



ΟΙ ΜΕΓΑΛΕΣ ΓΕΝΩΜΙΚΕΣ ΑΝΑΔΙΑΤΑΞΕΙΣ ΑΝΤΙΠΡΩΣΟΠΕΥΟΥΝ ΤΟ 10,7% ΤΩΝ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΠΑΡΑΛΛΑΓΩΝ ΣΤΟΝ ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΟ ΚΑΡΚΙΝΟ

Genekor

Committed to Biotechnological Innovation

Αγιαννιτόπουλος Κ.¹, Πεπέ Γ.¹, Παπαδοπούλου Ε.¹, Τσαούσης Γ.¹, Αποστολοπούλου Δ.¹, Τσούλος Ν.¹, Πότσκα Β.¹, Βενιζέλος Β.², Μαρκόπουλος Χ.³, Ιωσηφίδου Ρ.⁴, Βασιλάκη-Αντωνάτου Μ.⁵, Χριστοδούλου Χ.², Νατσιόπουλος Ι⁶, Παπαζήσης Κ.⁷, Καμπλέτσας Ε.⁸, Ψυρρή Α.⁹, Καραγεωργοπούλου Σ.¹⁰, Γιασσάς Σ.¹⁰, Ζιώγας Δ.¹¹, Λάλλα Ε.⁴, Κουμαριανού Α.⁹, Παπαδημητρίου Χ.¹², Τραφαλής Δ.¹³, Τιμοθεάδου Ε.¹⁴, Νασιούλας Γ.¹

¹Genekor Ιατρική Α.Ε, Αθήνα, ²Metropolitan, Αθήνα, ³Ιατρικό Κέντρο Αμαρουσίου, Αθήνα, ⁴Θεαγένειο, Θεσσαλονίκη, ⁵Metropolitan General, Αθήνα, ⁶Διαβαλκανικό Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, ⁷Euromedica Γενική Κλινική Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, ⁸Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, ⁹Αττικόν Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο, Αθήνα, ¹⁰Ιασώ, Αθήνα, ¹¹Λαϊκό Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα, ¹²Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αλεξάνδρα», Αθήνα, ¹³Mediterraneo, Αθήνα, ¹⁴Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης «Παπαγεωργίου», Θεσσαλονίκη

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

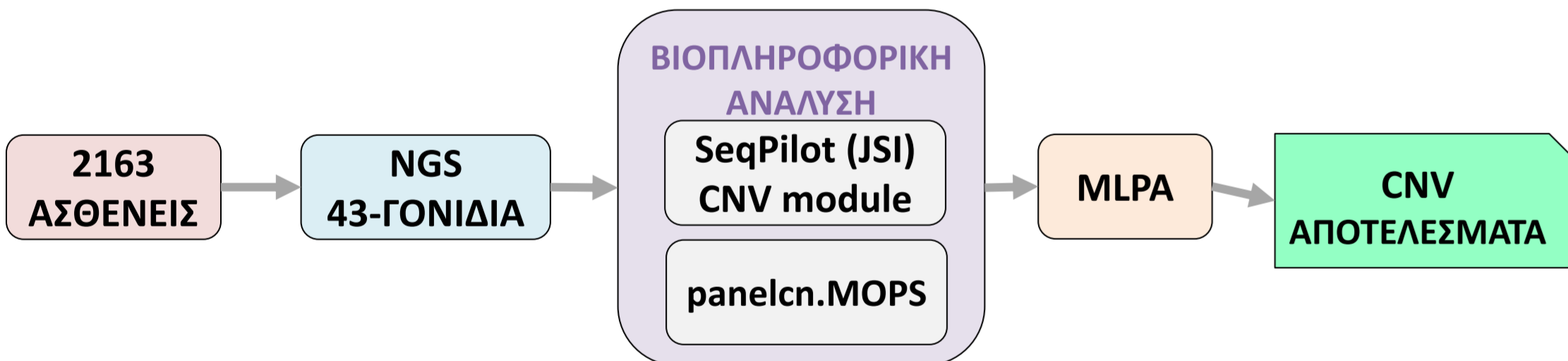
Η κληρονομική προδιάθεση εντοπίζεται περίπου στο 5-10% των συνολικών περιπτώσεων διαγνωσθέντων καρκίνων και συνδέεται με την ύπαρξη κληρονομούμενων παραλλαγών σε συγκεκριμένα γονίδια. Οι μεγάλες γενωμικές αναδιατάξεις (Copy number variations-CNVs) είναι ένας τύπος παραλλαγής που σχετίζονται με τον κληρονομούμενο καρκίνο. Σήμερα, η τεχνολογία αλληλούχησης επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing-NGS) έχει συμβάλει στην ανάλυση πολλών γονιδίων και χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη για την ανάλυση των CNVs.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Διερεύνηση της ανίχνευσης CNVs με τη χρήση των προγραμμάτων SeqPilot (JSI Medical Systems) και panelcn.MOPS χρησιμοποιώντας NGS δεδομένα, σε ασθενείς με καρκίνο.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Συνολικά, 2163 ασθενείς (1785 με καρκίνο μαστού, 267 με καρκίνο ωθηκών και 111 με καρκίνο παχέος εντέρου) εξετάστηκαν για προδιάθεση καρκίνου, αναλύοντας 43 γονίδια με χρήση NGS και πραγματοποιήθηκε υπολογιστική ανάλυση των CNVs. Η ανίχνευση των CNVs έγινε με την χρήση του λογισμικού SeqPilot (JSI Medical Systems) και του αλγόριθμου panelcn.MOPS.



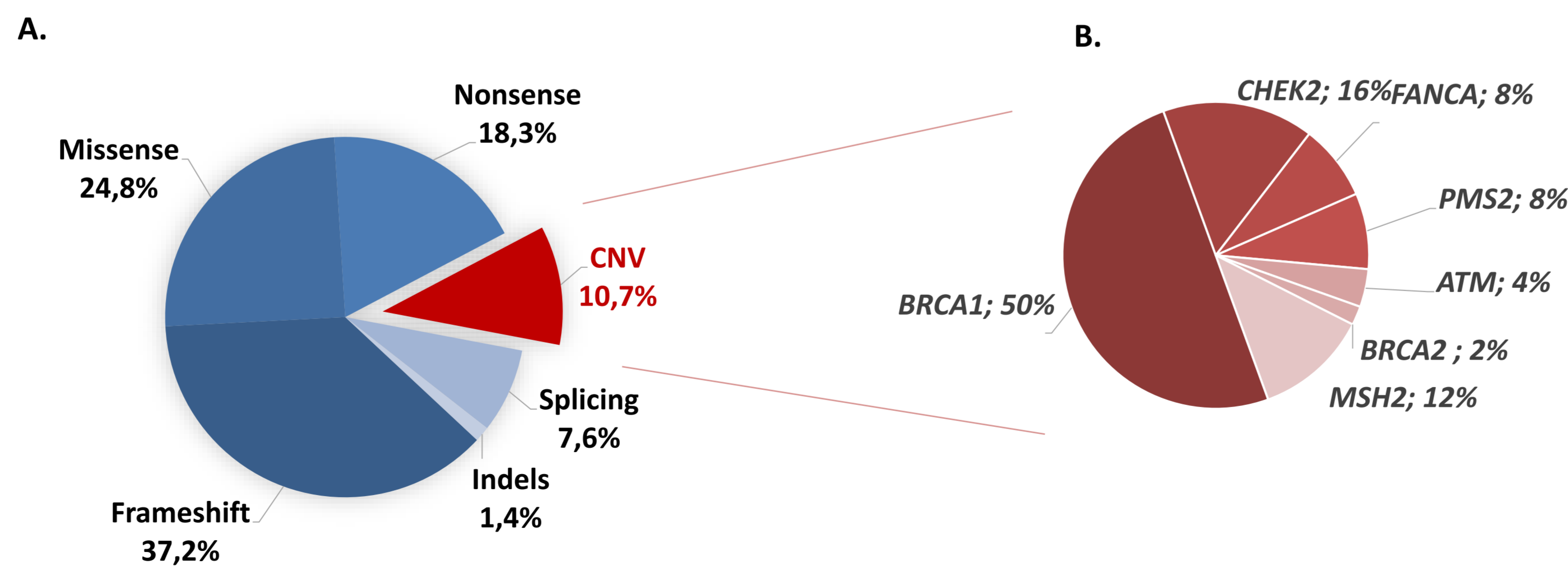
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

- Το 10,7% (50/464) στο σύνολο των παθογόνων/πιθανών παθογόνων παραλλαγών ήταν CNVs.
- Ειδικότερα, στους ασθενείς με καρκίνο μαστού και των ωθηκών τουλάχιστον μία παθογόνος/πιθανή παθογόνος παραλλαγή ανιχνεύθηκε σε 362 (20,3%) και 74 (27,7%) ασθενείς και τα CNVs αντιπροσώπευαν το 10,2% (37/362) και 6,7% (5/74), αντίστοιχα.
- Στους ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου τα CNVs αντιπροσώπευαν το 28,6% των παθογόνων/ πιθανών παθογόνων παραλλαγών (8/28).
- Από τα 50 CNVs που ανιχνεύθηκαν το 72% εντοπίστηκαν σε γονίδια υψηλού κινδύνου εμφάνισης καρκίνου (50% BRCA1, 2% BRCA2, 8% PMS2, 12% MSH2), το 20% σε γονίδια ενδιάμεσου κινδύνου (16% CHEK2, 4% ATM) και το 8% σε γονίδια χαμηλού κινδύνου (8% FANCA).
- Η επιβεβαίωση των ευρημάτων με την τεχνική MLPA έδειξε ότι χρήση των υπολογιστικών αλγορίθμων για ανίχνευση CNVs εμφανίζει ευαισθησία και ειδικότητα 100%. Τα CNVs που ανιχνεύθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

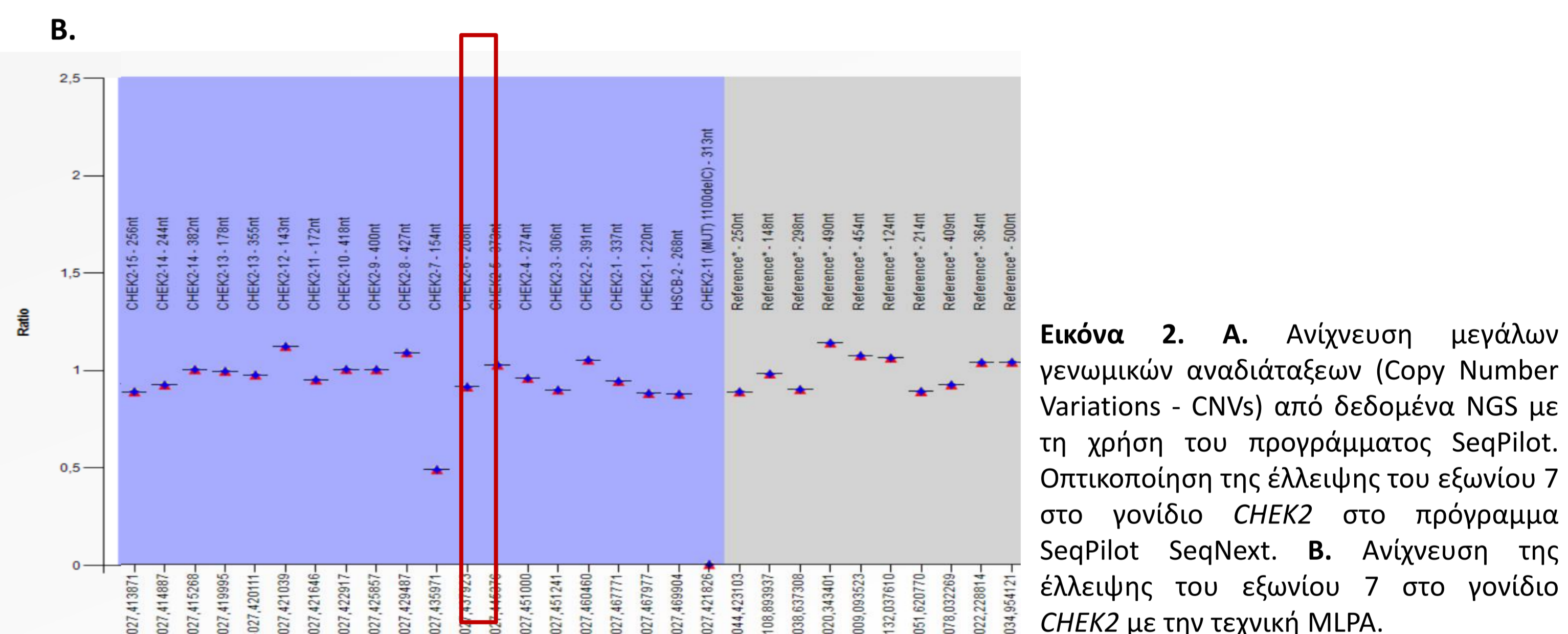
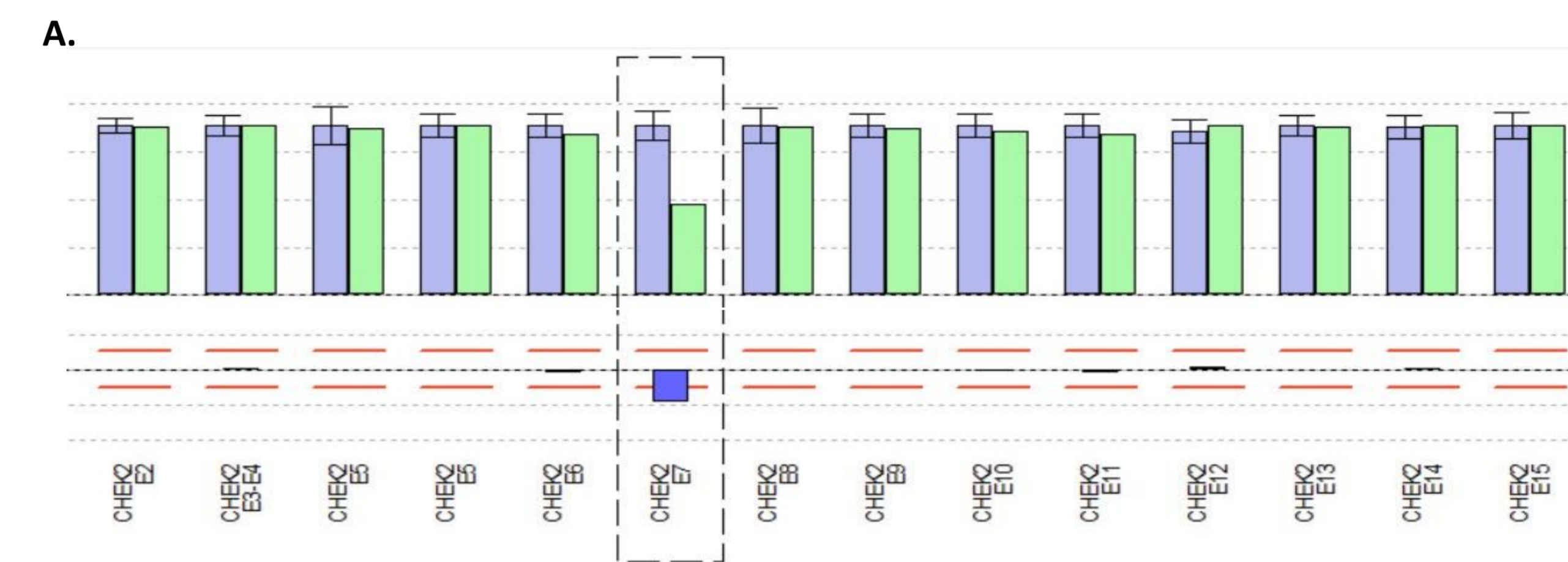
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πίνακας 1. Παθογόνες μεγάλες γενωμικές αναδιατάξεις (CNVs) που ανιχνεύθηκαν στην παρούσα μελέτη

Γονίδια	HGVS ονοματολογία	Εναλλακτική ονοματολογία	# ασθενών
ATM	NM_000051:c.(-30+1_-29-1)_(331+1_332-1)del	Έλλειψη εξωνίων 2-4	1
ATM	NM_000051:c.(8850+1_8851-1)_(*)_?)del	Έλλειψη εξωνίων 62-63	1
BRCA1	NM_007294:c.(4675+1_4676-1)_(4986+1_4987-1)del	Έλλειψη εξωνίου 15	1
BRCA1	NM_007294:c.(5467+1_5468-1)_(*)_?)del	Έλλειψη εξωνίου 22	9
BRCA1	NM_007294:c.(5406+1_5407-1)_(*)_?)del	Έλλειψη εξωνίων 22-23	8
BRCA1	NM_007294:c.(5193+1_5194-1)_(5277+1_5278-1)del	Έλλειψη εξωνίου 19	7
BRCA2	NM_000059:c.(6841+1_6842-1)_(7007+1_7008-1)del	Έλλειψη εξωνίων 12-13	1
CHEK2	NM_007194:c.(908+1_909-1)_(1095+1_1096-1)del	Έλλειψη εξωνίων 9-10	6
CHEK2	NM_007194:c.(792+1_793-1)_(846+1_847-1)	Έλλειψη εξωνίου 7	2
FANCA	NM_000135:c.(1626+1_1627-1)_(2852+1_2853-1)del	Έλλειψη εξωνίων 18-29	2
FANCA	NM_000135:c.(893+1_894-1)_(1359+1_1360-1)del	Έλλειψη εξωνίων 11-14	2
MSH2	NM_000251:c.(211+1_212-1)_(1276+1_1277-1)del	Έλλειψη εξωνίων 2-7	2
MSH2	NM_000251:c.(366+1_367-1)_(792+1_793-1)del	Έλλειψη εξωνίων 3-4	1
MSH2	NM_000251:c.(2458+1_2459-1)_(2634+1_2635-1)dup	Διπλασιασμός εξωνίου 15	1
MSH2/EPCAM	NM_000251:c.(?)_1)_(211+1_212-1)del/ NM_002354:c.(858+1_859-1)_(*)_?)	Έλλειψη εξωνίου 1 / Έλλειψη εξωνίων 8-9	2
PMS2	NM_000535:c.(903+1_904-1)_(988+1_989-1)del	Έλλειψη εξωνίου 9	1
PMS2	NM_000535:c.(23+1_24-1)_(988+1_989-1)del	Έλλειψη εξωνίων 2-9	1
PMS2	NM_000535:c.(705+1_706-1)_(2006+1_2007-1)del	Έλλειψη εξωνίων 7-11	2



Εικόνα 1. Α. Κατανομή των παθογόνων/ πιθανών παθογόνων παραλλαγών που ανιχνεύθηκαν στους ασθενείς Β. Κατανομή των γονιδίων όπου ανιχνεύθηκαν CNVs.



Εικόνα 2. Α. Ανίχνευση μεγάλων γενωμικών αναδιατάξεων (Copy Number Variations - CNVs) από δεδομένα NGS με τη χρήση του προγράμματος SeqPilot. Οπτικοποίηση της έλλειψης του εξωνίου 7 στο γονίδιο CHEK2 στο πρόγραμμα SeqPilot SeqNext. Β. Ανίχνευση της έλλειψης του εξωνίου 7 στο γονίδιο CHEK2 με την τεχνική MLPA.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η ανάλυση CNV δεν πρέπει να περιορίζεται μόνο στα γονίδια BRCA1/2 στους ασθενείς με καρκίνο μαστού και ωθηκών
- Στους ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου είναι απαραίτητη η CNV ανάλυση καθώς αντιπροσωπεύουν το 28,6% των παθογόνων/ πιθανώς παθογόνων παραλλαγών
- Η in silico CNV ανάλυση προσφέρει μια οικονομικά αποδοτική και εφικτή μεθοδολογία για την ανίχνευση μεγάλων γενωμικών αναδιατάξεων από NGS πειράματα
- Ο πλήρης γενετικός έλεγχος στους ασθενείς με κληρονομούμενο καρκίνο βοηθά στην εξατομικευμένη διαχείρισή τους

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Lepkes L, et al. Performance of In Silico Prediction Tools for the Detection of Germline Copy Number Variations in Cancer Predisposition Genes in 4208 Female Index Patients with Familial Breast and Ovarian Cancer. *Cancers (Basel)* 2021.
- Schmidt A, et al. Next-Generation Sequencing-Based Detection of Germline Copy Number Variations in BRCA1/BRCA2: Validation of a One-Step Diagnostic Workflow. *J Mol Diagn* 2017, 19(6):809-816.
- Moreno-Cabrera JM, et al. Screening of CNVs using NGS data improves mutation detection yield and decreases costs in genetic testing for hereditary cancer. *J Med Genet*, 2020.
- Tsaousis GN, et al. Analysis of hereditary cancer syndromes by using a panel of genes: novel and multiple pathogenic mutations. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):535