

Juvenilná myelomonocytočná leukémia: genetika v manažovaní pacientov

Mgr. Anita Vaská¹, PhD., MUDr. Oksana Fábri², PhD., doc. MUDr. Alexandra Kolenová², PhD.

¹Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LF UK a NÚDCH, Bratislava

²Klinika detskej hematológie a onkológie LF UK a NÚDCH, Bratislava

Juvenilná myelomonocytočná leukémia (JMML) je veľmi zriedkavé ochorenie detského veku. Je charakterizovaná nadprodukciou monocytových a myeloidných buniek, ktoré infiltrujú všetky orgány. Mapovanie genómu odhalilo, že 90 % mutácií sa vyskytuje v RAS signálnej dráhe. Tieto poznatky prispievali k zlepšeniu diagnostiky pacientov, nájdeniu prognostických markerov a vhodných liečebných cieľov. Predkladaný prehľadový článok poukazuje na súčasné novinky v oblasti genetiky, epigenetiky a terapeutických postupov.

Kľúčové slová: juvenilná myelomonocytočná leukémia, genetika, stratifikácia, liečba

Juvenile myelomonocytic leukemia: genetics in patient management

Juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) is a very rare disease of childhood. It is characterized by overproduction of monocyte and myeloid cells that infiltrate all organs. Comprehensive analysis of genome revealed that 90% of the mutations occur in the RAS signaling pathway. These findings have contributed to improving the diagnosis of patients, finding prognostic markers and appropriate therapeutic targets. The review article highlights current developments in genomics, epigenomics and therapeutic approaches.

Key words: juvenile myelomonocytic leukemia, genetics, stratification, treatment

Onkológia (Bratisl.), 2020;15(5):329-333

Úvod

Juvenilná myelomonocytočná leukémia (JMML) je veľmi zriedkavé a agresívne myeloproliferatívne ochorenie detského veku. Ročná incidencia JMML dosahuje približne 1,2 prípadov/milión. Vek v čase diagnózy sa pohybuje od jedného mesiaca do skorého adolescence. Medián veku je dva roky s pomerom mužského a ženského pohlavia 2 : 1. Na základe WHO klasifikácie hematopoetických a lymfoidných nádorov sa považuje za samostatnú premostovacu poruchu medzi myelodysplastickým syndrómom (MDS) a myeloproliferatívnou neopláziou (MPN), ktorá predstavuje 2 % až 3 % všetkých detských hematologických malignít (1 – 4). Na Slovensku sa ročne diagnostikujú jeden až dva prípady na JMML.

Príznaky JMML sú spôsobené infiltráciou orgánov malignými bunkami. Bežné klinické príznaky zahŕňajú horúčku, infekciu, bledosť, lymfadenopatiu, hepatosplenomegáliu (zväčšenie pečene a sleziny), kožné lézie (ekzémové erupcie, erytematózne makulopapuly a viacnásobné juvenilné xantogranulómy) a hemoragické prejavy (4, 5). Medzi hematologické príznaky patrí leukocytóza, monocytóza, prítomnosť nezrelých monocytov spolu s myelocytmi, metamyelocytmi a nuk-

leovými červenými krvinkami na nátere periférnej krvi. Často sa identifikuje prítomnosť blastov. Bežne sa vyskytuje trombocytopénia a anémia. Počet blastov v kostnej dreni sa môže mierne zvýšiť, avšak ich počet je nižší ako pri akútnych leukémiách. Počet megakaryocytov je znížený alebo chýbajú v dvoch tretinách prípadov (6). Významným znakom mnohých prípadov JMML je zvýšená syntéza fetálneho hemoglobínu (HbF). Znaky autoimunity, antinukleárne protilátky alebo pozitívny antiglobínový test možno pozorovať u 25 % detí s JMML, zatiaľ čo hypergamaglobulinémia je prítomná u viac ako polovice pacientov (6, 7).

Hematologické abnormality sú spôsobené prerušením prenosu v RAS signálnej dráhe. Mutácie v génoch zapojených do RAS signálnej dráhy sú prítomné v leukemických bunkách približne u 90 % pacientov (4, 5, 6). Napriek veľkým pokrokom v molekulárnej diagnostike zostáva JMML záhadnou poruchou s rôznym klinickým priebehom a výsledkami liečby. Za rôzne klinické priebehy a výsledky môžu byť zodpovedné mutácie v príslušných génoch, ktoré sa môžu vyskytovať ako zárodočné (syndrómové) alebo somatické nálezy (non-syndrómové) v hematopoetických bunkách. Ďalej, aj v rámci jednot-

livých geneticky definovaných podtypov sa líši klinický priebeh v závislosti od klinických rizikových faktorov ako vek, HbF, trombocytopénia alebo nedávno popísané metylačné triedy. V súčasnosti manažovanie pacientov závisí od podtypu molekulovej mutácie a pozostáva z pozorovania alebo včasnej alogénnej transplantácie hematopoetických krvotvorných buniek (HSCT) (6, 8). Cieľom predkladaného článku je priblížiť genetické a epigenetické vlastnosti JMML a naznačiť ich vplyv na klinickú starostlivosť.

Genetické podskupiny JMML

JMML je charakterizovaná konštitutívnou aktiváciou RAS signálnej dráhy. Približne 90 % pacientov má molekulovú zmenu v 1 z 5 génov (PTPN11, NRAS, KRAS, CBL a NF1), ktoré kódujú proteíny zapojené do RAS signálnej dráhy (obrázok 1). Na základe mutovaných génov rozlišujeme päť klinicky a geneticky odlišných podtypov JMML (tabuľka 1). Pre PTPN11-, NRAS-, KRAS mutovanú JMML podskupinu sú charakteristické heterozygotné somatické mutácie so zmenenou funkciou proteínu, ktoré sa vyskytujú u detí bez známej syndromologickej jednotky. V ostatných dvoch podskupinách je za vznik JMML zodpovedná jedna zárodočná mutácia

na jednej a somatická mutácia na druhej alele, ktoré v krvotvorných bunkách inaktivujú príslušné tumorsupresorové gény (NF1 alebo CBL) (6, 8, 9). Vzhľadom na široké prekryvanie klinických a hematologických príznakov diagnostika vyžaduje molekulovú analýzu na správnu klasifikáciu JMML podtypov.

JMML s mutáciou v géne PTPN11

Gén PTPN11 je najčastejší mutovaný gén u pacientov s JMML. U viac ako 40 % prípadov somatické mutácie sú zodpovedné za príčinu ochorenia. Tento gén kóduje cytoplazmatický proteín tyrozín fosfatázu 2 (SHP2) (6, 8, 9). Mutácie asociované s JMML sú typu missense a nachádzajú sa v exónoch 3,8 a 13, ktoré vedú k zmenenej funkcii produkovaného proteínu (10). JMML s mutáciou v géne PTPN11 môže byť fatálna pre pacienta bez HSCT. V porovnaní s pacientmi z iných podtypov JMML pacienti s PTPN11 mutáciou po transplantácii majú významne horší výsledok s vyšším rizikom relapsu (11).

JMML s mutáciou v géne NRAS

Mutácie v géne NRAS sa vyskytujú u 14 % až 17 % prípadov (6). Z piatich genetických podtypov JMML s NRAS mutáciou vykazuje najväčšiu klinickú diverzitu. Napriek tomu, že mnohí pacienti relabujú po HSCT, iní bez transplantácie a s pretrvávajúcou mutáciou v NRAS majú pomaly ustupujúcu chorobu (6, 12). Medzi klinické príznaky patrí mierne zvýšený HbF. Celogenómové metylačné štúdie DNA potvrdili, že pacienti s NRAS mutáciou a spontánnou regresiou majú nižšiu metylačnú hladinu (hypometyláciu) bez prítomnosti ďalších mutácií (13, 14).

JMML s mutáciou v géne KRAS

Pacienti so somatickou heterozygotnou mutáciou v géne KRAS často majú klinicky agresívnu formu myeloproliferácie. Medián veku je nižší ako u pacientov s mutáciou v géne PTPN11 alebo NF1. Približne u polovice prípadov sa zistí monozómia chromozómu 7 (6). Rovnaká genetická zmena v géne KRAS môže spôsobovať rôzne fenotypy, preto dochádza v RASopatiach a JMML k prekryvaniu klinických a laboratórnych prejavov (15).

Tabuľka 1. Súhrn genetických podtypov JMML

Somatická mutácia v PTPN11

- Fatálne ochorenie bez allogénnej HSCT
- Zvýšené riziko relapsu
- Sekundárna mutácia: získaná haploinsuficiencia génu *NF1* a mutácie v iných génoch môžu spôsobovať nepriaznivé výsledky pacientov
- Hypermetylácia s nepriaznivými klinickými výsledkami

Somatická mutácia v NRAS

- Heterogénna podskupina
- Po HSCT rýchly progres s vysokým rizikom relapsu u starších detí s vysokou hladinou HbF
- Spomalený priebeh ochorenia so spontánnou regresiou u dojčiat alebo pacientov s mutáciou p. Gly12Ser
- Možný výskyt sekundárnych mutácií s nepriaznivými výsledkami
- Hypometylácia s priaznivými klinickými výsledkami

Somatická mutácia v KRAS

- Väčšinou sa vyskytuje u dojčiat
- Často asociovaná s monozómiou chromozómu 7
- Agresívna forma MPD v čase diagnózy, ale nízke riziko relapsu po HSCT
- Možný výskyt sekundárnych mutácií s nepriaznivými výsledkami
- Stredne vysoká hladina metylácie

JMML u detí s neurofibromatózou typu 1

- Vyšší vek v čase diagnózy
- Zárodočná a somatická mutácia inkativujú gén *NF1* a spôsobuje vznik JMML
- Možný výskyt sekundárnych mutácií s nepriaznivými výsledkami
- Vyšší počet krvných doštičiek
- Vyššie percento blastov v kostnej dreni
- Fatalné následky bez allogénnej HSCT

JMML u detí so zárodočnou mutáciou v CBL

- Získaná LOH génu *CBL* v hematopoetických bunkách
- Sekundárne mutácie neboli popísané
- Potreba allogénnej HSCT je nejednoznačná
- Zmiešaný chimérizmus po allogénnej HSCT

JMML s mutáciou v géne NF1

Zárodočné mutácie v géne NF1 sú prítomné u 10 % pacientov s JMML. Incidencia JMML je 300-krát zvýšená u detí s neurofibromatózou typu 1. Gén NF1 kóduje neurofibrín (proteín aktivujúci GTPázu), ktorý je negatívnym modulátorom funkcie RAS proteínu. Stratou heterozygoty (LOH) so stratou normálnej (nepoškodenej) alely NF1 v leukemických bunkách je spojená nadmernou aktivitou RAS proteínu. Zistilo sa že u 2/3 pacientov somatická LOH je spôsobená veľkou segmentovou uniparentálnou dizómiou (UPD) chromozómu 17q, v menšej miere somatickými intersticiálnymi deléciami, zatiaľ čo 1/3 prípadov má zloženú heterozygotnú NF1-inaktivujúcu mutáciu v leukemických bunkách (6, 16). Zvieracie experimentálne modely potvrdili, že somatická inaktivácia NF1 spôsobuje myeloproliferáciu s leukocytózou a splenomegáliou, infiltrácie tkanív s myeloidnými bunkami, poškodenú apoptózu a *in vitro* hypersenzitivitu na faktory stimulujúce kolónie granulocytov a makrofágov (GM-CSF). Z čoho vyplýva, že NF1 proteín má tumorsupresorovú úlohu.

Neurofibromatóza typu 1 sa diagnostikuje podľa klinických príznakov.

Polovica pacientov má pozitívnu rodinnú anamnézu, avšak v niektorých prípadoch môže byť JMML prvým príznakom neurofibromatózy typu I (17). V porovnaní s inými podskupinami JMML pacienti s mutáciou v géne NF1 majú zvýšený počet krvných doštičiek, vyššie percento blastov v kostnej dreni a častejšie sú diagnostikovaní po veku 5 rokov (2, 6, 7).

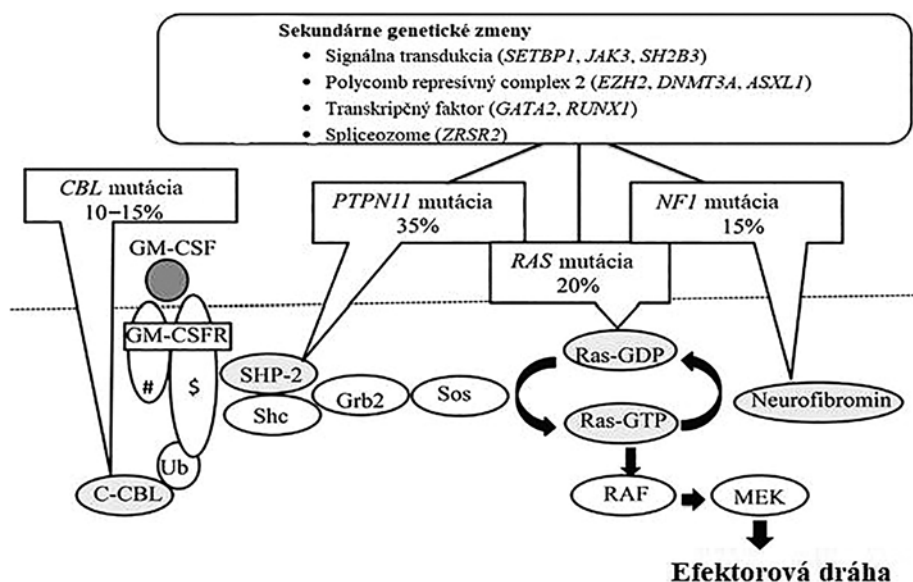
JMML s mutáciou v géne CBL

U 10 – 15 % pacientov zárodočné mutácie génu CBL spôsobujú CBL syndróm, ktorý je charakterizovaný vysokou frekvenciou neurologických príznakov, vaskulitídou, miernymi príznakmi Noonan-like syndrómu a vysokým rizikom JMML. Produkt tohto génu reguluje funkciu mnohých proteínov vrátane tyrozínkinázových receptorov. U detí s CBL syndrómom JMML sa vyvinie dôsledku LOH na CBL lokuse v hematopoetických/progenitorových bunkách. Všetky deti s JMML a CBL mutáciou majú zárodočnú missense mutáciu na jednej alele a na druhej alele získanú LOH v leukemických bunkách. V tejto skupine pacientov sekundárne genetické zmeny neboli popísané. Pacienti s CBL mutáciou majú najpriazni-

Tabuľka 2. Genotypovo-fenotypová korelácia JMML podtypov (prevzaté a prerobené od Niemeyer 2018)

		CBL (n=43)	NF1 (n=51)	PTPN11 (n=180)	KRAS (n=68)	NRAS (n=65)	P
		Medián (rozsah)					
Klinické príznaky	Vek	0,9 (0,1-5,5)	2,8 (0,3-12,3)	2,1 (0,1-16,3)	0,9 (0,1-10,0)	1,2 (0,1-13,2)	<0,01
	Mužské pohlavie (%)	56	65	60	75	74	0,07
	Veľkosť sleziny (cm)	5 (0-15)	4 (0-15)	4 (0-13)	5 (0-15)	5 (0-15)	NS
Krvný obraz	WBC (x 10 ⁹ /L)	27 (8-113)	32 (3-131)	30 (2-424)	21 (4-177)	41 (5-312)	<0,01
	Blasty (%)	0 (0-9)	2 (0-25)	2 (0-21)	2 (0-21)	2 (0-18)	<0,01
	Prekursori (%)	4 (0-42)	5 (0-31)	9,5 (0-56)	7 (0-65)	8,2 (0-45)	0,05
	Euzinofily (%)	2 (0-8)	2 (0-15)	1 (0-26)	2 (0-9)	2 (0-18)	0,01
	AMC (x 10 ⁹ /L)	4,0 (1-48)	7,6 (1-26)	4,1 (0-237)	5,6 (0-40)	6,2 (9-232)	<0,01
	Trombocyty (x 10 ⁹ /L)	92 (14-289)	129 (15-357)	50 (5-373)	42 (10-182)	60 (9-232)	<0,01
	Hemoglobín (g/100ml)	9,0 (5-13)	10,0 (4-13)	9,1 (3-13)	8,7 (4-14)	8,9 (4-13)	NS
	HbF (%)	4 (0-59)	23 (1-75)	18 (0-100)	10 (0-94)	13 (0-70)	<0,01
Kostná dreň	MP:EP	5,4 (1,1-45)	5,7 (0,4-23)	3,7 (0,1-233)	2,9 (0,3-219)	3,5 (0,5-97)	<0,01
	Blasty (%)	3 (0-20)	5 (0-27)	4 (0-34)	4 (0-20)	4 (0-20)	NS
	Euzinofily (%)	2 (0-15)	3 (0-12)	2 (0-33)	3 (0-18)	2 (0-18)	NS
Karyotyp	Normal (%)	97	77	69	40	86	<0,01
	Monozómia chr. 7 (%)	0	13	21	52	7	
	Iné aberácie (%)	3	10	10	8	7	

Analýza 407 detí diagnostikovaných v rokoch 1990 až 2018 zaregistrovaných pracovnou skupinou EWOG- MDS.

Obrázok 1. Genetické abnormality v JMML (obrázok prevzatý od Sakashita et al. 2016)

vejší klinický priebeh ochorenia zo všetkých podtypov JMML. U týchto pacientov myeloproliferácia sa môže spontánne zastaviť a v priebehu niekoľkých rokov zväčšená slezina sa môže postupne zmenšovať. Napriek tomu boli popísaní aj pacienti s progresiou choroby a relapsom po HSCT, preto je potrebné starostlivo sledovať aj pacientov s CBL mutáciou (6, 7, 18).

JMML s mutáciou v gène RRAS

U 10 % pacientov s JMML mutácia v génoch NF1, CBL, PTPN11, KRAS a NRAS sa neidentifikuje. Nedávne štúdie poukázali na to, že u niektorých negatívnych pacientov sa vyskytuje heterozygotná somatická mutácia v RRAS gène, ktorá

môže byť spúšťačom ochorenia. RRAS proteín je malá guanozíntrifosfatáza (GTPáza), ktorý vykazuje 50 % až 60 % homológiu s RAS proteínmi a je spojený s mnohými bunkovými procesmi. Deti s RRAS mutáciou majú atypický klinický priebeh s rýchlou progresiou na akútnu myeloidnú leukémiu (AML) (6, 8, 12, 19).

Chromozomálne abnormality

Približne u 25 % prípadov s JMML sa vyskytuje monozómia chromozómu 7 a v 10 % prípadov iné chromozomálne abnormality. Väčšina pacientov (65 %) v čase diagnózy má normálny karyotyp, ale po liečbe je možné u nich detegovať prítomnosť chromozomálnych aberácií

(5, 7). Matsuda et al. (20) pomocou FISH metódy zistili, že abnormálny klon je už v čase diagnózy prítomný subklonálne v 5 % buniek kostnej drene u všetkých pacientov, ktorí mali pôvodne normálny karyotyp, ale získané chromozomálne abnormality sa objavili 1 – 14 mesiacov po liečbe s 6-merkaptopurínom (6MP). Monitorovanie karyotypu je dôležité aj po stanovení diagnózy, najmä po liečbe, pretože zmena karyotypu je pravdepodobne spojená s progresiou ochorenia (20).

Sekundárne genetické zmeny

Štúdie zaoberajúce sa zmapovaním somatických mutácií u pacientov s JMML zistili, že priemerný počet mutácií na jednu vzorku je extrémne nízky (menej ako 0,5 mutácie /Mb), čo znamená to, že 1 mutácia je postačujúca na spúšťanie onkogenézy v JMML. Sekundárne klonálne abnormality boli detegované v známych onkogénoch a tumorsupresorových génoch u polovice pacientov s primárnou mutáciou v RAS signálnej dráhe (6, 12, 14).

Zistilo sa, že v čase diagnózy približne 10 – 15 % detí malo dve mutácie v génoch zapojených v RAS signálnej dráhe. Najčastejšou sekundárnou mutáciou je získaná haploinsuficiencia génu NF1 u pacientov s PTPN11 mutáciou, zatiaľ čo sekundárne mutácie NRAS, KRAS a CBL boli identifikované vo všetkých podtypoch okrem podskupiny s CBL mutáciou (6, 12, 14). Duplikácie v génoch NRAS a KRAS sú spôsobené získanou UPD, kto-

ré sú spojené s agresívnou transformáciou JMML (6, 21).

Približne u 15 % pacientov s JMML identifikovali mutácie v génoch *EZH2*, *ASXL1* a v epigenetických modulátoroch ako *DNMT3A*. Bodové mutácie v *EZH2* sa vyskytovali u pacientov s monozómiou chromozómu 7 (14, 22). V 10 % prípadov odhalili zmeny v géne *JAK3*, v 7 – 9 % prípadov detegovali malé subklonálne zmeny v géne *SETBP1* (6, 12, 14). Pacienti so sekundárnymi mutáciami v uvedených génoch mali vyššie riziko progresie a nepriaznivých výsledkov. Miera 5-ročného prežívania bez udalosti (EFS) je 18 % u pacientov s mutáciou *SETBP1*, kým pacienti bez mutácie majú 51 % šancu (5, 12, 23). V zriedkavých prípadoch boli popísané sekundárne mutácie aj v génoch *ZRSR2*, *SF3B1*, *U2AF1* a *SRSF2* (5, 6, 12, 14). Podľa najnovších štúdií sekundárne mutácie v čase diagnózy sa nachádzajú iba v niektorých subklonoch, ktoré sa v čase relapsu rozširujú (8, 23).

Epigenetické zmeny v JMML

Štúdie zaoberajúce sa s vyšším metylačným profilom kandidátnych génov a metylómu preukázali, že hypermetylácia súvisí s nepriaznivými klinickými výsledkami pacientov. Po porovnaní celogenómových metylačných profilov s fenotypom a genotypom pacientov zistili nielen súvislosť medzi rozdielnymi metylačnými hladinami, ale aj ich úlohu ako prediktorov relapsu po HSCT. Skupina pacientov s vysokou hladinou metylácie bola charakterizovaná somatickými mutáciami v géne *PTPN11* a nepriaznivými klinickými výsledkami. Zistila sa aj silná korelácia s klasickými parametrami ako zvýšený vek a zvýšená hladina HbF, ktoré predikujú agresívny priebeh ochorenia. V skupine pacientov so stredne vysokou metylačnou hladinou prevládali somatické mutácie *KRAS* a monozómia chromozómu 7. V prípade nízkej metylačnej hladiny sa potvrdila súvislosť so somatickými mutáciami v géne *NRAS* a *CBL* a priaznivými klinickými výsledkami pacientov (6, 13). Pravdepodobnosť 5-ročného prežívania u pacientov s nízkou hladinou metylácie bola 72 % a 41 % u pacientov s vysokou hladinou metylácie. Kumulatívna incidencia relapsu po HSCT u pacientov s vysokou

Tabuľka 3. Diagnostické kritériá JMML (prevzaté a prerobené podľa Arber et al. 2016, Koegel and Stieglitz, 2017)

I. Klinické a hematologické príznaky (všetky 4 musí splňať)	II. Genetické vyšetrenia (1 musí splňať)	III. Pacienti bez genetických zmien, ale s klinickými a hematologickými príznakmi
<ul style="list-style-type: none"> • počet monocytov v PK $> 1 \times 10^9/L$ • % blastov v PK a KD $< 20\%$ • splenomegália • absencia prestavby <i>BCR/ABL1</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • somatické mutácie v <i>PTPN11</i>* / <i>KRAS</i>*/ <i>NRAS</i>* • klinická diagnóza NF typu 1 alebo mutácia v <i>NF1</i> • zárodočná mutácia v <i>CBL</i> alebo LOH v <i>CBL</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • monozómia chr. 7 / iné chromozomálne abnormality / aspoň 2 z nasledujúcich kritérií: • zvýšený HbF pre vek • myeloid/erytroidné prekurzory v nátere PK • hypersenzitivita na GM-CSF • hyperfosforylácia STAT5

*zárodočné mutácie (vrátane Noonanovej syndrómu) musia byť vylúčené
 Vysvetlivky: PK – periférna krv, KD – kostná dreň, NF1 – neurofibromatóza typu 1, LOH – strata heterozygoty, HbF – fetálny hemoglobín, GM-CSF – faktory stimulujúce kolónie granulocytov a makrofágov

hladinou metylácie bola vyššia (52 %) oproti pacientom s nízkou hladinou metylácie (10 %). Zistilo sa, že metylačné poruchy neovplyvňujú priebeh ochorenia (nie sú náhodnými udalosťami počas transformácie buniek), ale s väčšou pravdepodobnosťou sú integrálnou súčasťou špecifického fenotypu nádoru (8).

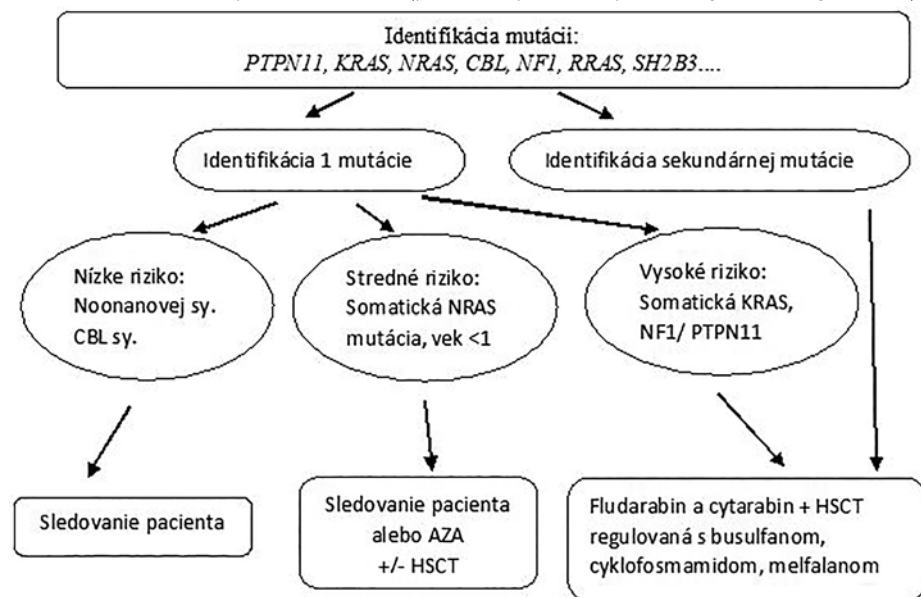
JMML u pacientov s Noonanovej syndrómom

Zárodočné mutácie v RAS signálnej dráhe, ktoré spôsobujú dysreguláciu dráhy, môžu viesť k vyvinutiu vývojových porúch tzv. RASopatiám. Tieto ochorenia majú spoločné klinické vlastnosti, ako napr. dysmorfizmus tváre, poruchy srdca, znížený vzrast a rôzne iné orgánové abnormality. Noonanovej syndróm (NS) je geneticky najrozmanitejšia a najbežnejšia RASopatia vyskytujúca sa u 1 z 1 000 až 2 000 živonarodených detí. Heterozygotné zárodočné mutácie v géne *PTPN11* tvoria jednu polovicu prípadov, kým mutácie v iných génoch (*SOS1*, *RAF1*, *RIT1*, *KRAS*) RAS signálnej dráhy sú menej časté. Pacienti s NS majú zvýšene riziko na vznik JMML (6, 24). U 5 % novorodencov a dojčiat s NS sa vyvinie MPD s hepatosplenomegáliou, leukocytózou a zvýšeným počtom blastov v krvi a kostnej drene, ktoré sa podobá fenotypu JMML. U väčšiny detí s NS, oproti pacientom s JMML, MPD je benígna a pomaly ustupuje. V niektorých prípadoch u detí s vážnymi srdcovými chorobami, respiračným zlyhaním a MPD, krátky priebeh miernej cytoredukčnej terapie (6MP) môže zmierniť škodlivé účinky tkaninovej invázie abnormálnymi myeloidnými bunkami (6).

Diagnostika, riziková stratifikácia pacientov a liečebné možnosti

Diagnostické kritériá pre JMML zahŕňajú kombináciu klinických, laboratórnych a cytogenetických/genetických výsledkov (25). (tabuľka 3) Pacienti, ktorí spĺňajú diagnostické kritériá, sú stratifikovaní na základe veku, genetickej mutácie a podľa prítomnosti sekundárnych genetických zmien vrátane monozómie chromozómu 7 (obrázok 2). Vzhľadom na zvýšený výskyt spontánnej regresie u pacientov s *CBL* syndrómom sú pacienti iba sledovaní. Pacienti s *NRAS* mutáciou, najmä dojčatá bez sekundárnych genetických zmien, musia byť sledovaní na príznaky spontánnej regresie alebo liečení menej intenzívnou chemoterapiou. Podľa mnohých kazuistik azacitidín (AZA) môže byť vhodnou liečebnou možnosťou v tejto skupine pacientov (25). AZA je inhibítorom DNA metyltransferázy spôsobujúci hypometyláciu DNA, ktorý sa používa aj v liečbe MDS (4, 27). U ostatných pacientov súčasná terapia na odstránenie patologického klonu pozostáva z alogénnej HSCT s myeloablatívnou kondíciou vrátane troch alkylačných činidiel (obrázok 2), ktorá umožňuje vyliečenie 50 % pacientov s JMML. Najzávažnejšou príčinou zlyhania liečby je relaps ochorenia s kumulatívnou incidenciou až 35 %. Nedávne štúdie poukázali na to, že súčasná liečba s cytoredukčnou terapiou na zmiernenie klinických príznakov pred HSCT dlhodobé výsledky pacientov nezlepšuje (4).

Nové poznatky o molekulovej a epigenetickej patogeneze JMML priniesli aj nové liečebné možnosti. Jeden z nich je už spomenutý AZA. V skupine novodia-

Obrázok 2. Stratifikácia pacientov s JMML (prevzaté a prerobené podľa Koegel and Stieglitz, 2017)

Vysvetlivky: sy. – syndróm, AZA – azacitidín, HSCT – alogénna transplantácia hematopoetických kmeňových buniek

gnostikovaných a relabovaných pacientov liečených s AZA pred HSCT klinické štúdie (EudraCT Number 2014-002388-13, EudraCT number 2010-022235-10) pozorovali nielen priaznivé klinické odpovede, ale aj remisiu na cytogenetickej a genetickej úrovni (4, 8, 26). Druhou liečebnou možnosťou môže byť cieľná terapia inhibítorom MEK efektorovej dráhy. Súčasné štúdie (NCT 03190915) skúmajú efektívnosť perorálneho podávania trametinibu u pacientov s relapsom a refraktérnou JMML (6, 8). Vzhľadom na to, že JMML je mimoriadne zriedkavé ochorenie a pozostáva z odlišných genetických podskupín, jedinou možnosťou pri identifikácii optimálnej liečby je spolupráca na medzinárodnej úrovni. Algoritmus na stratifikáciu rizika založený na detekcii molekulových a epigenetických markerov by mohol prispievať k predikcii odlišných výsledkov a mohol by viesť aj k efektívnej liečebnej starostlivosti jednotlivých pacientov s JMML.

Záver

Prítomnosť mutácie v RAS signálnej dráhe v 90 % prípadov jednoznačne uľahčí diagnostiku JMML. Vzhľadom na to, že RAS mutácie môžu vzniknúť v somatických alebo zárodočných bunkách, analýza DNA z nehmatopoetických buniek (folikuly vlasov alebo bukálny ster) je odporúčaná u všetkých pacientov na rozlíšenie syndrómovej a nesyndrómovej JMML. Vďaka novým genomickým technológiám boli nedávno odhalené nové gene-

tické a epigenetické zmeny, ktoré môžu byť vhodnými prediktormi prognózy. Overenie vhodného liečebného režimu po diagnóze a pred HSCT v súčasnosti prebiehajú v medzinárodných klinických štúdiách. Nové poznatky na poli genetiky naznačujú, že integrácia genetických a/alebo epigenetických zmien do stratifikácie rizika a výber vhodnej pre- a post HSCT liečby môžu znížiť nežiaduce účinky súčasnej liečby a priniesť ďalšie zlepšenie výsledkov pacientov v blízkej budúcnosti.

Literatúra

- Niemeyer CM, Kratz CP. Paediatric myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia: molecular classification and treatment options. *Br J Haematol.* 2008;140(6):610-624.
- Hasle H, Niemeyer CM, Chessells JM, et al. A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia.* 2003;17(2):277-282.
- Hasle H, Kerndrup G, Jacobsen BB. Childhood myelodysplastic syndrome in Denmark: incidence and predisposing conditions. *Leukemia.* 1995;9(9):1569-1572.
- Fabri O, Horakova J, Svec P, et al. Diagnosis and treatment of juvenile myelomonocytic leukemia in Slovak Republic: novel approaches. *Neoplasma.* 2019. 10.4149/neo_2018_181231N1009.
- Sakashita K, Matsuda K, Koike K. Diagnosis and treatment of juvenile myelomonocytic leukemia. *Pediatr Int.* 2016;58(8):681-690.
- Niemeyer CM. JMML genomics and decisions. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2018;2018(1):307-312.
- Niemeyer CM, Arico M, Basso G, et al. Chronic myelomonocytic leukemia in childhood: a retrospective analysis of 110 cases. *European Working Group on Myelodysplastic Syndromes in Childhood (EWOG-MDS).* *Blood.* 1997;89(10):3534-3543.
- Niemeyer CM, Flotho C. Juvenile myelomonocytic leukemia: who's the driver at the wheel?. *Blood.* 2019;133(10):1060-1070.
- Flotho C, Kratz C, Niemeyer CM. Targeting RAS signalling pathways in juvenile myelomonocytic leukemia. *Current Drug Targets.* 2007;8(6):715-725.

- Tartaglia M, Niemeyer CM, Fragale A, et al. Somatic mutations in PTPN11 in juvenile myelomonocytic leukemia, myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Nat Genet.* 2003;34(2):148-150.
- Yabe M, Ohtsuka Y, Watanabe K, et al. Transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective study of 30 children treated with a regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan. *Int J Hematol.* 2015;101(2):184-190.
- Stieglitz E, Taylor-Weiner AN, Chang TY, et al. The genomic landscape of juvenile myelomonocytic leukemia [published correction appears in *Nat Genet.* 2015 Nov;47(11):1333] [published correction appears in *Nat Genet.* 2016 Jan;48(1):101]. *Nat Genet.* 2015;47(11):1326-1333.
- Lipka DB, Witte T, Toth R, et al. RAS-pathway mutation patterns define epigenetic subclasses in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Commun.* 2017;8(1):2126. Published 2017 Dec 19. doi:10.1038/s41467-017-02177-w
- Murakami N, Okuno Y, Yoshida K, et al. Integrated molecular profiling of juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood.* 2018;131(14):1576-1586.
- Calvo KR, Price S, Braylan RC, et al. JMML and RALD (RAS-associated autoimmune leukoproliferative disorder): common genetic etiology yet clinically distinct entities. *Blood.* 2015;125(18):2753-2758.
- Steinemann D, Arning L, Praulich I, et al. Mitotic recombination and compound-heterozygous mutations are predominant NF1-inactivating mechanisms in children with juvenile myelomonocytic leukemia and neurofibromatosis type 1. *Haematologica.* 2010;95(2):320-323.
- Le DT, Kong N, Zhu Y, et al. Somatic inactivation of Nf1 in hematopoietic cells results in a progressive myeloproliferative disorder. *Blood.* 2004;103(11):4243-4250.
- Niemeyer CM, Kang MW, Shin DH, et al. Germline CBL mutations cause developmental abnormalities and predispose to juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet.* 2010;42(9):794-800.
- Flex E, Jaiswal M, Pantaleoni F, et al. Activating mutations in RRAS underlie a phenotype within the RASopathy spectrum and contribute to leukaemogenesis. *Hum Mol Genet.* 2014;23(16):4315-4327.
- Matsuda K, Matsuzaki S, Miki J, et al. Chromosomal change during 6-mercaptopurine (6-MP) therapy in juvenile myelomonocytic leukemia: the growth of a 6-MP-refractory clone that already exists at onset. *Leukemia.* 2006;20(3):485-490.
- Osumi T, Kato M, Ouchi-Uchiyama M, et al. Blastic transformation of juvenile myelomonocytic leukemia caused by the copy number gain of oncogenic KRAS. *Pediatr Blood Cancer.* 2017;64(9):10.1002/pbc.26496.
- Sugimoto Y, Muramatsu H, Makishima H, et al. Spectrum of molecular defects in juvenile myelomonocytic leukaemia includes ASXL1 mutations. *Br J Haematol.* 2010;150(1):83-87.
- Stieglitz E, Troup CB, Gelston LC, et al. Subclonal mutations in SETBP1 confer a poor prognosis in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood.* 2015;125(3):516-524.
- Strullu M, Caye A, Lachenaud J, et al. Juvenile myelomonocytic leukaemia and Noonan syndrome. *J Med Genet.* 2014;51(10):689-697.
- Koegel A and Stieglitz E. A risk stratified treatment algorithm for patients with juvenile myelomonocytic leukemia. *The Hematologist.* 2017;14(2)
- Cseh A, Niemeyer CM, Yoshimi A, et al. Bridging to transplant with azacitidine in juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of the EWOG-MDS study group. *Blood.* 2015;125(14):2311-2313.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127(20):2391-2405.

Mgr. Anita Vaská, PhD.

Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky
Detskej kliniky LF UK a NÚDCH
Limbova 1, 831 03 Bratislava
anitavaska@gmail.com