

ΑΛΛΗΛΟΥΧΗΣΗ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΕΑΣ (NGS) ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗΣ ΣΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ



Σταύρος Γλεντής, Κατερίνα Κατσιμπάρδη, Ασημίνα Ανδρίτσου, Φιλίππιδου Μαρία, Ρόκα Κλεονίκη, Αντώνης Καττάμης
Πανεπιστημιακή Ογκολογική Αιματολογική Μονάδα (ΠΟΑιΜ), Α' Παιδιατρική Κλινική ΕΚΠΑ, Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία»

Εισαγωγή: Η γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση της κακοήθειας σε ογκολογικούς παιδιατρικούς ασθενείς είναι σημαντική για τη διάγνωση, θεραπεία και παρακολούθηση των ασθενών αλλά και την γενετική συμβουλευτική και πρόληψη στα μέλη της οικογένειας. Παθογόνες (pathogenic, P) ή πιθανά παθογόνες (likely pathogenic, LP) γενετικές παραλλαγές σε περίπου 250 γονίδια έχουν συσχετιστεί άμεσα ή έμμεσα με την προδιάθεση εμφάνισης συμπαγών όγκων ή αιματολογικών κακοηθειών. Εκτός της μεγάλης γενετικής ετερογένειας των P/LP γενετικών παραλλαγών, πολλά από τα γονίδια προδιάθεσης σε κακοήθειες παιδικής και εφηβικής ηλικίας είναι διαφορετικά από αυτά των ενηλίκων, όπως τα γονίδια *ETV6*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *IKZF1* και *WT1*. Επομένως για την πλήρη γενετική διερεύνηση, χρειάζεται εκτενής ανάλυση που να συμπεριλαμβάνει όλα τα γονίδια προδιάθεσης, το οποίο μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση της αλληλούχησης επόμενης γενεάς (next generation sequencing, NGS).

Σκοπός: Η διερεύνηση της γενετικής αιτιολογίας για την εμφάνιση κακοήθειας σε παιδιά και έφηβους.

Μέθοδοι:

Αποτελέσματα:

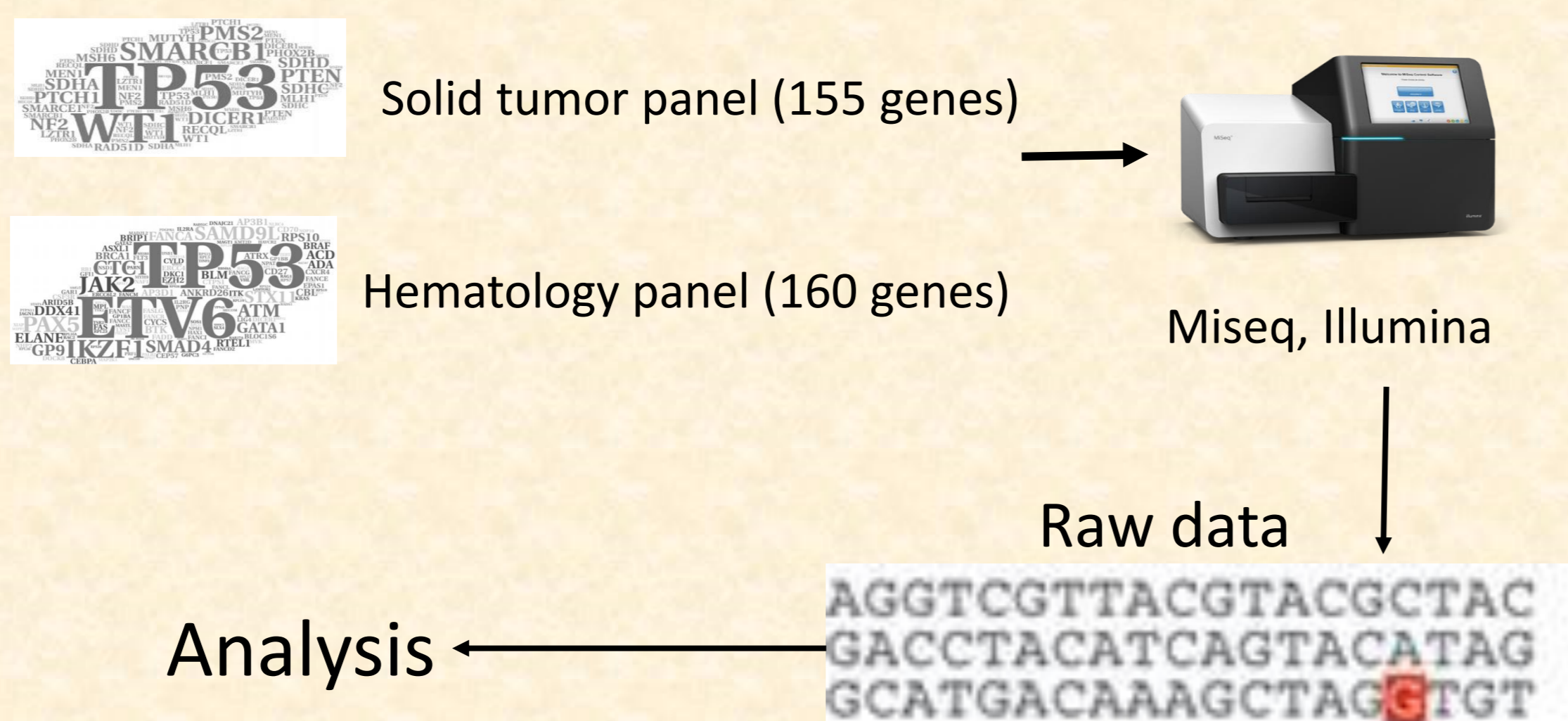
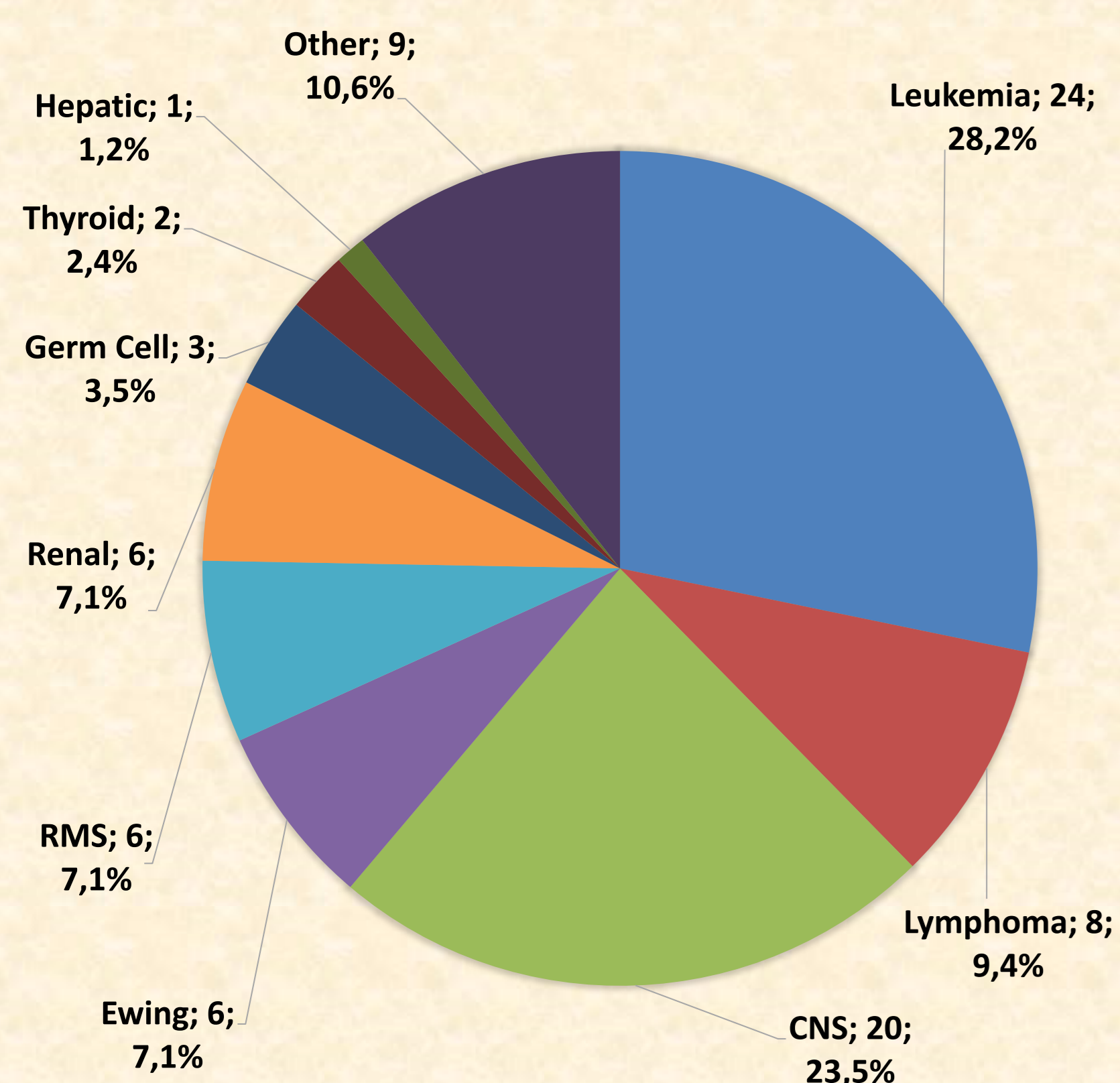
Συμπεριλήφθηκαν **85 ασθενείς** (32 με αιματολογική κακοήθεια και 52 με συμπαγείς όγκους, Εικόνα 1).

Κριτήρια ένταξης: θετικό οικογενειακό ιστορικό, μη ανταπόκριση στη θεραπεία, σπανιότητα του νοσήματος ή εντόπιση.

- ✓ Δημιουργήθηκαν **δύο NGS panels** με 155 και 160 γονίδια, συνδεδεμένα με προδιάθεση εμφάνισης συμπαγών όγκων και αιματολογικών κακοηθειών, αντίστοιχα (Εικόνα 2).
- ✓ Οι γενετικοί τόποι ενδιαφέροντος εμπλουτίστηκαν με υβριδισμό ανιχνευτών και σχεδιάστηκαν με ειδικό λογισμικό (Agilent SureDesing, custom-made panel) στοχεύοντας σε όλα τα εξόνια των γονιδίων.
- ✓ Η αλληλούχηση πραγματοποιήθηκε με την τεχνολογία της αλληλούχησης επόμενης γενεάς (NGS) σε γενετικό αναλυτή Miseq (Illumina).
- ✓ Η επεξεργασία και ανάλυση των ακατέργαστων αποτελεσμάτων έγινε με βιοπληροφορικά εργαλεία αναφοράς (BWA-MEM, GATK, VCFtools, VEP, Annotvar).
- ✓ Η επιβεβαίωση των P/LP γενετικών παραλλαγών και η γονοτύπηση σε μέλη της οικογένειας πραγματοποιήθηκε με αλληλούχηση κατά Sanger

Αποτελέσματα: Ανευρέθηκαν συνολικά **859** (εύρος: 750-950) **γενετικές παραλλαγές ανά ασθενή**.

- 6/85 (7%) και 4/85 (4,7%) ασθενείς φέρουν P/LP γενετικές παραλλαγές άμεσα σχετιζόμενες με τον φαινότυπο ή με πιθανή συσχέτιση με τον φαινότυπο, αντίστοιχα (πίνακας 1).
- Αναγνωρίστηκαν επιπλέον πέντε P/LP γενετικές παραλλαγές σε ετεροζυγωτία που δεν έχουν συσχέτιση με τον φαινότυπο (πιθανά τυχαία ευρήματα) και **επτά** γενετικές παραλλαγές αγνώστου κλινικής σημασίας (VUS), στις οποίες απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση.



Εικόνα 2: Σχεδιασμός πάνελ γονιδίων, αλληλούχησης και ανάλυσης αποτελεσμάτων.

α/α	Φαινότυπος/ Ασθένεια	Φύλλο/ Ηλικία διάγνωσης (χρόνια)	Γονίδιο/ Γενετική παραλλαγή	Κατάσταση/ αποτέλεσμα
1	Αμφοτερόπλευρος όγκος νεφρού	A / 0.5	<i>WT1</i> :c.707delC (p.Thr236SerfsTer55)	Πλήρης ύφεση
2	κηλίδες Café-au-lait	θ / 5	<i>NF1</i> :c.2342A>C (p.His781Pro)	Σε επιτήρηση
3	AT/RT	A / 6.5	<i>SMARCB1</i> :c.986+1G>A	Υποτροπή
4	AT/RT	A / 8	<i>LZTR1</i> :c.263+1G>A	Πλήρης ύφεση
5	Παραγαγγλίωμα	θ / 14	<i>SDHA</i> :c.1151C>G (p.Ser384*)	Υποτροπή / Μετάσταση
6	ALL, CMML	θ / 2 (ALL); 8 (CMML)	<i>ETV6</i> :c.614delT (p.Leu205ArgfsTer4)	Αλλογενής μεταμόσχευση MO -Πλήρης ύφεση
7	T-ALL	A / 6	<i>CHEK2</i> :c.1169A>C (p.Tyr390Ser)	Πλήρης ύφεση
8	B-ALL	θ / 4	<i>BRCA2</i> :c.2339C>G (p.Ser780*)	Σε θεραπεία
9	B-ALL	A / 6.5	<i>ADA</i> :c.956_960del (p.Glu319GlyfsTer3)	Υποτροπή - Αλλογενής μεταμόσχευση MO - Πλήρης ύφεση
10	AML	θ / 7	<i>UNC13D</i> :c.2346_2349del (p.Arg782SerfsTer12)	Αλλογενής μεταμόσχευση MO -Πλήρης ύφεση

Πίνακας 1: Αποτελέσματα ασθενών με P/LP άμεσα σχετιζόμενες με τον φαινότυπο (α/α: 1- 6), ή πιθανή συσχέτιση με τον φαινότυπο (α/α: 7-10)

Συμπέρασμα: Η τεχνική NGS συμβάλλει στη διερεύνηση της παθογένειας των κακοηθειών της παιδικής ηλικίας. Όπως διαπιστώθηκε το 11,7% των ασθενών φέρουν P/LP γενετικές παραλλαγές σε γονίδια που συνδέονται με κακοήθεια και έχουν άμεση ή πιθανή σχέση με τον φαινότυπο.

Εικόνα 1: Νοσήματα παιδιατρικών ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη