



27ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Κοινωνικής Παιδιατρικής και Προαγωγής της Υγείας

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΤΟΠΟΙ ΜΕ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟ ΡΟΛΟ ΓΙΑ ΤΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ: Η ΕΠΟΧΗ ΤΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΟΛΟΚΛΗΡΟΥ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ (GWAS)

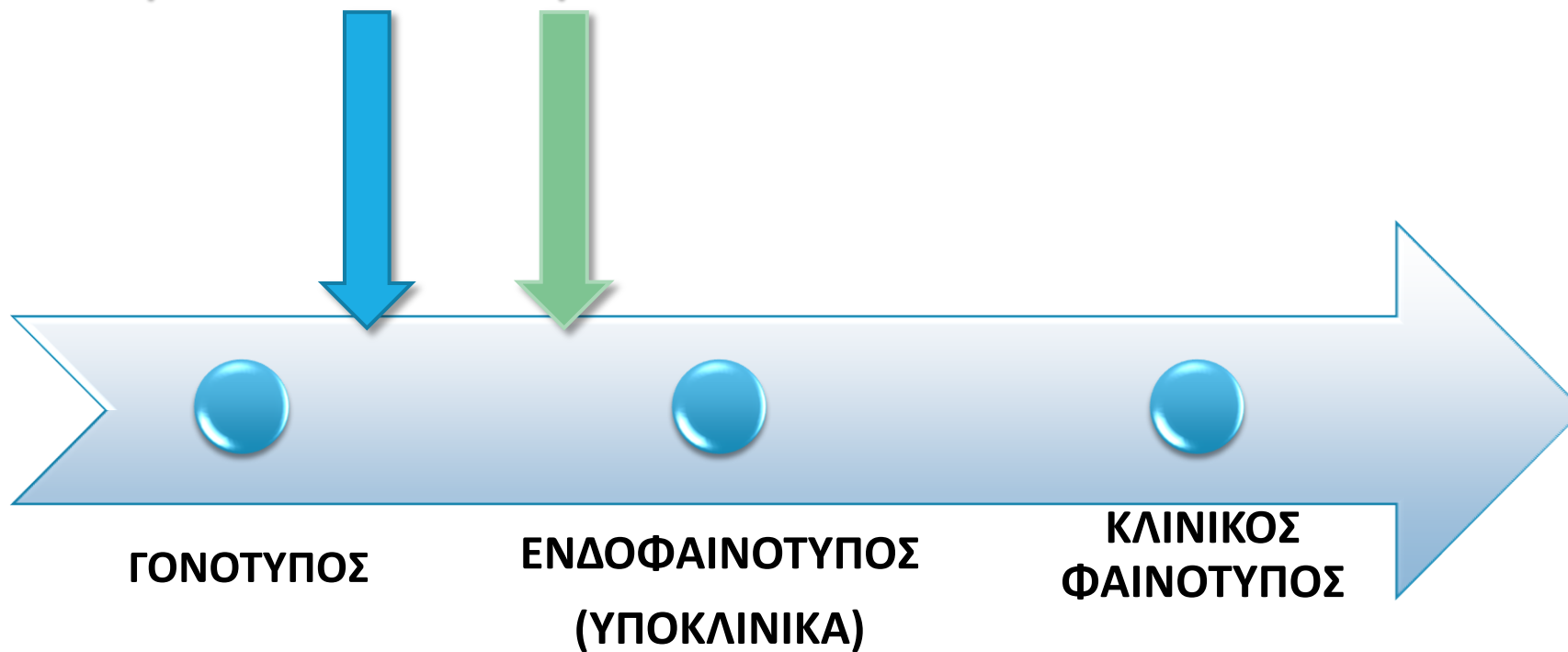
Χατζοπούλου Δ., Θωμόπουλος Θ., Λιάσκας Α., Σωτηριανάκου Μ.-Ε., Πετρίδου Ε.



Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας και Ιατρικής Στατιστικής
Ιατρική Σχολή
Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Εισαγωγή

Προϋπάρχοντες και Επιγενετικοί Περιβαλλοντικοί
Προστατευτικοί και Προδιαθεσικοί Παράγοντες



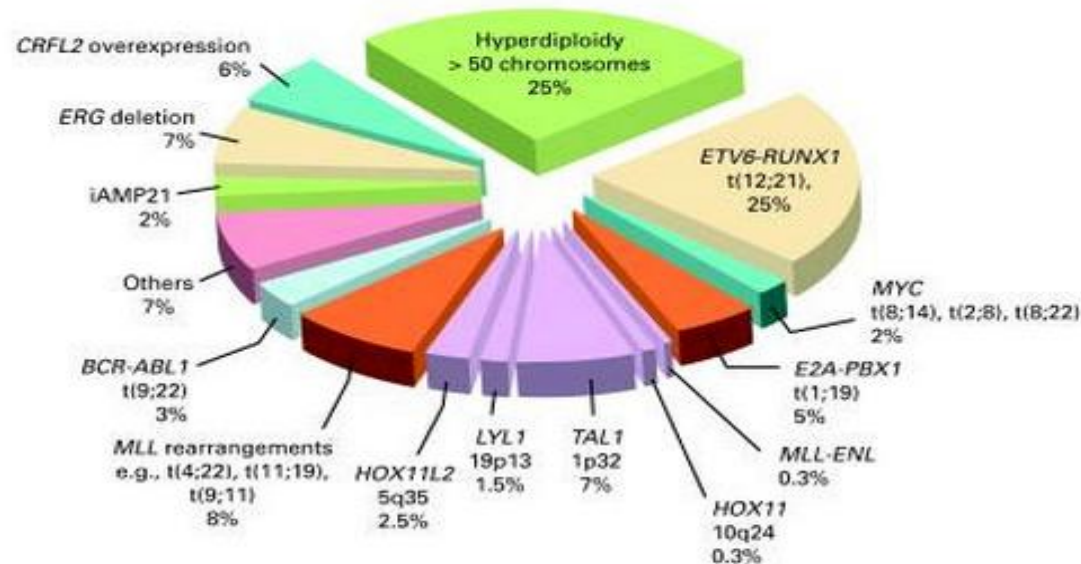
Ο φαινότυπος είναι ένα
τμήμα της εικόνας του
ασθενούς

Εισαγωγή

- ▶ Στην παιδική λευχαιμία υπάρχει σειρά υποτύπων με βάση μοριακά και κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά.
- ▶ Σημαντική η κατηγοριοποίηση σε υποομάδες ασθενών με βάση κοινώς αποδεκτά κριτήρια

ΠΡΟΒΛΗΜΑ : ΟΙ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ ΠΡΟΔΙΑΘΕΤΟΥΝ Ή ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΜΙΑΣ ΠΟΛΥΣΤΑΔΙΑΚΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ;

A



B



Γενετικές ανωμαλίες σε παιδιά με (α) ΟΛΛ και (β) ΟΜΛ

GWAS: ΔΙΕΡΕΥΝΩΝΤΑΣ ΤΗΝ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ

ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΕΣ

- ▶ Αξιοποιούνται πολυμορφισμοί (γενετικοί δείκτες), που προσδίδουν ποικιλομορφία στο γενικό πληθυσμό και παρατηρούνται τουλάχιστον στο 2% αυτού.
- ▶ Είδη: SNPs, STRPs, VNTRs, CNVs
- ▶ Κυρίως σε case-control studies συγκρίνονται οι ομάδες με βάση τη συχνότητα των πολυμορφισμών αυτών
- ▶ **!!!** Συσχέτιση πολυμορφισμών με οποιαδήποτε ασθένεια ΔΕΝ τους ορίζει ως υπαίτιους απαραίτητα, αλλά αυτή μπορεί απλά να είναι ένδειξη ότι σε αυτό το γενετικό τόπο κοντά υπάρχει αλληλόμορφο κινδύνου.

A A T **G** G T



Μεθοδολογία

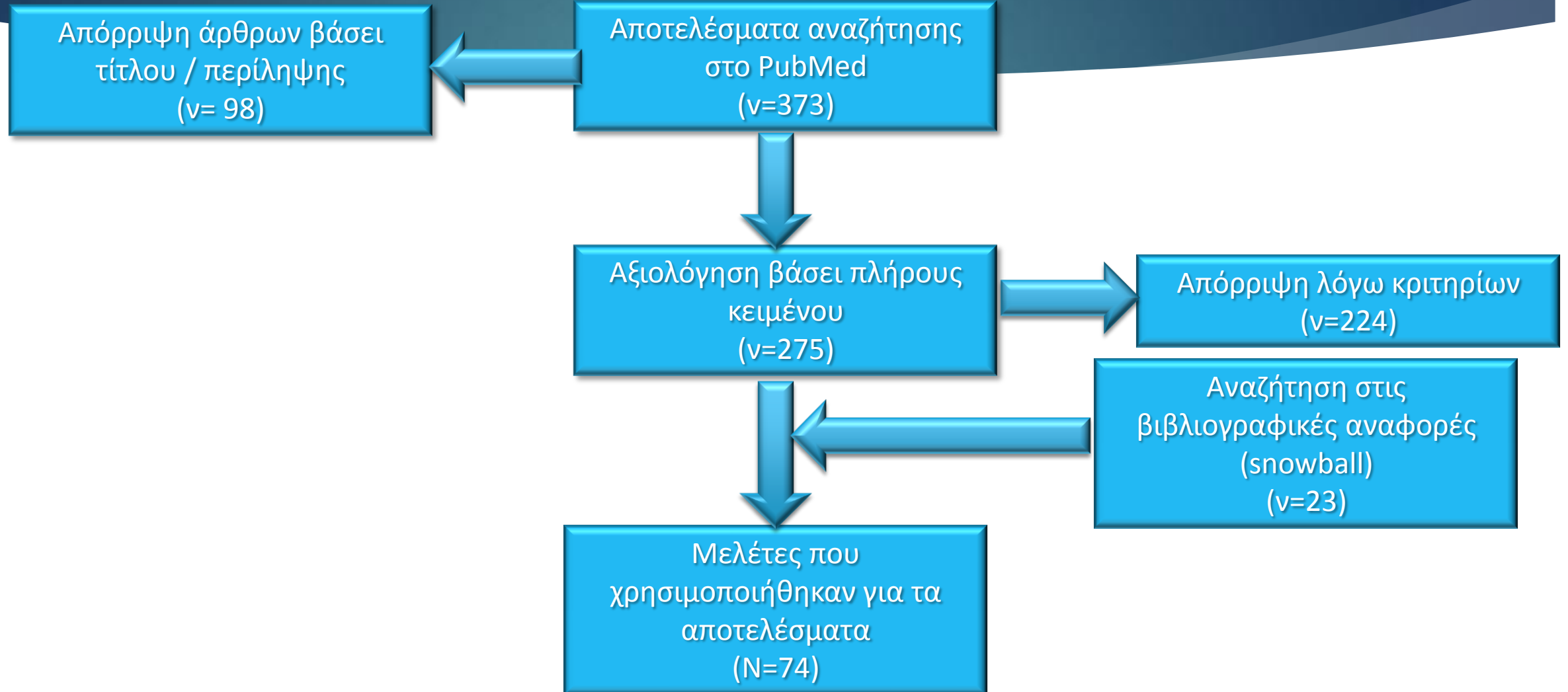


- ▶ Χρησιμοποιήθηκε η βάση δεδομένων PubMed με αλγόριθμο:

(GWAS OR “genome-wide association” OR (risk AND (polymorphism OR polymorphisms))) AND (childhood AND (leukemia OR leukaemia))

- **Αφαιρέθηκαν άρθρα που αφορούσαν σε:**
 - πολυμορφισμούς σχετικούς με την αντίσταση στη χημειοθεραπεία, το μεταβολισμό φαρμάκων και την εμφάνιση δευτερογενών λευχαιμιών.
 - Μελέτες με μικρό δείγμα ασθενών-μαρτύρων συγκριτικά με το σύνολο των μελετών και
 - αποτελέσματα που δεν επιβεβαιώνονταν από υποκείμενες μελέτες στη βιβλιογραφία, αποκλείστηκαν από τη βιβλιογραφική αναζήτηση.
- **Παρουσιάζονται οι ισχυρότερες μελέτες.**

Επιλογή Μελετών (Flow Chart)



Αποτελέσματα

Τα ευρήματά μας αφορούν σε γενετικούς τόπους σχετικούς με :

A) την εμβρυογένεση και διαφοροποίηση της αιμοποιητικής σειράς

B) το μεταβολισμό του φυλλικού οξέος

Γ) τις ανοσολογικές αποκρίσεις

Δ) τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου

E) την αντιρρόπηση του οξειδωτικού στρες

Z) τις γενετικές αλληλουχίες που κωδικοποιούν ή αλληλεπιδρούν με microRNAs



A) Εμβρυογένεση και Διαφοροποίηση της αιμοποιητικής σειράς

Εμπλεκόμενο γονίδιο	Πολυμορφισμός	Σχόλια
ARID5B (10q21.2)	<u>rs10821936</u> <u>rs7089424</u> <u>rs10994982</u>	- Ο πρώτος συσχετίζεται με ΟΛΛ <u>σε όλες τις εθνικότητες</u> με διαφορετική συχνότητα αλληλόμορφων γονιδίων -Οι δύο τελευταίοι πολυμορφισμοί συσχετίζονται με MLL αναδιατάξεις
IKZF1 (7p12.2)	<u>rs4132601</u> (;) <u>rs11978267</u>	- Ο πρώτος συσχετίζεται σημαντικά σε Ευρωπαίους, <u>όχι</u> σε Κινέζους και Ισπανόφωνους Αμερικανούς
PIP4K2A (10p14)	<u>rs10828317</u> <u>rs7901152</u>	- Ο πρώτος σημαντικός σε Ευρωπαίους - Ο δεύτερος σημαντικός σε Κινέζους

-Xu H et al. Novel susceptibility variants at 10p12.31-12.2 for childhood acute lymphoblastic leukemia in ethnically diverse populations. J Natl Cancer Inst 2013

-Emerenciano Met al. ARID5B polymorphism confers an increased risk to acquire specific MLL rearrangements in early childhood leukemia. BMC Cancer 2014

-Migliorini G et al. Variation at 10p12.2 and 10p14 influences risk of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia and phenotype. Blood 2013

-Dai YE et al. Contribution of Polymorphisms in IKZF1 Gene to Childhood Acute Leukemia: A Meta-Analysis of 33 Case-Control Studies. PLoS One 2014

-Deng J et al. 10p12.31-12.2 variants and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. Leuk Lymphoma 2014

ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ

Το **rs10821936** αλληλόμορφο C γονίδιο ARID5B (κινδύνου) ↑ κατά σειρά:

Μαύροι Αμερικανοί < Αμερικανοί Αφρικανικής καταγωγής < μη Ισπανόφωνοι Αμερικανοί Ευρωπαϊκής καταγωγής < Ισπανόφωνοι Αμερικανοί

Gene	SNP	Minor allele	Non-Hispanic Whites				Hispanics					
			MAF ^a (%)	Total ALL Allelic OR ^b (CI)	P ^c	B-cell Allelic OR ^b (CI)	B-cell hyperdiploid Allelic OR ^b (CI)	MAF ^a (%)	Total ALL Allelic OR ^b (CI)	P ^c	B-cell Allelic OR ^b (CI)	B-cell hyperdiploid Allelic OR ^b (CI)
ARID5B	rs10994982	A	48	1.37 (1.08–1.73)	0.018	1.41 (1.10–1.80)	1.67 (1.14–2.47)	54	1.53 (1.23–1.90)	0.0004	1.65 (1.31–2.07)	2.21 (1.52–3.21)
ARID5B	rs10740055	C	48	1.50 (1.18–1.90)	0.003	1.57 (1.23–2.02)	1.76 (1.19–2.61)	54	1.61 (1.29–2.00)	1 × 10⁻²	1.72 (1.37–2.17)	2.43 (1.67–3.55)
ARID5B	rs7073837	A	45	1.43 (1.11–1.85)	0.009	1.59 (1.20–2.11)	2.30 (1.48–3.59)	52	1.76 (1.39–2.23)	4.3 × 10⁻⁷	2.23 (1.68–2.94)	2.66 (1.75–4.03)
ARID5B	rs7089424	G	29	1.84 (1.43–2.37)	2.2 × 10⁻¹⁰	1.98 (1.50–2.61)	2.71 (1.79–4.12)	39	1.98 (1.59–2.48)	1.0 × 10⁻⁹	2.20 (1.72–2.81)	3.22 (2.18–4.73)
ARID5B	rs10821936	C	31	1.79 (1.40–2.28)	4.8 × 10⁻⁶	1.83 (1.42–2.36)	2.43 (1.64–3.61)	41	1.99 (1.61–2.47)	1.2 × 10⁻⁹	2.15 (1.70–2.71)	3.08 (2.11–4.48)
CEBPE	rs2239633	C	51	1.44 (1.13–1.82)	0.005	1.83 (1.42–2.36)	1.88 (1.25–2.82)	61	1.24 (0.99–1.55)	0.0671	1.26 (1.00–1.58)	1.81 (1.24–2.66)
IKZF1	rs11978267	G	27	1.81 (1.41–2.32)	7.8 × 10⁻⁶	1.78 (1.37–2.30)	1.76 (1.18–2.62)	27	1.20 (0.95–1.51)	0.1483	1.18 (0.93–1.50)	1.21 (0.84–1.73)
IKZF1	rs4132601	G	27	1.80 (1.41–2.31)	8.4 × 10⁻⁶	1.78 (1.37–2.30)	1.75 (1.18–2.61)	27	1.22 (0.97–1.54)	0.08	1.21 (0.95–1.54)	1.27 (0.88–1.82)
CDKN2A	rs3731217	G	14	0.71 (0.49–1.03)	0.079	0.66 (0.44–0.99)	0.46 (0.22–0.95)	9	0.74 (0.50–1.11)	0.162	0.70 (0.46–1.07)	0.38 (0.16–0.89)
CDKN2A	rs3218018	C	9	0.99 (0.67–1.48)	0.966	0.99 (0.65–1.53)	1.24 (0.66–2.32)	6	1.78 (1.19–2.66)	0.0145	1.77 (1.18–2.66)	2.37 (1.40–4.00)
CDKN2A	rs2811712	G	10	0.96 (0.66–1.41)	0.921	1.05 (0.70–1.57)	1.23 (0.33–2.25)	8	1.56 (1.09–2.24)	0.0315	1.53 (1.06–2.22)	1.91 (1.17–3.11)
CDKN2A	rs3731239	C	36	1.26 (0.95–1.55)	0.163	1.32 (1.02–1.71)	1.55 (1.05–2.29)	32	0.97 (0.74–1.27)	0.7407	0.99 (0.74–1.31)	1.04 (0.68–1.58)
CDKN2A	rs4074785	A	10	0.90 (0.59–1.38)	0.623	1.03 (0.66–1.60)	0.92 (0.45–1.88)	29	0.96 (0.76–1.22)	0.633	1.00 (0.78–1.28)	0.96 (0.65–1.41)

MAF minor allele frequency, SNP single nucleotide polymorphism, OR odds ratio, CI 95 % confidence interval. Bold typeface indicates results with $p < 0.05$ and/or odds ratios whose 95% confidence intervals exclude 1

^aMinor alleles defined a priori to match previous GWAS papers; reported MAFs among controls may exceed 50 % in the present sample

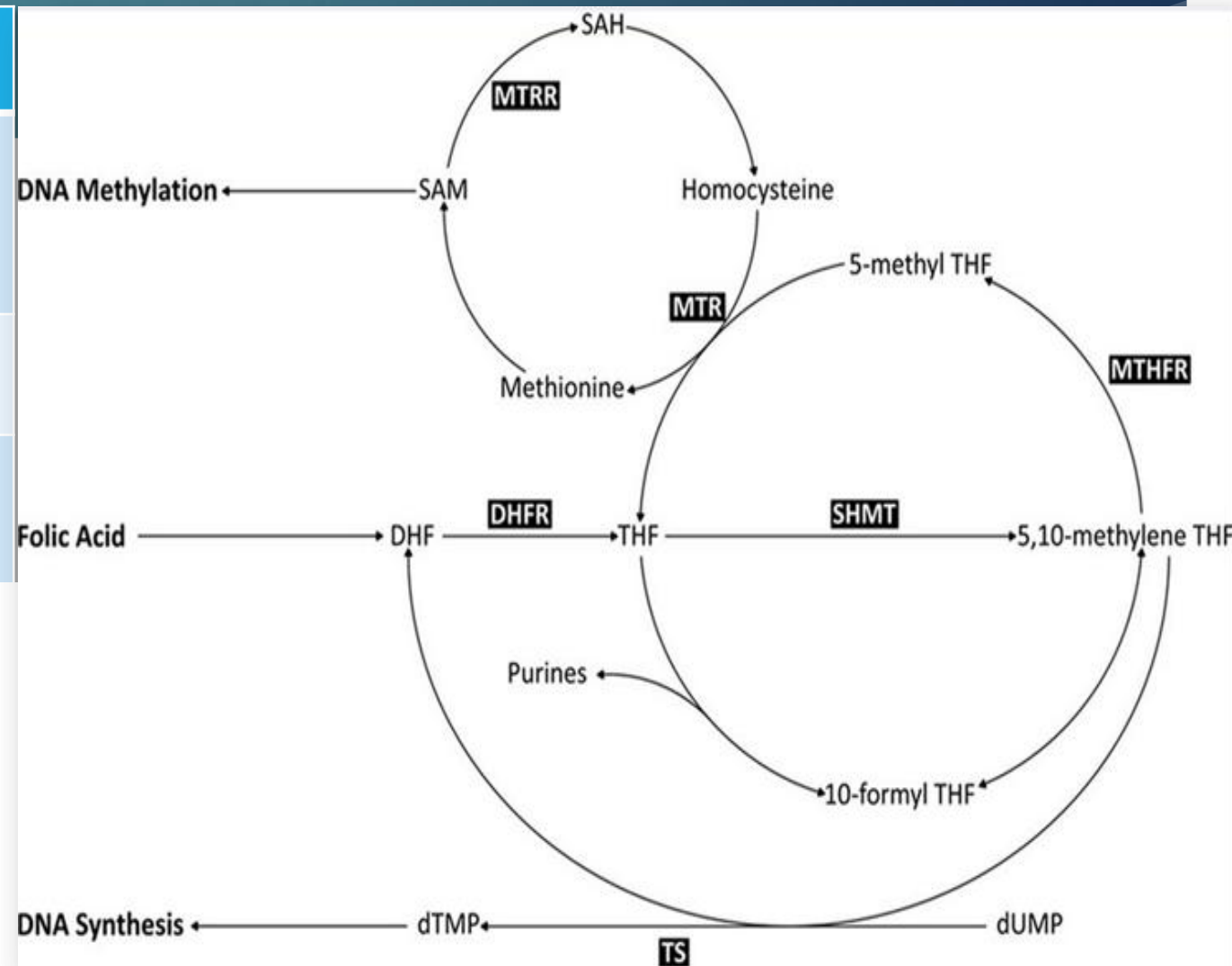
^bOR adjusted for age and gender

^cp value from log-additive inheritance model

Chokkalingam AP et al.
Genetic variants in
ARID5B and CEBPE are
childhood ALL
susceptibility loci in
Hispanics. Cancer
Causes Control 2013

B) Μεταβολισμός του φυλλικού οξέος

Γονίδιο	Πολυμορφισμός	Σχόλιο
MTFHR	1298 A>C (rs1801131) 677 C>T (rs1801133)	- Ασαφές αν συσχετίζεται ή όχι σύμφωνα με μελέτες και μετα-αναλύσεις
MTR	2756	- Προδιάθεση για το γονότυπο GG
TS	1494del16	- Προδιάθεση στους ομόζυγους για το έλλειμα 6-bp-/ 6-bp-



-Pereira TV et al. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and acute lymphoblastic leukemia risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006

-Wang J et al. MTHFR C677T polymorphisms and childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *Leuk Res* 2010

-Metayer C et al. Genetic variants in the folate pathway and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Causes Control* 2011.

-Yan J et al. A meta-analysis of MTHFR C677T and A1298C polymorphisms and risk of acute lymphoblastic leukemia in children. *Pediatr Blood Cancer* 2012

Lightfoot TJ et al. Genetic variation in the folate metabolic pathway and risk of childhood leukemia. *Blood* 2010

Γ) Ανοσολογικές αποκρίσεις

Περιορισμένες μελέτες

Ισχυρότεροι πολυμορφισμοί σχετικοί με ΟΛΛ :

-**LMAN1 rs1127220**

- **IL12A rs583911**

- Greaves MF, Alexander FE. An infectious etiology for common acute lymphoblastic leukemia in childhood? *Leukemia* 1993.
- Greaves M. Infection, immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. *Nat Rev Cancer* 2006.
- Kinlen LJ. Epidemiological evidence for an infective basis in childhood leukaemia. *Br J Cancer* 1995.
- Han S et al. Polymorphisms in innate immunity genes and risk of childhood leukemia. *Hum Immunol* 2010
- hang JS et al. Genetic polymorphisms in adaptive immunity genes and childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010.

Δ) Ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου

ΣΗΜΕΙΟ ΚΛΕΙΔΙ το σημείο ελέγχου G1/S

Οι πολυμορφισμοί αφορούν τους αναστολείς των κυκλινοεργαζόμενων κινασών :

▶ rs3731217 (συγκεκριμένα το αλληλόμορφο **T**)

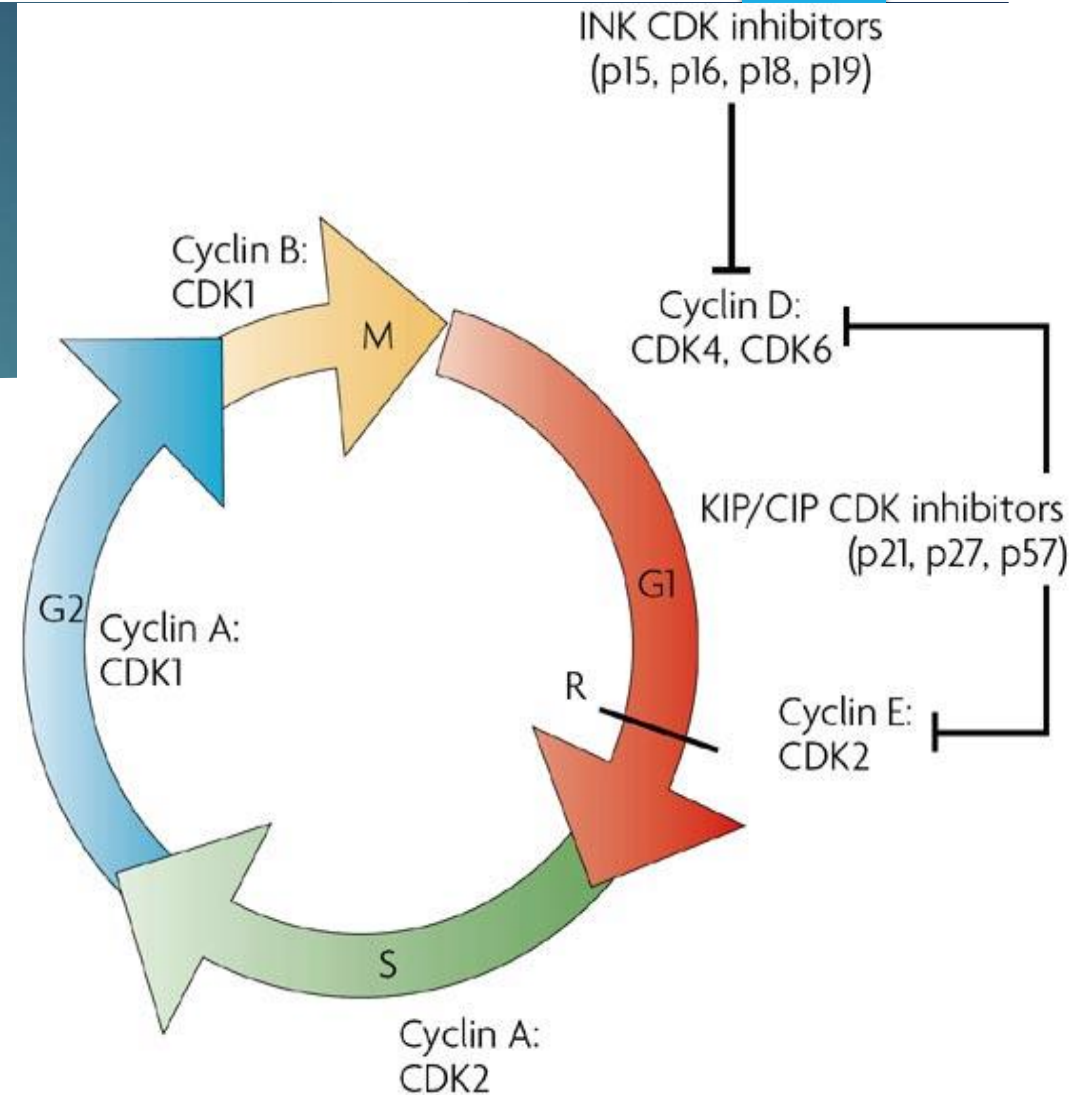
του **CDKN2A**

▶ -222 **T>A** του **CDKN2A**

▶ -593 **A>T,C** του **CDKN2B** και

▶ -1608 **G>A** του **CDKN1B**

Ο γονότυπος **GG** στη θέση rs3217927 του γονιδίου **CCND2** σε **Ασιάτες**



-Healy J et al. Promoter SNPs in G1/S checkpoint regulators and their impact on the susceptibility to childhood leukemia. Blood 2007

-Zhang H et al. Association between the polymorphism rs3217927 of CCND2 and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. PLoS One 2014

-Sherborne AL et al. Variation in CDKN2A at 9p21.3 influences childhood acute lymphoblastic leukemia risk. Nat Genet 2010

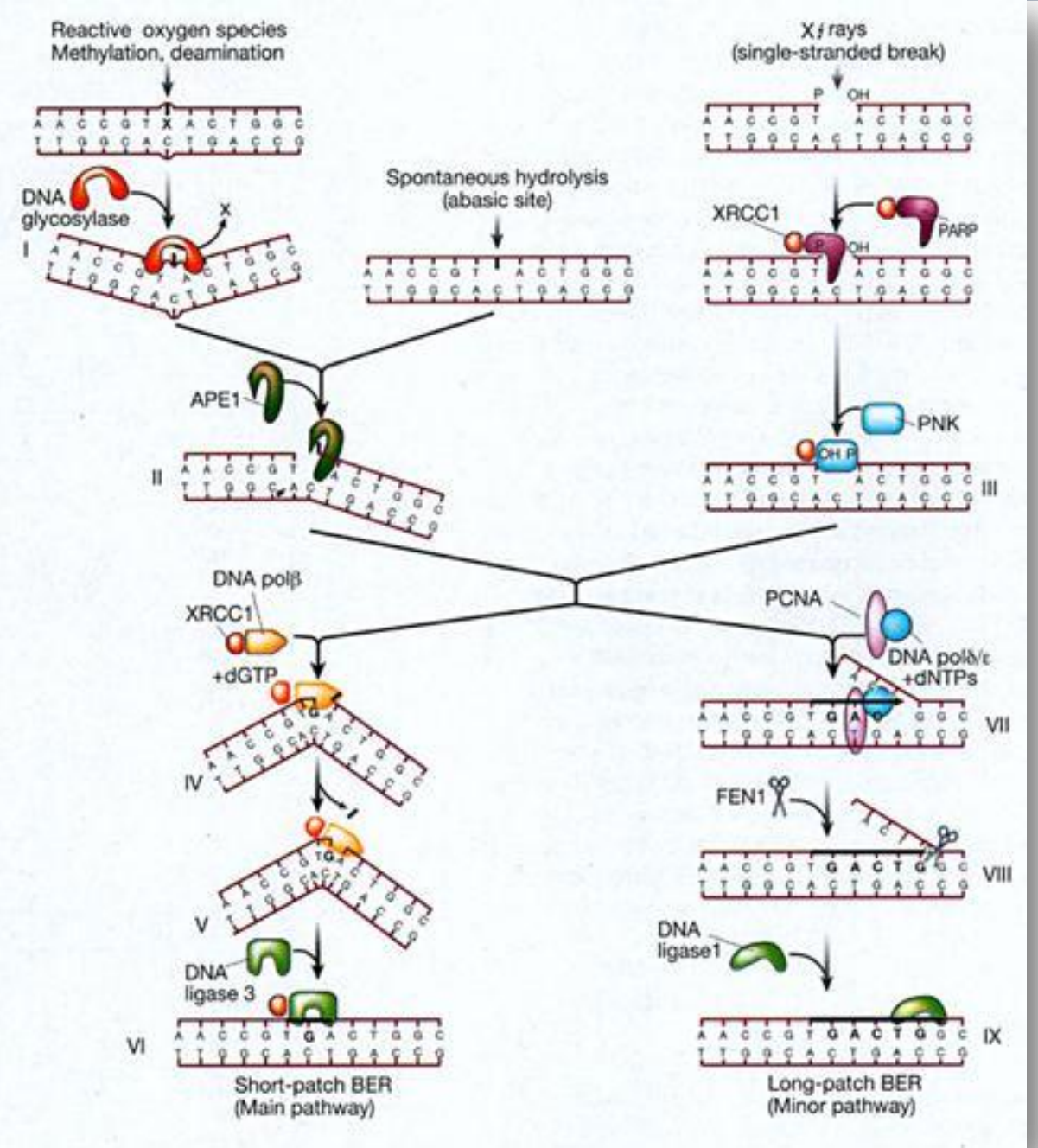
Ε) Αντιρρόπηση του οξειδωτικού

- ▶ Η πλήρης απουσία του γονιδίου **GSTM1** (null mutant) στο συνολικό πληθυσμό και ιδιαίτερα στα άτομα Α καταγωγής
- ▶ Η πλήρης απουσία του γονιδίου **GSTT1** (null mutant) αποκλειστικά στους Ασιάτες
- ▶ Χρειάζονται περαιτέρω μελέτες

ΣΤ) Επιδιόρθωση του DNA

Κύριοι προτεινόμενοι πολυμορφισμοί

- ▶ Arg399Gln, Arg194Trp και Arg280His του γονιδίου (19q13.2) με διαφωνίες για το ρόλο των 2 τελευτα



-Sheng X, et al. TERT polymorphisms modify the risk of acute lymphoblastic leukemia in Chinese children. Carcinogenesis 2013.

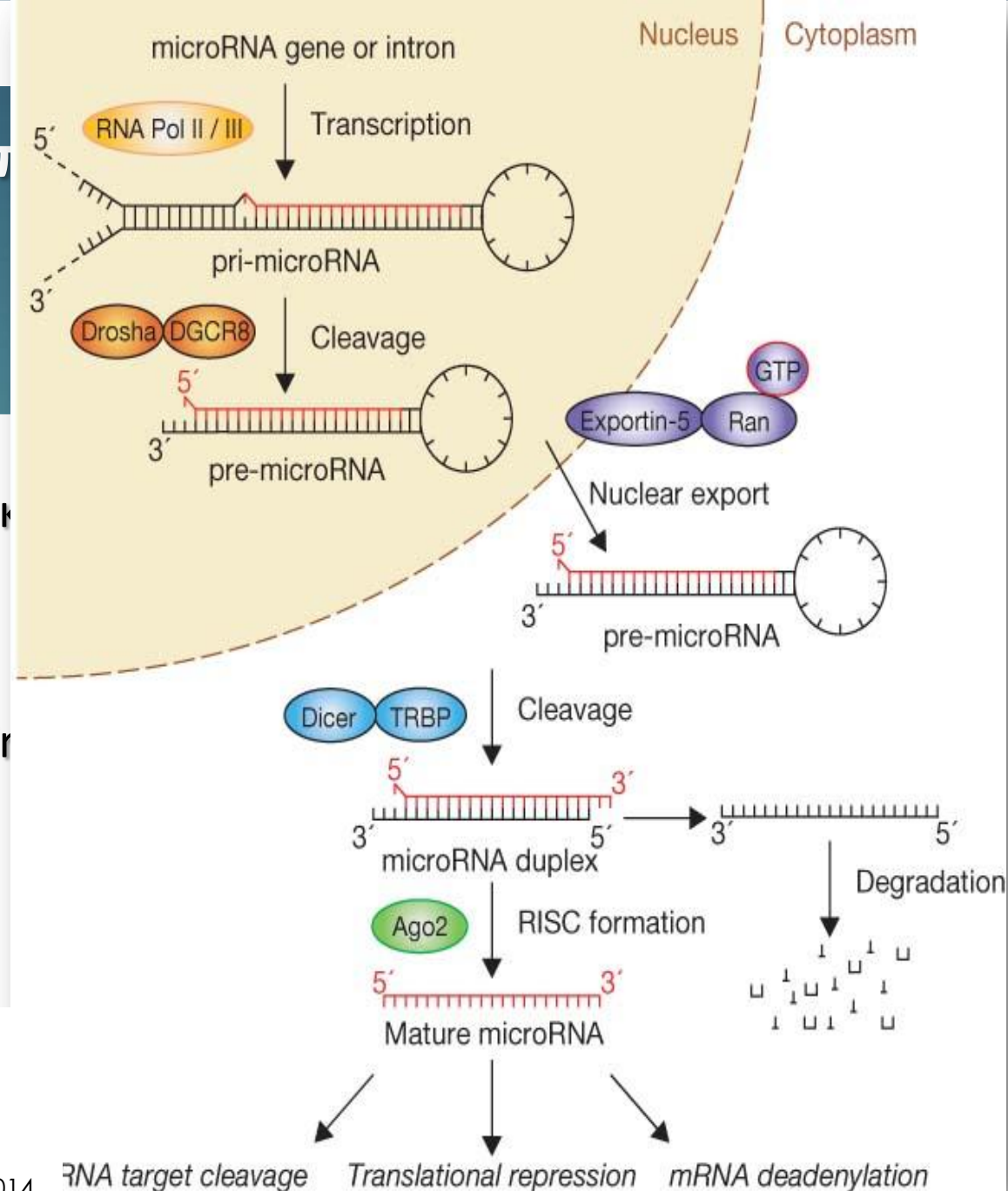
Ζ) Γενετικές αλληλουχίες που κωδικοποιούν ή αλληλεπιδρούν με microRNAs

- ▶ Εντούτοις, προστιθέμενα SNPs σε miRNA παρεμποδίζουν τη βιογένεση των miRNAs ή/και αλληλεπιδράση των mRNA-miRNA.

Ελάχιστες μελέτες σε:

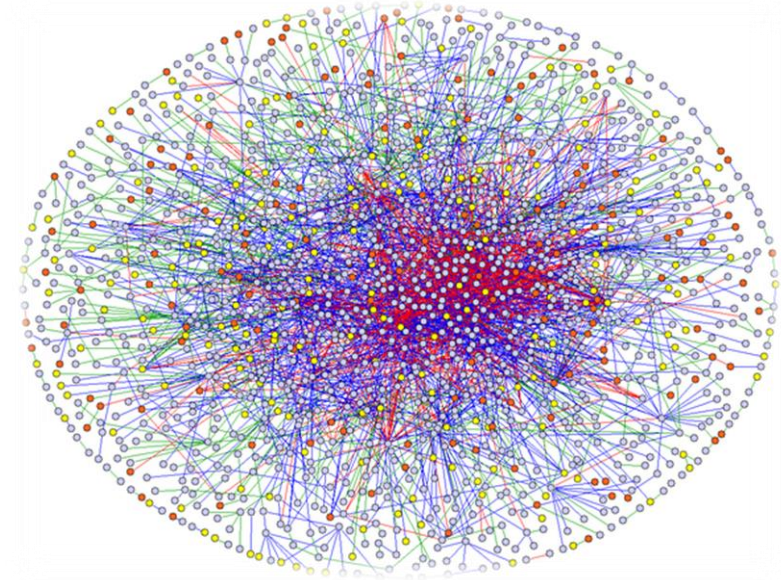
- ▶ rs1803915 του mir-612 και rs3746444 του mir-143 σε Ασιάτες για ΟΛΛ

-Gutierrez-Camino A et al. Noncoding RNA-related polymorphisms in pediatric acute lymphoblastic leukemia susceptibility. *Pediatr Res* 2014
-Tong N et al. Hsa-miR-196a2 polymorphism increases the risk of acute lymphoblastic leukemia in Chinese children. *Mutat Res Fundam Mol Mech Mutagen* 2014
-Dzikiewicz-Krawczyk A et al. Polymorphisms in microRNA target sites modulate risk of lymphoblastic and myeloid leukemias and affect microRNA binding. *J Hematol Oncol* 2014



Αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων (gene-gene interactions) και αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος (gene-environment interactions)

- ▶ Η παιδική λευχαιμία παρουσιάζει πολυπλοκότητα (complex disease)
- ▶ Οι γενετικοί παράγοντες έχουν μέτρια επίδραση ο καθένας ξεχωριστά. Αθροιστικά όμως, μεγαλύτερη. Γονίδια μπορεί να αλληλεπιδρούν στο επίπεδο της ρύθμισης της έκφρασης, ακόμη και σε επίπεδο πρωτεϊνών (PPI networks).
- ▶ Δυναμικές αλληλεπιδράσεις παρατηρούνται επίσης ανάμεσα σε γονότυπο και περιβάλλον
- ▶ Ως σημαντικότερη επίδραση στο γονιδίωμα μέσω επιγενετικών μηχανισμών αναφέρεται η έκθεση στην ιονίζουσα ακτινοβολία.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ...

- Ο υψηλότερα συσχετιζόμενος πολυμορφισμός με την ΟΛΛ συνολικά στον πληθυσμό είναι ο **ARID5B, rs10821936**. Οι πολυμορφισμοί στις θέσεις **rs4132601** και **rs11978267** δυνητικά συμβάλλουν στην εμφάνιση ΟΛΛ ιδιαίτερα από Β-πρόδρομα λεμφοκύτταρα ανάμεσα στους Ευρωπαίους

-ΠΡΟΣΟΧΗ ΣΤΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ:

- ▶ -Ανάλογα την επιλογή των γενετικών δεικτών, το μέγεθος και την ομοιογένεια του δείγματος
- ▶ -Το μελετούμενο υπότυπο με βάση μοριακά και κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά (αναδιατάξεις MLL και άλλα). Συνίσταται κατηγοριοποίηση
- ▶ -Χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για επιβεβαίωση προδιαθεσικών τύπων

- ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΔΕ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΝΟΣΗΣΗ...

«Τα γονίδια οπλίζουν το όπλο, αλλά το περιβάλλον πατά τη σκανδάλη» - Dr. Francis Collins





Σας ευχαριστώ πολύ...