Szpital Kliniczny Przemienienia Pańskiego
UM w Poznaniu
LABORATORIUM DIAGNOSTYKI HEMATOLOGICZNEJ
Pracownia Biologii Molekularnej
ul. Szamarzewskiego 84, 60-569 Poznań
tel. 61/854-95-97; Rejestracja: tel. 61/854-95-99

Badanie mutacji genów *ASXL1* i *SRSF2*

Mutacje genów *ASXL1* i *SRSF2* są powiązane z ryzykiem niepomyślnego przebiegu pierwotnego zwłóknienia szpiku. Ponadto zwraca się uwagę na istotność wykonywania tych oznaczeń w przypadku innych nowotworów mieloproliferacyjnych Philadelphia ujemnych, zespołów mielodysplastycznych i ostrej białaczki szpikowej.

PIERWOTNE ZWŁÓKNIENIE SZPIKU (*primary myelofibrosis*, PMF)

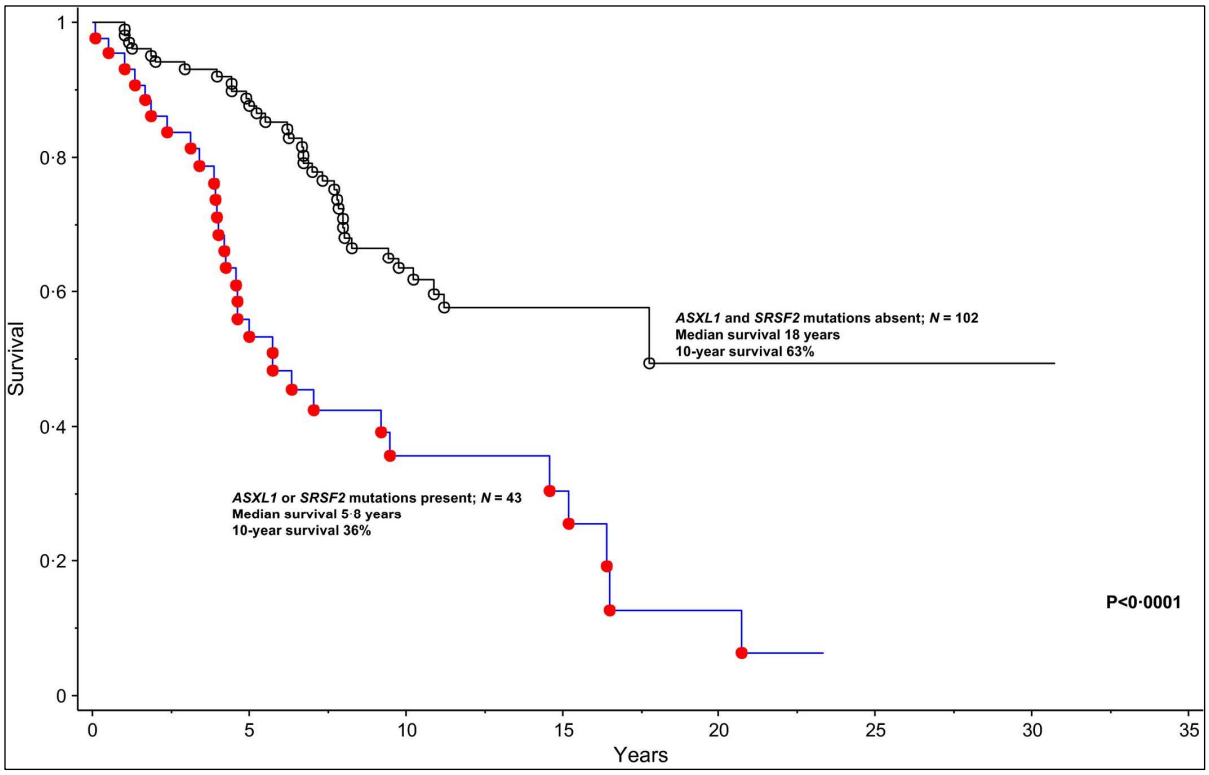
U ok. 90% chorych na mielofibrozę można wykazać obecność jednej spośród następujących mutacji: *JAK2*V617F, *CALR* czy *MPL* (tzw. mutacje sprawcze, ang. *driver mutations*). U ok. 80% chorych z PMF potwierdzono dodatkowo obecność przynajmniej jednej mutacji z następujących genów: *ASXL1*, *TET2*, *EZH2*, *SRSF2*, *DNMT3A*, *U2AF1*, *IDH*/*IDH2* (tzw. mutacje towarzyszące, ang. *non-driver mutation*). Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że obecność obu typów mutacji (*driver i non-driver*) wpływa na przeżycie całkowite chorych (ang. *overall-survival*, OS) oraz przeżycie wolne od białaczki (ang. *leukemia-free survival*, LFS), w sposób niezależny od wpływu indeksów prognostycznych IPSS i DIPSS-plus. Znaczenie prognostyczne oparte jest głównie na obecności mutacji *CALR* typu 1/podobnych do typu 1 oraz obecności mutacji genów *ASXL1*, *SRSF2*, *EZH2*, *IDH*/*IDH2*, które zaliczane są do mutacji wysokiego ryzyka molekularnego (ang. *high molecular risk*, HMR). [3,4]

Zgodnie z wytycznymi European LeukemiaNet z 2018 roku wykonywanie badań w kierunku obecności defektów genów *ASXL1*, *SRSF2*, *EZH2* i *IDH1*/*IDH2* jest szczególnie wskazane u pacjentów z PMF potrójnie ujemnych (ang. *triple negative*) w zakresie defektów genów *JAK2*V617F, *CALR*, *MPL*. [3]

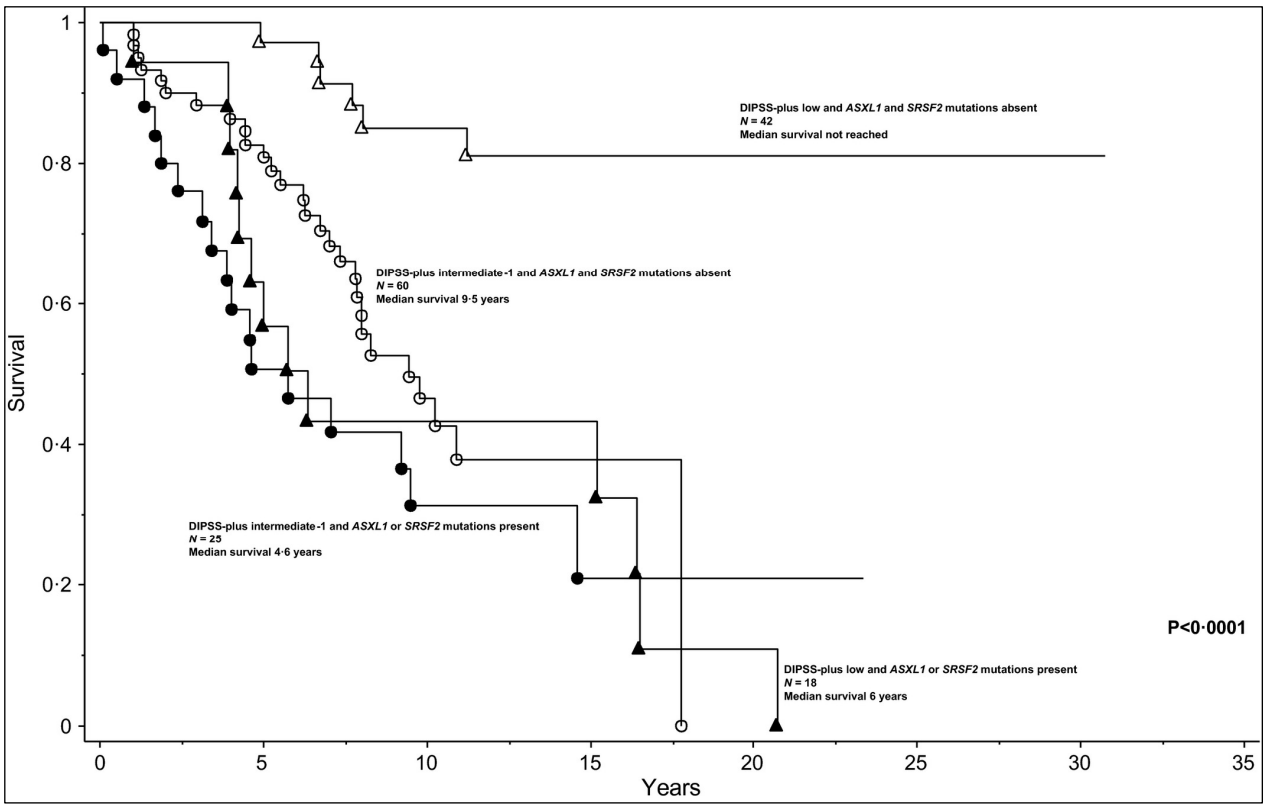
Mutacje *ASXL1* i *SRSF2* są uznawane jako czynniki niekorzystnego rokowania, niezależenie od oceny ryzyka w skali DIPSS-plus. Z tego powodu, należy rozważyć wykonanie transplantacji u pacjentów z niskim oraz pośrednim 1 ryzykiem według skali DIPSS-plus, u których potwierdzono obecność mutacji *ASXL1/SRSF2*. [1,2,3] Celowość wykonywania tych badań potwierdzają dane epidemiologiczne. Częstość występowania wymienionych mutacji u pacjentów z PMF wynosi odpowiednio: w genie *ASXL1* 22-38%, a w genie *SRSF2* 9-18%. [4,5,6]

		Molecular risk		
		High type1/like CALR^{-} and ASXL1^{+}/SRSF2^{+}	**Intermediate** not classifiable as high or low risk	**Low** type1/like CALR^{+} and ASXL1^{-}/SRSF2^{-}
DIPPS-plus risk	**High**	SCT/IDT	SCT/IDT	SCT/IDT
	Intermediate-2	SCT/IDT	SCT/IDT	IDT
	Intermediate-1	SCT/IDT	OBSERVATION/IDT	OBSERVATION
	Low	SCT/IDT	OBSERVATION	OBSERVATION

Kliniczna i molekularna ocena ryzyka oraz zalecenia terapeutyczne w PMF.
SCT (*stem cell transplant*), IDT (*investigational drug therapy*) [2; zmodyfikowano]

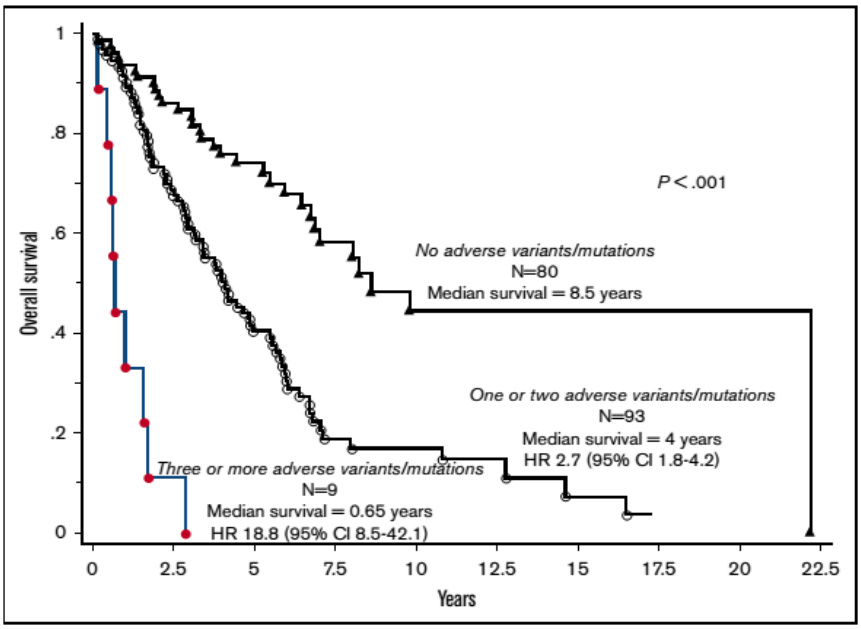


Porównanie przeżycia grupy 145 pacjentów z *low/intermediate-1* PMF (wg DIPSS-plus) z uwzględnieniem obecności/braku mutacji *ASXL1/SRSF2*. [1]



Porównanie przeżycia grupy 145 pacjentów z *low/intermediate*-1 PMF (wg DIPSS-plus) z uwzględnieniem obecności/braku mutacji *ASXL1/SRSF2* i podziałem na grupy *low/intermediate-1*. [1]

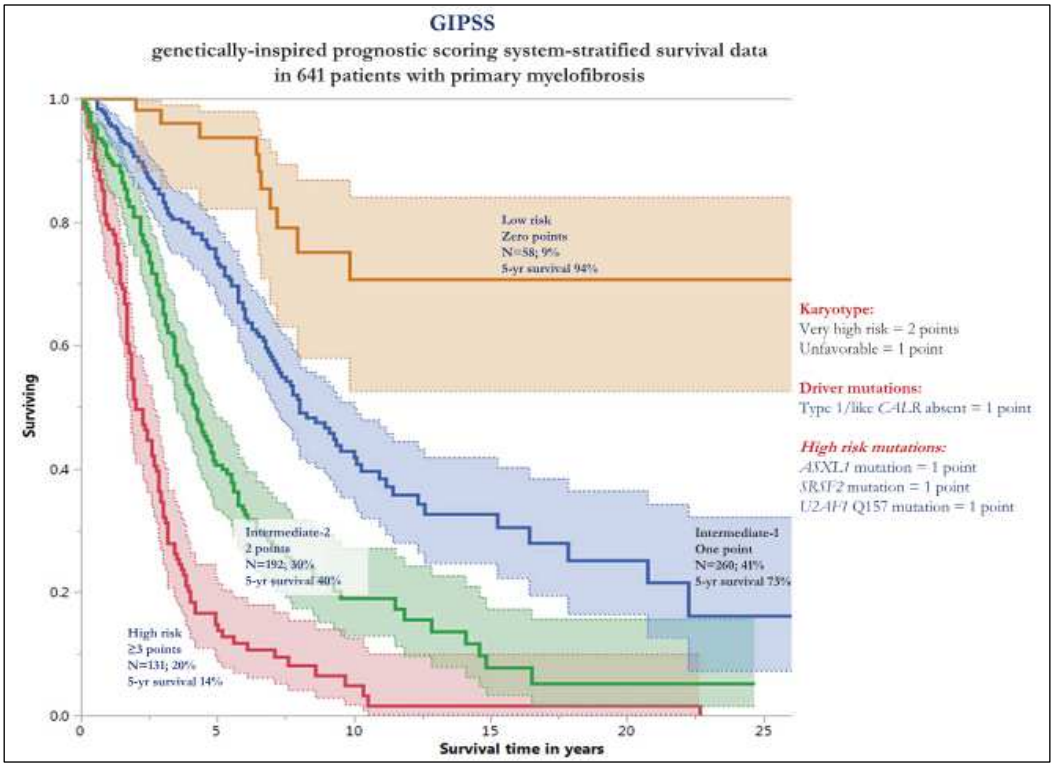
W ocenie ryzyka wskazuje się ponadto na znaczenie liczby mutacji stwierdzanych u danego pacjenta. [5]



Całkowite przeżycie w grupie 182 chorych z PMF w zależności od liczby mutacji towarzyszących (spośród *ASXL1*, *SRSF2*, *CBL*, *KIT*, *RUNX1*, *SH2B3*, *CEBPA*). [5]

W pracy opublikowanej w marcu 2018 r. Tefferi i wsp. zaproponowali nowy system prognostyczny GIPSS (ang. *genetically inspired prognostic scoring system*), upraszczający ocenę ryzyka zaproponowaną w 2017 roku - MIPPS-70.

System ten oparty jest na ocenie kariotypu oraz obecności mutacji w obrębie genów *CALR*, *ASXL1*, *SRSF2* i *U2AF1*. [8]



GIPSS w grupie 641 pacjentów z PMF. [8]

PV – CZERWIENICA PRAWDZIWA

ASXL1 – częstość występowania: 12%

SRSF2 – częstość występowania: 3%

Obecność jednej lub obu mutacji powiązana jest z gorszym OS (7.7 vs 16.9 lat), LFS, MFS niezależnie od konwencjonalnych modeli prognostycznych. [7]

CMLL – przewlekła białaczka mielomonocytowa

ASXL1 – częstość występowania: 40%, gorsze OS

SRSF2 – częstość występowania: 50%

MDS – ZESPOŁY MIELODYSPLASTYCZNE

ASXL1 – częstość występowania: 10-20%, krótsze OS

SRSF2 – częstość występowania: 12%, krótsze OS i większe ryzyko transformacji do AML [9]

AML – OSTRA BIAŁACZKA SZPIKOWA

ASXL1 – wg rekomendacji ELN z 2017 roku oznaczanie zalecane obok *NPM1*, *CEBPA*, *RUNX1*, *FLT3*, *TP53*; czynnik niekorzystnego rokowania.

Metodyka:

ASXL1 - badanie przeprowadzane metodą HRMA (ang. *high resolution melt analysis*). W przypadku wyniku dodatniego przeprowadzane jest sekwencjonowanie metodą Sangera, celem identyfikacji mutacji. Stosowana metodyka pozwala na wykrycie 83% mutacji w exonie 12 genu *ASXL1* (startery pokrywają obszar Pro575-Arg687).

SRSF2 - badanie przeprowadzane metodą HRMA. W przypadku wyniku dodatniego przeprowadzane jest sekwencjonowanie metodą Sangera, celem identyfikacji mutacji. Stosowana metodyka obejmuje wykrywanie mutacji w regionie hotspot Pro95.

Opracowano na podstawie:

1. Screening for ASXL1 and SRSF2 mutations is imperative for treatment decision-making in otherwise low or intermediate-1 risk patients with myelofibrosis., Tefferi A, Lasho TL, Hanson CA, Ketterling RP, Gangat N, Pardanani A., Br J Haematol. 2017 Nov 23. doi: 10.1111/bjh.15010.
2. Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management., Tefferi A, Am J Hematol. 2016 Dec;91(12):1262-1271. doi: 10.1002/ajh.24592.
3. Philadelphia chromosome-negative classical myeloproliferative neoplasms: revised management recommendations from European LeukemiaNet., Barbui T, Tefferi A, Vannucchi AM, Passamonti F, Silver RT, Hoffman R, Verstovsek S, Mesa R, Kiladjian JJ, Hehlmann R, Reiter A, Cervantes F, Harrison C, Mc Mullin MF, Hasselbalch HC, Koschmieder S, Marchetti M, Bacigalupo A, Finazzi G, Kroeger N, Griesshammer M, Birgegard G, Barosi G., Leukemia. 2018 May;32(5):1057-1069. doi: 10.1038/s41375-018-0077-1. Epub 2018 Feb 27.
4. Driver mutations and prognosis in primary myelofibrosis: Mayo-Careggi MPN alliance study of 1,095 patients., Tefferi A, Nicolosi M, Mudireddy M, Szuber N, Finke CM, Lasho TL, Hanson CA, Ketterling RP, Pardanani A, Gangat N, Mannarelli C, Fanelli T, Guglielmelli P, Vannucchi AM., Am J Hematol. 2018 Mar;93(3):348-355. doi: 10.1002/ajh.24978. Epub 2017 Dec 18.
5. Targeted deep sequencing in primary myelofibrosis, Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, et al.. *Blood Advances*. 2016;1(2):105-111. doi:10.1182/bloodadvances.2016000208.
6. Prognostication in Philadelphia Chromosome Negative Myeloproliferative Neoplasms: a Review of the Recent Literature. , Zhou A, Afzal A, Oh ST, Curr Hematol Malig Rep. 2017 Oct;12(5):397-405. doi: 10.1007/s11899-017-0401-2.
7. Targeted deep sequencing in polycythemia vera and essential thrombocythemia., Tefferi A, Lasho TL, Guglielmelli P, Finke CM, Rotunno G, Elala Y, Pacilli A, Hanson CA, Pancrazzi A, Ketterling RP, Mannarelli C, Barraco D, Fanelli T, Pardanani A, Gangat N, Vannucchi AM. Blood Adv. 2016 Nov 22;1(1):21-30. doi: 10.1182/bloodadvances.2016000216. eCollection 2016 Nov 29.
8. GIPSS: genetically inspired prognostic scoring system for primary myelofibrosis. Tefferi A, Guglielmelli P, Nicolosi M, Mannelli F, Mudireddy M, Bartalucci N, Finke CM, Lasho TL, Hanson CA, Ketterling RP, Begna KH3, Naseema Gangat, Pardanani A, Vannucchi AM. Leukemia. 2018 Mar 23. doi: 10.1038/s41375-018-0107-z. [Epub ahead of print]
9. Mutations of myelodysplastic syndromes (MDS): An update., Ganguly BB, Kadam NN., Mutat Res Rev Mutat Res. 2016 Jul-Sep;769:47-62. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.04.009. Epub 2016 Jun 23.