



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



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**Διευθυντής: Δρ. Γεώργιος Βασιλόπουλος,**  
**Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας**

**Σε συνεργασία με:**

**Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΤΑΟ)**  
**Γ.Ν.Παίδων «Η Αγία Σοφία»**  
**Συντονίστρια Διευθύντρια: Δρ. Σοφία Πολυχρονοπούλου**

**Διδακτορική Διατριβή**

**«ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ**

**ΤΗΣ t(12;21)(p13;q22)(+) ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ**  
**ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ»**

υπό

**ΑΜΠΑΤΖΙΔΟΥ ΜΑΡΙΑΣ**

Αιματολόγου

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των  
απαιτήσεων για την απόκτηση του  
Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2018

© 2018 ΑΜΠΙΑΤΖΙΔΟΥ ΜΑΡΙΑ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

- 1<sup>ος</sup> Εξεταστής**  
(Επιβλέπων) **Βασιλόπουλος Γεώργιος**  
Καθηγητής, Παθολογία-Αιματολογία, Τμήμα Ιατρικής, Παν.Θεσσαλίας
- 2<sup>ος</sup> Εξεταστής** **Γερμενής Αναστάσιος**  
Καθηγητής, Εργ. Ανοσολογία, Τμήμα Ιατρικής, Παν.Θεσσαλίας
- 3<sup>ος</sup> Εξεταστής** **Γιαννακούλας Νικόλαος**  
Επίκουρος Καθηγητής, Παθολογία-Αιματολογία, Τμήμα Ιατρικής,  
Παν.Θεσσαλίας
- 4<sup>ος</sup> Εξεταστής** **Σπελέτας Ματθαίος**  
Καθηγητής, Ιατρική Ανοσολογία, Τμήμα Ιατρικής, Παν.Θεσσαλίας
- 5<sup>ος</sup> Εξεταστής** **Κωτσάκης Αθανάσιος**  
Αναπληρωτής Καθηγητής, Παθολογία-Ογκολογία, Τμήμα Ιατρικής,  
Παν.Θεσσαλίας
- 6<sup>ος</sup> Εξεταστής** **Μπογδάνος Δημήτριος**  
Αναπληρωτής Καθηγητής, Παθολογίας και Αυτοανόσων Νοσημάτων,  
Τμήμα Ιατρικής, Παν.Θεσσαλίας
- 7<sup>ος</sup> Εξεταστής** **Σαλούστρος Εμμανουήλ**  
Επίκουρος Καθηγητής, Ογκολογία, Τμήμα Ιατρικής, Παν.Θεσσαλίας

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά τη Διευθύντριά μου και Συντονίστρια Διευθύντρια του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΤΑΟ) του Γ.Ν.Παίδων «Η Αγία Σοφία» Δρ.Σοφία Πολυχρονοπούλου, για την αμέριστη συμπαράσταση στο δύσκολο αυτό έργο, για τις ατέλειωτες ώρες σκληρής δουλειάς στο πλευρό μου και κυρίως γιατί μου εμπιστεύθηκε την εκπόνηση αυτής της διατριβής, για την οποία χρησιμοποιήθηκαν παιδιατρικοί ασθενείς από το Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή Παθολογίας-Αιματολογίας Δρ. Γεώργιο Βασιλόπουλο, που πίστεψε σε μένα και ανέλαβε, χωρίς κανέναν δισταγμό, την επίβλεψη της παρούσης διδακτορικής διατριβής.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή Εργαστηριακής Ανοσολογίας Δρ. Αναστάσιο Γερμενή, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για την άμεση ανταπόκριση και βοήθειά του σε θέματα πρακτικά και ουσιαστικά, χωρίς την οποία δεν θα μπορούσε να έχει ολοκληρωθεί η διατριβή αυτή.

Ευχαριστώ θερμά τον Υπεύθυνο Διευθυντή του Τμήματος Μοριακής Κυτταρογενετικής του Γ.Ν.Αθηνών «Γ.Γεννηματάς» Δρ.Στέφανο Παπαδημητρίου, που με το όραμά του με ενέπνευσε και με στήριξε, καθώς και για τις ατέλειωτες ώρες δουλειάς επί των δειγμάτων με φθορίζοντα *in situ* υβριδισμό (FISH).

Ευχαριστώ, επίσης, τον Υπεύθυνο Διευθυντή του Τμήματος Κυτταρομετρίας Ροής του Ανοσολογικού Τμήματος του Γ.Ν.Αθηνών «Γ.Γεννηματάς» Δρ. Γεώργιο Πατεράκη, για την αμέριστη συμπαράσταση και στήριξή του καθώς και για την άρτια εκπαίδευση που μου προσέφερε στην τεχνική της κυτταρομετρίας ροής.

Ευχαριστώ θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή Παθολογίας-Αιματολογίας Δρ. Νικόλαο Γιαννακούλα, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, τον κο Βασίλειο Παπαδάκη, Διευθυντή ΤΑΟ, για τη στατιστική επεξεργασία καθώς και όλους τους συναδέλφους μου στο Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας, για τη στήριξη και συμπαράστασή τους.

Τέλος, ευχαριστώ τους γονείς μου, το σύζυγό μου Παντελή και τους γιους μου, Θάνο και Δημήτρη, χωρίς την κατανόηση, υποστήριξη και ατέλειωτες ώρες υπομονής των οποίων δεν θα μπορούσα ποτέ να ολοκληρώσω την παρούσα διδακτορική διατριβή.

Αμπατζίδου Μαρία

Στους γιους μου, Θάνο και Δημήτρη.....

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

### 1. ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Αμπατζίδου Μαρία  
Ημερομηνία γέννησης: 8 Ιανουαρίου 1978  
Τόπος γέννησης: Θεσσαλονίκη  
Υπηκοότητα: Ελληνική  
Διεύθυνση οικίας: Κ.Παλαμά 12, Π.Ψυχικό, Τ.Κ. 15452, Αθήνα  
Τηλέφωνα οικίας/κινητό: 2130384116 / 6973631032  
Διεύθυνση εργασίας: Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας,  
Γ.Ν.Παιδών «Η Αγία Σοφία», Ογκολογική Μονάδα «Μαριάννα Β.  
Βαρδινογιάννη-Ελπίδα», Λεβαδείας 8, 11527, Γουδή, Αθήνα

Τηλέφωνα εργασίας: 210 7452018, 210 7452010  
Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: mirellaaba@yahoo.gr

### 2. ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

Επιμελήτρια Β' (από 1<sup>ο</sup>/2018)  
Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας  
Ογκολογική Μονάδα Παιδών Μαριάννα Β.Βαρδινογιάννη «ΕΛΠΙΔΑ»  
Γ.Ν.Παιδών «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

### 3. ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΥΠΑΙΘΡΟΥ

10/2003-1/2004	Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Σύρου "Βαρδάκειο και Πρώτο" Υποχρεωτική τρίμηνη εκπαίδευση
1/2004-2/2005	Κέντρο Υγείας Μήλου Εκπλήρωση υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου

### 4.ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΔΙΠΛΩΜΑΤΑ

#### Εγκύκλιες σπουδές

1992-1995	2ο Λύκειο Μαλακοπής Θεσσαλονίκης Βαθμός απολυτηρίου: 19 (δέκα εννέα)
-----------	---

#### Προπτυχιακή εκπαίδευση

1997-2003	Ιατρικό Τμήμα, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.) Βαθμός Πτυχίου: 8,05 (Λίαν Καλώς)
2003	Άδεια άσκησης ιατρικού επαγγέλματος

## Μεταπτυχιακή εκπαίδευση

- 8/2006-10/2008      Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων Θεσσαλονίκης  
(Ν.Ε.Π.Θ. Λοιμωδών)  
Ειδικευόμενη Παιδιατρικής Κλινικής  
Εκπαίδευση στις λοιμώξεις και τα λοιμώδη νοσήματα της  
παιδικής ηλικίας  
Ενεργός συμμετοχή στο πρόγραμμα εφημεριών,  
στην Κλινική και στα Εξωτερικά Ιατρεία
- 3/2008-7/2008      Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών  
MENN ΕΣΥ  
Γ.Π.Ν.Ιπποκράτειο Θεσσαλονίκης  
Ειδικευόμενη Νεογνολογικού Τμήματος (Ενεργός συμμετοχή στη  
λειτουργία της MENN, στις αίθουσες τοκετών και στο πρόγραμμα  
εφημεριών)
- 12/2008-12/2012      Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας  
Ογκολογική Μονάδα Παίδων Μαριάννα Β.Βαρδινογιάννη  
«ΕΛΠΙΔΑ»  
Γ.Ν.Παίδων «Η Αγία Σοφία»  
Ειδικευόμενη Αιματολογίας
- 12/2012-12/2013      Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας  
Ογκολογική Μονάδα Παίδων Μαριάννα Β.Βαρδινογιάννη  
«ΕΛΠΙΔΑ»  
Γ.Ν.Παίδων «Η Αγία Σοφία»  
Παράταση Ειδικότητας Αιματολογίας (έχοντας τίτλο ιατρικής  
Ειδικότητας Αιματολογίας από τον 3<sup>ο</sup> του 2013)
- 3/2013      Τίτλος ειδίκευσης (Αιματολόγος)
- 3/2013      Άδεια άσκησης ιατρικής ειδικότητας (Νομαρχία Αθηνών)
- 2/2012      Έναρξη εκπόνησης **διδακτορικής διατριβής** με θέμα:  
**«Κλινική και βιολογική σημασία της t(12;21)(p13;q22)(+)  
Οξείας Λεμφοβλαστικής Λευχαιμίας στον ελληνικό  
πληθυσμό»**, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών  
Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 13/2/2012

### Κέντρα εκπόνησης

1. Αιματολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Υπεύθυνος Δρ. Γ.Βασιλόπουλος)
2. Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Π.Γ.Ν.Π. «Η Αγία Σοφία» ( Διευθύντρια Δρ. Σ. Πολυχρονοπούλου)
3. Αιματολογικό Εργαστήριο Π.Γ.Ν.Α. « Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ » ( Υπεύθυνος Δρ. Σ. Ι.Παπαδημητρίου)
4. Εργαστήριο Κυτταρομετρίας Ροής, Ανοσολογικό Τμήμα Π.Γ.Ν.Α. «Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ» ( Υπεύθυνος Δρ. Γ.Πατεράκης)



## Ξένες Γλώσσες

Αγγλική γλώσσα, Certificate of Proficiency in English, University of Cambridge

### 5.ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΑΝΤΗΣΕΙΣ- ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

#### 5<sup>α</sup>.ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ: 46

#### 5<sup>β</sup>.ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ: 11

### 6.ΚΛΙΝΙΚΟ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΕΡΓΟ/ΕΜΠΕΙΡΙΑ- ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ (ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΕΣ ΚΑΙ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΘΕΣΕΙΣ)

10/2003-1/2004	Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Σύρου "Βαρδάκειο και Πρώτο" Υποχρεωτική τρίμηνη εκπαίδευση
1/2004-2/2005	Κέντρο Υγείας Μήλου Εκπλήρωση υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου
8/2006-10/2008	Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων Θεσσαλονίκης (Ν.Ε.Π.Θ. Λοιμωδών) Ειδικευόμενη Παιδιατρικής Κλινικής Εκπαίδευση στις λοιμώξεις και τα λοιμώδη νοσήματα της παιδικής ηλικίας Ενεργός συμμετοχή στο πρόγραμμα εφημεριών, στην Κλινική και στα Εξωτερικά Ιατρεία
3/2008-7/2008	Μονάδα Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών MENN ΕΣΥ Γ.Π.Ν.Ιπποκράτειο Θεσσαλονίκης Ειδικευόμενη Νεογνολογικού Τμήματος
12/2008-12/2012	Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ογκολογική Μονάδα Παίδων Μαριάννα Β.Βαρδινογιάννη «ΕΛΠΙΔΑ» Γ.Ν.Παίδων «Η Αγία Σοφία» Ειδικευόμενη Αιματολογίας
12/2012-12/2013	Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ογκολογική Μονάδα Παίδων Μαριάννα Β.Βαρδινογιάννη «ΕΛΠΙΔΑ» Γ.Ν.Παίδων «Η Αγία Σοφία» Παράταση Ειδικότητας Αιματολογίας (έχοντας τίτλο ιατρικής Ειδικότητας Αιματολογίας από τον 3 <sup>ο</sup> του 2013)

2/2014- 7/2014	Πανεπιστημιακός Υπότροφος Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών Παρακολούθηση ασθενών στην Ογκολογική Μονάδα Παιδών «Ελπίδα», Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Κλινικό/εκπαιδευτικό/διδασκτικό έργο
7/2014-12/2018	Επικουρική ιατρός Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ογκολογική Μονάδα Παιδών Μαριάννα Β.Βαρδινογιάννη «ΕΛΠΙΔΑ» Γ.Ν.Παιδών «Η Αγία Σοφία»
1/2018-σήμερα	Επιμελήτρια Β΄ Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ογκολογική Μονάδα Παιδών Μαριάννα Β.Βαρδινογιάννη «ΕΛΠΙΔΑ» Γ.Ν.Παιδών «Η Αγία Σοφία»

## **7.ΔΙΔΑΚΤΙΚΟ ΕΡΓΟ**

2012-2017	Εκπαιδευτικά μαθήματα και συναντήσεις της Ελληνικής Εταιρίας Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ)-διδασκτικό έργο- διαλέξεις
2/2014-7/2014	Πανεπιστημιακός Υπότροφος Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών Κλινικό/εκπαιδευτικό και διδασκτικό έργο σε φοιτητές Ιατρικής Σχολής και Ειδικευομένους Παιδιατρικής και Αιματολογίας του Γ.Ν.Παιδών «Η Αγία Σοφία»
2014-2016	Διδασκτικό έργο-μαθήματα και διαλέξεις σε Ειδικευομένους στα πλαίσια του Εκπαιδευτικού Προγράμματος της Α΄ και Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Γ.Ν.Παιδών «Η Αγία Σοφία»
9/2015-6/2016	Διδασκτικό έργο-μαθήματα και διαλέξεις στο Πανεπιστημιακό Πρόγραμμα Παιδιατρικής εξειδίκευσης της Νοσηλευτικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών

## **8.ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΟ-ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ**

- 1) Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής με θέμα: «**ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ t(12;21)(p13;q22)(+) ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ**»  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 13/2/2012

### **Κέντρα εκπόνησης**

1. Αιματολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας ( Υπεύθυνος Δρ. Γ.Βασιλόπουλος)
2. Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Π.Γ.Ν.Π. «Η Αγία Σοφία» ( Διευθύντρια Δρ. Σ. Πολυχρονοπούλου)

3. Αιματολογικό Εργαστήριο Π.Γ.Ν.Α. « Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ », Τμήμα Μοριακής Κυτταρογενετικής, ( Υπεύθυνος Δρ. Σ. Ι. Παπαδημητρίου)
4. Εργαστήριο Κυτταρομετρίας Ροής, Ανοσολογικό Τμήμα Π.Γ.Ν.Α. «Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ» ( Υπεύθυνος Δρ. Γ. Πατεράκης)

**2) ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ:** «Πολυκεντρική καταγραφή της νόσου Ιδιοπαθής Θρομβοκυτταραιμία (ΙΘ) σε παιδιά»  
 “Multicenter Paediatric Disease Registry in Essential Thrombocythaemia (ET)”  
 Shire clinical study ID: SPD422-404, 2011

**3) ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ:** « Μία φάσης Ib, μερικώς-τυφλοποιημένη, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με ενεργό παράγοντα σύγκρισης Μελέτη για την αξιολόγηση της φαρμακοκινητικής/φαρμακοδυναμικής, ασφάλειας και ανεκτικότητας της Φοσαπρεπιτάντης σε Παιδιατρικούς ασθενείς για την πρόληψη της επαγόμενης από Χημειοθεραπεία Ναυτίας και Εμέτου (CINV) που σχετίζεται με εμετογόνο θεραπεία».

Αρ.Πρωτ. MK-0517-029-01, 26/7/2012, Merck Sharp & Dohme Corp.

**4) Από το 2013, συμμετοχή στην επίσημη καταγραφή (registry) και θεραπεία ασθενών κατά το Ευρωπαϊκό Πρωτόκολλο ALLIC-BFM 2009. Παρουσίαση συνεργατικών αποτελεσμάτων της Ελληνικής Συμμετοχής στο 27<sup>th</sup> Annual Meeting of the International BFM Study Group και 10<sup>th</sup> Biennial Childhood Leukemia Symposium, στην Αθήνα, τον 4<sup>ο</sup> του 2016.**

**5) Από το 2014, συμμετοχή και εκπροσώπηση της Ελλάδας στην επίσημη καταγραφή και μελέτη iBFM AMBI2012 study- International Registry of Ambiguous Lineage Leukemia in children.**

## **9.ΒΡΑΒΕΙΑ-ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ-ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ**

### **Βραβείο καλύτερης ερευνητικής εργασίας «Μ.Παπαδοπούλου»**

**ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΕΛΑΧΙΣΤΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (MINIMAL RESIDUAL DISEASE-MRD) ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ): ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΝΩΣΤΟΥΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

**Μ.Αμπατζίδου, Γ.Πατεράκης, Β.Βασδέκης, Β.Παπαδάκης, Σ.Παπαδημητρίου, Σ.Παπαργύρη, Γ.Αυγερινού, Ε.Ρηγάτου, Κ.Τσίτσικας, Σ.Πολυχρονοπούλου**

**2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας**

**Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη**

## Βραβείο καλύτερης αναρτημένης ανακοίνωσης

### **ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΥΠΑΡΞΗΣ ΥΠΕΡΔΙΠΛΟΕΙΔΙΑΣ ΜΕ ΕΙΔΙΚΕΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΘΕΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ALL)**

Σ.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Ν.Τσαγκαράκης, Α.Παΐσιου, Ι.Κωστόπουλος, Ι.Πελαγιάδης, Γ.Αυγερινού, **Μ.Αμπατζίδου**, Α.Αγγελίδης, Δ.Παυλίδης, Ν.Κατζηλάκης, Β.Παπαδάκης, Θ.Μαρινάκης, Ε.Στειακάκη, Μ.Καλμαντή, Σ.Πολυχρονοπούλου, Ν.Αναγνωστόπουλος, Μ.Γεωργιακάκη. 20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Ελληνική Αιματολογική Εταιρία, Ηράκλειο Κρήτης, 4-7/11/2010

## Α' Βραβείο κλινικοεργαστηριακής μελέτης

### **Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΚΑΘΑΡΣΗΣ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΜΕ ΠΟΛΥΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ MRD (D15-D33) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΛΛ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Μ.Μπάκα, Α.Καττάμης, Ε.Στειακάκη, Ε.Χατζηπαντελής, Δ.Κολιούσκας, Δ.Δογάνης, Λ.Πετρίκκος, Ε.Δανά, Χ.Κελαϊδή, Ν.Κατζηλάκης, Α.Τραγιανίδης, Ε.Παπακωνσταντίνου, Θ.Αναστασίου, Μ.Τζανουδάκη, Γ.Πατεράκης, Ε.Κοσμίδη και Σ.Πολυχρονοπούλου.

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

## Α' Βραβείο κλινικής μελέτης

### **ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΚΒΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ) ΠΟΥ ΘΕΡΑΠΕΥΘΗΚΑΝ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ALLIC-2009**

Ε.Κοσμίδη, Μ.Μπάκα, Δ.Δογάνης, Κ.Ρόκα, **Μ.Αμπατζίδου**, Ε.Δανά, Ν.Κατζηλάκης, Ε.Χατζηπαντελής, Ε.Παπακωνσταντίνου, Α.Παΐσιου, Θ.Αναστασίου, Μ.Τζανουδάκη, Γ.Πατεράκης, Μ.Συνοδινού, Α.Αλεξοπούλου, Β.Κίτρα, Δ.Κολιούσκας, Α.Γιαννόπουλος, Ε.Στειακάκη, Σ.Πολυχρονοπούλου, Α.Καττάμης,

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

## 10.ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΙΩΝ

2009- σήμερα	Μέλος της Ελληνικής Αιματολογικής Εταιρίας (ΕΑΕ)
2009- σήμερα	Μέλος της Ελληνικής Εταιρίας Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ)
2016-2018	1 <sup>ο</sup> Αναπληρωματικό Μέλος του Διοικητικού Συμβουλίου της Ελληνικής Εταιρίας Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ)

2016-σήμερα	Μέλος της SIOPE
2018	Μέλος της Διοικούσας Επιτροπής του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας, ΕΑΕ

### **11.ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΟ ΕΡΓΟ**

2012	Σύμβουλος συντακτικής επιτροπής (Reviewer) στο διεθνές επιστημονικό περιοδικό “International Journal of Medicine and Medical Sciences”
2013	Σύμβουλος συντακτικής επιτροπής (Reviewer) στο διεθνές επιστημονικό περιοδικό “MEMO- Magazine of European Medical Oncology”

### **12.ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΟ-ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΕΡΓΟ**

10/2006-10/2008	Αντιπρόεδρος Νοσοκομειακής Επιτροπής Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων Θεσσαλονίκης (Ν.Ε.Π.Θ. Λοιμωδών)
1/2007-10/2008	Μέλος του Επιστημονικού Συμβουλίου Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων Θεσσαλονίκης (Ν.Ε.Π.Θ. Λοιμωδών)
4 <sup>ος</sup> 2016	1 <sup>ο</sup> Αναπληρωματικό Μέλος του Διοικητικού Συμβουλίου της Ελληνικής Εταιρίας Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ)
2010-2015	Μέλος της Επιστημονικής και Οργανωτικής Επιτροπής της 2 <sup>ης</sup> , 3 <sup>ης</sup> και 4 <sup>ης</sup> Επιστημονικής Ημερίδας του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας
2012-2016	Συμμετοχή στην οργάνωση Εκπαιδευτικού Προγράμματος του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας
2018	Μέλος της Διοικούσας Επιτροπής του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας, Ελληνική Αιματολογική Εταιρία

### **13. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ-ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ**

#### **13<sup>α</sup>. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

**ΣΥΝΟΛΟ: 83 (39 ελεύθερες και 44 αναρτημένες)**

**Σύνολο ελεύθερων ανακοινώσεων: 39**

Σειρά υποψηφίου διδάκτορα μεταξύ των συγγραφέων  
1<sup>ος</sup> σε: 22  
2<sup>ος</sup> σε: 3  
Άλλη θέση σε: 14

**Σύνολο αναρτημένων ανακοινώσεων: 44**

Σειρά υποψηφίου διδάκτορα μεταξύ των συγγραφέων  
1<sup>ος</sup> σε: 9  
2<sup>ος</sup> σε: 5  
Άλλη θέση σε: 30

#### **ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

##### **ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

###### **1) ΚΛΙΝΙΚΑ, ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ TEL/AML1(+) ΟΛΩ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΦΗΒΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Β.Παπαδάκης, Κ.Τσίτσικας, Δ.Παυλίδης, Σ. Παπαργύρη, Γ. Αυγερινού, Α. Παρχαρίδου, Μ. Γεωργιακάκη, Σ. Πολυχρονοπούλου  
20<sup>0</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Ελληνική Αιματολογική Εταιρία, Ηράκλειο Κρήτης, 4-7/11/2010

###### **2) ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ – ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ (1999-2009): ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Α.Παρχαρίδου, Κ.Τσίτσικας, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Σ. Παπαργύρη, Γ.Αυγερινού, Κ.Σαμπάνη, Χ. Μπέλεση, Ι.Π.Παναγιώτου, Ν.Λαουτάρης, Σ.Χαϊδός, Σ. Πολυχρονοπούλου  
1<sup>0</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 5-6/2/2010, Αθήνα

###### **3) TEL/AML1(+) ΟΛΩ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ: ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Β.Παπαδάκης, Κ.Τσίτσικας, Δ.Παυλίδης, Σ. Παπαργύρη, Γ.Αυγερινού, Α. Παρχαρίδου, Μ. Γεωργιακάκη, Σ. Πολυχρονοπούλου  
1<sup>0</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 5-6/2/2010, Αθήνα

**4) ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (MINIMAL RESIDUAL DISEASE-MRD) ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ) ΚΑΙ Η ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΩΣ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΟΥ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΕΛΙΚΗ ΕΚΒΑΣΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ**

Γεώργιος Πατεράκης, **Μαρία Αμπατζίδου**, Κωνσταντίνος Τσίτσικας, Βασίλειος Παπαδάκης, Σοφία Παπαργύρη, Δήμητρα Σκουμή, Βασίλειος Βασδέκης, Στέφανος Παπαδημητρίου, Σοφία Πολυχρονοπούλου

48<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Ελληνική Παιδιατρική Εταιρία, 21-23 Μαΐου 2010, Μύκονος

**5) MULTIPLE LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION (MLPA) ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ ΜΕ ΣΥΜΒΑΤΙΚΟ ΚΑΡΥΟΤΥΠΟ ΚΑΙ FISH ΣΕ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΚΟΗΘΗ ΚΑΙ ΚΑΛΟΗΘΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Χ.Κονιάλης, Κ.Πάγκαλος, Σ.Πολυχρονοπούλου

2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας

Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**6) t(12;21)(p13;q21) ΟΛΛ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ: ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ, ΣΥΝΟΔΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Β.Βασδέκης, Κ.Τσίτσικας, Σ.Παπαργύρη, Β.Βασιλόπουλος, Σ.Πολυχρονοπούλου

2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας

Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**7) ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΟΥ ΕΛΛΕΙΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΘΕΣΗΣ INK4 (9p21) ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ALL)**

Α.Παϊσίου, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Β.Παπαδάκης, Δ.Παυλίδης, Ι.Κωστόπουλος, Ε.Γουσέτης, **Μ.Αμπατζίδου**, Γ.Αυγερινού, Ν.Τσαγκαράκης, Ν.Κατζιλάκης, Μ.Μπάκα, Ε.Κοσμίδη, Μ.Καλμαντή, Σ.Γραφάκος, Μ.Γεωργιακάκη, Σ.Πολυχρονοπούλου

2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας

Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**8) ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ(ΟΛΛ): 2001-2010- Η ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΕΝΟΣ ΤΜΗΜΑΤΟΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Β.Βασδέκης, Σ.Παπαργύρη, Σ.Παπαδημητρίου, Ε.Ρηγάτου, Κ.Ρόκα, Γ.Αυγερινού, Ι.Μπαρμπαλιάς, Σ.Μούσκου, Κ.Τσίτσικας, Σ.Πολυχρονοπούλου

2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας

Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**9) ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΕΛΑΧΙΣΤΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (MINIMAL RESIDUAL DISEASE-MRD) ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ): ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΝΩΣΤΟΥΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ (βραβείο καλύτερης ερευνητικής εργασίας)**

**Μ.Αμπατζίδου**, Γ.Πατεράκης, Β.Βασδέκης, Β.Παπαδάκης, Σ.Παπαδημητρίου, Σ.Παπαργύρη, Γ.Αυγερινού, Ε.Ρηγάτου, Κ.Τσίτσικας, Σ.Πολυχρονοπούλου  
2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**10) ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ) 2001-2010. Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ**

**Μαρία Αμπατζίδου**, Βασίλειος Παπαδάκης, Γεώργιος Πατεράκης, Βασίλειος Βασδέκης, Σοφία Παπαργύρη, Στέφανος Παπαδημητρίου, Ευθυμία Ρηγάτου, Κλεονίκη Ρόκα, Γεωργία Αυγερινού, Ιωάννης Μπαρμπαλιάς, Στυλιανή Μούσκου, Κωνσταντίνος Τσίτσικας και Σοφία Πολυχρονοπούλου

50<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1-3 Ιουνίου 2012, Ιωάννινα

**11) ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ) ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ: Η ΔΕΚΑΕΤΗΣ ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΕΝΟΣ ΤΜΗΜΑΤΟΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Σ.Παπαδημητρίου, Σ.Παπαργύρη, Ε.Ρηγάτου, Γ.Αυγερινού, Κ.Τσίτσικας, Β.Βασδέκης, και Σ.Πολυχρονοπούλου.

24<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 14-16 Νοεμβρίου 2013, Αθήνα

**12) MLL ΑΝΑΔΙΑΤΑΞΕΙΣ ΣΤΗΝ ΟΛΛ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ (2000-2013): ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΙΑΣ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΗΣ ΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗΣ ΟΝΤΟΤΗΤΑΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Λ.Πετρίκκος, Ε.Ρηγάτου, Δ.Παυλίδης, Κ.Τσίτσικας, Γ.Πατεράκης και Σ.Πολυχρονοπούλου.

3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας, 21-22 Φεβρουαρίου 2014, Αθήνα

**13) ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ(2000-2013):ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ, ΣΥΝΟΔΕΣ ΒΛΑΒΕΣ, ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Ε.Ρηγάτου, Λ.Πετρίκκος, Δ.Παυλίδης, Κ.Τσίτσικας, Γ.Βασιλόπουλος και Σ.Πολυχρονοπούλου.

3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας, 21-22 Φεβρουαρίου 2014, Αθήνα

**14) ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΚΑΘΑΡΣΗΣ ΤΟΥ ΛΕΥΧΑΙΜΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΛΛ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Β. Παπαδάκης, Σ. Πολυχρονοπούλου.

26ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 3-5 Νοεμβρίου 2016, Θεσσαλονίκη

**15) ΥΠΕΡΔΙΠΛΟΕΙΔΙΑ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ): DNA INDEX, ΣΥΝΟΔΕΣ ΒΛΑΒΕΣ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Γ. Πατεράκης, Κ. Τσίτσικας, Ε. Ταμπάκη, Δ. Παυλίδης, Ι.Β. Κωστόπουλος, Λ. Φλωρεντίν, Κ. Μανωλά, Χ. Κελαϊδή, Λ. Πετρίκκος, Ε. Ρηγάτου, Β. Δενδρινός, Σ. Παπαργύρη, Β. Παπαδάκης, Σ. Πολυχρονοπούλου.

26ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 3-5 Νοεμβρίου 2016, Θεσσαλονίκη

**16) ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ(2000-2015): ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΚΛΩΝΙΚΗΣ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑΣ ΚΑΙ Η ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΣΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ**



**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Β.Παπαδάκης, Λ.Φλωρεντίν, Κ.Τσίτσικας, Γ.Βασιλόπουλος και Σ.Πολυχρονοπούλου  
28<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, ΕΑΕ, 2-4/11/2017, Αθήνα

**17) Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ SALSΑ MLPA P335 ΚΙΤ ΣΕ ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΓΕΝΩΜΙΚΗ ΔΙΑΣΤΡΩΜΑΤΩΣΗ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Λ.Πετρίκκος, Λ.Φλωρεντίν, Δ.Μπουζαρέλου, Χ.Μπίλη, Σ.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Β.Παπαδάκης, Κ.Τσίτσικας, και Σ.Πολυχρονοπούλου  
28<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, ΕΑΕ, 2-4/11/2017, Αθήνα

**18) Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΚΑΘΑΡΣΗΣ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΜΕ ΠΟΛΥΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ MRD (D15-D33) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΛΛ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Μ.Μπάκα, Α.Καττάμης, Ε.Στειακάκη, Ε.Χατζηπαντελής, Δ.Κολιούσκας, Δ.Δογάνης, Λ.Πετρίκκος, Ε.Δανά, Χ.Κελαϊδή, Ν.Κατζηλάκης, Α.Τραγιανίδης, Ε.Παπακωνσταντίνου, Θ.Αναστασίου, Μ.Τζανουδάκη, Γ.Πατεράκης, Ε.Κοσμίδη και Σ.Πολυχρονοπούλου.

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα (Α΄Βραβείο κλινικοεργαστηριακής μελέτης)

**19) ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΚΒΑΣΗ ΤΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ) ΠΟΥ ΘΕΡΑΠΕΥΘΗΚΑΝ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ALLIC-2009**

Ε.Κοσμίδη, Μ.Μπάκα, Δ.Δογάνης, Κ.Ρόκα, **Μ.Αμπατζίδου**, Ε.Δανά, Ν.Κατζηλάκης, Ε.Χατζηπαντελής, Ε.Παπακωνσταντίνου, Α.Παϊσίου, Θ.Αναστασίου, Μ.Τζανουδάκη, Γ.Πατεράκης, Μ.Συνοδινού, Α.Αλεξοπούλου, Β.Κίτρα, Δ.Κολιούσκας, Α.Γιαννόπουλος, Ε.Στειακάκη, Σ.Πολυχρονοπούλου, Α.Καττάμης

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα (Α΄Βραβείο κλινικής μελέτης)

**20) ΟΞΕΑ ΣΥΜΒΑΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ). Η ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΑΠΟ ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ALLIC-2009**

Δ.Δογάνης, Κ.Ρόκα, **Μ.Αμπατζίδου**, Ε.Δανά, Ν.Κατζηλάκης, Ε.Χατζηπαντελής, Ε.Παπακωνσταντίνου, Α.Παϊσίου, Β.Κίτρα, Δ.Κολιούσκας, Θ.Παπαγεωργίου, Ε.Στειακάκη, Σ.Πολυχρονοπούλου, Μ.Μπάκα, Α.Καττάμης, Ε.Κοσμίδη

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

**21) Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ SALSΑ MLPA P335 ΚΙΤ ΣΕ ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΓΕΝΩΜΙΚΗ ΔΙΑΣΤΡΩΜΑΤΩΣΗ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Λ.Πετρίκκος, Λ.Φλωρεντίν, Σ.Παπαδημητρίου, Δ.Μπουζαρέλου, Χ.Μπίλη, Β.Παπαδάκης, Χ.Κελαϊδή, Γ.Πατεράκης, Κ.Τσίτσικας, Σ.Πολυχρονοπούλου

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

**22) ΥΠΟΤΡΟΠΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ (ΟΛΛ) ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕΤΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ALLIC BFM 2009: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Λ.Πετρίκκος, Α.Καττάμης, Μ.Μπάκα, Δ.Δογάνης, Ε.Στειακάκη, Ε.Χατζηπαντελής, Δ.Κολιούσκας, Β.Παπαδάκης, Χ.Κελαϊδή, Γ.Αυγερινού, Ε.Δανά, Ν.Κατζηλάκης, Α.Τραγιαννίδης, Σ.Παπαργύρη, Ε.Παπακωνσταντίνου, Ε.Κοσμίδη, Σ.Πολυχρονοπούλου

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

**23) ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ ΤΩΝ ΕΦΗΒΩΝ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΠΟΥ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΘΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ΜΕ ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ALLIC 2009**

Ε.Χατζηπαντελής, Τ.Τζιόλα, Α.Καττάμης, Δ.Δογάνης, **Μ.Αμπατζίδου**, Ε.Δανά, Ε.Στειακάκη, Ε.Παπακωνσταντίνου, Α.Παϊσίου, Κ.Ρόκα, Ν.Κατζηλάκης, Θ.Αναστασίου, Β.Τσαβδαρίδου, Β.Κίτρα, Θ.Παπαγεωργίου, Δ.Κολιούσκας, Μ.Μπάκα, Σ.Πολυχρονοπούλου, Σ.Κοσμίδη

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

**ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**1) ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ 1999-2009: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Α. Παρχαρίδου, Σ.Παπαργύρη, Κ.Τσίτσικας, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Γ. Αυγερινού, Ζ. Μαυρογεώργη, Κ.Σαμπάνη, Χρυσούλα Μπέλεση, Ν.Λαουτάρης, Σ. Πολυχρονοπούλου

20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Ελληνική Αιματολογική Εταιρία, Ηράκλειο Κρήτης, 4-7/11/2010

**2) ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΥΠΑΡΞΗΣ ΥΠΕΡΔΙΠΛΟΕΙΔΙΑΣ ΜΕ ΕΙΔΙΚΕΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΘΕΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ALL)**

Σ.Παπαδημητρίου Γ.Πατεράκης, Ν.Τσαγκαράκης, Α.Παϊσίου, Ι.Κωστόπουλος, Ι.Πελαγιάδης, Γ.Αυγερινού, **Μ.Αμπατζίδου**, Α.Αγγελίδης, Δ.Παυλίδης, Ν.Κατζηλάκης, Β.Παπαδάκης, Θ.Μαρινάκης, Ε.Στειακάκη, Μ.Καλμαντή, Σ.Πολυχρονοπούλου, Ν.Αναγνωστόπουλος, Μ.Γεωργιακάκη

20<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Ελληνική Αιματολογική Εταιρία, Ηράκλειο Κρήτης, 4-7/11/2010

**3) ΜΙΑ ΑΠΛΗ ΠΕΝΤΑΧΡΩΜΙΑ ΜΕ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΗ ΔΥΝΑΜΙΚΗ, ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ ΣΤΗΝ Β-ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ, ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ**

Γ.Πατεράκης, Α.Ταπάρκου, **Μ.Αμπατζίδου**, Π.Βασιλείου, Β.Παπαδάκης, Δ.Κολιούσκας, Σ.Πολυχρονοπούλου

23<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο

Ελληνική Αιματολογική Εταιρία (ΕΑΕ), 22-24/11/2012, Θεσσαλονίκη

**4) ΥΠΟΤΡΟΠΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ (ΟΛΛ) ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕΤΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΦΜ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

Α.Πετρίκκος, **Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαργύρη, Ε.Ρηγάτου, Β.Δενδρινός, Ε.Παπαχριστοδούλου, Κ.Τσίτσικας, Σ.Παπαδημητρίου, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης και Σ.Πολυχρονοπούλου

25<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο

Ελληνική Αιματολογική Εταιρία (ΕΑΕ), 13-15/11/2014, Θεσσαλονίκη

**5) ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΕΛΑΧΙΣΤΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ (FC-MRD) ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΟΛΛ: Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ 16 ΕΤΩΝ (2000-2015).**

**Μ. Αμπατζίδου**, Γ. Πατεράκης, Β. Παπαδάκης, Κ. Τσίτσικας, Β. Δενδρινός, Α. Πετρίκκος, Χ. Κελαϊδή, Ε. Ρηγάτου, Σ. Παπαργύρη, Σ. Πολυχρονοπούλου.

26ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 3-5 Νοεμβρίου 2016, Θεσσαλονίκη

**6) ΔΙΑΣΤΡΩΜΑΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΚΑΙ ΕΦΗΒΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΜΕ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ): Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΤΗΣ ALL-HeSPHO**

Κ.Ρόκα, Γ.Αυγερινού, Μ.Μπάκα, Σ.Πολυχρονοπούλου, Ε.Στειακάκη, Ε.Χατζηπαντελής, Δ.Κολιούσκας, Β.Κίτρα, Δ.Δογάνης, Ν.Τουρκαντόνη, **Μ.Αμπατζίδου**, Ε.Δανά, Ν.Κατζηλάκης, Α.Τραγιαννίδης, Ε.Παπακωνσταντίνου, Μ.Τζανουδάκη, Θ.Αναστασίου, Γ.Πατεράκης, Ε.Κοσμίδη

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

**7) ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ (2000-2015): ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΚΛΩΝΙΚΗΣ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑΣ ΚΑΙ Η ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΣΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Κ.Τσίτσικας, Β.Παπαδάκης, Γ.Βασιλόπουλος, Σ.Πολυχρονοπούλου

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

**8) ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΛ) 2000-2017: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Σ.Παπαργύρη, Χ.Κελαϊδή, Α.Πετρίκκος, Β.Δενδρινός, Κ.Αντωνιάδη, Σ. Παπαδημητρίου, Λ. Φλωρεντίν, Κ.Τσίτσικας, Γ.Πατεράκης, Σ.Πολυχρονοπούλου

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

**9) ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ (ΟΛΛ) ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕΤΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΦΜ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ: Η ΕΜΠΕΙΡΙΑ 18 ΕΤΩΝ**

Α.Πετρίκκος, **Μ.Αμπατζίδου**, Β.Δενδρινός, Χ.Κελαϊδή, Σ.Παπαργύρη, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Σ.Πολυχρονοπούλου

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

## **13<sup>β</sup>. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

### **ΣΥΝΟΛΟ: 29**

Σειρά υποψηφίου μεταξύ των συγγραφέων

1<sup>ος</sup> σε: 14

2<sup>ος</sup> σε: 2

Άλλη θέση σε: 13

### **ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

#### **1) PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF FLOW-CYTOMETRY MINIMAL RESIDUAL DISEASE EVALUATION (FC-MRD) IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL)**

**Maria Ampatzidou**, George Paterakis, Vassilios Papadakis, Sophia Papargyri, Stefanos I Papadhimitriou, Georgia Avgerinou, Efthymia Rigatou, Stella Mouskou, Konstantinos Tsitsikas, Vassilios Vasdekis, Sophia Polychronopoulou

44<sup>th</sup> Congress of the International Society of Pediatric Oncology, SIOP 2012, 5-8/10/2012, London, UK

#### **2) *MLL* REARRANGEMENTS IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA : CLINICAL AND GENETIC FEATURES OF A DINSTICT DISEASE ENTITY**

**M.Ampatzidou**, S.I.Papadhimitriou, L.Petrikkos, D.Pavlidis, K.Tsitsikas, E.Rigatou, G.Paterakis and S.Polychronopoulou.

9<sup>th</sup> Childhood Leukemia Symposium, 28-29 April 2014, Prague, Czech Republic

#### **3) ETV6/RUNX1-POSITIVE CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL): DO ADDITIONAL ABERRATIONS INFLUENCE TREATMENT RESPONSE AND OUTCOME?**

**M.Ampatzidou**, S.I.Papadhimitriou, G.Paterakis, E.Rigatou, L.Petrikkos, D.Pavlidis, K.Tsitsikas, G.Vassilopoulos and S.Polychronopoulou.

9<sup>th</sup> Childhood Leukemia Symposium, 28-29 April 2014, Prague, Czech Republic

#### **4) FLOW-CYTOMETRY MRD EVALUATION IN CHILDREN WITH ALL; CAN MRD LEVEL ON DAY 33 SERVE AS A SURROGATE MARKER FOR RELAPSE?**

**M.Ampatzidou**, G.Paterakis, K.Tsitsikas, S.I.Papadhimitriou, V. Papadakis, L.Petrikkos, V.Vasdekis, and S.Polychronopoulou

56th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, December 6-9, 2014, San Francisco, U.S.A

#### **5) ETV6/RUNX1-POSTITIVE CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL): DO ADDITIONAL ABERRATIONS INFLUENCE TREATMENT RESPONSE AND OUTCOME?**

**M.Ampatzidou**, S.I.Papadhimitriou, G.Paterakis, L.Petrikkos, D.Pavlidis, K.Tsitsikas, V. Papadakis, G.Vassilopoulos and S.Polychronopoulou

56th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, December 6-9, 2014, San Francisco, U.S.A

**6) MLL REARRANGEMENTS IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: CLINICAL AND GENETIC FEATURES OF A DISTINCT DISEASE ENTITY**

**M.Ampatzidou**, S.I.Papadimitriou, L.Petrikkos, D.Pavlidis, K.Tsitsikas, G.Paterakis and S.Polychronopoulou

56th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, December 6-9, 2014, San Francisco, U.S.A

**7) PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF FLOW-CYTOMETRIC MINIMAL RESIDUAL DISEASE EVALUATION (FC-MRD), AT THE END OF INDUCTION TREATMENT (DAY 33), IN CHILDHOOD ALL**

**M.Ampatzidou**, M.Baka, V.Papadakis, D.Doganis, G.Paterakis, M.Tzanoudaki, T.Anastasiou, E.Stiakaki, H.Kosmidis, A. Kattamis, and S.Polychronopoulou

10<sup>th</sup> Biennial Childhood Leukemia Symposium, 25-26 April 2016, Athens, Greece

**8) RELAPSED AND REFRACTORY ALL PATIENTS TREATED ACCORDING TO ALLIC-BFM 2009 PROTOCOL IN A GREEK PEDIATRIC COHORT; CHARACTERISTICS AND OUTCOME**

**M.Ampatzidou**, M.Baka, D.Doganis, V.Papadakis, N.Kantzilakis, K.Roka, E.Stiakaki, A.Kattamis, H.Kosmidis, and S.Polychronopoulou

10<sup>th</sup> Biennial Childhood Leukemia Symposium, 25-26 April 2016, Athens, Greece

**9) RELAPSES OF ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL) IN CHILDREN TREATED ACCORDING TO BFM PROTOCOLS: CHARACTERISTICS AND OUTCOME**

L.Petrikkos, **M.Ampatzidou**, I.Hantzopoulos, V.Dendrinis, C.Kelaidi, E.Rigatou, S.Papargyri, V.Papadakis, G.Paterakis, N.Kantzilakis, K.Roka, E.Stiakaki, A.Kattamis, H.Kosmidis, and S.Polychronopoulou

10<sup>th</sup> Biennial Childhood Leukemia Symposium, 25-26 April 2016, Athens, Greece

**10) THE USE OF SALSA MLPA P335 KIT IN A NOVEL PROPOSED GENOMIC RISK STRATIFICATION IN PEDIATRIC ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA; RESULTS FROM A GREEK PEDIATRIC COHORT**

**M.Ampatzidou**, L.Petrikkos, L.Florentin, D.Bouzarelou, C.Bili, S.Papadimitriou, G.Paterakis, V.Papadakis, K.Tsitsikas, and S.Polychronopoulou

11<sup>th</sup> Biennial Childhood Leukemia and Lymphoma Symposium, 21-22 May 2018, Helsinki, Finland

**13<sup>γ</sup>. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ-ΕΚΔΟΣΕΙΣ-ΤΟΜΟΥΣ ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ**

**ΣΥΝΟΛΟ: 15**

Σειρά υποψηφίου μεταξύ των συγγραφέων

1<sup>ος</sup> σε: 8

Άλλη θέση σε: 7

**ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ-ΕΚΔΟΣΕΙΣ- ΤΟΜΟΥΣ**  
**ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**1) ΚΛΙΝΙΚΑ, ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ TEL/AML1(+) ΟΛΩ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΦΗΒΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Β.Παπαδάκης, Κ.Τσίτσικας, Δ.Παυλίδης, Σ. Παπαργύρη, Γ. Αυγερινού, Α. Παρχαρίδου, Μ. Γεωργιακάκη, Σ. Πολυχρονοπούλου

Haema ,4-7 November 2009, Volume 12, Suppl 1, pg63

**2) ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ 1999-2009: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Α. Παρχαρίδου, Σ. Παπαργύρη, Κ.Τσίτσικας Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Γ. Αυγερινού, Ζ. Μαυρογεώργη , Κ.Σαμπάνη, Χ. Μπέλεση, Ν.Λαουτάρης, Σ. Πολυχρονοπούλου

Haema ,4-7 November 2009, Volume 12, Suppl 1, pg206-207

**3) ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΥΠΑΡΞΗΣ ΥΠΕΡΑΙΠΛΟΕΙΔΙΑΣ ΜΕ ΕΙΔΙΚΕΣ ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΘΕΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ALL)**

Σ.Παπαδημητρίου Γ.Πατεράκης, Ν.Τσαγκαράκης, Α.Παϊσίου, Ι.Κωστόπουλος, Ι.Πελαγιάδης, Γ.Αυγερινού, **Μ.Αμπατζίδου**, Α.Αγγελίδης, Δ.Παυλίδης, Ν.Κατζηλάκης, Β.Παπαδάκης, Θ.Μαρινάκης, Ε.Στειακάκη, Μ.Καλμαντή, Σ.Πολυχρονοπούλου, Ν.Αναγνωστόπουλος, Μ.Γεωργιακάκη

Haema ,4-7 November 2009, Volume 12, Suppl 1,pg33

**4) ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΔΙΑΣΤΡΩΜΑΤΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

**Αμπατζίδου Μαρία**

Πεπραγμένα 2<sup>ης</sup> Επιστημονικής Ημερίδας του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας

του Γ.Ν. Παιδων «Η Αγία Σοφία», 18/9/2010, Αθήνα

**5) ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΕΦΗΒΩΝ: ΚΛΑΣΣΙΚΟΙ ΚΑΙ ΝΕΟΤΕΡΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

**Μαρία Αμπατζίδου**, Ευθυμία Ρηγάτου και Σοφία Πολυχρονοπούλου

Παιδιατρική, Τόμος 74, τεύχος 3, Ιούλιος-Αύγουστος-Σεπτέμβριος 2011

**6) ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕ ΤΡΕΧΟΝΤΑ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΚΑΙ ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ**

**Μαρία Αμπατζίδου**, Ευθυμία Ρηγάτου και Σοφία Πολυχρονοπούλου

Παιδιατρική, Τόμος 75, τεύχος 1, Ιανουάριος-Φεβρουάριος-Μάρτιος 2012

**7) ΝΕΟΤΕΡΑ ΣΤΗΝ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ**

**Αμπατζίδου Μαρία**

Πεπραγμένα 5<sup>ης</sup> Επιστημονικής Ημερίδας του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας του Γ.Ν. Παιδων «Η Αγία Σοφία», 10/10/2015, Αθήνα

**ΣΥΝΟΛΟ: 18**

Σειρά υποψηφίου μεταξύ των συγγραφέων

1<sup>ος</sup> σε: 11

Άλλη θέση σε: 7

**ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ-ΕΚΔΟΣΕΙΣ**  
**ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**1) PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF FLOW-CYTOMETRY MINIMAL RESIDUAL DISEASE EVALUATION (FC-MRD) IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL)**

**Maria Ampatzidou**, George Paterakis, Vassilios Papadakis, Sophia Papargyri, Stefanos I Papadhimitriou, Georgia Avgerinou, Efthymia Rigatou, Stella Mouskou, Konstantinos Tsitsikas, Vassilios Vasdekis, Sophia Polychronopoulou

Pediatric Blood and Cancer, Volume 59(6-special issue);965-1152, December 2012

**2) CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: 12 YEARS OF EXPERIENCE, USING A BERLIN-FRANKFURT-MÜNSTER APPROACH, IN A GREEK CENTER.**

**Ampatzidou M**, Panagiotou JP, Paterakis G, Papadakis V, Papadhimitriou SI, Parcharidou A, Papargyri S, Rigatou E, Avgerinou G, Tsitsikas K, Vasdekis V, Haidas S, Polychronopoulou S.

Leuk Lymphoma. 2014 Jun 27:1-5.

**3) ROUTINE APPLICATION OF A NOVEL MLPA BASED FIRST LINE SCREENING TEST UNCOVERS CLINICALLY RELEVANT COPY NUMBER ABERRATIONS IN HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES UNDETECTABLE BY CONVENTIONAL CYTOGENETICS.**

Konialis C., Savola S., Karapanou S., Markaki A., Karabela M., Polychronopoulou S., **Ampatzidou M.**, Voulgarelis M., Viniou N., Variami E., Koumariou A., Zoi K., Hagnefelt B., Schouten J., Pangalos C.

Hematology. 2014 Jun;19(4):217-24.

**4) FLOW-CYTOMETRY MRD EVALUATION IN CHILDREN WITH ALL; CAN MRD LEVEL ON DAY 33 SERVE AS A SURROGATE MARKER FOR RELAPSE?**

**M.Ampatzidou**, G.Paterakis, K.Tsitsikas, S.I.Papadhimitriou, V. Papadakis, V.Vasdekis, L.Petrikkos and S.Polychronopoulou

Blood. 2014 Dec; 124(21):2401-2401

**5) ETV6/RUNX1-POSITIVE CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL): DO ADDITIONAL ABERRATIONS INFLUENCE TREATMENT RESPONSE AND OUTCOME?**

**M.Ampatzidou**, S.I.Papadhimitriou, G.Paterakis, L.Petrikkos, D.Pavlidis, K.Tsitsikas, V.Papadakis, G.Vassilopoulos and S.Polychronopoulou

Blood. 2014 Dec; 124(21):2403-2403

**6) MLL REARRANGEMENTS IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: CLINICAL AND GENETIC FEATURES OF A DISTINCT DISEASE ENTITY**

**M.Ampatzidou**, S.I.Papadimitriou, L.Petrikkos, D.Pavlidis, K.Tsitsikas, V.Papadakis, G.Paterakis and S.Polychronopoulou  
Blood. 2014 Dec; 124(21):5355-5355

**7) ADOLESCENTS AND YOUNG ADULTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC AND ACUTE MYELOID LEUKEMIA**

**Ampatzidou M.**, Kelaidi C., Dworzak M.N., Polychronopoulou S. MEMO-Magazine of European Medical Oncology 2018; 11(1):47-53. <https://doi.org/10.1007/s12254-017-0345-1>, first published online 2 Aug 2017

**8) PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF FLOW CYTOMETRY MRD LOG REDUCTION DURING INDUCTION TREATMENT OF CHILDHOOD ALL.**

**Ampatzidou M**, Paterakis G, Vasdekis V, Papadimitriou SI, Papadakis V, Vassilopoulos G, Polychronopoulou S.  
Leuk Lymphoma. 2018 Jul 2:1-4. doi: 10.1080/10428194.2018.1471603

**9) ETV6/RUNX1-POSITIVE CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL): THE SPECTRUM OF CLONAL HETEROGENEITY AND ITS IMPACT ON PROGNOSIS.**

**Ampatzidou M**, Papadimitriou SI, Paterakis G, Pavlidis D, Tsitsikas K, Kostopoulos IV, Papadakis V, Vassilopoulos G, Polychronopoulou S.  
Cancer Genet. 2018 Aug;224-225:1-11. doi: 10.1016/j.cancergen.2018.03.001. Epub 2018 Mar 27

**13<sup>ε</sup>. ΟΜΙΛΙΕΣ-ΕΙΣΗΓΗΣΕΙΣ-ΣΤΡΟΓΓΥΛΕΣ ΤΡΑΠΕΖΕΣ (27)**

**ΟΜΙΛΙΕΣ-ΕΙΣΗΓΗΣΕΙΣ-ΣΤΡΟΓΓΥΛΕΣ ΤΡΑΠΕΖΕΣ  
ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**1) ΚΛΙΝΙΚΑ, ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ TEL/AML1(+) ΟΛΗ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΦΗΒΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

**M. Αμπατζίδου**, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Β.Παπαδάκης, Κ.Τσίτσικας, Δ.Παυλίδης, Σ. Παπαργύρη, Γ. Αυγερινού, Α. Παρχαρίδου, Μ. Γεωργιακάκη, Σ. Πολυχρονοπούλου  
20<sup>0</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, Ελληνική Αιματολογική Εταιρία, Ηράκλειο Κρήτης, 4-7/11/2010

**2) ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ – ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΕΝΟΣ ΚΕΝΤΡΟΥ (1999-2009): ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**M. Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Α.Παρχαρίδου, Κ.Τσίτσικας, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Σ. Παπαργύρη, Γ.Αυγερινού, Κ.Σαμπάνη, Χ. Μπέλεση, Ι.Π.Παναγιώτου, Ν.Λαουτάρης, Σ.Χαϊδάς, Σ. Πολυχρονοπούλου  
1<sup>0</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 5-6/2/2010, Αθήνα



**3) TEL/AML1(+) ΟΛΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ: ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Ι.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Β.Παπαδάκης, Κ.Τσίτσικας, Δ.Παυλίδης, Σ. Παπαργύρη, Γ.Αυγερινού, Α. Παρχαρίδου, Μ. Γεωργιακάκη, Σ. Πολυχρονοπούλου  
1<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 5-6/2/2010, Αθήνα

**4) ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΗ ΔΙΑΣΤΡΩΜΑΤΩΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**

2<sup>η</sup> Επιστημονική Ημερίδα του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας του Γ.Ν. Παίδων «Η Αγία Σοφία», 18/9/2010, Αθήνα

**5) ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΕΛΑΧΙΣΤΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (MINIMAL RESIDUAL DISEASE-MRD) ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΑ): ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΝΩΣΤΟΥΣ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Γ.Πατεράκης, Β.Βασδέκης, Β.Παπαδάκης, Σ.Παπαδημητρίου, Σ.Παπαργύρη, Γ.Αυγερινού, Ε.Ρηγάτου, Κ.Τσίτσικας, Σ.Πολυχρονοπούλου  
2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**6) MULTIPLE LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION (MLPA) ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ ΜΕ ΣΥΜΒΑΤΙΚΟ ΚΑΡΥΟΤΥΠΟ ΚΑΙ FISH ΣΕ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΚΟΗΘΗ ΚΑΙ ΚΑΛΟΗΘΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Χ.Κονιάλης, Κ.Πάγκαλος, Σ.Πολυχρονοπούλου  
2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**7) t(12;21)(p13;q21) ΟΛΑ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ: ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ, ΣΥΝΟΔΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Β.Βασδέκης, Κ.Τσίτσικας, Σ.Παπαργύρη, Β.Βασιλόπουλος, Σ.Πολυχρονοπούλου  
2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**8) ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ(ΟΛΑ): 2001-2010- Η ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ ΕΝΟΣ ΤΜΗΜΑΤΟΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Γ.Πατεράκης, Β.Βασδέκης, Σ.Παπαργύρη, Σ.Παπαδημητρίου, Ε.Ρηγάτου, Κ.Ρόκα, Γ.Αυγερινού, Ι.Μπαρμπαλιάς, Σ.Μούσκου, Κ.Τσίτσικας, Σ.Πολυχρονοπούλου  
2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 10-11/2/2012, Θεσσαλονίκη

**9) ΠΑΙΔΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ: ΜΙΑ ΙΣΤΟΡΙΑ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΕΠΙΤΥΧΙΑΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**

Επιστημονική ημερίδα «Νεοπλασίες στα παιδιά: υπάρχει ελπίδα»  
Γ.Ν.Παίδων «Η Αγία Σοφία», 17-5-2012  
Αθήνα

**10) MLL ΑΝΑΔΙΑΤΑΞΕΙΣ ΣΤΗΝ ΟΛΗ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ (2000-2013): ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΜΙΑΣ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΗΣ ΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗΣ ΟΝΤΟΤΗΤΑΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Λ.Πετρίκκος, Ε.Ρηγάτου, Δ.Παυλίδης, Κ.Τσίτσικας, Γ.Πατεράκης και Σ.Πολυχρονοπούλου.

3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας, 21-22 Φεβρουαρίου 2014, Αθήνα

**11) ETV6/RUNX1(+) ΟΛΗ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ(2000-2013):ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ, ΣΥΝΟΔΕΣ ΒΛΑΒΕΣ, ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Σ.Παπαδημητρίου, Γ.Πατεράκης, Ε.Ρηγάτου, Λ.Πετρίκκος, Δ.Παυλίδης, Κ.Τσίτσικας, Γ.Βασιλόπουλος και Σ.Πολυχρονοπούλου.

3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας, 21-22 Φεβρουαρίου 2014, Αθήνα

**12) ΝΕΟΤΕΡΑ ΣΤΗΝ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ**

**Αμπατζίδου Μαρία**

Στρογγυλό Τραπέζι «Νέα εποχή στη στοχευμένη και εξατομικευμένη προσέγγιση του παιδιού και εφήβου με αιματολογικές κακοήθειες: εφαρμογές και προοπτικές»

5<sup>η</sup> Επιστημονική Ημερίδα του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας του Γ.Ν. Παιδών «Η Αγία Σοφία», 10/10/2015, Αθήνα

**13) ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΚΑΘΑΡΣΗΣ ΤΟΥ ΛΕΥΧΑΙΜΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΛΗ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Β. Παπαδάκης, Σ. Πολυχρονοπούλου.

26ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 3-5 Νοεμβρίου 2016, Θεσσαλονίκη

**14) ΥΠΕΡΔΙΠΛΟΕΙΔΙΑ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ (ΟΛΗ): DNA INDEX, ΣΥΝΟΔΕΣ ΒΛΑΒΕΣ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ. Αμπατζίδου**, Γ. Πατεράκης, Κ. Τσίτσικας, Ε. Ταμπάκη, Δ. Παυλίδης, Ι.Β. Κωστόπουλος, Λ. Φλωρεντίν, Κ. Μανωλά, Χ. Κελαϊδή, Λ. Πετρίκκος, Ε. Ρηγάτου, Β. Δενδρινός, Σ. Παπαργύρη, Β. Παπαδάκης, Σ. Πολυχρονοπούλου.

26ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 3-5 Νοεμβρίου 2016, Θεσσαλονίκη

**15) EXPERIENCE IN TREATING ALL PATIENTS: DILEMMAS AND PROPOSALS**

**Ampatzidou M.**

Στρογγυλή τράπεζα: Acute Lymphoblastic Leukemia (chairs: Sophia Polychronopoulou and Stephen Hunger)

Διεθνές Επιστημονικό Συμπόσιο: Building Trans-atlantic bridges in pediatric hematology-oncology, Children's Hospital of Philadelphia and Aghia Sophia Children's Hospital, Athens Plaza Hotel, 21-22 Απριλίου 2017

**16) Η ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΗΣ ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΚΑΘΑΡΣΗΣ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΜΕ ΠΟΛΥΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ MRD (D15-D33) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΛΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Β.Παπαδάκης, Μ.Μπάκα, Α.Καττάμης, Ε.Στειακάκη, Ε.Χατζηπαντελής, Δ.Κολιούσκας, Δ.Δογάνης, Λ.Πετρίκκος, Ε.Δανά, Χ.Κελαϊδή, Ν.Κατζηλάκης, Α.Τραγιανίδης, Ε.Παπακωνσταντίνου, Θ.Αναστασίου, Μ.Τζανουδάκη, Γ.Πατεράκης, Ε.Κοσμίδη και Σ.Πολυχρονοπούλου.

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα (Α΄ Βραβείο κλινικοεργαστηριακής μελέτης)

#### **17) Η ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ SALSΑ MLPA P335 ΚΙΤ ΣΕ ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΓΕΝΩΜΙΚΗ ΔΙΑΣΤΡΩΜΑΤΩΣΗ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Λ.Πετρίκκος, Λ.Φλωρεντίν, Σ.Παπαδημητρίου, Δ.Μπουζαρέλου, Χ.Μπίλη, Β.Παπαδάκης, Χ.Κελαϊδή, Γ.Πατεράκης, Κ.Τσίτσικας, Σ.Πολυχρονοπούλου

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

#### **18) ΥΠΟΤΡΟΠΕΣ ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ (ΟΛΛ) ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΕΤΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ALLIC BFM 2009: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗ**

**Μ.Αμπατζίδου**, Λ.Πετρίκκος, Α.Καττάμης, Μ.Μπάκα, Δ.Δογάνης, Ε.Στειακάκη, Ε.Χατζηπαντελής, Δ.Κολιούσκας, Β.Παπαδάκης, Χ.Κελαϊδή, Γ.Αυγερινού, Ε.Δανά, Ν.Κατζηλάκης, Α.Τραγιαννίδης, Σ.Παπαργύρη, Ε.Παπακωνσταντίνου, Ε.Κοσμίδη, Σ.Πολυχρονοπούλου

4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας. Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη. Ελληνική Εταιρία Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΕΕΠΑΟ), 4-6/5/2018, Αθήνα

### **14. ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΑ**

-Γνώση χειρισμού Η/Υ σε περιβάλλον Windows, Microsoft Office (Word, Excel, Powerpoint κ.ά.), Access, γνώσεις βασικού προγραμματισμού

-Ερασιτεχνικές θεατρικές ομάδες

-Λογοτεχνία-ποίηση

Σύσταση "Ατυπής Λέσχης Νέων Λογοτεχνών", Θεσσαλονίκη,

Πολιτιστική πρωτεύουσα της Ευρώπης 1997

### **15. ΣΥΣΤΑΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΟΛΕΣ**

- 1) Από τη Συντονίστρια Διευθύντρια του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΤΑΟ) του Γ.Ν.Παιδών «Η Αγία Σοφία», **Δρ Σοφία Πολυχρονοπούλου**
- 2) Από τον Καθηγητή Παθολογίας Αιματολογίας και Διευθυντή της Πανεπιστημιακής Αιματολογικής Κλινικής Και Μονάδας Μεταμόσχευσης Μυελού των οστών του Γ.Ν.Α. «Λαϊκό», **Καθηγητή Δρ Ιωάννη Μελέτη**
- 3) Από τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Κυτταρομετρίας Ροής του Ανοσολογικού Τμήματος του Γ.Ν.Α. «Γ.Γεννηματάς», **Δρ Γεώργιο Πατεράκη**
- 4) Από τον Διευθυντή του Νοσοκομείου Ειδικών Παθήσεων Θεσσαλονίκης (ΝΕΠΘ-Λοιμωδών), **Δρ Ιωάννη Καβαλιώτη**
- 5) Από τον Διευθυντή της Μονάδας Εντατικής Νοσηλείας Νεογνών (ΜΕΝΝ ΕΣΥ) του Γ.Π.Ν. Ιπποκράτειου Θεσ/νίκης, **Δρ Α. Ανδρέου**
- 6) Από τον Διευθυντή του Κέντρου Υγείας Μήλου, **Κο Ηλία Αποστολόπουλο**

**«ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ  
ΤΗΣ t(12;21)(p13;q22)(+) ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ  
ΣΤΟΝ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ»**

**ΑΜΠΑΤΖΙΔΟΥ ΜΑΡΙΑ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2018

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. **Βασιλόπουλος Γεώργιος**, Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Παν.Θεσσαλίας (Επιβλέπων)
  
2. **Γερμενής Αναστάσιος**, Καθηγητής Εργαστηρικής Ανοσολογίας, Τμήμα Ιατρικής,  
Παν.Θεσσαλίας
  
3. **Γιαννακούλας Νικόλαος**, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας, Τμήμα  
Ιατρικής, Παν.Θεσσαλίας

## Abstract

The t(12;21)(p13;q22) or otherwise ETV6/RUNX1 gene rearrangement, being the most common genetic abnormality in childhood ALL, is combined with controversial prognostic behavior and frequent late relapses, indicating the need for identification of additional prognostic markers. The prognostic significance of the ETV6/RUNX1 fusion, as a sole abnormality or of the accompanying secondary aberrations, have been debated for the last decade. Furthermore, whether secondary aberrations and co-existing sub-clones are responsible for delayed MRD clearance, moderating outcome in patients with ETV6/RUNX1-positive ALL, remains also to be clarified.

The aim of the current thesis was to define the epidemiology and prognostic significance of the ETV6/RUNX1 fusion, as well as to study the relation between the ETV6/RUNX1 aberration and the co-existing subclones and/or secondary aberrations with a) presenting clinical and biological features, b) early response to treatment (MRD/MRD log-reduction) and c) long-term outcome in pediatric ALL patients.

All 204 patients studied in the current thesis were consecutively diagnosed and homogeneously treated according to BFM-based protocols. 41/204 patients (20,1%) were ETV6/RUNX1-positive. 31/41 ETV6/RUNX1-positive patients (75,6%) harbored additional genetic abnormalities while 18/41 (43,9%) presented with clonal heterogeneity. The most common noticed abnormalities were del12p13(43,9%), 2-3xETV6/RUNX1(19,5%), del9p21(17,1%) and 3-6x21q22(9,8%). The presence of the ETV6/RUNX1 fusion did not have a statistically significant impact on the probability of relapse (RFS 87,8% vs 90,8% in case of translocation absence,  $p=0,719$ ). Among ETV6/RUNX1(+) pts, children with additional aberrations presented with inferior RFS rates (83,9% vs 100,0% in case of sole abnormality,  $p=0,03$ ). Additionally, the presence of subclones was associated with dismal prognosis (RFS 72,2% vs 100,0% in pts without subclones,  $p=0,002$ ). Regarding the accompanying aberrations, the presence of homozygous 9p21 deletion had a statistically significant impact on the probability of relapse (RFS 57,1% vs 94,1% in cases of 9p21 deletion or absence, respectively,  $p=0,002$ ). MRD-positivity on day 15 of induction was detected in 40,0% of pts with sole ETV6/RUNX1 translocation; the corresponding MRD among ETV6/RUNX1-positive patients carrying subclones rises to 83,3%. Within a median follow-up time of 106 months, 5/41 ETV6/RUNX1(+) patients (12,2%) relapsed; median time of relapse occurrence was 47,8 months compared to 13,3 months among the ETV6/RUNX1(-) subgroup. Common features of all ETV6/RUNX1(+) relapses were sub-clonal diversity and FCM-MRD<sub>d15</sub> positivity at a high level( $10^{-3}$  or  $10^{-2}$ ).

In conclusion, ETV6/RUNX1+ childhood ALL is characterized by extreme heterogeneity and the prognostic value of the fusion itself varies, depending on coexisting clinical and biological features. The results of the current thesis indicate that the presence of additional genetic aberrations (such as del9p21), clonal heterogeneity and impaired FCM-MRD clearance, influences patient outcome. The presence of clonal heterogeneity and/or clonal evolution is connected to high levels of FC-MRD on day 15 of induction treatment. The fact that, in our series, all late relapses came from the pool of FC-MRD<sub>d15</sub> positive patients, strongly supports the hypothesis that the high levels of FC-MRD<sub>d15</sub>, may serve as a surrogate marker, distinguishing a subgroup of patients with heterogenous outcome; longer follow-up is

needed in order to comprehensively study the biology of the disease within this distinct subgroup of ETV6/RUNX1+ patients with delayed clearance. A possible ongoing clonal evolution may further be associated with a greater genetic instability of the ancestral clone. Thus, the results of the current thesis support that clonal heterogeneity may well be driving disparate outcomes, possibly coinciding with other underlying mechanisms. FISH and FCM data may help establish new prognostic markers to predict relapse and refine risk stratification.

## Περίληψη

Η t(12;21)(p13;q22) ή αλλιώς ETV6/RUNX1 μετάθεση, αποτελεί την πιο συχνή γενετική ανωμαλία της παιδικής οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας (ΟΛΛ) και συνδυάζεται με αμφισβητούμενη ευνοϊκή πρόγνωση και συχνές όψιμες υποτροπές, γεγονός που υπαγορεύει την ανάγκη προσδιορισμού επιπρόσθετων προγνωστικών παραμέτρων διαστρωμάτωσης. Η προγνωστική σημασία της ETV6/RUNX1 ατυπίας καθώς και αυτή των συνοδών κυτταρογενετικών βλαβών, αποτελεί αντικείμενο έρευνας και διχογνωμιών κατά την τελευταία δεκαετία. Επιπρόσθετα, η επίδραση των συνοδών βλαβών και της συνυπάρχουσας κλωνικής ετερογένειας στην ταχύτητα κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου (MRD) και στην τελική έκβαση των ETV6/RUNX1(+) παιδιατρικών ασθενών με ΟΛΛ, δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί.

Στόχος της παρούσης διδακτορικής διατριβής αποτελεί η αποτύπωση της επιδημιολογίας και της προγνωστικής σημασίας της ETV6/RUNX1 μετάθεσης, καθώς και η συσχέτιση μεταξύ της ETV6/RUNX1 ατυπίας και των συνοδών κυτταρογενετικών βλαβών και υποκλώνων με: α) τα κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά της νόσου, β) την πρώιμη απάντηση στη θεραπεία και την ταχύτητα κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου (MRD/MRD log-reduction), και τέλος γ) την έκβαση των παιδιατρικών ασθενών με ΟΛΛ.

Όλοι οι ασθενείς (204) που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή διαγνώστηκαν διαδοχικά και αντιμετωπίστηκαν ομοιογενώς σύμφωνα με τα BFM πρωτόκολλα θεραπείας. 41/204 ασθενείς (20,1%) ήταν ETV6/RUNX1(+). Σε 31/41 ETV6/RUNX1(+) ασθενείς (75,6%) αναγνωρίστηκαν επιπρόσθετες γενετικές βλάβες ενώ 18/41 (43,9%) παρουσίαζαν κλωνική ετερογένεια και παρουσία υποκλώνων στη διάγνωση. Οι πιο συχνές συνοδές ανωμαλίες ήταν οι εξής: del12p13(43,9%), 2-3xETV6/RUNX1(19,5%), del19p21(17,1%) και 3-6x21q22(9,8%). Η παρουσία της ETV6/RUNX1 μετάθεσης δεν είχε στατιστικά σημαντική επίπτωση στην τελική έκβαση και την πιθανότητα υποτροπής (RFS 87,8% έναντι 90,8%, σε ETV6/RUNX1 θετικούς και αρνητικούς ασθενείς, αντίστοιχα, p=0,719). Μεταξύ των ETV6/RUNX1(+), οι ασθενείς με συνοδές γενετικές βλάβες παρουσίαζαν δυσμενέστερη έκβαση, με RFS 83,9% έναντι 100,0% στους ασθενείς με αμιγή ατυπία χωρίς παρουσία συνοδών βλαβών, p=0,03). Επιπρόσθετα, η παρουσία υποκλώνων στη διάγνωση παρουσίαζε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής και δυσμενέστερη έκβαση (RFS 72,2% έναντι 100,0% σε ασθενείς χωρίς υποκλώνους, p=0,002). Αναφορικά με τις συνυπάρχουσες συνοδές ανωμαλίες, το ομόζυγο έλλειμμα της χρωμοσωμικής θέσης 9p21 παρουσίαζε σημαντική επίπτωση στην πιθανότητα υποτροπής (RFS 57,1% έναντι 94,1% σε

παρουσία ή απουσία των 9p21 ελλειμμάτων, αντίστοιχα,  $p=0,002$ ). MRD-θετικότητα την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου ανιχνεύθηκε σε 40,0% των ασθενών με αμιγή ETV6/RUNX1 ατυπία. Το αντίστοιχο ποσοστό ανιχνεύσιμης MRDd15 μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) ασθενών με παρουσία υποκλώνων ανέρχεται σε 83,3%. Σε διάμεσο χρόνο παρακολούθησης 106 μήνες, 12,2% των ETV6/RUNX1(+) ασθενών υποτροπίασαν, με διάμεσο χρόνο εμφάνισης υποτροπής 47,8 μήνες, έναντι 13,3 μήνες στην υποομάδα των ETV6/RUNX1(-) ασθενών. Κοινά χαρακτηριστικά όλων των ETV6/RUNX1(+) υποτροπών αποτελούσαν η παρουσία υποκλώνων στη διάγνωση και η ανίχνευση σημαντικής FC-MRD<sub>d15</sub> ( $10^{-3}$  ή  $10^{-2}$ ).

Συμπερασματικά, η ETV6/RUNX1+ ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια και η προγνωστική σημασία της μετάθεσης ποικίλλει, εξαρτώμενη από τα συνυπάρχοντα κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά. Τα αποτελέσματα της παρούσης διδακτορικής διατριβής υποδεικνύουν ότι η παρουσία συνοδών γενετικών βλαβών (όπως del9p21), η παρουσία υποκλώνων και η καθυστερημένη κάθαρση του λευχαιμικού φορτίου (FC-MRD clearance), επιβαρύνουν την τελική πρόγνωση. Η παρουσία κλωνικής ετερογένειας και/ή κλωνικής εξέλιξης, συνδέεται με αυξημένα επίπεδα FC-MRD την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου. Το γεγονός ότι, στο υλικό της παρούσης διατριβής, όλες οι όψιμες υποτροπές προκύπτουν από τη δεξαμενή των FC-MRD<sub>d15</sub> θετικών ασθενών, επιβεβαιώνει την αρχική υπόθεση ότι τα υψηλά επίπεδα της FC-MRD<sub>d15</sub>, μπορούν να αποτελέσουν έναν αξιόπιστο δείκτη προγνωστικής διαστρωμάτωσης (surrogate marker), αναγνωρίζοντας μια διακριτή υποομάδα ασθενών με ετερογενή δυσμενέστερη έκβαση. Μεγαλύτερες πολυκεντρικές και διεθνείς συνεργατικές μελέτες απαιτούνται, προκειμένου να κατανοήσουμε καλύτερα τη βιολογία της νόσου στη διακριτή αυτή υποομάδα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών με παρουσία υποκλώνων και βραδεία κάθαρση. Πιθανότατα, μία συνεχιζόμενη κλωνική εξέλιξη μπορεί να σχετίζεται περαιτέρω με μία ενδεχόμενη γενετική αστάθεια του αρχέγονου (ancestral) κλώνου. Τα αποτελέσματα της παρούσης διδακτορικής διατριβής υποδεικνύουν πως η κλωνική ετερογένεια ευθύνεται για δυσμενέστερη έκβαση, πιθανότατα συνυπάρχοντας με άλλους υποκείμενους μηχανισμούς που εμπλέκονται στη βιολογία του νοσήματος. Η χρήση του FISH και της κυτταρομετρίας ροής μπορούν να βοηθήσουν στην καθιέρωση νέων προγνωστικών δεικτών και παραμέτρων πρόβλεψης της υποτροπής, με τελικό στόχο την καλύτερη διαστρωμάτωση και την μακροπρόθεσμη βελτίωση της έκβασης των παιδιατρικών ασθενών με ΟΛΛ.

## Πίνακας Περιεχομένων

<b>Κεφάλαιο 1 ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	Σελ.34
<b>Κεφάλαιο 2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
<b>2.1</b> Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (ΟΛΛ) της παιδικής ηλικίας .....	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
<b>2.2</b> Κυτταρογενετική ταξινόμηση της παιδικής ΟΛΛ και ο ρόλος των γενετικών βλαβών στη λευχαιμογένεση.....	<b>Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.</b>
<b>2.3</b> Μοριακή ταξινόμηση και σύγχρονος γενετικός χάρτης της παιδικής ΟΛΛ.....	Σελ.38
<b>2.4</b> t(12;21)(p13;q22)(+) ΟΛΛ (ETV6/RUNX1+ ΟΛΛ): ETV6, RUNX1 και το ETV6/RUNX1 υβριδικό γονίδιο και πρωτεΐνη.....	Σελ.39
<b>2.5</b> Συνοδές γενετικές βλάβες στην ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ: Η θεωρία των «πολλαπλών χτυπημάτων».....	Σελ.44
<b>2.6</b> .Προγνωστική σημασία της ETV6/RUNX1 μετάθεσης και των συνοδών βλαβών στην έκβαση της παιδικής ΟΛΛ.....	Σελ.49
<b>2.7</b> Κλωνική ετερογένεια και υποτροπές στην ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ.....	Σελ.51
<b>Κεφάλαιο 3 ΣΚΟΠΟΣ</b> .....	<b>Σελ.55</b>
<b>Κεφάλαιο 4 ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ</b> .....	<b>Σελ.56-68</b>
<b>4.1</b> Ασθενείς <b>Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης</b> .....	Σελ.56
<b>4.2</b> Διαγνωστικές μέθοδοι <b>Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης</b> .....	Σελ.57
<b>4.2.1.</b> Ανοσοφαινότυπος (κυτταρομετρία ροής) <b>Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης</b> .....	Σελ.57
<b>4.2.2.</b> Κλασσικός κυτταρογενετικός έλεγχος (G-Banding).... <b>Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης</b> .....	Σελ.58
<b>4.2.3.</b> Φθορίζων in situ υβριδισμός (Fluorescent in situ hybridization-FISH).....	Σελ <b>Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης</b> .59
<b>4.2.3.1</b> Φθορίζων in situ υβριδισμός σε μεσοφασικούς πυρήνες.....	Σελ.61
<b>4.2.3.2.</b> FISH και ορισμός κλωνικής ετερογένειας/υποκλώνων.....	Σελ <b>Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης</b> .63
<b>4.2.4.</b> Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) <b>Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης</b> .....	Σελ.63



4.2.5.	MLPA διερεύνηση στις υποτροπές	<b>Σφάλμα!</b>	<b>Δεν έχει οριστεί</b>	<b>σελιδοδείκτης.....</b>	<b>Σελ.65</b>
4.3	<b>Θεραπευτικά πρωτόκολλα</b>	....Σφάλμα!	Δεν έχει οριστεί	σελιδοδείκτης.....	Σελ.65
4.3.1.	Αρχική διαστρωμάτωση ασθενών (protocol risk groups).....	Σελ	<b>Σφάλμα!</b>	<b>Δεν έχει οριστεί</b>	<b>σελιδοδείκτης.65</b>
4.3.2.	Θεραπευτικές ομάδες κινδύνου (therapy risk groups) και θεραπευτικός κορμός.....	Σελ	<b>Σφ</b>	<b>άλμα!</b>	<b>Δεν έχει οριστεί</b>
4.4.	<b>Στατιστική ανάλυση</b>	<b>Σφάλμα!</b>	<b>Δεν έχει οριστεί</b>	<b>σελιδοδείκτης.....</b>	<b>Σελ.68</b>
<b>Κεφάλαιο 5</b>	<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	Σφάλμα!	Δεν έχει οριστεί	σελιδοδείκτης.....	<b>Σελ.69-86</b>
5.1	Επίπτωση και επιδημιολογία	<b>Σφάλμα!</b>	<b>Δεν έχει οριστεί</b>	σελιδοδείκτης.....	Σελ.69
5.2	Συνοδές κυτταρογενετικές βλάβες και υποκλώνοι	<b>Σφάλμα!</b>	<b>Δεν έχει οριστεί</b>	σελιδοδείκτης.....	Σελ.71
5.3	Διαστρωμάτωση ασθενών και απάντηση στην κορτιζόνη.....	Σελ	<b>Σφάλμα!</b>	<b>Δεν έχει οριστεί</b>	<b>σελιδοδείκτης.75</b>
5.4	Απάντηση στη θεραπεία και FCM-MRD τις ημέρες 15 και 33 της ΧΜΘ εφόδου (MRD clearance)	<b>Σφάλμα!</b>	<b>Δεν έχει οριστεί</b>	<b>σελιδοδείκτης.....</b>	<b>Σελ.76</b>
5.5	MRD clearance και παρουσία συνοδών βλαβών/υποκλώνων.....	Σελ.	77		
5.6.	Υποτροπές/συμβάματα.....	Σελ.	78		
5.6.1.	Κυτταρογενετικά ευρήματα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών στην υποτροπή..	Σελ.	79		
5.6.2.	MLPA ευρήματα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών στην υποτροπή.....	Σελ.	80		
5.7.	Συνολική επιβίωση (OS) και επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS).....	Σελ.	81		
5.8.	Επίπτωση της ETV6/RUNX1(+) μετάθεσης στην επιβίωση.....	Σελ.	82		
5.9.	Επίπτωση των συνοδών βλαβών και της παρουσίας ETV6/RUNX1(+) υποκλώνων στην επιβίωση.....	Σελ.	83		
5.10	Επίπτωση της MRDd15 και MRDd33 στην επιβίωση.....	Σελ.	85		
<b>Κεφάλαιο 6</b>	<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	<b>Σελ.</b>	<b>87-95</b>		

6.1.	Επίπτωση και συσχέτιση της ETV6/RUNX1 μετάθεσης με επιδημιολογικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά.....	Σελ.87
6.2.	Προγνωστική σημασία της ETV6/RUNX1 μετάθεσης.....	Σελ.89
6.3.	Παρουσία συνοδών βλαβών και εκτεταμένης κλωνικής ετερογένειας (υποκλώνων).....	Σελ.90
6.4.	Προγνωστική σημασία των συνοδών βλαβών και της κλωνικής ετερογένειας (υποκλώνων).....	Σελ.91
6.5.	MRD (MRDd15/MRDd33) και συσχέτιση των υποκλώνων με την ταχύτητα κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου.....	Σελ.92
6.6.	Χαρακτηριστικά των υποτροπών (κλωνική εξέλιξη ή κλωνική επιλογή)...	Σελ.94
6.7.	<b>ΣΥΝΟΨΗ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ</b> .....	<b>Σελ.95</b>
	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</b> <b>Επισυναπτόμενες δημοσιεύσεις</b> .....	<b>Σελ.96</b>
	<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	<b>Σελ.97-106</b>

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η t(12;21)(p13;q22) κυτταρογενετική ατυπία που οδηγεί στη δημιουργία του ETV6/RUNX1 υβριδικού γονιδίου αποτελεί τη συχνότερη μορφή οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας με φαινότυπο B-κυτταρικής προέλευσης (B-ΟΛΛ) στον παιδιατρικό πληθυσμό.

Η μετάθεση δημιουργείται, ενδεχομένως, προγεννητικά ενώ θεωρείται ότι μια προλευχαιμική φάση με παρουσία προλευχαιμικού κλώνου προηγείται της κλινικής εκδήλωσης της λευχαιμίας. Αντικρουόμενα δεδομένα για την προγνωστική σημασία της t(12;21)(p13;q22) κυτταρογενετικής ατυπίας καθώς και η παρουσία της σε μονοζυγωτικούς διδύμους, ανέδειξαν την ανάγκη αναγνώρισης επιπρόσθετων κυτταρογενετικών βλαβών που εμπλέκονται, πιθανότατα, στην παθογένεια και εξέλιξη της νόσου (second hit). Συνηθέστερες συνοδές ατυπίες που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία αποτελούν ελλείμματα του μη αναδιαταγεμένου ETV6 γονιδίου (12p13), υπερεκπροσωπήσεις των ETV6(12p13) και

RUNX1(21q22) γονιδίων, ελλείμματα των χρωμοσωμικών περιοχών 9p21, 6q21, ελλείμματα του MLL γονιδίου καθώς και ποικίλες τρισωμίες (21,4,10,16).

Παρά το γεγονός ότι η ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας σχετίζεται παραδοσιακά με ευνοϊκή πρόγνωση, ένας σημαντικός αριθμός όψιμων, κυρίως, υποτροπών, καθιστά επιτακτική την ανάγκη ενδελεχούς μελέτης των συνοδών βλαβών και της επίδρασης που έχουν στην τελική έκβαση της νόσου. Επιπρόσθετα, η παρουσία εκτεταμένης κλωνικής ετερογένειας στη διάγνωση και η ανίχνευση κάποιων εκ των κλώνων αυτών στις μετέπειτα υποτροπές, εγείρει υπόνοιες για την προγνωστική βαρύτητα συγκεκριμένων κυτταρογενετικών βλαβών καθώς και της ίδιας της κλωνικής ετερογένειας στην τελική έκβαση των ασθενών.

Αντικείμενο της παρούσης διδακτορικής διατριβής, αποτελεί η προσπάθεια αποτύπωσης της πρόγνωσης στην ενδιαφέρουσα αυτή υποομάδα της παιδικής Β-ΟΛΛ και η συσχέτιση με την παρουσία συνοδών κυτταρογενετικών βλαβών.

Επιπλέον, γίνεται προσπάθεια μελέτης της κλωνικής ετερογένειας στη διάγνωση, καθώς και της κλωνικής εξέλιξης ή επιλογής στην πορεία των ασθενών και σε ενδεχόμενη υποτροπή. Τέλος, στην προσπάθεια έγκαιρης αναγνώρισης της δεξαμενής των ασθενών από την οποία θα προκύψουν και οι περισσότερες υποτροπές, επιχειρείται η συσχέτιση με τον ανοσοφαινότυπο και την ελάχιστη υπολειμματική νόσο (Flow-Cytometry Minimal Residual

Disease/FC-MRD) καθώς και η μελέτη της διαφοροποίησης του ρυθμού κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου επί παρουσίας συνοδών κυτταρογενετικών βλαβών και υποκλώνων.

Η υπόθεση ότι η εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια στη διάγνωση συνδυάζεται με βραδύτητα της κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου και επικείμενες όψιμες ή και πρώιμες υποτροπές, θα μπορούσε να αποτελέσει το εφαλτήριο για την ακριβέστερη διαστρωμάτωση των ασθενών σε ομάδες κινδύνου και την περαιτέρω βελτίωση της πρόγνωσης στην μεγάλη αυτή υποομάδα της παιδικής ΟΛΛ.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

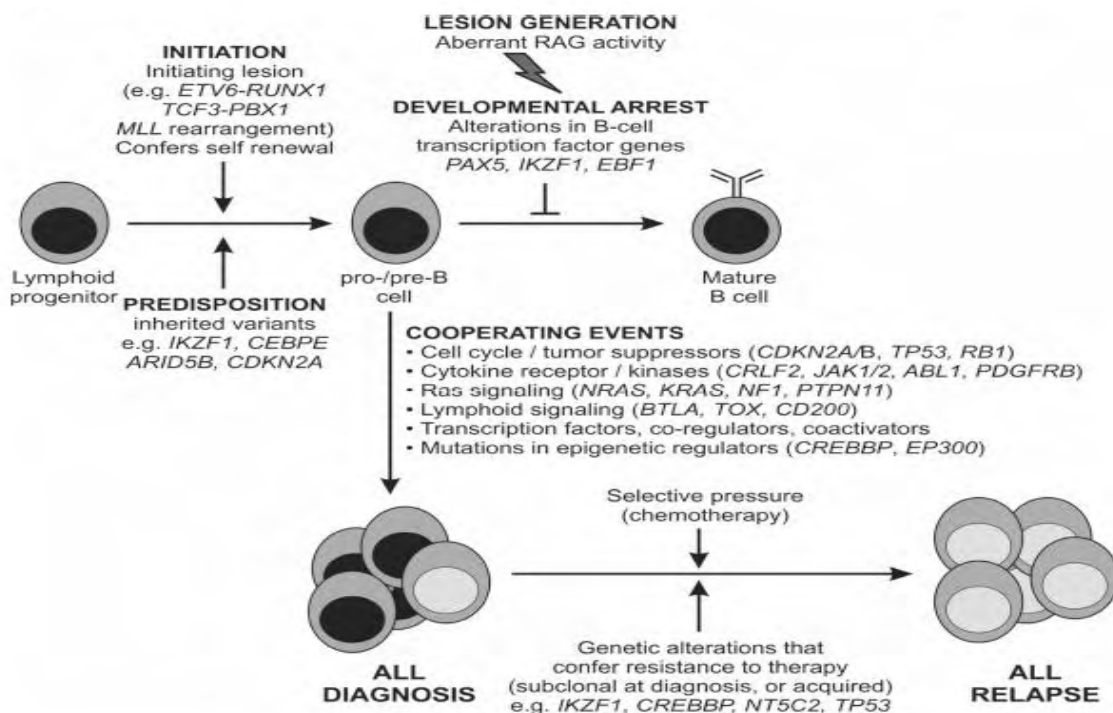
### **2.1 ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ**

Η παιδική Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (ΟΛΛ) αποτελεί το 80-85% των λευχαιμιών της παιδικής ηλικίας και αποτελεί πρότυπο επιτυχίας προόδου της αιματολογίας, με βάση τα υψηλά ποσοστά ίασης που έχουν επιτευχθεί διεθνώς και στη χώρα μας (85-90%), με ποσοστά μακροχρόνιας ύφεσης σαφώς υψηλότερα από τα αντίστοιχα των ενηλίκων [1]. Η επιτυχία αυτή έχει επιτευχθεί μέσω της διαστρωμάτωσης των ασθενών σε ομάδες κινδύνου και κυρίως μέσα από τη βαθύτερη κατανόηση των γενετικών ανωμαλιών που υπεισέρχονται στη λευχαιμογένεση (γενετικές ανωμαλίες και μοντέλα γονιδιακής έκφρασης). Η αναγνώριση βιολογικά διακριτών υποομάδων στην παιδική ΟΛΛ με τη βοήθεια κυτταρογενετικών και μοριακών τεχνικών, η μελέτη της γονιδιακής έκφρασης, η χρήση ανοσοφαινοτυπικών μεθόδων ανίχνευσης υπολειμματικής νόσου και η χρήση της φαρμακωγενωμικής προσφέρουν τη δυνατότητα εξέλιξης των προγνωστικών κριτηρίων, επιτρέποντας την πιο ακριβή διαστρωμάτωση των ασθενών και την εξατομίκευση του σχεδιασμού θεραπείας [1-3]. Η μελλοντική έρευνα στρέφεται προς την κατεύθυνση της αναγνώρισης, με σύγχρονες τεχνικές, ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων που θα οδηγήσουν στην αντικατάσταση/συμπλήρωση των παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου και στην περαιτέρω εξέλιξη και διαβάθμιση της εφαρμοσθείσας χημειοθεραπείας και των νέων θεραπειών. Οι σύγχρονες κυτταρογενετικές και μοριακές τεχνικές προσφέρουν ελπιδοφόρα μηνύματα όσον αφορά στην περαιτέρω μείωση της τοξικότητας της χημειοθεραπείας και στην εφαρμογή πρότυπων εξατομικευμένων θεραπευτικών παρεμβάσεων ενώ ο τελικός στόχος παραμένει πάντα η βελτίωση της μακροχρόνιας επιβίωσης των παιδιατρικών ασθενών με ΟΛΛ [1-3].

## **2.2 ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΟΛΛ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΣΤΗ ΛΕΥΧΑΙΜΟΓΕΝΕΣΗ**

Η παιδική ΟΛΛ, όπως και όλες οι αιματολογικές κακοήθειες, θεωρείται πλέον «γενετικό» νόσημα, με πληθώρα γενετικών βλαβών να υπεισέρχονται στη βιολογία της νόσου, να προκαλούν απορρύθμιση σημαντικών κυτταρικών διαδικασιών στα μονοπάτια της αιμοποίησης/λεμφοποίησης και να οδηγούν τελικά σε λευχαιμογένεση και «λευχαιμικό φαινότυπο» [4] (*Σχήμα 1*). Εκτός από την ανοσοφαινοτυπική ταξινόμηση της λευχαιμίας με βάση την προέλευση των βλαστών (B- ή T-κυτταρικής προέλευσης ΟΛΛ), η βασικότερη γενετική ταξινόμηση της ΟΛΛ καθορίζεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization-WHO classification of Tumors of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues), ο οποίος ήδη από το 2001 ορίζει διακριτές νοσολογικές οντότητες ΟΛΛ με βάση σημαντικές κυτταρογενετικές ανωμαλίες. Επιπλέον, ο συνδυασμός κυτταρογενετικών και ανοσοφαινοτυπικών χαρακτηριστικών στη διάγνωση χρησιμοποιείται πλέον στην ταξινόμηση της ΟΛΛ, ήδη από το 2008 [5] (*Πίνακας 1*). Με βάση την τελευταία τροποποίηση (2016),

αναγνωρίζονται πλέον 9 διακριτές νοσολογικές οντότητες ΟΛΛ, που χαρακτηρίζονται από πρωταρχικές γενετικές ανωμαλίες, διαφορετική βιολογική και προγνωστική συμπεριφορά και συνδέονται με συγκεκριμένο διακριτό προφίλ γονιδιακής έκφρασης [6] (Πίνακας 2).



Σχήμα 1: Ο ρόλος των γενετικών βλαβών στη λευχαιμογένεση (Hunger and Mullighan, 2015)

Γονίδια	Χρωμοσωμική διαταραχή	Ανοσοφαινότυπος	Συχνότητα	Πρόγνωση
<i>ETV6/RUNX1</i>	t(12;21)(p13;q22)	CD10+, CD19+, CD33+, CD34+, CD13+, CD9+/-, CD20+/-	25%-30%	ευνοϊκή
<i>TCF3/PBX1</i>	t(1;19)(q23;p13.3)	CD9+, CD10+, CD19+, CD20+/-, CD34-	5%-6%	ευνοϊκή με εντατική θεραπεία
<i>BCR/ABL1</i>	t(9;22)(q34;q11.2)	CD10+, CD19+, CD13+, CD33+, CD17-	3%-5%	κακή
<i>KMT2A/AFF1</i>	t(4;11)(q21;q23)	CD10-, CD19+, CD15+, CD24-, CD33+, CD34+, CD65+	4%-5%, 60%-70% βρέφη	κακή

Πίνακας 1: Οι συνηθέστερες γενετικές βλάβες στην παιδική ΟΛΛ και η συσχέτισή τους με ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά και πρόγνωση (Borowitz et al, 2008, WHO classification of Tumors of Haematopoetic and Lymphoid Tissues. Lyon 2008)

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ

ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ

	ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΛΛ	ΟΛΛ ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ
<b>Υψηλή υπερδιπλοειδία</b> (51-67 χρωμοσώματα)	25%	7%
<b>t(12;21)(p13;q22)-ETV6/RUNX1</b>	22%	2%
<b>11q23/KMT2A αναδιατάξεις</b>	8%	10%
<b>t(1;19)(q23;p13.3)-TCF3/PBX1</b>	5%	3%
<b>t(9;22)(q34;q11.2)-BCR/ABL1</b>	3%	25%
<b>Υποδιπλοειδία</b> (<45 χρωμοσώματα)	1%	2%
<b>t(5;14)(q31.1;q32.3)-IL3/IGH</b>	0%	<1%
<b>ΝΕΕΣ ΔΙΑΚΡΙΤΕΣ ΟΝΤΟΤΗΤΕΣ (2016 PROVISIONAL ENTITIES)</b>		
<b>“BCR-ABL1-like” ΟΛΛ</b>		
<b>Intrachromosomal AML1 amplification (iAMP21)</b>		

**Πίνακας 2:** Οι συνηθέστερες γενετικές ατυπίες στην Β-ΟΛΛ, με βάση την αναθεωρημένη ταξινόμηση (2016) του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (*WHO classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon 2016*, προσαρμογή από *Arber et al, 2016*). Όπως είναι εμφανές, ενώ η παιδική ΟΛΛ και η ΟΛΛ των ενηλίκων ταξινομούνται με βάση τις ίδιες γενετικές ανωμαλίες, η συχνότητα αυτών ποικίλλει σημαντικά ανά ηλικιακή ομάδα, προσδίδοντας έτσι διαφορετική βιολογική συμπεριφορά και πρόγνωση.

NGS) προσφέρουν πλέον τη δυνατότητα καλύτερης κατανόησης της βιολογίας της παιδικής ΟΛΛ, μέσω δύο βασικών οδών:

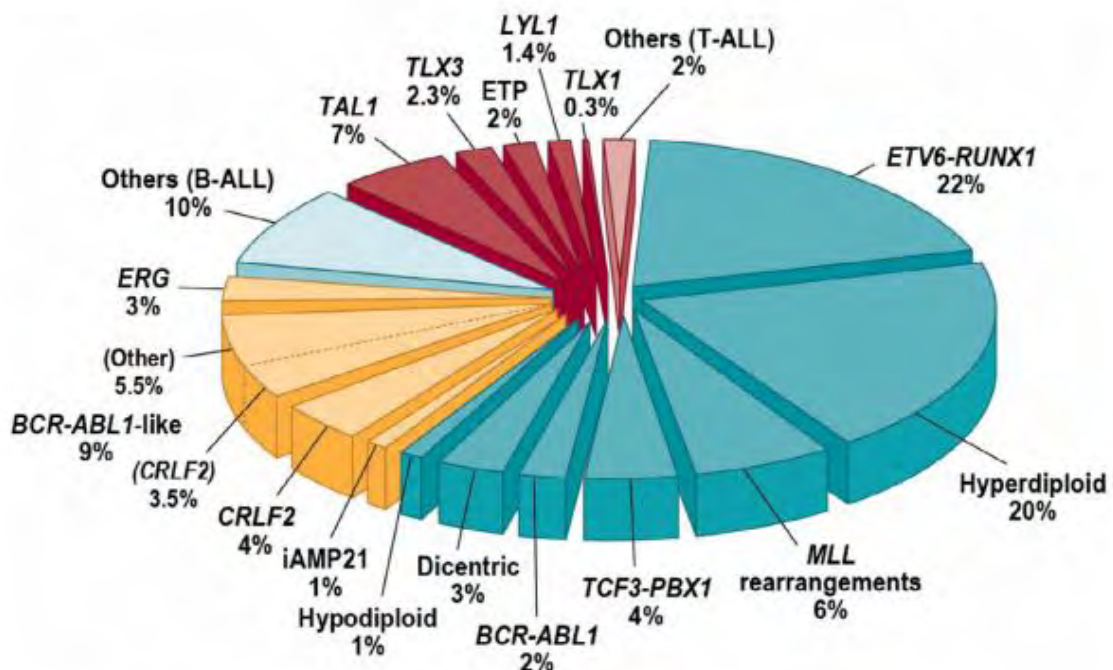
α) αναγνώριση νέων υποτύπων ΟΛΛ που φέρουν κρυπτικές ή υπομικροσκοπικές δομικές γενετικές ανωμαλίες,

β) αναγνώριση υπομικροσκοπικών γενετικών βλαβών που στοχεύουν και εμπλέκονται σε κυτταρικά μονοπάτια κλειδιά, με ιδιαίτερο ενδιαφέρον όσον αφορά σε κλινικές εφαρμογές, θεραπευτικούς στόχους και στην εφαρμογή πρότυπων εξατομικευμένων θεραπευτικών παρεμβάσεων.

Πολλά από τα γονίδια που αναγνωρίζεται, πλέον, ότι φέρουν δομικές ή αριθμητικές ανωμαλίες (μεταλλάξεις, προσθήκες ή ελλείμματα), κωδικοποιούν πρωτεΐνες με σημαντικό ρόλο στη λεμφοποίηση (π.χ. *PAX5, IZKF1, EBF1, LMO2*), στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και την καταστολή της ογκογένεσης (*CDKN2A/CDKN2B, PTEN, RBI, TP53*), στη

ρύθμιση της απόπτωσης (*BTG1*), σε RAS μονοπάτια (*NRAS*, *KRAS* and *NF1*) καθώς και στην μεταγραφική δραστηριότητα (*TBLIXR1*, *ETV6*, *ERG*) και επιγενετική ρύθμιση (*CTCF*, *CREBBP*) (*Σχήμα 1*)[3,4].

Οι σημαντικότερες γενετικές ανωμαλίες (genotypes) που σχετίζονται με διαφορετική βιολογική συμπεριφορά και χρησιμοποιούνται στη διαστρωμάτωση των ασθενών σε ομάδες κινδύνου (risk classification) απεικονίζονται ενδεικτικά στο *Σχήμα 2*, όπου είναι εμφανή νεότερα δεδομένα σχετικά με την υποκατηγοριοποίηση και μοριακή ταξινόμηση της ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας (ALL subclassification) [4].



*Σχήμα 2: Γενετικός χάρτης της παιδικής ΟΛΛ. Η ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας αντιπροσωπεύει μια ετερογενή οντότητα, με υποκείμενες γενετικές βλάβες που τροποποιούν την πρόγνωση και τελική έκβαση των ασθενών. Με μπλε απεικονίζονται οι συνηθείς γενετικές βλάβες στην Β-ΟΛΛ, με κόκκινο στην Τ-ΟΛΛ ενώ το κίτρινο χρώμα απευθύνεται σε πρόσφατα αναγνωριζόμενες διακριτές οντότητες της Β-ΟΛΛ. (Hunger and Mullighan, 2015)*

#### 2.4 t(12;21)(p13;q22)(+) ΟΛΛ (ETV6/RUNX1+ ΟΛΛ):

#### ETV6, RUNX1 ΚΑΙ ΤΟ ETV6/RUNX1 ΥΒΡΙΔΙΚΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΗ

Η  $t(12;21)(p13;q22)$  μετάθεση αποτελεί την πιο συχνή γενετική βλάβη της παιδικής ΟΛΛ, με συχνότητα που ποικίλλει από 15-30% [7-15]. Το γεγονός ότι η μετάθεση είναι «κρυπτική» και δεν αναγνωρίζεται στο συμβατικό καρυότυπο, οδήγησε στην καθυστερημένη περιγραφή της για πρώτη φορά από τους Romana και συνεργάτες το 1994 [7-11] δέκα χρόνια μετά την περιγραφή των άλλων 3 κλασσικών μεταθέσεων  $t(1;19)(q23;p13)$ ,  $t(9;22)(q34;q11)$  και  $t(4;11)(q21;q23)$  και μόλις κατέστη δυνατή η αναγνώρισή της με τη βοήθεια του φθορίζοντος in situ υβριδισμού (FISH-fluorescent in situ hybridization) [10].

Η βλάβη προκύπτει από την αμοιβαία μετάθεση του ETV6 γονιδίου (παλαιότερα γνωστό και ως TEL) στη χρωμοσωμική θέση 12p13 και του RUNX1 (γνωστό και ως AML1) στη χρωμοσωμική θέση 21q22, οδηγώντας στο σχηματισμό του ETV6/RUNX1 υβριδικού γονιδίου και στην κωδικοποίηση της αντίστοιχης πρωτεΐνης (Σχήμα 3). Τόσο το γονίδιο ETV6 όσο και το RUNX1 θεωρούνται σημαντικοί ρυθμιστές της φυσιολογικής αιμοποίησης και εμπλέκονται σε πληθώρα αιματολογικών κακοηθειών, όπως υποδηλώνεται από τη συμμετοχή τους στα υβριδικά γονίδια ETV6/PDGFRB, ETV6/JAK2, RUNX1/RUNX1T1 (AML1/ETO) [16].

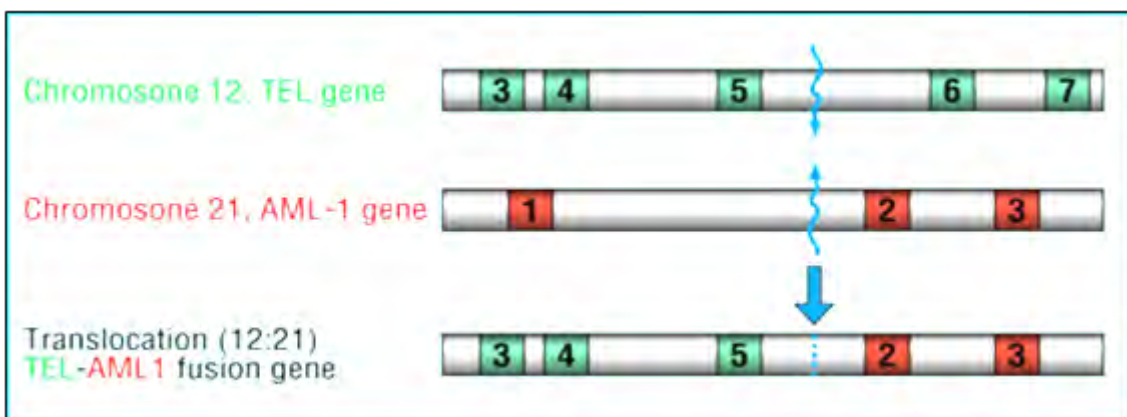
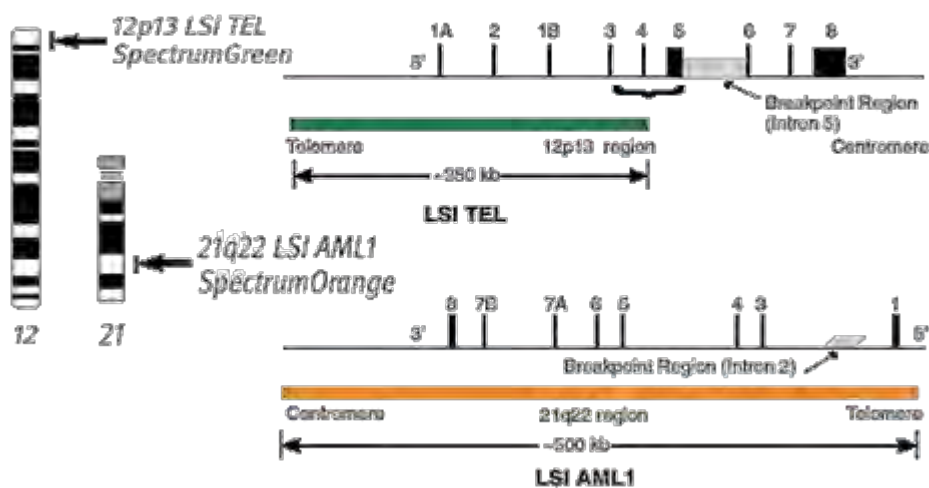
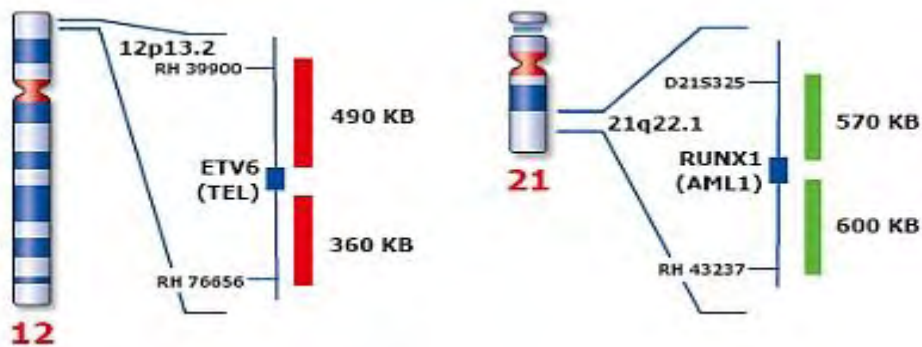
Το γονίδιο ETV6 αποτελεί έναν μεταγραφικό καταστολέα που περιλαμβάνει τις περιοχές PD (pointed domain), RD (repression domain) και την περιοχή δέσμευσης DNA ETS domain. Πειραματικά μοντέλα αποδεικνύουν πως το έλλειμμα του ETV6 οδηγεί σε εμβρυονικό θάνατο [17] ενώ έχει αποδειχθεί επίσης η υπόθεση ότι το γονίδιο είναι απαραίτητο, όχι στην φάση εμβρυϊκής ηπατικής αλλά μετέπειτα αιμοποίησης, στο μυελό των οστών [18].

Το γονίδιο RUNX1 κωδικοποιεί την α υπομονάδα του ετεροδιμερούς μεταγραφικού παράγοντα CBF (core-binding factor) ενώ η υπομονάδα β κωδικοποιείται από το CBFβ. Υπομονάδες του CBF κωδικοποιούνται εναλλακτικά και από τα γονίδια RUNX2 και RUNX3, ωστόσο το RUNX1 είναι αυτό που έχει θεμελιώδη σημασία για τη φυσιολογική αιμοποίηση. Αυτό αποδεικνύεται από πειραματικά μοντέλα, στα οποία το γονίδιο RUNX1 είναι απαραίτητο για την μετατροπή ενδοθηλιακών κυττάρων σε αιμοποιητικά κύτταρα σε ποντίκια [19], καθώς και από οικογενείς διαταραχές αιμοπεταλίων σε περιπτώσεις RUNX1 ελλειμμάτων [20]. Η πιο σταθερή περιοχή της οικογένειας των RUNX πρωτεϊνών είναι η

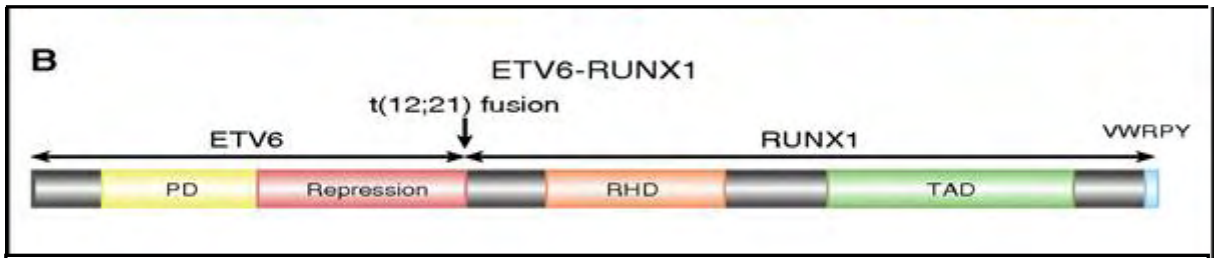


RHD (runt homology domain), που είναι επαρκής τόσο για τη δέσμευση του DNA όσο και για την αλληλεπίδραση με το CBFβ [21].

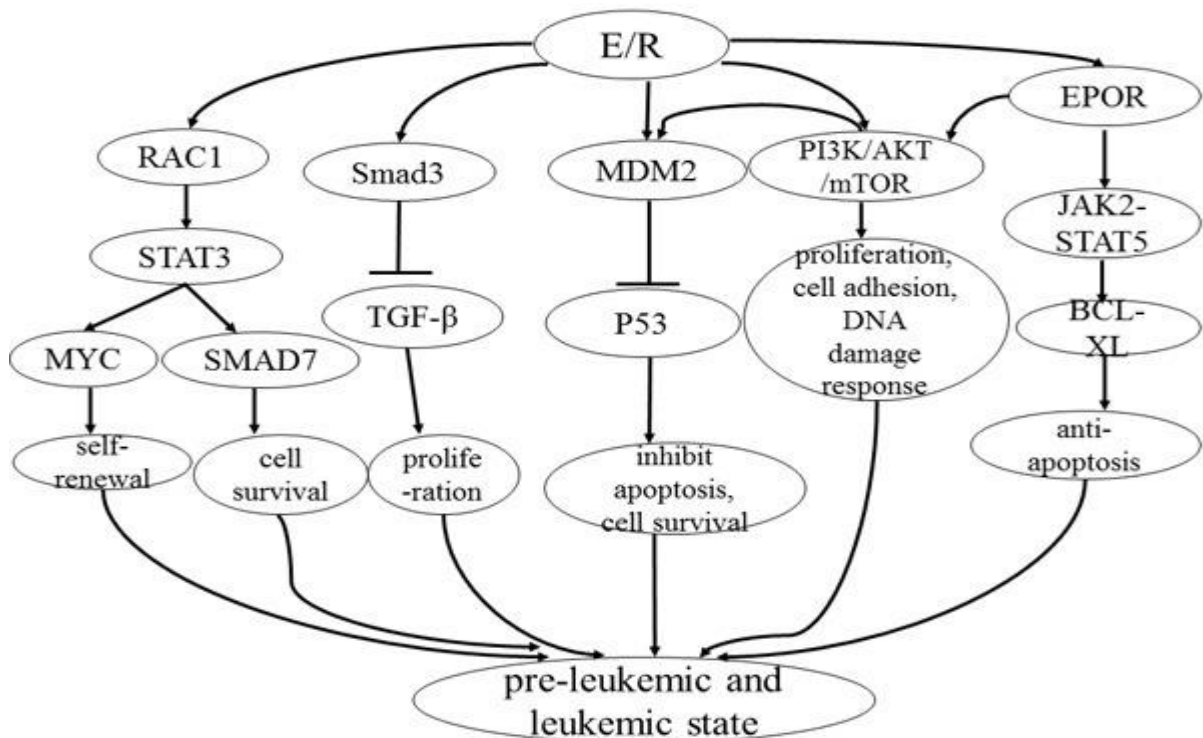
Τόσο το γονίδιο ETV6 όσο και το RUNX1 αποτελούν σημαντικούς μεταγραφικούς παράγοντες που εμπλέκονται στη φυσιολογική αιμοποίηση. Ο σχηματισμός της χμιαρικής πρωτεΐνης ETV6/RUNX1 έχει σαν αποτελέσματα την άμεση γεινίαση της κατασταλτικής περιοχής RD (repression domain) του ETV6 με την δεσμευτική περιοχή RHD (runt homology domain) του RUNX1, γεγονός που οδηγεί σε καταστολή γονιδίων που ενεργοποιούνται φυσιολογικά από το RUNX1 (RUNX1-dependent inhibition), πιθανά μέσω συνέργειας και με άλλους ανασταλτές όπως N-CoR/HDAC και mSin3A/HDAC συμπλέγματα [22-24]. Η υβριδική πρωτεΐνη είναι επίσης υπεύθυνη για πληθώρα άλλων σημαντικών λειτουργιών μέσω συνέργειας με πολλαπλούς μεταγραφικούς παράγοντες, όπως ETS-1, PU.1 και C/EBPα [25] ενώ η απώλεια του RUNX1 και η ETV6/RUNX1 χμιαρική έκφραση επηρεάζουν την αιμοποίηση προς αντίθετες κατευθύνσεις [26]. Σε κάθε περίπτωση, οι περιοχές PD (pointed domain) και RD (repression domain) του ETV6 και η RHD (runt homology domain) του RUNX1 θεωρούνται απαραίτητες για τη λειτουργία της υβριδικής πρωτεΐνης ETV6/RUNX1, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 4** [27], ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι η περιοχή PD του ETV6 διατηρείται και παραμένει λειτουργική και στην υβριδική πρωτεΐνη, γεγονός που επιτρέπει τον διμερισμό τόσο με το υβριδικό ETV6/RUNX1 όσο και με το μη αναδιατεταγμένο ETV6 [28]. Σύμφωνα με νεότερες έρευνες, η υβριδική ETV6/RUNX1 πρωτεΐνη συμμετέχει στην ενεργοποίηση και ρύθμιση πολλαπλών οδών και μονοπατιών σηματοδότησης που αναφέρονται περιληπτικά στο **Σχήμα 5** [29], δημιουργώντας και διατηρώντας έτσι τη λεγόμενη «προλευχαιμική κατάσταση», έως την οριστική μετατροπή σε οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία και τη δημιουργία κλινικού λευχαιμικού φαινοτύπου.



**Σχήμα 3:** Σχηματική απεικόνιση των γονιδίων ETV6 (TEL), RUNX1 (AML1) και σχηματισμός του ETV6/RUNX1 υβριδικού γονιδίου [τροποποιημένο σχήμα από atlasgeneticsoncology.org και Conter V, et al. *Acute Lymphoblastic Leukemia*. Orphanet Encyclopedia 2004. (<http://www.orphanet/data/patho/GB/uk-ALL>)]



**Σχήμα 4: Σχηματική απεικόνιση της ETV6/RUNX1 πρωτεΐνης.** Η υβριδική πρωτεΐνη διατηρεί τις ETV6 περιοχές PD (pointed domain) και RD (repression domain) ενώ κωδικοποιείται, επίσης, σχεδόν ολόκληρη η RUNX1 πρωτεΐνη, συμπεριλαμβανομένων των περιοχών RHD (runt homology domain) και TAD (transactivation domain) (τροποποιημένο σχήμα από *Raman Sood et al, 2017*).



**Σχήμα 5: ETV6/RUNX1 (E/R) και οδοί σηματοδότησης:** 1) STAT3 φωσφορυλίωση μέσω ενεργοποίησης του RAC1, με αποτέλεσμα την μετεγραφική επαγωγή του MYC. 2) Σύνδεση με Smad3 και αναστολή του TGF-β σήματος. 3) θετική ρύθμιση της δραστηριότητας του MDM2, αναστέλλοντας τη δράση του p53. 4) Ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού PI3K/AKT/Mtor, επηρεάζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τους μηχανισμούς DNA επιδιόρθωσης. 5) Σύνδεση με EPOR και επακόλουθη ενεργοποίηση της οδού JAK2-STAT5 και του αντιαποπτωτικού μορίου BCL-XL.

## 2.5 ΣΥΝΟΔΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΣΤΗΝ ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ: Η ΘΕΩΡΙΑ ΤΩΝ «ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΧΤΥΠΗΜΑΤΩΝ»

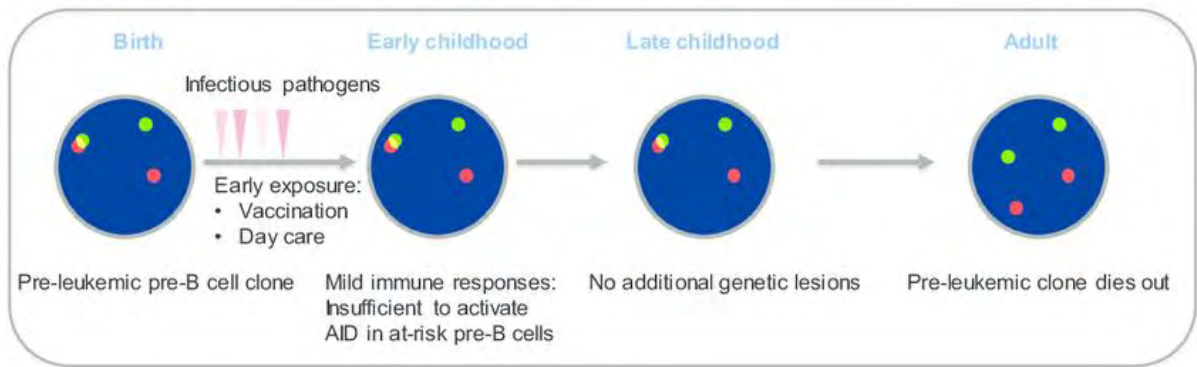
Η ανίχνευση της ETV6/RUNX1 μετάθεσης σε μονοζυγωτικούς διδύμους καθώς και σε δείγματα αίματος νεογνών που ανέπτυξαν ΟΛΛ εντός της επόμενης δεκαετίας, υποδεικνύει πως η ETV6/RUNX1 γενετική βλάβη αναπτύσσεται κατά την ενδομήτρια ζωή, αποτελώντας γενεσιουργό αίτιο και πρωταρχικό γεγονός (initiating event) της λεγόμενης «προλευχαιμικής κατάστασης» (preleukemic state) [1,2,29]. Η ποικίλη και ενίοτε παρατεταμένη διάρκεια της προλευχαιμικής αυτής κατάστασης (έως και 15 έτη) καθώς και νεότερα δεδομένα από πειραματικά μοντέλα, καταδεικνύουν πως ένα δεύτερο ή και τρίτο «χτύπημα» συμβαίνει μετά τη γέννηση και πως δευτεροπαθείς γενετικές βλάβες και δομικές ή αριθμητικές αλλοιώσεις γονιδίων (CNAs-copy number alterations) είναι απαραίτητες για το λευχαιμικό «μετασχηματισμό» και την εκδήλωση λευχαιμικού φαινοτύπου [15,30-35].

Το συνηθέστερο «δεύτερο χτύπημα» είναι συνήθως το έλλειμμα του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου [30] που συναντάται σε ποσοστό έως και 70% των ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ και θεωρείται πως ευθύνεται για την μετατροπή από την «προλευχαιμική» κατάσταση στην εκδήλωση της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας. Άλλες γενετικές βλάβες που έχουν συχνά περιγραφεί είναι ανωμαλίες στη χρωμοσωμική θέση 12p, τριπλασιασμός του χρωμοσώματος 21, διπλασιασμοί του υβριδικού γονιδίου ETV6/RUNX1, ανωμαλίες του MLL γονιδίου, ελλείμματα των χρωμοσωμικών θέσεων 6q και 9p (CDKN2A/B και PAX5) καθώς και πολλαπλές τρισωμίες (χρωμοσώματα 21,4,10,16 κ.α.) [15,30-35]. Περίπου 20% των ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ παρουσιάζουν πολλαπλές γενετικές βλάβες των γονιδίων ETV6 ή RUNX1 ενώ το έλλειμμα του μη αναδιατεταγμένου ETV6 και η υπερεκπροσώπηση του RUNX1 γονιδίου είναι τόσο συχνές συνοδές γενετικές βλάβες, ώστε η ανίχνευσή τους θεωρείται πλέον μία έμμεση απόδειξη της ίδιας της κρυπτικής ETV6/RUNX1 μετάθεσης [8,30,32,33,35]. Ιδιαίτερα συχνό, σε ποσοστό 25%, είναι επίσης το έλλειμμα της χρωμοσωμικής θέσης 9p, επηρεάζοντας τα γονίδια CDKN2A/B [36,37], με τα οποία έχει αναφερθεί συνέργεια του ETV6/RUNX1 γονιδίου στο μετασχηματισμό άωρων προβαθμίδων της λεμφικής σειράς σε ποντίκια [38].

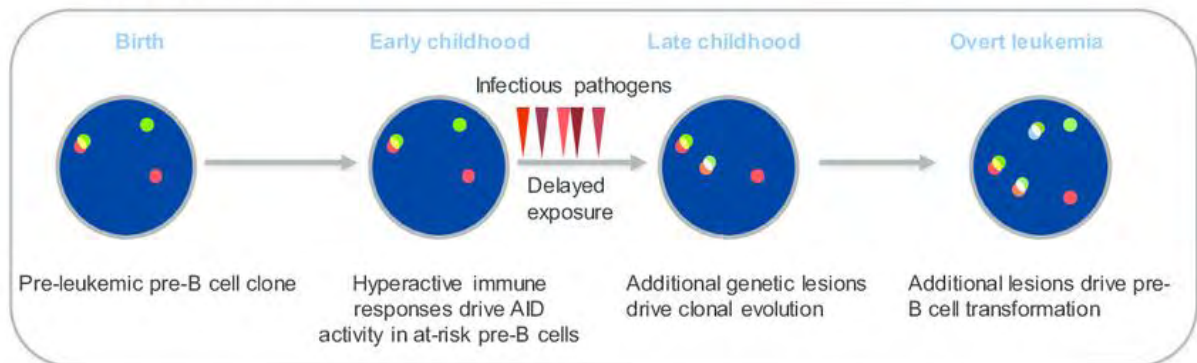
Συνολικά, κάθε ασθενής με ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ φέρει, κατά μέσο όρο 3.5 επιπρόσθετες αλλοιώσεις γονιδίων (CNAs), ενώ οι νεότερες μοριακές τεχνικές (genome wide, high resolution CNAs analyses) αποκαλύπτουν πληθώρα νέων υπομικροσκοπικών γενετικών βλαβών και ελλειμμάτων σε γονίδια όπως τα *CD200*, *BTLA*, *TBL1XR1*, *GLRX2*, *NR3C2*, *NR3C1*, *TCF3*, *EBF1*, *LEF1*, *IKZF1*, *CCNC*, *ARMC2*, *BTG1*, *SPANXB*, *TP63*, *PTPRJ*, *ATF7IP*, and *MGA* [29,39-43]. Αναφορικά με τη χρονική σειρά εμφάνισης των συνοδών βλαβών, μοντέλα ογκογενετικών δένδρων υποδεικνύουν πως οι αλλοιώσεις στα γονίδια *CDKN2A/B*, *ETV6*, *del(6q)*, *PAX5* και *+16*, αποτελούν πιθανότατα τις πιο πρώιμα εμφανιζόμενες βλάβες [29,42].

Τέλος, ενώ η παρουσία των δευτερευόντων αυτών αλλοιώσεων θεωρείται απαραίτητη για τη μετάβαση από την προλευχαιμική κατάσταση στο λευχαιμικό φαινότυπο, δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμα το έναυσμα που πυροδοτεί τη γένεσή τους. Νεότερες μελέτες προτείνουν την αύξηση των επιπέδων ROS ως το αίτιο της γενετικής αστάθειας [44] ενώ η χρήση whole exome και whole genome sequencing από την Παπαεμμανουήλ και συν. επιβεβαιώνουν πως η παράδοξη RAG δραστηριότητα ανασυνδυασμού συμβάλλει σημαντικά στην γένεση πολλών από τις δευτεροπαθείς αλλοιώσεις που συνοδεύουν την ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας [39]. Νεότερα δεδομένα αποδεικνύουν πως η γένεση των δευτεροπαθών βλαβών της ETV6/RUNX1(+) της παιδικής ηλικίας διαμεσολαβείται από RAG και RAG/AID συμπλέγματα και σχετίζεται με την RAG-1/2 έκφραση αλλά και με την AID έκφραση που επάγεται από κοινά παθογόνα [24]. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6** και σύμφωνα με την σύγχρονη «λοιμώδη» εκδοχή της βιολογίας της ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ, η πρόωρη έκθεση σε κοινά παθογόνα είτε μέσω κοινής έκθεσης είτε μέσω εμβολιασμού, οδηγεί σε ήπιες ανοσολογικές απαντήσεις που δεν προκαλούν AID ενεργοποίηση των προλευχαιμικών κυττάρων, με αποτέλεσμα την μακροπρόθεσμη «θανάτωση» και απενεργοποίηση του προλευχαιμικού κλώνου. Αντίθετα, η όψιμη και καθυστερημένη έκθεση σε λοιμώδεις παράγοντες έχει σαν αποτέλεσμα την υπέρμετρη ανοσολογική απάντηση που οδηγεί σε AID δραστηριότητα, γεγονός που αποτελεί το έναυσμα για την πρόκληση δευτεροπαθών γενετικών βλαβών, κλωνικής εξέλιξης και τελικά λευχαιμικής εκτροπής [45].

### ETV6-RUNX1 carrier 1



### ETV6-RUNX1 carrier 2



**Σχήμα 6:** Σύγχρονη «λοιμώδης» εκδοχή της βιολογίας της ETV6/RUNX1(+) ΟΑΛ, που μπορεί να εξηγήσει τη διαφορά κλινικού φαινοτύπου και κλινικής πορείας μεταξύ των ETV6/RUNX1 «φορέων», ακόμα και μεταξύ μονοζυγωτικών διδύμων. Η πρόωρη έκθεση σε κοινά παθογόνα είτε μέσω κοινής έκθεσης είτε μέσω εμβολιασμού, οδηγεί σε ήπιες ανοσολογικές απαντήσεις που δεν προκαλούν AID ενεργοποίηση στα «προλευχαιμικά» κύτταρα, με αποτέλεσμα την μακροπρόθεσμη «θανάτωση» και απενεργοποίηση του προλευχαιμικού κλώνου. Αντίθετα, η όψιμη και καθυστερημένη έκθεση σε λοιμώδεις παράγοντες έχει σαν αποτέλεσμα την υπέρμετρη ανοσολογική απάντηση που οδηγεί σε AID δραστικότητα, γεγονός που αποτελεί το έναυσμα για την πρόκληση δευτεροπαθών γενετικών βλαβών, κλωνικής εξέλιξης και τελικά λευχαιμικής εκτροπής. (προσαρμογή από *Swaminathan S et al, 2015*)

Σχηματικά, η θεωρία των πολλαπλών χτυπημάτων απεικονίζεται στο **Σχήμα 7** ενώ οι συνηθέστερες συνοδές γενετικές βλάβες της ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ αναφέρονται αναλυτικά στον **Πίνακα 3**.



**Σχήμα 7: Η θεωρία των πολλαπλών χτυπημάτων στην ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ**



χρ.	Γενετική ανωμαλία	Συχνότητα(%)	Πιθανά εμπλεκόμενα γονίδια
12	del(12p) del(12)(p11-13) del(12)(p13.2) del(12)(p21.3)	18-69	ETV6, CDKN1B, BCL2L14, BTG1
6	del(6q) del(6)(q21-27) der(6)t(X;6)	13-37	AIM1, PRDM1, FOXO3, CCNC, FYN
9	del(9p) del(9)(p13-24) del(9)(p21.3) del(9)(p13.2)	7-29	CDKN2A/B, PAX5, MTAP, JAK2, P14ARF, P16INK4a/ARF
21	*gain(21) gain(21q)	10-25	RUNX1
5	del(5)(q31.3-33.3)	23	NR3C1, EBF1
14	del(14)(q32.33) del(14)(q11.2)	3-21	DPF3
3	del(3)(p21) del(3)(q26.32) del(3)(q13.2) del(3)(p14.2)	3-21	LIMD1, ARPP-21, ULK4, FHIT, CD200, BTLA, TBL1XR1
7	del(7)(q34) del(7)(p14.1)	6-18	IKZF1
4	gain(4q) del(4)(q31.23)	6-17	NR3C2, YIPF7, ARHGAP10
11	del(11q) del(11)(q22-23) del(11)(q23-25) del(11)(p13)	6-13	CD44, RAG1, RAG2, BACL2, GNG3, HNRPUL2, TTC9C, ATM, KMT2A
19	del(19)(q13.11) del(19)(q13.32)	6-13	CEBPA, UHRF1, GRLF1, NPAS1, TMEM160
22	del(22)(q11.22)	13	-
X	loss(X)(in females) gain(Xq)(in males) gain(Xp)	4-11	SPANXB, HMGB3, FAM50A, HTATSF1
13	del(13q) del(13)(q14-34) del(13)(q12.2)	5-10	BTG1, RB1, SERP2, DLEU2, STBP4, TRIM13, KCNRG, MIRN16-1, MIRN15A, DLEU1, DLEU7
1	del(1)(q31.3)	10	TROVE2, GLRX2, CDC73, B3GALT2, PDE4B
15	del(15)(q15.1) del(15)(q26.1)	10	LTK, MIRN626
2	del(2)(p25.3)	9	-
8	del(8p) del(8)(p11-23)	6-8	TOX
16	gain(16)	6	-

**Πίνακας 3: Συνηθέστερες συνοδές ανωμαλίες της ETV6/RUNX1(+) ΟΑΛ**  
(προσαρμογή από Sun et al, 2017)



## 2.6 ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ETV6/RUNX1 ΜΕΤΑΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΣΥΝΟΔΩΝ ΒΛΑΒΩΝ

Η προγνωστική σημασία της ETV6/RUNX1 μετάθεσης, καθώς και των συνοδών γενετικών βλαβών, έχουν αποτελέσει αντικείμενο έρευνας για περισσότερο από μια δεκαετία, με διάφορες θεραπευτικές ομάδες να καταλήγουν σε διαφορετικά αποτελέσματα. Οι Shurtleff και συνεργάτες [46] πρότειναν για πρώτη φορά το 1995 ότι η κυτταρογενετική αυτή υποομάδα χαρακτηρίζεται από εξαιρετική πρόγνωση, παρά το γεγονός ότι η 5ετής επιβίωση ελεύθερη συμβαμάτων (5-year EFS) δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά συγκριτικά με την υποομάδα των ETV6/RUNX1(-) ασθενών. Έκτοτε, πολλαπλές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει αυτά τα πρόδρομα αποτελέσματα, αναδεικνύοντας ευνοϊκή έκβαση [47-54] ενώ στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν έχουν επιβεβαιωθεί από άλλους ερευνητές [35,55-60], γεγονός που θέτει πιθανώς υπό αμφισβήτηση την ανεξάρτητη προγνωστική σημασία της ETV6/RUNX1 μετάθεσης [52,61] υπό το πρίσμα των νεότερων θεραπευτικών πρωτοκόλλων και της σύγχρονης διαστρωμάτωσης παραγόντων κινδύνου.

Σε μελέτη του Children's Oncology Group (COG), η παρουσία της ETV6-RUNX1 γενετικής βλάβης αποδεικνύεται ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας ευνοϊκής έκβασης [61]. Το συμπέρασμα αυτό δεν υποστηρίζεται από την μελέτη του Dana-Farber Cancer Institute (DFCI Consortium), στην οποία η μετάθεση δεν διατηρεί την ανεξάρτητη προγνωστική της σημασία μετά από εισαγωγή στα στατιστικά μοντέλα της ηλικίας, του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων και της ομάδας κινδύνου [52]. Συνολικά, τα ποσοστά 5ετούς επιβίωσης ελεύθερης συμβαμάτων (5-year EFS) στο DFCI ALL Consortium study 95-01, ήταν 89% για τους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς συγκριτικά με ποσοστό 80% στην περίπτωση των ETV6-RUNX1(-) ασθενών [52]. Η 5ετής συνολική επιβίωση ήταν 97%, συγκρίσιμη και παρόμοια με αυτή της μελέτης Total XV study (98.9%) για τους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς [53].

Αναφορικά με την προγνωστική βαρύτητα των συνοδών γενετικών βλαβών της ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ, το πεδίο έρευνας είναι πλούσιο και εξελισσόμενο. Η παρουσία των ETV6 ελλειμμάτων που δεν συνοδεύονται από ευρήματα μονοσωμίας 12 έχει πρόσφατα προταθεί ως ανεξάρτητος ευνοϊκός προγνωστικός παράγοντας στην ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ [62] ενώ η επίπτωση άλλων ατυπιών παραμένει αμφιλεγόμενη. Οι Kees και συν.[63] πρότειναν για πρώτη φορά ότι το ομόζυγο έλλειμμα του CDKN2A γονιδίου σχετίζεται με δυσμενή έκβαση, υπόθεση που δεν επιβεβαιώθηκε σε όλες τις μετέπειτα μελέτες κατά την τελευταία δεκαετία [64,65]. Η συσχέτιση μεταξύ της ETV6/RUNX1 μετάθεσης και των

CDKN2A ελλειμμάτων σε περιπτώσεις υποτροπών έχει προταθεί από πολλούς ερευνητές [36,65] και η συνύπαρξη με ανωμαλίες του MLL γονιδίου αποτελεί, επίσης, αντικείμενο έρευνας [15,37]. Μεγαλύτερες πολυκεντρικές μελέτες είναι απαραίτητες, προκειμένου να διερευνηθεί η πιθανή αρνητική προγνωστική επίδραση πληθώρας συνοδών βλαβών, που ενδεχομένως επιβαρύνουν την τελική έκβαση των ETV6/RUNX1(+) παιδιατρικών ασθενών.

Η νεότερη προτεινόμενη προγνωστική ταξινόμηση της παιδικής ΟΛΛ [66], όπου περιλαμβάνονται όλες οι κλασσικές μεταθέσεις και η ETV6/RUNX1 ατυπία αλλά και οι σημαντικότερες συνοδές αριθμητικές αλλοιώσεις γονιδίων (copy number alterations-CNAs), συνοψίζονται στον Πίνακα 4.

#### **ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΟΛΛ**

##### **ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΕΥΝΟΪΚΗΣ ΠΡΟΓΝΩΣΗΣ**

Ευνοϊκής πρόγνωσης κυτταρογενετικές ανωμαλίες

- **ETV6/RUNX1/t(12;21)(p13;q22)**
- Υψηλή υπερδιπλοειδία (51-65 χρωμοσώματα)
- Ευνοϊκής πρόγνωσης βλάβες αριθμού αντιγράφων γονιδίων (copy number alteration profiles)
- Απουσία ελλειμμάτων των γονιδίων IKZF1, CDKN2A/B, PAR1, BTG1, EBF1, PAX5, ETV6, RB1
- Μεμονωμένα ελλείμματα ETV6, PAX5 ή BTG1
- Ελλείμματα του ETV6 σε συνδυασμό με επιπρόσθετο έλλειμμα BTG1, PAX5 ή CDKN2A/B

##### **ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΔΥΣΜΕΝΟΥΣ ΠΡΟΓΝΩΣΗΣ**

Υψηλού κινδύνου κυτταρογενετικές υποομάδες

- t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1
- MLL/11q23 αναδιατάξεις
- Near haploidy (<30 χρωμοσώματα)
- Χαμηλή υποδιπλοειδία / near triploidy (30-39 / 60-78 χρωμοσώματα)
- Ενδοχρωμοσωμική ενίσχυση στο χρωμόσωμα 21 (iAMP21)
- t(17;19)(q23;p13)/TCF3/HLF
- Ενδιαμέσου και υψηλού κινδύνου copy number alteration profiles
- Ελλείμματα των γονιδίων IKZF1, PAR1, EBF1, RB1
- Λοιπές αριθμητικές αλλοιώσεις που δεν αναφέρονται παραπάνω

**Πίνακας 4: Προτεινόμενη προγνωστική κυτταρογενετική και μοριακή ταξινόμηση της παιδικής ΟΛΛ.** Η ταξινόμηση αφορά τις συνήθεις μεταθέσεις t(12;21)(p13;q22), t(9;22)(q34;q11) και MLL αναδιατάξεις, όπου φαίνεται ότι η ETV6/RUNX1 μετάθεση χαρακτηρίζεται ως χαμηλού κινδύνου. Ωστόσο, στην νεότερη αυτή προτεινόμενη διαστρωμάτωση, συνεκτιμάται και το CNA profile όπως αυτό προσδιορίζεται από αριθμητικές αλλοιώσεις γονιδίων που ανιχνεύονται με νεότερες μοριακές τεχνικές, όπου φαίνεται ότι αλλοιώσεις όπως ελλείμματα των γονιδίων IKZF1, CDKN2A/B, EBF1, RB1 και PAR1 (CRLF2) επιβαρύνουν την τελική πρόγνωση. (Moorman et al, Blood 2014)

## 2.7 ΚΛΩΝΙΚΗ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΥΠΟΤΡΟΠΕΣ ΣΤΗΝ ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ

Νεότερα δεδομένα που προκύπτουν από τη βαθύτερη κατανόηση της βιολογίας της παιδικής ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ, υποδεικνύουν πως η διακριτή αυτή οντότητα χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια και παρουσία υποκλώνων, ήδη από τη στιγμή της διάγνωσης, στις περισσότερες περιπτώσεις. Επιπλέον, συχνές όψιμες υποτροπές και παρόμοιο γενωμικό προφίλ της νόσου στη διάγνωση και στην υποτροπή, έχει επισημανθεί από κάποιους ερευνητές [67-70] αλλά όχι από το σύνολο της επιστημονικής κοινότητας [40,71,72]. Το γεγονός ότι η μετάθεση μπορεί να παραμένει για πολύ καιρό μετά τη διακοπή της χημειοθεραπείας χωρίς κλινική υποτροπή καθώς και η διαπίστωση ότι οι υποτροπές προκύπτουν συχνά από ETV6/RUNX1(+) κλώνους διαφορετικούς από αυτούς που επικρατούν στη διάγνωση (όπως προκύπτει από διαφορές στα ETV6 ελλείμματα και IGH/TCR αναδιατάξεις στη διάγνωση και στην υποτροπή), υποδηλώνει πως κάποιες όψιμες υποτροπές προκύπτουν από παραμένοντες προλευχαιμικούς κλώνους. Στην περίπτωση αυτή αποδίδεται η παρατηρούμενη χημειοευαισθησία των όψιμων υποτροπών, που θα πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψιν στις θεραπευτικές αποφάσεις [73-78].

Σε κάθε περίπτωση, η εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια της ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ δημιουργεί τις κατάλληλες συνθήκες για μεταβλητή και ποικίλλουσα προέλευση των υποτροπών, που προκύπτουν συνήθως από τον κύριο ή κάποιον ελάχιστο υποκλώνο της διάγνωσης (major or minor subclone), ο οποίος παραμένει σε «λανθάνουσα ανενεργή» κατάσταση για μεγάλο χρονικό διάστημα [73,75,79,80,81].

Νεότερες μοριακές τεχνικές σύγκρισης Ig/TCR αναδιατάξεων και CNA profiles στη διάγνωση και στην υποτροπή, αναγνωρίζουν 3 κύρια μοντέλα παθογένεσης και προέλευσης των υποτροπών στην ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ:

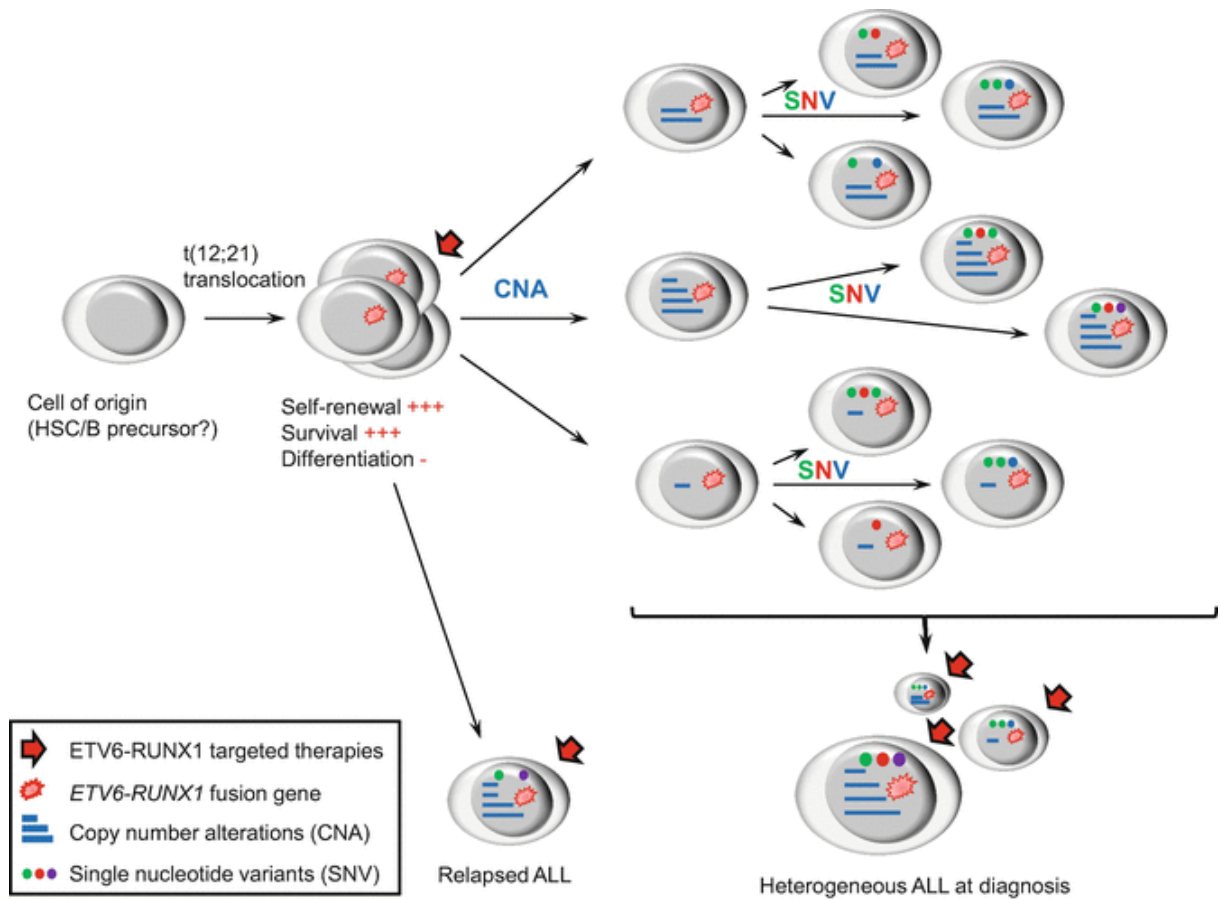
1) Ο κλώνος της υποτροπής είναι πανομοιότυπος με τον επικρατή ETV6/RUNX1(+) κλώνο (dominant clone) της διάγνωσης. Στην περίπτωση αυτή τα CNAs είναι παρόμοια στη διάγνωση και στην υποτροπή και κύτταρα από τον αρχικό κλώνο «υποβόσκουν» για μεγάλο χρονικό διάστημα, με παρόμοια χαρακτηριστικά χημειοευαισθησίας και βιολογικής συμπεριφοράς όπως και στην αρχική διάγνωση.

2) Ο κλώνος της υποτροπής παρουσιάζει κάποια επιπρόσθετα CNAs σε σχέση με τη διάγνωση και μπορεί να προκύπτει από κάποιον υποκλώνο (**κλωνική εξέλιξη και κλωνική επιλογή**).

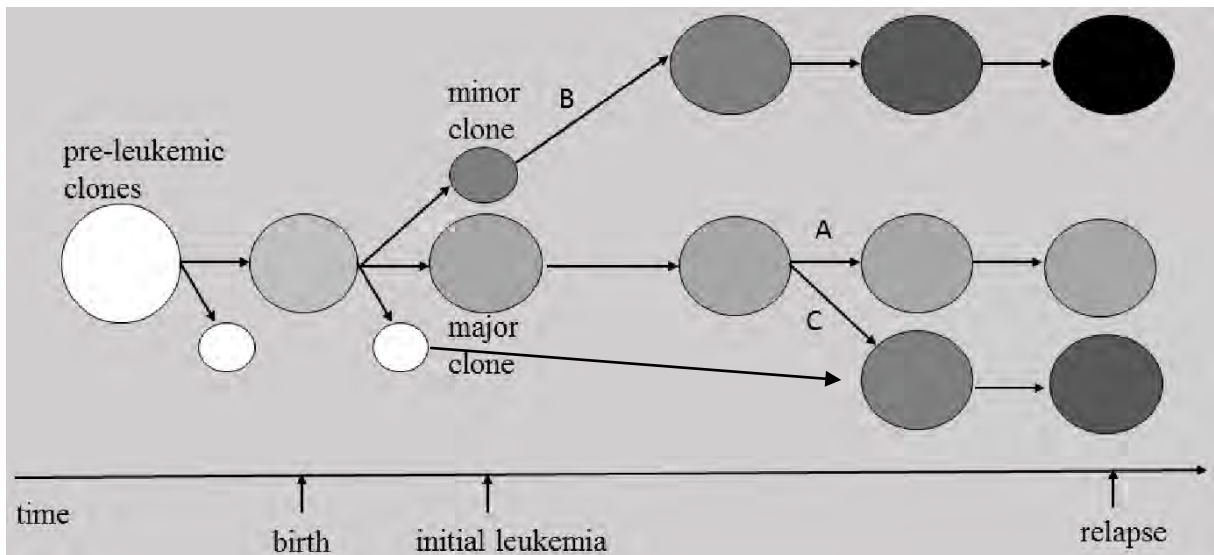
3) Ο κλώνος της υποτροπής παρουσιάζει τελείως διαφορετικό CNA profile σε σχέση με τον επικρατή ETV6/RUNX1(+) κλώνο της διάγνωσης (CNA gains and losses), γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανότατα προκύπτει από επιλογή κάποιου μικρότερου υποκλώνου (minor subclone) της διάγνωσης (**κλωνική επιλογή**).

Τόσο οι κλώνοι της διάγνωσης όσο και ο κλώνος της υποτροπής προκύπτουν από έναν κοινό αρχέγονο προγονικό λευχαιμικό κλώνο (ancestral clone), ωστόσο τα κύτταρα του κλώνου της υποτροπής είναι ήδη παρόντα στη διάγνωση σε ποσοστά  $1 \times 10^{-4}$  έως  $5 \times 10^{-3}$  [82]. Κατά τη διάρκεια της αρχικής χημειοθεραπείας, ο ελάχιστων αυτός πληθυσμός παρουσιάζει μέτρια μόνο ανταπόκριση σε σχέση με τους επικρατείς «bulky» κλώνους της διάγνωσης, ενώ παρουσιάζει ταχεία έκπτυξη πριν την εκδήλωση της υποτροπής. Αυτοί οι αρχικά βραδέως ανταποκρινόμενοι υποκλώνοι (**slow-responding subclones**) μπορούν να ανταποκριθούν ταχύτατα στη χημειοθεραπεία υποτροπής, γεγονός που υποδηλώνει την παράδοξα διαφορετική βιολογική τους συμπεριφορά στις δύο φάσεις διάγνωσης και υποτροπής [29,82].

Στα **Σχήματα 8 και 9** συνοψίζονται τα παραπάνω μοντέλα κλωνικής ετερογένειας και υποτροπής στην ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας.



**Σχήμα 8: Μοντέλα κλωνικές ετερογένειας της ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ.** Η κλωνική ετερογένεια στην ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ προάγεται από επίκτητες αριθμητικές αλλοιώσεις γονιδίων και πολυμορφισμούς μονονουκλεοτιδίων (CNAs and SNVs). Στη διάγνωση, συνυπάρχουν πολλαπλοί κύριοι και ελάσσονες κλώνοι διαφορετικού μεγέθους. Μετά την αρχική ύφεση, οι όψιμες υποτροπές μπορεί να προκύψουν από επιβιώσαντα προλευχαιμικά κύτταρα που αποκτούν νέες δευτεροπαθείς γενετικές βλάβες (προσαρμογή από *Sundaresh et al, 2017*).



**Σχήμα 9: Μοντέλα υποτροπής της ETV6/RUNX1(+) ΟΑΛ.** Οι διαφορετικοί κλώνοι και υποκλώνοι απεικονίζονται με διαφορετική απόχρωση. Οι κλώνοι της υποτροπής προκύπτουν από έναν κύριο ή ελάχιστο υποκλώνο της διάγνωσης. Α) Τα CNAs της διάγνωσης και της υποτροπής είναι ταυτόσημα, επομένως ο κλώνος της υποτροπής είναι πανομοιότυπος με τον επικρατή ETV6/RUNX1(+) κλώνο (dominant clone) της διάγνωσης. Β) Ο κλώνος της υποτροπής παρουσιάζει κάποια επιπρόσθετα CNAs και προκύπτει από έναν μικρότερο κλώνο της διάγνωσης (**κλωνική εξέλιξη και κλωνική επιλογή**). Γ) Ο κλώνος της υποτροπής παρουσιάζει τελείως διαφορετικό CNA profile σε σχέση με τον επικρατή ETV6/RUNX1(+) κλώνο της διάγνωσης (CNA gains and losses), γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανότατα προκύπτει από επιλογή κάποιου μικρότερου υποκλώνου (minor subclone) (**κλωνική επιλογή**) (προσαρμογή από Sun et al, 2017).

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΣΚΟΠΟΣ

Η μελέτη αποτελεί την πρώτη ερευνητική προσπάθεια ολοκληρωμένης καταγραφής, μελέτης και ανάλυσης της κλινικής και βιολογικής σημασίας της t(12;21)(p13;q22)(+) ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας στον ελληνικό χώρο.

Αναλυτικότερα, σκοπός της παρούσης διδακτορικής διατριβής αποτελεί:

- 1) Η μελέτη της επίπτωσης και της επιδημιολογίας της t(12;21)(p13;q22) οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας της παιδικής ηλικίας στον ελλαδικό χώρο.
- 2) Η προγνωστική σημασία της μετάθεσης και η συσχέτιση με βιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά όπως το φύλο, η ηλικία, ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων στη διάγνωση και η απάντηση στην κορτιζόνη την ημέρα 8 της χημειοθεραπείας.
- 3) Ο προσδιορισμός των συνηθέστερων συνοδών κυτταρογενετικών ατυπιών και η επίπτωσή τους στην πρόγνωση.
- 4) Η μελέτη της ύπαρξης κλωνικής ετερογένειας/εξέλιξης, η συσχέτιση αυτής με κλινικές παραμέτρους κατά τη διάγνωση και η ενδεχόμενη επίδραση στην τελική έκβαση των ασθενών.
- 5) Η αποτύπωση της κλωνικής εξέλιξης ή επιλογής στην πορεία των ασθενών και σε ενδεχόμενη υποτροπή.
- 6) Η ανοσοφαινοτυπική μελέτη της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου (minimal residual disease/FC-MRD) και της διακύμανσής της στη διακριτή αυτή ομάδα παιδιατρικών ασθενών.
- 7) Η παρακολούθηση του ρυθμού κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου τις ημέρες 15 και 33 και η τυχόν διαφοροποίησή του επί παρουσίας συνοδών κυτταρογενετικών βλαβών και υποκλώνων.
- 8) Ο χρόνος εμφάνισης ενδεχόμενης υποτροπής στη διακριτή αυτή ομάδα παιδιατρικών ασθενών.

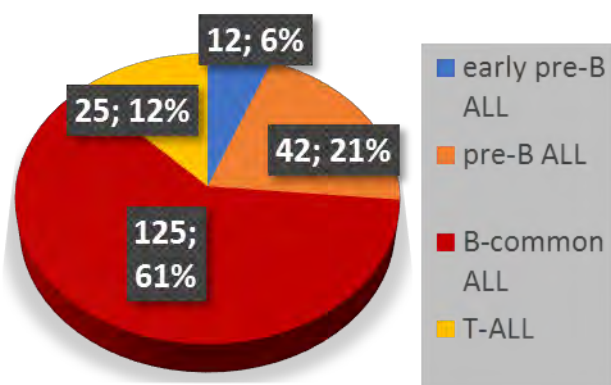
Η υπόθεση ότι η εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια στη διάγνωση συνδυάζεται με βραδύτητα της κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου και επικείμενες όψιμες ή και πρώιμες υποτροπές, θα μπορούσε να αποτελέσει το εφαλτήριο για την ακριβέστερη διαστρωμάτωση των ασθενών σε ομάδες κινδύνου και την περαιτέρω βελτίωση της πρόγνωσης στην μεγάλη αυτή υποομάδα της παιδικής ΟΛΛ.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΥΛΙΚΟ/ΜΕΘΟΔΟΣ

### 4.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Για το σκοπό της παρούσης διατριβής, αναλύθηκαν αναδρομικά, αλλά και προοπτικά, τα επιδημιολογικά, κλινικά, ανοσοφαινοτυπικά, κυτταρογενετικά και μοριακά δεδομένα 204 παιδιατρικών ασθενών με ΟΛΛ που διαγνώστηκαν από 1/1/2000 έως και 31/12/2017. Όλοι οι ασθενείς διαγνώστηκαν και αντιμετωπίστηκαν ομοιογενώς κατά τα BFM πρωτόκολλα θεραπείας σε ένα κέντρο, το Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας (ΤΑΟ) του Γ.Ν.Παιδών «Η Αγία Σοφία» (Διευθύντρια Δρ.Σοφία Πολυχρονοπούλου). Μεταξύ των 204 ασθενών, 124 ήταν αγόρια και 80 κορίτσια, με διάμεση ηλικία 5,1 έτη (εύρος 0,2-17,5 έτη). Σαράντα επτά (47) ασθενείς είχαν ηλικία > 10 ετών στη διάγνωση. Με βάση τα κλασσικά FAB και συνήθη ανοσολογικά κριτήρια, 179/204 ασθενείς (87,7%) παρουσίαζαν Β-κυτταρικής προέλευσης ΟΛΛ (12/204 early pre-B, 42/204 pre-B και 125/204 B-common ALL) ενώ 25/204 ασθενείς διαγνώστηκαν με ΟΛΛ Τ-κυτταρικής προέλευσης. Ασθενείς > 18 ετών καθώς και ασθενείς που έλαβαν αρχική θεραπεία σε άλλα κέντρα δεν συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Συνολικά, ο διάμεσος χρόνος παρακολούθησης των ασθενών ήταν 106 μήνες (εύρος 3,0-221,1 μήνες).

Τα ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά των ασθενών απεικονίζονται στο **Σχήμα 10** ενώ τα βασικά επιδημιολογικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά στο σύνολο του δείγματος περιγράφονται στον **Πίνακα 5**.



**Σχήμα 10:** Ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηριστικά του συνόλου των ασθενών (N=204)



ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ	N	%
Αγόρια	124	60,8
Ηλικία>10 ετών	47	23,0
WBC>50000/μl	33	16,2
Διήθηση ΚΝΣ	23	9,6
Διεύρυνση μεσοθωρακίου	12	5,9
Διήθηση όρχεων	7	3,4

**Πίνακας 5: Επιδημιολογικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά στο σύνολο του δείγματος (N=204)**

## 4.2 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Όλοι οι ασθενείς διερευνήθηκαν στη διάγνωση και στην υποτροπή με μορφολογική εκτίμηση μυελικών επιχρισμάτων, ιστοχημικές χρώσεις, ανοσοφαινότυπο (κυτταρομετρία ροής), κλασσικό κυτταρογενετικό έλεγχο (G-banding), φθορίζων in situ υβριδισμό (FISH) και RT-PCR για την ανίχνευση των κλασσικών μεταθέσεων της παιδικής ΟΛΛ. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με υποτροπή διερευνήθηκαν με MLPA για την αναγνώριση υπομικροσκοπικών ελλειμμάτων και υπερεκπροσωπήσεων.

### 4.2.1 Ανοσοφαινότυπος (κυτταρομετρία ροής)

Για τους σκοπούς της παρούσης διατριβής, η τεχνική της κυτταρομετρίας ροής εφαρμόστηκε αποκλειστικά στο Τμήμα κυτταρομετρίας ροής του Ανοσολογικού Εργαστηρίου του Γ.Ν. «Γ.Γεννηματάς» (υπεύθυνος Δρ.Γεώργιος Πατεράκης). Στη διάγνωση, αλλά και σε περιπτώσεις υποτροπών, δείγματα μυελού των οστών διερευνήθηκαν για «λευχαιμικούς» (leukemia-associated) ανοσοφαινοτύπους και αναλύθηκαν με πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής (FCM-flow cytometry) με τη χρήση συνδυασμού αντισωμάτων 3 χρωμάτων (τριχρωμία), με ένα κοινό “conjugating” CD45-PerCp5 αντίσωμα. Με την εφαρμογή της κυτταρομετρίας ροής ανιχνεύθηκαν κυτταροπλασματικά αντιγόνα καθώς και αντιγόνα επιφανείας. Αναλυτικότερα, διερευνήθηκε ενδοκυττάρια η έκφραση myeloperoxidase, CD66c (KORSA 3544), CD68, CD14, Tdt, CD3, CD79a, λυσοζύμης και IgM, ενώ αντιγόνα επιφανείας που ανιχνεύθηκαν ήταν τα CD34, CD56,

CD64, DR, CD14, CD16, CD15, CD33, CD7, CD13, CD2, CD19, CD20, CD10, CD4, CD117, CD71, CD41, CD36, NG2, CD38, CD123, CD9, CD25, CD24, CD27, CD8, CD5, CD1a, CD99, CD45-RO, CD45-RA, TCRαβ και TCRγδ. Για ανάλυση του κύκλου DNA χρησιμοποιήθηκε το DNA Prep Reagents kit (Beckman Coulter). Για την εκτίμηση του DNA index διενεργήθηκαν χρώσεις εντυπωμάτων (aliquots) με propidium iodide σε συνδυασμό με CD8-PE σαν φυσιολογικός μάρτυρας T8 λεμφοκυττάρων (internal diploid strandard).

Για την ανίχνευση της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου (MRD-Minimal Residual Disease), εκτιμήθηκαν μυελικά δείγματα τις ημέρες 15, 33, 78, εβδομάδα 22-24, πριν την έναρξη καθώς και μετά το τέλος της χημειοθεραπείας (ΧΜΘ) εφόδου. Όλοι οι ασθενείς υψηλού κινδύνου (High Risk-HR) εκτιμήθηκαν επιπρόσθετα πριν από κάθε HR Block. Η ανίχνευση της MRD έγινε με «κυτταρομετρική πενταχρωμία». Προκειμένου για τις περιπτώσεις B-ΟΛΛ, χρησιμοποιήθηκε ο συνδυασμός πενταχρωμίας των CD38-FITC, CD99-PE, CD45-ECD, CD10-PeCy5 και CD19-PeCy7. Επί ανάγκης επιβεβαίωσης της MRD και διαχωρισμού από τα φυσιολογικά B-cell precursors (hematogones), εφαρμόστηκε ένα επιβεβαιωτικό πρωτόκολλο με 13 συνδυασμούς πενταχρωμίας, με τροποποίηση, κάθε φορά, του αντισώματος στη θέση -PE, όπου χρησιμοποιήθηκαν εκ περιτροπής τα isotype control, CD66c, CD123, CD13, CD33, CD49f, CD20, CD58, CD34, CD40, CD304 (BDCA4) και NG2. Στις περιπτώσεις T-ΟΛΛ, χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της MRD διαγνωστικό πρωτόκολλο πενταχρωμίας, αποτελούμενο από τα surface CD3+CD16-FITC, CD99-PE, CD45-ECD, cytoplasmic CD3-PeCy5 και CD7-PeCy7. Στην περίπτωση διενέργειας επιβεβαιωτικού πρωτοκόλλου, χρησιμοποιήθηκαν στη θέση -PE τα isotype control, CD34, CD117, CD10, CD13, CD33, CD1a, CD2, CD5, CD4, CD8, TCRαβ και TCRγδ. Για όλες τις μετρήσεις και εκτιμήσεις χρησιμοποιήθηκε FC-500 (Beckman-Coulter) κυτταρομετρικός αναλυτής. Ειδικότερα για την MRD, ο ελάχιστος αριθμός “events” ήταν 500.000 (με “count extrapolation” έως και 1.200.000 “events”, κατά περίπτωση). Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων ήταν δυνατή η επίτευξη ευαισθησίας της τάξης του 0,1-0,001% (log-3 έως log-5, minimum of 20 events acquisition in the MRD gate).

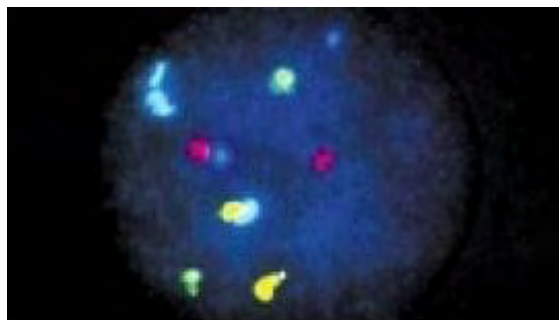
#### **4.2.2. Κλασσικός κυτταρογενετικός έλεγχος (G-Banding)**

Για τη διενέργεια του κλασσικού καρυοτύπου (G-banding), πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια κυττάρων μυελού των οστών στις 24, 48, 72 και 96 ώρες. Η ανάλυση της τεχνικής που εφαρμόστηκε ήταν η κλασσικά χρησιμοποιούμενη 300-banding resolution technique (300 bands per haploid set-300 bphs).

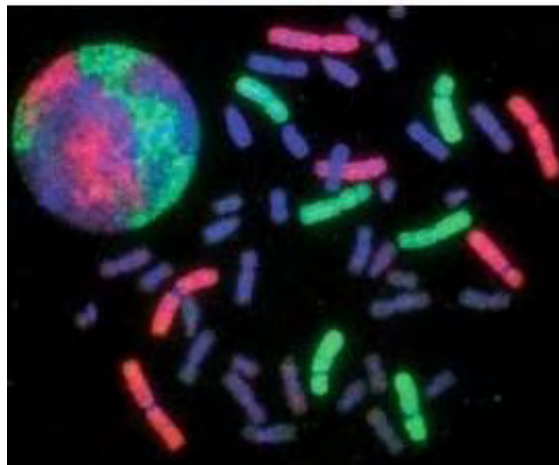
### 4.2.3. Φθορίζων in situ υβριδισμός (Fluorescent in situ hybridization-FISH)

Ο φθορίζων in situ υβριδισμός αποτελεί την πιο σημαντική εργαστηριακή τεχνική στην περίπτωση της παρούσας μελέτης της ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ, καθώς η μετάθεση αποτελεί «κρυπτική» βλάβη, μη ανιχνεύσιμη στο συμβατικό κυτταρογενετικό έλεγχο (G-banding). Με την τεχνική FISH πραγματοποιείται σήμανση των νουκλεϊκών οξέων του κυττάρου στο φυσικό τους χώρο (in situ), είτε στα όρια του πυρήνα κατά τη διάρκεια της μεσόφασης, είτε επί των χρωμοσωμάτων στη μιτωτική διαίρεση (Σχήμα 11). Αποτελεί τεχνική με υψηλή ευκρίνεια που παρέχει τη δυνατότητα ταυτόχρονης ανίχνευσης πολλών γονιδιακών περιοχών-στόχων (Multi-color FISH).

α) μεσοφασικός  
πυρήνας



β) χρωμοσώματα



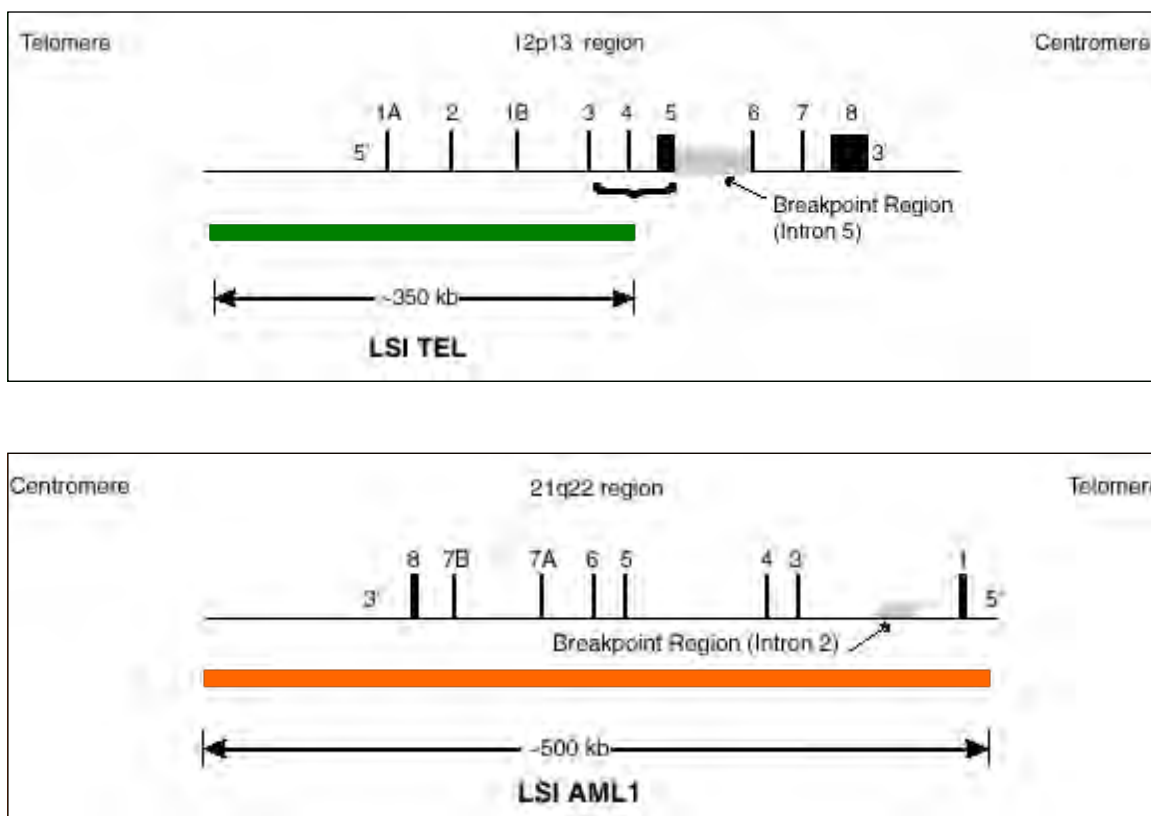
**Σχήμα 11:** Τεχνική FISH α) σε μεσοφασικό πυρήνα β) σε χρωμοσώματα.

Η σήμανση των νουκλεϊκών οξέων του κυττάρου γίνεται με μια τεχνητή αλληλουχία νουκλεοτιδίων, τον ιχνηθέτη, η οποία είναι συνδεδεμένη με φθορίζουσα ουσία και είναι συμπληρωματική ως προς την αλληλουχία-στόχο. Η τεχνική αποσκοπεί στη δημιουργία κατάλληλων συνθηκών, έτσι ώστε οι δύο αλληλουχίες (στόχος-ιχνηθέτης) να υβριδισθούν με βάση την αρχή της συμπληρωματικότητας. Το αποτέλεσμα αξιολογείται σε μικροσκόπιο φθορισμού.

Οι ιχνηθέτες που χρησιμοποιούνται στην τεχνική FISH μπορεί να είναι:

- 1) Κεντρομεριδιακοί: αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες της κεντρομεριδιακής περιοχής και χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση αριθμητικών ανωμαλιών.
- 2) Τελομεριδιακοί: αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες της ειδικής υποτελομεριδιακής περιοχής του αντίστοιχου χρωμοσώματος και χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση τελικών ελλειμμάτων.
- 3) Ιχνηθέτες που βάφουν ολόκληρο το χρωμόσωμα και επιτρέπουν την ανίχνευση δομικών ανωμαλιών. Η χρήση τους περιορίζεται σε μιτωτικά παρασκευάσματα.

Στη μελέτη της ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας χρησιμοποιούνται κυρίως τα συστήματα ιχνηθετών, τα οποία αποσκοπούν στην αναζήτηση των υβριδικών γονιδίων *ETV6/RUNX1*, *BCR/ABL1*, αναδιατάξεων του γονιδίου *KMT2A (MLL)*, καθώς και συστήματα για την αναζήτηση του υβριδικού γονιδίου *TCF3/PBX1* (Σχήμα 12).



**Σχήμα 12:** Σχηματική απεικόνιση της περιοχής υβριδισμού των ιχνηθετών του συστήματος *ETV6/RUNX1* (παλαιότερο *TEL/AML1*).

Το 5' άκρο του ιχνηθέτη *ETV6/RUNX1* (Spectrum Green) αρχίζει από ένα σημείο ανάμεσα στα εξόνια 3 και 5 και εκτείνεται σε μια περιοχή περίπου 350 kb προς το τελομερίδιο του χρωμοσώματος 12. Ο ιχνηθέτης *RUNX1* (Spectrum Orange) αποτελείται από 500 Kb και εκτείνεται σε όλο το γονίδιο. Στους πυρήνες που δεν υπάρχει σύντηξη του γονιδίου *ETV6/RUNX1* αναμένονται δύο σήματα πορτοκαλί (χρωμόσωμα 21) και δύο σήματα πράσινα (χρωμόσωμα 12). Επί παρουσίας του υβριδικού γονιδίου *ETV6/RUNX1*, στα πλαίσια τυπικής *t(12;21)(p13;q22)*, εμφανίζονται ένα πράσινο σήμα (φυσιολογικό *ETV6*), δύο πορτοκαλί σήματα (ένα για το φυσιολογικό *RUNX1* και ένα για το 5' άκρο του γονιδίου, το οποίο μεταφέρεται στο παράγωγο χρωμόσωμα 12) και ένα κίτρινο σήμα (για το υβρίδιο *ETV6/RUNX1*, επί του παραγώγου χρωμοσώματος 21).

#### 4.2.3.1. Φθορίζων *in situ* υβριδισμός σε μεσοφασικούς πυρήνες

Για τους σκοπούς της μελέτης, η τεχνική FISH εφαρμόστηκε στο Τμήμα Μοριακής Κυτταρογενετικής του Αιματολογικού Εργαστηρίου του Γ.Ν. «Γ.Γεννηματάς» (υπεύθυνος Δρ.Στέφανος Παπαδημητρίου). Εξετάστηκαν μυελικά επιχρίσματα τα οποία οριοθετήθηκαν ως μια τετράγωνη περιοχή διαστάσεων 22x22mm σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Χρησιμοποιήθηκαν ιχνηθέτες (commercial probe sets) για την αναζήτηση των *ETV6/RUNX1* [*t(12;21)(p13;q22)*], *TCF3/PBX1* [*t(1;19)(q23;p13)*], *BCR/ABL1* [*(9;22)(q34;q11)*] υβριδικών γονιδίων και μεταθέσεων, των αναδιατάξεων του *KMT2A* γονιδίου [*MLL(11q23)*], καθώς και ιχνηθέτες για την αναζήτηση ελλειμμάτων, διπλασιασμών ή υπερεκπροσωπήσεων γονιδίων και χρωμοσωμικών θέσεων όπως τα *ETV6* (12p13), *RUNX1* (21q22), *CDKN2A/2B* (9p21), *6q-*, *17p53*, φυλετικά χρωμοσώματα, και άλλα. (Πίνακας 6).

Ιχνηθέτης	Χρωμοσωμική διαταραχή	Τύπος ιχνηθέτη
<i>LSI</i> <i>BCR/ABL DF</i>	μετάθεση (9;22)(q34;q11)	διπλού χρώματος- διπλής σύντηξης
<i>LSI</i> <i>BCR/ABL ES</i>	μετάθεση (9;22)(q34;q11)	διπλού χρώματος- extra σήματος
<i>LSI</i> <i>TEL/AML1</i>	μετάθεση (12;21)(p12;q22), έλλειψη μη αναδιατεταγμένου <i>ETV6</i> , υπερεκπροσώπηση <i>RUNX1</i>	διπλού χρώματος
<i>LSI</i> <i>MLL</i>	αναδιάταξη του γονιδίου <i>MLL</i> (11q23)	διαιρούμενος- διπλού χρώματος

*LSI: Locus Specific Identifier, DF: dual fusion, ES: extra signal*

**Πίνακας 6: Περιγραφή των σημαντικότερων ιχνηθετών (Vysis, Abbott Molecular Inc.) που χρησιμοποιήθηκαν στην τεχνική FISH.**

### Βασικά στάδια τεχνικής FISH:

- 1) Αποδιάταξη αλληλουχίας στόχου.
- 2) Αποδιάταξη του ιχνηθέτη.
- 3) Υβριδισμός των σημασμένων ιχνηθετών με την αλληλουχία-στόχο.
- 4) Επώαση: σύνδεση στόχου-ιχνηθέτη.
- 5) Έκπλυση: ώστε να απομακρυνθούν οι μη ειδικά δεσμευμένοι ιχνηθέτες.
- 6) Προσθήκη «αντίχρωσης» (4, 6-διαμιδινο-2 φαινυλινδόλη, DAPI), η οποία δεσμεύεται μη ειδικά στο DNA, με σκοπό να οριοθετήσει τους πυρήνες και να προσανατολίσει τον παρατηρητή).
- 7) Ανίχνευση των σημάτων υβριδισμού των ανιχνευτών σε μικροσκόπιο φθορισμού.

### Αναλυτικότερη περιγραφή τεχνικής FISH:

- Αποδιάταξη DNA αλληλουχίας-στόχου: θέρμανση στους 73<sup>0</sup>C για 5min σε ειδικό διάλυμα φορμαμιδίου (pH=7-8).
- Αφυδάτωση παρασκευάσματος με διαδοχική εμβάπτιση σε διαλύματα αιθυλικής αλκοόλης 70%, 85% και 100% για 1 min, αντίστοιχα.
- Τοποθέτηση παρασκευάσματος σε περιβάλλον 45-50<sup>0</sup>C για να διευκολυνθεί η εξάτμισή του, μέχρι να γίνει η αποδιάταξη του ιχνηθέτη.
- Στη συνέχεια, η ενδεδειγμένη ποσότητα του ιχνηθέτη αναμείχθηκε με το ρυθμιστικό διάλυμα υβριδισμού (το οποίο παρέχεται από τον κατασκευαστή) και με απεσταγμένο H<sub>2</sub>O, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.
- Ακολούθησε αποδιάταξη του ιχνηθέτη: θέρμανση στους 73<sup>0</sup>C για 5min. Το διάλυμα διατηρήθηκε σε περιβάλλον 45-50<sup>0</sup>C μέχρι την εφαρμογή του στο επίχρισμα.
- Το διάλυμα του ιχνηθέτη εφαρμόστηκε στην οριοθετημένη περιοχή και αμέσως αυτή καλύφθηκε με καλυπτρίδα του ίδιου μεγέθους. Η καλυπτρίδα σφραγίστηκε με ειδικό ελαστικό υλικό. Στο στάδιο αυτό ξεκινά ο υβριδισμός της αλληλουχίας-στόχου με το σημασμένο με φθοριόχρωμα ιχνηθέτη.
- Επώαση: στους 37<sup>0</sup>C, σε σκοτεινό περιβάλλον με επαρκή υγρασία, για 6-16 ώρες.
- Το παρασκεύασμα απομακρύνθηκε από το θάλαμο επώασης και θερμάνθηκε στο 1<sup>ο</sup> διάλυμα, σε θερμοκρασία 73<sup>0</sup>C, για 2 min.  
1<sup>ο</sup> διάλυμα: 0,4 X SSC/0,3% NP-40, (pH=7-7,5).
- Στη συνέχεια, τοποθετήθηκε στο 2<sup>ο</sup> διάλυμα, σε θερμοκρασία δωματίου για 1 min.  
2<sup>ο</sup> διάλυμα: 2 X SSC/0,1% NP-40, (pH=7-7,5)
- Το παρασκεύασμα παρέμεινε σε σκοτεινό περιβάλλον μέχρι να στεγνώσει.

- Εφαρμόστηκε η ενδεδειγμένη ποσότητα της αντίχρωσης (DAPI), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και στη συνέχεια αυτή καλύφθηκε με καλυπτρίδα ιδίου μεγέθους.
- Το παρασκεύασμα αξιολογήθηκε σε μικροσκόπιο φθορισμού Olympus BX51, με ειδικά φίλτρα, ανάλογα με τα φθοριοχρώματα σήμανσης (Spectrum Green, Spectrum Orange, DAPI, στους κατάλληλους συνδυασμούς).

#### Αξιολόγηση αποτελεσμάτων FISH:

Για κάθε εφαρμογή, αξιολογήθηκαν τουλάχιστον 200 μη επικαλυπτόμενοι πυρήνες και υπολογίστηκε το ποσοστό των «θετικών» πυρήνων (καθώς και των παραλλαγών στη διαμόρφωση των σημάτων). Το αποτέλεσμα θεωρήθηκε θετικό εάν υπερέβαινε το αντίστοιχο ανώτατο όριο ψευδώς θετικών ευρημάτων (cut-off value). Αυτό ορίστηκε ως «μέση τιμή+ 3 X σταθερά απόκλιση» (m+3XSD) των ποσοστών θετικών πυρήνων από την εφαρμογή του ιχνηθέτη σε 5 επιχρίσματα μυελού χωρίς νεοπλασματική διήθηση.

#### **4.2.3.2. FISH και ορισμός κλωνικής ετερογένειας/υποκλώνων**

Εκτός από την κλασσική ανίχνευση του κυρίως (βασικού) ETV6/RUNX1 κλώνου, διερευνήθηκε η ύπαρξη υποκλώνων και κλωνικής ετερογένειας στη διάγνωση και στην υποτροπή. Ως απαραίτητη προϋπόθεση για τον χαρακτηρισμό «υποκλώνου» ορίστηκε η ανίχνευση ποσοστού >20% των ETV6/RUNX1(+) κυττάρων με “signal pattern” διαφορετικό από το αναμενόμενο σε μια t(12;21)(p13;q22) μετάθεση, χωρίς αυτό να ανιχνεύεται στο σύνολο του λευχαιμικού ETV6/RUNX1+ πληθυσμού.

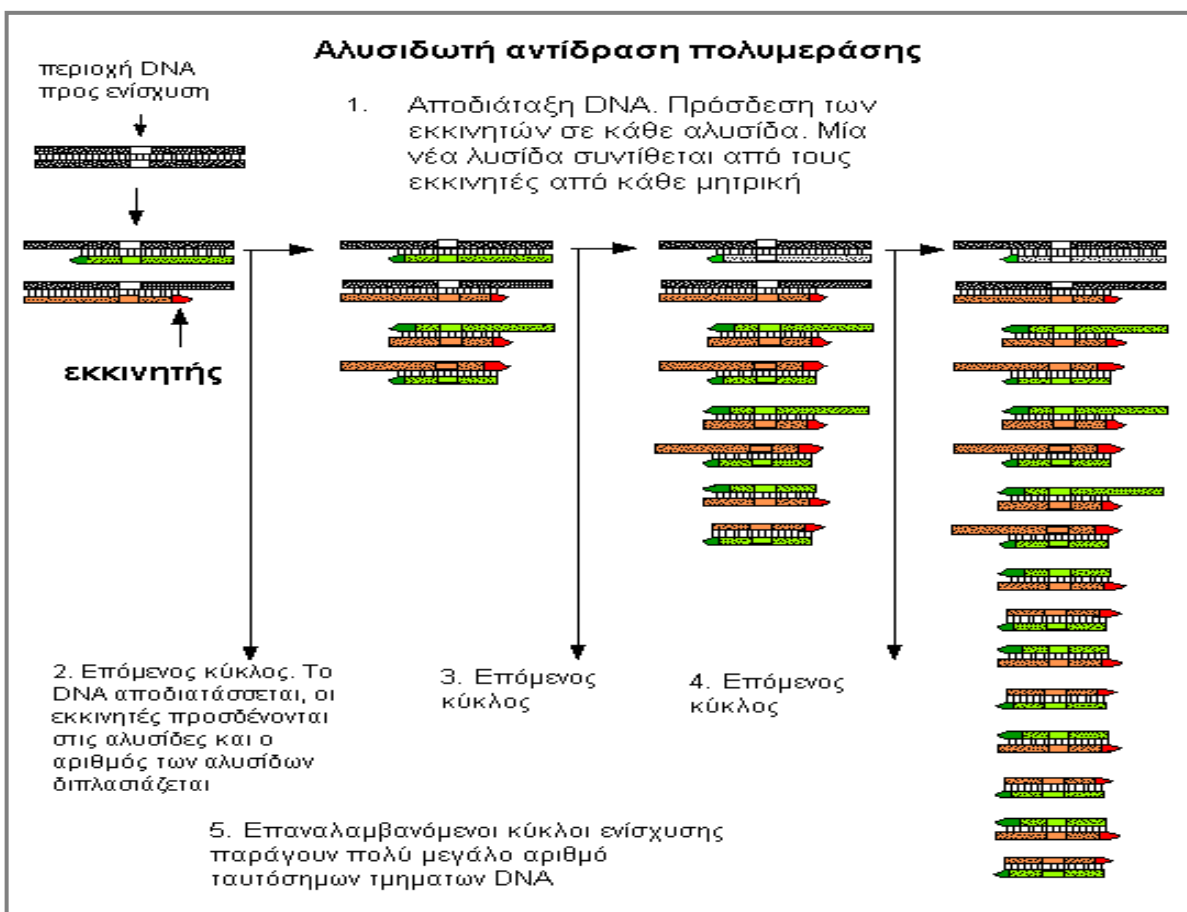
#### **4.2.4. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)**

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR, Polymerase Chain Reaction) στηρίζεται, όπως είναι γνωστό, στον in vivo μηχανισμό αντιγραφής του γενετικού υλικού με σκοπό την ταχεία παραγωγή πολλαπλών αντιγράφων μιας συγκεκριμένης αλληλουχίας DNA in vitro. Με τον τρόπο αυτό καθίσταται δυνατή η ανάλυση και ο χαρακτηρισμός τμημάτων DNA που βρίσκονται σε ελάχιστες ποσότητες. Η αντίδραση πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας ειδικά ζεύγη εκκινητών, τα οποία είναι συμπληρωματικά ως προς τα δύο τμήματα του προς ανάλυση δίκλωνου DNA, αλλά δεν είναι συμπληρωματικά μεταξύ τους. Οι δύο συνθετικοί ολιγονουκλεοτιδικοί εκκινητές προσδιορίζουν την αρχή και το τέλος της περιοχής του DNA που πρόκειται να ενισχυθεί και εκκινούν μια σειρά αντιδράσεων που καταλύονται από τη

θερμοανθεκτική *Taq* DNA πολυμεράση. Η ευαισθησία της τεχνικής είναι  $10^{-4}$ - $10^{-5}$ , ενώ μπορεί να φθάσει έως  $10^{-6}$  με την εφαρμογή της φωλεασμένης (nested) PCR.

Η PCR περιλαμβάνει τρία βασικά στάδια, τα οποία επαναλαμβάνονται περίπου 30 φορές. Το νεοσχηματιζόμενο δίκλωνο DNA χρησιμεύει ως υπόστρωμα για τον επόμενο κύκλο. Ο αριθμός των μορίων του DNA αυξάνει λογαριθμικά, αφού διπλασιάζεται με κάθε κύκλο πολλαπλασιασμού. Ένα μόριο DNA μπορεί να αποδώσει σε 30 κύκλους πολλαπλασιασμού  $2^{30}$ , περίπου 1 δισεκατομμύριο αντίγραφα (Σχήμα 13).

Η κλασική τεχνική της PCR και οι πιο σύγχρονες μορφές της (nested PCR, real-time quantitative PCR, multiplex PCR), χρησιμοποιούνται για να ενισχυθούν και να μελετηθούν γονιδιακές περιοχές σύντηξης, οι οποίες είναι αποτέλεσμα χρωμοσωμικού ανασυνδυασμού καθώς και στη μελέτη της PCR-based MRD. Για τους σκοπούς της συγκεκριμένης μελέτης, “Ficoll-Hyraque-purified” δείγματα μυελού των οστών μελετήθηκαν με την τεχνική της RT-PCR για την ανίχνευση της ETV6/RUNX1 αναδιάταξης καθώς και των συνήθων μεταθέσεων TCF3-PBX1, BCR-ABL1 και KMT2A-AFF1 της παιδικής ΟΛΛ. Η PCR τεχνική εφαρμόστηκε στο Εργαστήριο του Τμήματος Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας του Γ.Ν.Παίδων «Η Αγία Σοφία» (Συντονίστρια Διευθύντρια Δρ.Σοφία Πολυχρονοπούλου).



Σχήμα 13: Απεικόνιση διαδοχικών κύκλων της PCR.

<http://www.accessexcellence.org/AB/GG/polymerase.html> (2004)



#### 4.2.5. MLPA διερεύνηση στις υποτροπές

Όλοι οι ασθενείς που υποτροπίασαν διερευνήθηκαν αναδρομικά με MLPA (multiple ligation probe amplification), για την ανίχνευση υπομικροσκοπικών ελλειμμάτων και υπερεκπροσωπήσεων (copy number alterations-CNAs). Το SALSA-MLPA P335 kit χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση του copy number status 8 γονιδίων: IKZF1, CDKN2A/2B, PAR1, BTG1, EBF1, PAX5, ETV6, RB1.

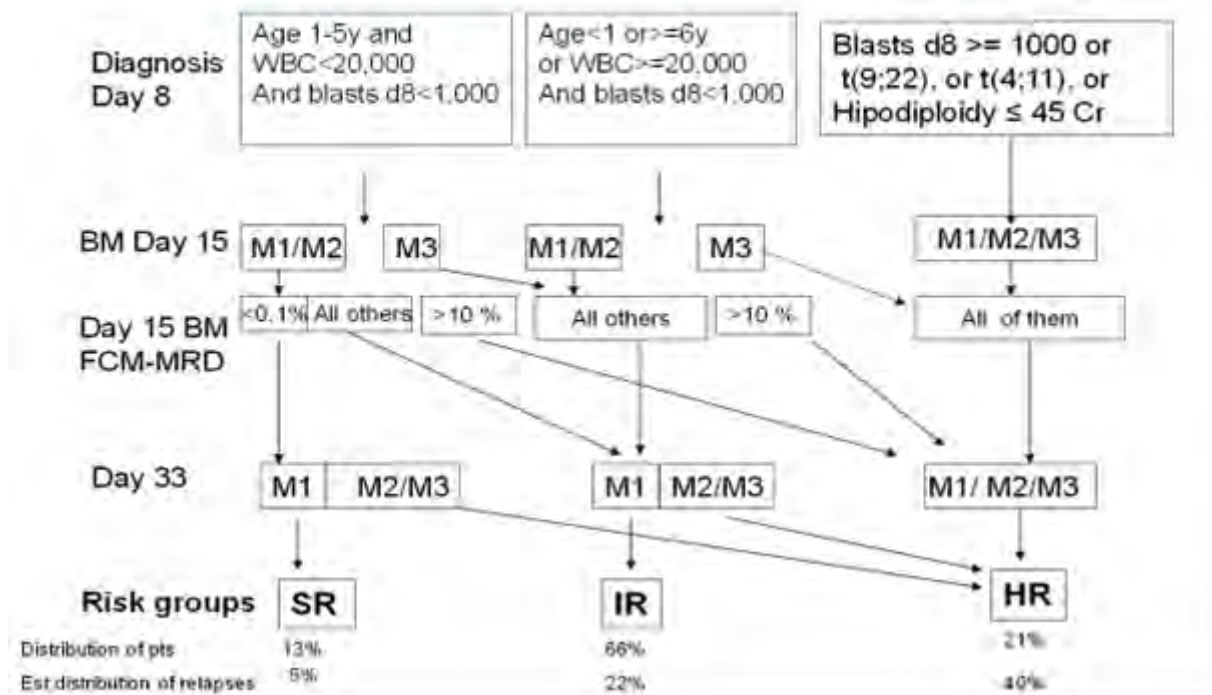
### 4.3. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ

#### 4.3.1. Αρχική διαστρωμάτωση ασθενών (protocol risk groups)

Όλοι οι ασθενείς θεραπεύθηκαν ομοιογενώς σύμφωνα με τα AIEOP-BFM-ALL πρωτόκολλα θεραπείας (BFM 1995/2000 και ALLIC-BFM 2009). Η αρχική διαστρωμάτωση των ασθενών πραγματοποιήθηκε με βάση τα κριτήρια των πρωτοκόλλων. Όλοι οι ασθενείς αξιολογήθηκαν ως καλοί ή κακοί απαντητές στην κορτιζόνη (good prednisone responders-GPR ή poor prednisone responders-PPR) σύμφωνα με τη μελέτη των επιχρισμάτων περιφερικού αίματος την ημέρα 8 της ΧΜΘ εφόδου (απόλυτος αριθμός βλαστών  $< \text{ή} \geq 1000/\mu\text{l}$ ).

Η ομάδα υψηλού κινδύνου (High Risk group-HR) περιλάμβανε ασθενείς με ένα ή περισσότερα από τα κάτωθι κριτήρια: α) t(4;11) ή MLL/AF4, β) t(9;22) ή BCR/ABL1, γ) κακή απάντηση στην κορτιζόνη την ημέρα 8 (PPR), δ) αδυναμία επίτευξης πλήρους ύφεσης (CR1) στο τέλος της ΧΜΘ εφόδου (ημέρα 33), ε) υποδιπλοειδία και FCM-MRD  $\geq 10\%$  την ημέρα 15, προκειμένου για ασθενείς που θεραπεύθηκαν σύμφωνα με το ALLIC-BFM 2009 πρωτόκολλο. Ασθενείς με non-T ΟΛΛ, με WBC $<20000/\mu\text{l}$  και ηλικία  $\geq 1$  έως  $< 6$  ετών, που δεν πληρούσαν κριτήρια υψηλού κινδύνου και παρουσίαζαν φορτίο FCM-MRD την ημέρα 15  $< 0.1\%$  στην περίπτωση θεραπείας κατά το ALLIC-BFM 2009 πρωτόκολλο, χαρακτηρίζονταν ως ασθενείς χαμηλού κινδύνου (Standard Risk group-SR), σύμφωνα με τα κριτήρια του πρωτοκόλλου. Όλοι οι υπόλοιποι ασθενείς που δεν ανήκαν σε καμία από τις παραπάνω κατηγορίες, χαρακτηρίζονταν ως ασθενείς ενδιάμεσου κινδύνου (Intermediate Risk group-IR). Η διαστρωμάτωση των ασθενών σύμφωνα με το ALLIC BFM-2009 πρωτόκολλο θεραπείας περιγράφεται αναλυτικά στο **Σχήμα 14**.

## ALL IC-BFM 2009 CLASSIFICATION



Σχήμα 14: Διαστρωμάτωση των ασθενών σύμφωνα με το ALLIC BFM 2009 πρωτόκολλο θεραπείας

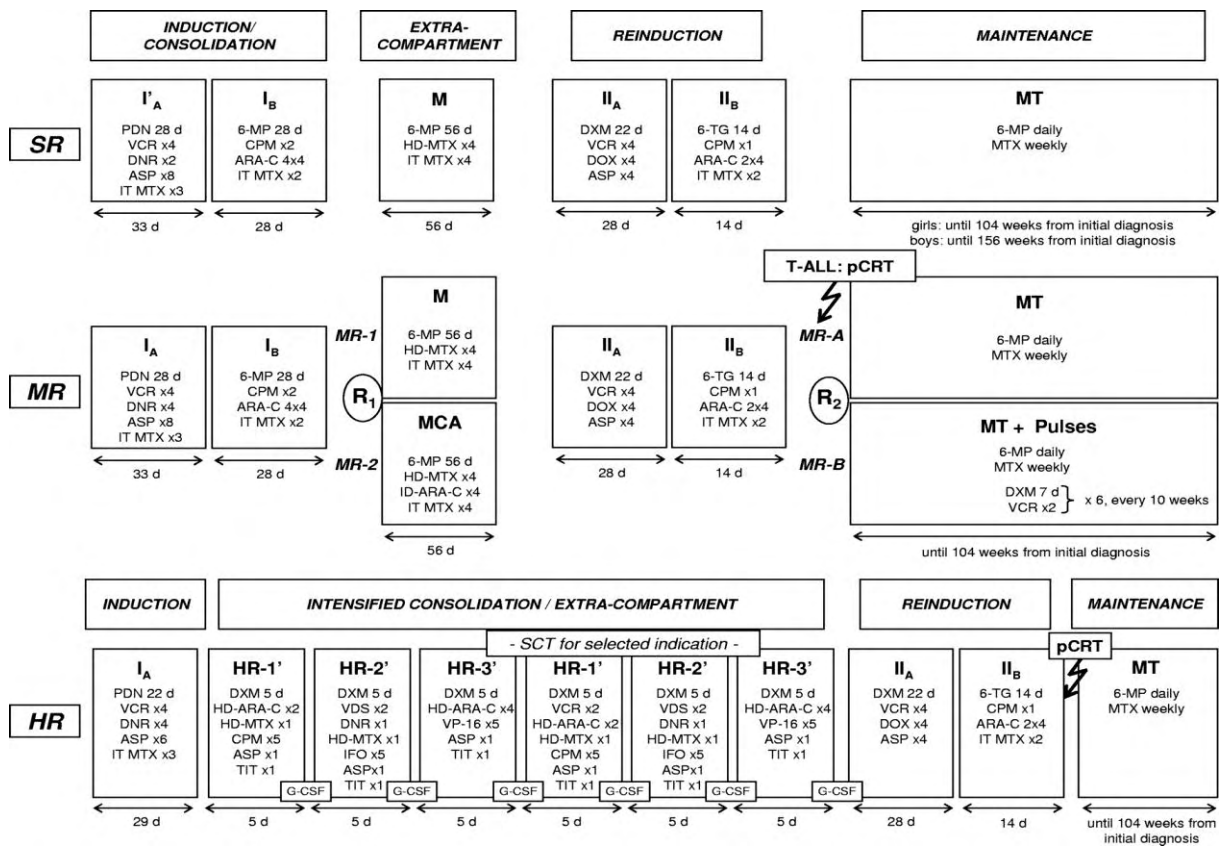
### 4.3.2. Θεραπευτικές ομάδες κινδύνου (therapy risk groups) και θεραπευτικός κορμός

Στην παρούσα μελέτη, η τροποποίηση (amendment), έως και το 2009, αφορούσε την αρχική θεραπεία των ασθενών σε δύο θεραπευτικά σκέλη-ομάδες κινδύνου (a two arm therapy approach), όπως αυτή έχει ήδη δημοσιευθεί στο **επισυναπτόμενο δημοσιευμένο άρθρο 1**: την ομάδα ενδιάμεσου κινδύνου IR (ασθενείς SR και IR σύμφωνα με τα κριτήρια των πρωτοκόλλων BFM 1995-2000) και την ομάδα υψηλού κινδύνου HR, με βάση τα ανωτέρω. Η ΧΜΘ εφόδου, σταθεροποίησης και επανεφόδου, εφαρμόστηκαν σύμφωνα με το βασικό BFM σκελετό (BFM backbone), σύμφωνα με προηγούμενες δημοσιεύσεις [1,2,3,83,84,85]. Συγκεκριμένα, έφοδος τύπου augmented BFM και εφαρμογή του βασικού κορμού BFM-95 χωρίς τυχαιοποιήσεις εφαρμόστηκαν καθ' όλη τη διάρκεια των ετών 2000-2009. Η χημειοθεραπεία συντήρησης είχε συνολική διάρκεια 24 μηνών και αποτελούνταν από ημερήσια χορήγηση 6-mercaptopurine (50 mg/m<sup>2</sup>, p.o.)/εβδομαδιαία methotrexate (20 mg/m<sup>2</sup>, p.o.) και μηνιαίες ώσεις (κύκλοι 28 ημερών) με vincristine (1.5 mg/m<sup>2</sup>, i.v.), μαζί με 5ήμερο σχήμα prednisolone (40 mg/m<sup>2</sup>/day, p.o.). Ενδορραχιαίες εγχύσεις methotrexate (adjusted to

age) χορηγούνται, κάθε τρίτη ώση, σε ασθενείς που δεν ελάμβαναν προφυλακτική ακτινοθεραπεία ΚΝΣ. Οι ενδείξεις για αλλογενή ΜΑΑΚ (allo-SCT) ορίζονται σύμφωνα με τα κριτήρια του πρωτοκόλλου: BCR/ABL1 και MLL/AF4 μεταθέσεις, M2/M3 μυελός την ημέρα 33, PPR σε συνδυασμό με T-ανοσοφαινότυπο, pro-B ΟΛΛ ή WBC>100000/μL.

Από το 2010, οι ασθενείς καταγράφονται επίσημα στο ALLIC-BFM 2009 πρωτόκολλο θεραπείας, στο οποίο η Ελλάδα αποτελεί επίσημο μέλος, με διαστρωμάτωση σε 3 ομάδες κινδύνου (SR, IR και HR) και ακολουθώντας τις επίσημες προβλεπόμενες θεραπευτικές τυχαιοποιήσεις. Η λεπτομερή σχηματική απεικόνιση των ALL-BFM 95 και ALLIC BFM 2009 πρωτοκόλλων θεραπείας, απεικονίζονται στα Σχήματα 15 και 16.

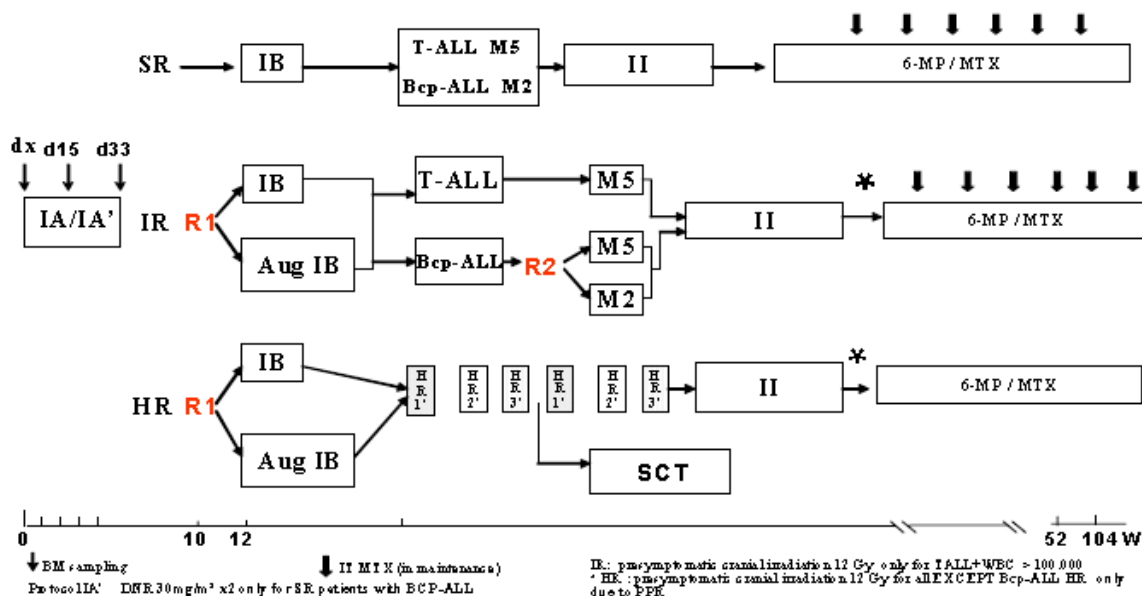
## ALL BFM-95 TREATMENT PROTOCOL OUTLINE



Σχήμα 15: ALL-BFM 95 πρωτόκολλο θεραπείας

# ALL IC-BFM 2009 : TREATMENT

Version approved after Bergamo on August 2009



Σχήμα 16: ALLIC BFM 2009 πρωτόκολλο θεραπείας

## 4.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η επιβίωση ελεύθερης συμβαμάτων (event-free survival-EFS), η επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (relapse-free survival-RFS) και η συνολική επιβίωση (overall survival-OS), εκτιμήθηκαν και αποτυπώνονται με τη μέθοδο Kaplan-Meier και η φόρμουλα Greenwood's χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό των σταθερών λαθών (standard errors). Ο χρόνος έως την υποτροπή ορίζεται ως ο χρόνος από την αρχική διάγνωση έως την 1<sup>η</sup> υποτροπή ενώ ο χρόνος έως το σύμβαμα ορίζεται ως ο χρόνος από την αρχική διάγνωση έως την υποτροπή, ανθεκτική νόσο, δευτεροπαθή κακοήθεια, θάνατο ή ημερομηνία τελευταίας παρακολούθησης. Η συνολική επιβίωση ορίζεται ως ο χρόνος από την αρχική διάγνωση έως την ημερομηνία θανάτου ή της τελευταίας παρακολούθησης. Το log-rank test χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να συγκριθούν οι καμπύλες επιβίωσης μεταξύ διαφορετικών υποομάδων. Πολυπαραγοντική ανάλυση διενεργήθηκε χρησιμοποιώντας Cox proportional hazards regression. Η στατιστική σημαντικότητα κατηγοριοποιημένων μεταβλητών και παραμέτρων ελέγχθηκε με Wald tests ενώ οι συσχετίσεις μεταξύ των κατηγοριοποιημένων μεταβλητών εκτιμήθηκαν με τη χρήση του  $\chi^2$  test. Όλες οι στατιστικές μέθοδοι διενεργήθηκαν ακολουθώντας επίπεδο σημαντικότητας 5% (p-values < 0,05 θεωρήθηκαν ως στατιστικά σημαντικές).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 5.1. ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Τα βασικά κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά στο σύνολο του πληθυσμού περιγράφονται στον **Πίνακα 7**.

ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ (N1=204 ασθενείς)	N	%
BCR/ABL1+	5	2,5
ETV6/RUNX1+	41	20,1
KMT2A (MLL) rearrangement	10	4,9
TCF3/PBX1+	6	2,9
9p21 deletion	40	19,6
Υπερδιπλοειδία	53	25,4
IKZF1 deletion	7	3,4
CRLF2 (PAR1) deletion	2	1,0

**Πίνακας 7:** Κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά στο σύνολο του δείγματος (N=204)

Όπως είναι εμφανές από τα ανωτέρω κυτταρογενετικά αποτελέσματα, 41/204 ασθενείς (20,1%), ανευρέθησαν θετικοί για την ETV6/RUNX1 μετάθεση. Μεταξύ των 41 ETV6/RUNX1(+) ασθενών, 23/41 ήταν αγόρια (56,1%) και 18/41 κορίτσια (43,9%). Η διάμεση ηλικία των ETV6/RUNX1(+) ασθενών ήταν 3,6 έτη (εύρος 2,0-16,7 έτη) έναντι 6,6 έτη στην υποομάδα των ETV6/RUNX1(-) ασθενών ( $p=0,005$ ). 10/41 ασθενείς παρουσίαζαν  $WBC \geq 20000/\mu\text{l}$  και μόνο 4/41 παρουσίαζε  $WBC \geq 50000/\mu\text{l}$  στη διάγνωση. Οι διάμεσες τιμές των WBC, Hb και PLTs ήταν 10230/ $\mu\text{l}$ , 8,3 g/dl και 84000/ $\mu\text{l}$ , αντίστοιχα. Οι τιμές των αιματολογικών παραμέτρων δεν παρουσίαζαν στατιστική σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις αντίστοιχες των ETV6/RUNX1(-) ασθενών. Ο ανοσοφαινότυπος ανέδειξε B-κυτταρικής προέλευσης ΟΛΛ σε όλους τους 41 ασθενείς (32 common και 9 pre-B περιστατικά). Σε κανέναν ασθενή μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) δεν διαπιστώθηκε αρχική διεύρυνση μεσοθωρακίου, διήθηση ΚΝΣ ή διήθηση όρχεων. Τα κλινικά και αιματολογικά χαρακτηριστικά των ETV6/RUNX1(+) ασθενών συνοψίζονται στον **Πίνακα 8** ενώ οι

διάμεσες τιμές των βασικών εργαστηριακών παραμέτρων μεταξύ ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενών συγκρίνονται στον Πίνακα 9.

ETV6/RUNX1(+) ασθενείς (N=41)	N	%
<b>Φύλο</b>		
• Αγόρια	23	56,1
• Κορίτσια	18	43,9
<b>WBC</b>		
• WBC>20000/μl	10	24,4
• WBC<20000/μl	31	75,6
• WBC>50000/μl	4	9,8
• WBC<50000/μl	37	90,2
<b>Εξωμυελική διήθηση (μεσοθωράκιο, όργανα, ΚΝΣ)</b>		
• Ναι	0	0
• Όχι	41	100

*Πίνακας 8: Κλινικά και αιματολογικά χαρακτηριστικά των ETV6/RUNX1(+) ασθενών.*

	ETV6/RUNX1(+)		ETV6/RUNX1(-)		p-value
	Εύρος	Διάμεση τιμή	Εύρος	Διάμεση τιμή	
<b>WBC (x10<sup>9</sup>/L)</b>	0,2-120,0	10,2	0,3-300,0	11,1	ns
<b>Hb (g/dl)</b>	3,8-11,6	8,3	3,2-12,2	8,1	ns
<b>PLTs (x10<sup>9</sup>/L)</b>	10-360	84	15-320	93	ns
<b>Βλάστες (PB)</b>	3-96	38	2-94	40	ns

*Πίνακας 9: Σύγκριση αιματολογικών ευρημάτων μεταξύ ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενών.*

## 5.2 ΣΥΝΟΔΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΚΑΙ ΥΠΟΚΛΩΝΟΙ

Λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι η ETV6/RUNX1 ατυπία αποτελεί μία κρυπτική βλάβη που δεν είναι ανιχνεύσιμη στον κλασικό καρυότυπο, καθώς και το γεγονός ότι η τεχνική G-banding προσφέρει γενικά χαμηλή ανάλυση (300 bphs στη μελέτη μας), ήταν αδύνατο να ξεχωρίσουμε τον κύριο κλώνο από δευτερεύοντες υποκλώνους ή να ανιχνεύσουμε πολύ μικρές συνοδές βλάβες με G-banding. Για τους σκοπούς της μελέτης μας, η τεχνική FISH σε μη καλλιεργούμενα κύτταρα μυελού των οστών, ήταν αυτή που μας έδωσε τη δυνατότητα, στις περισσότερες περιπτώσεις, να αναγνωρίσουμε πληθώρα συνοδών κυτταρογενετικών βλαβών, εκτός από το πρωταρχικό γεγονός της ETV6/RUNX1 μετάθεσης, καθώς και να διακρίνουμε την παρουσία πολλαπλών υποκλώνων στη διάγνωση.

Μεταξύ των 41 ETV6/RUNX1(+) ασθενών, 10/41 (24,3%) ανευρέθησαν θετικοί αποκλειστικά και μόνο για τη μετάθεση ETV6/RUNX1 (αμιγής ατυπία). 31/41 ETV6/RUNX1(+) ασθενείς (75,6%) παρουσίαζαν επιπρόσθετες συνοδές δομικές ή αριθμητικές ανωμαλίες ενώ σε 18 από αυτούς διαπιστώθηκε παρουσία υποκλώνων (κλωνική ετερογένεια) στη διάγνωση, με διάφορα μοντέλα και συνδυασμούς συνοδών ETV6 και RUNX1 ατυπιών.

Αναλυτικότερα, μεταξύ των 13 ETV6/RUNX1(+) ασθενών που παρουσίαζαν συνοδές βλάβες στο σύνολο του νεοπλασματικού πληθυσμού αλλά χωρίς παρουσία υποκλώνων, οι πιο συχνές συνοδές ανωμαλίες που ανιχνεύθηκαν ήταν η απώλεια του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου [del(12p13)] σε 8/13 ασθενείς (61,5%), η τρισωμία 21 σε 4/13 ασθενείς (30,8%), το έλλειμμα της χρωμοσωμικής θέσης 9p21 chromosomal [del(9p21)] σε 3/13 ασθενείς (23,1%) και η παρουσία επιπλέον RUNX1 σήματος [3x(21q22)] σε 2/13 περιπτώσεις (15,3%).

Μεταξύ των 18 ασθενών που διαπιστώθηκαν με κλωνική ετερογένεια, παρουσιάζοντας υποκλώνους ως πιθανό δευτεροπαθές γενετικό γεγονός, οι συνηθέστερες βλάβες των υποκλώνων, μόνες ή συνδυασμό, αφορούσαν την απώλεια του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου [del(12p13)] σε 10/18 περιπτώσεις (55,6%), το διπλασιασμό ή τριπλασιασμό του υβριδικού ETV6/RUNX1 γονιδίου σε 8/18 περιπτώσεις (44,4%), το έλλειμμα της χρωμοσωμικής θέσης 9p21 chromosomal [del(9p21)] σε 4/18 ασθενείς (22,2%) καθώς και την απώλεια του υπολειπόμενου RUNX1 γονιδίου σε 2/18 ασθενείς (11,1%). Αξίζει να σημειωθεί ότι ένας εκ των ασθενών με διπλασιασμό του ETV6/RUNX1 υβριδικού γονιδίου, παρουσίαζε ένα δευτεροπαθή ελάσσονα υποκλώνο (minor subclone) με 3 ETV6/RUNX1 σήματα και απώλεια του υπολειμματικού RUNX1. Ο ασθενής αυτός παρουσίαζε, επίσης, επιπρόσθετα RUNX1 σήματα, τρισωμία 21 και

CDKN2A/2B έλλειμμα [del(9p21)] στο σύνολο του ETV6/RUNX1(+) βλαστικού πληθυσμού. Επιπρόσθετα, 5 ασθενείς διαπιστώθηκαν με ETV6/RUNX1(+) υποκλώνους που παρουσίαζαν συνδυασμό των ανωτέρω κυτταρογενετικών βλαβών, π.χ. ETV6/RUNX1 διπλασιασμό και απώλεια του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου [2x ETV6/RUNX1, del(12p13)]. Ένας εκ των ασθενών αυτών ήταν επίσης θετικός για τρισωμίες (12 και 21), intrachromosomal AML1 amplification (4-6 x 21q22) και del(9p21) στο σύνολο του βλαστικού πληθυσμού. Επίσης, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το κυτταρογενετικό status ενός ασθενή με τρισωμία 21 και CDKN2A/2B έλλειμμα, που έφερε έναν υποκλώνο με απώλεια του υπολειμματικού RUNX1 ομολόγου, καθώς και έναν ελάσσονα υποκλώνο (minor subclone) με συνδυασμό ελλείματος RUNX1 και ETV6/RUNX1 διπλασιασμού. Τέλος, αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ένας ασθενής ανευρέθη να φέρει υποκλώνους με KMT2A (MLL) έλλειμμα, παρουσία επιπλέον RUNX1 σήματος καθώς και ομόζυγο CDKN2A/2B έλλειμμα.

Τα κλινικά και κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά των 41 ETV6/RUNX1(+) ασθενών παρουσιάζονται αναλυτικά στον **Πίνακα10** ενώ οι συνηθέστερες συνοδές γενετικές βλάβες στο σύνολο των 41 ETV6/RUNX1(+) ασθενών συνοψίζονται στον **Πίνακα 11**.



No	Ανοσοφαι- νότυπος	Φύλο/ Ηλικία	WBC (/μl)	Καρυότυπος	Συνοδές γενετικές βλάβες- ποσοστά υποκλώνων	MRDd15 %	Υποτροπή	MLPA (SALSA P335)	Γενετικό profil στην υποτροπή
1	B-common	A/3,6	16500	46,XY	-	-	O		
2	B-common	A/7,8	9300	Αποτυχία	-	6,98	O		
3	B-common	A/2,0	9570	46,XY	-	0	O		
4	B-common	A/2,6	120000	46,XY	Del(12p13)	0	O		
5	B-common	Θ/9,0	4920	46,XX	Del(12p13)	0	O		
6	Pre-B	Θ/8,1	5330	46,XX	Αποτυχία	0	O		
7	B-common	A/4,3	5200	46,XY	Del(12p13)	0	O		
8	B-common	Θ/3,6	13150	Αποτυχία	9p-	0	O		
9	B-common	Θ/7,3	5940	Αποτυχία	9p-, +21, +12, ETV6/RUNX1x2-del(12p13) (SUB-51%*), 3x12p13, 4-6x21q22	0	O		
10	B-common	A/2,0	26320	46,XY	ETV6/RUNX1x2 (SUB-33%*)	0	O		
11	B-common	A/4,3	3730	46,XY	-	0	O		
12	B-common	Θ/3,9	7570	46,XX	Del(12p13) (SUB-43%*)	0,11	O		
13	B-common	A/2,4	15500	46,XY	-	0	O		
14	B-common	Θ/2,1	16430	46,XX	ETV6/RUNX1x2, del(12p13) (SUB-50%*)	0,62	O		
15	B-common	A/4,3	12750	46,XY	9p-,+21, 3-4x21q22, ETV6/RUNX1x2, ETV6/RUNX1x3 (SUB- 52%*) – ETV6/RUNX1x3- del(21q22) (mSUB-30%*)	0,88	N (30mo)	2xETV6	Παρόμοιο με τη διάγνωση
16	B-common	A/2,2	12180	46,XY	Del(12p13) (SUB-48%*)	3,26	O		
17	B-common	Θ/16,7	1450	46,XX	del(9p21)x2, +21 (SUB-45%*), 3x21q22-del 11q23(mSUB- 23%*)	0,3	N (52mo)	CDKN2A /2B del, BTG1 del	Κλωνική εξέλιξη, 4x21q22 (SUB- 53%*)
18	B-common	A/5,1	26330	46,XY	-	0	O		
19	B-common	A/6,3	41000	der(12) t(12;15) (p11;q11), -15/ idem,+21, del(21)(q22)	del(19p13)(SUB-50%*)	0,9	N (87mo)	No CNAs	Παρόμοιο με τη διάγνωση
20	Pre-B	A/5,5	4420	Αποτυχία	-	2,4	O		

No	Ανοσοφαι- νότυπος	Φύλο/ Ηλικία	WBC (/μl)	Καρυότυπος	Συνοδές γενετικές βλάβες- ποσοστά υποκλώνων	MRDd15 %	Υποτροπή	MLPA (SALSA P335)	Γενετικό profil στην υποτροπή
21	B-common	Θ/2,4	5710	46,XX	Del(12p13)	1,671	O		
22	B-common	Θ/5,9	180	46,XX	3x21q22	0	O		
23	Pre-B	Θ/2,6	36200	46,XX	del(9p21)x2, +21, del(21q22)(SUB-74%*), ETV6/RUNX1x2/del21q22 (mSUB-28%*), ETV6/RUNX1x3/ del21q22 (mSUB-24%*)	3,8	N (26mo)	CDKN2A /2B del	Κλωνική επιλογή, del(9p21)x2, del(21q22) (SUB-38%*), ETV6/RUNX1 x2/ del21q22 (SUB-36%*)
24	B-common	A/3,5	10770	46,XY	3x21q22	1,32	O		
25	Pre-B	A/3,4	12210	46,XY	Del(12p13)	0	O		
26	B-common	A/2,4	10230	49,XY,+10, +16,+22[10] /46,XY[10]	del(12p13)(SUB-58%*), 3x22q11	1,97	N (48mo)	ETV6del	Κλωνική επιλογή, del(12p13)
27	Pre-B	Θ/5,4	15690	46,XX, del(12)(p12) [3]/ 46,XX[17]	Del(12p13)	0,35	O		
28	B-common	A/3,4	8250	46,XY	Del(9p21)	8,12	O		
29	B-common	A/2,6	134000	46,XY	-	15,19	O		
30	B-common	Θ/5,3	4260	76,XX,+X,+5, +der(6),+8,+1 0,-11,- 13,+14,+16,+ 21,+21,+mar[8 ]/46,XX[72]	-	5,14	O		
31	Pre-B	A/3,0	20920	46,XY	-	0,7	O		
32	B-common	Θ/5,5	50350	46,XX	Del(12p13)	2,4	O		
33	B-common	Θ/3,4	1400	46,XX	Del(12p13)(SUB-75%*)	0,05	O		
34	Pre-B	A/11,6	4000	46,XY	ETV6/RUNX1x2(SUB- 75%*)	1,88	O		
35	B-common	Θ/2,7	18920	46,XX, t(12;18)(p13; p11.2)[4] /46,XX	Del(12p13)(SUB-25%*)	1,51	O		
36	B-common	A/3,7	89090	46,XY	Del(12p13)(SUB-75%*)	0,05	O		
37	Pre-B	A/2,7	4340	46,XY	Del(12p13)(SUB-33%*)	0,02	O		
38	Pre-B	Θ/2,5	7000	46,XX	Del(12p13)(SUB-50%*)	0,54	O		

No	Ανοσοφαι- νότυπος	Φύλο/ Ηλικία	WBC (/μl)	Καρυότυπος	Συνοδές γενετικές βλάβες- ποσοστά υποκλώνων	MRDd15 %	Υποτροπή	MLPA (SALSA P335)	Γενετικό profil στην υποτροπή
39	B-common	Θ/5,9	1990	46,XX	ETV6/RUNX1x2(SUB-50%*)	18,12	O		
40	B-common	A/4,3	34250	Αποτυχία	Del(12p13), del(9p21)	1,5	O		
41	B-common	Θ/8,1	1590	46,XX	ETV6/RUNX1x2(SUB-75%*), 3x19p13	0	O		

**Πίνακας 10: Κλινικά και κυτταρογενετικά ευρήματα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών.**

del: deletion, sub: subclone, msub: minor subclone, O: όχι, N: ναι, mo: μήνες, \*ποσοστό των ETV6/RUNX1+ κυττάρων με “variant signal pattern”. Όλες οι υπόλοιπες συνοδές ανωμαλίες της στήλης αφορούν το σύνολο του ETV6/RUNX1+ βλαστικού πληθυσμού.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΛΑΒΗ	N	%
del(12p13)	18	43,9
2-3xETV6/RUNX1	8	19,5
del(9p21)	7	17,1
3-6x(21q22)	4	9,8
del(21q22)	2	4,9
del(11q23)	1	2,4
del(6q)	1	2,4
del(19p13)	1	2,4
3x(19p13)	1	2,4
Υπερδιπλοειδία/πολλαπλές τρισωμίες	4	9,8

**Πίνακας 11: Οι συχνότερες συνοδές γενετικές βλάβες που ανιχνεύθηκαν στο σύνολο των 41 ETV6/RUNX1(+) ασθενών.**

### 5.3. ΔΙΑΣΤΡΩΜΑΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΙ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΗΝ ΚΟΡΤΙΖΟΝΗ

Από το σύνολο των 204 ασθενών, 6/204 διαστρωματώθηκαν θεραπευτικά ως SR, 143/204 ως IR και 55/204 ταξινομήθηκαν στην ομάδα HR, όπως απεικονίζεται και στο Σχήμα 17.



**Σχήμα 17: Θεραπευτική διαστρωμάτωση του συνόλου του δείγματος (N=204).**

Μεταξύ των 41 ETV6/RUNX1(+) ασθενών, 40/41 ασθενείς (97,6%) θεραπεύθηκαν ως Intermediate Risk (IR) και μόνο δύο (2) ασθενείς πληρούσαν προϋποθέσεις υψηλού κινδύνου (High Risk-HR), με βάση τα κριτήρια του πρωτοκόλλου. Την ημέρα 8 της ΧΜΘ εφόδου, όλοι οι ETV6/RUNX1(+) ασθενείς παρουσίαζαν καλή απάντηση στην κορτιζόνη (GPR).

#### **5.4. ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ FCM-MRD ΤΙΣ ΗΜΕΡΕΣ 15 ΚΑΙ 33 ΤΗΣ ΧΜΘ ΕΦΟΔΟΥ (MRD CLEARANCE AND LOG REDUCTION)**

Την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου, 26/41 ETV6/RUNX1(+) ασθενείς (63,4%) παρουσίασαν ανιχνεύσιμη υπολειμματική νόσο (FCM-MRD<sub>d15</sub>≥10<sup>-4</sup>). Οι περισσότεροι εκ των 26 MRD<sub>d15</sub> θετικών ασθενείς παρουσίαζαν υψηλό λευχαιμικό φορτίο (23/26 ασθενείς με MRD<sub>d15</sub>≥0.1% ή αλλιώς MRD<sub>d15</sub>≥log-3). Το αντίστοιχο ποσοστό μεταξύ των ETV6/RUNX1(-) ασθενών ήταν 72,4% (118/163 ασθενείς με τιμές MRD<sub>d15</sub>≥log-4). Μόνο ένας (1) ETV6/RUNX1(+) ασθενής παρουσίασε M2 μυελόγραμμα (5%≤βλάστες<25%). Οι διακυμάνσεις της MRD<sub>d15</sub> μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) περιγράφονται (σε απόλυτες τιμές) στον **Πίνακα 10**.

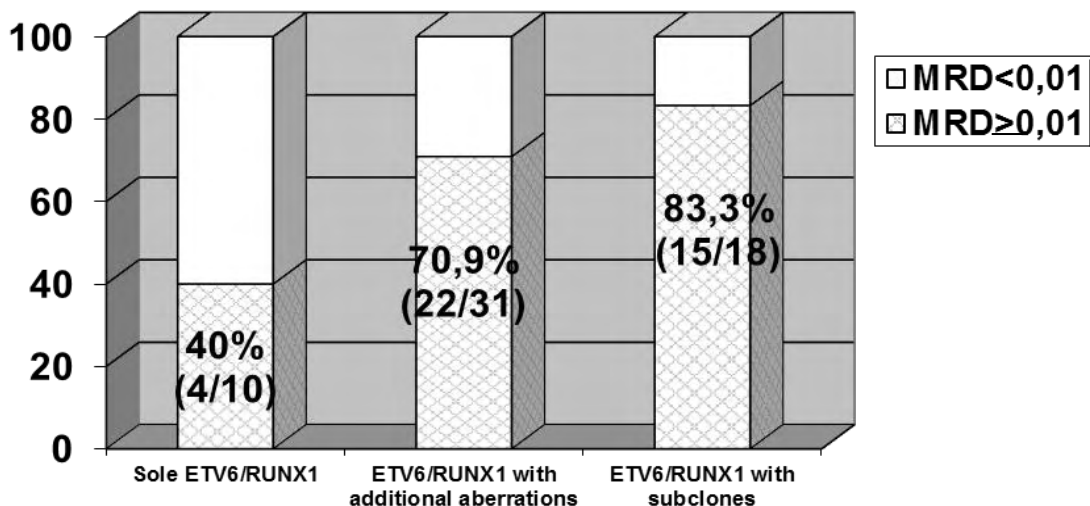
Στο τέλος της ΧΜΘ εφόδου (ημέρα 33), κανένας από τους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς δεν είχε ανιχνεύσιμη MRD<sub>d33</sub>. Η απάντηση στη θεραπεία και οι τιμές MRD τις ημέρες 15 και 33 της ΧΜΘ εφόδου, στις υποομάδες των ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενών, περιγράφονται αναλυτικά στον **Πίνακα 12**.

	Ημέρα 8		Ημέρα 15		Ημέρα 33	
	Prednisone response		MRD estimation		MRD estimation	
	GPR	PPR	MRD $\geq$ 0,01%	MRD<0,01%	MRD $\geq$ 0,01%	MRD<0,01%
ETV6/RUNX1(+) ασθενείς (n=41)	41	0	26	15	0	41
ETV6/RUNX1(-) ασθενείς (n=163)	135	28	118	45	42	121
<b>Total (N=204)</b>	<b>176</b>	<b>28</b>	<b>144</b>	<b>60</b>	<b>42</b>	<b>162</b>

**Πίνακας 12: Απάντηση στη θεραπεία και MRD τιμές/ διακυμάνσεις στις υποομάδες των ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενών.** (GPR: good prednisone responders, PPR: poor prednisone responders).

## 5.5. MRD CLEARANCE ΚΑΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΥΝΟΔΩΝ ΒΛΑΒΩΝ/ΥΠΟΚΛΩΝΩΝ

Μεταξύ των 10 ασθενών που παρουσίαζαν αμιγή ETV6/RUNX1 ατυπία, χωρίς παρουσία συνοδών κυτταρογενετικών ανωμαλιών, 40,0% (4/10 ασθενείς), παρουσίασαν ανιχνεύσιμη MRD<sub>d15</sub> νόσο την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου. Μεταξύ των 31 ασθενών που παρουσίαζαν ETV6/RUNX1(+) και συνοδές κυτταρογενετικές βλάβες, το αντίστοιχο ποσοστό ήταν 70,9% (22/31). Αναλύοντας αποκλειστικά την υποομάδα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών με παρουσία υποκλώνων, είναι αξιοσημείωτο ότι το ποσοστό των ασθενών με ανιχνεύσιμη MRD<sub>d15</sub> νόσο την ημέρα 15 (MRD<sub>d15</sub> $\geq$ log-3) αυξάνεται σε 83,3% (15/18 ασθενείς). Τέλος, αντίστροφα, αξίζει να σημειωθεί ότι μεταξύ των 26 ασθενών με μη ανιχνεύσιμη νόσο την ημέρα 15 [MRD<sub>d15</sub><10<sup>-4</sup>], μόνο 4/26 (15,4%) παρουσίαζαν συνοδές βλάβες ή/και παρουσία υποκλώνων στη διάγνωση. Η ανίχνευση MRD<sub>d15</sub> στους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς με αμιγή ατυπία, συνοδές βλάβες και παρουσία υποκλώνων, απεικονίζεται στο **Σχήμα 18**.



**Σχήμα 18:** Ανίχνευση MRD<sub>d15</sub> στους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς με αμιγή ατυπία, συνοδές βλάβες και παρουσία υποκλώνων. Οι αριθμοί εκφράζονται σε ποσοστό % ασθενών (και σε αριθμούς ασθενών).

## 5.6. ΥΠΟΤΡΟΠΕΣ/ΣΥΜΒΑΜΑΤΑ

Σε διάμεσο χρόνο παρακολούθησης 106 μήνες (εύρος 3,0-221,1 μήνες), 5/41 ETV6/RUNX1(+) ασθενείς υποτροπίασαν (12,2%). Οι εντοπίσεις των ETV6/RUNX1(+) υποτροπιών αφορούσαν 2 μυελικές, 2 συνδυασμένες (μυελική/ΚΝΣ) και 1 μεμονωμένη υποτροπή ΚΝΣ. Ο διάμεσος χρόνος εμφάνισης των υποτροπιών ήταν 47,8 μήνες (εύρος 26,4-87,2 μήνες). Όλοι οι ETV6/RUNX1(+) ασθενείς που υποτροπίασαν παραμένουν εν ζωή, σε CR2. Δεν παρατηρήθηκε κανένας θάνατος στην έφοδο ή σε CR1, καμία ανθεκτική νόσος (refractory disease), καμία δευτεροπαθής κακοήθεια και κανένα περιστατικό καρδιοτοξικότητας μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) ασθενών.

Μεταξύ των 163 ETV6/RUNX1(-) ασθενών, 15/163 υποτροπίασαν (9,2%), με διάμεσο χρόνο εμφάνισης υποτροπής 13,3 μήνες από τη διάγνωση (εύρος 1,4-75,0 μήνες). 14/15 ETV6/RUNX1(-) ασθενείς που υποτροπίασαν πέθαναν, ενώ σημειώθηκαν επίσης 7 θάνατοι σε CR1: 5 λόγω λοίμωξης και 2 λόγω θνητότητας σχετιζόμενη με τη μεταμόσχευση (transplantation related mortality-TRM). 12/163 ETV6/RUNX1(-) ασθενείς παρουσίασαν ανθεκτική νόσο και 7 εξ' αυτών κατέληξαν.

### 5.6.1. Κυτταρογενετικά ευρήματα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών στην υποτροπή

Ο 1<sup>ος</sup> ασθενής που υποτροπίασε παρουσίαζε στη διάγνωση έναν υποκλώνο με διπλασιασμό του υβριδικού γονιδίου ETV6/RUNX1 (major subclone), καθώς και έναν δευτεροπαθή ελάσσονα υποκλώνο (minor subclone) με 3 ETV6/RUNX1 σήματα και απώλεια του υπολειμματικού RUNX1 γονιδίου. Ο ασθενής παρουσίαζε, επίσης, επιπλέον RUNX1 σήματα, τρισωμία 21 και CDKN2A/2B έλλειμμα [(del)9p21], στο σύνολο του ETV6/RUNX1(+) βλαστικού πληθυσμού. Αναφορικά με την αρχική απάντηση στη θεραπεία, η MRD<sub>d15</sub> ήταν 0,9% (log-3) την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου. Ο ασθενής παρουσίασε μυελική υποτροπή μετά από 30,3 μήνες, με κυτταρογενετικό προφίλ παρόμοιο με αυτό της αρχικής διάγνωσης. Ο βασικός υποκλώνος με τα 3 ETV6/RUNX1 σήματα αντιπροσώπευε ποσοστό 57% του συνόλου του βλαστικού πληθυσμού, με το έλλειμμα CDKN2A/2B [(del)9p21] να ανιχνεύεται σε όλα τα ETV6/RUNX1(+) λευχαιμικά κύτταρα. Ο ασθενής υπεβλήθη σε allo-SCT, παραμένοντας, έκτοτε, σε δεύτερη ύφεση (CR2), έως και σήμερα.

Η 2<sup>η</sup> υποτροπή αφορά μία έφηβη 16,7 ετών στη διάγνωση, στην οποία ανιχνεύθηκαν υποκλώνοι με ετερόζυγο KMT2A (MLL) έλλειμμα και παρουσία επιπλέον RUNX1 σήματος, καθώς και ομόζυγο CDKN2A/2B έλλειμμα [(del)9p21x2] στο σύνολο του βλαστικού πληθυσμού. Η ασθενής, που χαρακτηριζόταν επίσης από ανιχνεύσιμη MRD<sub>d15</sub> την ημέρα 15 (0,3%/log-3), παρουσίασε όψιμη μυελική υποτροπή 51,6 μήνες από τη διάγνωση. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι στην ασθενή αναγνωρίστηκε κλωνική εξέλιξη των ETV6/RUNX1(+) υποκλώνων (υποκλώνος με τετραπλασιασμό του RUNX1 γονιδίου, μη εμφανής στην αρχική διάγνωση), ενώ ο υποκλώνος με το έλλειμμα του KMT2A (MLL) δεν ανιχνεύθηκε στην υποτροπή.

Η 3<sup>η</sup> υποτροπή αφορά μία ασθενή με τρισωμία 21 και CDKN2A/2B έλλειμμα [(del)9p21], που παρουσίαζε, αρχικά, έναν υποκλώνο με απώλεια του RUNX1, καθώς και 2 ελάσσονες υποκλώνους, που συνδύαζαν απώλεια του RUNX1 και ETV6/RUNX1 διπλασιασμό και τριπλασιασμό, αντίστοιχα. Στην ασθενή ανιχνεύθηκε σημαντική υπολειμματική νόσος την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου (MRD<sub>d15</sub> 3,8%/log-2) και M2 μυελόγραμμα. Συνδυασμένη υποτροπή (μυελική/ΚΝΣ) σημειώθηκε 26 μήνες μετά την αρχική διάγνωση. Η κυτταρογενετική και μοριακή διερεύνηση στην υποτροπή ανέδειξε κλωνική επιλογή και όχι κλωνική εξέλιξη. Ανιχνεύθηκαν 2 μόνο εκ των υποκλώνων της αρχικής διάγνωσης, με CDKN2A/2B έλλειμμα [(del)9p21] και απώλεια του RUNX1, ενώ ο 2<sup>ος</sup> υποκλώνος παρουσίαζε, επιπλέον, διπλασιασμό του ETV6/RUNX1 υβριδικού γονιδίου.

Οι αρχικοί υποκλώνοι με απώλεια του RUNX1 και τριπλασιασμό του ETV6/RUNX1, δεν ανευρέθηκαν στην υποτροπή. Η ασθενής υπεβλήθη σε allo-SCT και παραμένει σε CR2.

Η 4<sup>η</sup> υποτροπή αφορά έναν ασθενή που παρουσίαζε στη διάγνωση υπερδιπλοειδία (49,XY,+10+16+22), τριπλασιασμό της χρωμοσωμικής θέσης 22q11, πιθανότητα στα πλαίσια της τρισωμίας 22, ενώ ανιχνεύθηκε, επίσης, υποκλώνος με έλλειμμα του μη αναδιαταταταγμένου ETV6 γονιδίου σε ποσοστό 58% των ETV6/RUNX1+ κυττάρων. Την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου, ανιχνεύθηκε MRD<sub>d15</sub> 1,97%. Ο ασθενής διαγνώστηκε με όψιμη συνδυασμένη υποτροπή (μυελική/ΚΝΣ) 47,8 μήνες μετά την αρχική διάγνωση, παρουσιάζοντας κλωνική επιλογή και έλλειμμα του μη αναδιαταταταγμένου ETV6 γονιδίου σχεδόν στο σύνολο, πλέον, των βλαστικών κυττάρων, με ταυτόχρονη απώλεια της υπερδιπλοειδίας και της υπερεκπροσώπησης του 22q11. Ο ασθενής υπεβλήθη σε χημειοθεραπεία διάσωσης και παραμένει εν ζωή, σε CR2.

Ο 5<sup>ος</sup> ασθενής που υποτροπίασε χαρακτηρίζονταν από παρουσία υποκλώνου με έλλειμμα της χρωμοσωμικής θέσης 19p13 στη διάγνωση και ανίχνευση MRD<sub>d15</sub> 0,9%. 87 μήνες αργότερα, ο ασθενής παρουσίασε όψιμη μεμονωμένη υποτροπή ΚΝΣ, με κυτταρογενετικό προφίλ παρόμοιο με αυτό της αρχικής διάγνωσης και παραμένει σε CR2, μετά από χημειοθεραπεία διάσωσης.

### **5.6.2. MLPA ευρήματα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών στην υποτροπή**

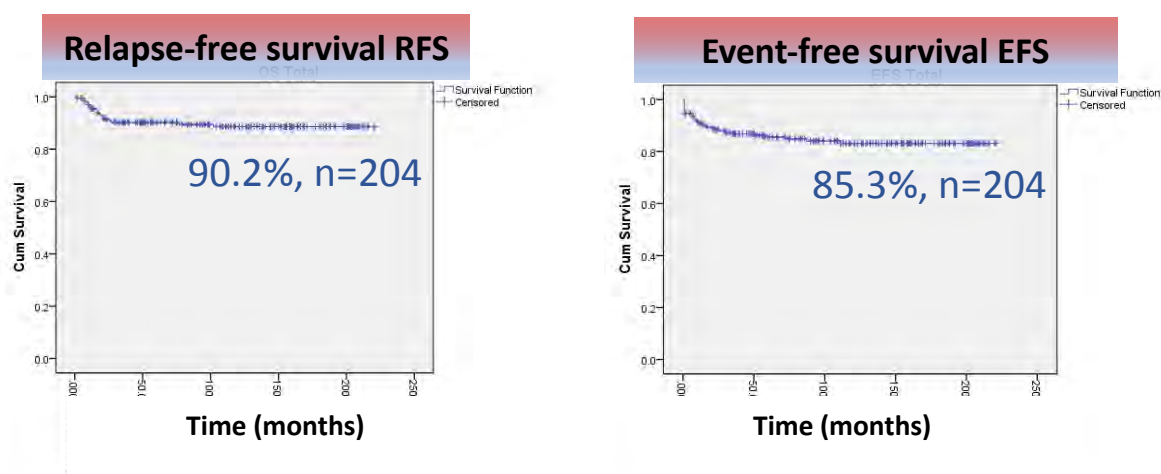
Όλοι οι ασθενείς που υποτροπίασαν διερευνήθηκαν αναδρομικά με MLPA (multiple ligation probe amplification) με τη χρήση του SALSA-MLPA P335 kit, για την εκτίμηση του copy number status 8 γονιδίων: IKZF1, CDKN2A/2B, PAR1, BTG1, EBF1, PAX5, ETV6, RB1. Τα αποτελέσματα της MLPA διερεύνησης ανέδειξαν ETV6 διπλασιασμό, CDKN2A/2B έλλειμμα σε συνδυασμό με BTG1 έλλειμμα, μεμονωμένο CDKN2A/2B έλλειμμα, ETV6 έλλειμμα και καμία βλάβη στους 5 ασθενείς, αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα της κυτταρογενετικής, μοριακής και MLPA διερεύνησης των ασθενών στην υποτροπή και η σύγκριση αυτών με τη διάγνωση, απεικονίζονται στο **Πίνακα 10**.



## 5.7. ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗ(OS) ΚΑΙ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΥΠΟΤΡΟΠΗΣ (RFS)

Η 5ετής επιβίωση ελεύθερη υποτροπών (5-year relapse-free survival-RFS) για το σύνολο του πληθυσμού (N=204) ήταν  $90,2\% \pm 2,6(\text{se})$  και η 5ετής συνολική επιβίωση (overall survival-OS) και η επιβίωση ελεύθερη συμβαμάτων (event-free survival-EFS) ήταν  $90,2\% \pm 2,9$  και  $85,3\% \pm 3,4$ , αντίστοιχα. Οι καμπύλες επιβίωσης για το σύνολο του δείγματος απεικονίζονται στο **Σχήμα 19** ενώ τα ποσοστά RFS για όλες τις υποομάδες ασθενών συνοψίζονται στον **Πίνακα 13**.



**Σχήμα 19:** Επιβίωση ελεύθερη υποτροπών (RFS) και επιβίωση ελεύθερη συμβαμάτων (EFS) για το σύνολο του παιδιατρικού πληθυσμού

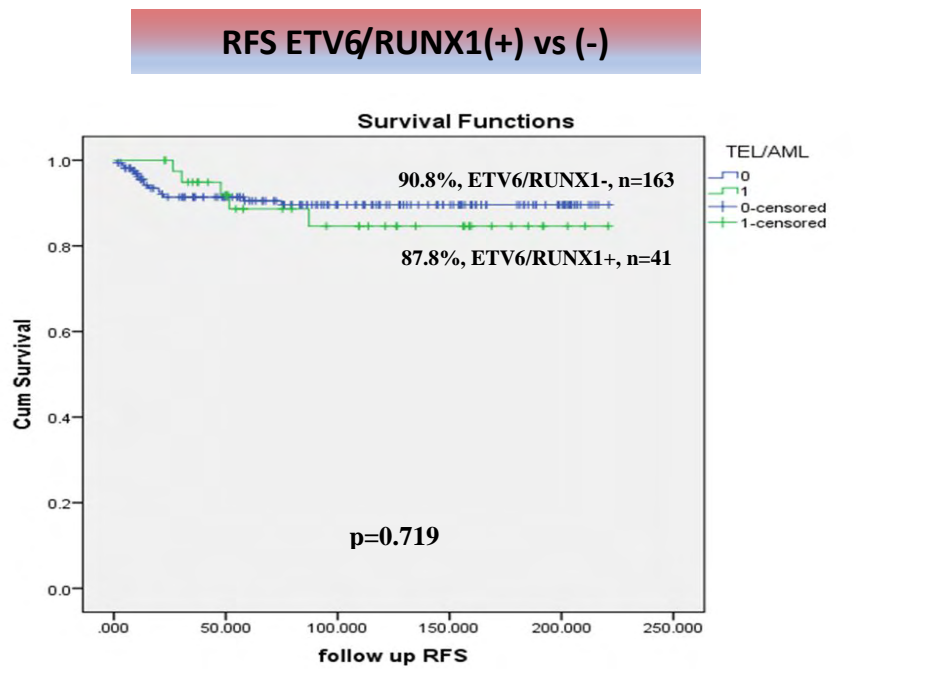
Variable	Estimated 5-year RFS % (se)	p-value
<b>Sex</b>		
▪ Male	84.6(4.3)	0.190
▪ Female	92.3(4.3)	
<b>White blood cell count</b>		
▪ WBC $\geq 20000/\mu\text{l}$	73.2(7.0)	<0.001
▪ WBC $< 20000/\mu\text{l}$	95.0(2.9)	
<b>White blood cell count</b>		
▪ WBC $\geq 50000/\mu\text{l}$	62.1(12.3)	<0.001
▪ WBC $< 50000/\mu\text{l}$	91.3(3.0)	
<b>ETV6/RUNX1</b>		
▪ Positive	87.8(7.4)	0.719
▪ Negative	90.8(3.5)	
<b>CDKN2A/2B biallelic deletion</b>		
▪ Positive	42.7(21.0)	0.005
▪ Negative	90.7(2.8)	
<b>Immynophenotype</b>		
▪ B-precursor ALL	88.2(3.2)	0.371
▪ T-ALL	80.8(12.2)	
<b>Prednisone response</b>		
▪ GPR	94.2(2.5)	<0.001
▪ PPR	48.4(13.1)	
<b>Protocol Risk Group</b>		
▪ Standard Risk (SR)	93.2(4.7)	<0.001
▪ Medium Risk (MR)	94.5(3.1)	
▪ High Risk (HR)	58.8(10.7)	
<b>Therapy Risk Arm</b>		
▪ Intermediate Risk (IR)	93.7(2.7)	<0.001
▪ High Risk (HR)	63.9(9.7)	
<b>MRD d15</b>		
▪ MRD $\geq 0.1\%$	79.6(5.2)	0.004
▪ MRD $< 0.1\%$	97.3(2.7)	
<b>MRD d33</b>		
▪ MRD $\geq 0.1\%$	60.0(12.8)	<0.001
▪ MRD $< 0.1\%$	91.3(3.0)	

**Πίνακας 13:** 5ετής επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) για τις διάφορες παιδιατρικές υποομάδες (subgroups) (Ampatzidou et al,2015, Ampatzidou et al,2018).

### 5.8. ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ ETV6/RUNX1(+) ΜΕΤΑΘΕΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ

Οι ETV6/RUNX1(+) ασθενείς παρουσίαζαν συνολική επιβίωση (OS) 100% ενώ η 5ετής επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) ήταν  $87,8\% \pm 7,4$  (**Πίνακας 13**). Η παρουσία της μετάθεσης σαν ευνοϊκός προγνωστικός παράγοντας δεν αποδείχθηκε να έχει στατιστική σημαντικότητα στην πιθανότητα υποτροπής [5-year RFS  $87,8\% \pm 7,4$  στους ETV6/RUNX1(+)

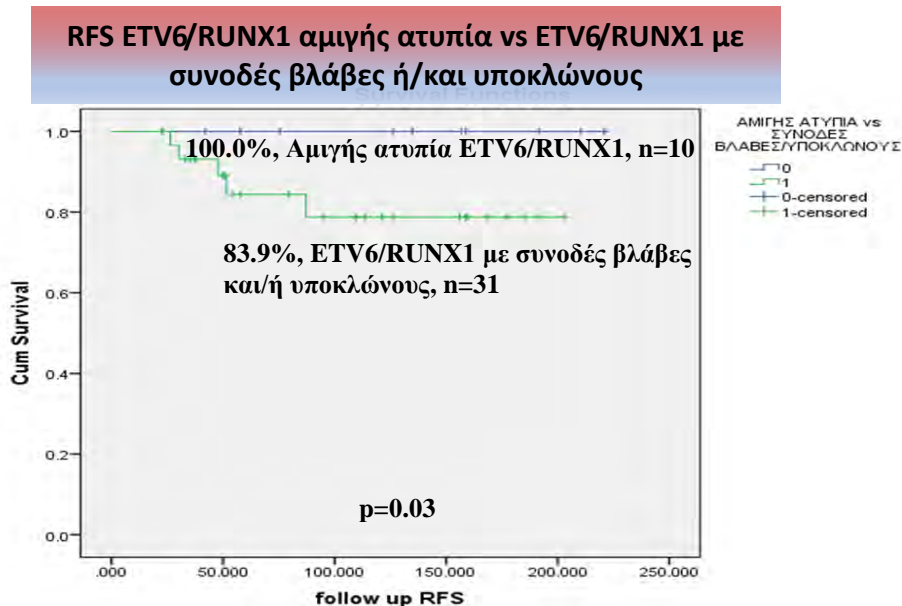
ασθενείς έναντι  $90,8 \pm 3,5$  στους ETV6/RUNX1(-),  $p=0,719$ ]. Οι καμπύλες επιβίωσης RFS στις υποομάδες των ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενών απεικονίζονται στο **Σχήμα 20**.



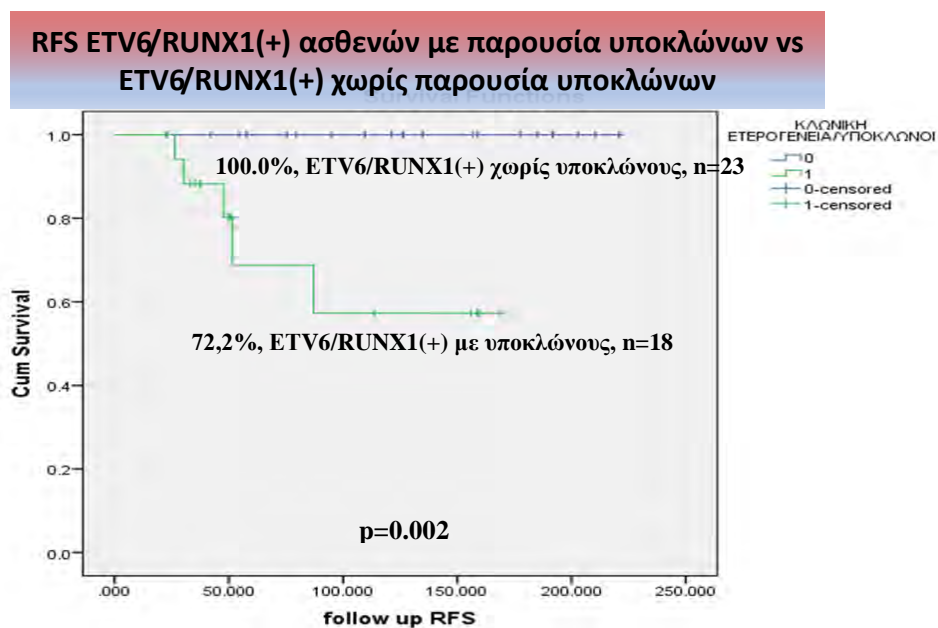
**Σχήμα 20:** Επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) στις υποομάδες των ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενών.

## 5.9. ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΟΔΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ETV6/RUNX1(+) ΥΠΟΚΛΩΝΩΝ ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ

Μεταξύ των 10 ETV6/RUNX1(+) ασθενών που διαγνώστηκαν με αμιγή ατυπία χωρίς παρουσία συνοδών βλαβών και υποκλώνων, δεν σημειώθηκε καμία υποτροπή (RFS 100,0%), σε διάμεσο χρόνο παρακολούθησης 106,0 μήνες (εύρος 3,0-221,0 μήνες). Αντίθετα, όλες οι υποτροπές προήλθαν από την υποομάδα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών που παρουσίαζαν συνοδές βλάβες και εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια στη διάγνωση, με επιβίωση ελεύθερη υποτροπής RFS 83,9%, όπως απεικονίζεται στο **Σχήμα 21**. Ειδικότερα, οι ασθενείς που παρουσίαζαν αποκλειστικά και μόνο παρουσία πολλαπλών υποκλώνων στη διάγνωση (κλωνική ετερογένεια) χαρακτηρίζονταν από αυξημένη πιθανότητα υποτροπής και επιβίωση RFS 72,2% έναντι 100,0% στην υποομάδα των υπολοίπων ETV6/RUNX1(+) ασθενών (**Σχήμα 22**).

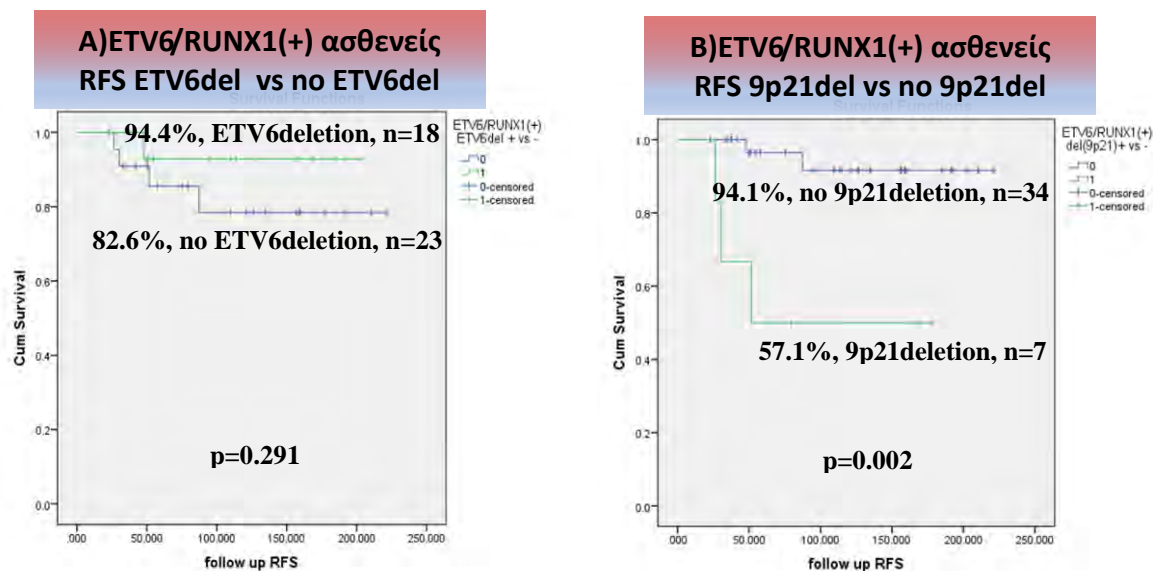


**Σχήμα 21:** Επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) στις υποομάδες των ETV6/RUNX1(+) με αμιγή ατυπία έναντι των ETV6/RUNX1(+) ασθενών με παρουσία συνοδών βλαβών/υποκλώνων.



**Σχήμα 22:** Επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) στις υποομάδες των ETV6/RUNX1(+) με παρουσία υποκλώνων έναντι των ETV6/RUNX1(+) ασθενών χωρίς παρουσία υποκλώνων.

Αναλύοντας τις επιμέρους συνοδές βλάβες στον ETV6/RUNX1(+) παιδιατρικό πληθυσμό, οι ασθενείς με έλλειμμα του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου (delETV6) παρουσίαζαν ένα ελαφρό προβάδισμα στην επιβίωση RFS (94,4% έναντι 82,6%,  $p=0,291$ ) ενώ η παρουσία ομόζυγου ελλείμματος του CDKN2A/2B γονιδίου (del9p21) συνοδευόταν από δυσμενέστερη έκβαση με RFS 57,1% έναντι 94,1% στην υποομάδα των ασθενών χωρίς το αντίστοιχο έλλειμμα ( $p=0,002$ ), όπως απεικονίζεται στο **Σχήμα 23**.

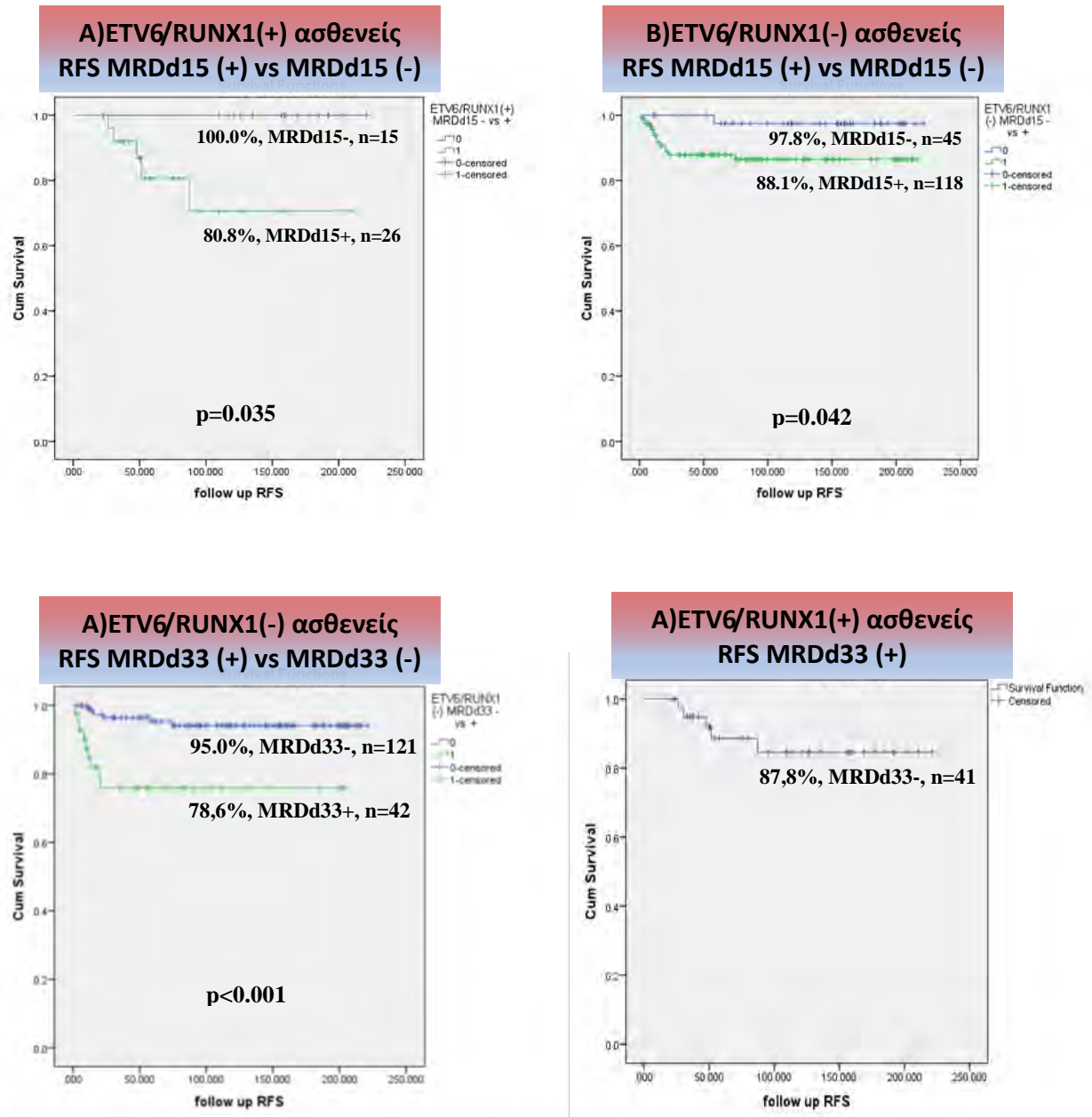


**Σχήμα 23:** Επιβίωση ελεύθερη υποτροπής (RFS) στις υποομάδες των ETV6/RUNX1(+) με **A)** παρουσία ελλείμματος του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου, **B)** παρουσία ελλείμματος της χρωμοσωμικής θέσης 9p21.

## 5.10. ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΤΗΣ MRD<sub>d15</sub> ΚΑΙ MRD<sub>d33</sub> ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ

Όπως ήδη προαναφέρθηκε στον **Πίνακα 13**, με βάση τη στατιστική ανάλυση και τα προκύπτοντα  $p$ -values, οι παράμετροι/μεταβλητές που διατηρούσαν στατιστική σημαντικότητα στην πιθανότητα υποτροπής, ήταν ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων στη διάγνωση, η απάντηση στην κορτιζόνη, οι ομάδες κινδύνου (risk groups), καθώς και οι τιμές MRD<sub>d15</sub> και MRD<sub>d33</sub>, τις αντίστοιχες ημέρες 15 και 33 της ΧΜΘ εφόδου. Μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) ασθενών, η 5ετής επιβίωση RFS στους ασθενείς με ανιχνεύσιμη MRD<sub>d15</sub> την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου (MRD<sub>d15</sub>≥0,1% ή log-3) περιοριζόταν στο 80,8% ενώ το αντίστοιχο ποσοστό RFS στους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς με μη ανιχνεύσιμη MRD<sub>d15</sub> ήταν 100%, χωρίς σημειούμενες υποτροπές ( $p=0,035$ ). Μεταξύ των ETV6/RUNX1(-) ασθενών, οι ασθενείς με θετική MRD<sub>d15</sub> (MRD<sub>d15</sub>≥0,1% ή log-3) παρουσίαζαν RFS 88,1% ενώ οι ETV6/RUNX1(-) ασθενείς με χαμηλή/αρνητική MRD<sub>d15</sub> (MRD<sub>d15</sub><0,1% ή log-3)

παρουσίαζαν RFS 97,8% ( $p=0,042$ ). Αναλύοντας την επίπτωση της ανίχνευσης MRD στο τέλος της ΧΜΘ εφόδου (ημέρα 33), τα ποσοστά RFS στους ETV6/RUNX1(-) ασθενείς με θετική MRD<sub>d33</sub> ( $MRD_{d33} \geq 0,1\%$  ή log-3) ήταν 78,6% έναντι 95,0% στην περίπτωση των ETV6/RUNX1(-) ασθενών με  $MRD_{d33} < 0,1\%$  ( $p < 0,001$ ). Μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) ασθενών, η επιβίωση RFS ήταν 87,8% επί χαμηλής/αρνητικής MRD<sub>d33</sub> ( $MRD_{d33} < 0,1\%$ ) ενώ δεν υπήρχαν ασθενείς με θετική MRD<sub>d33</sub> ( $MRD_{d33} \geq 0,1\%$ ) στο τέλος της ΧΜΘ εφόδου. Οι καμπύλες επιβίωσης RFS ανάλογα με τις τιμές MRD<sub>d15</sub> και MRD<sub>d33</sub>, σε ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενείς, απεικονίζονται στο **Σχήμα 24**.



**Σχήμα 24:** Α) Καμπύλες επιβίωσης RFS σε ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενείς, ανάλογα με τις τιμές MRD<sub>d15</sub> και MRD<sub>d33</sub>.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### 6.1 ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ETV6/RUNX1(+) ΜΕΤΑΘΕΣΗΣ ΜΕ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ, ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Η t(12;21)(p13;q22) ή αλλιώς ETV6/RUNX1 μετάθεση αποτελεί, αναμφισβήτητα, την πιο συχνή γενετική ανωμαλία της παιδικής ΟΛΛ, με μία συχνότητα που στις περισσότερες διεθνείς αναφορές κυμαίνεται από 15 έως 30% [7-15,85,86,87]. Στην παρούσα μελέτη, η επίπτωση της ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ στον παιδιατρικό μας πληθυσμό είναι 20,1%, ποσοστό που συμβαδίζει με μεγάλες πολυκεντρικές μελέτες [1,2,7-15,85,86,87].

Μεταξύ των 41 ETV6/RUNX1(+) ασθενών, είναι προφανής η οριακή υπεροχή των αγοριών (23/41), ενώ η διάμεση ηλικία των ETV6/RUNX1(+) ασθενών μας (3,6 έτη) ήταν σημαντικά χαμηλότερη συγκριτικά με την αντίστοιχη διάμεση ηλικία στην ETV6/RUNX1(-) υποομάδα (6,6 έτη,  $p=0,005$ ). Αξίζει να αναφερθεί, ωστόσο, πως η μεγαλύτερη ασθενής μας ήταν μία έφηβη 16,7 ετών. Σε μία πρόσφατη μελέτη μας από το ίδιο υλικό ασθενών που δημοσιεύθηκε στο περιοδικό MEMO [Ampatzidou et al, *Adolescents and young adults (AYAs) with acute lymphoblastic and acute myeloid leukemia: characteristics and treatment outcome. Magazine of European Medical Oncology (MEMO), 2018*] [88], επιβεβαιώνεται ότι πολλά κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά που χρησιμοποιούνται για τη διαστρωμάτωση της παιδικής ΟΛΛ είναι μεταβαλλόμενα και εξαρτώμενα από την ηλικία (age-dependent). Έτσι, η αύξηση της ηλικίας συνοδεύεται από βιολογικές διαφορές στο υπόστρωμα της νόσου, ευνοώντας υψηλότερου κινδύνου χαρακτηριστικά και λιγότερο ευνοϊκές παραμέτρους. Στο πλαίσιο αυτό, παραδοσιακά «ευνοϊκές» κυτταρογενετικές ανωμαλίες όπως η ETV6/RUNX1 μετάθεση και η υπερδιπλοειδία μειώνονται με την ηλικία ενώ αντίθετα, δυσμενείς προγνωστικοί παράγοντες όπως η παρουσία του BCR/ABL1 υβριδικού γονιδίου συναντώνται πιο συχνά (Πίνακας 14).



	AYAs subgroup (12-21 years)		Pediatric subgroup (1-11 years)		p-values
	N	%	N	%	
<b>TOTAL</b>	32		154		
<b>Sex</b>					
▪ Male	16	81.2	89	57.8	0.001
▪ Female	6	18.8	65	42.2	0.001
<b>White blood cell count</b>					
▪ WBC $\geq 20000/\mu\text{l}$	16	50.0	51	33.1	0.034
<b>White blood cell count</b>					
▪ WBC $\geq 50000/\mu\text{l}$	11	34.3	19	12.3	0.005
<b>Immunophenotype</b>					
▪ B-precursor ALL	16	75.0	140	90.9	0.058
▪ T-precursor ALL	8	25.0	14	9.1	0.005
<b>CNS involvement</b>					
▪ Yes	5	15.6	12	7.8	0.03
<b>Other organ infiltration</b>					
▪ Yes	4	12.5	11	7.1	0.04
<b>Cytogenetics/molecular features</b>					
▪ t(12;21)(p13;q22)	2	6.3	34	22.1	<0.001
▪ t(1;19)(q23;p13)	1	3.1	3	1.9	0.5
▪ t(9;22)(q34;q11)	2	6.3	2	1.3	0.001
▪ MLL rearrangements	2	6.3	5	3.2	0.005
▪ CDKN2A/2B deletions	6	18.8	25	16.1	0.9
▪ IKZF1 deletions	3	9.4	1	0.6	<0.001
▪ hyperdiploidy	0	0.0	48	31.2	<0.001
<b>Risk Group allocation</b>					
▪ Standard Risk	0	0.0	49	29.8	<0.001
▪ Intermediate Risk	20	62.5	69	44.8	0.005
▪ High Risk	12	37.5	36	23.4	0.04
<b>Prednisone Response</b>					
▪ GPR	23	72.0	138	89.6	0.03
▪ PPR	9	28.0	16	10.4	0.005
<b>MRDd15</b>					
▪ MRDd15 $\geq 0.1\%$	21	65.6	93	60.4	0.9
<b>MRDd33</b>					
▪ MRDd33 $\geq 0.1\%$	8	25.0	20	13.0	0.08
<b>CR1 at the end of induction</b>	29	90.6	148	96.1	0.89
<b>EFS</b>		68.8		92.2	<0.001
<b>OS</b>		71.9		94.8	<0.001

N: number of patients; CR: complete remission. EFS: event-free survival, OS: overall survival, GPR: good prednisone responders, PPR: poor prednisone responders,

**Πίνακας 14:** Απόσπασμα από πρόσφατη δημοσίευση στο περιοδικό MEMO (Ampatzidou et al, 2018), όπου συγκρίνονται τα κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά των AYAs σε σχέση με αυτά του παιδιατρικού πληθυσμού. Είναι εμφανής η ελάττωση της ETV6/RUNX1 επίπτωσης αυξανομένης της ηλικίας.



Όλοι οι ETV6/RUNX1(+) ασθενείς μας παρουσίαζαν ευνοϊκά κλινικά χαρακτηριστικά, με απουσία εξωμυελικών εντοπίσεων (διεύρυνση μεσοθωρακίου, διήθηση όρχεων, διήθηση ΚΝΣ). Παρά το γεγονός ότι σε προηγούμενες μελέτες, η παρουσία της ETV6/RUNX1(+) μετάθεσης σχετιζόταν με χαμηλότερο αριθμό WBC στη διάγνωση [89], αυτό δεν επιβεβαιώθηκε στο δείγμα μας, καθώς οι διάμεσες τιμές των αιματολογικών παραμέτρων δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) υποομάδων. Αξίζει, ωστόσο, να αναφερθεί, ότι μόνο 4/41 ETV6/RUNX1(+) ασθενείς παρουσίασαν WBC>50000/μl στη διάγνωση και μόνος ένας (1) ασθενής διαστρωματώθηκε στην High Risk (HR) υποομάδα.

## 6.2. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ETV6/RUNX1 ΜΕΤΑΘΕΣΗΣ

Η προγνωστική σημασία της ETV6/RUNX1 μετάθεσης έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας και διχογνωμιών για τουλάχιστον δύο δεκαετίες. Οι Shurtleff και συν.[46] διατύπωσαν για πρώτη φορά το 1995 την υπόθεση ότι η διακριτή αυτή υποομάδα της παιδικής ΟΛΛ χαρακτηρίζεται από εξαιρετική πρόγνωση και έκτοτε, πολλές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει τα αρχικά αυτά ευρήματα, υποδεικνύοντας ευνοϊκή έκβαση για τους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς [47-53,89]. Ωστόσο, στατιστικά σημαντικές διαφορές στην επιβίωση μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) υποομάδων δεν έχουν επιβεβαιωθεί από όλους τους ερευνητές [35,55-60]. Σε μελέτη του COG (Children's Oncology Group), η παρουσία της ETV6/RUNX1 μετάθεσης αποδεικνύεται ανεξάρτητος ευνοϊκός προγνωστικός παράγοντας [61] ενώ αυτό δεν επιβεβαιώνεται σε αντίστοιχη μελέτη από το Dana Farber Cancer Institute Consortium (DFCI), όταν συνυπολογιστούν στα στατιστικά συστήματα η ηλικία, ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και η ομάδα κινδύνου[52]. Αναλυτικά, στο DFCI ALL Consortium Study 95-01, η 5ετής επιβίωση EFS για τους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς ήταν 89% έναντι 80% στην υποομάδα των ETV6/RUNX1(-) ασθενών, με εξαιρετική 5ετή συνολική επιβίωση (OS) 97% επί παρουσίας της μετάθεσης [52] και ποσοστά ανάλογα με αυτά της Total XV μελέτης (OS 98,9%) [53].

Στη μελέτη μας, η παρουσία της ETV6/RUNX1 μετάθεσης σχετίζεται, συνολικά, με ευνοϊκή έκβαση και εξαιρετική συνολική επιβίωση, με ποσοστά overall survival (OS) που αγγίζουν το 100% και αντίστοιχα με αυτά των διεθνών αναφορών. Ωστόσο, σε πολυπαραγοντική ανάλυση, η μετάθεση δεν διατηρεί ανεξάρτητη προγνωστική σημασία και τα ποσοστά επιβίωσης ελεύθερης υποτροπής (relapse-free survival/RFS) δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενών. Έτσι, η

παρουσία της ETV6/RUNX1 ατυπίας συνολικά, δεν παρουσιάζει, στη μελέτη μας, στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πιθανότητα υποτροπής (5-year RFS 87,8%±7,4 έναντι 90,8%±3,5 σε ETV6/RUNX1(+) και ETV6/RUNX1(-) ασθενείς, αντίστοιχα, p=0,719, **Σχήμα 20**)[2].

### **6.3. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΥΝΟΔΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΚΑΙ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΗΣ ΚΛΩΝΙΚΗΣ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑΣ (ΥΠΟΚΛΩΝΩΝ)**

Παρά τα ευνοϊκά ποσοστά επιβίωσης που χαρακτηρίζουν τους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς σε πολλές μελέτες, αντικρουόμενες απόψεις σχετικά με την τελική προγνωστική σημασία της μετάθεσης και η μεγάλη ασυμπτωματική περίοδος σε μονοζυγωτικούς διδύμους, υπαγορεύουν την ανάγκη για την αναγνώριση επιπρόσθετων δευτεροπαθών γενετικών βλαβών που οδηγούν στην τελική εκδήλωση του λευχαιμικού φαινοτύπου [15]. Λαμβάνοντας υπόψη τη γένεση της μετάθεσης κατά την ενδομήτρια ζωή και τη μακρά περίοδο ελεύθερη νόσου που ακολουθεί, είναι πλέον βέβαιο πως οι πρόσθετες αυτές γενετικές βλάβες είναι απαραίτητες για τη μετατροπή σε Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (ΟΛΛ) [8,79]. Οι πιο συχνές γενετικές αστάθειες και δομικές ή αριθμητικές ανωμαλίες που έχουν περιγραφεί περιλαμβάνουν 12p ανωμαλίες, προσθήκες στο χρωμόσωμα 21, διπλασιασμούς του υβριδικού ETV6/RUNX1 γονιδίου, KMT2A (MLL) αναδιατάξεις, ελλείμματα στο 6q και 9p (όπου περιλαμβάνεται και το γονίδιο CDKN2A/2B) και πολλαπλές τρισωμίες (21,4,10,16) [8,15,30-35]. Οι ανωτέρω χρωμοσωμικές περιοχές που παρουσιάζουν πρόσθετες γενετικές βλάβες περιλαμβάνουν σημαντικά γονίδια για το λευχαιμικό μετασχηματισμό και την εξέλιξη του αρχικού προλευχαιμικού ETV6/RUNX1(+) κλώνου [8]. Υπάρχουν επίσης σημαντικές ενδείξεις που υποδεικνύουν την παρουσία πολλαπλών υποκλώνων με διαφορετική απάντηση στη θεραπεία σε ποσοστό 25% των ETV6/RUNX1(+) ασθενών, γεγονός που υποδηλώνει εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια ήδη από τη στιγμή της αρχικής διάγνωσης [80,90].

Στην παρούσα μελέτη, 75,6% των ETV6/RUNX1(+) ασθενών μας (31/41) αναγνωρίστηκαν με επιπρόσθετες συνοδές ανωμαλίες ενώ 18 από τους ασθενείς αυτούς (43,9%) παρουσίαζαν εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια και υποκλώνους με ποικίλες ανωμαλίες των ETV6 και RUNX1 γονιδίων. Η απώλεια του μη αναδιατεταγμένου ETV6 [del(12p13)] και η παρουσία επιπλέον ETV6/RUNX1 υβριδικών γονιδίων (2-3 x ETV6/RUNX1) αποτελούσαν στον πληθυσμό μας τις πιο συχνές συνοδές βλάβες που ανιχνεύθηκαν, σε ποσοστό 43,9% (18/41) και 19,5% (8/41), αντίστοιχα. Η παρουσία των βλαβών αυτών και ειδικά του ελλείμματος του μη αναδιατεταγμένου ETV6, είναι τόσο συχνή

στις περισσότερες μελέτες, ώστε η παρουσία του και μόνο στην παιδιατρική ΟΛΛ θεωρείται, πλέον, ως ισχυρή ένδειξη παρουσίας της κρυπτικής ETV6/RUNX1 μετάθεσης [8,30,32,33,35]. Άλλες συνηθείς δομικές ή αριθμητικές βλάβες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία [8,30,32,33,35,62] και ανιχνεύθηκαν, επίσης, στη μελέτη μας ήταν το έλλειμμα της χρωμοσωμικής θέσης 9p21 [del(9p21)] σε ποσοστό 17,1% (7/41), η τρισωμία 21 (+21) σε ποσοστό 9,8% (4/41) καθώς και η υπερδιπλοειδία σε ποσοστό 9,8% (4/41) των ETV6/RUNX1(+) ασθενών. Λιγότερες συχνές συνοδές βλάβες που ανιχνεύθηκαν αποτελούν η απώλεια του φυσιολογικού RUNX1 ομολόγου [del(21q22)] σε ποσοστό 4,9% (2/41), η τρισωμία 12 και το έλλειμμα του KMT2A (MLL) γονιδίου σε ποσοστό 2,4%, αντίστοιχα (1/41)(Πίνακας 11). Ειδικότερα, όμως, μεταξύ των 18 ασθενών που παρουσίαζαν υποκλώνους, οι συνηθέστερες γενετικές βλάβες που ανιχνεύθηκαν ήταν η απώλεια του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου και ο διπλασιασμός/τριπλασιασμός του ETV6/RUNX1 υβριδικού γονιδίου σε 10 και 8 περιπτώσεις, αντίστοιχα.

#### 6.4. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΣΥΝΟΔΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΛΩΝΙΚΗΣ ΕΤΕΡΟΓΕΝΕΙΑΣ (ΥΠΟΚΛΩΝΩΝ)

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η προσπάθεια αποτύπωσης της προγνωστικής σημασίας των ανωτέρω συνοδών βλαβών και των παρατηρούμενων υποκλώνων, καθώς και η συσχέτιση αυτών με την πιθανότητα υποτροπής. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η πιο συχνή επιπρόσθετη γενετική βλάβη στον πληθυσμό μας, τόσο στο σύνολο του ETV6/RUNX1 βλαστικού πληθυσμού, όσο και εντός των υποκλώνων, αποτελεί το έλλειμμα του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου. Η παρουσία ETV6 ελλειμμάτων που δεν συνοδεύεται από ενδείξεις μονοσωμίας 12, έχει προταθεί, από κάποιους ερευνητές, ως ανεξάρτητος ευνοϊκός προγνωστικός δείκτης στην παιδιατρική ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ[81]. Στη μελέτη μας, οι ασθενείς με έλλειμμα του μη αναδιατεταγμένου ETV6 γονιδίου παρουσίαζαν ελαφρό προβάδισμα στην επιβίωση ελεύθερη υποτροπών, με RFS 94,4% έναντι 82,6% στην περίπτωση απουσίας ETV6 ελλείμματος, χωρίς, ωστόσο η διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική ( $p=0,291$ , Σχήμα 23).

Η προγνωστική σημασία των υπολοίπων γενετικών βλαβών παραμένει αμφιλεγόμενη, καθώς τα επιμέρους υποσύνολα είναι μικρά ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα. Αξίζει να σχολιασθεί, ωστόσο, η συχνή ανεύρεση, στον πληθυσμό μας, ελλειμμάτων της χρωμοσωμικής θέσης 9p21, που οδηγεί συχνά σε απώλεια του CDKN2A και P14ARF, γονίδια που έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν συνέργεια με το ETV6/RUNX1 υβριδικό

γονίδιο για τη λευχαιμογένεση σε πειραματικά μοντέλα ποντικών [15]. Στον πληθυσμό μας, οι ETV6/RUNX1(+) ασθενείς με συνοδό ομόζυγο έλλειμμα της χρωμοσωμικής θέσης 9p21 παρουσίαζαν δυσμενέστερη έκβαση, με RFS 57,1% έναντι 94,1% των υπολοίπων ( $p=0,002$ , **Σχήμα 23**). Οι Kees και συν.[38] πρότειναν για πρώτη φορά ότι το ομόζυγο έλλειμμα του CDKN2A γονιδίου σχετίζεται με δυσμενή πρόγνωση στην παιδιατρική ΟΛΛ, εύρημα που δεν επιβεβαιώθηκε από όλες τις ερευνητικές ομάδες κατά την τελευταία δεκαετία [63,64]. Σε μελέτη που δημοσιεύσαμε από το ίδιο δείγμα ασθενών (*Ampatzidou et al, Childhood acute lymphoblastic leukemia using a BFM approach: 12 years of experience in a Greek center. Leuk Lymphoma 2014*) [1], το ομόζυγο έλλειμμα της χρωμοσωμικής θέσης 9p21 αποδείχθηκε να αποτελεί, στον πληθυσμό μας, δυσμενέστατο παράγοντα κινδύνου στην παιδική ΟΛΛ (**Πίνακας 13**), ενώ σε αρκετές μελέτες αναφέρεται η ανίχνευση CDKN2A ελλειμμάτων στις ETV6/RUNX1(+) υποτροπές [54,65]. Επίσης, η συνύπαρξη της ETV6/RUNX1 μετάθεσης με KMT2A (MLL) ανωμαλίες έχει περιγραφεί σε κάποιες εκ των ETV6/RUNX1(+) υποτροπών[15,37], γεγονός που αναγνωρίστηκε και σε μία δική μας ασθενή που υποτροπίασε με MLL ελλείμματα στους υποκλώνους.

Συνολικά, στον παιδιατρικό πληθυσμό μας, η παρουσία συνοδών βλαβών και υποκλώνων στη διάγνωση παρουσιάζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την πιθανότητα υποτροπής, σχηματίζοντας μία διακριτή υποομάδα ETV6/RUNX1(+) ασθενών με δυσμενέστερη έκβαση και μειωμένα ποσοστά relapse-free survival (RFS). Μεταξύ των 10 ETV6/RUNX1(+) ασθενών που διαγνώστηκαν με αμιγή ατυπία χωρίς παρουσία συνοδών βλαβών ή/και υποκλώνων, δεν σημειώθηκε καμία υποτροπή (RFS 100,0%), σε διάμεσο χρόνο παρακολούθησης 106,0 μήνες. Αντίθετα, όλες οι υποτροπές προήλθαν από την υποομάδα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών που παρουσίαζαν συνοδές βλάβες, με επιβίωση ελεύθερη υποτροπής RFS 83,9% ( $p=0,03$ ), όπως έχει ήδη απεικονισθεί στο **Σχήμα 21**.

Τέλος, στον πληθυσμό μας, η παρουσία υποκλώνων στη διάγνωση αποτελούσε τον δυσμενέστερο παράγοντα κινδύνου, καθώς οι ασθενείς με εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια παρουσίαζαν RFS 72,2% έναντι 100,0% των υπολοίπων ( $p=0,002$ , **Σχήμα 22**).

## **6.5. MRD (MRD<sub>d15</sub>/MRD<sub>d33</sub>) ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΚΛΩΝΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΑΧΥΤΗΤΑ ΚΑΘΑΡΣΗΣ ΤΟΥ ΛΕΥΧΑΙΜΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ**

Η βραδεία και μη βέλτιστη απάντηση στη θεραπεία, όπως αυτή εκφράζεται από τον προσδιορισμό της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου (MRD) σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές, καθώς και η ταχύτητα κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου μεταξύ των χρονικών

αυτών στιγμών (MRD log reduction), έχει ήδη προταθεί από το υλικό των ασθενών μας [Ampatzidou et al. Prognostic significance of flow-cytometry MRD log reduction during induction treatment of childhood ALL. *Leuk and Lymphoma*, 2018] [3] και αποτελεί πλέον τον ακρογωνιαίο λίθο της πρόληψης υποτροπής σε όλες τις υποκατηγορίες της παιδικής ΟΛΛ [1,2,3,91]. Σε κανέναν από τους ETV6/RUNX1(+) ασθενείς μας δεν ανιχνεύθηκε MRD στο τέλος της ΧΜΘ εφόδου (MRD<sub>d33</sub>) ενώ σημαντικό ερώτημα αποτελεί η δυνατότητα πρόβλεψης της υποτροπής με βάση τα υψηλά επίπεδα MRD<sub>d15</sub> εντός της ETV6/RUNX1(+) υποομάδας [92-96]. Στην παρούσα μελέτη, όλες οι υποτροπές προήλθαν από τη δεξαμενή των FC-MRD<sub>d15</sub>(+) ασθενών. Μεταξύ των ETV6/RUNX1(+) ασθενών μας, η 5ετής επιβίωση RFS για τους ασθενείς με MRD<sub>d15</sub>≥0.1% ήταν περιορισμένη σε ποσοστό 80,8%, έναντι RFS 100% στην περίπτωση αρνητικής MRD<sub>d15</sub> (MRD<sub>d15</sub><0.1%) (**Σχήμα 24**, p=0,035). Με βάση, λοιπόν, τα ανωτέρω, επιβεβαιώνουμε την αρχική μας υπόθεση ότι τα υψηλά επίπεδα FC-MRD<sub>d15</sub>, μπορούν να αποτελέσουν έναν σημαντικό προγνωστικό δείκτη διαστρωμάτωσης (surrogate marker), αναγνωρίζοντας μια υποομάδα ETV6/RUNX1(+) ασθενών με ετερογενή και δυσμενέστερη κλινική πορεία[2,3].

Επιπρόσθετα, ένα αξιοσημείωτο εύρημα στην παρούσα μελέτη αποτελεί η συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας κλωνικής ετερογένειας και της βραδείας κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου (delayed MRD clearance), όπως έχει ήδη απεικονισθεί στο **Σχήμα 18**. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά, ενισχύεται και επαληθεύεται η υπόθεση ότι η παρουσία υποκλώνων στη διάγνωση σχετίζεται με υψηλά επίπεδα MRD<sub>d15</sub> (>10<sup>-3</sup>), κατά την αρχική ΧΜΘ εφόδου. Αξίζει να αναφερθεί ότι το ποσοστό των MRD<sub>d15</sub>(+) μεταξύ των ασθενών με αμιγή ETV6/RUNX1 ατυπία χωρίς συνοδές βλάβες ήταν 40,0% (4/10) έναντι 83,3% (15/18) στην περίπτωση των ETV6/RUNX1(+) ασθενών που παρουσίαζαν υποκλώνους κατά την αρχική διάγνωση. Αντίστροφα, και ενισχύοντας τα ανωτέρω, σημειώνουμε ότι μόνο 15,3% (4/26) εκ των ETV6/RUNX1(+) ασθενών με μη ανιχνεύσιμη MRD<sub>d15</sub>, παρουσίαζαν κλωνική ετερογένεια. Με βάση, λοιπόν, τα ανωτέρω, αποδεικνύουμε πως οι ETV6/RUNX1(+) ασθενείς με παρουσία υποκλώνων, χαρακτηρίζονται από βραδεία κάθαρση του λευχαιμικού φορτίου και της MRD, τουλάχιστον κατά τις πρώτες 15 ημέρες της ΧΜΘ εφόδου ενώ όλοι παρουσιάζουν, στη συνέχεια, ταχύτερη κάθαρση με αρνητικοποίηση του λευχαιμικού φορτίου έως την ημέρα 33[2].

## 6.6. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΥΠΟΤΡΟΠΩΝ (ΚΛΩΝΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ Ή ΚΛΩΝΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ)

Το γεγονός ότι όλοι οι ETV6/RUNX1(+) ασθενείς που υποτροπίασαν παρουσίασαν υποκλώνους παρόμοιους με αυτούς που είχαν ανιχνευθεί στην αρχική διάγνωση (πανομοιότυπο προφίλ, κλωνική εξέλιξη ή κλωνική επιλογή), επιβεβαιώνει την παρατήρηση ότι οι κλώνοι της υποτροπής στην ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ προκύπτουν από έναν μείζονα ή ελάσσονα κλώνο της αρχικής προβολής. Η εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια συνδέεται με ανάπτυξη βραδέως ανταποκρινόμενων και τελικά ανθεκτικών υποκλώνων, που ενδέχεται να παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα σιωπηλοί, έως της εκδήλωσης κλινικής υποτροπής. Οι όψιμες υποτροπές, λοιπόν, αν και διασώσιμες, αποτελούν ένα κοινό σύμβαμα στην ETV6/RUNX1(+) υποομάδα [36,73,75,79,90]. Στον πληθυσμό μας, με διάμεσο χρόνο παρακολούθησης 106 μήνες, 12,2% (5/41) των ασθενών τελικά υποτροπίασαν, με αντίστοιχο ποσοστό υποτροπής μεταξύ των ETV6/RUNX1(-) ασθενών 9,2% (15/163). Ωστόσο, αξίζει να αναφερθεί ότι οι υποτροπές που προέκυψαν από την ETV6/RUNX1(+) υποομάδα ήταν διασώσιμες, παρουσιάζοντας χημειοευαισθησία στα σχήματα διάσωσης και όλοι οι ασθενείς είναι εν ζωή σε CR2. Ο διάμεσος χρόνος των ETV6/RUNX1(+) υποτροπών ήταν 47,8 μήνες, στατιστικά μεγαλύτερος συγκρινόμενος με την ETV6/RUNX1(-) υποομάδα (13,3 μήνες). Κοινά χαρακτηριστικά των ETV6/RUNX1(+) υποτροπών ήταν η εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια και η παρουσία υποκλώνων στη διάγνωση καθώς και η παρουσία FC-MRD<sub>d15</sub> θετικότητας σε υψηλό επίπεδο την ημέρα 15 της ΧΜΘ εφόδου (MRD<sub>d15</sub> 10<sup>-3</sup> ή 10<sup>-2</sup>).

Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι η ETV6/RUNX1(+) ΟΛΛ αποτελεί μία ετερογενή υποομάδα και παρά την ευνοϊκή συνολική επιβίωση, ενδεχομένως περιλαμβάνει μια υποκατηγορία ασθενών με ετερογενή έκβαση. Οι μηχανισμοί που αποτελούν τη γενεσιουργό αιτία των υποτροπών, πέραν της κλωνικής ετερογένειας, είναι πιθανότατα πολυπαραγοντικοί. Υπομικροσκοπικές αλλοιώσεις και ελλείμματα γονιδίων, όπως το PAX5 και το IKZF1, ενδέχεται να αποτελούν, ενίοτε, το γενετικό υπόστρωμα που αυξάνει την πιθανότητα υποτροπής [81,90]. Στην παρούσα μελέτη, η MLPA (multiple ligation probe amplification) εφαρμόστηκε αναδρομικά σε δείγματα της διάγνωσης και της υποτροπής (SALSA-MLPA P335 kit), χωρίς ανάδειξη επιπρόσθετων PAX5 or IKZF1 ελλειμμάτων. Μεταλλάξεις της RAS οδού σηματοδότησης (KRAS,NRAS,PTPN11,FLT3), αν και λιγότερο συχνές στην ETV6/RUNX1+ ΟΛΛ, ενδέχεται, επίσης, να υφίστανται στην υποτροπή και να τροποποιούν την τελική έκβαση [96,97], πιθανότατα σε συνέργεια με άλλους συνυπάρχοντες υποκείμενους βιολογικούς μηχανισμούς, η αναγνώριση και περιγραφή των οποίων είναι πέραν των σκοπών της παρούσης μελέτης.

## 6.7. ΣΥΝΟΨΗ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Συμπερασματικά και συνοψίζοντας τα αποτελέσματα της παρούσης διατριβής, αποδεικνύεται ότι η ETV6/RUNX1+ ΟΛΛ της παιδικής ηλικίας αποτελεί μία ετερογενή οντότητα με διακριτές υποομάδες εντός της βασικής υποκατηγορίας, χαρακτηριζόμενη από εκτεταμένη κλωνική ετερογένεια και παρουσία υποκλώνων στην αρχική διάγνωση. Η προγνωστική σημασία της μετάθεσης ποικίλλει, εξαρτώμενη από τα συνυπάρχοντα κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά. Τα αποτελέσματα της παρούσης διδακτορικής διατριβής υποδεικνύουν ότι η παρουσία συνοδών γενετικών βλαβών (όπως del9p21 ή διπλασιασμός του υβριδικού ETV6/RUNX1 γονιδίου), η παρουσία υποκλώνων και η καθυστερημένη κάθαρση του λευχαιμικού φορτίου (FC-MRD clearance), επιβαρύνουν την τελική πρόγνωση. Η παρουσία κλωνικής ετερογένειας και/ή κλωνικής εξέλιξης, συνδέεται με αυξημένα επίπεδα FC-MRD την ημέρα 15 της χημειοθεραπείας εφόδου και καθυστέρηση της κάθαρσης του λευχαιμικού φορτίου. Το γεγονός ότι, στο υλικό της παρούσης διατριβής, όλες οι όψιμες υποτροπές προκύπτουν από τη δεξαμενή των FC-MRD<sub>d15</sub> θετικών ασθενών, επιβεβαιώνει την αρχική υπόθεση ότι τα υψηλά επίπεδα της FC-MRD<sub>d15</sub>, σε συνδυασμό με την ανίχνευση υποκλώνων, μπορούν να αποτελέσουν έναν αξιόπιστο δείκτη προγνωστικής διαστρωμάτωσης (surrogate marker), αναγνωρίζοντας μια διακριτή υποομάδα ασθενών με ετερογενή δυσμενέστερη έκβαση. Μεγαλύτερες πολυκεντρικές και διεθνείς συνεργατικές μελέτες απαιτούνται, προκειμένου να κατανοήσουμε καλύτερα τη βιολογία της νόσου στη διακριτή αυτή υποομάδα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών με παρουσία υποκλώνων και βραδεία κάθαρση. Πιθανότατα, μία συνεχιζόμενη κλωνική εξέλιξη μπορεί να σχετίζεται περαιτέρω με μία ενδεχόμενη γενετική αστάθεια του αρχέγονου (ancestral) κλώνου. Τα αποτελέσματα της παρούσης διδακτορικής διατριβής υποδεικνύουν πως η κλωνική ετερογένεια ευθύνεται για δυσμενέστερη έκβαση, πιθανότατα συνυπάρχοντας με άλλους υποκείμενους μηχανισμούς που εμπλέκονται στη βιολογία του νοσήματος. Η χρήση του FISH και της κυτταρομετρίας ροής μπορούν να βοηθήσουν στην καθιέρωση νέων προγνωστικών δεικτών και παραμέτρων πρόβλεψης της υποτροπής, με στόχο την καλύτερη διαστρωμάτωση και την μακροπρόθεσμη βελτίωση της έκβασης των παιδιατρικών ασθενών με ΟΛΛ. Η τελική και σημαντικότερη πρόταση που προκύπτει από την παρούσα μελέτη, αφορά πιθανή αποεντατικοποίηση της θεραπείας στους ασθενείς με αμιγή ETV6/RUNX1(+) ατυπία και αρνητική MRD<sub>d15</sub> καθώς και, από την άλλη πλευρά, περαιτέρω εντατικοποίηση της θεραπείας στη διακριτή αναγνωριζόμενη υποομάδα των ETV6/RUNX1(+) ασθενών με παρουσία υποκλώνων και βραδεία κάθαρση, από την οποία προκύπτουν οι μετέπειτα υποτροπές.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ: ΕΠΙΣΥΝΑΠΤΟΜΕΝΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Όλα τα αποτελέσματα, συμπεράσματα και προτάσεις της παρούσης διδακτορικής διατριβής, έχουν ήδη, κατά το χρόνο εκπόνησης της μελέτης, ανακοινωθεί και δημοσιευθεί στα ακόλουθα επισυναπτόμενα άρθρα διεθνών περιοδικών:

### **1) CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: 12 YEARS OF EXPERIENCE, USING A BERLIN-FRANKFURT-MÜNSTER APPROACH, IN A GREEK CENTER.**

**Ampatzidou M**, Panagiotou JP, Paterakis G, Papadakis V, Papadimitriou SI, Parcharidou A, Papargyri S, Rigatou E, Avgerinou G, Tsitsikas K, Vasdekis V, Haidas S, Polychronopoulou S.

Leuk Lymphoma. 2014 Jun 27:1-5.

### **2) ETV6/RUNX1-POSITIVE CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL): THE SPECTRUM OF CLONAL HETEROGENEITY AND ITS IMPACT ON PROGNOSIS.**

**Ampatzidou M**, Papadimitriou SI, Paterakis G, Pavlidis D, Tsitsikas K, Kostopoulos IV, Papadakis V, Vassilopoulos G, Polychronopoulou S.

Cancer Genet. 2018 Aug;224-225:1-11. doi: 10.1016/j.cancergen.2018.03.001. Epub 2018 Mar 27

### **3) PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF FLOW CYTOMETRY MRD LOG REDUCTION DURING INDUCTION TREATMENT OF CHILDHOOD ALL.**

**Ampatzidou M**, Paterakis G, Vasdekis V, Papadimitriou SI, Papadakis V, Vassilopoulos G, Polychronopoulou S.

Leuk Lymphoma. 2018 Jul 2:1-4. doi: 10.1080/10428194.2018.1471603

### **4) ADOLESCENTS AND YOUNG ADULTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC AND ACUTE MYELOID LEUKEMIA**

**Ampatzidou M.**, Kelaidi C., Dworzak M.N., Polychronopoulou S. MEMO-Magazine of European Medical Oncology 2018; 11(1):47-53 <https://doi.org/10.1007/s12254-017-0345-1>, first published online 2 Aug 2017

### **5) ETV6/RUNX1-POSITIVE CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL): DO ADDITIONAL ABERRATIONS INFLUENCE TREATMENT RESPONSE AND OUTCOME?**

**M.Ampatzidou**, S.I.Papadimitriou, G.Paterakis, L.Petrikkos, D.Pavlidis, K.Tsitsikas, V.Papadakis, G.Vassilopoulos and S.Polychronopoulou

Blood. 2014 Dec; 124(21):2403-2403

### **6) FLOW-CYTOMETRY MRD EVALUATION IN CHILDREN WITH ALL; CAN MRD LEVEL ON DAY 33 SERVE AS A SURROGATE MARKER FOR RELAPSE?**

**M.Ampatzidou**, G.Paterakis, K.Tsitsikas, S.I.Papadimitriou, V. Papadakis, V.Vasdekis, L.Petrikkos and S.Polychronopoulou

Blood. 2014 Dec; 124(21):2401-2401



## **Βιβλιογραφία**

- [1] **Ampatzidou M, Panagiotou JP, Paterakis G, et al.** Childhood acute lymphoblastic leukemia: 12 years of experience, using a Berlin-Frankfurt-Münster approach, in a Greek center. *Leuk Lymphoma*. 2014 Jun 27:1-5.
- [2] **Ampatzidou M, Paterakis G, Vasdekis V, et al.** Prognostic significance of flow cytometry MRD log reduction during induction treatment of childhood ALL. *Leuk Lymphoma*. 2018 Jul 2:1-4.
- [3] **Ampatzidou M, Papadhimitriou SI, Paterakis G, et al.** ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL): The spectrum of clonal heterogeneity and its impact on prognosis. *Cancer Genet*. 2018 Aug;224-225:1-11.
- [4] **Hunger SP, Mullighan CG.** Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood* Jun 2015, 125 (26) 3977-3987
- [5] **Borowitz MJ, Devidas M, Hunger SP, et al; Children's Oncology Group.** Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood*. 2008 Jun 15;111(12):5477-85
- [6] **Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al.** The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391-405
- [7] **Pui CH, Relling MV, Downing JR.** Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004; 350: 1535–1548.
- [8] **Forestier E., Andersen M.K., Autio K, et al.** (2007) Cytogenetic patterns in ETV6/RUNX1-positive pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: a Nordic series of 245 cases and review of the literature. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 46, 440–450.
- [9] **Golub T.R., Barker G.F., Bohlander S.K., et al.** (1995) Fusion of the TEL gene on 12p13 to the AML1 gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 4917–4921.
- [10] **Romana, S.P., Le Coniat, M. & Berger, R.** (1994) t(12;21): a new recurrent translocation in acute lymphoblastic leukemia. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 9, 186–191.

- [11] **Romana, S.P., Mauchauffe', M., Le Coniat, et al.** (1995a) The t(12;21) of acute lymphoblastic leukemia results in a tel-AML1 gene fusion. *Blood*, 85, 3662–3670.
- [12] **Romana, S.P., Poirel, H., Leconiat, et al.** (1995b) High frequency of t(12;21) in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 86, 4263–4269.
- [13] **Wiemels JL, Cazzaniga G, Daniotti M, et al.** Prenatal origin of acute lymphoblastic leukaemia in children. *Lancet* 1999; 354: 1499–1503
- [14] **Zuna J, Madzo J, Zemanova Z, et al.** ETV6/RUNX1 (TEL/AML1) is a frequent prenatal first hit in childhood leukemia. *Blood* 2011; 117: 368-369
- [15] **Pais AP, Amare Kadam PS, Raje GC, et al.** RUNX1 aberrations in ETV6/RUNX1-positive and ETV6/RUNX1-negative patients: its hemato-pathological and prognostic significance in a large cohort (619 cases) of ALL. *Pediatric Hematology and Oncology*, 2008;25: 582-597
- [16] **Peeters P, Raynaud SD, Cools J, et al.** Fusion of TEL, the ETS-variant gene 6 (ETV6), to the receptor-associated kinase JAK2 as a result of t(9;12) in a lymphoid and t(9;15;12) in a myeloid leukemia. *Blood*. 1997 Oct 1;90(7):2535-40.
- [17] **Wang LC, Kuo F, Fujiwara Y, et al.** (1997). Yolk sac angiogenic effect and intra-embryonic apoptosis in mice lacking the Ets-related factor TEL. *The EMBO Journal*, 16, 4374-4383.
- [18] **Wang LC, Swat W, Fujiwara Y, et al.** (1998). The TEL/ETV6 gene is required specifically for hematopoiesis in the bone marrow. *Genes & Development*, 12, 2392-2402.
- [19] **Chen IM, Chakerian A, Devidas M, et al.** Resolution of ambiguous low-level positive quantitative polymerase chain reaction results in TEL-AML1 positive ALL using a post-PCR fluorescent oligoligation method. *Br J Haematol*. 2006 Nov;135(3):358-61.
- [20] **Song H, Kim JH, Rho JK, et al.** Functional characterization of TEL/AML1 fusion protein in the regulation of human CR1 gene promoter. *Mol Cells*. 1999 Oct 31;9(5):560-3
- [21] **Meyers S, Lenny N, Sun W, Hiebert SW.** AML-2 is a potential target for transcriptional regulation by the t(8;21) and t(12;21) fusion proteins in acute leukemia. *Oncogene*. 1996 Jul 18;13(2):303-12

- [22] **Fenrick R1, Amann JM, Lutterbach B, et al.** Both TEL and AML-1 contribute repression domains to the t(12;21) fusion protein. *Mol Cell Biol.* 1999 Oct;19(10):6566-74.
- [23] **Uchida H, Downing JR, Miyazaki Y, et al.** Three distinct domains in TEL-AML1 are required for transcriptional repression of the IL-3 promoter. *Oncogene.* 1999 Jan 28;18(4):1015-22
- [24] **Sundaresh A1, Williams O2.** Mechanism of ETV6-RUNX1 Leukemia. *Adv Exp Med Biol.* 2017;962:201-216
- [25] **Sood R, Kamikubo Y, Liu P.** Role of RUNX1 in hematological malignancies. *Blood.* 2017 Apr 13;129(15):2070-2082
- [26] **Schindler JW, Van Buren D, Foudi A, et al.** TEL-AML1 corrupts hematopoietic stem cells to persist in the bone marrow and initiate leukemia. *Cell Stem Cell.* 2009 Jul 2;5(1):43-53
- [27] **Morrow M, Samanta A, Kioussis D, et al.** TEL-AML1 preleukemic activity requires the DNA binding domain of AML1 and the dimerization and corepressor binding domains of TEL. *Oncogene.* 2007 Jun 28;26(30):4404-14.
- [28] **McLean TW, Ringold S, Neuberg D, et al.** TEL/AML-1 dimerizes and is associated with a favorable outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 1996 Dec 1;88(11):4252-8
- [29] **Sun C, Chang L, Zhu X.** Pathogenesis of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia and mechanisms underlying its relapse. *Oncotarget.* 2017 May 23;8(21):35445-35459
- [30] **Raynaud S, Cave H, Baens M, et al.** The 12;21 translocation involving TEL and deletion of the other TEL allele: two frequently associated alterations found in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 87: 2891–2899.
- [31] **Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, et al.** Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007; 446: 758–764.
- [32] **Alvarez, Y., Coll, M.D., Ortega, J.J., et al.** (2005) Genetic abnormalities associated with the t(12;21) and their impact in the outcome of 56 patients with B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 162, 21–29.

- [33] **Attarbaschi, A., Mann, G., Konig, M., et al.** (2004) Incidence and relevance of secondary chromosome abnormalities in childhood TEL/AML1 + acute lymphoblastic leukemia: an interphase FISH analysis. *Leukemia*, 18, 1611–1616.
- [34] **Ma, S.K., Wan, T.S.K., Cheuk, A.T.C., et al.** (2001) Characterization of additional genetic events in childhood acute lymphoblastic leukemia with TEL/AML1 gene fusion: a molecular cytogenetics study. *Leukemia*, 15,1442–1447.
- [35] **Kempski, H., Chalker, J., Chessells, J., et al.** (1999) An investigation of the t(12;21) rearrangement in children with B-precursor acute lymphoblastic leukaemia using cytogenetic and molecular methods. *British Journal of Haematology*, 105, 684–689.
- [36] **Forestier E, Heymann M, Andersen MK, et al.** Outcome of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia in the NOPHO-ALL-1992 protocol: frequent late relapses but good overall survival. *British Journal of Haematology*, 2008; 140:665-672
- [37] **Amare Kadam PS, Raje GC, Pais AP, Banavali S.** Coexistence of ETV6/RUNX1 and MLL aberrations in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia discloses a small subclass of BCP-ALL. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 2008;182:27-32
- [38] **Kees UR, Burton PR, Lu C, Baker DL.** Homozygous deletion of the p16/MTS1 gene in pediatric acute lymphoblastic leukemia is associated with unfavorable clinical outcome. *Blood* 1997;89:4161-6.
- [39] **Papaemmanuil E, Rapado I, Li Y, Potter NE, et al.** RAG-mediated recombination is the predominant driver of oncogenic rearrangement in ETV6-RUNX1 acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet.* 2014;46:116–25
- [40] **Peter A, Heiden T, Taube T, et al.** Interphase FISH on TEL/AML1 positive acute lymphoblastic leukemia relapses--analysis of clinical relevance of additional TEL and AML1 copy number changes. *Eur J Haematol.* 2009;83:420–32
- [41] **Parker H, An Q, Barber K, Case M, et al.** The complex genomic profile of ETV6-RUNX1 positive acute lymphoblastic leukemia highlights a recurrent deletion of TBL1XR1. *Genes Chromosomes Cancer.* 2008;47:1118–25
- [42] **Lilljebjorn H, Sonesson C, Andersson A, et al.** The correlation pattern of acquired copy number changes in 164 ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemias. *Hum Mol Genet.* 2010;19:3150–8

- [43] **Ellinghaus E, Stanulla M, Richter G, et al.** Identification of germline susceptibility loci in ETV6-RUNX1-rearranged childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2012;26:902–9
- [44] **Kantner HP, Warsch W, Delogu A, et al.** ETV6/RUNX1 induces reactive oxygen species and drives the accumulation of DNA damage in B cells. *Neoplasia*. 2013;15:1292–300
- [45] **Swaminathan S, Müschen M.** Infectious origins of childhood leukemia. *Oncotarget*. 2015 Jul 10;6(19):16798-9
- [46] **Shurtleff, S.A., Buijs, A., Behm, et al.** (1995) TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. *Leukemia*, 9, 1985–1989.
- [47] **Avigad, S., Kuperstein, G., Zilberstein, J., et al.** (1999) TEL-AML1 fusion transcript designates a favorable outcome with an intensified protocol in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 13, 481–483.
- [48] **Borkhardt, A., Cazzaniga, G., Viehmann, S., et al.** (1997) Incidence and clinical relevance of TEL/AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. *Blood*, 90, 571–577.
- [49] **Jamil, A., Theil, K.S., Kahwash, S., et al.** (2000) TEL/AML-1 fusion gene: its frequency and prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 122, 73–78.
- [50] **Maloney, K.W., McGavran, L., Murphy, J.R., et al.** (1999) TEL-AML1 fusion identifies a subset of children with standard risk acute lymphoblastic leukemia who have an excellent prognosis when treated with therapy that includes a single delayed intensification. *Leukemia*, 13, 1708–1712.
- [51] **Uckun, F.M., Pallisgaard, N., Hokland, P., et al.** (2001) Expression of TELAML1 fusion transcripts and response to induction therapy in standard risk acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia and Lymphoma*, 42, 41–56.
- [52] **Loh, M.L., Goldwasser, M.A., Silverman, L.B., et al.** (2006) Prospective analysis of TEL/AML1-positive patients treated on Dana-Farber Cancer Institute Consortium Protocol 95-01. *Blood*, 107, 4508–4513.

- [53] **Bhojwani D, Pei D, Sandlund JT, et al.** ETV6-RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy. *Leukemia*, 2012; 26: 265-270
- [54] **Papadimitriou SI, Polychronopoulou S, Tsakiridou AA, et al.** P16 inactivation associated with aggressive clinical course and fatal outcome in TEL-AML1-positive acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2005 Dec;27(12):675-7.
- [55] **Lanza, C., Volpe, G., Basso, G., et al.** (1997) Outcome and lineage involvement in t(12;21) childhood acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 97, 460–462.
- [56] **Takahashi, Y., Horibe, K., Kiyoi, H., et al.** (1998) Prognostic significance of TEL/AML1 fusion transcript in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 20,190–195.
- [57] **Codrington, R., O'Connor, H.E., Jalali, G.R., et al.** (2000) Analysis of ETV6/AML1 abnormalities in acute lymphoblastic leukaemia: incidence, alternative spliced forms and minimal residual disease value. *British Journal of Haematology*, 111, 1071–1079.
- [58] **Hann, I., Vora, A., Harrison, G., et al.** (2001) Determinants of outcome after intensified therapy of childhood lymphoblastic leukaemia: results from Medical Research Council United Kingdom acute lymphoblastic leukaemia XI protocol. *British Journal of Haematology*, 113, 103–114.
- [59] **Hubeek, I., Ramakers-van Woerden, N.L., Pieters, R., et al.** (2001) TEL/AML1 fusion is not a prognostic factor in Dutch childhood acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 113, 254–255.
- [60] **Pajor, L., Lacza, A., Jakso, P. & Kajtar, B.** (2001) Characteristics of TEL/AML-1 positive acute lymphoblastic leukemia in Hungarian children. *Medical and Pediatric Oncology*, 37, 409–411.
- [61] **Rubnitz JE, Wichlan D, Devidas M, et al.** Prospective analysis of TEL gene rearrangements in childhood acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2186–2191.
- [62] **Karrman K, Forestier E, Andersen MK, et al.** High incidence of the ETV6/RUNX1 fusion gene in paediatric precursor B-cell acute lymphoblastic leukemias with trisomy 21 as the sole cytogenetic change: a Nordic series of cases diagnosed 1989-2005. *British Journal of Haematology* 2006;135:352-354

- [63] **Kuchinskaya E, Heyman M, Nordgren A, et al.** Interphase fluorescent in situ hybridization deletion analysis of the 9p21 region and prognosis in childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL): results from a prospective analysis of 519 Nordic patients treated according to the NOPHO-ALL 2000 protocol. *British Journal of Hematology*, 152(5): 615-622, 2011
- [64] **Mirebeau D, Acquaviva C, Suciú S, et al.** The prognostic significance of CDKN2A, CDKN2B and MTAP inactivation in B-lineage acute lymphoblastic leukemia of childhood. Results of the EORTC studies 58881 and 58951 *Haematologica* 2006; 91:881-885, 2006
- [65] **Nomdedeu JF, Badell I, Estivill C, et al.** TEL rearrangements in acute lymphoblastic leukemia: association with p16 deletions in relapsed cases. *Haematologica* 2001;86:547-548
- [66] **Moorman AV, Enshaei A, Schwab C, et al.** A novel integrated cytogenetic and genomic classification refines risk stratification in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2014 Aug 28;124(9):1434-44
- [67] **Nakao, M., Yokota, S., Horiike, S., et al.** (1996) Detection and quantification of TEL/AML1 fusion transcripts by polymerase chain reaction in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 10, 1463–1470.
- [68] **Harbott, J., Viehmann, S., Borkhardt, A., et al.** (1997) Incidence of TEL/AML1 fusion gene analyzed consecutively in children with acute lymphoblastic leukemia in relapse. *Blood*, 90, 4933–4937.
- [69] **Seeger, K., Kreuzer, K.-A., Lass, U., et al.** (2001) Molecular quantification of response to therapy and remission status in TEL-AML1-positive childhood ALL by real-time reverse transcription polymerase chain reaction. *Cancer Research*, 61, 2517–2522.
- [70] **Tsang, K.S., Li, C.K., Chik, K.W., et al.** (2001) TEL/AML1 rearrangement and the prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukemia in Hong Kong. *American Journal of Hematology*, 68, 91–98.
- [71] **Rubnitz, J.E., Behm, F.G., Wichlan, D., et al.** (1999) Low frequency of TELAML1 in relapsed acute lymphoblastic leukemia supports a favourable prognosis for this genetic subgroup. *Leukemia*, 13, 19–21.
- [72] **Zuna, J., Hrusak, O., Kalinova', M., et al.** (1999) Significantly lower relapse rate for TEL/AML1-positive ALL. *Leukemia*, 13, 1633.

- [73] **Ford, A.M., Fasching, K., Panzer-Grumayer, E.R., et al.** (2001) Origins of “late” relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia with TEL-AML1 fusion genes. *Blood*, 98, 558–564.
- [74] **Endo, C., Oda, M., Nishiuchi, R. & Seino, Y.** (2003) Persistence of TEL-AML1 transcript in acute lymphoblastic leukemia in long-term remission. *Pediatrics International*, 45, 275–280.
- [75] **Konrad, M., Metzler, M., Panzer, S., et al.** (2003) Late relapses evolve from slow-responding subclones in t(12;21)-positive acute lymphoblastic leukemia: evidence for the persistence of a preleukemic clone. *Blood*, 101, 3635–3640.
- [76] **Peham, M., Konrad, M., Harbott, J., et al.** (2004) Clonal variation of the immunogenotype in relapsed ETV6/RUNX1-positive acute lymphoblastic leukemia indicates subclone formation during early stages of leukemia development. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 39, 156–160.
- [77] **Metzler, M., Mann, G., Monschein, U., et al.** (2006) Minimal residual disease analysis in children with t(12;21)-positive acute lymphoblastic leukemia: comparison of Ig/TCR rearrangements and the genomic fusion gene. *Haematologica*, 91, 683–686.
- [78] **Zuna, J., Ford, A.M., Peham, M., et al.** (2004) TEL deletion analysis supports a novel view of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Clinical Cancer Research*, 10, 5355–5360.
- [79] **van Delft FW, Horsley S, Colman S, et al.** Clonal origins in ETV6/RUNX1 acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2011; 117(23):6247-54
- [80] **Rothman R, Trakhtenbrot L, Bielorai B, et al.** Co-existence of multiple subclones in TEL/AML1 at diagnosis of acute lymphoblastic leukemia in association with submicroscopic deletion of AML1. *British Journal of Hematology* 2005;129:491-498
- [81] **Dae-Hyun Ko, Yongbum Jeon, Hyoung Jin Kang, et al.** Native ETV6 deletions accompanied by ETV6/RUNX1 rearrangements are associated with a favourable prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia: a candidate for a prognostic marker. *British Journal of Haematology*, 2011; 155:509-533
- [82] **Konrad M, Metzler M, Panzer S, et al.** Late relapses evolve from slow-responding subclones in t(12;21)-positive acute lymphoblastic leukemia: evidence for the persistence of a preleukemic clone. *Blood*. 2003;101:3635–40



- [83] **Riehm H, Schrappe M, Reiter A.** Trial ALL-BFM 95. Treatment protocol for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: A cooperative multicenter trial of the German Society for Pediatric Hematology and Oncology. 1995.
- [84] **ALL IC 2009 Trial of the I-BFM Study Group,** 2009
- [85] **Papadakis V, Panagiotou JP, Polychronopoulou-Androulakaki S, et al.** Results of childhood acute lymphoblastic leukemia treatment in Greek patients using a BFM-based protocol. *Haema* 2003; 6(2):208-21621.
- [86] **Möricke A, Reiter A, Zimmermann M, et al:** Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95. *Blood* 111:4477-4489, 2008
- [87] **Moorman AV, Ensor HM, Richards SM, et al.** Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol.* 11:429-38, 2010
- [88] **Ampatzidou M., Kelaidi C., Dworzak M.N., Polychronopoulou S.** Adolescents and young adults (AYAs) with acute lymphoblastic and acute myeloid leukemia. *MEMO-Magazine of European Medical Oncology* (2017). 11(1):47-53
- [89] **Papadimitriou SI, Paterakis G, Parcharidou A, et al.** TEL/AML1+ acute lymphoblastic leukemia in the Greek pediatric population. *Pediatrics* 2008;121;S111
- [90] **Kuster L, Grausenburger R, Fuka G, et al.** ETV6/RUNX1-positive relapses evolve from an ancestral clone and frequently acquire deletions of genes implicated in glucocorticoid signaling. *Blood* 2011; 117:2658-2667
- [91] **Madzo J, Zuna J, Muzicova K, et al.** Slower molecular response to treatment predicts poor outcome in patients with TEL/AML1 positive acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2003;97(1):105-113
- [92] **Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, et al.** Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 96:2691-2696, 2000
- [93] **Bruggemann M, Schrauder A, Raff T, et al.** Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18-20 September 2008. *Leukemia* 24:521-35, 2010

- [94] **Dworzak MN, Froschl G, Printz D, et al.** Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 99:1952-1958, 2002
- [95] **Basso G, Veltroni M, Valsecchi MG, et al.** Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. *J Clin Oncol* 27:5168-74, 2009
- [96] **Irving J, Matheson E, Minto L, et al.** Ras pathway mutations are prevalent in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia and confer sensitivity to MEK inhibition. *Blood* 2014; 124(23): 3420–3430
- [97] **Jerchel IS, Hoogkamer AQ, Ariës AQ, et al.** RAS pathway mutations as a predictive biomarker for treatment adaptation in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2017;1-10