Η ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΗΣΗΣ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΤΟΥ DNA (DNA-BASED NEXT GENERATION SEQUENCING) ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΗΣΗΣ ΤΟΥ RNA (RNA SEQUENCING) ΣΤΗΝ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΛΕΜΦΟΒΛΑΣΤΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ: ΠΡΟΔΡΟΜΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.

Αρχοντής Ζαμπογιάννης[1], Βασίλειος Τσινόπουλος[1], Μιρέλλα Αμπατζίδου[1], Μαρία Γαροφαλάκη[2], Κονδυλία Αντωνιάδη[1], Βασιλική Τζότζολα[1], Γεωργία Πουλτσάκη[1], Μαριάννα Τζανουδάκη[3], Στέφανος Παπαδημητρίου[4], Δημήτρης Παυλίδης[4], Λίνα Φλωρεντίν[5], Φράνσυ Σαχινίδη[5], Κώστας Σταματόπουλος[6], Βασίλειος Παπαδάκης[1]

[1]Τμήμα Παιδιατρικής Αιματολογίας - Ογκολογίας (Τ.Α.Ο.), Ογκολογικό Νοσοκομείο Παίδων «Μαριάννα Β. Βαρδινογιάννη – ΕΛΠΙΔΑ»

[2]Εργαστήριο Μοριακής Αιματολογίας, ΓΝΑ «Ο Ευαγγελισμός»

[3]Τμήμα Ανοσολογίας & Ιστοσυμβατότητας, ΓΝΠΑ «Η Αγία Σοφία»

[4]Αιματολογικό Εργαστήριο, Τμήμα Μοριακής Γενετικής, ΓΝΑ «Γ. Γεννηματάς»

[5]Εργαστήρια Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής «A-Lab»

[6]Ινστιτούτο Εφαρμοσμένων Βιοεπιστημών «INEB»

Εισαγωγή: Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) της παιδικής ηλικίας χαρακτηρίζεται από σημαντική γενετική ετερογένεια. Σκοπός της μελέτης είναι η αξιολόγηση τη συμβολής του DNA-based Next Generation Sequencing (NGS) και RNA Sequencing (RNASeq) στον περαιτέρω διαγνωστικό μοριακό έλεγχο της παιδικής ΟΛΛ.

Μέθοδοι: Μελετήθηκαν τα δεδομένα ασθενών με διαθέσιμα αποτελέσματα NGS/RNASeq. Ο έλεγχος περιλάμβανε συμβατικό καρυότυπο, FISH, PCR, MLPA, NGS και RNASeq. Αξιολογήθηκε η συμβολή των NGS/RNASeq στην ανίχνευση γονιδιακών συντήξεων και άλλων μοριακών αλλοιώσεων καθώς και η πρόσθετη διαγνωστική πληροφορία έναντι των συμβατικών μεθόδων. Σε διαθέσιμα επαναληπτικά δείγματα, συγκρίθηκαν τα ευρήματα κατά τη διάγνωση και κατά την υποτροπή/εξέλιξη της νόσου.

Ασθενείς: 16 ασθενείς με ΟΛΛ που διαγνώσθηκαν στο διάστημα 2023-2026: 12 με BCP-ALL, τρεις με T-ALL και ένας με οξεία λευχαιμία μικτού φαινοτύπου (MPAL).

Αποτελέσματα: Η διάμεση ηλικία κατά τη διάγνωση ήταν 3.8 έτη (εύρος 0,2–15,9 έτη, 9/16 κορίτσια, 6/16 High-Risk). Η συνδυασμένη αλληλούχηση DNA/RNA ανέδειξε τουλάχιστον μία μοριακή αλλοίωση σε 12/16 ασθενείς (75%) και πολλαπλές βλάβες σε 5/16. Γονιδιακές συντήξεις (fusions) σχετιζόμενες με διακριτούς μοριακούς υπότυπους ανιχνεύθηκαν σε πέντε ασθενείς (31,2%): *ETV6::RUNX1* (n=1), *STIL::TAL1* (n=1), *TCF3::PBX1* (n=2) και *TCF3::ZNF384* (n=1). Οι *ETV6::RUNX1* και *TCF3::PBX1* ήταν σύμφωνες με τα ευρήματα των συμβατικών μεθόδων. Επιπλέον, το RNASeq ανίχνευσε μία κρυπτική σύντηξη *STIL::TAL1* και ταυτοποίησε το *ZNF384* ως τον ακριβή γονιδιακό

εταίρο σε άτυπη *TCF3* αναδιάταξη. Καταγράφηκαν επίσης 20 μεταλλάξεις, ένα έλλειμμα και δύο ενισχύσεις, μεταξύ άλλων στα *GATA2, FLT3, KRAS/NRAS, PHF6, WT1, RUNX1, NOTCH1, CBL, DDX41* και *CALR*. Η αλληλούχηση δεν ανέδειξε ευρήματα σε τέσσερις ασθενείς, όπου οι συμβατικές μέθοδοι ανίχνευσαν σημαντικά ευρήματα (*DUX4::IGH* και *KMT2A::AFF1* αναδιατάξεις*, IKZF1/ETV6* ελλείμματα). Σε δύο ασθενείς, ο διαδοχικός έλεγχος ανέδειξε εμφάνιση πρόσθετων αλλοιώσεων στην υποτροπή/εξέλιξη της νόσου.

Συμπεράσματα: Η DNA/RNA αλληλούχηση παρείχε σημαντικές πληροφορίες στους περισσότερους ασθενείς, όπως η ανίχνευση κρυπτικών συντήξεων και η ταυτοποίηση των γονιδιακών εταίρων σε αναδιατάξεις. Επιπρόσθετα, ανίχνευσε μεταλλάξεις που συσχετίζονται με μυελοϋπερπλαστικά νεοπλάσματα και δυσμενέστερη πρόγνωση. Δεν ανιχνεύθηκαν *ABL*-class αναδιατάξεις ή *JAK2* μεταλλάξεις με θεραπευτική στόχευση. Τα αποτελέσματα υποστηρίζουν μία συμπληρωματική, πολυ-μεθοδολογική διαγνωστική προσέγγιση. Απαιτείται προτυποποίηση των γονιδιακών πάνελ και συσχέτιση των ευρημάτων με τη διαστρωμάτωση κινδύνου, τις θεραπευτικές τροποποιήσεις, τη μετρήσιμη υπολειπόμενη νόσο (MRD) και την έκβαση.