



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**  
**« ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΘΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ**  
**ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ »**

**ΠΟΛΥΞΕΝΗ ΧΑΤΖΟΠΟΥΛΟΥ**

**ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ - ΠΑΙΔΟΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ, 2022**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΑ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Επιβλέπουσα**

**ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Συνεπιβλέπουσα**

**ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Μέλος**



**UNIVERSITY OF THESSALY**  
**SCHOOL OF HEALTH SCIENCES**  
**FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM**  
**“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”**

**MASTER’S THESIS**  
**«GENETIC MARKERS IN PEDIATRIC ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA»**

**POLYXENI CHATZOPOULOU**

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Με την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη και τις ευχαριστίες μου στην επιβλέπουσά μου κυρία Ιωάννα Παπαθανασίου για την άμεση ανταπόκρισή της και την πολύτιμη καθοδήγηση της, στην καθηγήτρια κυρία Ασπασία Τσέζου που μου έδωσε την δυνατότητα συμμετοχής στο εξαιρετικά ενδιαφέρον αυτό μεταπτυχιακό πρόγραμμα και όλους τους διδάσκοντες για τον χρόνο που αφιέρωσαν σε αυτό. Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα επίσης να εκφράσω στην οικογένεια μου που μου έδωσε όλα τα απαραίτητα εφόδια και την αγάπη για να εξελιχθώ στην ζωή μου, τον άντρα μου και τον υιό μου για την υπομονή τους και την παρουσία τους που μου δίνει την δύναμη να προχωράω πάντα μπροστά.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	<b>4</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ</b>	<b>5</b>
<b>A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>6</b>
<b>A1. Επιδημιολογία</b>	<b>6</b>
<b>A2. Αίτια – Παράγοντες κινδύνου</b>	<b>7</b>
<b>A3. Ταξινόμηση</b>	<b>8</b>
<b>A4. Κλινική εικόνα</b>	<b>11</b>
<b>A5. Διάγνωση</b>	<b>12</b>
<b>A6. Διαφορική Διάγνωση</b>	<b>10</b>
<b>A7. Προγνωστικοί δείκτες</b>	<b>14</b>
<b>A8. Θεραπεία</b>	<b>16</b>
<b>B. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ</b>	<b>18</b>
<b>B1. Γενετικοί δείκτες στην ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας</b>	<b>19</b>
<b>B2.1 Αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες</b>	<b>22</b>
<b>B2.2 Δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες</b>	<b>25</b>
<b>B2.3 Αναδιατάξεις και διαγραφές γονιδίων</b>	<b>31</b>
<b>Γ. ΝΕΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΟΛΛ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ</b>	<b>39</b>
<b>Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>40</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) αποτελεί με ποσοστό 25-30% την συχνότερη κακοήθεια της παιδικής ηλικίας. Πλέον χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου αποτελούν οι γενετικές ανωμαλίες. Η ανίχνευση των γενετικών αυτών αλλαγών με την ανάπτυξη και εφαρμογή ολοένα και πιο σύγχρονων μεθόδων υψηλής διακριτικότητας, όπως η αλληλούχιση νέας γενιάς, επέτρεψε την ιχνηλάτηση των γενετικών βλαβών σε επίπεδο κυττάρου και οδήγησε όχι μόνο σε μια πιο ακριβή ταξινόμηση της νόσου αλλά καθιέρωσε τις γενετικές αλλαγές σαν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη. Επιπλέον, κατέστη δυνατή η εφαρμογή στοχευμένης εξατομικευμένης θεραπείας με άμεσο αντίκτυπο στην έκβαση της νόσου. Έτσι σήμερα η επιβίωση της παιδικής οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας ξεπερνά το 90%. Η παρούσα διπλωματική αποτελεί μια συστηματική ανασκόπηση των γνωστών γενετικών δεικτών που σχετίζονται με την παιδική οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία και της εφαρμογής τους στην κλινική πράξη.

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΑΓΓΛΙΚΑ (Abstract)**

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common cancer in the pediatric population, accounting for about 25-30% of malignant diseases. It is defined by a wide spectrum of genetic alterations. The development and use of high resolution technologies, such as next-generation sequencing enabled the detection of these genetic abnormalities and led to an accurate classification of the disease, even more, genetic alterations are now established as an independent prognostic indicator of ALL. In addition, targeted personalized therapy was developed with a direct impact on disease outcome. So today the survival of childhood acute lymphoblastic leukemia exceeds 90%. This dissertation is a systematic review of known genetic markers related to childhood acute lymphoblastic leukemia and their application in clinical practice.

## **A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) αποτελεί νόσο του αιμοποιητικού συστήματος που προκύπτει από κακοήγη εξαλλαγή κυττάρων του μυελού κατά την διαδικασία της ανάπτυξης του πολυδύναμου αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου. Χαρακτηρίζεται από αναστολή της διαφοροποίησης, διαταραχή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση) και συσσώρευση ανώριμων αιμοποιητικών κυττάρων (λεμφοβλάστες) με απώτερη συνέπεια την έκπτωση της λειτουργίας του μυελού των οστών. (Baird and Wayne 2009)

### **A1. Επιδημιολογία**

Η ΟΛΛ αποτελεί με ποσοστό 25-30% την συχνότερη κακοήθεια στην παιδική ηλικία (Pui *et al.* 2004). Μεταξύ των διαφόρων μορφών λευχαιμίας κατατάσσεται πρώτη με ποσοστό 80-85%, με δεύτερη την οξεία μυελογενή λευχαιμία με 15-20% και τρίτη την πιο σπάνια χρόνια μυελογενή λευχαιμία με παρουσία του χρωμοσώματος της Φιλαδέλφειας με ποσοστό περίπου 2-5% (Pui *et al.* 2006).

Η συχνότητα της ΟΛΛ στη Δυτική Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική είναι 3 έως 4 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους ηλικίας κάτω των 15 ετών. Σημαντικές διακυμάνσεις στην συχνότητα δεν έχουν παρατηρηθεί τις τελευταίες δεκαετίες, τα ποσοστά ποικίλλουν όχι μόνο μεταξύ δυτικών και αναπτυσσόμενων χωρών, αλλά και ανάλογα με την εθνότητα σε μεμονωμένες χώρες, αφού για παράδειγμα, στις ΗΠΑ, οι Καυκάσιοι επηρεάζονται συχνότερα από τους Αφροαμερικανούς (Stanulla *et al.* 2012).

Η ΟΛΛ εμφανίζεται σε οποιαδήποτε ηλικία - με κορύφωση μεταξύ των 2 με 5 ετών, η αναλογία μεταξύ αγοριών και κοριτσιών είναι 1,2:1. Στα αγόρια παρατηρείται συχνότερα η Τ-ΟΛΛ, ενώ στα βρέφη με ΟΛΛ κυριαρχεί το γυναικείο φύλο (Pui *et al.* 2004, Pieters 2009).

## A2. Αίτια – Παράγοντες κινδύνου

Τα τελευταία 10 χρόνια τα δεδομένα σχετικά με την αιτιολογία της ΟΛΛ αυξήθηκαν ραγδαία. Συγκεκριμένα, οι γενετικοί παράγοντες θεωρείται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην αιτιολογία της ΟΛΛ. Μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι για την πλειονότητα των περιπτώσεων πιθανή αιτία αποτελούν αυτόματες σωματικές μεταλλάξεις ή προυπάρχουσες μεταλλάξεις της βλαστικής σειράς. Τα σημαντικότερα γονίδια που εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου είναι τα γονίδια *IKZF1*, *ARIDB5*, *CEBPE*, *CDKN2A*, *GATA3* και *PIP4K2A* (Schrappe *et al.*, 2018).

Παράλληλα αυξάνουν οι ενδείξεις, για ορισμένους σημαντικούς υποτύπους της ΟΛΛ, ότι χρωμοσωμικές μεταθέσεις που εντοπίζονται αργότερα σε παιδιά με λευχαιμία υπάρχουν ήδη πριν από την γέννηση (Gale *et al.*, 1997, Wiemels *et al.*, 1999). Δεδομένου βέβαια ότι η επίπτωση της λευχαιμίας είναι πολύ χαμηλότερη από την ανίχνευση γενετικών αλλαγών σε υγιή νεογνά, θεωρείται πιθανόν ότι και μετέπειτα συμβάντα στην πορεία της ζωής ενός παιδιού συμβάλλουν στην ανάπτυξη λευχαιμίας (Mori *et al.*, 2002).

Αν και η εκδήλωση λευχαιμίας σε μονοζυγωτικούς διδύμους ενισχύει το ρόλο των γενετικών παραγόντων στη νόσο, ακόμη δεν επιβεβαιώνεται η παρουσία γενετικής προδιάθεσης. Η εκδήλωση οξείας λευχαιμίας σε μονοζυγωτικούς διδύμους υπολογίζεται στο 10- 20% φαίνεται όμως να οφείλεται σε ενδομήτρια εμβρυοεμβρυική μετάγγιση πρόδρομων λευχαιμικών κυττάρων (Greaves *et al.*, 2003).

Σύνδρομα που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΟΛΛ είναι η τρισωμία 21 (20 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης λευχαιμίας) (Hasle *et al.*, 2000), η αναιμία Fanconi (Alter, 2003), το σύνδρομο Bloom (Flanagan and Cunniff, 2019), η αταξία τηλαγγειεκτασία (Morell *et al.*, 1986), το σύνδρομο Li-Fraumeni (Bougeard *et al.*, 2015), η Νευροινωμάτωση τύπου I (Stiller *et al.*, 1994) και το σύνδρομο Nijmegen Breakage (Pastorcak *et al.*, 2011).

Ο βαθμός στον οποίο οι περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στη λευχαιμογένεση είναι ασαφής. Η μόνη επιβεβαιωμένη συσχέτιση που υπάρχει, είναι με το αυξημένο βάρος γέννησης αν και ο μηχανισμός παραμένει άγνωστος (Hjalgrim *et al.*, 2003). Η έκθεση στην ιονίζουσα ακτινοβολία, η επίδραση ηλεκτρομαγνητικών πεδίων, χημικές ουσίες όπως το βενζόλιο (βενζόλιο), οι ιογενείς λοιμώξεις που οδηγούν σε εξασθενημένη ανοσολογική, η διατροφή (αναστολείς τοποϊσομεράσης II σε φρούτα και λαχανικά) και η χρόνια κατάχρηση νικοτίνης στη μητέρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης βρίσκονται υπό συζήτηση, αλλά δεν έχουν αποδειχθεί.



### A3. Ταξινόμηση

Η ταξινόμηση της ΟΛΛ βασίζεται σε μορφολογικούς, ανοσολογικούς, κυτταροχημικούς και κυτταρογενετικούς παράγοντες. Μορφολογικά έχει επικρατήσει το σύστημα FAB (French-American-British), γνωστό ως, Γάλλο-Αμερικανικό-Βρετανικό“ (Bennett *et al.*, 1976), που διαχωρίζει τους λεμφοβλάστες σε τρεις μορφολογικούς τύπους L1, L2 και L3, τα χαρακτηριστικά των οποίων καταγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

<i>Cytological features</i>	<i>L1</i>	<i>L2</i>	<i>L3</i>
Cell size	Small cells predominate	Large, heterogeneous in size	Large and homogeneous
Nuclear chromatin	Homogeneous in any one case	Variable—heterogeneous in any one case	Finely stippled and homogeneous
Nuclear shape	Regular, occasional clefting or indentation	Irregular; clefting and indentation common	Regular—oval to round
Nucleoli	Not visible, or small and inconspicuous	One or more present, often large	Prominent; one or more vesicular
Amount of cytoplasm	Scanty	Variable; often moderately abundant	Moderately abundant
Basophilia of cytoplasm	Slight or moderate, rarely intense	Variable; deep in some	Very deep
Cytoplasmic vacuolation	Variable	Variable	Often prominent

Πίνακας 1. Ταξινόμηση κατά FAB. Κυτταρολογικά χαρακτηριστικά. Bennett *et al.*, 1976

Συχνότερος είναι ο μορφολογικός τύπος L1 και εμφανίζεται στο 85% των παιδιών με ΟΛΛ. Ακολουθεί ο L2 στο 14% των παιδιατρικών ασθενών και ο L3 με ποσοστό 1%. Η L1 μορφολογία παρουσιάζει τα μεγαλύτερα ποσοστά ύφεσης και επιβίωσης ελεύθερης νόσου ανεξάρτητα από άλλους προγνωστικούς παράγοντες. Οι ασθενείς με μορφολογία L3 έχουν συγκριτικά τη χειρότερη πρόγνωση. Άλλη παγκοσμίως αποδεκτή ταξινόμηση είναι εκείνη του παγκόσμιου οργανισμού υγείας (ΠΟΥ) που επικαιροποιήθηκε το 2016 ενσωματώνοντας μορφολογικά, βιολογικά και γενετικά χαρακτηριστικά (Arber *et al.*, 2016).

## B-lymphoblastic leukemia/lymphoma

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, NOS

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34.1;q11.2); *BCR-ABL1*

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(v;11q23.3); *KMT2A* rearranged

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(12;21)(p13.2;q22.1); *ETV6-RUNX1*

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hyperdiploidy

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hypodiploidy

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(5;14)(q31.1;q32.3) *IL3-IGH*

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3); *TCF3-PBX1*

Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, *BCR-ABL1*-like

Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with *iAMP21*

## T-lymphoblastic leukemia/lymphoma

Provisional entity: Early T-cell precursor lymphoblastic leukemia

Provisional entity: Natural killer (NK) cell lymphoblastic leukemia/lymphoma

Πίνακας 2. Ταξινόμηση της οξείας λεμφογενούς λευχαιμίας, (Arber *et al.*, 2016)

Η ταξινόμηση όμως που έχει επικρατήσει τα τελευταία χρόνια είναι αυτή που βασίζεται στον ανοσοφαινότυπο. Ο καθορισμός του ανοσοφαινότυπου των λεμφοβλαστών με βάση συγκεκριμένες πρωτεΐνες στην επιφάνεια των λευχαιμικών κυττάρων που αναφέρονται ως CDs (Clusters of differentiation) με χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων, αποτελεί βασικό εργαλείο για στον ακριβή προσδιορισμό του υποτύπου της λευχαιμίας με σημαντική προγνωστική αξία. Στην Ευρώπη, η ταξινόμηση EGIL (Ευρωπαϊκή Ομάδα για την Ανοσολογική Ταξινόμηση των Λευχαιμιών) είναι η πιο διαδεδομένη (Bene *et al.* 1995).

### Classification of acute lymphoblastic leukemia (ALL)

- |    |  |   |
|----|--|---|
| 1. | B lineage ALL <sup>a</sup> (CD19+ and/or CD79a+ and/or CD22+):           |   |
|    | pro-B-ALL (B-I) (no expression of other differentiation B-cell antigens) |   |
|    | common all (B-II)  | CD10+                                   |
|    | pre-B-ALL (B-III)  | Cytoplasmic IgM+                        |
|    | mature B-ALL (B-IV)  | Cytoplasmic or surface kappa or lambda+ |
| 2. | T lineage ALL <sup>b</sup> (cytoplasmic/membrane CD3+):                  |   |
|    | pro-T-ALL (T-I)  | CD7+                                    |
|    | pre-T-ALL (T-II)   | CD2+ and/or CD5+ and/or CD8+            |
|    | cortical-T-ALL (T-III)   | CD1a+                                   |
|    | mature-T-ALL (T-IV)  | membrane CD3+, CD1a-                    |
|    | $\alpha/\beta$ + T-ALL (group a)   | anti-TCR $\alpha/\beta$ +               |
|    | $\gamma/\delta$ + T-ALL (group b)  | anti-TCR $\gamma/\delta$ +              |
| 3. | ALL with myeloid antigen expression (My + ALL) (see text)                |   |

<sup>a</sup>Positive at least with two of the three markers. Most cases are TdT+, HLA-DR+ except B-IV which often is TdT-.

<sup>b</sup>Most cases are TdT+, HLA-DR-, CD34- but these markers are not considered for diagnosis or disease classification

Πίνακας 3. Η ταξινόμηση EGIL (Ευρωπαϊκή Ομάδα για την Ανοσολογική Ταξινόμηση των Λευχαιμιών) (Bene *et al.*, 1995)

Παρόλο που όλοι οι υπότυποι της λευχαιμίας αντιστοιχούν σε διαφορετικά στάδια ωρίμανσης των λεμφοκυττάρων, ορισμένοι λεμφοβλάστες παρουσιάζουν ανώμαλη αντιγονική έκφραση. Ως εκ τούτου, απαιτείται μια ομάδα αντισωμάτων (panel) για την διάγνωση και για τη διάκριση του ανοσολογικού προφίλ των διαφορετικών λευχαιμικών κυττάρων (Thiel, 1985). Ο συνδυασμός των μονοκλωνικών αντισωμάτων θα πρέπει να περιλαμβάνει έναν δείκτη πρώτης γραμμής ειδικό για κάθε κυτταρική σειρά, όπως ο CD19 που εκφράζεται κυρίως στην B- σειρά και ο cCD3 στην T- σειρά. Ειδικοί δείκτες της μυελικής σειράς είναι η μυελοϋπεροξειδάση ή δείκτες μονοκυτταρικής διαφοροποίησης όπως η μη ειδική εστεράση, το CD11c, CD14, CD64 και η λυσοζύμη. Εκτός όμως από τους δείκτες αυτούς υπάρχουν και άλλοι όπως το κυτταροπλασματικό CD79α, CD22 και CD10 για την B σειρά, το επιφανειακό CD3 CD7, και CD5 για την T σειρά και ο CD13 και CD33 για την μυελική σειρά που συμβάλλουν στην διάκριση πιο επιπλεγμένων ανοσοφαινοτύπων στα διάφορα στάδια της λεμφικής διαφοροποίησης. (William L. Carroll and Teena Bhatla, 2000).

Χάρη στην συνεχή εξέλιξη των μεθόδων ανάλυσης των χρωμοσωμάτων (χρώση ζώνης) και την εισαγωγή μοριακών τεχνικών στη γενετική διάγνωση λευχαιμιών, όπως ο φθορίζων *in situ* υβριδισμός (FISH) ή η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) περιγράφηκε ένας αριθμός χρωμοσωμικών ανωμαλιών, πολλές απ' τις οποίες είναι πολύ τυπικές για ορισμένες μορφές λευχαιμίας (Pui *et al.* 2004). Έτσι αναπτύχθηκε ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για την ταξινόμηση και διάγνωση της λευχαιμίας με σημαντική προγνωστική αξία ανάλογα με τον υπότυπο της λευχαιμίας.

Πιο συχνά εντοπίζονται αμοιβαίες μεταθέσεις, σημαντικότερες απ' τις οποίες είναι οι t(12;21), t(1;19), t(4;11) και t(9;22). Ιδιαίτερης προγνωστικής σημασίας είναι η t(9;22) (*BCR-ABL1*, χρωμόσωμα Philadelphia) και t(4;11) (*MLL-AF4*), η παρουσία των οποίων πληροί τις προϋποθέσεις για θεραπεία υψηλού κινδύνου, συμπεριλαμβανομένης πιθανής αλλογενούς μεταμόσχευσης μυελού (Mann *et al.*, 2007, Pieters, 2009, Biondi *et al.*, 2012).

Μεταξύ των αριθμητικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών οι υπερδιπλοειδίες με 51 έως 65 χρωμοσώματα αντιπροσωπεύουν το 25% των προδρομικών Β ΟΛΛ και έχουν ευνοϊκή πρόγνωση, ενώ η υποδιπλοειδής ΟΛΛ (<45 χρωμοσώματα) παρουσιάζει μέτρια έκβαση και ταξινομείται ως υψηλού κινδύνου (Moorman *et al.*, 2003, Nachman *et al.*, 2007).

#### A4. Κλινική εικόνα

Το ιστορικό των παιδιών με ΟΛΛ είναι συνήθως σύντομο και κυμαίνεται από μερικές ημέρες έως μερικές εβδομάδες. Ωστόσο, υπάρχουν περιπτώσεις με διάχυτο ασαφή μεταβαλλόμενο πόνο, προοδευτική αδυναμία, καταβολή και εμπύρετο που διαρκεί μερικούς μήνες. Η κλινική αυτή εικόνα χαρακτηρίζει συνήθως τους ασθενείς στην πρώιμη φάση στην οποία οι λεμφοβλάστες περιορίζονται ακόμη στον μυελό των οστών και δεν έχουν εξέλθει στην κυκλοφορία του αίματος ή κυκλοφορούν ήδη στο αίμα αλλά σε περιορισμένο αριθμό (Schrappe *et al.*, 2018).

Τα σημεία και τα συμπτώματα που παρουσιάζουν τα παιδιά με λευχαιμία οφείλονται στην διήθηση του μυελού των οστών και των άλλων οργάνων από λεμφοβλάστες και την παρεμπόδιση της φυσιολογικής αιμοποίησης. Έτσι παρατηρείται ωχρότητα, εύκολη κόπωση, ταχυκαρδία και ενίοτε δύσπνοια λόγω της αναιμίας, συχνές εμπύρετες λοιμώξεις λόγω της ουδετεροπενίας και αιμορραγική διάθεση που εκδηλώνεται κυρίως με μώλωπες, πετέχιες και αιμορραγία των βλεννογόνων λόγω της θρομβοπενίας (Schrappe *et al.*, 2018).

Ο πόνος στα οστά και στις αρθρώσεις εμφανίζεται στο 1/3 των ασθενών, και οφείλεται κατά κύριο λόγο στην μαζική διήθηση του μυελού από τα λευχαιμικά κύτταρα, την διήθηση του περιόστεου και οστικά έμφρακτα (Schrappe *et al.*, 2018). Ο πόνος ενδέχεται να συνοδεύεται και από οίδημα των αρθρώσεων και να αποτελεί το μοναδικό σύμπτωμα στα αρχικά στάδια της νόσου. Χαρακτηριστική είναι η αδυναμία/άρνηση βάδισης στους ασθενείς 2 με 4 ετών. Διαφοροδιαγνωστικά, η συμπτωματολογία αυτή μπορεί να συγχέεται με οστεομυελίτιδα ή νεανική ρευματοειδή αρθρίτιδας.

Ο κοιλιακός πόνος εμφανίζεται μόνο στο 1/5 των περιπτώσεων και οφείλεται συνήθως σε ταχέως εξελισσόμενη ηπατο- και/ή σπληνομεγαλία (Schrappe *et al.*, 2018). Σπάνια, ο πόνος μπορεί να οφείλεται σε εγκολασμό του εντέρου ή ειλεό, παρουσία άτυπων λεμφαδένων ιδιαίτερα στην περιοχή της ειλεοτυφλικής συμβολής. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν το ενδεχόμενο ΟΛΛ από Β κύτταρα ή λεμφώματος Burkitt (μορφολογία L3) (Schrappe *et al.*, 2018).

Το σύμπτωμα που οδηγεί τους γονείς κατά κανόνα στον παιδίατρο και παρουσιάζεται σχεδόν στους μισούς ασθενείς με ΟΛΛ είναι η ανώδυνη διόγκωση τραχηλικών και αυχενικών λεμφαδένων. Δύσπνοια και απόφραξη των αεραγωγών μπορεί να παρουσιαστεί σε περίπτωση διόγκωσης των λεμφαδένων του μεσοθωράκιου ή του θύμου αδένου και αποτελεί τυπικό εύρημα της ΟΛΛ από Τ κύτταρα. Κρίσιμη κατάσταση που απαιτεί άμεση παρέμβαση αποτελεί

η απόφραξη των αεραγωγών που συνοδεύεται από πλευριτική ή περικαρδιακή συλλογή (Schrappe *et al.*, 2018).

Σπανιότερα συμπτώματα είναι ο πονοκέφαλος ή η εκδήλωση σπασμών, που χαρακτηρίζει την προσβολή του κεντρικού νευρικού συστήματος και η ανώδυνη διόγκωση των όρχεων, που οφείλεται σε διήθηση τους από λεμφοβλάστες. Επί παρουσίας υψηλού λευχαιμικού φορτίου παρατηρείται συχνά διήθηση των νεφρών (Schrappe *et al.*, 2018).

## **A5. Διάγνωση**

Για την διάγνωση της λευχαιμίας απαιτούνται ειδικές εξετάσεις που έχουν ως στόχο να προσδιορίσουν τον ακριβή υπότυπο της λευχαιμίας, καθώς αυτός είναι σημαντικό τόσο για την πρόγνωση της νόσου όσο και για την επιλογή του κατάλληλου θεραπευτικού πρωτοκόλλου. Οι γενικές διαγνωστικές εξετάσεις έχουν ως στόχο να αξιολογήσουν την γενική κατάσταση του ασθενούς, την ανάγκη ή μη υποστηρικτικής θεραπείας και την εξάπλωση της νόσου σε άλλα συστήματα και ιστούς του σώματος.

Απαραίτητα για τη μορφολογική διάγνωση είναι τα επιχρίσματα αίματος και μυελού των οστών. Με εξαίρεση ασθενείς με κίνδυνο αιμορραγίας ή ασθενείς με έντονη υπερλευκοκυττάρωση, εξίσου απαραίτητη είναι μια αρχική οσφυονωτιαία παρακέντηση για να αποκλειστεί η προσβολή του ΚΝΣ. Εάν υπάρχει όγκος μεσοθωρακίου με συνοδό υπεζωκοτική συλλογή, μπορεί να γίνει αρχική διάγνωση και με τη συλλογή και μικροσκόπηση του υπεζωκοτικού υγρού, όπου και δύναται να εντοπιστούν οι λεμφοβλάστες.

Η διάγνωση πρέπει πάντα να επιβεβαιώνεται με μυελόγραμμα, καθώς σε ορισμένες περιπτώσεις οι λεμφοβλάστες δεν εντοπίζονται στο περιφερικό αίμα. Εάν η αναρρόφηση μυελού των οστών είναι δύσκολη ή ανεπιτυχής, απαιτείται βιοψία μυελού των οστών. Ποσοστό  $\geq 25\%$  λεμφοβλαστών στον μυελό των οστών θέτει την διάγνωση της ΟΛΛ. Σε περίπτωση λευκοκυττάρωσης αρκεί η παρουσία λεμφοβλαστών στο περιφερικό αίμα για την διάγνωση της ΟΛΛ (Escherich and Schrappe, 2021).

Η ταυτοποίηση του τύπου της λευχαιμίας γίνεται αρχικά με την μικροσκοπική εξέταση δείγματος αίματος ή μυελού των οστών όπου διακρίνονται οι λεμφοβλάστες. Ακόμη όμως κι αν η αξιολόγηση του επιχρίσματος μας επιτρέπει μια γενική ταξινόμηση της λευχαιμίας, ο προσδιορισμός του ανοσοφαινοτύπου, η κυτταρογενετική και μοριακή ανάλυση πρέπει επίσης να αξιολογούνται καθώς έχουν σημαντική προγνωστική αξία και παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες που καθοδηγούν την θεραπεία. Η χρήση πλέον ανοσολογικών και

κυτταρογενετικών μεθόδων ταυτοποίησης της λευχαιμίας, έχει περιορίσει την πρακτική αξία της κυτταροχημείας.

Καθοριστικό βήμα της διαγνωστικής διαδικασίας, τόσο για την θεραπεία όσο και για την πρόγνωση της νόσου, είναι ο προσδιορισμός του ανοσοφαινοτύπου των λεμφοβλαστών. Έτσι αντιγόνα στην επιφάνεια ή το κυτταρόπλασμα των λεμφοβλαστών γνωστά ως CDs (Clusters of differentiation), μπορούν να ταυτοποιηθούν με την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων (Dworzak *et al.* 2018).

The AIEOP-BFM consensus antibody panel for pediatric ALL

Mandatory and optional markers (each combined with CD45)	
Intracellular <sup>a,b</sup>	iCD3, iCD22, iCD79a, iIgM (μ-chain), iLysozyme, iMPO
Surface <sup>a</sup>	CD2 <sup>c</sup> , CD3, CD5, CD7; CD10, CD19, CD20; CD11c, CD11b, CD13, CD14, CD15, CD33, CD64, CD65 <sup>d</sup> , CD117; CD34, (CD45), CD56, HLA-DR if T-ALL: CD1a, CD4, CD8, TCRαβ, TCRγδ if B-IV suspected: κ-chain, λ-chain (surface staining after pre-washing or intracellular)
Optional / Recommended	all cases: NG2 <sup>e</sup> , CD371 <sup>c,f</sup> if BCP-ALL: CD11a <sup>c</sup> , CD22, CD24, CD38, CD44, CD58, CD66c, CD123 <sup>c</sup> , CRLF2 <sup>c,g</sup> if T-ALL: CD99, iTdT if BAL according to general panel: CD24, iTdT

<sup>a</sup>Mandatory markers for WHO, EGIL, ETP classifications.

<sup>b</sup>Prefix "i" stands for intracellular staining.

<sup>c</sup>Phycoerythrin-conjugate (PE) recommended.

<sup>d</sup>Available only labelled with fluorescein isothiocyanate (FITC).

<sup>e</sup>Clone 7.1.

<sup>f</sup>Clone 50C1.

<sup>g</sup>Clone 1D3.

Πίνακας 4. Η ομάδα AIEOP-BFM έχει συντάξει το παραπάνω panel για την ανοσοφαινοτυπική διάγνωση της παιδιατρικής ΟΛΛ (Dworzak MN *et al.* 2018)

Η διάγνωση πιθανών κυτταρογενετικών αριθμητικών (πλοειδία) ή δομικών ανωμαλιών πραγματοποιείται με καρνότυπο, φθορίζον *in situ* υβριδισμό (FISH) και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (RT-PCR). Νέες εξελιγμένες τεχνικές γενετικής ανάλυσης, όπως η αλληλούχιση RNA (RNA-Sequencing), ανάλυση πάνελ γονιδίων (Gene Panel Analysis) και η ανάλυση DNA σε συστοιχίες (συγκριτικό γενωμικό

υβριδισμό με μικροσυστοιχίες με ανιχνευτές πολυμορφισμών θέσεων (SNP-Array-CGH)) συμπληρώνουν όποτε είναι απαραίτητο την διαγνωστική διαδικασία. (Dworzak *et al.* 2018).

Οι γενικές εξετάσεις περιλαμβάνουν το ιστορικό, την κλινική εξέταση, γενική αίματος με βιοχημικούς παράγοντες ενδεικτικούς της λύσης του όγκου (κάλιο, ασβέστιο, φώσφορος, γαλακτική αφυδρογονάση, χολερυθρίνη), ηπατικά ένζυμα, δείκτες της νεφρικής λειτουργίας ουρικό οξύ, κρεατινίνη), παράγοντες της πήξης, ομάδα αίματος, δείκτες φλεγμονής. Η χαρακτηριστική τριπενία (αναιμία, λευκοπενία και θρομβοπενία) παρατηρείται μόνο στο 1/3 των περιπτώσεων ενώ σπάνια (<5%) η γενική αίματος είναι απολύτως φυσιολογική. Το ½ των ασθενών εμφανίζονται με αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων <10.000/μl, 22% πάνω από 50.000/μl και 12% πάνω από 100.000/μl (Vora *et al.*, 2013).

Την διαγνωστική διαδικασία συμπληρώνουν απεικονιστικές εξετάσεις όπως η ακτινογραφία θώρακα (αποκλεισμός όγκου μεσοθωρακίου), υπερηχογράφημα κοιλίας, τραχήλου και μεσοθωρακίου (εκτίμηση διήθησης νεφρού, εκτίμηση πιθανής ηπατοσπληνομεγαλίας και διόγκωσης λεμφαδένων), ηλεκτροκαρδιογράφημα και υπέρηχο καρδιάς. Ανάλογα με τα κλινικά συμπτώματα οι διαγνωστικές εξετάσεις συμπληρώνονται από υπερηχογραφική εκτίμηση του όσχεου, μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου, σπινθηρογράφημα οστών ηλεκτροεγκεφαλογράφημα, οφθαλμολογική εκτίμηση.

Για την εκτίμηση της προσβολής του κεντρικού νευρικού συστήματος επιβάλλεται η οσφυονωτιαία παρακέντηση και η μικροσκοπική εκτίμηση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY). Η διάγνωση επιβεβαιώνεται με την παρουσία βλαστών κατά την μικροσκοπική εξέταση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού και αριθμό > 5 κύτταρα/μl σε μη αιματηρό ENY (Bürger *et al.*, 2003).

## **A6. Διαφορική Διάγνωση**

Σε ασθενείς με τριπενία η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει άλλες διηθητικές ασθένειες του μυελού όπως η οξεία μυελογενής λευχαιμία, μυελοδυσπλασίες, το νευροβλάστωμα και η απλαστική αναιμία. Η εκτίμηση του επιχρίσματος περιφερικού αίματος συνήθως θα αποκαλύψει την παρουσία λεμφοβλαστών. Παρόλα αυτά επιβάλλεται η επιβεβαίωση της διάγνωσης με παρακέντηση μυελού, κυτταρογενετική ανάλυση και ανοσοφαινότυπο (Schrappe *et al.*, 2018).

Η αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα ανήκει επίσης στην διαφορική διάγνωση της ΟΛΛ, διακρίνεται όμως σχετικά εύκολα από αυτή από το ιστορικό αιμορραγικής διάθεσης των βλεννογόνων, πετέχιες και μώλωπες σε παιδί που βρίσκεται κατά τα άλλα σε καλή γενική

κατάσταση. Στην αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα απουσιάζουν η σπληνομεγαλία και η διόγκωση το λεμφαδένων ενώ εκτός των αιμοπεταλίων η γενική εξέταση αίματος είναι φυσιολογική (Schrappe *et al.*, 2018).

Η κλινική εικόνα της λευχαιμίας μπορεί όπως αναφέρθηκε και παραπάνω να συγχέεται με την νεανική ρευματοειδή αρθρίτιδα. Στις περιπτώσεις αυτές το επίχρισμα περιφερικού αίματος και η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) μπορούν να καθοδηγήσουν την διάγνωση. Παρόλα αυτά συνίσταται η παρακέντηση του μυελού σε όλες τις περιπτώσεις νεανικής ρευματοειδούς αρθρίτιδας πριν την έναρξη θεραπείας με στεροειδή (Jones *et al.*, 2006).

## **A7. Προγνωστικοί Παράγοντες**

Η ηλικία και ο αρχικός αριθμός των λευκοκυττάρων κατά την διάγνωση αποτελούν παράγοντες με σταθερή προγνωστική αξία σε όλες τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν παγκοσμίως και επομένως χρησιμοποιούνται συχνά για τη εκτίμηση του κινδύνου (Cavé *et al.*, 1998, Van Dongen *et al.*, 1998).

Βρέφη και παιδιά ηλικίας > 10-15 ετών έχουν χειρότερη πρόγνωση σε σύγκριση με τα παιδιά ηλικίας 2 έως 5 ετών, που αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό του πληθυσμού ΟΛΛ. Η μικρή ομάδα των βρεφών με λευχαιμία έχει τη χειρότερη έκβαση με ποσοστό βετούς επιβίωσης 50% (Pieters *et al.*, 2007)

Άλλοι προγνωστικοί παράγοντες είναι το φύλο, ο ανοσοφαινότυπος, η κυτταρογενετική, η προσβολή ή μη του ΚΝΣ και η ανταπόκριση στην αρχική αντιμετώπιση με στεροειδή.

Τα τελευταία χρόνια εφαρμόζονται διάφορες μοριακές τεχνικές για τον προσδιορισμό της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (Minimal Residual Disease, MRD) στην ΟΛΛ. Οι μέθοδοι ανίχνευσης της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου είναι η πολυπαραγοντική κυτταρομετρία ροής, η real-time ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (real-time quantitative polymerase chain reaction / RQ-PCR) που ανιχνεύει αντίγραφα ή θραυσμάτων υωριδικών γονιδίων και η RQ-PCR που ανιχνεύει αναδιατάξεις των γονιδίων των TCR ή κλωνικές ανοσοσφαιρίνες. (Cavé *et al.*, 1998)(Van Dongen *et al.*, 1998)

Η εκτίμηση της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου που προσδιορίζεται στο τέλος της θεραπείας εφόδου αποτελεί σημαντικό ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα που δεν επηρεάζεται από την ηλικία, το φύλο, τον αριθμό των λευκών, τον ανοσοφαινότυπο και τη θεραπεία.



## **A8. Θεραπεία**

### Χημειοθεραπεία

Στην Ευρώπη, ορόσημο στην θεραπεία της οξείας λεμφοβλαστικής θεραπείας αποτέλεσε η ανάπτυξη της θεραπείας εφόδου από την ομάδα εργασίας BFM το 1970, που περιελάμβανε εντατική χημειοθεραπεία, την προφυλακτική θεραπεία του ΚΝΣ και την χημειοθεραπεία εντατικοποίησης. Το πρωτόκολλο αυτό αποτέλεσε την βάση της σύγχρονης θεραπείας της ΟΛΛ σε παιδιά και εφήβους παγκοσμίως (Schrappe *et al.*, 2000, Möricke *et al.*, 2010).

Η χημειοθεραπεία αποτελεί την κύρια θεραπεία της ΟΛΛ και περιλαμβάνει 5 φάσεις:

1. Την θεραπεία εφόδου. Ο στόχος αυτής της θεραπείας 5 εβδομάδων είναι η κλινική και αιματολογική ύφεση της νόσου έτσι ώστε οι λεμφοβλάστες να μην είναι πλέον ορατοί μικροσκοπικά και να αποκατασταθεί η φυσιολογική αιμοποίηση. Η θεραπεία περιλαμβάνει συνήθως κορτικοστεροειδή, βινκριστίνη και L-ασπαραγινάση. Σε ορισμένες μελέτες προστίθεται και μία ανθρακυκλίνη σαν 4ο φάρμακο (Stanulla and Bourquin, 2012), (Schrappe *et al.*, 2018). Η επιλογή του κορτικοστεροειδούς αποτελεί αντικείμενο μακροχρόνιας συζήτησης. Ενώ λοιπόν η δεξαμεθαζόνη έχει ισχυρότερη αντιλευχαιμική δράση και οδηγεί σε λιγότερες υποτροπές της νόσου, παρουσιάζει σημαντικά υψηλότερο ποσοστό παρενεργειών και περιπτώσεων θανάτου από λοιμώξεις, σε σύγκριση με την πρεδνιζόνη.
2. Την θεραπεία σταθεροποίησης. Ο στόχος αυτής της θεραπείας 4 εβδομάδων είναι η εξάλειψη των λεμφοβλαστών πέρα κι από μικροσκοπικό επίπεδο. Η φάση αυτή περιλαμβάνει την κυκλοφωσφαμίδη, την κυταραβίνη και την 6-μερκαπτοπουρίνη (Stanulla and Bourquin, 2012), (Schrappe *et al.*, 2018).
3. Την προφυλακτική θεραπεία των εξωμυελικών οργάνων. Η θεραπεία αυτή στοχεύει τα λευχαιμικά κύτταρα στο ΚΝΣ και τους όρχεις. Η προφυλακτική ακτινοβολία του κρανίου που εφαρμοζόταν παλαιότερα στα θεραπευτικά πρωτόκολλα με πολύ καλά αποτελέσματα, αντικαταστάθηκε από την χημειοθεραπεία λόγω της δυσμενούς επίδρασης της ακτινοβολίας στις γνωστικές ικανότητες των παιδιών, στην παρουσία ορμονικών επιπτώσεων και του κινδύνου ανάπτυξης δευτερογενούς κακοήθειας. Για

τον σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται πλέον υψηλές δόσεις μεθοτρεξάτης, κυταραβίνης, δεξαμεθαζόνη και ενδορραχιαίες εγχύσεις μεθοτρεξάτης, κυταραβίνης και υδροκορτιζόνης (Stanulla and Bourquin, 2012, Schrappe *et al.*, 2018).

4. Την θεραπεία βραδείας εντατικοποίησης. Αποτελεί ουσιαστικά επανάληψη της θεραπείας εφόδου και είναι απαραίτητη για τη θεραπεία (Stanulla and Bourquin, 2012), (Schrappe *et al.*, 2018).
5. Την θεραπεία συντήρησης. Αποτελεί εξίσου σημαντικό στοιχείο της θεραπείας, αποτελείται από του στόματος 6-μερκαπτοπουρίνη και μεθοτρεξάτη και πραγματοποιείται για συνολική περίοδο 24 μηνών. Στόχος είναι η παρατεταμένη έκθεση των λευχαιμικών κυττάρων που υπολείπονται στην χημειοθεραπεία και η καταστροφή τους.

Στους ασθενείς με μετάθεση t(9;22) συνιστάται η πρόσθετη συνεχής χορήγηση ενός αναστολέα τυροσινικής κινάσης π.χ. imatinib (Biondi *et al.*, 2012), για ασθενείς με μεταλλάξεις της κατηγορίας *ABL* η πρόσθετη χορήγηση ενός αναστολέα κινάσης τυροσίνης αποτελεί αντικείμενο κλινικών δοκιμών (den Boer *et al.*, 2021).

Ταυτόχρονα με την χημειοθεραπεία οι ασθενείς λαμβάνουν υποστηρικτική θεραπεία με μεταγγίσεις αίματος και παραγώνων, ενδοφλέβια υγρά, ηλεκτρολύτες, παρεντερική διατροφή, αντιεμετικά και αναλγητικά φάρμακα, αντιβίωση καθώς και αντιβιοτική, αντιμυκοτική και αντιική αγωγή σε προφυλακτική δόση λόγω της παρατεταμένης ανοσοκαταστολής. Η υποστηρικτική θεραπεία προσαρμόζεται και μεταβάλλεται ανάλογα με τις παρενέργειες τις χημειοθεραπείας στον οργανισμό και τις ανάγκες του ασθενούς.

Ένα μικρό ποσοστό ασθενών που δεν ανταποκρίνεται στην θεραπεία ή ανήκει σε ομάδα υψηλού κινδύνου υποτροπής, η μεταμόσχευση μυελού των οστών αποτελεί το επόμενο θεραπευτικό βήμα. Η μεταμόσχευση του μυελού των οστών θα πρέπει να πραγματοποιείται εντός περίπου τριών έως τεσσάρων μηνών από την επίτευξη ύφεσης της νόσου.

Για τη θεραπεία της υποκλινικής προσβολής του ΚΝΣ (<5 κύτταρα/mm<sup>3</sup> ENY με ή χωρίς βλάστες), η ακτινοβόληση του ΚΝΣ ενδείκνυται μόνο σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ασθενείς με ΟΛΛ Τ-κυττάρων και ασθενείς με ανεπαρκή θεραπευτική ανταπόκριση. Η ακτινοβολία του ΚΝΣ δεν ενδείκνυται γενικά στον πρώτο χρόνο της ζωής. Σε όλους τους ασθενείς, η υποτροπής του ΚΝΣ αντιμετωπίζεται με κατάλληλη ενδορραχιαία και συστηματική θεραπεία. Η θεραπεία με υψηλές δόσεις

μεθοτρεξάτης και η ενδορραχιαία εφαρμογή μεθοτρεξάτης, κυταραβίνης και πρεδνιζόνης φαίνεται να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική σε αυτή την περίπτωση. Σε αρχική προσβολή του ΚΝΣ («λευχαιμική μηνιγγίωση»:  $>5$  κύτταρα/mm<sup>3</sup> και διαυγείς βλάστες στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό), η ένδειξη για ακτινοθεραπεία του κρανίου προσδιορίζεται στο πλαίσιο του αντίστοιχου πρωτοκόλλου μελέτης (Peters *et al.*, 2015).

## **B. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ**

Ο ρόλος των γενετικών αλλαγών στην νεοπλασία μελετήθηκε συστηματικά για πρώτη φορά απ' τον Boveri το 1914, ο οποίος εξέφρασε την άποψη ότι ο καρκίνος σχετίζεται με χρωμοσωμικές ανωμαλίες (Boveri, 1914). Η πεποίθηση αυτή εδραιώθηκε λίγο αργότερα το 1960 με την ανακάλυψη του χρωμοσώματος Philadelphia σε ασθενείς με χρόνια μυελογενή λευχαιμία απ' τους Nowell και Hungerford. (Nowell, 1960).

Στην πορεία η ανακάλυψη και χρήση σύγχρονων προηγμένων μεθόδων χρωμοσωμικής ανάλυσης με πιο πρόσφατο τον συγκριτικό γενωμικό υβριδισμό με μικροσυστοιχίες (array-based CGH, aCGH) οδήγησε στην ανακάλυψη μιας πληθώρας χρωμοσωμικών μεταβολών σε διάφορους τύπους καρκίνου συμπεριλαμβανομένων και των λευχαιμιών.

Οι αλλαγές αυτές του γενετικού υλικού υπήρξαν καθοριστικές στην αντιμετώπιση των νεοπλασιών διαδραματίζοντας έναν πολυεπίπεδο ρόλο: συνέβαλαν όχι μόνο στην καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που διέπουν την καρκινογένεση αλλά έδωσαν την δυνατότητα εισαγωγής γενετικών δεικτών στην κλινική πράξη οδηγώντας έτσι σε μια νέα εποχή στην ταξινόμηση των νεοπλασιών και κάνοντας επιτακτική την ανάγκη αναθεώρησης της κλασικής κατηγοριοποίησης των λευχαιμιών.

Σημαντικά επηρεάστηκαν η διαγνωστική προσέγγιση και η εκτίμηση της πρόγνωσης της νόσου. Επήλθε ιδιαίτερη πρόοδος στην αντιμετώπιση της νόσου, καθώς η θεραπεία έγινε πιο στοχευμένη και προσαρμόστηκε στον κίνδυνο υποτροπής. Η συνεισφορά των νέων γενετικών δεικτών υπήρξε καθοριστική για την εξέλιξη και βελτιστοποίηση των θεραπευτικών πρωτοκόλλων με φάρμακα τα οποία έχουν ως στόχο την γενετική αλλαγή, μειώνοντας έτσι τις τοξικές παρενέργειες από την συστηματική χρήση της χημειοθεραπείας. Η παρούσα διπλωματική αποτελεί μια συστηματική ανασκόπηση των γνωστών γενετικών δεικτών που σχετίζονται με την παιδική οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία και της εφαρμογής τους στην κλινική πράξη.

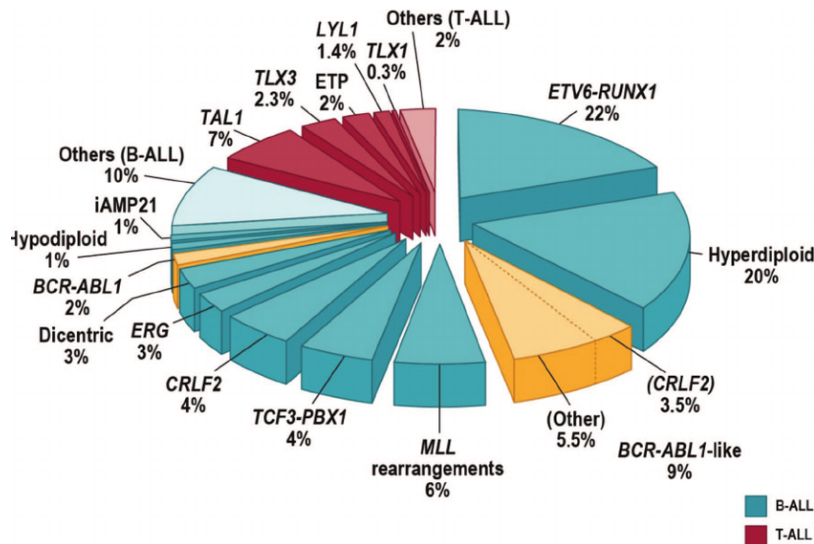
## **B1. Γενετικοί δείκτες στην ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας**

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αποτελούν το πλέον χαρακτηριστικό γνώρισμα της παιδιατρικής ΟΛΛ, αναγνωρίζονται ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί γενετικοί δείκτες και επιτρέπουν μια πιο ακριβή ταξινόμησή της με σημαντικό κλινικό αντίκτυπο, καθώς επηρεάζουν καταλυτικά την θεραπεία, την παρακολούθηση της ανταπόκρισης σε αυτήν μέσω του προσδιορισμού της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (MRD) και την έκβαση της νόσου. (Inaba and Pui, 2021; Jeha *et al.*, 2021).

Οι γενετικές μεταβολές που παρατηρούνται μπορεί να αφορούν τον αριθμό ή την δομή των χρωμοσωμάτων ή και συνδυασμό τους. Χαρακτηριστικό της ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας είναι η γενετική ετερογένεια με πληθώρα αλλαγών σε μοριακό επίπεδο, που οδηγούν σε απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και μετατροπή πρωτοογκογονιδίων σε ογκογονίδια στα διάφορα στάδια της διαφοροποίησης των κυττάρων και έχουν ως συνέπεια την λευχαιμογένεση (Hanahan and Weinberg, 2000).

Σε γενετικό επίπεδο συναντώνται συχνά χρωμοσωμικές μεταθέσεις και ανακατατάξεις που φαίνεται να συμβαίνουν στα αρχικά στάδια της κακοήθους εξαλλαγής των λεμφοκυττάρων. Χαρακτηριστικές είναι οι χρωμοσωμικές αναδιατάξεις που οδηγούν στην δημιουργία υβριδικών γονιδίων που εκφράζουν τυροσινικές κινάσες, παράγοντες μεταγραφής, υποδοχείς κυτταροκινών και γενετικούς τροποποιητές. Ένας δεύτερος μηχανισμός που οδηγεί σε κακοήθη εξαλλαγή των λεμφοκυττάρων είναι η υπερέκφραση πρωτεϊνών που ρυθμίζουν την ανάπτυξη και την αποδόμηση του κυττάρου, που προκύπτει ως αποτέλεσμα χρωμοσωμικών μεταθέσεων πρωτοογκογονιδίων σε αλληλουχίες υποκινητών γονιδίων (Harrison, 2009).

Περίπου στο 75% των περιπτώσεων της ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας παρατηρούνται χρωμοσωμικές μεταβολές που μπορούν να ταυτοποιηθούν με καρυοτυπική ανάλυση, φθορίζον *in situ* υβριδισμό ή μοριακές τεχνικές. (Σχήμα 1)



Σχήμα 1. Συχνότητα των κυτταρογενετικών υποτύπων της παιδικής ΟΛΛ (Mullighan 2012)

Η Β-ΟΛΛ αποτελεί το 85- 90% της ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας και ταξινομείται περαιτέρω σύμφωνα με το βαθμό διαφοροποίησης των Β-λεμφοκυττάρων σε πρώιμη προ-Β, ενδιάμεση προ-Β και προ-Β ΟΛΛ (Pui *et al.*, 1993). Οι συχνότερες γενετικές μεταβολές της Β-ΟΛΛ με σημαντική προγνωστική αξία είναι η υπερδιπλοϊδία (>50 χρωμοσώματα), η υποδιπλοϊδία (<44 χρωμοσώματα), οι χρωμοσωμικές μεταθέσεις  $t(12;21)(p13;q22)$  *ETV6-AML1*,  $t(1;19)(q23;p13)$  *TCF3-PBX1* και η  $t(9;22)(q34;q11)$  *BCR-ABL*. Στα βρέφη εντοπίζονται συχνά αναδιατάξεις του γονιδίου *MLL* (*KMT2A*). Στην Β-ΟΛΛ εντοπίζονται επίσης διαγραφές ή αύξηση του αριθμού των αντιγράφων γονιδίων που ρυθμίζουν την ανάπτυξη των λεμφοκυττάρων όπως τα *PAX5* (paired box protein Pax-5), *IKZF1* (DNA-binding protein Ikaros), *EBF1* (Early B-Cell Factor 1), και *LMO2* (LIM domain only 2), τον κυτταρικό κύκλο και την καταστολή των όγκων όπως τα *CDKN2A* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A)/*CDKN2B* (cyclin-dependent kinase 4 inhibitor B), *PTEN* (Ογκοκατασταλτικό γονίδιο της phosphatase and tensin homolog), και *RBI* (retinoblastoma transcriptional corepressor 1), τη λεμφική σηματοδότηση όπως τα *BTLA* (B- and T-lymphocyte-associated protein), *CD200* (OX-2 membrane glycoprotein), *TOX3CR* (Tox high mobility group box family member 3) και ο υποδοχέας των γλυκοκορτικοειδών *NR3C1* (nuclear receptor subfamily 3 group C member 1), και την μεταγραφική ρύθμιση όπως τα *TBLIXR1* (transducin beta like 1 X-linked receptor 1), *ETV6* (ETS variant transcription factor 6) και *ERG* (ETS-related gene) (Mullighan 2012).

Η ΟΛΛ των Τ κυττάρων χαρακτηρίζεται από κακοήθη εξαλλαγή των πρόιμων θυμοκυττάρων και αποτελεί το 10-15% της ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας. Χαρακτηρίζεται από μεσοθωρακικές μάζες, προσβολή του ΚΝΣ και υψηλό αριθμό λεμφοβλαστών στην κυκλοφορία του αίματος (De Keersmaecker, Marynen and Cools, 2005). Αποτελεί μια κατηγορία υψηλού κινδύνου με ποσοστά υποτροπής στο 30% στα 2 πρώτα χρόνια μετά την διάγνωση. (Van Grotel *et al.*, 2006)

Αν και υπάρχουν ορισμένες χρωμοσωμικές αναδιατάξεις κοινές για την Β και την Τ ΟΛΛ, περίπου στο 50% των ασθενών με Τ ΟΛΛ οι χρωμοσωμικές αλλαγές είναι χαρακτηριστικές αυτού του τύπου. Σημείο αναφοράς στην Τ ΟΛΛ αποτελεί η ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού NOTCH, λόγω μεταλλάξεων στο *NOTCH1* (neurogenic locus notch homolog protein 1) ή μεταλλάξεων που έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια του *FBXW7* (F-box/WD repeat-containing protein 7). Την λευχαιμογένεση προάγουν επίσης ελλείματα στο *CDKN2A* που εμφανίζονται στο 70% των περιπτώσεων και οδηγούν στην απώλεια των ογκοκατασταλτικών γονιδίων p16 και p14 (Jang *et al.*, 2019). (Liu *et al.*, 2017).

Χαρακτηριστικές είναι επίσης οι αναδιατάξεις που απορυθμίζουν τους παράγοντες μεταγραφής με μετατόπισή τους σε γενετικούς τόπους υποδοχέων αντιγόνων των Τ κυττάρων. Η υπερέκφραση ογκογόνων μεταγραφικών παραγόντων, όπως των βασικών παραγόντων έλικας-βρόχου-έλικας, *TAL1* (T-cell acute lymphocytic leukemia protein 1), *TAL2* (T-cell acute lymphocytic leukemia 2) και *LYL1* (lymphoblastic leukemia associated hematopoiesis regulator 1), των γονιδίων *LMO* (LIM domain only), των γονιδίων homeobox *TLX1* (T-cell leukemia homeobox protein 1 ή HOXH), *TLX3* (T-cell leukemia homeobox protein 3 ή HOX11L2), *NKX2.1* (NK2 homeobox 1), *NKX2.2* (NK2 homeobox 2), *NKX2.5* (NK2 homeobox 5), *HOXA* (homeobox A cluster), το πρωτοογκογονίδιο *MYB* (myeloblastosis) και το πρωτοογκογονίδιο *SPI1* (salmonella pathogenicity island 1) καθώς και η απώλεια μεταγραφικών παραγόντων με ογκοκατασταλτική δράση *ETV6*, *GATA3* (GATA binding protein 3), *RUNX1* (Runt-related transcription factor 1), *LEF1* (lymphoid enhancer binding factor 1), *WT1* (Wilms' tumor protein) και *BCL11B* (B-cell lymphoma/leukemia 11B), οδηγούν με παρόμοιο τρόπο στη λευχαιμογένεση (Liu *et al.* 2017).

Επιπλέον, σε παιδιά με Τ-ΟΛΛ παρατηρούνται γενετικές αλλαγές στα σηματοδοτικά μονοπάτια JAK-STAT (Janus kinase/ signal transducers and activators of transcription) (*IL7R*, *JAK1*, *JAK3*, *DNM2*), Ras (*NRAS*, *KRAS*, and *NF1*), PI3K-AKT (phosphatidylinositol 3-kinase/ protein kinase B) (*PTEN*, *AKT1*, *PIK3CA* *PIK3CD*) (Liu *et al.* 2017).

Χαρακτηριστικές είναι επίσης αναδιατάξεις που εμπλέκουν τα γονίδια *KMT2A* (histone-lysine N-methyltransferase 2A), *HOXA* (homeobox A cluster) και *ABL1* (tyrosine-protein kinase ABL1) και έχουν ως αποτέλεσμα την έκφραση υβριδικών γονιδίων (Liu *et al.* 2017).

## **B2.1 Αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**

### **Ανευπλοειδίες**

Οι ανευπλοειδίες αποτελούν κύριο χαρακτηριστικό της ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας και διακρίνονται σε υπερδιπλοειδίες (> 50 χρωμοσώματα) και υποδιπλοειδίες (< 44 χρωμοσώματα).

Η υπερδιπλοειδία εμφανίζεται στο 25% των παιδιών με Β-ΟΛΛ και αποτελεί από μόνη της ανεξάρτητο ευνοϊκό προγνωστικό παράγοντα και τείνει γενικά να εμφανίζεται σε περιπτώσεις με άλλους κλινικούς παράγοντες με καλή πρόγνωση, όπως ο χαμηλός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων και ασθενείς με ηλικία από 1 έως <10 ετών (Aricò *et al.*, 2008). Σχετίζεται με μεταλλάξεις στο μονοπάτι Ras (*KRAS* (Kirsten rat sarcoma virus), *NRAS* (neuroblastoma ras viral oncogene homolog) και *PTPN11* (tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11) και επιγενετικές τροποποιήσεις (Roberts, 2018). Τα πλεονάζοντα χρωμοσώματα που παρατηρούνται με μεγαλύτερη συχνότητα είναι τα 4, 6, 10, 14, 17, 18, 21 και το X χρωμόσωμα. (Paulsson *et al.*, 2015). Η προγνωστική αξία των περιπτώσεων τριπλής τρισωμίας (πλεονάζον χρωμόσωμα 4, 10 και 17 ταυτόχρονα) είναι σημαντική καθώς οι καταστάσεις αυτές χαρακτηρίζονται από χαμηλό κίνδυνο υποτροπής (Sutcliffe *et al.*, 2005).

Η υπερδιπλοειδία μπορεί να διαγνωστεί με μέτρηση της περιεκτικότητας των κυττάρων σε γενετικό υλικό (DNA Index) ή με καρυότυπο. Στις περιπτώσεις όπου ο καρυότυπος είναι φυσιολογικός ή η κυτταρογενετική ανάλυση δεν μπορεί να αξιολογηθεί, ο φθορίζον *in situ* υβριδισμός (FISH) μπορεί να ανιχνεύσει μια κρυφή υπερδιπλοειδία.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι λεμφοβλάστες σε περιπτώσεις υπερδιπλοειδίας συσσωρεύουν υψηλά επίπεδα πολυγλουταμινικών μεθοτρεξάτης (MTXPGs) και είναι εξαιρετικά ευαίσθητοι στην απόπτωση, γεγονός που ίσως εξηγεί την καλύτερη ανταπόκριση των παιδιών με υπερδιπλοειδία σε σύγκριση με τα υπόλοιπα παιδιά στα κλασικά χημειοθεραπευτικά σχήματα (Synold *et al.*, 1994).

Αν και οι υπερδιπλοειδίες χαρακτηρίζονται γενικά από ευνοϊκή πρόγνωση, η προγνωστική αξία της φαίνεται να επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες όπως η ηλικία, ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων, η πρόωμη ανταπόκριση στη θεραπεία (Moorman *et al.*,

2003). Επιπλέον, συγκεκριμένες τρισωμίες, με παρουσία υπεράριθμου χρωμοσώματος 5 και 20 φαίνεται να σχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση (Heerema *et al.*, 2000; Harris *et al.*, 2004).

Σε περιπτώσεις ασθενών με υπερδιπλοειδία και παρουσία χρωμοσωμικών μεταθέσεων, η εκτίμηση του κινδύνου πρέπει να γίνεται με βάση την προγνωστική αξία της μετάθεσης. (Heerema *et al.*, 2004).

Η σχεδόν τριπλοειδία (68-80 χρωμοσώματα) και η σχεδόν τετραπλοειδία (>80 χρωμοσώματα) παρατηρούνται λιγότερο συχνά στην ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας και εμφανίζουν ένα διαφορετικό βιολογικό προφίλ από αυτό της υψηλής υπερδιπλοειδίας. Η άποψη ότι οι ασθενείς αυτοί χαρακτηρίζονται από δυσμενή πρόγνωση έχει πλέον καταρριφθεί (Raimondi *et al.*, 2006).

Χαμηλή υπερδιπλοειδία (47-50 χρωμοσώματα) παρουσιάζεται στο 10-11% των παιδιών με ΟΛΛ και σχετίζεται με κακή πρόγνωση (Mrózek, Heerema and Bloomfield, 2004; Braoudaki and Tzortzatos-Stathopoulou, 2012).

Η υποδιπλοειδία ορίζεται από την παρουσία <45, χαρακτηρίζεται από κακή πρόγνωση και εμφανίζεται σε 6-9% των περιπτώσεων ΟΛΛ στα παιδιά. (Hunger and Mullighan, 2015).

Η υποδιπλοειδία διακρίνεται σε τύπους με διαφορετικό μεταγραφικό προφίλ και γενετικές αλλαγές. Η υψηλή υποδιπλοειδία (40-43 χρωμοσώματα) είναι σπάνια και η σχεδόν διπλοειδία (44 χρωμοσώματα) σχετίζεται συχνά με την παρουσία του υβριδικού γονιδίου *ETV6-RUNX1* ή παρουσία δικεντρικών χρωμοσωμάτων. Οι πιο κοινές είναι η χαμηλή υποδιπλοειδία (33-39 χρωμοσώματα) και η σχεδόν-απλοειδία (24-29 χρωμοσώματα) και σχετίζονται και οι δύο με αυξημένο κίνδυνο αποτυχίας της θεραπείας σε σχέση με ασθενείς χωρίς υποδιπλοειδία. (Nachman *et al.*, 2007).

Η χαμηλή υποδιπλοειδία (33-39 χρωμοσώματα) εμφανίζεται με συχνότητα < 1% των παιδιών με ΟΛΛ και 5% σε έφηβους και νεαρούς ενήλικες. Σχετίζεται με μεταλλάξεις του *TP53* (tumor protein p53), του *RBI* και διαγραφές του *IKZF2* (zinc finger protein, subfamily 1A, 2). Σημαντικό είναι να αναφέρουμε ότι οι μεταλλάξεις του *TP53* που παρατηρούνται σε ΟΛΛ εμφανίζονται στο 40% των περιπτώσεων και σε μη λευχαιμικά κύτταρα. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι οι μεταλλάξεις αυτές είναι γαμετικές και σχετίζονται με την παρουσία του συνδρόμου Li-Fraumeni (Holmfeldt *et al.*, 2013).

Η σχεδόν-απλοειδία (24-29 χρωμοσώματα) εμφανίζεται με συχνότητα 2% των παιδιών και < 1% σε έφηβους και νεαρούς ενήλικες με Β-ΟΛΛ. Χαρακτηρίζεται από μεταλλάξεις του σηματοδοτικού μονοπατιού Ras, όπως διαγραφή του *NFI* (neurofibromin 1), μεταλλάξεις στα *NRAS* (neuroblastoma RAS viral oncogene homolog), *KRAS* (Kirsten RAt Sarcoma virus), *PTPN11* (tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11), του σηματοδοτικού μονοπατιού



PTK (protein tyrosin kinase) και αδρανοποίηση του *IKZF3* (Ikaros family zinc finger protein 3) (Irving *et al.*, 2014).

Λόγω της δυσμενούς πρόγνωσης είναι εξαιρετικά σημαντική η διάκριση της υποδιπλοειδίας που προκύπτει από διπλασιασμό του υποδιπλοειδικού κλώνου, οδηγώντας έτσι σε φαινομενική υπερδιπλοειδία (Hunger and Mullighan, 2015; Roberts, 2018)

### **Χρωμοσωμική ενίσχυση του χρωμοσώματος 21/iAMP21**

Η ΟΛΛ με ενίσχυση του χρωμοσώματος 21 συναντάται περίπου στο 2% των παιδιών με προ-B ΟΛΛ (Berger, 1997). Εμφανίζεται σε μεγαλύτερα παιδιά και εφήβους με μέση ηλικία τα 9 έτη και χαρακτηρίζεται ως επί των πλείστων από χαμηλό αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων (Harrison *et al.* 2014). Ο υπότυπος αυτός σχετίζεται με δυσμενή πρόγνωση, με σημαντικά μειωμένα ποσοστά επιβίωσης (EFS 29 vs 78%) σε σχέση με τις υπόλοιπες B-ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας. (Hunger and Mullighan, 2015), (Pui *et al.* 2012).

Στον καρνύτυπο και τον *in situ* υβριδισμό το χρωμόσωμα iAMP21 εμφανίζει μεγάλη ποικιλομορφία με πολλαπλές αναδιατάξεις που περιλαμβάνουν διπλασιασμούς, αναστροφές και ελλείματα. Η υψηλού βαθμού χρωμοσωμική αστάθεια φαίνεται να δημιουργείται μέσω κύκλων Breakage–Fusion–Bridge (θραύσης, συγχώνευσης, γέφυρας) (Robinson *et al.*, 2007). Η ενισχυμένη περιοχή περιέχει συνήθως επιπλέον αντίγραφα του γονιδίου *RUNX1*, επομένως για την ανίχνευση του ανώμαλου χρωμοσώματος χρησιμοποιείται η μέθοδος FISH (Harewood *et al.* 2003).

Σε ασθενείς με iAMP21 εμφανίζεται μια πληθώρα δευτερευόντων γενετικών αλλαγών, όπως η παρουσία επιπλέον χρωμοσώματος X, 10 ή 14, η μονοσωμία 7, η έλλειψη του 7q, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων *ATM* (ataxia telangiectasia mutated) και *KMT2A*, καθώς και διαγραφές του *ETV6* and *RBI*. 60% των ασθενών με iAMP21 εμφανίζουν μεταλλάξεις στα γονίδια του σηματοδοτικού μονοπατιού Ras και 20% παρουσία χμιαρικού γονιδίου *P2RY8-CRLF2* (P2Y receptor family member 8- cytokine receptor like factor 2). Οι αλλαγές αυτές πιθανόν να συμβάλλουν στην εξέλιξη της νόσου, μπορούν ενδεχομένως να αξιοποιηθούν στην διάγνωση των ασθενών αυτών ακόμη και να αποτελέσουν αντικείμενο στοχευμένης θεραπευτικής προσέγγισης (Ryan *et al.* 2016).

Παιδιά με σύνδρομο Down έχουν 10-12 φορές υψηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν οξεία λευχαιμία σε σύγκριση με παιδιά χωρίς σύνδρομο (Mateos *et al.*, 2015) Επίσης φορείς της μετάθεσης *rob(15;21)(q10;q10)c* έχουν 2700 φορές περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν ΟΛΛ και iAMP21 (Harrison *et al.*, 2016).

## B2.2 Δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Συχνότερες δομικές χρωμοσωμικές αλλαγές στην ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας είναι οι χρωμοσωμικές μεταθέσεις που οδηγούν σε υβριδικά γονίδια και εμπλέκουν συνήθως επιγενετικούς τροποποιητές, τυροσινικές κινάσες, υποδοχείς κυτοκινών και μεταγραφικούς παράγοντες με ρόλο στην αιμοποίηση. (Hunger and Mullighan, 2015).

### Αμοιβαία μετάθεση t(12;21)(p13;q22)

Η αμοιβαία μετάθεση t(12;21) οδηγεί στην σύντηξη του γονιδίου *ETV6* (ETS-type variant 6) στην περιοχή 12p13 με το γονίδιο *RUNX1* (runt-related transcription factor 1) στην περιοχή 21q22 με τελικό προϊόν το υβριδικό γονίδιο *ETV6-RUNX1* (γνωστό και ως *TEL-AML1*). (Pui et al. 2004). Τόσο το γονίδιο *ETV6* όσο και το *RUNX1* παίζουν κρίσιμο ρόλο στην αιμοποίηση λόγω της ικανότητάς τους να κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες (Hollenhorst et al., 2011, Okuda et al., 1996).

Καθώς το μέγεθος των περιοχών των χρωμοσωμάτων 12 και 21 και το πρότυπο ζώνωσης είναι παρόμοιο δεν ήταν δυνατή η αναγνώρισή της μετάθεσης στον καρυότυπο και εντοπίστηκε για πρώτη φορά το 1994 με φθορίζον in situ υβριδισμό (Romana et al., 1994).

Η μετάθεση αυτή θεωρείται η συχνότερη γενετική αλλαγή στην παιδιατρική προ-B/κοινή-B ΟΛΛ με συχνότητα 25 % (Sundaresh and Williams, 2017) και εμφανίζεται κατά κόρον στις ηλικίες 3-5 ετών (Romana et al., 1995).

Η ανίχνευση του υβριδικού γονιδίου *ETV6-RUNX1* σε αίμα του ομφάλιου λώρου και δείγματα αίματος από κάρτες Guthrie σε παιδιά που εμφάνισαν μεταγενέστερα ΟΛΛ ενισχύει την άποψη ότι η μετάθεση αποτελεί ένα γεγονός που συμβαίνει πριν την γέννηση. (Ford et al., 1998)(Greaves et al., 2003). Ωστόσο, η μετάθεση αυτή εντοπίζεται στο 5% των υγιών νεογνών, επομένως από μόνη της δεν είναι πιθανό να προκαλέσει λευχαιμία και απαιτεί συνοδά συμβάντα (second hit) που συνήθως περιλαμβάνουν μεταλλάξεις στα γονίδια που σχετίζονται με την ωρίμανση των B-κυττάρων. (Schäfer et al, 2018, Mullighan et al., 2007).

Η ύπαρξη του υβριδικού γονιδίου συνοδεύεται συχνά από ελλείψεις του αλληλομόρφου του *ETV6* που δεν συμμετέχει στην αμοιβαία μετάθεση και υπεραριθμίες του χρωμοσώματος 21 (είτε του φυσιολογικού είτε αυτού που προκύπτει απ' την μετάθεση) (Borst et al., 2012, Raynaud et al., 1999).

Αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι η μετάθεση *ETV6-RUNX1* δεν αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα και η προγνωστική αξία της φαίνεται να επηρεάζεται από παράγοντες

όπως η πρόωμη ανταπόκριση στην θεραπεία, η ηλικία και ο αριθμός των λευκών στην διάγνωση καθώς και το θεραπευτικό σχήμα (Loh *et al.*, 2006; Mattano *et al.*, 2021).

Η πρόγνωση των παιδιατρικών ασθενών που φέρουν την μετάθεση είναι εξαιρετική. Ακόμη και οι περιπτώσεις που περιγράφονται στην βιβλιογραφία σε ασθενείς με την μετάθεση αυτή παρουσιάζουν όψιμη υποτροπή εμφανίζουν πλήρη ύφεση της νόσου και υψηλά ποσοστά συνολικής 5ετους και 10ετους επιβίωσης. Λόγω των υποτροπών αυτών μια θεραπεία μεγαλύτερης διάρκειας ενδέχεται να επηρεάσει καθοριστικά την πρόγνωση στους ασθενείς αυτούς (Bhojwani *et al.*, 2012, Forestier *et al.*, 2008).

### **Αμοιβαία μετάθεση t(9;22)(q34;q11)**

Η αμοιβαία μετάθεση t(9;22)(q34;q11) οδηγεί στην σύντηξη του γονιδίου *BCR* (breakpoint cluster region protein) στη περιοχή 22q11 με το γονίδιο *ABL1* (tyrosine-protein kinase *ABL1*) στην περιοχή 9q34 με αποτέλεσμα τον σχηματισμό του υβριδικού γονιδίου *BCR-ABL*, γνωστό και ως χρωμόσωμα Φιλαδέλφεια. Εμφανίζεται στο 3-5% της παιδικής ΟΛΛ με σημαντικά υψηλότερη συχνότητα σε εφήβους, η οποία ανέρχεται στο 25%. Παρατηρείται συχνότερα σε ασθενείς με υψηλό αριθμό λευκοκυττάρων (Roberts *et al.*, 2014, Forghieri *et al.*, 2015).

Αν και η μετάθεση σχετίζεται ιστορικά με δυσμενή πρόγνωση και αποτελούσε ένδειξη για μεταμόσχευση μυελού των οστών, η θεραπεία με αναστολείς τυροσινικής κινάσης (TKIs) έχουν βελτιώσει σημαντικά την επιβίωση των ασθενών (Shen *et al.*, 2020) (Roberts, 2018). Παρόλα αυτά, σε ασθενείς με δευτερεύουσες συνυπάρχουσες μεταλλάξεις, όπως η διαγραφή του *IKZF1*, η πρόγνωση εξακολουθεί να είναι δυσμενής παρά την χρήση των αναστολέων. (Martinelli *et al.*, 2009).

Άλλες συχνές συνυπάρχουσες γενετικές ανωμαλίες σε ασθενείς με χρωμόσωμα Φιλαδέλφεια είναι οι διαγραφές των γονιδίων *PAX5* και *EBF1* και *CDKN2A/2B* (Notta *et al.*, 2011).

Οι ΟΛΛ σε ασθενείς που δεν παρουσιάζουν έκφραση του *BCR-ABL1* αλλά εμφανίζουν προφίλ γονιδιακής έκφρασης ανάλογο της *BCR-ABL1*-ΟΛΛ χαρακτηρίζονται ως Ph-ομοιάζουσες ΟΛΛ (Roberts *et al.*, 2018). Εμφανίζονται με συχνότητα περίπου 15% στα παιδιά και 21% στους εφήβους. (Jain *et al.*, 2020).

Σημείο αναφοράς της Ph-ομοιάζουσας ΟΛΛ είναι η ενεργοποιημένη σηματοδοτική οδός των κινασών με 50% των περιπτώσεων να περιλαμβάνουν μεταλλάξεις του γονιδίου

*CRLF2* και οι μισές από τις περιπτώσεις αυτές να παρουσιάζουν ταυτόχρονα μεταλλάξεις του *JAK* (Harvey *et al.*, 2010; Reshmi *et al.*, 2017).

Χαρακτηριστικό επίσης στις Ph-ομοιάζουσες ΟΛΛ είναι η υψηλή συχνότητα μεταλλάξεων ή διαγραφών του *IKZF1* (70% έως 80%) με αποτέλεσμα την παρουσία λευχαιμικών κυττάρων με ιδιότητες βλαστών που επάγουν αντίσταση στους αναστολείς τυροσινικής κινάσης. (Mullighan *et al.*, 2009).

Ένα άλλο γονίδιο που μεταλλάσσεται σε περίπου 30% των ασθενών με Ph-ομοιάζουσες ΟΛΛ είναι το *PAX5*. Συχνά οι μεταλλάξεις *IKZF1* και *PAX5* συνυπάρχουν (Ou *et al.*, 2016).

Σε ορισμένες απ' τις υπόλοιπες περιπτώσεις του τύπου της Ph-ομοιάζουσας ΟΛΛ παρατηρούνται μεταθέσεις που εμπλέκουν υβριδικά γονίδια της κατηγορίας του *ABL* που κωδικοποιούν τυροσινικές κινάσες, όπως τα *ABL1* (tyrosine-protein kinase ABL1), *ABL2* (tyrosine-protein kinase ABL2), *CSF1R* (colony stimulating factor 1 receptor), and *PDGFRB* (platelet-derived growth factor receptor beta) και εκφράζουν μεταλλαγμένες πρωτεΐνες οι οποίες ανταποκρίνονται σε θεραπεία με αναστολείς τυροσινικής κινάσης *in vitro* και *in vivo* (Roberts *et al.*, 2012). Η επίπτωση των συντήξεων γονιδίων της κατηγορίας του *ABL* είναι μικρότερη στους ασθενείς κανονικού κινδύνου (0.2%) απ' ό,τι σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (~ 4%) (Roberts, 2018).

Οι ασθενείς με Ph-ομοιάζουσες ΟΛΛ παρουσιάζουν υψηλότερο κίνδυνο αντίστασης της θεραπείας εφόδου, θετικό MRD, υψηλότερα ποσοστά υποτροπής (έως 70% στα 3 χρόνια) και μειωμένη συνολική επιβίωση. (Roberts *et al.*, 2014).

### **Αναδιατάξεις της περιοχής 11q23**

Το γονίδιο *KMT2A* (Histone-lysine K-methyltransferase 2A) (γνωστό και ως *MLL*) εντοπίζεται στη χρωμοσωμική θέση 11q23 και κωδικοποιεί μια μεθυλτρανσφεράση των ιστονών που συμμετέχει στην ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων απαραίτητων για την αιμοποίηση. (Ernst *et al.*, 2002).

Οι αναδιατάξεις του *KMT2A* γονιδίου οδηγούν στην δημιουργία χμαιρικών πρωτεϊνών με δυνατότητα νεοπλασματικής εξαλλαγής και αποτελούν μια κλινικά ετερογενή ομάδα με διαφορετική πρόγνωση, ανάλογα με το έτερο γονίδιο που εμπλέκεται στην αναδιάταξη. (Meyer *et al.*, 2018)

Η ΟΛΛ με αναδιατάξεις του γονιδίου *KMT2A* χαρακτηρίζονται από πρόδρομο-B ανοσοφαινότυπο, θετικό CD19, αρνητικό CD10 και συνέκφραση δεικτών της μυελικής σειράς όπως τα CD15, CD33 και CD68 (Pui *et al.*, 1998).

Αν και οι αναδιατάξεις αυτές εμφανίζονται μόνο στο 5% της παιδικής ΟΛΛ, εμφανίζουν ιδιαίτερα υψηλή συχνότητα στην βρεφική ΟΛΛ με ποσοστά της τάξης του 70-80% των περιπτώσεων (El Chaer *et al.*, 2020).

Τα βρέφη με *KMT2A* αναδιατάξεις εμφανίζουν υψηλή συχνότητα μεταλλάξεων στο σηματοδοτικό μονοπάτι τυροσινικής κινάσης/PI3K/RAS και έχουν εξαιρετικά δυσμενή πρόγνωση με την επιβίωση ελεύθερης νόσου να κυμαίνεται από 10-30% (Hunger *et al.* 2015, Pui *et al.*, 2012). Τα βρέφη αυτά εμφανίζουν συχνά υψηλό αριθμό λευκοκυττάρων, έχουν σε σχέση με τα παιδιά αυξημένο κίνδυνο προσβολής του ΚΝΣ και παρουσιάζουν κακή ανταπόκριση στην θεραπεία εφόδου (Pieters *et al.*, 2007).

Οι αναδιατάξεις του *KMT2A* γονιδίου φαίνεται σε ορισμένες περιπτώσεις να είναι ικανές από μόνες τους να προκαλέσουν την λευχαιμία ανεξάρτητη από την παρουσία πρόσθετων κυτταρογενετικών αλλοιώσεων και άλλων παραγόντων. (Andersson *et al.* 2015).

Συχνότερη αναδιάταξη (Pieters *et al.*, 2007) σε όλες τις ηλικίες, με ιδιαίτερα δυσμενή πρόγνωση (Pui *et al.*, 2002) είναι η αμοιβαία μετάθεση t(4;11)(q21;q23) που οδηγεί στην σύντηξη του γονιδίου *MLL* στην περιοχή 11q23 και του γονιδίου *AFF1* (γνωστό και ως *MLLT2*) στην περιοχή 4q21, καταλήγοντας στη δημιουργία του υβριδικού γονιδίου *MLL-AFF1* (Rowley *et al.*, 1990)

Η ύπαρξη του υβριδικού γονιδίου μπορεί να συνοδεύεται και από πρόσθετες γενετικές αλλοιώσεις όπως η τρισωμία 8, η τρισωμία X και το ισοχρωμόσωμα i(7)(q10) και η τρισωμία 8 (Johansson *et al.*, 1998) οι οποίες όμως δεν επηρεάζουν την πορεία της νόσου (Moorman *et al.*, 2005).

Η δεύτερη πιο συχνή αναδιάταξη είναι η t(9;11)(p22;q23) με προϊόν το υβριδικό γονίδιο *KMT2A-MLLT3* και η τρίτη συχνότερη η t(11;19)(q23;p13.3) που οδηγεί στον σχηματισμό του υβριδικού γονιδίου *KMT2A-MLLT1* (Meyer *et al.*, 2013). Η αναδιάταξη t(11;19)(q23;p13.3) εμφανίζεται στο 1% των περιπτώσεων τόσο στην Β- όσο και στην Τ-ΟΛΛ. Η έκβαση για μεγαλύτερα παιδιά με Τ-ΟΛΛ και t(11;19) φαίνεται να είναι σχετικά ευνοϊκή (Rubnitz *et al.*, 1999).

Μελέτες σε μοντέλα ποντικών δείχνουν ότι το γονίδιο Dot1L (Disruptor of Telomeric-Silencing 1 Like) φαίνεται παίζει σημαντικό ρόλο στην λευχαιμογένεση με σε περιπτώσεις με αναδιάταξη του *KMT2A*. Πιθανώς, η έκφραση των έτερων γονιδίων που συμβάλλουν στις αμοιβαίες μεταθέσεις να εξαρτάται από την υπερέκφραση του Dot1L. Επομένως, η χρήση

αναστολέων Dot1L μπορεί να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για στοχευμένη θεραπεία σε αυτήν την επιθετική λευχαιμία (Chen *et al.*, 2015)

### **Αναδιατάξεις της περιοχής t(1;19)(q23;p13.3)**

Το γονίδιο *TCF3* (Transcript Transcription factor 3) κωδικοποιεί μεταγραφικούς παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην σωστή ανάπτυξη και διαφοροποίηση των T και B λεμφοκυττάρων. (Aberuyi *et al.*, 2020). Το γονίδιο *TCF3* ρυθμίζει επίσης την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος (Quong *et al.*, 2002)

Η συχνότερη αναδιάταξη με ποσοστό 5-6% της παιδικής ΟΛΛ είναι η μετάθεση t(1;19)(q23;p13.3) που έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία του υβριδικού γονιδίου *TCF3-PBX1* (Pre-B-cell leukemia transcription factor 1). Η μετάθεση t(1;19) μπορεί να εμφανιστεί είτε ως ισορροπημένη μετατόπιση είτε ως μη ισορροπημένη μετατόπιση και είναι η κύρια αλλαγή που συναντάται επαναλαμβανόμενα στον προ-B ανοσοφαινότυπο. Η υβριδική πρωτεΐνη που κωδικοποιεί σχετίζεται με κακοήγη εξαλλαγή των κυττάρων του αιμοποιητικού και σχετίζεται με προ-B ανοσοφαινότυπο. (Ou *et al.*, 2016, Harrison *et al.* 2017, Roberts *et al.* 2019).

Αν και παλαιότερα η *TCF3-PBX1* ΟΛΛ σχετιζόταν με δυσμενή πρόγνωση λόγω της συχνής συμμετοχής του ΚΝΣ και των υψηλών ποσοστών υποτροπής, σήμερα με την εφαρμογή των σύγχρονων εντατικών χημειοθεραπευτικών πρωτοκόλλων ταξινομείται ως υπότυπος χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου. (Harrison *et al.*, 2017).

Πειραματόζωα με λευχαιμία και θετική την μετάθεση *TCF3-PBX1* παρουσιάζουν απώλεια των ογκοκατασταλτικών γονιδίων *PAX5* and *CDKN2A/2B* και σημειακές μεταλλάξεις που ενεργοποιούν τα σηματοδοτικά μονοπάτια JAK/STAT, RAS/MAPK (η ενεργοποίηση των βασικών αυτών σηματοδοτικών μονοπατιών απαιτείται για τον πολλαπλασιασμό των λευχαιμικών κυττάρων). Έτσι πιθανόν να προκύπτει θεραπευτικό όφελος απ' την στόχευση του υποδοχέα των προ-B κυττάρων με το dasatinib ή την αναστολή του σηματοδοτικού μονατιού JAK/STAT με το ruxolitinib. (Bicocca *et al.* 2012)

Μια ακόμη αναδιάταξη που παρατηρείται στο < 1% των περιπτώσεων ΟΛΛ είναι η μετάθεση t(17;19)(q22;p13) που οδηγεί στην δημιουργία του υβριδικού γονιδίου *TCF3-HLF* (hepatic leukemia factor). Η ΟΛΛ με την συγκεκριμένη μετάθεση σχετίζεται με διάχυτη ενδαγγειακή πήξη και υπερασβεστιαμία κατά τη διάγνωση. Σε ασθενείς που φέρουν την μετάθεση αυτή εντοπίζονται επιπλέον διαγραφές σε γονίδια που εμπλέκονται στην ανάπτυξη των B-κυττάρων, τα *PAX5*, *BTG1* (B-cell translocation gene 1) και *VPREB1*(V-Set Pre-B Cell

Surrogate Light Chain 1) και μεταλλάξεις σε γονίδια της σηματοδοτικής οδού RAS (*NRAS*, *KRAS* και *PTPN11*). (Fischer *et al.* 2015)

Αν και η αναδιάταξη αυτή παρουσιάζει εξαιρετικά δυσμενή πρόγνωση με συχνή υποτροπή και χαμηλά ποσοστά επιβίωσης, η πρόσφατη έρευνα έδειξε ανταπόκριση στην θεραπεία με venetoclax, έναν αναστολέα του *BCL2* (B-cell lymphoma 2) (Fischer *et al.* 2015, Hunger and Mullighan 2015, Roberts 2018).

Μια ακόμη πολλά υποσχόμενη θεραπεία για την βελτίωση της ύφεσης της νόσου είναι η θεραπεία με CAR (Chimeric antigen receptor) T-κύτταρα. (Wang *et al.*, 2021)

### **NUP214 (Nucleoporin 214) -ABL1 Μετάθεση**

Η αμοιβαία μετάθεση *NUP214-ABL1* ανιχνεύεται στο 4% -6% των περιπτώσεων T-ALL και παρατηρείται τόσο σε ενήλικες όσο και σε παιδιά, με μεγαλύτερη συχνότητα στο αρσενικό φύλο. Η μετάθεση είναι ανιχνεύσιμη στον *in situ* υβριδισμό (FISH) και δεν εντοπίζεται στον συμβατικό καρυότυπο. Σπανιότερα στην T-ΟΛΛ το γονίδιο *ABL1* υβριδίζεται με άλλα γονίδια (π.χ. *ETV6*, *BCR* και *EML1*) (Hagemeijer and Graux 2010).

Αν και η κλινική εμπειρία είναι αρκετά περιορισμένη, Οι ασθενείς με τέτοιες μεταθέσεις μπορεί να επωφεληθούν θεραπευτικά από χρήση αναστολέων τυροσινικής κινάσης όπως το imatinib ή το dasatinib (Graux 2009).

### **Απορρύθμιση του γονιδίου TAL1 (T-cell acute lymphocytic leukemia protein 1)**

Οι μεταλλάξεις του *TAL1* στο χρωμόσωμα 1p32 αποτελούν τις πιο κοινές αναδιατάξεις μεταγραφικών παραγόντων στην T-ΟΛΛ. Η μετατροπή του πρωτο-ογκογονιδίου σε ογκογονίδιο προκύπτει είτε από διαγραφή στο χρωμόσωμα 1p32 με αποτέλεσμα τον σχηματισμό του υβριδικού γονιδίου *SIL-TAL1* (15%), είτε από την μετάθεση t(1;14)(p32;q11) στην οποία το *TAL1* μετατοπίζεται στον γενετικό τόπο TRA/TRD (3%).155, 156 Σπανιότερα παρατηρείται η μετάθεση t(7;9)(q34;q32), όπου το γονίδιο *TAL2* μετατοπίζεται στον γενετικό τόπο TRB (Xia *et al.*, 1991).

Οι μεταλλάξεις του *TAL1* εμφανίζονται στο 40% των T-ΟΛΛ. Ανοσοφαινοτυπικά ο τύπος αυτός εμφανίζει χαρακτηριστικά ώριμου θυμοκυττάρου του φλοιού (CD4+, CD8+, CD3+) (Liu *et al.*, 2017).

Αν και αποτελούν τις πιο κοινές μεταλλάξεις μεταγραφικών παραγόντων στην T-ALL, μελέτες σε διαγονιδιακά ποντίκια δείχνουν ότι μόνο το 30% των πειραματόζωων με την

μετάλλαξη αυτή αναπτύσσει T-ΟΛΛ. Έτσι φαίνεται να απαιτούνται επιπρόσθετοι παράγοντες για την κακοήγη εξαλλαγή των κυττάρων (Tan *et al.*, 2019).

Σε ασθενείς με T ΟΛΛ λόγω ενεργοποίησης του ογκογονιδίου *TAL1* ανιχνεύονται συχνά μεταλλάξεις της σηματοδοτικής οδού PI3K-AKT. Οι μεταλλάξεις αυτές συνδέονται με αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή. Η αντίσταση αυτή μπορεί να υπερκεραστεί με αναστολή της σηματοδοτικής αυτής οδού (Liu *et al.*, 2017).

### **B2.3 Αναδιατάξεις και διαγραφές γονιδίων**

#### **Αναδιατάξεις του γονιδίου *DUX4* (double homeobox 4) με συχνές διαγραφές του *ERG* (ETS-related gene)**

Η αναδιάταξη και υπερέκφραση του γονιδίου *DUX4* φαίνεται να είναι ένα πρώιμο συμβάν στην διαδικασία της λευχαιμογένεσης, πραγματοποιείται σε ενισχυτές με συχνότερο των ενισχυτή της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών IGH (Immunoglobulin heavy chain) και έχει ως αποτέλεσμα την μεταγραφική απορρύθμιση του *ERG* και συχνές περιπτώσεις διαγραφής του *ERG* μέσω RAG (recombination-activating gene). Η αναδιάταξη του *DUX4* οδηγεί σε ένα τελικό προϊόν το οποίο συνδέεται σε μια ενδογονιδιακή περιοχή του *ERG* και οδηγεί στην μεταγραφή ενός επιπλέον εξονίου το οποίο φυσιολογικά δεν μεταγράφεται, με αποτέλεσμα ένα νέο μετάγραφο, το ERGalt. Το τελικό προϊόν της έκφρασης του ERGalt αναστέλλει την μεταγραφική δραστηριότητα του φυσιολογικού *ERG* και παίζει ρόλο στην λευχαιμογένεση. Οι συχνότερες αναδιατάξεις που προκύπτουν είναι η *IGH-DUX4* και η *ERG-DUX4*. (Yasuda *et al.*, 2016, Zhang *et al.* 2016, Lilljebjörn *et al.*, 2016).

Περίπου 5% των ασθενών κανονικού κινδύνου και 10% των ασθενών υψηλού κινδύνου με B- ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας παρουσιάζουν αναδιάταξη του γονιδίου *DUX4* που οδηγεί σε υπερέκφρασή του. Η συχνότητα σε νεαρούς εφήβους άνω των 15 ετών είναι περίπου 10%. Στο 20-40% των ασθενών με αναδιάταξη του *DUX4* συνυπάρχουν και διαγραφές του γονιδίου *IKZF1* (Zhang *et al.*, 2016, Lilljebjörn *et al.*, 2016).

Η διαγραφή του *ERG* σχετίζεται με εξαιρετική πρόγνωση, με την ολική επιβίωση να υπερβαίνει το 90% ακόμη και στις περιπτώσεις που υπάρχει η διαγραφή του γονιδίου *IKZF1*. Αν και οι περιπτώσεις με αναδιατάξεις του *DUX4* παρουσιάζουν ευνοϊκή πρόγνωση, δεν διευκρινίζεται αν αυτό ισχύει τόσο για τις περιπτώσεις με διαγραφή του *ERG* όσο και για τις περιπτώσεις χωρίς την διαγραφή. Σε μια μελέτη 50 ασθενών με ΟΛΛ με αναδιατάξεις του *DUX4*, φαίνεται ότι οι ασθενείς με την διαγραφή είχαν EFS περίπου 90% σε σύγκριση 70% στους ασθενείς χωρίς την διαγραφή. (Zaliova *et al.*, 2019).



Οι περιπτώσεις αυτές αποτελούν έναν ξεχωριστό υπότυπο της Β-ΟΛΛ με χαρακτηριστικό ανοσοφαινότυπο (με παρουσία του CD2 και το CD371 που είναι παθολογικό για αυτόν τον τύπο ΟΛΛ) με ποσοστό εμφάνισης 5-10% και μια ελαφρώς αυξημένη συχνότητα στους εφήβους και νεαρούς ενήλικες. (Yasuda *et al.*, 2016, Zhang *et al.*, 2016, Schinnerl *et al.*, 2018).

Η στόχευση του μεταγραφικού προϊόντος του *DUX4* με χρήση shRNA θα μπορούσε να αποτελέσει μια νέα θεραπευτική προσέγγιση στο μέλλον για τον υπότυπο αυτό. (Yasuda *et al.*, 2016)

### **Διαγραφές του γονιδίου IKZF (IKAROS Family Zinc Finger 1)**

Τα γονίδια *IKZF* κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες και χωρίζονται σε πέντε κατηγορίες: *IKZF1* (κωδικοποιεί την πρωτεΐνη IKAROS), *IKZF2* (κωδικοποιεί την πρωτεΐνη HELIOS), *IKZF3* (κωδικοποιεί την πρωτεΐνη AIOLOS), *IKZF4* (κωδικοποιεί την πρωτεΐνη EOS) και *IKZF5* (κωδικοποιεί την πρωτεΐνη PEGASUS) (Yilmaz *et al.*, 2021)

Το *IKZF1* βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 7 στη περιοχή 7p12.2, κωδικοποιεί 11 διαφορετικές παραλλαγές της πρωτεΐνης λόγω διαφορετικού ματίσματος (Georgopoulos *et al.* 1994), εκφράζεται στα λεμφοκύτταρα και παίζει καταλυτικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίησή τους, ειδικότερα στην ενεργοποίηση και ανάπτυξη των Β-κυττάρων, (Heizmann *et al.*, 2018, Chen *et al.*, 2018) και ρυθμίζει επίσης γονίδια που ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο και την κυτταρική επιβίωση (Georgopoulos *et al.*, 1994).

Η πρωτεΐνη IKAROS εμπλέκεται ακόμη στην λειτουργία και άλλων κυττάρων του ανοσοποιητικού, όπως των NK κυττάρων και των δενδριτικών κυττάρων (Papatriantafyllou, 2013, Boggs *et al.*, 1998).

Η διαγραφή του *IKZF1* μπορεί να αναφέρεται σε διαγραφή ολόκληρου του γονιδίου ή διαγραφή συγκεκριμένων εξονίων. Λιγότερο συχνά μπορεί να προκύψει απενεργοποίηση του γονιδίου λόγω σημειακών μεταλλάξεων. (Mullighan *et al.*, 2009)

Τα ελλείματα του γονιδίου *IKZF1* παρατηρούνται στο 16–27% της παιδικής Β-ALL (Mullighan *et al.*, 2008) και εμφανίζονται με συχνότητα 85% στην *BCR-ABL1* ΟΛΛ και 70% στην *BCR-ABL1*-ομοιάζουσα ΟΛΛ (Marke *et al.*, 2018). Η παρουσία των ελλειμάτων στην *BCR-ABL1* ΟΛΛ ενδέχεται να συμβάλλει σε μειωμένη ανταπόκριση στην θεραπεία λόγω αντίστασης στους αναστολείς τυροσινικής κινάσης (van der Veer *et al.*, 2014). Οι διαγραφές του *IKZF1* ανιχνεύονται στο 3% των ασθενών με αναδιατάξεις του *TCF3* (3%) και στο 3%

των ασθενών με προ-B ΟΛΛ και παρουσία της μετάθεσης *ETV6-RUNX1*. Στους υπόλοιπους υποτύπους της Β ΟΛΛ η συχνότητα εμφάνισης κυμαίνεται από 15-20%. (Marke *et al.*, 2018)

Τα ελλείματα του γονιδίου *IKZF1* σχετίζονται με μεγαλύτερη ηλικία κατά την διάγνωση, ψηλότερα επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων και παρουσία ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (MRD) μετά την θεραπεία εφόδου και την θεραπεία σταθεροποίησης (Stanulla *et al.*, 2020). Επίσης οι ασθενείς παρουσιάζουν μειωμένη πενταετή και συνολική επιβίωση και αυξημένο κίνδυνο υποτροπής (Kuiper *et al.*, 2007).

Πρόσφατα, εντοπίστηκε ένας υπότυπος με εξαιρετικά δυσμενή πρόγνωση, ο *IKZF1* plus, που χαρακτηρίζεται από ελλείματα του *IKZF1* που συνυπάρχουν με ελλείματα στα γονίδια *CDKN2A*, *CDKN2B*, *PAX5* ή *PARI* (Pseudoautosomal region 1) χωρίς παρουσία της διαγραφής του ERG. Στην διεθνή πολυκεντρική δοκιμή AIEOP-BFM ALL 2000 μόλις το 53% των ασθενών είχαν 5ετή επιβίωση χωρίς υποτροπή σε σύγκριση με το 79% των ασθενών με έλλειμα μόνο του *IKZF1* και το 87% χωρίς ελλείματα (Stanulla *et al.*, 2018).

Ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών συνηγορεί στο ότι η δυσλειτουργία του *IKZF1* μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού PI3K/AKT/mTOR και αυτό, με τη σειρά του, προάγει την αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή, τα οποία αποτελούν τα βασικότερα στοιχεία της θεραπείας ασθενών με ΟΛΛ (Piovan *et al.*, 2013)

Εκτός από τη σημασία τους στην παθογένεση της λευχαιμίας και τη δυσμενή πρόγνωση στην παιδιατρική B-ALL, οι αλλοιώσεις του γονιδίου *IKZF1* είναι πολύτιμοι προγνωστικοί δείκτες και πρέπει να περιλαμβάνονται σε αλγόριθμους για την πρόωμη διαστρωμάτωση κινδύνου στη θεραπεία της παιδιατρικής BCP-ALL. (Lejman *et al.*, 2022)

### **Ανακατατάξεις του γονιδίου MEF2D (Myocyte Enhancer Factor- 2D)**

Το γονίδιο *MEF2D* κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα που εμπλέκεται στην διαφοροποίηση των μυϊκών και νευρικών κυττάρων, στον σχηματισμό των αγγείων και την ανταπόκριση του αυξητικού παράγοντα (Potthoff and Olson, 2007)

Οι ανακατατάξεις του *MEF2D* εμφανίζονται στο 4% των παιδιατρικών ασθενών (Jeha *et al.*, 2021), συνήθως παρουσιάζονται σε παιδιά μεγαλύτερων ηλικιών και έχουν σχετικά δυσμενή έκβαση λόγω πρόωμης υποτροπής. (Suzuki *et al.*, 2016)

Ο ανοσοφαινότυπος χαρακτηρίζεται από χαμηλή ή απουσία έκφρασης του CD10, υψηλή έκφραση του CD38 και της κυτταροπλασματικής μ αλυσίδας. (Suzuki *et al.*, 2016)

Το N άκρο του γονιδίου *MEF2D* υβριδίζεται με πολλά διαφορετικά γονίδια διατηρώντας την περιοχή δέσμευσης του DNA (Suzuki *et al.*, 2016). Πιο συχνά υβριδίζεται με

το *BCL9* (B- cell lymphoma 9) που εδράζεται στο χρωμόσωμα 1q2, όπως και το *MEF2D*. Το παραγόμενο υβριδικό προϊόν *MEF2D-BCL9* είναι πολύ μικρό για να ανιχνευτεί με συμβατικές κυτταρογενετικές μεθόδους. Υβριδισμοί έχουν περιγραφεί επίσης με τα *CSF1R* (Colony Stimulating Factor 1 Receptor), *HNRNPUL1* (Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein U-like Protein 1), *FOXJ2* (Forkhead Box Protein J2) και *DAZAPI* (DAZ-associated protein 1) (Malard and Mohty, 2020).

Μέσω μηχανισμών που εμπλεκουν miRNA αναστέλλεται η αποδόμηση της παραγόμενης υβριδικής πρωτεΐνης. Η υψηλή έκφρασή της έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη μεταγραφική δραστηριότητα του *MEF2D*, γεγονός που ευνοεί λευχαιμογένεση (Malard and Mohty, 2020).

Παρόλα αυτά η αυξημένη μεταγραφική δραστηριότητα του *MEF2D*, οδηγεί σε υπερέκφραση των γονιδίων στόχων του, όπως του *HDAC9* (histone deacetylase 9), γεγονός που ευνοεί την ανταπόκριση σε αναστολείς του *HDAC9* όπως η πανοβινοστάτη (Gu *et al.*, 2016).

#### **Ανακατατάξεις του γονιδίου ZNF384 (zinc finger protein 384)**

Το γονίδιο *ZNF384* βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12p13.31 είναι υπεύθυνο για την κωδικοποίηση ενός μεταγραφικού παράγοντα που εμπλέκεται στη ρύθμιση των μεταλλοπρωτεϊνών (Nakamoto *et al.*, 2000).

Οι ανακατατάξεις του *ZNF384* αντιπροσωπεύουν περίπου το 3-5% των περιπτώσεων παιδικής ηλικίας και το 7-10% της λευχαιμίας σε εφήβους και νεαρούς ενήλικες (Liu *et al.*, 2016). Έχουν αναφερθεί διάφορα γονίδια σύντηξης, με συχνότερα τα *EP300* (histone acetyltransferase p300), *TAF15* (TATA-binding protein-associated factor 2N) και *TCF3* (transcription factor 3). Άλλα γονίδια σύντηξης αποτελούν τα *ARID1B* (AT-rich interaction domain 1B), *CREBBP* (CREB-binding protein), *SMARCA2* (SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily A, member 2). (Hirabayashi *et al.*, 2017).

Οι αναδιάταξεις του γονιδίου *ZNF384* παρουσιάζονται στην προ-B ΟΛΛ ή μεικτού φαινοτύπου οξεία λευχαιμία (MPAL) (Alexander *et al.*, 2018). Στην προ-B ΟΛΛ η ηλικία εμφάνισης και η πρόγνωση εξαρτώνται από το έτερο γονίδιο που συμβάλλει στον σχηματισμό του υβριδικού προϊόντος. Στην περίπτωση παρουσίας μετάθεσης *EP300-ZNF384*, η μέση ηλικία εμφάνισης είναι τα 11 έτη και η νόσος χαρακτηρίζεται από εξαιρετικά ευνοϊκή πρόγνωση. Η προ-B ΟΛΛ με μετάθεση *TCF3-ZNF384* έχει μέση ηλικία εμφάνισης τα 5 έτη

και εμφανίζει συχνή όψιμη υποτροπή. (Gu *et al.*, 2019, Hirabayashi *et al.* 2016, Hibarashi *et al.* 2019).

Ο ανοσοφαινότυπος της B- ΟΛΛ με αναδιάταξη του *ZNF384* χαρακτηρίζεται από ασθενή ή αρνητική έκφραση του CD10 και έκφραση του CD13 και/ή του CD33, γεγονός που υποδηλώνει παρουσία λεμφικών και μυελικών αντιγόνων. Άρα η αναδιάταξη αυτή φαίνεται να συμβαίνει στα πρώιμα στάδια της διαφοροποίησης του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου (Malard and Mohty, 2020).

Έτσι όλες οι περιπτώσεις με αναδιάταξη του *ZNF384* δεν θα πρέπει να αντιμετωπίζονται θεραπευτικά το ίδιο αλλά ανάλογα με την επικρατούσα σειρά (λεμφική ή μυελική) στην εκάστοτε περίπτωση. (Mullighan 2019).

Στην ΟΛΛ με αναδιάταξη του *ZNF384* παρατηρούνται επίσης διαγραφές σε ρυθμιστικά γονίδια των λεμφοκυττάρων όπως *LEF1* (lymphoid enhancer binding factor 1), *EBF1* (Early B-Cell Factor 1), *CDKN2A* (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A), *FBXW7* (F-box/WD repeat-containing protein 7) και *ETV6* (ETS variant transcription factor 6). (Shago *et al.* 2016).

Στην προ-B ΟΛΛ ο παράγοντας *CLCF1* (ardiotrophin-like cytokine factor 1) υφίσταται ανοδική ρύθμιση και προσδεόμενος στο *CRLF1* (cytokine receptor-like factor 1) οδηγεί στην ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού JAK-STAT και τον πολλαπλασιασμό των B-κυττάρων *in vivo*. Στον υπότυπο αυτό και η σηματοδοτική οδός MAPK υφίσταται ανοδική ρύθμιση. (Li *et al.* 2018). Στο 60% των ασθενών με αναδιατάξεις του *ZNF384* παρατηρούνται μεταλλάξεις και σε σηματοδοτικά μόρια όπως το *NRAS* και το *FLT3* (fms like tyrosine kinase 3). Λαμβάνοντας υπ όψιν τα δεδομένα αυτά, η υπερέκφραση του *FLT3* είναι χαρακτηριστική και μπορεί να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο του sunitinib που δρα ως αναστολέας πολλαπλών κινασών (Mullighan 2019).

### **Ανακατατάξεις του γονιδίου CRLF2 (cytokine receptor-like factor 2)**

Το *CRLF2* γονίδιο (cytokine receptor-like factor 2) βρίσκεται στην ψευδοαυτοσωμική περιοχή των φυλετικών χρωμοσωμάτων και κωδικοποιεί έναν ετεροδιμερή υποδοχέα (IL7Ra) για τη θυμική στρωματική λεμφοποιητίνη που ελέγχει διαδικασίες όπως ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων και η ανάπτυξη των B-κυττάρων μέσω της ενεργοποίησης των μονοπατιών *STAT3*, *STAT5* και *JAK2* (Pandey *et al.*, 2000).

Οι αναδιατάξεις του γονιδίου *CRLF2* εντοπίζονται στο 5% των περιπτώσεων προ-B ΟΛΛ, στο 30% των ασθενών με άλλους υποτύπους της Β ΟΛΛ και >50% των ασθενών με ΟΛΛ και στο σύνδρομο Down (Buitenkamp *et al.*, 2012).

Οι χρωμοσωμικές αλλαγές που συνήθως οδηγούν σε υπερέκφραση του *CRLF2* είναι οι μετατοπίσεις του γονιδίου *CRLF2* στην περιοχή του ενισχυτή του γονιδίου της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών (IGH), στο χρωμόσωμα 14q32.3 και οι διαγραφές εντός της ψευδοαυτοσωματικής περιοχής (PAR1) στο p σκέλος των φυλετικών χρωμοσωμάτων, με αποτέλεσμα την δημιουργία του υβριδικού προϊόντος *P2RY8-CRLF2*. (Roberts *et al.*, 2018). Η μετάθεση *P2RY8-CRLF2* εμφανίζεται στο 70% έως 75% των παιδιατρικών ασθενών με ανακατατάξεις του *CRLF2* και εμφανίζεται σε νεότερους ασθενείς με μέση ηλικία τα 4 έτη σε σύγκριση με την μετάθεση *IGH-CRLF2* που έχει μέση ηλικία εμφάνισης τα 14 έτη. Η μετάθεση *P2RY8-CRLF2* μπορεί να εμφανίζεται ταυτόχρονα με άλλες χρωμοσωμικές ανωμαλίες (π.χ. υπερδιπλοειδία, iAMP21, dic(9;20)) σε αντίθεση με την μετάθεση *IGH-CRLF2* που δεν συνυπάρχει με άλλες γνωστές κυτταρογενετικές υποομάδες. (Vesely *et al.* 2017). Οι ασθενείς με *P2RY8-CRLF2* εμφανίζουν δυσμενή πρόγνωση που οφείλεται κυρίως στην αυξημένη συχνότητα των υποτροπών (Palmi *et al.*, 2012).

Οι αναδιατάξεις του *CRLF2* συνυπάρχουν συχνά με διαγραφές του *IKZF1* και *JAK1/2* μεταλλάξεις με επακόλουθο την ενεργοποίηση των *JAK/STAT* και *PI3K/ mTOR* σηματοδοτικών μονοπατιών. (Harvey *et al.*, 2010) (Roberts *et al.*, 2018). Έτσι τα πρόσφατα θεραπευτικά πρωτόκολλα επιδιώκουν την βελτίωση της έκβασης των ασθενών αυτών με την χρήση JAK αναστολέων (Roberts *et al.*, 2018).

### **Μεταλλάξεις του γονιδίου PAX5 (Paired Box 5)**

Το γονίδιο *PAX5* εδράζεται στο χρωμόσωμα 9p13 και κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα που αποτελεί ουσιαστικό ρυθμιστή των πρώιμων σταδίων της ανάπτυξης των Β κυττάρων. Το γονίδιο *PAX5* αποτελεί τον σημαντικότερο στόχο σωματικών μεταλλάξεων στην προ-B ΟΛΛ στα παιδιά, με τη μετάλλαξή του να θεωρείται ως μία από τις πιο κοινές γενετικές βλάβες στην Β ΟΛΛ (Familiades *et al.*, 2009).

Οι μεταλλάξεις του *PAX5* περιλαμβάνουν αλλαγές του αριθμού αντιγράφων DNA (CNVs), μεταλλάξεις αλληλουχίας και χρωμοσωμικές μεταθέσεις με συχνότητα εμφάνισης 30% στην περίπτωση CNVs, 5–9% σε μη σιωπηρές μεταλλάξεις της αλληλουχίας του DNA, 5–7% σε παιδιά και 2–4 % σε ενήλικες με χρωμοσωμικές μεταθέσεις (Gu *et al.*, 2019).

Δύο υπότυποι των μεταλλάξεων του γονιδίου συμβάλλουν στην ανάπτυξη της Β ΟΛΛ. Ο πρώτος υπότυπος είναι γνωστός ως *PAX5*-altered (*PAX5alt*) και περιλαμβάνει διάφορες αλλαγές, όπως αναδιατάξεις, εστιακές/ενδογονιδιακές ενισχύσεις ή μεταλλάξεις. Η εμφάνισή του είναι πιο συχνή στα παιδιά, σε εφήβους και νεαρούς ενήλικες. Η παρουσία του υποτύπου εμφανίζεται στο 7–10% των περιπτώσεων παιδιών με προ-Β ΟΛΛ. Περισσότερα από 20 γονίδια μπορούν να υβριδιστούν με το *PAX5*, με πιο κοινή την μετάθεση *PAX5-ETV6*, την κύρια γενετική αλλαγή στο *dic(9;12)(p13;p13)*. Σύμφωνα με τα κριτήρια του Εθνικού Ινστιτούτου Καρκίνου, τα παιδιά με τον υπότυπο *PAX5*-altered (*PAX5alt*) έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες να ταξινομηθούν ως υψηλού κινδύνου (Gu *et al.* 2019).

Στο 1% των περιπτώσεων παρατηρείται ενδογονιδιακή ενίσχυση του *PAX5*, η οποία εμφανίζεται συνήθως στο αντρικό φύλο με ποσοστό 66% και αποτελεί τύπο υψηλού κινδύνου στο 55% των περιπτώσεων. (Schwab *et al.*, 2017).

Η δεύτερη μετάλλαξη είναι η *PAX5* p.Pro80Arg (P80R), εμφανίζεται συχνότερα σε εφήβους και νεαρούς ενήλικες και στους ενήλικες παρά στα παιδιά με ΟΛΛ. Η μετάλλαξη αυτή μπορεί να συνοδεύεται από διαγραφή και των δύο αλληλομόρφων του *CDKN2A*, μεταλλάξεις που αδρανοποιούν τον επιγενετικό παράγοντα SETD2 (SET domain containing 2) και αδρανοποίηση του φυσιολογικού *PAX5* αλληλομόρφου (Gu *et al.*, 2019). Το γεγονός ότι η P80R συνυπάρχει και με μεταλλάξεις του σηματοδοτικού μονοπατιού που περιλαμβάνουν το *Ras*, *JAK/STAT*, *FLT3*, *BRAF* και *PIK3CA* θα μπορούσε δυνητικά να αξιοποιηθεί για την ανάπτυξη στοχευμένης θεραπείας (Gu *et al.*, 2019).

Και οι δύο υπότυποι σχετίζονται με μέτρια έκβαση. Η υψηλή γενετική ετερογένεια των μεταλλάξεων του *PAX5* φαίνεται να απαιτεί συνδυαστική θεραπευτική προσέγγιση με συνδυασμό χημειοθεραπείας, ανοσοθεραπείας και ποικίλων αναστολέων (Li *et al.*, 2021).

### **Ελλείμματα του *CDKN2A* γονιδίου**

Το γονίδιο *CDKN2A* (γνωστό ως *INK4A* ή *P16-INK4A*) είναι ένας αναστολέας κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης που κωδικοποιεί δύο πρωτεΐνες, την p16 (p16INK4a) και την p14arf, και βρίσκεται στην χρωμόσωμική περιοχή 9p21.3. Η πρωτεΐνη p16 είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας των κυκλινοεξαρτώμενων κινάσεων CDK4 και CDK6. Η πρωτεΐνη p14arf ενεργοποιεί το TP53 δεσμευόμενη στην πρωτεΐνη MDM2 (Mouse double minute 2 homolog) που σταθεροποιεί το p53. Οι πιο κοινές αλλαγές είναι διαγραφές του γονιδίου, παρατηρούνται στο 25% όλων των ασθενών με ΟΛΛ και στο 5-20% των ασθενών με προ-Β ΟΛΛ. (Salas *et al.*, 2016).

Συχνά συνυπάρχουν με διαγραφές του *PAX5* και παρατηρούνται στην Ph + ΟΛΛ και Ph-like ΟΛΛ. Σπανιότερα συνυπάρχουν στους υποτύπους με την μετάθεση *ETV6-RUNX1* και σε ασθενείς με υπερδιπλοϊδία. (Steehgs *et al.*, 2019).

Ακόμη και στις περιπτώσεις όπου υπάρχει η μετάθεση *ETV6-RUNX1* που θεωρείται ευνοϊκός προγνωστικός παράγοντας, η παρουσία ομόζυγου ελλείμματος επηρεάζει αρνητικά την πρόγνωση της νόσου σε σημαντικό βαθμό. Η πρόγνωση στις περιπτώσεις ετερόζυγου ελλείμματος δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη επαρκώς και ενδέχεται να σχετίζεται με την λειτουργικότητα των p16/p14 και στο χρωμόσωμα που δεν υπάρχει η έλλειψη. (Ampatzidou *et al.*, 2018).

### **Μεταλλάξεις του γονιδίου Notch**

Το *NOTCH1* γονίδιο κωδικοποιεί έναν διαμεμβρανικό υποδοχέα που παίζει ρόλο στην ρύθμιση της ανάπτυξης και διαφοροποίησης των Τ κυττάρων. Η ανώμαλη ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού *NOTCH1* παρατηρείται περίπου στο 60% των περιπτώσεων Τ-ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας με συχνότερα μεταλλαγμένα γονίδια το *NOTCH1* και *FBXW7*. (Liu *et al.*, 2017).

Αυτοί οι δύο τύποι μεταλλάξεων που ενεργοποιούν το *NOTCH1* συνυπάρχουν σε περισσότερο από το 20% του Τ-ALL και δρουν συνεργικά (Weng *et al.*, 2004).

Η προγνωστική αξία των μεταλλάξεων αυτών μπορεί να επηρεαστεί από γενετικές αλλαγές στα γονίδια *RAS* και *PTEN*. Η γαλλική ομάδα μελέτης οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας (FRALLE) και η ομάδα έρευνας για ενήλικες ομάδες οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας αναφέρουν ότι οι ασθενείς με μεταλλάξεις *NOTCH1 / FBXW7* και wild-type *PTEN/RAS* έχουν καλή πρόγνωση ενώ ασθενείς με μεταλλάξεις στα *PTEN/RAS* έχουν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο αποτυχίας της θεραπείας ανεξάρτητα από την ύπαρξη ή μη μεταλλάξεων στα *NOTCH1 / FBXW7*. (Petit *et al.*, 2018).

Λόγω του σημαντικού ρόλου της σηματοδοτικής οδού *NOTCH1* στην Τ-ALL, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές προκλινικές μελέτες με αναστολείς της εκκρινάσης Υ (GSI), που αναστέλλουν την σηματοδοτική οδό. Αν και ο συνδυασμός GSI και γλυκοκορτικοειδών είναι πολλά υποσχόμενος υπάρχουν περιορισμοί στην συγκεκριμένη θεραπεία λόγω μη επαρκούς ανταπόκρισης και λόγω περιορισμών στην δοσολογία εξαιτίας παρενεργειών στο γαστρεντερικό (Real *et al.* 2008).

## Πρώιμη λεμφοβλαστική λευχαιμία από πρόδρομο T-κύτταρα

Η πρώιμη λεμφοβλαστική λευχαιμία από πρόδρομο T-κύτταρα (ETP T-ΟΛΛ) αποτελεί μια ξεχωριστή κλινική οντότητα, εξαιρετικά ετερογενή σε μοριακό επίπεδο με γενετικά και ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά που προσομοιάζουν σε αιμοποιητικό βλαστοκύτταρο παρά σε ένα πρόδρομο T-κύτταρο. (Zhang *et al.*, 2012).

Ο τύπος αυτός της T-ΟΛΛ σχετίζεται με ενεργοποιητικές μεταλλάξεις στο σηματοδοτικό μονοπάτι Ras και σε γονίδια που ρυθμίζουν υποδοχείς κυτταροκινών, με αδρανοποιητικές μεταλλάξεις στα γονίδια *ETV6*, *RUNX1*, *IKZF1*, *GATA3* και *EP300* και με μεταλλάξεις σε γονίδια που σχετίζονται με την τροποποίηση των ιστονών (*EZH2*, *EED*, *SUZ12*, *SETD2* και *EP300*). (Zhang *et al.*, 2012).

## Γ. ΝΕΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΚΑΙ ΟΛΛ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ

Η ταχεία αύξηση της συνολικής επιβίωσης της ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα επιτεύγματα της σύγχρονης ιατρικής. Συνιστώσες της επιτυχίας αυτής αποτέλεσαν η εφαρμογή εξατομικευμένης θεραπείας με βάση τα κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά της νόσου, η ανάπτυξη θεραπευτικών παραγόντων που στοχεύουν σε συγκεκριμένες μοριακές βλάβες του καρκινικού κυττάρου καθώς και η διεθνής συνεργασία ομάδων εργασίας που έδρασαν μεθοδικά και οργανωμένα με πρωτόκολλα τα οποία εφαρμόστηκαν ταυτόχρονα σε πολυάριθμες κλινικές δοκιμές και επέτρεψαν την σύγκριση δεδομένων και την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων για την διάγνωση και την ανταπόκριση στην θεραπεία της νόσου. (Pui *et al.*, 2015).

Η σημαντική αυτή πρόοδος δεν θα ήταν δυνατή χωρίς την ανάπτυξη της αλληλούχισης νέας γενιάς ή NGS (Next-Generation Sequencing). Η αλληλούχιση νέας γενιάς είναι μια μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού εκατομμυρίων βάσεων του DNA και αποτελεί ένα από τα εργαλεία αναφοράς του Προγράμματος Χαρτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος που ολοκληρώθηκε το 2003. Έκτοτε οι μέθοδοι και ο χρόνος αλληλούχισης έχουν βελτιωθεί σημαντικά επιτρέποντας την εφαρμογή της μεθόδου στην κλινική πράξη. Η αλληλούχιση νέας γενιάς βρίσκει ευρεία εφαρμογή και στην ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας. Χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο για την ανίχνευση γενετικών αλλαγών που συμβάλλουν στην λευχαιμογένεση, για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στην θεραπεία και την τοξικότητα των φαρμάκων καθώς και για τον προσδιορισμό της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (MRD) (Mullighan *et al.*, 2007, Lindqvist *et al.* 2016).



Πρόσφατες μελέτες εκτίμησης του που βασίζονται στην τεχνολογία NGS έδειξαν αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου σε σχέση με τις κλασικές μεθόδους όπως η πολύχρωμη κυτταρομετρία ροής ή η ποσοτική PCR (qPCR) τόσο στην Β- όσο και στην Τ-ΟΛΛ (Faham *et al.* 2012, Wu *et al.* 2012). Συγκεκριμένα με την μέθοδο NGS ανιχνεύεται μια βλάστη ανάμεσα σε 1 εκατομμύριο φυσιολογικά κύτταρα, παρουσιάζοντας έτσι 10 φορές μεγαλύτερη ευαισθησία από την qPCR και 100 φορές μεγαλύτερη ευαισθησία από την κυτταρομετρία ροής. (van der Velden *et al.* 2017, Coustan-Smith *et al.* 2011).

Έτσι πολύ γρήγορα η μέθοδος NGS συνέβαλε καθοριστικά στην κατανόηση της νόσου σε γενετικό επίπεδο, την διάγνωση και την εξατομικευμένη θεραπεία και στον προσδιορισμό γονιδίων που αποτελούν σημαντικούς βιοδείκτες για την πορεία και την πρόγνωση της νόσου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου στην κλινική πράξη είναι το παιδιατρικό νοσοκομείο Saint Jude στον Τενεσί των ΗΠΑ. Με τεχνικές NGS εντοπίστηκαν υπομικροσκοπικές μεταβολές, με βάση τις οποίες εφαρμόστηκαν κατά περίπτωση διαφορετικά χημειοθεραπευτικά πρωτόκολλα. Η ανταπόκριση στην θεραπεία αξιολογήθηκε επίσης με την εφαρμογή τεχνικών NGS μέσω MRD. Η ένταξη της μεθόδου στην αντιμετώπιση της ΟΛΛ είχε σαν αποτέλεσμα ποσοστά 5ετούς επιβίωσης της τάξης του 94% (Inaba *et al.* 2017).

Αν και οι εφαρμογές της αλληλούχισης νέας γενιάς είναι πλέον πολυάριθμες, εξακολουθεί να παραμένει μια τεχνική με υψηλό κόστος, ενώ η ακρίβεια της μεθόδου χρήζει βελτιώσεων.

## **Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Η εκτεταμένη γενετική ετερογένεια που χαρακτηρίζει την οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία της παιδικής ηλικίας παρέχει την δυνατότητα χρήσης μιας πληθώρας γενετικών μεταβολών ως βιοδείκτες για μια πιο στοχευμένη διαγνωστική προσέγγιση και αντιμετώπιση του ποδιατρικού ασθενούς. Η ραγδαία ανάπτυξη νέων μεθόδων γονιδιωματικής ανάλυσης έχει επιφέρει μεγάλη αλλαγή στον τρόπο με τον οποίο πλέον κλινικοί γιατροί και ερευνητές προσεγγίζουν την νόσο. Ο προσδιορισμός του γενετικού προφίλ της λευχαιμίας αποτελεί πολύτιμο εργαλείο πλέον στα χέρια του κλινικού επιτρέποντας μια πιο ακριβή διάγνωση και πρόγνωση και κυρίως μια εξατομικευμένη θεραπεία προσαρμοσμένη στις ανάγκες του κάθε ασθενούς.

Η ευρεία εφαρμογή της αλληλουχίας ολόκληρου του γονιδιώματος, των εξωνίων και του μεταγραφώματος, παράλληλα με πρωτεομικές και επιγενετικές μελέτες, αναμένεται να

φέρει στο προσκήνιο πληθώρα νέων ευρημάτων που θα συμπληρώσουν ή ενδεχομένως και να αντικαταστήσουν τους κλασικούς γενετικούς δείκτες.

Η μεγαλύτερη πρόκληση όμως που καλούνται να αντιμετωπίσουν οι ερευνητικοί και κλινικοί επιστήμονες στο μέλλον είναι η καλύτερη δυνατή διαχείριση του όγκου των δεδομένων που θα εξακολουθήσουν να προκύπτουν από την συνεχή έρευνα. Απαιτείται ενδελεχής μελέτη για την ορθή αξιολόγηση της κλινικής χρησιμότητας των αποτελεσμάτων και την εφαρμογή τους στην κλινική πράξη ώστε να μεταφράζονται σε άμεσο όφελος για τον ασθενή με απώτερο στόχο την βελτίωση της συνολικής επιβίωσης του.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Alter, B. P. (2003) ‘Cancer in Fanconi anemia, 1927-2001’, *Cancer*, 97(2), pp. 425–440. doi: 10.1002/cncr.11046.

Arber, D. A. *et al.* (2016) ‘The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia’, *Blood*, 127(20), pp. 2391–2405. doi: 10.1182/BLOOD-2016-03-643544.

Aricò, M. *et al.* (2008) ‘Long-term results of the AIEOP-ALL-95 Trial for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: insight on the prognostic value of DNA index in the framework of Berlin-Frankfurt-Muenster based chemotherapy’, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 26(2), pp. 283–289. doi: 10.1200/JCO.2007.12.3927.

Bennett, J. M. *et al.* (1976) ‘Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group’, *British journal of haematology*, 33(4), pp. 451–458. doi: 10.1111/J.1365-2141.1976.TB03563.X.

Biondi, A. *et al.* (2012) ‘Imatinib after induction for treatment of children and adolescents with Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia (EsPhALL): a randomised, open-label, intergroup study’, *The Lancet. Oncology*, 13(9), pp. 936–945. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70377-7.

den Boer, M. L. *et al.* (2021) ‘Outcomes of paediatric patients with B-cell acute lymphocytic leukaemia with ABL-class fusion in the pre-tyrosine-kinase inhibitor era: a multicentre, retrospective, cohort study’, *The Lancet. Haematology*, 8(1), pp. e55–e66. doi: 10.1016/S2352-3026(20)30353-7.

Bougeard, G. *et al.* (2015) ‘Revisiting Li-Fraumeni Syndrome From TP53 Mutation Carriers’, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(21), pp. 2345–2352. doi: 10.1200/JCO.2014.59.5728.

Braoudaki, M. and Tzortzatou-Stathopoulou, F. (2012) ‘Clinical cytogenetics in pediatric acute leukemia: an update’, *Clinical lymphoma, myeloma & leukemia*, 12(4), pp. 230–237. doi:

10.1016/J.CLML.2012.04.004.

Bürger, B. *et al.* (2003) 'Diagnostic cerebrospinal fluid examination in children with acute lymphoblastic leukemia: significance of low leukocyte counts with blasts or traumatic lumbar puncture', *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 21(2), pp. 184–188. doi: 10.1200/JCO.2003.04.096.

Cavé, H. *et al.* (1998) 'Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer--Childhood Leukemia Cooperative Group', *The New England journal of medicine*, 339(9), pp. 591–598. doi: 10.1056/NEJM199808273390904.

Van Dongen, J. J. M. *et al.* (1998) 'Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood', *Lancet (London, England)*, 352(9142), pp. 1731–1738. doi: 10.1016/S0140-6736(98)04058-6.

Edition, S. (2022) *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. doi: 10.1016/c2019-0-03654-0.

Escherich, G. and Schrappe, M. (2021) 'Leitlinie Akute lymphoblastische Leukämie (ALL) im Kindesalter', *AWMF online*, 3(025), pp. 1–20.

Flanagan, M. and Cunniff, C. M. (2019) 'Bloom Syndrome', *NCBI Bookshelf*, p. 20. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1398/> (Accessed: 28 April 2022).

Gale, K. B. *et al.* (1997) 'Backtracking leukemia to birth: Identification of clonotypic gene fusion sequences in neonatal blood spots', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(25), pp. 13950–13954. doi: 10.1073/pnas.94.25.13950.

Greaves, M. F. *et al.* (2003) 'Leukemia in twins: lessons in natural history', *Blood*, 102(7), pp. 2321–2333. doi: 10.1182/BLOOD-2002-12-3817.

Van Grotel, M. *et al.* (2006) 'The outcome of molecular-cytogenetic subgroups in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study of patients treated according to DCOG or COALL protocols', *Haematologica*, 91(9), pp. 1212–1221. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16956820/> (Accessed: 27 August 2022).

Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2000) 'The hallmarks of cancer', *Cell*, 100(1), pp. 57–70. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.

Harris, R. L. *et al.* (2004) 'Is trisomy 5 a distinct cytogenetic subgroup in acute lymphoblastic leukemia?', *Cancer genetics and cytogenetics*, 148(2), pp. 159–162. doi: 10.1016/S0165-4608(03)00272-3.

Harrison, C. J. (2009) 'Cytogenetics of paediatric and adolescent acute lymphoblastic leukaemia', *British journal of haematology*, 144(2), pp. 147–156. doi: 10.1111/J.1365-2141.2008.07417.X.

Harvey, R. C. *et al.* (2010) '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*, 115(26), pp. 5312–5321. doi: 10.1182/BLOOD-2009-09-245944.

- Hasle, H., Haunstrup Clemmensen, I. and Mikkelsen, M. (2000) 'Risks of leukaemia and solid tumours in individuals with Down's syndrome', *Lancet*, 355(9199), pp. 165–169. doi: 10.1016/S0140-6736(99)05264-2.
- Heerema, N. A. *et al.* (2000) 'Prognostic impact of trisomies of chromosomes 10, 17, and 5 among children with acute lymphoblastic leukemia and high hyperdiploidy (> 50 chromosomes)', *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 18(9), pp. 1876–1887. doi: 10.1200/JCO.2000.18.9.1876.
- Heerema, N. A. *et al.* (2004) 'Secondary cytogenetic aberrations in childhood Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia are nonrandom and may be associated with outcome', *Leukemia*, 18(4), pp. 693–702. doi: 10.1038/SJ.LEU.2403324.
- Hjalgrim, L. L. *et al.* (2003) 'Birth weight as a risk factor for childhood leukemia: a meta-analysis of 18 epidemiologic studies', *American journal of epidemiology*, 158(8), pp. 724–735. doi: 10.1093/AJE/KWG210.
- Holmfeldt, L. *et al.* (2013) 'The genomic landscape of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia', *Nature genetics*, 45(3), pp. 242–252. doi: 10.1038/NG.2532.
- Inaba, H. and Pui, C. H. (2021) 'Advances in the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia', *Journal of clinical medicine*, 10(9). doi: 10.3390/JCM10091926.
- Irving, J. *et al.* (2014) 'Ras pathway mutations are prevalent in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia and confer sensitivity to MEK inhibition', *Blood*, 124(23), pp. 3420–3430. doi: 10.1182/BLOOD-2014-04-531871.
- Jang, W. *et al.* (2019) 'CDKN2B downregulation and other genetic characteristics in T-acute lymphoblastic leukemia', *Experimental & molecular medicine*, 51(1). doi: 10.1038/S12276-018-0195-X.
- Jeha, S. *et al.* (2021) 'Clinical significance of novel subtypes of acute lymphoblastic leukemia in the context of minimal residual disease-directed therapy', *Blood cancer discovery*, 2(4), pp. 326–337. doi: 10.1158/2643-3230.BCD-20-0229.
- Jones, O. Y. *et al.* (2006) 'A multicenter case-control study on predictive factors distinguishing childhood leukemia from juvenile rheumatoid arthritis', *Pediatrics*, 117(5). doi: 10.1542/PEDS.2005-1515.
- De Keersmaecker, K., Marynen, P. and Cools, J. (2005) 'Genetic insights in the pathogenesis of T-cell acute lymphoblastic leukemia', *Haematologica*, 90(8), pp. 1116–1127. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16079112/> (Accessed: 28 August 2022).
- Liu, Y. *et al.* (2017) 'The genomic landscape of pediatric and young adult T-lineage acute lymphoblastic leukemia', *Nature genetics*, 49(8), pp. 1211–1218. doi: 10.1038/NG.3909.
- Loh, M. L. *et al.* (2006) 'Prospective analysis of TEL/AML1-positive patients treated on Dana-Farber Cancer Institute Consortium Protocol 95-01', *Blood*, 107(11), pp. 4508–4513. doi: 10.1182/BLOOD-2005-08-3451.
- M, S. *et al.* (2000) 'Long-term results of large prospective trials in childhood acute lymphoblastic leukemia', *Leukemia*, 14(12), pp. 2193–2194. doi: 10.1038/SJ.LEU.2401977.

- Mann, G. *et al.* (2007) ‘Acute lymphoblastic leukemia with t(4;11) in children 1 year and older: The “big sister” of the infant disease?’, *Leukemia*, 21(4), pp. 642–646. doi: 10.1038/SJ.LEU.2404577.
- Mattano, L. A. *et al.* (2021) ‘Favorable Trisomies and ETV6-RUNX1 Predict Cure in Low-Risk B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: Results From Children’s Oncology Group Trial AALL0331’, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 39(14), pp. 1540–1552. doi: 10.1200/JCO.20.02370.
- Moorman, A. V. *et al.* (2003) ‘Outcome heterogeneity in childhood high-hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia’, *Blood*, 102(8), pp. 2756–2762. doi: 10.1182/BLOOD-2003-04-1128.
- Mori, H. *et al.* (2002) ‘Chromosome translocations and covert leukemic clones are generated during normal fetal development’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(12), pp. 8242–8247. doi: 10.1073/PNAS.112218799.
- Möricke, A. *et al.* (2010) ‘Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000’, *Leukemia*, 24(2), pp. 265–284. doi: 10.1038/LEU.2009.257.
- Mrózek, K., Heerema, N. A. and Bloomfield, C. D. (2004) ‘Cytogenetics in acute leukemia’, *Blood reviews*, 18(2), pp. 115–136. doi: 10.1016/S0268-960X(03)00040-7.
- Nachman, J. B. *et al.* (2007) ‘Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia’, *Blood*, 110(4), pp. 1112–1115. doi: 10.1182/BLOOD-2006-07-038299.
- Pastorczak, A. *et al.* (2011) ‘Role of 657del5 NBN mutation and 7p12.2 (IKZF1), 9p21 (CDKN2A), 10q21.2 (ARID5B) and 14q11.2 (CEBPE) variation and risk of childhood ALL in the Polish population’, *Leukemia research*, 35(11), pp. 1534–1536. doi: 10.1016/J.LEUKRES.2011.07.034.
- Paulsson, K. *et al.* (2015) ‘The genomic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia’, *Nature genetics*, 47(6), pp. 672–676. doi: 10.1038/NG.3301.
- Pieters, R. *et al.* (2007) ‘A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial’, *Lancet (London, England)*, 370(9583), pp. 240–250. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61126-X.
- Pieters, R. (2009) ‘Infant acute lymphoblastic leukemia: Lessons learned and future directions’, *Current Hematologic Malignancy Reports*, 4(3), pp. 167–174. doi: 10.1007/s11899-009-0023-4.
- Pui, C.-H., Relling, M. V. and Downing, J. R. (2004) ‘Acute lymphoblastic leukemia’, *The New England journal of medicine*, 350(15), pp. 1535–1548. doi: 10.1056/NEJMRA023001.
- Raimondi, S. C. *et al.* (2006) ‘Near-triploidy and near-tetraploidy in childhood acute lymphoblastic leukemia: association with B-lineage blast cells carrying the ETV6-RUNX1 fusion, T-lineage immunophenotype, and favorable outcome’, *Cancer genetics and cytogenetics*, 169(1), pp. 50–57. doi: 10.1016/J.CANCERGENCYTO.2006.04.006.
- Reshmi, S. C. *et al.* (2017) ‘Targetable kinase gene fusions in high-risk B-ALL: a study from

- the Children's Oncology Group', *Blood*, 129(25), pp. 3352–3361. doi: 10.1182/BLOOD-2016-12-758979.
- Roberts, K. G. *et al.* (2012) 'Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia', *Cancer cell*, 22(2), pp. 153–166. doi: 10.1016/J.CCR.2012.06.005.
- Roberts, K. G. (2018) 'Genetics and prognosis of ALL in children vs adults', *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2018(1), pp. 137–145. doi: 10.1182/ASHEDUCATION-2018.1.137.
- Rubnitz, J. E. *et al.* (1999) 'Childhood acute lymphoblastic leukemia with the MLL-ENL fusion and t(11;19)(q23;p13.3) translocation', *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 17(1), pp. 191–196. doi: 10.1200/JCO.1999.17.1.191.
- Schrappé, M. *et al.* (2018) *Leukämien und Lymphome, Pädiatrische Hämatologie und Onkologie*. doi: 10.1007/978-3-662-43686-8\_22.
- Stanulla, M. and Bourquin, J.-P. (2012) 'Behandlung der akuten lymphoblastischen Leukämie im Kindesalter', *Pharmazie in unserer Zeit*, 41(3), pp. 203–213. doi: 10.1002/pauz.201200469.
- Stiller, C. A., Chessells, J. M. and Fitchett, M. (1994) 'Neurofibromatosis and childhood leukaemia/lymphoma: a population-based UKCCSG study', *British journal of cancer*, 70(5), pp. 969–972. doi: 10.1038/BJC.1994.431.
- Sutcliffe, M. J. *et al.* (2005) 'High concordance from independent studies by the Children's Cancer Group (CCG) and Pediatric Oncology Group (POG) associating favorable prognosis with combined trisomies 4, 10, and 17 in children with NCI Standard-Risk B-precursor Acute Lymphoblastic Leukemia: a Children's Oncology Group (COG) initiative', *Leukemia*, 19(5), pp. 734–740. doi: 10.1038/SJ.LEU.2403673.
- Synold, T. W. *et al.* (1994) 'Blast cell methotrexate-polyglutamate accumulation in vivo differs by lineage, ploidy, and methotrexate dose in acute lymphoblastic leukemia', *The Journal of clinical investigation*, 94(5), pp. 1996–2001. doi: 10.1172/JCI117552.
- Thiel, E. (1985) 'Cell surface markers in leukemia: biological and clinical correlations', *Critical reviews in oncology/hematology*, 2(3), pp. 209–260. doi: 10.1016/S1040-8428(85)80003-2.
- Vora, A. *et al.* (2013) 'Treatment reduction for children and young adults with low-risk acute lymphoblastic leukaemia defined by minimal residual disease (UKALL 2003): a randomised controlled trial', *The Lancet. Oncology*, 14(3), pp. 199–209. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70600-9.