



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



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ**

Διευθυντής: Καθηγητής Ηλίας Ζιντζαράς

*Διδακτορική Διατριβή*

**"Κλινική εφαρμογή των φαρμακογενετικών ελέγχων στη  
θεραπευτική των νεοπλασιών "**

υπό

**ΧΡΥΣΟΥΛΑΣ ΔΟΞΑΝΗ**

Πανεπιστημιακού Υποτρόφου Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2016

© 2016 Χρυσούλα Δοξάνη

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

## **Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή**

- 1<sup>ος</sup> Εξεταστής  
(Επιβλέπων)** Δρ. Ηλίας **Ζιντζαράς**  
*Καθηγητής Βιομαθηματικών και Βιομετρίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 2<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Ιωάννης **Στεφανίδης**  
*Καθηγητής Παθολογίας-Νεφρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλίας*
- 3<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Μιχαήλ **Βουλγαρέλης**  
*Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
ΕΚΠΑ*
- 4<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Γεωργιος Βασιλόπουλος  
*Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλίας*
- 5<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Δέσποινα **Κυριάκου**  
*Καθηγήτρια Ιατρικής των Μεταγγίσεων, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλίας*
- 6<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Γεώργιος **Χατζηγεωργίου**  
*Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 7<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Δημήτριος **Ζαχαρούλης**  
*Αναπληρωτής Καθηγητής Γενικής Χειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής,  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Με το πέρας της διδακτορικής διατριβής θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή κ. Ηλία Ζιντζαρά για την ουσιαστική συμβολή του στην εκπόνηση της παρούσας ερευνητικής εργασίας καθώς και για την ευκαιρία να συνεργαστώ μαζί του όλο αυτό το διάστημα.

Θα ήθελα επίσης να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλα τα μέλη του ερευνητικού και διοικητικού προσωπικού του Εργαστηρίου Βιομαθητικών, παλαιότερα και νεότερα, τα οποία συνέβαλαν από διαφορετικές σκοπιές στην πραγματοποίηση του ερευνητικού έργου.

Τέλος, θα ήταν παράλειψη να μην αναφερθώ στους ανθρώπους που με στήριξαν και υπήρξαν συνοδοιπόροι στο πολυετές αυτό ερευνητικό ταξίδι. Ευχαριστώ από καρδιάς τον συζυγό μου Βασίλη, τους γονείς μου Γιώργο και Μαρία, και τη μικρή μου Κωνσταντίνα που της στέρησα πολύτιμες ώρες.

*Χρυσούλα Δοξάνη*

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

### ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

*Επώνυμο* Δοξάνη  
*Όνομα* Χρυσούλα  
*Ημ/νία γέννησης* 13.06.1981  
*Διεύθυνση οικίας* Λαγονησίου 3-5, Λάρισα, ΤΚ 41223 Ελλάδα  
*Αρ.τηλεφώνου* +30 6973776645  
*e-mail* doxani@med.uth.gr

### ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

Πανεπιστημιακός Υπότροφος, Εργαστήριο Βιομαθηματικών, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα

Ειδικευόμενη Αιματολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισα

### ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 03/2010 – σήμερα: **Υποψήφιος διδάκτωρ** στη Βιοστατιστική-Βιομετρία Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα
- 09/2006– 07/2008: **Μεταπτυχιακό δίπλωμα** στις Κλινικές Εφαρμογές Μοριακής Ιατρικής (MSc Clinical Applications of Molecular Medicine), Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα
- 09/1999 – 07/2005: **Πτυχίο Ιατρικής**, Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

### ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 11/2012 σήμερα: Ειδικευόμενη Αιματολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισα
- 09/2010-03/2011: Ειδικευόμενη Αιματολογίας στην Αιμοδοσία, Γ.Ν Καστοριάς
- 2010- σήμερα: Υπεύθυνη Τμήματος Κλινικών Μελετών, Οργανισμός Βιομετρικών και Κλινικών Ελέγχων, «BECRO», Λάρισα

- 12/2008-06/2010: Ειδικευόμενη Παθολογίας, Β' Παθολογική-Χημειοθεραπευτική Κλινική, Α.Ν.Θ. «Θεαγένειο»
- 01/2008-09/2008: Συντονιστής Κλινικών Μελετών (Study Coordinator) και διαχείριση Κλινικών Δεδομένων Μελετών της «Ελληνικής Συνεργαζόμενης Ογκολογικής Ομάδας» για το ερευνητικό κέντρο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας,
- 02/2006-08/2007: Υπηρεσία Υπαίθρου, Κ.Υ.Δεσκάτης, Γ.Ν.Γρεβενών

#### **ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ**

- «Μελέτη Χρόνιων Νεφρικών Παθήσεων», Τμήμα Ιατρικής, Σχολη Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιστημονικό Υπεύθυνος Καθηγητής Ι.Στεφανίδης
- «Διαχείριση Δεδομένων Κλινικών Μελετών», Τμήμα Ιατρικής, Σχολη Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιστημονικός Υπεύθυνος Καθηγητής Η.Ζιντζαράς
- «Στήριξη Μεθοδολογίας της Έρευνας στην Ιατρική και την εκπόνηση στατιστικών μελετών» Τμήμα Ιατρικής, Σχολη Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Επιστημονικός Υπεύθυνος Καθηγητής Η.Ζιντζαράς

#### **ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ**

<i>Ξένες γλώσσες</i>	Αγγλικά (Certificate of Proficiency in English, University of Cambridge UK)
	Γερμανικά (Grundstufe Goethe Institut)
	Γαλλικά (Βασική Γνώση)
<i>Πληροφορική</i>	Στατιστικά Πακέτα: SPSS
	Βιποληροφοριακά Προγράμματα: FASTA, CLUSTAL, BLAST
	MSoftware

#### **ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ**

- 2006-2008: Ανάλυση Πολυμορφισμών με Μοριακές Τεχνικές (απομόνωση DNA, PCR και PCR-RFLP, ηλεκτροφόρηση σε γέλη αгарόζης) Ερευνητικό εργαστήριο Παθολογικής Ογκολογικής, Τμήμα

Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,  
Επιστημονικός Υπεύθυνος Καθηγητής Χ.Παπανδρέου

- 2010 – σήμερα: Κλινικές μελέτες (Ιατρικός Σύμβουλος)
- 2010 – σήμερα: Συστηματική ανασκόπηση, Μετα-ανάλυση

#### ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 2014 – σήμερα: Διδασκαλία στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Μεθοδολογία Βιοϊατρικής Έρευνας, Βιοστατιστική και Κλινική Βιοπληροφορική», Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 2014 – σήμερα: Διδασκαλία του μαθήματος «Βιομετρία» σε προπτυχιακούς φοιτητές Ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

#### ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

##### *Διεθνή Περιοδικά*

- Paterakis K, Koutsias S, **Doxani C**, Xanthopoulou P, Kokkali C, Karampelas I, Dardiotis E, Hadjigeorgiou G, Brotis A, Zintzaras E. Variants of the elastin (ELN) gene and susceptibility to intracranial aneurysm: a synthesis of genetic association studies using a genetic model-free approach. Int J Neurosci. DOI:10.1080/00207454.2016.1212027 (in press)
- Zintzaras E, Miligkos M, Ziakas P, Balk EM, Mademtzoğlu D, **Doxani C**, Mprotsis T, Gowri R, Xanthopoulou P, Mpoulimari I, Kokkali C, Dimoulou G, Rodopolou P, Stefanidis I, Kent DM, Hadjigeorgiou GM. Assessment of the Relative Effectiveness and Tolerability of Treatments of Type 2 Diabetes Mellitus: A Network Meta-analysis. Clin Ther. 2014 Aug 7. pii: S0149-2918(14)00430-5. doi: 10.1016/j.clinthera.2014.06.035
- Hadjigeorgiou GM, **Doxani C**, Miligkos M, Ziakas P, Bakalos G, Papadimitriou D, Mprotsis T, Grigoriadis N, Zintzaras E. A network meta-analysis of randomized controlled trials for comparing the effectiveness and safety profile of treatments with marketing authorization for relapsing multiple sclerosis. J Clin Pharm Ther. 2013 Aug 20. doi: 10.1111/jcpt.12090.

- Bakalos G, Miligkos M, **Doxani C**, Mpoulimari I, Rodopoulou P, Zintzaras E. Assessing the relative effectiveness and tolerability of treatments in small cell lung cancer: a network meta-analysis. *Cancer Epidemiol.* 2013 Oct;37(5):675-82.
- **Doxani C**, Voulgarelis M, Zintzaras E. MDR1 mRNA expression and MDR1 gene variants as predictors of response to chemotherapy in patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis. *Biomarkers.* 2013 Aug;18(5):425-35.
- Poulou LS, Ziakas PD, Ziogas DC, **Doxani C**, Xyla V, Vakrinos G, Voulgarelis M, Thanos L. FDG-PET for detecting local tumor recurrence of ablated liver metastases: a diagnostic meta-analysis. *Biomarkers.* 2012 Sep;17(6):532-8
- Zintzaras E, **Doxani C**, Mprotsis T, Schmid CH, Hadjigeorgiou GM. Network Analysis of Randomized Controlled Trials in Multiple Sclerosis. *Clin Ther.* 2012 Apr;34(4):857-869.e9
- Zintzaras E., **Doxani C.**, Koufakis T., Ziogas D., Voulgarelis M. Variants of the MTHFR gene and susceptibility to Acute Lymphoblastic Leukemia in children: a synthesis of genetic association studies. *Cancer Epidemiol.* 2012 Apr;36(2):169-76..
- Zintzaras E, **Doxani C**, Ziogas DC, Mprotsis T, Rodopoulou P, Karachalios T. Bone mineral density and genetic markers involved in three connected pathways (focal adhesion, actin cytoskeleton regulation and cell cycle): the CUMAGAS-BMD information system. *Biomarkers.* 2011 Dec;16(8):698-708. Epub 2011 Nov 8.
- Zdoukopoulos N, **Doxani C**, Messinis IE, Stefanidis I, Zintzaras E. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene in preeclampsia: a candidate-gene association study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2011 Nov 3;11:89..
- Papandreou CN, **Doxani C**, Zdoukopoulos N, Vlachostergios PJ, Hatzidaki E, Bakalos G, Ziogas DC, Koufakis T, Zintzaras E. Evidence of association between methylenetetrahydrofolate reductase gene and susceptibility to breast cancer: a candidate-gene association study in a South-eastern European population. *DNA Cell Biol.* 2012 Feb;31(2):193-8. Epub 2011 Aug 29.
- Zintzaras E., **Doxani C.**, Koufakis T., Kastanis A., Rodopoulou P., Karachalios T. Synopsis and meta-analysis of genetics association studies in osteoporosis for the focal adhesion family genes: the CUMAGAS-OSTEOPorosis information system. *BMC Med.* 2011 Jan; 9:9.



- Zintzaras E., Grammatikou M., Kitsios G., **Doxani C.**, Zdoukopoulos N., Papandreou C. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in breast cancer: a genetic association study and meta-analysis. *J. Hum Genet.* 2010 Nov; 55 (11): 743-8.
- Asteriou C., Barbetakis N., Kleontas A., **Doxani C.**, eComment: mediastinal lymph node dissection in pulmonary metastasectomy. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2010 May; 10 (5): 698.

*H-index* 7  
*Citations* 91

Σειρά υποψηφίου μεταξύ συγγραφέων

1ος σε: 1

2ος σε: 7

Άλλη θέση σε: 5

#### *Πρακτικά Συνεδρίων*

- Οστική Πυκνότητα (BMD) και γενετικοί δείκτες που εμπλέκονται στα μονοπάτια της εστιακής προσκόλλησης, της ρύθμισης του κυτταροσκελετού και του κυτταρικού κύκλου: CUMAGAS-BMD και CUMAGAS-OSTEOPOROSIS. Θ.Καραχάλιος, Χ.Δοξάνη, Μ.Τζιαστούδη, Θ.Μπρότσης, Η.Ζιντζαράς, 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Οστικού Μεταβολισμού, Σεπτέμβριος, 2012, Χανιά

Κριτής Δημοσιεύσεων στα παρακάτω περιοδικά:

- Computer Methods and Programs in Biomedicine
- Computers in Biology and Medicine
- The American Journal of the Medical Sciences
- PLOS One
- Pharmacogenomics
- Journal of Biosciences And Medicines

*" Κλινική εφαρμογή των φαρμακογενετικών ελέγχων στη θεραπευτική των  
νεοπλασιών "*

**ΧΡΥΣΟΥΛΑ ΔΟΞΑΝΗ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2016

***ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ***

1. **Δρ. Ηλίας Ζιντζαράς**, Καθηγητής Βιομαθηματικών και Βιομετρίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*Επιβλέπων*)
2. **Δρ. Ιωάννης Στεφανίδης**, Καθηγητής Παθολογίας-Νεφρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. **Δρ. Μιχαήλ Βουλγαρέλης** Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΕΚΠΑ

## Περίληψη

Η φαρμακογονιδιωματική (pharmacogenomics) μελετά το ρόλο που διαδραματίζει η κληρονομικότητα στη διακύμανση της απάντησης των ασθενών στη φαρμακευτική αγωγή. Ενώ οι γενετικές μελέτες έχουν αναδείξει εκατομμύρια πιθανούς προγνωστικούς δείκτες, ένα πολύ μικρό ποσοστό από αυτούς τους δείκτες αναμένεται να παρέχει κλινικά χρήσιμη πληροφορία. Η αναγνώριση των γενετικών δεικτών που προβλέπουν την απάντηση στην θεραπευτική αγωγή (προβλεπτικοί δείκτες) αποτελεί το πρώτο βήμα προς την μετάφραση της φαρμακογονιδιωματικής σε κλινική πρακτική. Η μετάβαση από την έρευνα στην κλινική πρακτική αναμένεται χρονοβόρα, επίπονη και δαπανηρή. Απαιτείται συστηματική συλλογή, σύνθεση και αξιολόγηση των διαθέσιμων φαρμακογονιδιωματικών δεδομένων προκειμένου να αποφανθεί η επιστημονική κοινότητα για τη χρησιμότητά τους. Η σύνθεση των αποτελεσμάτων των μελετών αυτών γίνεται με μέτα-αναλυτικές τεχνικές.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η αναζήτηση γενετικών δεικτών που επιδρούν στη ανταπόκριση θεραπειών αιματολογικών νεοπλασιών ([Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία (ΧΛΛ), Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (ΜΔΣ), Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία (ΟΜΛ)] με τη συστηματική συλλογή, σύνθεση και ανάλυση με μέτα-αναλυτικές τεχνικές καθώς και η αξιολόγηση των διαθέσιμων φαρμακογονιδιωματικών δεδομένων. Ανά νόσο, πραγματοποιήθηκε συστηματική αναζήτηση της βιβλιογραφίας, εξαγωγή των σχετικών δεδομένων από τις μελέτες, σύνθεση των αποτελεσμάτων με στατιστικές μεθόδους και αξιολόγηση της μεθοδολογικής ποιότητας των μελετών.

Στη ΧΛΛ πραγματοποιήθηκε συστηματική αναζήτηση των δημοσιευμένων φαρμακογονιδιωματικών μελετών που διερευνούσαν γενετικούς δείκτες και ανταπόκριση στη

θεραπεία. Συνολικά μελετήθηκαν 13 δείκτες. Από την μέτα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε φάνηκε ότι η κατάσταση μεταλλάξεων στα γονίδια της ποικίλλουσας περιοχής της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης των κλωνικών κυττάρων σχετίζεται με την ανταπόκριση στη θεραπεία με τους ασθενείς που εμφανίζουν μεταλλάξεις να έχουν δύο φορές περισσότερες πιθανότητες να ανταποκριθούν στη θεραπεία. Αντιθέτως, φάνηκε ότι η παρουσία μεταλλάξεων στα γονίδια TP53 και ATM σχετίζεται με κακή ανταπόκριση στη θεραπεία, καθώς και οι κυτταρογενετικές ανωμαλίες del 17p και del 11q και τρισωμία 12. Επίσης, με κακή ανταπόκριση στη θεραπεία σχετίζεται και η υπερέκφραση του CD38 από τα κλωνικά κύτταρα.

Στο ΜΔΣ παρομοίως πραγματοποιήθηκε συστηματική αναζήτηση των δημοσιευμένων φαρμακογονιδιωματικών μελετών που διερευνούσαν γενετικούς δείκτες και ανταπόκριση στη θεραπεία. Συνολικά μέτα-αναλύθηκαν 23 γενετικοί δείκτες και προέκυψε ότι δεν υπάρχει καμία σημαντική συσχέτιση γενετικών δεικτών με την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Στην ΟΜΛ μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί του γονιδίου MDR1 (Multi- Drug Resistance-1 gene) καθώς και η υπερέκφρασή του σε επίπεδο mRNA που θεωρείται σημαντικό αίτιο της πολλαπλής φαρμακευτικής αντίστασης (multi drug resistance) και εμπλέκεται στην ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία των ασθενών με ΟΜΛ. Από την μέτα-ανάλυση προέκυψε ότι η υπερέκφρασή του σε επίπεδο mRNA σχετίζεται με κακή ανταπόκριση στη θεραπεία, ενώ οι πολυμορφισμοί που μελετήθηκαν δεν σχετίζονται σημαντικά με την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Συμπερασματικά, τα ευρήματα της παρούσας διατριβής από τη σύνθεση των αποτελεσμάτων φαρμακογονιδιωματικών μελετών με σύγχρονες στατιστικές μεθόδους

μπορούν να υποβοηθήσουν στην εξέλιξη της έρευνας για την αναγνώριση των γενετικών δεικτών που προβλέπουν την απάντηση στην θεραπευτική και την μετάβασή τους στην κλινική πρακτική στις μελετώμενες αιματολογικές κακοήθειες.

### **Abstract**

Pharmacogenomics is the study of the role of the heredity in the variance of patient response to treatment. While genetic studies have reveal millions of potential prognostic markers, a very small percentage of these indicators is expected to provide clinically useful information. The identification of genetic markers that predict response to therapy (predictors) is the first step towards the translation of Pharmacogenomics into clinical practice. The transition from research to clinical practice is expected to be time-consuming, laborious and costly. Thus, systematic collection, synthesis and evaluation of available pharmacogenomic data are required in order the scientific community to determine for their usefulness. The synthesis of the results of these studies can be done with meta-analytisis techniques.

The aim of this thesis was to search for genetic markers that can impact on response to treatments in hematological malignancies ([Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL), Myelodysplastic Syndromes (MDS), Acute Myeloid Leukemia (AML)] with the systematic collection, synthesis and meta-analysis as well as the quality evaluation of the available pharmacogenomic data. a systematic literature search per disease, was conducted, followed by extraction of the relevant data from these studies, synthesis of results with statistical methods and assessment of methodological quality of the studies.

In CLL, systematic search of published pharmacogenomic studies that investigated genetic markers and response to treatment was conducted. A total of 13 indicators were studied. From the meta-analysis that carried out, it was shown that the mutation status in

genes of variant region of heavy chain of immunoglobulin (IGVH) of clonal cells is associated with the response to treatment. Patients that exhibit mutations have two times more probability to respond to treatment. On the contrary, it seemed that the presence of mutations in genes TP53 and ATM is associated with poor response to treatment, as well as the presence of cytogenetic abnormalities del17p and del11q as well as trisomy 12. Moreover, overexpression of CD38 was associated with poor response to treatment.

In MDS, similarly, a systematic search of published pharmacogenomic studies investigating genetic markers and response to treatment was conducted. Overall 23 genetic markers were meta-analysed. The results have shown that there is no significant correlation between any genetic marker with response to treatment.

In AML the polymorphisms of the gene MDR 1 (Multi-Drug Resistance-1 gene) as well as the level of mRNA expression were studied since MDR1 is considered a major cause of multiple pharmaceutical resistance (multi drug resistance) and it is implicated in the response to chemotherapy of patients with AML. The meta-analysis revealed that the overexpression of mRNA is associated with poor response to treatment, while the polymorphisms that studied did not significantly correlate with response to treatment.

In conclusion, the findings of this thesis resulted from the composition of pharmacogenomic studies with modern statistical techniques can assist in the improvement of the research on the identification of genetic markers that predict response to therapy and their transition into clinical practice at the studied hematological malignancies.

## Πίνακας Περιεχομένων

Γενική Εισαγωγή .....	1
Βιβλιογραφία .....	7
<b>Ενότητα 1. Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία .....</b>	<b>9</b>
1.1 Εισαγωγή .....	9
1.2 Μέθοδοι .....	11
1.3 Αποτελέσματα .....	15
1.4 Συζήτηση .....	44
1.5 Βιβλιογραφία.....	48
<b>Ενότητα 2. Μυελοδυσπλαστικό Σύνδρομο (ΜΔΣ) .....</b>	<b>60</b>
2.1 Εισαγωγή .....	60
2.2 Μέθοδοι .....	61
2.3 Αποτελέσματα .....	65
2.4 Συζήτηση .....	109
2.5 Βιβλιογραφία.....	113
<b>Ενότητα 3. Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία .....</b>	<b>124</b>
3.1 Εισαγωγή .....	124
3.2 Μέθοδοι .....	126
3.3 Αποτελέσματα .....	130
3.4 Συζήτηση .....	145
3.5 Βιβλιογραφία.....	148
<b>Ενότητα 4. Ποιοτική αξιολόγηση των μελετών .....</b>	<b>154</b>
4.1. Εισαγωγή .....	154
4.2 Μέθοδοι .....	155
4.3 Αποτελέσματα .....	158
4.4 Συζήτηση .....	161
4.5 Βιβλιογραφία.....	163

<b>Παράρτημα .....</b>	<b>173</b>
<b>Περίληψεις σχετικών δημοσιεύσεων υποψηφίου διδάκτορα .....</b>	<b>173</b>
<b>Δημοσιεύσεις Υποψήφιου Διδάκτορα.....</b>	<b>174</b>



# Γενική Εισαγωγή

## Φαρμακογονιδιωματική

Η φαρμακογονιδιωματική (pharmacogenomics) μελετά το ρόλο που διαδραματίζει η κληρονομικότητα στη διακύμανση της απάντησης των ασθενών στη φαρμακευτική αγωγή [1,2]. Η ολοκλήρωση της χαρτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος άνοιξε νέους ορίζοντες στην προσπάθεια εφαρμογής εξατομικευμένης θεραπευτικής αγωγής. Βασισμένος στο γενετικό προφίλ ενός αρρώστου, ο κλινικός ιατρός θα είναι σε θέση να χρησιμοποιεί την πληροφορία που παρέχουν οι κλινικές μελέτες και να την προσαρμόζει στις γενετικά καθορισμένες ιδιαιτερότητες του κάθε αρρώστου, επιλέγοντας τη θεραπευτική αγωγή με τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και την ελάχιστη τοξικότητα [3]. Στο πεδίο της θεραπευτικής των χρόνιων νοσημάτων, η φαρμακογονιδιωματική αναμένεται να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο, δεδομένου των πολλών επιλογών θεραπευτικών σκευασμάτων και του υψηλού κόστους θεραπείας, τη σημαντική τοξικότητα των αντινεοπλασματικών φαρμάκων, το μεγάλο αριθμό υποψηφίων ασθενών αλλά και την εξεσημασμένη διακύμανση επαρκούς θεραπευτικής απάντησης μεταξύ των ασθενών [3, 4].

Παρόλα αυτά, η υπόσχεση της εξατομικευμένης θεραπευτικής αγωγής στη βάση γενετικής πληροφορίας δεν έχει ακόμη εκπληρωθεί και παραμένει σε θεωρητικό επίπεδο. Ενώ οι γενετικές μελέτες έχουν αναδείξει εκατομμύρια πιθανούς προγνωστικούς δείκτες, ένα πολύ μικρό ποσοστό από αυτούς τους δείκτες αναμένεται να παρέχει κλινικά χρήσιμη πληροφορία. Ιδιαίτερα στην εποχή της “ιατρικής βασισμένης σε ενδείξεις” (evidence-based medicine), η αποτελεσματικότητα μιας στρατηγικής έναντι της καθιερωμένης κλινικής πρακτικής θα πρέπει να αποδειχθεί με συστηματική μεθοδολογία και δε γίνεται να υιοθετηθεί

μόνο στη βάση θεωρητικών υποθέσεων. Η ενσωμάτωση των φαρμακογενετικών ελέγχων (pharmacogenetic tests) στην κλινική πράξη θα αποτελέσει μια μακρόχρονη και επίπονη διαδικασία, δεδομένων μιας σειράς εμποδίων και προκλήσεων που ανακύπτουν στη διαδικασία κλινικής μετάφρασης όλων των νέων βιοϊατρικών ανακαλύψεων [4-6]. Η υπόσχεση όμως της εξατομικευμένης θεραπευτικής αγωγής, η οποία θα δύναται να επιλέγει το κατάλληλο φάρμακο και στην κατάλληλη δοσολογία για κάθε ασθενή, έχει τη δυναμική να επιφέρει δραματική ελάττωση της θνησιμότητας και νοσηρότητας από τις διαφορές νεοπλασίες [7].

Η μεταβλητότητα της θεραπευτικής απάντησης και ο περιορισμένος αριθμός θεραπειών αποτελούν κάποιες από τις βασικές προκλήσεις που αντιμετωπίζει η θεραπευτική ιατρική, ιδιαίτερα στα νεοπλασματικά νοσήματα. Η γνώση της φαρμακογονιδιοματικής δύναται να ενισχύσει την ανακάλυψη, την ανάπτυξη και την εξατομίκευση των φαρμακευτικών θεραπειών. Η αναγνώριση των γενετικών δεικτών που προβλέπουν την απάντηση στην θεραπευτική αγωγή (προβλεπτικοί δείκτες) αποτελεί το πρώτο βήμα προς την μετάφραση της φαρμακογονιδιοματικής σε κλινική πρακτική. Η μετάβαση από την έρευνα στην κλινική πρακτική αναμένεται χρονοβόρα, επίπονη και δαπανηρή. Από πρόσφατες έρευνες στο πεδίο της φαρμακογονιδιοματικής καθίσταται σαφές ότι μια σειρά προκλήσεων πρέπει να ξεπεραστούν πριν την κλινική εφαρμογή των φαρμακογενετικών ελέγχων, όπως το κόστος σε σύγκριση με την αποτελεσματικότητα και ηθικά διλήμματα αναφορικά με την χρήση του DNA [1, 3, 6-8].

Οι διαθέσιμοι γενετικοί έλεγχοι (γενετικά τεστ - genetic tests) για την πρόβλεψη της απάντησης στη θεραπεία των διαφορών νεοπλασιών αυξάνονται με ταχείς ρυθμούς. Σύμφωνα με τον ορισμό του Secretary's Advisory Committee on genetic Testing (SACGT) «γενετικό τεστ είναι η ανάλυση που πραγματοποιείται στο ανθρώπινο DNA, RNA, γονίδια και/ ή

χρωμοσώματα για την διερεύνηση κληρονομούμενων ή επίκτητων γονότυπων, μεταλλάξεων, φαινοτύπων ή καρυότυπων που προκαλούν ή είναι πιθανό να προκαλέσουν μια συγκεκριμένη ασθένεια ή κατάσταση. Ένα γενετικό τεστ είναι η ανάλυση των ανθρώπινων πρωτεϊνών και συγκεκριμένων μεταβολιτών, τα οποία κυρίως χρησιμοποιούνται για να εντοπίσουν κληρονομήσιμους ή επίκτητους γονότυπους, μεταλλάξεις ή φαινοτύπους. Οι σκοποί των γενετικών αυτών τεστ περιλαμβάνουν τον προσδιορισμό του κινδύνου για εμφάνιση της νόσου, τον προληπτικό έλεγχο νεογέννητων, την καθοδήγηση θεραπευτικών χειρισμών, τον προσδιορισμό φορέων και την καθιέρωση προγεννητικών ή κλινικών διαγνώσεων ή προγνώσεων σε άτομα, οικογένειες ή πληθυσμούς» [2]. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες για τις Φαρμακογονιδιωματικές Μελέτες της Διεθνούς Επιτροπής Εναρμόνισης (ICH) (E15) γονιδιωματικός βιοδείκτης είναι ένα μεταβλητό χαρακτηριστικό είτε DNA και/ή RNA που αποτελεί δείκτη φυσιολογικών βιολογικών διαδικασιών, παθογενετικών διαδικασιών και/ή ανταπόκρισης σε θεραπευτικές ή άλλες παρεμβάσεις [9]. Τετοια μεταβλητά χαρακτηριστικά DNA θα μπορούσε να είναι:

- α) πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου- Single nucleotide polymorphisms (SNPs);
- β) μεταβλητότητα επαναλαμβανόμενων μικρών αλληλουχιών
- γ) απλότυποι
- δ) τροποποιήσεις του DNA π.χ. μεθυλίωση
- ε) διαγραφές ή εισαγωγές ενός ή περισσότερων νουκλεοτιδίων
- στ) παραλλαγές αριθμού αντιγράφων
- ζ) κυτταρογενετικές αναδιατάξεις π.χ. αντιμεταθέσεις, διπλασιασμοί, διαγραφές ή εισαγωγές.

Ως προς τα χαρακτηριστικά του RNA αυτά θα μπορούσε να είναι:

- α) αλληλουχίες RNA

β) επίπεδα έκφρασης RNA

γ) επεξεργασία του RNA, π.χ., μάτισμα και επεξεργασία

δ) επίπεδα microRNA

Σύμφωνα με τις ίδιες κατευθυντήριες οδηγίες οι φαρμακογονιδιωματικές μελέτες (PGx) είναι μελέτες συσχέτισης μεταβλητών του DNA και του RNA με την ανταπόκριση στα φάρμακα. Οι φαρμακογενετικές μελέτες (PGt) αποτελούν υποκατηγορία των μελετών αυτών καθώς περιορίζονται μόνο στις μελέτες που ασχολούνται με παραλλαγές της αλληλουχίας του DNA και τη σχέση με την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Η ανταπόκριση στη θεραπεία περιλαμβάνει τις διαδικασίες απορρόφησης και εναπόθεσης του φαρμάκου (π.χ φαρμακοκινητική) καθώς και τις επιδράσεις του φαρμάκου (π.χ. φαρμακοδυναμική, αποτελεσματικότητα, τοξικότητα).

Οι φαρμακογονιδιωματικές μελέτες λοιπόν μελετούν τη συσχέτιση γενετικών δεικτών με τη θεραπεία με σκοπό να ταυτοποιηθούν προβλεπτικοί δείκτες. Καθώς όμως υπάρχει μια συνεχής συσσώρευση αποτελεσμάτων και δεδομένων, η ερμηνεία και η διαχείρισή τους γίνεται όλο και πιο δύσκολη ειδικά όταν οι μελέτες αυτές οδηγούν σε αντιφατικά αποτελέσματα δυσχεραίνοντας την διείσδυσή τους στην ιατρική πρακτική. Απαιτείται συστηματική συλλογή, σύνθεση και αξιολόγηση των διαθέσιμων φαρμακογονιδιωματικών δεδομένων προκειμένου να αποφανθεί η επιστημονική κοινότητα για τη χρησιμότητά τους. Οι επιστημονικές εταιρείες που καθορίζουν τις κατευθυντήριες οδηγίες και οι κλινικοί ιατροί θα πρέπει να είναι σε θέση να εκτιμήσουν την κλινική χρησιμότητά τους ώστε να επιλέξουν μεθοδικά τους δείκτες αυτούς που θα βελτιώσουν την έκβαση των ασθενών και τη συνολική κλινική πρακτική.

Η σύνθεση των αποτελεσμάτων των μελετών αυτών γίνεται με μετα-αναλυτικές τεχνικές. Η μετα-ανάλυση αποτελεί ένα εργαλείο για τον υπολογισμό της επίπτωσης του

γενετικού κινδύνου σε ευρέα τμήματα πληθυσμού για καθορισμένες σχέσεις γονιδίου- νόσου ή γονιδίου-ανταπόκρισης [10]. Με τον τρόπο αυτό συνεισφέρει στην επίλυση αντιφατικών αποτελεσμάτων και μειώνει την αβεβαιότητα του εκτιμώμενου κινδύνου. Η αναπαραγωγή των μελετών αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για την αξιόπιστη απόδειξη μια σχέσης γονοτύπου- φαινοτύπου. Εντούτοις, μια σειρά από θέματα μεθοδολογίας και σχεδιασμού των αρχικών μελετών παρεμποδίζουν την έρευνα. Το μικρό μέγεθος δείγματος είναι ένα συχνό πρόβλημα και μπορεί να οδηγήσει σε μη επαρκή δύναμη για την ανίχνευση ενός ή περισσότερων αλληλίων που συμβάλλουν δευτερευόντως στο φαινότυπο που ερευνάται. Έχει υποστηριχτεί ότι η πιο ρεαλιστική γενετική συσχέτιση ανάμεσα σε ένα πολυμορφισμό και μια νόσο παράγει έναν λόγο πιθανοτήτων (odds Ratio OR) μεταξύ 1.1. και 1.5. Ωστόσο, για μια μελέτη γενετικής συσχέτισης με ικανοποιητική δύναμη (80%) ώστε να εντοπιστεί μια μέτρια γενετική επίδραση (OR 1.2) ενός πολυμορφισμού που είναι παρών σε ποσοστό πληθυσμού 10% χρειάζεται δείγμα μελέτης >10000 συμμετέχοντες [10]. Αντίστοιχα, για τις μελέτες συσχέτισης γονιδιωματικής ανάλυσης (GWASs), για τον έλεγχο 500,000 σχέσεων SNP σε μια μελέτη ασθενών- υγιών με βαθμό σημαντικότητας 5%, η διορθωση Bonferroni θα απαιτούσε σημαντικότητα  $p = 0.05/500,000 = 10^{-7}$ . Συνεπώς, για 95% δύναμη για OR = 1.2 και συχνότητα ελλάσονος αλληλίου 10%, είναι απαραίτητη μια μελέτη με 15,000 ζεύγη ασθενών-μαρτύρων [11, 12]. Συνεπώς, η μετα-ανάλυση πολλαπλών μελετών σαφώς και έχει θέση καθώς προσφέρει μια ανάλυση με τη δυνατότητα μεγαλύτερης πιθανότητας να ανιχνεύσει σημαντικά αποτελέσματα [13]

## Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η αναζήτηση γενετικών δεικτών που επιδρούν στη ανταπόκριση θεραπειών αιματολογικών νεοπλασιών ([Χρόνια

Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία (ΧΛΛ), Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (ΜΔΣ), Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία (ΟΜΛ)] με τη συστηματική συλλογή, σύνθεση και ανάλυση με μετα-αναλυτικές τεχνικές καθώς και η αξιολόγηση των διαθέσιμων φαρμακογονιδιωματικών δεδομένων.

Το κείμενο της διατριβής χωρίζεται σε τέσσερις ενότητες οι οποίες αναλύουν ανά περίπτωση τους ειδικούς σκοπούς της διατριβής:

- i. Μέτα-ανάλυση φαρμακογονιδιακών μελετών για τη ΧΛΛ
- ii. Μέτα-ανάλυση φαρμακογονιδιακών μελετών για τα ΜΔΣ
- iii. Μέτα-ανάλυση φαρμακογονιδιακών μελετών για την ΟΜΛ
- iv. Ποιοτική αξιολόγηση των μελετών αυτών

## **Βιβλιογραφία**

- 1) **Swen JJ, Huizinga TW, Gelderblom H, et al.**: Translating pharmacogenomics: challenges on the road to the clinic. *PLoS Med* 2007, 4: e209
- 2) Report of the Secretary's Advisory Committee on Genetics, Health, and Society (SACGHS). *Realizing the Potential of Pharmacogenomics: Opportunities and Challenges*. May 2008
- 3) **Weinshilboum R, Wang L**: Pharmacogenomics: bench to bedside. *Nat Rev Drug Discov* 2004, 3: 739-748.
- 4) **Rogowski WH, Grosse SD, Khoury MJ**. Challenges of translating genetic tests into clinical and public health practice. *Nat Rev Genet*. 2009;10(7):489-95.
- 5) **William P. Petros and William E. Evans**: Pharmacogenomics in cancer therapy: is host genome variability important? *Trends in Pharmacological Sciences* Volume 25, Issue 9, September 2004, p.457-464
- 6) **McKinnon RA, Ward MB, Sorich MJ**: A critical analysis of barriers to the clinical implementation of pharmacogenomics. *Ther Clin Risk Manag* 2007, 3: 751-759.
- 7) **Lesko LJ, Woodcock J**: Translation of pharmacogenomics and pharmacogenetics: a regulatory perspective. *Nat Rev Drug Discov* 2004, 3: 763-769.
- 8) **Roden DM, Altman RB, Benowitz NL, et al.**: Pharmacogenomics: challenges and opportunities. *Ann Intern Med* 2006, 145: 749-757
- 9) INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE. Definitions for genomic biomarkers,

pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories (E15)

Current Step 4 version dated 1 November 2007

- 10) **Zintzaras E, Lau J.** Trends in meta-analysis of genetic association studies. *J Hum Genet* (2008) 53:1–9
- 11) **Thomas DC, Witte JS** Point: population stratification: a problem for case–control studies of candidate–gene associations? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11(6):505-12.
- 12) **Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA** Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat Rev Genet.* 2005;6(2):109-18.
- 13) **Munafò MR, Flint J** Meta-analysis of genetic association studies. *Trends Genet.* 2004;20(9):439-44



# Ενότητα 1. Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία

## 1.1 Εισαγωγή

Η χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (ΧΛΛ) αποτελεί τον πιο συχνό τύπο λευχαιμίας στο Δυτικό κόσμο και υπολογίζεται ότι αποτελεί το 40% των λευχαιμιών των ενηλίκων [1].

Η ΧΛΛ είναι μια κακοήθεια ενός ώριμου κλώνου Β-λεμφοκυττάρων [2] που πολλαπλασιάζεται και συσσωρεύεται στο αίμα, στο μυελό των οστών, στους λεμφαδένες και στον σπλήνα. Σύμφωνα με τις Κατευθυντήριες Οδηγίες της Διεθνούς Ομάδας Εργασίας στην ΧΛΛ [International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL)] [3], για τη διάγνωση της απαιτείται η παρουσία  $\geq 5,000$  κλωνικών Β-λεμφοκυττάρων ανά μικρόλιτρο περιφερικού αίματος που παραμένει για περισσότερο από 3 μήνες [3, 4]. Το κύτταρο της ΧΛΛ καθορίζεται από την έκφραση στην επιφάνεια του Β κυτταρικών δεικτών (CD23, CD19 και ασθενώς CD20), σε συνδυασμό με έκφραση CD5 και ασθενή έκφραση επιφανειακής μεμβρανικής ανοσοσφαιρίνης (sIg) [5].

Για την κλινική σταδιοποίηση των ασθενών με ΧΛΛ υπάρχουν δύο κύρια συστήματα ταξινόμησης, το σύστημα Rai και το σύστημα Binet, τα οποία εισήχθησαν στην κλινική πράξη πριν από σχεδόν 40 χρόνια και στηρίζονται στη συμμετοχή του σπληνός, του ήπατος και των λεμφαδένων, στα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και τις τιμές των αιμοπεταλίων [6,7]. Η τρέχουσα βασική επιλογή θεραπείας για τους ασθενείς με ΧΛΛ με καλή κατάσταση απόδοσης (Performance status- PS) και χωρίς άλλες σημαντικές συννοσηρότητες είναι η χημειο-ανοσοθεραπεία με φλουνταραμίνη, κυκλοφωφamide και ριτουξιμάμπη, το σχήμα FCR [8]. Οι ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία με σχήματα που περιλαμβάνουν φλουνταραμίνη θεωρούνται ότι έχουν επιθετική μορφή ΧΛΛ. Επιθετική μορφή της νόσου

θεωρούνται ότι έχουν και οι ασθενείς που η νόσος εκτρέπεται σε λέμφωμα, πιο συχνά σε Β-μεγαλοκυτταρικό λέμφωμα (DLBCL), μια κατάσταση που ονομάζεται Σύνδρομο Richter (RS) [9, 10].

Η ΧΛΛ παρουσιάζει αξιοσημείωτη κλινική ετερογένεια και ποικίλλουσα πορεία. Υπάρχουν ασθενείς με καλοήγη και ήπια πορεία νόσου που μπορεί να μη χρειαστούν θεραπευτική παρέμβαση, αλλά υπάρχουν και ασθενείς με ταχύτατη επιδείνωση της νόσου που να μην ανταποκρίνονται στις θεραπευτικές επιλογές [11]. Η ανάγκη για την ταυτοποίηση προγνωστικών δεικτών για την στρωματοποίηση των ασθενών σε υποομάδες με ξεχωριστή κλινική έκβαση είναι μεγάλη, ενώ τα δύο υπάρχοντα συστήματα κλινικής σταδιοποίησης (Rai και Binet) δεν έχουν τη δυνατότητα να καθορίσουν την πορεία της νόσου καθώς ακόμη και μεταξύ των ασθενών του ίδιου σταδίου υπάρχει σημαντική ετερογένεια [12]. Για το λόγο αυτό υπάρχει μια τεράστια προσπάθεια να μελετηθούν μια σειρά από παράγοντες που μπορούν να προβλέψουν την πορεία της νόσου αλλά και να εκτιμήσουν την ανταπόκριση στη θεραπεία. Μέχρι στιγμής, έχει δοθεί κυρίως βαρύτητα σε βιοδείκτες που σχετίζονται με τον όγκο, συμπεριλαμβανομένου των κυτταρογενετικών παραλλαγών, των επαναλαμβανόμενων γονιδιακών μεταλλάξεων, ειδικά του γονιδίου TP53, ανοσογενετικών χαρακτηριστικών και συγκεκριμένα την παρουσία σωματικών υπερμεταλλάξεων (Somatic Hypermutation- SHM) των γονιδίων των μεταβλητών περιοχών των βαρέων αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών (IGHV) ως προς την εξέλιξη της νόσου. Άλλοι βιοδείκτες όπως τα επίπεδα στον ορό της β2-μικροσφαιρίνης και της κινάσης της θυμιδίνης [13], καθώς και της έκφρασης των επιφανειακών δεικτών CD38 [14], CD49d [15], ZAP70 [16] έχουν επίσης μελετηθεί ως προγνωστικοί δείκτες. Επιπλέον, οι καρυοτυπικές ανωμαλίες del13q14, τρισωμία 12, del11q22-q23 και del17p13, που εμφανίζονται συχνά στη ΧΛΛ έχουν μελετηθεί για τη πρόγνωση της εξέλιξης της νόσου [17]. Μέχρι τώρα, στην κλινική πρακτική μόνο η παρουσία

της καρυοτυπικής ανωμαλίας del17p13 και η παρουσία μεταλλάξεων στο γονίδιο TP53 έχουν καθιερωθεί στην κλινική πρακτική ως προγνωστικοί δείκτες. Παράλληλα όμως αυξάνονται ολοένα και οι μελέτες για την ταυτοποίηση βιοδεικτών όχι μόνο για την πρόγνωση της πορείας της νόσου αλλά και για την πρόβλεψη ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία (προβλεπτικοί βιοδείκτες).

## 1.2 Μέθοδοι

### Επιλογή Μελετών

Η αναζήτηση των δημοσιευμένων μελετών στο MEDLINE (μέσω Pubmed) πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τους ακόλουθους όρους: «Chronic Lymphocytic Leukemia OR CLL AND gene AND response to therapy». Η τελευταία αναζήτηση πραγματοποιήθηκε τον Μάρτιο του 2016. Ανακτήθηκαν όλες οι περιλήψεις και ελέγχθηκαν για την καταλληλότητά τους για την συμπερίληψη τους στη συστηματική αυτή ανασκόπηση. Μετά τον έλεγχο των περιλήψεων, οι επιλεγμένες μελέτες διαβάστηκαν εξολοκλήρου για να επιβεβαιωθεί ότι πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης στην ανάλυση. Η αναζήτηση περιορίστηκε σε άρθρα στην Αγγλική γλώσσα καθώς και σε μελέτες που διεξήχθησαν σε ανθρώπους. Όλες οι βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που πληρούσαν τα κριτήρια ελέγχθηκαν για τον εντοπισμό επιπρόσθετων δημοσιεύσεων που δεν ήταν καταχωρημένα στην PubMed.

Οι μελέτες για να μπορούν να ενταχθούν στην ανάλυση έπρεπε να πληρούν τα παρακάτω κριτήρια:

1. Να μελετούν ασθενείς με διάγνωση ΧΛΛ
2. Να χρησιμοποιούν οποιαδήποτε φαρμακευτική θεραπεία
3. Η ανταπόκριση να ορίζεται ως η πλήρης ή μερική ανταπόκριση

4. Να παρέχουν τα αποτελέσματα του αριθμού των ασθενών που είχαν ανταπόκριση και αυτών που δεν είχαν ανταπόκριση με θετική και αρνητική έκφραση του μελετώμενου δείκτη (δυαδικό αποτέλεσμα) ή την κατανομή του γονοτύπου των γονιδιακών παραλλαγών για τους ασθενείς με ανταπόκριση εναντι αυτών που δεν είχαν ανταπόκριση για οποοδήποτε γονίδιο.

Οι μελέτες που ερευνούσαν γενετικούς δείκτες και συσχέτιση με εμφάνιση της νόσου, πρόοδο νόσου, σοβαρότητα ή επιβίωση αποκλείονταν.

### **Εξαγωγή δεδομένων**

Από κάθε μελέτη εξήχθησαν τα παρακάτω δεδομένα: Όνομα πρώτου συγγραφέα, έτος δημοσίευσης, γενετικός δείκτης που μελετήθηκε, συνολικός αριθμός που αναλύθηκε, μέση ηλικία, μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε και όριο θετικότητας για τους δείκτες ποσοτικής έκφρασης, αριθμός ασθενών που ανταποκρίθηκαν και ασθενών που δεν ανταποκρίθηκαν ανά γονιδιακή κατανομή, είδος θεραπείας, προηγούμενη λήψη θεραπείας καθώς και η ερευνητική ομάδα (εάν επρόκειτο για ομάδα ασθενών στα πλαίσια μιας μεγαλύτερης σειράς ασθενών των ομάδων εργασίας για τη ΧΛΛ). Στην περίπτωση που μια δημοσίευση σύγκρινε δύο ή περισσότερες θεραπείες, κάθε θεραπευτικό σκέλος λογίζονταν ως ξεχωριστή μελέτη και τα δεδομένα αναλύονταν ως τέτοια.

### **Σύνθεση δεδομένων**

Πριν από την μέτα-ανάλυση, εκτιμήθηκε για κάθε μελέτη ξεχωριστά η επίπτωση κινδύνου (risk effects) για κάθε γενετική παραλλαγή ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία. Όλες οι συσχετίσεις εκτιμήθηκαν ως λόγος πιθανοτήτων με 95% διάστημα εμπιστοσύνης. Όταν 2 ή περισσότερες μελέτες ερευνούσαν τον ίδιο γενετικό δείκτη, διενεργήθηκε μετα-ανάλυση των δημοσιευμένων αποτελεσμάτων.

## **Διαδική Γονιδιακή έκφραση**

Ο συγκεντρωτικός λόγος πιθανοτήτων (OR) με 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν έναντι αυτών που δεν ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία για την θετική έκφραση του γενετικού δείκτη σε σχέση με την αρνητική έκφρασή του υπολογίστηκε με τη χρήση του μοντέλου τυχαίων επιδράσεων [Random Effects (RE)] [18] επειδή ο λόγος πιθανοτήτων με το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων είναι πιο συντηρητικός από το μοντέλο των σταθερών επιδράσεων [Fixed Effects (FE)] [19]. Το μοντέλο των τυχαίων επιδράσεων προϋποθέτει πραγματική πολυμορφία στα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών και ενσωματώνει στους υπολογισμούς την διακύμανση μεταξύ μελετών [19].

## **Γενετικές Παραλλαγές**

Για τις γενετικές παραλλαγές υπολογίσθηκαν οι συγκεντρωτικοί λόγοι των πιθανοτήτων με τη χρήση του μοντέλου τυχαίων επιδράσεων (RE pooled ORs) στους ασθενείς με ανταπόκριση έναντι αυτών που δεν είχαν ανταπόκριση στη θεραπεία ως προς το κυρίαρχο μοντέλο [18]. Η μετα-ανάλυση εξέτασε την ολική συσχέτιση στο κυρίαρχο μοντέλο για το αλληλίο ενδιαφέροντος. Το κυρίαρχο μοντέλο ορίζεται ως: aa + Aa versus AA [20, 21]. Το μοντέλο αυτό επιλέχθηκε καθώς όλες οι μελέτες έδιναν αποτελέσματα για τους ασθενείς χωρίζοντάς τους σε μεταλλαγμένους και μη ως προς τα γονίδια που εξετάζαν. Ο λόγος πιθανοτήτων για το κυρίαρχο μοντέλο εκφράζει την πιθανότητα της ανταπόκρισης για τους φορείς του μεταλλάξιμου αλληλίου (mutant allele) σε σχέση με την πιθανότητα ανταπόκρισης για τους ομοζυγότες του αλληλόμορφου του άγριου τύπου (wild-type allele)

Η στατιστική ετερογένεια μεταξύ των μελετών ελέγχθηκε με τη χρήση της παραμέτρου Q [19, 22]. Η τιμή  $P_Q < 0.10$  έδειχνε μια σημαντική ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες [19]. Επιπλέον, η ετερογένεια ποσοτικοποιήθηκε με τη χρήση της μεταβλητής  $I^2$  [23,

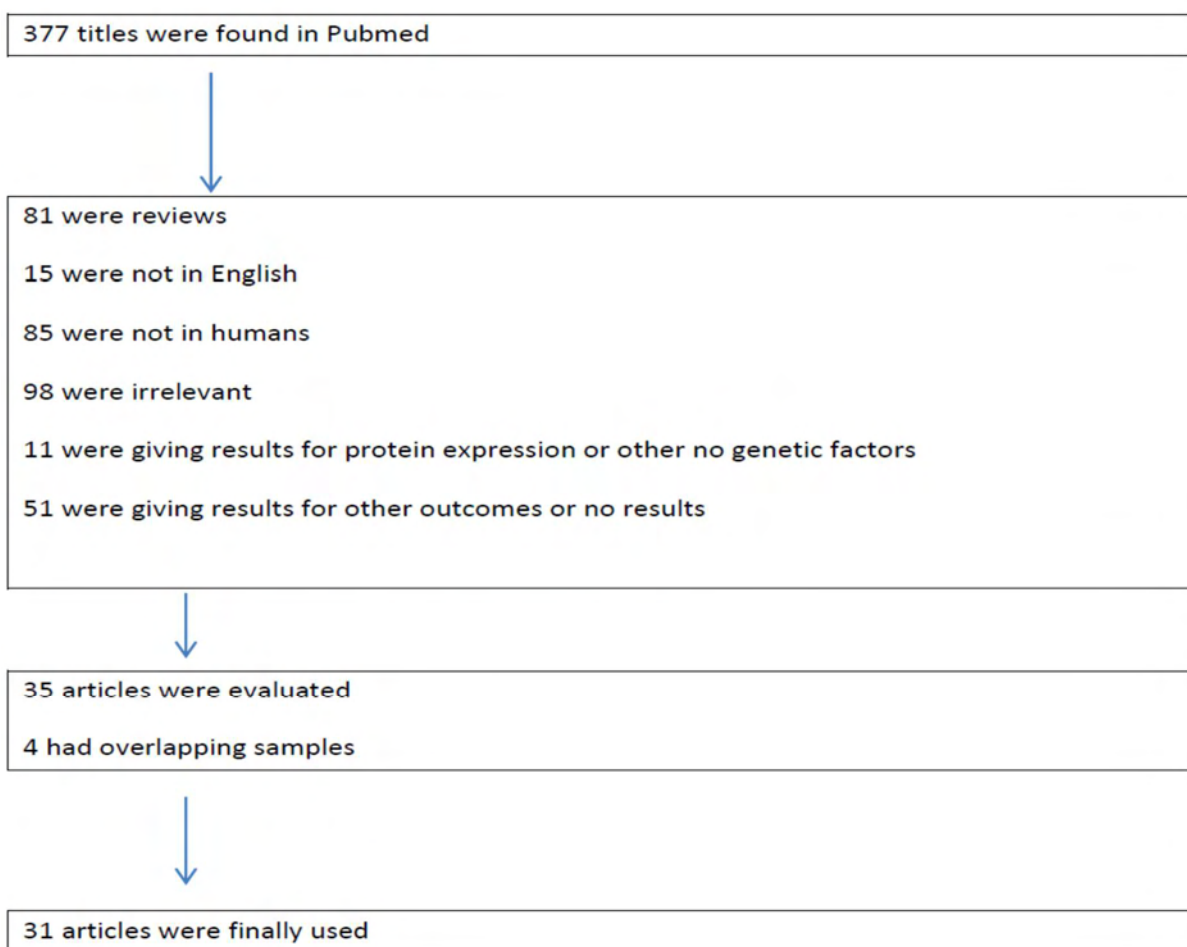
24]. Η τιμή του  $I^2$  κυμαίνεται μεταξύ 0% και 100% με τις μεγαλύτερες τιμές να δηλώνουν μεγαλύτερο βαθμό ετερογένειας. Όταν δεν υπάρχει ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες, το μοντέλο RE συμπίπτει με το μοντέλο FE [19]. Στην παρούσα μετα-ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο RE γιατί είναι πιο συντηρητικό [19]. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του OpenMeta-Analyst [25] και της CUMAGAS (Larissa, Greece, <http://biomath.med.uth.gr>) [26, 27].

## 1.3 Αποτελέσματα

### Αναζήτηση βιβλιογραφίας

Η αναζήτηση στη βάση δεδομένων PubMed απέφερε 377 δημοσιεύσεις που πληρούσαν τα κριτήρια αναζήτησης. Συνολικά, τα κείμενα 35 δημοσιεύσεων εξετάστηκαν καθ' ολοκληρίαν ως προς τα κριτήρια ένταξης. Τελικά, 31 δημοσιεύσεις πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης και χρησιμοποιήθηκαν. Τα αποτελέσματα της αναζήτησης παρουσιάζονται συνοπτικά στο παρακάτω σχεδιάγραμμα:

Search terms: "Chronic Lymphocytic Leukemia" OR "CLL" AND "gene" AND "response to therapy"



## **Εικόνα 1.1.** Βιβλιογραφική αναζήτηση

### **Χαρακτηριστικά μελετών**

Οι δημοσιεύσεις διερευνούσαν συνολικά 13 γενετικούς βιοδείκτες σε συνολικά 17 μελέτες για γονιδιακή έκφραση, 40 μελέτες για γονιδιακές παραλλαγές και 44 μελέτες για χρωμοσωμικές διαταραχές. Οι μετα-αναλύσεις έδειξαν ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση έξι (6) γενετικών δεικτών με την αναπόκριση στη θεραπεία, τα οποία θα παρουσιαστούν αναλυτικά παρακάτω. Τα χαρακτηριστικά της κάθε μελέτης που συμπεριλήφθηκαν στην μετα-ανάλυση φαίνονται στον Πίνακα 1.1 ενώ στον Πίνακα 1.2 φαίνονται οι γενετικοί δείκτες που μελετήθηκαν και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης για το κάθε ένα από αυτά. Οι μελέτες δημοσιεύτηκαν ανάμεσα στο 1990 και το 2015.



Συγγραφέας (έτος)	Ασθενείς που αναλύθηκαν	Μέση Ηλικία σε έτη (ελάχιστη-μέγιστη) μέση $\pm$ SD)	Γενετικός δείκτης που μελετήθηκε	Ορισμός ανταπόκρισης	Τύπος Χημειοθεραπείας	Προηγούμενες θεραπείες	Ομάδα μελέτης	Αναφορά.
Bo (2014)	123	63 (33-80)	NOTCH1	CR/PR	FR*6κύκλοι IV ή p.o + R q1w * 4	όχι	N/A	28
Bosch (2008)	47	NR	IGHV, CD38, ZAP-70	CR/NPR/PR	FCM	NR	N/A	29
Byrd (2006)	75	63 (36-83)	11q, 12+, 13q, 17p, 6q, IGHV	CR	F +R ταυτόχρονα ή διαδοχικά	όχι	CALGB9712	30
Chiaretti (2014)	123	55.2 (29.8-60.8)	BIRC3, NOTCH1, SF3B1, TP53	CR/PR	(a) HR: F +Alemtuzumab (b) LR: FC	όχι	GIMEMA LLC0405	31
Chiaretti (2014)	74	70.5 (61-84)	BIRC3, NOTCH1, SF3B1, TP53	CR/PR	(c) CLB*2κύκλοι + CLB+R*6κύκλοι	όχι	ML21445	31
Cordonne (1998)	181	66 $\pm$ 10	p53	CR/PR	CLB + P, F P ή CHOP	NR	N/A	32
Del Poeta (2006)	60	59 (37-74)	CD38, ZAP-70	CR/PR	F I.V *6κύκλοι + R διαδοχικά	όχι	N/A	33
Del Principe (2006)	289	65 (37-84)	CD38, ZAP-70	CR/PR	CLB +P ή F	NR	N/A	34
Dohner (1995)	47	58.2	p53	NR	F ή pentostatin	NR	N/A	35
el Rouby (1993)	36	61 (36-80)	TP53	ΛΕΜΦΟ <4*10 <sup>9</sup> /L,	CLB /CLB + P/C/F/Pentostatin/Adriamycin-	NR	N/A	36

				ΠΜΠ> 1.5*10 <sup>9</sup> /L, ΑΜΠ> 100*10 <sup>9</sup> , φυσιολογικός μυελός κατά την εξέταση.	containing regimen			
Falchi (2013)	433	NR	17p, IGHV	CR/NPR/PR	FCR; R-ενταντικοποιημένο FCR (FCR3); FCR + GM- CSF; FCR + M; FCR + alemtuzumab; pentostatin +C +R	NR	N/A	37
Foa (2014)	75	70 (61-84)	IGHV, SF3B1	CR/CRi/PR	(a)CLB-R* δκύκλοι +R συντήρηση (b) CLB-R*δκύκλοι	όχι	N/A	38
Gonzalez (2011)	501	65 (35-86)	TP53, CLLU1	CR/NPR/PR	F +/- C	όχι	LRF CLL4	39
Hallek (2010)	623	61 (36-80)	11q, 12+, 13q, 17p, IGHV	CR/PR	(a) FC (b) FCR	όχι	CLL8	40
Jamzoriak (2014)	27	60 (43 – 76)	CD38, ZAP-70, CRBN	CR/PR	Thalidomide + F	όχι (78%)	N/A	41
Laurenti (2008)	31	69 (52-75)	IGHV, ZAP-70	CR/PR	FC p.o.	όχι	N/A	42
Laurenti (2011)	65	65 (44– 78)	CD38	CR/PR	FC* 3μέρες * δκύκλοι p.o. ή I.V.	όχι	N/A	43
Lozanski (2012)	73	63 (36-83)	ATM	CR/PR	FR	όχι	CALGB9712	44
Oscier (2010)	501	64 (35-86)	12+, 13q, 6q, IGHV, CD38, ZAP-70	CR/NPR/PR	CLB /F IV ή po / FC IV*3ημέρες ή FC po *5ημέρες	όχι	LRF CLL4	45

Robak (2010)	395	58 (37-81)	CD38, 11q, 12+, 13q, 17p	CR/PR	(a) Cladribine 0.12 mg/kg + C για 3ημέρες (CC σχήμα) (b) FC* 3 ημέρες (FC σχήμα)	όχι	PALG CLL-3	46
Saxena (2002)	13	71 (49-82)	BAX	CR/PR	CLB + P (3 ακολουθούμενο από CHOP)	NR	N/A	47
Schlette (2009)	220	57 (24-86)	p53	CR/NPR/PR	FCR	όχι	N/A	48
Schnaiter (2014)	97	63.3 (36-82)	NOTCH1, SF3B1	CR/PR	Alemtuzumab sq	Σχήματα με φλουνταραμπίνη	CLL2H	49
Skowronska (2012)	224	63.8 (±9.3)	11q, ATM	CR/nPR/PR	(a) F (b) C (c) FC	όχι	LRF CLL4	50
Stilgenbauer (2009)	103	63.3 (36-82)	11q, 12+, 13q, 17p, IgHV	CR/PR	Alemtuzumab sq	Σχήματα με φλουνταραμπίνη	CLL2H	51
Thompson (2015)	300	57 (17-86)	17p, IgVH, p53, ZAP-70	CR	FCR	όχι	MDACC	52
Thornton (2003)	25	58 (41-74)	p53	CR/nPR/PR	HDMP 1gm/m <sup>2</sup> /ημέρα*5ημέρες	ναι	N/A	53
Valganon (2004)	54	68 (36-84)	11q, 12+, 13q, 17p, IgHV, p53, TP53	CR/PR	F	όχι	N/A	54
Xu (2011)	86	60 (44-77)	11q, 12+, 13q, 17p, 6q, IGHV, p53, CD38, ZAP-70	CR	FC	όχι	N/A	55
Xu (2008)	95	61(34–86)	ATM, TP53	CR	FC	όχι	N/A	56

Zenz (2009)	99	58 (42-64)	TP53	CR/PR	Alemtuzumab sq. 3*30 mg εβδομαδιαία εως 12 εβδομάδες	Σχήματα με φλουνταραμπίνη	CLL2H	57
Zenz (2010)	328	58	17p, TP53	CR/PR	F ή FC	όχι	CLL4	58

**Πίνακας 1.1.** Χαρακτηριστικά των μελετών που χρησιμοποιήθηκαν

CR: Πλήρης ανταπόκριση, PR: Μερική ανταπόκριση, IV: ενδοφλεβίως, p.o: από του στόματος, sq: υποδορίως, NR: δεν αναφέρεται, N/A: δεν εφαρμόζεται, HR: υψηλού κινδύνου, LR: χαμηλού κινδύνου, F: φλουνταραμπίνη, R: ριτουξιμάμπη, C: κυκλοφωσφαμίδη, M: μιτοξαντρόνη, CLB: χλωραμβουκίλη, P: πρεδνιζόνη, CHOP : (κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, βινκριστίνη και πρεδνιζόνη, GM-CSF: παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μονοκυττάρων, HDMP: υψηλή δόση μεθυλπρεδνιζολόνης

Γενετικός Δείκτης	Μελέτες (Αριθμός)	OR	95% CI	I <sup>2</sup> %, (P <sub>Q</sub> )	Σημαντική συσχέτιση
NOTCH1	5	0.97	0.37-2.52	26% (0.25)	όχι
IGHV	13	1.97	1.42-2.74	28% (0.16)	ναι
SF3B1	5	1.1	0.50-2.44	0% (0.85)	όχι
BIRC3	3	0.3	0.08-1.17	0% (0.66)	όχι
ATM	5	0.35	0.16-0.78	0% (0.94)	ναι
TP53	12	0.14	0.08-0.24	44% (0.05)	ναι
CD38	9	0.45	0.29-0.68	40% (0.10)	ναι
ZAP-70	8	0.61	0.28-1.34	76% (0.00)	όχι
deletion 11q	11	0.53	0.35-0.80	4% (0.41)	ναι
trisomy 12	9	0.54	0.33-0.86	0% (0.47)	ναι
deletion 13q	9	0.74	0.45-1.22	40% (0.10)	όχι
deletion 6	3	1.05	0.32-3.48	0% (0.79)	όχι
deletion 17p	12	0.18	0.125-0.27	0% (0.31)	ναι

**Πίνακας 1.2.** Οι γενετικοί δείκτες που μελετήθηκαν και τα αποτελέσματα των μετα-αναλύσεων

### *IGHV*

Υπολογίζεται ότι σχεδόν το 60% των ασθενών με ΧΛΛ υφίσταται σωματική υπερμετάλλαξη μέσα στο βλαστικό πληθυσμό στα γονίδια της ποικίλλουσας περιοχής της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης τους (IGHV) [59, 60].

Η ΧΛΛ ταξινομείται σε δύο υποομάδες με βάση την παρουσία ή την απουσία μεταλλάξεων στα γονίδια IGHV, σε IGHV μεταλλαγμένη [IGHV-mutated (IGHV-M)] και σε μη μεταλλαγμένη [IGHV-unmutated (IGHV-UM)]. Ένα κοινό χαρακτηριστικό των δύο αυτών τύπων της ΧΛΛ είναι η παρουσία μιας προκαθορισμένης ποικιλίας γονιδίων. Η παραλλαγή των γονιδίων στην IGHV-M ΧΛΛ είναι αξιοσημείωτα διαφορετική από αυτή της IGHV-UM, καταδεικνύοντας ότι δεν υπάρχει αλληλομετατροπή του ενός υπότυπου στον άλλο [61].

Είναι γενικά αποδεκτό ότι οι ασθενείς με IGHV-M ΧΛΛ έχουν πιο καλοήγη μορφή της νόσου, ενώ οι ασθενείς με IGHV-UM ΧΛΛ έχουν συνήθως πιο επιθετική μορφή με κακή έκβαση και συνήθως ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία [59, 60, 62].

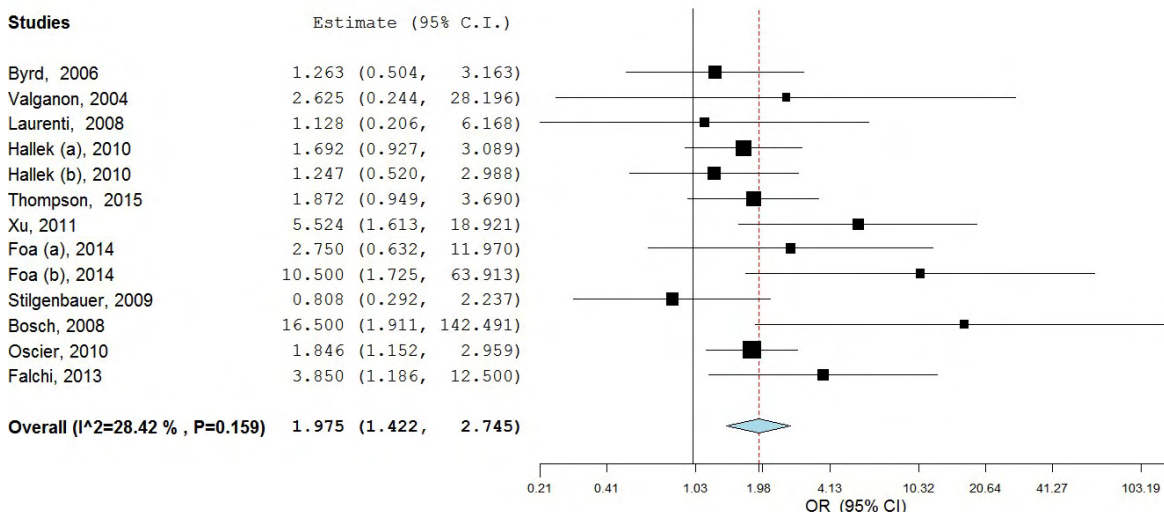
Για το λόγο αυτό, έχει προταθεί ότι υπάρχουν δυο μοριακοί υπότυποι της ΧΛΛ που χαρακτηρίζονται από πολύ διαφορετική πρόγνωση [61]. Αυτό πιθανόν να αντικατοπτρίζει τις

διαφορές στις υποκείμενες γενετικές βλάβες, στο βαθμό τις κλωνικής εξέλιξης, στις επιγενετικές αλλαγές, στα ενεργοποιημένα σηματοδοτικά μονοπάτια και στην αλληλεπίδραση με το μικροπεριβάλλον μέσα στους λεμφαδένες ή στο μυελό των οστών [63].

Παρόλο που η μοριακή βάση των IGVH μεταλλάξεων στη ΧΛΛ δεν έχει σαφώς διευκρινιστεί [64], η κατάσταση των μεταλλάξεων των γονιδίων των IGVH θεωρείται ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας. Η συσχέτιση ανάμεσα σε αυτή και τη σοβαρότητα της ΧΛΛ αποτελεί ένα από τα ορόσημα στην ταυτοποίηση των γενετικών χαρακτηριστικών με προγνωστική αξία.

Από την αναζήτησή που διεξήχθη ανακτήθηκαν 11 δημοσιεύσεις που παρείχαν τα δεδομένα για την παρουσία μεταλλάξεων των γονιδίων IGVH και την ανταπόκριση στη θεραπεία [29, 30, 37, 38, 40, 43, 45, 51, 52, 54,55]. Το όριο που έθετε κάθε μελέτη ως προς την διαφορά στην αλληλουχία για τον καθορισμό των μεταλλαγμένων από τις μη ήταν παρόμοιο σε όλες τις μελέτες. Αναλυτικότερα, ασθενείς που είχαν <2% διαφορές στην αλληλουχία των γονιδίων αυτών θεωρούνταν αμεταλλαχτοι σε όλες τις μελέτες. Επίσης, σε όλες τις μελέτες ο ορισμός για την ανταπόκριση που χρησιμοποιήθηκε ήταν κοινός [65]. Τρεις μελέτες παρείχαν δεδομένα μόνο για τους ασθενείς που είχαν πλήρη ανταπόκριση [Complete Response (CR)], ενώ οι υπόλοιπες παρείχαν δεδομένα για τη συνολική ανταπόκριση, πλήρη και μερική [overall response (ORR): CR and Partial Response (PR)]. Συνολικά, πέντε μελέτες έδειξαν σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην IGVH-M ΧΛΛ και την ανταπόκριση στη θεραπεία [29, 37, 38, 45, 55] με OR να ποικίλει ανάμεσα σε 1.85 έως 16.5 για τους ασθενείς με μεταλλάξεις. Όλες οι μελέτες ανέλυν ασθενείς που δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία εκτός από μία [51] στην οποία οι ασθενείς ήταν ανθεκτικοί στη θεραπεία με φλουνταραμπίνη. Η μετα-ανάλυση που ακολούθησε ανέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην κατάσταση μεταλλάξεων των γονιδίων IGVH και την ανταπόκριση στη θεραπεία με τους ασθενείς με IGVH-M ΧΛΛ να έχουν 2-πλάσιες πιθανότητες να

ανταποκριθούν στη θεραπεία [OR 1.97 (95% CI 1.42, 2.74)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν μικρή ( $I^2 = 28\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q = 1.6$ ). Στην Εικόνα 1.2 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης



**Εικόνα 1.2.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην κατάσταση μεταλλάξεων του IGVH και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

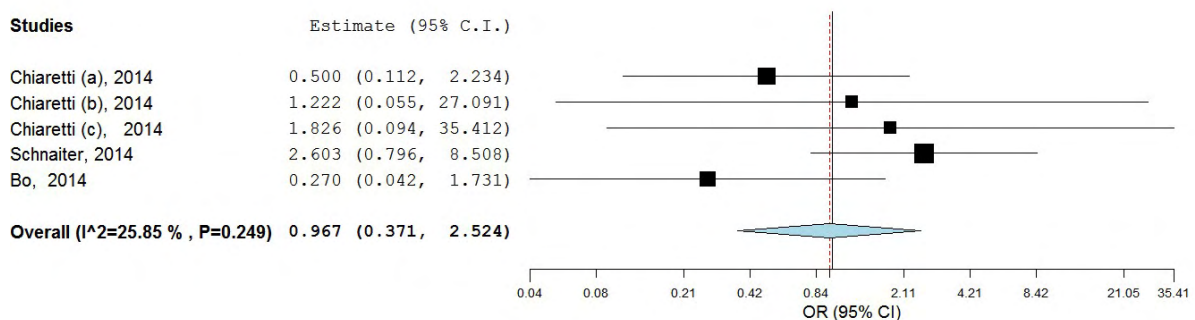
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

## NOTCH1

Το γονίδιο NOTCH1 κωδικοποιεί έναν διαμεμβρανικό υποδοχέα ο οποίος σε απάντηση ενός συνδέσμου από κάποιο σηματοδοτικό κύτταρο υφίσταται διαμορφωτικές αλλαγές και μια σειρά από πρωτεολυτικές διασπάσεις που καθιστούν το ενδομεμβρανικό του τμήμα ικανό να εισέλθει στον πυρήνα [63]. Το πλήρες εύρος των στόχων του γονιδίου NOTCH1 στο κύτταρο της ΧΛΛ δεν έχει ακριβώς καθοριστεί, ωστόσο, από τα υπάρχοντα δεδομένα προτείνεται ότι τα ρυθμιζόμενα από το NOTCH1 μετάγραφα εμπλέκονται σε προ-

επιβιωτικά και αντι-αποπτωτικά μονοπάτια [63]. Επίπρόσθετα, είναι πολύ ενδιαφέρον το γεγονός ότι μεταλλάξεις του NOTCH1 φαίνεται να σχετίζονται με μειωμένα επίπεδα CD20 στην επιφάνεια των ΧΛΛ κυττάρων. Αυτό θα μπορούσε ως ένα βαθμό να εξηγήσει το μειωμένο όφελος από τη θεραπεία με αντι-CD20 παράγοντες που έχουν οι ασθενείς με μεταλλάξεις του NOTCH1 συγκριτικά με αυτούς που δεν έχουν [63].

Η αναζήτηση ανέδειξε τρεις δημοσιεύσεις που μελετούσαν τη σχέση ανάμεσα στην παρουσία μεταλλάξεων του NOTCH1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία. [28, 30, 49]. Η μέτα-ανάλυση περιλάμβανε 377 ασθενείς και κατέδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην ανταπόκριση στη θεραπεία και τις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού [OR 0.97 (95% CI 0.37-2.52)]. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες είναι μικρή ( $I^2 = 26$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.25$ ). Στην Εικόνα 1.3 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.3.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του NOTCH1 και την απάντηση στη χημειοθεραπεία.

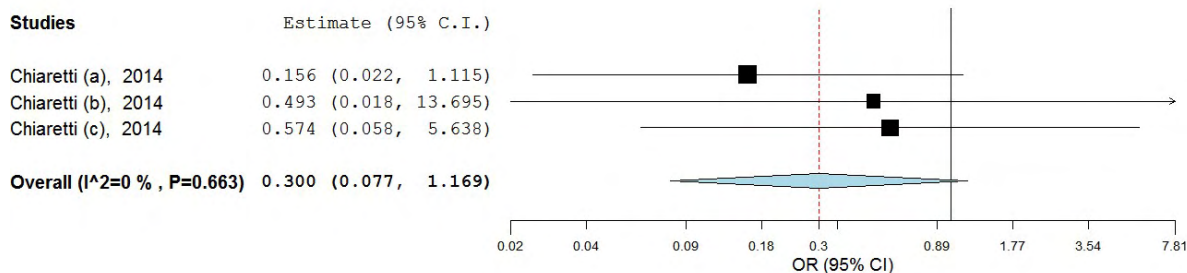
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*



### ***BIRC3***

Το γονίδιο BIRC3 είναι ένα γονίδιο που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών IAP που αναστέλουν την απόπτωση. Επίσης, ρυθμίζει την ανοσία και την αντιφλεγμονώδη σηματοδότηση, τη σηματοδότηση κινασών της μίτωσης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, καθώς και της κυτταρικής διείσδυσης και μετάστασης. Η κωδικοποιημένη πρωτεΐνη ρυθμίζει τόσο τη κανονική όσο και την μη κανονική σηματοδότηση του NF-kappa-B με δράση σε αντίθετες κατευθύνσεις: δρα ως θετικός ρυθμιστής του κανονικού μονοπατιού και καταστέλλει τη θεμελιώδη ενεργοποίηση του μη κανονικού [66]. Βλάβες στο γονίδιο περιλαμβάνουν μονοαλληλικές διαγραφές και/ή μεταλλάξεις περικοπών που οδηγούν σε απομάκρυνση της C τελικού RING περιοχής της BIRC3 πρωτεΐνης [67].

Η αναζήτηση στη PubMed ανέδειξε μια δημοσίευση που περιγράφει δυο διαφορετικές ομάδες έρευνας τη GIMEMA0405 και την ML21445 σχετικά με τις διαταραχές του γονιδίου BIRC3 και την απάντηση στη θεραπεία [31]. Επιπλέον, στη ομάδα έρευνας GIMEMA0405 οι ασθενείς στρωματοποιήθηκαν σε ομάδες κινδύνου και έλαβαν διαφορετικές θεραπείες. Για το λόγο αυτό, τα δεδομένα των δυο αυτών ομάδων κινδύνου θεωρήθηκαν ως δεδομένα δυο διαφορετικών μελετών. Η μετα-ανάλυση που περιλάμβανε 157 ασθενείς έδειξε ότι οι ασθενείς που έχουν μεταλλάξεις του BIRC3 δεν έχουν σημαντικά περισσότερο κίνδυνο να μην ανταποκριθούν στη θεραπεία [OR 0.30 (95% CI 0.08, 1.17)]. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν αμελητέα ( $I^2 < 0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q = 0.66$ ). Στην Εικόνα 1.4 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.4.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του BIRC3 και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

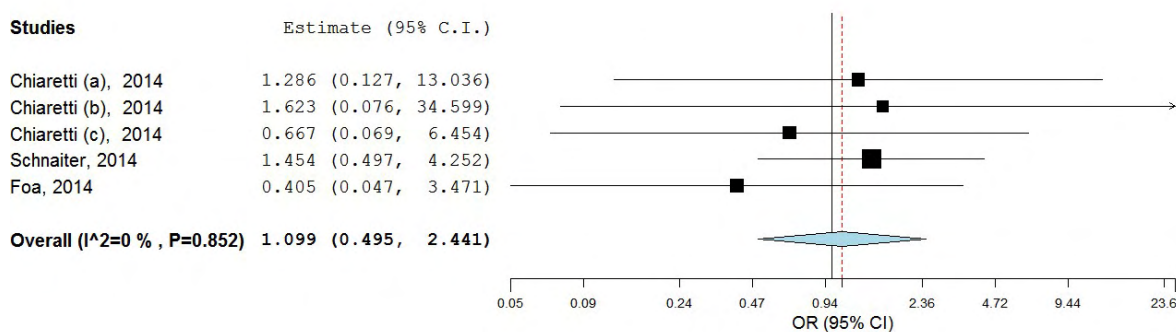
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

### **SF3B1**

Το γονίδιο SF3B1 ( Splicing Factor 3b Subunit 1) κωδικοποιεί ένα τμήμα του U2 snRNP και δρα στις αρχικές φάσεις του ματίσματος του RNA [63]. Οι λειτουργικές συνέπειες των μεταλλάξεων του SF3B1 στο μάτισμα και σε άλλες κυτταρικές λειτουργίες δεν είναι επαρκώς κατανοητές. Οι μεταλλάξεις του που έχουν ταυτοποιηθεί στη ΧΛΛ είναι ετερόζυγες παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις (missense) που εντοπίζονται στο υπερσυντηρημένο C τελικό άκρο της πρωτεΐνης με την επαναλαμβανόμενη παραλλαγή SF3B1-K700E να υπολογίζεται σε ~50% όλων των μεταλλάξεων [63]. Έχει επίσης βρεθεί ότι μεταλλάξεις του SF3B1 απαντώνται πολύ συχνά (~10% των περιπτώσεων, κυρίως στην IGHV-UM υποομάδα) ανάμεσα στα τμήματα του μηχανισμού ματίσματος στη ΧΛΛ [63].

Η αναζήτηση ανέδειξε δύο δημοσιεύσεις που περιέγραφαν μελέτες με μεταλλάξεις του SF3B1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Η πρώτη [31] περιέγραφε δυο διαφορετικές ομάδες έρευνας, τη GIMEMA0405 και την ML21445. Επιπλέον, στη ομάδα έρευνας

GIMEMA0405 οι ασθενείς στρωματοποιήθηκαν σε ομάδες κινδύνου και έλαβαν διαφορετικές θεραπείες. Για το λόγο αυτό, τα δεδομένα των δυο αυτών ομάδων κινδύνου θεωρήθηκαν ως δεδομένα δυο διαφορετικών μελετών. Η μετα-ανάλυση μας αποκάλυψε ότι δεν υπήρχε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του SF3B1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία (OR 1.10 95% CI 0.50, 2.44). Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν αμελητέα ( $I^2 < 0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q = 0.85$ ). Στην Εικόνα 1.5 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.5.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του SF3B1 και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

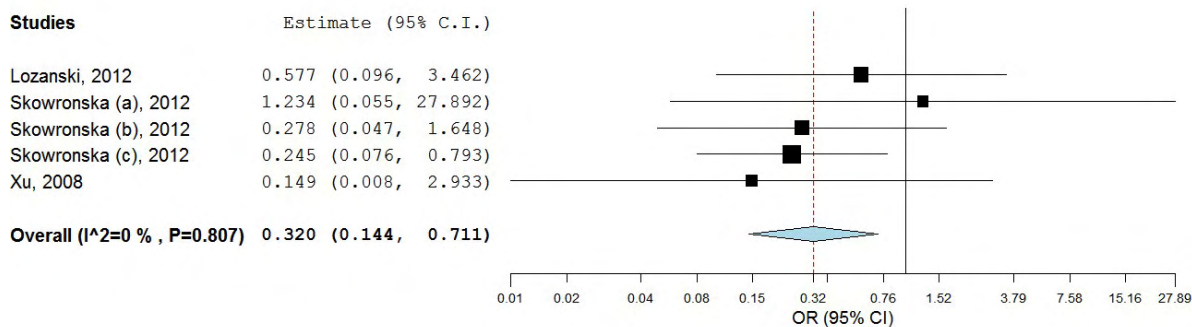
### ATM

Το γονίδιο ATM (Ataxia-Teleangiectasia mutated) είναι ένα γονίδιο που κωδικοποιεί πρωτεΐνη, μια πρωτεϊνική κινάση της οικογένειας κινασών PI3/PI4. Η πρωτεΐνη λειτουργεί ως ρυθμιστής μιας ευρείας ποικιλίας πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων των ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών p53 και BRCA1 καθώς και πολλών άλλων. Πιστεύεται ότι είναι από τους κύριους ελεγκτές των σημείων ελέγχου των μονοπατιών σηματοδότησης του

κυτταρικού κύκλου που είναι απαραίτητα για την κυτταρική ανταπόκριση στη βλάβη του DNA και τη σταθερότητα του γονιδιώματος. Μετά την εισαγωγή διασπάσεων στην διπλή έλικα του DNA, συγχρονίζει τις κυτταρικές ανταποκρίσεις που περιλαμβάνουν επιδιόρθωση του DNA, ενεργοποίηση των σημείων ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και επαγωγή της απόπτωσης. Η ενεργοποίηση του p53 από το ATM οδηγεί σε μεταγραφική ενεργοποίηση των προαποπτωτικών γονιδίων και εξάλειψη των κυττάρων με εκτεταμένη βλάβη του DNA. Η κληρονομική απενεργοποίηση του ATM προκαλεί το σύνδρομο Αταξίας –Τηλεαγγειεκτασίας που χαρακτηρίζεται από συχνούς λεμφικούς όγκους [68].

Το γονίδιο ATM εντοπίζεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 11 στη θέση 11q23 μέσα στην ελάχιστη περιοχή που είναι διαγεγραμμένη στο 20% με 30% των ασθενών με ΧΛΛ. Σε ποσοστό 36% των ασθενών με ΧΛΛ και διαγραφή του 11q υπάρχουν μεταλλάξεις στο εναπομείναν ATM αλληλίο, ενώ ένα μικρότερο ποσοστό όγκων επιδεικνύει μεταλλάξεις στο ATM απουσία διαγραφής του 11q [69, 70]. Η απώλεια και των δύο αλληλίων ATM στη ΧΛΛ οδηγεί σε απώλεια της λειτουργίας του γονιδίου, ενώ οι μεταλλάξεις του ATM έχουν συσχετιστεί με μικρότερη επιβίωση [50].

Η αναζήτηση ανέδειξε τρεις δημοσιεύσεις [44, 50, 56] που μελετήσαν μεταλλάξεις του ATM και ανταπόκριση στη θεραπεία ασθενών με ΧΛΛ. Παρόλο που οι μελέτες ξεχωριστά δεν έδειξαν σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις μεταλλάξεις αυτές και την ανταπόκριση στη θεραπεία, η μετα-ανάλυση ανέδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντικός κίνδυνος (~68%) για τους φορείς μεταλλάξεων να μην ανταποκριθούν στη θεραπεία της ΧΛΛ [OR 0.32 (95% CI 0.14, 0.71)] ανεξάρτητα από την παρουσία διαγραφής του χρωμοσώματος 11. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν αμελητέα ( $I^2 < 0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q = 0.81$ ). Στην Εικόνα 1.6 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.6.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του ATM και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

### **TP53**

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο TP53 κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα, την πρωτεΐνη όγκου p53, η οποία ενεργοποιείται σε αρκετές καταστάσεις κυτταρικού στρες και εξασκεί πολλαπλές αντιπολλαπλασιαστικές δράσεις μεταξύ των οποίων η γήρανση, η απόπτωση ή η διακοπή του κυτταρικού κύκλου [71]. Η p53 είναι απαραίτητη για την ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης και την προστασία από το σχηματισμό όγκων, για το λόγο αυτό ονομάζεται και «φρουρός του γονιδιώματος» [72]. Το γονίδιο TP53 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17 στο βραχύ σκέλος (17p13.1).

Εξαιτίας του πολύ σημαντικού του ρόλου, το γονίδιο αυτό αποτελεί πρωταρχικό στόχο για απενεργοποίηση στον καρκίνο [73]. Είναι το πιο συχνά αλλαγμένο γονίδιο στους ανθρώπινους όγκους. Εμφανίζεται μεταλλαγμένο σε περίπου 50% όλων των ανθρώπινων κακοηθειών [74]. Σε αντίθεση με άλλα ογκοκατασταλτικά γονίδια που απενεργοποιούνται από μεταλλάξεις μετάθεσης πλαισίου (frameshift) ή μη μεταφράσιμες μεταλλάξεις

(nonsense), οι περισσότερες μεταλλάξεις του TP53 είναι μεταγράσεις παρερμηνείας (missense) (75%) και προκαλούν αλλαγές ενός αμινοξέος σε πολλές διαφορετικές θέσεις [75, 76].

Είναι ήδη γνωστό από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 ότι μεταλλάξεις του TP53 εμφανίζονται στη ΧΛΛ [57]. Η ΧΛΛ είναι μια νόσος κυτταρικής επιβίωσης λόγω παρουσίας αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών, όπως το BCL-2 και το MCL-1. Συνεπώς, το TP53 παίζει κεντρικό ρόλο στο συνδυασμό του γονιδιοτοξικού στρες που προκαλείται από τους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες και την ενεργοποίηση του ενδογενούς μονοπατιού κυτταρικού θανάτου [48]. Μεταλλάξεις του TP53 έχουν βρεθεί σε ποσοστό που κυμαίνεται από 4-37% των ασθενών με ΧΛΛ σε ένα μεγάλο αριθμό μελετών και σχετίζεται με πολύ κακή πρόγνωση [49]. Οι μεταλλάξεις του σχετίζονται επίσης με μεγαλύτερη γονιδιωματική πολυπλοκότητα στη ΧΛΛ, καταδεικνύοντας ότι μια επηρεασμένη ανταπόκριση στην καταστροφή του DNA ενισχύει έναν «φαινότυπο μεταλλάκτη» στη ΧΛΛ [77], ενώ φαίνεται ότι έχουν επιβλαβής επιπτώσεις στην ανταπόκριση στη θεραπεία και στην ολική επιβίωση [4, 77].

Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τον προβλεπτικό ρόλο της παρουσίας μεταλλάξεων στο TP53 τόσο στην επιβίωση όσο και στην ανταπόκριση στη θεραπεία [31, 32, 37, 39, 54]. Ωστόσο, διαφορετικές κλινικές και μεθοδολογικές ρυθμίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί και δεν είναι γνωστό εάν όλες αυτές οι παραλλαγές έχουν την ίδια προγνωστική αξία [48].

Οι μεταλλάξεις μπορούν να ανιχνευθούν με ενίσχυση της κωδικοποιημένης περιοχής με PCR ακολουθούμενο από ανάλυση πολυμορφισμών διαμόρφωσης μονής αλύσου [Single-strand conformational polymorphism (SSCP)] ή από απευθείας αλληλούχιση των προϊόντων της PCR. Για την απώλεια αλληλίου του γονιδίου TP53 έχει επίσης χρησιμοποιηθεί και η ανάλυση με περιοριστικά ένζυμα [Restriction fragment length polymorphism (RFLP)].

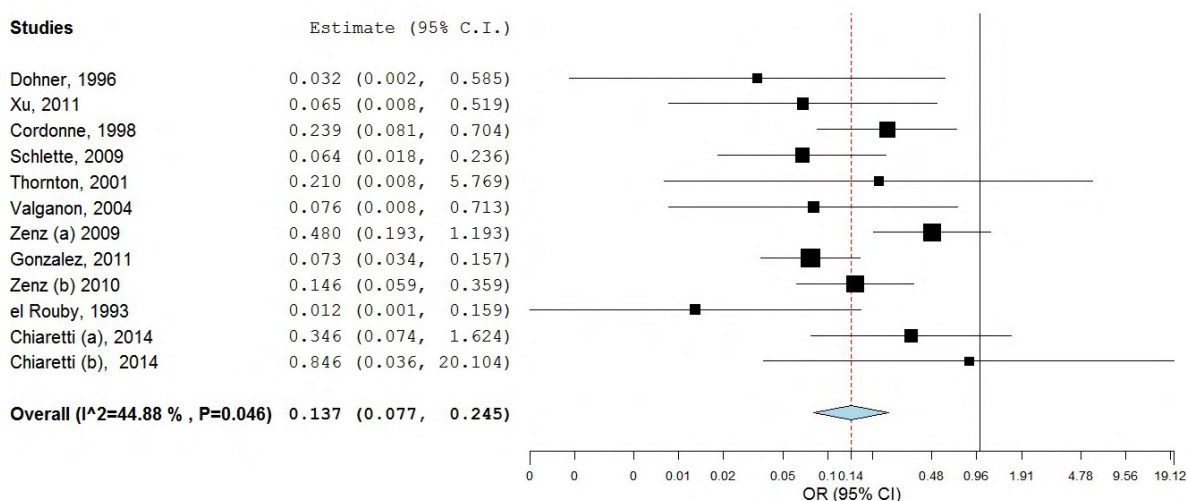
Επιπρόσθετα, τεχνικές φθορισμού in situ υβριδισμού (FISH) που χρησιμοποιούν αλληλουχίες μονού αντιγράφου του DNA προσφέρουν μια εναλλακτική προσέγγιση για την ανίχνευση των διαγραφών του γονιδίου. Συγκριτικά με την ανάλυση RFLP, η μέθοδος FISH επιτρέπει την ανάλυση με επίπεδο ενός κυττάρου και έτσι την ποσοτικοποίηση των κυττάρων που φέρουν την διαγραφή. Ακόμη, ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει στηριχτεί στη χρήση της ανοσοϊστοχημείας (IHC) για να προσπελάσει τις παραλλαγές του p53. Η τεχνική αυτή στηρίζεται στο μικρό χρόνο ημιζωής της μη μεταλλαγμένης p53 πρωτεΐνης, η οποία φυσιολογικά δεν μπορεί να ανιχνευθεί με IHC σε τομές ιστού. Κατά συνέπεια, η μέθοδος IHC οδηγεί σε έναν μη αποδεκτό αριθμό λαθεμένα ταξινομημένων περιπτώσεων και έχει μεγαλύτερη μεταβλητότητα μεταξύ των μελετών [75].

Η αναζήτησή μας ανέσυρε 11 δημοσιεύσεις που μελετούσαν μεταλλάξεις του TP53 και την ανταπόκριση στη θεραπεία σε ασθενείς με ΧΛΛ. Οι μελέτες χρησιμοποιούσαν όλες τις πιθανές μεθόδους για την ανίχνευση των διαταραχών. Στον Πίνακα 1.3 φαίνεται αναλυτικά η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε μελέτη.

Συγγραφέας (έτος)	ανωμαλία TP53	Μέθοδος Ανίχνευσης που χρησιμοποιήθηκε (όπως αναφέρεται στη δημοσίευση)
Chiaretti (2014)	μεταλλάξεις	Άμεση αλληλούχιση
Cordonne (1998)	έκφραση	ανοσοϊστοχημεία (IHC)
Dohner (1995)	διαγραφή	Φθορισμός in situ υβριδισμού (FISH)
el Rouby (1993)	μεταλλάξεις	ανάλυση προϊόντων PCR για πολυμορφισμούς διαμόρφωσης μονήρους αλυσίδας (SSCP)
Gonzalez (2011)	μεταλλάξεις	μέθοδος τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης ανάλυσης διαμόρφωσης μονήρους αλυσίδας (CE-SSCA)
Schlette (2009)	έκφραση	ανοσοϊστοχημεία (IHC) 40% της κυτταρικής έκφρασης ως κατώτατο όριο θετικότητας
Thornton (2001)	έκφραση	Φθορισμός in situ υβριδισμού (FISH)
Valganon (2004)	παραλλαγές	PCR και αλληλούχιση
Xu (2008)	διαγραφή	Φθορισμός in situ υβριδισμού (FISH) 5.2% της κυτταρικής έκφρασης ως κατώτατο όριο θετικότητας
Xu (2011)	Μεταλλάξεις + παραλλαγές	Άμεση αλληλούχιση
Zenz (2009)	μεταλλάξεις	Αλληλούχιση με τεχνολογία WAVE

**Πίνακας 1.3.** Μέθοδοι για την ανίχνευση των ανωμαλιών του TP53 που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε μελέτη της μέτα-ανάλυσης.

Καθώς δεν υπάρχει κάποια ένδειξη ότι μια συγκεκριμένη μέθοδος πρέπει να προτιμάται, η μετα-ανάλυση που διενεργήθηκε περιλάμβανε όλες τις μεθόδους ανεξάρτητα από την μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε. Συνολικά 1512 ασθενείς συμπεριλήφθησαν. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν μικρή ( $I^2= 45\%$ ) αλλά σημαντική ( $P_Q=0.05$ ). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης επιβεβαιώνουν ότι οποιαδήποτε μετάλλαξη ή παραλλαγή του p53 σχετίζεται με κακή ανταπόκριση στη θεραπεία στους ασθενείς με ΧΛΛ [OR 0.14 (95% CI 0.08, 0.24)]. Στην Εικόνα 1.7 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.7.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις/παραλλαγές του TP53 και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

## ZAP-70

Η ZAP-70 (70-kDa zeta-associated protein) είναι μια πρωτεΐνη μέλος την οικογένειας πρωτεϊνών τυροσίνης κινάσης Syk–ZAP-70 κα εκφράζεται κυρίως στα T κύτταρα και στα



κύτταρα «φυσικούς δολοφόνους» (natural killers). Έχει πολύ σημαντικό ρόλο στην έναρξη της σηματοδότησης του T κυττάρου [78, 79]. Θεωρούνταν ότι ήταν απύσχα στο φυσιολογικό B κύτταρο, όπου η σηματοδότηση από την υποδοχέα του B κυττάρου (BCR) χρησιμοποιεί την ομόλογη πρωτεΐνη κινάση Syk [80]. Η ZAP-70 έχει σχέση με ενισχυμένη σηματοδότηση από τον υποδοχέα επιφανειακής ανοσοσφαιρίνης στην επιφάνεια του κυττάρου στα B κύτταρα της ΧΛΛ [81].

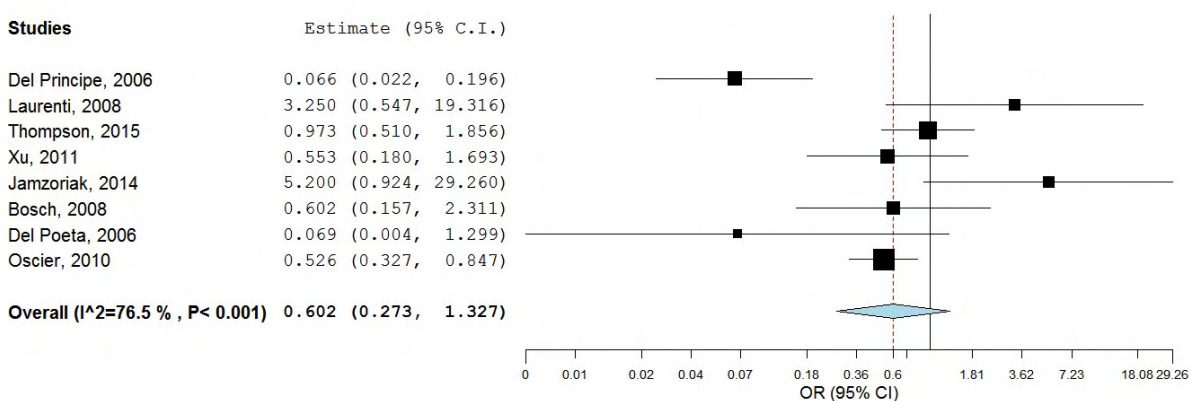
Η ZAP-70 σχετίστηκε αρχικά με τη ΧΛΛ από αποτελέσματα προφίλ γονιδιακής έκφρασης [82], τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για να συγκριθούν οι δυο καλά οργανωμένες υποομάδες της: η υποομάδα IGVH-UM με τη χειρότερη πρόγνωση και η υποομάδα IGVH-M με την καλή πρόγνωση [84]. Η ZAP-70 έδειξε διαφορετική έκφραση ανάμεσα στις δύο υποομάδες, με υπερέκφραση στην μη μεταλλαγμένη ομάδα. Καθώς η έκφραση της ZAP-70 ήταν πολύ πιο εύκολο να προσπελαστεί σε αντίθεση με τις μεταλλάξεις του IGVH θεωρήθηκε ως ένας προσιτός προγνωστικός δείκτης [80].

Η έκφραση της ZAP-70 ( $\geq 20\%$  των B κυττάρων) έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο κακής έκβασης στην B ΧΛΛ και θεωρείται σημαντικός παράγοντας κινδύνου σε αυτούς τους ασθενείς [33, 34]. Επιπλέον, η έκφραση της ZAP-70 όταν είναι παρούσα, είναι συνεχής καθόλη τη διάρκεια της πορείας του ασθενούς και την καθιστά έναν αξιόπιστο δείκτη ανεξάρτητα από τη στιγμή της εκτίμησής της.

Η αναζήτηση ανέδειξε 8 μελέτες που ποαρείχαν στοιχεία για την έκφραση της ZAP-70 και την απάντηση στη θεραπεία στη ΧΛΛ. Η μετα-ανάλυση που ακολούθησε περιλάμβανε 1189 ασθενείς. Σε μια μελέτη [45] η έκφραση του ZAP-70 θεωρούνταν θετική όταν εκφραζόταν σε  $>10\%$  των κυττάρων ΧΛΛ, ενώ σε όλες οι υπόλοιπες το όριο αυτό ήταν  $>20\%$ . Δύο μελέτες [34, 45] έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση του κινδύνου για αντίσταση στη θεραπεία στους ασθενείς με θετική έκφραση της ZAP-70. Βέβαια, δύο μελέτες

επίσης [41, 42] έδειξαν ότι η θετική έκφραση της ZAP-70 σχετίζεται με 3 έως 5 φορές καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία αν και οι σχέσεις δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Η μετα-ανάλυση έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της έκφρασης της ZAP-70 και της ανταπόκρισης στη θεραπεία [OR 0.61 (95% CI 0.28, 1.34)]. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν μεγάλη ( $I^2=76\%$ ) και σημαντική ( $P_Q<0.05$ ). Στην Εικόνα 1.8 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα1. 8.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην έκφραση του ZAP-70 και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.

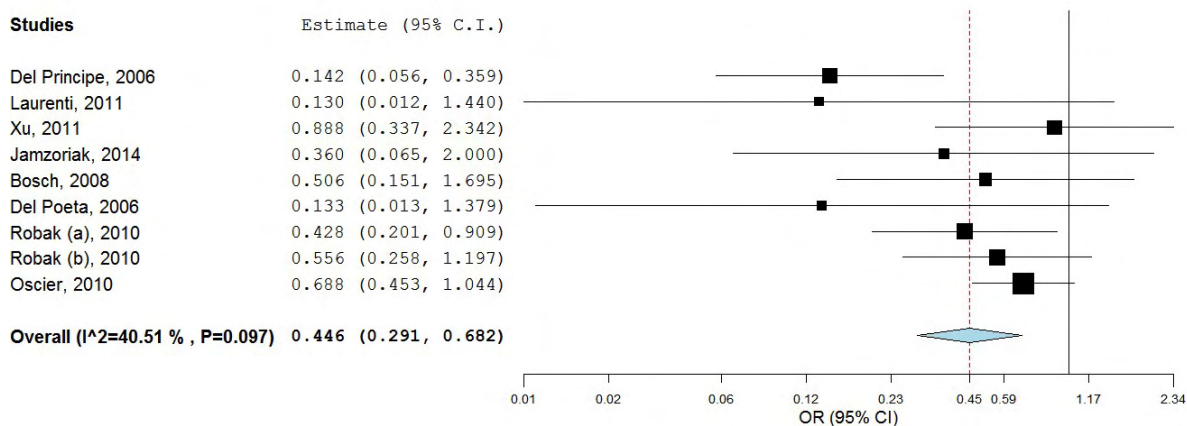
### CD38

Ο δείκτης CD38 είναι μια τύπου II διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη, που το εξωκυττάριο τμήμα της δρα ως εκτοένζυμο το οποίο καταλύει την μετατροπή του νικοτινοαμιδο-αδενινο-νουκλεοτίδιο (NAD<sup>+</sup>) σε νιτινοαμιδο-αδενοσινο-διφωσφορική ριβόζη (ADPR) και σε κυκλική ADPR. Ο CD38 εκφράζεται σε πολλούς τύπους κυττάρων.

Σχετικά με τα Β κύτταρα, εμφανίζεται στα προδρομα κύτταρα στο μυελό των οστών αλλά χάνεται στα ώριμα λεμφοκύτταρα. Στο βλαστικό κέντρο τα προστατεύει έναντι της απόπτωσης αλλά όταν το κύτταρο αφήνει το βλαστικό κέντρο, τα κύτταρα μνήμης δεν το εκφράζουν. Στα τελικά διαφοροποιημένα πλασματοκύτταρα είναι ένα από τα λίγα επιφανειακά αντιγόνα που είναι απρόντα [84].

Η έκφραση του CD38 στα λευχαιμικά λεμφοκύτταρα ήταν ο πρώτος δείκτης που σχετίστηκε με μεταλλάξεις του IGVH [14]. Παρόλο που η συσχέτιση αυτή δεν καθιερώθηκε, ο CD38 παραμένει ένας ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης.

Στην ΧΛΛ, η έκφραση του CD38 έχει συσχετιστεί με κακή πρόγνωση. Η μετα-ανάλυση που διενεργήθηκε περιείχε δεδομένα από 9 μελέτες που συνολικά συμπεριλάμβαναν 1226 ασθενείς από το 2006 έως το 2014 [29, 33, 34, 41, 43,45, 46, 55]. Γενικά, υπήρχε ομοφωνία σε όλες τις μελέτες σχετικά με το όριο πάνω από το οποίο θεωρούνταν θετική η έκφραση του CD38. Θεωρούνταν θετικό όταν >30% των κυττάρων ΧΛΛ εξέφραζε τον δείκτη αυτόν. Η μετα-ανάλυση έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση του CD38 και την απάντηση στην θεραπεία. Οι ασθενείς με θετική έκφραση του δείκτη αυτού (>30% των ΧΛΛ κυττάρων) έχουν 55% περισσότερο κίνδυνο να έχουν κακή απάντηση στη θεραπεία [OR 0.45 (95% CI 0.29, 0.68)]. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν μέτρια ( $I^2=40\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q =0.097$ ). Στην Εικόνα 1.9 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.9.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην έκφραση του CD38 και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.

### **Κυτταρογενετικές ανωμαλίες**

Κυτταρογενετικές βλάβες μπορούν να ανιχνευθούν σε περισσότερο από 80% των ασθενών με ΧΛΛ [17]. Οι πιο συχνες διαγραφές βρίσκονται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 13 del(13q14.1). επιπρόσθετα, οι πιο συχνές χρωμοσωμικές παραλλαγές αντιστοιχούν σε τρισωμία του χρωμοσώματος 12, διαγραφές στο μακρύ σκέλος των χρωμοσωμάτων 11 [del(11q)] και 6 [del(6q)], ή στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 [del(17p)] [3]. Υπάρχει μια συνεχώς αυξανόμενη πληροφορία από τις κλινικές μελέτες ότι η ανίχνευση χρωμοσωμικών διαγραφών έχει προγνωστική σημασία.

### **Διαγραφή 13q14**

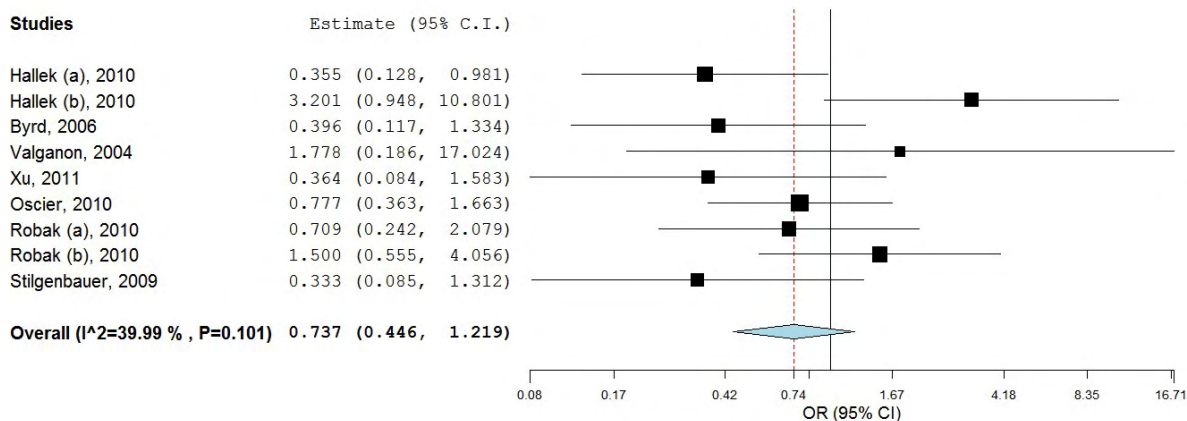
Οι διαγραφές στην χρωμοσωμική περιοχή 13q14 είναι η πιο συχνή γενετική βλάβη που εμφανίζεται στη ΧΛΛ (~55% των ασθενών) [17], είναι συνήθως μονοαλληλική (~80%)

συμβαίνει πιο συχνά στην IGVH-M ΧΛΛ και συχνά φαίνεται να είναι η μοναδική κυτταρογενετική ανωμαλία, γεγονός που ταιριάζει με το ρόλο της στα αρχικά στάδια της παθογένεσης της ΧΛΛ [17].

Το μέγεθος της διαγραφής είναι ετερογενές ανάμεσα στους ασθενείς, ωστόσο υπάρχει μια ελάχιστη διαγραμμένη περιοχή (MDR) η οποία περιέχει τη θέση DLEU2 (Deleted in lymphocytic Leukaemia 2), η οποία κωδικοποιεί το μακρύ μη κωδικοποιητικό RNA (lncRNA) DLEU2, το microRNA cluster MIR15A–MIR16-1, το γονίδιο DLEU1 lncRNA και σε μερικές περιπτώσεις το γονίδιο DLEU7, που με τη σειρά του κωδικοποιεί έναν υποτιθέμενο αρνητικό ρθμιστή του μεταγραφικού συμπλέγματος του Παράγοντα Νέκρωσης κΒ (NF-κΒ) [63].

Η διαγραφή 13q14 γενικά σχετίζεται με καλή πρόγνωση [63]. Στην μέτα-ανάλυση περιλήφθηκαν εννέα μελέτες. Σε καμία από αυτές δεν φάνηκε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην del13q14 και στην ανταπόκριση στη θεραπεία, εκτός από μια ομάδα μελέτης που έλαβε μόνο χημειοθεραπεία στην μελέτη της ομάδας CLL8 [40] όπου η παρουσία της διαγραφής αυτής σχετίστηκε με κακή ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.35 (95% CI 0.13, 0.98)].

Στη μετα-ανάλυση που ακολούθησε φάνηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην del13q14 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.74 95% CI (0.45, 1.22)]. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν μικρή ( $I^2=40\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q>0.10$ ). Στην Εικόνα 1.10 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.10.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην διαγραφή του 13q και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

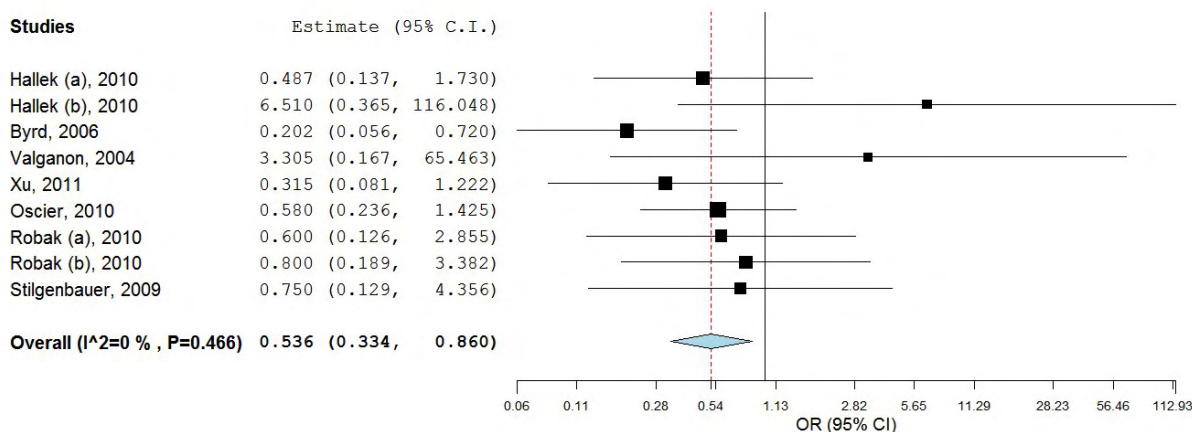
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

### **Τρισωμία 12**

Ένα επιπλέον αντίγραφο του χρωμοσώματος 12, το οποίο ιστορικά θεωρείται μια ενδιάμεσου κινδύνου γενετική βλάβη, ανιχνεύεται σε ~15% των ασθενών με ΧΛΛ, ανεξάρτητα από την κατάσταση μεταλλάξεων του IGVH [17]. Ο μηχανισμός με τον οποίο η τρισωμία 12 συμβάλλει στην παθογένεια της ΧΛΛ δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί [63].

Η προγνωστική επίδραση της τρισωμίας 12 ακόμη παραμένει αμφιλεγόμενη [85-88]. Φάνηκε ότι οι ασθενείς με αυτή τη χρωμοσωμική ανωμαλία έχουν μικρότερο διάστημα επιβίωσης από αυτούς που έχουν διαγραφή 13 ως τη μόνη ανωμαλία. Πρόσφατα, επίσης, φάνηκε ότι οι ασθενείς που είχαν >60% πυρήνες με τρισωμία 12 εμφάνιζαν μικρότερο διάστημα έναρξης θεραπείας από την διάγνωση (P<0.0001) [89].

Η αναζήτηση ανέδειξε 8 δημοσιεύσεις. Από αυτές μόνο μια έδειξε σημαντική στατιστικά σχέση ανάμεσα στην τρισωμία 12 και την κακή ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.2 (95 % CI 0.06, 0.72)] [30]. Η μετα-ανάλυση, στην οποία συμπεριλήφθηκαν συνολικά 586 ασθενείς, ανέδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική ανάμεσα στην παρουσία τρισωμίας 12 και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με τρισωμία 12 έχουν 45% λιγότερες πιθανότητες να ανταποκριθούν στη θεραπεία [OR 0.54 (95% CI 0.33, 0.86)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2 < 0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q > 0.10$ ). Στην Εικόνα 1.11 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.11.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην τρισωμία 12 και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

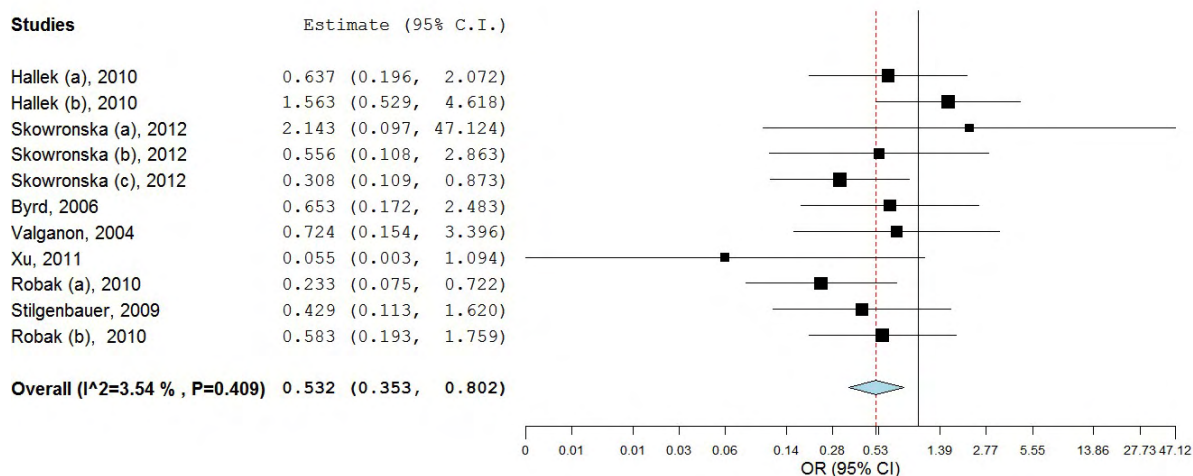
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

### ***Διαγραφή 11q22–23***

Η διαγραφή στην χρωμοσωμική περιοχή 11q22–23 συναντάται σε ~20% των ασθενών με ΧΛΛ κατά τη διάγνωση τους και σχετίζεται με την IGVH-UM υποομάδα της νόσου καθώς και με τη λεμφαδενική μορφή της νόσου [17]. Η βλάβη αυτή είναι κυρίως μονοαλληλική και μεγάλη σε μέγεθος (>20Mb), ενώ στην περιοχή αυτή συμπεριλαμβάνεται το ογκοκατασταλτικό γονίδιο ATM. Το γονίδιο αυτό, όπως ήδη αναφέρθηκε παραπάνω, κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που είναι σημαντική για την κυτταρική ανταπόκριση στη βλάβη του DNA. Πρόσφατα, φάνηκε ότι υπήρχαν περιπτώσεις όπου η διαγραφή της περιοχής αυτής του χρωμοσώματος 11 δεν περιείχε το ATM αλλά το γονίδιο BIRC3 [67].

Η αναζήτηση ανέσυρε 8 δημοσιεύσεις που περιγράφουν 11 μελέτες τα οποία προσδιόριζαν τη σχέση της διαγραφής του 11q και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Μόνο δύο από τις μελέτες αυτές έδειξαν σημαντική στατιστικά συσχέτιση ανάμεσα στην χρωμοσωμική αυτή ανωμαλία και την δυσμενή ανταπόκριση στη θεραπεία για ασθενείς που έλαβαν Κλαδριβίνη και Κυκλοφωσφαμίδη [OR 0.23 (95% CI 0.08, 0.72)] [46] ή γλωραμβουκίλη [OR 0.31 (95% 0.11, 0.87)] [50]. Συνολικά, 731 ασθενείς συμπεριλήφθησαν στην μετα-ανάλυση, η οποία ανέδειξε ότι οι ασθενείς με διαγραφή 11q είχαν 50% περισσότερο κίνδυνο να μην ανταποκριθούν τη θεραπεία συγκριτικά με τους ασθενείς που δεν είχαν καμία κυτταρογενετική ανωμαλία [OR 0.53 (95% CI 0.35, 0.80)]. Υπήρχε αμελητέα και μη στατιστικά σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών ( $I^2=3$ ,  $P_Q=0.41$ ). Στην Εικόνα 1.12 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.





**Εικόνα 1.12.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην διαγραφή 11q και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

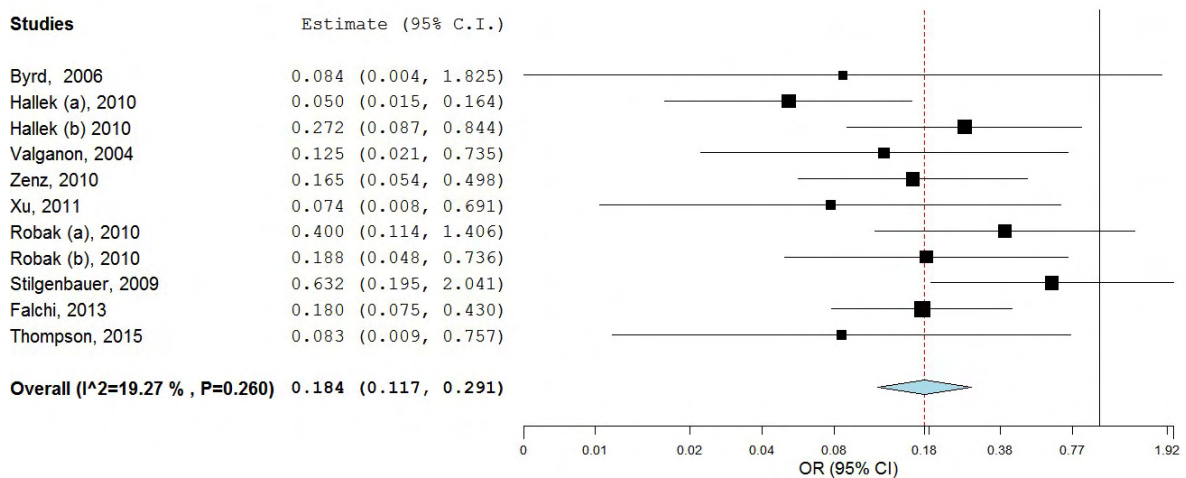
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

### **Διαγραφή 17p13**

Οι διαγραφές στην χρωμοσωμική περιοχή 17p13 απαντώνται σε λιγότερο από 10% των ασθενών με ΧΛΛ κατά τη διάγνωση και πιο συχνά στην υποομάδα της IGVH-UM [17]. Αυτές οι διαγραφές συχνά περιλαμβάνουν ολόκληρο το βραχύ σκέλος το χρωμοσώματος 17. Ωστόσο, ακόμη και αν περιλαμβάνουν μικρότερη περιοχή, κατά κανόνα περιλαμβάνουν το ογκοκατασταλτικό γονίδιο TP53, ενώ το δεύτερο αλληλίο του βρίσκεται μεταλλαγμένο και αδρανές σε ~80% των ΧΛΛ με διαγραφή 17p [17]. Λόγω της αδρανοποίησης του TP53, οι ασθενείς με del17p ΧΛΛ εμφανίζουν μεγαλύτερη γονιδιωματική πολυπλοκότητα συγκριτικά με τους μη μεταλλαγμένους ασθενείς και συνολικά χειρότερη πρόγνωση [17, 35, 40, 90-94].

Η αναζήτηση ανέσυρε δέκα δημοσιεύσεις που μελετούσαν την παρουσία της διαγραφής 17p και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Σε όλες τις μελέτες που οι ασθενείς

ατιμετωπίστηκαν με σχήματα βασιζόμενα στην φλουνταραμπίνη, εκτός από μια [30], φάνηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση ανάμεσα στην χρωμοσωμική αυτή ανωμαλία και την κακή ανταπόκριση στη θεραπεία. Σε δύο μελέτες που δεν χρησιμοποιήθηκαν σχήματα με φλουνταραμπίνη [46, 51] η σχέση αυτή δεν ήταν σημαντική στατιστικά. Η μετά-ανάλυση περιέλαβε συνολικά 1432 ασθενείς και επιβεβαίωσε την στατιστικά σημαντική αυτή σχέση. Φανηκέ λοιπόν ότι οι ασθενείς με διαγραφή 17p είχαν σημαντικά στατιστικά υψηλότερο κίνδυνο (~80%) να μην ανταποκριθούν στην θεραπεία [OR 0.18 (95% 0.12, 0.29)]. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν αμελητέα ( $I^2=19\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.26$ ). Στην Εικόνα 1.13 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.13.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην διαγραφή 17p και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

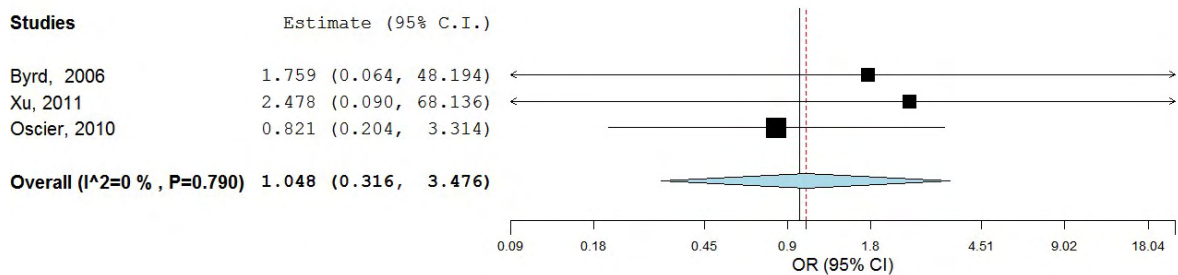
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μετά-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

### Διαγραφή 6q

Οι διαγραφές στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 6 είναι γνωστό ότι συμβαίνουν σχετικά σπάνια (3-6%) στη ΧΛΛ και συνήθως παρατηρείται η διαγραφή 6q21. Λίγα δεδομένα έχουν δημοσιευτεί σχετικά με άλλα τμήματα του 6q που μπορεί να εμφανίζονται στη ΧΛΛ [17, 95]. Η διαγραφή του 6q έχει αναφερθεί και σε άλλες νεοπλασίες είτε αιματολογικές είτε συμπαγών όγκων. Η επαναλαμβανόμενη εμφάνιση της διαγραφής 6q στον καρκίνο υποδηλώνει σαφώς ότι η περιοχή αυτή περιέχει κάποιο μη ταυτοποιημένο ογκοκατασταλτικό γονίδιο/-α και χρήζει περαιτέρω μελέτης για το ρόλο του στην κακοήθη διαδικασία [95].

Από τη μέχρι τώρα ανάλυση των κλινικο-βιολογικών χαρακτηριστικών και εκβάσεων των ασθενών με τη χρωμοσωμική ανωμαλία αυτή φαίνεται ότι κατατάσσεται σε μια ενδιάμεσου κινδύνου κατηγορία [96] ή και καλής πρόγνωσης [95].

Η αναζήτηση ανέδειξε τρεις μελέτες που παρείχαν δεδομένα για την διαγραφή 6q και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Καμία από αυτές δεν έδειξε σημαντική συσχέτιση. Η μετα-ανάλυση, στην οποία περιλήφθησαν 143 ασθενείς, έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στη κυτταρογενετική αυτή ανωμαλία και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.05 (95% CI 0.32, 3.48)]. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν αμελητέα ( $I^2 < 0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q = 0.79$ ). Στην Εικόνα 1.14 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 1.14.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην διαγραφή 6q και την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

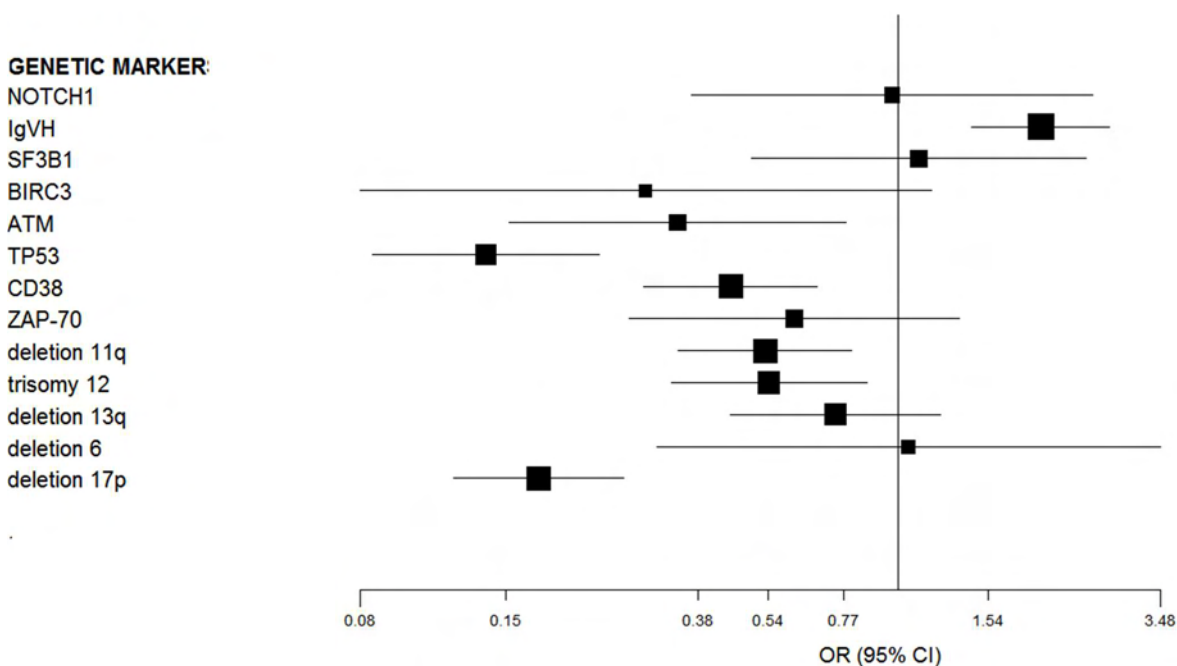
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.*

## 1.4 Συζήτηση

Η ΧΛΛ είναι μια κοινή αιματολογική κακοήθεια των ηλικιωμένων με μεγάλη ετερογένεια και ποικίλη πορεία. Έχει υπάρξει μια τεράστια προσπάθεια ώστε να εισηχθούν στην καθημερινή κλινική πρακτική προγνωστικοί δείκτες για την κατηγοριοποίηση των ασθενών σε υποομάδες με ξεχωριστό κλινικό αποτέλεσμα. Συστηματικά έχουν μελετηθεί κυτταρογενετικές ανωμαλίες, επαναλαμβανόμενες γονιδιακές μεταλλάξεις, ειδικά του γονιδίου TP53, και ανοσογενετικά χαρακτηριστικά, πιο συγκεκριμένα η κατάσταση των σωματικών υπερμεταλλάξεων στα γονίδια της ποικίλουςας περιοχής της βαρειάς αλύσου των ανοσοσφαιρινών. Ωστόσο, κανένας από αυτούς τους δείκτες δεν έχει καθιερωθεί στην κλινική πρακτική εκτός από τις μεταλλάξεις του γονιδίου TP53 και τη διαγραφή 17p όπου αυτό εδράζει [3].

Πρωταρχικός σκοπός αυτής της έρευνας ήταν να συνθέσουμε όλα τα διαθέσιμα δεδομένα φαμακογονιδιωματικής στη ΧΛΛ και να εκτιμήσουμε εμπειριστατωμένα την

εμπλοκή των διαφόρων γονιδιακών παραλλαγών σε σχέση με την ανταπόκριση στη θεραπεία. Δεδομένα από 101 μελέτες που περιγράφηκαν σε 31 δημοσιεύσεις χρησιμοποιήθηκαν και εκτιμήθηκε το συνολικό αποτέλεσμα στα πλαίσια 13 μέτα-αναλύσεων. Στο διάγραμμα τύπου forest plot στην εικόνα 1.15 φαίνεται σχηματικά τα αποτελέσματα αυτών των μελετών.



**Εικόνα 1.15.** Τα αποτελέσματα των μέτα-αναλύσεων όλων των γενετικών δεικτών σε διάγραμμα τύπου forest plot.

Οι περισσότερες δημοσιευμένες φαρμακογονιδιωματικές μελέτες για τη ΧΛΛ έχουν μικρή δύναμη όσο αφορά τη δυνατότητα να ανιχνεύσουν την ελάχιστη συνεισφορά των κοινών αλληλίων. Πράγματι, μια ρεαλιστική γενετική συσχέτιση ανάμεσα σε έναν πολυμορφικό τόπο και μια ασθένεια ώστε να εντοπιστεί μια μέτρια γενετική επίδραση (OR 1.1- 1.5) ενός πολυμορφισμού που είναι παρών σε ποσοστό πληθυσμού 10% με ικανή

στατιστικά δύναμη (>80%) χρειάζεται δείγμα μελέτης >10000 συμμετέχοντες [10]. Η μετά-ανάλυση λοιπόν έχει ένα ξεκάθαρο ρόλο στο να προσφέρει ανάλυση με μεγαλύτερη στατιστική δύναμη συγκεντρώνοντας αποτελέσματα ανεξάρτητων μελετών [10].

Από τις διενεργηθείσες μετα-αναλύσεις τις παρούσας διατριβής επιβεβαιώνεται η σχέση των μεταλλάξεων του TP53 με την αντίσταση στη χημειοθεραπεία, ειδικά για σχήματα που περιλαμβάνουν φλουνταραμπίνη και αποτελούν τη θεραπεία εκλογής στη ΧΛΛ. Οι ασθενείς με μεταλλάξεις του TP53 έχουν μεγάλη πιθανότητα (~85%) να μην ανταποκριθούν στην καθιερωμένη θεραπεία σε σχέση με τους μη μεταλλαγμένους ασθενείς. Αντιστοίχως, και η διαγραφή του 17p φάνηκε ότι σχετίζεται σημαντικά στατιστικά με κακή ανταπόκριση στη θεραπεία στους ασθενείς με ΧΛΛ. Αυτό φαίνεται λογικό καθώς το γονίδιο TP53 εντοπίζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17. Επιπρόσθετα, από την μετά-ανάλυση αποδείχθηκε ότι οι παρουσία μεταλλάξεων στο γονίδιο ATM σε ασθενείς με ΧΛΛ προδικάζει κακή ανταπόκριση στη θεραπεία, καθώς οι φορείς των μεταλλάξεων εμφανίζουν 65% περισσότερο κίνδυνο να μην ανταποκριθούν στα καθιερωμένα θεραπευτικά σχήματα. Το αποτέλεσμα επιβεβαιώνεται και από τη μελέτη της διαγραφής του 11q, όπου εδράζει το γονίδιο αυτό. Επίσης, βρέθηκε ότι η τρισωμία 12 σχετίζεται με κακή ανταπόκριση στη θεραπεία παρόλο που μέχρι τώρα έχει ταξινομηθεί ως ενδιάμεσου κινδύνου παράγοντας.

Επιπρόσθετα, η έκφραση του CD38 σχετίστηκε με κακή ανταπόκριση στη θεραπεία. Οι ασθενείς με έκφραση του δείκτη αυτού σε >30% των ΧΛΛ κυττάρων τους φάνηκε ότι είχαν 50% περισσότερες πιθανότητες να μην ανταποκριθούν στη θεραπεία. Από την άλλη η παρουσία σωματικών υπερμεταλλάξεων στα γονίδια IGVH σχετίζεται με καλή ανταπόκριση στη θεραπεία. Ειδικότερα, φάνηκε ότι οι ασθενείς με IGVH-M ΧΛΛ είχαν περίπου 2 φορές περισσότερη πιθανότητα να ανταποκριθούν στη θεραπεία από τους IGVH-UM ΧΛΛ ασθενείς [OR 1.97 (95% CI 1.42, 2.74)].

Οι υπόλοιποι γενετικοί δείκτες που μελετήθηκαν (NOTCH1, SF3B1, BIRC3, ZAP-70, διαγραφή 6q, διαγραφή 13q) δεν έδειξαν σημαντική συσχέτιση. Αυτή η έλλειψη θετικών αποτελεσμάτων με σημαντική αξιοπιστία θα πρέπει να θεωρηθεί υπό το φως των εγγενών αδυναμιών της έρευνας της γενετικής επιδημιολογίας [19].

Οι συσχετίσεις που προέκυψαν από τις προαναφερθείσες μετα-αναλύσεις προέκυψαν από τη συγκέντρωση ενός σχετικά μικρού αριθμού μελετών και ασθενών με ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες. Επιπλέον, η επίδραση άλλων τροποποιητικών παραγόντων όπως η ηλικία, το κλινικό στάδιο, άλλα κυτταρογενετικά και μοριακά ευρήματα των ΧΛΛ κυττάρων καθώς και προηγούμενες θεραπείες δεν λήφθηκαν υπόψη καθώς οι μελέτες δεν παρείχαν αυτά τα δεδομένα. Παρόλο που γίνεται μεγάλη προσπάθεια από διεθνής ομάδες συνεργασίας για τη ΧΛΛ να οργανώσουν ένα ομοιογενές πλαίσιο για τις γενετικές μελέτες μέσα στις κλινικές μελέτες [3], στην παρούσα διατριβή περιλήφθησαν μελέτες που ποικίλαν ως προς το σχεδιασμό τους και τη μεθοδολογία τους, στα μεγέθη δείγματος, στα κριτήρια ένταξης και στον ορισμό των ορίων θετικότητας για τους δείκτες με υπερ- και υπο- έκφραση. Για το λόγο αυτό, τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν με προσοχή. Μελλοντικές αναλύσεις με περισσότερες μελέτες με πιο ομοιογενείς ομάδες και αυστηρότερα κριτήρια ένταξης καθώς και με μεγαλύτερα δείγματα μελέτης θα μπορέσουν να μας παρέχουν πιο ασφαλή και αξιόπιστα αποτελέσματα. Επιπλέον, η έλλειψη σημαντικών συσχετίσεων των δεικτών αυτών δεν αποκλείει πιθανή σχέση. Καθώς οι απαιτήσεις για μεγέθη δείγματος είναι πολύ μεγαλύτερες από τις τρέχουσες δυνατότητες και κανένα κέντρο δεν μπορεί να έχει έναν ικανοποιητικό αριθμό ασθενών, ένα βήμα προς αυτή την κατεύθυνση θα μπορούσε να αποτελέσει η δημιουργία μεγάλων βάσεων δεδομένων και συνεργασιών ώστε να διευκολυνθεί η διανομή των πόρων και των δεδομένων ανάμεσα στους ερευνητές.

## 1.5 Βιβλιογραφία

1. **Howlander N, Noone AM, Krapcho M, et al** (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2013/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/), based on November 2015 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2016.
2. **Campo, E. et al.** The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011;117(19):5019-32
3. **Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al;** International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008;111(12):5446-56. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906
4. **Hallek M.** Chronic lymphocytic leukemia: 2015 Update on diagnosis, risk stratification, and treatment *Am J Hematol*. 2015;90(5):446-60. doi: 10.1002/ajh.23979
5. **Matutes, E. et al.** The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia*. 1994;8(10):1640-5
6. **Binet, J. L. et al.** A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981;48(1):198-206.
7. **Rai, K. R. et al.** Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975;46(2):219-34
8. **Hallek, M. et al.** Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2010;376(9747):1164-74



9. **Stilgenbauer, S. & Zenz, T.** Understanding and managing ultra high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Hematol. Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2010;481-8. doi: 10.1182/asheducation-2010.1.481
10. **Rossi, D. & Gaidano, G.** Richter syndrome. *Adv. Adv Exp Med Biol.* 2013;792:173-91
11. **Shanafelt TD.** Predicting clinical outcome in CLL: how and why. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program.* 2009:421-429
12. **Parikh et al.** Should IGHV Status and FISH Testing Be Performed in All CLL Patients at Diagnosis? A Systematic Review and Meta-analysis *Blood.* 2016;127(14):1752-60. doi: 10.1182/blood-2015-10-620864
13. **Wierda WG, O'Brien S, Wang X, et al.** Characteristics associated with important clinical end points in patients with chronic lymphocytic leukemia at initial treatment. *J Clin Oncol.* 2009;27(10):1637-43
14. **Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, et al.** Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1999;94(6):1840-7
15. **Gattei V, Bulian P, Del Principe MI, et al.** Relevance of CD49d protein expression as overall survival and progressive disease prognosticator in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2008;111(2):865-73
16. **Claus R, Lucas DM, Ruppert AS, et al.** Validation of ZAP-70 methylation and its relative significance in predicting outcome in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2014;124(1):42-8
17. **Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al.** Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2000;343(26):1910-6

18. **DerSimonian R, Laird N.** Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials.* 1986;7:177–188.
19. **Zintzaras E, Lau J.** Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches. *J Clin Epidemiol.* 2008;61(7):634-45.
20. **Zintzaras E, Rodopoulou P, Koukoulis GN.** BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and the risk of osteoporosis: a meta-analysis. *Dis Markers.* 2006;22(5-6):317-26.
21. **Zintzaras E.** Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms with genetic susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis. *J Hum Genet.* 2006;51(7):618-24
22. **Cochran W.** The combination of estimates from different experiments. *Biometrics.* 1999;55(1):129-36.
23. **Higgins JP, Thompson SG.** Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med.* 2002;21(11):1539-58.
24. **Zintzaras E, Ioannidis JP.** Heterogeneity testing in meta-analysis of genome searches. *Genet Epidemiol.* 2005;28(2):123-37
25. **OpenMetaAnalyst:** Wallace, Byron C., Issa J. Dahabreh, Thomas A. Trikalinos, Joseph Lau, Paul Trow, and Christopher H. Schmid. "Closing the Gap between Methodologists and End-Users: R as a Computational Back-End." *Journal of Statistical Software* 49 (2012): 5
26. **Zintzaras E, Kitsios GD.** Synopsis and synthesis of candidate-gene association studies in chronic lymphocytic leukemia: the CUMAGAS-CLL information system. *Am J Epidemiol.* 2009;170(6):671-8

27. **Zintzaras E, Doxani C, Ziogas DC, et al.** Bone mineral density and genetic markers involved in three connected pathways (focal adhesion, actin cytoskeleton regulation and cell cycle): the CUMAGAS-BMD information system. *Biomarkers*. 2011;16(8):698-708
28. **Bo MD, Del Principe MI, Pozzo F, et al.** NOTCH1 mutations identify a chronic lymphocytic leukemia patient subset with worse prognosis in the setting of a rituximab-based induction and consolidation treatment. *Ann Hematol*. 2014;93(10):1765-74.
29. **Bosch F, Ferrer A, Villamor N, et al.** Fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia: high response rate and disease eradication. *Clin Cancer Res*. 2008;14(1):155-61.
30. **Byrd JC, Gribben JG, Peterson BL, et al.** Select high-risk genetic features predict earlier progression following chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab in chronic lymphocytic leukemia: justification for risk-adapted therapy. *J Clin Oncol*. 2006 ;24(3):437-43.
31. **Chiaretti S, Marinelli M, Del Giudice I, et al.** NOTCH1, SF3B1, BIRC3 and TP53 mutations in patients with chronic lymphocytic leukemia undergoing first-line treatment: correlation with biological parameters and response to treatment. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(12):2785-92.
32. **Cordone I, Masi S, Mauro FR, Soddu S, et al.** p53 expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: a marker of disease progression and poor prognosis. *Blood*. 1998;91(11):4342-9.
33. **Del Poeta G, Del Principe MI, Consalvo MA, et al.** The addition of rituximab to fludarabine improves clinical outcome in untreated patients with ZAP-70-negative chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*. 2005;104(12):2743-52.

34. **Del Principe MI, Del Poeta G, Buccisano F, et al.** Clinical significance of ZAP-70 protein expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2006;108(3):853-61.
35. **Döhner H, Fischer K, Bentz M, et al.** p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood*. 1995;85(6):1580-9.
36. **el Rouby S, Thomas A, Costin D, et al.** p53 gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia is associated with drug resistance and is independent of MDR1/MDR3 gene expression. *Blood*. 1993;82(11):3452-9.
37. **Falchi L, Keating MJ, Wang X, et al.** Clinical characteristics, response to therapy, and survival of African American patients diagnosed with chronic lymphocytic leukemia: joint experience of the MD Anderson Cancer Center and Duke University Medical Center. *Cancer*. 2013;119(17):3177-85.
38. **Foà R, Del Giudice I, Cuneo A, et al.** Chlorambucil plus rituximab with or without maintenance rituximab as first-line treatment for elderly chronic lymphocytic leukemia patients. *Am J Hematol*. 2014;89(5):480-6.
39. **Gonzalez D, Martinez P, Wade R, et al.** Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial. *J Clin Oncol*. 2011;29(16):2223-9.
40. **Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, et al; International Group of Investigators; German Chronic Lymphocytic Leukaemia Study Group.** Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2010;376(9747):1164-74.

41. **Jamroziak K1, Szemraj J, Robak T, et al.** Cereblon expression predicts clinical response in chronic lymphocytic leukemia treated with a thalidomide/fludarabine regimen. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(3):808-10. doi: 10.3109/10428194.2014.933215. Epub 2014 Jul 17.
42. **Laurenti L, Tarnani M, De Padua L, et al.** Oral fludarabine and cyclophosphamide as front-line chemotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia. The impact of biological parameters in the response duration. *Ann Hematol*. 2008 Nov;87(11):891-8.
43. **Laurenti L, De Padua L, Tarnani M, et al.** Comparison between oral and intravenous fludarabine plus cyclophosphamide regime as front-line therapy in patients affected by chronic lymphocytic leukaemia: influence of biological parameters on the clinical outcome. *Ann Hematol*. 2011;90(1):59-65.
44. **Lozanski G, Ruppert AS, Heerema NA, et al.** Variations of the ataxia telangiectasia mutated gene in patients with chronic lymphocytic leukemia lack substantial impact on progression-free survival and overall survival: a Cancer and Leukemia Group B study. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(9):1743-8
45. **Oscier D, Wade R, Davis Z, Morilla A, et al;** Chronic Lymphocytic Leukaemia Working Group, UK National Cancer Research Institute. Prognostic factors identified three risk groups in the LRF CLL4 trial, independent of treatment allocation. *Haematologica*. 2010;95(10):1705-12.
46. **Robak T, Jamroziak K, Gora-Tybor J, et al.** Comparison of cladribine plus cyclophosphamide with fludarabine plus cyclophosphamide as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia: a phase III randomized study by the Polish Adult Leukemia Group (PALG-CLL3 Study). *J Clin Oncol*. 2010;28(11):1863-9.

47. **Saxena A, Moshynska O, Sankaran K, et al.** Association of a novel single nucleotide polymorphism, G(-248)A, in the 5'-UTR of BAX gene in chronic lymphocytic leukemia with disease progression and treatment resistance. *Cancer Lett.* 2002;187(1-2):199-205.
48. **Schlette EJ, Admirand J, Wierda W, et al.** p53 expression by immunohistochemistry is an important determinant of survival in patients with chronic lymphocytic leukemia receiving frontline chemo-immunotherapy. *Leuk Lymphoma.* 2009;50(10):1597-605.
49. **Schnaiter A, Paschka P, Rossi M, et al.** NOTCH1, SF3B1, and TP53 mutations in fludarabine-refractory CLL patients treated with alemtuzumab: results from the CLL2H trial of the GCLLSG. *Blood.* 2013;122(7):1266-70.
50. **Skowronska A, Parker A, Ahmed G, et al.** Biallelic ATM inactivation significantly reduces survival in patients treated on the United Kingdom Leukemia Research Fund Chronic Lymphocytic Leukemia 4 trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(36):4524-32.
51. **Stilgenbauer S, Zenz T, Winkler D, et al; German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group.** Subcutaneous alemtuzumab in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia: clinical results and prognostic marker analyses from the CLL2H study of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J Clin Oncol.* 2009;27(24):3994-4001.
52. **Thompson PA, Tam CS, O'Brien SM, et al.** Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab treatment achieves long-term disease-free survival in IGHV-mutated chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2016;127(3):303-9.
53. **Thornton PD, Matutes E, Bosanquet AG, et al.** High dose methylprednisolone can induce remissions in CLL patients with p53 abnormalities. *Ann Hematol.* 2003;82(12):759-65.

54. **Valgañón M, Giraldo P, Agirre X, et al.** p53 Aberrations do not predict individual response to fludarabine in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia in advanced stages Rai III/IV. *Br J Haematol.* 2005;129(1):53-9.
55. **Xu W, Li JY, Wu YJ, et al.** Prognostic significance of ATM and TP53 deletions in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res.* 2008;32(7):1071-7.
56. **Xu M, Fan L, Miao KR, Liu Pet al.** Comprehensive assessment of prognostic factors predicting outcome in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine and cyclophosphamide. *Med Oncol.* 2012;29(3):2102-10.
57. **Zenz T, Häbe S, Denzel T, Mohr J, et al.** Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood* 2009;114(13):2589-97.
58. **Zenz T, Eichhorst B, Busch R, et al.** TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 2010;28(29):4473-9.
59. **Damle RN, Wasil T, Fais F et al.** Ig VH gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1999;94(6):1840-7
60. **Hamblin J T.** CD38: what is it there for? *Blood* 2003; 102(6):1939-1940
61. **Vardi A, Agathangelidis A, Sutton LA, et al.** Immunogenetic studies of chronic lymphocytic leukemia: revelations and speculations about ontogeny and clinical evolution *Cancer Res.* 2014;74(16):4211-6.
62. **Rodriguez D et al.** Molecular pathogenesis of CLL and its evolution. *Int J Hematol.* 2015;101(3):219-28
63. **Fabbri G, Dalla-Favera R.** The molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(3):145-62.

64. **Zoumbos N. C.,(eds)** Molecular Basis of Blood Disorders. Publisher:Synedra, Patras, Greece. 2009
65. . **Cheson BD, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ, O'Brien S, Rai KR.** National Cancer Institute-Sponsored Working Group Guidelines for Chronic Lymphocytic Leukemia: Revised Guidelines for Diagnosis and Treatment. *Blood*. 1996;87(12):4990-7
66. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BIRC3> assessed on 7<sup>th</sup> May 2016
67. **Rossi, D. et al.** Disruption of BIRC3 associates with fludarabine chemorefractoriness in TP53 wild-type chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012;119(12):2854-62
68. **Lavin MF:** Ataxia-telangiectasia: From a rare disorder to a paradigm for cell signalling and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9(10):759-69
69. **Austen B, Powell JE, Alvi A, et al.** Mutations in the ATM gene lead to impaired overall and treatment-free survival that is independent of IGVH mutation status in patients with B-CLL. *Blood*. 2005;106(9):3175-82.
70. **Austen B, Skowronska A, Baker C, et al:** Mutation status of the residual ATM allele is an important determinant of the cellular response to chemotherapy and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia containing an 11q deletion. *J Clin Oncol*. 2007;25(34):5448-57
71. **Vogelstein B, Lane D, Levine AJ.** Surfing the p53 network. *Nature*. 2000;408(6810):307-10
72. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TP53#conditions> assessed on 10/may/2016
73. **Levine AJ.** p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*. 1997;88(3):323-31
74. **Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein D, Harris CC:** p53 mutations in human cancers. *Science*. 1991;253(5015):49-53



75. **Petitjean A, Achatz MI, Borresen-Dale AL, Hainaut P, Olivier M.** TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene*. 2007;26(15):2157-65.
76. **Olivier M, Hollstein M, Hainaut P.** TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(1):a001008.
77. **Seiffert M, Dietrich S, Jethwa A, et al.** Exploiting biological diversity and genomic aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(6):1023-31
78. **Chan AC, Iwashima M, Turck CW, Weiss A.** ZAP-70: a 70 kd protein-tyrosine kinase that associates with the TCR zeta chain *Cell*. 1992;71(4):649-62
79. **Isakow N, Wange RL, Burgess WH, et al.** ZAP- 70 binding specificity to T cell receptor tyrosine based activation motifs: the tandem SH2 domains of ZAP-70 bind distinct tyrosine-based activation motifs with varying affinity. *J Exp Med*. 1995;181(1):375-80
80. **Orchard J, Ibbotson R, Best G, Parker A, Oscier D.** ZAP-70 in B cell malignancies. *Leuk Lymphoma*. 2005;46(12):1689-98.
81. **Chen L, Apgar J, Huynh L, et al.** ZAP-70 directly enhances IgM signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2005;105(5):2036-41
82. **Wiestner A, Rosenwald.A, Barry TS, Wright G, Davis RE, Henrickson SE, et al.** ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia sub-type with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome and distinct gene expression profile. *Blood*. 2005;105(5):2036-41
83. **Damle RN, Ghiotto F, Valetto A, et al.** B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a surface membrane phenotype of activated, antigen-experienced B lymphocytes. *Blood*. 2002;99(11):4087-93
84. **Hamblin J T.** CD38: what is it there for? *Blood* 2003; 102(6):1939-19403

85. **Juliussen G, Merup M.** Cytogenetics in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol.* 1998;25(1):19-26
86. **Juliussen G, Oscier DG, Fitchett M, et al.** Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N Engl J Med.* 1990;323(11):720-4
87. **Oscier DG, Stevens J, Hamblin TJ, Pickering RM, Lambert R, Fitchett M.** Correlation of chromosome abnormalities with laboratory features and clinical course in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1990;76:352-8
88. **Escudier SM, Pereira-Leahy JM, Drach JW, et al.** Fluorescent in situ hybridization and cytogenetic studies of trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1993;81:2702-7
89. **Van Dyke DL, Werner L, Rassenti LZ, et al.** The Dohner fluorescence in situ hybridization prognostic classification of chronic lymphocytic leukaemia (CLL): the CLL Research Consortium experience. *Br J Haematol.* 2016;173(1):105-13.
90. **Wattel, E. et al.** p53 mutations are associated with resistance to chemotherapy and short survival in hematologic malignancies. *Blood.* 1994;84(9):3148-57
91. **Ouillette, P. et al.** Aggressive chronic lymphocytic leukemia with elevated genomic complexity is associated with multiple gene defects in the response to DNA double-strand breaks. *Clin Cancer Res.* 2010;16(3):835-47
92. **Zenz T, Vollmer D, Trbusek M, et al.** TP53 mutation profile in chronic lymphocytic leukemia: Evidence for a disease specific profile from a comprehensive analysis of 268 mutations. *Leukemia.* 2010;24(12):2072-9
93. **Fabbri, G. et al.** Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. *J Exp Med.* 2011;208(7):1389-401

94. **Fabbri, G. et al.** Genetic lesions associated with chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *J Exp Med.* 2013;210(11):2273-88
95. **Dalsass A, Mestichelli F, Ruggieri M, et al.** 6q deletion detected by fluorescence in situ hybridization using bacterial artificial chromosome in chronic lymphocytic leukemia *Eur J Haematol.* 2013;91(1):10-9.
96. **Cuneo A, Rigolin GM, Bigoni R, et al.** Chronic lymphocytic leukemia with 6q- shows distinct hematological features and intermediate prognosis. *Leukemia.* 2004;18(3):476-83

## Ενότητα 2. Μυελοδυσπλαστικό Σύνδρομο (ΜΔΣ)

### 2.1 Εισαγωγή

Τα Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (ΜΔΣ) είναι μια ετερογενής ομάδα από διαταραχές του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου που κατηγοριοποιούνται στις χρόνιες μυελογενείς κακοήθειες σύμφωνα με την ταξινόμηση του 2008 του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) [1, 2]. Το ΜΔΣ χαρακτηρίζεται κλινικά από κυτταροπενίες στο περιφερικό αίμα παρά την παρουσία υπερκυτταρικού/ νορμοκυτταρικού μυελού των οστών, γεγονός που οφείλεται στην μη αποδοτική αιμοποίηση. Το ΜΔΣ έχει μεγάλο εύρος διάρκειας επιβίωσης με μέση παρατηρούμενη ολική επιβίωση (OS) να ποικίλει από λιγότερο από 1 χρόνο έως και δεκαετίες [3] αλλά και μεταβαλλόμενη τάση για εξέλιξη σε οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ) [2]. Τελικά θα διαγνωσθεί με ΟΜΛ το 30% των ασθενών με ΜΔΣ [4].

Ο κύριος λόγος για την κλινική ετερογένεια του ΜΔΣ είναι η βιολογική ετερογένεια που βρίσκεται πίσω από τη νόσο. Η παθογένεια του ΜΔΣ και η πρόοδος της νόσου δεν είναι πλήρως κατανοητή. Μια τεράστια προσπάθεια έχει γίνει ώστε να δοθεί φως στις διάφορες πτυχές της μοριακής παθογένειας και να ταυτοποιηθούν νέοι προγνωστικοί και προβλεπτικοί δείκτες αλλά και να δοκιμαστούν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις [5]. Πρόσφατα, αναγνωρίστηκαν μια σειρά από γονίδια που εμφανίζονται συχνά μεταλλαγμένα και παίζουν ρόλο στην μοριακή παθογένεση της νόσου. Τα γονίδια αυτά εμπλέκονται στην επιγενετική ρύθμιση, στην τροποποίηση της χρωματίνης, στο μηχανισμό ματίσματος, στα μονοπάτια σηματοδότησης και επιδιόρθωσης του DNA [6-9]. Αυτές οι γενετικές παραλλαγές με τη σειρά τους χρησιμοποιούνται για να επαναπροσδιοριστεί η σύγχρονη διαγνωστική και προγνωστική προσέγγιση των ΜΔΣ [10, 11] και επιπρόσθετα τίθενται ως νέοι θεραπευτικοί στόχοι στις τρέχουσες κλινικές μελέτες [4]. Αυτό είναι πολύ σημαντικό εάν λάβουμε υπόψη

ότι μέχρι τώρα η μόνη θεραπεία ίασης παραμένει η αλλογενής μεταμόσχευση αρχέγονων κυττάρων (Αλλο-ΜΑΑΚ), μια επιλογή όμως που είναι απρόσιτη για την πλειονότητα των ασθενών με ΜΔΣ λόγω της μεγάλης ηλικίας.

Η μεθυλίωση του DNA είναι η πιο καλά μελετημένη επιγενετική τροποποίηση μέχρι τώρα και η ανώμαλη μεθυλίωση του DNA αποτελεί το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του ΜΔΣ [12]. Αυτή η γνώση οδήγησε στην είσοδο των υπομεθυλιωτικών παραγόντων ή αναστολέων της DNA μεθυλτρανσφεράσης (DNMT inhibitors)- της 5-αζακυτιδίνης (AZA) και της 5-αζα-2-δεοξυκυτιδίνης (δεσιταμπίνη) (DEC) στη θεραπεία του ΜΔΣ με πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα [13]. Ωστόσο, είναι πολύ λίγοι οι προβλεπτικοί δείκτες για την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία με αυτούς τους παράγοντες ή τους νεότερους που μελετώνται και εξαρτώνται κυρίως από μορφολογικά και κυτταρογενετικά αποτελέσματα.

## 2.2 Μέθοδοι

Η αναζήτηση των δημοσιευμένων μελετών έγινε στη βάση Pubmed χρησιμοποιώντας τους ακόλουθους όρους: «Myelodysplastic Syndrome OR MDS AND gene AND response to therapy». Η τελευταία αναζήτηση πραγματοποιήθηκε τον Μάρτιο του 2016. Ανακτήθηκαν όλες οι περιλήψεις και ελέγχθηκαν για την καταλληλότητά τους για την συμπερίληψη τους στη συστηματική αυτή ανασκόπηση. Μετά τον έλεγχο των περιλήψεων, οι επιλεγμένες μελέτες διαβάστηκαν εξ ολοκλήρου για να επιβεβαιωθεί ότι πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης στην ανάλυση. Η αναζήτηση περιορίστηκε σε άρθρα στην Αγγλική γλώσσα καθώς και σε μελέτες που διεξήχθησαν σε ανθρώπους. Όλες οι βιβλιογραφικές αναφορές των μελετών που πληρούσαν τα κριτήρια ελέγχθηκαν για τον εντοπισμό επιπρόσθετων δημοσιεύσεων που δεν ήταν καταχωρημένα στην PubMed.

Οι μελέτες για να μπορούν να ενταχθούν στην ανάλυση έπρεπε να εκπληρώνουν τα παρακάτω κριτήρια:

1. Να μελετούν ασθενείς με διάγνωση ΜΔΣ
2. Να χρησιμοποιούν οποιαδήποτε φαρμακευτική θεραπεία
3. Η ανταπόκριση να ορίζεται ως η πλήρης ή μερική ανταπόκριση ή αιματολογική βελτίωση
4. Να παρέχουν τα αποτελέσματα του αριθμού των ασθενών που είχαν ανταπόκριση και αυτών που δεν είχαν ανταπόκριση με θετική και αρνητική έκφραση του μελετώμενου δείκτη (δυναμικό αποτέλεσμα) ή την κατανομή του γονοτύπου των γονιδιακών παραλλαγών για τους ασθενείς με ανταπόκριση έναντι αυτών που δεν είχαν ανταπόκριση για οποιοδήποτε γονίδιο.

Οι μελέτες που ερευνούσαν γενετικούς δείκτες και συσχέτιση με εμφάνιση της νόσου, πρόοδο νόσου, σοβαρότητα ή επιβίωση αποκλείονταν.

### **Εξαγωγή δεδομένων**

Από κάθε μελέτη εξήχθησαν τα παρακάτω δεδομένα: Όνομα πρώτου συγγραφέα, έτος δημοσίευσης, γενετικός δείκτης που μελετήθηκε, συνολικός αριθμός που αναλύθηκε, μέση ηλικία, μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε και όριο θετικότητας για τους δείκτες ποσοτικής έκφρασης, αριθμός ασθενών που ανταποκρίθηκαν και ασθενών που δεν ανταποκρίθηκαν ανά γονιδιακή κατανομή, είδος θεραπείας. Στην περίπτωση που μια δημοσίευση σύγκρινε δύο ή περισσότερες θεραπείες, κάθε θεραπευτικό σκέλος λογίζονταν ως ξεχωριστή μελέτη και τα δεδομένα αναλύονταν ως τέτοια.

### **Σύνθεση δεδομένων**

Πριν από την μέτα-ανάλυση, εκτιμήθηκε για κάθε μελέτη ξεχωριστά η επίπτωση κινδύνου (risk effects) για κάθε γενετική παραλλαγή ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία. Όλες οι συσχετίσεις εκτιμήθηκαν ως λόγος πιθανοτήτων με 95% διάστημα εμπιστοσύνης. Όταν 2 ή περισσότερες μελέτες ερευνούσαν τον ίδιο γενετικό δείκτη, διενεργήθηκε μετα-ανάλυση των δημοσιευμένων αποτελεσμάτων.

### **Διαδική Γονιδιακή έκφραση**

Ο συγκεντρωτικός λόγος πιθανοτήτων (OR) με 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν έναντι αυτών που δεν ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία για την θετική έκφραση του γενετικού δείκτη σε σχέση με την αρνητική έκφρασή του υπολογίστηκε με τη χρήση του μοντέλου τυχαίων επιδράσεων [Random Effects (RE)] [14] επειδή ο λόγος πιθανοτήτων με το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων είναι πιο συντηρητικός από το μοντέλο των σταθερών επιδράσεων [Fixed Effects (FE)] [15]. Το μοντέλο των τυχαίων επιδράσεων προϋποθέτει πραγματική πολυμορφία στα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών και ενσωματώνει στους υπολογισμούς την διακύμανση μεταξύ μελετών [15].

### **Γενετικές Παραλλαγές**

Για τις γενετικές παραλλαγές υπολογίσθηκαν οι συγκεντρωτικοί λόγοι των πιθανοτήτων με τη χρήση του μοντέλου τυχαίων επιδράσεων (RE pooled ORs) στους ασθενείς με ανταπόκριση έναντι αυτών που δεν είχαν ανταπόκριση στη θεραπεία ως προς το κυρίαρχο μοντέλο [18]. Η μετα-ανάλυση εξέτασε την ολική συσχέτιση στο κυρίαρχο μοντέλο για το αλληλίο ενδιαφέροντος. Το κυρίαρχο μοντέλο ορίζεται ως: aa + Aa versus AA [16, 17]. Το μοντέλο αυτό επιλέχθηκε καθώς όλες οι μελέτες έδιναν αποτελέσματα για τους ασθενείς χωρίζοντάς τους σε μεταλλαγμένους και μη ως προς τα γονίδια που εξέταζαν. Ο λόγος πιθανοτήτων για το κυρίαρχο μοντέλο εκφράζει την πιθανότητα της ανταπόκρισης για

τους φορείς του μεταλλάξιμου αλληλίου (mutant allele) σε σχέση με την πιθανότητα ανταπόκρισης για τους ομοζυγότες του αλληλόμορφου του άγριου τύπου (wild-type allele)

Η στατιστική ετερογένεια μεταξύ των μελετών ελέγχθηκε με τη χρήση της παραμέτρου  $Q$  [15, 18]. Η τιμή  $P_Q < 0.10$  έδειχνε μια σημαντική ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες [15]. Επιπλέον, η ετερογένεια ποσοτικοποιήθηκε με τη χρήση της μεταβλητής  $I^2$  [19, 20]. Η τιμή του  $I^2$  κυμαίνεται μεταξύ 0% και 100% με τις μεγαλύτερες τιμές να δηλώνουν μεγαλύτερο βαθμό ετερογένειας. Όταν δεν υπάρχει ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες, το μοντέλο RE συμπίπτει με το μοντέλο FE [15]. Στην παρούσα μετα-ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο RE γιατί είναι πιο συντηρητικό [15]. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του OpenMeta-Analyst [21] και της CUMAGAS (Larissa, Greece, <http://biomath.med.uth.gr>) [22, 23].



## **2.3 Αποτελέσματα**

### **Αναζήτηση βιβλιογραφίας**

Η αναζήτηση στη βάση δεδομένων PubMed απέφερε 284 δημοσιεύσεις που πληρούσαν τα κριτήρια αναζήτησης. Συνολικά, τα κείμενα 43 δημοσιεύσεων εξετάσθηκαν καθ' ολοκληρίαν ως προς τα κριτήρια ένταξης. Τελικά, 28 δημοσιεύσεις πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης και χρησιμοποιήθηκαν. Τα αποτελέσματα της αναζήτησης παρουσιάζονται συνοπτικά στο παρακάτω σχεδιάγραμμα:

Search terms: "Myelodysplastic Syndrome" OR "MDS" AND "gene" AND "response to therapy"

284 titles were found in Pubmed



80 were reviews  
14 were not in English  
34 were not in humans  
66 were irrelevant  
9 were giving results for protein expression or other no genetic factors  
36 were giving results for other outcomes or no results  
1 meta-analysis  
1 ex-vivo



43 articles were evaluated  
2 articles had overlapping samples  
1 was irrelevant  
9 provide results for other outcomes  
3 did not provide extractable data



28 articles were eligible  
4 were studied genetic markers with no replication studies



24 article were finally used

## **Εικόνα 2.1.** Βιβλιογραφική αναζήτηση

### **Χαρακτηριστικά μελετών**

Οι δημοσιεύσεις διερευνούσαν 31 γενετικούς βιοδείκτες σε συνολικά 18 μελέτες για γονιδιακή έκφραση και 81 μελέτες για γονιδιακές παραλλαγές. Μετά-αναλύσεις έγιναν για τους 23 από τους δείκτες αυτούς καθώς μόνο αυτοί είχαν περισσότερες από δύο μελέτες. Οι μετα-αναλύσεις έδειξαν ότι δεν υπάρχει καμία σημαντική συσχέτιση γενετικών δεικτών με την αναπόκριση στη θεραπεία, τα οποία θα παρουσιαστούν αναλυτικά παρακάτω. Τα χαρακτηριστικά της κάθε μελέτης που συμπεριλήφθηκαν στην μετα-ανάλυση φαίνονται στον Πίνακα 2.1 ενώ στον Πίνακα 2.2 φαίνονται οι γενετικοί δείκτες που αναλύθηκαν και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης για το κάθε ένα από αυτά. Οι μελέτες δημοσιεύτηκαν ανάμεσα στο 1998 και το 2016.

Συγγραφέας (έτος)	Ασθενείς που αναλύθηκαν	Μέση Ηλικία σε έτη (ελάχιστη-μέγιστη) μέση $\pm$ SD)	Γενετικός δείκτης που μελετήθηκε	Διάγνωση	Ορισμός Ανταπόκρισης	Κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τον ορισμό	Θεραπεία	Αναφορά
Bally (2014)	62	71 (42-90)	Μεταλλάξεις TP53	MDS και AML	CR		AZA	24
Bejar (2014)	213	NR	Μεταλλάξεις TP53	MDS	CR ή PR ή HI		AZA ή DEC	25
Braun (2008)	38	71 (54-88)	Μεταλλάξεις TET2	προχωρημένη CMML	CR ή PR ή HI	IWG2006	DEC	26
Cocco (2014)	68 (HR: 35, LR: 33)	HR: 69 (50-84) LR: 70 (37-85)	PI-PLCb1 μεθυλίωση εκκινητή και έκφραση γονιδίου	Υψηλού και χαμηλού κινδύνου MDS	CR ή PR ή HI		AZA	27
Daskalakis (2002)	21	64 (34- 80)	μεθυλίωση εκκινητή p15ink4b	ενδιάμεσου/υψηλού κινδύνου MDS	CR ή PR ή HI + μείωση βλαστών	CR: νορμοκυτταρικός ή ελαφρώς υποκυτταρικός BM με < 5% βλάστες και Hgb >11 g/dL; ANC > 1.0*10 <sup>9</sup> /L; και PLT > 100*10 <sup>9</sup> /L. PR :>50% ↓στο BM μυελοβλαστών και τριγραμμική ανταπόκριση(↑ στην Hb > 2 g/dL, στον αριθμό PLT >	DEC	28

						50*10 <sup>9</sup> /L, και στα ANC > 1.0*10 <sup>9</sup> /L). HI: βελτίωση σε 1 εως 3 γραμμέςστην περιφέρεια αλλά όχι αρκετή για να ικανοποιηί για PR. Μείωση Βλαστών: ↓ >20% μείωση στην περίπτωση περίσσειας βλαστών.		
Falantes (2015)	46	70 (17-88)	GYS1, MIF, MYC έκφραση	MDS και AML			Εντατική ΧΜΘ (ινταρουβική νη/κυταραβί νη ή AZA	29
Fandy (2009)	18	64 (34-84)	CDH-1, DAPK-1, p15ink4b μεθυλίωση εκκινητή SOCS-1	Υψηλού κινδύνου MDS	CR ή PR ή HI		AZA 30-50 mg/m <sup>2</sup> +entinostat	30
Fili (2013)	32	71 (56-84)	PI-PLCb1 μεθυλίωση εκκινητή και έκφραση γονιδίου	Χαμηλού κινδύνου MDS	CR ή HI		5-AZA 75mg/m <sup>2</sup> *5 ημέρες*8 κύκλους	31
Follo (2011)	20	71 (62-84)	PI-PLCb1 μεθυλίωση εκκινητή	MDS	CR ή HI ή PR		AZA ή AZA + VPA ή BSC	32

Grovdal (2007)	41	68 (54-83)	CDH-1 HIC p15ink4b μεθυλίωση εκκινητή	MDS-AML	CR	<5% BM βλάστες, σταθερή Hb>100 g/L, WBC >1.5* 10 <sup>9</sup> /L με φυσιολογικό τύπο, και αιμοπετάλια >100*10 <sup>9</sup> /L.	daunorubici n 60 mg/m2 i.v. d 1- 2 + cytarabine 150 mg/m2 s.c. d 1-8	33
Hong (2015)	43	68 (26-89)	SRSF2, U2AF1, ZRSR2 μεταλλάξεις				DEC	34
Itzykson (2011)	86	71 (52-88)	TET2 μεταλλάξεις		CR ή HI ή PR ή mCR		AZA	35
Jadersten (2011)	37	71 (34-85)	TP53 μεταλλάξεις	Χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου με del5q	CER: φυσιολογικοπ οίηση της Hb + TI,		Lenalidomi de	36
Jonasova (2015)	46	NR	CRBN A/G -29	Χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου με del5q	NR	NR	Lenalidomi de	37
McGraw (2015)	502	68.7 (23-93)	TP53 R72P	Del5q MDS	ER	IWG2000	Lenalidomi de	38
Meldi (2015)	40	72 (41-84)	ASXL1, DNMT3A, EZH2, IDH1, IDH1/IDH2, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, NRAS, RAS, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1	MDS και CMML	CR ή PR ή HI	IWG2006	DAC	39

			μεταλλάξεις					
Müller-Thomas (2014)	100	71 (47-87)	Έκφραση p53	Υψηλού κινδύνου MDS και sAML	CR, PR, SD με HI		AZA	40
Quesnel (1998)	12	NR	p15ink4b μεθυλίωση εκκινητή	Υψηλού κινδύνου MDS- AML	CR ή PR	NR	Εντατική ΧΜΘ	41
Ravoet (2008)	13	68 (53-77)	KRAS, NRAS, RAS μεταλλάξεις	MDS ή sAML	CR ή PR ή HI	IWG2006	Lonafarnib	42
Sardnal (2013)	50	73 (54-89)	CRBN A/G -29	Χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου χωρίς del5q	ER, ερυθροκυτταρική αιματολογική βελτίωση	IWG2006	Lenalidomide	43
Sauntharajah (2015)	25	73 (46-85)	ASXL1, ATM, BCOR, DNMT3A, EZH2, FLT3, IDH1, IDH1, JAK2, NPM1, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1		CR ή PR ή HI	IWG2006	DEC μειωμένες δόσεις	44
Takahashi (2016)	168	67 (17-99)	ASXL1, BCOR/BCORL1, CBL, CUX1, DNMT3A, EZH2, IDH1, IDH1/IDH2, IDH2, KRAS, NRAS, PTPN11, RAS, RUNX1,	Υψηλού κινδύνου MDS	CR ή PR ή HI	NR	AZA ή DEC	45

			SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF1,ZRSR2					
Thepot (2016)	90	72 (65-78)	ASXL1, DNMT3A, JAK2, SF3B1, TET2, U2AF1	Χαμηλού κινδύνου MDS	Μείζονα ER - HI-E	IWG2000 and IWG 2006	AZA (75 mg/m <sup>2</sup> /d) ή AZA με Epoetin B 60000 U/w sc	46
Traina (2014)	92	68 (34-81)	ASXL1, CBL, DNMT3A, IDH1/IDH2, IDH1/IDH2, RAS, SF3B1, TET2		CR ή PR ή HI	IWG2006	AZA/ AZA +lenalidomi de/ DEC/ DEC sq/ DEC + AZA)	12

**Πίνακας 2.1.** Χαρακτηριστικά κλινικών δοκιμών

72

CR: Πλήρης ανταπόκριση, PR: Μερική ανταπόκριση, HI: αιματολογική βελτίωση, mCR: μοριακή πλήρης ανταπόκριση, CER: πλήρης ερυθροκυτταρική ανταπόκριση, ER: ερυθροκυτταρική ανταπόκριση, TI: ανεξαρτησία μεταγγίσεων, IV: ενδοφλεβίως, p.o: από του στόματος, sq: υποδορίως, NR: δεν αναφέρεται, N/A: δεν εφαρμόζεται, HR: υψηλού κινδύνου, LR: χαμηλού κινδύνου, MDS:ΜΔΣ, AML:ΟΜΛ, sAML: δευτεροπαθής ΟΜΛ, CMML: ΧΜΜΛ, AZA: Αζακυτιδίνη, DEC: Δεσιταμπίνη, VPA: Βαλπροϊκό Οξύ, BSC: Βέλτιστη Υποστηρικτική Αγωγή, Hb: αιμοσφαιρίνη, WBC: Λευκά Αιμοσφαίρια,



Γενετικός Δείκτης	Μελέτες (Αριθμός.)	OR	95% CI	I <sup>2</sup> , % (P <sub>Q</sub> )	Στατιστικά σημαντική συσχέτιση
ASXL1	5	0.99	0.52-1.89	0% (0.6)	όχι
BCOR/BCORL1	2	4.76	0.68- 33.17	0% (0.71)	όχι
CBL	2	1.0	0.24-4.13	0% (0.52)	όχι
CDH-1	2	0.49	0.03-9.59	81% (0.02)	όχι
CRBN	2	1.45	0.24-8.83	72% (0.06)	όχι
DNMT3A	5	1.04	0.42- 2.57	24% (0.26)	όχι
EZH2	3	1.93	0.36- 10.29	0% (0.74)	όχι
IDH1	4	1.23	0.29- 5.16	0% (0.67)	όχι
IDH1/IDH2	4	1.16	0.59-2.26	0% (0.67)	όχι
IDH2	2	0.77	0.21-2.77	0% (0.56)	όχι
JAK2	3	0.86	0.15-4.94	0% (0.41)	όχι
KRAS	3	0.76	0.15-3.74	0% (0.58)	όχι
NRAS	1	0.77	0.21-2.75	0% (0.4)	όχι
p15ink4b	4	0.88	0.37-2.11	0% (0.5)	όχι
PI-PLCb1 γονιδιακή έκφραση	6	1.02	0.48-2.18	0% (0.67)	όχι
PI-PLCb1 μεθυλίωση εκκινητή	3	1.05	0.47-2.34	0% (0.83)	όχι
RAS	4	0.77	0.21-2.75	0% (0.4)	όχι
RUNX1	3	0.98	0.33-2.9	16% (0.3)	όχι
SF3B1	5	1.84	0.89- 3.79	0% (0.48)	όχι
SRSF2	4	0.78	0.36- 1.65	0% (0.62)	όχι
TET2	7	1.65	0.86- 3.16	41%, (0.12)	όχι
TP53	7	1.37	0.63-3.01	82% (<0.001)	όχι
U2AF1	5	0.9	0.39-2.09	0% (0.61)	όχι
ZRSR2	2	0.88	0.26-3.03	4% (0.31)	όχι

**Πίνακας 2.2.** Οι γενετικοί δείκτες που μελετήθηκαν και τα αποτελέσματα των μετα-αναλύσεων

## Μεταλλάξεις σε επιγενετικούς τροποποιητές

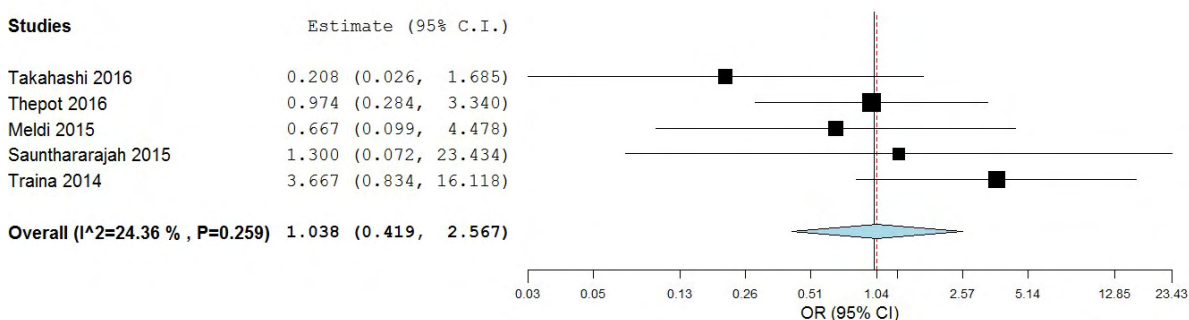
Οι μεταλλάξεις στους επιγενετικούς τροποποιητές DNMT3A, TET2, IDH1/2, ASXL1, EZH2 είναι ιδιαίτερης σημασίας για το ΜΔΣ [8-11, 47, 48]. Τα παραπάνω γονίδια διακρίνονται περαιτέρω σε γονίδια που μεθυλιώνουν το DNA (DNMT3A, TET2, IDH1/2) και σε τροποποιητές της χρωματίνης (ASXL1, EZH2).

### *DNMT3A*

Η DNMT3A ανήκει στην οικογένεια των DNA μεθυλοτρανσφερασών, οι οποίες προσθέτουν μεθυλο- ομάδες στην κυτοσίνη του DNA στη θέση 5 των νησιδίων CpG. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου DNMT3A εμφανίζονται σε ποσοστό ~10% σε ασθενείς με ΜΔΣ. Η πιο συχνή μετάλλαξη (40%-60%) αφορά τη θέση R882 και είναι μια μετάλλαξη αύξησης της λειτουργίας του ενζύμου που πιθανώς οδηγεί και σε υπερμεθυλίωση. Ωστόσο, δεν υπάρχουν διαφορές συνολικής μεθυλίωσης ανάμεσα στους φορείς μεταλλάξεων και στους φυσιολογικούς φορείς. Επίσης τα αποτελέσματα και στις δύο αυτές ομάδες δεν φαίνεται να διαφέρουν μετά από θεραπεία με αναστολείς του ενζύμου αυτού (DNMT inhibitors; AZA και DEC). Βέβαια, μέχρι τώρα υπάρχουν ενδείξεις από μελέτες [9, 10] ότι οι φορείς των μεταλλάξεων έχουν μικρότερο διάστημα συνολικής επιβίωσης.

Η αναζήτηση ανέδειξε πέντε δημοσιεύσεις [12, 39, 44-46] που μελέτούσαν την σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του DNMT3A και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος αναστολέας DNMT (AZA ή DEC). Καμία μελέτη δεν έδειξε να υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Όλες οι μελέτες είχαν ως τελικό αποτέλεσμα είτε την πλήρη είτε τη μερική είτε την αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Η μετα-ανάλυση που έγινε περιλάμβανε 415 ασθενείς και ανέδειξε ότι δεν υπάρχει διαφορετικός κίνδυνος ανάμεσα στις

δύο ομάδες ασθενών (μεταλλαγμένους και μη μεταλλαγμένους) ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.04 (95% CI 0.42, 2.57)]. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν μικρή ( $I^2=24\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.26$ ). Στην Εικόνα 2.2 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.2.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του DNMT3A και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

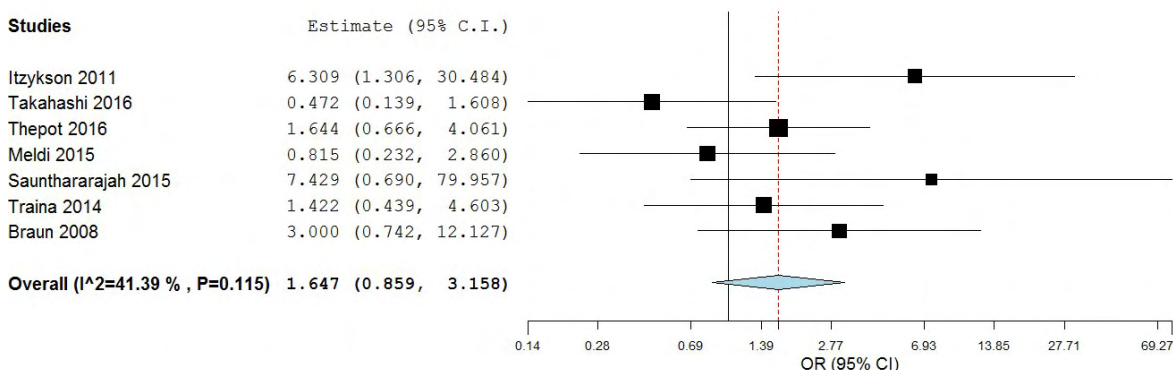
### **TET2**

Η οικογένεια των ενζύμων TET (TET1, TET2, TET3) οξειδώνει την 5-μεθυλκυτοσίνη σε 5-υδροξυμεθυλκυτοσίνη σε μια α-κετογλουταρικό-εξαρτώμενη ενζυμική αντίδραση. Οδηγεί δηλαδή σε απομεθυλίωση της κυτοσίνης και κατ'επέκταση σε τροποποίηση της χρωματίνης. Το γονίδιο TET2 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4 στη θέση 4q24. Οι μεταλλάξεις του οδηγούν σε απώλεια λειτουργίας επηρεάζοντας την καταλυτική αυτή δραστηριότητα και οδηγούν σε συσσώρευση μεθυλκυτοσίνης [4]. Υπάρχουν αντικρουόμενες αναφορές σχετικά με την σχέση των μεταλλάξεων TET2 και το αποτέλεσμά τους στην υπερμεθυλίωση του

DNA [40, 41]. Οι μεταλλάξεις του TET2 έχουν μελετηθεί ως προς την πρόγνωση και την ανταπόκριση στη θεραπεία [10-12, 35].

Η αναζήτηση ανέσυρε επτά δημοσιεύσεις [12, 26, 35, 39, 44-46] όπου μελετούνταν οι μεταλλάξεις του TET2 και η ανταπόκριση στη θεραπεία. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Από τις μελέτες αυτές μόνο σε μια [35] υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην παρουσία μεταλλάξεων και την ανταπόκριση στη θεραπεία με τους μεταλλαγμένους ασθενείς να έχουν 6 φορές περισσότερες πιθανότητες να έχουν ανταπόκριση [OR 6.31 (95% CI 1.31, 30,48)].

Η μέτα-ανάλυση περιλάμβανε 361 ασθενείς και δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του TET2 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.65 (95% 0.86, 3.16)]. η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν μικρή ( $I^2=41\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.12$ ). Στην Εικόνα 2.3 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.3.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του TET2 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

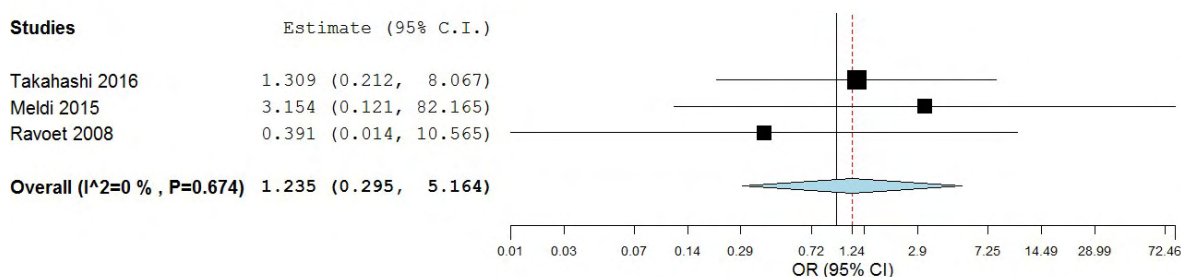
### **IDH1/IDH2**

Η ισοκιτρική αφυδρογονάση (isocitrate dehydrogenase IDH) 1 και 2 είναι ενζυμα που καταλύουν την οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του ισοκιτρικού σε α-κετογλουταρικό στο κυτταρόπλασμα (IDH1) και στα μιτοχόνδρια (IDH2) [4]. Η παρουσία των μεταλλάξεων στους 2 αυτούς γενετικούς τόπους οδηγεί σε παραγωγή 2-υδροξυγλουταρικού το οποίο είναι δομικά ίδιο με το α-κετογλουταρικό και προκαλεί ανταγωνιστική αναστολή στις ενζυμικές διαδικασίες που εξαρτώνται από το α-κετογλουταρικό. Αυτές οι διαδικασίες περιλαμβάνουν αναστολή των TET ενζύμων και της α-κετογλουταρικής εξαρτώμενης ομάδας των JMJC που περιλαμβάνουν απομεθυλάσες των ιστονών [4]. Προς το παρόν, οι γνωστές μεταλλάξεις του IDH περιλαμβάνουν το εξόνιο 4 και επιδρούν τρεις συγκεκριμένες θέσεις αργινίνης: R132 (IDH1) και R172 και R140 (IDH2) [6].

Η αναζήτηση ανέδειξε τρεις μελέτες [39, 42, 45] που έδιναν αποτελέσματα για τους πολυμορφισμούς του IDH1 ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία. Από αυτές οι δύο [39, 45] έδιναν αποτελέσματα και για τις μεταλλάξεις του IDH2, ενώ για το συνδυασμό των μεταλλάξεων IDH1/2 έδιναν συνολικά τέσσερις μελέτες [12, 39, 44, 45]. Καμία από τις παραπάνω μελέτες δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις αυτές και στην ανταπόκριση στη θεραπεία.

Μετα-ανάλυση έγινε και για τις τρεις καταστάσεις (IDH1, IDH2, IDH1/2). Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα

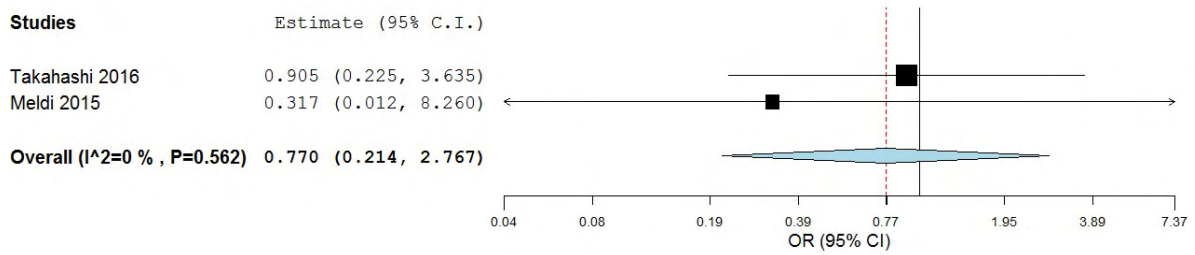
κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Και οι τρεις μετα-αναλύσεις δεν ανέδειξαν στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ των μεταλλάξεων των IDH γονιδίων και της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Αναλυτικότερα, η μετα-ανάλυση των μεταλλάξεων του IDH1 περιέλαβε 233 ασθενείς. Η σχέση που αναδείχθηκε ήταν μη στατιστικά σημαντική [OR 1.23 (95% CI 0.29, 5.16)], ενώ η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.67$ ). Στην Εικόνα 2.4 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.4.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του IDH1 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

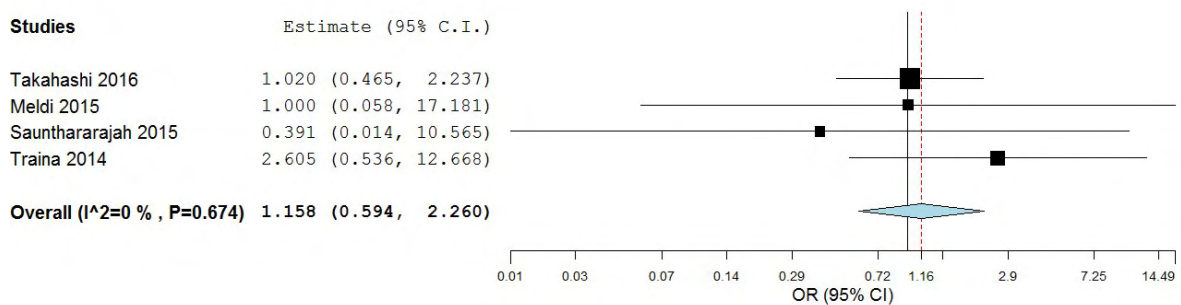
Η μέτα-ανάλυση του IDH2 περιέλαβε μόνο δύο μελέτες με συνολικά 208 ασθενείς. Η σχέση που αναδείχθηκε ήταν μη στατιστικά σημαντική [OR 0.77 (95% CI 0.21, 2.77)], ενώ η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.56$ ). Στην Εικόνα 2.5 φαίνονται σε διαγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.5.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του IDH2 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

Η μέτα-ανάλυση του IDH1/2 περιέλαβε τέσσερις μελέτες με συνολικά 325 ασθενείς. Η σχέση που αναδείχθηκε ήταν μη στατιστικά σημαντική [OR 1.16 (95% CI 0.59, 2.26)], ενώ η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα (I<sup>2</sup>=0) και μη σημαντική (P<sub>Q</sub>=0.67). Στην Εικόνα 2.6 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.6.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις των IDH1/2 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

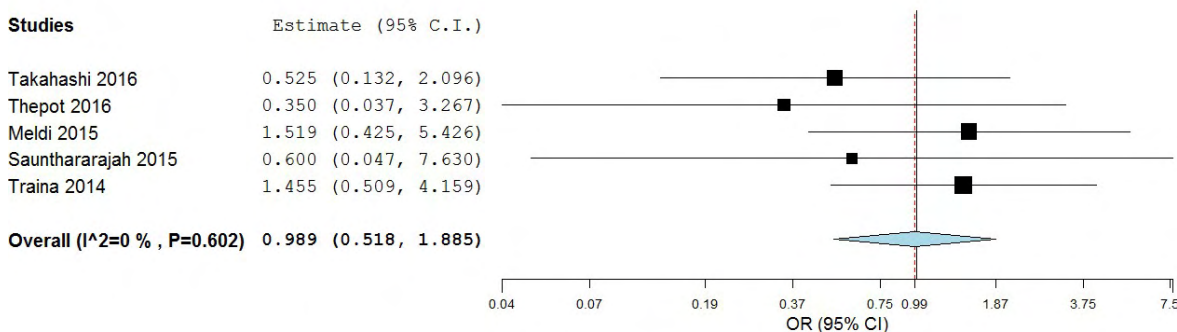
### **ASXL1**

Η ASXL1 (Additional sex-comb-like transcriptional regulator-1) είναι μέλος της ομάδας πρωτεϊνών polycomb, οι οποίες είναι απαραίτητες για τη διατήρηση του τοπίου της χρωματίνης. Η λειτουργία της ASXL1 είναι να διατηρεί τα σημεία της λυσίνης των θέσεων 27 στην ιστόνη H3 (H3K27) που είναι ειδικά για την μεταγραφική καταστολή [4]. Περιέχει ένα C- τελικό ομοπεδίο (C-terminal plant homeodomain-PHD), το οποίο προσδένεται στις μεθυλιωμένες λυσίνες, ειδικά στην H3K27. Οι μεταλλάξεις του ASXL1 εντοπίζονται στο εξόνιο 12 και περιλαμβάνουν μεταλλάξεις πλαισίου και μη μεταφράσιμες μεταλλάξεις που έχουν ως αποτέλεσμα την περικοπή του C-τελικού άνω άκρου της πρωτεΐνης στο δακτύλιο του PHD [4]. Υπάρχει μια θετική συσχέτιση των μεταλλάξεων του ASXL1 με την προχωρημένη ηλικία [47] και μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού είναι παρούσες σε ποσοστό από 16% έως και 25% σε ηλικιωμένους ασθενείς με OMA [52, 53]. Επίσης, φαίνεται ότι οι ασθενείς με ΜΔΣ που φέρουν τις μεταλλάξεις έχουν μειωμένο ολικό διάστημα επιβίωσης σε αντίθεση με τους μη μεταλλαγμένους ασθενείς [10, 11, 48].

Η αναζήτηση ανέσυρε πέντε δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του γονιδίου ASXL1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [12, 39, 44-46]. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Καμία μελέτη δεν απέδειξε



σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο ASXL1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 325 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.99 (95% CI 0.52, 1.89)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.6$ ). Στην Εικόνα 2.7 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.7.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του ASXL1 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

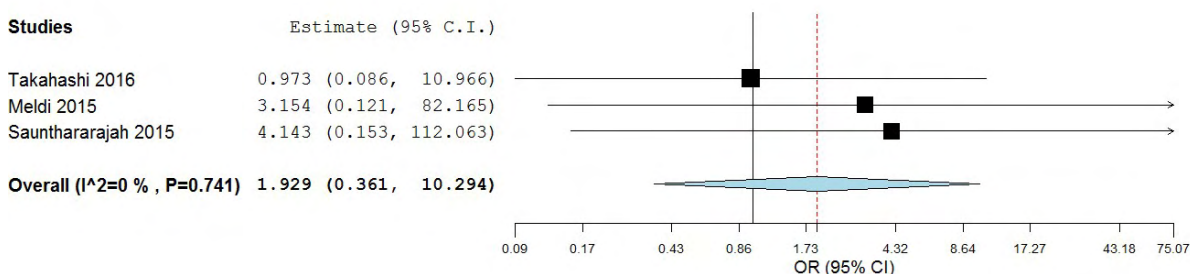
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## **EZH2**

Η EZH2 είναι η καταλυτική υποομάδα του συμπλέγματος μεθυλτρανφεράσης των ιστονών PRC2 (polycomb repressive complex 2) που έχει ως στόχο την H3K27. Για τη δράση μεθυλτρανφεράσης της EZH2 είναι απαραίτητες τόσο η περιοχή του C- τελικού άκρου SET αλλά και η διπλανή της πλούσια σε κυστεΐνη CXC περιοχή. Όπως και οι τελλάξεις του ASXL1 έτσι και οι μεταλλάξεις του EZH2 έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια των σημείων

ρύθμισης της λυσίνης των θέσεων 27 στην ιστόνη H3 (H3K27) και οδηγούν σε ανώμαλη μεταγραφική ενεργοποίηση [4]. Η συχνότητα των μεταλλάξεων κυμαίνεται από 6-8%, ενώ φαίνεται ότι η παρουσία των μεταλλάξεων σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση των ασθενών αυτών [10,11].

Η αναζήτηση ανέσυρε τρεις δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του γονιδίου EZH2 σε σχέση με την ανταπόκριση στη θεραπεία των ασθενών με ΜΔΣ [39, 44, 45]. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο EZH2 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 237 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.93 (95% CI 0.36, 10.29)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.74$ ). Στην Εικόνα 2.8 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.8.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του EZH2 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## **Μεταλλάξεις σε γονίδια του μηχανισμού ματίσματος του DNA**

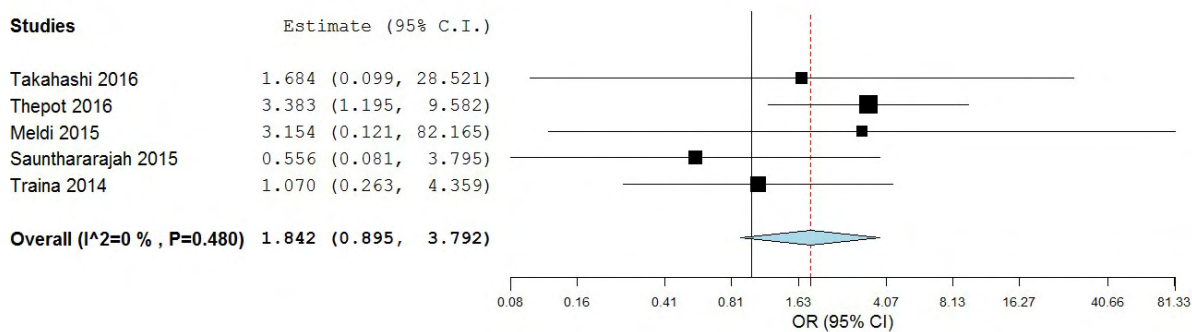
Το μάτισμα του RNA είναι μια διαδικασία όπου το προ-αγγελιοφόρο RNA (pre-mRNA) μετατρέπεται σε ώριμο RNA μέσω της απομάκρυνσης των ιντρονίων και του ματίσματος των εξωνίων. Γονίδια που εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία είναι τα SF3B1, SRSF2, U2AF1/2, ZRSR2 και μεταλλάξεις τους εμφανίζονται σε ποσοστό 50% των ασθενών με ΜΔΣ [4].

### ***SF3B1***

Το γονίδιο SF3B1 (Splicing Factor 3b Subunit 1) κωδικοποιεί ένα τμήμα του U2 snRNP και δρα στις αρχικές φάσεις του ματίσματος του RNA [4]. Μεταλλάξεις του SF3B1 παρατηρούνται σε ποσοστό 57%-75% των ασθενών με ανθεκτική αναιμία με δακτύλιους σιδηροβλαστών (RARS) και 6%-18% σε ασθενείς με άλλους υποτύπους του ΜΔΣ [7, 54]. Οι μεταλλάξεις του SF3B1 καταστέλλουν τα γονίδια που είναι απαραίτητα στα μιτοχονδριακά μονοπάτια [55]. Το ΜΔΣ που σχετίζεται με μεταλλάξεις του SF3B1 σχετίζεται με θρομβοκυττάρωση, αυξημένους δακτύλιους σιδηροβλαστών, λιγότερες κυτταροπενίες και χαμηλότερα ποσοστά βλαστών [7]. Το SF3B1 αποτελεί έναν ασφαλή προγνωστικό δείκτη που σχετίζεται με καλή πρόγνωση και παρατεταμένη επιβίωση [7].

Από την αναζήτηση, προέκυψαν πέντε δημοσιεύσεις [12, 39, 44-46] που μελετούσαν τη συσχέτιση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή

DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Μία μόνο μελέτη [46] έδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο SF3B1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ με τους ασθενείς που έχουν μεταλλάξεις στο γονίδιο να έχουν τρεις φορές περισσότερες πιθανότητες να έχουν ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 3.38 (95% CI 1.20-9.58)]. Η μελέτη αυτή περιλάμβανε 86 ασθενείς χαμηλού κινδύνου. Η μετά-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 296 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.84 (95% CI 0.89, 3.79)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.48$ ). Στην Εικόνα 2.9 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



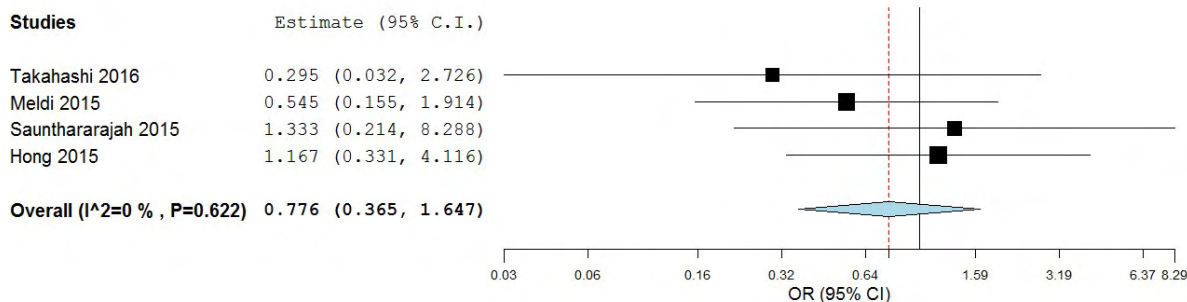
**Εικόνα 2.9.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του SF3B1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μετά-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## ***SRSF2***

Το γονίδιο SRSF2 (Serine/arginine-rich splicing factor 2) κωδικοποιεί την ομόνυμη πρωτεΐνη που είναι ένας παράγοντας που εμπλέκεται σημαντικά στην επιλογή του σημείου ματίσματος, στην συναρμολόγηση του σωματίου συναρμογής (spliceosome) και στο συστηματικό και εναλλακτικό μάτισμα [56]. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού παραμένουν σταθερές καθόλη την εξέλιξη του ΜΔΣ, υποδηλώνοντας ότι μάλλον παίζουν ρόλο στην έναρξη της νόσου [57]. Μεταλλάξεις του SRSF2 παρατηρούνται σε ποσοστό 11-15% στους ασθενείς με ΜΔΣ, συχνά συνυπάρχουν με μεταλλάξεις του RUNX1, IDH1, IDH2 και ASXL1 [49] και έχουν συσχετιστεί με μειωμένη ολική επιβίωση [10, 11, 48, 58].

Η αναζήτηση ανέδειξε τέσσερις δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του SRSF2 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [34, 39, 44, 45]. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν DEC και η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου χρησιμοποιήθηκε και η AZA και τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο SRSF2 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 157 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.78 (95% CI 0.36, 1.65)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.62$ ). Στην Εικόνα 2.10 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.10.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του SRSF2 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

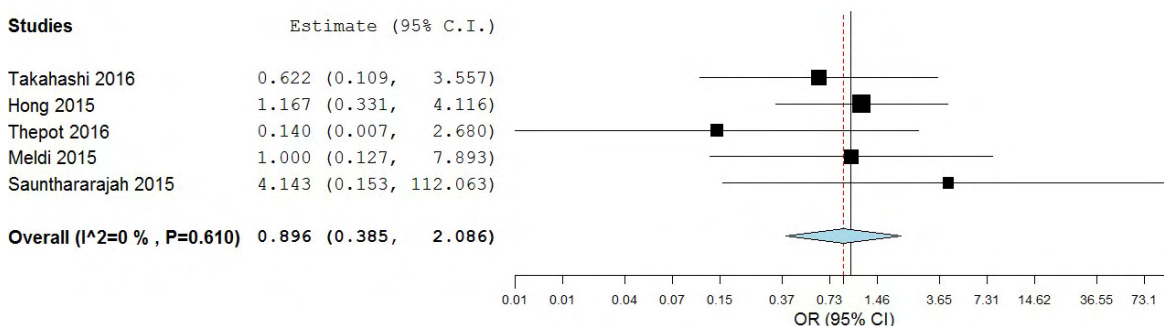
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

### **U2AF1**

Το γονίδιο U2AF1 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 21q22.2 και κωδικοποιεί τον U2 βοηθητικό παράγοντα. Ο παράγοντας αυτός διευκολύνει την πρόσδεση του U2 snRNP στη θέση διακλάδωσης του pre-mRNA [59]. Μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού παρατηρούνται σε ποσοστό 9%-16% στους ασθενείς με ΜΔΣ [4, 59]. Η προγνωστική του επίδραση παραμένει ασαφής [11, 57, 58, 60].

Η αναζήτηση ανέδειξε πέντε δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του U2AF1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [34, 39, 44-46]. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο U2AF1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 251 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση

ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.9 (95% CI 0.39, 2.09)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.61$ ). Στην Εικόνα 2.11 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.11.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του SRSF2 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

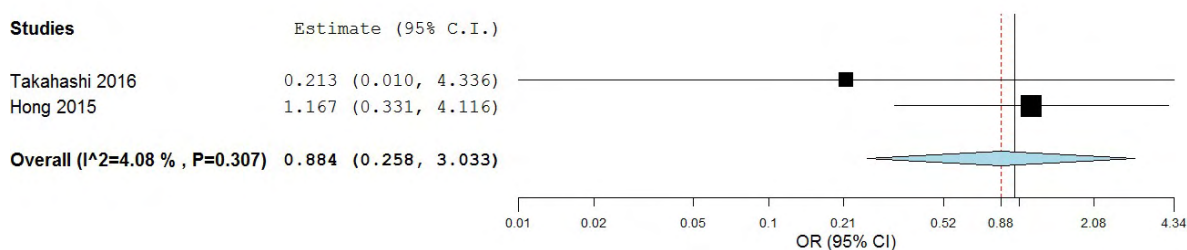
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## ZRSR2

Το γονίδιο ZRSR2 κωδικοποιεί μια υποομάδα του U2 βοηθητικού παράγοντα. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου απαντώνται σε ποσοστό 3%-11% των ασθενών με ΜΔΣ, ενώ η προγνωστική τους αξία παραμένει ασαφής [4, 48, 59].

Η αναζήτηση ανέδειξε μόνο δύο δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του ZRSR2 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [34, 45]. Και στις δύο μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη

ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49] στη μία [34, ενώ στην άλλη [45] τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο ZRSR2 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μετα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 96 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.88 (95% CI 0.26, 3.03)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=4\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.31$ ). Στην Εικόνα 2.12 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.12.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του ZRSR2 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## Μεταλλάξεις σε γονίδια μεταγραφικούς παράγοντες

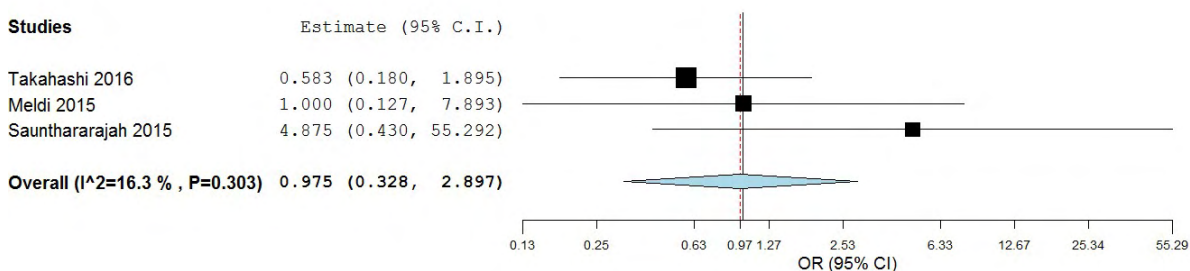
### ***RUNX1***

Το γονίδιο RUNX1 (Runt-related transcription factor 1) είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της μυελικής διαφοροποίησης και περιγράφηκε πρώτα σε μια οικογενή διαταραχή των αιμοπεταλίων που σχετίζεται με λευχαιμική εκτροπή [60]. Δρα ως μεταγραφικός ενεργοποιητής της έκφρασης των γονιδίων στόχων [4]. Μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού



ανιχνεύονται σε περίπου 24% των ασθενών με ΜΔΣ τύπου RAEB-1/RAEB-2 και δευτεροπαθή ΟΜΛ [62, 52] και σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση [10, 11, 57].

Η αναζήτηση ανέδειξε τρεις δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του RUNX1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [39, 44, 45]. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], εκτός από μια [45], όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο RUNX1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 251 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.98 (95% CI 0.33, 2.9)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=16\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.3$ ). Στην Εικόνα 2.13 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



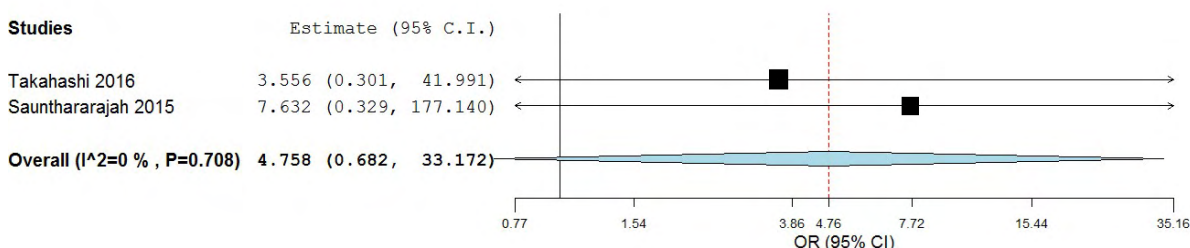
**Εικόνα 2.13.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του RUNX1 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

### ***BCOR/BCORL1***

Τα BCOR/BCORL1 λειτουργούν ως συν-καταστολείς [55]. Συγκαταστέλουν τη λειτουργία του BCL6 και παίζουν ρόλο κλειδί στην εμβρυική ανάπτυξη [63-65]. Μεταλλάξεις των δυο αυτών γονιδίων εμφανίζονται σε ποσοστό ~5% σε ασθενείς με ΜΔΣ και φαίνεται ότι σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση [66].

Η αναζήτηση ανέδειξε μόνο δύο δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του BCOR/BCORL1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [44, 45], μάλιστα η μία [44] σε συνδυασμό των δύο αυτών θέσεων ενώ η άλλη [45] μόνο για το BCOR. Και στις δύο μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49] στη μία [44], ενώ στην άλλη [45] τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο BCOR/BCORL1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 96 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 4.76 (95% CI 0.68, 33.17)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.71$ ). Στην Εικόνα 2.14 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.14.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του BCOR/BCORL1 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## **Μεταλλάξεις σε γονίδια που εμπλέκονται στην επιδόρθωση του DNA**

### ***TP53***

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο TP53 κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα, την πρωτεΐνη όγκου p53, η οποία ενεργοποιείται σε αρκετές καταστάσεις κυτταρικού στρες και εξασκεί πολλαπλές αντιπολλαπλασιαστικές δράσεις μεταξύ των οποίων η γήρανση, η απόπτωση ή η διακοπή του κυτταρικού κύκλου [67]. Η p53 είναι απαραίτητη για την ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης και την προστασία από το σχηματισμό όγκων, για το λόγο αυτό ονομάζεται και «φρουρός του γονιδιώματος» [68]. Το γονίδιο TP53 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17 στο βραχύ σκέλος (17p13.1).

Εξαιτίας του πολύ σημαντικού του ρόλου, το γονίδιο αυτό αποτελεί πρωταρχικό στόχο για απενεργοποίηση στον καρκίνο [69]. Είναι το πιο συχνά αλλαγμένο γονίδιο στους ανθρώπινους όγκους. Εμφανίζεται μεταλλαγμένο σε περίπου 50% όλων των ανθρώπινων κακοηθειών [70]. Σε αντίθεση με άλλα ογκοκατασταλτικά γονίδια που απενεργοποιούνται από μεταλλάξεις μετάθεσης πλαισίου (frameshift) ή μη μεταφράσιμες μεταλλάξεις (nonsense), οι περισσότερες μεταλλάξεις του TP53 είναι μεταγράσεις παρερμηνείας (missense) (75%) και προκαλούν αλλαγές ενός αμινοξέος σε πολλές διαφορετικές θέσεις [71, 72].

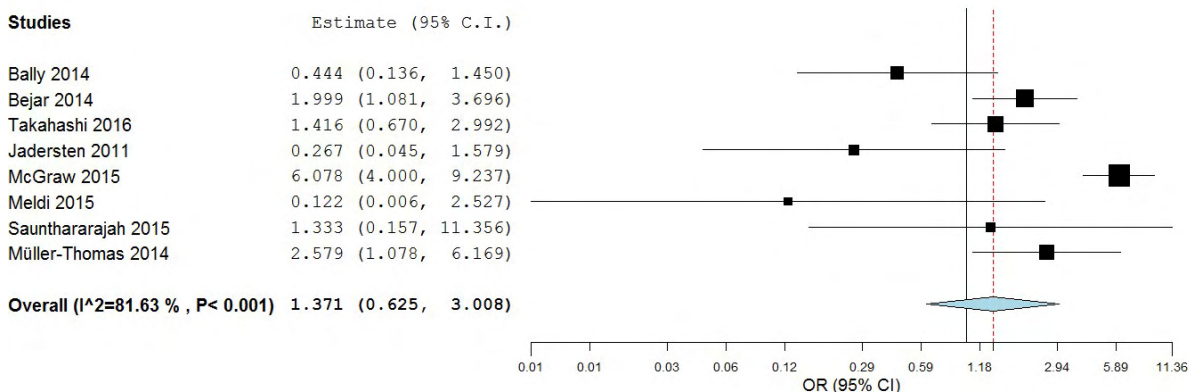
Στους ασθενείς με ΜΔΣ εμφανίζεται μεταλλαγμένο σε ~9% με υψηλότερη συχνότητα σε ασθενείς με μονήρη χρωμοσωμική ανωμαλία τη διαγραφή του 5q ή και με πολύπλοκους καρυοτύπους [73]. Οι μεταλλάξεις του TP53 σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για εκτροπή

σε λευχαιμία και μικρή συνολική επιβίωση [57]. Μάλιστα, το TP53 έχει διερευνηθεί και ως θεραπευτικός στόχος για τους ασθενείς με διαγραφή του 5q [55]. Το Canersen είναι ένα συμπληρωματικό στο TP53 ολιγονουκλεοτίδιο αντίθετης φοράς από το γονίδιο, το οποίο είναι ικανό να καταστέλλει την έκφραση του p53 και να επιδιορθώνει την επηρεασμένη ερυθροποίηση στους ασθενείς με del5q που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία με λεναλιδομίδη [74].

Η αναζήτηση ανέδειξε επτά δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του TP53 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [24, 25, 36, 38, 39, 44, 45], και μία [40] που μελετούσε την έκφραση του και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Δύο μελέτες περιέλαβαν ασθενείς χαμηλού κινδύνου με del5q και έλαβαν θεραπεία με λεναλιδομίδη [36, 38]. Στις υπόλοιπες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC). Σε όλες η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49], ενώ σε μία [45] τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Μία μελέτη [38] απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον πολυμορφισμό R72P του γονιδίου TP53 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ με τους ασθενείς με del5q που φέρουν την μετάλλαξη να έχουν έξι φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να ανταποκριθούν στη θεραπεία [OR 6.08 (95% CI 4.0, 9.24)]. Επίσης και η δημοσίευση [40] που μελετούσε την έκφραση του p53 και την ανταπόκριση έδειξε σημαντική συσχέτιση με τους ασθενείς που έχουν θετική έκφραση του p53 να έχουν και αυτοί δύο φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να ανταποκριθούν στη θεραπεία [OR 2.58 (95% 1.08, 6.17)].

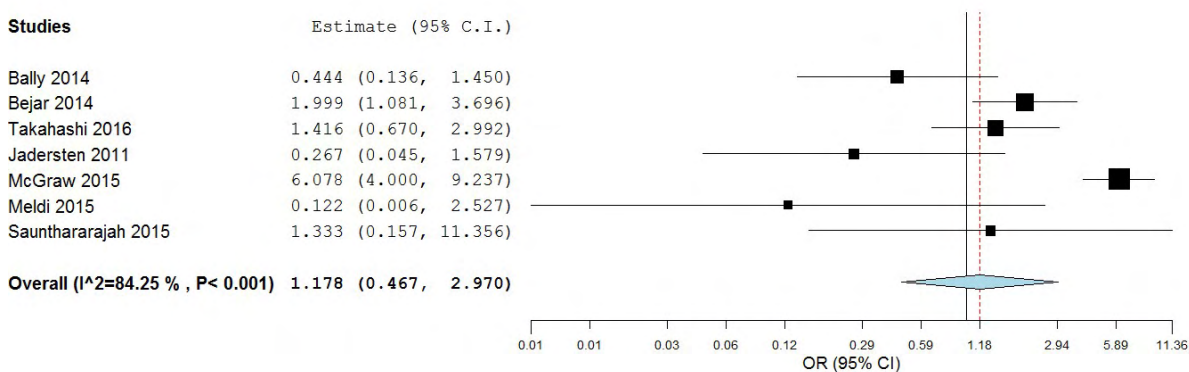
Η μετά-ανάλυση όλων των μελετών που ακολούθησε περιέλαβε 1143 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.37 (95% CI 0.63, 3.01)]. Η σχέση παρέμενε μη στατιστικά σημαντική όταν η μετα-ανάλυση περιέλαβε μόνο τις μελέτες γενετικών πολυμορφισμών και

όχι την μελέτη έκφρασης [OR 1.18 (95% CI 0.47, 2.97)]. Η ετερογένεια βέβαια μεταξύ των μελετών και στις δύο περιπτώσεις ήταν μεγάλη ( $I^2=82\%$  και  $84\%$  αντίστοιχα) και σημαντική ( $P_Q<0.001$ ). Στην Εικόνα 2.15 και 2.16 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.15.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις διαταραχές του TP53 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

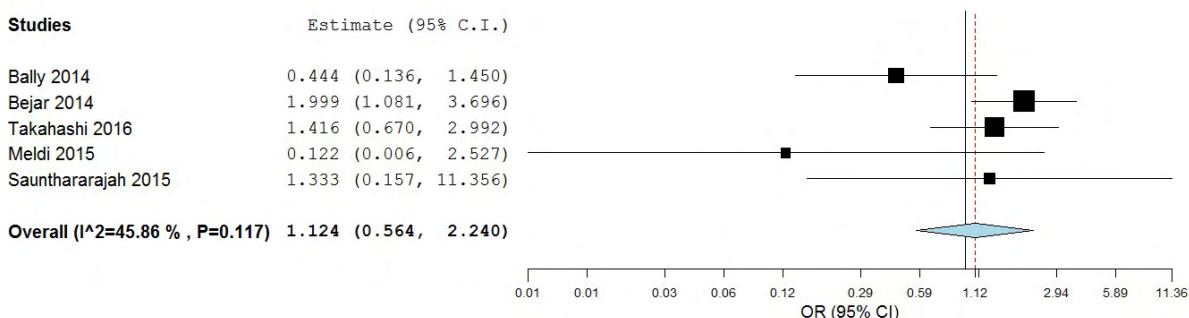
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*



**Εικόνα 2.16.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του TP53 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

Πραγματοποιήθηκε και ανάλυση ευαισθησίας όπου αποκλείστηκαν οι μελέτες [36, 38] με ασθενείς χαμηλού κινδύνου με del5q. Ωστόσο, και σε αυτή την ανάλυση δεν παρατηρήθηκε στατιστική σημαντικότητα [OR 1.12 (95% CI 0.56, 2.24)]. Η ετερογένεια παρόλα αυτά ήταν μέτρια ( $I^2=46\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.12$ ). Στην Εικόνα 2.17 φαίνεται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης αυτής.



**Εικόνα 2.17.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του TP53 και την ανταπόκριση στην θεραπεία μετά από αποκλεισμό των μελετών με ασθενείς με del5q.

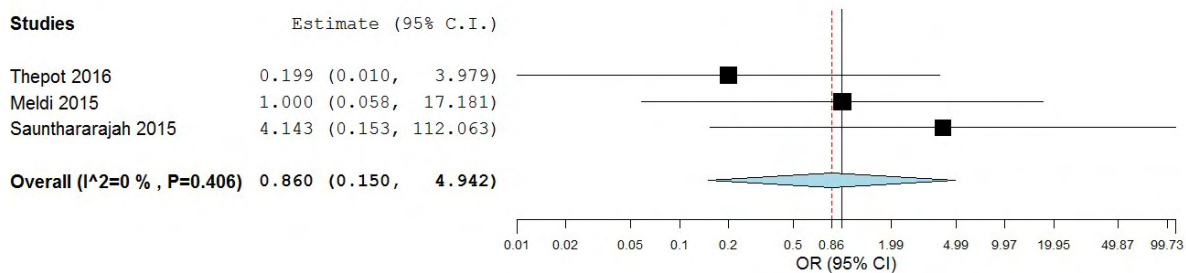
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## Μεταλλάξεις στο σηματοδοτικό μονοπάτι

### JAK2

Η πρωτεΐνη JAK2 είναι μέλος της οικογένειας των Ιανών κινασών (Janus Kinase) που είναι απαραίτητες για την αιμοποίηση. Η μετάλλαξη JAK2V617F είναι μια μετάλλαξη στην περιοχή των ψευδοκινασών και οδηγεί στην συστηματική ενεργοποίηση της δραστηριότητας της κινάσης τυροσίνης [55]. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού JAK/STAT είναι το ορόσημο των μυελοϋπερπλαστικών νοσημάτων (ΜΥΣ). Η μετάλλαξη JAK2V617F ανιχνεύεται σε ασθενείς με ΜΔΣ/ΜΥΣ, συμπεριλαμβανομένου της RARS με θρομβοκυττάρωση (RARS-T) και μιας υποομάδας ασθενών με del5q [57]. Οι ασθενείς με ΜΔΣ που είναι θετικοί για την παραπάνω μετάλλαξη φαίνεται να έχουν μικρότερο κίνδυνο λευχαιμικής εκτροπής και καλύτερη ολική επιβίωση [10, 11, 58].

Η αναζήτηση ανέδειξε τρεις δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του JAK2 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [39, 44, 46]. Σε όλες τις μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC), ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49]. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο JAK2 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 154 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.86 (95% CI 0.15, 4.94)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.41$ ). Στην Εικόνα 2.18 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.18.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του JAK2 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

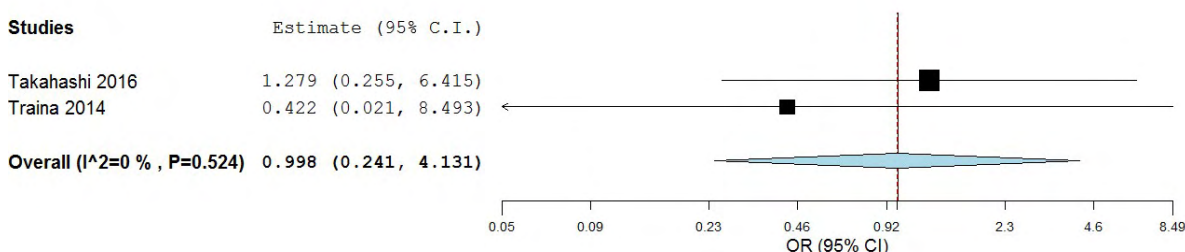
### **CBL**

Το γονίδιο CBL (Casitas B-lineage lymphoma) είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο το οποίο ρυθμίζει αρνητικά τον υποδοχέα κινασών τυροσίνης [58] και συνεπώς των σηματοδοτικών τους μονοπατιών [4]. Παρατηρείται μεταλλαγμένο σε ποσοστό 1-2% των ασθενών με ΜΔΣ, αλλά φαίνεται να έχει μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς με ΧΜΜΛ (~19%) και σε ΜΔΣ/ΜΥΣ (~10%) [55]. Το μεταλλαγμένο CBL δεν μπορεί να εξασθενήσει τις σηματοδοτικές λειτουργίες που οδηγούν στην ογκογένεση. Οι μεταλλάξεις του CBL σχετίζονται με υψηλού κινδύνου ΜΔΣ [75, 76] ενώ φαίνεται να σχετίζεται με μειωμένο διάστημα ολικής επιβίωσης [10].

Η αναζήτηση ανέδειξε μόνο δύο δημοσιεύσεις που μελετούσαν τις μεταλλάξεις του CBL και την ανταπόκριση στη θεραπεία [12, 45]. Και στις δύο μελέτες η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC) ή συνδυασμός τους, ενώ η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006



[49] στη μία [12], ενώ στην άλλη [45] τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο CBL και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 145 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.0 (95% CI 0.24, 4.13)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.52$ ). Στην Εικόνα 2.19 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.19.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του CBL και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

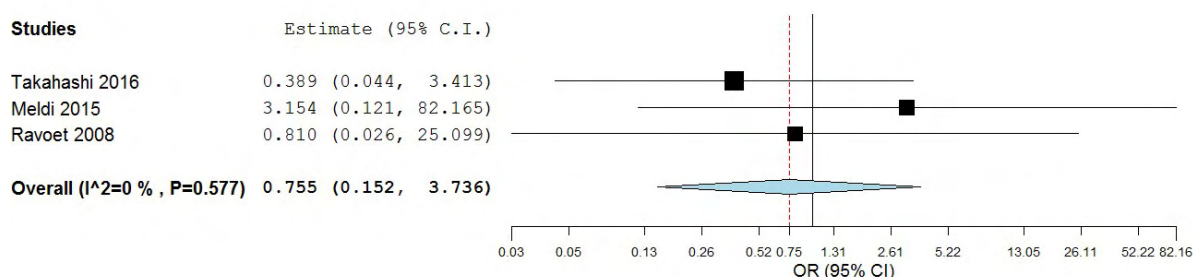
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

### **Μονοπάτι RAS**

Σημαντικά μέλη της οικογένειας RAS είναι το N-RAS, K-RAS και H-RAS. Είναι GTPασες που ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την επιβίωση [55, 58]. Οι μεταλλάξεις του N-RAS εμφανίζονται σε ποσοστό 4%-9% στους ασθενείς με ΜΔΣ και ~12% με ΧΜΜΛ [77]. Οι μεταλλάξεις του K-RAS είναι πιο συχνές με ποσοστό εμφάνισης στους ασθενείς με ΧΜΜΛ ~14% [77]. Η προγνωστική σημασία των

μεταλλάξεων τόσο του N-RAS όσο και του K-RAS δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί, αν και φαίνεται ότι η παρουσία τους σχετίζεται με μειωμένη ολική επιβίωση [10].

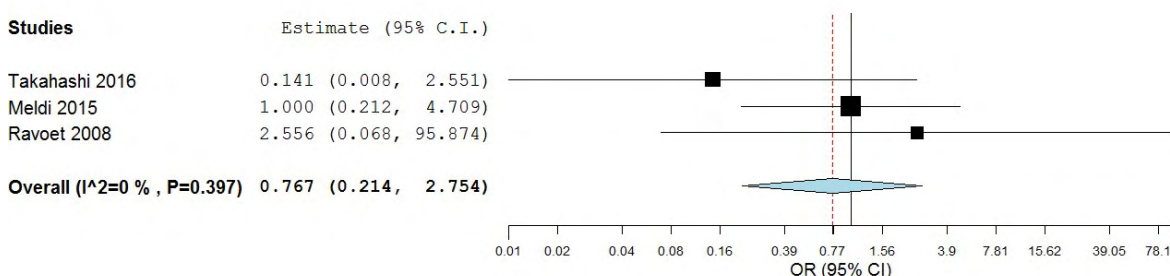
Η αναζήτηση ανέδειξε τρεις μελέτες που έδιναν δεδομένα για τις μεταλλάξεις του N-RAS και του K-RAS [39, 42, 45] και την ανταπόκριση στη θεραπεία καθώς και μία μελέτη [12] όπου μελετήθηκαν συνολικά οι μεταλλάξεις του RAS χωρίς να προσδιορίζεται το μέλος. Στις τρεις μελέτες [12, 39, 45] η θεραπεία ήταν κάποιος απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA ή DEC) ή συνδυασμός τους, ενώ στην τρίτη η θεραπεία ήταν ένας ειδικός αναστολέας της σηματοδότησης του μονοπατιού RAS, η Λοραφαρνίμπη (Lorafarnib) [42]. Η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49] σε όλες τις μελέτες [12, 39, 42] εκτός από μία [45] όπου τα κριτήρια δεν αναφέρονται. Σχετικά με το K-RAS, καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 220 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.76 (95% CI 0.15, 3.74)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.58$ ). Στην Εικόνα 2.20 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.20.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του K-RAS και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

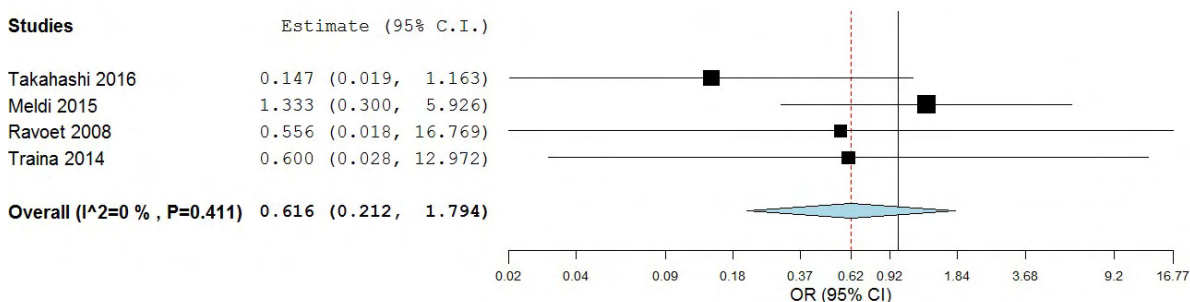
Σχετικά με το N-RAS, επίσης καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 221 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.77 (95% CI 0.21, 2.75)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.4$ ). Στην Εικόνα 2.21 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μέτα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.21.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του N-RAS και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

Ακολούθησε μέτα-ανάλυση για την ανίχνευση συσχέτισης ανάμεσα στις μεταλλάξεις του RAS και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Συμπεριληφθησαν τα δεδομένα και των τεσσάρων μελετών χωρίς να αλληλοεπικαλύπτονται οι ασθενείς. Και αυτή η ανάλυση δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική σχέση [OR 0.77 (95% CI 0.21, 2.75)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.4$ ). Στην Εικόνα 2.22 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.22.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του RAS και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

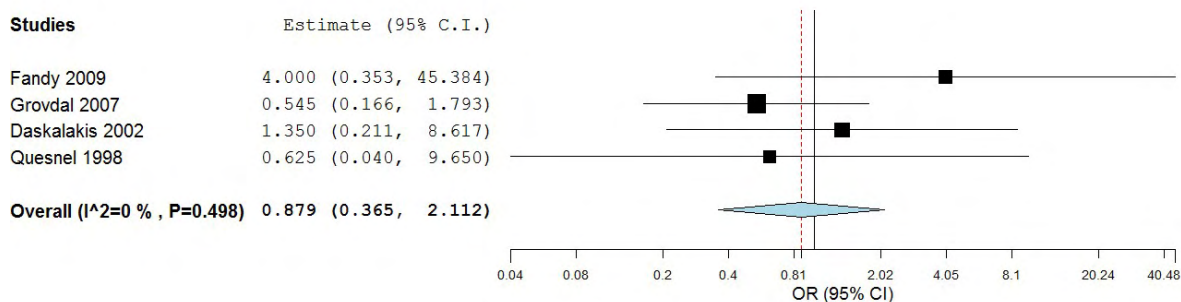
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

### CDKN2B (P15ink4b)

Η πρωτεΐνη CDKN2B (Cyclin-dependent kinase 4 inhibitor B) ή αλλιώς P15ink4b κωδικοποιείται από το ομώνυμο γονίδιο και σχηματίζει σύμπλεγμα με της κινάσες του κυτταρικού κύκλου CDK4 ή CDK6 και αποτρέπει από την ενεργοποίησή τους από την κυκλίνη D (cyclin D). Με τον τρόπο αυτό λειτουργεί ως ρυθμιστής της κυτταρικής ανάπτυξης και αναστέλει την είσοδο του κυττάρου στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου [78]. Ο

παράγοντας αυτός εκφράζεται επιλεκτικά κατά την μυελική και μεγακαρυοκυτταρική διαφοροποίηση, όχι όμως κατά την διαφοροποίηση της ερυθράς σειράς [79]. Η υπερμεθυλίωση του εκκινητή του γονιδίου οδηγεί σε μεταγραφική καταστολή του, παρατηρείται συχνά στο ΜΔΣ και αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη [41, 80, 81]. Η πιθανή αναστρεψιμότητα της επιγενετικής αυτής καταστολής του γονιδίου καθιστά το γονίδιο αυτό έναν ελκυστικό στόχο για θεραπεία [79].

Η αναζήτηση στόχευσε σε δημοσιεύσεις που έδιναν δεδομένα για την κατάσταση μεθυλίωσης του εκκινητή του γονιδίου αυτού πριν τη θεραπεία και την ανταπόκριση. Εντοπίστηκαν πέντε δημοσιεύσεις [28, 30, 33, 41, 79] που έδιναν αποτελέσματα για τη συσχέτιση αυτή. Η μία [79] από αυτές έδινε δεδομένα ποσοστό (%) μεθυλίωσης του εκκινητή χωρίς να προσδιορίζει το όριο που το ποσοστό αυτό θεωρούνταν υπερμεθυλίωση ή όχι και για το λόγο αυτό δεν συμπεριλήφθηκε στην μέτα-ανάλυση. Σε δύο μελέτες η θεραπεία ήταν χημειοθεραπεία με εντατικό σχήμα με Δαουνορουβικίνη και κυταραβίνη [33, 41], ενώ στις άλλες δύο χρησιμοποιήθηκε απόμεθλιωτικός παράγοντας (AZA) σε συνδυασμό με αναστολέα της απακετυλίωσης των ιστονών (entinostat) [30] και DEC [28]. Η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49]. Όλες οι μελέτες συμπεριέλαβαν υψηλού κινδύνου ασθενείς με ΜΔΣ ή με ΟΜΛ μετά από ΜΔΣ. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην κατάσταση μεθυλίωσης του p15<sup>ink4b</sup> και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 96 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.88 (95% CI 0.37, 2.11)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.5$ ). Στην Εικόνα 2.23 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.23.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην κατάσταση μεθυσίας του εκκινητή του p15ink4b και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

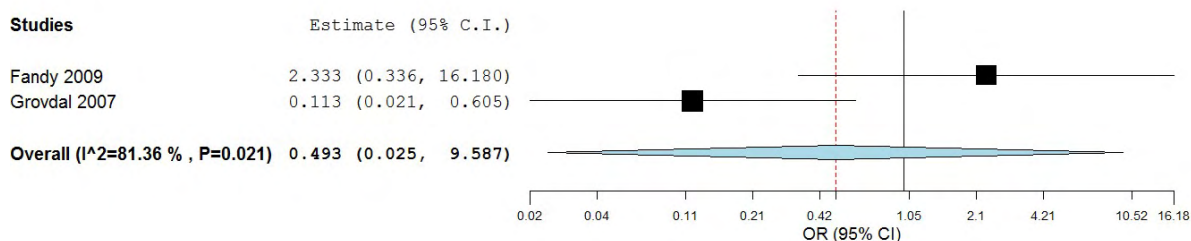
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## CDH1

Το γονίδιο CDH1 (Cadherin-1) κωδικοποιεί την ομόνυμη πρωτεΐνη Cadherin-1, που είναι μέλος της υπερικογένειας των καντχερινών. Είναι μια ασβεστιο-εξαρτώμενη γλυκοπρωτεΐνη για την προσκόλληση του κυττάρου. Απώλεια της λειτουργία της φαίνεται ότι ενισχύει την ογκογένεση καθώς ενισχύεται ο πολλαπλασιασμός, η διείσδυση και η μετάσταση [82]. Η υπερμεθυσία του γονιδίου του CDH1 έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης υψηλού κινδύνου ΜΔΣ καθώς και εκτροπής σε ΟΜΛ αλλά και μειωμένη επιβίωση [33].

Η αναζήτηση στόχευσε σε δημοσιεύσεις που έδιναν δεδομένα για την κατάσταση μεθυσίας του εκκινητή του γονιδίου αυτού πριν τη θεραπεία και την ανταπόκριση. Εντοπίστηκαν δύο δημοσιεύσεις [30, 33] που έδιναν αποτελέσματα για τη συσχέτιση αυτή. Στη μία μελέτη η θεραπεία ήταν χημειοθεραπεία με εντατικό σχήμα με Δαουνορουβικίνη και κυταραβίνη [33], ενώ στην άλλη χρησιμοποιήθηκε απόμεθυσιακός παράγοντας (AZA) σε

συνδυασμό με αναστολέας της απακετυλίωσης των ιστονών (entinostat) [30]. Η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49]. Όλες οι μελέτες συμπεριέλαβαν υψηλού κινδύνου ασθενείς με ΜΔΣ ή με ΟΜΛ μετά από ΜΔΣ. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην κατάσταση μεθυσίωσης του p15<sup>ink4b</sup> και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μετά-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 59 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στην κατάσταση μεθυσίωσης του εκκινητή του CDH1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 0.49 (95% CI 0.03, 9.59)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν μεγάλη ( $I^2=81\%$ ) και σημαντική ( $P_Q=0.02$ ). Στην Εικόνα 2.24 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



**Εικόνα 2.24.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην κατάσταση μεθυσίωσης του εκκινητή του CDH1 και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μετά-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

### PI-PLCb1

Η πρωτεΐνη PI-PLCb1 (Phosphoinositide-phospholipase C b1) είναι ένα πολύ σημαντικό ένζυμο που δρα στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη διαφοροποίηση, στοχεύοντας κυρίως στην κυκλίνη D3, η οποία εμπλέκεται στην εξέλιξη του κυτταρικού

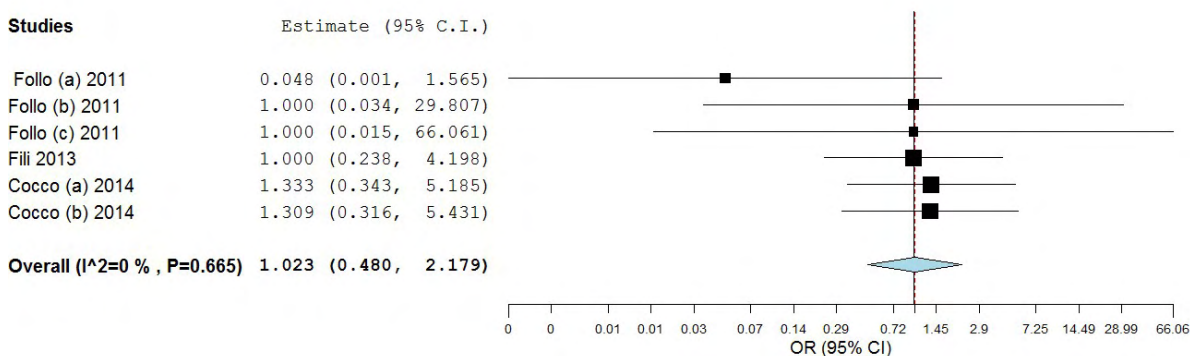
κύκλου προς τη φάση G1 [83, 84]. Επίσης το ένζυμο αυτό φαίνεται να εκφράζεται πολύ στις πρώιμες φάσεις της αιμοποιητικής διαφοροποίησης [85, 86]. Ειδικότερα, η PI-PLCb1 έχει φανεί ότι έχει ρόλο στο γενετικό και επιγενετικό μηχανισμό της εκτροπής του ΜΔΣ σε ΟΜΛ [87, 88]. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ο εκκινητής του γονιδίου της PI-PLCb1 είναι υπερμεθυλιωμένος στους ασθενείς με ΜΔΣ υψηλού κινδύνου και θα μπορούσε να αποτελέσει ειδικό στόχο της θεραπείας με AZA [32, 88]. Φαίνεται ακόμη ότι και τα επίπεδα του mRNA του PI-PLCb1 μπορούν να προβλέψουν την ανταπόκριση στη θεραπεία με AZA καθιστώντας το πιθανόν έναν πολλά υποσχόμενο δείκτη για την εκτίμηση της ανταπόκρισης στους απομεθυλιωτικούς παράγοντες [88].

Η αναζήτηση στόχευσε σε δημοσιεύσεις που έδιναν δεδομένα για την κατάσταση μεθυλίωσης του εκκινητή του γονιδίου αυτού πριν τη θεραπεία και την ανταπόκριση σε αυτή καθώς και για την έκφραση του γονιδίου (mRNA expression) και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Εντοπίστηκαν τρεις δημοσιεύσεις [27, 31, 32] που έδιναν αποτελέσματα για τη συσχέτιση αυτή.

Ειδικότερα, ως προς την κατάσταση μεθυλίωσης του εκκινητή του γονιδίου αυτού πριν τη θεραπεία και την ανταπόκριση σε αυτή έδιναν αποτελέσματα και οι τρεις μελέτες. Στη μία μελέτη [32], οι ασθενείς έλαβαν τρία διαφορετικά θεραπευτικά σχήματα: η μια ομάδα έλαβε AZA, η δεύτερη AZA με βαλπροϊκό (VPA) ενώ η τρίτη ομάδα έλαβε τη βέλτιστη υποστηρικτική αγωγή. Για το λόγο αυτό οι τρεις αυτές διαφορετικές ομάδες αντιμετωπίστηκαν ως διαφορετικές μελέτες. Στις άλλες δύο δημοσιεύσεις χρησιμοποιήθηκε απόμεθυλιωτικός παράγοντας (AZA) [27, 31]. Η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49]. Μία δημοσίευση συμπεριέλαβε υψηλού κινδύνου ασθενείς με ΜΔΣ ή με ΟΜΛ μετά από ΜΔΣ [32] και μια [31] χαμηλού κινδύνου, ενώ στην τρίτη μελέτη [27] συμπεριλήφθηκαν και οι δυο ομάδες



ασθενών. Και για τη μελέτη αυτή τα δεδομένα καταχωρήθηκαν ως δεδομένα διαφορετικών μελετών. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην κατάσταση μεθυσίας του PI-PLCb1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μετά-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 118 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στην κατάσταση μεθυσίας του εκκινητή του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.02 (95% CI 0.48, 2.18)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P_Q=0.67$ ). Στην Εικόνα 2.25 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



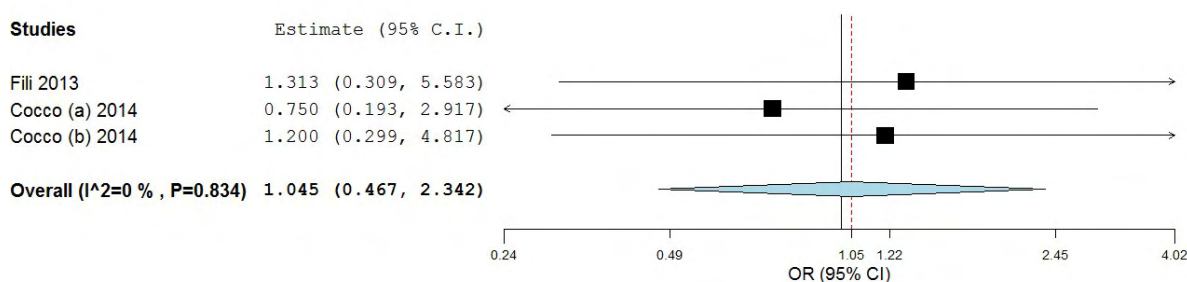
**Εικόνα 2.25.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην κατάσταση μεθυσίας του εκκινητή του PI-PLCb1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μετά-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

*Follo (a): ασθενείς που έλαβαν AZA, Follo (b): ασθενείς που έλαβαν AZA + VPA, Follo (c): ασθενείς που έλαβαν βελτιστη υποστηρικτική αγωγή, Cocco (a): ασθενείς υψηλού κινδύνου, Cocco (b): ασθενείς χαμηλού κινδύνου*

Όσο αφορά την έκφραση του mRNA, για την μετά-ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν οι δύο από τις τρεις μελέτες που έδιναν δεδομένα για αυτή σε σχέση με την ανταπόκριση στη θεραπεία [27, 31]. Και στις δύο δημοσιεύσεις χρησιμοποιήθηκε απόμεθυλιωτικός παράγοντας

(AZA) [27, 31] και η ανταπόκριση οριζόταν ως πλήρη ή μερική ή αιματολογική ανταπόκριση σύμφωνα με τα κριτήρια του 2006 [49]. Μία δημοσίευση συμπεριέλαβε χαμηλού κινδύνου ασθενείς με ΜΔΣ [31], ενώ στην άλλη μελέτη [27] συμπεριλήφθηκαν και οι δυο ομάδες ασθενών, χαμηλού και υψηλού κινδύνου. Για το λόγο αυτό τα δεδομένα καταχωρήθηκαν ως δεδομένα διαφορετικών μελετών. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση του mRNA του PI-PLCb1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 98 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στην έκφραση του mRNA του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.05 (95% CI 0.47, 2.34)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν αμελητέα ( $I^2=0\%$ ) και μη σημαντική ( $P=0.83$ ). Στην Εικόνα 2.26 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης. Τα αποτελέσματα δεν αλλάζουν εάν περιορίσουμε την ανάλυση μόνο στους χαμηλού κινδύνου ασθενείς [OR 1.25 (95% CI 0.46, 3.41)].



**Εικόνα 2.26.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην έκφραση του mRNA του του PI-PLCb1 και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

*Cocco (a): ασθενείς υψηλού κινδύνου, Cocco (b): ασθενείς χαμηλού κινδύνου*

## CRBN

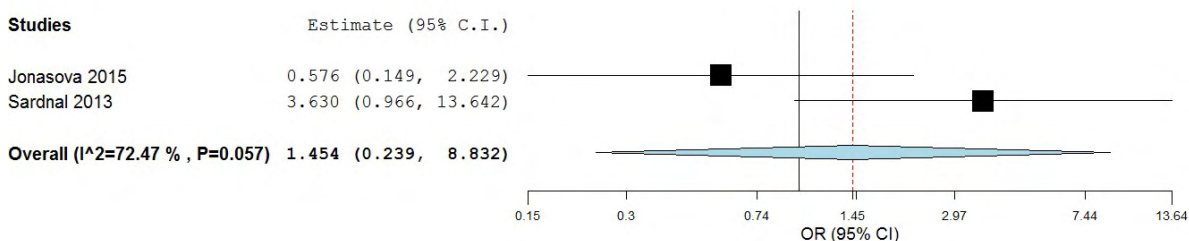
Η πρωτεΐνη CRBN (Cereblon) είναι μέλος του συμπλέγματος της λιγάσης της E3 ουβικουιτίνης και υπόστρωμα του CRL4 τμήματός του [37]. Η CRBN εντάσσει πρωτεΐνες υποστρώματα στο σύμπλοκο CLR4 για ουβικουιτινοποίηση. Η αλληλεπίδραση των ανοσοτροποποιητικών παραγόντων, όπως είναι η λεναλιδομίδη, και της CRBN αναστέλει τη δράση του CLR4 και μπορεί να αποτρέψει την ουβικουιτινοποίηση του CRBN [37]. Αλλά αυτή η αλληλεπίδραση επάγει την ουβικουιτινοποίηση συγκεκριμένων πρωτεϊνών στόχων που μπορεί να διαφέρουν στις διάφορες αιματολογικές παθήσεις. Το γονίδιο για την CRBN βρίσκεται στη θέση 3p26.2 και περιλαμβάνει 11 εξώνια [43].

Έχει αποδειχθεί ότι η καταστολή της έκφρασης του CRBN σχετίζεται με αντίσταση την θεραπεία με ανοσοτροποποιητές σε κυτταρικές σειρές Πολλαπλού Μυελώματος [89-96]. Η λεναλιδομίδη έχει ένδειξη στη θεραπεία ασθενών με ΜΔΣ και del5q και η θεραπευτική της αποτελεσματικότητα έχει καθιερωθεί [37]. Υπάρχουν όμως και ασθενείς χαμηλού κινδύνου χωρίς del5q που έχουν εξίσου καλή ανταπόκριση [43]. Ο ρόλος όμως του CRBN στη δράση της λεναλιδομιδης στους ασθενείς αυτούς δεν έχει ξεκαθαριστεί.

Έχει περιγραφεί ο πολυμορφισμός rs1672753 του γονιδίου που αφορά μια αντικατάσταση Αδερίνης (A) από Γουανίνη (G) στη θέση -29 της 5' μη μεταφραζόμενης περιοχής [43]. Έχει περιγραφεί ότι το αλλήλιο A είναι το προγονικό από την γαρίδα στον άνθρωπο, αν και το G αλλήλιο έχει επισημανθεί ως αλλήλιο αναφοράς [43].

Από την αναζήτηση προέκυψαν δύο μελέτες [37, 43] που μελετούσαν τον πολυμορφισμό rs1672753 του γονιδίου CRBN και την ανταπόκριση στη θεραπεία με λεναλιδομίδη. Η μια μελέτη [37] περιλάμβανε ασθενείς με ΜΔΣ με και χωρίς del5q ενώ στην άλλη [43] οι ασθενείς δεν είχαν del5q. Καμία μελέτη δεν απέδειξε σημαντική συσχέτιση

ανάμεσα στους πολυμορφισμούς του CRBN και την ανταπόκριση στη θεραπεία του ΜΔΣ. Η μέτα-ανάλυση που ακολούθησε περιέλαβε 96 ασθενείς και δεν ανέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στους πολυμορφισμούς του γονιδίου αυτού και την ανταπόκριση στη θεραπεία [OR 1.45 (95% CI 0.24, 8.83)]. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν μέτρια ( $I^2=72\%$ ) και σημαντική ( $P_Q=0.06$ ). Στην Εικόνα 2.27 φαίνονται σε διάγραμμα τύπου forest plot τα αποτελέσματα RE OR για την κάθε μελέτη και τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης.



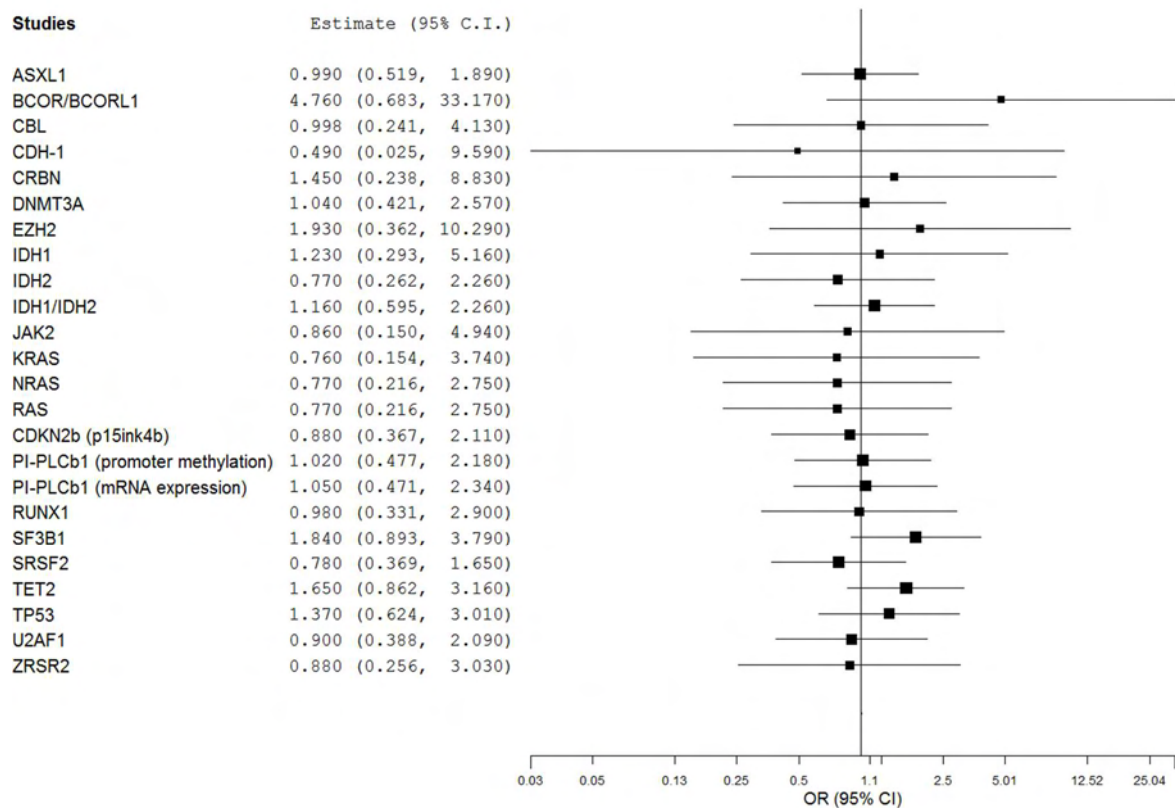
**Εικόνα 2.27.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στις μεταλλάξεις του CRBN και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

## 2.4 Συζήτηση

Τα ΜΔΣ είναι μια ετερογενής ομάδα νοσημάτων από διαταραχές του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου με μεγάλη ετερογένεια και ποικίλη πορεία [3, 4]. Έχει υπάρξει μια τεράστια προσπάθεια ώστε να εισηχθούν στην καθημερινή κλινική πρακτική προγνωστικοί δείκτες για την κατηγοριοποίηση των ασθενών σε υποομάδες με ξεχωριστό κλινικό αποτέλεσμα αλλά και να δοκιμαστούν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις [5]. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των ΜΔΣ είναι η υπερμεθυλίωση εκκινητών γονιδίων και γι' αυτό το λόγο η εισαγωγή απομεθυλιωτικών παραγόντων (AZA και DEC) έχουν αλλάξει το θεραπευτικό τοπίο [13]. Επιπρόσθετα, αναγνωρίστηκαν μια σειρά από γονίδια που εμφανίζονται συχνά μεταλλαγμένα και παίζουν ρόλο στην μοριακή παθογένεση της νόσου. Τα γονίδια αυτά εμπλέκονται στην επιγενετική ρύθμιση, στην τροποποίηση της χρωματίνης, στο μηχανισμό ματίσματος, στα μονοπάτια σηματοδότησης και επιδιόρθωσης του DNA [6-9]. Ωστόσο, είναι πολύ λίγοι οι προβλεπτικοί δείκτες για την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία με αυτούς τους παράγοντες ή τους νεότερους που μελετώνται και εξαρτώνται κυρίως από μορφολογικά και κυτταρογενετικά αποτελέσματα.

Πρωταρχικός σκοπός αυτής της έρευνας ήταν να συνθέσουμε όλα τα διαθέσιμα δεδομένα φαρμακογονιδιοματικής στο ΜΔΣ και να εκτιμήσουμε εμπειριστατωμένα την εμπλοκή των διαφόρων γονιδιακών παραλλαγών σε σχέση με την ανταπόκριση στη θεραπεία. Δεδομένα από 99 μελέτες που περιγράφηκαν σε 24 δημοσιεύσεις χρησιμοποιήθηκαν και εκτιμήθηκε το συνολικό αποτέλεσμα στα πλαίσια 31 μέτα-αναλύσεων. Στο διάγραμμα τύπου forest plot στην εικόνα 2.28 φαίνεται σχηματικά τα αποτελέσματα αυτών των μελετών.



**Εικόνα 2.28.** Τα αποτελέσματα των μέτα-αναλύσεων όλων των γενετικών δεικτών σε διάγραμμα forest plot.

Οι περισσότερες δημοσιευμένες φαρμακογονιδιωματικές μελέτες για τα ΜΔΣ έχουν μικρή δύναμη όσο αφορά τη δυνατότητα να ανιχνεύσουν την ελάχιστη συνεισφορά των κοινών αλληλίων. Πράγματι, μια ρεαλιστική γενετική συσχέτιση ανάμεσα σε έναν πολυμορφικό τόπο και μια ασθένεια ώστε να εντοπιστεί μια μέτρια γενετική επίδραση (OR 1.1- 1.5) ενός πολυμορφισμού που είναι παρών σε ποσοστό πληθυσμού 10% με ικανή στατιστικά δύναμη (>80%) χρειάζεται δείγμα μελέτης >10000 συμμετέχοντες [15]. Η μέτα-ανάλυση λοιπόν έχει ένα ξεκάθαρο ρόλο στο να προσφέρει ανάλυση με μεγαλύτερη στατιστική δύναμη συγκεντρώνοντας αποτελέσματα ανεξάρτητων μελετών [15].

Από τις διενεργηθείσες μέτα-αναλύσεις της παρούσας διατριβής δεν ανιχνεύεται καμία σημαντική σχέση των μελετημένων γενετικών δεικτών με την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Αυτή η έλλειψη θετικών αποτελεσμάτων με σημαντική αξιοπιστία θα πρέπει να θεωρηθεί υπό το φως των εγγενών αδυναμιών της έρευνας της γενετικής επιδημιολογίας [15].

Οι συσχετίσεις που προέκυψαν από τις προαναφερθείσες μέτα-αναλύσεις προέκυψαν από τη συγκέντρωση ενός σχετικά μικρού αριθμού μελετών και ασθενών με ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες. Επιπλέον, η επίδραση άλλων τροποποιητικών παραγόντων όπως η ηλικία, το κλινικό στάδιο, άλλα κυτταρογενετικά και μοριακά ευρήματα των ΜΔΣ καθώς και προηγούμενες θεραπείες δεν λήφθηκαν υπόψη καθώς οι μελέτες δεν παρείχαν αυτά τα δεδομένα. Παρόλο που γίνεται μεγάλη προσπάθεια από διεθνή ομάδες συνεργασίας για τα ΜΔΣ να βελτιωθεί η ταξινόμηση των ΜΔΣ αλλά και να συμπεριληφθούν γενετικές μελέτες μέσα στις κλινικές μελέτες [4], στην παρούσα διατριβή περιλήφθησαν μελέτες που ποικίλαν τόσο ως προς το σχεδιασμό τους και τη μεθοδολογία τους, στα μεγέθη δείγματος, στα κριτήρια ένταξης και στον ορισμό των ορίων θετικότητας για τους δείκτες με υπερέκφραση. Για το λόγο αυτό, τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν με προσοχή. Μελλοντικές αναλύσεις με περισσότερες μελέτες με πιο ομοιογενείς ομάδες και αυστηρότερα κριτήρια ένταξης καθώς και με μεγαλύτερα δείγματα μελέτης θα μπορέσουν να μας παρέχουν πιο ασφαλή και αξιόπιστα αποτελέσματα. Επιπλέον, η έλλειψη σημαντικών συσχετίσεων των δεικτών αυτών δεν αποκλείει πιθανή σχέση. Καθώς οι απαιτήσεις για μεγέθη δείγματος είναι πολύ μεγαλύτερες από τις τρέχουσες δυνατότητες και κανένα κέντρο δεν μπορεί να έχει έναν ικανοποιητικό αριθμό ασθενών, ένα βήμα προς αυτή την κατεύθυνση θα μπορούσε να αποτελέσει η δημιουργία μεγάλων βάσεων δεδομένων και συνεργασιών ώστε να διευκολυνθεί η διανομή των πόρων και των δεδομένων ανάμεσα στους ερευνητές.





## 2.5 Βιβλιογραφία

1. **Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al.** The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-51. doi: 10.1182/blood-2009-03-209262.
2. **Brunning R, et al., eds.** World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue 2008
3. **Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al.** Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.
4. **Gangat N, Patnaik MM, Tefferi A.** Myelodysplastic syndromes: Contemporary review and how we treat. *Am J Hematol*. 2016;91(1):76-89. doi: 10.1002/ajh.24253
5. **Abou Zahr A, Bernabe Ramirez C, Wozney J, Prebet T, Zeidan AM.** New Insights into the Pathogenesis of MDS and the rational therapeutic opportunities. *Expert Rev Hematol*. 2016;9(4):377-88. doi: 10.1586/17474086.2016.1135047
6. **Patnaik MM, Hanson CA, Hodnefield JM, et al.** Differential prognostic effect of IDH1 versus IDH2 mutations in myelodysplastic syndromes: a Mayo Clinic study of 277 patients. *Leukemia* 2012;26(1):101-105.
7. **Patnaik MM, Lasho TL, Hodnefield JM, et al.** SF3B1 mutations are prevalent in myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts but do not hold independent prognostic value. *Blood* 2012; 119(2):569-572.
8. **Walter MJ, Ding L, Shen D, et al.** Recurrent DNMT3A mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2011;25(7):1153-1158.
9. **Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, et al.** Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature* 2011;478(7367):64-69.

10. **Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al.** Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2011;364(26):2496-2506.
11. **Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, et al.** Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2012;30(27):3376-3382.
12. **Traina F, Visconte V, Elson P et al.** Impact of molecular mutations on treatment response to DNMT inhibitors in myelodysplasia and related neoplasms. *Leukemia*. 2014;28(1):78-87. doi: 10.1038/leu.2013.269.
13. **Voso MT, Lo-Coco F, Fianchi L.** Epigenetic therapy of myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Curr Opin Oncol*. 2015;27(6):532-9
14. **DerSimonian R, Laird N.** Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials*. 1986;7(3):177–188.
15. **Zintzaras E, Lau J.** Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches. *J Clin Epidemiol* 2008;61(7):634–645.
16. **Zintzaras E, Rodopoulou P, Koukoulis GN.** BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and the risk of osteoporosis: a meta-analysis. *Dis Markers*. 2006;22(5-6):317–326.
17. **Zintzaras E.** Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms with genetic susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis. *J Hum Genet*. 2006;51(7):618–624
18. **Cochran W.** The combination of estimates from different experiments. *Biometrics* 1954;10:101–129.
19. **Higgins JP, Thompson SG.** Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 2002;21(11):1539 –1558.

20. **Zintzaras E, Ioannidis JP.** Heterogeneity testing in meta-analysis of genome searches. *Genet Epidemiol.* 2005;28(2):123–137
21. **OpenMetaAnalyst: Wallace, Byron C., Issa J. Dahabreh, Thomas A. Trikalinos, Joseph Lau, Paul Trow, and Christopher H. Schmid.** "Closing the Gap between Methodologists and End-Users: R as a Computational Back-End." *Journal of Statistical Software* 49 (2012): 5
22. **Zintzaras E, Kitsios GD.** Synopsis and synthesis of candidate-gene association studies in chronic lymphocytic leukemia: the CUMAGAS-CLL information system. *Am J Epidemiol.* 2009;170(6):671-8
23. **Zintzaras E, Doxani C, Ziogas DC, et al.** Bone mineral density and genetic markers involved in three connected pathways (focal adhesion, actin cytoskeleton regulation and cell cycle): the CUMAGAS-BMD information system. *Biomarkers* 16(8):698–708
24. **Bally C, Adès L, Renneville A, et al.** Prognostic value of TP53 gene mutations in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia treated with azacitidine. *Leuk Res.* 2014;38(7):751-5.
25. **Bejar R, Lord A, Stevenson K, et al.** TET2 mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients. *Blood.* 2014;124(17):2705-12.)
26. **Braun T, Itzykson R, Renneville A.** Molecular predictors of response to decitabine in advanced chronic myelomonocytic leukemia: a phase 2 trial. *Blood.* 2011;118(14):3824-31.
27. **Cocco L, Finelli C, Mongiorgi S.** An increased expression of PI-PLC $\beta$ 1 is associated with myeloid differentiation and a longer response to azacitidine in myelodysplastic syndromes. *J Leukoc Biol.* 2015;98(5):769-80.

28. **Daskalakis M, Nguyen TT, Nguyen C, et al.** Demethylation of a hypermethylated P15/INK4B gene in patients with myelodysplastic syndrome by 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) treatment. *Blood*. 2002;100(8):2957-64.
29. **Falantes JF, Trujillo P, Piruat JI, et al.** Overexpression of GYS1, MIF, and MYC is associated with adverse outcome and poor response to azacitidine in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2015;15(4):236-44)
30. **Fandy TE, Herman JG, Kerns P et al.** Early epigenetic changes and DNA damage do not predict clinical response in an overlapping schedule of 5-azacytidine and entinostat in patients with myeloid malignancies. *Blood*. 2009;114(13):2764-73.
31. **Fili C, Malagola M, Follo MY, et al.** Prospective phase II Study on 5-days azacitidine for treatment of symptomatic and/or erythropoietin unresponsive patients with low/INT-1-risk myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res*. 2013;19(12):3297-308.
32. **Follo MY, Finelli C, Mongiorgi S, et al.** Synergistic induction of PI-PLC $\beta$ 1 signaling by azacitidine and valproic acid in high-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2011;25(2):271-80.
33. **Grövdal M, Khan R, Aggerholm A et al.** Negative effect of DNA hypermethylation on the outcome of intensive chemotherapy in older patients with high-risk myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia following myelodysplastic syndrome. *Clin Cancer Res*. 2007;13(23):7107-12.
34. **Hong JY, Seo JY, Kim SH, et al.** Mutations in the Spliceosomal Machinery Genes SRSF2, U2AF1, and ZRSR2 and Response to Decitabine in Myelodysplastic Syndrome. *Anticancer Res*. 2015;35(5):3081-9.

35. **Itzykson R, Kosmider O, Cluzeau T et al.** Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 2011;25(7):1147-52..
36. **Jädersten M1, Saft L, Smith A et al.** TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol*. 2011;29(15):1971-9.
37. **Jonasova A, Bokorova R, Polak J et al.** High level of full-length cereblon mRNA in lower risk myelodysplastic syndrome with isolated 5q deletion is implicated in the efficacy of lenalidomide. *Eur J Haematol*. 2015;95(1):27-34.
38. **McGraw KL, Zhang LM, Rollison DE et al.** The relationship of TP53 R72P polymorphism to disease outcome and TP53 mutation in myelodysplastic syndromes. *Blood Cancer J*. 2015;5:e291.
39. **Meldi K, Qin T, Buchi F, Droin N.et al.** Specific molecular signatures predict decitabine response in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Invest*. 2015;125(5):1857-72.
40. **Müller-Thomas C, Rudelius M, Rondak IC et al.** Response to azacitidine is independent of p53 expression in higher-risk myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2014;99(10):e179-81.
41. **Quesnel B, Guillerm G, Verecque R, et al.** Methylation of the p15(INK4b) gene in myelodysplastic syndromes is frequent and acquired during disease progression. *Blood* 1998; 91(8): 2985–2990.
42. **Ravoet C, Mineur P, Robin V,et al.** Farnesyl transferase inhibitor (lonafarnib) in patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukaemia: a phase II study. *Ann Hematol*. 2008;87(11):881-5.

43. **Sardnal V, Rouquette A, Kaltenbach S, et al.** A G polymorphism in the CRBN gene acts as a biomarker of response to treatment with lenalidomide in low/int-1 risk MDS without del(5q). *Leukemia*. 2013;27(7):1610-3.
44. **Sauntharajah Y, Sekeres M, Advani A, et al.** Evaluation of noncytotoxic DNMT1-depleting therapy in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Invest*. 2015;125(3):1043-55.
45. **Takahashi K, Patel K, Bueso-Ramos C, et al.** Clinical implications of TP53 mutations in myelodysplastic syndromes treated with hypomethylating agents. *Oncotarget*. 2016;7(12):14172-87.
46. **Thépot S, Ben Abdelali R, Chevret S et al.** A randomised phase II trial of azacitidine +/- epoetin beta In lower risk myelodysplastic syndromes if resistant to erythropoietic stimulating agents. *Haematologica*. 2016 . pii: haematol.2015.140988.
47. **Abdel-Wahab O, Levine RL.** Mutations in epigenetic modifiers in the pathogenesis and therapy of acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;121(18):3563-3572.
48. **Thol F, Friesen I, Damm F, et al.** Prognostic significance of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2011;29(18):2499-2506.
49. **Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al.** Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006;108(2):419-25
50. **Ko M, Huang Y, Jankowska AM, et al.** Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature* 2010;468(7325):839-843.
51. **Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, et al.** Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell* 2010;18(6):553-567.

52. **Metzeler KH, Becker H, Maharry K, et al.** ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic category. *Blood*. 2011;118(26):6920-6929.
53. **Schnittger S, Eder C, Jeromin S, et al.** ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. *Leukemia*. 2013;27(1):82-91
54. **Papaemmanuil E.; Cazzola M.; Boulwood et al.** Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med*. 2011;365(15):1384-95
55. **Gill H, Leung AY, Kwong YL .** Molecular and Cellular Mechanisms of Myelodysplastic Syndrome: Implications on Targeted Therapy. *Int J Mol Sci*. 2016;17(4). pii: E440. doi: 10.3390/ijms17040440.
56. **Makishima H.; Visconte V.; Sakaguchi H et al.** Mutations in the spliceosome machinery, a novel and ubiquitous pathway in leukemogenesis. *Blood*. 2012;119(14):3203-10
57. **Zhang L.; Padron E.; Lancet J.** The molecular basis and clinical significance of genetic mutations identified in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res*. 2015;39(1):6-17
58. **Wu S.J., Kuo Y.Y., Hou H.A., et al.** The clinical implication of SRSF2 mutation in patients with myelodysplastic syndrome and its stability during disease evolution. *Blood*. 2012;120(15):3106-11.
59. **Graubert T.A., Shen D., Ding L., et al.** Recurrent mutations in the U2AF1 splicing factor in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*. 2011;44(1):53-7.

60. **Song W.J., Sullivan M.G., Legare R.D., et al.** Haploinsufficiency of CBFA2 causes familial thrombocytopenia with propensity to develop acute myelogenous leukemia. *Nat Genet.* 1999;23(2):166-75.
61. **Harada H, Harada Y., Niimi H., Kyo T., Kimura A., Inaba T.** High incidence of somatic mutations in the AML1/RUNX1 gene in myelodysplastic syndrome and low blast percentage myeloid leukemia with myelodysplasia. *Blood.* 2004;103(6):2316-24
62. **Steensma D.P.; Gibbons R.J.; Mesa R.A.; Tefferi A.; Higgs D.R.** Somatic point mutations in RUNX1/CBFA2/AML1 are common in high-risk myelodysplastic syndrome, but not in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Eur J Haematol.* 2005;74(1):47-53
63. **Huynh K.D.; Fischle W.; Verdin E.; Bardwell V.J.** BCoR, a novel corepressor involved in BCL-6 repression. *Genes Dev.* 2000;14(14):1810-23.
64. **Li M., Collins R., Jiao Y., et al.** Somatic mutations in the transcriptional corepressor gene BCORL1 in adult acute myelogenous leukemia. *Blood.* 2011;118(22):5914-7
65. **Pagan, J.K., Arnold, J., Hanchard, K.J., et al.** A novel corepressor, BCOR-L1, represses transcription through an interaction with CtBP. *J Biol Chem.* 2007;282(20):15248-57
66. **Damm F., Chesnais V., Nagata Y., et al.** BCOR and BCORL1 mutations in myelodysplastic syndromes and related disorders. *Blood.* 2013;122(18):3169-77
67. **Vogelstein B, Lane D, Levine AJ.** Surfing the p53 network. *Nature.* 2000;408(6810):307-10
68. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/TP53#conditions> assessed on 10/may/2016
69. **Levine AJ.** p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell.* 1997;88(3):323-31.



70. **Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein D, Harris CC:** p53 mutations in human cancers. *Science*. 1991;253(5015):49-53
71. **Petitjean A, Achatz MI, Borresen-Dale AL, Hainaut P, Olivier M.** TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene*. 2007;26(15):2157-65.
72. **Olivier M, Hollstein M, Hainaut P.** TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(1):a001008.
73. **Sugimoto K., Hirano N., Toyoshima H., et al.** Mutations of the p53 gene in myelodysplastic syndrome (MDS) and MDS-derived leukemia. *Blood*. 1993;81(11):3022-6
74. **Caceres G., McGraw K., Yip B.H., et al.** TP53 suppression promotes erythropoiesis in del(5q) MDS, suggesting a targeted therapeutic strategy in lenalidomide-resistant patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(40):16127-32
75. **Schwaab J., Ernst T., Erben, P.; et al.** Activating CBL mutations are associated with a distinct MDS/MPN phenotype. *Ann Hematol*. 2012;91(11):1713-20.
76. **Kao H.W., Sanada M., Liang D.C., et al.** A high occurrence of acquisition and/or expansion of C-CBL mutant clones in the progression of high-risk myelodysplastic syndrome to acute myeloid leukemia. *Neoplasia*. 2011;13(11):1035-42.
77. **Kohlmann A., Grossmann V., Klein H.U., et al.** Next-generation sequencing technology reveals a characteristic pattern of molecular mutations in 72.8% of chronic myelomonocytic leukemia by detecting frequent alterations in TET2, CBL, RAS, and RUNX1. *J Clin Oncol*. 2010;28(24):3858-65
78. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1030> assessed on 20<sup>th</sup> June 2016

79. **Raj K, John A, Ho A, Chronis C, et al.** CDKN2B methylation status and isolated chromosome 7 abnormalities predict responses to treatment with 5-azacytidine. *Leukemia*. 2007;21(9):1937-44
80. **Tien HF, Tang JH, Tsay W, et al.** Methylation of the p15(INK4B) gene in myelodysplastic syndrome: it can be detected early at diagnosis or during disease progression and is highly associated with leukaemic transformation. *Br J Haematol*. 2001;112(1):148-54.
81. **Aggerholm A, Guldberg P, Hokland M, Hokland P.** Extensive intra- and interindividual heterogeneity of p15INK4B methylation in acute myeloid leukemia. *Cancer Res*. 1999;59(2):436-41.
82. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/999> assessed on 20th June 2016
83. **Faenza I, Matteucci A, Manzoli L, et al.** A role for nuclear phospholipase Cbeta 1 in cell cycle control. *J Biol Chem*. 2000;275(39):30520-4.
84. **O'Carroll SJ, Mitchell MD, Faenza I, et al.** Nuclear PLCbeta1 is required for 3T3-L1 adipocyte differentiation and regulates expression of the cyclin D3-cdk4 complex. *Cell Signal*. 2009;21(6):926-35.
85. **Furukawa Y.** Cell cycle control genes and hematopoietic cell differentiation. *Leuk Lymphoma*. 2002;43(2):225-31.
86. **Cooper AB, Sawai CM, Sicinska E, et al.** A unique function for cyclin D3 in early B cell development. *Nat Immunol*. 2006;7(5):489-97
87. **Follo MY, Finelli C, Bosi C, et al.** PI-PLCbeta-1 and activated Akt levels are linked to azacitidine responsiveness in high-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2008;22(1):198-200.

88. **Follo MY, Finelli C, Mongiorgi S, et al.** Reduction of phosphoinositide-phospholipase C beta1 methylation predicts the responsiveness to azacitidine in high-risk MDS. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(39):16811-6
89. **Zhu YX, Braggio E, Shi CX, et al.** Cereblon expression is required for the antimyeloma activity of lenalidomide and pomalidomide. *Blood.* 2011;118(18):4771-9..
90. **Lopez-Girona A, Mendy D, Ito T, et al.** Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide. *Leukemia.* 2012;26(11):2326-35.
91. **Pearse RN.** IMiDs: not for the CRBN weak. *Leuk Res.* 2014;38(1):21-2.
92. **Broyl A, Kuiper R, van Duin M, et al.** High cereblon expression is associated with better survival in patients with newly diagnosed multiple myeloma treated with thalidomide maintenance. *Blood.* 2013;121(4):624-7.
93. **Heintel D, Rocci A, Ludwig H, et al.** High expression of cereblon (CRBN) is associated with improved clinical response in patients with multiple myeloma treated with lenalidomide and dexamethasone. *Br J Haematol.* 2013;161(5):695-700.
94. **Lodé L, Amiot M, Maiga S, et al.** Cereblon expression in multiple myeloma: not ready for prime time. *Br J Haematol* 2013;163(2):282-4.
95. **Gandhi AK, Mendy D, Waldman M, et al.** Measuring cereblon as a biomarker of response or resistance to lenalidomide and pomalidomide requires use of standardized reagents and understanding of gene complexity. *Br J Haematol* 2014;164(2):233-44.
96. **Schuster SR, Kortuem KM, Zhu YX, et al.** The clinical significance of cereblon expression in multiple myeloma. *Leuk Res* 2014;38(1):23-8

## Ενότητα 3. Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία

*Η περίληψη της δημοσίευσης που αντιστοιχεί στην παρούσα ενότητα βρίσκεται στο Παράρτημα.*

### 3.1 Εισαγωγή

Η οξεία μυελογενής λευχαιμία (ΟΜΛ) είναι ετερογενής κλωνική διαταραχή των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (βλαστών) με χαρακτηριστική την απώλεια φυσιολογικής διαφοροποίησης και ανταπόκρισης στους φυσιολογικούς ρυθμιστές του κυτταρικού πολλαπλασιασμού [1]. Συνέπεια αυτού είναι η ουδετεροπενία, η αναιμία και η θρομβοπενία με θανατηφόρες συνέπειες για τον ασθενή είτε λόγω λοιμώξεων είτε λόγω αιμορραγίας. Η ΟΜΛ είναι η πιο κοινή μυελογενής λευχαιμία με επίπτωση 3,69 περιπτώσεις ανά 100.000 (16,1 για ηλικίες μεγαλύτερες των 65 ετών ) και μέση ηλικία εκδήλωσης είναι περίπου τα 70 έτη [2].

Η κύρια θεραπεία για την ΟΜΛ αποτελείται από συνδυασμό ανθρακυκλίνης όπως Δαουνορουβικίνη (daunorubicin) ή Ινταρουβικίνη (idarubicin) και κυταραβίνη (Ara-C) με την ανθρακυκλίνη συνήθως να χορηγείται για τρεις ημέρες και το Ara-C για επτά ημέρες (σχήμα «3+7») [3]. Η θεραπεία στοχεύει σε παρατεταμένη πλήρη ύφεση (CR) η οποία ορίζεται ως η παρουσία στον μυελό <5% βλαστικών κυττάρων, ουδετερόφιλα >1000 και αιμοπετάλια >100000 στο περιφερικό αίμα [4]. Το 80% των ασθενών < 60 ετών, επιτυγχάνει πλήρη ύφεση, με πιθανότητα το 50% να υποτροπιάσει [5]. Όταν η ύφεση διαρκεί >3 έτη τότε η πιθανότητα υποτροπής μειώνεται δραστικά σε λιγότερο από 10% [6]. Η απόκριση στην θεραπεία μπορεί να ποικίλει, εξαρτώμενη τόσο από τα βιολογικά χαρακτηριστικά της νόσου, όσο και από τα κλινικά χαρακτηριστικά του ασθενούς [3, 7].

Η υπερέκφραση του γονιδίου MDR1 (Multi- Drug Resistance-1 gene) θεωρείται σημαντικό αίτιο της πολλαπλής φαρμακευτικής αντίστασης (multi drug resistance) και

εμπλέκεται στην ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία των ασθενών με ΟΜΛ. Το MDR1 ανήκει στην υπεροικογένεια των προσδεδεμένων στο ATP πρωτεϊνών μεταφορέων και κωδικοποιεί την Ρ-γλυκοπρωτεΐνη 1 (Ρ-gr). Η Ρ-γλυκοπρωτεΐνη είναι μια κυτταρική αντλία εκροής φαρμάκων, μεταφέροντας εκτός κυττάρου τοξικές ενδογενείς ουσίες, φάρμακα και ξενοβιοτικά [8]. Η δράση της Ρ-gr πρωτεΐνης στα βλαστικά κύτταρα της ΟΜΛ οδηγεί σε μειωμένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση των κυτταροτοξικών φαρμάκων [9]. Οι ανθρακυκλίνες αποτελούν υπόστρωμα της Ρ-gr, συνεπώς η αποτυχία της θεραπείας στην ΟΜΛ πιθανώς να σχετίζεται με το MDR1 [10]. Η έκφραση του MDR1 έχει προταθεί ως δυσμενής παράγοντας σε σχέση με το νόσημα με σημαντική επίπτωση στην πλήρη ύφεση στην ΟΜΛ [11].

Η αυξημένη έκφραση του MDR1 έχει αποδοθεί σε πληθώρα μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της τροποποίησης της δράσης των μεταφραστικών παραγόντων, της γονιδιακής αναδιάταξης ή της τροποποίησης της κατάστασης μεθυλίωσης του εκκινητή [12]. Επιπλέον, έχει προταθεί ότι οι παραλλαγές του MDR1 πιθανώς να επιδρούν στην έκφραση και λειτουργικότητα της Ρ-gr και κατ' επέκταση στην δράση των φαρμάκων έναντι της ΟΜΛ [10, 13]. Οι αλλαγές στην πρωτεΐνη οφείλονται σε δύο πολυμορφισμούς, τον G2677TA στο εξόνιο 21 και τον G2995A στο εξόνιο 24, οι οποίοι οδηγούν σε αλλαγές των αμινοξέων A893S και A999T [14]. Επιπλέον δύο συνώνυμες παραλλαγές, η C3435T στο εξόνιο 26 και η C1236T στο εξόνιο 12 έχουν προταθεί ότι τροποποιούν το mRNA του MDR1, επηρεάζοντας την δευτεροταγή δομή του και το μεταβολισμό της πρωτεΐνης [14]. Έχουν μελετηθεί κυρίως τρεις από αυτές τις παραλλαγές (C3435T, G2677TA, και C1236T).

Ο συσχετισμός μεταξύ επιπέδου έκφρασης του mRNA του MDR1 ή των πολυμορφισμών του γονιδίου MDR1 και η ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία των ασθενών με ΟΜΛ, έχει διερευνηθεί σε αρκετές μελέτες, δίνοντας μη καταληκτικά ή διαφορούμενα αποτελέσματα [10, 12, 15-34]. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στον μικρό αριθμό δείγματος, τον

σχεδιασμό και τους διαφορετικούς πληθυσμούς [35]. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να μειωθεί η αβεβαιότητα ως προς τις φαρμακογονιδιωματικές συνέπειες του MDR1 (συμπεριλαμβάνοντας τα επίπεδα έκφρασης του mRNA σε δυαδικές και συνεχείς μετρήσεις και των γονιδιακών παραλλαγών) στην ανταπόκριση στην θεραπεία της ΟΜΛ και να παράσχει περισσότερες αποδείξεις σε σχέση με τον κλινικό συσχετισμό αυτής της φαρμακογονιδιωματικής σύνδεσης.

## 3.2 Μέθοδοι

### Επιλογή μελετών

Πραγματοποιήθηκε ενδελεχής έρευνα στην PubMed έως τον Μάιο του 2012 με σκοπό την αναγνώριση όλων των άρθρων που μελέτησαν την γονιδιακή έκφραση του MDR1 και την ανταπόκριση των ασθενών με ΟΜΛ στην χημειοθεραπεία. Οι λέξεις κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν : “MDR1”, “ABCB1” “gene”, “gene polymorphisms”, “gene variants”, “single nucleotide polymorphisms”, “SNP”, “acute myeloid leukemia”, «AML”, “Idarubicin”, “Daunorubicin”, “Cytarabine”, “anthracycline” , “chemotherapy” και “response”. Οι περιλήψεις που ανακτήθηκαν ελέγχθηκαν και αξιολογήθηκαν για την καταλληλότητά τους ώστε να συμπεριληφθούν στις μετα-αναλύσεις. Μετά τον έλεγχο των συνόψεων οι ανακτημένες μελέτες διαβάστηκαν καθ’ ολοκληρία ώστε να αξιολογηθεί η καταλληλότητα για ανάλυση. Η αναζήτηση περιορίστηκε στα άρθρα στην Αγγλική και σε όσα οι μελέτες διενεργήθηκαν σε ανθρώπους. Όλες οι αναφορές που παρατέθηκαν στις εν λόγω μελέτες επανεξετάστηκαν για την αναγνώριση επιπλέον δημοσιευμένων άρθρων που δεν συμπεριλαμβάνονταν στην βάση δεδομένων. Τα άρθρα που συμπεριελήφθησαν στην μετα-ανάλυση πληρούσαν τα ακόλουθα κριτήρια:

- i) περιλάμβαναν περιστατικά διαγνωσμένα με κάθε τύπου ΟΜΛ

- ii) οι ασθενείς έλαβαν οποιοδήποτε τύπου χημειοθεραπεία
- iii) η ανταπόκριση στην θεραπεία θεωρήθηκε η πλήρης υφεση της νόσου
- iv) παρείχαν αριθμό όσων ανταποκρίθηκαν ή όχι με θετική ή αρνητική έκφραση του mRNA του MDR1 (δυναμικό αποτέλεσμα) ή περιείχαν περιγραφικά στατιστικά στοιχεία ( μέσος όρος , τυπική απόκλιση, μέγεθος δείγματος) της έκφραση του mRNA ή περιλάμβαναν την γονοτυπική κατανομή των πολυμορφισμών του MDR1 για όσους ανταποκρίθηκαν και για όσους δεν ανταποκρίθηκαν.

Αποκλείστηκαν μελέτες που ερεύνησαν την συσχέτιση με την εμφάνιση της νόσου, την εξέλιξη της νόσου, τη σοβαρότητα ή την ολική επιβίωση.

#### Εξαγωγή Δεδομένων

Από κάθε μελέτη έγινε εξαγωγή των ακόλουθων στοιχείων: πρώτος συγγραφέας, περιοδικό, έτος έκδοσης, εθνικότητα υπό μελέτης πληθυσμού, δημογραφικά στοιχεία, έκφραση mRNA ή γονοτυπική κατανομή, αριθμός όσων ανταποκρίθηκαν ή όχι, χαρακτηριστικά νοσήματος και είδος χημειοθεραπείας .

#### Σύνθεση δεδομένων

##### Δυναμική έκφραση mRNA του MDR1

Ο συγκεντρωτικός λόγος των πιθανοτήτων (ORs) με τα αντίστοιχα διαστήματα εμπιστοσύνης (CI) της τάξης του 95% όσων ανταποκρίθηκαν (δηλαδή CR) έναντι όσων δεν ανταποκρίθηκαν (δηλαδή not CR) στην χημειοθεραπεία, για την αρνητική έκφραση mRNA σε σχέση με την θετική έκφραση, αξιολογήθηκαν με μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random effects RE) [36] διότι το μοντέλο αυτό είναι πιο συντηρητικό από το μοντέλο σταθερών

επιδράσεων (fixed effects) [35]. Το μοντέλο RE συμπεριλαμβάνει στις εκτιμήσεις την μεταβλητότητα μεταξύ μελετών.

#### Έκφραση mRNA του MDR1 σε συνεχείς τιμές

Προκειμένου να συνδυαστούν οι διαφορές μεταξύ ανταπόκρισης (CR) και μη ανταπόκρισης (not CR) ως προς την έκφραση mRNA, υπολογίστηκαν οι συγκεντρωτικές διαφορές των μέσων όρων τους ( $\Delta\mu$ ) (standardized effect size) με χρήση ανάστροφης διακύμανσης του  $\Delta\mu$  ως συντελεστή στάθμισης [37, 38]. Στην συνέχεια υπολογίστηκε το διαστήματα εμπιστοσύνης (95% CI) της τάξης του 95% του  $\Delta\mu$ .

#### Πολυμορφισμοί του γονιδίου MDR1

Προκειμένου να συνδυαστούν οι μελέτες, υπολογίστηκε ο συγκεντρωτικός γενικευμένος λόγος σχετικών πιθανοτήτων (Generalized Odds Ratio, ORG) με το αντίστοιχο 95% CI [39, 40]. Το ORG είναι μια προσέγγιση που δεν προκαθορίζει γενετικό μοντέλο κληρονόμησης για την διερεύνηση του φαρμακογενετικού κινδύνου και παρέχει εκτίμηση του συνολικού φαρμακογενετικού κινδύνου μέσω αξιοποίησης ολόκληρης της γενοτυπικής κατανομής των γονιδιακών παραλλαγών. Το ORG ορίζεται ως εξής: για κάθε δύο υποκείμενα, έναν που ανταποκρίνεται στην χημειοθεραπεία και έναν που δεν ανταποκρίνεται, το ORG εκτιμά την πιθανότητα ανταπόκρισης σε σχέση με την πιθανότητα μη ανταπόκρισης, όταν αυτός που ανταποκρίνεται έχει μεγαλύτερο φορτίο μεταλλάξεων από αυτόν που δεν ανταποκρίνεται. Δηλαδή ο κίνδυνος ανταπόκρισης είναι ανάλογος της αυξημένης γενετικής έκθεσης. Εναλλακτικά το ORG δείχνει πόσα ζεύγη ανταποκρινόμενων/μη ανταποκρινόμενων υπάρχουν στην μελέτη για την οποία αυτοί που ανταποκρίνονται έχουν μεγαλύτερο φορτίο μεταλλάξεων σε σχέση με τον αριθμό των ζευγών όπου το μεγαλύτερο φορτίο μεταλλάξεων το έχουν αυτοί που δεν ανταποκρίνονται [39, 40]. Επιπλέον, υπολογίστηκαν οι συγκεντρωτικοί λόγοι πιθανοτήτων με το μοντέλο RE των ανταποκριθέντων έναντι στους μη



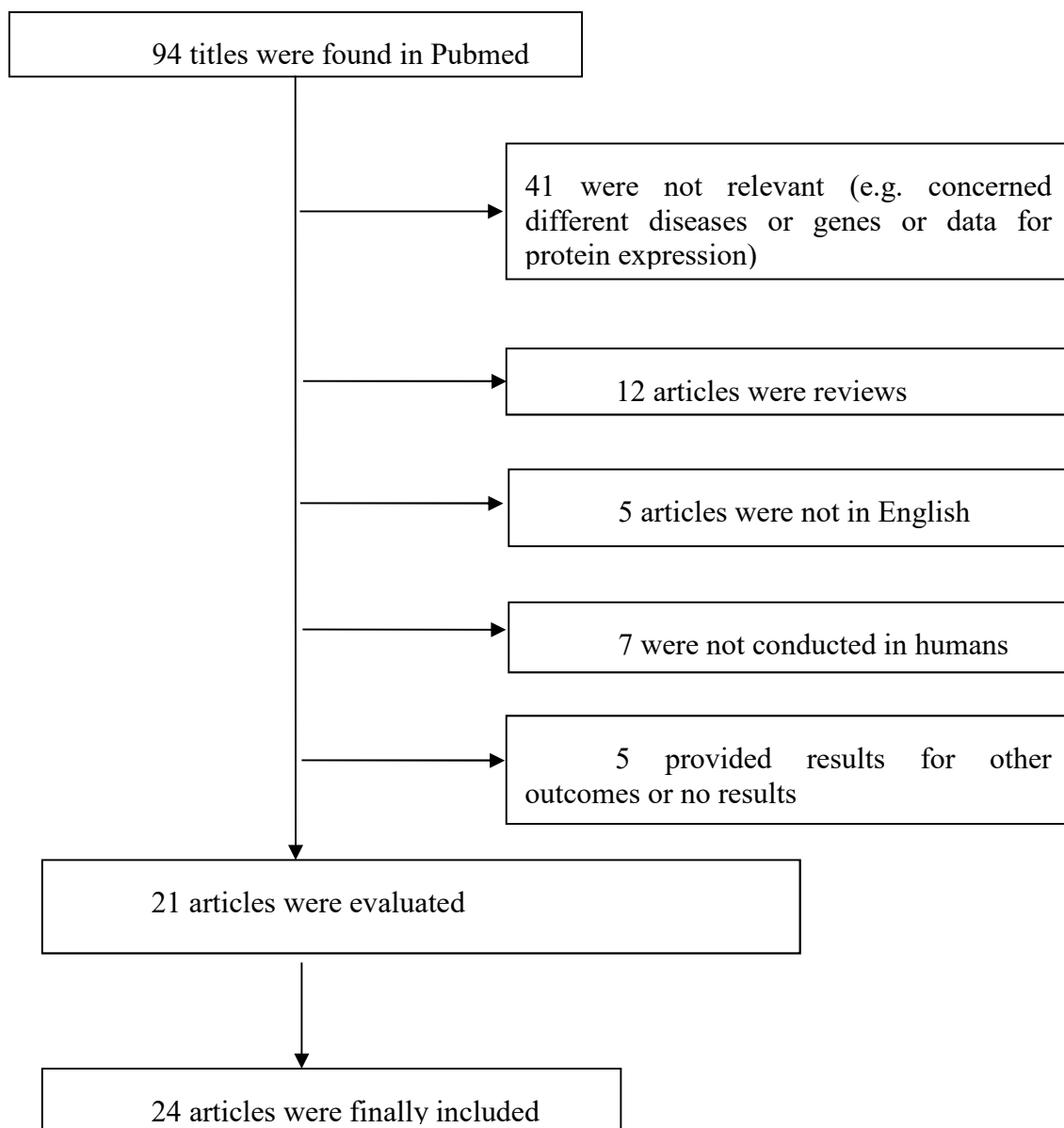
ανταποκριθέντες στην χημειοθεραπεία για τα υπολειπόμενα και επικρατή μοντέλα της κάθε γονιδιακής παραλλαγής [36]. Οι λόγοι σχετικών πιθανοτήτων (OR) για τα υπολειπόμενα μοντέλα εκφράζουν την πιθανότητα ανταπόκρισης των ομοζυγωτών του μεταλλαγμένου αλληλόμορφου, σε σχέση με την πιθανότητα ανταπόκρισης των φορέων του αγρίου τύπου αλληλόμορφου και η πιθανότητα του επικρατούς μοντέλου εκφράζει την πιθανότητα ανταπόκρισης των φορέων του μεταλλαγμένου αλληλόμορφου σε σχέση με την πιθανότητα ανταπόκρισης των ομόζυγων του αγρίου τύπου αλληλόμορφου. Συνεπώς η πιθανότητα των υπολειπόμενων και επικρατητικών μοντέλων υπολογίζεται αφού συνδυαστούν οι γονότυποι.

Η στατιστική ετερογένεια μεταξύ των μελετών δοκιμάστηκε με την χρήση Q-statistic [35, 41]. Τιμή  $P_Q < 0.10$  υποδεικνύει σημαντική ετερογένεια μεταξύ των μελετών [36]. Η ετερογένεια ποσοτικοποιήθηκε με την παράμετρο  $I^2$  [42, 43]. Το  $I^2$  λαμβάνει τιμές από 0% έως και 100% με τις υψηλότερες τιμές να υποδεικνύουν μεγαλύτερο βαθμό ετερογένειας. Όταν δεν υπάρχει ετερογένεια, το RE μοντέλο ταυτίζεται με το FE μοντέλο [35]. Στην παρούσα μετα-ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το RE μοντέλο καθώς είναι πιο συντηρητικό.

Η μετα-ανάλυση απαρτίστηκε από την κύρια ανάλυση που συμπεριελάμβανε όλα τα διαθέσιμα δεδομένα καθώς και την ανάλυση των υπο-ομάδων κατά εθνικότητα, είδος χημειοθεραπείας και ηλικία (παιδιά-ενήλικες) [35, 44]. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση ευαισθησίας για τις μελέτες που απαρτίζονταν από ασθενείς λήπτες παραγόντων αναστροφής MDR1 (MDR1 Reversal agents). Το διαφορικό μέγεθος της επίδρασης των μεγάλων μελετών έναντι των μικρών, εξετάστηκε με Harbord's test [45]). Η ανάλυση έγινε με την χρήση των προγραμμάτων Meta-analyst V.3 (Evidence-Based Practice Centers, Tufts Medical School, Boston, MA) και GUMAGAS (Larissa, Greece, <http://biomath.med.uth.g.>) [46, 47]. Το ORG υπολογίστηκε με το ORGGASMA (Larissa, Greece, <http://biomath.med.uth.gr>) [39, 40].

### **3.3 Αποτελέσματα**

Η βιβλιογραφική έρευνα αναγνώρισε 94 δημοσιεύσεις στην PubMed που πληρούσαν τα κριτήρια. Όλα τα άρθρα που ανιχνεύτηκαν μέσω βιβλιογραφικής έρευνας μελετήθηκαν διεξοδικά. Τα αποτελέσματα της αναζήτησης παρουσιάζονται συνοπτικά στο παρακάτω σχεδιάγραμμα (εικόνα 3.1).



**Εικόνα 3.1** Βιβλιογραφική αναζήτηση

Τα κριτήρια ένταξης πληρούσαν 24 άρθρα. Τα εν λόγω άρθρα συμπεριελάμβαναν 21 μελέτες για την έκφραση του mRNA (17 με δυαδικά αποτελέσματα και 4 με συνεχή αποτελέσματα), τέσσερις μελέτες για την παραλλαγή C3435T, τρεις μελέτες για την παραλλαγή G2677TA και δύο μελέτες για την παραλλαγή C1236T. Στον πίνακα 3.1 περιέχονται τα χαρακτηριστικά των επιμέρους μελετών που συμπεριελήφθησαν στις μετα-αναλύσεις. Οι μελέτες δημοσιεύτηκαν μεταξύ 1990 και 2009. Συνολικά η μετα-ανάλυση συμπεριέλαβε 1279/172 ασθενείς για την έκφραση mRNA σε δυαδική/συνεχή κλίμακα και 816/628/520 ασθενείς για τους πολυμορφισμούς C3435T/G2677TA/C1236T αντίστοιχα, 19 δημοσιεύσεις συμπεριελάμβαναν ασθενείς με πρωτοπαθή ΟΜΛ, 13 δημοσιεύσεις συμπεριελάμβαναν ασθενείς που έλαβαν χημειοθεραπεία πρώτη φορά και 2 μελέτες είχαν μόνο ασθενείς που επανεμφάνισαν ΟΜΛ ή ήταν ανθεκτικοί στην θεραπεία. Σε 19 δημοσιεύσεις αναφέρθηκε η χρήση χημειοθεραπείας βασισμένης στις ανθρακυκλίνες (daunorubicin ή idarubicin), 2 δημοσιεύσεις χρησιμοποίησαν άλλου τύπου χημειοθεραπεία και 4 δημοσιεύσεις δεν ανέφεραν το είδος της χημειοθεραπείας. Σε όλες τις δημοσιεύσεις που μελέτησαν τους γονιδιακούς πολυμορφισμούς έγινε χρήση χημειοθεραπείας βασισμένης στις ανθρακυκλίνες. Σε 3 μελέτες [32] που διερεύνησαν τις παραλλαγές C3435T, G2677TA και C1236T, περισσότεροι από τους μισούς ασθενείς έλαβαν αναστολέα P-gp (PSC- 833)(58%, 54% και 55% αντιστοίχως) και σε μία μελέτη που διερεύνησε την έκφραση mRNA (σε δυαδική κλίμακα) το 57% των ασθενών έλαβε PSC-833 [31]. Η μέση ηλικία των ασθενών κυμαίνονταν από 8,15 έως 67 έτη. Τα άρθρα περιελάμβαναν ασθενείς διαφορετικών εθνικοτήτων : 17 με λευκούς, έξι με ασθενείς από την Ανατολική Ασία και μία με Ινδούς.

Συγγραφέας (έτος)	Εθνικότητα	Ασθενείς (% ανδρες)	Ηλικία σε έτη Μέση τιμή (min- max) mean ( $\pm$ SD)	MDR1 Πολυμορφισμός ή έκφραση	Κλινικά Χαρακτηριστικά των ασθενών	Ορισμός Ανταπόκρισης	Ορισμός μη ανταπόκρισης	Είδος ΧΜΘ	Αναφορά
Hur (2007)	Ασιάτες	200 (63.5%)	44 ( $\pm$ 14)	C3435T	de novo AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	NRT	Υποτροπή ή θάνατος	Idarubicin 12mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 100mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7)	22
Kim (2006)	Ασιάτες	81 (66.6%)	39 (15-72)	C3435T G2677TA	de novo AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	παρουσία <5% βλαστών στον BM & ANC >1*10 <sup>9</sup> & PLT >100*10 <sup>9</sup> /L	παρουσία >5% βλαστών στον BM σε προηγούμενων φυσιολογικό BM ή ένδειξη εξωμυελικής λευχαιμίας	Idarubicin 12mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 100mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7)	12
van der Holt (2006)	Λευκοί	130 (57%)	67 (60-85)	C1236T, G2677TA, C3435T	de novo και δευτεροπαθής AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς, 55% των ασθενών έλαβαν αναστολέα P-gr (58% για C3435T, 54% για G2677TA και 55% για C1236T)	Νορμοκυτταρικός BM με <5% βλάστες, όχι Auer rods, και όχι ένδειξη εξωμυελικής νόσου	Ασθενείς που η νόσος υποτροπίασε ή πέθαναν σε 28 μέρες μετά την CR	daunorubicin 45mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7) (Σκέλος A) ή daunorubicin 35mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7) και PSC-833 (Σκέλος B)	32
Illmer (2002)	NRT	405 (NRT)	53 (17-78)	C1236T, G2677TA, C3435T	de novo AML, μη θεραπευμένοι	παρουσία <5% βλαστών στον BM μετά τον 2ο κύκλο	NRT	daunorubicin 45mg/m <sup>2</sup> (D1-D3) και cytosine	10

					ασθενείς	θεραπείας εφόδου		arabinoside (ara-C) 100mg/m <sup>2</sup> (D1-D7)	
Gsur (1993)	Λευκοί	75 (48%)	56 (18-80)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	NRT	ED (πρώιμος θάνατος μέσα σε 4 εβδομάδες από την έναρξη της θεραπείας) + RD	daunorubicin 45mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7)	17
Gruber (1992)	Λευκοί	34 (52%)	65 (15-87)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθής AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	Παρουσία <5% βλαστών στον BM + φυσιολογική κυτταροβρίθεια & φυσιολογικές τιμές περιφερικού αίματος	Όχι CR μετά από 2 σχήματα εφόδου	daunorubicin-vincristine-ara-C, mitoxantrone-etoposide-ara-C ή daunorubicin-ara-C-thioguanine	18
Guenova (2010)	Whites	17 (64%)	54 (±16.8)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	NRT	NRT	NRT	19
Tan (2003)	East Asian	65 (46%)	35.4 (6-76)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθή AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς και θεραπευμένοι ασθενείς	NRT	NRT	harringtonine 4mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7)-daunorubicin 45mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3)-cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> (D1-D7) ή daunorubicin + cytarabine or etoposide +cytarabine ή idarubicin +cytarabine or mitoxantrone +	29

								cytarabine	
van den Heuvel-Eibrink (2007)	Whites	154 (56%)	67 (60-85)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθή AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς / 57% από τους ασθενείς έλαβαν έναν αναστολέα P-gp	Νορμοκυτταρικός BM με <5% βλάστες, όχι Auer rods, και όχι ένδειξη εξωμυελικής νόσου	Ασθενείς που η νόσος υποτροπίασε ή πέθαναν σε 28 μέρες μετά την CR	daunorubicin 45mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7) (Σκέλος A) ή daunorubicin 35mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> /day IV (D1-D7) και PSC-833 (Σκέλος B)	31
Fujimaki (2002)	East Asian	14 (NRT)	NRT	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθή AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς και θεραπευμένοι ασθενείς	CR: διατήρηση των κριτηρίων για CR για >6 μήνες: κυτταρικός μυελός με 5% blast cells, ANC ≥1.5*10 <sup>9</sup> /L, PLT ≥100*10 <sup>9</sup> /L και όχι ένδειξη νόσου σε άλλες θέσεις ER: υποτροπή σε 6 μήνες από την υφεση	NR: κυτταρικός μυελός με >5% blast cells ή ένδειξη λευχαιμία σε άλλες θέσεις μετά από τουλάχιστον δύο σχήματα ΧΜΘ	NRT	16
Hunault (1997)	Whites	98 (57%)	54 (±16) (18-90)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθής AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς s	παρουσία <5% βλαστών, προμυελοκυττάρων, μονοκυτταροειδών ή άλλων στοιχείων που δεν μπορούν να ταξινομηθούν ως πιο ώριμα στον BM	>5% βλάστες στον BM και θάνατος κατά την απλασία	Idarubicin 12mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 100mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7)	21

						promyelocytes, & ANC >1*10 <sup>9</sup> & PLT >100*10 <sup>9</sup> /L και Hgb >100g/L			
Huh (2006)	East Asian	34 (NRT)	30 (3m-5y)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	NRT	κυτταροβρίθεια >20% με <5% βλάστες στον BM μετά από θεραπεία εφόδου	κυτταροβρίθει α >20% με >5% βλαστές στον BM μετά από τη θεραπεία εφόδου	AML ενηλίκων : cytarabine + idarubicin (AI regimen), Παιδιατρική AML: Cyclophosphamide + prednisone	20
Schaich (2002)	Whites	331 (NRT)	56 (15-78)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθής AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	παρουσία <5% βλαστών στον BM μετά τον 2 <sup>ο</sup> κύκλο θεραπείας εφόδου	NRT	ασθενείς ≤60y : έναν κύκλο MAV [mitoxantrone 10mg/m <sup>2</sup> (D4-D8), cytosine arabinoside 100mg/m <sup>2</sup> (D1-D8), VP-16 100mg/m <sup>2</sup> (D4-D8)] και έναν δεύτερο κύκλο MAMAC [cytosine arabinoside 2×1,000 mg/m <sup>2</sup> (D1-D5), m-amsacrine 100mg/m <sup>2</sup> (D1-D5)], ασθενείς >60y: δύο κύκλοι DA [daunorubicin 45 mg/m <sup>2</sup> (D3-D5), cytosine arabinoside 100	28



								mg/m <sup>2</sup> (D1-D7)]	
Venditti (2004)	Whites	240 (55%)	62.5 (18-84)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	παρουσία <5% βλαστών στον BM με φυσιολογική κυτταροβρίθεια & φυσιολογικές τιμές περιφ. αίματος	παρουσία >5% βλαστών στον BM σε προηγούμενων φυσιολογικό BM ή ένδειξη εξωμυελικής λευχαιμίας	regimens based on cytarabine, etoposide and anthracycline (idarubicin, daunorubicin) or mitoxantrone	33
Dahl (2000)	Whites	50 (51%)	(1.4mo-20y)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	Ασθενείς με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα ΑΜΛ, θεραπευμένοι ασθενείς	Μορφολογικά φυσιολογικός BM, ANC ≥ 1,500/mL, και PLT ≥ 100,000/mL.	PR: 5.1% εως 25.0% βλάστες στον BM με τιμές σε βελτίωση και όχι βλάστες στο περιφερικό αίμα. υποτροπή > 25% βλάστες	etoposide και azacytidine με ενδορραχιαία Ara-C + ανθρακυκλίνες και άλλα σχήματα με ανθρακυκλίνες	15
Wells (1994)	Whites	11(91%)	8.15 (0.5y-15y)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	Ασθενείς με ανθεκτική ή υποτροπιάζουσα ΑΜΛ, θεραπευμένοι ασθενείς	<5% βλάστες στον BM, κυτταροβρίθεια που ποικίλλει από μέτρια υποκυτταρική έως υπερκυτταρική, ANC > 1,000/mm <sup>3</sup> και PLT > 100,000/mm <sup>3</sup>	PR: 5- 40% βλάστες ή <5% χωρίς αιματολογική βελτίωση/ οποιαδήποτε άλλη απάντηση	arabinoside 1g/m <sup>2</sup> (D1-D4) + mitoxantrone 12mg/m <sup>2</sup> (D3-D7)	34
Trnkova (2007)	Whites	57(47%)	43.8 (0.45 –78)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo AML	CR: NRT	όχι CR	Διάφορα πρωτόκολλα (όχι λεπτομέρειες)	30
Lin (1995)	East Asian	20 (75%)	46.5 (18-75)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθή AML, μη θεραπευμένοι	CR:NRT	Πρώιμος θάνατος ή RD	1.Daunomycin 45mg/m <sup>2</sup> /d (D1-D3), cytarabin 100mg/m <sup>2</sup> /d (D1-	24

					ασθενείς και θεραπευμένοι ασθενείς			D7), etoposide 100mg/m <sup>2</sup> /d (D1- D5), 2.daunomycin 45mg/m <sup>2</sup> /d (D1- D3), cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> /d (D1- D7), 3.cytarabin 20mg/m <sup>2</sup> /d (D1- D14)	
Ho (2007)	Λευκοί	31 (57%)	41.5 (17-69)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	παρουσία <5% βλαστών στον BM & ANC >1*10 <sup>9</sup> & PLT >100*10 <sup>9</sup> /L και Hgb >100g/L	NR: καμία ανταπόκριση στην θεραπεία εφόδου	daunorubicin 45mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7)	23
Sato (1990)	Λευκοί	36(40.7%)	53.9 (11-82)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθή AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς και θεραπευμένοι ασθενείς	CR: επιστροφή στην φυσιολογική αιμοποίηση	RD	daunorubicin 45mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D3) και Cytarabine 200mg/m <sup>2</sup> /d IV (D1-D7)	27
Petti (2003)	Λευκοί	12 (50%)	54.8 (31-64)	Έκφραση mRNA (δυαδική)	de novo και δευτεροπαθή AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς και θεραπευμένοι ασθενείς	CR: παρουσία <5% βλαστών στον BM & φυσιολογικές τιμές περιφ. αίματος PR:<15% βλαστών σε φυσιολογικό υπερκυτταρικό μυελό και φυσιολογικά κλινικά ευρήματα	RD	Υψηλές δόσεις υδροξυουρίας	26
Xu (1999)	Λευκοί	52 (NRT)	66 (22-91)	Έκφραση mRNA (συνεχής)	de novo και δευτεροπαθή AML, μη	CR: NRT	AML που επιδεινώθηκε μετά από	NRT	52

					θεραπευμένοι ασθενείς και θεραπευμένοι ασθενείς		εντατική ΧΜΘ στη διάγνωση ή την υποτροπή.		
Hart (1997)	Λευκοί	33 (NRT)	NRT	Έκφραση mRNA (συνεχής)	de novo και δευτεροπαθή AML	CR: : παρουσία <5% βλαστών στον BM & φυσιολογικές τιμές περιφ.αίματος		Καθιερωμένα σχήματα περιλαμβάνοντα αναθρακυκλίνες, cytosine arabinoside, VP16	51
Chauchan (2009)	Ινδοί	30 (44%)	35 (19-85)	Έκφραση mRNA (συνεχής)	de novo AML, μη θεραπευμένοι ασθενείς	CR: παρουσία <5% βλαστών στον BM & φυσιολογικές τιμές περιφ.αίματος	NR: όχι CR	daunorubicin 45mg/m <sup>2</sup> (D1-D3) και cytosine arabinoside (ara-C) 100mg/m <sup>2</sup> (D1-D7)	50

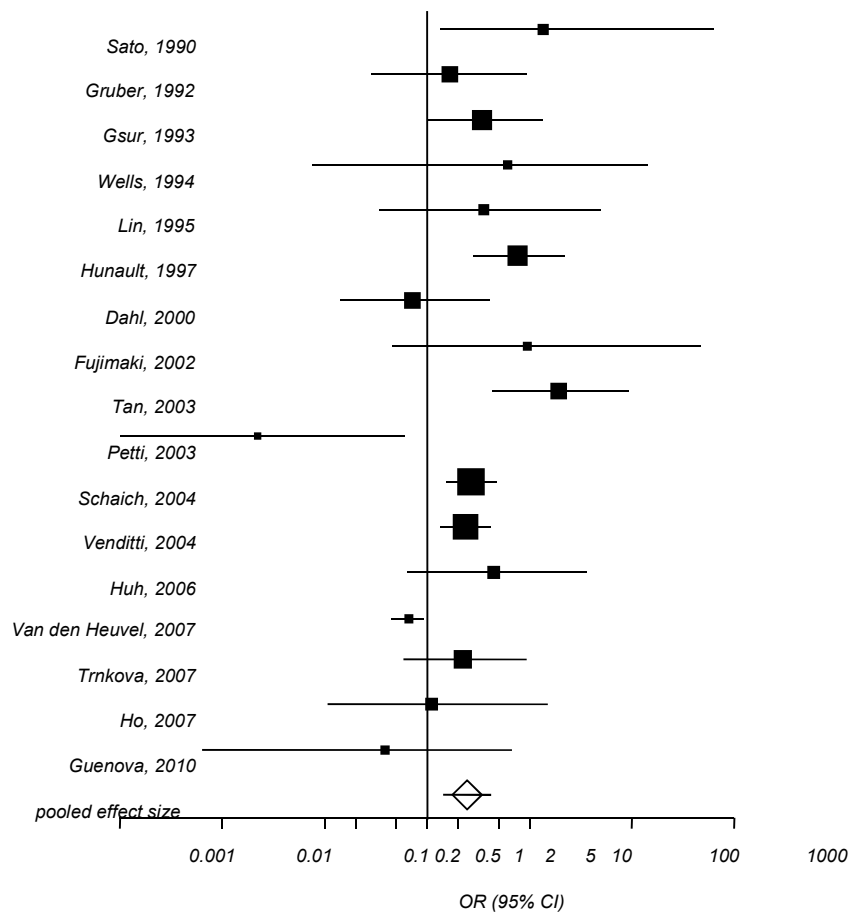
**Πίνακας 3.1** Τα χαρακτηριστικά των μελετών που χρησιμοποιήθηκαν

CR: πλήρης ανταπόκριση, Di: ημέρα i, PR: μερική ανταπόκριση, NR: μη ανταπόκριση, RD: ανθεκτική νόσος, NRT: δεν αναφέρεται, AML: οξεία μυελογενής λευχαιμία, ANC: Ουδετρόφιλα,

PLT: αιμοπετάλια, Hgb: αιμοσφαιρίνη, BM: μυελός των οστών

## Διαδική έκφραση mRNA του MDR1

Η μετα-ανάλυση έδειξε ότι συνολικά η έκφραση του mRNA είναι συσχετισμένη σε σημαντικό βαθμό με την ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία [OR=2.49 (95%CI 1.8, 4.5)] δηλαδή υπάρχει 2,5 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα για CR σε αρνητική έκφραση από ότι σε θετική έκφραση. Παρόλα αυτά η ετερογένεια μεταξύ των μελετών είναι μεγάλη  $I^2 = 82\%$  και στατιστικά σημαντική ( $P_Q < 0.01$ ) ενώ το διαφορικό μέγεθος της επίδρασης των μεγάλων μελετών έναντι των μικρών δεν ήταν σημαντικό ( $P_H = 0.57$ ). Στην εικόνα 3.2 παρατίθενται τα αποτελέσματα της κύριας ανάλυσης για τον συσχετισμό μεταξύ επιπέδων έκφρασης του mRNA του MDR1 (αρνητική/θετική) και ανταπόκρισης στην χημειοθεραπεία (CR/not CR).



**Εικόνα 3.2** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην έκφραση του MDR1 mRNA και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

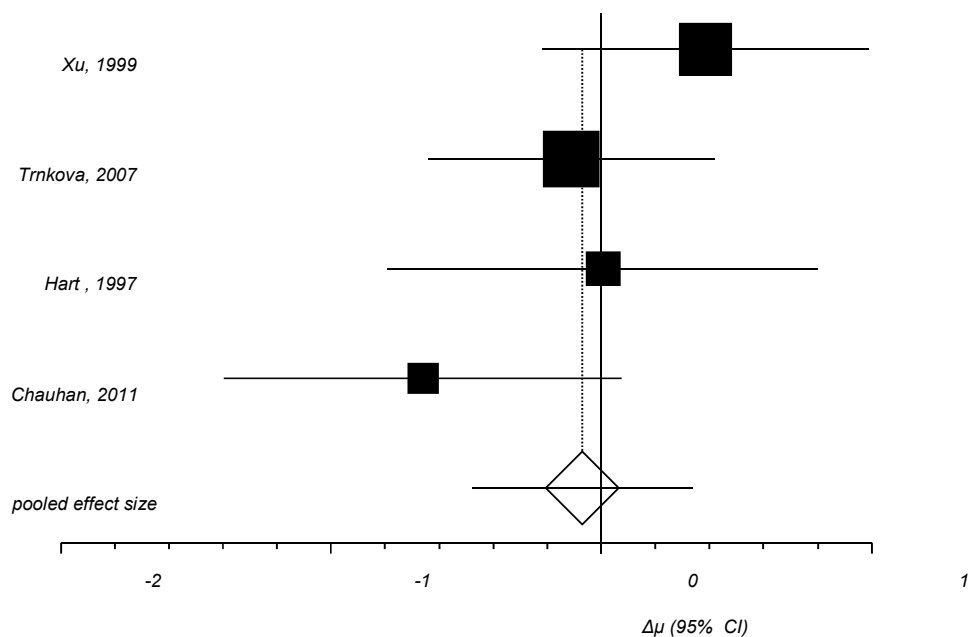
*Το εκτιμώμενο OR για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

Στους ενήλικες το μοτίβο των αποτελεσμάτων παρέμεινε το ίδιο με της συνολικής ανάλυσης: το OR ήταν σημαντικό με παρόμοιο μέγεθος επίδρασης [OR=2.17 (95%CI 1.10, 4.25)] και η ετερογένεια ήταν επίσης υψηλή ( $P_Q < 0.01$  με  $I^2 = 83\%$ ). Όταν η ανάλυση περιορίστηκε σε χημειοθεραπεία βασισμένη στις ανθρακυκλίνες, το επίπεδο έκφρασης mRNA αποκάλυψε υψηλής σημαντικότητας συσχετισμό με την ανταπόκριση στην θεραπεία [OR = 2.91 (95% CI 1.38, 6.16)] αλλά και σημαντική ετερογένεια ( $P_Q < 0.01$  με  $I^2 = 85\%$ ). Στην ανάλυση υπο-ομάδων κατά εθνικότητα οι λευκοί δεν επέδειξαν σημαντικό συσχετισμό [OR=1.86 (95% CI 0.96, 3.61)] με υψηλή ετερογένεια μεταξύ των μελετών ( $P_Q < 0.01$  με  $I^2 = 73\%$ ). Αντιθέτως, για τους ασθενείς με καταγωγή από Ανατολική Ασία αναδείχθηκε σημαντικό αποτέλεσμα [OR= 8.96 (95% CI 4.01, 20.02)] υποδεικνύοντας την ύπαρξη 9 φορές μεγαλύτερης πιθανότητας να πετύχουν πλήρη ανταπόκριση οι ασθενείς αυτοί όταν η έκφραση του mRNA είναι αρνητική σε σχέση με την θετική. Η ανάλυση ευαισθησίας (εξαιρέθηκαν οι μελέτες που συμπεριέλαβαν ασθενείς λήπτες αναστολέων MDR1) βελτίωσε το μέγεθος του φαινομένου (OR =2.94 (95% CI 1.82, 4.75)] αλλά παρόλα αυτά η ετερογένεια παρέμεινε σημαντικά μεγάλη ( $P_Q = 0.01$  με  $I^2 = 51\%$ ).

#### Ποσοτική έκφραση mRNA του MDR1

Η συγκεντρωτική εκτίμηση της διαφοράς μεταξύ ασθενών με πλήρη ανταπόκριση από αυτών που δεν είχαν καμία ανταπόκριση, σε σχέση με την ποσοτική έκφραση mRNA του

MDR1 δεν έδειξε σημαντικά αποτελέσματα [ $\Delta\mu=-0.069$  (-0.48-0.34)] και η ετερογένεια μικρή και μη σημαντική ( $P_Q=0.20$  με  $I^2=36\%$ ). Το διαφορικό μέγεθος της επίδρασης των μεγάλων μελετών έναντι των μικρών δεν ήταν σημαντικό ( $P_H=0.68$ ). Στην εικόνα 3.3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης αυτής.



Εικόνα 3.3. Οι υπολογισμοί της διαφοράς ( $\Delta\mu$ ) της τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στην έκφραση του MDR1 mRNA και την ανταπόκριση στην θεραπεία.

*Το  $\Delta\mu$  για κάθε μελέτη σημειώνεται με ένα συμπαγές μαύρο τετράγωνο. Το μέγεθος του τετραγώνου αναπαριστά το μέγεθος που η αντίστοιχη μελέτη ασκεί στη μέτα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης των συγκεντρωτικών εκτιμήσεων εμφανίζεται ως μια οριζόντια γραμμή διαμέσου του διαμαντιού. Αυτή η γραμμή μπορεί να περιέχεται μέσα στο διαμάντι εάν το διάστημα εμπιστοσύνης είναι στενό. Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα*

### Γονιδιακές Παραλλαγές του MDR1

Συνολικά, τόσο η προσέγγιση που δεν προκαθορίζει γενετικό μοντέλο κληρονομιάς όσο και τα γονιδιακά μοντέλα (υπολειπόμενα/επικρατή) δεν παρουσίασαν κανένα σημαντικό συσχετισμό μεταξύ των εξετασθέντων παραλλαγών (C3435T, G2677TA και C1236T) και της

ανταπόκρισης στην χημειοθεραπεία. Επίσης η ανάλυση υποομάδων κατά εθνικότητα και ηλικία δεν έδωσε σημαντικά αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2 και τα διαγράμματα 3.4 (α) και (β).

Για τις παραλλαγές C3435T και G2677TA η ετερογένεια κυμάνθηκε από καθόλου ( $P_Q = 0,61$ ) έως υψηλή ( $P_Q = 0,01$ ) ενώ για την παραλλαγή C1236T η ετερογένεια δεν ήταν σημαντική ( $P_Q > 0,15$ ). Η ανάλυση ευαισθησίας (εξαιρέθηκαν οι μελέτες που περιλάμβαναν ασθενείς λήπτες αναστολέων MDR1) δεν προκάλεσε αλλοίωση στο μοτίβο των αποτελεσμάτων. Υπήρξε σημαντική επίδραση του μεγέθους των μεγάλων μελετών έναντι των μικρών ( $P_H = 0.04$ ).

(α)

C3435T Γενετικό Μοντέλο	Πληθυσμός	Αριθμός μελετών	Random effects OR (95% CI)	I <sup>2</sup> (%)	P Q-test
Model-free	Όλοι	4	0.86 (0.55-1.37)	64	0.04
	Ασιάτες	2	0.63 (0.26-1.53)	na	0.08
	Ενήλικες	3	1.08 (0.80-1.47)	20	0.29
	Όλοι χωρίς PSC-833	3	0.86 (0.45-1.62)	73	0.02
Υπολειπόμενο μοντέλο	Όλοι	4	1.02 (0.73-1.44)	0	0.51
	Ασιάτες	2	0.85 (0.40-1.81)	na	0.61
	Ενήλικες	3	1.06 (0.75-1.50)	0	0.41
	Όλοι χωρίς PSC-833	3	1.14 (0.77-1.68)	0	0.59
Κυρίαρχο Μοντέλο	Όλοι	4	0.86 (0.47-1.56)	63	0.04
	Ασιάτες	2	0.54 (0.16-1.81)	na	0.07
	Ενήλικες	3	1.20 (0.85-1.68)	0	0.41
	Όλοι χωρίς PSC-833	3	0.81 (0.35-1.88)	75	0.02

na: δεν εφαρμόζεται

(β)

G2677TA Γενετικό Μοντέλο	Πληθυσμός	Αριθμός μελετών	Random-effects OR (95% CI)	I <sup>2</sup> (%)	P Q test
Model-free	Όλοι	3	0.97 (0.58-1.64)	66	0.05
	Όλοι χωρίς PSC-833	2	0.90 (0.34-2.36)	na	0.02
Υπολειπόμενο μοντέλο	Όλοι	3	1.30 (0.87-1.94)	0	0.55
	Όλοι χωρίς PSC-833	2	1.35 (0.82-2.36)	na	0.30
Κυρίαρχο μοντέλο	Όλοι	3	0.80 (0.35-1.84)	73	0.03
	Όλοι χωρίς PSC-833	2	0.56 (0.07-4.40)	na	0.01

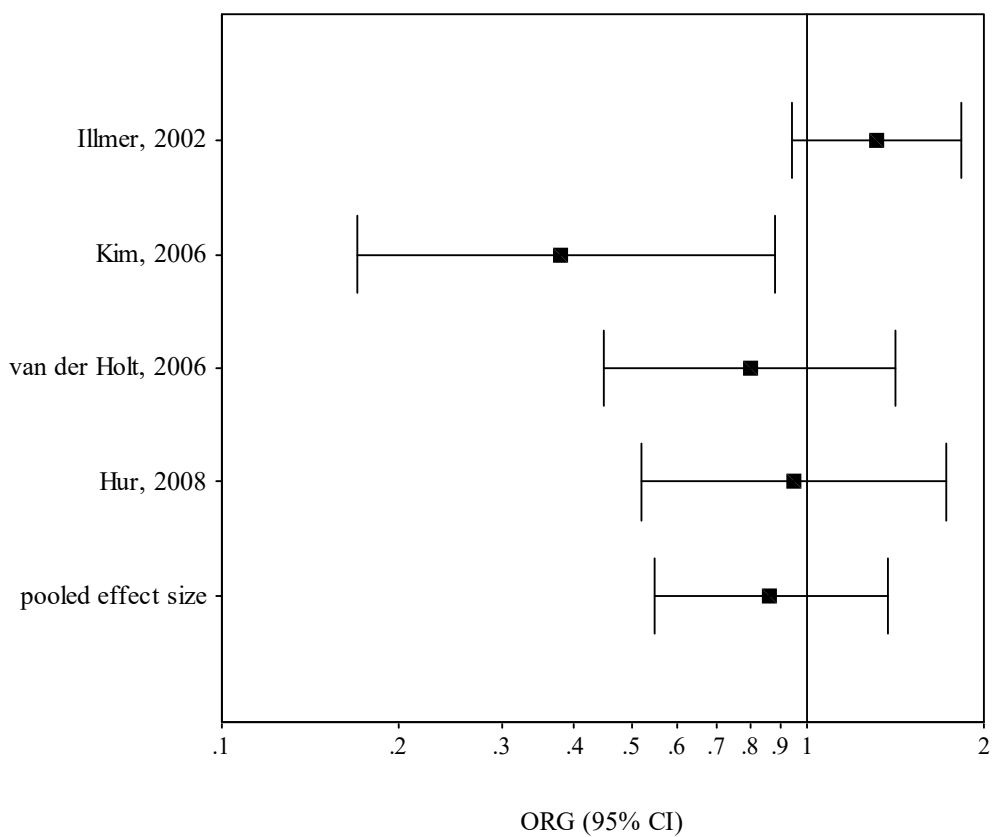
(γ)

C1236T Γενετικό	Πληθυσμός	Αριθμός μελετών	Random-effects OR (95% CI)	I <sup>2</sup> (%)	P Q test
--------------------	-----------	--------------------	-------------------------------	-----------------------	-------------

Μοντέλο					
Model-free	Όλοι	2	1.12 (0.73-1.71)	na	0.14
			1.17 (0.75-1.83)		0.18
Υπολειπόμενο μοντέλο	Όλοι	2	1.04 (0.52-2.06)	na	0.15
Κυρίαρχο μοντέλο	Όλοι	2	1.33 (0.93-1.90)	na	0.36

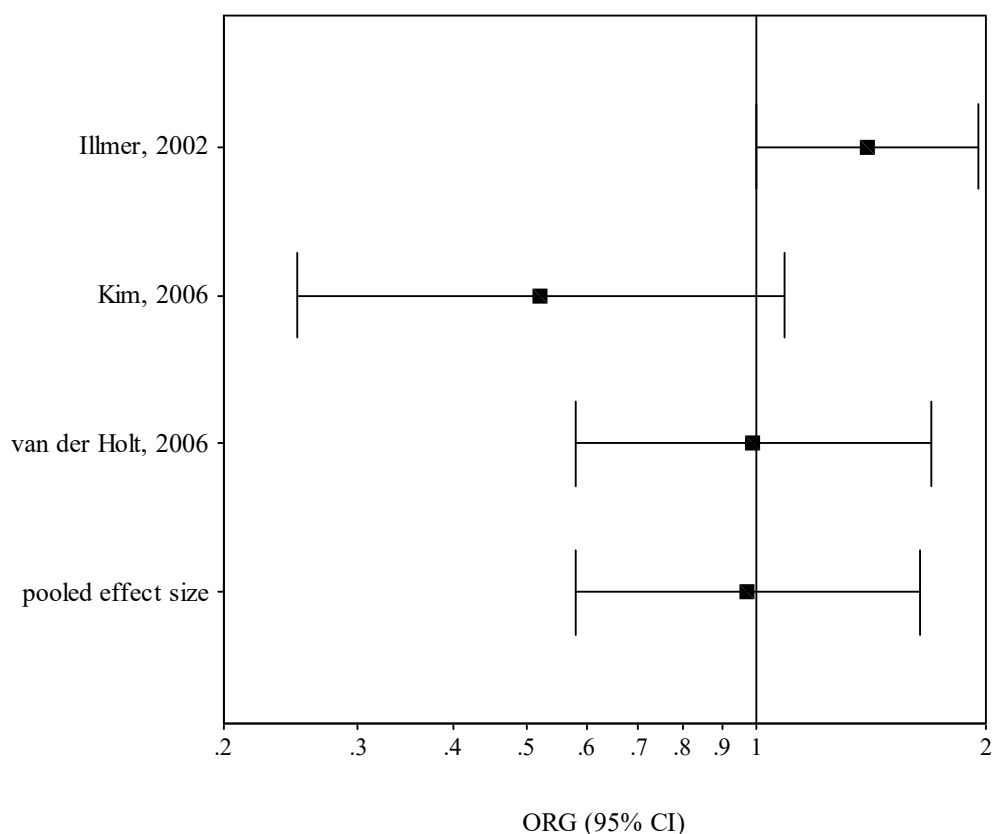
na: δεν εφαρμόζεται

**Πίνακας 3.2.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στους γονοτύπους του MDR1 (α) C3435T, (β) G2677TA και (γ) C1236T και την ανταπόκριση στην θεραπεία.



(α)





(β)

**Εικόνα 3.4.** Οι υπολογισμοί των λόγων αναλογιών τυχαίας επίδρασης (RE OR) με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης για τη σχέση ανάμεσα στους πολυμορφισμούς του MDR1 και την ανταπόκριση στην θεραπεία. (α) MDR1 C3435T (T vs. C) και (β) MDR1 G2677TA (TA vs. G). Ο οριζόντιος άξονας είναι σε λογαριθμική κλίμακα.

### 3.4 Συζήτηση

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να καθοριστεί το εάν η γνώση τη έκφρασης του mRNA του MDR1 ή των γονιδιακών παραλλαγών του θα μπορούσε να προβλέψει την ανταπόκριση στην θεραπεία των ασθενών με OMA. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η υπερέκφραση mRNA του MDR1 μπορεί να θεωρηθεί προγνωστικός παράγοντας κακής

ανταπόκρισης στην χημειοθεραπεία που βασίζεται στις ανθρακυκλίνες. Η ανάλυση των υποομάδων κατέδειξε ότι οι ασθενείς από Ανατολική Ασία με αρνητική έκφραση mRNA είχαν 9 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα για πλήρη ανταπόκριση ενώ για τους λευκούς το φαινόμενο δεν ήταν σημαντικό. Η διαφορετικότητα αυτή μεταξύ εθνικοτήτων πιθανώς να οφείλεται σε διαφορές στην συχνότητα των μεταλλαγμένων αλληλόμορφων που μπορεί να επηρεάσουν την γονιδιακή έκφραση [48]. Η ευαισθησία της ανάλυσης για την μελέτη που περιελάμβανε ασθενείς λήπτες αναστολέων MDR1 [31, 32] βελτίωσε το μέγεθος του φαινομένου υποδεικνύοντας ότι η προσθήκη ενός αναστολέα P-gp όπως το PSC-833 στην καθιερωμένη θεραπεία, ίσως επιφέρει αύξηση της ανταπόκρισης στην θεραπεία για τους ασθενείς που εκφράζουν την γονιδιακή πρωτεΐνη. Παρόλα αυτά, τα έως τώρα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι οι πολυμορφισμοί του MDR1 γονιδίου ίσως να μην θεωρούνται προβλεπτικοί παράγοντες για την ανταπόκριση στην θεραπεία.

Η συνέπεια μεταξύ των αποτελεσμάτων της ανάλυσης της έκφρασης του mRNA και των γενετικών παραλλαγών είναι αναμενόμενη καθώς οι γενετικές παραλλαγές πιθανόν να επηρεάζουν την γονιδιακή έκφραση του MDR1 είτε αλλάζοντας την αλληλουχία των αμινοξέων (G2677TA) είτε τροποποιώντας την δευτεροταγή δομή του mRNA (C3435T, C1236T). Η ασυνέπεια, ωστόσο, που προκύπτει μπορεί να αποδοθεί στην μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών, τον περιορισμένο αριθμό των μελετών που διερεύνησαν την επίδραση των γενετικών πολυμορφισμών και /ή την παρουσία άλλων γνωστών πολυμορφισμών με φαρμακογονιδιωματική επίδραση που βρίσκονται σε ανισορροπία σύνδεσης με τους πολυμορφισμούς που μελετήθηκαν. Μια πιθανή φαρμακογονιδιωματική σύγκλιση των διαφορετικών πηγών δεδομένων (μελέτες έκφρασης mRNA του MDR1 και γενετικών πολυμορφισμών) ίσως είναι απαραίτητη ώστε να υπάρξουν καταληκτικά συμπεράσματα ως

προς την επίδραση του MDR1 στην απόκριση στην χημειοθεραπεία στην ΟΜΛ που θα οδηγούσαν τον γενετικό αυτό δείκτη να καθιερωθεί στην κλινική πρακτική [49].

Ο συσχετισμός που παρουσιάζεται σε αυτές τις μετα-αναλύσεις προέκυψε από συγκέντρωση μικρού αριθμού μελετών και ασθενών με μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Επιπλέον, η επίδραση των τροποποιητικών παραγόντων όπως η ηλικία, τα προ-θεραπείας κυτταρογενετικά και μοριακά ευρήματα των βλαστών της ΟΜΛ, αν η ΟΜΛ ήταν πρωτοπαθής ή οφειλόμενη σε θεραπεία σε σχέση με την ανταπόκριση στην θεραπεία δεν αναλύθηκαν καθώς οι επιμέρους μελέτες δεν παρείχαν τα σχετικά δεδομένα. Η παρούσα αναφορά συμπεριέλαβε μελέτες που διέφεραν ως προς τον σχεδιασμό, την μεθοδολογία, τον αριθμό του δείγματος, τα κριτήρια ένταξης και τον καθορισμό των οριακών τιμών για την υπερ και υπο-έκφραση. Συνεπώς τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευτούν με προσοχή. Μελλοντικές αναλύσεις με περισσότερες μελέτες ομογενών ομάδων, με αυστηρά κριτήρια ένταξης και μεγάλο αριθμό δείγματος θα παράσχουν πιο αξιόπιστα αποτελέσματα. Συνεπώς απουσία συσχετισμού στην ανάλυση των γονιδιακών παραλλαγών δεν αποκλείει την πιθανότητα συσχετισμού.

Εν κατακλείδι, υπάρχουν αποδείξεις ότι η υπερέκφραση του mRNA του MDR1 στους ασθενείς με ΟΜΛ σχετίζεται με κακή ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία. Αντιθέτως, οι παραλλαγές C3435T, G2677TA και C1236T δεν σχετίζονται με την ανταπόκριση στην θεραπεία αλλά παρόλα αυτά η μικρή συμβολή τους δεν μπορεί να παραληφθεί. Τα παρόντα αποδεικτικά στοιχεία δεν δικαιολογούν την εισαγωγή του MDR1 ως φαρμακογενετικού τεστ προ έναρξης χημειοθεραπείας σε ασθενείς με ΟΜΛ. Συνεπώς χρειάζονται μεγάλες και αυστηρές φαρμακογονιδιωματικές μελέτες ώστε να προκύψουν καταληκτικά συμπεράσματα ως προς τον ρόλο αυτών των γενετικών δεικτών στην ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία.

### 3.5 Βιβλιογραφία

1. **Estey E, Döhner H.** Acute myeloid leukaemia. *Lancet*. 2006;368(9550):1894-907.
2. **Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al (eds).** SEER Cancer Statistics Review, 1975-2011, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2011/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2011/),
3. **Tallman MS, Gilliland DG, Rowe JM.** Drug therapy of acute myeloid leukemia. *Blood* 2005;106:1154–63.
4. **Cheson B, Bennett J, Kopecky K, et al.** Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2003;21:4642–49.
5. **Burnett A, Wetzler M, Löwenberg B.** Therapeutic advances in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011;29:487-94
6. **de Lima M, Strom S, Keating M, et al.** Implications of potential cure in acute myelogenous leukemia: development of subsequent cancer and return to work. *Blood* 1997;90: 4719–24.
7. **Estey EH.** Treatment of acute myelogenous leukemia. *Oncology (Williston Park)*.2002;16:343-52
8. **Hartmann G, Kim H, Piquette-Miller M.** Regulation of the hepatic multidrug resistance gene expression by endotoxin and inflammatory cytokines in mice. *Int Immunopharmacol* 2001;1:189–199
9. **Leith CP, Kopecky KJ, Chen IM, et al.** Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug resistance proteins MDR1/P-glycoprotein, MRP1, and

- LRP in acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group Study. *Blood* 1999;94:1086–1099.
10. **Illmer T, Schuler US, Thiede C, et al.** MDR1 gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients. *Cancer Res* 2002;62(17):4955-62
  11. **Verhaak RG, Valk PJ.** Genes predictive of outcome and novel molecular classification schemes in adult acute myeloid leukemia. *Cancer Treat Res* 2010;145:67-83
  12. **Kim DH, Park JY, Sohn SK, et al.** Multidrug resistance-1 gene polymorphisms associated with treatment outcomes in de novo acute myeloid leukemia. *Int J Cancer* 2006;118(9):2195-201.
  13. **Gottesman MM, Fojo T, Bates SE.** Multidrug resistance in cancer: Role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer* 2002;2:48-58
  14. **Huang Y.** Pharmacogenetics/genomics of membrane transporters in cancer chemotherapy. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26:183-201
  15. **Dahl GV, Lacayo NJ, Brophy N, et al.** Mitoxantrone, etoposide, and cyclosporine therapy in pediatric patients with recurrent or refractory acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2000;18:1867-75
  16. **Fujimaki S, Funato T, Harigae H, et al.** Quantitative analysis of a MDR1 transcript for prediction of drug resistance in acute leukemia. *Clin Chem* 2002;48(6 Pt 1):811-7.
  17. **Gsur A, Zöchbauer S, Götzl M, Kyrle PA, Lechner K, Pirker R.** MDR1 RNA expression as a prognostic factor in acute myeloid leukemia: an update. *Leuk Lymphoma* 1993;12:91-4.
  18. **Gruber A, Vitols S, Norgren S, et al.** Quantitative determination of *mdr1* gene expression in leukaemic cells from patients with acute leukaemia. *Br J Cancer* 1992;66:266-72

19. **Guenova ML, Balatzenko GN, Nikolova VR, Spassov BV, Konstantinov SM.** An anti-apoptotic pattern correlates with multidrug resistance in acute myeloid leukemia patients: a comparative study of active caspase-3, cleaved PARPs, Bcl-2, Survivin and MDR1 gene. *Hematology* 2010;15(3):135-43
20. **Huh HJ, Park CJ, Jang S, et al.** Prognostic significance of multidrug resistance gene 1 (MDR1), multidrug resistance-related protein (MRP) and lung resistance protein (LRP) mRNA expression in acute leukemia. *J Korean Med Sci* 2006;21(2):253-8
21. **Hunault M, Zhou D, Delmer A, et al.** Multidrug resistance gene expression in acute myeloid leukemia: major prognosis significance for in vivo drug resistance to induction treatment. *Ann Hematol* 1997;74:65-71
22. **Hur EH, Lee JH, Lee MJ, et al.** C3435T polymorphism of the MDR1 gene is not associated with P-glycoprotein function of leukemic blasts and clinical outcome in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2008;32(10):1601-4.
23. **Ho MM, Hogge DE, Ling V.** MDR1 and BCRP1 expression in leukemic progenitors correlates with chemotherapy response in acute myeloid leukemia. *Exp Hematol* 2008;36:433-42
24. **Lin SF, Huang SM, Chen TP, Chang CS, Liu TC, Wang SJ, Liu HW.** MDR1 gene expression in acute myeloid leukemia: clinical correlation. *J Formos Med Assoc* 1995;94:111-6.
25. **Monzo M, Brunet S, Urbano-Ispizua A, et al.** CETLAM. Genomic polymorphisms provide prognostic information in intermediate-risk acute myeloblastic leukemia. *Blood* 2006;107:4871-9.
26. **Petti MC, Tafuri A, Latagliata R, et al.** High-dose hydroxyurea in the treatment of poor-risk myeloid leukemias. *Ann Hematol* 2003;82(8):476-80.

27. **Sato H, Preisler H, Day R, et al.** MDR1 transcript levels as an indication of resistant disease in acute myelogenous leukaemia. *Br J Haematol* 1990;75:340-5.
28. **Schaich M, Harbich-Brutscher E, Pascheberg U, et al.** Association of specific cytogenetic aberrations with *mdr1* gene expression in adult myeloid leukemia and its implication in treatment outcome. *Haematologica* 2002;87:455-64.;
29. **Tan Y, Li G, Zhao C, et al.** Expression of sorcin predicts poor outcome in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2003;27(2):125-31
30. **Trnková Z, Bedrlíková R, Marková J, Michalová K, Stöckbauer P, Schwarz J.** Semiquantitative RT-PCR evaluation of the MDR1 gene expression in patients with acute myeloid leukemia. *Neoplasma* 2007;54:383-90.
31. **Van den Heuvel-Eibrink MM, van der Holt B, Burnett AK, et al.** CD34-related coexpression of MDR1 and BCRP indicates a clinically resistant phenotype in patients with acute myeloid leukemia (AML) of older age. *Ann Hematol* 2007;86:329-37
32. **Van der Holt B, Van den Heuvel-Eibrink MM, Van Schaik RH, et al.** ABCB1 gene polymorphisms are not associated with treatment outcome in elderly acute myeloid leukemia patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;80:427-39.
33. **Venditti A, Del Poeta G, Maurillo L, et al.** Combined analysis of *bcl-2* and MDR1 proteins in 256 cases of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2004;89(8):934-9.
34. **Wells RJ, Odom LF, Gold SH, et al.** Cytosine arabinoside and mitoxantrone treatment of relapsed or refractory childhood leukemia: initial response and relationship to multidrug resistance gene 1. *Med Pediatr Oncol* 1994;22:244-9.
35. **Zintzaras E, Lau J.** Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches. *J Clin Epidemiol* 2008;61:634–645

36. **DerSimonian R, Laird N.** Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986;7:177-88
37. **Hedges LV, Olkin I.** Statistical methods for meta-analysis. Orlando: Academic Press 1985
38. **Whitehead A.** Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials. 2002. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
39. **Zintzaras E.** The generalized odds ratio as a measure of genetic risk effect in the analysis and meta-analysis of association studies. *Stat Appl Genet Mol Biol* Vol. 2010;9: Iss. 1, Article 21.
40. **Zintzaras E.** The power of generalized odds ratio in assessing association in genetic studies with known mode of inheritance. *J Appl Stat* 2012;39(12):2569-2581
41. **Cochran WG.** Some methods for strengthening the common  $\chi^2$  tests. *Biometrics* 1954;10, 417-451
42. **Higgins JP, Thompson SG.** Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 2002;21:1539-58.2
43. **Zintzaras E, Ioannidis JP.** Heterogeneity testing in meta-analysis of genome searches. *Genet Epidemiol* 2005;28:123-37
44. **Zintzaras E, Lau J.** Trends in meta-analysis of genetic association studies. *J Hum Genet* 2008;53:1-9.
45. **Harbord RM, Egger M, Sterne JA.** A modified test for small-study effects in meta-analyses of controlled trials with binary endpoints. *Stat Med* 2006;25:3443-3457
46. **Zintzaras E, Kitsios GD.** Synopsis and synthesis of candidate-gene association studies in chronic lymphocytic leukemia: the CUMAGAS-CLL information system. *Am J Epidemiol* 2009;170:671-8.



47. **Zintzaras E, Doxani C, Ziogas DC, Mprotsis T, Rodopoulou P, Karachalios T.** Bone mineral density and genetic markers involved in three connected pathways (focal adhesion, actin cytoskeleton regulation and cell cycle): the CUMAGAS-BMD information system. *Biomarkers* 2011;16:698-708.
48. **Cascorbi I.** P-glycoprotein: tissue distribution, substrates, and functional consequences of genetic variations. *Handb Exp Pharmacol* 2011;201: 261-83
49. **Kitsios GD, Zintzaras E.** Genomic convergence of genome-wide investigations for complex traits. *Ann Hum Genet* 2009;73:514-9.
50. **Chauhan PS, Bhushan B, Singh LC, et al.** Expression of genes related to multiple drug resistance and apoptosis in acute leukemia: response to induction chemotherapy. *Exp Mol Pathol.*;92(1):44-9.
51. **Hart SM, Ganeshaguru K, Scheper RJ, et al.** Expression of the human major vault protein LRP in acute myeloid leukemia. *Exp Hematol.* 1997;25(12):1227-32
52. **Xu D, Areström I, Virtala R, et al.** High levels of lung resistance related protein mRNA in leukaemic cells from patients with acute myelogenous leukaemia are associated with inferior response to chemotherapy and prior treatment with mitoxantrone. *Br J Haematol.* 1999;106(3):627-33

## Ενότητα 4. Ποιοτική αξιολόγηση των μελετών

### 4.1. Εισαγωγή

Ο αριθμός των φαρμακογονιδιακών μελετών αυξάνεται και θα συνεχίσει να αυξάνεται. Παρατηρείται όμως χαμηλή αναπαραγωγιμότητα των αποτελεσμάτων των μελετών αυτών και αυτό αποτελεί ένα σημαντικό σημείο προβληματισμού [1, 2]. Παρόλο που έχουν δοθεί αρκετές πιθανές εξηγήσεις (όπως πληθυσμιακή στρωματοποίηση, εσφαλμένο χαρακτηρισμό των αποτελεσμάτων, αλληλική ετερογένεια), μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι οι πιο πιθανές αιτίες χαμηλής αναπαραγωγιμότητας είναι ο κακός σχεδιασμός, η πολυπλοκότητα των στατιστικών ελέγχων και η εσφαλμένη μετάφραση των «αρνητικών» αποτελεσμάτων [1-3].

Η ποιότητα της έρευνας έχει επανειλημμένα ανασκοπηθεί στο πεδίο των κλινικών μελετών και τα αποτελέσματα αυτών των κριτικών υποδεικνύουν ότι η πληροφορία που παρέχεται στις δημοσιεύσεις είναι πολύ συχνά ανεπαρκής ή ανακριβής [4-6]. Ως συνέπεια αυτού, έχουν γίνει προσπάθειες να βελτιωθεί η ποιότητα του σχεδιασμού, της ανάλυσης και της αναφοράς των κλινικών μελετών [7-10] με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Πρόσφατα, έχουν καταδειχθεί σημαντικά προβλήματα στις δημοσιεύσεις μελετών συσχέτισεων γενετικών δεικτών- νοσημάτων [11].

Παρόλα αυτά η ποιότητα των φαρμακογονιδιακών μελετών δεν έχει συστηματικά εκτιμηθεί [12]. Δεδομένου της ιδιαίτερης σημασίας των μελετών αυτών, της χαμηλής αναπαραγωγιμότητας και των προαναφερθέντων προβληματισμών σχετικά με τον σχεδιασμό και την ανάλυση, πρόσφατα δημοσιεύθηκε μια συστηματική ανασκόπηση με σκοπό να αναλύσει την πληροφορία που παρέχεται από τις δημοσιεύσεις των φαρμακογενετικών μελετών [12]. Στην ανασκόπηση αυτή έγινε μια προσπάθεια ποσοτικοποίησης του

σχεδιασμού των μελετών και των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων στατιστικών μεθόδων καθώς και των πολλαπλών ελέγχων και μετρήσεων που πιθανόν να εφαρμόζονται. Από την ανασκόπηση αυτή φάνηκε ότι υπάρχουν σημαντικά περιθώρια βελτίωσης στην φαρμακογονιδιωματική έρευνα και στην αναφορά των μελετών αυτών στις δημοσιεύσεις.

Σκοπός της ενότητας αυτής, με βάση τα παραπάνω είναι η μεθοδολογική ανάλυση της ποιότητας αναφοράς των φαρμακογονιδιωματικών μελετών που χρησιμοποιήθηκαν στις προηγούμενες ενότητες.

## 4.2 Μέθοδοι

Οι δημοσιεύσεις που χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις που παρουσιάστηκαν στις τρεις προηγούμενες ενότητες ανά ενότητα συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση ποιότητας αυτή. Τα στοιχεία που εξάχθηκαν από κάθε μία καθορίστηκαν από αναφορές και συστάσεις από τη βιβλιογραφία [12-16] και ήταν τα εξής:

### 1. *Ο χαρακτηρισμός του σχεδιασμού της μελέτης*

Είναι πολύ σημαντικό οι δημοσιεύσεις να προσδιορίζουν το είδος της μελέτης που περιγράφουν (όπως μελέτη κοορτής, μελέτη ασθενών- ομάδας ελέγχου [case-control] κτλ.) και να αποφεύγονται προσδιορισμοί όπως αναδρομική ή προδρομική [17]. Ο σχεδιασμός της μελέτης δίνει σημαντική πληροφορία ιδιαίτερα όταν πρόκειται να εξηγηθούν τα αποτελέσματα. Παρόλο που οι λεπτομέρειες του σχεδιασμού είναι εξίσου σημαντικές, περιορίστηκε η ανάλυση στην αναφορά του χαρακτηρισμού της μελέτης στις μεθόδους ή σε οποιοδήποτε σημείο της δημοσίευσης.

### 2. *Προγραμματισμένο μέγεθος του δείγματος και προσδιορισμός του μεγέθους του δείγματος*

Θα πρέπει να αναφέρεται ο προσδιορισμός του μεγέθους του δείγματος και πώς κατέληξαν οι ερευνητές σε αυτό το μέγεθος, ακόμη και αν δεν πρόκειται για τυπικούς

υπολογισμούς δείγματος. Καταγράφηκε η αναφορά του υπολογισμού αυτού με δυαδικό τρόπο (ναι/όχι) αλλά και το τελικό μέγεθος δείγματος.

### 3. *Αριθμός ασθενών που έλαβαν θεραπεία και αριθμός ασθενών που αναλύθηκαν*

Σε οποιαδήποτε μελέτη ο αριθμός αυτών που αναλύθηκαν μπορεί να διαφέρει από αυτούς που αρχικά έλαβαν θεραπεία ή ήταν προγραμματισμένο να λάβουν. Ο αριθμός αυτός σε κάθε φάση θα πρέπει να αναφέρεται καθώς αυτή η πληροφορία είναι σημαντική όταν θα εκτιμηθούν πιθανές αιτίες μεροληψίας. Για το λόγο αυτό θα πρέπει η φαρμακογονιδιωματικές μελέτες να παρέχουν αυτά τα δεδομένα. Βέβαια, καθώς οι μελέτες αυτές μπορεί να αναλύουν περισσότερους από έναν γενετικούς δείκτες και για τον κάθε ένα από αυτούς ο αριθμός των ασθενών που αναλύθηκαν να διαφέρει, για λόγους απλούστευσης καταγράφηκε ο μέγιστος αριθμός που αναλύθηκε και αναφέρεται στη δημοσίευση.

### 4. *Αριθμός των συσχετίσεων που εκτιμήθηκαν*

Συχνά οι φαρμακογονιδιωματικές μελέτες διερευνούν περισσότερες από μιας συσχετίσεις που μπορούν να αφορούν α) περισσότερους από έναν γενετικούς δείκτες, β) περισσότερες από μια μεταβλητές ανταπόκρισης (π.χ. απάντηση σε τέσσερις εβδομάδες ή σε οκτώ εβδομάδες από την έναρξη της θεραπείας), γ) διαφορετικούς πληθυσμούς ή υποπληθυσμούς (π.χ. όλοι, λευκοί, γυναίκες, άνδρες κτλ.), δ) διαφορετικές θεραπείες. Συνεπώς, για να υπολογισθεί το συγκεκριμένο πεδίο υπολογίσθηκαν μια σχέση για κάθε συνδυασμό για κάθε έναν από αυτούς τους παράγοντες με τη μορφή  $\alpha*\beta*\gamma*\delta=X$ .

### 5. *Στατιστική ανάλυση*

Οι ερευνητές πρέπει να προκαθορισουν τις αναλύσεις στο πρωτόκολλο μιας μελέτης, τουλάχιστον για τον κύριο στόχο της μελέτης. Οι φαρμακογονιδιωματικές μελέτες με διχοτομική ανταπόκριση (απάντηση/ όχι απάντηση) μπορούν να αναλυθούν με πολλούς τρόπους, όπως Pearson's  $\chi^2$  test, το Fisher's exact test, το Cochran–Armitage (CA) trend test ή απλή (μονοπαραγοντική λογιστική παλινδρόμηση καθώς και άλλες. Όποια μέθοδος και αν

ακολουθηθεί, τα αποτελέσματα θα πρέπει να αναφερθούν ως εκτίμηση ενός μέτρου συσχέτισης και η ακρίβειά του (π.χ 95% διάστημα εμπιστοσύνης) από την τιμή του P [17, 18].

Για κάθε μελέτη που χρησιμοποιήθηκε στις αναλύσεις που περιγράφηκαν στις προηγούμενες ενότητες καταγράφηκαν, σύμφωνα και με πρόσφατες αντίστοιχες αναλύσεις [12, 14] εάν υπήρχε προκαθορισμός της στατιστικής ανάλυσης με δυαδικό σύστημα απάντησης (ναι/όχι), καθώς και οι αναφερόμενες μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν. Επίσης καταγράφηκε και η εφαρμογή του ελέγχου HWE (ναι/όχι).

#### *6. Πολλαπλός έλεγχος και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τη διαχείριση της πολλαπλότητας*

Αναφέρεται στην επαναλαμβανόμενη χρήση στατιστικών ελέγχων και την συνεπαγόμενη αύξηση του συνολικού ρυθμού σφάλματος τύπου I. Η πολλαπλότητα των αναλύσεων πρέπει να ληφθεί υπόψη κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Στις φαρμακογονιδιωματικές μελέτες, η πολλαπλότητα μπορεί να συμβεί λόγω των πολλαπλών συσχετίσεων που αξιολογούνται, ή λόγω των πολλαπλών αναλύσεων μιας συσχέτισης ή λόγω και των δύο. Για το λόγο αυτόν καταγράφηκε η πολλαπλότητα των ελέγχων ως δυαδική παράμετρος (ναι/όχι) λαμβάνοντας υποψη και τους εξής λόγους: 1. Ανάλυση Πολλαπλών συσχετίσεων, 2. Ανάλυση και του γονότυπου αλλά και των συχνοτήτων των αλληλίων, 3. Ανάλυση Πολλαπλών συσχετίσεων και Ανάλυση και του γονότυπου αλλά και των συχνοτήτων των αλληλίων (1 και 2 μαζί), 4. Πολλαπλές μέθοδοι ανάλυσης των συχνοτήτων των γονοτύπων, 5. Πολλαπλές μέθοδοι ανάλυσης των συχνοτήτων των αλληλίων, 6. Πολλαπλές μέθοδοι ανάλυσης των συχνοτήτων των γονοτύπων και των συχνοτήτων των αλληλίων (4 και 5 μαζί). Επίσης στην περίπτωση που υπήρχε πολλαπλότητα καταγράφηκε και η αιτία της με έναν από τους παραπάνω 6 προσδιορισμούς.

### 4.3 Αποτελέσματα

#### 1. Ο χαρακτηρισμός του σχεδιασμού της μελέτης

Ο χαρακτηρισμός του σχεδιασμού των μελετών έλειπε στην πλειονότητα των μελετών. Συγκεκριμένα, στις μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στην ΧΛΛ δινόταν μόνο στις επτά (7/31), στην ενότητα του ΜΔΣ στις πέντε (5/24) όπως και στην ενότητα της ΟΜΛ (5/24). Παρατηρούμε λοιπόν ότι σε ένα ποσοστό περίπου 80% (77-79%) δεν αναφέρεται το είδος της μελέτης. Βέβαια, ακόμη και σε όσες δεν αναφέρεται σαφώς ο σχεδιασμός της μελέτης είτε περιγραφικά με την καταγραφή της στιγμής της ανάλυσης είτε μόνο με τη χρήση των όρων «αναδρομικά» και «προδρομικά» διαπιστώθηκε ότι για τη ΧΛΛ το 60% των μελετών (19/31) ήταν προδρομικές μελέτες, ενώ το 35% ήταν αναδρομικές (11/31) και στις υπόλοιπες δεν γινόταν καμία αναφορά. Για το ΜΔΣ τα ποσοστά αυτά ήταν 58% (14/24), 21% (5/24) αντίστοιχα ενώ στις υπόλοιπες δεν γινόταν αναφορά. Όσο αφορά την ΟΜΛ, 63% (15/24) ήταν προδρομικές, μόνο μία μελέτη ήταν αναδρομική (1/24) και για τις υπόλοιπες (8/24) δεν υπήρχε σαφής περιγραφή ή χαρακτηρισμός. Παρατηρούμε λοιπόν ότι ο χαρακτηρισμός των μελετών υστερεί πολύ στην αναφορά των φαρμακογονιδιακών μελετών, γεγονός που δυσχεραίνει την ορθή αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

#### 2. Προγραμματισμένο μέγεθος του δείγματος και προσδιορισμός του μεγέθους του δείγματος

Το προκαθορισμένο μέγεθος του δείγματος με τον τυπικό υπολογισμό του αναφέρθηκε σε μόλις επτά μελέτες από το σύνολο των 79 που χρησιμοποιήθηκαν και στις τρεις ενότητες, εκ των οποίων πέντε για τη ΧΛΛ, δύο για το ΜΔΣ και καμία για την ΟΜΛ. Θα πρέπει βέβαια να σχολιαστεί ότι οι περισσότερες μελέτες περιέγραφαν δεδομένα φαρμακογονιδιακών αναλύσεων από ομάδες ασθενών που συμμετείχαν σε κλινικές μελέτες

φάσης II και III και συνεπώς χρησιμοποιήθηκαν όλοι οι ασθενείς από τους οποίους είχε κρατηθεί γενετικό υλικό για ανάλυση.

### *3. Αριθμός ασθενών που έλαβαν θεραπεία και αριθμός ασθενών που αναλύθηκαν*

Ο αριθμός των ασθενών που έλαβαν θεραπεία στις μελέτες για τη ΧΛΛ ποικίλε από 13 ασθενείς [19] μέχρι 1595 που συμπεριέλαβε μια αναδρομική μελέτη [20]. Για το ΜΔΣ η μικρότερη μελέτη συμπεριέλαβε 20 ασθενείς [21] ενώ η μεγαλύτερη 705 [22]. Στις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση για την ΟΜΛ το εύρος κυμαινόταν από 15 [23] μέχρι 405 ασθενείς [24]. Ο αριθμός των ασθενών που αναλύθηκαν σε σχέση με αυτούς που έλαβαν θεραπεία δεν είχε διαφορά καθώς στις περισσότερες μελέτες συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση οι ασθενείς από μεγάλες σειρές κλινικών μελετών για τους οποίους υπήρχε γενετικό υλικό για ανάλυση.

### *4. Αριθμός των συσχετίσεων που εκτιμήθηκαν*

Στη ΧΛΛ το εύρος των συσχετίσεων που μελετήθηκε κυμαινόταν από 1 έως 24 με μια μέση τιμή 6 σχέσεων ανά δημοσίευση. Έξι μελέτες [25-30] εκτίμησαν περισσότερες από μια θεραπείες, ενώ 23 δημοσιεύσεις [25-30, 31-47] εκτίμησαν περισσότερους από έναν γενετικούς δείκτες.

Στο ΜΔΣ το εύρος των συσχετίσεων που μελετήθηκε κυμαινόταν από 1 έως 28 με μια μέση τιμή περίπου 6 σχέσεων ανά δημοσίευση. Μόλις τρεις μελέτες [21, 48, 49] εκτίμησαν περισσότερες από μια θεραπείες, ενώ 25 δημοσιεύσεις [21, 22, 48-63] εκτίμησαν περισσότερους από έναν γενετικούς δείκτες.

Όσο αφορά τις μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση για την ΟΜΛ, το εύρος των συσχετίσεων που μελετήθηκε κυμαινόταν από 1 έως 8 με μια μέση τιμή περίπου 2 σχέσεων ανά δημοσίευση. Μόλις δύο μελέτες [64, 65] εκτίμησαν περισσότερες από μια

θεραπείες, ενώ 10 δημοσιεύσεις [24, 64-73] εκτίμησαν περισσότερους από έναν γενετικούς δείκτες.

#### 5. Στατιστική ανάλυση

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τη στατιστική ανάλυση περιγραφόταν στην πλειονότητα των δημοσιεύσεων. Μόλις δέκα δημοσιεύσεις δεν περιέγραφαν αναλυτικά τον τρόπο που θα γινόταν η ανάλυση των δεδομένων, μόνο μία για τη ΧΛΛ [74], έξι για το ΜΔΣ [21, 49, 52, 59, 75, 76] και τρεις για την ΟΜΛ [77-79]. Η κυριότερη και πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική ανάλυσης ήταν το Fisher's exact test. Σχετικά με την ανάλυση για ανισοροπία σύνδεσης (Hardy Weinberg Equilibrium- HWE) δεν εφαρμόστηκε παρά μόνο σε δύο μελέτες [64, 80] για την ΟΜΛ. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι δεν μελετούσαν όλες οι μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν γονότυπους ώστε να μπορεί να έχει εφαρμογή.

#### 6. Πολλαπλός έλεγχος και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τη διαχείριση της πολλαπλότητας

Στις μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις των προηγούμενων ενοτήτων, ο έλεγχος για την πολλαπλότητα των ελέγχων έδειξε ότι για τη ΧΛΛ στο 50% (16/31) είχε γίνει με κύρια μεθοδολογία την ανάλυση πολλαπλών συσχετίσεων (δηλαδή την ανάλυση δεδομένων για ταυτόχρονη έκφραση περισσότερων του ενός δεικτών) (14/16). Στην ανάλυση για το ΜΔΣ, υπήρχε μιας μορφής πολλαπλότητα αναλύσεων σε ποσοστό 46% (11/24) με κύρια μορφή την ανάλυση πολλαπλών συσχετίσεων όπως και στη ΧΛΛ (8/11). Ενώ οι μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν στην ΟΜΛ περιείχαν πολλαπλούς ελέγχους σε ποσοστό 58% (14/24) και εδώ με κύρια μορφή την ανάλυση πολλαπλών δεικτών (11/24).

Αξίζει επίσης να αναφέρουμε ότι οι περισσότερες μελέτες περιέγραφαν την μεθοδολογία για την γονοτύπηση των δειγμάτων τους ή την μέτρηση της έκφρασής τους.



Συγκεκριμένα, εννέα από τις μελέτες για την ΧΛΛ, τέσσερις για το ΜΔΣ και μόλις μία για την ΟΜΛ δεν έδιναν στοιχεία για τη διαδικασία αυτή.

Στον πίνακα 4.1 φαίνονται συνοπτικά τα αποτελέσματα της ποιοτικής αυτής αξιολόγησης των μελετών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή.

ΕΡΩΤΗΜΑ	ΧΛΛ	ΜΔΣ	ΟΜΛ	ΣΥΝΟΛΙΚ Α
Χαρακτηρισμός του σχεδιασμού της μελέτης	7/31	5/24	5/24	17/79 (20%)
Προγραμματισμένο μέγεθος του δείγματος και προσδιορισμός του μεγέθους του δείγματος	5/31	2/24	0/24	7/79 (8%)
Αριθμός ασθενών που έλαβαν θεραπεία και αριθμός ασθενών που αναλύθηκαν	13-1595	20-705	15-405	
Αριθμός των συσχετίσεων που εκτιμήθηκαν, μέση τιμή (ελάχιστη- μέγιστη)	6 (1-24)	6 (1-28)	2 (1-8)	
Στατιστική ανάλυση	30/31	18/24	21/24	69/79 (87%)
Πολλαπλός έλεγχος και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τη διαχείριση της πολλαπλότητας	16/31*	11/24 **	14/24 ***	
Περιγραφή μεθοδολογίας γονοτύπωσης ή έκφρασης	22/31	20/24	23/24	65/69 (94%)

**Πίνακας 4.1** Τα ερωτήματα για την ανάλυση ποιότητας και τα αποτελέσματα ανά ενότητα και συνολικά

\*14/16 ανάλυση δεδομένων για ταυτόχρονη έκφραση περισσότερων του ενός δεικτών

\*\*8/11 ανάλυση δεδομένων για ταυτόχρονη έκφραση περισσότερων του ενός δεικτών

\*\*\*11/24 ανάλυση πολλαπλών δεικτών

#### 4.4 Συζήτηση

Από την παραπάνω ανάλυση φαίνεται ότι υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση στην αναφορά και την παρουσίαση δεδομένων φαρμακογονιδιακών μελετών, σε συνέπεια με τις προηγούμενες αντίστοιχες ποιοτικές αναλύσεις [12, 14]. Καταρχήν ο χαρακτηρισμός του σχεδιασμού της μελέτης λείπει στην πλειονότητα των δημοσιεύσεων, ενώ και αριθμός των ασθενών που αναλύθηκαν είναι γενικά μικρός για να ανιχνεύσει μέτριες συσχετίσεις [81, 82]. Επίσης, πολλαπλότητα των αναλύσεων υπήρχε σε ικανοποιητικό αριθμό μελετών παρόλο που αντιμετώπιστηκε με πιο συντηρητικό τρόπο. Βεβαίως, θα πρέπει να αναφερθεί ότι πολλές

μελέτες δεν μελετούσαν γενετικούς πολυμορφισμούς και ίσως οι επιλεγμένες κατηγορίες πολλαπλότητας να μην κάλυπταν ικανοποιητικά το εύρος αυτό.

Από την ανασκόπηση των μελετών που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση των επιμέρους ενοτήτων παρατηρήθηκε επίσης ότι το μεγαλύτερο μέρος αυτών ήταν αναλύσεις ομάδας ασθενών που συμμετείχαν σε μεγάλες σειρές κλινικών μελετών και για τα τους οποίους υπήρχε γενετικό υλικό για ανάλυση. Συνεπώς, οι μελέτες αυτές δεν σχεδιάστηκαν εξαρχής ως φαρμακογονιδιακές μελέτες, γεγονός που σε ένα βαθμό εξηγεί τους περιορισμούς που αναλύθηκαν παραπάνω.

Καθώς η τεχνολογία των γενετικών αναλύσεων εξελίσσεται και πιο εκτεταμένες διερευνητικές αναλύσεις διεξάγονται, η ανάγκη για καλά σχεδιασμένες, επιβεβαιωτικές μελέτες για τα υποψήφια γονίδια γίνεται πιο επιτακτική. Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας οι επιβεβαιωτικές μελέτες να είναι πραγματικά επιβεβαιωτικές. Ωστόσο, αυτό θα επιτευχθεί μόνο μέσω του πλήρους προκαθορισμού της ανάλυσης, τη διάκριση μεταξύ κύριας και δευτερεύουσας ανάλυσης, την προσαρμογή των πολλαπλών αναλύσεων όταν προβλέπονται περισσότερες από μια αναλύσεις και φυσικά ικανοποιητικό μέγεθος δείγματος. Από αυτή την άποψη, η φαρμακογονιδιακή έρευνα μπορεί πιθανόν να βελτιωθεί ακολουθώντας την καθιερωμένη πρακτική του πεδίου των κλινικών μελετών: 1) να προκαθοριστεί η κύρια ανάλυση σε ένα ερευνητικό πρωτόκολλο, 2) να γίνει υπολογισμός μεγέθους δείγματος για να εξασφαλιστεί ότι η κύρια ανάλυση είχε ικανοποιητική δύναμη, 3) όταν αναφέρονται αποτελέσματα σε δημοσίευση να αναλύονται τόσο η κύρια ανάλυση όσο και ο υπολογισμός του δείγματος και να διακρίνονται από τις δευτερεύουσες. Επιπλέον, θα πρέπει και στο πεδίο των φαρμακογονιδιωματικών μελετών να καθοριστούν ακριβή πρότυπα ποιότητας για τη δημοσίευσή τους στα πρότυπα των εργαλείων ποιότητας των κλινικών μελετών (CONSORT, STROBE, STREGA) [7-10, 13, 17, 18].

#### 4.5 Βιβλιογραφία

1. **Colhoun HM, McKeigue PM, Davey Smith G.** Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 2003; 361(9360):865–872.
2. **Ryan SG.** Regression to the truth: replication of association in pharmacogenetic studies. *Pharmacogenomics* 2003; 4(2):201–207.
3. **Lalouel JM, Rohrwasser A.** Power and replication in case–control studies. *Am J Hypertens* 2002; 15(2 Pt 1):201–205.
4. **Adetugbo K, Williams H.** How well are randomized controlled trials reported in the dermatology literature? *Arch Dermatol* 2000; 136(3):381–385.
5. **DerSimonian R, Charette LJ, McPeck B, Mosteller F.** Reporting on methods in clinical trials. *N Engl J Med* 1982; 306(22):1332–1337.
6. **Moher D, Dulberg CS, Wells GA.** Statistical power, sample size, and their reporting in randomized controlled trials. *JAMA* 1994; 272(2):122–124.
7. **Begg C, Cho M, Eastwood S, Horton R, Moher D, Olkin I, et al.** Improving the quality of reporting of randomized controlled trials: the CONSORT statement. *JAMA* 1996; 276(8):637–639.
8. **Schulz KF, Altman DG, Moher D; CONSORT Group.** CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Intern Med* 2010; 152(11):726–732.
9. **Moher D, Hopewell S, Schulz KF, et al.;** Consolidated Standards of Reporting Trials Group. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *J Clin Epidemiol* 2010; 63(8):e1–e37.

10. **Moher D, Schulz KF, Altman DG.** The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel group randomized trials. *Lancet* 2001; 357(9263):1191–1194
11. **Ioannidis JP, Gwinn M, Little J, et al.** A road map for efficient and reliable human genome epidemiology. *Nat Genet* 2006; 38(1):3–5.
12. **Cobos A, Sánchez P, Aguado J, Carrasco JL.** Methodological quality in pharmacogenetic studies with binary assessment of treatment response: a review. *Pharmacogenet Genomics*. 2011;21(5):243-50.
13. **Little J, Higgins PT, Ioannidis J, et al.** Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies (STREGA): an extension of the STROBE statement. *Genet Epidemiol* 2009; 33(7):581–598.
14. **Jorgensen AL, Williamson P.** Methodological quality of pharmacogenetics studies: Issues of concern. *Stat Med* 2008; 27(30):6547–6569.
15. **Donahue MP, Kraus WE.** Genetic associations studies; the good, the bad, and the ugly. *Am Heart J* 2007; 154(4):610–612.
16. **Ring HZ, Kroetz DL.** Candidate gene approach for pharmacogenetics studies. *Pharmacogenomics* 2002; 3(1):47–56
17. **Vandenbroucke JP, von Elm E, Altman DG, et al.** Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Ann Intern Med* 2007; 147(8):W163–W194.
18. **Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP; STROBE Initiative.** The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Bull World Health Organ* 2007; 85(11):867–872.

19. **Saxena A, Moshynska O, Sankaran K, et al.** Association of a novel single nucleotide polymorphism, G(-248)A, in the 5'-UTR of BAX gene in chronic lymphocytic leukemia with disease progression and treatment resistance. *Cancer Lett.* 2002;187(1-2):199-205
20. **Falchi L, Keating MJ, Wang X, et al.** Clinical characteristics, response to therapy, and survival of African American patients diagnosed with chronic lymphocytic leukemia: joint experience of the MD Anderson Cancer Center and Duke University Medical Center. *Cancer.* 2013;119(17):3177-85
21. **Follo MY, Finelli C, Mongiorgi S, et al.** Synergistic induction of PI-PLC $\beta$ 1 signaling by azacitidine and valproic acid in high-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia.* 2011;25(2):271-80
22. **McGraw KL, Zhang LM, Rollison DE et al.** The relationship of TP53 R72P polymorphism to disease outcome and TP53 mutation in myelodysplastic syndromes. *Blood Cancer J.* 2015;5:e291
23. **Wells RJ, Odom LF, Gold SH, et al.** Cytosine arabinoside and mitoxantrone treatment of relapsed or refractory childhood leukemia: initial response and relationship to multidrug resistance gene 1. *Med Pediatr Oncol* 1994;22(4):244-9
24. **Illmer T, Schuler US, Thiede C, et al.** MDR1 gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients. *Cancer Res* 2002;62(17): 4955-62
25. **Foà R, Del Giudice I, Cuneo A, et al.** Chlorambucil plus rituximab with or without maintenance rituximab as first-line treatment for elderly chronic lymphocytic leukemia patients. *Am J Hematol.* 2014;89(5):480-6
26. **Gonzalez D, Martinez P, Wade R, et al.** Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial. *J Clin Oncol.* 2011;29(16):2223-9

27. **Hallek, M. et al.** Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2010;376(9747):1164-74
28. **Oscier D, Wade R, Davis Z, Morilla A, et al;** Chronic Lymphocytic Leukaemia Working Group, UK National Cancer Research Institute. Prognostic factors identified three risk groups in the LRF CLL4 trial, independent of treatment allocation. *Haematologica*. 2010;95(10):1705-12
29. **Skowronska A, Parker A, Ahmed G, et al.** Biallelic ATM inactivation significantly reduces survival in patients treated on the United Kingdom Leukemia Research Fund Chronic Lymphocytic Leukemia 4 trial. *J Clin Oncol*. 2012;30(36):4524-32.
30. **Zenz T, Eichhorst B, Busch R, et al.** TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28(29):4473-9
31. **Bo MD, Del Principe MI, Pozzo F, et al.** NOTCH1 mutations identify a chronic lymphocytic leukemia patient subset with worse prognosis in the setting of a rituximab-based induction and consolidation treatment. *Ann Hematol*. 2014;93(10):1765-74.
32. **Bosch F, Ferrer A, Villamor N, et al.** Fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia: high response rate and disease eradication. *Clin Cancer Res*. 2008;14(1):155-61.)
33. **Byrd JC, Gribben JG, Peterson BL, et al.** Select high-risk genetic features predict earlier progression following chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab in chronic lymphocytic leukemia: justification for risk-adapted therapy. *J Clin Oncol*. 2006 ;24(3):437-43.
34. **Chiaretti S, Marinelli M, Del Giudice I, et al.** NOTCH1, SF3B1, BIRC3 and TP53 mutations in patients with chronic lymphocytic leukemia undergoing first-line treatment:

- correlation with biological parameters and response to treatment. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(12):2785-92
35. **Del Poeta G, Del Principe MI, Consalvo MA, et al.** The addition of rituximab to fludarabine improves clinical outcome in untreated patients with ZAP-70-negative chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*. 2005;104(12):2743-52.
36. **Del Principe MI, Del Poeta G, Buccisano F, et al.** Clinical significance of ZAP-70 protein expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2006;108(3):853-61.
37. **el Rouby S, Thomas A, Costin D, et al.** p53 gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia is associated with drug resistance and is independent of MDR1/MDR3 gene expression. *Blood*. 1993;82(11):3452-9.
38. **Jamroziak K1, Szemraj J, Robak T, et al.** Cereblon expression predicts clinical response in chronic lymphocytic leukemia treated with a thalidomide/fludarabine regimen. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(3):808-10. doi: 10.3109/10428194.2014.933215. Epub 2014 Jul 17.
39. **Laurenti L, Tarnani M, De Padua L, et al.** Oral fludarabine and cyclophosphamide as front-line chemotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia. The impact of biological parameters in the response duration. *Ann Hematol*. 2008 Nov;87(11):891-8.
40. **Laurenti L, De Padua L, Tarnani M, et al.** Comparison between oral and intravenous fludarabine plus cyclophosphamide regime as front-line therapy in patients affected by chronic lymphocytic leukaemia: influence of biological parameters on the clinical outcome. *Ann Hematol*. 2011;90(1):59-65.
41. **Robak T, Jamroziak K, Gora-Tybor J, et al.** Comparison of cladribine plus cyclophosphamide with fludarabine plus cyclophosphamide as first-line therapy for

- chronic lymphocytic leukemia: a phase III randomized study by the Polish Adult Leukemia Group (PALG-CLL3 Study). *J Clin Oncol*. 2010;28(11):1863-9.
42. **Schnaiter A, Paschka P, Rossi M, et al.** NOTCH1, SF3B1, and TP53 mutations in fludarabine-refractory CLL patients treated with alemtuzumab: results from the CLL2H trial of the GCLLSG. *Blood*. 2013;122(7):1266-70.
43. **Stilgenbauer, S. & Zenz, T.** Understanding and managing ultra high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Hematol. Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010;2010:481-8. doi: 10.1182/asheducation-2010.1.481
44. **Valgañón M, Giraldo P, Agirre X, et al.** p53 Aberrations do not predict individual response to fludarabine in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia in advanced stages Rai III/IV. *Br J Haematol*. 2005;129(1):53-9
45. **Xu M, Fan L, Miao KR, Liu Pet al.** Comprehensive assessment of prognostic factors predicting outcome in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine and cyclophosphamide. *Med Oncol*. 2012;29(3):2102-10
46. **Xu W, Li JY, Wu YJ, et al.** Prognostic significance of ATM and TP53 deletions in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res*. 2008;32(7):1071-7
47. **Falantes JF, Trujillo P, Piruat JI, et al.** Overexpression of GYS1, MIF, and MYC is associated with adverse outcome and poor response to azacitidine in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2015;15(4):236-44)
48. **Jonasova A, Bokorova R, Polak J et al.** High level of full-length cereblon mRNA in lower risk myelodysplastic syndrome with isolated 5q deletion is implicated in the efficacy of lenalidomide. *Eur J Haematol*. 2015;95(1):27-34.



49. **Bejar R, Lord A, Stevenson K, et al.** TET2 mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients. *Blood*. 2014;124(17):2705-12.)
50. **Cocco L, Finelli C, Mongiorgi S.** An increased expression of PI-PLC $\beta$ 1 is associated with myeloid differentiation and a longer response to azacitidine in myelodysplastic syndromes. *J Leukoc Biol*. 2015;98(5):769-80.
51. **Daskalakis M, Nguyen TT, Nguyen C, et al.** Demethylation of a hypermethylated P15/INK4B gene in patients with myelodysplastic syndrome by 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) treatment. *Blood*. 2002;100(8):2957-64
52. **Fandy TE, Herman JG, Kerns P et al.** Early epigenetic changes and DNA damage do not predict clinical response in an overlapping schedule of 5-azacytidine and entinostat in patients with myeloid malignancies. *Blood*. 2009;114(13):2764-73
53. **Fili C, Malagola M, Follo MY, et al.** Prospective phase II Study on 5-days azacitidine for treatment of symptomatic and/or erythropoietin unresponsive patients with low/INT-1-risk myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res*. 2013;19(12):3297-308.
54. **Grövdal M, Khan R, Aggerholm A et al.** Negative effect of DNA hypermethylation on the outcome of intensive chemotherapy in older patients with high-risk myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia following myelodysplastic syndrome. *Clin Cancer Res*. 2007;13(23):7107-12
55. **Hong JY, Seo JY, Kim SH, et al.** Mutations in the Spliceosomal Machinery Genes SRSF2, U2AF1, and ZRSR2 and Response to Decitabine in Myelodysplastic Syndrome. *Anticancer Res*. 2015;35(5):3081-9
56. **Jädersten M1, Saft L, Smith A et al.** TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol*. 2011;29(15):1971-9.

57. **Meldi K, Qin T, Buchi F, Droin N, et al.** Specific molecular signatures predict decitabine response in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Invest.* 2015;125(5):1857-72
58. **Ravoet C, Mineur P, Robin V, et al.** Farnesyl transferase inhibitor (lonafarnib) in patients with myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukaemia: a phase II study. *Ann Hematol.* 2008;87(11):881-5.
59. **Saunthararajah Y, Sekeres M, Advani A, et al.** Evaluation of noncytotoxic DNMT1-depleting therapy in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Invest.* 2015;125(3):1043-55.
60. **Takahashi K, Patel K, Bueso-Ramos C, et al.** Clinical implications of TP53 mutations in myelodysplastic syndromes treated with hypomethylating agents. *Oncotarget.* 2016;7(12):14172-87.
61. **Thépot S, Ben Abdelali R, Chevret S et al.** A randomised phase II trial of azacitidine +/- epoetin beta in lower risk myelodysplastic syndromes if resistant to erythropoietic stimulating agents. *Haematologica.* 2016 . pii: haematol.2015.140988.
62. **Traina F, Visconte V, Elson P et al.** Impact of molecular mutations on treatment response to DNMT inhibitors in myelodysplasia and related neoplasms. *Leukemia.* 2014;28(1):78-87. doi: 10.1038/leu.2013.269.
63. **Van den Heuvel-Eibrink MM, van der Holt B, Burnett AK, et al.** CD34-related coexpression of MDR1 and BCRP indicates a clinically resistant phenotype in patients with acute myeloid leukemia (AML) of older age. *Ann Hematol* 2007;86(5):329-37
64. **Van der Holt B, Van den Heuvel-Eibrink MM, Van Schaik RH, et al.** ABCB1 gene polymorphisms are not associated with treatment outcome in elderly acute myeloid leukemia patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;80(5):427-39
65. **Guenova ML, Balatzenko GN, Nikolova VR, Spassov BV, Konstantinov SM.** An anti-apoptotic pattern correlates with multidrug resistance in acute myeloid leukemia patients:

- a comparative study of active caspase-3, cleaved PARPs, Bcl-2, Survivin and MDR1 gene. *Hematology* 2010;15(3):135-43
66. **Tan Y, Li G, Zhao C, et al.** Expression of sorcin predicts poor outcome in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2003;27(2):125-31
67. **Fujimaki S, Funato T, Harigae H, et al.** Quantitative analysis of a MDR1 transcript for prediction of drug resistance in acute leukemia. *Clin Chem* 2002;48(6 Pt 1):811-7.
68. **Huh HJ, Park CJ, Jang S, et al.** Prognostic significance of multidrug resistance gene 1 (MDR1), multidrug resistance-related protein (MRP) and lung resistance protein (LRP) mRNA expression in acute leukemia. *J Korean Med Sci* 2006;21(2):253-8
69. **Venditti A, Del Poeta G, Maurillo L, et al.** Combined analysis of bcl-2 and MDR1 proteins in 256 cases of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2004;89(8):934-9
70. **Xu D, Areström I, Virtala R, et al.** High levels of lung resistance related protein mRNA in leukaemic cells from patients with acute myelogenous leukaemia are associated with inferior response to chemotherapy and prior treatment with mitoxantrone. *Br J Haematol* 106(3):627–33
71. **Hart SM, Ganeshaguru K, Scheper RJ, et al.** Expression of the human major vault protein LRP in acute myeloid leukemia. *Exp Hematol* 25(12):1227–32.
72. **Chauhan PS, Bhushan B, Singh LC, et al.** Expression of genes related to multiple drug resistance and apoptosis in acute leukemia: response to induction chemotherapy. *Exp Mol Pathol* 92(1):44–9.
73. **Thornton PD, Matutes E, Bosanquet AG, et al.** High dose methylprednisolone can induce remissions in CLL patients with p53 abnormalities. *Ann Hematol.* 2003;82(12):759-65

74. **Sardnal V, Rouquette A, Kaltenbach S, et al.** A G polymorphism in the CRBN gene acts as a biomarker of response to treatment with lenalidomide in low/int-1 risk MDS without del(5q). *Leukemia*. 2013;27(7):1610-3
75. **Müller-Thomas C, Rudelius M, Rondak IC et al.** Response to azacitidine is independent of p53 expression in higher-risk myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2014;99(10):e179-81.
76. **Petti MC, Tafuri A, Latagliata R, et al.** High-dose hydroxyurea in the treatment of poor-risk myeloid leukemias. *Ann Hematol* 2003;82(8):476-80
77. **Fujimaki S, Funato T, Harigae H, et al.** Quantitative analysis of a MDR1 transcript for prediction of drug resistance in acute leukemia. *Clin Chem* 2002;48(6 Pt 1):811-7.
78. **Hur EH, Lee JH, Lee MJ, et al.** C3435T polymorphism of the MDR1 gene is not associated with P-glycoprotein function of leukemic blasts and clinical outcome in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2008;32(10):1601-4.
79. **Kim DH, Park JY, Sohn SK, et al.** Multidrug resistance-1 gene polymorphisms associated with treatment outcomes in de novo acute myeloid leukemia. *Int J Cancer* 2006;118(9):2195-201
80. **Slager SL, Schaid DJ.** Case–control studies of genetic markers: power and sample size approximations for Armitage’s test for trend. *Hum Hered* 2001; 52(3):149–153.
81. **Bromley C, Close S, Cohen N, et al.** Designing pharmacogenetic project in industry: practical design perspectives from the Industry Pharmacogenomics Working Group. *Pharmacogenomics J* 2009;9(1):14–22.

## Παράρτημα

### Περιλήψεις σχετικών δημοσιεύσεων υποψηφίου διδάκτορα

#### Ενότητα 3

**Biomarkers. 2013 Aug;18(5):425-35. doi: 10.3109/1354750X.2013.808263.**

**MDR1 mRNA expression and MDR1 gene variants as predictors of response to chemotherapy in patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis.**

**Doxani C, Voulgarelis M, Zintzaras E.**

#### Abstract

Data from 30 pharmacogenomic studies that investigated MDR1 mRNA expression or gene variants (C3435T, G2677TA, C1236T) and response to therapy in acute myeloid leukaemia (AML) were synthesized. Anthracycline-based regimens were mainly used. MDR1 mRNA overexpression was associated with poor response to therapy [odds ratio (OR) = 2.49 95% confidence interval (CI) 1.38-4.50]. The gene variants were not associated with response to treatment; the generalized ORs, a genetic model-free approach, for the variants C3435T, G2677TA and C1236T were ORG = 0.86 (95% CI 0.55-1.37), ORG = 0.97 (95% CI 0.58-1.64) and ORG = 1.17 (95% CI 0.75--1.83), respectively. There is indication that MDR1 mRNA expression may be considered as a potential marker for response to chemotherapy in AML patients.

## Δημοσιεύσεις Υποψήφιου Διδάκτορα

- Paterakis K, Koutsias S, **Doxani C**, Xanthopoulou P, Kokkali C, Karampelas I, Dardiotis E, Hadjigeorgiou G, Brotis A, Zintzaras E. Variants of the elastin (ELN) gene and susceptibility to intracranial aneurysm: a synthesis of genetic association studies using a genetic model-free approach. *Int J Neurosci*. DOI:10.1080/00207454.2016.1212027 (in press)
- Zintzaras E, Miligkos M, Ziakas P, Balk EM, Mademtzoglu D, **Doxani C**, Mprotsis T, Gowri R, Xanthopoulou P, Mpoulimari I, Kokkali C, Dimoulou G, Rodopolou P, Stefanidis I, Kent DM, Hadjigeorgiou GM. Assessment of the Relative Effectiveness and Tolerability of Treatments of Type 2 Diabetes Mellitus: A Network Meta-analysis. *Clin Ther*. 2014 Aug 7. pii: S0149-2918(14)00430-5. doi: 10.1016/j.clinthera.2014.06.035
- Hadjigeorgiou GM, **Doxani C**, Miligkos M, Ziakas P, Bakalos G, Papadimitriou D, Mprotsis T, Grigoriadis N, Zintzaras E. A network meta-analysis of randomized controlled trials for comparing the effectiveness and safety profile of treatments with marketing authorization for relapsing multiple sclerosis. *J Clin Pharm Ther*. 2013 Aug 20. doi: 10.1111/jcpt.12090.
- Bakalos G, Miligkos M, **Doxani C**, Mpoulimari I, Rodopoulou P, Zintzaras E. Assessing the relative effectiveness and tolerability of treatments in small cell lung cancer: a network meta-analysis. *Cancer Epidemiol*. 2013 Oct;37(5):675-82.
- **Doxani C**, Voulgarelis M, Zintzaras E. MDR1 mRNA expression and MDR1 gene variants as predictors of response to chemotherapy in patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis. *Biomarkers*. 2013 Aug;18(5):425-35.
- Poulou LS, Ziakas PD, Ziogas DC, **Doxani C**, Xyla V, Vakrinos G, Voulgarelis M, Thanos L. FDG-PET for detecting local tumor recurrence of ablated liver metastases: a diagnostic meta-analysis. *Biomarkers*. 2012 Sep;17(6):532-8
- Zintzaras E, **Doxani C**, Mprotsis T, Schmid CH, Hadjigeorgiou GM. Network Analysis of Randomized Controlled Trials in Multiple Sclerosis. *Clin Ther*. 2012 Apr;34(4):857-869.e9
- Zintzaras E., **Doxani C.**, Koufakis T., Ziogas D., Voulgarelis M. Variants of the MTHFR gene and susceptibility to Acute Lymphoblastic Leukemia in children: a synthesis of genetic association studies. *Cancer Epidemiol*. 2012 Apr;36(2):169-76..

- Zintzaras E, **Doxani C**, Ziogas DC, Mprotsis T, Rodopoulou P, Karachalios T. Bone mineral density and genetic markers involved in three connected pathways (focal adhesion, actin cytoskeleton regulation and cell cycle): the CUMAGAS-BMD information system. *Biomarkers*. 2011 Dec;16(8):698-708. Epub 2011 Nov 8.
- Zdoukopoulos N, **Doxani C**, Messinis IE, Stefanidis I, Zintzaras E. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene in preeclampsia: a candidate-gene association study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2011 Nov 3;11:89..
- Papandreou CN, **Doxani C**, Zdoukopoulos N, Vlachostergios PJ, Hatzidaki E, Bakalos G, Ziogas DC, Koufakis T, Zintzaras E. Evidence of association between methylenetetrahydrofolate reductase gene and susceptibility to breast cancer: a candidate-gene association study in a South-eastern European population. *DNA Cell Biol*. 2012 Feb;31(2):193-8. Epub 2011 Aug 29.
- Zintzaras E., **Doxani C.**, Koufakis T., Kastanis A., Rodopoulou P., Karachalios T. Synopsis and meta-analysis of genetics association studies in osteoporosis for the focal adhesion family genes: the CUMAGAS-OSTEOPorosis information system. *BMC Med*. 2011 Jan; 9:9.
- Zintzaras E., Grammatikou M., Kitsios G., **Doxani C.**, Zdoukopoulos N., Papandreou C. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in breast cancer: a genetic association study and meta-analysis. *J. Hum Genet*. 2010 Nov; 55 (11): 743-8.
- Asteriou C., Barbetakis N., Kleontas A., **Doxani C**, eComment: mediastinal lymph node dissection in pulmonary metastasectomy. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2010 May; 10 (5): 698.