



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**« ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗΣ ΝΕΑΣ ΓΕΝΙΑΣ ΣΤΗΝ
ΠΑΙΔΙΚΗ ΟΞΕΙΑ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ »**

ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΥΡΙΑΚΙΔΗΣ

Διευθυντής Παιδιατρικού Τμήματος 404 ΓΣΝ Λάρισας

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΑΣΠΑΣΙΑ ΤΣΕΖΟΥ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ, Επιβλέπουσα

ΚΩΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΔΗΜΑΣ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓ. ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ, Μέλος

ΒΑΡΒΑΡΑ ΤΡΑΧΑΝΑ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓ. ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2020



**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”**

**MASTER’S THESIS
« IMPLEMENTATION OF NEXT-GENERATION SEQUENCING METHODS
IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA »**

IOANNIS KYRIAKIDIS



ORCID iD: 0000-0002-8153-9643



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας τη συγγραφή της παρούσας Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους όσους συνέβαλαν στην εκπόνησή της και πρωτίστως στην επιβλέπουσά μου καθηγήτρια κα Ασπασία Τσέζου για την πολύτιμη βοήθειά της, την άμεση ανταπόκριση και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε. Επίσης, να ευχαριστήσω σύντροφο, οικογένεια, φίλους και το σκύλο μου που επέδειξαν το διάστημα αυτό αμέριστη αγάπη και μακροθυμία.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παιδική οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (πΟΛΛ) αποτελεί το συχνότερο καρκίνο της παιδικής ηλικίας και η επιβίωσή της με τα σύγχρονα χημειοθεραπευτικά πρωτόκολλα προσεγγίζει το 90%. Πρόσφατα, η υιοθέτηση γενετικών μεθόδων υψηλής διακριτικότητας με αλληλούχιση επόμενης γενιάς (next-generation sequencing ή NGS) βοήθησε πρωτίστως στην αναγνώριση των γενετικών βλαβών σε ολοένα και μεγαλύτερο μέρος των πασχόντων παιδιών και ώθησε την πενταετή επιβίωση άνω του 94%.

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας (Ιούλιος 2020) για τη συμβολή των τεχνικών NGS στην παιδική Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (πΟΛΛ).

Η πιο σημαντική συμβολή των NGS τεχνικών στην πΟΛΛ είναι η δυνατότητα που δόθηκε στην ανίχνευση γενετικών αλλαγών που ήταν άγνωστες μέχρι σήμερα με τις συμβατικές τεχνικές. Άξια αναφοράς είναι η ταυτοποίηση άγνωστων μέχρι πρότινος γονιδιακών συντήξεων, όπως αναδιατάξεων που εμπλέκουν τα γονίδια *ZNF384* και *MEF2D* και έχουν ενδιαμέση και πτωχή πρόγνωση αντίστοιχα. Επιπρόσθετα, η μελέτη συντήξεων στις περιπτώσεις πΟΛΛ που ομοιάζουν με αυτές που έχουν χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας έδωσε νέες θεραπευτικές επιλογές ανάλογα με την κινάση που υπερεκφράζεται κατά περίπτωση. Με τον τρόπο αυτό, η εξατομικευμένη αντιμετώπιση και στοχευμένη θεραπεία φάνηκε πως προσφέρει σημαντικά υψηλότερη επιβίωση. Παράλληλα, η μελέτη των μεταγραφικών προτύπων, των προτύπων της μεθυλίωσης, των microRNAs και των μακρών μη κωδικών μορίων RNA κατά τη διάγνωση, την ύφεση και κατά την υποτροπή της πΟΛΛ έδωσε σημαντικά στοιχεία, ώστε να αρχίσουμε να κατανοούμε τους μηχανισμούς λευχαιμογένεσης σε κάθε περίπτωση πΟΛΛ. Στο ίδιο πλαίσιο, η μελέτη της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου (minimal residual disease ή MRD) με τεχνικές NGS αναμένεται να φέρει επανάσταση στον τομέα της ανίχνευσης λευχαιμικών κλώνων ακόμα και όταν τα λευχαιμικά κύτταρα είναι ελάχιστα. Απόδειξη της συνεισφοράς των NGS τεχνικών στην πΟΛΛ αποτελεί η αναθεώρηση της κατάταξης των περιπτώσεων πΟΛΛ από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας και από το 2016 αποτελούν επίσημους υπότυπους της νόσου οι αναδιατάξεις του γονιδίου *KMT2A*, οι συντήξεις *ETV6-RUNX1*, *IL3-IGH* και *TCF3-PBX1* (πέραν της γνωστής *BCR-ABL1*) και η ενδοχρωμοσωμική ενίσχυση του χρωμοσώματος 21 *iAMP21*.

Η εφαρμογή των μεθόδων NGS στο πεδίο της φαρμακογενετικής της πΟΛΛ απέδειξαν πως συγκεκριμένα φαρμακογονίδια μπορούν να επηρεάζουν την απάντηση στη χημειοθεραπεία, αλλά και να σχετίζονται με άμεσες και απώτερες επιπλοκές. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ένταξη της φαρμακογενετικής στην κλινική πράξη, όπου φαίνεται να μειώνει περαιτέρω τη θνητότητα της πΟΛΛ κατά 1 – 3 %.

Η αξιοπιστία των νεότερων τεχνικών τρίτης γενιάς NGS σε συνδυασμό με τη δυνατότητα για μικρότερα μήκη ανάγνωσης, αλλά και τη μείωση του κόστους ανά δείγμα, καθιστούν την NGS εφαρμόσιμη στην κλινική πράξη και φέρνοντας την ιατρική ακριβείας στο επίκεντρο με εξατομίκευση στην αντιμετώπιση του κάθε περιστατικού πΟΛΛ.

Λέξεις – κλειδιά: οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, παιδική ηλικία, αλληλούχιση νέας γενιάς, αλληλούχιση υψηλής διακριτικότητας, φαρμακογενετική.

ABSTRACT

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common cancer of childhood and overall survival with current chemotherapy protocol accounts for 90%. Recently, implementation of high throughput genetic testing with next-generation sequencing (NGS) unraveled the genomic landscape in the vast majority of pediatric ALL cases and resulted in overall survival scores that exceed 94%.

Aim of the present Master thesis was to systematically review literature on NGS methods and their application in childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL).

The most important contribution of NGS methods in childhood ALL is the genetic characterization of genetic aberrations that remained unknown so far by using conventional methods. Identification of novel gene fusions, like those implicating *ZNF384* and *MEF2D* was extremely helpful in determining risk stratification, as they are presented with intermediate and poor prognosis correspondingly. Moreover, gene rearrangements that bear resemblance to Philadelphia chromosome (Ph-like) have been made treatable by identifying the responsible overexpressed kinases and by targeting them pharmacologically. In this context, personalized therapy and targeted treatment has shown significantly higher survival rates. In parallel, NGS studies of gene expression, transcriptome, methylation and epigenetic patterns, microRNAs and long non-coding RNAs at diagnosis, remission and relapse of childhood ALL have contributed in the understanding of leukemic clonal development. Minimal residual disease (MRD) investigation by NGS methods is being anticipated to bring a revolution in detecting leukemic cells even in the presence of a minimal fraction of blasts. The hallmark that highlighted the value of NGS in childhood ALL was the revision of the corresponding classification from World Health Organization in 2016 based on genetic background. New subtypes of the disease include *KMT2A* gene rearrangements, presence of *ETV6-RUNX1*, *IL3-IGH* and *TCF3-PBX1* fusion genes (apart from the well-established *BCR-ABL1* fusion) and the intrachromosomal amplification of chromosome 21 iAMP21.

Utilization of NGS methods in the field of pharmacogenetics in childhood ALL showed that specific genetic alterations can play a crucial role in treatment response and in the occurrence of immediate and long-term complications and comorbidities. Interestingly, application of pharmacogenetic testing in clinical practice has been reported to be responsible for a further 1 – 3% decrease in childhood ALL mortality.

Credibility and standardization of newer third generation NGS techniques along with the potential of managing much shorter read lengths and the notable drop of cost per investigated sample have made NGS accessible in clinical practice, and thus have brought precision medicine in the spotlight by personalized treatment options.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, childhood, next-generation sequencing, high throughput sequencing, pharmacogenetics.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Το γενετικό υπόβαθρο της πΟΛΛ	12
1.1 Ταξινόμηση της πΟΛΛ αναλόγως των γενετικών αλλαγών	12
1.2 Μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος και πΟΛΛ	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: NGS και εφαρμογές στην παιδική ΟΛΛ	29
2.1 Τι είναι η NGS	29
2.2 Μελέτες με NGS στην πΟΛΛ	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η συμβολή της NGS στην πΟΛΛ	40
3.1 NGS και γενετικός χαρακτηρισμός της πΟΛΛ	40
3.2 NGS και πιθανοί προγνωστικοί δείκτες στην πΟΛΛ	58
3.3 NGS και MRD στην πΟΛΛ	60
3.4 NGS και φαρμακογενωμική / φαρμακομεταγραφωμική στην πΟΛΛ	63
3.5 NGS και υποτροπή στην πΟΛΛ	77
3.6 NGS και διαλογή σε ειδικές ομάδες και στο γενικό πληθυσμό	81
3.7 Άλλες εφαρμογές της NGS στην πΟΛΛ	86
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	95
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	97
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΑΚΡΩΝΥΜΙΩΝ – ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ	109
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	138

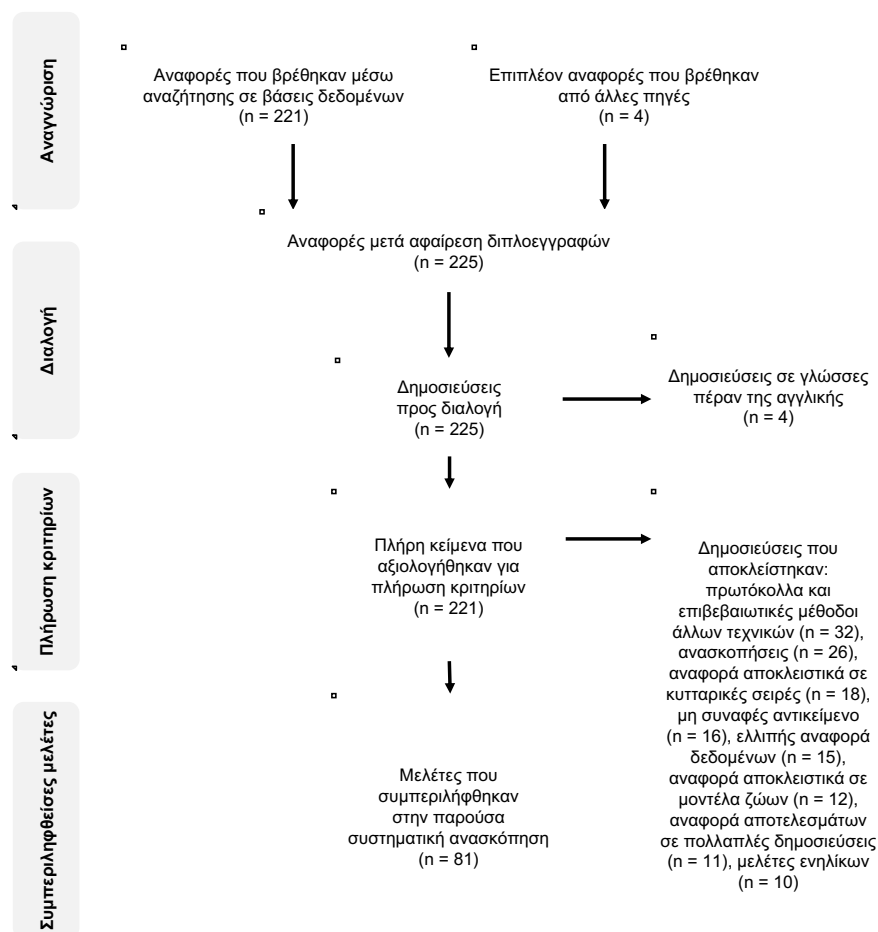
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παιδική οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (πΟΛΛ) αποτελεί το συχνότερο καρκίνο της παιδικής ηλικίας και η πενταετής επιβίωσή της προσεγγίζει το 90%, ενώ για τους εφήβους και τους νεαρούς ενήλικες (15 – 39 ετών ή AYA ALL) το ποσοστό αυτό κυμαίνεται από 75 – 85%. Η ΟΛΛ στους ενήλικες χαρακτηρίζεται από αρκετές βιολογικές διαφοροποιήσεις σε σχέση με την πΟΛΛ, αλλά και πενταετή επιβίωση που δεν ξεπερνά το 35 – 55% στους μεσήλικες και το 30% στους ενήλικες άνω των 60 ετών (Coccaro *et al.*, 2019). Η αρχή της νόσου έγκειται στην καρκινική εξαλλαγή των πρόδρομων Β - και Τ -κυττάρων της λεμφικής σειράς, ενώ σε μοριακή βάση εμπλέκονται χρωμοσωμικές μετατοπίσεις, μεταλλάξεις και ανευπλοειδίες σε γονίδια υπεύθυνα για τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και την ανάπτυξη των λεμφοκυττάρων (Hunger and Mullighan, 2015). Οι υπότυποι της Β-ΟΛΛ και Τ-ΟΛΛ φέρουν διακριτά μοτίβα γενωμικών αλλαγών και γονιδιακής έκφρασης και η ταυτοποίηση των τελευταίων ανέβασε τα τελευταία 60 χρόνια την επιβίωση από το 10% στο 90%. Παρόλα αυτά, το 20% των παιδιών με ΟΛΛ θα εμφανίσει υποτροπή της νόσου με εμφάνιση αντίστασης στη χημειοθεραπεία (ΧΜΘ), αποτυχία της θεραπείας και τελικά θα οδηγηθεί στο θάνατο. Οι σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις στην πΟΛΛ περιλαμβάνουν πληθώρα ΧΜΘ φαρμάκων, μονοκλωνικά αντισώματα και ανοσοτροποποιητές, ενώ στις περιπτώσεις με ανθεκτικότητα ή υποτροπή (R/R ALL) επιστρατεύεται η πρόσφατα εγκεκριμένη (Αύγουστος 2017) από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) ανοσοθεραπεία με χμαιοκίνα Τ κύτταρα που φέρουν υποδοχείς αντιγόνων (CAR-T), ενώ πριν από 3 χρόνια η μόνη επιλογή στις περιπτώσεις αυτές ήταν η μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (Terwilliger and Abdul-Hay, 2017).

Η γενετική ανάλυση αποτελεί το πιο ισχυρό διαγνωστικό εργαλείο, ώστε να αναγνωρίζονται οι γενωμικές αλλαγές και να εφαρμόζεται αυτή η γνώση τόσο σε επίπεδο διάγνωσης και καθορισμού κινδύνου, όσο και σε επίπεδο επιλογής της κατάλληλης θεραπείας. Με χαμηλής διακριτικότητας μεθόδους, όπως ο φθορίζων *in situ* υβριδισμός (FISH) μπορεί να γίνει ο καθορισμός μερικών υποτύπων της πΟΛΛ (σύντηξη *ETV6-RUNX1*, σύντηξη *TFPT-PBX1*, σύντηξη *BCR-ABL1* και συντήξεις *MLL*), αλλά η πρόσφατη βιβλιογραφία τείνει υπέρ της αλληλούχισης νέας γενιάς (NGS) που αποτελεί τεχνολογία αιχμής με υψηλή διακριτικότητα και μπορεί αφενός μεν να προσφέρει περισσότερες γνώσεις ως προς την κατανόηση της παθολογίας της

πΟΛΛ, αφετέρου δε να παρέχει με περισσότερη ακρίβεια και ταχύτητα το γενετικό προφίλ της νόσου, βοηθώντας τόσο στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας, όσο και στην παρακολούθηση της πορείας της νόσου μέσω του προσδιορισμού της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου ή MRD (Coccaro *et al.*, 2019).

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία διενεργήθηκε μια συστηματική ανασκόπηση ακολουθώντας τις κατευθυντήριες οδηγίες PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) μέσω των βάσεων δεδομένων PubMed/MEDLINE και Cochrane Library (Ιούλιος 2020, Εικόνα 1, Στρατηγική Αναζήτησης στο Παράρτημα) για την εφαρμογή τεχνικών NGS στην πΟΛΛ. Τα αποτελέσματα της ανασκόπησης της βιβλιογραφίας θα παρουσιαστούν κατηγοριοποιημένα στο Κεφάλαιο 2, ενώ σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι η ανάδειξη του ρόλου της αλληλούχισης νέας γενιάς (NGS) στην πΟΛΛ.



Εικόνα 1. Διάγραμμα ροής της συστηματικής ανασκόπησης της βιβλιογραφίας σύμφωνα με τις οδηγίες PRISMA.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Το γενετικό υπόβαθρο της πΟΛΛ

1.1 Ταξινόμηση της πΟΛΛ αναλόγως των γενετικών αλλαγών

Με τα σημερινά δεδομένα, ο προσδιορισμός της ομάδας κινδύνου της πΟΛΛ κι ο αλγόριθμος της θεραπείας βασίζονται σε παραμέτρους όπως η ηλικία εμφάνισης, το φύλο, ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων στο περιφερικό αίμα κατά τη διάγνωση, συγκεκριμένες κυτταρογενετικές αλλαγές (βασιζόμενες σε καρύοτυπο από μυελό των οστών και FISH για εντοπισμό συγκεκριμένων συντήξεων) και τη μέτρηση της MRD (Roberts, 2018). Την τελευταία δεκαετία, όμως, η αλληλούχιση του DNA και η περαιτέρω μελέτη (ποσοτικοποίηση γονιδιακής έκφρασης, ανάλυση των παραλλαγών αριθμού αντιγράφων DNA, διερεύνηση επιγενετικών αλλαγών, ο προσδιορισμός αλλαγών σε μη κωδικά μόρια και μελέτες φαρμακογενετικής) μεγάλων δειγμάτων ασθενών με πΟΛΛ έφερε επαναστατικές αλλαγές ως προς την κατανόηση της γενετικής βάσης της νόσου με ταυτόχρονο καθορισμό υποτύπων, την αναγνώριση απορρυθμισμένων σηματοδοτικών οδών και τον καθορισμό νέων θεραπευτικών στόχων, βελτιώνοντας τις στρατηγικές θεραπείας και τελικά την επιβίωση (Hunger and Mullighan, 2015; Roberts, 2018). Στον Πίνακα 1 καταγράφονται οι υπότυποι της ΟΛΛ με τις γενωμικές αλλαγές που παρατηρούνται κατά περίπτωση και τη μέση ηλικία διάγνωσης κάθε υπότυπου με τα κλινικά χαρακτηριστικά του. Επιπρόσθετα, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) κατανοώντας τη συμβολή του γενετικού υπόβαθρου στη θεραπεία της ΟΛΛ κατάρτισε ένα νέο σύστημα ταξινόμησης (Πίνακας 2) που περιλαμβάνει τις παρατηρούμενες γενετικές τροποποιήσεις (Arber *et al.*, 2016).

Πίνακας 1. Υπότυποι ΟΛΛ ανάλογα με το γενετικό τους υπόβαθρο.

M/Δ = μη διαθέσιμα δεδομένα. Προσαρμοσμένος από Hunger & Mullighan (2015), Roberts (2018) και Malard & Mohty (2020).

Υπότυπος ΟΛΛ	Γενωμικές αλλαγές	Μέση ηλικία διάγνωσης (έτη)	Κλινικά χαρακτηριστικά
B-ΟΛΛ			
Ανευπλοειδίες			

Υπερδιπλοειδία (> 50 χρωμοσώματα)	RTK-Ras σηματοδοτικό μονοπάτι, επιγενετικοί τροποποιητές ιστονών	4	Εξαιρετική πρόγνωση, υψηλής συχνότητας στα παιδιά (20 – 30 %)
Χαμηλή υποδιπλοειδία (32 – 39 χρωμοσώματα)	Διαγραφή του <i>IKZF2</i> , μετάλλαξη του <i>TP53</i> ή του <i>RBI</i>	47	Εξαιρετικά πτωχή πρόγνωση, υψηλής συχνότητας στους ενήλικες, < 1% πΟΛΛ
Σχετική απλοειδία (24 – 31 χρωμοσώματα)	Ενεργοποίηση Ras σηματοδοτικού μονοπατιού, διαγραφή του <i>IKZF3</i>	5	Πτωχής πρόγνωσης, 2% στην πΟΛΛ
Αύξηση αριθμού αντιγράφων DNA			
iAMP21	Περίπλοκες δομικές ανωμαλίες στο χρωμόσωμα 21, σπάνια συσχετισμη με Robertsonian μετάθεση rob(15;21)(q10;q10)c	10	Καλής πρόγνωσης με εντατική θεραπεία, χαμηλά λευκά αιμοσφαίρια, αφορά στο 2% πΟΛΛ, πτωχή πρόγνωση για τη Robertsonian μετάθεση
Αναδιάταξη μεταγραφικών παραγόντων (ΜΠ)			
<i>ETV6-RUNX1</i> t(12;21)(p13;q22)	Διαγραφή του <i>PAX5</i> , μετάλλαξη του <i>WHSC1</i>	4	Εξαιρετική πρόγνωση, υψηλής συχνότητας στα παιδιά (15 – 30%)
<i>ETV6-RUNX1</i> ομοιάζουσα ΟΛΛ	Συντήξεις ή διαγραφή του <i>ETV6</i> , συντήξεις ή διαγραφή του <i>IKZF1</i>	3	Άγνωστης πρόγνωσης, αφορά στο 3% πΟΛΛ
Αναδιάταξη του <i>DUX4</i> ή ΟΛΛ με δυσλειτουργικό <i>ERG</i>	Διαγραφή του <i>ERG</i> , διαγραφή του <i>IKZF1</i> , Ras σηματοδοτικό μονοπάτι, υπερέκφραση <i>DUX4</i>	14	Εξαιρετική πρόγνωση, συχνότερη σε ΑYA, στο 5 – 10% πΟΛΛ, στο 40% συνύπαρξη μεταλλάξεων <i>IKZF1</i>
<i>KMT2A-AFF1</i> ή <i>MLL-AF4</i> t(4;11)(q21;q23)	PI3K-Ras σηματοδοτικό μονοπάτι (συνήθως όχι σε όλους του κλώνους)	40	Πτωχή πρόγνωση, ευαίσθητη σε θεραπεία με μπορτεζομίμη (bortezomib) ή αναστολή της DOT1L, υψηλής συχνότητας σε βρέφη (80 – 90%) και ενήλικες (15%)
<i>TCF3-PBX1</i> t(1;19)(q23;p13)	Άγνωστος μηχανισμός	8	Καλή πρόγνωση, συνδέεται με υποτροπή σε ΚΝΣ, στο 2 – 6% πΟΛΛ, σπάνια σε ενήλικες, αυξημένη επίπτωση σε Αφροαμερικάνους
Αναδιάταξη του <i>ZNF384</i>	Επιγενετικοί τροποποιητές, Ras σηματοδοτικό μονοπάτι, αναδιάταξη <i>ZNF384</i> με μεταγραφικό ρυθμιστή ή τροποποιητή χρωματίνης (<i>EP300</i> , <i>CREBBP</i> , <i>TAF15</i> , <i>SYNRG</i> , <i>EWSR1</i> , <i>TCF3</i> , <i>ARID1B</i> , <i>BMP2K</i> ή <i>SMARCA2</i>)	15	Ενδιάμεσης πρόγνωσης, κορύφωση συχνότητας σε ΑYA, 5% πΟΛΛ
Αναδιάταξη του <i>MEF2D</i>	Ras σηματοδοτικό μονοπάτι, σύντηξη του <i>MEF2D</i> με <i>BCL9</i> (πιο συχνά), <i>HNRNPUL1</i> , <i>SS18</i> , <i>FOXJ2</i> , <i>CSF1R</i> ή <i>DAZAP1</i>	14	Πτωχής πρόγνωσης, ευαίσθητη σε αναστολή των HDAC, συχνότερα σε ΑYA, 4% πΟΛΛ
Αναδιάταξη του <i>NUTM1</i> και σύντηξη με άλλα γονίδια	Άγνωστος μηχανισμός	3	Εξαιρετικής πρόγνωσης, αποκλειστικά σε παιδιά (1%)
<i>TCF3-HLF</i> t(17;19)(q22;p13)	Μετάλλαξη του <i>TCF3</i> , διαγραφή του <i>PAX5</i> , Ras σηματοδοτικό μονοπάτι	15	Πτωχή πρόγνωση, ευαίσθητη σε αναστολή της Bcl2, πολύ σπάνια σε όλες τις ηλικίες (<1%)
Καθοδηγούμενες από άλλες διαταραχές ΜΠ			

PAX5alt	Σύντηξη ή μετάλλαξη ή ενίσχυση του PAX5	10	Ενδιάμεσης πρόγνωσης, υψηλής συχνότητας στα παιδιά (11%)
PAX5 P80R	Αλλαγές σηματοδότησης	22	Άγνωστης πρόγνωσης, πιο συχνή στους ενήλικες
Αναδιάταξη PAX	Συνήθως από δικεντρικά χρωμοσώματα dic(7;9), dic(9;12), and dic(9;20)	M/Δ	Άγνωστης πρόγνωσης, στο 2% πΟΛΛ
Αναδιάταξη BCL2/MYC	Άγνωστος μηχανισμός	48	Πτωχής πρόγνωσης, σχεδόν αποκλειστικά σε ΑYA και ενήλικες
Αναδιάταξη MYC με t(8;14)(q24;q32) ή t(2;8)(q12;q24) ή t(2;8)(q12;q24)	Άγνωστος μηχανισμός	M/Δ	Καλή πρόγνωση με σύντομη διάρκεια και υψηλής δόσης ΧΜΘ, στο 2% πΟΛΛ
Καθοδηγούμενες από κινάσες			
Ph-ομοιάζουσα	Πολλαπλές αλλαγές σε κινάσες, διαγραφή και μετάλλαξη του IKZF1, διαγραφή του CDKN2A/B. Αναδιάταξη σε CRLF2 (50%), γονίδια τυροσινικών κινασών ABL τάξης (12%) ή JAK2 (10%), μεταλλάξεις στο EPOR (3 – 10%), μεταλλάξεις που ενεργοποιούν τη JAK-STAT (10%) ή τη Ras (2 – 8%) σηματοδοτική οδό	21	Πτωχής πρόγνωσης, επιδέχεται TKI θεραπείας, υψηλής συχνότητας σε ΑYA (25 – 30%), αλλά και σε 10 – 15% πΟΛΛ
BCR-ABL1 t(9;22)(q34;q11.2)	Διαγραφή και μετάλλαξη του IKZF1, διαγραφές στα CDKN2A/B και PAX5	40 – 45	Πτωχής πρόγνωσης, βελτίωση με TKI θεραπεία, 2 – 5% στα παιδιά – υψηλότερης συχνότητας στους ενήλικες (40 – 50%)
Αναδιάταξη CRLF2 με προϊόν IGH-CRLF2 ή P2RY8-CRLF2	Διαγραφή και μετάλλαξη του IKZF1, μετάλλαξη των JAK1/2	M/Δ	Κοινή σε ΟΛΛ συνδρόμου Down και σε Ph-ομοιάζουσα πΟΛΛ (50% σε κάθε κατηγορία), πτωχή πρόγνωση όταν δε συνοδεύεται από σύνδρομο Down, στο 5 – 7% πΟΛΛ
Γενετικά αταξινόμητες B-ΟΛΛ			
Άλλες ΟΛΛ	Άγνωστος μηχανισμός	16	Ενδιάμεσης πρόγνωσης, 5% στα παιδιά – 10% σε ΑYA και ενήλικες
T-ΟΛΛ			
Δυσλειτουργικό TAL1	Μεταθέσεις t(1;7)(p32;q35) και t(1;14)(p32;q11) ή διαγραφή εντός του 1p32	Γενικά καλής πρόγνωσης, επιπολασμός 15 – 18%	
Δυσλειτουργικό LMO2	Μετάθεση t(11;14)(p15;q11) ή 5' διαγραφή στο LMO2	Γενικά καλής πρόγνωσης, επιπολασμός 10%	
Δυσλειτουργικό TLX1 (ή HOX11)	Μετάθεση t(10;14)(q24;q11) ή t(7;10)(q35;q24)	Καλής πρόγνωσης, επιπολασμός 7%	
Δυσλειτουργικό TLX3 (ή HOX11L2)	Μετάθεση t(5;14)(q35;q32), συνήθως σύντηξη με BCL11B, διαγραφή και μετάλλαξη TLX3	Πτωχής πρόγνωσης, επιπολασμός 20%	

<i>PICALM-MLLT10</i> ή <i>CALM-AF10</i>	Μετάθεση t(10;11)(p13;q14)	Περισσότερο πτωχής πρόγνωσης, επιπολασμός 10%
<i>MLL-MLLT1</i> ή <i>MLL-ENL</i>	Μετάθεση t(11;19)(q23;p13.3)	Καλύτερη πρόγνωση από τις λοιπές λευχαιμίες αναδιάταξης του <i>MLL</i> , επιπολασμός 2 – 3%
<i>NUP214-ABL1</i>	Ενίσχυση του 9q34	Επιδέχεται θεραπείας με TKI, ανευρίσκεται και σε υψηλού κινδύνου Β-ΟΛΛ, επιπολασμός 6%
Συντήξεις κινασών	<i>EML1-ABL1</i> , <i>ETV6-JAK2</i> και <i>ETV6-ABL1</i>	Επιδέχονται θεραπείας με TKI, μικρός επιπολασμός
Αναδιάταξη <i>NOTCH1</i>	Μετάθεση t(7;9)(q34;q34)	Επιπολασμός < 1%
Πρώιμη ΟΛΛ από πρόδρομα Τ-κύτταρα	Γενετική ετερογένεια με μεταλλάξεις σε ρυθμιστές αιμοποίησης, κυτοκίνες, επιγενετικούς τροποποιητές και στη Ras σηματοδοτική οδό	Ανώριμος ανοσοφαινότυπος, έκφραση μυελικών και βλαστοκυτταρικών δεικτών, γενικά πτωχής πρόγνωσης, επιπολασμός 10 – 15%

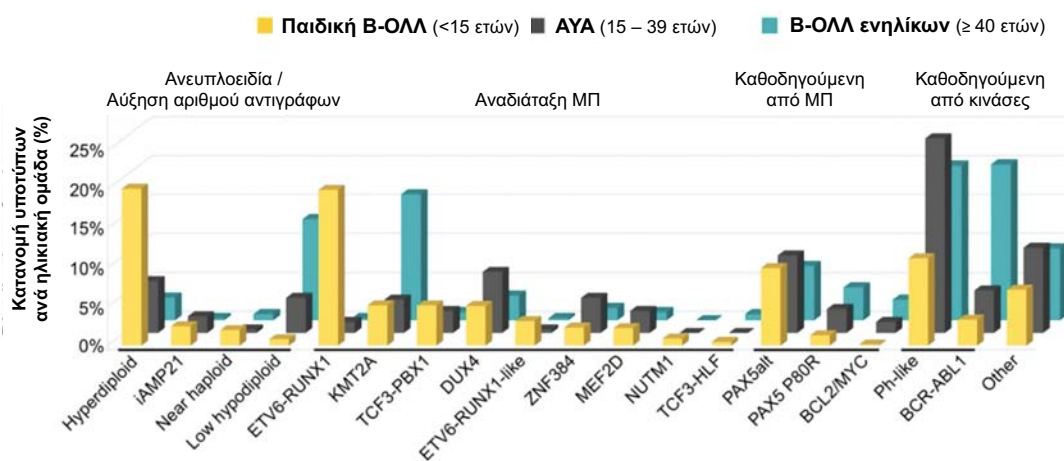
Πίνακας 2. Υπότυποι ΟΛΛ σύμφωνα με τον WHO.

Προσαρμοσμένος από Arber et al. (2016).

B-ΟΛΛ
B-ΟΛΛ, αταξινόμητη (NOS)
B-ΟΛΛ με επαναλαμβανόμενες γενετικές ανωμαλίες
B-ΟΛΛ με t(9;22)(q34.1;q11.2) μετάθεση ή <i>BCR-ABL1</i>
B-ΟΛΛ με t(v;11q23.3) ή αναδιάταξη <i>KMT2A</i>
B-ΟΛΛ με t(12;21)(p13.2;q22.1) μετάθεση ή <i>ETV6-RUNX1</i>
B-ΟΛΛ με υπερδιπλοειδία
B-ΟΛΛ με υποδιπλοειδία
B-ΟΛΛ με t(5;14)(q31.1;q32.3) μετάθεση ή <i>IL3-IGH</i>
B-ΟΛΛ με t(1;19)(q23;p13.3) μετάθεση ή <i>TCF3-PBX1</i>
B-ΟΛΛ BCR-ABL1-ομοιάζουσα
B-ΟΛΛ με iAMP21
T-ΟΛΛ
Πρώιμη λεμφοβλαστική λευχαιμία από πρόδρομα Τ-κύτταρα
T-ΟΛΛ από κύτταρα φυσικούς φονείς (NK)

Η ανευπλοειδία είναι ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της πΟΛΛ, ενώ οι χρωμοσωμικές αναδιατάξεις αφορούν επίσης σε ένα μεγάλο μέρος των ασθενών με πΟΛΛ (Hunger and Mullighan, 2015). Η υπερδιπλοειδία (> 50 χρωμοσώματα) αφορά στο 25 – 30% της παιδικής Β-ΟΛΛ και έχει εξαιρετική πρόγνωση, ενώ η υποδιπλοειδία

με > 44 χρωμοσώματα είναι σπανιότερη (2 – 3%) και σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση. Η υπερδιπλοειδία σχετίζεται με μεταλλάξεις στη Ras σηματοδοτική οδό (*KRAS*, *NRAS* και *PTPN11*), αλλά και με επιγενετικές τροποποιήσεις. Η υποδιπλοειδία έχει δύο υπότυπους με ξεχωριστά μεταγραφικά χαρακτηριστικά και γενετικές αλλαγές: [α] οι ασθενείς με χαμηλή υποδιπλοειδία (30 – 39 χρωμοσώματα) φέρουν διαγραφές του *IKZF2* και μεταλλάξεις στο *TP53*, αλλαγές που συχνά κληρονομούνται, εμφανίζεται εξαιρετικά σπάνια στα παιδιά (< 1%), ενώ αυξάνεται δραματικά με την ηλικία κι εμφανίζεται στο 5% των ΑYA ALL και στο 10% της Β-ΟΛΛ των ενηλίκων, σχετιζόμενη με πολύ πτωχή πρόγνωση, [β] οι ασθενείς με σχετική απλοειδία (24 – 30 χρωμοσώματα) αφορούν στο 2% των παιδιών με Β-ΟΛΛ, < 1% των περιπτώσεων Β-ΟΛΛ σε ΑYA και ενήλικες, ενώ χαρακτηρίζονται από Ras-ενεργοποιητικές μεταλλάξεις και αλλαγές στο γονίδιο *IKZF3*. Πολύ σημαντικό είναι να αναγνωριστεί η συγκεκριμένη υποδιπλοειδία, η οποία προκύπτει συχνά μετά από διπλασιασμό του υποδιπλοειδικού κλώνου στις αντίστοιχες πΟΛΛ, οδηγώντας σε αριθμό χρωμοσωμάτων στο φάσμα της υπερδιπλοειδίας -γεγονός που πρέπει να αποσαφηνιστεί για τη σωστή διαστρωματοποίηση του κινδύνου και τη μη ένταξη του περιστατικού σε καλής πρόγνωσης (Hunger and Mullighan, 2015; Roberts, 2018). Στην Εικόνα 2 γίνεται κατανοητή η διαφορά που υπάρχει στην κατανομή των περιπτώσεων Β-ΟΛΛ αναλόγως ηλικιακής ομάδας και γενετικής αιτιολογικής αρχής, επιβάλλοντας την εξατομίκευση στην αντιμετώπιση.



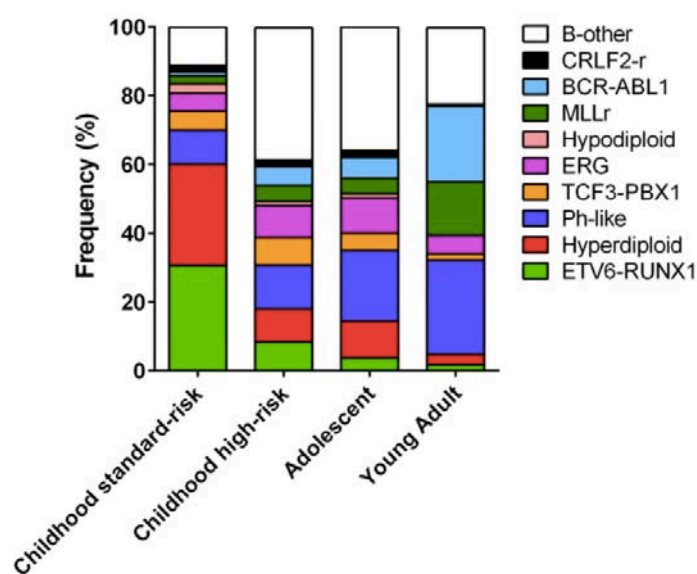
Εικόνα 2. Κατανομή υποτύπων της Β-ΟΛΛ αναλόγως ηλικιακής ομάδας και αρχής.

ΜΠ = μεταγραφικός παράγοντας. Προσαρμοσμένη από Roberts (2018).

Στην κατηγορία των παραλλαγών αντιγράφων DNA (copy number variations ή CNVs), η χρωμοσωμική ενίσχυση του χρωμοσώματος 21 είναι η μόνη που απαντάται στην πΟΛΛ και μάλιστα η επίπτωσή της αυξάνεται με την ηλικία, με μέση ηλικία εμφάνισης τα 10 έτη, ενώ παρατηρείται σπάνια σε ασθενείς με ΟΛΛ άνω των 30 ετών. Ο εντοπισμός των περιπτώσεων αυτών με κατηγοριοποίηση ως υψηλού κινδύνου και η εφαρμογή εντατικής ΧΜΘ φαίνεται ότι βελτίωσε σημαντικά την πρόγνωση της νόσου (Roberts, 2018). Ανάλυση του αριθμού αντιγράφων DNA με τη μέθοδο του συγκριτικού γενωμικού υβριδισμού σε μικροσυστοιχίες (aCGH) σε μια μελέτη με ασθενείς με πΟΛΛ συσχέτισε τις απώλειες στο 14q32.33 ($p = 0.019$) και στο 15q13.2 ($p = 0.04$) με μικρότερα ποσοστά επιβίωσης, ενώ η αύξηση του 1p36.11 φαίνεται ότι αποτελεί προγνωστικό δείκτη που συσχετίζεται με χειρότερους δείκτες επιβίωσης ανεξάρτητα από τα κυτταρογενετικά ευρήματα υψηλού ή χαμηλού κινδύνου (Forero-Castro *et al.*, 2016). Σύμφωνα με την προηγούμενη μελέτη γίνεται αντιληπτός ο ρόλος της επιγενετικής στην εμφάνιση της πΟΛΛ, καθώς [α] μικροελλείμματα στο 14q32 απαλείφουν πολλά miRNA και η μειωμένη έκφραση των τελευταίων οδηγεί σε αλλαγή των επιπέδων έκφρασης γονιδίων που ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση των Β-λεμφοκυττάρων, όπως του *BCL11A*, ενός μεταγραφικού παράγοντα που προηγείται των μεταγραφικών παραγόντων *EBF1* και *PAX5*, [β] στο 15q13 εδράζεται το γονίδιο *TJPI*, στο οποίο έχει παρατηρηθεί υπερμεθυλίωση του υποκινητή του σε νεοδιαγνωσθείσες ή υποτροπιάζουσες ΟΛΛ (Forero-Castro *et al.*, 2016). Οι CNVs που έχουν αναγνωριστεί στην πΟΛΛ περιλαμβάνουν γονίδια που εμπλέκονται στη μεταγραφή, στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και στη διαφοροποίηση των Β-κυττάρων όπως τα *CDKN2A/B*, *IKZF1*, *ETV6*, *EBF1*, *PAX5*, *BTG1* και *PAR1*. Επιπλέον, σε μια πρόσφατη μελέτη CNVs στην πΟΛΛ βρέθηκε ότι η διαγραφή του *DMBT1* σχετίζεται με χρωμοσωμικές μεταθέσεις και ογκοκατασταλτική δράση, ενώ τα *KIAA0125* (lncRNA του *FAM30A*) και *PRDM16* πιθανώς δρουν ως ογκογονίδια, παρόλο που παρουσιάζουν παράδοξη συμπεριφορά στην καρκινογένεση, δεδομένα που προκρίνουν τη χρήση aCGH για τον καθορισμό της ομάδας κινδύνου της πΟΛΛ (Batista-Gomes *et al.*, 2020). Αύξηση στον αριθμό των αντιγράφων *RUNX1* και *TGFB2* και απώλειες στα *CDKN2A/B*, *PAX5*, *ETV6*, *MIR16-1*, *STK11*, *ETV1*, *PRDM1*, *FOXO3*, *EPHA7*, *IKZF1*, *PTPN1*, *BTG1* και *CBLB* σχετίστηκαν με Β-ΟΛΛ σε παιδιά από την Κίνα (Liu *et al.*, 2016).

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 3, οι χρωμοσωμικές μεταθέσεις που οδηγούν σε χιμαιρικά γονίδια σύντηξης απαντώνται συχνά στην πΟΛΛ και μάλιστα σε μεγαλύτερη

συχνότητα σε σχέση με τις περιπτώσεις AYA ALL και ΟΛΛ ενηλίκων, ενώ αφορούν συνήθως μεταγραφικούς παράγοντες της αιμοποίησης, επιγενετικούς τροποποιητές, υποδοχείς κυτοκινών και τυροσινικές κινάσες (Hunger and Mullighan, 2015). Η σύντηξη *ETV6-RUNX1* (παλαιότερα γνωστή ως *TEL-AML1*) που προέρχεται από τη μετάθεση $t(12;21)(p13;q22)$ και προκαλεί συνήθως είτε διαγραφή του *PAX5*, είτε μετάλλαξη στο *WHSC1* αποτελεί δείκτη καλής πρόγνωσης για ΟΛΛ με μεγάλη επίπτωση στα παιδιά (25%) και πολύ μικρή παρουσία (< 5%) σε AYA ALL και ενήλικες (Roberts, 2018). Η διφασική ηλικιακή κατανομή στην ανακατάταξη του *KMT2A* (γνωστό και ως *MLL*) στο 11q23 παρουσιάζει ενδιαφέρον, καθώς συναντάται κυρίως σε βρέφη κάτω του έτους με πτωχή πρόγνωση και η συχνότητά της κορυφώνεται ξανά στους ενήλικες άνω των 40 ετών (Roberts, 2018). Ενδιαφέρον παρουσιάζουν και οι μεταθέσεις που εμπλέκουν τον TCF3. Η σύντηξη *TCF3-PBX1* (παλαιότερη γνωστή ως *E2A-PBX1*) είναι προϊόν της μετάθεσης $t(1;19)(q23;p13)$ και είναι παρούσα στο 5% των ασθενών με πΟΛΛ, η συχνότητά της φθίνει με την ηλικία και έχει πλέον καλή πρόγνωση. Αντίθετα, η σύντηξη *TCF3-HLF* που αποτελεί προϊόν της μετάθεσης $t(17;19)(q22;p13)$ και σχετίζεται με διαγραφές των *PAX5* και *VPREB1* καταγράφεται στο < 1% του συνόλου των περιπτώσεων με ΟΛΛ σε κάθε ηλικιακή ομάδα και σχετίζεται με υποτροπή και θάνατο εντός δύο ετών από τη διάγνωση, αν και πρόσφατες μελέτες έδειξαν ευαισθησία στον BCL2-ειδικό αναστολέα venetoclax ή ABT-199 (Fischer *et al.*, 2015; Hunger and Mullighan, 2015; Roberts, 2018).

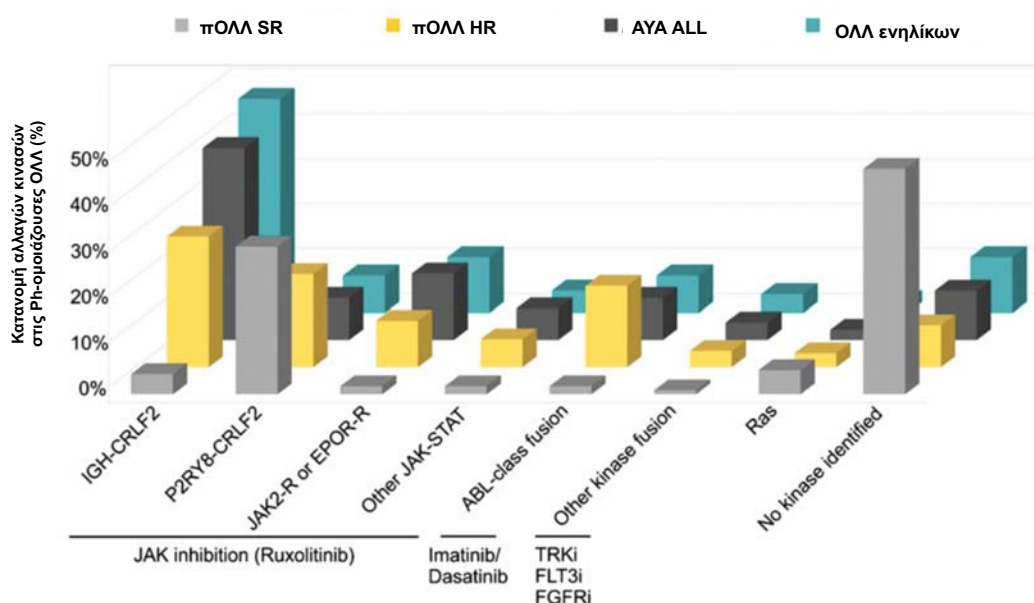


Εικόνα 3. Ο επιπολασμός της ΟΛΛ αναλόγως ηλικιακής ομάδας (Hunger and Mullighan, 2015): παρατηρούνται χαρακτηριστικές διαφορές στη συχνότητα μεταξύ των υποτύπων της ΟΛΛ σε παιδιά χαμηλού κινδύνου (1 – 9 ετών με λευκά αιμοσφαίρια $< 50 \times 10^9/L$), σε παιδιά υψηλού κινδύνου (10 – 15 ετών ή/και $> 50 \times 10^9/L$), σε έφηβους (16 – 20 ετών) και σε νεαρούς ενήλικες (21 – 39 ετών).

Η ΟΛΛ από *BCR-ABL1* σύντηξη προϊόν της μετάθεσης t(9;22)(q34;q11.2) ή χρωμόσωμα Ph είναι γενικά ασυνήθης στα παιδιά (2 – 5%), ενώ αποτελεί το 6% των ΑYA ALL και τουλάχιστον το 25% των ενηλίκων με ΟΛΛ. Η επιβίωση των ασθενών με αυτή τη μετάθεση αυξήθηκε δραματικά με την χρήση αναστολέων τυροσινικών κινασών (TKIs) στη θεραπεία τους (Roberts, 2018). Παρόλα αυτά, οι Ph-ομοιάζουσες πΟΛΛ έχουν παρόμοια γονιδιακή έκφραση με τις *BCR-ABL1*-θετικές ΟΛΛ, αλλά στερούνται του γονιδίου σύντηξης *BCR-ABL1*, ενώ συνήθως φέρουν γενετικές αλλαγές που αφορούν σε μεταγραφικούς παράγοντες των Β-λεμφοκυττάρων όπως ο Ikaros του *IKZF1* (Roberts *et al.*, 2018). Ο επιπολασμός των Ph-ομοιαζουσών ΟΛΛ αυξάνεται με την ηλικία (10 – 15% στην πΟΛΛ) και συνδέεται με πτωχή πρόγνωση, παρόλο που η ένταξη των TKIs στη θεραπεία τους επέδειξε αρχικά αρκετά οφέλη. Έχει παρατηρηθεί ότι τα μισά παιδιά με Ph-ομοιάζουσα ΟΛΛ φέρουν γενωμικές αναδιατάξεις που έχουν ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση του υποδοχέα κυτοκινών *CRLF2* (συνήθως είτε με μετάθεση *CRLF2* στην περιοχή του ενισχυτή του γονιδίου της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών *IGH*, είτε με εστιακή διαγραφή μέρους της *PARI* οδηγώντας στη σύντηξη *P2RY8-CRLF2*), συχνά ταυτόχρονα με μεταλλάξεις στις Janus κινάσες (*JAK1/2*) ή σε άλλους ρυθμιστές της JAK-STAT σηματοδοτικής οδού, οπότε και καθίσταται δυνατή η χρήση JAK αναστολέων, όπως η ρουξολιτινίμπη (ruxolitinib), στη θεραπεία τους (Roberts *et al.*, 2018). Μια άλλη υποομάδα του υπότυπου των Ph-ομοιαζουσών ΟΛΛ περιλαμβάνει αλλαγές που ενεργοποιούν τη σηματοδοτική οδό JAK-STAT κι όπου είναι εφαρμόσιμη η θεραπεία με JAK αναστολείς. Η προηγούμενη υποομάδα αφορά στο 10% των Ph-ομοιαζουσών ΟΛΛ υψηλού κινδύνου και εμπλέκονται αναδιατάξεις στα γονίδια *JAK2*, *EPOR*, *TYK2* και *IL2RB*. Αντίθετα, μια θεωρητικά θεραπεύσιμη υποομάδα Ph-ομοιαζουσών ΟΛΛ (15 – 20%) είναι αυτή που φέρει συντήξεις γονιδίων της κλάσης ABL (*ABL1*, *ABL2*, *CSF1R*, *LYN*, *PDGFRA* και *PDGFRB*) και μπορεί να εφαρμοστεί θεραπεία με τον κλασικό ABL1 αναστολέα imatinib ή τον διπλό ABL1/SRC αναστολέα dasatinib (Roberts *et al.*, 2018). Με την πάροδο των ετών, φαίνεται να αποσαφηνίζεται το τοπίο στις Ph-ομοιάζουσες πΟΛΛ.

Πρόσφατα αναγνωρίστηκε η συνύπαρξη σύντηξης *GTF2I-PDGFRB* και *IKZF1-TYWI* μαζί με υποмикροσκοπικά ελλείμματα στο 5q32q35.3 (μήκους 30 Mb, που ξεκινά εν μέσω του *PDGFRB* και καταλήγει στο *CANX*), στο 7q34 του *TRB*, στο 9p13 του *PAX5*, στο 10q26.13 του *DMBT1*, στο 14q11.2 του *TRAC* και στο 14q32.33 του *IGH* σε παιδιά με ΟΛΛ και φυσιολογικό καρυότυπο (Panagoroulos *et al.*, 2019). Η ανταπόκριση τέτοιων περιπτώσεων πΟΛΛ σε θεραπεία με ΤΚΙ έχει κλινική σημασία κι η περαιτέρω γενετική διερεύνηση απροσδιόριστων γενετικά περιπτώσεων πΟΛΛ κρίνεται αναγκαία.

Στην Εικόνα 4 διακρίνεται η κατανομή των Ph-ομοιοζουσών πΟΛΛ ανάλογα με την ομάδα κινδύνου, τις αλλαγές με δραστικότητα κινάσης που καταγράφονται, αλλά και τη θεραπεία που επιδέχεται η κάθε κατηγορία.



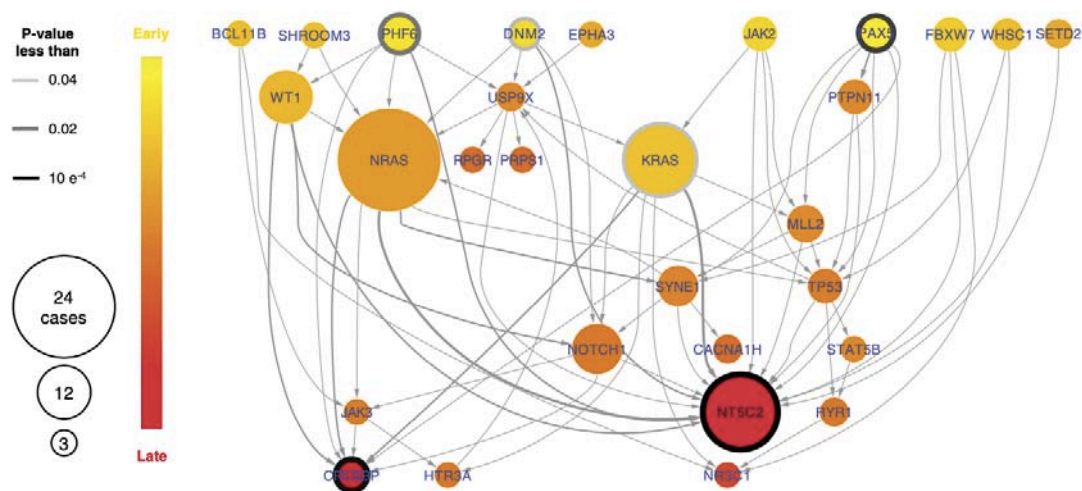
Εικόνα 4. Οι υπότυποι στη Ph-ομοιάζουσα ΟΛΛ: *IGH-CRLF2*, *P2RY8-CRLF2*, *ABL* συντήξεις (με *ABL1* ή *ABL2* ή *CSF1R* ή *LYN* ή *PDGFRA* ή *PDGFRB*), *JAK2* και *EPOR* αναδιατάξεις, άλλες μεταλλάξεις στη *JAK-STAT* σηματοδοτική οδό (*JAK1/3*, *IL7R*, *SH2B3*, *TYK2* και *IL2RB*), άλλες αλλαγές σε κινάσες (*FLT3*, *FGFR1* και *NTRK3*), μεταλλάξεις στη *Ras* σηματοδοτική οδό (*KRAS*, *NRAS*, *NF1*, *PTPN11*, *BRAF* και *CBL*), καθώς και άγνωστες αλλαγές με δραστικότητα κινάσης. TRKi = tropomyosin receptor kinase inhibitor (αναφέρεται στις αλλαγές *NTRK3*). Προσαρμοσμένη από Roberts (2018).

Η συνύπαρξη διαγραφής στο *IKZF1* με διαγραφή στα *CDKN2A/B*, *PAX5* ή *PARI*, ονομαζόμενη και *IKZF1^{plus}* τύπος ΟΛΛ, συσχετίζεται με πτωχή πρόγνωση, ενώ συγκεκριμένα αλληλόμορφα του *IKZF1* στα γεννητικά κύτταρα φαίνεται πως ευθύνονται για την κληρονομική πΟΛΛ και το 0,9% της σποραδικής Β-ΟΛΛ (περίπου στο 6% συνόλου πΟΛΛ) προσδίδοντας χαρακτηριστικά βλαστοκυττάρων, οδηγώντας σε υπερέκφραση μορίων προσκόλλησης και προκαλώντας ελαττωματικές αλληλεπιδράσεις κυττάρων και κυττάρου-στρώματος, ενώ εμφανίζει μειωμένη ευαισθησία σε TKIs (Churchman *et al.*, 2018).

Με τη βοήθεια της αλληλούχησης επόμενης γενιάς (NGS) αναγνωρίστηκαν πρόσφατα κρυπτικές ανακατατάξεις στο γονίδιο *DUX4* (double homeobox 4) και μια πλειάδα ανακατατάξεων των γονιδίων *MEF2D* (myocyte enhancer factor 2D) και *ZNF384* (zinc finger 384) με άλλα γονίδια, που όλες οδηγούν τελικά σε φαινότυπο πΟΛΛ (Roberts, 2018). Η πΟΛΛ μετά από αναδιάταξη του *DUX4* έχει ως αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία του γονιδίου *ETS-related gene (ERG)* [του ETS μεταγραφικού παράγοντα] και χαρακτηριστικό CD2 θετικό ανοσοφαινότυπο. Αποτελεί ένα πρώιμο και εισαγωγικό γεγονός στην πΟΛΛ με το *DUX4* να προσδένεται στο ERG οδηγώντας σε βραχύτερη στο C-τελικό άκρο ERG πρωτεΐνη, η οποία και αναστέλλει τελικά τη μεταγραφική δραστηριότητα του φυσιολογικού *ERG*. Η αναδιάταξη αυτή αποτελεί το 5 – 10% της πΟΛΛ με μέτρια αυξημένα ποσοστά σε AYA ALL ασθενείς, αλλά καλή πρόγνωση, ακόμα και σε περιπτώσεις που συνυπάρχουν διαγραφές του *IKZF1* (στο 40%) και θα αναμενόταν πτώση των ποσοστών επιβίωσης (Zhang *et al.*, 2016). Η αναδιάταξη του *MEF2D* απαντάται στο 4% της πΟΛΛ, ενώ στις περιπτώσεις AYA ALL ανέρχεται σε 7%, ενώ χαρακτηρίζεται από CD10 αρνητικό και CD38 θετικό ανοσοφαινότυπο. Η πιο συχνή σύντηξη του *MEF2D* είναι με το *BCL9*, αλλά έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία και συντήξεις με τα *HNRNPUL1*, *SS18*, *FOXJ2*, *CSF1R* ή *DAZAPI*. Όλες αυτές οι αναδιατάξεις ευνοούν τη λευχαιμογένεση και την λευχαιμική μετατροπή μέσω αυξημένης μεταγραφικής δραστηριότητας του *MEF2D* κι έχουν κατά κανόνα πτωχή πρόγνωση (Malard and Mohty, 2020). Επιπρόσθετα, στη πΟΛΛ έχει παρατηρηθεί αναδιάταξη γονιδίων που εμπλέκει το γονίδιο *ZNF384* και σχετίζεται με ενδιάμεση πρόγνωση και επιπολασμό στις περιπτώσεις AYA ALL (10% έναντι 5% των πΟΛΛ). Η αναδιάταξη αυτή αφορά σε όλο το γονίδιο της *ZNF384* με σύντηξη στο 5' άκρο ενός γονιδίου μεταγραφικού ρυθμιστή ή τροποποιητή της χρωματίνης (*EP300*, *CREBBP*, *TAF15*, *SYNRG*, *EWSR1*, *TCF3*, *ARID1B*, *BMP2K* ή *SMARCA2*). Ο ανοσοφαινότυπος αυτού του υπότυπου πΟΛΛ είναι συχνά CD13 θετικός και CD33

θετικός, υποδηλώνοντας έκφραση τόσο λεμφικών όσο και μυελικών αντιγόνων, γεγονός που τοποθετεί την αναδιάταξη αυτή σε πρώιμα στάδια του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου (Malard and Mohty, 2020).

Οι περιπτώσεις υποτροπής στην πΟΛΛ αποτελούν μέχρι και σήμερα το μεγαλύτερο πρόβλημα στη θεραπεία της νόσου. Οι γενετικές αλλαγές που εμπλέκονται στην υποτροπή της πΟΛΛ περιλαμβάνουν συνήθως επιγενετικούς ρυθμιστές και τροποποιητές της χρωματίνης. Πιο ειδικά, μεταλλάξεις στο γονίδιο *CREBBP* ενός μεταγραφικού συνενεργοποιητή και ακετυλοτρανσφεράσης είναι παρούσες στο 20% των περιπτώσεων υποτροπής Β-ΟΛΛ με χαρακτηριστική αντίσταση στη θεραπεία με γλυκοκορτικοστεροειδή, ενώ μεταλλάξεις στο γονίδιο της κυτταροπλασματικής 5'-νουκλεοσιδάσης II (*NT5C2*) επάγουν την ενεργότητά της και την ανθεκτικότητα στη θεραπεία με μερκαπτοπουρίνη. Άλλες μεταλλάξεις που ενέχονται στις περιπτώσεις υποτροπής πΟΛΛ αφορούν στα γονίδια *WHSC1*, *TP53*, *USH2A*, *NRAS* και *IKZF1*, καθώς φαίνεται να παίζουν ρόλο και μεταλλάξεις σε γονίδια επιδιόρθωσης αναντιστοιχίας DNA, όπως το *PMS2* και το *MSH6* (Tzoneva *et al.*, 2018; Malard and Mohty, 2020). Στην Εικόνα 5 φαίνονται γονίδια που έχουν συσχετιστεί με υποτροπή στη Β-ΟΛΛ και αποδεικνύεται ότι οι αλλαγές στα *CREBBP* και *NT5C2* αποτελούν μεταγενέστερα γεγονότα στην εμφάνιση υποτροπής και ότι οι μεταλλάξεις σε πρώιμα στάδια θα πρέπει να μελετηθούν διεξοδικά σε μελλοντικές μελέτες.

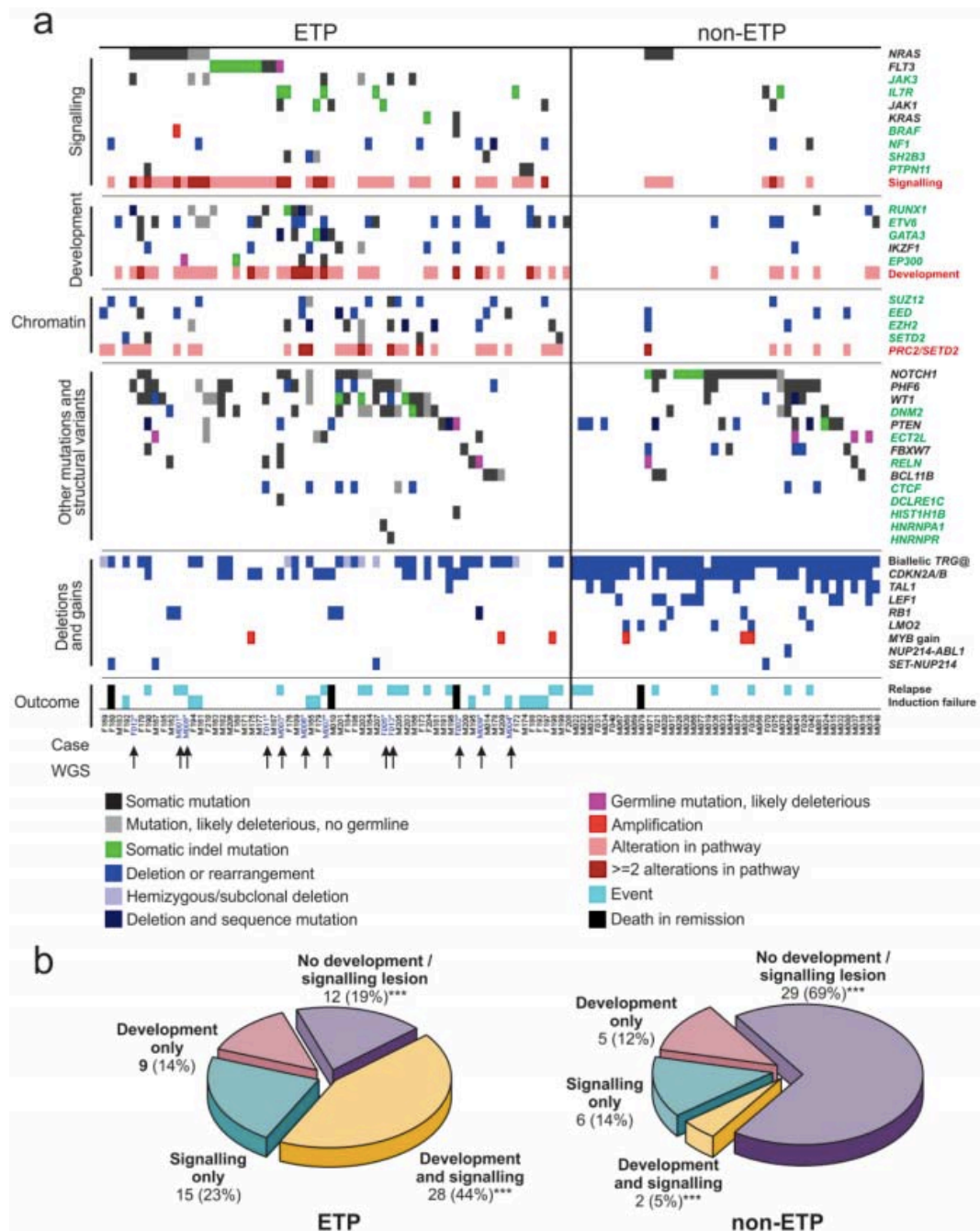


Εικόνα 5. Ενοποιημένο σειριακό δίκτυο (integrated sequential network ή ISN) πρώιμων και καθυστερημένων σωματικών μεταλλάξεων σε περιπτώσεις υποτροπής Β-

ΟΛΛ μέσω της τεχνικής (Tzoneva *et al.*, 2018). Κάθε κύκλος αναπαριστά ένα γονίδιο, ενώ κάθε βέλος τη μετάβαση από μια πρόωμη μετάλλαξη σε μια συνακόλουθη.

Η T-ΟΛΛ είναι το αποτέλεσμα μιας διαδικασίας πολλών βημάτων, όπου μεταλλάξεις συσσωρεύονται και χάνεται ο έλεγχος της ανάπτυξης, διαφοροποίησης, πολλαπλασιασμού και επιβίωσης του κυττάρου κατά τη θυμοποίηση (Malard and Mohty, 2020). Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες παρατηρούνται στη συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών με T-ΟΛΛ, η γενετική βάση της νόσου είναι εξαιρετικά ετερογενής, αλλά σημείο αναφοράς (80% T-ΟΛΛ) αποτελεί η ενεργοποίηση της NOTCH σηματοδοτικής οδού, είτε με μεταλλάξεις στο *NOTCH1*, είτε με μεταλλάξεις που οδηγούν στην απώλεια του *FBXW7*. Η απώλεια των $p16^{INK4a}$ και $p14^{ARF}$ ογκοκατασταλτικών γονιδίων στην περιοχή του *CDKN2A* στο 70% των περιπτώσεων επιβεβαιώνει τη θεωρία ότι η ενεργοποίηση της NOTCH σηματοδοτικής οδού μαζί με διαγραφές στο *CDKN2A* προάγουν τη λευχαιμογένεση (Jang *et al.*, 2019). Στο 50% των περιπτώσεων T-ΟΛΛ ανευρίσκονται μεταθέσεις που οδηγούν στον έλεγχο γονιδίων μεταγραφικών παραγόντων από ισχυρούς ειδικούς των T-κυττάρων ενισχυτές (T-κυτταρικοί υποδοχείς α , β και δ). Η υπερέκφραση ογκογόνων μεταγραφικών παραγόντων αφορά στα γονίδια *TAL1*, *TAL2*, *LYL1*, *OLIG2*, *LMO1*, *LMO2*, *TLX1* (*HOX11*), *TLX3* (*HOX11L2*), *NKX2-1*, *NKX2-2*, *NKX2-5*, *HOXA*, *MYC*, *MYB* και *NOTCH1*. Από την άλλη πλευρά, η απώλεια μεταγραφικών παραγόντων που δρουν ογκοκατασταλτικά, όπως τα προϊόντα των γονιδίων *WT1*, *LEF1*, *ETV6*, *BCL11B*, *RUNX1* ή *GATA3*, οδηγούν με παρόμοιο τρόπο στη λευχαιμογένεση (Van Vlierberghe and Ferrando, 2012). Επιπλέον, στο 25% των περιπτώσεων T-ΟΛΛ έχουν εντοπιστεί μεταλλάξεις που οδηγούν σε απώλεια λειτουργικότητας και σε διαγραφές των γονιδίων *EZH2* και *SUZ12*, τα οποία κωδικοποιούν δυο καίριους παράγοντες για τη λειτουργία του PRC2 συμπλέγματος που εμπλέκεται στην τροποποίηση της χρωματίνης. Παρόμοια, το γονίδιο *PHF6*, που παίζει ρόλο στην επιγενετική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, ανευρίσκεται μεταλλαγμένο στο 16% των παιδιατρικών περιπτώσεων T-ΟΛΛ (Malard and Mohty, 2020). Γενετικές αλλαγές που οδηγούν σε αλλαγές σε σηματοδοτικά μονοπάτια παρατηρούνται συχνά σε παιδιά με T-ΟΛΛ (Εικόνα 5): απώλεια του *PTEN*, ενός απαραίτητου ρυθμιστή της PI3K-AKT σηματοδοτικής οδού, λόγω μετάλλαξης στο 5 – 10% των ασθενών, αναδιατάξεις του *ABL1* σχηματίζοντας γονίδια σύντηξης με ένα εκ των *NUP214*, *EML1* ή *ETV6* στο 8% των ασθενών και

μεταλλάξεις του *DNMT3A* στο 10% των ασθενών που σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση και μεγαλύτερη ηλικία διάγνωσης (Malard and Mohty, 2020).



Εικόνα 6. Μεταλλάξεις που εντοπίστηκαν σε περιπτώσεις παιδιών με T-ΟΛΛ (Zhang *et al.*, 2012): [a] Με βέλη οι περιπτώσεις που υποβλήθηκαν σε WGS (whole genome sequencing), ενώ τα γονίδια που εντοπίστηκαν για πρώτη φορά ως φέροντα μεταλλάξεις που πιθανώς να οδηγούν στη νόσο σημαίνονται με πράσινο χρώμα, [b] Συχνότητα των μεταλλάξεων που οδηγούν σε αλλαγές της αιμοποιητικής και λεμφικής

ανάπτυξης στην ETP (early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia ή πρόιμη λεμφοβλαστική λευχαιμία από πρόδρομα T-κύτταρα) και στη μη ETP T-ΟΛΛ. *** $P < 0,0001$.

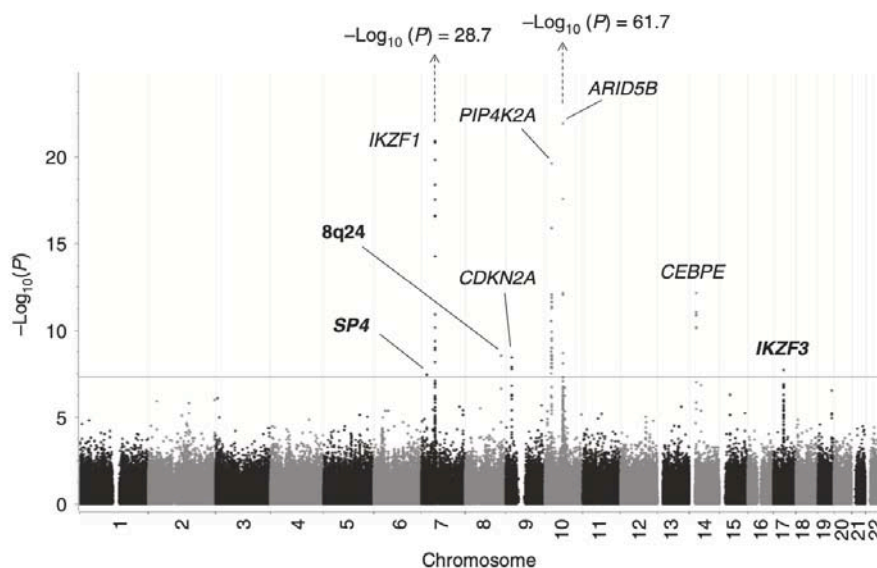
Όπως παρατηρούμε στην Εικόνα 6, η ETP T-ΟΛΛ συσχετίστηκε: [1] με ενεργοποιητικές μεταλλάξεις σε γονίδια που ρυθμίζουν υποδοχείς κυτοκινών, αλλά και τη Ras σηματοδοτική οδό (67% των περιπτώσεων με μεταλλάξεις στα *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *IL7R*, *JAK3*, *JAK1*, *SH2B3* και *BRAF*), [2] με αδρανοποιητικές αλλαγές που εμποδίζουν την ορθή αιμοποίηση (58% των ασθενών με αλλαγές στα *GATA3*, *ETV6*, *RUNX1*, *IKZF1* και *EP300*) και με [3] γονίδια που σχετίζονται με τροποποιήσεις ιστονών (48% των περιπτώσεων με αλλαγές στα *EZH2*, *EED*, *SUZ12*, *SETD2* και *EP300*). Επίσης, εντοπίστηκαν νέοι στόχοι μεταλλάξεων στα γονίδια *DNM2*, *ECT2L* και *ETS-related gene* (Zhang *et al.*, 2012).

1.2 Μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος και πΟΛΛ

Οι μελέτες συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος (Genome-Wide Association Studies ή GWAS) που πραγματοποιήθηκαν πρόσφατα σε ασθενείς με πΟΛΛ οδήγησαν στον προσδιορισμό σπάνιων αλληλόμορφων υψηλής διεισδυτικότητας, αλλά και συχνών αλληλόμορφων χαμηλής διεισδυτικότητας που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για τη νόσο (Wiemels *et al.*, 2018 και Qian *et al.*, 2019).

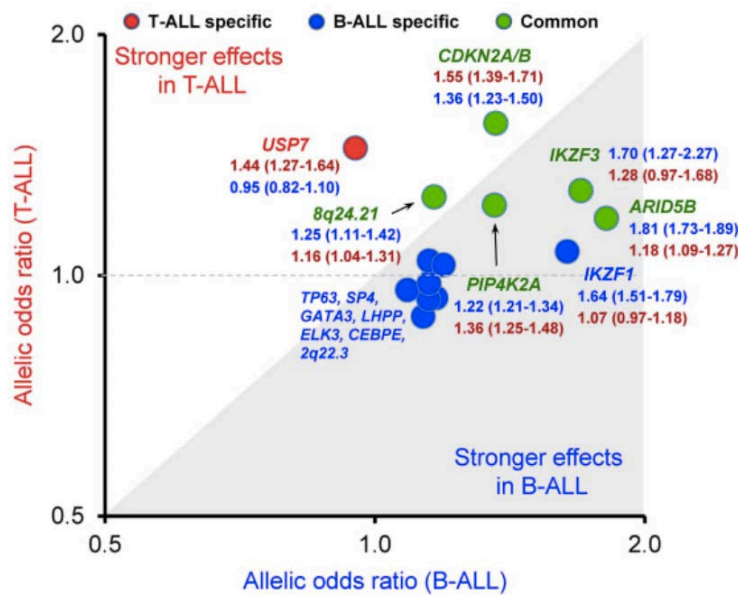
Η μεγαλύτερη GWAS στο πεδίο της πΟΛΛ μέχρι σήμερα περιλάμβανε 3.263 παιδιά από την Καλιφόρνια των ΗΠΑ. Εκτός από το μεγάλο μέγεθος δείγματος, η συγκεκριμένη GWAS ήταν η πρώτη καλά σταθμισμένη μελέτη, καθώς όλες οι προηγούμενες σχετικές μελέτες αφορούσαν λευκούς μη Λατινοαμερικάνικους πληθυσμούς, ενώ συμμετείχαν 1.949 παιδιά Λατινοαμερικάνικης καταγωγής (που εμφανίζουν επιδημιολογικά μεγαλύτερη επίπτωση πΟΛΛ). Ελέγχθηκαν 757.935 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms ή μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί) και βρέθηκαν επτά γενετικοί τόποι προδιάθεσης στα γονίδια *ARID5B*, *CEBPE*, *IKZF1*, *CDKN2A*, *PIP4K2A* και *GATA3*, *LHPP* και *ELK3* που είχαν προσδιοριστεί σε προηγούμενες μελέτες. Οι πολυμορφισμοί στις θέσεις αυτές σχετίζονται με μεταγραφικούς παράγοντες της αιμοποίησης, αλλά και με αλλαγές στις θέσεις πρόσδεσης μεταγραφικών παραγόντων στους υποκινητές των γονιδίων τους. Τα

αποτελέσματα της μελέτης επιβεβαίωσαν τη συσχέτιση των πέντε γενετικών τόπων στα *ARID5B*, *CEBPE*, *IKZF1*, *CDKN2A* και *PIP4K2A* με τη πΟΛΛ, ενώ μόνο κατά τη μετα-ανάλυση επιβεβαιώθηκαν οι συσχετίσεις με τα *GATA3*, *LHPP* και *ELK3*. Από την παρούσα GWAS προέκυψαν τρεις νέες περιοχές συσχέτισης με πΟΛΛ, εκ των οποίων οι δύο επιβεβαιώθηκαν και σε άλλες GWAS: [α] αλληλόμορφο κινδύνου 8q24.1 – rs4617118 με OR = 1,27 (95% CI: 1,17 – 1,38) και $p = 3,1 \times 10^{-9}$, [β] αλληλόμορφο κινδύνου *IKZF3* – rs2290400 με OR = 1,18 (95% CI: 1,11 – 1,25) και $p = 2,1 \times 10^{-8}$. Τα παραπάνω ευρήματα απεικονίζονται στο διάγραμμα Manhattan στην Εικόνα 7. Η κορυφή συσχέτισης στο 8q24 εκτείνεται σε περιοχή 2,5 Mb και έχει συσχετισθεί με δυσμορφίες και διάφορους τύπους καρκίνων, ενώ λειτουργικά πρόκειται για θηλιά του χρωμοσώματος από το πρωτο-ογκογονίδιο MYC προς τον SNP rs4617118 που περιέχει το γονίδιο *GSDMC* (μέλος της οικογένειας των γκασδερμινών, που παίζουν ρόλο στη ρύθμιση της απόπτωσης). Η κορυφή συσχέτισης στο 17q12 καλύπτει περιοχή 200 kb με έξι γονίδια και με το αλληλόμορφο κινδύνου να φαίνεται ότι δρα προστατευτικά για το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και το βρογχικό άσθμα, ενώ περιέχει το μεταγραφικό παράγοντα *IKZF3* που είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη των λεμφοκυττάρων. Το έλασσον αλληλόμορφο στην περιοχή αυτή (που δρα προστατευτικά στην πΟΛΛ) οδηγεί σε μειωμένη έκφραση των *GSDMB* (μιας άλλης γκασδερμίνης) και *ORMDL3*, ενώ ο rs2290400 παρεμποδίζει ένα μοτίβο σύνδεσης του *PRDM1* (*BLIMP1*), που αποτελεί καταστολέα του γονιδίου της ιντερφερόνης-β και ρυθμιστή των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Για την περιοχή 17q12 αναφέρεται, επίσης, σχέση με το γονίδιο *ZBP2*. Να σημειωθεί ότι ο εμπλεκόμενος SNP του γονιδίου *IKZF1* προηγούμενων GWAS δε φαίνεται να σχετίζεται με αυτόν του *IKZF3*, αλλά ούτε και με την πορεία της νόσου. Επιπλέον, ο πολυμορφισμός του μεταγραφικού παράγοντα SP4 που δεν επιβεβαιώθηκε η συσχέτισή του στη μετα-ανάλυση θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω σε σχέση με την πΟΛΛ. Συνοψίζοντας, η μεγαλύτερη GWAS σε σχέση με την πΟΛΛ κατέδειξε τη συμμετοχή (1) μεταγραφικών παραγόντων αιμοποίησης, (2) ρυθμιστών της ανοσιακής απάντησης και της φλεγμονής και (3) της πυρόπτωσης, της προγραμματισμένης νέκρωσης μέσω φλεγμονής (Wiemels *et al.*, 2018).



Εικόνα 7. Διάγραμμα Manhattan P τιμών από την GWAS των Wiemels et al. (2018).

Μια πρόσφατη GWAS σε 1.191 παιδιά με Τ-ΟΛΛ κατέδειξε δύο θέσεις στο γονιδίωμα με στατιστική σημαντικότητα (Qian *et al.*, 2019). Η πρώτη θέση, γνωστή από τις GWAS για την πΟΛΛ, αφορά στο γονίδιο της *CDKN2A* και το rs2188127 με OR = 0,65 (95% CI: 0,55 – 0,76) και $p = 5 \times 10^{-8}$. Η δεύτερη θέση που συσχετίστηκε αφορούσε το γονίδιο της *USP7*, μιας πρωτεάσης που συμμετέχει στην ουβικουτίνωση. Μάλιστα, η *USP7* βρίσκεται να παρουσιάζει σωματικές μεταλλάξεις στο 12% περίπου των παιδιών και νεαρών ενηλίκων με Τ-ΟΛΛ. Μια πολυμορφική θέση (rs74010351) σε εσόνιο της *USP7* σχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με τη νόσο και OR = 1,44 (95% CI: 1,27 – 1,65) με $p = 4,51 \times 10^{-8}$. Το αλληλόμορφο κινδύνου της *USP7* βρέθηκε με στατιστικώς σημαντικότερη παρουσία σε παιδιά Αφρικανικής καταγωγής, γεγονός που συνάδει με τη μεγαλύτερη επίπτωση της Τ-ΟΛΛ στη φυλή αυτή. Γενετικές αλλαγές στην *USP7* παρατηρούνται στο 56,4% των παιδιών με Τ-ΟΛΛ με ταυτόχρονη υπερέκφραση της πρωτεΐνης TAL1 (T-cell acute lymphocytic leukemia protein 1), που αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα. Η λειτουργική ανάλυση του αλληλόμορφου κινδύνου δείχνει πως εδράζεται σε ένα cis-ρυθμιστικό DNA στοιχείο με αρνητικές επιδράσεις στην μεταγραφή της *USP7*. Επιπρόσθετα, οι 14 θέσεις προδιάθεσης για πΟΛΛ που υποβλήθηκαν σε συγκριτική μελέτη σε αυτή τη GWAS κατέδειξαν ομοιότητες και διαφορές μεταξύ της βιολογίας των δυο βασικών υποτύπων της ΟΛΛ στα παιδιά (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Ομοιότητες και διαφορές στη γενετική προδιάθεση για πΟΛΛ μεταξύ Β και Τ κυτταρικής σειράς (Qian et al., 2019). Ο συσχετισμός μεταξύ γονότυπου και ΟΛΛ αξιολογήθηκε μέσω μοντέλου λογιστικής παλινδρόμησης για ευρήματα προηγούμενων GWAS για τη Β-ΟΛΛ στις θέσεις *ARID5B* (rs10821936), *IKZF1* (rs11978267), *CDKN2A/B* (rs11978267), *IKZF3* (rs17607816), *PIP4K2A* (rs7088318), 8q24.21 (rs28665337), *TP63* (rs17505102), *SP4* (rs2390536), *GATA3* (rs3824662), *LHPP* (rs35837782), *ELK3* (rs4762284), *CEPBE* (rs2239633) και 2q22.3 (rs17481869) και την πρόσφατα συσχετισμένη θέση με Τ-ΟΛΛ στο *USP7* (rs74010351).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει μια πρόσφατη GWAS σε σχέση με τη Β-ΟΛΛ σε 527 παιδιά από την Ιαπωνία (Urayama et al., 2018). Σε αυτή τη μελέτη γίνεται αναφορά σε φυλετικές διαφορές που μπορεί να υπάρχουν όσον αφορά τη γενετική προδιάθεση για Β-ΟΛΛ με αφορμή το εύρημα ότι γενετική θέση στο γονίδιο *WWOX* φαίνεται πως αποτελεί παράγοντα κινδύνου μόνο για παιδιά Κινέζικης καταγωγής. Παρόλα αυτά επιβεβαιώθηκαν στατιστικώς σημαντικοί συσχετισμοί κινδύνου για τον rs10821936 του *ARID5B* με $OR = 1,84$ (95% CI: 1,6 – 2,13) και $p = 6.04 \times 10^{-17}$ και για τον rs7088318 του *PIP4K2A* με $OR = 0,76$ (95% CI: 0,65 – 0,88) και $p = 2 \times 10^{-4}$, ενώ δεν επιβεβαιώθηκε συσχέτιση με το *WWOX*. Επίσης, η συσχέτιση με τον *IKZF1* εντοπίστηκε σε συνδυασμό με διαφορετικό SNP, τον rs1451367 με $OR = 1,52$ (95% CI: 1,28 – 1,8) και $p = 1.9 \times 10^{-6}$, ενώ κανένας άλλος συσχετισμός δε βρέθηκε στατιστικώς σημαντικός σε παιδιά με Β-ΟΛΛ Ιαπωνικής καταγωγής.

Η πΟΛΛ διαφέρει σημαντικά σε όλες τις παραμέτρους της με την ΟΛΛ των εφήβων και νεαρών ενηλίκων και αυτό επιβεβαιώθηκε από αντίστοιχη GWAS (Perez-Andreu *et al.*, 2015). Μελετήθηκαν 308 ΑΥΑ ALL ασθενείς και ταυτοποιήθηκαν μόλις δύο στατιστικώς σημαντικές περιοχές κινδύνου εντοπιζόμενες και οι δύο στο γονίδιο *GATA3* στον rs3824662 : ο rs3824662 με OR = 1.77 (95% CI: 1,48 – 2,12) και $p = 2,8 \times 10^{-10}$ και ο rs3781093 με OR = 1,73 (95% CI: 1,44 – 2,08) και $p = 3.2 \times 10^{-9}$. Μάλιστα, το αλληλόμορφο κινδύνου στον rs3824662 του γονιδίου *GATA3* ήταν σημαντικά πιο συχνό στον υπότυπο της ΟΛΛ που ονομάζεται Ph-like (ομοιάζων με χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας). Το A αλληλόμορφο του rs3824662 του *GATA3* ήταν σταθερό ανεξαρτήτως φυλής με μεγάλη εκπροσώπηση μεταξύ των Ευρωπαίων Αμερικανών και των νέων Λατινοαμερικάνικης καταγωγής, ενώ το ίδιο διαπιστώθηκε για τον rs3781093 με τη διαφορά ότι δεν υπήρχε συσχέτιση στα άτομα Αφρικανικής καταγωγής. Τα παραπάνω ευρήματα συνηγορούν στην εντελώς διαφορετική βιολογική βάση της ΑΥΑ ALL με την πΟΛΛ.

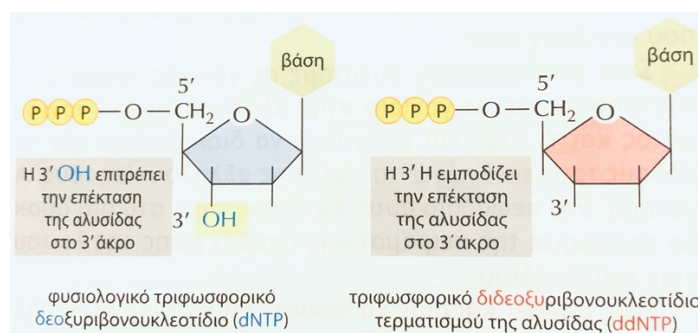
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: NGS και εφαρμογές στην παιδική ΟΛΛ

2.1 Τι είναι η NGS

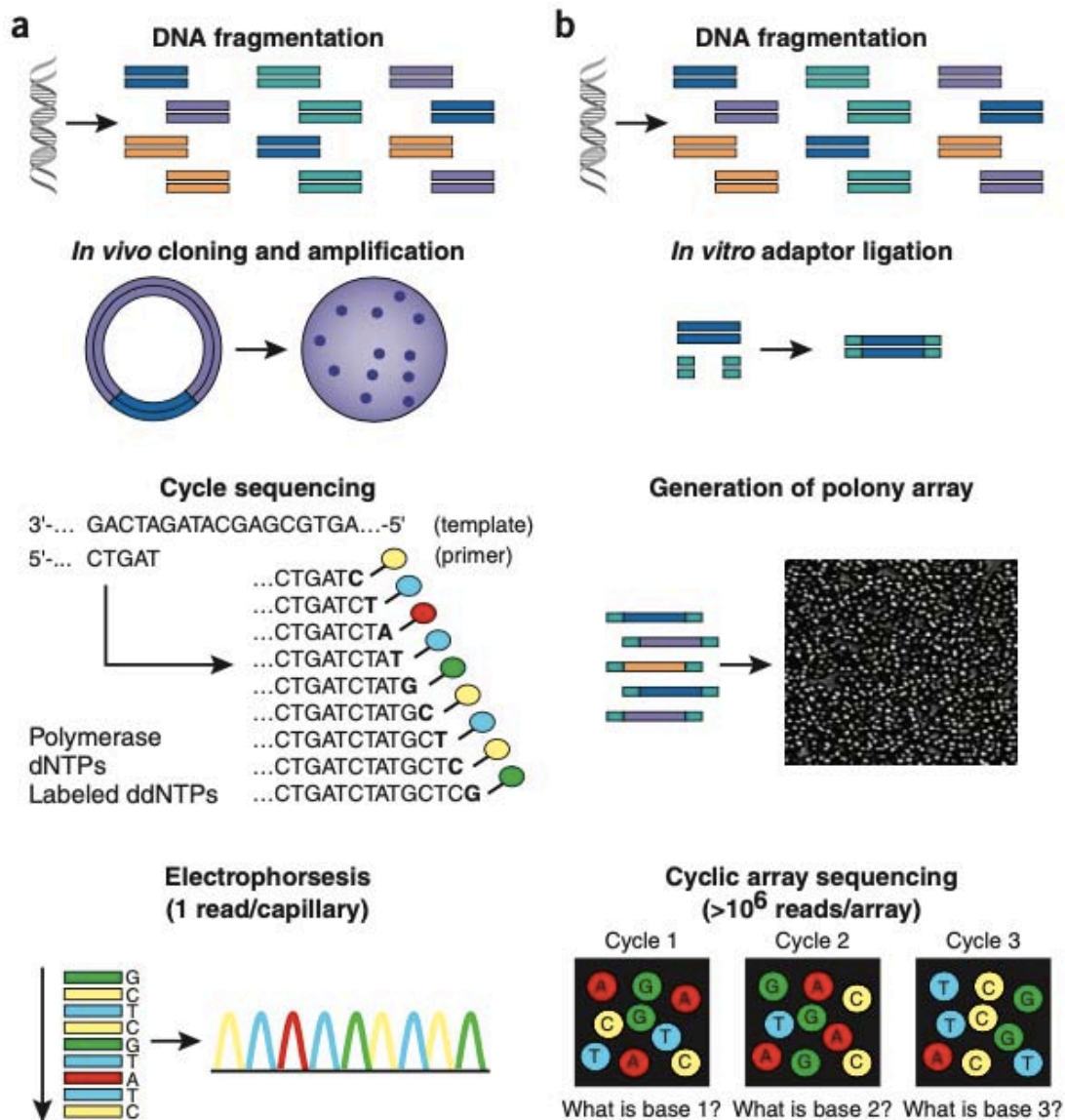
Η τεχνική αλληλούχισης του DNA αναπτύχθηκε αρχικά το 1977 από δύο ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες, παρόλο που τελικά επικράτησε να ονομάζεται «αλληλούχιση κατά Sanger», μιας κι ο ερευνητής αυτός τιμήθηκε με βραβείο Nobel για την προσφορά του στο αντίστοιχο πεδίο το 1980 (Maxam and Gilbert, 1977; Sanger, Nicklen and Coulson, 1977). Η ανακάλυψη της δομής του DNA οδήγησε σε μερική κατανόηση της πολύπλοκης και πολύπλευρης επίδρασης του γονιδιώματος στην υγεία και στη νόσο, ενώ μια πλειάδα καινοτόμων εξελίξεων όσον αφορά στα αντιδραστήρια και στον τεχνικό εξοπλισμό επιτάχυναν την ολοκλήρωση του Προγράμματος του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (Human Genome Project από το 1990 έως το 2003) με τη βοήθεια υψηλής διακριτικότητας συστημάτων από τα μέσα του 2000, μειώνοντας ταυτόχρονα κατά 50.000 φορές το κόστος της αλληλούχισης. Τα τελευταία 20 χρόνια οι τεχνικές αλληλούχισης DNA εξελίχθηκαν, ώστε να μπορούν να προσφέρουν μέχρι και χίλιες φορές περισσότερο όγκο δεδομένων από την αρχική «αλληλούχιση κατά Sanger» και μάλιστα σε πολύ λιγότερο χρόνο και με πολύ

χαμηλότερο κόστος (Goodwin, McPherson and McCombie, 2016). Από την άλλη πλευρά, οι περιορισμοί των τεχνικών NGS σήμερα είναι τα υψηλότερα ποσοστά λάθους (~0,1 – 15%) και τα βραχύτερα μήκη ανάγνωσης (35 – 700 bp) σε σχέση με την αρχική τεχνική, απαιτώντας μεγάλη προσοχή στην ερμηνεία και πόσο μάλλον στην κλινική εφαρμογή των δεδομένων που ανακτώνται. Επίσης, παρόλο που με την NGS μπορούμε να διερευνήσουμε ολόκληρο το γονιδίωμα και γρήγορα, το κόστος παραμένει ακόμα υψηλό για την καθημερινή κλινική πρακτική και χρησιμοποιούνται συχνά εναλλακτικές τεχνικές με υψηλή απόδοση και χαμηλότερο κόστος: οι DNA μικροσυστοιχίες, η NanoString, qPCR (ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ή πραγματικού χρόνου PCR ή real-time PCR) και η οπτική χαρτογράφηση (Goodwin, McPherson and McCombie, 2016).

Η διδεόξυ αλληλούχιση ή αλληλούχιση κατά Sanger χρησιμοποιεί το ένζυμο DNA πολυμεράση μαζί με ειδικά νουκλεοτίδια τερματισμού της αλυσίδας που καλούνται τριφωσφορικά διδεοξυριβονουκλεοτίδια (ddNTP), ώστε να φτιαχτούν μερικά αντίγραφα του DNA τμήματος. Αυτά τα ddNTPs είναι παράγωγα των κανονικών τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων που στερούνται της 3' υδροξυλομάδας. Όταν ενσωματώνονται σε μια αναπτυσσόμενη αλυσίδα του DNA, εμποδίζουν την περαιτέρω επιμήκυνση αυτής (Alberts *et al.*, 2018). Στην Εικόνα 9 βλέπουμε τις διαφορές dNTP και ddNTP. Στην Εικόνα 10 βλέπουμε συγκριτικά και με αδρά χαρακτηριστικά την τεχνική Sanger σε αντιδιαστολή με τις τεχνικές δεύτερης γενιάς αλληλούχισης του DNA.

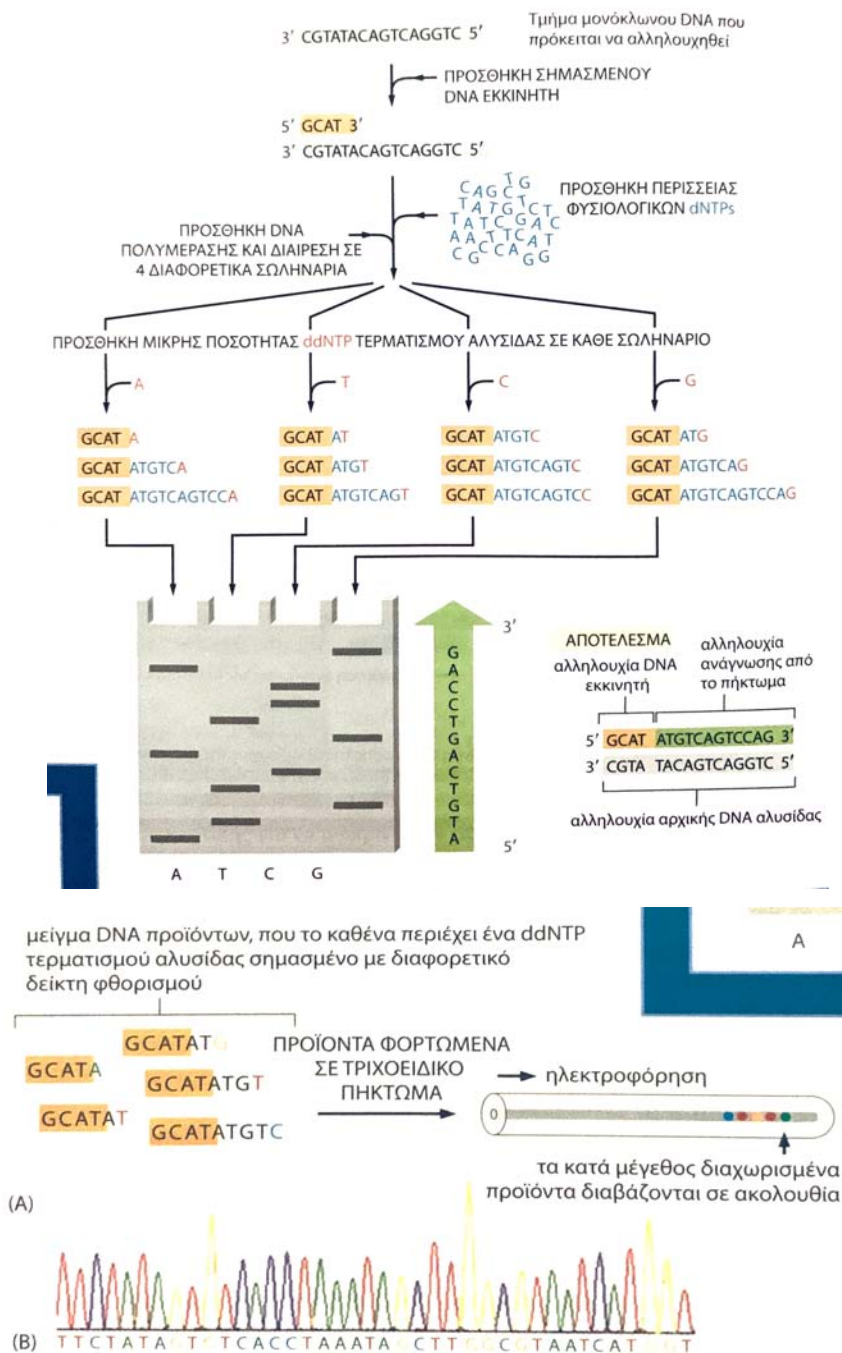


Εικόνα 9. Διαφορές dNTP και ddNTP. Προσαρμοσμένη από Alberts *et al.*, 2018.



Εικόνα 10. Οι διαφορές στα στάδια των τεχνικών πρώτης και δεύτερης γενιάς αλληλούχισης του DNA (από Shendure and Ji, 2008): (a) Το γενωμικό DNA κατακερματίζεται, κλωνοποιείται σε ένα φορέα πλασμιδίου που χρησιμοποιείται, ώστε να μετασχηματίσει ένα *E. coli*. Για κάθε μία αντίδραση αλληλούχισης χρειάζεται να πάρουμε μια βακτηριακή αποικία και να απομονώσουμε το DNA του πλασμιδίου. Σε κάθε κύκλο της αντίδρασης δημιουργείται μια σκάλα προϊόντων που τερματίζονται σε ddNTP και είναι σημασμένα με χρωστική, οπότε υψηλής διακριτικής ικανότητας ηλεκτροφόρηση διαχωρίζει τα προϊόντα αυτά, ένας ανιχνευτής χρησιμοποιεί τα δεδομένα από τα φθορίζοντα θραύσματα για κάθε συγκεκριμένο μέγεθος και δημιουργείται το ίχνος της αλληλούχισης από το φάσμα εκπομπής τεσσάρων

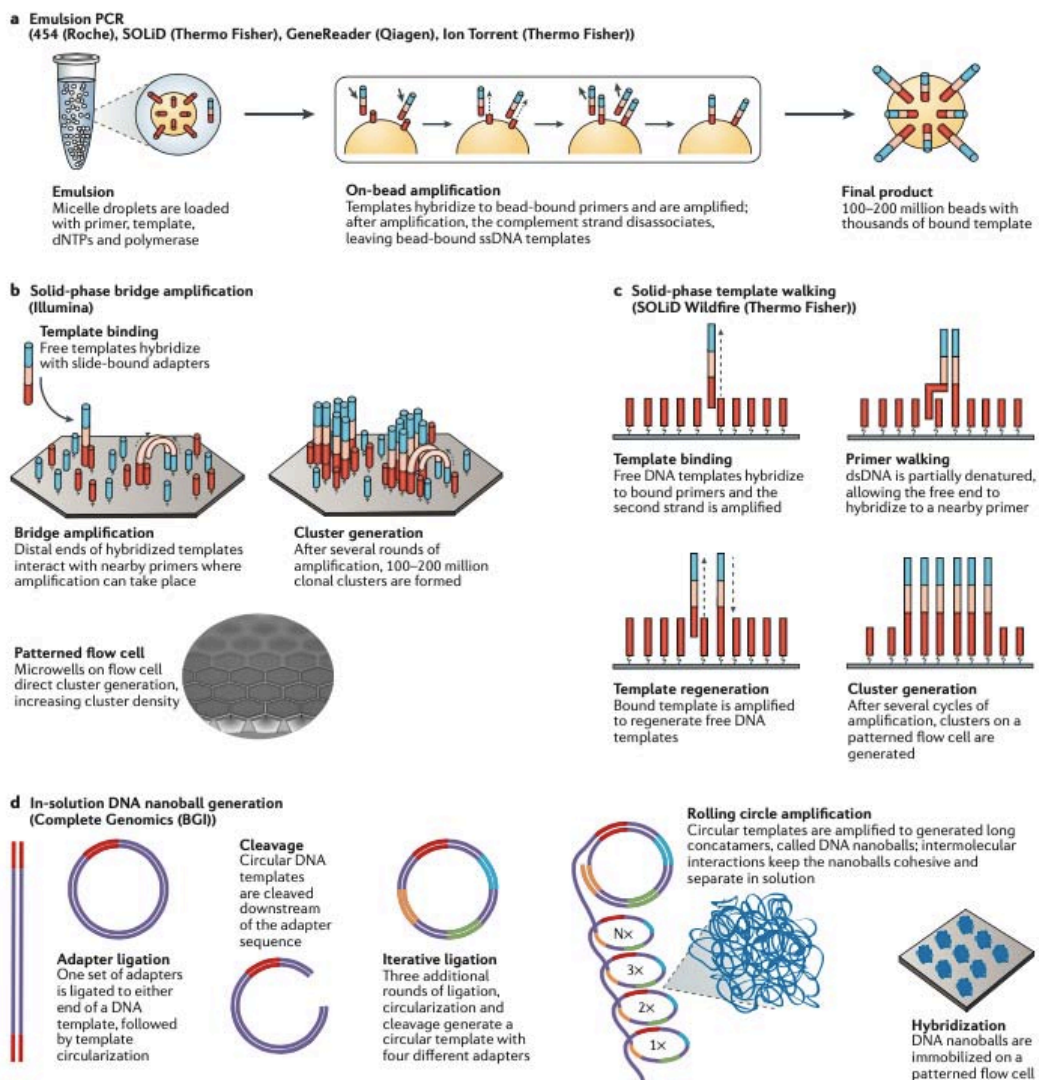
καναλιών. (b) Στην αλληλούχιση δεύτερης γενιάς η θραύση του DNA ακολουθείται από σύνδεση με προσαρμογείς και μετά ακολουθούνται διάφορα πρωτόκολλα. Κάθε χωρικά ακινητοποιημένη αποικία PCR (colony) αποτελείται από πολλά αντίγραφα συγκεκριμένου θραύσματος και καθώς όλες οι αποικίες είναι δεμένες σε μια επίπεδη συστοιχία υπόκεινται σε υβριδισμό μέσω εκκινητών και σε επιμήκυνση μέσω ενζύμων εν παραλλήλω. Στη συνέχεια τα φθορίζοντα σήματα αναγνωρίζονται αναλόγως της επέκτασής τους με διάφορες τεχνικές και επεξεργασία.



Εικόνα 11. Για να προσδιοριστεί η πλήρης αλληλουχία ενός μονόκλωνου τμήματος DNA, το DNA υβριδοποιείται αρχικά με έναν μικρού μήκους DNA εκκινητή (με πορτοκαλί χρώμα) σημασμένο με μια φθορίζουσα χρωστική ή ένα ραδιοϊσότοπο. Το ένζυμο DNA πολυμεράση και μια περίσσεια και των τεσσάρων φυσιολογικών dNTPs προστίθενται στο αρχικό DNA, που στη συνέχεια διαχωρίζεται σε 4 δοκιμαστικά σωληνάκια. Κάθε ένα από αυτά δέχεται μια μικρή ποσότητα ddNTPs τερματισμού της μονής αλυσίδας (με κόκκινο). Δεδομένου ότι αυτά ενσωματώνονται περιστασιακά μόνο, κάθε αντίδραση παράγει ένα σύνολο DNA αντιγράφων που τερματίζουν σε διαφορετικές θέσεις της αλληλουχίας. Τα προϊόντα των τεσσάρων αυτών αντιδράσεων διαχωρίζονται σε τέσσερις παράλληλες σειρές με ηλεκτροφόρηση πηκτώματος πολυακρυλαμίδης. Σε κάθε σειρά, οι ζώνες αντιπροσωπεύουν τμήματα που έχουν τερματιστεί σε ένα δεδομένο νουκλεοτίδιο, αλλά σε διαφορετικές θέσεις στο DNA. Διαβάζοντας κατά σειρά τις ζώνες, ξεκινώντας από το κάτω μέρος του πηκτώματος και διαβάζοντας κατά μήκος όλες τις σειρές, μπορεί να προσδιοριστεί η DNA αλληλουχία της νεοσυντιθέμενης αλυσίδας. Η αλληλουχία που παρουσιάζεται στο πράσινο βέλος δεξιά του πηκτώματος είναι συμπληρωματική ως προς την αλληλουχία του πρωτότυπου μονόκλωνου DNA (με γκρι). Πέρα από τη μη αυτοματοποιημένη διδέοξυ-αλληλούχιση αναπτύχθηκαν αυτοματοποιημένες μέθοδοι: χρησιμοποιώντας περίσσεια φυσιολογικών dNTPs μορίων και επιπλέον ένα μίγμα τεσσάρων διαφορετικών ddNTPs μορίων τερματισμού αλυσίδας, κάθε ένα από τα οποία είναι επισημασμένο με μια φθορίζουσα ετικέτα διαφορετικού χρώματος (A). Τα προϊόντα της αντίδρασης φορτώνονται σε ένα μεγάλο μήκους, λεπτό τριχοειδικό πήκτωμα και διαχωρίζονται με ηλεκτροφόρηση, ενώ μια κάμερα διαβάζει το χρώμα της κάθε ζώνης, καθώς αυτή κινείται μέσω του πηκτώματος και τροφοδοτεί τα δεδομένα σε έναν υπολογιστή που ανασυνθέτει την αλληλουχία (B). Κάθε έγχρωμη κορυφή αντιπροσωπεύει ένα νουκλεοτίδιο στην αλληλουχία του DNA. Προσαρμοσμένη από (Alberts *et al.*, 2018).

Η κατανόηση της αλληλούχισης πρώτης γενιάς (Εικόνα 11) είναι βασική, ώστε να μπορέσουμε να κατανοήσουμε τις τεχνικές NGS. Οι τεχνικές αλληλούχισης της δεύτερης γενιάς έχουν διάφορα στάδια και διακρίνονται μεταξύ τους από αυτά: την προετοιμασία του εκμαγείου, την αλληλούχιση και την οπτικοποίηση των δεδομένων. Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται οι διαθέσιμες NGS τεχνικές σύμφωνα με την κατηγορία τους και τα χαρακτηριστικά τους. Μετά την απομόνωση του DNA, το

γενωμικό DNA κατακεραματίζεται σε μικρότερα θραύσματα είτε με ενζυμική επεξεργασία, είτε με μηχανικό τρόπο. Αναφορικά με το RNA, μετά την απομόνωσή του συντίθεται η βιβλιοθήκη συμπληρωματικού cDNA και στη συνέχεια προσδένονται οι προσαρμογείς. Η ενίσχυση του εκμαγείου στις NGS τεχνικές επιτυγχάνεται συνήθως με PCR γαλακτώματος (emulsion PCR ή emPCR), με ενίσχυση στερεής φάσης (τεχνικές solid-phase bridge amplification και solid-phase template walking) και με νανοσφαιρίδια DNA εντός διαλύματος (in-solution DNA nanoball generation) και περιγράφονται στην Εικόνα 12 (Goodwin, McPherson and McCombie, 2016).



Εικόνα 12. Διαθέσιμες τεχνικές ενίσχυσης του εκμαγείου (Goodwin, McPherson and McCombie, 2016).

Πίνακας 3. Οι διαθέσιμες τεχνολογίες NGS ανάλογα με τα χαρακτηριστικά τους.

Πλατφόρμα	Μήκος ανάγνωσης (σε bp)	Διακριτικότητα	Αναγνώσεις	Απαιτούμενος χρόνος	Σφάλμα	Κόστος εξοπλισμού	Κόστος ανά Gb
Αλληλούχιση μέσω αντίδρασης λιγάσης (sequencing by ligation)							
SOLiD 5500 Wildfire	50 (SE)	80 Gb	700 εκ.	6 μέρες	≤ 0,1 %	M/Δ	130 \$
	75 (SE)	120 Gb					
	50 (SE)	160 Gb					
SOLiD 5500 xl	50 (SE)	160 Gb	1,4 δις	10 μέρες	≤ 0,1 %	251.000 \$	70 \$
	75 (SE)	240 Gb					
	50 (SE)	320 Gb					
BGISEQ- 500 FCS ¹⁵⁵	50 – 100 (SE/PE)	8 – 40 Gb	M/Δ	24 h	≤ 0,1 %	250 \$	M/Δ
BGISEQ- 500 FCL ¹⁵⁵	50 – 100 (SE/PE)	40 – 200 Gb	M/Δ	24 h	≤ 0,1 %	250.000 \$	M/Δ
Αλληλούχιση μέσω σύνθεσης (sequencing by synthesis) με κυκλικό αντιστρεπτό τερματισμό (cyclic reversible termination ή CRT)							
Illumina MiniSeq Mid output	150 (SE)	2,1 – 2,4 Gb	14 – 16 εκ.	17 h	< 1%	50.000 \$	200 – 300 \$
Illumina MiniSeq High output	75 (SE)	1,6 – 1,8 Gb	22 – 25 εκ.	7 h	< 1%	50.000 \$	200 – 300 \$
	75 (PE)	3,3 – 3,7 Gb	44 – 50 εκ.	13 h			
	150 (PE)	6,6 – 7,5 Gb		24 h			
Illumina MiSeq v2	36 (SE)	540 – 610 Mb	12 – 15 εκ.	4 h	0,1 %	99.000 \$	1.000 \$
	25 (PE)	750 – 850 Mb	24 – 30 εκ.	5,5 h			996 \$
	150 (PE)	4,5 – 5,1 Gb		24 h			212 \$
	250 (PE)	7,5 – 8,5 Gb		39 h			142 \$
Illumina MiSeq v3	75 (PE)	3,3 – 3,8 Gb	44 – 50 εκ.	21 – 56 h	0,1 %	99.000 \$	250 \$
	300 (PE)	13,2 – 15 Gb					110 \$
Illumina NextSeq 500/550 Mid output	75 (PE)	16 – 20 Gb	260 εκ.	15 h	< 1 %	250.000 \$	42 \$
	150 (PE)	32 – 40 Gb		26 h			40 \$
Illumina NextSeq 500/550 High output	75 (SE)	25 – 30 Gb	400 εκ.	11 h	< 1 %	250.000 \$	43 \$
	75 (PE)	50 – 60 Gb	800 εκ.	18 h			41 \$
	150 (PE)	100 – 120 Gb		29 h			33 \$

Illumina HiSeq2500 v2 Rapid run	36 (SE)	9 – 11 Gb	300 εκ.	7 h	0,1 %	690.000 \$	230 \$
	50 (PE)	25 – 30 Gb	600 εκ.	16 h			90 \$
	100 (PE)	50 – 60 Gb		27 h			52 \$
	150 (PE)	75 – 90 Gb		40 h			45 \$
	250 (PE)	125 – 150 Gb		60 h			40 \$
Illumina HiSeq2500 v3	36 (SE)	47 – 52 Gb		1,5 δις	2 μέρες	0,1 %	690.000 \$
	50 (PE)	135 – 150 Gb	3 δις	5,5 μέρες	78 \$		
	100 (PE)	270 – 300 Gb		11 μέρες	45 \$		
Illumina HiSeq2500 v4	36 (SE)	64 – 72 Gb	2 δις	29 h	0,1 %	690.000 \$	150 \$
	50 (PE)	180 – 100 Gb	4 δις	2,5 μέρες			58 \$
	100 (PE)	360 – 400 Gb		5 μέρες			45 \$
	125 (PE)	450 – 500 Gb		6 μέρες			30 \$
Illumina HiSeq 3000/4000	50 (SE)	105 – 125 Gb		2,5 δις	1 – 3,5 μέρες	0,1 %	740.000 – 900.000 \$
	75 (PE)	325 – 375 Gb	31 \$				
	150 (PE)	650 – 750 Gb	22 \$				
Illumina HiSeq X	150 (PE)	800 – 900 Gb	2,6 – 3 δις	3 μέρες	0,1 %	1.000.000 \$	7 \$
Qiagen GeneReader	M/Δ	12 γονίδια – 1.250 μεταλλάξεις	M/Δ	Μερικές μέρες	0,1 %	M/Δ	400 – 600 \$
Αλληλούχιση μέσω σύνθεσης (sequencing by synthesis) με προσθήκη μονού νουκλεοτιδίου (single-nucleotide addition ή SNA)							
454 GS Junior	400 – 600	35 Mb	0,1 εκ.	10 h	1 %	M/Δ	40.000 \$
454 GS Junior+	700 – 1.000	70 Mb	0,1 εκ.	18 h	1 %	108.000 \$	19.500 \$
454 GS FLX Titanium XLR70	450 – 600	450 Mb	1 εκ.	10 h	1 %	M/Δ	15.500 \$
454 GS FLX Titanium XL+	700 – 1.000	700 Mb	1 εκ.	23 h	1 %	450.000 \$	9.500 \$
Ion PGM 314	200 (SE)	30 – 50	0,5 εκ.	23 h	1 %	49.000 \$	25 –
	400 (SE)	60 – 100 Mb		3,7 h			3.500 \$
Ion PGM 316	200 (SE)	300 – 500 Mb	2 – 3 εκ.	3 h	1 %	49.000 \$	700 –
	400 (SE)	600 Mb – 1 Gb		4,9 h			1.000 \$
Ion PGM 318	200 (SE)	600 Mb – 1 Gb	4 – 5,5 εκ.	4 h	1 %	49.000 \$	450 –
	400 (SE)	1 – 2 Gb		7,3 h			800 \$
Ion Proton	Ως 200 (SE)	Ως 10 Gb	60 – 80 εκ.	2 – 4 h	1 %	224.000 \$	80 \$

Ion S5 520	200 (SE)	600 Mb – 1 Gb	3 – 5 εκ.	2,5 h	1 %	65.000 \$	2.400 \$	
	400 (SE)	1,2 – 2 Gb		4 h			1.200 \$	
Ion S5 530	200 (SE)	3 – 4 Gb	15 – 20 εκ.	2,5 h	1 %	65.000 \$	950 \$	
	400 (SE)	6 – 8 Gb		4 h			475 \$	
Ion S5 540	200 (SE)	10 – 15 Gb	60 – 80 εκ.	2,5 h	1 %	65.000 \$	300 \$	
Αλληλούχιση 3 ^{ης} γενιάς: Μεγάλου μεγέθους αναγνώσεις πραγματικού χρόνου από ένα μόνο μόριο (single-molecule real-time long reads ή SMRT αλληλούχιση)								
Pacific BioSciences RS II	20 kb	500 Mb – 1 Gb	55.000	4 h	≤1 μέχρι 13 %	695.000 \$	1.000 \$	
Pacific BioSciences Sequel	8 – 12 kb	3,5 – 7 Gb	350.000	0,5 – 6 h	M/Δ	350.000 \$	M/Δ	
Oxford Nanopore MK 1 MinION	Ως 200 kb	Ως 1,5 Gb	> 100.000	Ως 48 h	12 %	1.000.000 \$	750 \$	
Oxford Nanopore PromethION	M/Δ	Ως 4 Tb	M/Δ	M/Δ	M/Δ	75.000 \$	M/Δ	
Αλληλούχιση 3 ^{ης} γενιάς: Μεγάλου μεγέθους αναγνώσεις συνθετικών μορίων (synthetic long reads)								
Illumina Synthetic Long-Read	Ως 100 kb συνθετικό μήκος	Όπως η HiSeq 2500 χωρίς επιπλέον εξοπλισμό						1.000 \$
10X Genomics	Ως 100 kb συνθετικό μήκος	Όπως η HiSeq 2500				75.000 \$	HiSeq 2500 + 500 \$	

M/Δ = μη διαθέσιμη πληροφορία, h = ώρες, PE = paired-end sequencing, SE = single-end sequencing. Πίνακας προσαρμοσμένος από Shendure and Ji, 2008 και Goodwin, McPherson and McCombie, 2016.

Υπάρχουν δύο μεγάλες κατηγορίες αλληλούχισης ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται: [α] αλληλούχιση μέσω αντίδρασης λιγάσης ή SBL (sequencing by ligation) και [β] αλληλούχιση μέσω σύνθεσης ή SBS (sequencing by synthesis). Οι SBS τεχνικές υποδιαιρούνται σε αυτές με [i] κυκλικό αντιστρεπτό τερματισμό ή CRT (cyclic reversible termination) και σε αυτές [ii] με προσθήκη μονού νουκλεοτιδίου ή SNA (single-nucleotide addition). Οι SBS SNA τεχνικές διακρίνονται με τη σειρά τους σε αυτές που χρησιμοποιούν πυροαλληλούχιση (pyrosequencing) και σε αυτές που

ανιχνεύουν ιόντα υδρογόνου και αλλαγές στο pH, ώστε να επιτευχθεί οπτικοποίηση του αποτελέσματος (Goodwin, McPherson and McCombie, 2016). Παρόλο που με τις τρίτης γενιάς NGS τεχνικές λύθηκε το πρόβλημα των μικρών μηκών ανάγνωσης και των επιπλέον PCR που χρειάζονται, το κόστος και το ποσοστό σφάλματος παραμένουν αποθαρρυντικοί παράγοντες στην ένταξη των NGS πρακτικών στην καθημερινή κλινική πρακτική. Μια λύση είναι η στόχευση σε συγκεκριμένες περιοχές γενετικού ενδιαφέροντος, ενώ η επέκταση των εφαρμογών σε αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος (whole-genome sequencing ή WGS), αλληλούχιση των εξονίων (whole-exome sequencing ή WES), επιγενετικές εφαρμογές, όπως η ChIP-seq (αλληλούχιση μετά από ανοσοκατακρήμιση της χρωματίνης ή chromatin immunoprecipitation followed by sequencing), η ATAC-seq (δοκιμασία προσβάσιμης σε τρανσποζάση χρωματίνης χρησιμοποιώντας αλληλούχιση) και η methyl-seq (μελέτη της μεθυλίωσης του DNA μέσω αλληλούχισης), αλλά και σε μελέτες του μεταγραφώματος μέσω αλληλούχισης του RNA ή RNA-seq έχουν ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον (Goodwin, McPherson and McCombie, 2016).

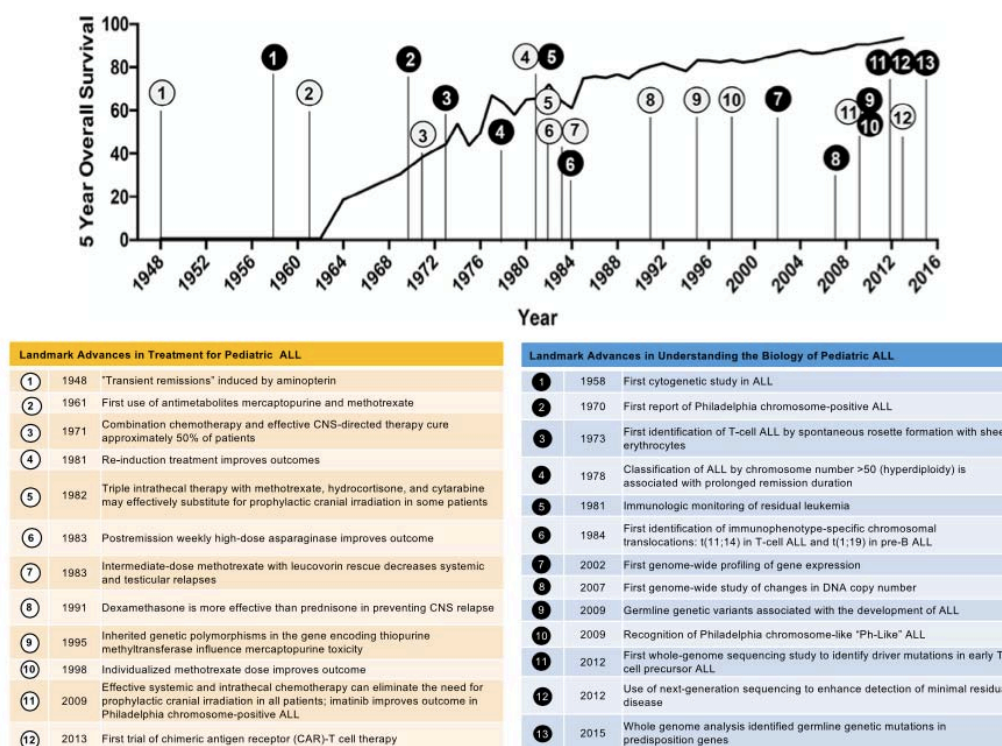
Οι τρίτης γενιάς NGS τεχνικές προβλέπεται να λύσουν το πρόβλημα των μικρών μηκών ανάγνωσης και των επιπλέον PCR που χρειάζονται, αλλά το κόστος και τα μικρά έστω ποσοστά σφάλματος παραμένουν ακόμα αποθαρρυντικοί παράγοντες στην ένταξη των NGS πρακτικών στην καθημερινή κλινική πρακτική. Όσον αφορά στον ανθρώπινο παράγοντα, η τεχνολογία έχει να επιδείξει πρωτοποριακές συσκευές, όπως το VolTRAX v2 (Εικόνα 35), που θα αυτοματοποιήσουν τις διαδικασίες και δεν θα απαιτείται η φυσική παρουσία του ερευνητή (Haan *et al.*, 2020).



Εικόνα 35. Το αυτοματοποιημένο σύστημα VolTRAX για NGS τεχνικές με Nanopore (<https://www.youtube.com/watch?v=x-z3MFkpvzE> , Haan *et al.*, 2020).

2.2 Μελέτες με NGS στην πΟΛΛ

Η συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας οδήγησε σε 221 άρθρα μέσω της αναζήτησης στη βάση δεδομένων PubMed. Η στρατηγική αναζήτησης είναι διαθέσιμη στο τέλος του κειμένου. Στην Εικόνα 13 είναι εμφανής η σημαντικότερη επίπτωση που είχαν οι αλλαγές στη θεραπεία και η κατανόηση της βιολογίας της πΟΛΛ στην πενταετή επιβίωση των πασχόντων παιδιών.



Landmark Advances in Treatment for Pediatric ALL		Landmark Advances in Understanding the Biology of Pediatric ALL	
1	1948 "Transient remissions" induced by aminopterin	1	1958 First cytogenetic study in ALL
2	1961 First use of antimetabolites mercaptopurine and methotrexate	2	1970 First report of Philadelphia chromosome-positive ALL
3	1971 Combination chemotherapy and effective CNS-directed therapy cure approximately 50% of patients	3	1973 First identification of T-cell ALL by spontaneous rosette formation with sheep erythrocytes
4	1981 Re-induction treatment improves outcomes	4	1978 Classification of ALL by chromosome number >50 (hyperdiploidy) is associated with prolonged remission duration
5	1982 Triple intrathecal therapy with methotrexate, hydrocortisone, and cytarabine may effectively substitute for prophylactic cranial irradiation in some patients	5	1981 Immunologic monitoring of residual leukemia
6	1983 Postremission weekly high-dose asparaginase improves outcome	6	1984 First identification of immunophenotype-specific chromosomal translocations: t(11;14) in T-cell ALL and t(1;19) in pre-B ALL
7	1983 Intermediate-dose methotrexate with leucovorin rescue decreases systemic and testicular relapses	7	2002 First genome-wide profiling of gene expression
8	1991 Dexamethasone is more effective than prednisone in preventing CNS relapse	8	2007 First genome-wide study of changes in DNA copy number
9	1995 Inherited genetic polymorphisms in the gene encoding thiopurine methyltransferase influence mercaptopurine toxicity	9	2009 Germline genetic variants associated with the development of ALL
10	1998 Individualized methotrexate dose improves outcome	10	2009 Recognition of Philadelphia chromosome-like "Ph-Like" ALL
11	2009 Effective systemic and intrathecal chemotherapy can eliminate the need for prophylactic cranial irradiation in all patients; imatinib improves outcome in Philadelphia chromosome-positive ALL	11	2012 First whole-genome sequencing study to identify driver mutations in early T-cell precursor ALL
12	2013 First trial of chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy	12	2012 Use of next-generation sequencing to enhance detection of minimal residual disease
		13	2015 Whole genome analysis identified germline genetic mutations in predisposition genes

Εικόνα 13. Ορόσημα στην πΟΛΛ (αριστερά τα επιτεύγματα ορόσημα στη θεραπεία και αριστερά τα επιτεύγματα ορόσημα στην κατανόηση της βιολογίας της νόσου). Πολύ σημαντικό ότι τα τρία τελευταία επιτεύγματα στον τομέα της κατανόησης της νόσου αφορούν σε τεχνικές NGS. Αναπαραγωγή από (Heikamp and Pui, 2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η συμβολή της NGS στην πΟΛΛ

3.1 NGS και γενετικός χαρακτηρισμός της πΟΛΛ

Μια μεγάλη πρόσφατη μελέτη 906 περιστατικών πΟΛΛ από πρόωμα Β - κύτταρα με RNA-Seq κατέταξε τις BCP-ALL σε 14 κατηγορίες (Πίνακας 4). Οι υπότυποι με TCF3-PBX1 αναδιάταξη, με *ETV6-RUNX1* αναδιάταξη και ομοιάζουσα, με *DUX4* συντήξεις, με *ZNF384* συντήξεις και με υπερδιπλοειδία (> 50 χρωμοσώματα) συσχετίστηκαν με χαμηλό κίνδυνο, ενώ η υπερδιπλοειδία με ≤ 50 χρωμοσώματα και ο υπότυπος με *PAX5* και *CRLF2* συντήξεις ήταν ενδιάμεσου κινδύνου. Οι BCP-ALL υπότυποι με *MEF2D* συντήξεις, με *BCR-ABL1* αναδιάταξη και Ph-ομοιάζουσες, αλλά και με *KMT2A* συντήξεις προσδιορίστηκαν ως υψηλού κινδύνου. Τα παραπάνω δεδομένα συνηγορούν στην ένταξη της RNA-Seq στην κλινική πράξη, ώστε να προσδιορίζονται άμεσα οι ομάδες κινδύνου και συνεπώς να εξατομικεύεται η θεραπευτική προσέγγιση (Li *et al.*, 2018). Στην Εικόνα 14 αναπαρίστανται σχηματικά οι παραπάνω υπότυποι, ενώ στον Πίνακα 5 φαίνεται η κατηγοριοποίηση του κινδύνου στην πΟΛΛ όπως εφαρμόζεται σήμερα από τα περισσότερα πρωτόκολλα.

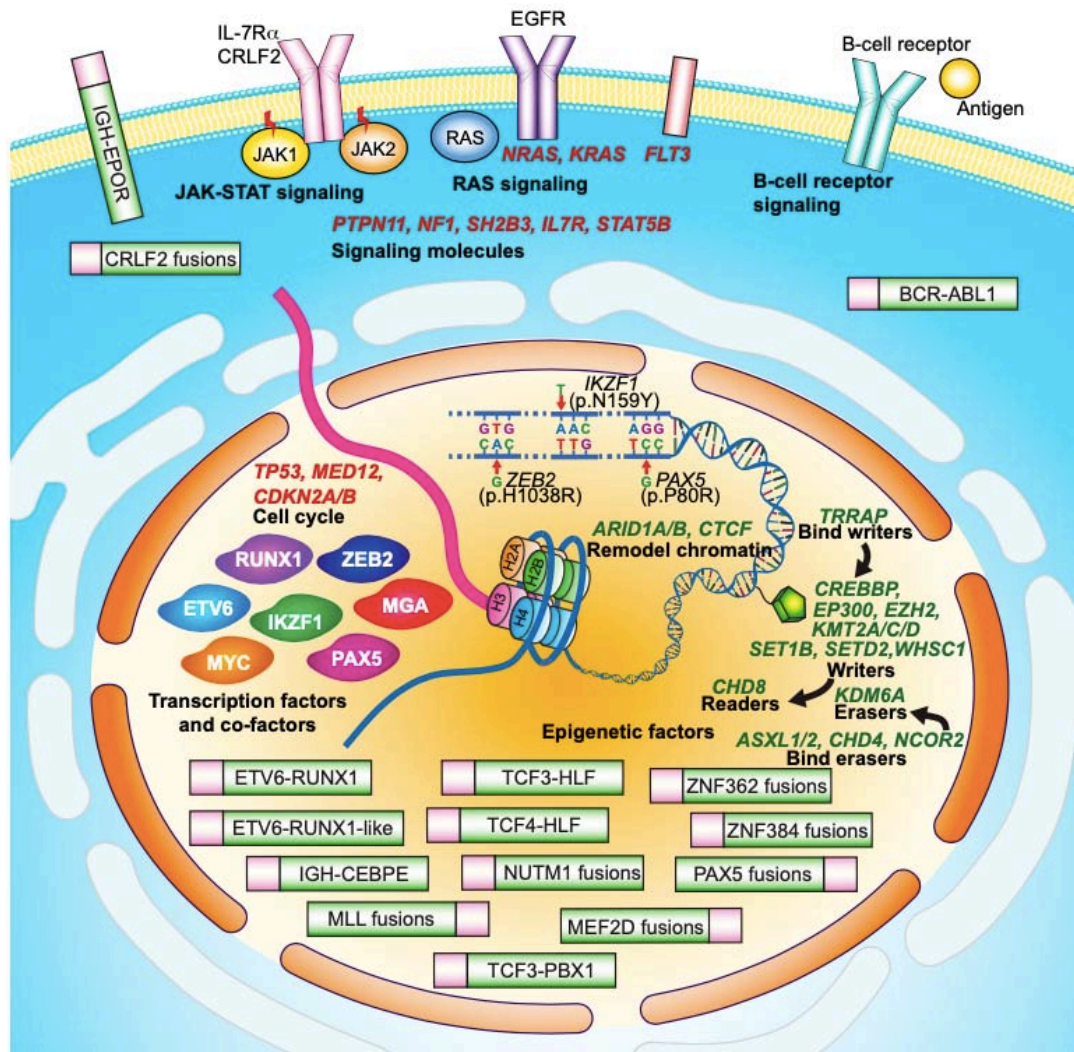
Πίνακας 4. Υπότυποι πΟΛΛ από πρόωμα Β κύτταρα με βάση το μεταγράφομα.

Προσαρμοσμένος από (Li *et al.*, 2018).

Υπότυπος BCP-ALL	Ποσοστό στο δείγμα	Συχνότερα μεταλλαγμένα γονίδια (% εντός του υπότυπου)
Υπερδιπλοειδία	33 %	<i>NRAS</i> (19 %), <i>KRAS</i> (18 %), <i>FLT3</i> (13 %), <i>PTPN11</i> (8 %), <i>KMT2D</i> (7 %), <i>CREBBP</i> (6 %)
<i>BCR-ABL1</i> αναδιάταξη και Ph-ομοιάζουσα	14 %	<i>BCR-ABL1</i> (31 %), <i>IGH-CRLF2</i> (10 %), <i>JAK2</i> συντήξεις (10 %), <i>ABL1</i> συντήξεις (7 %), <i>IGH-EPOR</i> (7 %), <i>P2RY8-CRLF2</i> (5 %), <i>JAK2</i> (7 %), <i>KRAS</i> (6 %), <i>RUNX1</i> (5 %)

<i>ETV6-RUNX1</i> αναδιάταξη και ομοιάζουσα	13 %	<i>ETV6-RUNX1</i> (82 %), <i>WHSC1</i> (9 %), <i>KRAS</i> (7 %), <i>NRAS</i> (6 %)
<i>PAX5</i> και <i>CRLF2</i> συντήξεις	9 %	<i>NRAS</i> (23 %), <i>KRAS</i> (23 %), <i>P2RY8-CRLF2</i> (12 %), <i>PAX5</i> (12 %), <i>FLT3</i> (11 %), <i>JAK1</i> (8 %), <i>PAX5-NOLAL</i> (8 %), <i>PAX5-AUTS2</i> (6 %),
<i>TCF3-PBX1</i> αναδιάταξη	6 %	<i>TCF3-PBX1</i> (100 %), <i>TP53</i> (8 %)
<i>ZNF384</i> συντήξεις	6 %	<i>EP300-ZNF384</i> (53 %), <i>FLT3</i> (14 %), <i>PTPN11</i> (14 %), <i>NRAS</i> (14 %), <i>KRAS</i> (12 %), <i>TCF3-ZNF384</i> (12 %), <i>TAF15-ZNF384</i> (11 %), <i>SETD1B</i> (9 %), <i>ZEB2</i> (8 %), <i>EZH2</i> (8 %), <i>KMT2D</i> (7 %), <i>SMARCA2-ZNF362</i> (4 %)
<i>DUX4</i> συντήξεις	5 %	<i>DUX4-IGH</i> (78 %), <i>NRAS</i> (30 %), <i>MYC</i> (11 %), <i>TP53</i> (11 %), <i>PTPN11</i> (11 %), <i>KMT2D</i> (11 %), <i>CTCF</i> (8 %), <i>FLT3</i> (8 %), <i>PAX5</i> (8 %)
<i>KMT2A</i> συντήξεις	5 %	<i>KMT2A-AFF1</i> (29 %), <i>KMT2A-MLLT1</i> (25 %), <i>NRAS</i> (14 %), <i>KRAS</i> (13 %), <i>KMT2A-MLLT3</i> (13 %), <i>FLT3</i> (7 %)
<i>MEF2D</i> συντήξεις	3 %	<i>MEF2D-BCL9</i> (67 %), <i>MEF2D-HNRNPUL1</i> (21 %), <i>NRAS</i> (13 %), <i>KMT2A</i> (10 %)
<i>PAX5</i> (p.P80R) μετάλλαξη	2 %	<i>PAX5</i> (96 %), <i>PTPN11</i> (26 %), <i>NRAS</i> (22 %), <i>KRAS</i> (17 %), <i>FLT3</i> (13 %), <i>IL7R</i> (9 %), <i>SETD2</i> (9 %)
<i>NUTM1</i> συντήξεις	2 %	<i>NUTM1</i> συντήξεις (30 %), <i>TP53</i> (15 %), <i>CREBBP</i> (15 %), <i>KRAS</i> (10 %), <i>KMT2D</i> (10 %), <i>SETD1B</i> (10 %)
<i>TCF3/4-HLF</i> αναδιάταξη	< 1 %	<i>TCF3/4-HLF</i> (64 %), <i>KRAS</i> (18 %), <i>NRAS</i> (9 %), <i>ZEB2</i> (9 %), <i>ASXL2</i> (9 %)

<i>ZEB2</i> (p.H1038R) μετάλλαξη ή/και <i>IGH-CEBPE</i> αναδιάταξη	< 1 %	<i>ZEB2</i> (75 %), <i>NRAS</i> (62 %), <i>KMT2D</i> (25 %), <i>KRAS</i> (12 %), <i>KMT2A</i> (12 %), <i>CDKN2A</i> (12 %)
<i>IKZF1</i> (p.N159Y) μετάλλαξη	< 1 %	<i>IKZF1</i> (100 %), <i>KRAS</i> (17 %), <i>KMT2D</i> (17 %)



Εικόνα 14. Σχηματική αναπαράσταση των διάφορων ανωμαλιών που οδηγούν σε λευχαιμογένεση στη BCP-ALL. Οι τρεις σημειακές μεταλλάξεις που καθορίζουν τους αντίστοιχους υπότυπους πΟΛΛ (*ZEB2* p.H1038R, *IKZF1* p.N159Y και *PAX5* p.P80R) εδράζονται στις περιοχές που προσδένεται το DNA. Μεταλλάξεις σε επιγενετικούς ρυθμιστές, όπως στα *KMT2D* και *WHSC1* αναγράφονται με πράσινο, οι μεταλλάξεις σε μεταγραφικούς παράγοντες (όπως στα *IKZF1* και *PAX5*) απεικονίζονται αριστερά στον πυρήνα και πλησίον της αλυσίδας DNA, ενώ οι μεταλλάξεις σε ρυθμιστές του

κυτταρικού κύκλου απεικονίζονται στο κορυφαίο αριστερό τμήμα του πυρήνα με κόκκινο. Οι μεταλλάξεις σε σηματοδοτικά μονοπάτια (JAK-STAT, Ras και υποδοχέων B-κυττάρων) απεικονίζονται κάτω από την επιφανειακή μεμβράνη του κυττάρου επίσης με κόκκινο. Τα γονίδια επιγενετικών ρυθμιστών που τροποποιούν ιστόνες κατηγοριοποιούνται ως συγγραφείς (πρωτεΐνες που προσθέτουν επιγενετικές τροποποιήσεις), διαγραφείς (πρωτεΐνες που διαγράφουν επιγενετικές τροποποιήσεις), αναγνώστες (πρωτεΐνες που αναγνωρίζουν επιγενετικές αλλαγές) και αναδιαμορφωτές της χρωματίνης. Αναπαραγωγή από (Li *et al.*, 2018).

Πίνακας 5. Η ισχύουσα κατάταξη των πΟΛΛ ως χαμηλού ή υψηλού κινδύνου για καθορισμό της θεραπείας στα περισσότερα πρωτόκολλα και οι αναγνωρισμένοι προδιαθεσικοί παράγοντες. Προσαρμοσμένος από Malard and Mohty, 2020.

	Χαμηλού κινδύνου	Υψηλού κινδύνου
Δημογραφικά χαρακτηριστικά		
Ηλικία	1 έτους ως 10 ετών	< 1 έτος ή ≥ 10 ετών
Φύλο	Θήλυ	Άρρεν
Φυλή και εθνικότητα	Λευκοί, Ασιάτες	Αφρικανοί, Λατινοαμερικάνοι
Κλινικά, βιολογικά και γενετικά χαρακτηριστικά		
Συμμετοχή ΚΝΣ	Όχι	Ναι
Λευκά αιμοσφαίρια κατά τη διάγνωση	< 50 × 10 ⁹ / L για τη Β-ΟΛΛ και < 100 × 10 ⁹ / L για την Τ-ΟΛΛ	≥ 50 × 10 ⁹ / L για τη Β-ΟΛΛ και ≥ 100 × 10 ⁹ / L για την Τ-ΟΛΛ
Ανοσοφαινότυπος	Β-κυτταρικής αρχής	Τ-κυτταρικής αρχής
Κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά	Υπερδιπλοειδία, <i>ETV6-RUNX</i> αναδιάταξη, <i>TCF3-PBX1</i> αναδιάταξη, τρισωμία των χρωμοσωμάτων 4, 10 ή 17	Υποδιπλοειδία, <i>BCR-ABL1</i> με χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας, <i>MLL</i> αναδιατάξεις, <i>TCF3-HLF</i> , αναδιάταξη, καρυότυπος με ≥5 χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Γενετικά χαρακτηριστικά	<i>DUX4</i> -αναδιάταξη με διαγραφή <i>ERG</i>	Διαγραφή ή μετάλλαξη στο <i>IKZF1</i> , Ph-ομοιάζουσα πΟΛΛ, <i>MEF2D</i> -αναδιάταξη
Απάντηση στη θεραπεία		
MRD σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές	Χαμηλή MRD με $< 10^{-3}$ καρκινικά κύτταρα ή μη ανιχνεύσιμη	MRD με $\geq 10^{-3}$ κύτταρα (όσο υψηλότερα, τόσο πτωχότερη η πρόγνωση)
Προδιαθεσικοί παράγοντες πΟΛΛ		
Γενετική προδιάθεση: συγγενή σύνδρομα (σύνδρομο Down, αναμία Fanconi, αταξία τηλαγγειεκτασία, σύνδρομο Bloom, σύνδρομο Nijmegen), κληρονομούμενα αλληλόμορφα <i>ARID5B</i> , <i>IKZF1</i> , <i>CEBPE</i> , <i>CDKN2A</i> ή <i>CDKN2B</i> , <i>PIP4K2A</i> και <i>ETV6</i> , μετάθεση κατά Robertson μεταξύ των χρωμοσωμάτων 15 και 21 rob(15;21)(q10;q10), οι πολυμορφισμοί rs12402181 στο miR-3117 και rs62571442 στο miR-3689d2. Περιβαλλοντικοί παράγοντες: έκθεση σε παρασιτοκτόνα, ιονίζουσα ακτινοβολία, λοιμώξεις στην παιδική ηλικία.		

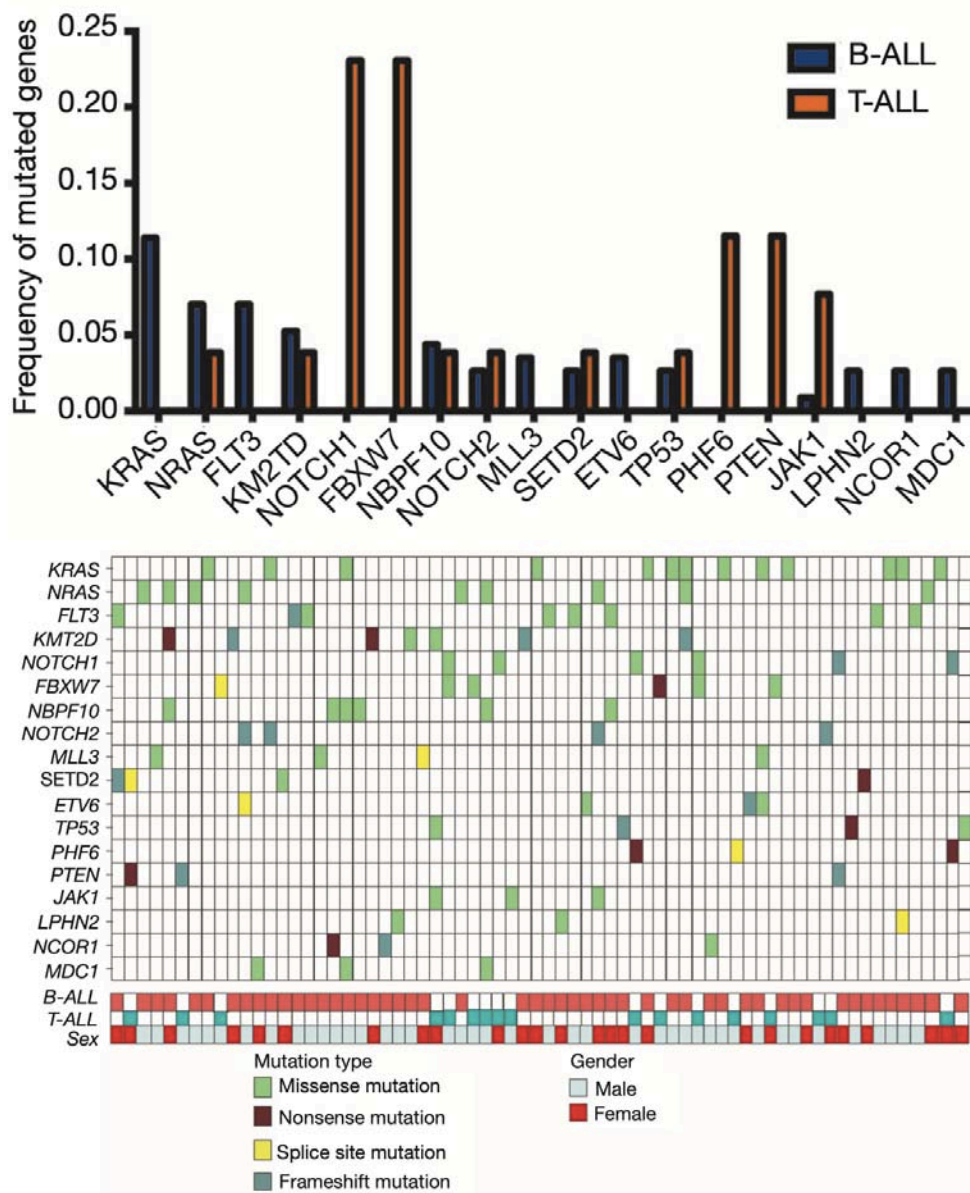
Μελετώντας 89 περιπτώσεις παιδιών με BCP-ALL στις οποίες δε βρέθηκε γονιδιακή σύντηξη με τις καθιερωμένες συμβατικές τεχνικές, με την τεχνική RNA-Seq εντοπίστηκαν σε 38 από τις 89 περιπτώσεις 26 συντήξεις γονιδίων. Οι 16 από τις 26 συντήξεις που εντοπίστηκαν έχουν προγνωστική αξία στην πΟΛΛ καθώς εμπλέκουν γονίδια λευχαιμογένεσης (*KMT2A*, *JAK2* και *PAX5*), ενώ συντήξεις που εντοπίστηκαν για πρώτη φορά, όπως η t(2;9)/*ZEB2-JAK2* και η t(9;17)/*MPRIP-JAK2* φαίνονται να επιδέχονται θεραπείας με JAK/STAT αναστολείς, ένα πολύ σημαντικό εύρημα για την εξατομίκευση της θεραπείας. Στην παρούσα μελέτη και για τρίτη φορά στη βιβλιογραφία καταγράφηκε η σύντηξη *NUP214-ABL1*, ενώ ταυτοποιήθηκαν 17 ενδοχρωμοσωματικές συντήξεις γονιδίων, οι οποίες είτε έχουν μετάγραφα που προκύπτουν από γνωστά γονίδια λευχαιμογένεσης (*IKZF1-DDC*, *P2RY8-CRLF2*, *KMT2A-USP2*, *MLLT10-KMT2A*) ή ίδιας κατηγορίας γονίδια που είναι επιρρεπή σε διαγραφές και έχουν προγνωστική αξία (όπως τα *IKZF1* και *KMT2A*). Να σημειωθεί ότι στις ενδοχρωμοσωματικές αυτές συντήξεις συμπεριλαμβάνονται και συντήξεις (όπως οι *PSPC1-ZMYM2*, *DOTIL-OAZ1*, *RBI-RCBTB2* και *ARHGAP26-NR3C1*) που έχουν καταγραφεί στο παρελθόν σε υγιείς πληθυσμούς. Η μελέτη αυτή με RNA-Seq

είναι η απόδειξη πως στο μέλλον μπορεί να χαρτογραφηθεί γενετικά ακόμα και το 100 % των πΟΛΛ (Grioni *et al.*, 2019). Μια ακόμα περίπτωση *NUP214-ABL1* σύντηξης σε ένα 7χρονο αγόρι με Τ-ΟΛΛ και που προσδιορίστηκε με WES εμφάνισε φυσιολογική δραστηριότητα του *ABL1*, υποδηλώνοντας ότι η απορρύθμιση του *ABL1* δεν είναι απαραίτητη στη λευχαιμογένεση, αλλά σχετίζεται με χημειοαντίσταση και υπέρμετρη αύξηση του λευχαιμικού κλώνου. Να σημειωθεί πως η σύντηξη αυτή είναι κοινή στη Β-ΟΛΛ και πως γενικώς επιδέχεται θεραπείας με TKIs πέραν την κυτταροτοξικής ΧΜΘ που επιβάλλεται (Tsurusaki *et al.*, 2020).

Στο ίδιο πλαίσιο με την προαναφερθείσα βιβλιογραφία, μια πρόσφατη μελέτη 126 περιπτώσεων πΟΛΛ με RNA-Seq κατάφερε να εντοπίσει το 86% των αναδιατάξεων που εντοπίζονται από τις σύγχρονες συμβατικές τεχνικές, αδυνατώντας κυρίως να ταυτοποιήσει τις *KMT2A (MLL)* αναδιατάξεις πιθανότατα λόγω χαμηλής έκφρασης. Αντίθετα, καταγράφηκαν αναδιατάξεις σε 9 ασθενείς, στους οποίους οι συμβατικές τεχνικές δε μπόρεσαν να εντοπίσουν τη γενετική βλάβη. Πλεονεκτήματα της συγκεκριμένης RNA-Seq τεχνικής είναι η λεπτομερής μελέτη των διαγραφών στο *IKZF1* και η πιο ολοκληρωμένη ταξινόμηση των Ph-ομοιοζουσών πΟΛΛ ασθενών βάσει έκφρασης. Συν τοις άλλοις, καταγράφηκαν πολλές νέες περιπτώσεις σύντηξης γονιδίων στις Τ-ΟΛΛ, θέτοντας νέους θεραπευτικούς στόχους και συμβάλλοντας στην κατανόηση της βιολογίας της νόσου (Εικόνα 15). Στις περιπτώσεις Β-ΟΛΛ ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανίχνευση της *PAX5-LINC01400* αναδιάταξης σε υπερδιπλοειδία, η ανίχνευση της *PAX5-ARHGAP22* αναδιάταξης σε περίπτωση υψηλής υποδιπλοειδίας, και οι συντήξεις *SFPQ-ABL1*, *SNX2-ABL1*, *ETV6-CLN6*, *ETV6-MDH2*, *ETV6-ATP5SL*, *CHST11-VPS8*, *IKZF1-CEP170* και *PAX5-MSMP* με RNA-Seq. Για τις περιπτώσεις Τ-ΟΛΛ η RNA-Seq βοήθησε στον εντοπισμό των αναδιατάξεων *ETV6-CRX*, *PTEN-ATAD1*, *JADE3-BCOR*, *TCF7-CSF1R* και *TP53-WDR7*, που οι αναφορές τους στη βιβλιογραφία είναι περιορισμένες (Brown *et al.*, 2020).

Μια ακόμα NGS μελέτη κατάφερε να ανιχνεύσει συντήξεις γονιδίων μόλις στο 39% του δείγματος 134 ασθενών με ΟΛΛ, παρόλο που αναφέρθηκαν νέες συντήξεις: Η *STIL-TAL1* σύντηξη σε περίπτωση T -ΟΛΛ, η *ZC3HAV1-ABL2* σύντηξη σε περίπτωση Ph-ομοιάζουσας ΟΛΛ, οι *FNDC3B-BCL6* και *FOXP1-NF2* συντήξεις σε γονίδια που αναφέρθηκαν για πρώτη φορά, οι συντήξεις *ETV6-EIF4B* και *POU2F1-PDGFR* γνωστών γονιδίων με νέους εταίρους κατά τη μετατόπιση, αλλά και η σπάνια σύντηξη *TFG-GPR128* (Kim *et al.*, 2020).

Ο καθορισμός του γενετικού προφίλ των περιπτώσεων πΟΛΛ μπορεί να προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για την πρόγνωση και τη θεραπεία. Σε μια μελέτη 140 παιδιών με ΟΛΛ από την Κίνα και με τη βοήθεια NGS διαπιστώθηκαν 18 γονίδια που απαντώνται συχνά με μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις στα *SETD2* και *TP53* φάνηκε να επισυμβαίνουν περισσότερο στα κορίτσια ($p = 0,041$), ενώ οι μεταλλάξεις σε *NOTCH1* και *SETD2* σχετίστηκαν με υψηλά λευκά αιμοσφαίρια ($\geq 50 \times 10^9 / L$) κατά τη διάγνωση ($p = 0,047$ και $p = 0,041$ αντίστοιχα), ενώ τα παιδιά με *JAK1* μεταλλάξεις είχαν υψηλότερες τιμές MRD στις ημέρες 19 και 46 μετά την έναρξη της εισαγωγικής θεραπείας ($\geq 1\%$ με $p = 0,039$ για την ημέρα 19 και $\geq 0,01\%$ με $p = 0,031$ για την ημέρα 46). Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε πως τα λευκά αιμοσφαίρια $\geq 50 \times 10^9 / L$ κατά τη διάγνωση, οι αναδιατάξεις του *MLL* και οι μεταλλάξεις του *TP53* είναι ανεξάρτητοι και σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για την τριετή επιβίωση χωρίς υποτροπή. Επιπλέον, οι μεταλλάξεις *TP53*, η ηλικία κάτω του έτους ή άνω των 10 ετών και οι αναδιατάξεις του *MLL* συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με πτωχή πρόγνωση στη Β-ΟΛΛ. Σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες, η Τ-ΟΛΛ στα παιδιά σχετίστηκε με μεγαλύτερο ποσοστό υποτροπών από τη Β -ΟΛΛ (23,1%), αλλά και συχνές μεταλλάξεις στα *NOTCH1*, *FBXW7* και *PHF6* (Zhang *et al.*, 2019). Στην Εικόνα 16 φαίνονται οι μεταλλάξεις που εντοπίστηκαν συγκριτικά σε Β- και Τ-ΟΛΛ με την κατανομή τους.



Εικόνα 16. Συχνότητα των παρατηρούμενων μεταλλάξεων σε B- και T-ΟΛΛ (πάνω) και (κάτω heatmap) χάρτης των γενετικών αλλαγών ανάλογα με τον τύπο της μετάλλαξης και ανά ασθενή (Zhang *et al.*, 2019).

Πρόσφατα μελετήθηκαν με NGS τα δείγματα 240 περιπτώσεων πΟΛΛ πριν τη θεραπεία και μετά την επίτευξη ύφεσης (Ding *et al.*, 2017). Τα συνηθέστερα μεταλλαγμένα γονίδια ανήκαν σε συγκεκριμένες κατηγορίες: [α] Ras σηματοδοτικό μονοπάτι/υποδοχείς τυροσινικών κινασών (ή RAS-RTK οδός με ογκογόνες ενεργοποιητικές μεταλλάξεις σε *NRAS* και *KRAS*, αλλά και απενεργοποιητικές μεταλλάξεις στο *NF1* που αποτελεί αρνητικό ρυθμιστή της Ras οδού, ενεργοποιητικές

μεταλλάξεις στο *PTPN11* που κωδικοποιεί φωσφατάση που παίζει ρόλο νωρίς στη σηματοδοτική αυτή οδό, ογκογόνες ενεργοποιητικές μεταλλάξεις στο *FLT3* επιφανειακού RTK, μεταλλάξεις στα γονίδια υποδοχέων κυτοκινών και κινασών *PDGFRA*, *KIT*, *IL7R* και *CSF3R*, αλλά και στα γονίδια των κινασών που έπονται στο ίδιο μονοπάτι *JAK1*, *JAK2* και *JAK3*, μεταλλάξεις στα *CBL* και *CBLB* αρνητικών ρυθμιστών ενδοκύττωσης και αποδόμησης των RTKs), [β] επιγενετικοί ρυθμιστές (απενεργοποιητικές μεταλλάξεις των πιθανών ογκοκατασταλτικών γονιδίων *MLL* ή *KMT2A*, *MLL2* ή *KMT2D* και *MLL3* ή *KMT2C*, μεταλλάξεις στο *WHSC1* της μεθυλοτρανσφεράσης της ιστόνης H3K36, μεταλλάξεις στις ακετυλοτρανσφεράσες *CREBBP* και *EP300*, μεταλλάξεις *ARID1A*, *ARID2*, *SMARCA4* και *ATRX* που εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης στο SWI/SNF σύμπλοκο, μεταλλάξεις στα *ASXL1*, *ASXL2* και *ASXL3*, μεταλλάξεις στο σύμπλεγμα με μορφή κτένας ή polycomb στα *EZH2*, *EED* και *SUZ12*, μεταλλάξεις σε πρωτεΐνες που τροποποιούν τη δομή χρωματίνης/νουκλεασώματος *CHD2*, *CHD3* και *CHD4*, μεταλλάξεις στα γονίδια *TET1* και *TET2* των πρωτεϊνών της οικογένειας, μεταλλάξεις σε γονίδια τροποποίησης των ιστονών *HDAC1*, *SIRT1*, *BCOR*, *BRD8*, *PHF2/KDM6A* της απομεθυλάσης της λυσίνης και *KAT6B* HAT), [γ] μεταγραφικοί παράγοντες ειδικοί της κυτταρικής σειράς (μεταλλάξεις στα *PAX5*, *ETV6*, *IKZF2*, *IKZF3*, *EBF1*, *WT1*, *RUNX2*, *RUNX1*, *ERG1*, *GATA1/3* και *CTCF*) και [δ] μονοπάτι p53/κυτταρικού κύκλου (μεταλλάξεις στα *TP53* και *ATM*, στα γονίδια κινασών που ρυθμίζουν τις δράσεις της p53 *HIPK1* και *HIPK2*, στο γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα των B-κυττάρων *BACH2* που καταστέλλει τη μετατροπή των B-κυττάρων ενεργοποιώντας την p53, αλλά και μεταλλάξεις στο *CDKN2A*). Επιπλέον, εντοπίστηκαν σημεία επαναλαμβανόμενων μεταλλάξεων στους επιγενετικούς ρυθμιστές *CREBBP* (R1446C/H), *WHSC1* (E1099K) και στην τυροσινική κινάση *FLT3* (K663R, N676K). Μάλιστα, το μεταλλαγμένο *WHSC1* επιβεβαιώθηκε ως ογκογονίδιο με αύξηση της έκφρασής του, ενώ αντίθετα ο επιγενετικός ρυθμιστής *ARID1A* και ο μεταγραφικός παράγοντας *CTCF* αναγνωρίστηκαν ως ογκοκατασταλτικά γονίδια (Ding *et al.*, 2017).

Σε συμφωνία με τις προαναφερθείσες μελέτες, έρευνα 140 ασθενών με πΟΛΛ από την Κίνα και NGS κατέληξε σε παρόμοια αποτελέσματα. Τα πιο συχνά μεταλλαγμένα ογκογονίδια (> 5%) συνολικά ήταν τα *KRAS* (8,76 %), *NRAS* (6,4%), *FLT3* (5,7%) και *KMT2D* (5%). Στη Β-ΟΛΛ προεξάρχουν οι μεταλλάξεις στα *KRAS*, *NRAS* και *FLT3*, ενώ στην Τ-ΟΛΛ ξεχωρίζουν οι μεταλλάξεις *NOTCH1* (23,1 %), *FBXW7* (23,1%) και *PHF6* (11,5%). Όπως έχει ήδη αναλυθεί, τα γονίδια αυτά

ενέχονται στη Ras σηματοδοτική οδό, στη Notch σηματοδότηση, στην επιγενετική τροποποίηση και στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Το ενδιαφέρον εύρημα είναι ότι σε πάνω από τις μισές περιπτώσεις πΟΛΛ με υψηλή υπερδιπλοειδία καταγράφηκαν μεταλλάξεις στη Ras σηματοδοτική οδό και δη στο *FLT3* (20%). Επίσης, το γονίδιο του επιγενετικού τροποποιητή *KMT2D*, που βρίσκεται συχνά μεταλλαγμένο στην πΟΛΛ, φαίνεται πως εμπλέκεται στη λευχαιμική μετατροπή σύμφωνα *in vitro* μελέτες (H. Zhang *et al.*, 2020).

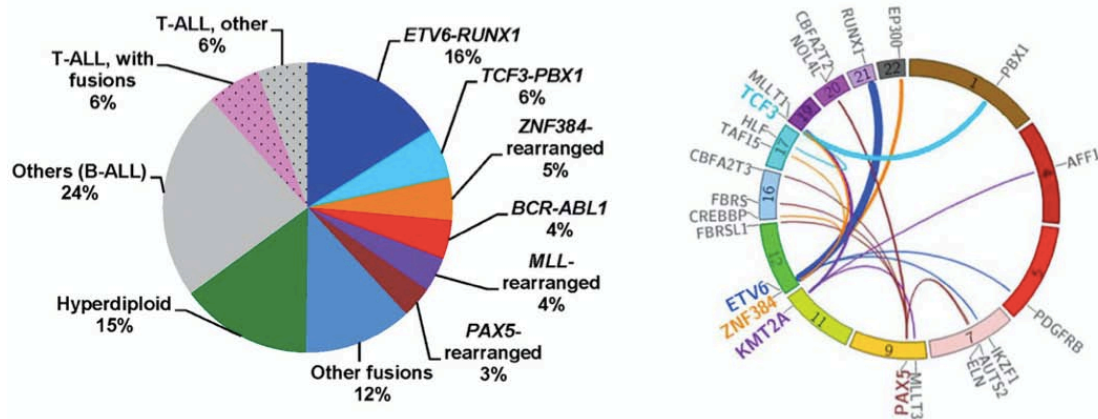
Σε μια μελέτη 111 παιδιών με Β-ΟΛΛ από την Κίνα (με WGS, WES, RNA-Seq) ανιχνεύθηκαν για πρώτη φορά 13 σπάνια απαντώμενες συντήξεις γονιδίων: *FUS-ERG*, *KDM4B-CUL2*, *PIM3-SLC7A5*, *PIM3-METRNL*, *PQLC1-CTDP1*, *SMARCA2-ZNF362*, *HNRNPU-ZBTB18*, *PTBP1-TMEM259*, *MBP-TGIF1*, *UBA2-PPP1R36*, *HINT2-NPR2*, *PRC1-KIF7*, *CDK1-DGKH* (πέραν των συντήξεων *MLL-MLLT3*, *PAX5-AUTS2*, *PAX5-CBFA2T3*, *EBF1-JAK2*, *ACIN1-NUTM1*, *RUNX1-GART*, *CD74-PDGFRB* και άλλων, που περιγράφονται στον Πίνακα 1). Από την RNA-Seq επιβεβαιώθηκε ότι οι συντήξεις των *MEF2D* and *ZNF384* με άλλα γονίδια οδηγούν σε λευχαιμογένεση, με τις *MEF2D* συντήξεις να συνδέονται με πολύ πτωχή πρόγνωση. Επιπλέον, οι σωματικές μεταλλάξεις ήταν σημαντικά λιγότερες στα παιδιά σε σχέση με τους ενήλικες ($p < 0,004$), ενώ οι μεταλλάξεις στα παιδιά υπερτερούσαν σχετικά όσον αφορά στα γονίδια *PTPN11*, *NRAS*, *KRAS*, *ZFH4*, *BRAF*, *CHD4* και *USH2A* (Liu *et al.*, 2016).

Η μελέτη των *TCF3/PBX1* συντήξεων σε 22 παιδιά με Β-ΟΛΛ με την NGS μέθοδο MPseq (mate-pair sequencing) φάνηκε να υπερτερεί σημαντικά σε σχέση με τη συμβατική D-FISH (διπλής χρωστικής και διπλής σύντηξης FISH), αποκαλύπτοντας κρυπτικές συντήξεις, αλλά και μέχρι πρότινος άγνωστες συντήξεις του *TCF3*. Με την MPseq 13 παιδιά (59%) βρέθηκαν με την κλασική μετάθεση *TCF3/PBX1* (περιλαμβάνοντας 3 περιπτώσεις που δεν είχαν εντοπιστεί με FISH), 6 παιδιά βρέθηκαν με σύντηξη *TCF3/ZNF384*, ενώ οι μεταθέσεις *TCF3/HLF*, *TCF3/FLI1* και *TCF3/TEF* τη συμβολή των NGS τεχνικών στη μελέτη «άγνωστων» μέχρι πρότινος μεταθέσεων και στην κατηγοριοποίηση της πΟΛΛ (Rowsey *et al.*, 2019). Σε συμφωνία με την προηγούμενη έρευνα, μια NGS μελέτη 5 παιδιών με την πτωχής πρόγνωσης *TCF3-HLF* μετατόπιση και 5 παιδιών με την καλής πρόγνωσης *TCF3-PBX1* μετατόπιση ανέδειξε διαφορές στη μεθυλίωση σε πάνω από 7000 CpG περιοχές μεταξύ των δύο υποτύπων, με 78% χαμηλότερα επίπεδα μεθυλίωσης στην επικίνδυνη *TCF3-HLF* σύντηξη. Στην ίδια μελέτη, 23 γονίδια βρέθηκαν με σαφώς διαφοροποιημένη έκφραση

και με αρνητική συσχέτιση με τις καταγραφόμενες CpG περιοχές, εμπλέκοντας κυρίως οδούς της ανάπτυξης του νευρικού συστήματος, της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, του κυτταρικού κύκλου και μεταβολικές οδούς, όπως αυτή της λιπόλυσης και της σηματοδότησης της ινσουλίνης. Τα υπομεθυλωμένα και υπερεκφρασμένα γονίδια *KBTBD11*, *MMP25*, *PDE3B*, *TFDP1*, *DLC1*, *ITPRIPL2* και *MDFIC* φαίνεται να συμβάλουν στην πτωχή πρόγνωση της *TCF3-HLF* σύντηξης (Kachroo *et al.*, 2018).

Σε μια μελέτη 32 παιδιών με *IGH-DUX4* συντήξεις και 24 παιδιών με *IGH-CRLF2* συντήξεις και Β-ΟΛΛ διαπιστώθηκε μέσω WGS, ChIP-Seq, ATAC-Seq και RNA-Seq ότι οι αλλαγές αυτές στο γονίδιο της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών αποτελεί πρώιμο γεγονός στη λευχαιμογένεση. Το *DUX4* κωδικοποιεί μεταγραφικό παράγοντα που είναι ενεργός μόνο σε μεγάλη χαλάρωση της χρωματίνης ή βλάβη των αναστολέων του, οπότε η μετατόπισή του στον ενισχυτή του πρωτο-ογκογονιδίου *IGH* επάγει την παράταιρη ενεργοποίησή του, ενώ το αποσιωπημένο πλέον *IGH* μειώνει ο ογκογεννητικό στρες της υπερέκφρασης του *DUX*. Η παρατήρηση αυτή θέτει ως στόχο θεραπείας το *DUX4*, καθώς οι συντήξεις *IGH-DUX4* αφορούν στο 7% των πΟΛΛ από Β-κύτταρα (Tian *et al.*, 2019).

Η παρουσία χρωμοσωμικών μεταθέσεων αποτελεί συχνά ορόσημο της πΟΛΛ με πρωτεΐνες που προκύπτουν από γονίδια σύντηξης και οδηγούν πρώιμα σε λευχαιμογένεση κωδικοποιώντας είτε μεταγραφικούς παράγοντες της αιμοποίησης, είτε σηματοδοτικά μόρια που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και πολλαπλασιασμό. Εν αντιθέσει, οι αλλαγές στους επιγενετικούς ρυθμιστές είναι συνήθως απότοκοι σωματικών μεταλλάξεων και παρουσιάζονται ως δευτερεύοντα γεγονότα στη λευχαιμογένεση. Μελέτη αλληλούχησης του μεταγραφώματος και WES 231 παιδιών με νεοδιαγνωσθείσα ΟΛΛ αναγνώρισε 58 γονίδια σύντηξης στο 54,1% των ασθενών (Εικόνα 17). Έμφαση δόθηκε στον πρόσφατα αναγνωρισμένο υπότυπο ΟΛΛ από αναδιάταξη του *ZNF384* γονιδίου με τα *EP300* και *CREBBP* που εκφράζουν ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών. Στις περιπτώσεις αυτές, μάλιστα, παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης των *CLCF1* και *BTLA*, ενώ τα προαναφερθέντα προϊόντα σύντηξης επήγαγαν ακόμα περισσότερο σε σχέση με το φυσιολογικό *ZNF384* τη μεταγραφή των γονιδίων αυτών *in vitro*. Και οι δύο μετατοπίσεις προκαλούν απώλεια της δραστηριότητας ακετυλο-τρανσφεράσης της λυσίνης των ιστονών με ταυτόχρονη μείωση της ακετυλίωσης των ιστονών και αύξηση της ευαισθησίας των λευχαιμικών κυττάρων σε HDACi αναστολείς αποακετυλασών των ιστονών (Qian *et al.*, 2017).



Εικόνα 17. Αλληλούχηση μεταγραφώματος σε 231 παιδιά με ΟΛΛ. Αριστερά τα ποσοστά των συντήξεων και κυτταρογενετικών ανωμαλιών που ταυτοποιήθηκαν. Δεξιά κυκλικό διάγραμμα των γονιδίων που εμπλέκονται συχνότερα (> 3 περιπτώσεις) σε αναδιατάξεις (Qian *et al.*, 2017).

Παραλλαγές των NGS τεχνικών έχουν επίσης εφαρμοστεί στην πΟΛΛ με σκοπό την αύξηση της ακρίβειας. Μια WGS μελέτη με συνδυασμένες αναγνώσεις (linked-read WGS) σε 12 παιδιά με πΟΛΛ κατάφερε να εντοπίσει τις γενετικές αλλαγές σε όλες τις περιπτώσεις, ακόμα και στους τρεις ασθενείς που βρέθηκαν με φυσιολογικό γενετικό υπόβαθρο με τις συμβατικές μεθόδους (μια υπερδιπλοειδία και όλες οι *DUX4-IGH* συντήξεις) . Υψηλή υπερδιπλοειδία καταγράφηκε σε τρεις περιπτώσεις, σε δύο περιπτώσεις σημειώθηκε $t(12;21)$ μετάθεση με *ETV6-RUNX1* σύντηξη και *DUX4-IGH* αναδιάταξη, ενώ από μία φορά καταγράφηκαν η *BCR-ABL1* σύντηξη, η *TCF3-ZNF384* σύντηξη, η *EP300-ZNF384* σύντηξη, η *PAX5-ELN* σύντηξη και η εντοπιζόμενη σε Τ-ΟΛΛ *RIC3-TRBC2* σύντηξη. Με τα παραπάνω αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό ότι η βελτιστοποίηση των NGS τεχνικών θα μπορεί στο μέλλον να χαρακτηρίζει γενετικά ένα ποσοστό που θα προσεγγίζει το 100 % των περιπτώσεων πΟΛΛ (Nordlund *et al.*, 2020).

Η μονογονεϊκή δισωμία (ολόκληρου χρωμοσώματος ή τμηματικές) αποτελούν χαρακτηριστικό των κακοηθειών του μυελού των οστών. Μια WES μελέτη 25 παιδιών με BCP-ALL εντόπισε 34 παθολογικές ομόζυγες σωματικές μονογονεϊκές δισωμίες σε 32 γονίδια, αλλά τα αποτελέσματα αυτά αφορούσαν μόλις στο 24% του δείγματος με μεγαλύτερη χρησιμότητα μεταξύ των αχαρακτήριστων γενετικά Β-ΟΛΛ περιπτώσεων, παρά μεταξύ των υπόλοιπων καθιερωμένων υποομάδων. Αναλυτικά, οι μονογονεϊκές

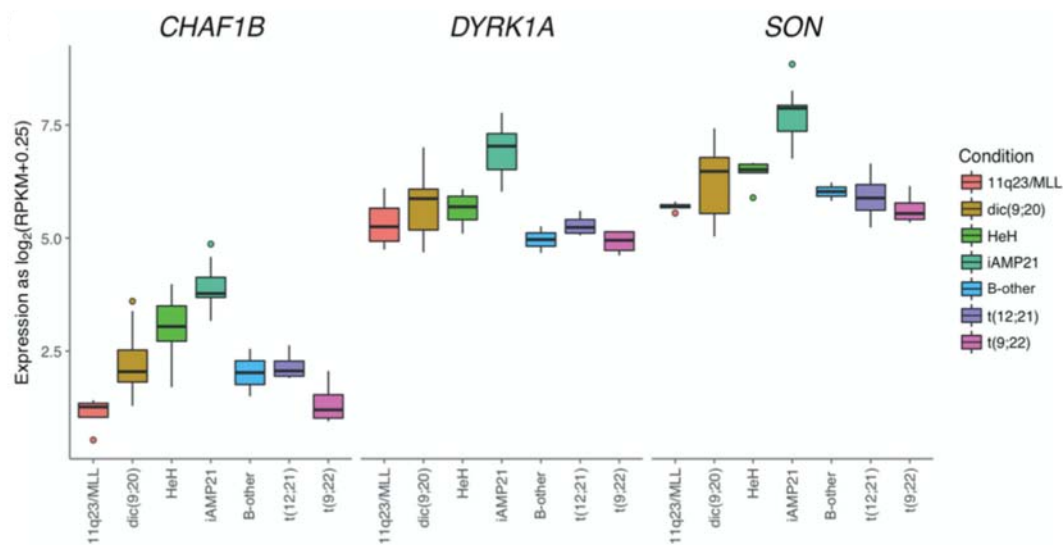
δισωμίες αφορούσαν στα γονίδια: *ATG7* και *DNAJC13* σε μια περίπτωση υψηλής υπερδιπλοειδίας, *HUS1B*, *BMP6*, *ATXN1*, *ZSCAN23*, *OR2W1*, *UBD*, *GTF2H4*, *CDSN*, *STK19*, *NOTCH4*, *TAP2*, *RPL10A*, *PNPLA1*, *PEX6*, *TMIGD2*, *SAFB2*, *FCER2*, *RGL3* και *PALM3* σε μια περίπτωση με *BCR-ABL1* τύπου αναδιάταξη, *CER1*, *FREM1*, *CNTLN*, *IFT74*, *IFNK*, *DDX58* και *UBAP2* σε μια περίπτωση με 9p δισωμία, *GRIP1* και *SH2B3* σε μια περίπτωση με 12q δισωμία, *CBL* σε μια περίπτωση 11q δισωμίας και *JAK2* σε μια περίπτωση 9p δισωμίας με σύνδρομο Down (Lundin-Ström *et al.*, 2018).

Σε μια μελέτη 15 παιδιών με Ph-ομοιάζουσα B-ΟΛΛ και με τη βοήθεια WGS και αλληλούχησης μεταγραφώματος ανιχνεύθηκαν αναδιατάξεις των γονιδίων *ABL1*, *JAK2*, *PDGFRB*, *CRLF2* και *EPOR*, ενεργοποιητικές μεταλλάξεις των *IL7R* και *FLT3*, αλλά και διαγραφή του *SH2B3*, το οποίο κωδικοποιεί το JAK2-αρνητικό ρυθμιστή *LNK*. Το σημαντικό συμπέρασμα της μελέτης αυτής είναι ότι πολλές από τις ανευρεθείσες αλλαγές επάγουν τροποποιήσεις που θα μπορούσαν δυνητικά να απαντήσουν θεραπευτικά σε TKIs (Roberts *et al.*, 2012). Αντίθετα, μια μελέτη περιστατικού Ph-ομοιάζουσας B-ΟΛΛ με *AGGF1-PDGFRB* σύντηξη που αναλύθηκε με WGS και RNA-Seq έδειξε αντίσταση στους ABL TKIs ιματινίμπη, δασατινίμπη, νιλοτινίμπη και πονατινίμπη, ενώ διαπιστώθηκε υψηλή ευαισθησία στον αναστολέα κινασών CHZ868 (Zhang *et al.*, 2018). Αντίσταση στην πρεδνιζολόνη φαίνεται να εμφανίζουν οι Ph-ομοιάζουσες B-ΟΛΛ μέσω του προσδέτη FGF2, όμως μελέτη 481 νεοδιαγνωσθεισών περιπτώσεων και 19 υποτροπών με NGS τεχνικές έδειξε πως οι μεταλλάξεις στα *FGFR1*, *FGFR2* και *FGFR3*, που ανήκουν στην οικογένεια των τυροσινικών κινασών, δεν είναι καθόλου συχνές στην πΟΛΛ (Jerchel *et al.*, 2019).

Το Saint Jude Children's Research Hospital αποτελεί παράδειγμα για την ενσωμάτωση των NGS τεχνικών στη θεραπεία της πΟΛΛ πετυχαίνοντας 94% πενταετή επιβίωση. Το υψηλό αυτό ποσοστό είναι αποτέλεσμα συνδυασμού του σωστού προσδιορισμού της ομάδας κινδύνου (από τα βιολογικά χαρακτηριστικά των λευχαιμικών κυττάρων κατά τη διάγνωση με RNA-Seq μέχρι την ανταπόκριση στη θεραπεία και την αξιολόγηση της MRD με WGS ή WES την ημέρα 15 και την ημέρα 42 της θεραπείας), της τροποποίησης της θεραπείας βάσει φαρμακοδυναμικών και φαρμακογενωμικών δεδομένων, αλλά και της βελτιωμένης υποστηρικτικής θεραπείας. Οι NGS τεχνικές βοήθησαν στα πρωτόκολλα του συγκεκριμένου νοσοκομείου την ανίχνευση υπομικροσκοπικών γενετικών δομικών αλλαγών και αλλαγών στην αλληλουχία DNA και RNA, ώστε να κατανοηθεί ο παθογενετικός μηχανισμός και να επιστρατευτούν τα αντίστοιχα ΧΜΘ σχήματα. Χαρακτηριστικά, οι Ph-ομοιάζουσες

περιπτώσεις πΟΛΛ ακολουθούν συγκεκριμένη κατάταξη και αλγόριθμο θεραπείας σύμφωνα με τα NGS αποτελέσματα: [i] δασατινίμπη χορηγείται για αναδιάρταξη στα γονίδια των κινασών: *ABL1* (σε σύντηξη με ένα εκ των *CENPC*, *ETV6*, *FOXP1*, *LSM14*, *NUP153*, *NUP214*, *RCSD1*, *RANBP2*, *SNX2*, *SFPQ*, *SPTAN1* και *ZMIZ1*), *ABL2* (σε σύντηξη με τα *PAG1*, *RCSD1* ή *ZC3HAV1*), *CSF1R* (σε σύντηξη με τα *SSBP2*, *MEF2D* ή *TBLIXR1*), *PDGFRB* (σε σύντηξη με ένα εκ των *ATF7IP*, *EBF1*, *ETV6*, *SSBP2*, *TNIP1*, *ZEB2* και *ZMYND8*) και στην περίπτωση σύντηξης του *PDGFRA* με το *FIP1L1* γονίδιο, [ii] JAK2 αναστολείς χορηγούνται για αναδιάρταξη στα γονίδια κινασών: *CRLF2* (σε σύντηξη με *IGH* ή *P2RY8*), *JAK2* (σε παρουσία σύντηξης με ένα εκ των *ATF7IP*, *BCR*, *EBF1*, *ETV6*, *PAX5*, *PCM1*, *PPFIBP1*, *RFX3*, *SSBP2*, *STRN3*, *TERF2*, *TPR*, *USP25*, *ZNF274*, *GOLGA5*, *SMU1*, *HMBOX1*, *SNX29* ή *ZNF340*), *EPOR* (σε σύντηξη με *IGH*, *IGK*, *LAIR1* ή *THADA*) και *TSLP* όταν ανιχνεύεται σε σύντηξη με το *IQGAP2*, [iii] JAK1/JAK3 αναστολέας χορηγείται στη σύντηξη *IL2RB- MYH9*, [iv] TRK αναστολέας στην *NTRK3- ETV6* σύντηξη, [v] FAK αναστολέας σε σύντηξη του *PTK2B* με ένα εκ των *KDM6A*, *STAG2* ή *TMEM2*, [vi] TYK2 αναστολέας χορηγείται σε σύντηξη του *TYK2* με *MYB*, *SMARCA4* ή *ZNF340*, [vii] FLT3 αναστολέας χορηγείται σε σύντηξη *FLT3- ZMYM2*, [viii] σοραφενίμπη χορηγείται σε περίπτωση σύντηξης *FGFR1-BCR*, ενώ [ix] στη σύντηξη *DGKH- ZFAND3* δεν έχει ακόμα καθοριστεί ο κατάλληλος αναστολέας. Η NGS είναι σημαντική στο να καθορίζεται επακριβώς η γενετική βάση της πΟΛΛ, στο να υπολογίζεται η ανταπόκριση στη ΧΜΘ, αλλά και στο να καθορίζονται νέοι προγνωστικοί δείκτες και θεραπευτικοί στόχοι, με απώτερο σκοπό την εξατομίκευση στη θεραπεία κάθε παιδιού με ΟΛΛ (Inaba, Azzato and Mullighan, 2017).

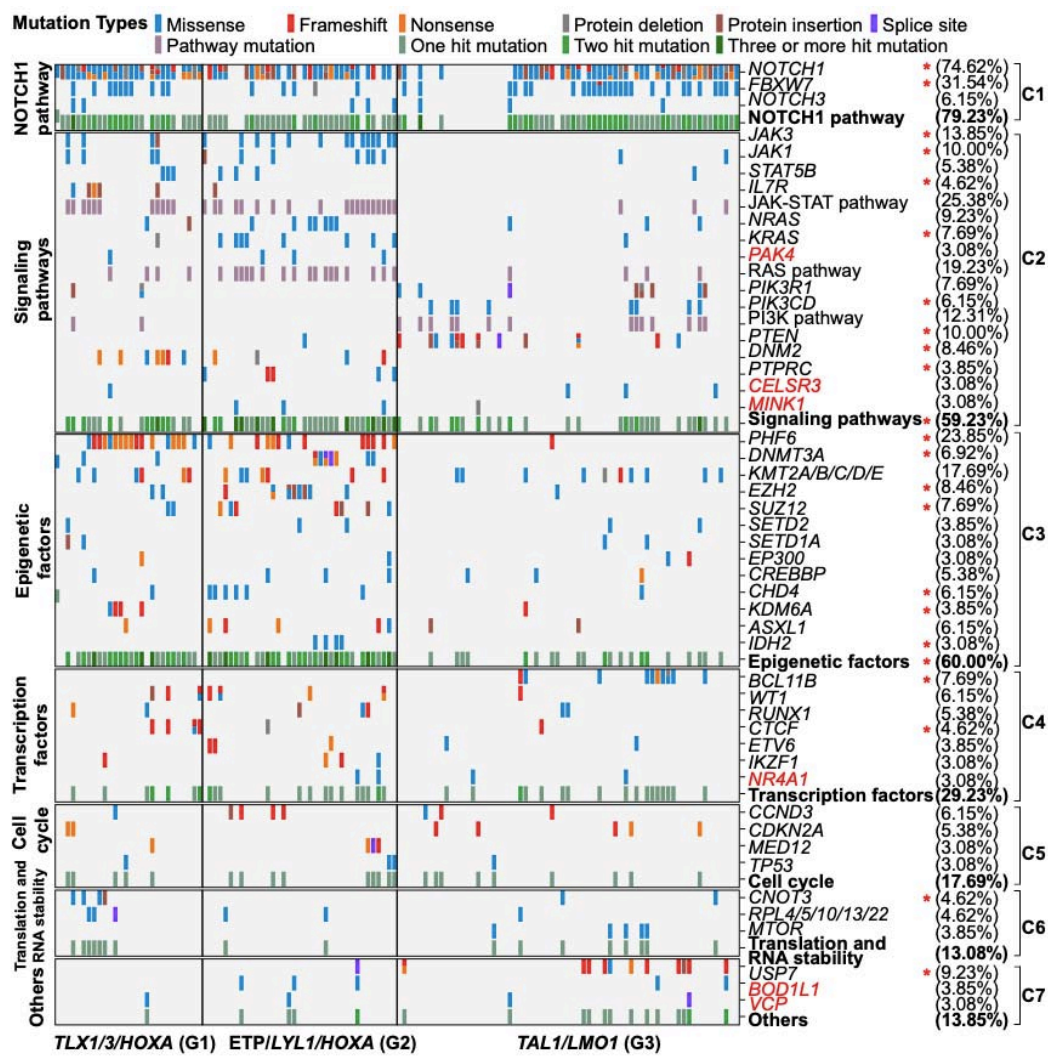
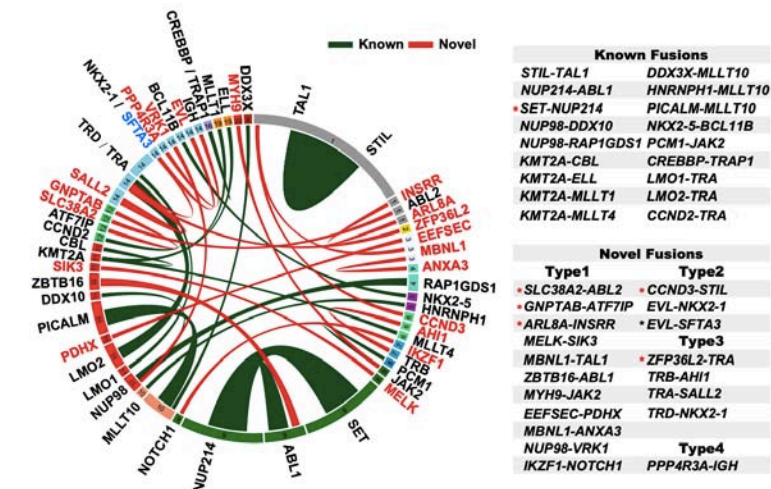
Η Β-ΟΛΛ από ενδοχρωμοσωμική ενίσχυση του χρωμοσώματος 21 ή *iAMP21* αποτελεί υπότυπο της BCP-ALL συνδεδεμένο με υποτροπή και πτωχή πρόγνωση. Δώδεκα παιδιά με *iAMP21* μελετήθηκαν συγκριτικά με 34 παιδιά άλλων υποτύπων BCP-ALL με RNA-Seq και WGS (Εικόνα 18). Η μελέτη κατέληξε πως κάρδιο γεγονός στην *iAMP21* είναι η υπερέκφραση των γονιδίων της τυροσινικής κινάσης *DYRK1A* και των γονιδίων αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης *CHAF1B* και *SON*, με τα δύο πρώτα να σχετίζονται σημαντικά με πτωχή πρόγνωση, αλλά και άλλες νεοπλασίες, όπως η μυελογενής λευχαιμία (Ivanov Öfverholm *et al.*, 2020).



Εικόνα 18. Θηκογράμματα των αποτελεσμάτων RNA-Seq ως προς την έκφραση των τριών σημαντικά υπερέκφρασμένων γονιδίων στον iAMP21 και σε άλλους υπότυπους της BCP-ALL (Ivanov Öfverholm *et al.*, 2020).

Με τη βοήθεια WES και RNA-Seq αναλύθηκαν 69 περιπτώσεις T-ΟΛΛ και βρέθηκαν 26 τύποι συντήξεων στο 55,1 % των παιδιών (Chen *et al.*, 2017). Η σύντηξη *SET-NUP214* σχετίστηκε κυρίως με T-ΟΛΛ σε ενήλικες, ενώ πέρα από τις 18 συντήξεις που αναφέρθηκαν για πρώτη φορά σε αυτή τη μελέτη, οι *ZBTB16-ABL1*, *TRA-SALL2* και αυτές που ενέπλεκαν το *NKX2-1* ανιχνεύθηκαν επανειλημμένα. Να σημειωθεί ότι η *ZBTB16-ABL1* σύντηξη οδηγεί σε λευχαιμογένεση μα απαντά σε θεραπεία με TKIs. Επιπλέον, 48 γονίδια βρέθηκαν μεταλλαγμένα σε > 3 % των περιστατικών, ενώ τα 6 αναφέρθηκαν για πρώτη φορά στην παρούσα μελέτη. Ένα βραχύ RNA μετάγραφο του *SLC17A9* με ανώμαλη υπερέκφραση βρέθηκε στις περισσότερες περιπτώσεις με υπερέκφραση του *TALI* και το οποίο συνδέεται με πτωχή πρόγνωση, ιδίως στους ενήλικες. Η υπερέκφραση των *HOXA*, *MEF2C* και *LYL1* ήταν συνή στους ενήλικες, όταν στα παιδιά με T-ΟΛΛ ανιχνευόταν συχνά υπερέκφραση του *TALI*. Στην Εικόνα 19 παρουσιάζονται οι 3 υπότυποι που προκύπτουν βάσει των δεικτών έκφρασης, κάνοντας σαφές ότι ο περαιτέρω γενετικός χαρακτηρισμός των T-ΟΛΛ θα μπορούσε να επιφέρει επαναστατικές αλλαγές στη θεραπεία (Chen *et al.*, 2017). Σε μια μικρότερης κλίμακας μελέτη από την Νότια Κορέα με 7 παιδιά που έπασχαν από T-ΟΛΛ και NGS ανιχνεύθηκαν από μία έως έξι παθολογικές μεταλλάξεις

ανά ασθενή με τις επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις να αφορούν σε επιγενετικούς ρυθμιστές στο 60 %, στη NOTCH1 σηματοδοτική οδό στο 40 %, στην PI3K-AKT οδό στο 40 %, στη JAK-STAT σηματοδοτική οδό στο 30 % και σε μεταγραφικούς παράγοντες στο 30 % (K. J. Park *et al.*, 2020).



Εικόνα 19. Στην κορυφή απεικονίζονται οι συντήξεις που ανιχνεύθηκαν σε ασθενείς με Τ-ΟΛΛ (με αστερίσκο οι συντήξεις που αφορούν μόνο ενήλικες), ενώ ακολουθεί η κατάταξη των ασθενών σε 7 λειτουργικές κατηγορίες ανάλογα με τις μεταλλάξεις που εντοπίστηκαν. Οριζόντια, οι περιπτώσεις κατατάχθηκαν σε 3 υπότυπους ανάλογα με το μεταγράφομά τους, ενώ με κόκκινο αστερίσκο εδώ σημειώθηκαν τα γονίδια που εμφάνισαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των 3 υποτύπων. Με κόκκινα γράμματα τα γονίδια που καταγράφηκαν για πρώτη φορά στην παρούσα μελέτη (Chen *et al.*, 2017).

Δυο πολύ συχνά γεγονότα στην Τ-ΟΛΛ είναι η ενεργοποίηση της IL7R/JAK3/STAT5 σηματοδοτικής οδού και η υπερέκφραση του *HOXA9*. Σε ένα μοντέλο ποντικών και με τη βοήθεια RNA-Seq, CHIP και ATAC-Seq διαπιστώθηκε ότι η συνύπαρξη των δύο αυτών καταστάσεων οδηγεί σε επιθετική Τ-ΟΛΛ και σε αυξημένη μεταγραφική δραστηριότητα του STAT5 μαζί με έκτοπη ενεργοποίηση *FOS/JUN* (AP-1). Οι μεταλλάξεις στη JAK/STAT οδό συσσωρεύονται στα λευχαιμικά κύτταρα με υπερέκφραση του *HOXA9*, ενώ σε μεταγραφικό επίπεδο υπάρχει συνεργασία των STAT5 και *HOXA9* θέτοντας έτσι την PIM1 κινάση ως πιθανό θεραπευτικό στόχο στις JAK/STAT/*HOXA9* μεταλλαγμένες λευχαιμίες (de Bock *et al.*, 2018).

Η BCP-ALL με υψηλή υπερδιπλοειδία ή HeH (51 – 67 χρωμοσώματα) είναι από τις συχνότερες μορφές της πΟΛΛ (30%) με μέση ηλικία διάγνωσης τα 3 – 5 έτη, χαμηλά λευκά αιμοσφαίρια και καλή πρόγνωση σύμφωνα με τα σύγχρονα θεραπευτικά πρωτόκολλα. Μελέτη με WES και WGS, σε 39 και 16 παιδιά με HeH αντίστοιχα, με αυτόν τον υπότυπο ΟΛΛ έδειξαν πως χαρακτηρίζεται γενετικά από υπεράριθμα χρωμοσώματα (κυρίως μεταξύ των X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 και 21), ενώ τουλάχιστον στις μισές περιπτώσεις ανευρίσκονται μεταλλάξεις στη RTK–RAS οδό (με προεξάρχουσες αυτές στο *KRAS*) και στο 20% παρατηρούνται μεταλλάξεις σε τροποποιητές ιστονών (όπως στο *CREBBP*) μαζί με μικροδιαγραφές σε γονίδια που εμπλέκονται στη διαφοροποίηση του Β-κυττάρου και στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου (Paulsson *et al.*, 2015). Μια μελέτη πρωτεογενωμικής με τη βοήθεια WGS, WES και RNA-Seq σε 48 παιδιά με BCP-ALL υψηλής υπερδιπλοειδίας έδειξε χαμηλή έκφραση για τις CTCF και κοεζίνη, πρωτεΐνες που παίζουν κυρίαρχο ρόλο στη ρύθμιση της αρχιτεκτονικής της χρωματίνης. Σε συμφωνία με τα προηγούμενα, στις HeH περιπτώσεις υπήρχε γενικευμένη απορρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης σε όλο το

γονιδίωμα και σε σχέση με τα όρια της τοπολογικά σχετιζόμενης περιοχής (topologically associating domain ή TAD = θηλιές χρωματίνης < 1 Mb με DNA αλληλουχίες που αλληλεπιδρούν περισσότερο μεταξύ τους παρά με εξωγενείς δομές) με μείωση της ισχύος πρόσδεσης, αλλά και μείωση της μόνωσης των ορίων της (Yang *et al.*, 2019).

Ο υπότυπος της πΟΛΛ με μικτό φαινότυπο B- και T-κυττάρων (B/T MPAL) αποτελεί μια πολύ σπάνια μορφή πΟΛΛ (2 – 5 %). Σύμφωνα με μια μελέτη 5 παιδιών με B/T MPAL διαπιστώθηκε ότι προεξάρχον κλινικό σημείο ήταν η λεμφαδενοπάθεια, ενώ έχει πτωχή πρόγνωση και ο μοιάζει γενετικά περισσότερο με T -ΟΛΛ. Οι μεταλλάξεις που εντοπίστηκαν με NGS αφορούσαν κυρίως το μεταγραφικό ρυθμιστή PHF6 και τις JAK-STAT και Ras σηματοδοτικές οδούς. Αλλαγές αναφέρθηκαν επίσης και σε γονίδια που κωδικοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες της αιμοποίησης, ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου, ογκοκατασταλτικά γονίδια και ένζυμα που τροποποιούν τη χρωματίνη (Mi *et al.*, 2018).

3.2 NGS και πιθανοί προγνωστικοί δείκτες στην πΟΛΛ

Όπως αναλύθηκε στο πρώτο κεφάλαιο, η πΟΛΛ είναι κυρίως αποτέλεσμα χρωμοσωμικών μεταθέσεων, παρά σωματικών μεταλλάξεων ή CNVs. Το συνηθέστερα μεταλλαγμένο *IKZF1* γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα Ikaros αφορά σε λιγότερο του 20% των περιπτώσεων B-ΟΛΛ, ενώ οι μεταλλάξεις στο ογκοκατασταλτικό *TP53* μόλις στο 7%, όταν μάλιστα τα γονίδια αυτά μεταγράφονται δυναμικά ακόμα και στη νόσο –χωρίς να αποσιωπούνται επιγενετικά. Αυτό οδήγησε στη μελέτη της πιθανότητας να υπάρχουν μετα-μεταγραφικά γεγονότα που απορρυθμίζουν αυτά αλλά και άλλα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Σε μια πρόσφατη RNA-Seq μελέτη 24 παιδιών με πρωτοπαθή B -ΟΛΛ φάνηκε πως αποκλίνουσες παραλλαγές συναρμογής (local splice variations ή LSVs) στα mRNAs του *IKZF1*, των ογκοκατασταλτικών *FBXW7* και *TP53* (του οποίου το 9^ο εξόνιο περιλαμβάνεται στη B και όχι στην προ-B-ΟΛΛ), των *FLT3* και *IL7R* ογκογονιδίων, του *PTPN11* της Ras σηματοδοτικής οδού, του *NT5C2* (με το εναλλακτικό εξόνιο 4a που τελεί υπό τη ρύθμιση του *HNRNPA1*, έναν παράγοντα συναρμογής που εμπλέκεται στην καρκινογένεση και μεταφέρει poly(A) mRNA από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα), του *WHSC1* ή *NSD2* (με δράση μεθυλοτρανφεράσης ιστονών) και του *CREBBP* (συνενεργοποιητή μεταγραφικών παραγόντων) παίζουν ρόλο στην εμφάνιση της νόσου (Black *et al.*, 2018). Στο σημείο

αυτό, αξίζει να τονισθεί ο ρόλος των *NT5C2* και *CREBBP* στις υποτροπές πΟΛΛ (Εικόνα 5).

Οι χρωμοσωμικές αναδιατάξεις του *MLL* ανευρίσκονται στο 10 % περίπου των περιπτώσεων Β-ΟΛΛ και η πτωχή τους πρόγνωση έγκειται στην ανώμαλη έκφραση του *BCL6* που κωδικοποιεί ένα ογκογεννητικό μεταγραφικό παράγοντα με συνοδό αντίσταση στη ΧΜΘ. Μελέτη με ChIP-seq σε ένα μοντέλο ποντικών κατέδειξε πως οι *MLL-AF4* και *MLL-ENL* συντήξεις συνδέονται άμεσα με τον υποκινητή του *BCL6* και συνεπώς με αύξηση της έκφρασής του. Οι συντήξεις αυτές φαίνεται πως επιφέρουν τη μεταγραφική ενεργοποίηση του προαποπτωτικού BH3 (Bcl-2 homology domain 3) μορίου BIM (Bcl-2-like protein 11 του γονιδίου *BCL2L11*), ενώ η *BCL6* περιορίζει την έκφραση αυτή. Οι πεπτιδικοί και μικρομοριακοί αναστολείς της *BCL6*, RI-BPI και FX1 αντίστοιχα, καταφέρνουν να μειώσουν την έκφραση του BIM και συνεργικά με τον ABT-199 να εξαλείψουν τα *MLL-R* λευχαιμικά κύτταρα. Το εύρημα αυτό αναδεικνύει το ρόλο της *BCL6* στη Β-ΟΛΛ και τη θέτει ως πιθανό στόχο θεραπείας (Hurtz *et al.*, 2019).

Όσον αφορά στην πΟΛΛ από αναδιατάξεις του *KMT2A* ή *MLL1*, μια μελέτη σε 55 παιδιά με τη βοήθεια NGS, κι αφού πρώτα είχαν κατηγοριοποιηθεί ως ΟΛΛ από αναδιάταξη του *KMT2A* με FISH και RT-PCR, έδειξε πως τα παιδιά με αμοιβαία μετατόπιση *MLL* είχαν σημαντικότερα μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης σε σύγκριση με αυτά που είχαν σύνθετες ή άμεσες μετατοπίσεις και με αυτά που είχαν πολλαπλές αμοιβαίες μετατοπίσεις (65,2 % έναντι 16,7 %, 18,8 % και 56,1 % αντίστοιχα, $p = 0,001$). Σημασία έχει να αναφερθεί ότι οι μισές περιπτώσεις αφορούσαν σε βρέφη, ενώ η *ex10-in15* περιοχή θραύσης ταυτοποιήθηκε στο 54,5 %. Ο υπότυπος της μετατόπισης ήταν: σύνθετος στο 18,2 %, άμεσος στο 34,5 %, με απλή αμοιβαία μετατόπιση στο 21,8 % και με πολλαπλές αμοιβαίες μετατοπίσεις στο 25,5 %. Τα γονίδια που εμπλέκονταν στις μετατοπίσεις ήταν: *AFF1* ή *MLLT2* της AF4 (43,4 %), *MLLT3* της AF9 (23,6 %), *MLLT1* της ENL (12,7 %) και λοιποί εταίροι σύντηξης στο 20,1 % τα *HSPA9*, *HDAC11*, *LOC154761*, *TMEM25*, *OR10V1*, *AH11*, *TBXT*, *C11orf49*, *NNMT*, *AFDN* ή *MLLT4*, *BC030092* ή *LINC02712*, *TMPRSS4-AS1* ή *SMIM35*, *PIP4K2A*, *NCAPD3*, *ACER1*, *LOC400548*, *TET1*, *TCRGV1*, *GUCY1A2*, *BC034795*, *CDH11*, *CDH8* και *ELL* (L. Yang *et al.*, 2018).

Ο ρόλος του γονιδίου *ACD* στις ανθεκτικές μορφές πΟΛΛ καταγράφηκε για πρώτη φορά με τη βοήθεια WES. Σε μια μελέτη τριών μόλις ασθενών με BCP-ALL βρέθηκαν έξι σωματικές μεταλλάξεις που σχετίζονται με λευχαιμογένεση. Οι τρεις από

αυτές έχουν ερευνηθεί στο παρελθόν και αφορούν στη σηματοδοτική οδό των ενεργοποιούμενων από μιτογόνα πρωτεϊνικών κινασών ή MAPKs (*FLT3* p.D835Y, *NRAS* p.G13D και *BRAF* p.G466A). Οι υπόλοιπες τρεις μεταλλάξεις περιγράφηκαν για πρώτη φορά: στο *ACD* p.G223V, στο *DOTIL* p.V114F και στο *HCFC1* p.Y103H. Οι μελέτες κυτταροτοξικότητας κατέληξαν πως η μετάλλαξη στο *ACD* προσέφερε στα λευχαιμικά κύτταρα προστασία έναντι της απόπτωσης, ενώ παράλληλα αυξάνει το μήκος των τελομερών προωθώντας την επιβίωση του λευχαιμικού κυττάρου (Spinella, Cassart, *et al.*, 2015).

Αναλύοντας GWAS μελέτες στην πΟΛΛ, φαίνεται πως η περιοχή 14q11.2 με τον πολυμορφισμό rs2239630 G>A στον υποκινητή του *CEBPE* (που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη E που προσδένει CCAT ενισχυτή) σχετίζεται με γενετική προδιάθεση για Β-ΟΛΛ στα παιδιά. Το A αλληλόμορφο κινδύνου συνδέεται με αυξημένη λειτουργία του υποκινητή και συνεπαγόμενη *CEBPE* έκφραση, ενώ η εξάλειψη του προηγούμενου γονιδίου μειώνει το ρυθμό της κυτταρικής αύξησης και η *CEBPE* προσδένεται στους υποκινητές γονιδίων που εμπλέκονται στη μεταφορά ηλεκτρονίων και στην παραγωγή ενέργειας. Με ChIP-Seq αποκαλύφθηκαν θέσεις πρόσδεσης στο *CEBPE* για τα πρωτεϊνικά παράγωγα των *MAX*, *YY1*, *ELF1*, *SPI1* και *TCF3*, αλλά μόνο οι *SPI1* και *MAX* προσδένονται με τον rs2239630, με τον *SPI1* να φαίνεται να ρυθμίζει την έκφραση του *CEBPE* και την *ZNF148* να προσδένει το αλληλόμορφο κινδύνου στον rs2239630 και να μειώνει την έκφραση του *CEBPE*. Με RNA-seq σε κύτταρα με μειωμένη έκφραση του *CEBPE* διαπιστώθηκε ότι το γονίδιο αυτό ρυθμίζει την ανάπτυξη των Β-κυττάρων (*IL7R*), την κυτταρική επιβίωση (*PRAME*), την αναστολή της απόπτωσης (*BCL2*) και την αντίσταση στη θεραπεία με μεθοτρεξάτη (*RASSF4*). Επίσης, σε δύο περιπτώσεις από τις 133 που διενεργήθηκε αλληλούχιση χαρτογραφήθηκε *IGH-CEBPE* μετατόπιση με ενεργή συμμετοχή της RAG ρεκομπινάσης (Studd *et al.*, 2019).

3.3 NGS και ελάχιστη υπολειπόμενη νόσος στην πΟΛΛ

Η μέτρηση της υπολειπόμενης νόσου (MRD) είναι πολύ σημαντική τόσο στον καθορισμό των περιπτώσεων υψηλού κινδύνου, όσο και στον καθορισμό της περαιτέρω θεραπείας στην πΟΛΛ. Οι μετρήσεις της υπολειπόμενης νόσου με το τέλος της εισαγωγικής φάσης της θεραπείας για την επίτευξη ύφεσης είχαν μέχρι πρόσφατα διακριτική ικανότητα 0,01 % (ανίχνευση ακόμη και ενός λευχαιμικού κυττάρου στα

10.000 μελετώμενα κύτταρα) ακολουθώντας μεθόδους που στηρίζονται στην πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής και στην ASO-PCR (ειδική του αλληλόμορφου ολιγονουκλεοτιδική PCR). Σε μια μελέτη μυελού των οστών 110 παιδιών Β-ΟΛΛ πριν και μετά την εισαγωγική θεραπεία και με τη βοήθεια NGS τεχνικής, η ευαισθησία και η ακρίβεια του υπολογισμού της MRD αυξήθηκαν σημαντικά με διακριτική ικανότητα 0,0001 % ή ενός λευχαιμικού κυττάρου ανάμεσα σε τουλάχιστον 1.000.000 μελετώμενα λευκοκύτταρα (Faham *et al.*, 2012).

Μελέτη MRD με NGS των *IGH* και *TRG* γονιδίων σε 619 παιδιά με Β-ΟΛΛ (με δείγματα κατά τη διάγνωση και στην ημέρα 29 από την έναρξη της εισαγωγικής θεραπείας) έφερε παρόμοια αποτελέσματα με την κυτταρομετρία ροής όσον αφορά τις συσχετίσεις με την πενταετή επιβίωση χωρίς συμβάματα και τη συνολική επιβίωση με όριο το 0,01 %. Παρόλα αυτά, ο προσδιορισμός της MRD με NGS ταυτοποίησε 38,7 % περισσότερους ασθενείς κάτω από το όριο του 0,01 % και οι συγκεκριμένοι ασθενείς είχαν όντως χειρότερη έκβαση από τους MRD-αρνητικούς με την κυτταρομετρία ροής ασθενείς. Επιπλέον, η αυξημένη ευαισθησία ανάλυσης της NGS ταυτοποίησε με ακρίβεια το 19,9 % των ασθενών συμβατικού κινδύνου που δεν είχαν ανιχνεύσιμη MRD σε καμία φάση και είχαν εξαιρετική πενταετή επιβίωση χωρίς συμβάματα (98,1 %) και συνολική επιβίωση 100 % (Wood *et al.*, 2018). Μια ακόμα NGS MRD μελέτη που εστίασε στις *IGH* και CDR3 (*TRG* locus complementarity-determining region 3) περιοχές του γονιδιώματος σε 79 παιδιά με Β-ΟΛΛ έδειξε πως η μέθοδος αυτή μπορεί να καθορίσει με ακρίβεια συγκρίσιμη των συμβατικών μεθόδων την MRD (Sekiya *et al.*, 2017). Στο ίδιο πλαίσιο, μια μελέτη με NGS της MRD (NGS MRD) σε 42 παιδιά με BCP-ALL πριν και μετά από υποτροπή της νόσου εστίασε σε αναδιατάξεις στα γονίδια της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών (*IGH* με Vh-Jh και Dh-Jh), της ελαφριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης K (*IGK* με Vk-Jk, Vk-Kde και Intron-Kde), του γ υποδοχέα των T-κυττάρων (*TRG* με Vγ-Jγ), του δ υποδοχέα των T-κυττάρων (*TRD* με Dδ-Dδ, Vδ-Dδ και Vδ-Jα) και του β υποδοχέα των T-κυττάρων (*TRB* με Vβ-Jβ και Dβ-Jβ). Οι NGS αναλύσεις πολλαπλών IG/TR περιοχών φαίνεται να εντοπίζουν με μεγαλύτερη ακρίβεια το λευχαιμικό κλώνο που επανεμφανίζεται κατά την υποτροπή (Theunissen *et al.*, 2019). Αντίθετα, μια πρόσφατη μελέτη σε 30 παιδιά με T-ΟΛΛ και NGS MRD βασισμένη στις μεταλλάξεις του εξονίου 7 του *PTEN* φάνηκε πως υστερεί σε σχέση με την συμβατική qPCR-Ig/TR τεχνική (ποσοτική PCR των αναδιατάξεων στα γονίδια υποδοχέων αντιγόνων -ήτοι των ανοσοσφαιρινών και των T-κυτταρικών

υποδοχέων), εντοπίζοντας σημαντικά λιγότερους ασθενείς υψηλού κινδύνου (Germano *et al.*, 2020).

Η NGS MRD με τη βοήθεια της IgH-V(D)J τεχνικής (immunoglobulin heavy chain variable, diversity, and joining DNA sequences) φάνηκε ότι έχει θέση και στην αξιολόγηση προ της μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων στην πΟΛΛ. Σε δείγμα 56 παιδιών με πΟΛΛ υπό μεταμόσχευση η NGS MRD προέβλεψε την υποτροπή και την επιβίωση με περισσότερη ακρίβεια από την πολυκάναλη κυτταρομετρία ροής ($P < 0,0001$), ειδικά στην ομάδα των MRD-αρνητικών παιδιών (υποτροπή 0 % έναντι 16 % με $p = 0,02$ και διετής επιβίωση 95 % έναντι 77 % με $p = 0,003$). Επίσης, η μετά τη μεταμόσχευση NGS MRD μπόρεσε να προβλέψει την υποτροπή σε σημαντικά υψηλότερο βαθμό από τη συμβατική MRD με κυτταρομετρία ροής ($p < 0,0001$), ειδικά 30 ημέρες μετά τη μεταμόσχευση (υποτροπή με θετική MRD κυτταρομετρίας ροής 35 %, υποτροπή με θετική NGS MRD 67 % και $p = 0,004$). Κάθε θετική MRD με NGS συνδέθηκε με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής (HR 7,7 και $p = 0,05$), ενώ η απουσία MRD με NGS προ της μεταμόσχευσης μπορεί να καθορίσει τους μειωμένου κινδύνου ασθενείς και ως εκ τούτου να υποβληθούν σε λιγότερο εντατικά σχήματα ΧΜΘ. Από την άλλη πλευρά, η θετική NGS MRD έχει υψηλή προγνωστική αξία μετά τη μεταμόσχευση και όσον αφορά στην υποτροπή και την επιβίωση, υποδεικνύοντας τους ασθενείς που είναι υποψήφιοι για περαιτέρω θεραπευτικές προσεγγίσεις (Pulsipher *et al.*, 2015).

Στον Πίνακα 6 φαίνονται τα χαρακτηριστικά των μεθόδων προσδιορισμού της MRD που είναι διαθέσιμες σήμερα.

Πίνακας 6. Οι διαθέσιμες μέθοδοι προσδιορισμού της MRD με τα τεχνικά τους χαρακτηριστικά, τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματά τους. Προσαρμοσμένος από (Kruse *et al.*, 2020).

	FCM	Translocation PCR	Antigen Receptor PCR	Droplet Digital PCR	NGS
Χρόνος για απάντηση	3 – 4 ώρες	2 – 3 μέρες	Εβδομάδες	5 – 8 ώρες	1 εβδομάδα
Κόστος ανά δείγμα	350 \$	500 \$			1000 \$

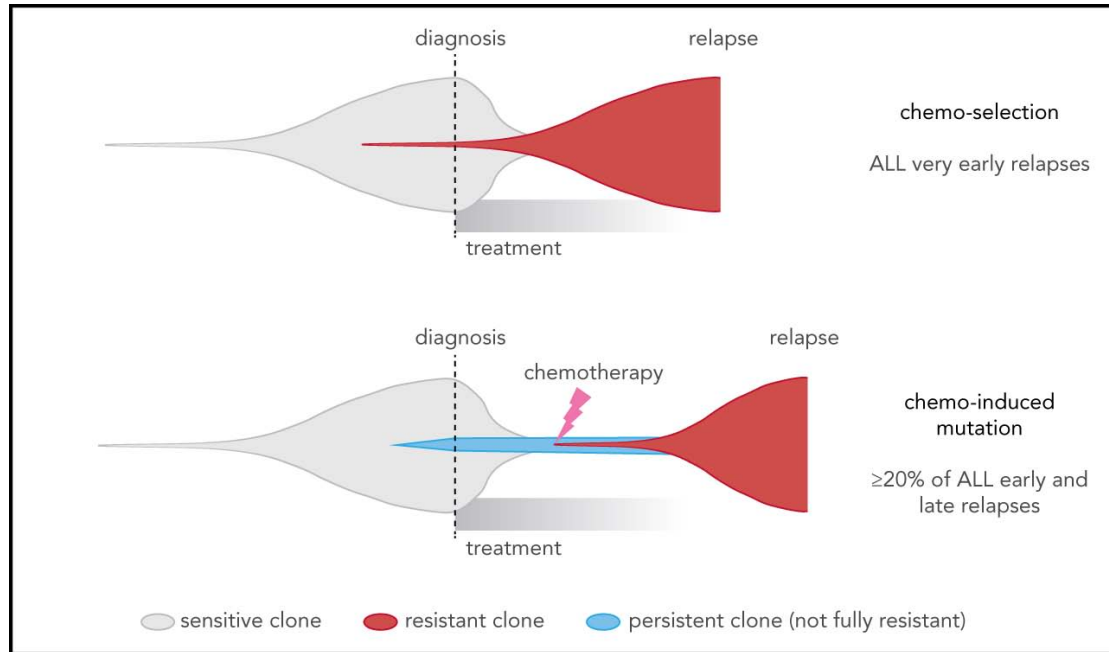
Τυποποίηση	Ναι	Πέραν της RT-PCR περιορισμένη			Περιορισμένη
Ειδικό για κάθε ασθενή αντιδραστήριο	Όχι	Όχι	Ναι	Ναι	Όχι
Πλεονεκτήματα	Φθηνή και γρήγορη	RQ-PCR: ακριβής και με ευαισθησία στην ποσοτικοποίηση, RT-PCR: γρήγορη και ακριβής διαδικασία			Ευαισθησία στην ποσοτικοποίηση, σχετικά γρήγορη διαδικασία, μπορεί να προσδιορίσει νέα γενετικά πρότυπα και μικρούς κλωνικούς πληθυσμούς
Μειονεκτήματα	Ευαισθησία που ποικίλει, προϋποθέτει σημαντική εμπειρία	RQ-PCR: μη εφαρμόσιμη σε όλες τις περιπτώσεις της νόσου, περίπλοκη μεθοδολογία, απαιτεί σημαντική εμπειρία, RT-PCR: αστάθεια mRNA, λάθη στην ποσοτικοποίηση			Δαπανηρή και με μειωμένη κλινική αξιολόγηση μέχρι σήμερα

FCM = πολυπαραμετρική κυτταρομετρία ροής, RQ = Real-Time Quantitative, RT = Reverse Transcription.

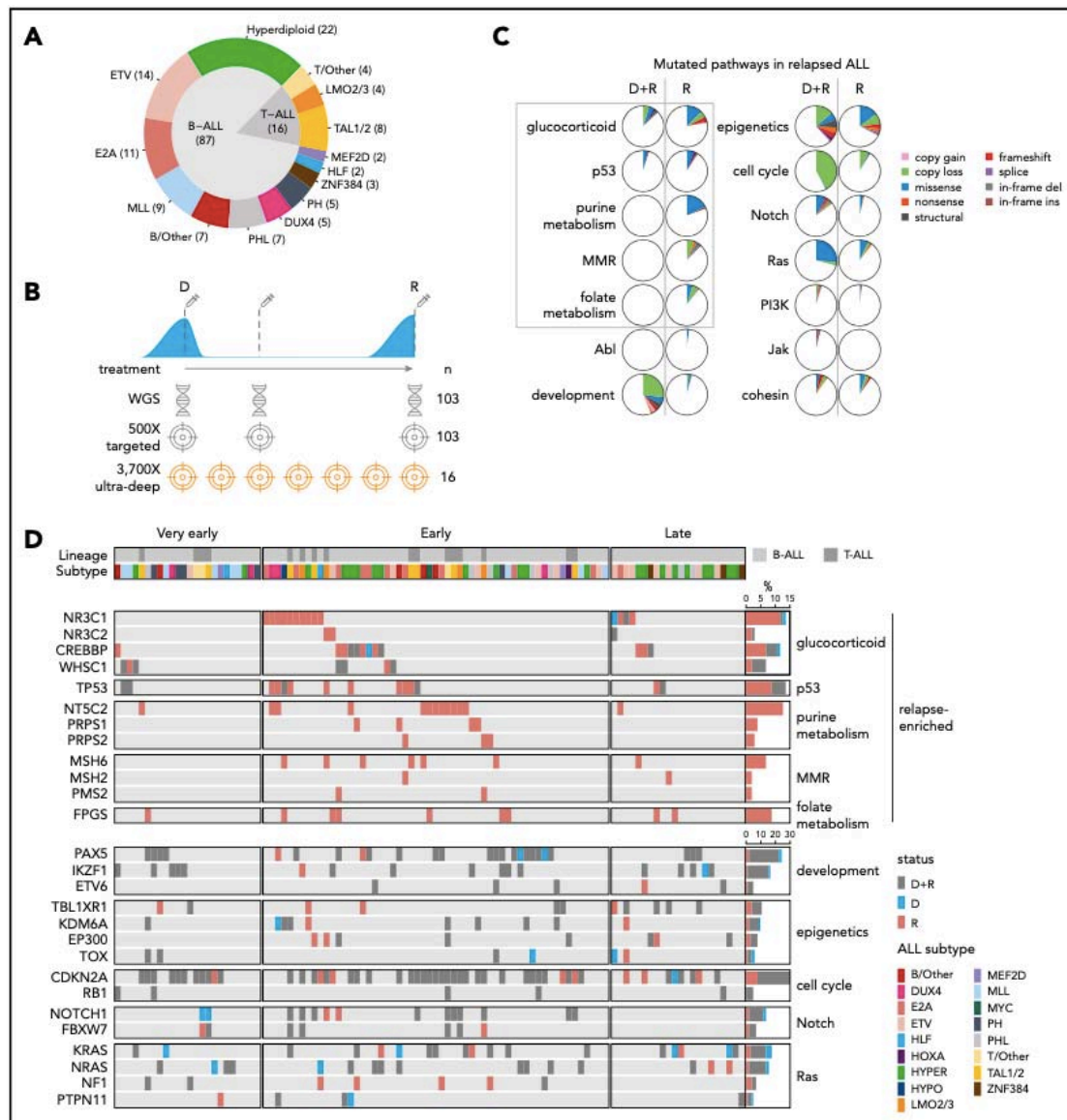
3.4. NGS και φαρμακογενωμική / φαρμακομεταγραφωμική στην πΟΛΛ

Οι μεταλλάξεις που επάγονται από τη ΧΜΘ στην πΟΛΛ αποτελούν ένα σημαντικό πρόβλημα και οδηγούν πολλές φορές σε υποτροπή. Έτσι, υποτροπή μπορούμε να έχουμε είτε από την παραμονή αρχικού ανθεκτικού κλώνου στις σύντομες υποτροπές, είτε από τη δημιουργία νέου ανθεκτικού λευχαιμικού κλώνου που επάγεται από τη ΧΜΘ (Εικόνα 20). Από τη μελέτη με WGS 103 περιπτώσεων ΟΛΛ (τόσο κατά τη διάγνωση, όσο και κατά την υποτροπή), αλλά και 208 δειγμάτων κατά τη ΧΜΘ από 16 παιδιά με ΟΛΛ, βρέθηκαν αλλαγές σε 12 γονίδια που σχετίζονται με ανταπόκριση στη θεραπεία: *NR3C1*, *NR3C2*, *TP53*, *NT5C2*, *FPGS*, *CREBBP*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *WHSC1*, *PRPS1* και *PRPS2* (Εικόνες 21 και 22). Ο επιπολασμός των αλλαγών αυτών ήταν 17 % στις περιπτώσεις εξαιρετικά πρώιμης υποτροπής (< 9 μήνες από τη διάγνωση), 65 % στις περιπτώσεις πρώιμης υποτροπής (9 – 36 μήνες από τη διάγνωση) και 32 % στις περιπτώσεις καθυστερημένης υποτροπής (> 3 έτη). Επιπρόσθετα, οι θειοπουρίνες (6-mercaptopurine ή 6-MP, 6-thioguanine ή 6-TG και azathioprine ή

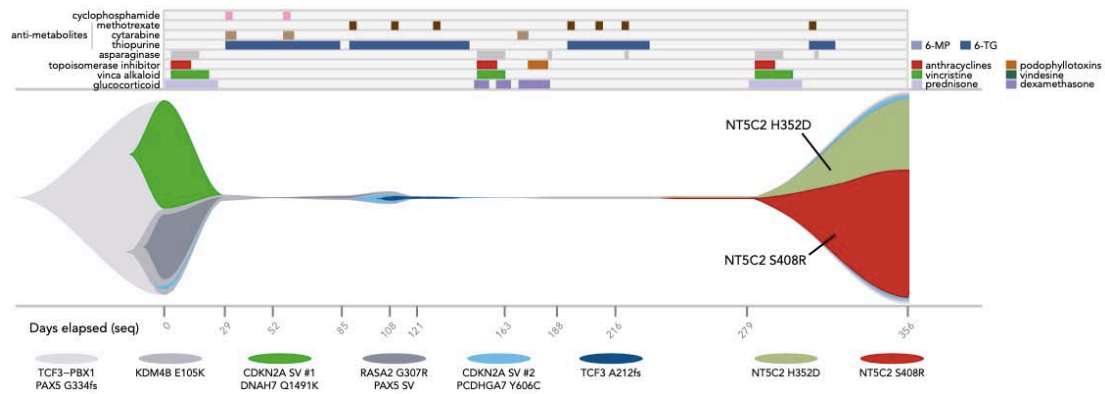
AZA) φαίνεται πως είναι εξαιρετικά πιθανό να είναι εκείνες που επάγουν την αντίσταση στη ΧΜΘ προκαλώντας μεταλλάξεις στα γονίδια *NT5C2*, *NR3C1* και *TP53* (Li *et al.*, 2020).



Εικόνα 20. Αναπαράσταση των παρατηρούμενων ανθεκτικών λευχαιμικών κλώνων στην πΟΛΛ σε σχέση με την πορεία της ΧΜΘ (Li *et al.*, 2020)

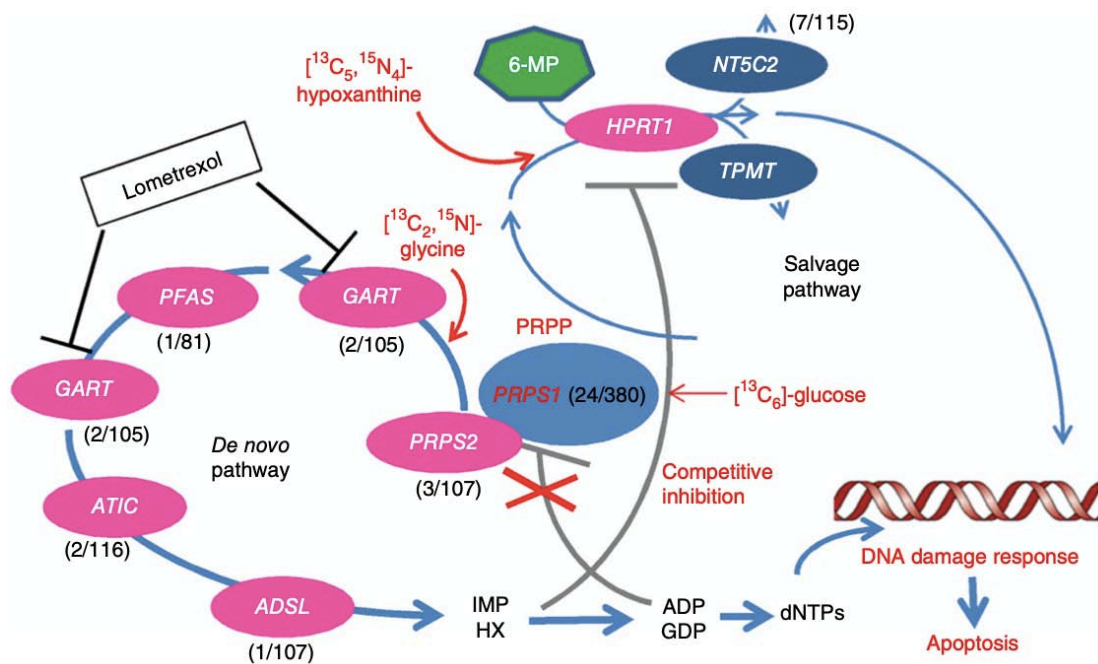


Εικόνα 21. Πολυμορφισμοί στις περιπτώσεις υποτροπών πΟΛΛ. (Α) Υπότυποι ΟΛΛ στην παρούσα μελέτη με τους απόλυτους αριθμούς τους, (Β) Σχηματική απεικόνιση των τεχνικών NGS που χρησιμοποιήθηκαν σε σχέση με το χρόνο λήψης του δείγματος, (C) Οι σηματοδοτικές οδοί που βρέθηκαν με μεταλλάξεις κατά τη διάγνωση D και κατά την υποτροπή R και σε γκρι πλαίσιο τα μονοπάτια που επηρεάστηκαν περισσότερο στις υποτροπές, (D) Χάρτης (σ.σ. heatmap) των σημαντικά μεταλλαγμένων γονιδίων στις υποτροπές με τα αντίστοιχα ποσοστά εμφάνισής τους κατά τη διάγνωση και κατά την υποτροπή. Οι μεταλλάξεις στο *CDKN2A* παρατηρήθηκαν στο 49% των δειγμάτων που είναι πέρα από τον άξονα που απεικονίζεται (Li *et al.*, 2020).



Εικόνα 22. Σχηματική αναπαράσταση των αποτελεσμάτων παρακολούθησης με NGS (fish plot) ασθενή με πΟΛΛ και υποτροπή σε σχέση με τη φάση και το είδος της θεραπείας. Η εξατομίκευση της θεραπείας και η σε βάθος γνώση της μοριακής βλάβης ανά πάσα στιγμή θα επιφέρει στο μέλλον επαναστατικές αλλαγές στην αντιμετώπιση της πΟΛΛ (Li *et al.*, 2020).

Η αντίσταση στις θειοπουρίνες παραμένει ένα σοβαρό πρόβλημα που ευθύνεται για υποτροπές στην πΟΛΛ. Σε μια μελέτη 358 παιδιών με υποτροπή πΟΛΛ και με τη συνδρομή WES βρέθηκε ότι το 6,7 % έφερε συγκεκριμένες μεταλλάξεις στο γονίδιο της φωσφοριβόσυλο-πυροφωσφορικής συνθετάσης 1 *PRPS1*, η οποία κωδικοποιεί ένζυμο που επιβραδύνει τη βιοσύνθεση των πουρινών. Όλοι οι ασθενείς με μεταλλάξεις στο *PRPS1* υποτροπίασαν νωρίς στη θεραπεία, ενώ οι λευχαιμικοί κλώνοι αυξάνονταν με γεωμετρική πρόοδο πριν την κλινική υποτροπή. Οι λειτουργικές αναλύσεις των μεταλλάξεων αυτών αποκάλυψε ένα νέο μηχανισμό αντίστασης στη ΧΜΘ που αφορά σε μειωμένη αναστολή ανατροφοδότησης της *de novo* βιοσύνθεσης των πουρινών και σε ανταγωνιστική αναστολή της ενεργοποίησης των θειοπουρινών (Εικόνα 23). Επιπλέον, ο αναστολέας της σύνθεσης πουρινών λομετρεξόλη (lometrexol) φαίνεται πως μπορεί να αναιρέσει αποτελεσματικά την χημειοαντίσταση λόγω των *PRPS1* μεταλλάξεων, καθιστώντας τη συγκεκριμένη ομάδα υποτροπών κλινικά διαχειρίσιμη (Li *et al.*, 2015).



Εικόνα 23. Τα αυξημένα επίπεδα υποξανθίνης (HX) αναστέλλουν τη μετατροπή της 6-MP στις χημειοανθεκτικές υποτροπές πΟΛΛ, η οποία με τη σειρά της μπορεί να αναιρεθεί από τον GART αναστολέα λομετρεξόλη. Τα υπόλοιπα γονίδια που παίζουν ρόλους κλειδιά στη *de novo* βιοσύνθεση των πουρινών μαζί με τη συχνότητα μετάλλαξης τους απεικονίζονται αριστερά: *PRPS1*, *PRPS2*, *GART*, *PFAS*, *ATIC* και *ADSL* (Li *et al.*, 2015). Η μετάλλαξη c.495_496insA (p.V165fs) στο γονίδιο της φωσφοριβοσυλο-τρανσφεράσης 1 της υποξανθίνης, *HPRT1*, επιβεβαιώθηκε σε μοντέλα κυτταρικών σειρών ότι μειώνει την παραγωγή [$^{13}\text{C}_5,^{15}\text{N}_4$]-IMP από [$^{13}\text{C}_5,^{15}\text{N}_4$]-HX με αποτέλεσμα αντίσταση στις θειοπουρίνες (F. Yang *et al.*, 2018).

Η αντίσταση στις θειοπουρίνες μπορεί μην υφίσταται εξ αρχής στην πΟΛΛ, αλλά να αναπτύσσεται στην πορεία της θεραπείας λόγω συγκεκριμένων μεταλλάξεων. Σε μια πρόσφατη μελέτη οκτώ παιδιών με ΟΛΛ και με την εφαρμογή WES βρέθηκαν μεταλλάξεις στο *FPGS* γονίδιο της συνθετάσης του φολυλπολυγλουταμικού, η οποία καταλύει την προσθήκη πολλαπλών υπολειμμάτων γλουταμικού στη μεθοτρεξάτη με το που εισέρχεται στο κύτταρο. Για να διευκρινιστεί η συχνότητα των *FPGS* μεταλλάξεων, εξετάστηκαν 299 επιπλέον δείγματα πΟΛΛ κατά τη διάγνωση και 73 κατά την υποτροπή τους, όπου ανιχνεύθηκαν τρεις επιπρόσθετες μεταλλάξεις στο *FPGS*, έξι μεταλλάξεις στο *NT5C2* και δύο περιπτώσεις μεταλλάξεων στο *PRPS1* -όλα σημαντικά γονίδια στη μεταβολική οδό των θειοπουρινών. Η λειτουργική ανάλυση των

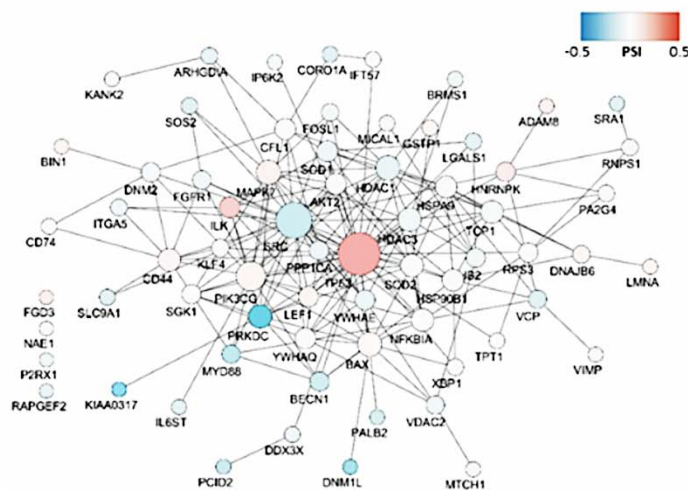
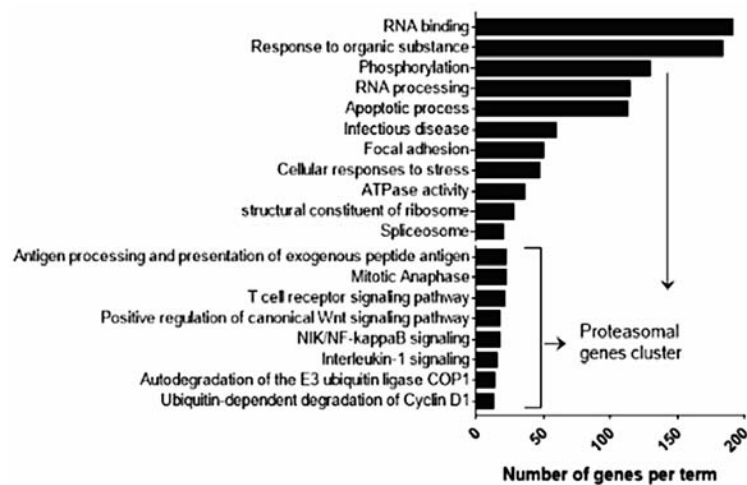
PRPS1 μεταλλάξεων έδειξαν μειωμένη ενζυμική δράση, οδηγώντας σε σημαντική μείωση της προσθήκης γλουταμικών στη μεθοτρεξάτη και συνακόλουθα σε αντίσταση στο φάρμακο με υποτροπή (Yu *et al.*, 2020).

Η τοξικότητα των θειοπουρινών είναι γνωστό ότι επηρεάζεται από μεταλλάξεις στα γονίδια *NUDT15* και *TPMT*. Μια μελέτη 320 παιδιών με ΟΛΛ από την Κορέα που λάμβαναν 6-MP ως ΧΜΘ συντήρησης μελετήθηκαν με WES και σε σχέση με την εμφάνιση αιματολογικής τοξικότητας και δη λευκοπενίας. Το γονίδιο διαμεμβρανικού ρυθμιστή *CRIM1*, και ειδικότερα ο πολυμορφισμός rs3821169, φαίνεται πως έχει τόσο ανεξάρτητη (στο 5% των περιπτώσεων), όσο και συνδυασμένη με τα *NUDT15* και *TPMT* σχέση με την τοξικότητα των θειοπουρινών και καθίσταται πλέον δυνατόν να καθοριστεί εκ των προτέρων ο σχετικός γενετικός κίνδυνος (Y. Park *et al.*, 2020). Μια αναφορά περίπτωσης ενός πεντάχρονου αγοριού με Β-ΟΛΛ και εμφάνιση σημείων τοξικότητας κατά τη θεραπεία συντήρησης με 6-MP κατέληξε με τη βοήθεια WES ότι ευθυνόταν η ομοζυγωτία 415C>T με TT στον rs116855232 του γονιδίου *NUDT15*, εύρημα που επιβεβαιώνεται από τη σχετική βιβλιογραφία (Cheng *et al.*, 2019). Σε συνάφεια με τα παραπάνω ευρήματα, μια WES μελέτη σε 244 παιδιά με ΟΛΛ απέδειξε τη σχέση των γονιδίων *NUDT15* και *TPMT* με την τοξικότητα των θειοπουρινών και καθόρισε τα επίπεδα κινδύνου για εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών με ταυτόχρονο καθορισμό του απλότυπου των αλληλόμορφων με αστερίσκο (*) που ορίζουν το βέλτιστο δοσολογικό σχήμα (Park *et al.*, 2019).

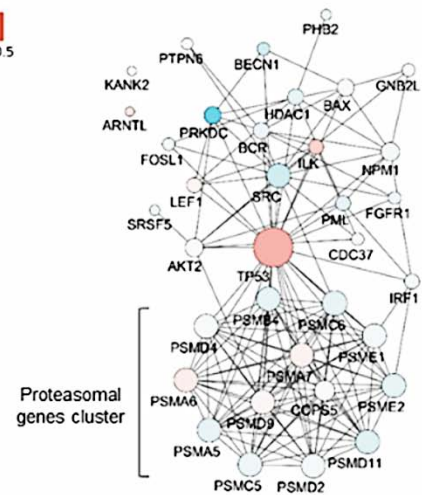
Η αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή αποτελεί επίσης ένα ουσιαστικό πρόβλημα στην πΟΛΛ, παρόλο που δεν εμφανίζεται σε μεγάλη συχνότητα, γιατί ευθύνεται για αντίσταση στη θεραπεία και υποτροπή. Μια μελέτη της συναρμογής του RNA σε 38 περιπτώσεις πΟΛΛ κατά τη διάγνωση με τη βοήθεια RNA-Seq απέδειξε ότι το γενετικό τοπίο αναφορικά με τη συναρμογή του RNA διαφέρει εντελώς μεταξύ της BCP-ALL και της Τ-ΟΛΛ (Εικόνα 24). Η εναλλακτική συναρμογή στην πΟΛΛ φαίνεται πως σχετίζεται με την επεξεργασία του RNA, την άμεση απάντηση στα γλυκοκορτικοειδή, τη ρύθμιση της σηματοδότησης επιβίωσης, της απόπτωσης και του κυτταρικού κύκλου, αλλά και με τον ενεργειακό μεταβολισμό. Επίσης, υπάρχει μια ένδειξη ότι αλλαγές στα *CDKN2A/B*, *BTG1* και *EBF1* συνδέονται με αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή, ενώ γονίδια που σχετίζονται με τη διαδικασία της συναρμογής βρέθηκαν με αλλαγές είτε και στις δυο ομάδες πΟΛΛ (*U2AF1* και *HNRNPA1*, αλλά και τα *HSP90AA1*, *SGK1* και *BAX*) είτε μονοσήμαντα στις BCP-ALL περιπτώσεις (*HNRNPA2B1*, *HNRNPK*, *HNRNPM*, *SRSF5* και *SRSF7*) ή στις Τ-ΟΛΛ περιπτώσεις (*SRSF3* και *SRPK2*, αλλά

και *CHUK*). Τα πρωτεϊνικά παράγωγα των προαναφερθέντων γονιδίων έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν και τη δική τους συναρμογή, αλλά και να επηρεάζουν γενικά τη διαδικασία της συναρμογής, συμμετέχοντας ουσιαστικά την καρκινογένεση. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν στο ότι η ακατάλληλη συναρμογή συμμετέχει στην αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή και στο ότι οι τροποποιητές της συναρμογής θα μπορούσαν να αποτελέσουν θεραπευτικό στόχο στις αντίστοιχες περιπτώσεις (Sciarrillo *et al.*, 2020).

BCP-ALL



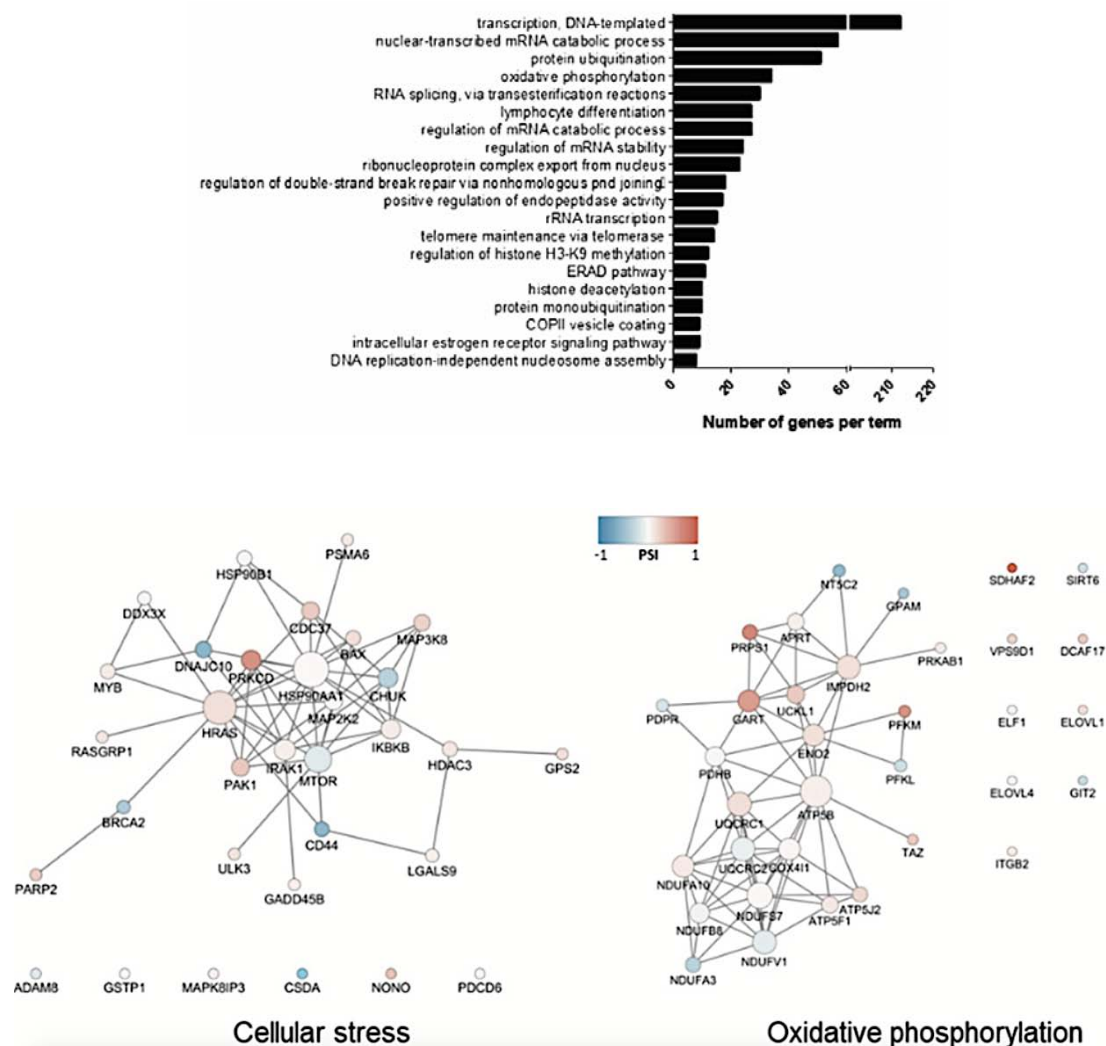
Regulation of apoptosis



Proteasomal genes cluster

Regulation of cell cycle

T-OΛΛ



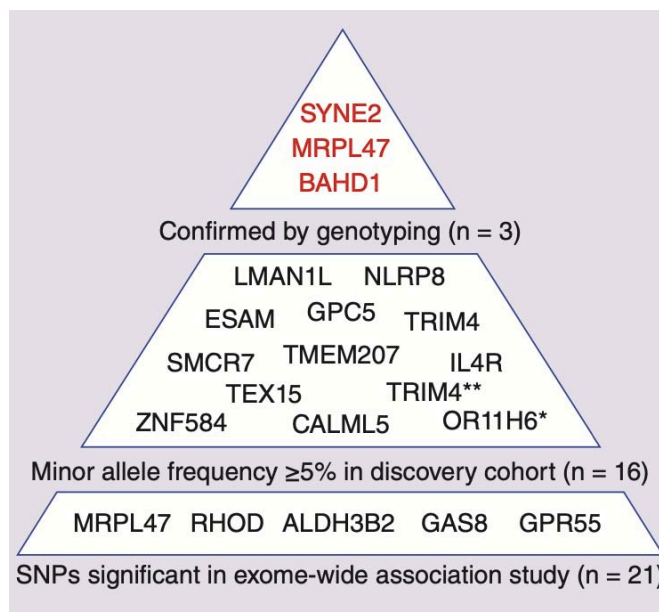
Εικόνα 24. Η οντολογία των 20 κατηγοριών γονιδίων με τις πιο συχνές διαταραχές συναρμογής στη BCP-ALL (πάνω) και στην T-OΛΛ (κάτω). Κάτω από τις οντολογίες κάθε υποομάδας αναπαρίστανται τα αντίστοιχα δίκτυα γονιδίων ανά κατηγορία (για τη ρύθμιση της απόπτωσης και του κυτταρικού κύκλου για τη BCP-ALL και για το κυτταρικό στρες και την οξειδωτική φωσφορυλίωση για την T-OΛΛ). Το χρώμα κάθε κουκίδας αντιπροσωπεύει το βαθμό αλλαγής κατά τη συναρμογή, ενώ το μέγεθός της είναι ανάλογο με τον αριθμό των αλληλεπιδράσεων με άλλα γονίδια (Sciarrillo *et al.*, 2020).

Η αντίδραση υπερευαισθησίας στη χορήγηση ασπαργινάσης είναι μια δυνητικά απειλητική για τη ζωή ανεπιθύμητη ενέργεια κατά τη θεραπεία της πΟΛΛ. Μια μελέτη

σε 527 παιδιά με ΟΛΛ και με τη βοήθεια WES αποκάλυψε πως ο συνδυασμός των αλληλόμορφων HLA τάξης II DRB1*07:01, DQA1*02:01 και DQB1*02:02 συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αντίδρασης υπερευαισθησίας στην *E. coli* ασπαργινάση (OR 2,6 με 95 % CI 1,3 – 5,2 και $p = 0,006$). Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν με τη γνώση που αποκτήθηκε από μελέτες GWAS στην πΟΛΛ και αφορούν στη συσχέτιση αντιδράσεων υπερευαισθησίας στην ασπαργινάση με τον πολυμορφισμό rs9272131 κοντά στο *HLA-DQA1* (Gagné *et al.*, 2020). Τα ίδια τρία αλληλόμορφα της HLA-D περιοχής συσχετίστηκαν με αντιδράσεις υπερευαισθησίας στην ασπαργινάση σε προγενέστερη μελέτη 359 περιπτώσεων πΟΛΛ και με τη βοήθεια NGS, ενώ ενδιαφέρον είχε η σημαντικά χαμηλότερη συχνότητα των αλληλόμορφων αυτών στις περιπτώσεις Τ-ΟΛΛ (Kutszegi *et al.*, 2017).

Μια παρόμοια WES μελέτη σε 302 παιδιά προσπάθησε να αναδείξει τους γενετικούς παράγοντες κινδύνου για τις ανεπιθύμητες ενέργειες της ασπαργινάσης κατά τη θεραπεία της πΟΛΛ. Ο πολυμορφισμός rs3809849 στο *MYBBP1A* συσχετίστηκε με αλλεργία στο φάρμακο ($p = 0,0006$), παγκρεατίτιδα ($p = 0,002$), θρόμβωση ($p = 0,02$), επιβίωση χωρίς συμβάματα ($p = 0,02$) και συνολική επιβίωση ($p = 0,003$). Επιπλέον, ο πολυμορφισμός rs11556218 στο *IL16* και ο rs34708521 στο *SPEF2* συσχετίστηκαν με θρομβώσεις ($p = 0,01$ και $p = 0,03$ αντίστοιχα) και παγκρεατίτιδα ($p = 0,02$). Μάλιστα, η συσχέτιση των παραπάνω γονιδίων με επαληθεύτηκε σε κοόρτη 282 άλλων περιπτώσεων πΟΛΛ (Abaji *et al.*, 2017).

Η περιφερική νευροπάθεια ως συνέπεια της θεραπείας με βινκριστίνη αποτελεί μια σημαντική αιτία συννοσηρότητας στην πΟΛΛ. Όπως διακρίνεται στην Εικόνα 25, μια WES μελέτη 237 περιπτώσεων πΟΛΛ (μετά από επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων σε 405 επιπλέον περιπτώσεις πΟΛΛ) κατέληξε πως η περιφερική νευροπάθεια από βινκριστίνη συσχετίζεται σημαντικά με τα ελάσσονα αλληλία του rs2781377 στο *SYNE2* ($p = 0,01$) και του rs10513762 στο *MRPL47* ($p = 0,01$), ενώ το έλασσον αλληλία στον rs3803357 του *BAHD1* φάνηκε πως ασκεί προστατευτική δράση ($p = 0,007$). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η προσθήκη του rs1135989 στο *ACTG1* που βελτίωσε την απόδοση του γενετικού προγνωστικού μοντέλου που χρησιμοποιήθηκε ($p = 0,0001$) για την πρόβλεψη της εν λόγω ανεπιθύμητης ενέργειας (Abaji *et al.*, 2018).

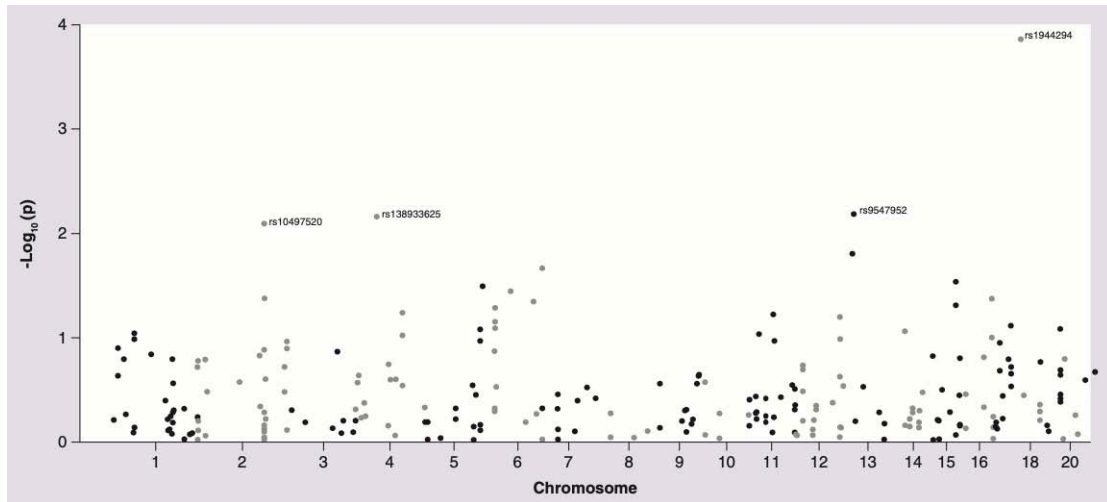


Εικόνα 25. Επιβεβαιωτικά βήματα για τις γενετικές θέσεις που ξεχώρισαν στις μελέτες συσχέτισης όλων των εξονίων και την εμφάνιση περιφερικής νευροπάθειας μετά από θεραπεία με βινκριστίνη στην πΟΛΛ (Abaji *et al.*, 2018). *ο rs35432946 στο TRIM4 δεν αναλύθηκε περαιτέρω λόγω ανισορροπίας σύνδεσης με τον rs33998596 επίσης στο TRIM4 **ο rs9323693 στο OR11H6 γονίδιο κωδικοποιεί έναν οσφρητικό υποδοχέα και δεν αναλύθηκε περισσότερο.

Η οστεονέκρωση είναι μια συχνή επιπλοκή της θεραπείας με κορτικοστεροειδή (δεξαμεθαζόνη και πρεδνιζόνη) στην πΟΛΛ. Μελέτες GWAS στο πεδίο αυτό κατέδειξαν τη σχέση της επιπλοκής αυτής με πολυμορφισμούς κοντά στο γονίδιο του υποδοχέα του γλουταμινικού οξέος *GRIN3A*, κοντά στο *BMP7* και στο *ACPI* γονίδιο. Μια μελέτη 297 ασθενών με πΟΛΛ και WES απέδειξε πως η *ACPI-SH3YL1* περιοχή με τους πολυμορφισμούς rs11553746, rs2290911, rs7595075, rs2306060 και rs79716074 σχετίζεται με την ανάπτυξη οστεονέκρωσης στην πΟΛΛ. Μάλιστα, ο rs79716074 στο *APCI* που συνδέεται με τη σηματοδότηση στη βιολογία των οστεοβλαστών και στο σχηματισμό οστού θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά ως βιοδείκτης για την πρόβλεψη ανάπτυξης οστεονέκρωσης στα παιδιά αυτά, ενώ ο ρόλος των *SOX14* και *EBF1* που αναδείχθηκε στη μελέτη αυτή δεν επιβεβαιώθηκε σε διασταύρωση με άλλες βάσεις δεδομένων (Gagné *et al.*, 2019).

Μια άλλη επιπλοκή της θεραπείας στην πΟΛΛ είναι η μείωση της οστικής πυκνότητας και τα συνεπαγόμενα κατάγματα σε σπόνδυλους. Μια μελέτη WES σε 242

ασθενείς με πΟΛΛ κατέληξε στο ότι το έλασσον αλληλίο του rs1944294 στο γονίδιο *CDH2* σχετίζεται σημαντικά ($p = 0,001$) με μείωση της οστικής πυκνότητας και κατάγματα (Εικόνα 26), ακόμα και όταν σταθμίστηκαν τα αποτελέσματα με τη λήψη ακτινοβολίας και το χρόνο από την έναρξη της θεραπείας (Aaron *et al.*, 2019).



Εικόνα 26. Διάγραμμα Manhattan τιμών οστικής πυκνότητας και δεδομένων WES, όπου στον X άξονα καταγράφεται η γενετική περιοχή και στον Y άξονα η τιμή P για τον κάθε συσχετισμό με πολυμορφισμό. Ξεχωρίζει ο πολυμορφισμός rs1944294 στο *CDH2* (Aaron *et al.*, 2019).

Συμπερασματικά, οι πληροφορίες που προσφέρει η φαρμακογενωμική στην πΟΛΛ αποτελούν σπουδαίο εργαλείο στην περαιτέρω μείωση της θνητότητας που αποδίδεται στη ΧΜΘ και κυμαίνεται μεταξύ 1 – 3%. Στον Πίνακα 7 περιγράφονται συνοπτικά τα φαρμακογονίδια στην πΟΛΛ και ο ρόλος τους ανάλογα με το ΧΜΘ παράγοντα (Pavlovic *et al.*, 2019).

Πίνακας 7. Φαρμακογενωμικοί και φαρμακομεταγραφωμικοί δείκτες ευαισθησίας ή τοξικότητας των ΧΜΘ φαρμάκων, όπως έχουν προσδιοριστεί και αξιολογηθεί από NGS τεχνικές (Pavlovic *et al.*, 2019). 6-MP = 6-μερκαπτοπουρίνη, MTX = μεθοτρεξάτη, * = προστατευτικός ρόλος

Φαρμακογονίδιο	Πολυμορφισμός ή RNA	Επίδραση
Γλυκοκορτικοειδή		
<i>ABCB1, WT1-AS</i>	rs6007758, rs41488548, rs10264856, rs4728709	Μεγαλύτερη κάθαρση της δεξαμεθαζόνης
<i>SERPINA6</i>	rs12589136	Υψηλότερα επίπεδα κορτιζόλης στον ορό
Ενδογενής παραλλαγή	rs10989692	Αυξημένος κίνδυνος οστεονέκρωσης
<i>ACP-1</i>	Πολλαπλοί SNPs	
<i>hsa-miR-142-3p, hsa-miR-17-5p</i>	miRNA	Υψηλή συσχέτιση με αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή
<i>EMP1</i>	mRNA	Υψηλότερη έκφραση σε πτωχούς απαντητές στην πρεδνιζόνη
<i>CASP1, NLRP3</i>	mRNA	Υψηλή έκφραση και συνακόλουθη σημαντική αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή
<i>SMARCA4, ARID1A, SMARCB1</i>	mRNA	Η μειωμένη έκφραση συνδέεται με αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή
<i>CREBBP</i>	Σωματικές μεταλλάξεις	Παρουσία καταστροφικών μεταλλάξεων οδηγεί σε αντίσταση στα γλυκοκορτικοειδή
Βινκριστίνη		
<i>CEP72</i>	rs924607	Περιφερική νευροπάθεια σχετιζόμενη με βινκριστίνη
<i>ABCC2</i>	rs374006, rs12826	
<i>SYNE2, MRPL47, BAHD1 *</i>	rs2781377, rs10513762, rs3803357 *	
<i>COCH</i>	rs1045644, rs7963521	
<i>miR-125b, miR-99a, miR-100</i>	microRNA	Αντίσταση στη βινκριστίνη

<i>miR-300, DROSHA</i>	rs12894467, rs639174	Περιφερική νευροπάθεια σχετιζόμενη με βινκριστίνη, έμετοι
<i>miR-3117-3p, miR-4481</i>	rs12402181, rs7896283	Περιφερική νευροπάθεια σχετιζόμενη με βινκριστίνη
Ασπαργινάση		
<i>MYBBP1A, IL16, SPEF2</i>	rs3809849, rs11556218, rs34708521	Αλλεργία, παγκρεατίτιδα και θρόμβωση, συσχέτιση με επιβίωση χωρίς συμβάματα και συνολική επιβίωση
<i>OPRM1</i>	microRNA	Αντίσταση στην ασπαργινάση
<i>PNPLA3</i>	rs738409	Ηπατοτοξικότητα
<i>GRIA1</i>	rs4958351	Υπερευαισθησία στην ασπαργινάση
<i>HLA-DRB1</i>	<i>HLA-DRB1*07:01</i>	
<i>NFATC2, HLA-DRB1, GRIA1</i>	rs6021191, rs4958351, <i>HLA-DRB1*07:01</i>	
<i>HLADRB1, HLADQB1</i>	<i>HLADRB1*07:01, HLA-DQB1*02:02</i>	
<i>CNOT3, HLADQA1, TAP2</i>	rs73062673, rs9272131	
<i>PRSS1-PRSS2</i> περιοχή, <i>NFATC2</i>	rs4726576, rs10273639, rs62228256	Υπερευαισθησία στην ασπαργινάση, παγκρεατίτιδα
Ανθρακυκλίνες		
<i>SLC28A3</i>	rs7853758	Καρδιοτοξικότητα επαγόμενη από ανθρακυκλίνες
<i>UGT1A6, SLC28A3</i>	rs17863783, rs885004, rs7853758 *	
<i>SLC22A17, SLC22A7</i>	rs4982753, rs4149178	
<i>RARG</i>	rs2229774	
<i>HAS3</i>	rs2232228	
Θειοπουρίνες		

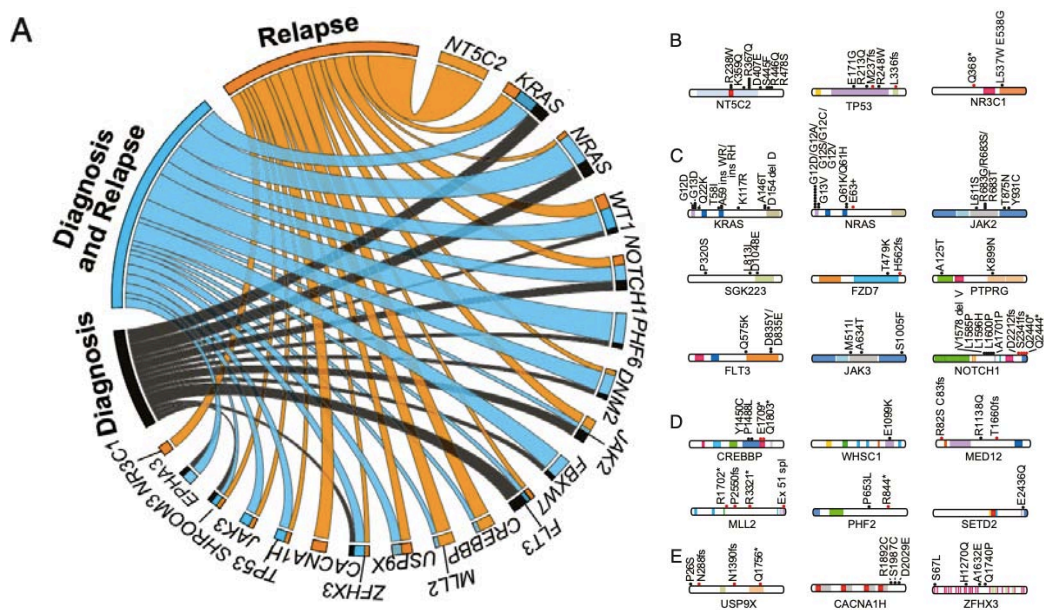
<i>TPMT, NUDT15</i>	rs1142345, rs116855232	Ένταση δόσης 6-MP
<i>TPMT</i>	rs1142345	Λειτουργικότητα TPMT
<i>PACSIN2</i>	rs2413739, mRNA	
<i>NT5C2</i>	Σωματικές μεταλλάξεις	Υποτροπή
<i>XDH, SLC29A1, ADA, CASP7, TOPBP1, ANAPC5, CCT4</i>	mRNA	Επίπεδα νουκλεοτιδίων θειογουανίνης μετά την αρχική MP θεραπεία
<i>SLC25A3, ATP50, COX5B, COX7A2L, RPS19, RPL18, RPS25, RPL23, EEF1G, EIF3S5, eIF3k</i>	mRNA	Επίπεδα νουκλεοτιδίων θειογουανίνης μετά την αρχική MP + MTX θεραπεία
<i>PAICS, TYMS, CAD, ATIC, GART, MSH6</i>	mRNA	Καθυστερημένη υποτροπή
<i>SUOX, ABCC1</i>	mRNA	Αντίσταση στις θειοπουρίνες
Μεθοτρεξάτη		
<i>SLCO1B1</i>	rs4149081, rs11045879, rs11045821, rs4149056	Κάθαρση της MTX
<i>ABCC2, ABCC4</i>	rs3740065, rs9516519	Επίπεδα MTX στον ορό
<i>DHFR, TYMS, CTPS, BCL3, CDC20, CENPF, FAIM3, POLD3, RPA3, RNASEH2A, RPM1, 2AFX</i>	mRNA	Μείωση των κυκλοφορούντων λευχαιμικών κυττάρων μετά την αρχική θεραπεία
<i>DHFR, TYMS</i>	mRNA	Πενταετής επιβίωση ελεύθερη νόσου
<i>TYMS, MTHFD1, RUVBL2</i>	mRNA	Συσσώρευση πολυγλουταμικών MTX μετά από υψηλές δόσεις MTX στη Β-ΟΛΛ χωρίς υπερδιπλοειδία

<i>MTHFD2, PPAT, RUVBL2</i>	mRNA	Συσσώρευση πολυγλουταμικών MTX μετά από υψηλές δόσεις MTX στην Τ-ΟΛΛ
<i>ABCG2, ABCC4, TYMS</i>	mRNA	Κυτταροτοξικές δράσεις της MTX στη Β-ΟΛΛ χωρίς υπερδιπλοειδία

3.5 NGS και υποτροπή στην πΟΛΛ

Το κλινικό πρόβλημα στην πΟΛΛ από πρώιμα Β-κύτταρα ή BCP-ALL (80 – 85% πΟΛΛ) παραμένει η υποτροπή της νόσου και η θεραπεία της. Η Che-1/AATF (Che-1) είναι μια πρωτεΐνη που προσδένεται στην RNA πολυμεράση II και παίζει ρόλο στη μεταγραφή, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και στην επιβίωση των όγκων. Πρόσφατα, σε μια μελέτη 80 νεοδιαγνωσθεισών πΟΛΛ και 14 υποτροπών πΟΛΛ και με τη βοήθεια ChIP-Seq και RNA-Seq βρέθηκε ότι η Che-1 υπερεκφράζεται κατά την έναρξη και κατά την υποτροπή της BCP-ALL, ενώ η απουσία της εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των λευχαιμικών κυττάρων και συνδέεται με ύφεση της νόσου. Επιπλέον, ο c-Myc παράγοντας προσδένεται στον υποκινητή του *AATF* οδηγώντας σε υπερέκφρασή του και αντιστρόφως η μεγάλη συγκέντρωση Che-1 οδηγεί στη συνέχεια σε καταστολή του *MYC* (Folgiere *et al.*, 2018).

Σε μια μελέτη 55 περιπτώσεων πΟΛΛ με WGS και WES κατά τη διάγνωση και επί της υποτροπής βρέθηκε πως οι ενεργοποιητικές μεταλλάξεις της RAS-MAPK σηματοδοτικής οδού στα *NRAS*, *KRAS* και *PTPN11* ευθύνονται για το 44% των υποτροπών (Εικόνα 27). Ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης ήταν ότι οι μεταλλάξεις στη Ras οδό μπορεί είτε να εμφανίζονται στην υποτροπή, είτε να εξαφανίζονται στην υποτροπή περιπτώσεων που έφεραν αρχικά αντίστοιχες μεταλλάξεις, υποδεικνύοντας ένα διττό ρόλο την κλωνική εξέλιξη της πΟΛΛ. Επίσης, οι μεταλλάξεις στη Ras οδό επάγουν αντίσταση στη μεθοτρεξάτη, ενώ παραδόξως εμφανίζεται αυξημένη ανταπόκριση στη θεραπεία με βινκριστίνη, καθιστώντας την NGS μελέτη στις υποτροπές πΟΛΛ καίρια ως προς τον καθορισμό της θεραπείας (Oshima *et al.*, 2016).



Εικόνα 27. Σωματικές μεταλλάξεις στις υποτροπές πΟΛΛ (Oshima *et al.*, 2016). (A) Αναπαράσταση των συχνότερα μεταλλαγμένων γονιδίων κατά τη διάγνωση και κατά την υποτροπή. Δεξιά, μεταλλάξεις (B) στα γονίδια *NT5C2*, *TP53* και *NR3C1* που εμπλέκονται σε αντίσταση στη ΧΜΘ, (C) στα γονίδια σηματοδοτικών οδών *KRAS*, *NRAS*, *JAK2*, *SGK223* ή *PRAG1*, *FZD7*, *PTPRG*, *FLT3*, *JAK3* και *NOTCH1*, (D) στα γονίδια επιγενετικών ρυθμιστών *CREBBP*, *WHSC1* και *MED12* και (E) στα συχνά μεταλλαγμένα γονίδια της πΟΛΛ *USP9X*, *CACNA1H* και *ZFHX3*. Οι μαύρες κουκίδες αντιπροσωπεύουν αντικαταστάσεις αμινοξέων, ενώ οι κόκκινες κουκίδες μεταλλάξεις που οδηγούν σε κολόβωμα της κωδικοποιούμενης πρωτεΐνης.

Σε μια ακόμα μελέτη από την Κίνα 12 περιπτώσεων πΟΛΛ σε υποτροπή και στοχευμένη αλληλούχιση εξονίων, το 75 % των περιπτώσεων Β-ΟΛΛ βρέθηκε με αλλαγές στη Ras σηματοδοτική οδό (*NRAS*, *KRAS*, *NF1* και *EPOR*). Αντίθετα οι μεταλλάξεις του *TP53* αφορούσαν κυρίως σε λευχαιμικούς κλώνους που προϋπήρχαν από τη διάγνωση της νόσου. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα τελευταία χρόνια έχει επιβεβαιωθεί πολλάκις η συμβολή των μεταλλάξεων στα *CREBBP*, *NT5C2*, *TP53*, *PRPS1*, *PRPS2*, *WHSC1*, *NR3C1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* και *FPGS* στην αντίσταση έναντι των κλασικών ΧΜΘ (βλέπε Κεφάλαιο 3.4). Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη, τα γονίδια *NT5C2* και *CREBBP* που συνδέονται με υποτροπή στην πΟΛΛ φαίνεται ότι οδηγούν μόνο συνεργικά σε υποτροπή, καθώς σε όλους τους ασθενείς ανιχνεύθηκαν

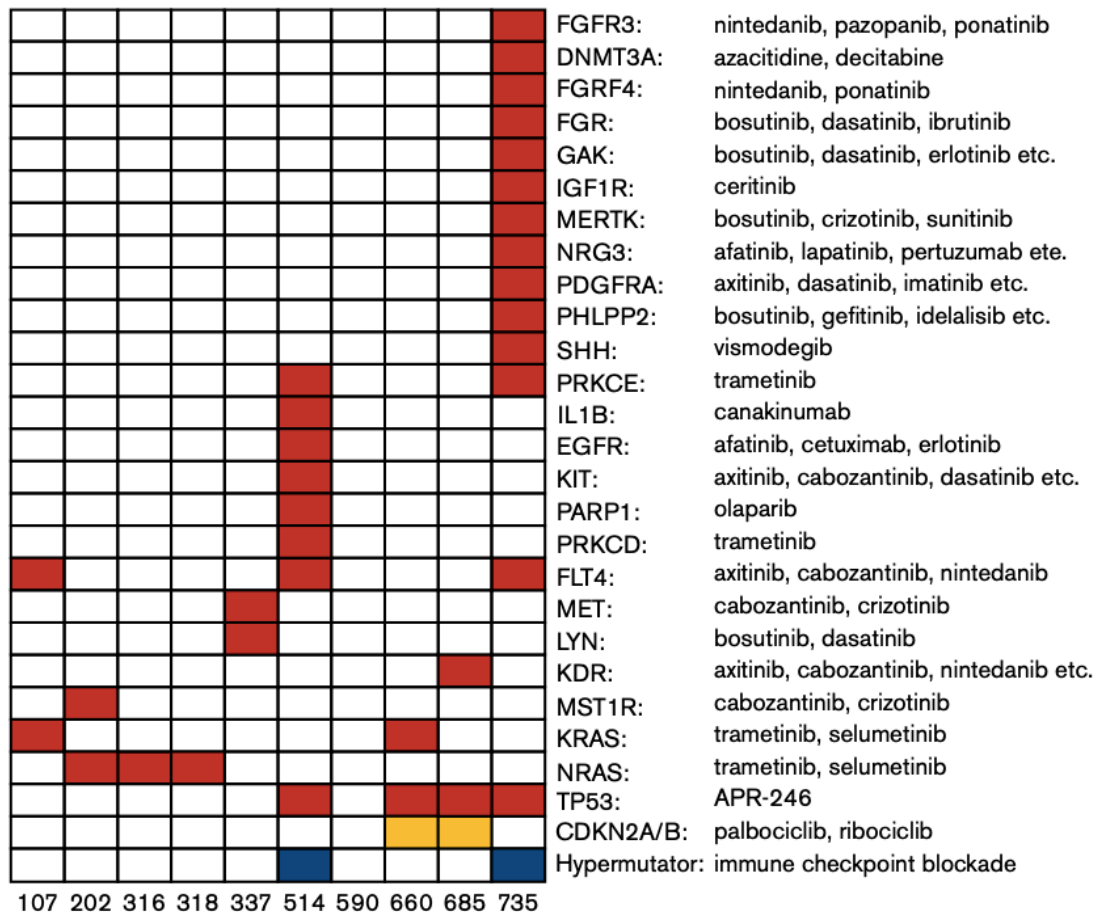
μεταλλάξεις στη Ras σηματοδοτική οδό, υποδεικνύοντας τη σημασία τους στην υποτροπή της πΟΛΛ (H.-H. Zhang *et al.*, 2020).

Άλλη μία NGS μελέτη σε 17 παιδιά με πΟΛΛ κατά τη διάγνωση, κατά την ύφεση και κατά την υποτροπή κατέδειξε 16 πολυμορφισμούς, ενθέσεις και διαγραφές (στα *BCL11B*, *BTG1*, *CDKN2A/B*, *CREBBP*, *EBF1*, *ETV6*, *FBXW7*, *IKZF1*, *PAX5*, *RBI* και *TCF3*) και 19 παραλλαγές αριθμού αντιγράφων σε σχέση με την πΟΛΛ κατά τη διάγνωση (στα *CREBBP*, *EZH2*, *FANCG*, *FLT3*, *GATA1*, *IKZF1*, *IKZF3*, *JAK3*, *KRAS*, *NOTCH1*, *TCF3*, *TP53* και *WT1*), ενώ στην υποτροπή βρέθηκε συσχέτιση με 28 πολυμορφισμούς, ενθέσεις και διαγραφές (στα *BCL11B*, *CDKN2A/B*, *CREBBP*, *EBF1*, *ETV6*, *IKZF1*, *KMT2A*, *MSH2*, *PAX5*, *RBI* και *TCF3*), αλλά και με 22 παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (στα γονίδια των *ABL1*, *ASXL1*, *CREBBP*, *CRLF2*, *DNMT1*, *DOT1L*, *FANCG*, *FLT3*, *IKZF1*, *IKZF3*, *KIT*, *KMT2A*, *KRAS*, *MECOM*, *NOTCH1*, *SMARCA4*, *SMARCC2*, *TCF3*, *TERT*, *TP53* και *WT1*). Με την παρούσα NGS τεχνική κατάφεραν να κατηγοριοποιηθούν στην ομάδα υψηλού κινδύνου 62,5 % των παιδιών με BCP-ALL, υπογραμμίζοντας τη σημασία της εφαρμογής της τεχνικής στην κλινική πράξη. Επιπλέον, στους μισούς περίπου ασθενείς αποκαλύφθηκαν γενετικές αλλαγές που αποτελούν φαρμακολογικούς στόχους ΧΜΘ παραγόντων που κυκλοφορούν ήδη στο εμπόριο, δίνοντας έτσι μια πιο εξατομικευμένη προσέγγιση και εναλλακτικές στην αντιμετώπιση των ασθενών αυτών. Τέλος, ένας ασθενής βρέθηκε με μετάλλαξη στο *TP53* των γαμετικών του κυττάρων, τονίζοντας τη σημασία του φύλακα του γονιδιώματος σε σχέση με τη λευχαιμογένεση (Ishida *et al.*, 2019).

Στις υποτροπές των παιδιατρικών περιπτώσεων T-ΟΛΛ φαίνεται ότι κυρίαρχο ρόλο παίζουν οι μεταλλάξεις στο *NOTCH1*, ενώ προκρίνεται ως κύρια υπεύθυνη η μετάθεση *NOTCH1/FBXW7*. Σε ένα δείγμα 30 παιδιών με T-ΟΛΛ που αναλύθηκαν με WES κατά την εμφάνιση, κατά την ύφεση και στην υποτροπή τους φάνηκε πως η σύντηξη *NOTCH1/FBXW7* ήταν παρούσα στο 73,3 % κατά τη διάγνωση και στο 72,7 % κατά την υποτροπή. Παραδόξως, οι πολυμορφισμοί στην περιοχή ετεροδιμερισμού του Notch1 ήταν κυρίαρχες κατά τη διάγνωση (40 %), ενώ κατά την υποτροπή ήταν περισσότερες οι αλλαγές στην πλούσια σε προλίνη-γλουταμικό-σερίνη περιοχή (proline, glutamic acid, serine, threonine-rich ή PEST με 54,5 %). Τα παραπάνω ευρήματα συνηγορούν στη συμβολή των μεταλλάξεων του *NOTCH1* στην υποτροπή της παιδιατρικής T-ΟΛΛ (Kimura *et al.*, 2019). Σε μια προγενέστερη μελέτη 4 παιδιών με T-ΟΛΛ και με τη βοήθεια WGS και RNA-Seq κατά τη διάγνωση και στην εμφάνιση υποτροπής φάνηκε πως τα πρώτα γεγονότα στην υποτροπή είναι οι αλλαγές που

επισυμβαίνουν σε ογκογονίδια (όπως τα *MED12* και *STAT5B*), ενδιάμεσα γεγονότα είναι η απώλεια του 9p21 των *CDKN2A/B* και οι συντήξεις γονιδίων, ενώ οι μεταλλάξεις στο *NOTCH1* είναι τυπικά καθυστερημένα γεγονότα στην εμφάνιση υποτροπής στην Τ-ΟΛΛ. Στην ίδια μελέτη τονίστηκε η παρουσία μεταλλάξεων στα προγονικά $CD34^+CD38^-$ πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα στις μισές περιπτώσεις υποτροπής Τ-ΟΛΛ (De Bie *et al.*, 2018). Σε μια WES μελέτη περιστατικού με ETP-ALL και υποτροπή βρέθηκε μονογονεϊκή δισωμία στο γενετικό τόπο 19p13.3-p12, αλλά και με τη μετάλλαξη V674A στο *JAK3*, που εδράζεται στο 19p13.1 και ευθύνεται για την υποτροπή. Το εύρημα αυτό, παρόλο που προοιωνίζει πτωχή πρόγνωση με τον αρχικό ETP φαινότυπο, μπορεί να διαχειριστεί θεραπευτικά με *JAK3* αναστολείς (Kawashima-Goto *et al.*, 2015).

Ένα ακόμα σημαντικό πρόβλημα στην πΟΛΛ είναι η υποτροπή μετά από αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Μια μελέτη σε 10 παιδιά με τέτοια υποτροπή χρησιμοποίησε WES, ώστε να εντοπίσει τις αλλαγές στο γονιδίωμα και να προτείνει εξατομικευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Το πρώτο εύρημα ήταν ότι κάθε περίπτωση είχε ένα εντελώς διαφορετικό σύνολο μεταλλάξεων, ενώ το δεύτερο εύρημα ήταν ότι οι μεταλλάξεις των υποτροπών μετά τη μεταμόσχευση διέφεραν σημαντικά από αυτές που έφεραν οι βλάστες στην υποτροπή που οδήγησε στη μεταμόσχευση. Η δυναμική κλωνικότητα έχει ως χαρακτηριστικό παράδειγμα τις μεταλλάξεις στο γονίδιο της νουκλεοτιδάσης *NT5C2*, οι οποίες προκαλούν αντίσταση στις θειοπουρίνες, μα απαλείφονται μετά τη μεταμόσχευση με το που η πίεση της ΧΜΘ συντήρησης σταματά. Μεταλλάξεις στο *TP53* ταυτοποιήθηκαν σε 4 από τους 10 ασθενείς κατά την υποτροπή μετά τη μεταμόσχευση, υποδηλώνοντας χημειοαντίσταση που αναπτύχθηκε εξαιτίας της ΧΜΘ. Στην Εικόνα 28 φαίνονται οι πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις σε σχέση με τις ταυτοποιηθείσες μεταλλάξεις, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι ο πρόσφατα ανακαλυφθείς ενεργοποιητής της p53 APR-246 (eprenetapopt ή PRIMA-1^{Met}) φάνηκε αποτελεσματικός στις μισές αντίστοιχες περιπτώσεις (Hoell *et al.*, 2019).

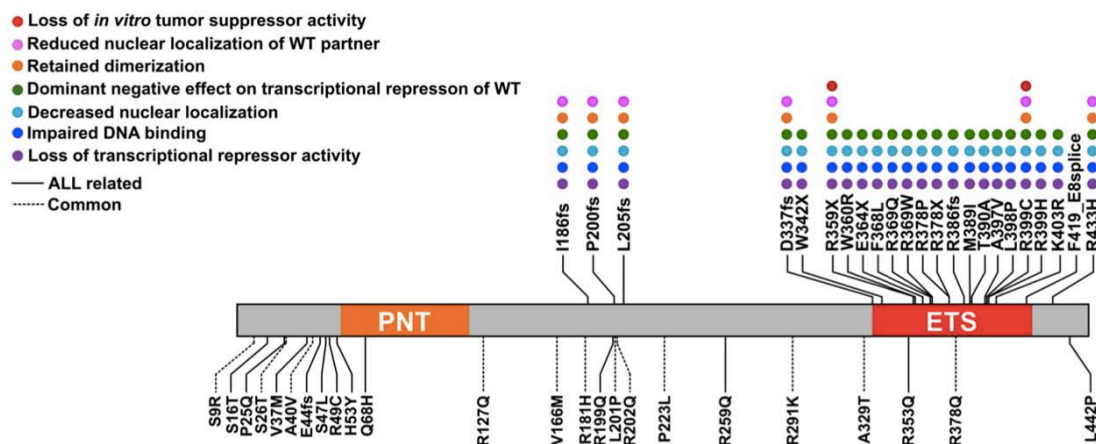


Εικόνα 28. Μεταλλάξεις σε γονίδια που σχετίζονται με πΟΛΛ και αποτελούν πιθανούς στόχους της θεραπείας σε ασθενείς με υποτροπή μετά από αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Οι μεταλλάξεις με κόκκινο χρώμα, οι απώλειες αριθμού αντιγράφων με πορτοκαλί και με μπλε πολλαπλές μεταλλάξεις (> 200) σε ογκογονίδια (Hoell *et al.*, 2019).

3.6 NGS και διαλογή σε ειδικές ομάδες και στο γενικό πληθυσμό

Τα αδέρφια πασχόντων με πΟΛΛ έχουν 2 - 4 φορές μεγαλύτερες πιθανότητες να εμφανίσουν πΟΛΛ, ενώ η οικογενής ΟΛΛ έχει συσχετιστεί με μεταλλάξεις στα γονίδια *TP53*, *PAX5*, *ETV6* και *IKZF1*. Εφαρμογές της NGS, όπως οι WGS και WES, αρχίζουν και χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη, ώστε να αξιολογείται η γενετική προδιάθεση, να εντοπίζεται με ακρίβεια η βλάβη στο γονιδίωμα και να ακολουθείται η κατάλληλη θεραπευτική στρατηγική (Rampersaud *et al.*, 2019). Μάλιστα, μεταλλάξεις στο γονίδιο *ETV6* αποτελούν προδιαθεσικό παράγοντα στην κληρονομική πΟΛΛ, ενώ

συνυπάρχουν θρομβοπενία και μακροκυττάρωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Μελέτη 23 οικογενειών με ΟΛΛ με WES κατέδειξε δύο σημαντικές μεταλλάξεις στο *ETV6* που αφορούσαν στην κεντρική περιοχή του, αλλά και στη θέση πρόσδεσης του DNA (Noetzli *et al.*, 2015). Μια ακόμα μελέτη σε 31 παιδιά με Β-ΟΛΛ και κληρονομούμενες μεταλλάξεις στο *ETV6* εργαλειοποίησε WGS, RNA-Seq και ATAC-Seq τεχνικές, για να καταλήξει στο ότι 70 % των περιπτώσεων με παθολογικά *ETV6* αλληλόμορφα υπάρχει υπερδιπλοειδία με χαρακτηριστικές επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις στα *NRAS*, *KRAS* και *PTPN11*. Αντίθετα, το 30% των περιπτώσεων εμφάνιζε διπλοειδία και απώλεια αριθμού αντιγράφων *PAX5* και *ETV6* με γονιδιακή έκφραση που ομοιάζε καταπληκτικά με αυτή της *ETV6-RUNX1* σύντηξης. Στις 22 από τις 34 παραλλαγές του *ETV6* διαπιστώθηκαν αλλαγές στη μεταγραφική αναστολή, απώλεια της ικανότητας πρόσδεσης DNA και αλλοιωμένη πυρηνική εντόπιση (Εικόνα 29). Το παραπάνω μοντέλο αναδεικνύει τη σημαντικότητα συγκεκριμένων μεταλλάξεων σε έδαφος *ETV6* κληρονομούμενων μεταλλάξεων στην εμφάνιση της πΟΛΛ (Nishii *et al.*, 2020).



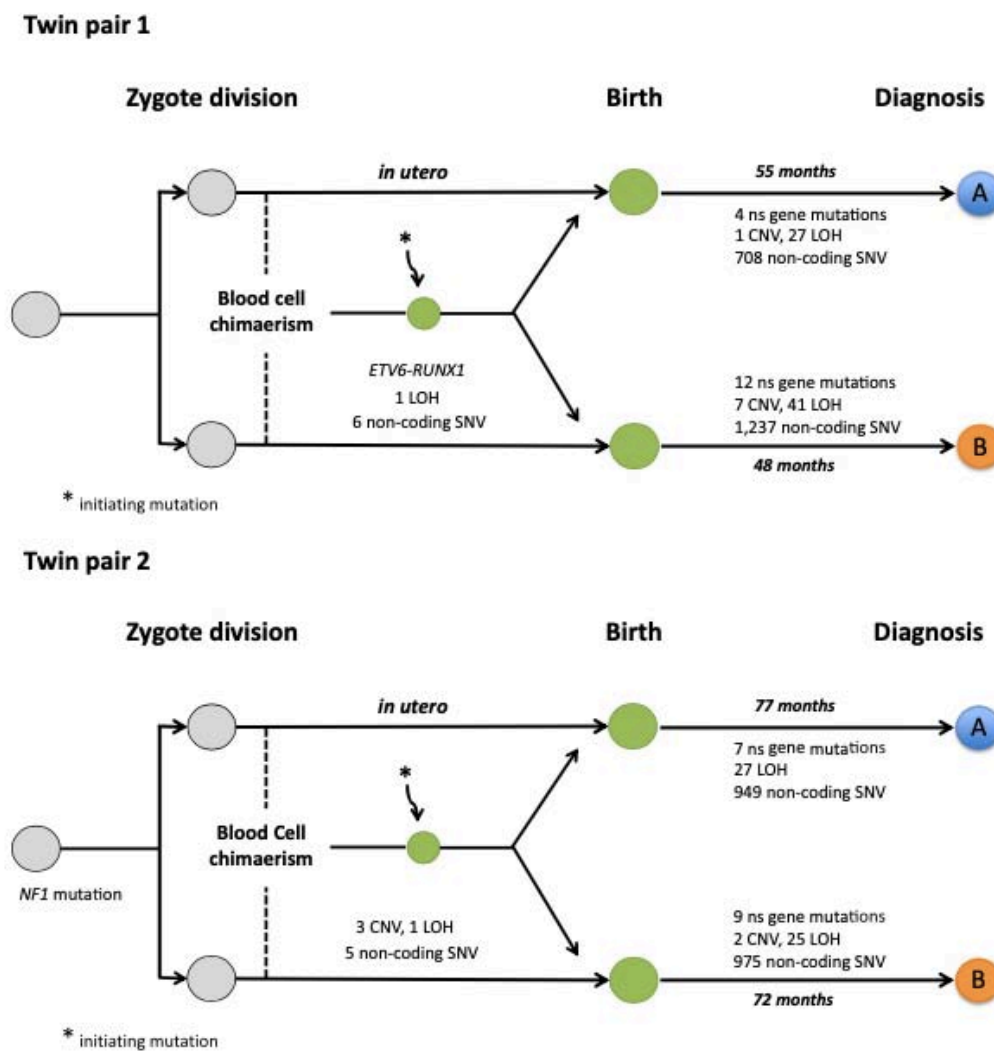
Εικόνα 29. Σύνοψη του *in vitro* χαρακτηρισμού των παραλλαγών του *ETV6*. Στην πάνω πλευρά του σχήματος του γονιδίου οι μεταλλάξεις που χαρακτηρίζονται από βλάβη στη μεταγραφική καταστολή. Στην κάτω πλευρά οι μεταλλάξεις που δεν επηρεάζουν τη μεταγραφική καταστολή του γονιδίου (wild-type). Οι κουκίδες αντιπροσωπεύουν τα ευρήματα από μελέτες λειτουργικότητας των αντίστοιχων γονιδιακών προϊόντων (Nishii *et al.*, 2020). PNT (pointed N-terminal domain) = η αμινοτελική περιοχή που σχηματίζει ολιγομερή με τον εαυτό της, αλλά και με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, ETS (erythroblast transformation specific domain) = η καρβοξυτελική περιοχή που προσδένει DNA.

Σε συμφωνία με προηγούμενες ενδείξεις, η WGS μελέτη οικογένειας με θετικό ιστορικό καρκίνων και δη πΟΛΛ σε δύο περιπτώσεις, κατέδειξε αμοιβαία μετατόπιση t(12;14)(p13.2;q23.1) στις περιπτώσεις BCP-ALL, αλλά και σε 7 άλλα μέλη της οικογένειας χωρίς κλινική εικόνα θρομβοπενίας ή αιματολογικών κακοηθειών (που σχετίζονται με βλάβες στο *ETV6*). Η *ETV6-RTN1* σύντηξη οδηγούσε σε έκφραση πρωτεϊνικού παραγώγου που δεν ήταν, όμως, λειτουργικό. Συμπερασματικά, φαίνεται πως η έκφραση του *ETV6* από δύο αλληλόμορφα είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική αμοιοποίηση και πως επιπλέον μεταλλάξεις (όπως στα *NRAS* και *WAC-ASI*) οδηγούν στη λευχαιμογένεση, όταν υφίσταται σύντηξη που αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για πΟΛΛ (Järviäho *et al.*, 2019).

Σε μια πρόσφατη μελέτη 57 παιδιών Αραβικής καταγωγής με ΟΛΛ και με τη βοήθεια WES προσδιορίστηκε το ποσοστό της κληρονομικής προδιάθεσης με παθογόνες και πιθανά παθογόνες μεταλλάξεις σε γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο στο 8,3%, ενώ αντίστοιχη μελέτη των Η.Π.Α. είχε υπολογίσει το ποσοστό αυτό στο 4,4%. Να σημειωθεί ότι η κληρονομική προδιάθεση για καρκίνο στη Β-ΟΛΛ με υποδιπλοειδία ανέρχεται στο 28%. Τρεις ασθενείς στη μελέτη αυτή (5%) είχαν θετικό ιστορικό για καρκίνο στα αδέρφια τους, ενώ τρία ήταν και τα παιδιά που έφεραν ετερόζυγες παθολογικές μεταλλάξεις στα *TP53* (c.524G>A με p.Arg175His στον rs28934578), *BRCA1* (c.5095C>T με p.Arg1699Trp στον rs55770810) και *BRCA2* (c.6405_6409del ή p.Asn2135fs στον rs80359584), ένα παιδί με Β-ΟΛΛ έφερε ομόζυγη μετάλλαξη *PMS2* (c.1376C>G ή p.Ser459Ter στον rs587780724) και ένα παιδί με Τ-ΟΛΛ είχε ομόζυγη μετάλλαξη στο *AK2* (c.545C>A ή p.Ala182Asp στον rs559947967). Μεταξύ των ασθενών με θετικό γονεϊκό ιστορικό για καρκίνο, το 11% των παιδιών έφερε αντίστοιχες μεταλλάξεις, ενώ μεταλλάξεις που προδιαθέτουν σε καρκίνο βρέθηκαν στο 8% των ασθενών με αρνητικό γονεϊκό ιστορικό. Παθογόνες μεταλλάξεις για καρκίνο εντοπίστηκαν στο 23% των παιδιών (τρεις στο *PPARG*, δύο στο *NF1* και από μία στα *KDM6A*, *POT1*, *XPC*, *POLD1*, *CASP8*, *WRN*, *POLE*, *LRIG3* και *NOTCH1*), ενώ πιθανά παθογόνες στο 58 % (έξι στο *SH2B3*, τρεις στο *PTCH1* και από μία στα *EWSR1*, *PPP2R1A*, *SMC3*, *TSC2*, *ATM*, *ERBB2*, *ETV6*, *AKAP9*, *MEN1*, *CTR9*, *H3-3A*, *SDHA*, *HABP2*, *POT1*, *KDR*, *BCL11A*, *TERT*, *CCDC6*, *AIP*, *XPC*, *ERCC2*, *SMC1A*, *SMO*, *WHSC1*, *HRAS*, *GNAS*, *FANCA*, *CDKN2C*, *PTPN11*, *FANCD2* και *BAP1*). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν χαμηλή οικογενή προδιάθεση

στην πΟΛΛ και μελέτες με WGS θα επιβεβαιώναν την υπόθεση αυτή (Alsultan *et al.*, 2020).

Σύμφωνα με τη μόνη δημοσιευμένη μελέτη μονοζυγωτικών μονοχοριακών διδύμων με πΟΛΛ και NGS, η νόσος μπορεί να αναπτυχθεί και σε απουσία γενετικής αστάθειας, με την προϋπόθεση ότι υπάρχουν *in utero* μεταλλάξεις που οδηγούν στη λευχαιμογένεση (Εικόνα 30). Πιο συγκεκριμένα, το ένα ζεύγος διδύμων ανέπτυξε πΟΛΛ ως συνέπεια της *ETV6-RUNX1* αναδιάταξης, ενώ το δεύτερο ζεύγος παιδιών είχε μια οδηγό μετάλλαξη στο *NF1* και ακολούθως διαγραφές στα χρωμοσώματα 7, 10q και 14q11.2 με ταυτόχρονη απώλεια ετεροζυγωτίας στο 17q (Ma *et al.*, 2013).



Εικόνα 30. Ανάπτυξη της πΟΛΛ σε σχέση με το χρόνο σε δύο ζεύγη μονοζυγωτικών μονοχοριακών διδύμων. Με αστερίσκο οι εισαγωγικές μεταλλάξεις, ns = μεταλλάξεις μη σημαντικές σε σχέση με την πΟΛΛ σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, LOH = απώλεια

ετεροζυγωτίας, CNV = παραλλαγές αριθμού αντιγράφων, SNV = παραλλαγές ενός μόνου νουκλεοτιδίου (Ma *et al.*, 2013).

Σπάνιες μεταλλάξεις στα γονίδια της αναμίας Fanconi έχουν επίσης συνδεθεί με κληρονομική πΟΛΛ. Μια αναφορά περίπτωσης που διασταυρώθηκε με 369 ακόμα δείγματα πΟΛΛ και με τη βοήθεια WES κατέληξε ότι σπάνιες μεταλλάξεις στα *FANCP/SLX4* (πολυμορφισμοί rs137976282/rs79842542), *FANCA* (rs61753269) και στο γονίδιο της ρεσολβάζσης των κόμβων του Holliday *GEN1* (rs16981869) ευθύνονται για κληρονομική πΟΛΛ, παρόλο που προηγουμένως είχε αναφερθεί η συμμετοχή των παραλλαγών αυτών σε περιστατικά οικογενούς καρκίνου του μαστού. Να σημειωθεί ότι το *FANCA* είναι το πλέον μεταλασσόμενο γονίδιο στην αναμία Fanconi και ότι είναι απαραίτητο για τη χαλάρωση και λύση των διασυνδέσεων μεταξύ των ελίκων του DNA κατά τη διάρκεια της αντιγραφής. Επιπλέον, τα *FANCP/SLX4* και *GEN1* συμμετέχουν στην αποκοπή των συνδέσμων Holliday και οι μεταλλαγμένες μορφές των πρωτεϊνικών τους προϊόντων σε συνδυασμό με το σπάνιο αλληλόμορφο του *PRDM9* οδηγούν σε μη διαχωρισμό των ομόλογων χρωμοσωμάτων ή των αδελφών χρωματίδων κατά την κυτταρική διαίρεση (Spinella, Healy, *et al.*, 2015).

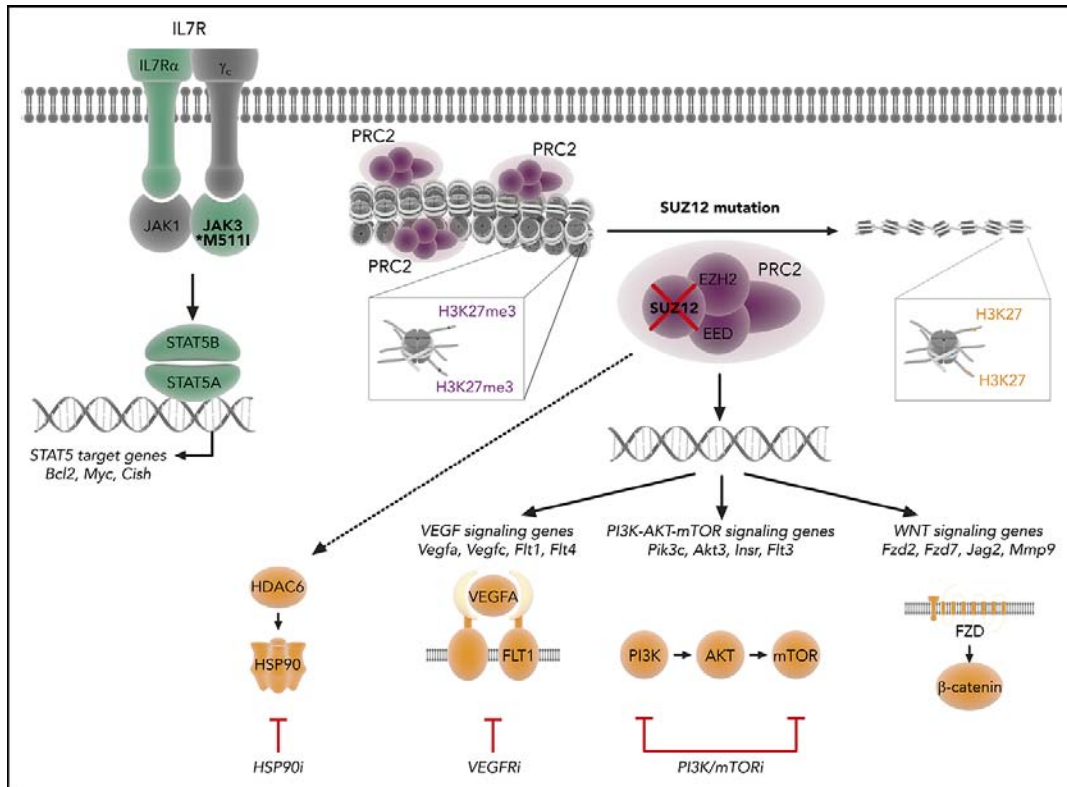
Η συγγενής πΟΛΛ (με διάγνωση σε ηλικία μικρότερη των 30 ημερών ζωής) αποτελεί μια πρόκληση σε επίπεδο θεραπείας και πρόσφατα ετέθη κάτω από το μικροσκόπιο της WES. Από τις τέσσερις περιπτώσεις που μελετήθηκαν η μία βρέθηκε με την υπεύθυνη μετάλλαξη στο *SHH*, γονίδιο που ως τότε δεν είχε εμπλακεί στη βιολογία της πΟΛΛ. Η Hedgehog σηματοδοτική οδός παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη των Β-κυττάρων, ενώ συγκεκριμένα η G143S μετάλλαξη που εντοπίστηκε αφορά σε σημαντική σηματοδοτική περιοχή που αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα του SHH, πρωτεΐνη Patched 1 (*PTCH1*). Η σύνδεση SHH και PTCH1 επάγει την ανασταλτική δράση του PTCH1 στην Smoothened πρωτεΐνη (SMO), η οποία φυσιολογικά θα έδινε το σήμα για ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων, όπως οι GLI-1, GLI-2, και GLI-3. Δύο από τα τέσσερα παιδιά στη μελέτη αυτή έφεραν μεταλλάξεις στο *FLT3*, ασθενείς που θα ωφελούνταν σαφώς με την κυκλοφορία των FLT3 αναστολέων που βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές. Άλλες παθολογικές μεταλλάξεις που αναφέρθηκαν στη συγγενή πΟΛΛ αφορούσαν στα *FAM78B*, *CRIPAK*, *MAGEC1* και *DMBT1* γονίδια (Chang *et al.*, 2013).

Μια πρόσφατα δημοσιευμένη NGS μελέτη με ταχεία και στοχευμένη αλληλούχιση 330 συγκεκριμένων γονιδίων και 1179 πολυμορφισμών σε 17 παιδιά με

πΟΛΛ δεν κατάφερε να ταυτοποιήσει σε ικανοποιητικό βαθμό το γενετικό υπόβαθρο της νόσου (αποτέλεσμα σε 5 από τα 17 παιδιά). Η βελτιστοποίηση των NGS τεχνικών και η γνώση ότι η πΟΛΛ εμπλέκει συχνά συντήξεις γονιδίων (παρά SNVs, CNVs, εισαγωγές και διαγραφές) θα μπορούσαν στο μέλλον να λειτουργήσουν καλύτερα ως προς τη διαλογή ακόμα και του γενικού πληθυσμού σε σχέση με την πΟΛΛ (Yasuda *et al.*, 2020).

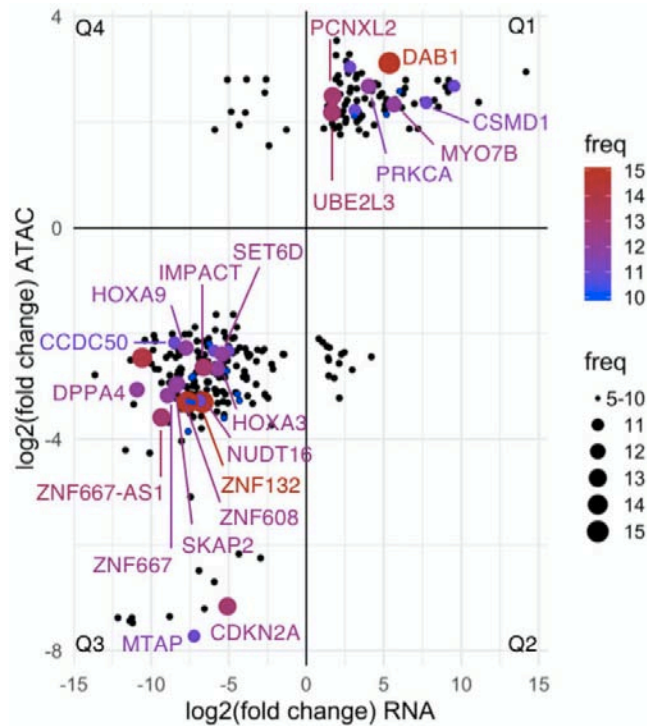
3.7 Άλλες εφαρμογές της NGS στην πΟΛΛ

Μέσω τεχνικών NGS είμαστε σε θέση σήμερα να γνωρίζουμε ότι κάθε περίπτωση T-ΟΛΛ κατά τη διάγνωση φέρει πάνω από 10 καίριες μεταλλάξεις. Το PRC2 σύμπλοκο (με κεντρικά στοιχεία του τα EZH2, SUZ12 και EED) είναι υπεύθυνο μέσω της ιστόνης H3K27 για την καταστολή της έκφρασης πάρα πολλών γονιδίων. Μάλιστα, οι μεταλλάξεις στο *SUZ12* αφορούσαν στο 14,3 % των περιπτώσεων σε μια πρόσφατη μελέτη με RNA-Seq, ChIP-Seq και ATAC-Seq, καταγράφοντας την υψηλότερη συχνότητα μεταξύ των υποτύπων της T-ΟΛΛ, ενώ αποδείχθηκε ότι με ταυτόχρονη παρουσία μεταλλάξεων του *JAK3* οδηγούμαστε σε ανάπτυξη T-ΟΛΛ. Η απενεργοποίηση του *SUZ12* οδηγεί σε αύξηση της σηματοδότησης στις οδούς PI3K/mTOR, VEGF/VEGF υποδοχέων και WNT, ενώ τα λευχαιμικά κύτταρα είναι περισσότερο ευαίσθητα από τις απλές *JAK3* μεταλλάξεις στην αναστολή των HDAC6 και HSP90 (Broux *et al.*, 2019). Τα ευρήματα αυτά είναι πολύ σημαντικά για την επιλογή θεραπείας αναλόγως των ταυτοποιούμενων κάθε φορά μεταλλάξεων (Εικόνα 31).



Εικόνα 31. Σχηματική αναπαράσταση της συμμετοχής των μεταλλάξεων *SUZ12* στην T-ΟΛΛ και πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι (Broux *et al.*, 2019).

Άλλη μια σημαντική πρόοδος στην κατανόηση της T-ΟΛΛ επετεύχθη χάριν στην NGS με την ανάλυση της προσβασιμότητας της χρωματίνης σε ένα δείγμα 19 παιδιών και χρησιμοποιώντας RNA-Seq και ATAC-Seq, ανοίγοντας νέους δρόμους προς την κατανόηση της πΟΛΛ. Το *DABI*, ένα γονίδιο που εκφράζεται έντονα κατά την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος, συσχετίστηκε για πρώτη φορά με την T-ΟΛΛ και βρέθηκε υπερεκφρασμένο, με ανώμαλη συναρμογή του RNA του και εξαιρετικά προσβάσιμο (Εικόνα 32). Η προσβασιμότητα της χρωματίνης στο *DABI* συνδυάστηκε με υπερβολικά προσβάσιμες θέσεις πρόσδεσης για τον SPI1 (PU.1), ένα μεταγραφικό παράγοντα καίριο για την ωρίμανση των φυσιολογικών T-κυττάρων. Επιπρόσθετα, η T-ΟΛΛ στα παιδιά ομοιάζει περισσότερο με ανώριμα πρώιμα κύτταρα του θύμου αδένου, υποδεικνύοντας βλάβη σε πολύ πρώιμα στάδια της ανάπτυξης (Erarslan-Uysal *et al.*, 2020).



Εικόνα 32. Λογαριθμική απεικόνιση των αλλαγών σε 292 γονίδια διαφοροποιημένης έκφρασης (RNA-Seq θυμικών κυττάρων έναντι T-ΟΛΛ) και διαφοροποιημένης προσβασιμότητας (ATAC-Seq φυσιολογικών T-κυττάρων έναντι T-ΟΛΛ). Το μέγεθος των κουκίδων και το χρώμα αντιπροσωπεύουν τη συχνότητα των απορρυθμισμένων γονιδίων (Erarslan-Uysal *et al.*, 2020). Διακρίνεται το *DAB1* στο επάνω και δεξιά τεταρτημόριο με αυξημένη έκφραση, αλλά και προσβασιμότητα.

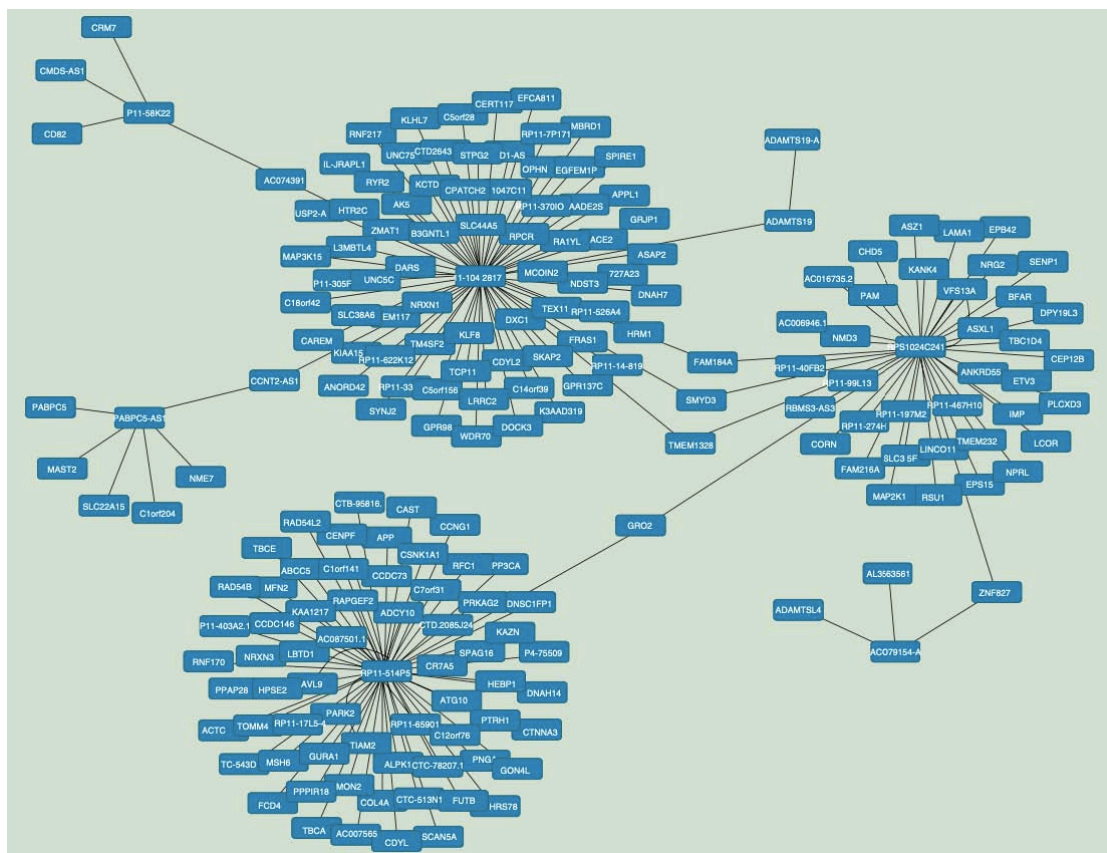
Ο ρόλος των lncRNAs στην πΟΛΛ έχει απασχολήσει την επιστημονική κοινότητα τα τελευταία χρόνια. Με τη βοήθεια RNA-Seq και ChIP-Seq σε κυτταρικές σειρές T-ΟΛΛ επιβεβαιώθηκαν αποτελέσματα προηγούμενων κλινικών μελετών, αλλά και προστέθηκαν νέα lncRNAs στο χάρτη της πΟΛΛ T-κυτταρικής αρχής. Ένα από τα συχνά ογκογονίδια στην T-ΟΛΛ είναι αυτό του μεταγραφικού παράγοντα *TAL1*, που αποτελεί απαραίτητο ρυθμιστή της αιμοποίησης και που ενώ εκφράζεται κανονικά στα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, στις ερυθρομεγακαρυωτικές σειρές και στα πρόδρομα κύτταρα, απωσιωπείται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των T-κυττάρων. Αντίθετα, το *TAL1* είναι υπερεκφράζεται έκτοπα στο 40 – 60 % των περιπτώσεων T-ΟΛΛ λόγω χρωμοσωμικής μετατόπισης, ενδοχρωμοσωματικής αναδιάταξης ή μεταλλάξεων στη μη κωδικοποιούσα περιοχή του. Φυσιολογικά, η *TAL1* σχηματίζει ετεροδιμερές με μια τάξης I bHLH πρωτεΐνη (γνωστές ως E-πρωτεΐνες) και σχηματίζει

ένα μεγάλο μεταγραφικό σύμπλοκο με LMO πρωτεΐνη (LMO1 ή LMO2), την LDB1 και μια GATA πρωτεΐνη (GATA1, GATA2 ή GATA3). Η TAL1 μαζί με τους αιμοποιητικούς μεταγραφικούς παράγοντες GATA3, RUNX1 και MYB ρυθμίζουν την έκφραση πολλών μετέπειτα γονιδίων και έχουν την ικανότητα να αυτορρυθμίζονται μεταξύ τους (Ngoc *et al.*, 2018).

Το lncRNA *LUNAR* επάγεται από το *NOTCH1*, το οποίο αποτελεί συχνά απαντώμενο ογκογονίδιο στην T-ΟΛΛ και δρα ενισχύοντας την έκφραση του *IGF1R* mRNA. Πρόσφατα, η T-ΟΛΛ διαχωρίστηκε σε 4 υπότυπους με βάση την έκφραση lncRNA και που ομοιάζει με την κατάταξη αναλόγως των γονιδιακών αλλαγών (άωρη, *TLX1/TLX3* θετική, *TAL-R* και *HOXA*). Το lnc-FAM160A1-6 φαίνεται να εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στην *TALI*-θετική υποομάδα, ενώ τα lnc-DUSP6-2 και lnc-TOMM20-2 εκφράζονται στην ETP-ALL υποομάδα και στην *TLX*-θετική υποομάδα. Το γονίδιο του lncRNA *XLOC_030252* που εδράζεται μεταξύ των *FAM49A* και *MYCN* και που εντοπίστηκε αυξημένο στην T-ΟΛΛ εκφράζεται φυσιολογικά στα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, αλλά και στα πρόδρομα T-κύτταρα. Το γονίδιο του lncRNA *XLOC_005968* κοντά στο *ARID5B* (το οποίο ρυθμίζει θετικά το *TAL1* σύμπλεγμα και το *MYC* ογκογονίδιο) εκφράζεται στις *TALI*-θετικές περιπτώσεις T-ΟΛΛ. Τέλος, ταυτοποιήθηκε το lncRNA *XLOC_001561* κοντά στο *ROCR*, που ρυθμίζεται αρνητικά από το *TALI* και θετικά από τις E-πρωτεΐνες E2A και HEB (που με τη σειρά του ρυθμίζουν την ανάπτυξη των λεμφοκυττάρων) και που καταστέλλεται στην T-ΟΛΛ (Trimarchi *et al.*, 2014; Wallaert *et al.*, 2016; Ngoc *et al.*, 2018).

Ο ρόλος του lncRNA-IUR (imatinib-upregulated lncRNA family) στη BCR-ABL πΟΛΛ μελετήθηκε πρόσφατα σε ένα μοντέλο ποντικών και φάνηκε πως δρα ογκοκατασταλτικά καταστέλλοντας την STAT5-CD71 σηματοδοτική οδό. Η μελέτη αυτή σαφώς προσδίδει μια νέα διάσταση στη λειτουργική εμπλοκή των lncRNAs στη διαδικασία και στη θεραπεία της λευχαιμογένεσης (Wang *et al.*, 2019). Επιπρόσθετα δεδομένα σε σχέση με τα αντινοσηματικά lncRNAs κατέδειξαν πως είναι δυνατή η ιεραρχική ομαδοποίηση των περιπτώσεων πΟΛΛ με μέτρο την υπερμεθυλίωσή τους. Συγκριτική μελέτη NGS 20 παιδιών με B-ΟΛΛ και 10 δειγμάτων λεμφοβλαστών της B-κυτταρικής σειράς από ομφάλιο λώρο σε 4 αναπτυξιακά στάδια, που στηρίχτηκε στην έκφραση των 25 περισσότερο διαφοροποιημένων αντινοσηματικών lncRNAs και τα πρότυπα μεθυλίωσης, έδειξε πως 368 γονίδια, που μοιράζονται 90,8 % ομοιότητα ως προς τα νουκλεοτίδιά τους, μπορεί να σχετίζονται με βιολογικές διαδικασίες (γονιδιακή οντολογία 0050789) στην πΟΛΛ (Εικόνα 33). Οι κυριότερες υποομάδες

που προέκυψαν βασίστηκαν στα αντινοσηματικά lncRNAs RP11-1042B17.3 (77 στόχοι, με νοσηματικό γονίδιο το *C14orf39*), RP11-22C11.2 (73 στόχοι, χωρίς νοσηματικό γονίδιο), RP11-814P5.1 (69 στόχοι, με νοσηματικό γονίδιο το *ACTC1*) και RP5-1024C24.1 (44 στόχοι με νοσηματικό γονίδιο το *MPPED2*). Οι τρεις μεγαλύτερες υποομάδες φαίνεται πως έχουν ως κοινή συνισταμένη τα γονίδια *FAM184A*, *SMYD3*, *TMEM132B* και *GRID2*, υποδηλώνοντας ότι η ρύθμιση αυτών των γονιδίων υπόκειται στο συντονισμό δύο ξεχωριστών αντινοσηματικών lncRNAs. (Arthur, Almamun and Taylor, 2017).

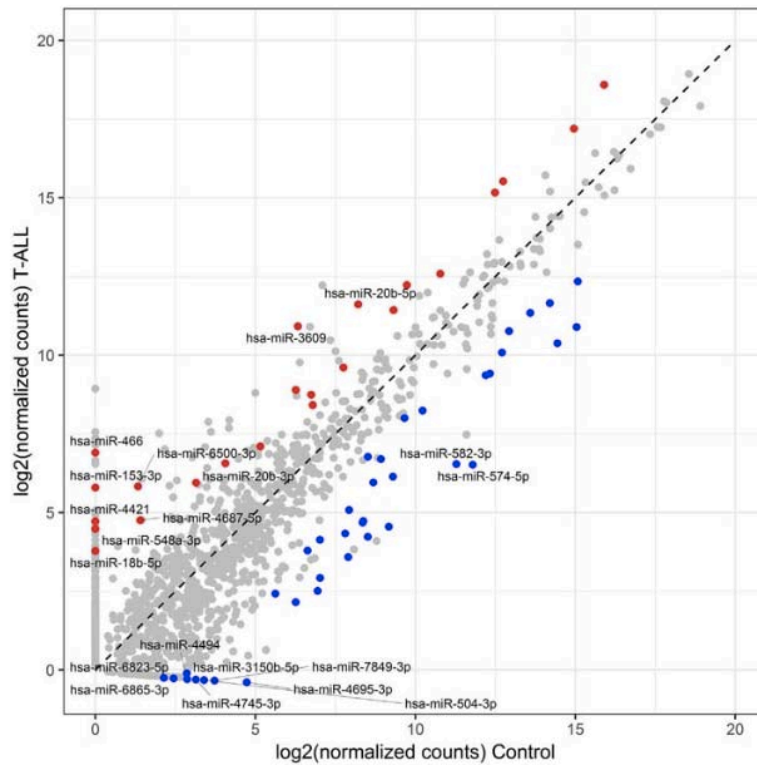


Εικόνα 33. Δίκτυο αλληλεπίδρασης υπερμεθυλωμένων αντινοσηματικών lncRNAs στην πΟΛΛ με επιβεβαίωση από ανάστροφη συμπληρωματικότητα mRNA-DNA (Arthur, Almamun and Taylor, 2017).

Μια RNA-Seq μελέτη της έκφρασης των miRNAs σε 34 παιδιά με T-ΟΛΛ έδειξε πως η αλληλεπίδρασή τους με το mRNA μπορεί να οδηγεί σε λευχαιμογένεση. Επιπλέον, η έκφραση των miRNAs μεταξύ υγιών παιδιών και παιδιών με T-ΟΛΛ διαφέρει σημαντικά, υποδηλώνοντας την εμπλοκή miRNAs είτε ως ογκογόνων είτε ως

ογκοκατασταλτικών παραγόντων (Εικόνα 34). Τα miRNAs που κατέγραψαν τη μεγαλύτερη έκφραση στα Τ-ΟΛΛ δείγματα ήταν τα hsa-miR-92a-3p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-128-3p, hsalet-7f-5p, hsa-let-7a-5p/7c-5p, hsa-miR-26a-5p, hsa-miR-148a-3p και hsa-miR-21-5p. Να σημειωθεί πως τα hsa-miR-92 και hsa-miR-26a είχαν συνδεθεί με τη νόσο και σε προγενέστερη μελέτη, ενώ 60 – 70 % των miRNAs που απομονώθηκαν είχαν μέχρι και 10 ισομορφές (isomiRs). Τα miRNAs που ξεχώρισαν εμπλέκονται με τους στόχους τους κυρίως στη σηματοδοτική οδό της IL6, στην οδό mTOR και στη ρύθμιση της απόπτωσης. Αναλύοντας τη λειτουργικότητα των miRNAs με διαφοροποιημένη έκφραση η μελέτη εστίασε στο σύμπλεγμα hsa-mir-106a-363 και αξιολόγησε τις άμεσες αλληλεπιδράσεις των hsa-miR-20b-5p και hsa-miR-363-3p με τις 3' αμετάφραστες περιοχές των γονιδίων στόχων τους *PTEN*, *SOS1* και *LATS2*, τα οποία είναι γνωστό ότι υπερεκφράζονται στη ρύθμιση της απόπτωσης. Τα παραπάνω δεδομένα καθιστούν το σύμπλεγμα hsa-mir-106a-363, που αποτελεί παράλογο του πρωτότυπου ογκογόνου συμπλέγματος hsa-mir-17-92, ως καίριας σημασίας στην εμφάνιση της Τ-ΟΛΛ (Dawidowska *et al.*, 2019). Επιπλέον, miRNA-Seq μελέτη 8 παιδιών με Τ-ΟΛΛ και 8 παιδιών με Β-ΟΛΛ έδειξε 16 miRNAs με διαφοροποιημένη έκφραση μεταξύ των δύο τύπων πΟΛΛ: 10 με χαμηλότερη έκφραση (miR-708-5p, miR-497-5p, miR-151a-5p, miR-151b, miR-371b-5p, miR-455-5p, miR-195-5p, miR-1266-5p, miR-574-5p και miR-425-5p) και 6 με υψηλότερη έκφραση στις περιπτώσεις Τ-ΟΛΛ (miR-450b-5p, miR-450a-5p, miR-542-5p, miR-424-5p, miR-629-5p και miR-29c-5p) συγκριτικά με τις περιπτώσεις Β-ΟΛΛ. Μάλιστα, τα miRNAs αυτά μπορούν να διακρίνουν αποτελεσματικά τους τύπους Β και Τ της πΟΛΛ και εμπλέκονται γενικά στην κυτταρική διαφοροποίηση και αιμοποίηση. Λειτουργικά τα υπερεκφρασμένα microRNAs παίζουν ρόλο στην καρκινογένεση μεσολαβούμενη από ιούς, στον κυτταρικό κύκλο και στα σηματοδοτικά μονοπάτια των υποδοχέων των Β-κυττάρων, ενώ τα υποεκφρασμένα miRNAs εμπλέκονται στη σηματοδότηση του TGF-beta, την NF-κB σηματοδότηση και την απόπτωση. Περαιτέρω ανάλυση υπολόγισε πως η έκφραση του miR-29c-5p ήταν αυτή που μπορούσε να διακρίνει καλύτερα τη Β- από την Τ-ΟΛΛ και εμπλέκεται στη σηματοδότηση μέσω ασβεστίου -η οποία είναι καίρια για την επιβίωση του Β-κυττάρου (Almeida *et al.*, 2019). Μια ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για το ρόλο των miRNAs στην πΟΛΛ κατέληξε πως η υπερέκφραση των miR-128 και miR-181 θα μπορούσε να αποτελεί χρήσιμο βιοδείκτη για τη διάγνωση της πΟΛΛ, ενώ η μειωμένη έκφραση miR-708 και miR-99a αποτελούν δείκτες κακής πρόγνωσης (Gutierrez-Camino *et al.*, 2019). Αντίστοιχη μετα-ανάλυση

κατέληξε πως η ανεύρεση των miR-128a και miR-223 στην πΟΛΛ είχε OR 546 (95 % CI: 73,768 – 4041,282), αποτελώντας έναν αξιόπιστο δείκτη της νόσου, ενώ τα miR-128a, miR-128b, miR-223, let-7b, miR-155 και miR-24 φαίνονται χρήσιμα στη διάκριση μεταξύ ΟΛΛ και οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (Rashed *et al.*, 2019).



Εικόνα 34. Επίπεδα έκφρασης miRNA παιδιών με T-ΟΛΛ σε αντιδιαστολή με αυτά σε υγιή παιδιά. Οι κουκίδες αντιπροσωπεύουν miRNAs που υπερεκφράζονται στην T-ΟΛΛ (με κόκκινο χρώμα), που υποεκφράζονται στην T-ΟΛΛ (με μπλε χρώμα) και που δε διαφέρει η έκφρασή τους μεταξύ υγιών και πασχόντων παιδιών (με γκρι χρώμα). Σημαίνονται με τις ονομασίες τους τα δέκα περισσότερο και τα δέκα λιγότερο εκπεφρασμένα miRNAs (Dawidowska *et al.*, 2019).

Ένα συχνό πρόβλημα στη θεραπεία της πΟΛΛ είναι η ανάγκη για μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων ως συνέπεια της εντατικής ΧΜΘ. Μια μελέτη 452 παιδιών με πΟΛΛ και GWAS είχε στόχο να διερευνήσει τις διαφορές μεταξύ παιδιών που είχαν μεγάλες ανάγκες μετάγγισης (πάνω από 8) και παιδιών που δε χρειάστηκαν καθόλου μεταγγίσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων. Σε 31 περιπτώσεις πολυμεταγγιζόμενων παιδιών και σε 31 παιδιά χωρίς μεταγγίσεις διενεργήθηκε WES που κατέληξε σε 35 γονίδια με

σαφώς διαφοροποιημένη έκφραση, τα 12 εκ των οποίων βρέθηκαν με υψηλή έκφραση σε αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, ενώ τα υπόλοιπα 23 είχαν τουλάχιστον διπλάσια έκφραση στα ερυθροκύτταρα. Τα γονίδια που συσχετίστηκαν σε σημαντικότερο βαθμό με μεταγγίσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων στην πΟΛΛ ήταν τα: *GUCY1A1*, *NUCB2*, *TFDP2* (ή rs11569201, που μπορεί να διεγείρει τη μεταγραφή ανεξαρτήτως του E2F και οδηγεί το ερυθροκύτταρο στην τελική του διαφοροποίηση), *CHPT1* (ή rs3764973, που καθορίζει την τροποποίηση των λιπιδίων του ερυθροκυττάρου και συνεπώς την ευαλωτότητά του), *PLCB1*, *LPIN2* (ή rs3745011, που συμμετέχουν στο σχηματισμό του λιπώδους ιστού, το μεταβολισμό των τριγλυκεριδίων και οι ομόζυγες μεταλλάξεις του χαρακτηρίζουν το σύνδρομο Majeed), *TNSI* (ή rs4672856, που αποτελεί θετικό ρυθμιστή της transforming protein RhoA ή Ras homolog GTPase family member A που είναι σημαντική στην ερυθροποίηση), *BSG* (ή rs2283573, διαμεμβρανικής πρωτεΐνης της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών, της οποίας η μη διαθεσιμότητα οδηγεί σε εγκλωβισμό των ερυθροκυττάρων στο σπλήνα και προάγει την ευαισθησία στη ΧΜΘ), *COL5A1*, *ANXA7* (ή rs3750575, μέλους της οικογένειας της αννεξίνης από ασβέστιο-εξαρτώμενες πρωτεΐνες που προσδέουν φωσφολιπίδια που η έλλειψή της επιταχύνει την ερυθρόπτωση ή απόπτωση των ερυθροκυττάρων), *EPB42* (ή rs494863, ATP-προσδένουσα πρωτεΐνη που σχετίζεται με την αγκυρίνη και στην κληρονομική σφαιροκυττάρωση), *RAP1GAP* (ή rs3767111, που ρυθμίζει την ενεργοποίηση της Rap1 GTPάσης που είναι καίρια κατά την ερυθροποίηση), *ARHGEF12* (ή rs76693355, παράγοντας ανταλλαγής γουανίνης ειδικός της RhoA που είναι σημαντική στην ερυθροποίηση), *ABCC4* (ή rs3742106, μέλους της υπεροικογένειας των μεταφορέων της ABC ATP-προσδένουσας κασέτας που σχετίζεται με ευαισθησία στη ΧΜΘ) και *FARP1*. Η μελέτη καταλήγει ότι ο rs10892563 πολυμορφισμός σε εσώνιο στη θέση πρόσδεσης του GATA1 στο *ARHGEF12* είναι υπεύθυνος για τη διαταραχή της σηματοδοτικής οδού *ARHGEF12*-RhoA-p38 που είναι υπεύθυνος για την αναγέννηση των ερυθροκυττάρων στην πΟΛΛ μετά από ΧΜΘ (Xie *et al.*, 2020).

Η μελέτη PETALE είναι μια πρωτοβουλία του Καναδά για την πΟΛΛ και σκοπό της έχει την παρακολούθηση και μελέτη των επιζήσαντων ασθενών με ιστορικό πΟΛΛ σε σχέση με απώτερες ανεπιθύμητες ενέργειες ως συνέπεια της ΧΜΘ και των λοιπών θεραπειών. Στην πρώτη σχετική δημοσίευση της μελέτης PETALE υπογραμμίστηκε η παρουσία μακροπρόθεσμων επιπλοκών ως απότοκο της θεραπείας στο 60 % των περιπτώσεων πΟΛΛ. Σε 209 επιζήσαντες πΟΛΛ και με τη βοήθεια WES ανιχνεύθηκαν αλληλόμορφα στα γονίδια *BAD* και *FCRL3* που συσχετίστηκαν ($P <$

0,05) με τουλάχιστον τρεις ταυτόχρονα καρδιομεταβολικούς παράγοντες κινδύνου. Πολυμορφισμοί στα *OGFOD3*, *APOB* και *BAD* γονίδια συνδέθηκαν με δυσλιπιδαιμία ($P < 0,05$), ενώ αλληλόμορφα των *BAD* και *SERPINA6* συσχετίστηκαν με παχυσαρκία και αντίσταση στην ινσουλίνη ($P < 0,05$). Τα ευρήματα αυτά, αν επιβεβαιωθούν από μεγαλύτερες σειρές ασθενών, θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην κλινική πράξη στη διαλογή των ασθενών με πΟΛΛ που θα πρέπει να μπου σε εντατική παρακολούθηση σε σχέση με το καρδιομεταβολικό σκέλος της υγείας τους (England *et al.*, 2017).

Η μελέτη της καρδιοπνευμονικής υγείας με WES σε 239 επιζήσαντες πΟΛΛ κατέδειξε πως αλληλόμορφο του *TTN* γονιδίου σχετίζεται σημαντικά με χαμηλό επίπεδο καρδιοπνευμονικής υγείας ($p = 0,0005$) και πως πολυμορφισμοί στα γονίδια *LEPR*, *IGFBPI* και *ENOS* συνδέονται με χαμηλά επίπεδα καρδιοπνευμονικής υγείας στα θήλεα άτομα που επιβίωσαν πΟΛΛ ($P \leq 0,002$). Συσχετισμός καρδιοπνευμονικών προβλημάτων προέκυψε με αλληλόμορφα *SLC22A16* γονιδίου ($p = 0,001$), ενώ θετικοί συσχετισμοί εμφάνισαν τα γονίδια που συνδέονται με τη φυσική άσκηση σε σχέση με την καρδιοπνευμονική υγεία των θήλεων συμμετεχόντων στη μελέτη. Να υπενθυμίσουμε ότι η καρδιοτοξικότητα είναι μια απώτερη επιπλοκή της ΧΜΘ στην πΟΛΛ και αφορά κυρίως στις ανθρακυκλίνες (Caru *et al.*, 2019).

Σε μια ακόμα μελέτη της κοόρτης PETALE με 242 επιζώντες πΟΛΛ και με την εφαρμογή WES διερευνήθηκε η σχέση γενετικών παραλλαγών με την παρουσία ελλειμμάτων στη λειτουργία των σκελετικών μυών, όπου και υπολογίστηκε σημαντική συσχέτιση των κοινών πολυμορφισμών στα rs2001616 του *DUOX2* ($p = 0,0002$) και rs41270041 του *ADAMTS4* ($p = 0,02$), αλλά και δύο σπάνιων πολυμορφισμών στο *ALOX15* ($p = 0,001$) με ανεπιθύμητες δράσεις της ΧΜΘ στη λειτουργικότητα των σκελετικών μυών. Αξίζει να σημειωθεί πως οι συσχετισμοί αυτοί παρέμειναν στατιστικώς σημαντικοί ($P \leq 0,02$) ακόμα και όταν σταθμίστηκαν σε σχέση με το φύλο, το δείκτη μάζας σώματος και τους παράγοντες κινδύνου που αφορούσαν σε αυξημένες δόσεις γλυκοκορτικοειδών και υποβολή σε ακτινοθεραπείες (Nadeau *et al.*, 2019).

Κλείνοντας με τις μελέτες σε επιζήσαντες πΟΛΛ, διερευνήθηκε με WES η σχέση μακροπρόθεσμων νευροψυχιατρικών επιπλοκών σε 236 άτομα με ιστορικό πΟΛΛ. Κοινές γενετικές παραλλαγές στα *MTR*, *PPARA*, *ABCC3*, *CALML5*, *CACNB2* και *PCDHB10* συσχετίστηκαν με νευρογνωστικές διαταραχές, ενώ παραλλαγές στα *SLCO1B1* και *EPHA5* γονίδια συνδέθηκαν με άγχος και κατάθλιψη. Μάλιστα, οι συσχετισμοί ήταν πιο ισχυροί αναλόγως της έντασης της ΧΜΘ σε κάθε ασθενή. Συνδυασμός της κοόρτης PETALE με την κοόρτη SJLIFE (545 επιπλέον επιζώντων

πΟΛΛ) αναδείχθηκαν δύο πολυμορφισμοί σημαντικοί σε σχέση με νευρογνωστικά ελλείμματα και συναισθηματική δυσφορία: ο rs1805087 του γονιδίου της συνθετάσης της μεθειονίνης (*MTR*) και ο rs58225473 του γονιδίου που κωδικοποιεί τον εξαρτώμενο από την τάση διάυλο ασβεστίου (*CACNB2*) OR = 1,5 και 95 % CI 1-2,3 με $p = 0,04$ και OR = 3,7 και 95 % CI 1,25-11 με $p = 0,01$ αντίστοιχα. Σύμφωνα με την ίδια μελέτη, ο πολυμορφισμός rs4149056 στο *SLCO1B1* γονίδιο χρήζει περαιτέρω διερεύνησης, καθώς είναι γνωστό ότι εμπλέκεται με την κάθαρση της μεθοτρεξάτη, αλλά και τη βραχυπρόθεσμη τοξικότητα της ΧΜΘ σε παιδιά με ΟΛΛ (Petrykey *et al.*, 2019). Με βάση όλα τα παραπάνω, γίνεται αντιληπτό πως με τη βοήθεια NGS τεχνικών μπορούν να καθοριστούν και με τη διάγνωση ακόμα οι ομάδες υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη μακροπρόθεσμων επιπλοκών και έτσι να ληφθούν οι κατάλληλες αποφάσεις για την παρακολούθηση και την υποστήριξη των παιδιών που νικούν τελικά την πΟΛΛ.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι τεχνικές NGS αποτελούν σίγουρα ένα χρήσιμο εργαλείο στα χέρια του κλινικού γιατρού, ώστε όχι μόνο να κατανοήσει τη γενετική βάση της νόσου, αλλά και να καθορίσει εξατομικευμένα πλέον τη θεραπεία του κάθε παιδιού με πΟΛΛ. Η δυνατότητα να εντοπιστούν αλλαγές σε φαρμακογονίδια, αλλά και αλληλόμορφα κινδύνου για μελλοντικά συμβάματα εξαιτίας της θεραπείας αναμένεται να μειώσει περαιτέρω τη θνητότητα της πΟΛΛ τα αμέσως επόμενα χρόνια. Επιπλέον, παρόλο που οι πρώτες προσπάθειες για επιστράτευση NGS τεχνικών ως εργαλείων διαλογής δεν απέδωσαν τα μέγιστα στην περίπτωση της πΟΛΛ, φαίνεται πως η βελτιστοποίηση των χρησιμοποιούμενων τεχνικών μπορεί να αποτελέσει το χρυσό κανόνα του μέλλοντος. Η αναθεώρηση της κατάταξης της πΟΛΛ από τον WHO προσθέτοντας γενετικά κριτήρια ήταν το πρώτο βήμα για την αναγνώριση της γενετικής βάσης ως καθοριστικής συνιστώσας στη θεραπεία και στην πρόγνωση της νόσου. Δημοσιευμένες μελέτες από κέντρα περίθαλψης παιδιών με ΟΛΛ που ενσωμάτωσαν στη κλινική πράξη NGS τεχνικές, έδειξαν πως οι πληροφορίες που συλλέγονται είναι ικανές να αυξήσουν την πενταετή επιβίωση στο πρωτοφανές 94%.

Μελέτες με NGS ανέδειξαν χρήσιμους βιοδείκτες για τη διάγνωση, παρακολούθηση και πρόγνωση της πΟΛΛ. Ως γνωστόν, η σύντηξη *ETV6-RUNX1* αποτελεί δείκτη καλής πρόγνωσης και αυτό επιβεβαιώθηκε πολλάκις. Στο ίδιο πλαίσιο,

απώλειες στους γενετικούς τόπους 14q32.33 και 15q13.2 συνδέθηκαν με χαμηλά ποσοστά επιβίωσης, ενώ αύξηση στον 1p36.11 προμηνύει πτωχή πρόγνωση ανεξαρτήτως των κυτταρογενετικών ευρημάτων. Αναφορικά με τις υποτροπές της πΟΛΛ, οι NGS τεχνικές επιβεβαίωσαν τον καθοριστικό ρόλο των γονιδίων *NT5C2* και *CREBBP*, αλλά και το ρόλο των γονιδίων *NT5C2*, *PRPS1*, *FPGS*, *NR3C1* και *TP53* στην αντίσταση προς τη ΧΜΘ. Επιπρόσθετα, η οικογενής πΟΛΛ συνδέθηκε με τα γονίδια *TP53*, *PAX5*, *ETV6* και *IKZF1*, όταν η γενετική προδιάθεση για Β-ΟΛΛ φαίνεται να στοιχειοθετείται από την ανίχνευση μεταλλάξεων στο γονίδιο *CEBPE*. Στο πεδίο της φαρμακογενετικής οι εξελίξεις είναι ραγδαίες και η τοξικότητα των θειοπουρινών σχετίζεται με μεταλλάξεις στα *CRIM1*, *NUDT15* και *TPMT*. Από την άλλη πλευρά, η μελέτη περιπτώσεων κακής πρόγνωσης, όπως αυτές με αναδιατάξεις του *MLL* (10% των Β-ΟΛΛ περιπτώσεων στα παιδιά) οδήγησαν στον καθορισμό νέων θεραπευτικών στόχων -εν προκειμένω της στοχοποίησης της ανώμαλης έκφρασης της *BCL6*. Τέλος, σημαντικός είναι και ο όγκος της έρευνας που εστιάζει στα miRNAs και lncRNAs στην πΟΛΛ. Υπερέκφραση των miR-128 και miR-181 μπορεί να θέσει τη διάγνωση της πΟΛΛ με το συνδυασμό miR-128a και miR-223 να αποτελεί έναν εξαιρετικό δείκτη της νόσου και τη μειωμένη έκφραση των miR-708 και miR-99a να αποτελεί δείκτη πτωχής πρόγνωσης.

Ως συμπέρασμα, οι τεχνικές NGS βοηθούν στο να γίνει κατανοητή με ακρίβεια η γενετική βάση της πΟΛΛ, η συμπεριφορά της νόσου και οι μηχανισμοί υποτροπής και ανθεκτικότητάς της, ενώ παράλληλα δίνουν τη δυνατότητα για εξατομικευμένες προσεγγίσεις στη θεραπεία και στην παρακολούθηση του μικρού ασθενούς. Η τρίτης γενιάς αλληλούχιση φαίνεται να κερδίζει έδαφος στην έρευνα, ενώ η δημιουργία πρωτοκόλλων για στοχευμένες αναλύσεις (όπως για παράδειγμα στον καρκίνο του μαστού) θα αποτελεί στο εγγύς μέλλον ένα χρήσιμο εργαλείο τόσο για τη διαλογή, όσο και για την ιατρική ακριβείας στους ασθενείς με πΟΛΛ. Η μελλοντική έρευνα στο πεδίο θα πρέπει να στοχεύσει αφενός στο γενετικό χαρακτηρισμό του 100% των περιπτώσεων πΟΛΛ και αφετέρου στο να βελτιστοποιηθούν οι αντίστοιχες τεχνικές NGS σε ακρίβεια, χρόνο και κόστος. Η αλματώδης ανάπτυξη προς αυτές τις κατευθύνσεις μας διαβεβαιώνει πως η εξατομικευμένη θεραπεία της πΟΛΛ δεν απέχει πολύ από το σήμερα και για το λόγο αυτό θα πρέπει να εμπλουτίζονται οι βάσεις δεδομένων και να εντάσσονται σε σχετικές μελέτες ολοένα και περισσότερα κέντρα παιδικού καρκίνου.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aaron, M. *et al.* (2019) 'Identification of a single-nucleotide polymorphism within CDH2 gene associated with bone morbidity in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors', *Pharmacogenomics*. Future Medicine Ltd., 20(6), pp. 409–420. doi: 10.2217/pgs-2018-0169.
- Abaji, R. *et al.* (2017) 'Whole-exome sequencing identified genetic risk factors for asparaginase-related complications in childhood ALL patients', *Oncotarget*. Impact Journals LLC, 8(27), pp. 43752–43767. doi: 10.18632/oncotarget.17959.
- Abaji, R. *et al.* (2018) 'Genetic risk factors for VIPN in childhood acute lymphoblastic leukemia patients identified using whole-exome sequencing', *Pharmacogenomics*. Future Medicine Ltd., 19(15), pp. 1181–1193. doi: 10.2217/pgs-2018-0093.
- Alberts, B. *et al.* (2018) 'Part III Ways of Working with Cells: Ways of working with cells', in *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, pp. 439–528. doi: 10.1201/9781315735368-8.
- Almeida, R. S. *et al.* (2019) 'MicroRNA expression profiles discriminate childhood T- from B-acute lymphoblastic leukemia', *Hematological Oncology*. John Wiley and Sons Ltd, 37(1), pp. 103–112. doi: 10.1002/hon.2567.
- Alsultan, A. *et al.* (2020) 'Frequency of pathogenic/likely pathogenic germline variants in cancer-related genes among children with acute leukemia in Saudi Arabia', *Pediatric Blood and Cancer*. John Wiley and Sons Inc., 67(7). doi: 10.1002/pbc.28340.
- Arber, D. A. *et al.* (2016) 'The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia', *Blood*. American Society of Hematology, pp. 2391–2405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.
- Arthur, G., Almamun, M. and Taylor, K. (2017) 'Hypermethylation of antisense long noncoding RNAs in acute lymphoblastic leukemia', *Epigenomics*. Future Medicine Ltd., 9(5), pp. 635–645. doi: 10.2217/epi-2016-0156.
- Batista-Gomes, J. A. *et al.* (2020) 'Identifying novel genetic alterations in pediatric acute lymphoblastic leukemia based on copy number analysis', *Molecular Cytogenetics*. Springer Science and Business Media LLC, 13(1). doi: 10.1186/s13039-020-00491-5.
- De Bie, J. *et al.* (2018) 'Single-cell sequencing reveals the origin and the order of

mutation acquisition in T-cell acute lymphoblastic leukemia', *Leukemia*. Nature Publishing Group, 32(6), pp. 1358–1369. doi: 10.1038/s41375-018-0127-8.

Black, K. L. *et al.* (2018) 'Aberrant splicing in B-cell acute lymphoblastic leukemia', *Nucleic Acids Research*, 46, pp. 11357–11369. doi: 10.1093/nar/gky946.

de Bock, C. E. *et al.* (2018) 'HOXA9 cooperates with activated JAK/STAT signaling to drive leukemia development', *Cancer Discovery*. American Association for Cancer Research Inc., 8(5), pp. 616–631. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0583.

Broux, M. *et al.* (2019) 'Suz12 inactivation cooperates with JAK3 mutant signaling in the development of T-cell acute lymphoblastic leukemia', *Blood*. American Society of Hematology, 134(16), pp. 1323–1336. doi: 10.1182/blood.2019000015.

Brown, L. M. *et al.* (2020) 'The application of RNA sequencing for the diagnosis and genomic classification of pediatric acute lymphoblastic leukemia', *Blood Advances*. American Society of Hematology, 4(5), pp. 930–942. doi: 10.1182/bloodadvances.2019001008.

Caru, M. *et al.* (2019) 'Identification of genetic association between cardiorespiratory fitness and the trainability genes in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors', *BMC Cancer*. BioMed Central Ltd., 19(1). doi: 10.1186/s12885-019-5651-z.

Chang, V. Y. *et al.* (2013) 'Identification of somatic and germline mutations using whole exome sequencing of congenital acute lymphoblastic leukemia', *BMC Cancer*. BMC Cancer, 13. doi: 10.1186/1471-2407-13-55.

Chen, B. *et al.* (2017) 'Identification of fusion genes and characterization of transcriptome features in T-cell acute lymphoblastic leukemia', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. National Academy of Sciences, 115(2), pp. 373–378. doi: 10.1073/pnas.1717125115.

Cheng, J. *et al.* (2019) 'Homozygous mutation in NUDT15 in childhood acute lymphoblastic leukemia with increased susceptibility to mercaptopurine toxicity: A case report', *Experimental and Therapeutic Medicine*. Spandidos Publications, 17(5). doi: 10.3892/etm.2019.7434.

Churchman, M. L. *et al.* (2018) 'Germline Genetic IKZF1 Variation and Predisposition to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia', *Cancer Cell*. Cell Press, 33(5), pp. 937-948.e8. doi: 10.1016/j.ccell.2018.03.021.

Coccaro, N. *et al.* (2019) 'Next-generation sequencing in acute lymphoblastic Leukemia', *International Journal of Molecular Sciences*, p. 2929. doi:

10.3390/ijms20122929.

Dawidowska, M. *et al.* (2019) 'Comprehensive Investigation of miRNome Identifies Novel Candidate miRNA-mRNA Interactions Implicated in T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia', *Neoplasia (United States)*. Neoplasia Press, Inc., 21(3), pp. 294–310. doi: 10.1016/j.neo.2019.01.004.

Ding, L. W. *et al.* (2017) 'Mutational landscape of pediatric acute lymphoblastic leukemia', *Cancer Research*. American Association for Cancer Research Inc., 77(2), pp. 390–400. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1303.

England, J. *et al.* (2017) 'Genomic determinants of long-term cardiometabolic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors', *BMC Cancer*. BioMed Central Ltd., 17(1). doi: 10.1186/s12885-017-3722-6.

Erarslan-Uysal, B. *et al.* (2020) 'Chromatin accessibility landscape of pediatric T-lymphoblastic leukemia and human T-cell precursors', *EMBO Molecular Medicine*. EMBO Mol Med. doi: 10.15252/emmm.202012104.

Faham, M. *et al.* (2012) 'Deep-sequencing approach for minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia', *Blood*. Blood, 120(26), pp. 5173–5180. doi: 10.1182/blood-2012-07-444042.

Fischer, U. *et al.* (2015) 'Genomics and drug profiling of fatal TCF3-HLF⁺ positive acute lymphoblastic leukemia identifies recurrent mutation patterns and therapeutic options', *Nature Genetics*. Nature Publishing Group, 47(9), pp. 1020–1029. doi: 10.1038/ng.3362.

Folgiro, V. *et al.* (2018) 'C-Myc is targeted by c-Myc to sustain proliferation in pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia', *EMBO reports*. EMBO, 19(3). doi: 10.15252/embr.201744871.

Forero-Castro, M. *et al.* (2016) 'Genome-wide DNA copy number analysis of acute lymphoblastic leukemia identifies new genetic markers associated with clinical outcome', *PLoS ONE*. Public Library of Science, 11(2). doi: 10.1371/journal.pone.0148972.

Gagné, V. *et al.* (2019) 'Genes identified through genome-wide association studies of osteonecrosis in childhood acute lymphoblastic leukemia patients', *Pharmacogenomics*. Future Medicine Ltd., 20(17), pp. 1189–1197. doi: 10.2217/pgs-2019-0087.

Gagné, V. *et al.* (2020) 'HLA alleles associated with asparaginase hypersensitivity in

- childhood ALL: A report from the DFCI Consortium', *Pharmacogenomics*. Future Medicine Ltd., 21(8), pp. 541–547. doi: 10.2217/pgs-2019-0195.
- Germano, G. *et al.* (2020) 'Next-generation sequencing of PTEN mutations for monitoring minimal residual disease in T-cell acute lymphoblastic leukemia', *Pediatric Blood and Cancer*. John Wiley and Sons Inc., 67(1). doi: 10.1002/pbc.28025.
- Goodwin, S., McPherson, J. D. and McCombie, W. R. (2016) 'Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies', *Nature Reviews Genetics*. Nature Publishing Group, pp. 333–351. doi: 10.1038/nrg.2016.49.
- Griani, A. *et al.* (2019) 'A Simple RNA Target Capture NGS Strategy for Fusion Genes Assessment in the Diagnostics of Pediatric B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia', *HemaSphere*. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health), 3(3), p. e250. doi: 10.1097/hs9.0000000000000250.
- Gutierrez-Camino, A. *et al.* (2019) 'MiRNA deregulation in childhood acute lymphoblastic leukemia: A systematic review', *Epigenomics*. Future Medicine Ltd., pp. 69–80. doi: 10.2217/epi-2019-0154.
- Haan, T. *et al.* (2020) 'Complete Genome Sequences of Seven Strains of *Pseudomonas* spp. Isolated from Boreal Forest Soil in Interior Alaska', *Microbiology Resource Announcements*. American Society for Microbiology, 9(25). doi: 10.1128/mra.00511-20.
- Heikamp, E. B. and Pui, C. H. (2018) 'Next-Generation Evaluation and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia', *Journal of Pediatrics*. Mosby Inc., 203, pp. 14-24.e2. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.07.039.
- Hoell, J. I. *et al.* (2019) 'Pediatric ALL relapses after allo-SCT show high individuality, clonal dynamics, selective pressure, and druggable targets', *Blood Advances*. American Society of Hematology, 3(20), pp. 3143–3156. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000051.
- Hunger, S. P. and Mullighan, C. G. (2015) 'Redefining ALL classification: Toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine', *Blood*. American Society of Hematology, pp. 3977–3987. doi: 10.1182/blood-2015-02-580043.
- Hurtz, C. *et al.* (2019) 'Rationale for targeting BCL6 in MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemia', *Genes and Development*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 33(17–18), pp. 1265–1279. doi: 10.1101/gad.327593.119.
- Inaba, H., Azzato, E. M. and Mullighan, C. G. (2017) 'Integration of next-generation

sequencing to treat acute lymphoblastic leukemia with targetable lesions: The St. Jude Children's Research Hospital approach', *Frontiers in Pediatrics*. Frontiers Media S.A., 5. doi: 10.3389/fped.2017.00258.

Ishida, H. *et al.* (2019) 'Panel-based next-generation sequencing identifies prognostic and actionable genes in childhood acute lymphoblastic leukemia and is suitable for clinical sequencing', *Annals of Hematology*. Springer Verlag, 98(3), pp. 657–668. doi: 10.1007/s00277-018-3554-8.

Ivanov Öfverholm, I. *et al.* (2020) 'Overexpression of chromatin remodeling and tyrosine kinase genes in iAMP21-positive acute lymphoblastic leukemia', *Leukemia and Lymphoma*. Taylor and Francis Ltd, 61(3), pp. 604–613. doi: 10.1080/10428194.2019.1678153.

Jang, W. *et al.* (2019) 'CDKN2B downregulation and other genetic characteristics in T-acute lymphoblastic leukemia', *Experimental and Molecular Medicine*. Nature Publishing Group, 51(1). doi: 10.1038/s12276-018-0195-x.

Järviaho, T. *et al.* (2019) 'Predisposition to childhood acute lymphoblastic leukemia caused by a constitutional translocation disrupting ETV6', *Blood Advances*. American Society of Hematology, 3(18), pp. 2722–2731. doi: 10.1182/bloodadvances.2018028795.

Jerchel, I. S. *et al.* (2019) 'Fibroblast growth factor receptor signaling in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia', *Scientific Reports*. Nature Publishing Group, 9(1). doi: 10.1038/s41598-018-38169-z.

Kachroo, P. *et al.* (2018) 'NGS-based methylation profiling differentiates TCF3-HLF and TCF3-PBX1 positive B-cell acute lymphoblastic leukemia', *Epigenomics*. Future Medicine Ltd., 10(2), pp. 133–147. doi: 10.2217/epi-2017-0080.

Kawashima-Goto, S. *et al.* (2015) 'Identification of a homozygous JAK3 V674A mutation caused by acquired uniparental disomy in a relapsed early T-cell precursor ALL patient', *International Journal of Hematology*. Springer-Verlag Tokyo, 101(4), pp. 411–416. doi: 10.1007/s12185-014-1711-y.

Kim, B. *et al.* (2020) 'Detection of recurrent, rare, and novel gene fusions in patients with acute leukemia using next-generation sequencing approaches', *Hematological Oncology*. John Wiley and Sons Ltd, 38(1), pp. 82–88. doi: 10.1002/hon.2709.

Kimura, S. *et al.* (2019) 'NOTCH1 pathway activating mutations and clonal evolution in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia', *Cancer Science*. Blackwell Publishing Ltd, 110(2), pp. 784–794. doi: 10.1111/cas.13859.

- Kruse, A. *et al.* (2020) 'Minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia', *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. doi: 10.3390/ijms21031054.
- Kutszegi, N. *et al.* (2017) 'HLA-DRB1*07:01-HLA-DQA1*02:01-HLADQB1*02:02 haplotype is associated with a high risk of asparaginase hypersensitivity in acute lymphoblastic leukemia', *Haematologica*. Ferrata Storti Foundation, 102(9), pp. 1578–1586. doi: 10.3324/haematol.2017.168211.
- Li, B. *et al.* (2015) 'Negative feedback-defective PRPS1 mutants drive thiopurine resistance in relapsed childhood ALL', *Nature Medicine*. Nature Publishing Group, 21(6), pp. 563–571. doi: 10.1038/nm.3840.
- Li, B. *et al.* (2020) 'Therapy-induced mutations drive the genomic landscape of relapsed acute lymphoblastic leukemia', *Blood*. American Society of Hematology, 135(1), pp. 41–55. doi: 10.1182/blood.2019002220.
- Li, J. F. *et al.* (2018) 'Transcriptional landscape of B cell precursor acute lymphoblastic leukemia based on an international study of 1,223 cases', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. National Academy of Sciences, 115(50), pp. E11711–E11720. doi: 10.1073/pnas.1814397115.
- Liu, Y. F. *et al.* (2016) 'Genomic Profiling of Adult and Pediatric B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia', *EBioMedicine*. Elsevier B.V., 8, pp. 173–183. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.04.038.
- Lundin-Ström, K. B. *et al.* (2018) 'Whole-exome sequencing exploration of acquired uniparental disomies in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia', *Leukemia*. Nature Publishing Group, 32(9), pp. 2058–2062. doi: 10.1038/s41375-018-0191-0.
- Ma, Y. *et al.* (2013) 'Developmental timing of mutations revealed by whole-genome sequencing of twins with acute lymphoblastic leukemia', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Proc Natl Acad Sci U S A, 110(18), pp. 7429–7433. doi: 10.1073/pnas.1221099110.
- Malard, F. and Mohty, M. (2020) 'Acute lymphoblastic leukaemia', *The Lancet*. Lancet Publishing Group, pp. 1146–1162. doi: 10.1016/S0140-6736(19)33018-1.
- Maxam, A. M. and Gilbert, W. (1977) 'A new method for sequencing DNA', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Proc Natl Acad Sci U S A, 74(2), pp. 560–564. doi: 10.1073/pnas.74.2.560.
- Mi, X. *et al.* (2018) 'Genomic and clinical characterization of B/T mixed phenotype acute leukemia reveals recurrent features and T-ALL like mutations', *American*

- Journal of Hematology*. Wiley-Liss Inc., 93(11), pp. 1358–1367. doi: 10.1002/ajh.25256.
- Nadeau, G. *et al.* (2019) ‘Identification of genetic variants associated with skeletal muscle function deficit in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors’, *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. Dove Medical Press Ltd, 12, pp. 33–45. doi: 10.2147/PGPM.S192924.
- Ngoc, P. C. T. *et al.* (2018) ‘Identification of novel lncRNAs regulated by the TAL1 complex in T-cell acute lymphoblastic leukemia’, *Leukemia*. Nature Publishing Group, 32(10), pp. 2138–2151. doi: 10.1038/s41375-018-0110-4.
- Nishii, R. *et al.* (2020) ‘Molecular Basis of ETV6-Mediated Predisposition to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia’, *Blood*. American Society of Hematology. doi: 10.1182/blood.2020006164.
- Noetzli, L. *et al.* (2015) ‘Germline mutations in ETV6 are associated with thrombocytopenia, red cell macrocytosis and predisposition to lymphoblastic leukemia’, *Nature Genetics*. Nature Publishing Group, 47(5), pp. 535–538. doi: 10.1038/ng.3253.
- Nordlund, J. *et al.* (2020) ‘Refined detection and phasing of structural aberrations in pediatric acute lymphoblastic leukemia by linked-read whole-genome sequencing’, *Scientific Reports*. Nature Research, 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-59214-w.
- Oshima, K. *et al.* (2016) ‘Mutational landscape, clonal evolution patterns, and role of RAS mutations in relapsed acute lymphoblastic leukemia’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. National Academy of Sciences, 113(40), pp. 11306–11311. doi: 10.1073/pnas.1608420113.
- Panagopoulos, I. *et al.* (2019) ‘Novel GTF2I-PDGFRB and IKZF1-TYW1 fusions in pediatric leukemia with normal karyotype’, *Experimental Hematology and Oncology*. BioMed Central Ltd., 8(1). doi: 10.1186/s40164-019-0136-y.
- Park, K. J. *et al.* (2020) ‘Mutation analysis in Korean patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia’, *Pediatric Hematology and Oncology*. Taylor and Francis Ltd, 37(2), pp. 129–139. doi: 10.1080/08880018.2019.1701160.
- Park, Y. *et al.* (2019) ‘Star Allele-Based Haplotyping versus Gene-Wise Variant Burden Scoring for Predicting 6-Mercaptopurine Intolerance in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Patients’, *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media S.A., 10(JUN). doi: 10.3389/fphar.2019.00654.
- Park, Y. *et al.* (2020) ‘Homozygote CRIM1 variant is associated with thiopurine-

- induced neutropenia in leukemic patients with both wildtype NUDT15 and TPMT', *Journal of Translational Medicine*. BioMed Central, 18(1). doi: 10.1186/s12967-020-02416-7.
- Paulsson, K. *et al.* (2015) 'The genomic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia', *Nature Genetics*. Nature Publishing Group, 47(6), pp. 672–676. doi: 10.1038/ng.3301.
- Pavlovic, S. *et al.* (2019) 'Pharmacogenomic and pharmacotranscriptomic profiling of childhood acute lymphoblastic leukemia: Paving the way to personalized treatment', *Genes*. MDPI AG. doi: 10.3390/genes10030191.
- Perez-Andreu, V. *et al.* (2015) 'Lymphoid neoplasia: A genome-wide association study of susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults', *Blood*. American Society of Hematology, 125(4), pp. 680–686. doi: 10.1182/blood-2014-09-595744.
- Petrykey, K. *et al.* (2019) 'Influence of genetic factors on long-term treatment related neurocognitive complications, and on anxiety and depression in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: The Petale study', *PLoS ONE*. Public Library of Science, 14(6). doi: 10.1371/journal.pone.0217314.
- Pulsipher, M. A. *et al.* (2015) 'IgH-V(D)J NGS-MRD measurement pre-and early post-allotransplant defines very low-and very high-risk ALL patients', in *Blood*. American Society of Hematology, pp. 3501–3508. doi: 10.1182/blood-2014-12-615757.
- Qian, M. *et al.* (2017) 'Whole-transcriptome sequencing identifies a distinct subtype of acute lymphoblastic leukemia with predominant genomic abnormalities of EP300 and CREBBP', *Genome Research*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 27(2), pp. 185–195. doi: 10.1101/gr.209163.116.
- Qian, M. *et al.* (2019) 'Genome-Wide Association Study of Susceptibility Loci for T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Children', *Journal of the National Cancer Institute*, 111(12), pp. 1350–1357. doi: 10.1093/jnci/djz043.
- Rampersaud, E. *et al.* (2019) 'Germline deletion of ETV6 in familial acute lymphoblastic leukemia', *Blood Advances*. American Society of Hematology, 3(7), pp. 1039–1046. doi: 10.1182/bloodadvances.2018030635.
- Rashed, W. M. *et al.* (2019) 'MicroRNA as a diagnostic biomarker in childhood acute lymphoblastic leukemia; systematic review, meta-analysis and recommendations', *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Elsevier Ireland Ltd, pp. 70–78. doi:

10.1016/j.critrevonc.2019.02.008.

Roberts, K. G. *et al.* (2012) 'Genetic Alterations Activating Kinase and Cytokine Receptor Signaling in High-Risk Acute Lymphoblastic Leukemia', *Cancer Cell*. *Cancer Cell*, 22(2), pp. 153–166. doi: 10.1016/j.ccr.2012.06.005.

Roberts, K. G. (2018) 'Genetics and prognosis of ALL in children vs adults', *Hematology*. American Society of Hematology, 2018(1), pp. 137–145. doi: 10.1182/asheducation-2018.1.137.

Roberts, K. G. *et al.* (2018) 'Genomic and outcome analyses of Ph-like ALL in NCI standard-risk patients: a report from the children's oncology group', *Blood*. American Society of Hematology, 132(8), pp. 815–824. doi: 10.1182/blood-2018-04-841676.

Rowsey, R. A. *et al.* (2019) 'Characterization of TCF3 rearrangements in pediatric B-lymphoblastic leukemia/lymphoma by mate-pair sequencing (MPseq) identifies complex genomic rearrangements and a novel TCF3/TEF gene fusion', *Blood Cancer Journal*. Nature Publishing Group, 9(10). doi: 10.1038/s41408-019-0239-z.

Sanger, F., Nicklen, S. and Coulson, A. R. (1977) 'DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 74(12), pp. 5463–5467. doi: 10.1073/pnas.74.12.5463.

Sciarrillo, R. *et al.* (2020) 'Glucocorticoid resistant pediatric acute lymphoblastic leukemia samples display altered splicing profile and vulnerability to spliceosome modulation', *Cancers*. MDPI AG, 12(3). doi: 10.3390/cancers12030723.

Sekiya, Y. *et al.* (2017) 'Clinical utility of next-generation sequencing-based minimal residual disease in paediatric B-cell acute lymphoblastic leukaemia', *British Journal of Haematology*. Blackwell Publishing Ltd, 176(2), pp. 248–257. doi: 10.1111/bjh.14420.

Shendure, J. and Ji, H. (2008) 'Next-generation DNA sequencing', *Nature Biotechnology*. Nature Publishing Group, pp. 1135–1145. doi: 10.1038/nbt1486.

Spinella, J. F., Cassart, P., *et al.* (2015) 'A novel somatic mutation in ACD induces telomere lengthening and apoptosis resistance in leukemia cells', *BMC Cancer*. BioMed Central Ltd., 15(1). doi: 10.1186/s12885-015-1639-5.

Spinella, J. F., Healy, J., *et al.* (2015) 'Whole-exome sequencing of a rare case of familial childhood acute lymphoblastic leukemia reveals putative predisposing mutations in Fanconi anemia genes', *BMC Cancer*. BioMed Central Ltd., 15(1). doi: 10.1186/s12885-015-1549-6.

- Studd, J. B. *et al.* (2019) 'Genetic predisposition to B-cell acute lymphoblastic leukemia at 14q11.2 is mediated by a CEBPE promoter polymorphism', *Leukemia*. Nature Publishing Group, 33(1). doi: 10.1038/s41375-018-0184-z.
- Terwilliger, T. and Abdul-Hay, M. (2017) 'Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update', *Blood cancer journal*. Blood Cancer J, 7(6), p. e577. doi: 10.1038/bcj.2017.53.
- Theunissen, P. M. J. *et al.* (2019) 'Next-generation antigen receptor sequencing of paired diagnosis and relapse samples of B-cell acute lymphoblastic leukemia: Clonal evolution and implications for minimal residual disease target selection', *Leukemia Research*. Elsevier Ltd, 76, pp. 98–104. doi: 10.1016/j.leukres.2018.10.009.
- Tian, L. *et al.* (2019) 'Long-read sequencing unveils IGH-DUX4 translocation into the silenced IGH allele in B-cell acute lymphoblastic leukemia', *Nature Communications*. Nature Publishing Group, 10(1). doi: 10.1038/s41467-019-10637-8.
- Trimarchi, T. *et al.* (2014) 'Genome-wide mapping and characterization of notch-regulated long noncoding RNAs in acute leukemia', *Cell*. Cell Press, 158(3), pp. 593–606. doi: 10.1016/j.cell.2014.05.049.
- Tsurusaki, Y. *et al.* (2020) 'Whole-exome sequencing reveals the subclonal expression of NUP214-ABL1 fusion gene in T-cell acute lymphoblastic leukemia', *Pediatric Blood and Cancer*. John Wiley and Sons Inc. doi: 10.1002/pbc.28019.
- Tzoneva, G. *et al.* (2018) 'Clonal evolution mechanisms in NT5C2 mutant-relapsed acute lymphoblastic leukaemia', *Nature*. Nature Publishing Group, 553(7689), pp. 511–514. doi: 10.1038/nature25186.
- Urayama, K. Y. *et al.* (2018) 'Regional evaluation of childhood acute lymphoblastic leukemia genetic susceptibility loci among Japanese', *Scientific Reports*. Nature Publishing Group, 8(1). doi: 10.1038/s41598-017-19127-7.
- Van Vlierberghe, P. and Ferrando, A. (2012) 'The molecular basis of T cell acute lymphoblastic leukemia', *Journal of Clinical Investigation*. J Clin Invest, pp. 3398–3406. doi: 10.1172/JCI61269.
- Wallaert, A. *et al.* (2016) 'Long noncoding RNA signatures define oncogenic subtypes in T-cell acute lymphoblastic leukemia', *Leukemia*. Nature Publishing Group, pp. 1927–1930. doi: 10.1038/leu.2016.82.
- Wang, X. *et al.* (2019) 'Novel lncRNA-IUR suppresses Bcr-Abl-induced tumorigenesis through regulation of STAT5-CD71 pathway', *Molecular Cancer*. BioMed Central Ltd., 18(1). doi: 10.1186/s12943-019-1013-3.

- Wiemels, J. L. *et al.* (2018) 'GWAS in childhood acute lymphoblastic leukemia reveals novel genetic associations at chromosomes', *Nature Communications*, 9(1), p. 286. doi: 10.1038/s41467-017-02596-9.
- Wood, B. *et al.* (2018) 'Measurable residual disease detection by high-throughput sequencing improves risk stratification for pediatric B-ALL', *Blood*. American Society of Hematology, 131(12), pp. 1350–1359. doi: 10.1182/blood-2017-09-806521.
- Xie, Y. *et al.* (2020) 'ARHGEF12 regulates erythropoiesis and is involved in erythroid regeneration after chemotherapy in acute lymphoblastic leukemia patients', *Haematologica*. Ferrata Storti Foundation, 105(4), pp. 925–936. doi: 10.3324/haematol.2018.210286.
- Yang, F. *et al.* (2018) 'HPRT1 activity loss is associated with resistance to thiopurine in ALL', *Oncotarget*. Impact Journals LLC, 9(2), pp. 2268–2278. doi: 10.18632/oncotarget.23405.
- Yang, L. *et al.* (2018) 'Relatively favorable prognosis for MLL-rearranged childhood acute leukemia with reciprocal translocations', *Pediatric Blood and Cancer*. John Wiley and Sons Inc., 65(10). doi: 10.1002/pbc.27266.
- Yang, M. *et al.* (2019) 'Proteogenomics and Hi-C reveal transcriptional dysregulation in high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia', *Nature Communications*. Nature Publishing Group, 10(1), pp. 1–15. doi: 10.1038/s41467-019-09469-3.
- Yasuda, T. *et al.* (2020) 'Clinical utility of target capture-based panel sequencing in hematological malignancies: A multicenter feasibility study', *Cancer Science*. Blackwell Publishing Ltd. doi: 10.1111/cas.14552.
- Yu, S. L. *et al.* (2020) 'FPGS relapse-specific mutations in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia', *Scientific Reports*. Nature Research, 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-69059-y.
- Zhang, H.-H. *et al.* (2019) 'Genetic variants and clinical significance of pediatric acute lymphoblastic leukemia', *Annals of Translational Medicine*. AME Publishing Company, 7(14), pp. 296–296. doi: 10.21037/atm.2019.04.80.
- Zhang, H.-H. *et al.* (2020) 'Ras pathway mutation feature in the same individuals at diagnosis and relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia', *Translational Pediatrics*. AME Publishing Company, 9(1), pp. 4–12. doi: 10.21037/tp.2020.01.07.
- Zhang, H. *et al.* (2020) 'Genetic mutational analysis of pediatric acute lymphoblastic

leukemia from a single center in China using exon sequencing', *BMC Cancer*. BioMed Central Ltd., 20(1), p. 211. doi: 10.1186/s12885-020-6709-7.

Zhang, J. *et al.* (2012) 'The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia', *Nature*. Nature, 481(7380), pp. 157–163. doi: 10.1038/nature10725.

Zhang, J. *et al.* (2016) 'Deregulation of DUX4 and ERG in acute lymphoblastic leukemia', *Nature Genetics*. Nature Publishing Group, 48(12), pp. 1481–1489. doi: 10.1038/ng.3691.

Zhang, Y. *et al.* (2018) 'PDGFRB mutation and tyrosine kinase inhibitor resistance in Ph-like acute lymphoblastic leukemia', *Blood*. American Society of Hematology, 131(20), pp. 2256–2261. doi: 10.1182/blood-2017-11-817510.

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΑΚΡΩΝΥΜΙΩΝ - ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

ΚΝΣ	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
ΜΠ	Μεταγραφικός παράγοντας ή transcription factor (TF)
(π)ΟΛΛ ή ALL	(παιδική) Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία
ΧΜΘ	Χημειοθεραπεία
AATF	Γονίδιο του apoptosis antagonizing transcription factor @ 17q12
ABCC3	Γονίδιο της ATP binding cassette subfamily C member 3 ή canalicular multispecific organic anion transporter 2 @ 17q21.33
ABCC4	Γονίδιο της ATP binding cassette subfamily C member 4 @ 13q32.1
ABL1	Γονίδιο της tyrosine-protein kinase ABL1 @ 9q34.12
ABL2	Γονίδιο της tyrosine-protein kinase ABL2 ή Abelson-related gene (ARG) @ 1q25.2
ACD	Γονίδιο του ACD (adrenocortical dysplasia) shelterin complex subunit and telomerase recruitment factor @ 16q22.1
ACER1	Γονίδιο της alkaline ceramidase 1 @ 19p13.3
aCGH	Array Comparative Genomic Hybridization ή συγκριτικός γενωμικός υβριδισμός σε μικροσυστοιχίες
ACIN1	Γονίδιο του apoptotic chromatin condensation inducer 1 @ 14q11.2
ACP1	Γονίδιο της acid phosphatase 1 ή low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase @ 2p25.3
ACTC1	Γονίδιο της actin alpha cardiac muscle 1 @ 15q14
ACTG1	Γονίδιο της actin gamma 1 ή ACTG ή DFNA20 ή DFNA26 @ 17q25.3
ADAMTS4	Γονίδιο της A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 4 ή aggrecanase-1 @ 1q23.3
ADSL	Γονίδιο της adenylosuccinate lyase @ 22q13.1
AFDN	Γονίδιο της afadin, adherens junction formation factor ή MLLT4 ή AF6 @ 6q27

AFF1	Γονίδιο της πρωτεΐνης AF4/FMR2 family member 1 ή AF4 (ALL1-fused gene from chromosome 4) @ 4q21.3-q22.1
AGGF1	Το γονίδιο του angiogenic factor with G-patch And FHA domains 1 @ 5q13.3
AHI1	Γονίδιο της πρωτεΐνης Abelson helper integration site 1 @ 6q23.3
AIP	Γονίδιο της aryl hydrocarbon receptor interacting protein ή XAP2 @ 11q13.2
AK2	Γονίδιο της adenylate kinase 2 @ 1p35.1
AKAP9	Γονίδιο της A-kinase anchoring protein 9 @ 7q21.2
AKT1	Γονίδιο της πρωτεΐνης RAC-alpha serine/threonine-protein kinase ή πρωτεϊνική κινάση B της PI3K/AKT/mTOR και της PI3K-PKB/Akt σηματοδοτικής οδού @ 14q32.33
ALOX15	Γονίδιο της arachidonate 15-lipoxygenase @ 17p13.2
ANXA7	Γονίδιο της annexin A7 @ 10q22.2
APOB	Γονίδιο της apolipoprotein B @ 2p24.1
ARHGAP22	Γονίδιο της Rho GTPase activating protein 22 @ 10q11.22-q11.23
ARHGAP26	Γονίδιο της Rho GTPase activating protein 26 ή oligophrenin-1-like protein @ 5q31.3
ARHGEF12	Γονίδιο του Rho guanine nucleotide exchange factor 12 ή leukemia-associated Rho guanine nucleotide exchange factor (LARG) @ 11q23.3
ARID1A	Γονίδιο της AT-rich interaction domain 1A @ 1p36.11
ARID1B	Γονίδιο της AT-rich interaction domain 1B @ 6q25.3
ARID2	Γονίδιο της AT-rich interaction domain 2 @ 12q12
ARID5B	Γονίδιο της AT-rich interactive domain-containing protein 5B ή modulator recognition factor 2 (MRF-2) @ 10q21.2
ASXL1	Γονίδιο του additional sex combs like 1, transcriptional regulator @ 20q11.21
ASXL2	Γονίδιο του additional sex combs like 2, transcriptional regulator @ 2p23.3
ASXL3	Γονίδιο του additional sex combs like 3, transcriptional regulator @ 18q12.1

ATAD1	Γονίδιο της ATPase family AAA domain containing 1 @ 10q23.31
ATF7IP	Γονίδιο της activating transcription factor 7 interacting protein ή p621 @ 12p13.1
ATG7	Γονίδιο της πρωτεΐνης autophagy related 7 ή ubiquitin-activating enzyme E1-like protein ή APG7L @ 3p25.3
ATIC	Γονίδιο της 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase / IMP cyclohydrolase @ 2q35
ATM	Γονίδιο της ataxia telangiectasia mutated (ATM) serine/threonine kinase @ 11q22.3
ATP5SL	Γονίδιο της ATP synthase subunit S-like protein ή distal membrane arm assembly complex 2 (DMAC2) @ 19q13.2
ATRX	Γονίδιο του ATRX Chromatin Remodeler @ Xq21.1
ATXN1	Γονίδιο της ataxin 1 ή SCA1 ή spinocerebellar ataxia 1 (olivopontocerebellar ataxia 1, autosomal dominant, ataxin 1) @ 6p22.3
AUTS2	Γονίδιο του activator of transcription and developmental regulator AUTS2 @ 7q11.22
AYA b	Adolescents and Young Adults ή έφηβοι και νεαροί ενήλικες Βάση (και bp τα base pairs ή ζεύγη βάσεων)
BACH2	Γονίδιο της BTB domain and CNC homolog 2 @ 6q15
BAD	Γονίδιο της BCL2 associated agonist of cell death @ 11q13.1
BAHD1	Γονίδιο της bromo adjacent homology domain containing 1 protein @ 15q15.1
BAP1	Γονίδιο της BRCA1 associated protein-1 (ubiquitin carboxy-terminal hydrolase) @ 3p21.1
BAX	Γονίδιο του BCL2 associated X, apoptosis regulator @ 19q13.33
BC030092	RNA γονίδιο του long intergenic non-protein coding RNA 2712 ή LINC02712 @ 11q24.2
BC034795	RNA αχαρακτήριστο γονίδιο LOC101928535 @ 11q22.3
BCL11A	Γονίδιο της πρωτεΐνης B-cell lymphoma/leukemia 11A @ 2p16.1
BCL11B	Γονίδιο της πρωτεΐνης B-cell lymphoma/leukemia 11B ή BAF Chromatin Remodeling Complex Subunit BCL11B @ 14q32.2

Bcl2	Η ρυθμιστική πρωτεΐνη της απόπτωσης B-cell lymphoma 2 με το γονίδιο της BCL2 @ 18q21.33
BCL2L11	Γονίδιο της Bcl-2-like protein 11 @ 2q13
BCL6	Γονίδιο της B-cell lymphoma 6 protein transcription repressor ή zinc finger protein 51 (ZNF51) @ 3q27.3
BCL9	Γονίδιο της B-cell CLL/lymphoma 9 protein @ 1q21.2
BCOR	Γονίδιο του B-cell lymphoma 6 protein corepressor @ Xp11.4
BCP-ALL	B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia ή οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία από πρόιμα B-κύτταρα
BCR	Γονίδιο της breakpoint cluster region protein (BCR) γνωστή και ως renal carcinoma antigen NY-REN-26 @ 22q11.23
BH3	Bcl-2 homology domain 3
bHLH	Basic helix-loop-helix
BMP	Bone morphogenic protein
BMP2K	Γονίδιο της BMP-2-inducible protein kinase @ 4q21.21
BMP6	Γονίδιο της bone morphogenetic protein 6 ή VGR @ 6p24.3
BMP7	Γονίδιο της bone morphogenetic protein 7 ή osteogenic protein-1 (OP-1) @ 20q13.31
BRAF	Πρωτο-ογκογονίδιο της B-Raf ή serine/threonine-protein kinase B-Raf @ 7q34
BRCA1	Γονίδιο της BRCA1 DNA repair associated ή breast cancer type 1 susceptibility protein ή FANCS @ 17q21.31
BRCA2	Γονίδιο της BRCA2 DNA repair associated ή breast cancer type 2 susceptibility protein ή FANCD @ 13q13.1
BRD8	Γονίδιο της bromodomain containing 8 @ 5q31.2
BSG	Γονίδιο της basigin (Ok blood group) ή extracellular matrix metalloproteinase inducer ή CD147 @ 19p13.3
BTG1	Γονίδιο του B-cell translocation gene anti-proliferation factor 1 @ 12q21.33
BTLA	Γονίδιο της B- and T-lymphocyte-associated protein ή CD272 @ 3q13.2
B/T MPAL	B/T subtype of mixed phenotype acute leukemia
C11orf49	Γονίδιο της πρωτεΐνης του chromosome 11 open reading frame 49 @ 11p11.2

C14orf39	Γονίδιο της πρωτεΐνης του chromosome 14 open reading frame 39 @ 14q23.1
CACNA1H	Γονίδιο της calcium voltage-gated channel subunit alpha1 H @ 16p13.3
CACNB2	Γονίδιο της calcium voltage-gated channel auxiliary subunit beta 2 @ 10p12
CALML5	Γονίδιο της calmodulin like 5 @ 10p15.1
CANX	Γονίδιο της calnexin @ 5q35.3
CAR-T	Chimeric Antigen Receptor T cells
CASP8	Γονίδιο της caspase 8 @ 2q33.1
CBFA2T3	Γονίδιο του CBFA2/RUNX1 partner transcriptional Co-repressor 3 @ 16q24.3
CBL	Γονίδιο της E3 ubiquitin-protein ligase Casitas B-lineage Lymphoma @ 11q23.3
CBLB	Γονίδιο της Cbl proto-oncogene B E3 ubiquitin-protein ligase @ 3q13.11
CD	Cluster of Differentiation
CCDC6	Γονίδιο της coiled-coil domain containing 6 @ 10q21.2
CD34	Γονίδιο του cluster of differentiation 34 ή hematopoietic progenitor cell antigen ή transmembrane phosphoglycoprotein CD34 @ 1q32.2
CD38	Γονίδιο του cluster of differentiation 38 ή ADP-ribosyl cyclase 1 @ 4p15.32
CD71	Cluster of differentiation 71 ή transferrin receptor protein 1 (TfR1) που κωδικοποιείται από το <i>TFRC</i> @ 3q29
CD74	Γονίδιο της HLA class II histocompatibility antigen gamma chain ή HLA-DR antigens-associated invariant chain ή cluster of differentiation 74 ή p33 @ 5q33.1
CDH2	Γονίδιο της cadherin 2 ή neuronal cadherin (NCAD) @ 18q12.1
CDH8	Γονίδιο της cadherin 8 @ 16q21
CDH11	Γονίδιο της cadherin 11 @ 16q21
CDK1	Γονίδιο της cyclin dependent kinase 1 @ 10q21.2
CDKN2A	Γονίδιο της cyclin-dependent kinase inhibitor 2A @ 9p21.3

CDKN2B	Γονίδιο της cyclin-dependent kinase 4 inhibitor B ή multiple tumor suppressor 2 (MTS-2) ή p15 ^{INK4b} @ 9p21.3
CDKN2C	Γονίδιο της cyclin-dependent kinase inhibitor 2C (P18, inhibits CDK4) ή p18 @ 1p32.3
CDSN	Γονίδιο της corneodesmosin @ 6p21.33
CEBPE	Γονίδιο της CCAAT/enhancer binding protein epsilon ή CRP1 @ 14q11.2
CENPC	Γονίδιο της centromere protein C ή CENPC1 @ 4q13.2
CEP170	Γονίδιο της centrosomal protein 170kDa @ 1q43
CER1	Γονίδιο της Cerberus 1, DAN family BMP antagonist @ 9p22.3
CHAF1B	Γονίδιο της chromatin assembly factor 1 subunit B @ 21q22.12-q22.13
CHD2	Γονίδιο της chromodomain helicase DNA binding protein 2 @ 15q26.1
CHD3	Γονίδιο της chromodomain helicase DNA binding protein 3 @ 17p13.1
CHD4	Γονίδιο της chromodomain helicase DNA binding protein 4 @ 12p13.31
ChIP	Chromatin immunoprecipitation assay
CHPT1	Γονίδιο της choline phosphotransferase 1 @ 12q23.2
CHST11	Γονίδιο της carbohydrate (chondroitin 4) sulfotransferase 11 @ 12q23.3
CHUK	Γονίδιο του component of inhibitor of nuclear factor kappa B kinase complex ή transcription factor 16 (TCF16) @ 10q24.31
CI	Confidence interval ή διάστημα εμπιστοσύνης / αξιοπιστίας
CLCF1	Γονίδιο του cardiotrophin-like cytokine factor 1 ή novel neurotrophin-1 (NNT-1) ή B cell-stimulating factor-3 (BSF-3) @ 11q13.2
CLN6	Γονίδιο της ceroid-lipofuscinosis neuronal protein 6 @ 15q23
CNTLN	Γονίδιο της centlein ή C9orf101 ή C9orf39 @ 9p22.2
CNV	Copy Number Variation ή παραλλαγή αριθμού αντιγράφων τμημάτων DNA
COL5A1	Γονίδιο της collagen type V alpha 1 chain @ 9q34.3
CREB	cAMP-response element-binding protein

CREBBP	Γονίδιο της CREB-binding protein @ 16p13.3
CRIM1	Γονίδιο της πρωτεΐνης cysteine rich transmembrane BMP (bone morphogenic protein) regulator 1 (chordin-like) @ 2p22.2
CRIPAK	Γονίδιο του cysteine-rich PAK1 inhibitor ή ENSG00000288380 @ 4p16.3
CRLF2	Γονίδιο του cytokine receptor-like factor 2 @ Xp22.33 και Yp11.2
CRX	Γονίδιο της cone-rod homeobox ή CORD2 @ 19q13.33
CSF1R	Γονίδιο του colony stimulating factor 1 receptor ή macrophage colony-stimulating factor receptor (M-CSFR) ή CD115 @ 5q32
CSF3R	Γονίδιο του granulocyte colony-stimulating factor receptor (G-CSF-R) ή CD114 ή colony stimulating factor 3 receptor @ 1p34.3
CTCF	Γονίδιο της zinc finger protein CCCTC-Binding Factor @ 16q22.1
CTDP1	Γονίδιο της CTD phosphatase subunit 1 ή RNA polymerase II subunit A C-terminal domain phosphatase @ 18q23
CTR9	Γονίδιο του CTR9 Homolog, Paf1/RNA polymerase II complex component ή SH2 domain binding protein 1 (tetratricopeptide repeat containing) ή SH2BP1 ή p150 @ 11p15.4
CUL2	Γονίδιο της cullin 2 @ 10p11.21
DAB1	Γονίδιο της DAB adaptor protein 1 ή Dab reelin signal transducer 1 @ 1p32.2
DAZ	Deleted in Azoospermia
DAZAP1	Γονίδιο της DAZ-associated protein 1 @ 19p13.3
DDC	Γονίδιο της dopa decarboxylase ή aromatic L-amino acid decarboxylase @ 7p12.2-p12.1
ddNTP	Τριφωσφορικό διδεοξυριβονουκλεοτίδιο
DDX58	Γονίδιο της DExD/H-box helicase 58 @ 9p21.1
DGKH	Γονίδιο της diacylglycerol kinase Eta @ 13q14.11
DLC1	Γονίδιο της DLC1 (deleted in liver cancer 1) Rho GTPase activating protein ή StAR-related lipid transfer (START) domain containing 12 ή ARHGAP7 @ 8p22

DMBT1	Γονίδιο της deleted in malignant brain tumors 1 protein @ 10q26.13
DNA	Deoxyribonucleic acid ή δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
DNAJC13	Γονίδιο της DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C13 ή required for receptor-mediated endocytosis 8 (RME8) @ 3q22.1
DNM2	Γονίδιο της πρωτεΐνης dynamin-2 @ 19p13.2
DNMT1	Γονίδιο της DNA Methyltransferase 1 @ 19p13.2
dNTP	Τριφωσφορικό δεοξυριβονουκλεοτίδιο
DOT1L	Γονίδιο της disruptor of telomeric silencing 1-like histone H3K79 methyltransferase @ 19p13.3
DUOX2	Γονίδιο της dual oxidase 2 ή NADH/NADPH thyroid oxidase p138-Tox @ 15q21.1
DUX4	Γονίδιο της πρωτεΐνης double homeobox 4 @ 4q35.2
DYRK1A	Γονίδιο της dual specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 1A ή MNBH @ 21q22.13
E1A	Adenovirus early region 1A
EBF1	Γονίδιο του Early B-Cell Factor 1 ή Transcription factor COE1 @ 5q33.3
EPB42	Γονίδιο της erythrocyte membrane protein band 4.2 @ 15q15.2
ECT2L	Γονίδιο της πρωτεΐνης epithelial cell transforming sequence 2 oncogene-like @ 6q24.1
EED	Γονίδιο της embryonic ectoderm development polycomb protein @ 11q14.2
EIF4B	Γονίδιο του eukaryotic translation initiation factor 4B @ 12q13.13
ELF1	Γονίδιο του E74 like ETS transcription factor 1 @ 13q14.11
ELK3	Γονίδιο της ETS domain-containing protein Elk-3 @ 12q23.1
ELL	Γονίδιο του elongation factor for RNA polymerase II @ 19p13.11
ELN	Γονίδιο της elastin @ 7q11.23
EML1	Γονίδιο της Echinoderm microtubule-associated protein-like 1 @ 14q32.2
ENO3	Γονίδιο της enolase 3 @ 17p13.2

EP300	Γονίδιο της histone acetyltransferase p300 ή p300 HAT ή E1A-associated protein p300 @ 22q13.2
EPHA5	Γονίδιο της πρωτεΐνης ephrin type-A receptor 5 @ 4q13.1-q13.2
EPHA7	Γονίδιο της πρωτεΐνης ephrin type-A receptor 7 @ 6q16.1
EPOR	Γονίδιο του erythropoietin receptor @ 19p13.2
ERBB2	Πρωτο-ογκογονίδιο της Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2 ή HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) ή NEU ή CD340 @ 17q12
ERCC2	Γονίδιο της ERCC excision repair 2, TFIIH core complex helicase subunit @ 19q13.32
ERG	ETS-related gene ογκογονίδιο @ 21q22.2
ETP	Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia ή πρόωμη λεμφοβλαστική λευχαιμία από πρόδρομα T-κύτταρα
ETV1	Γονίδιο του ETS variant transcription factor 1 @ 7p21.2
ETV6	Γονίδιο του ETS variant transcription factor 6 ή TEL @ 12p13.2
ETS	Erythroblast Transformation Specific
EWSR1	Γονίδιο της RNA-binding protein EWS ή Ewing sarcoma breakpoint region 1 @ 22q12.2
EZH2	Γονίδιο του enhancer of zeste homolog 2 ή enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit @ 7q36.1
FAK	Focal adhesion kinase ή protein tyrosine kinase 2 (PTK2)
FAM184A	Γονίδιο της family with sequence similarity 184 member A ή C6orf60 @ 6q22.31
FAM49A	Γονίδιο CYRIA του CYFIP related Rac1 interactor A ή family with sequence similarity 49 member A @ 2p24.2
FAM78B	Γονίδιο της family with sequence similarity 78 member B @ 1q24.1
FANCA	Γονίδιο της πρωτεΐνης FA (Fanconi anemia) complementation group A @ 16q24.3
FANCD2	Γονίδιο της πρωτεΐνης FA (Fanconi anemia) complementation group D2 @ 3p25.3
FANCG	Γονίδιο της πρωτεΐνης FA (Fanconi anemia) complementation group G ή DNA Repair Protein XRCC9 (X-Ray Repair

	Complementing Defective Repair In Chinese Hamster Cells 9) @ 9p13.3
FARP1	Γονίδιο της FERM (F for 4.1 protein, E for ezrin, R for radixin and M for moesin), ARH/RhoGEF and pleckstrin domain protein 1 @ 13q32.2
FBXW7	Γονίδιο της F-box/WD repeat-containing protein 7 @ 4q31.3
FCER2	Γονίδιο του Fc fragment of IgE, low affinity II, receptor for (CD23) @ 19p13.2
FCRL3	Γονίδιο της πρωτεΐνης Fc receptor like 3 @ 1q23.1
FDA	Food and Drug Administration
FGF2	Γονίδιο του fibroblast growth factor 2 @ 4q28.1
FGFR1	Γονίδιο του fibroblast growth factor receptor 1 ή basic fibroblast growth factor receptor 1 ή fms-related tyrosine kinase-2 / Pfeiffer syndrome ή CD331 @ 8p11.23
FGFR2	Γονίδιο του fibroblast growth factor receptor 2 @ 10q26.13
FGFR3	Γονίδιο του fibroblast growth factor 3 ή tyrosine kinase JTK4 ή CD333 @ 4p16.3
FIP1L1	Γονίδιο του factor interacting with PAPOLA and CPSF1 @ 4q12
FISH	Fluorescence in situ Hybridization
FLI1	Πρωτο-ογκογονίδιο Fli-1 (Friend Leukemia Integration 1), ETS transcription factor ή EWSR2 @ 11q24.3
FLT3	Γονίδιο της fms like tyrosine kinase 3 ή fetal liver kinase-2 (FLK2) ή CD135 @ 13q12.2
FNDC3B	Γονίδιο της fibronectin type III domain containing 3B ή factor for adipocyte differentiation 104 @ 3q26.31
FOS	Πρωτο-ογκογονίδιο Fos AP-1 Transcription Factor Subunit ή p55 @ 14q24.3
FOXJ2	Γονίδιο της forkhead box protein J2 @ 12p13.31
FOXO3	Γονίδιο της forkhead box protein O3 @ 6q21
FOXP1	Γονίδιο της forkhead box P1 @ 3p13
FPGS	Γονίδιο της folylpolyglutamate synthase @ 9q34.11
FREM1	Γονίδιο της FRAS1 related extracellular matrix 1 ή C9orf154 @ 9p22.3

FUS	Γονίδιο της FUS/TLS (fused in sarcoma / translocated in sarcoma) RNA-binding protein @ 16p11.2
FZD7	Γονίδιο του frizzled class receptor 7 @ 2q33.1
GART	Γονίδιο της trifunctional purine biosynthetic protein adenosine-3 ή phosphoribosylglycinamide formyltransferase, phosphoribosylglycinamide synthetase, phosphoribosylaminoimidazole synthetase @ 21q22.11
GATA1	Γονίδιο της GATA binding protein 1 @ Xp11.23
GATA2	Γονίδιο της GATA binding protein 2 @ 3q21.3
GATA3	Γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα GATA binding protein 3 @ 10p14
GEN1	Γονίδιο της GEN1 Holliday junction 5' flap endonuclease @ 2p24.2
GLI-1	Ογκογονίδιο της glioma-associated family zinc finger 1 @ 12q13.3
GLI-2	Ογκογονίδιο της glioma-associated family zinc finger 2 @ 2q14.2
GLI-3	Ογκογονίδιο της glioma-associated family zinc finger 3 ή Greig cephalopolysyndactyly syndrome (GCPS) ή PHS @ 7p14.1
GNAS	Γονίδιου του GNAS complex locus ή guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha stimulating activity polypeptide 1 @ 20q13.32
GOLGA5	Γονίδιο της golgin A5 @ 14q32.12
GPR128	Γονίδιο της G-protein coupled receptor 128 ή adhesion G protein-coupled receptor G7 (ADGRG7) @ 3q12.2
GRID2	Γονίδιο της glutamate ionotropic receptor delta type subunit 2 @ 4q22.1-q22.2
GRIN3A	Γονίδιο του glutamate ionotropic receptor NMDA (N-methyl-D-aspartate) type subunit 3A @ 9q31.1
GRIP1	Γονίδιο της glutamate receptor interacting protein 1 @ 12q14.3
GSDMB	Γονίδιο της πρωτεΐνης gasdermin B @ 17q21.1
GSDMC	Γονίδιο της πρωτεΐνης gasdermin C @ 8q24.21
GTF2H4	Γονίδιο της general transcription factor IIH subunit 4 @ 6p21.33
GTF2I	Γονίδιο του general transcription factor Iii @ 7q11.23

GTP(ase)	Guanosine-5'-triphosphate ή τριφωσφορική γουανοσίνη (και ένζυμο που την υδρολύει προς διφωσφορική γουανοσίνη GDP
GUCY1A1	Γονίδιο της guanylate cyclase 1 soluble subunit alpha 1 ή GUCY1A3 @ 4q32.1
GUCY1A2	Γονίδιο της guanylate cyclase 1 soluble subunit alpha 2 @ 11q22.3
GWAS	Genome-Wide Association Study
H3-3A	Γονίδιο της H3.3 histone A @ 1q42.12
H3K27	Επιγενετική τροποποίηση στη λυσίνη 27 της ιστόνης H3
HABP2	Γονίδιο της hyaluronan binding protein 2 @ 10q25.3
HAT	Histone acetyltransferase ή ακετυλοτρανσφεράση ιστονών
HCFC1	Γονίδιο του host cell factor C1 ή MRX3 @ Xq28
HDAC	Histone deacetylases ή αποακετυλάσες ιστονών
HDAC1	Γονίδιο της histone deacetylase 1 @ 1p35.2-p35.1
HDAC6	Γονίδιο της histone deacetylase 6 @ Xp11.23
HDAC11	Γονίδιο της histone deacetylase 11 @ 3p25.1
HeH	High hyperdiploid
HINT2	Γονίδιο της histidine triad nucleotide binding protein 2 @ 9p13.3
HIPK1	Γονίδιο της homeodomain interacting protein kinase 1 @ 1p13.2
HIPK2	Γονίδιο της homeodomain interacting protein kinase 2 @ 7q34
HLA	Human Leukocyte Antigen
HLA-DQA1	Γονίδιο της Major Histocompatibility Complex (MHC), Class II, DQ alpha 1 @ 6p21.32
HLF	Γονίδιο του hepatic leukemia factor @ 17q22
HMBOX1	Γονίδιο της homeobox telomere-binding protein 1 ή homeobox containing 1 @ 8p21.1-p12
HNRNPA1	Γονίδιο της heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 @ 12q13.13
HNRNPA2B1	Γονίδιο της heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 @ 7p15.2
HNRNPK	Γονίδιο της heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K @ 9q21.32
HNRNPM	Γονίδιο της heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M ή CEA receptor ή N-acetylglucosamine receptor 1 (NAGR1) @ 19p13.2

HNRNPU	Γονίδιο της heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U @ 1q44
HNRNPUL1	Γονίδιο της heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like protein 1 @ 19q13.2
HOXA	Γονίδια homeobox A cluster: HOXA1, HOXA2, HOXA3, HOXA4, HOXA5, HOXA6, HOXA7, HOXA9, HOXA10, HOXA11 και HOXA13 @ χρωμόσωμα 7
HPRT1	Γονίδιο της hypoxanthine phosphoribosyl-transferase 1 @ Xq26.2-q26.3
HRAS	Πρωτο-ογκογονίδιο HRas GTPase ή transforming protein p21 @ 11p15.5
HSP90	Πρωτεΐνη συνοδός heat shock protein 90 – οι ισομορφές της κωδικοποιούνται από <i>HSP90AA1</i> , <i>HSP90AA2</i> , <i>HSP90AB1</i> , <i>HSP90B1</i> και <i>TRAP1</i>
HSP90AA1	Γονίδιο της heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A member 1 @ 14q32.31
HSPA9	Γονίδιο της mitochondrial heat shock protein family A (Hsp70) member 9 ή mortalin @ 5q31.2
HUS1B	Γονίδιο του HUS1 checkpoint clamp component B @ 6p25.3
HX	Υποξανθίνη
IFNK	Γονίδιο της interferon kappa @ 9p21.2
IFT74	Γονίδιο της intraflagellar transport 74 ή coiled-coil domain-containing protein 2 (CCDC2) @ 9p21.2
IGFBPI	Γονίδιο της insulin like growth factor binding protein 1 @ 7p12.3
IGH	Γονίδιο του immunoglobulin heavy locus (βαριών αλυσίδων ανοσοσφαιρίνης) @ 14q32.33
IGK	Γονίδιο του immunoglobulin kappa locus @ 2p11.2
IKZF1	Γονίδιο της DNA-binding protein Ikaros ή Ikaros family zinc finger protein 1 @ 7p12.2
IKZF2	Γονίδιο της zinc finger protein, subfamily 1A, 2 (ZNFN1A2) ή Ikaros family zinc finger 2 ή Helios @ 2q34
IKZF3	Γονίδιο της zinc finger protein Aiolos ή Ikaros family zinc finger protein 3 @ 17q12-q21.1
IL16	Γονίδιο της interleukin 16 @ 15q25.1

IL2RB	Γονίδιο της interleukin-2 receptor subunit beta ή CD122 ή IL15RB ή P70-75 @ 22q12.3
IL7R	Γονίδιο του interleukin-7 receptor που είναι ετεροδιμερές των CD127 και CD132 @ 5p13.2
IQGAP2	Γονίδιο της IQ motif containing Ras GTPase activating protein 2 @ 5q13.3
ISN	Integrated Sequential Network
ITPRIPL2	Γονίδιο της inositol 1,4,5-trisphosphate receptor interacting protein like 2 @ 16p12.3
JADE3	Γονίδιο της Jade family PHD finger 3 ή PHF16 @ Xp11.3
JAK1	Γονίδιο της Janus kinase 1 @ 1p31.3
JAK2	Γονίδιο της Janus kinase 2 @ 9p24.1
JAK3	Γονίδιο της Janus kinase 3 @ 19p13.11
JUN	Πρωτο-ογκογονίδιο Jun AP-1 transcription factor subunit ή p39 ή AP-1 @ 1p32.1
KAT6B	Γονίδιο της lysine acetyltransferase 6B @ 10q22.2
KBTBD11	Γονίδιο της Kelch repeat and BTB domain containing 11 @ 8p23.3
KDM4B	Γονίδιο της lysine-specific demethylase 4B @ 19p13.3
KDM6A	Γονίδιο της lysine demethylase 6A @ Xp11.3
KDR	Γονίδιο της kinase insert domain receptor ή vascular endothelial growth factor receptor 2 @ 4q12
KIAA0125	lncRNA από το γονίδιο της family with sequence similarity 30 member A (FAM30A) @ 14q32.33
KIF7	Γονίδιο της kinesin family member 7 @ 15q26.1
KIT	Πρωτο-ογκογονίδιο της receptor tyrosine kinase KIT ή CD117 ή mast/stem cell growth factor receptor (SCFR) @ 4q12
KMT2A	Γονίδιο της histone-lysine N-methyltransferase 2A ή acute lymphoblastic leukemia 1 (ALL-1) ή myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 1 (MLL1) ή zinc finger protein HRX (HRX) @ 11q23.3
KMT2C	Γονίδιο της lysine N-methyltransferase 2C ή myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia protein 3 (MLL3) @ 7q36.1

KMT2D	Γονίδιο της histone-lysine N-methyltransferase 2D ή MLL4 ή MLL2 @ 12q13.12
KRAS	Πρωτο-ογκογονίδιο της KRAS GTPase ή Kirsten RA Sarcoma virus @ 12p12.1
LAIR1	Γονίδιο του leukocyte associated immunoglobulin like receptor 1 ή CD305 @ 19q13.42
LATS2	Γονίδιο της large tumor suppressor kinase 2 @ 13q12.11
LDB1	Γονίδιο της πρωτεΐνης LIM domain binding 1 @ 10q24.32
LEF1	Γονίδιο του lymphoid enhancer binding factor 1 @ 4q25
LEPR	Γονίδιο του leptin receptor @ 1p31.3
LHPP	Γονίδιο της phospholysine phosphohistidine inorganic pyrophosphate phosphatase @ 10q26.13
LINC01400	RNA γονίδιο της long intergenic non-protein coding RNA 1400 @ 9p13.2
LMO1	Γονίδιο της πρωτεΐνης rhombotin-1 ή LIM domain only 1 @ 11p15.4
LMO2	Γονίδιο της πρωτεΐνης LIM domain only 2 (rhombotin-like 1) ή RBTNL1 ή RBTN2 ή RHOM2 ή TTG2 ή T-Cell Translocation Protein 2 @ 11p13
lncRNA	Long non-coding RNA ή μακρύ μη κωδικό μόριο RNA
LNK	Παλαιότερη ονομασία του γονιδίου SH2B3 της SH2B adaptor protein 3 @ 12q24.12
LOC154761	Ψευδογονίδιο family with sequence similarity 115, member C @ 7q35
LOC400458	Γονίδιο αχαρακτήριστης πρωτεΐνης @ 16q24.1
LPIN2	Γονίδιο της lipin 2 @ 18p11.31
LRIG3	Γονίδιο της πρωτεΐνης leucine rich repeats and immunoglobulin like domains 3 @ 12q14.1
LSM14A	Γονίδιο της πρωτεΐνης LSM14A mRNA processing body assembly factor ή RNA-associated protein 55A (RAP55A) ή family with sequence similarity 61, member A (FAM61A) ή C19orf13 @ 19q13.11

LSM14B	Γονίδιο της πρωτεΐνης LSM family member 14B ή RNA-associated protein 55B (RAP55B) ή family with sequence similarity 61, member B (FAM61B) ή C20orf40 @ 20q13.33
LSV	Local splice variations ή τοπικές παραλλαγές συναρμογής
LYL1	Γονίδιο της lyl-1 πρωτεΐνης ή lymphoblastic leukemia associated hematopoiesis regulator 1 ή LYL1 basic helix-loop-helix family member @ 19p13.13
LYN	Πρωτο-ογκογονίδιο της tyrosine-protein kinase ή Lyn Lck/Yes novel tyrosine kinase (οικογένεια Src κινασών) @ 8q12.1
MAGEC1	Γονίδιο της MAGE (melanoma-associated antigen) family member C1 @ Xq27.2
MAX	Γονίδιο του MYC associated factor X ή class D basic helix-loop-helix protein 4 @ 14q23.3
MBP	Γονίδιο της myelin basic protein @ 18q23
MDFIC	Γονίδιο της MyoD family inhibitor domain-containing protein @ 7q31.1-q31.2
MDH2	Γονίδιο της malate dehydrogenase 2 @ 7q11.23
MECOM	Γονίδιο του MDS1 (Myelodysplasia Syndrome 1) and EVI1 (Ecotropic Virus Integration site 1 protein) Complex Locus @ 3q26.2
MED12	Γονίδιο της mediator complex subunit 12 @ Xq13.1
MEF2C	Γονίδιο του myocyte enhancer factor 2C @ 5q14.3
MEF2D	Γονίδιο του myocyte-specific enhancer factor 2D @ 1q22
MEN1	Γονίδιο της menin 1 ή multiple endocrine neoplasia I @ 11q13
METRNL	Γονίδιο της meteorin-like/meteorin-beta ή subfatin ή cometin ή meteorin like, glial cell differentiation regulator @ 17q25.3
MIR16-1	RNA γονίδιο του miRNA 16-1 @ 13q14.2
MLL	Γονίδιο της histone-lysine N-methyltransferase 2A ή KMT2A ή acute lymphoblastic leukemia 1 (ALL-1) ή myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 1 (MLL1) ή zinc finger protein HRX (HRX) @ 11q23.3
MLL-R	MLL rearranged

MLLT1	Γονίδιο της πρωτεΐνης ENL ή myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia translocated to 1 ή super elongation complex subunit @ 19p13.3
MLLT3	Γονίδιο της πρωτεΐνης AF-9 ή MLLT3 super elongation complex subunit ή myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia translocated to chromosome 3 Protein @ 9p21.3
MLLT10	Γονίδιο της protein AF-10 ή histone lysine methyltransferase DOT1L cofactor ή AF10 ή myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia translocated to 10 @ 10p12.31
MMP25	Γονίδιο της matrix metalloproteinase 25 ή MMPL1 ή MMP20 @ 16p13.3
MP	Μερκαπτοπουρίνη
MPPE2	Γονίδιο της metallophosphoesterase domain containing 2 ή C11orf8 @ 11p14.1
MPRI	Γονίδιο της myosin phosphatase Rho interacting protein @ 17p11.2
MRD	Minimal Residual Disease ή Ελάχιστη Υπολειπόμενη Νόσος
MRPL47	Γονίδιο της mitochondrial ribosomal protein L47 ή nasopharyngeal carcinoma metastasis-related protein 1 (NCM1) @ 3q26.33
MSH2	Γονίδιο της DNA mismatch repair protein MutS homolog 2 @ 2p21-p16.3
MSH6	Γονίδιο του mutator S homolog 6 @ 2p16.3
MSMP	Γονίδιο της microseminoprotein, prostate associated @ 9p13.3
mTOR	Mammalian target of rapamycin
MTR	Γονίδιο της 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase ή methionine synthase @ 1q43
MYB	Πρωτο-ογκογονίδιο MYB μέλος της myeloblastosis family of transcription factors @ 6q23.3
MYBBP1A	Γονίδιο της MYB binding protein 1a ή P160 @ 17p13.2
MYC	Πρωτο-ογκογονίδιο MYC ή bHLH transcription factor ή cellular myelocytomatosis transcription factors' genes @ 8q24.21
MYCN	Πρωτο-ογκογονίδιο του MYCN bHLH transcription factor @ 2p24.3

MYH9	Γονίδιο της myosin heavy chain 9 ή DFNA17 @ 22q12.3
NCAPD3	Γονίδιο του non-SMC (Structural Maintenance of Chromosomes ATPase) condensin II complex subunit D3 @ 11q25
NF1	Γονίδιο της neurofibromin 1 @ 17q11.2
NF2	Γονίδιο της neurofibromin 2 ή schwannomin ή merlin @ 22q12.2
NF-κB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NGS	Next-Generation Sequencing ή Αλληλούχιση Επόμενης Γενιάς
NK cells	Natural Killer cells ή κύτταρα φυσικοί φονείς
NKX2-1	Γονίδιο της πρωτεΐνης NK2 homeobox 1 ή thyroid transcription factor 1 (TTF-1) @ 14q13.3
NKX2-2	Γονίδιο της NK2 homeobox 2 protein (Nkx-2.2) @ 20p11.22
NKX2-5	Γονίδιο της NK2 homeobox 5 protein (Nkx-2.5) @ 5q35.1
NNMT	Γονίδιο της nicotinamide N-methyltransferase @ 11q23.2
NOL4L	Γονίδιο της nucleolar protein 4 like @ 20q11.21
NOS	Not Otherwise Specified
NOTCH1	Γονίδιο του διαμεμβρανικού υποδοχέα μονής κατεύθυνσης Notch 1 ή TAN1 @ 9q34.3
NOTCH4	Γονίδιο του Notch receptor 4 ή INT3 @ 6p21.32
NPR2	Γονίδιο του natriuretic peptide receptor 2 @ 9p13.3
NR3C1	Γονίδιο του nuclear receptor subfamily 3 group C member 1 ή glucocorticoid receptor @ 5q31.3
NR3C2	Γονίδιο του nuclear receptor subfamily 3 group C member 2 ή mineralocorticoid receptor @ 4q31
NRAS	Πρωτο-ογκογονίδιο της NRAS GTPase ή neuroblastoma RAS viral oncogene homolog @ 1p13.2
NT5C2	Γονίδιο της 5'-nucleotidase, cytosolic II @ 10q24.32-q24.33
NTRK3	Γονίδιο της tropomyosin receptor kinase C (TrkC) ή NT-3 (neurotrophin-3) growth factor receptor ή neurotrophic tyrosine kinase receptor type 3 ή TrkC tyrosine kinase @ 15q25.3
NUCB2	Γονίδιο της nucleobindin 2 @ 11p15.1
NUDT15	Γονίδιο της nudix hydrolase 15 ή MTH2 @ 13q14.2
NUP153	Γονίδιο της nucleoporin 153 kDa @ 6p22.3
NUP214	Γονίδιο της nucleoporin 214 kDa @ 9q34.13

NUTM1	Γονίδιο της πρωτεΐνης NUT Midline Carcinoma Family Member 1 @ 15q14
OAZ1	Γονίδιο της ornithine decarboxylase antizyme 1 @ 19p13.3
OGFOD3	Γονίδιο της 2-oxoglutarate and iron-dependent oxygenase domain-containing protein 3 @ 17q25.3
OLIG2	Γονίδιο του oligodendrocyte transcription factor @ 21q22.11
OR	Odds Ratio ή λόγος σχετικών πιθανοτήτων
OR10V1	Γονίδιο της olfactory receptor family 10 subfamily V member 1 @ 11q12.1
OR2W1	Γονίδιο της olfactory receptor family 2 subfamily W member 1 @ 6p22.1
ORMDL3	Γονίδιο του ORMDL sphingolipid biosynthesis regulator 3 @ 17q21.1
p14 ^{ARF}	ARF tumor suppressor ή alternate reading frame protein product of the CDKN2A locus (INK4a/ARF locus)
p16 ^{INK4a}	Πρωτεΐνη p16 ή cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (CDKN2A) ή multiple tumor suppressor 1 με γονίδιο @ 9p21.3
P2RY8	Γονίδιο της πρωτεΐνης P2Y purinoceptor 8 @ Xp22.33 και Yp11.2
PAG1	Γονίδιο της phosphoprotein membrane anchor with glycosphingolipid microdomains 1 @ 8q21.13
PAK1	Γονίδιο της p21 (RAC1) activated kinase 1 @ 11q13.5-q14.1
PALM3	Γονίδιο της paralemmin 3 @ 19p13.12
PAR1	Pseudoautosomal region 1 στο Xp22 και στο Yp11
PAX5	Γονίδιο της paired box protein Pax-5 @ 9p13.2
PBX1	Γονίδιο του pre-B-cell leukemia transcription factor 1 @ 1q23.3
PCDHB10	Γονίδιο της protocadherin beta 10 @ 5q31.3
PCM1	Γονίδιο της pericentriolar material 1 @ 8p22
PDE3B	Γονίδιο της phosphodiesterase 3B @ 11p15.2
PDGFRA	Γονίδιο του platelet-derived growth factor receptor A ή CD140a @ 4q12
PDGFRB	Γονίδιο του platelet-derived growth factor receptor beta @ 5q32
PEAK1	Γονίδιο της pseudopodium enriched atypical kinase 1 @ 15q24.3
PEST	Proline, glutamic acid, serine, threonine-rich

PEX6	Γονίδιο του peroxisomal biogenesis factor 6 ή PAF-2 @ 6p21.1
PFAS	Γονίδιο του ενζύμου phosphoribosylformylglycinamide synthase @ 17p13.1
Ph	Χρωμόσωμα Philadelphia -αμοιβαία μετάθεση t(9;22)(q34;q11)
PHF2	Γονίδιο της plant homeodomain (PHD) finger protein 2 @ 9q22.31
PHF6	Γονίδιο της plant homeodomain (PHD)-like finger protein 6 @ Xq26.2
PI3K	Phosphoinositide 3-kinases ή phosphatidylinositol 3-kinases
PICALM	Γονίδιο της phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein ή CALM @ 11q14.2
PIM1	Πρωτο-ογκογονίδιο της Pim-1 serine/threonine kinase @ 6p21.2
PIM3	Πρωτο-ογκογονίδιο της Pim-3 serine/threonine kinase @ 22q13.33
PIP4K2A	Γονίδιο της phosphatidylinositol-5-phosphate 4-kinase type-2 alpha
PLCB1	Γονίδιο της phospholipase C beta 1 @ 20p12.3
PMS2	Γονίδιο της mismatch repair endonuclease PMS2 ή PMS1 homolog 2, mismatch repair system component @ 7p22.1
PNPLA1	Γονίδιο της patatin like phospholipase domain containing 1 @ 6p21.31
POLD1	Γονίδιο της DNA polymerase delta 1, catalytic subunit @ 19q13.3
POLE	Γονίδιο της DNA polymerase epsilon, catalytic subunit @ 12q24.33
POT1	Γονίδιο της πρωτεΐνης protection of telomeres 1 @ 7q31.33
POU2F1	Γονίδιο της POU class 2 homeobox 1 ή octamer-binding transcription factor 1 (OTF1) @ 1q24.2
PPARA	Γονίδιο του peroxisome proliferator activated receptor alpha ή nuclear receptor subfamily 1 group C member 1 (NR1C1) @ 22q13.31
PPARG	Γονίδιο του peroxisome proliferator activated receptor gamma ή glitazone receptor ή NR1C3 (nuclear receptor subfamily 1, group C, member 3) @ 3p25.2

PPFIBP1	Γονίδιο της protein tyrosine phosphatase receptor type F polypeptide-interacting protein-binding protein 1 @ 12p11.23-p11.22
PPP1R36	Γονίδιο της protein phosphatase 1 regulatory subunit 36 @ 14q23.3
PPP2R1A	Γονίδιο της protein phosphatase 2 scaffold subunit A alpha @ 19q13.41
PQLC1	Γονίδιο της πρωτεΐνης solute carrier family 66 member 2 ή SLC66A2 πλέον @ 18q23
PRAG1	Γονίδιο SGK223 της PEA3 related, kinase-activating pseudokinase 1 ή pragmin @ 8p23.1
PRAME	Γονίδιο του PRAME (preferentially expressed antigen of melanoma) nuclear receptor transcriptional regulator @ 22q11.22
PRC1	Γονίδιο του protein regulator of cytokinesis 1 @ 15q26.1
PRC2	Polycomb Repressive Complex 2
PRDM1	PR domain zinc finger protein 1 ή BLIMP-1 @ 6q21
PRDM9	PR/SET Domain 9
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
PRPS1	Γονίδιο της phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 1 @ Xq22.3
PRPS2	Γονίδιο της phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 2 @ Xp22.2
PSPC1	Γονίδιο της πρωτεΐνης paraspeckle component 1 @ 13q12.11
PTBP1	Γονίδιο της polypyrimidine tract binding protein 1 ή heterogeneous nuclear ribonucleoprotein I @ 19p13.3
PTCH1	Γονίδιο της πρωτεΐνης patched 1 @ 9q22.32
PTEN	Ογκοκατασταλτικό γονίδιο της phosphatase and tensin homolog @ 10q23.31
PTK2B	Γονίδιο της protein tyrosine kinase 2 beta ή focal adhesion kinase 2 (FAK2) @ 8p21.2
PTPN1	Γονίδιο της tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1 ή protein-tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) @ 20q13.13

PTPN11	Γονίδιο της tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11 ή protein-tyrosine phosphatase 1D (PTP-1D) ή Src homology region 2 domain-containing phosphatase-2 (SHP-2) ή protein-tyrosine phosphatase 2C (PTP-2C) @ 12q24.13
PTPRG	Γονίδιο του protein tyrosine phosphatase receptor type G @ 3p14.2
RANBP2	Γονίδιο της RAN binding protein 2 ή nucleoporin 358 @ 2q13
RAP1GAP	Γονίδιο της RAP1 GTPase activating protein ή RAP1GA1 @ 1p36.12
RASSF4	Γονίδιο της Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 4 @ 10q11.21
RB1	Γονίδιο της πρωτεΐνης retinoblastoma transcriptional corepressor 1 ή osteosarcoma (OSRC) @ 13q14.2
RCBTB2	Γονίδιο της RCC1 and BTB domain containing protein 2 ή regulator of chromosome condensation (RCC1) and BTB (POZ) domain containing protein 2 @ 13q14.2
RCSD1	Γονίδιο της RCSD domain containing 1 ή CapZ-interacting protein @ 1q24.2
RELN	Γονίδιο της reelin @ 7q22.1
RFX3	Γονίδιο του regulatory factor X, 3 (influences HLA class II expression) @ 9p24.2
RGL3	Γονίδιο της Ral guanine nucleotide dissociation stimulator like 3 @ 19p13.2
RIC3	Γονίδιο του resistant to inhibitor of cholinesterase 3 receptor chaperone @ 11p15.4
RNA	Ribonucleic acid ή ριβονουκλεϊκό οξύ
ROCR	RNA γονίδιο του regulator of chondrogenesis @ 17q24.3
RPL10A	Γονίδιο της ribosomal protein L10a ή neural precursor cell expressed developmentally down-regulated protein 6 (NEDD6) @ 6p21.31
R/R ALL	Relapsed or Refractory ALL
RTK	Receptor tyrosine kinase
RTN1	Γονίδιο της reticulon 1 ή neuroendocrine-specific protein (NSP) @ 14q23.1

RUNX1	Γονίδιο του Runt-related transcription factor 1 γνωστό και ως acute myeloid leukemia 1 protein (AML1) ή core-binding factor subunit alpha-2 (CBFA2) @ 21q22.12
SAFB2	Γονίδιο του scaffold attachment factor B2 @ 19p13.3
SALL2	Γονίδιο του spalt like transcription factor 2 ή ZNF795 @ 14q11.2
SDHA	Γονίδιο της succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A @ 5p15.33
SERPINA6	Γονίδιο της serpin family A member 6 ή transcortin @ 14q32.13
SET	SET [Su(var)3-9, Enhancer-of-zeste and Trithorax] nuclear proto-oncogene @ 9q34.11
SETD1B	Γονίδιο της SET domain containing 1B, histone lysine methyltransferase @ 12q24.31
SETD2	Γονίδιο της SET domain containing 2, histone lysine methyltransferase @ 3p21.31
SFPQ	Γονίδιο του splicing factor proline and glutamine rich (polypyrimidine tract binding protein associated) @ 1p34.3
SGK1	Γονίδιο της serum/glucocorticoid regulated kinase 1 @ 6q23.2
SH2B3	Γονίδιο της Src homology 2-B adapter protein 3 @ 12q24.12
SH3YL1	Γονίδιο της πρωτεΐνης SH3 And SYLF Domain Containing 1 @ 2p25.3
SHH	Γονίδιο του Sonic Hedgehog signaling molecule @ 7q36.3
SIRT1	Γονίδιο της sirtuin 1 @ 10q21.3
SLC17A9	Γονίδιο της πρωτεΐνης solute carrier family 17 member 9 @ 20q13.33
SLC22A16	Γονίδιο της πρωτεΐνης solute carrier family 22 member 16 @ 6q21
SLC7A5	Γονίδιο της πρωτεΐνης solute carrier family 7 member 5 ή large neutral amino acids transporter small subunit 1 ή 4F2 light chain @ 16q24.2
SLCO1B1	Γονίδιο της πρωτεΐνης solute carrier organic anion transporter family member 1B1 @ 12p12.1

SLX4	Γονίδιο της SLX4 structure-specific endonuclease subunit ή Fanconi anemia, complementation group P (FANCP) ή BTB/POZ domain-containing protein 12 (BTBD12) @ 16p13.3
SMARCA2	Γονίδιο του probable global transcription activator SNF2L2 ή SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily A, member 2 @ 9p24.3
SMARCA4	Γονίδιο του SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily A, member 4 @ 19p13.2
SMARCC2	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin subfamily C member 2 ή BAF170 (BRG1-associated factor 170 kDa) @ 12q13.2
SMC1A	Γονίδιο της πρωτεΐνης structural maintenance of chromosomes 1A @ Xp11.22
SMC3	Γονίδιο της πρωτεΐνης structural maintenance of chromosomes 3 @ 10q25.2
SMIM35	Γονίδιο της small integral membrane protein 35 ή TMPRSS4 του antisense RNA 1 non-protein coding @ 11q23.3
SMO	Γονίδιο του smoothed, frizzled class receptor @ 7q32.1
SMU1	Γονίδιο του SMU1 DNA replication regulator and spliceosomal factor @ 9p21.1
SMYD3	Γονίδιο της SET and MYND (myeloid, Nervy, and DEAF-1 zinc finger) domain containing 3 ή ZNFN3A1 ή ZMYND1 @ 1q44
SNP	Single Nucleotide Polymorphism ή μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός
SNX2	Γονίδιο της sorting nexin 2 ή transformation-related gene 9 protein @ 5q23.2
SNX29	Γονίδιο της sorting nexin 29 ή RUN domain-containing protein 2A (RUNDC2A) @ 16p13.13-p13.12
SON	Γονίδιο της SON DNA and RNA binding protein @ 21q22.11
SOS1	Γονίδιο της πρωτεΐνης SOS (Son Of Sevenless) Ras/Rac guanine nucleotide exchange factor 1 ή hereditary gingival fibromatosis 1 (GINGF) @ 2p22.1
SOX14	Γονίδιο του SRY-box transcription factor 14 @ 3q22.3

SP4	Γονίδιο του transcription factor Sp4 @ 7p15.3
SPEF2	Γονίδιο της sperm flagellar 2 @ 5p13.2
SPI1	Πρωτο-ογκογονίδιο Spi-1 ή hematopoietic transcription factor PU.1 @ 11p11.2
SPTAN1	Γονίδιο της spectrin alpha, non-erythrocytic 1 ή alpha-fodrin @ 9q34.11
SRC	Πρωτο-ογκογονίδιο της tyrosine-protein kinase Src @ 20q11.23
SRPK2	Γονίδιο της serine/arginine-rich splicing factor kinase 2 @ 7q22.3
SRSF3	Γονίδιο του serine and arginine rich splicing factor 3 @ 6p21.31-p21.2
SRSF5	Γονίδιο του serine and arginine rich splicing factor 5 @ 14q24
SRSF7	Γονίδιο του serine and arginine rich splicing factor 7 @ 2p22.1
SS	Synovial Sarcoma
SS18	Γονίδιο της SS18 subunit of BAF chromatin remodeling complex ή πρωτεΐνη SSXT @ 18q11.2
SSBP2	Γονίδιο της single stranded DNA binding protein 2 @ 5q14.1
STAG2	Γονίδιο του stromal antigen 2 @ Xq25
STAT	Signal transducer and activator of transcription protein family
STAT5B	Γονίδιο του signal transducer and activator of transcription 5B @ 17q21.2
STIL	Γονίδιο της STIL centriolar assembly protein ή TAL-1 (SCL) interrupting locus protein ή SIL @ 1p33
STK11	Γονίδιο της πρωτεϊνικής κινάσης serine/threonine kinase 11 ή liver kinase B1 (LKB1) ή renal carcinoma antigen NY-REN-19 @ 19p13.3
STK19	Γονίδιο της serine/threonine kinase 19 @ 6p21.33
STRN3	Γονίδιο της striatin 3 @ 14q12
SUZ12	Polycomb protein SUZ12 (Suppressor Of Zeste 12) ή SUZ12 Polycomb Repressive Complex 2 Subunit @ 17q11.2
SYNE2	Γονίδιο της spectrin repeat containing nuclear envelope protein 2 ή nesprin-2 @ 14q23.2
SYNRG	Γονίδιο της synergin gamma ή AP1 subunit gamma-binding protein 1 (APIGBP1) @ 17q12

TAF15	Γονίδιο του TATA-binding protein-associated factor 2N @ 17q12
TAL1	Γονίδιο της T-cell acute lymphocytic leukemia protein 1 ή stem cell leukemia/T-cell acute leukemia 1 @ 1p33
TAL2	Γονίδιο της πρωτεΐνης T-cell acute lymphocytic leukemia 2 ή TAL bHLH transcription factor 2 @ 9q31.2
TAL-R	TAL rearranged
TAP2	Γονίδιο της transporter 2, ATP binding cassette subfamily B member ή really interesting new gene 11 protein (RING11) ή peptide supply factor 2 (PSF2) ή ABCB3 @ 6p21.32
TBL1XR1	Γονίδιο του transducin beta like 1 X-linked receptor 1 @ 3q26.32
TBXT	Γονίδιο του T-Box transcription factor T @ 6q27
TCF3	Γονίδιο του transcription factor 3 ή E2A immunoglobulin enhancer-binding factors E12/E47 @ 19p13.3
TCF7	Γονίδιο του transcription factor 7 @ 5q31.1
TCRGV1	Ψευδογονίδιο του T cell receptor gamma variable 1 (non-functional) @ 7p14.1
TEF	Γονίδιο του TEF (Thyrotroph Embryonic Factor) transcription factor, PAR BZIP family member @ 22q13.2
TERF2	Γονίδιο του telomeric repeat binding factor 2 ή TRBF2 @ 16q22.1
TERT	Γονίδιο της telomerase reverse transcriptase @ 5p15.33
TET1	Γονίδιο της leukemia-associated protein with a CXXC domain ή ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 1 @ 10q21.3
TET2	Γονίδιο της ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase 2 @ 4q24
TFDP1	Γονίδιο του transcription factor Dp-1 @ 13q34
TFDP2	Γονίδιο του transcription factor Dp-2 (E2F dimerization partner 2) @ 3q23
TGFB2	Γονίδιο του transforming growth factor-beta 2 @ 1q41
THADA	Γονίδιο της THADA armadillo repeat containing @ 2p21
TPMT	Γονίδιο της thiopurine S-methyltransferase @ 6p22.3

TRAC	Γονίδιο του T cell receptor alpha constant @ 14q11.2
TRB	Γονίδιο του T cell receptor beta ή TCRB @ 7q34
TRD	Γονίδιο του T cell receptor delta locus ή TCRD @ 14q11.2
TRG	Γονίδιο του T cell receptor gamma locus @ 7p14
TFG	Γονίδιο του trafficking from ER to Golgi regulator @ 3q12.2
TFPT	Γονίδιο του TCF3 (Transcription Factor 3 ή E2A) Fusion Partner @ 19q13.42
TGIF1	Γονίδιο του TGFB induced factor homeobox 1 @ 18p11.31
TJP1	Γονίδιο της tight junction protein-1 ή zonula occludens-1 (ZO-1) @ 15q13.1
TKI	Tyrosine kinase inhibitor ή αναστολέας τυροσινικής κινάσης
TLX1	Γονίδιο της T-cell leukemia homeobox protein 1 ή HOX11 @ 10q24.31
TLX3	Γονίδιο της T-cell leukemia homeobox protein 3 ή HOX11L2 ή RNX @ 5q35.1
TMEM132B	Γονίδιο της transmembrane protein 132B @ 12q24.31
TMEM2	Γονίδιο της cell migration inducing hyaluronidase 2 ή CEMIP2 ή transmembrane protein 2 @ 9q21.13
TMEM25	Γονίδιο της transmembrane protein 25 @ 11q23.3
TMEM259	Γονίδιο της transmembrane protein 259 ή membralin @ 19p13.3
TMIGD2	Γονίδιο της transmembrane and immunoglobulin domain containing 2 @ 19p13.3
TNIP1	Γονίδιο της TNFAIP3 interacting protein 1 @ 5q33.1
TNS1	Γονίδιο της tensin 1 ή matrix-remodeling-associated protein 6 (MXRA6) @ 2q35
TP53	Ογκοκατασταλτικό γονίδιο της πρωτεΐνης p53 @ 17p13.1
TPR	Γονίδιο της translocated promoter region, nuclear basket protein @ 1q31.1
TRA	Γονίδιο του T cell receptor alpha locus @ 14q11.2
TRBC2	Γονίδιο της πρωτεΐνης T cell receptor beta constant 2 @ 7q34
TRKi	Tropomyosin receptor kinase inhibitor
TSC2	TSC (Tuberous Sclerosis) Complex Subunit 2 ή tuberin @ 16p13.3
TSLP	Γονίδιο της thymic stromal lymphopoietin @ 5q22.1

TTN	Γονίδιο της titin ή rhabdomyosarcoma antigen MU-RMS-40.14 ή connectin @ 2q31.2
TYK2	Γονίδιο της tyrosine kinase 2 @ 19p13.2
TYW1	Γονίδιο της πρωτεΐνης tRNA-yW (wybutosine) synthesizing protein 1 homolog @ 7q11.21
U2AF1	Γονίδιο του U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1 @ 21q22.3
UBA2	Γονίδιο του ubiquitin like modifier activating enzyme 2 @ 19q13.11
UBAP2	Γονίδιο της ubiquitin associated protein 2 @ 9p13.3
UBD	Γονίδιο της ubiquitin D @ 6p22.1
USH2A	Γονίδιο της usherin ή Usher syndrome type-2A protein @ 1q41
USP2	Γονίδιο της ubiquitin specific peptidase 2 @ 11q23.3
USP25	Γονίδιο της ubiquitin specific peptidase 25 @ 21q21.1
USP7	Γονίδιο της ubiquitin-specific-processing protease ή peptidase 7 ή ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 7 ή herpesvirus-associated ubiquitin-specific protease (HAUSP) @ 16p13.2
USP9X	Γονίδιο της ubiquitin specific peptidase 9 X-linked @ Xp11.4
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VPREB1	Γονίδιο της immunoglobulin iota chain ή CD179A @ 22q11.22
VPS8	Γονίδιο της VPS8 (vacuolar protein sorting) subunit of CORVET complex @ 3q27.2
WAC-AS1	RNA γονίδιο του WAC antisense RNA 1 (head to head) @ 10p12.1
WDR7	Γονίδιο της WD repeat domain 7 ή TGF-beta resistance-associated protein TRAG @ 18q21.31
WES	Whole-Exome Sequencing
WGS	Whole-Genome Sequencing
WHO	World Health Organization ή Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
WHSC1	Γονίδιο της probable histone-lysine N-methyltransferase NSD2 ή Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1 @ 4p16.3
WNT	Σηματοδοτική οδός από Wingless και Int-1. Διακρίνεται σε canonical Wnt pathway, noncanonical planar cell polarity pathway και σε the noncanonical Wnt/calcium pathway

WRN	Γονίδιο της WRN (Werner Syndrome) RecQ like helicase @ 8p12
WT1	Γονίδιο της Wilms' tumor protein ή WT1 transcription factor @ 11p13
WWOX	Γονίδιο της WW domain-containing oxidoreductase ή human accelerated region 6 @ 16q23.1-q23.2
XPC	Γονίδιο του XPC (xeroderma pigmentosum group C) complex subunit, DNA damage recognition and repair factor @ 3p25.1
YY1	Γονίδιο του Yin and Yang 1 transcription factor @ 14q32.2
ZBTB16	Γονίδιο της zinc finger and BTB domain containing 16 ή PLZF ή zinc finger protein 145 (Kruppel-like, expressed in promyelocytic leukemia) @ 11q23.2
ZBTB18	Γονίδιο του μεταγραφικού παράγοντα zinc finger protein 238 ή zinc finger and BTB (BR-C, ttk and bab) domain containing 18 @ 1q44
ZC3HAV1	Γονίδιο της zinc finger CCCH-type containing, antiviral 1 @ 7q34
ZEB2	Γονίδιο της πρωτεΐνης zinc finger E-box binding homeobox 2 @ 2q22.3
ZFAND3	Γονίδιο της zinc finger AN1-type containing 3 ή TEX27 (testis-expressed protein 27) @ 6p21.2
ZFHX3	Γονίδιο της zinc finger homeobox 3 @ 16q22.2-q22.3
ZFHX4	Γονίδιο της πρωτεΐνης zinc finger homeobox 4 @ 8q21.13
ZMIZ1	Γονίδιο της zinc finger MIZ-type containing 1 @ 10q22.3
ZMYM2	Γονίδιο της zinc finger MYM-type containing 2 ή zinc finger protein 198 @ 13q12.11
ZMYND8	Γονίδιο της zinc finger MYND-type containing 8 ή protein kinase C-binding protein 1 (PRKCBP1) ή RACK7 @ 20q13.12
ZNF148	Γονίδιο της zinc finger protein 148 @ 3q21.2
ZNF274	Γονίδιο της zinc finger protein 274 @ 19q13.43
ZNF340	Γονίδιο της zinc finger protein 340 ή ZBTB46 (zinc finger and BTB domain containing 46) ή BTBD4 (BTB/POZ domain-containing protein 4) @ 20q13.33
ZNF362	Γονίδιο της zinc finger protein 362 @ 1p35.1

ZNF384	Γονίδιο της zinc finger protein 384 @ 12p13.31
ZBP2	Γονίδιο της zona pellucida binding protein 2 @ 17q21.1
ZSCAN23	Γονίδιο της zinc finger and SCAN (SRE-ZBP, CT-fin-51, AW-1, number 18 cDNA) domain containing 23 ή ZNF453 ή ZNF390 @ 6p22.1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗΣ

PubMed Search Strategy (26 July 2020): ((NGS or "N.G.S." or "next generation sequencing" or "next gen sequencing" or "second generation sequencing" or "third generation sequencing" or "high-throughput sequencing" or "whole genome sequencing" or "WGS" or "whole exome sequencing" or "RNA-seq" or "ChIP-seq" or "ATAC-seq" or "methyl-seq") AND ("acute lymphoblastic leukemia" or "ALL" or "B-ALL" or "T-ALL" or "B-cell ALL" or "T-cell ALL")) AND (pediatric or paediatric or child*)

("NGS"[All Fields] OR "n g s"[All Fields]) OR "next generation sequencing"[All Fields]) OR "next gen sequencing"[All Fields]) OR "second generation sequencing"[All Fields]) OR "third generation sequencing"[All Fields]) OR "high-throughput sequencing"[All Fields]) OR "whole genome sequencing"[All Fields]) OR "WGS"[All Fields]) OR "whole exome sequencing"[All Fields]) OR "RNA-seq"[All Fields]) OR "ChIP-seq"[All Fields]) OR "ATAC-seq"[All Fields]) OR "methyl-seq"[All Fields]) AND ("acute lymphoblastic leukemia"[All Fields] OR "ALL"[All Fields]) OR "B-ALL"[All Fields]) OR "T-ALL"[All Fields]) OR "B-cell ALL"[All Fields]) OR "T-cell ALL"[All Fields])) AND ("paediatrics"[All Fields] OR "pediatrics"[MeSH Terms]) OR "pediatrics"[All Fields]) OR "paediatric"[All Fields]) OR "pediatric"[All Fields]) OR ("paediatrics"[All Fields] OR "pediatrics"[MeSH

Terms)) OR "pediatrics"[All Fields]) OR "paediatric"[All Fields]) OR "pediatric"[All Fields])) OR "child*"[All Fields])

Translations

pediatric: "paediatrics"[All Fields] OR "pediatrics"[MeSH Terms] OR "pediatrics"[All Fields] OR "paediatric"[All Fields] OR "pediatric"[All Fields]

paediatric: "paediatrics"[All Fields] OR "pediatrics"[MeSH Terms] OR "pediatrics"[All Fields] OR "paediatric"[All Fields] OR "pediatric"[All Fields]