

Μπορεί ο ανοσοφαινότυπος να κατευθύνει τη μοριακή ανάλυση σε ασθενείς με μυελικές κακοήθειες;

*Χαρά Γιατρά¹, Εφήνη Τζιώτζιου¹, Κατερίνα Ψαρρά², Μαρία Γαροφαλάκη¹, Εφήνη Γρηγορίου²,
Σταμάτης Καρακατσάνης⁵, Ευαγγελία Νικολού¹, Σωσάνα Δελήμπαση¹, Τατιάνα Τζένου¹,
Σταύρος Γιγάντες¹, Γιάννης Μπαλταδάκης¹, Δημήτρης Καρακάσης¹, Γιάννης Τσώνης¹,
Βιολέτα Καψιμάλη⁴, Φλώρα Κοντοπίδου³, Μαρία Παγώνη¹, Θέμης Καρμύρης¹,
Αλεξάνδρα Τσφογιάννη², Νίκος Χαρχαλάκης¹*

1. Αιματολογική-Λεμφωμάτων Κλινική/ΜΜΜΟ, ΓΝΑ «ο Ευαγγελισμός»
2. Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, ΓΝΑ «ο Ευαγγελισμός»
3. Αιματολογικό Τμήμα, ΓΝΑ «Ιπποκράτειο»
4. Τμήμα Μικροβιολογίας και Ανοσολογίας, ΕΚΠΑ
5. Αιματολογικό Τμήμα 3^{ης} Παθολογικής Κλινικής, ΓΝΝΘΑ «Σωτηρία»



Σκοπός Μελέτης

- Η συσχέτιση συγκεκριμένων **ανοσοφαινοτυπικών χαρακτηριστικών**, με **μεταλλάξεις γονιδίων** που συμβαίνουν σε Οξεία Μυελοβλαστική Λευχαιμία (AML) και Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (MDS) και έχουν σημασία για την **πρόγνωση** του ασθενούς
- Η προσπάθεια προσδιορισμού μέσω **κυτταρομετρίας ροής** της ύπαρξης μετάλλαξης στο εξώνιο 12 του γονιδίου Nucleophosmin 1 (***NPM1^{mut}***) και της ύπαρξης εσωτερικού αναδιπλασιασμού (***FLT3-ITD***) ή μετάλλαξης στην περιοχή κινάσης τυροσίνης (***FLT3-TKD***) στο γονίδιο Fms-like tyrosine kinase 3 (***FLT3***)



Ασθενείς και Μέθοδοι

N = 94 ασθενείς	
Νόσημα	
AML	82 ασθενείς
MDS	12 ασθενείς
Φύλο	
Γυναίκες	37/94 (39,3%)
Άνδρες	57/94 (60,6%)
Ηλικία	
Διάμεση, Εύρος (έτη)	57,6 (19-88)

Δεν περιελήφθησαν ασθενείς με
Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία



Ασθενείς και Μέθοδοι

Μελέτη αίματος ή/και μυελού των οστών

Μέθοδοι	
Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR), fragment analysis	Μεταλλάξεις <i>FLT3-ITD</i> , <i>FLT3-TKD</i> , <i>NPM1</i>
Πολυχρωματική κυταρομετρία ροής (FC)	- Πάνελ συγκεκριμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων - Αντίσωμα έναντι <i>NPM1</i> (NPM1ab) και CD135

- Συσχετίστηκαν τα ποσοστά και η διάμεση ένταση του σήματος (**MFI**, Median Fluorescence Intensity) των ανοσοφαινοτυπικών δεικτών με τα ευρήματα των μεθόδων της μοριακής βιολογίας



Αποτελέσματα: Μοριακό Προφίλ Ασθενών

		N	%
<i>NPM1</i>^{mut} PCR	θετικό	34	36,2
	αρνητικό	60	63,8
<i>NPM1</i>^{mut} υπότυπος	A	27	28,7
	B	2	2,1
	D	4	4,3
	νέα μετάλλαξη	1	1,1
<i>FLT3</i>-ITD	θετικό	18	19,1
	αρνητικό	76	80,9
MUT/WT%, μέση (SD) διάμεση τιμή		64,3 (30,2)	65,3 (45,4 - 84,9)
<i>FLT3</i>-TKD	θετικό	10	10,6
	αρνητικό	84	89,4
MUT/WT%, μέση (SD) διάμεση τιμή		23,19 (43,5)	16,4 (12,8 – 45,1)
<i>NPM1</i> ή/και <i>FLT3</i>-ITD	αρνητικό	50	53,2
<i>FLT3</i>-ITD ή/και <i>FLT3</i>-TKD	θετικό	44	46,8
<i>FLT3</i>-ITD ή/και <i>FLT3</i>-TKD	αρνητικό	67	71,3
	θετικό	27	28,7
<i>NPM1</i> και <i>FLT3</i>/ITD	αρνητικό	81	86,2
	θετικό	13	13,8
<i>NPM1</i> και <i>FLT3</i>-TKD	αρνητικό	89	94,7
	θετικό	5	5,3



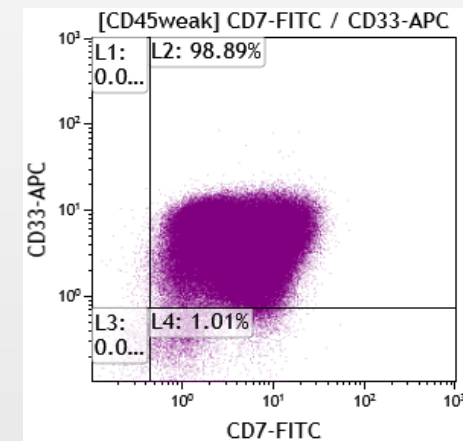
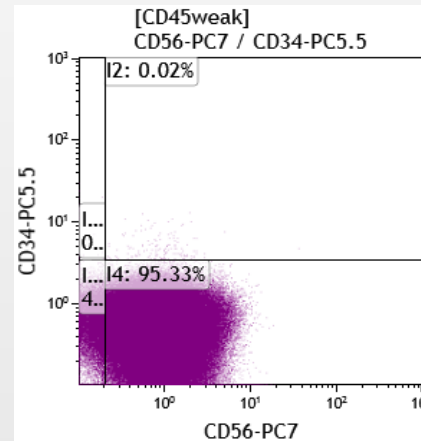
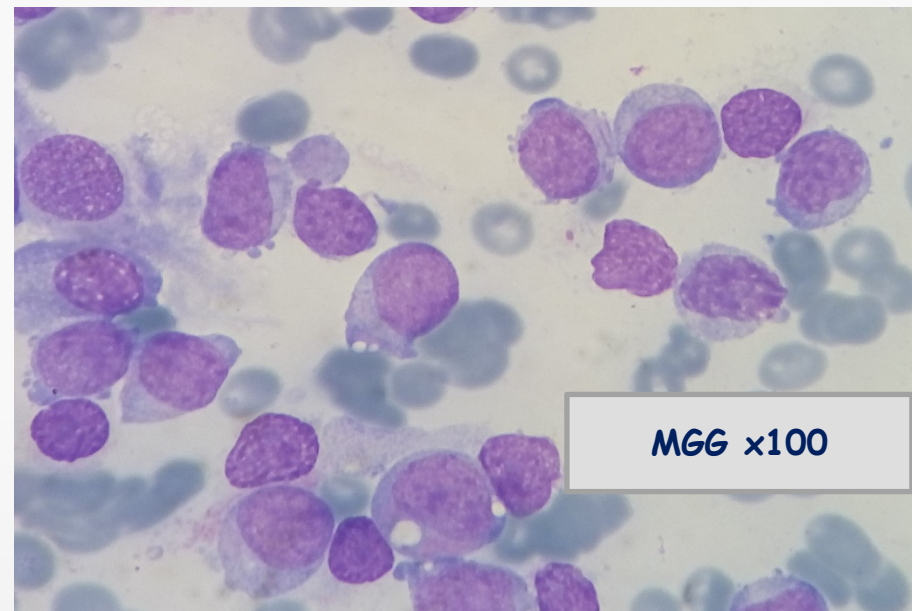
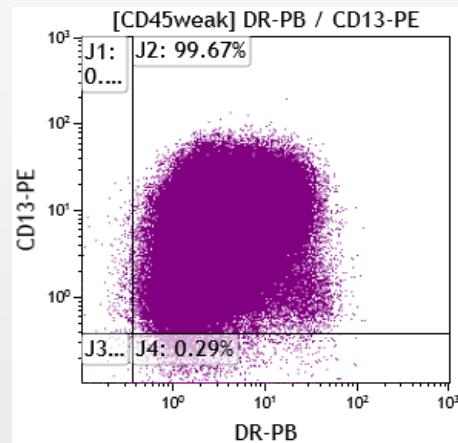
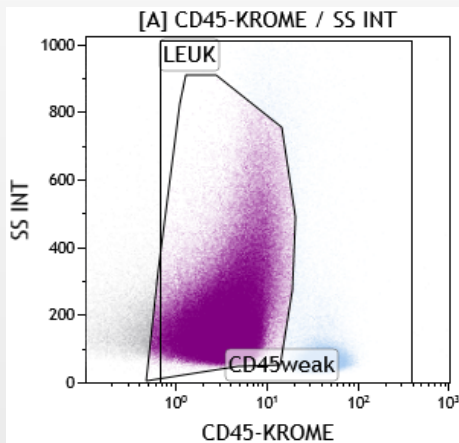
Αποτελέσματα

- Οι μεταλλάξεις *NPM1* ή/και *FLT3* συσχετίστηκαν με
 - εντονότερη έκφραση του *CD33*
 - χαμηλή ή καθόλου έκφραση των πιο άωρων δεικτών, όπως οι *CD34*, *CD117*, *HLADR*
 - εντονότερη έκφραση πιο ώριμων δεικτών, όπως ο *CD11b*
- Η παρουσία *NPM1^{mut}* και *FLT3*-ITD δεν φάνηκε να μπορεί να προσδιοριστεί με μεθόδους κυτταρομετρίας ροής, τουλάχιστον με τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν
- Η έκτοπη έκφραση του δείκτη της λεμφικής σειράς *CD7* στα βλαστικά κύτταρα συσχετίστηκε με το γονότυπο *FLT3^{mut}* (κυρίως *FLT3*-TKD), *NPM1^{wild-type}*
- Έκφραση *CD56* ή *CD2* ανευρέθη μόνο σε περιπτώσεις *NPM1^{wild-type}* και *FLT3^{wild-type}*

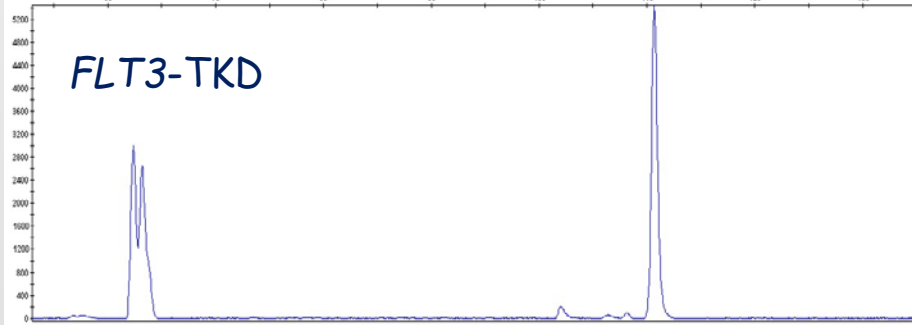
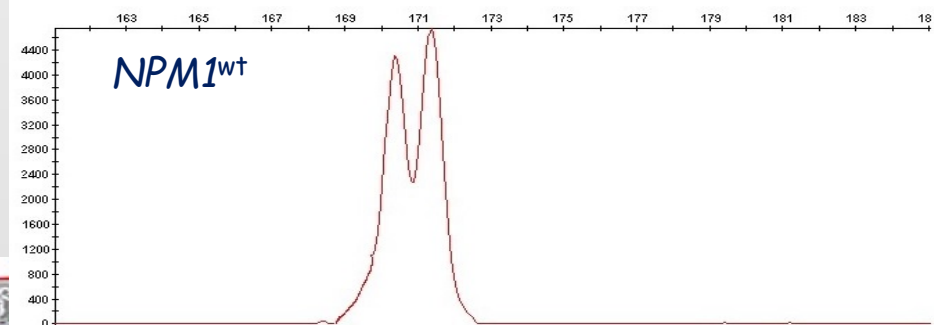


Περίπτωση Ασθενούς Γυναίκα 52 ετών με AML

Κυτταρομετρία ροής



Fragment Analysis



Συμπεράσματα

- Η μελέτη με κυτταρομετρία ροής μπορεί να προσφέρει κάποιες ενδείξεις σχετικά με την ύπαρξη μεταλλάξεων των γονιδίων *NPM1* και *FLT3* σε ασθενείς με *AML* και *MDS*, πληροφορία με σημαντικές **προγνωστικές** και **θεραπευτικές** προεκτάσεις
- Η **έκτοπη έκφραση δεικτών της λεμφικής σειράς** συσχετίστηκε με συγκεκριμένο **προφίλ μεταλλάξεων**
- Οι πληροφορίες της κυτταρομετρίας παρέχονται σε **χρόνο** σαφώς **γρηγορότερο** σε σχέση με την PCR, αποτελώντας χρήσιμο εργαλείο για τον κλινικό γιατρό





Σας ευχαριστώ

