

Genetska predispozicija alergije na L-asparaginazo – vpliv polimorfizma v genu *GRIA1*

Vladan Rajić

*Pediatrična klinika Ljubljana
KO za otroško hematologijo in onkologijo*

Uvod

- Levkemija je najpogostejša rakava bolezen otrok in predstavlja do 30% vseh novo odkritih rakavih boleznih pri otrocih
- Najpogostejša je akutna limfoblastna levkemija (ALL) z 80% deležem
- V Sloveniji za to obliko levkemije zbolijo povprečno 13 pediatričnih bolnikov letno
- Sodobni način zdravljenja omogoča preživetje več kot 80% vseh otrok, zbolelih za levkemijo
- L-asparaginaza sodi v skupino temeljnih zdravil za zdravljenje bolnikov zbolelih za ALL

L-Asparaginaza

- V klinični uporabi je L-asparaginaza pridobljena iz bakterij in sicer v treh oblikah:
 - naravna L-asparaginaza
 - PEG-asparaginaza
 - Krizantaspaza
- Povzroči alergijske reakcije različne stopnje (od koprivnice do hude sistemske alergijske reakcije in anafilaktičnega šoka) v do 60% bolnikov zdravljenih z zdravilom
- Alergijske reakcije na L-asparaginazo potekajo po tipu I preobčutljivosti (TH2 odgovor)

GENETSKI DEJAVNIKI IN ALERGIJSKE REAKCIJE NA L-ASPARAGINAZO

- Ugotovili so večjo incidenco alergije na asparaginazo pri bolnikih z **alelom HLA-DRB1*07:01**, (nosilci alela z večjo afiniteto vežejo asparaginazne epitope in imajo zato pogostejše alergijo na zdravilo?)¹
- Ugotovili so, da je polimorfizem posameznih nukleotidov (**SNP**) **genov, vključenih v uravnavanje imunskega odziva** (*NFATC2*, *HLA-DRB1*0701*, *PPT2*), povezan z večjo dovzetnostjo za alergijo na asparaginazo²
- Chen s sodelavci je s študijo celotnega genoma (**GWAS**) ugotovil povezavo **SNP v genu *GRIA1*** na kromosomu 5q33 z alergijo na asparaginazo³

¹Blood 2014; 124:1266-76

² <https://ash.confex.com/ash/2014/webprogram/Paper72875.htm>

³ Clin Pharmacol Ther 2010; 88: 191-6

GEN *GRIA1* IN GLUTAMATNI RECEPTOR

- Gen *GRIA1* (5q33) kodira nastanek GluR1 receptorja, ki sodi v skupino AMPA ionotropnih glutamatnih receptorjev
- Formirajo ionski kalcijev kanalček in sodelujejo v prenosu hitrega ekscitatornega glutamatnega signala
- Glutamatna signalna pot ni bila opisana le v centralnem živčnem sistemu ampak v zadnjih letih tudi pri T limfocitih (Br J Pharmacol 2001; 133:936-44)
- Glutamat lahko sam aktivira in modulira T celično aktivnost preko svojih receptorjev
- Ioni kalcija so ključnega pomena za delovanje T celic

Namen in cilj raziskave

- Proučiti vpliv določenih SNP v genu *GRIA1* na pojavnost, jakost in potek alergijske reakcije na L-asparaginazo

SNP v <i>GRIA1</i>	Pozicija	HWE	Aleli	Lokacija
rs4958351	153170374	0,43	c. 2271-3807 G>A	Intron 13
rs4958676	153152277	0,22	c. 2270-2302 G>A	Intron 13
rs6889909	153123433	0,23	c. 1824-20561 C>T	Intron 11
rs6890057	153123488	0,25	c. 1824-20506 C>T	Intron 11
rs10070447	153178814	0,44	c. 2386-3102 C>T	Intron 14

Rezultati (1)

- V raziskavo smo vključili 146 pediatričnih bolnikov zdravljenih zaradi ALL z L-asparaginazo v obdobju med leti 1990 in 2012
- V naši kohorti je bilo več bolnikov moškega kot ženskega spola (77 vs. 69).
- Povprečna starost bolnikov ob diagnozi je bila 7,2 leti.
- Večina bolnikov (50 %) je imela običajni B (*common B*) imunofenotip levkemičnih celic in je sodila v skupino SR (47,3 %).
- Največ bolnikov (51,4 %) je bilo zdravljenih po protokolu ALL IC-BFM 2002.

Rezultati (2)

Alergija na L-asparaginazo	Stopnja alergije	Skupina tveganja (Število)			Skupno (Število (%))	
		SR	IR	HR		
Ne	0	38	31	5	74 (50,7)	
Da	1	1	2	0	3 (4,2)	72 (49,3)
	2	22	14	10	46 (63,9)	
	3	5	8	4	17 (23,6)	
	4	3	1	2	6 (8,3)	

- V skupini SR je 44,9 % bolnikov imelo alergijo, v skupini IR 44,6% in v skupini HR 76,2 % ($p=0,044$).
- Pri 69,5 % bolnikov se je alergijska reakcija pojavila v post indukcijski fazi zdravljenja.

Rezultati (3)

SNP v <i>GRIA1</i>	Genotip	Alergija na L-asparaginazo (Število bolnikov (%))		Skupno
		Da	Ne	
rs4958351	GG	21 (14,4)	40 (27,4)	61 (41,8)
	GA	39 (26,7)	23 (15,8)	62 (42,5)
	AA	12 (8,2)	11 (7,5)	23 (15,7)
rs4958676	GG	41 (28,1)	58 (39,7)	99 (67,8)
	GA	28 (19,2)	14 (9,6)	42 (28,8)
	AA	3 (2,0)	2 (1,4)	5 (3,4)
rs6889909	CC	41 (28,1)	58 (39,7)	99 (67,8)
	CT	28 (19,2)	14 (9,6)	42 (28,8)
	TT	3 (2,0)	2 (1,4)	5 (3,4)
rs6890057	CC	41 (28,1)	58 (39,7)	99 (67,8)
	CT	28 (19,2)	14 (9,6)	42 (28,8)
	TT	3 (2,0)	2 (1,4)	5 (3,4)
rs10070447	CC	20 (13,8)	37 (25,3)	57 (39,1)
	CT	40 (27,4)	24 (16,4)	64 (43,8)
	TT	12 (8,2)	13 (8,9)	25 (17,1)

- Frekvenčna razporeditev SNP-jev v genu *GRIA1* analiziranih v naši kohorti je skladna s podatki za belo raso

Rezultati (4)

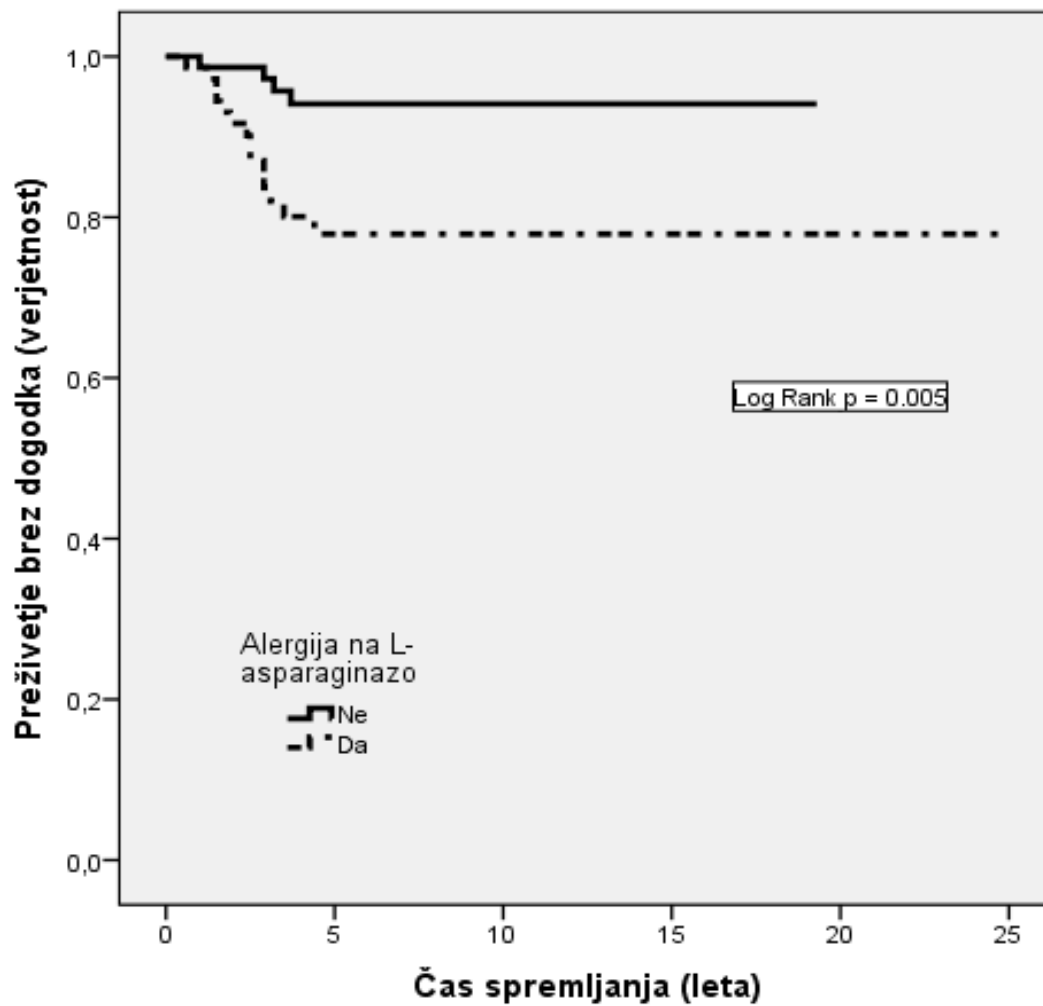
Rezultati statistične analize vpliva analiziranih SNP-jev v genu *GRIA1* na pojavnost alergijske reakcije na L-asparaginazo.

SNP v <i>GRIA1</i>	<i>p</i> -vrednost	Razmerje obov	95 % interval zaupanja	
rs4958351	0,003	1,74	1,18	2,57
rs4958676	0,005	1,59	1,17	2,17
rs6889909	0,005	1,59	1,17	2,17
rs6890057	0,005	1,59	1,17	2,17
rs10070447	0,006	1,65	1,11	2,45

- V naši raziskavi smo ugotovili statistično pomembno povezavo med vsemi analiziranimi SNP-ji v genu *GRIA1* in pojavom alergijske reakcije na L-asparaginazo

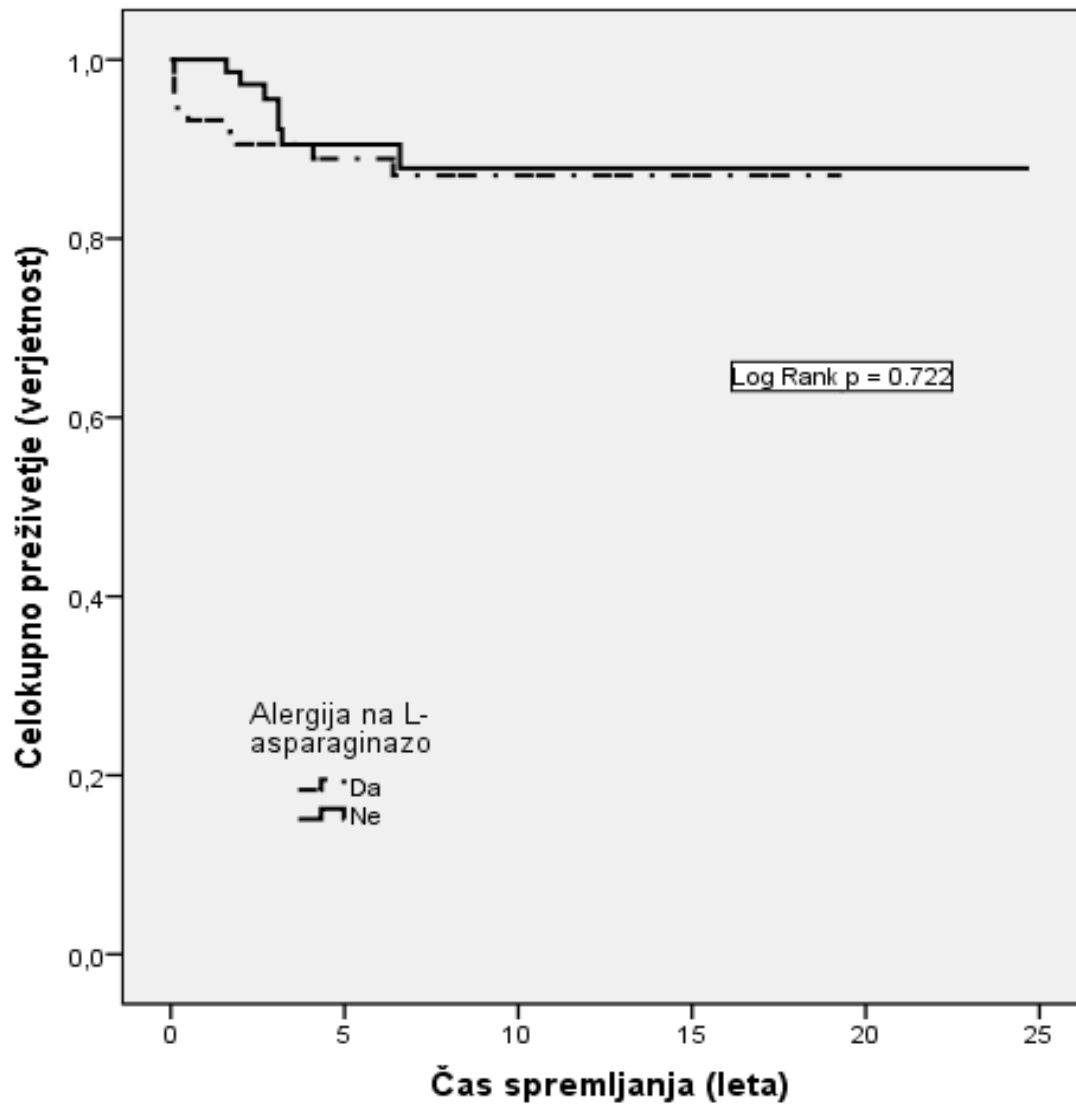
Rezultati (5)

Slika 2. Preživetje brez dogodka v povezavi z alergijo na L-asparaginazo



Rezultati (6)

Slika 3. Celokupno preživetje v povezavi z alergijo na L-asparaginazo



Zaključki (1)

- V naši kohorti bolnikov smo ugotovili pri 49,3 % klinično manifestno alergijsko reakcijo na L-asparaginazo.
- Večina alergijskih reakcij se je kazala kot alergijska reakcija 2 (63,9 %) oziroma 3 stopnje (23,6 %).
- Skoraj 70 % bolnikov v naši raziskavi je imelo alergijsko reakcijo v post indukcijski fazi zdravljenja.
- Analiza *korelacije alelne frekvence s pojavnostjo alergije* na L-asparaginazo:
 - prisotnost alela A pri SNP rs4958351 in SNP rs4958676 in
 - alela T pri SNP rs6889909 in SNP rs6890057je povezana s statistično pomembno zvišano verjetnostjo za pojav alergije na L-asparaginazo.

Zaključki (2)

- Določeni SNP-ji so povezani tudi s kliničnim potekom alergijske reakcije:
 - Tako imajo posamezniki z genotipom *GRIA1* rs4958351 GA ali rs10070447 CT pogosteje alergijsko reakcijo 2. stopnje.
 - Pri posameznikih, ki imajo genotip *GRIA1* rs4958676 GG ali rs6889909 CC ali rs6890057 CC, smo pogosteje ugotovili alergijsko reakcijo 2. in 3. stopnje napram posameznikom s heterozigotnim genotipom.
- Analizirali smo tudi *frekvenco haplotipov*:
 - Ugotovili smo statistično pomembno povezavo med haplotipom AATTT in pojavom alergije na L-asparaginazo (p-vrednost 0,003) kot tudi s stopnjo alergije (p-vrednost 0,015).

- Naša raziskava je prva tovrstna v pediatrični populaciji. Z njo smo prvič usmerjeno raziskovali vpliv polimorfizma v genu *GRIA1* na pojav in potek alergijskih reakcij v pediatrični populaciji.

Leukemia & Lymphoma, 2015; Early Online: 1–6
© 2015 Informa UK, Ltd.
ISSN: 1042-8194 print / 1029-2403 online
DOI: 10.3109/10428194.2015.1020802

informa
healthcare

ORIGINAL ARTICLE: CLINICAL

Polymorphisms in GRIA1 gene are a risk factor for asparaginase hypersensitivity during the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia

Vladan Rajić¹, Maruša Debeljak², Katja Goričar³ & Janez Jazbec¹

¹Department of Hematology and Oncology, University Children's Hospital, Ljubljana, Slovenia, ²Unit of Special Laboratory Diagnostics, Centre for Medical Genetics, University Medical Centre Ljubljana, Ljubljana, Slovenia and ³Institute of Biochemistry, Medical Faculty, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Hvala za pozornost!