

lek. Magdalena Romiszewska

**Wpływ mutacji genów *JAK* na przebieg kliniczny i rokowanie
ostrych białaczek limfoblastycznych u dzieci**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Iwona Malinowska

Katedra i Klinika Onkologii, Hematologii Dziecięcej, Transplantologii
Klinicznej i Pediatrii, Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023

STRESZCZENIE

Wstęp

Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) jest najczęstszą chorobą nowotworową wieku dziecięcego, stanowiącą około jedną trzecią wszystkich nowotworów rozpoznawanych w tej grupie wiekowej. Najczęstszym jej podtypem jest ostra białaczka limfoblastyczna z prekursorów limfocytów B (BCP-ALL). Ciągłe udoskonalanie strategii leczenia, wyodrębnianie nowych czynników rokowniczych, jak również bardziej precyzyjna stratyfikacja pacjentów do grup ryzyka, przyczyniły się do znacznej poprawy wyników leczenia ALL u dzieci. Mimo tego, nadal około jedna piąta pacjentów z ALL zagrożona jest wznową choroby. Większość przypadków BCP-ALL charakteryzuje występowanie licznych zmian genetycznych. Dzięki nowoczesnym technikom, takim jak NGS, aCGH, czy SNP zidentyfikowano aberracje genetyczne w kluczowych dla rozwoju procesów nowotworowych genach. Wstępne doniesienia wskazują na związek pomiędzy obecnością mutacji w genach *CRLF2*, *JAK* oraz *IKZF1* a złą odpowiedzią na leczenie, złym rokowaniem oraz zwiększonym ryzykiem nawrotu choroby. Mutacje *JAK* najczęściej współwystępują z mutacjami *CRLF2*. Stanowią one potencjalny cel terapeutyczny dla inhibitorów kinazy tyrozynowej. Doniesienia naukowe dotyczące znaczenia rokowniczego mutacji *JAK* w ostrych białaczkach limfoblastycznych u dzieci oraz ich wpływu na przebieg kliniczny są nieliczne.

Cel pracy

Celem pracy była analiza częstości występowania i rodzaju mutacji *JAK* u dzieci z BCP-ALL, u których stwierdzono nadekspresję *CRLF2* oraz zależności między obecnością mutacji *JAK* a określonymi cechami klinicznymi. Analizowano również wpływ tych mutacji na przebieg kliniczny, odpowiedź na stosowane leczenie, uzyskanie remisji i przeżycie pacjentów z BCP-ALL.

Material i metody

Grupę badaną stanowiło 432 dzieci z 14 ośrodków hematologii dziecięcej w Polsce, z rozpoznaną w latach 2011 – 2016 BCP-ALL, u których analizowano ekspresję białka CRLF2 na powierzchni komórek blastycznych. U dzieci, u których stwierdzono jego nadekspresję, przeprowadzono badania genetyczne w kierunku mutacji

punktowych w genach *JAK*. Ostatecznie wyodrębniono następujące grupy badane: „CRLF2-” oraz „CRLF2+”, liczące odpowiednio 403 i 29 pacjentów. Spośród pacjentów z nadekspresją *CRLF2* wyodrębniono kolejne dwie podgrupy: „JAK2-” i „JAK2+”, w których znalazło się odpowiednio 21 i 8 dzieci. Materiałem do badań był szpik kostny pobrany w momencie rozpoznania choroby. Badanie ekspresji białka CRLF2 na powierzchni komórek blastycznych oraz badania genetyczne przeprowadzone zostały w Pracowni Immunopatologii i Genetyki Kliniki Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii I Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w ramach projektu badawczego „Wieloczynnikowe molekularne profilowanie ostrej białaczki limfoblastycznej *BCR-ABL1*-like”. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej. Przeprowadzono retrospektywną analizę kliniczną danych dzieci z BCP-ALL. Określono wpływ mutacji *JAK2* na przebieg kliniczny i rokowanie. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie SAS Enterprise Guide. Wszystkie wnioski przeprowadzono na poziomie istotności α równym 0,05.

Wyniki

W grupie 432 dzieci z BCP-ALL badano ekspresję białka CRLF2 na powierzchni komórek blastycznych metodą cytometrii przepływowej. Nadekspresję *CRLF2* stwierdzono u 29 z 432 (6,7%) pacjentów, w tym u 4/12 (33,3%) pacjentów z zespołem Downa. Mutacje *JAK2* zidentyfikowano u 8 z 29 (27,6%) pacjentów z nadekspresją *CRLF2*, w tym u 1 z 12 (8,3%) pacjentów z zespołem Downa i 1 z 80 (1,25%) pacjentów z grupy HR. Wśród pacjentów z mutacjami *JAK2*, u 5 (62,5%) stwierdzone zostały mutacje w domenie pseudokinazowej (R683G), a u pozostałych (37,5%) w domenie kinazowej (T875A, T875N). Wszystkie grupy badane wykazywały podobny rozkład wieku, płci, wstępnej leukocytozy, odsetka blastów w szpiku kostnym w momencie rozpoznania oraz przynależności do grupy ryzyka. Stwierdzono natomiast, że chłopcy z grupy JAK2+ byli starsi niż chłopcy z grupy JAK2- ($p = 0,03$). W całej grupie badanej zajęcie ośrodkowego układu nerwowego (CNS3) stwierdzono u 19 pacjentów (4,4%). Zajęcie OUN występowało częściej u pacjentów JAK2+ niż u pacjentów CRLF2- ($p = 0,048$). Zajęcie OUN dotyczyło najczęściej dzieci z grupy wysokiego ryzyka ($p = 0,00043$). W całej grupie badanej było 12 pacjentów z zespołem Downa (2,78%). Zespół Downa stwierdzano częściej u pacjentów CRLF2+ niż u pacjentów CRLF2- ($p = 0,005$). Natomiast nie wykazano statystycznie różnic w występowaniu określonych

zaburzeń genetycznych (hiperdiploidia, rearanżacje *MLL*, *BCR/ABL*, *TEL/AML*) w poszczególnych podgrupach badanych. Analizując odpowiedź na stosowane leczenie oceniano odpowiedź na sterydy w 8. dobie leczenia, morfologię szpiku kostnego oraz poziom MRD w 15. i 33. dobie leczenia. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w odpowiedzi na sterydy w 8. dobie leczenia pomiędzy poszczególnymi grupami. Wartości MRD15 były wyższe u dzieci CRLF2- w porównaniu do dzieci CRLF2+ (**p = 0,004**). Również u chłopców CRLF2- wartości MRD15 były wyższe niż u chłopców CRLF2+ (**p = 0,019**). Zarówno chłopcy, jak i dziewczynki CRLF2- mieli wyższe wartości MRD15, niż dziewczynki i chłopcy JAK2- (**chłopcy p = 0,036, dziewczynki p = 0,04**). W grupie SR oraz IR dzieci CRLF2- miały wyższe wartości MRD15, niż dzieci CRLF2+ (**SR p = 0,034, IR p = 0,036**) oraz wyższe niż dzieci JAK2- (**SR p = 0,024, IR p = 0,047**). Różnic takich nie wykazano dla grupy HR. Nie wykazano różnic w wartościach MRD w 33. dobie leczenia pomiędzy poszczególnymi grupami. Z klinicznego punktu widzenia i stratyfikacji pacjentów do grup ryzyka, ważniejsze od samych wartości MRD są punkty odcięcia tych wartości: $< 0,1\%$, $\geq 0,1\%$ i $\leq 10\%$ oraz $> 10\%$. Wykazano znamienne różnice w zakresach wartości MRD15 pomiędzy grupami CRLF2-, JAK2- i JAK2+ (**p = 0,022**), CRLF2- i CRLF2+ (**p = 0,0003**), jak również pomiędzy CRLF2- i JAK2- (**p = 0,016**). U pacjentów CRLF2- częściej stwierdzano wyższe wartości MRD15 – zarówno w zakresie $\geq 0,1\%$ i $\leq 10\%$, jak i $> 10\%$, natomiast u pacjentów CRLF2+ oraz JAK2- niższe wartości MRD $< 0,1\%$. Czas przeżycia wolny od zdarzeń niekorzystnych był porównywalny w każdej grupie badanej.

Wnioski

Przedstawione w pracy wyniki nie wskazują jednoznacznie na to, aby pacjenci z mutacjami *JAK2* charakteryzowali się określonymi cechami klinicznymi, które mogłyby ich identyfikować już na wstępnym etapie leczenia. Natomiast częściej stwierdzano u nich zajęcie OUN, również gdy byli zakwalifikowani do grupy standardowego ryzyka. Nie wykazano, aby mutacje *JAK2* miały istotny wpływ na skuteczność leczenia, EFS czy rokowanie BCP-ALL u dzieci. Mimo to wydaje się, że aby określić rzeczywisty wpływ tych mutacji na przebieg kliniczny i rokowanie BCP-ALL u dzieci, konieczne jest przeprowadzenie badań na dużo większej populacji pacjentów.