz zmniejszenia ryzyka rozwoju lekooporności [6].

Zastosowanie inhibitora kinazy tyrozynowej jest przykładem celowanej terapii nowotworów. Gleevec (*imatinib mesylate*) jest czynnikiem hamującym aktywność kinaz tyrozynowych BCR-ABL i odgrywa istotną rolę w leczeniu przewlekłej białaczki szpikowej (*chronic myeloid leukemia*; CML) oraz ALL z obecnością chromosomu Philadelphia (Ph⁺ ALL) [6]. Wyniki leczenia u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną Ph⁺, u których zastosowano inhibitor kinazy tyrozynowej – imatinib – w połączeniu z intensywną chemioterapią wykazały 10-letnie przeżycie u 80% dzieci [31]. Wydaje się, że dzięki tej terapii, większość dzieci z Ph⁺ ALL uda się wyleczyć bez konieczności stosowania HSCT. Kolejną grupą chorych, która ma złe rokowanie i mogłaby potencjalnie odnieść korzyści z zastosowania terapii celowanej, są pacjenci z Ph-like ALL. Obecnie trwają badania nad zastosowaniem imatinibu oraz innych inhibitorów kinazy tyrozynowej (*dasatinib*, *ruxolitinib*) w leczeniu tego podtypu białaczki [18, 32]. W Ph-like ALL dochodzi do aktywacji szlaków JAK/STAT, ABL oraz PI3K. Wydaje się, że zastosowanie inhibitorów tych szlaków mogłoby przynieść potencjalne korzyści. Najnowsze badania nad terapią skojarzoną z dwóch inhibitorów tych szlaków, np. *gedatolisib* (inhibitor PI3K/mTOR) z *ruxolitinib* oraz *gedatolisib* z *dasatinib*, wykazały dużą skuteczność takiego leczenia w przypadkach Ph-like ALL u myszy [33]. Konieczne są dalsze badania na pacjentach z tym typem białaczki. Obecnie w trakcie prób przedklinicznych i klinicznych znajdują się między innymi takie substancje, jak kolejne inhibitory kinazy tyrozynowej, inhibitory PI3K (kinazy 3-fosfatydiloinozytolu) oraz MEK (kinazy regulowanej zewnątrzkomórkowo) mogące mieć potencjalną aktywność w przypadku dzieci z ALL z hipodiploidią, ale także u tych z mutacjami obejmującymi szlak RAS [6, 34]. Warunkiem działania receptorów jądrowych i transkrypcji genów jest modyfikacja struktury chromatyny przez procesy acetylacji i deacetylacji histonów. Lekami mogącymi potencjalnie

przynieść korzyści u dzieci z ALL i rearanzacją genu MLL, są leki hamujące deacetylazę i metyltransferazę histonów (np. vorinostat, panobinostat i decitabine, inhibitory DOT1L) [6, 30]. W tej grupie pacjentów trwają także badania nad selektywnymi inhibitorami FLT3 (quizartinib) [6, 23]. FLT3 (*fms-related tyrosine kinase 3 receptor*) jest receptorem kinazy tyrozynowej odgrywającym istotną rolę w prawidłowym rozwoju komórek macierzystych i układu odpornościowego. Mutacje FLT3 najczęściej występują w ostrej białaczce szpikowej (*acute myeloid leukemia*; AML), ale także w niektórych przypadkach ALL. Wydaje się, że mutacje FLT3 prowadzą do niekontrolowanej proliferacji komórek nowotworowych, jak również w połączeniu z innymi onkogenami przyczyniają się do powstania bardziej agresywnych fenotypów białaczek i wiążą się z gorszym rokowaniem [23, 35]. Obecnie przeprowadzane są badania kliniczne u dzieci z T-ALL z zastosowaniem analogów nukleozydów – np. nelarabine, inhibitorów proteasomów – bortezomib, inhibitorów metyltransferazy histonów EZH2, inhibitorów PI3K, inhibitorów sekretazy gamma (GSI), a także immunoterapii przeciwciałami anty-NOTCH. Dodatkowo wydaje się, że w przypadku ETP-ALL potencjalne działanie mogą wykazywać inhibitory FLT3, JAK oraz PI3K/mTOR [6, 23, 36].

Kolejną obiecującą strategią w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej jest zastosowanie celowanej immunoterapii, m.in. przeciwciałami anty-CD19, anty-CD20, anty-CD22, ale także terapii opartej na limfocytach T [37–39]. Ideą tej ostatniej terapii jest zastosowanie komórek CART (*chimeric antigen receptor modified T cells*), które są autologicznymi, zmodyfikowanymi limfocytami T skierowanymi przeciwko antygenom CD19 obecnym na limfoblastach. Podkreśla się jej szczególną rolę, a także znaczącą poprawę wyników leczenia u dzieci, jak i dorosłych pacjentów ze wznową B-ALL i oporną na dotychczasowe leczenie B-ALL [6, 39–41]. Według najnowszych doniesień, u około 10–20% chorych poddanych terapii z użyciem CART-19 wystąpiła kolejna wznowa. Jest to najprawdopodobniej związane z obecnością większej liczby izoform CD19 i utratą epitopów. Wydaje się, że bardziej skuteczna byłaby terapia łączona z użyciem kilku epitopów [42].

Rearanzacje genu IKZF1, skutkujące utratą aktywności czynnika transkrypcyjnego IKAROS, prowadzą do nabycia przez komórki białaczkowe cech komórek macierzystych. Przypadki te charakteryzują się złym rokowaniem i wykazują gorszą odpowiedź na inhibitory kinazy tyrozynowej. Według ostatnich doniesień, zastosowanie agonistów retinoidów prowadzi do odwrócenia efektów tych rearanzacji i jednocześnie działa synergistycznie z inhibitorami kinaz tyrozynowych zwiększając ich aktywność u pacjentów z rearanzacją IKZF1 [43, 44].

Podsumowanie

Szczegółowe badania genetyczne u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną prowadzone na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat pozwoliły lepiej zrozumieć mechanizmy rozwoju choroby, jak i niepowodzenia leczenia. Dzięki nim udało się wyodrębnić kilka nowych, niezależnych czynników prognostycznych, które uwzględnione w stratyfikacji pacjentów do poszczególnych grup ryzyka zwiększyły efektywność

leczenia i wydłużyły ich przeżycie. Poznanie mechanizmów leukemogenezy umożliwiło badania nad rozwojem nowych, celowanych terapii, które niosą ogromne nadzieje pacjentom z oporną na leczenie ALL. Dalsza analiza genomu i powszechniejsze stosowanie nowoczesnych technik diagnostycznych, takich jak sekwencjonowanie nowej generacji, może w przyszłości wnieść ogromne korzyści we wczesnej diagnostyce i monitorowaniu choroby, stratyfikacji ryzyka, ale także w rozwoju spersonalizowanej terapii.

Wkład autorów/Authors' contributions

MR – koncepcja pracy, analiza i podsumowanie danych, przygotowanie piśmiennictwa, akceptacja ostatecznej wersji artykułu. IM – koncepcja pracy, analiza i podsumowanie danych, przygotowanie piśmiennictwa, akceptacja ostatecznej wersji artykułu.

Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

- [1] Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2008;371(9617):1030–1043.
- [2] Hunger SP, Mullighan CG. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med* 2015;373(16):1541–1552.
- [3] Mullighan CG. The molecular genetic makeup of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:389–396.
- [4] Pui CH, Pei D, Sandlund JT, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Raimondi SC, et al. Long-term results of St Jude Total Therapy Studies 11, 12, 13A, 13B, and 14 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010;24(2):371–382.
- [5] Szczepanski T, Harrison CJ, van Dongen JJ. Genetic aberrations in paediatric acute leukaemias and implications for management of patients. *Lancet Oncol* 2010;11(9):880–889.
- [6] Tasian SK, Hunger SP. Genomic characterization of paediatric acute lymphoblastic leukaemia: an opportunity for precision medicine therapeutics. *Br J Haematol* 2016. <http://dx.doi.org/10.1111/bjh.14474>.
- [7] Mullighan CG. The genomic landscape of acute lymphoblastic leukemia in children and young adults. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014;2014(1):174–180.

- [8] Vrooman LM, Silverman LB. Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Prognostic Factors and Clinical Advances. *Curr Hematol Malig Rep* 2016;11(5):385-394.
- [9] Pui CH, Campana D, Evans WE. Childhood acute lymphoblastic leukaemia-current status and future perspectives. *Lancet Oncol* 2001;2(10):597-607.
- [10] Nachman JB, Heerema NA, Sather H, Camitta B, Forestier E, Harrison CJ, et al. Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2007;110(4):1112-1115.
- [11] Moorman AV, Richards SM, Robinson HM, Strefford JC, Gibson BE, Kinsey SE, et al. Prognosis of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21). *Blood* 2007;109(6):2327-2330.
- [12] Attarbaschi A, Mann G, Panzer-Grumayer R, Rottgers S, Steiner M, Konig M, et al. Minimal residual disease values discriminate between low and high relapse risk in children with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia and an intrachromosomal amplification of chromosome 21: the Austrian and German acute lymphoblastic leukemia Berlin-Frankfurt-Munster (ALL-BFM) trials. *J Clin Oncol* 2008;26(18):3046-3050.
- [13] Heerema NA, Carroll AJ, Devidas M, Loh ML, Borowitz MJ, Gastier-Foster JM, et al. Intrachromosomal amplification of chromosome 21 is associated with inferior outcomes in children with acute lymphoblastic leukemia treated in contemporary standard-risk children's oncology group studies: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol* 2013;31(27):3397-3402.
- [14] Moorman AV, Robinson H, Schwab C, Richards SM, Hancock J, Mitchell CD, et al. Risk-directed treatment intensification significantly reduces the risk of relapse among children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia and intrachromosomal amplification of chromosome 21: a comparison of the MRC ALL97/99 and UKALL2003 trials. *J Clin Oncol* 2013;31(27):3389-3396.
- [15] Harrison CJ, Moorman AV, Schwab C, Carroll AJ, Raetz EA, Devidas M, et al. An international study of intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21): cytogenetic characterization and outcome. *Leukemia* 2014;28(5):1015-1021.
- [16] Zhao HZ, Jia M, Luo ZB, Xu XJ, Li SS, Zhang JY, et al. ETS-related gene is a novel prognostic factor in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Oncol Lett* 2017;13(1):455-462.
- [17] Zhang J, McCastlain K, Yoshihara H, Xu B, Chang Y, Churchman ML, et al. Deregulation of DUX4 and ERG in acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2016;48(12):1481-1489.
- [18] Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D, Harvey RC, Yang YL, Pei D, et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014;371(11):1005-1015.
- [19] Mullighan CG, Su X, Zhang J, Radtke I, Phillips LA, Miller CB, et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2009;360(5):470-480.
- [20] Kuiper RP, Waanders E, van der Velden VH, van Reijmersdal SV, Venkatachalam R, Scheijns B, et al. IKZF1 deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia* 2010;24(7):1258-1264.
- [21] Collins-Underwood JR, Mullighan CG. Genomic profiling of high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010;24(10):1676-1685.
- [22] Harvey RC, Mullighan CG, Chen IM, Wharton W, Mikhail FM, Carroll AJ, et al. Rearrangement of CRLF2 is associated with mutation of JAK kinases, alteration of IKZF1, Hispanic/Latino ethnicity, and a poor outcome in pediatric B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010;115(26):5312-5321.
- [23] Neumann M, Coskun E, Fransecky L, Mochmann LH, Bartram I, Sartangi NF, et al. FLT3 mutations in early T-cell precursor ALL characterize a stem cell like leukemia and imply the clinical use of tyrosine kinase inhibitors. *PLoS one* 2013;8(1):e53190.
- [24] Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M, Behm FG, Raimondi SC, Pei D, et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* 2009;10(2):147-156.
- [25] Patrick K, Wade R, Goulden N, Mitchell C, Moorman AV, Rowntree C, et al. Outcome for children and young people with Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia treated on a contemporary protocol, UKALL 2003. *Br J Haematol* 2014;166(3):421-424.
- [26] Wood BL, Winter SS, Dunsmore KP, Devidas M, Chen S, Asselin B, et al. T-Lymphoblastic Leukemia (T-ALL) Shows Excellent Outcome, Lack of Significance of the Early Thymic Precursor (ETP) Immunophenotype, and Validation of the Prognostic Value of End-Induction Minimal Residual Disease (MRD) in Children's Oncology Group (COG) Study AALL0434 [abstract]. *Blood* 2014;124(21). Abstract 1.
- [27] Ma X, Edmonson M, Yergeau D, Muzny DM, Hampton OA, Rusch M, et al. Rise and fall of subclones from diagnosis to relapse in pediatric B-acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Commun* 2015;6:6604.
- [28] Malinowska-Ozdowy K, Frech C, Schonegger A, Eckert C, Cazzaniga G, Stanulla M, et al. KRAS and CREBBP mutations: a relapse-linked malicious liaison in childhood high hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2015;29(8):1656-1667.
- [29] Schmäh J, Fedders B, Panzer-Grümayer R, Fischer S, Zimmermann M, Dagdan E, et al. Molecular characterization of acute lymphoblastic leukemia with high CRLF2 gene expression in childhood. *Pediatr Blood Cancer* 2017;00:e26539.
- [30] Mullighan CG, Zhang J, Kasper LH, Lerach S, Payne-Turner D, Phillips LA, et al. CREBBP mutations in relapsed acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2011;471(7337):235-239.
- [31] Schultz KR, Carroll A, Heerema NA, Bowman WP, Alledo A, Slayton WB, et al. Long-term follow-up of imatinib in pediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Children's Oncology Group study AALL0031. *Leukemia* 2014;28(7):1467-1471.
- [32] Maude SL, Tasian SK, Vincent T, Hall JW, Sheen C, Roberts KG, et al. Targeting JAK1/2 and mTOR in murine xenograft models of Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2012;120(17):3510-3518.
- [33] Tasian SK, Teachey DT, Li Y, Shen F, Harvey RC, Chen IM, et al. Potent efficacy of combined PI3K/mTOR and JAK or ABL inhibition in murine xenograft models of Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2017;129(2):177-187.
- [34] Tasian SK, Teachey DT, Rheingold SR. Targeting the PI3K/mTOR Pathway in Pediatric Hematologic Malignancies. *Front Oncol* 2014;4:108.
- [35] Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood* 2002;100(5):1532-1542.
- [36] Maude SL, Dolai S, Delgado-Martin C, Vincent T, Robbins A, Selvanathan A, et al. Efficacy of JAK/STAT pathway inhibition in murine xenograft models of early T-cell precursor (ETP) acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015;125(11):1759-1767.
- [37] Kantarjian H, Thomas D, Wayne AS, O'Brien S. Monoclonal antibody-based therapies: a new dawn in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2012;30(31):3876-3883.
- [38] Kantarjian H, Thomas D, Jorgensen J, Kebriaei P, Jabbour E, Rytting M, et al. Results of inotuzumab ozogamicin, a CD22 monoclonal antibody, in refractory and relapsed acute lymphocytic leukemia. *Cancer* 2013;119(15):2728-2736.

-
- [39] Jabbour E, O'Brien S, Ravandi F, Kantarjian H. Monoclonal antibodies in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015;125(26):4010-4016.
- [40] Tasian SK, Gardner RA. CD19-redirection chimeric antigen receptor-modified T cells: a promising immunotherapy for children and adults with B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Ther Adv Hematol* 2015;6(5):228-241.
- [41] Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015;125(26):4017-4023.
- [42] Fischer J, Paret C, El Malki K, Alt F, Wingerter A, Neu MA, et al. CD19 Isoforms Enabling Resistance to CART-19 Immunotherapy Are Expressed in B-ALL Patients at Initial Diagnosis. *J Immunother* 2017;40(5):187-195.
- [43] Churchman ML, Low J, Qu C, Paietta EM, Kasper LH, Chang Y, et al. Efficacy of Retinoids in IKZF1-Mutated BCR-ABL1 Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Cell* 2015;28(3):343-356.
- [44] Churchman ML, Mullighan CG. Ikaros: Exploiting and targeting the hematopoietic stem cell niche in B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol* 2017;46:1-8.