

Next-Generation Sequencing nella leucemia linfoblastica acuta

Paper: Next-Generation Sequencing in Acute Lymphoblastic Leukemia*

Autori: Nicoletta Coccaro, Luisa Anelli, Antonella Zagaria, Giorgina Specchia e Francesco Albano

Dipartimento: Dipartimento di Emergenza e Trapianti d'Organo (D.E.T.O.), sezione di Ematologia

Università: Università di Bari

Data pubblicazione: 15 Giugno 2019

Presentazione a cura di: Simone Multari

Università di Torino, dipartimento di Informatica

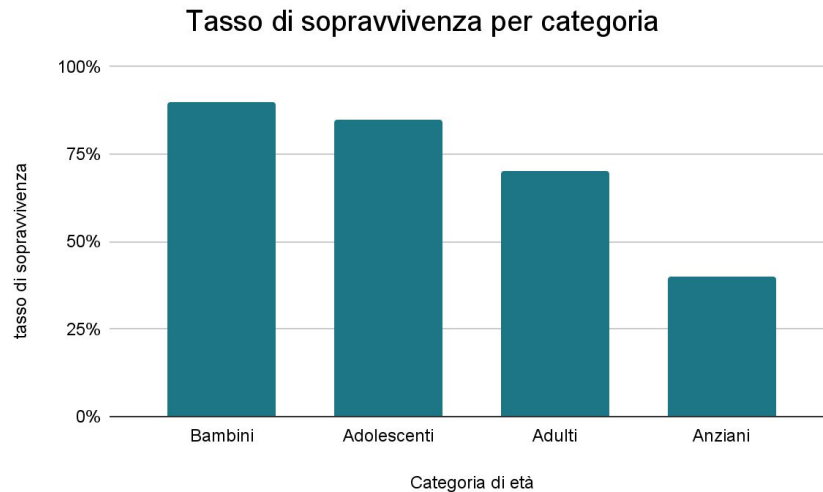
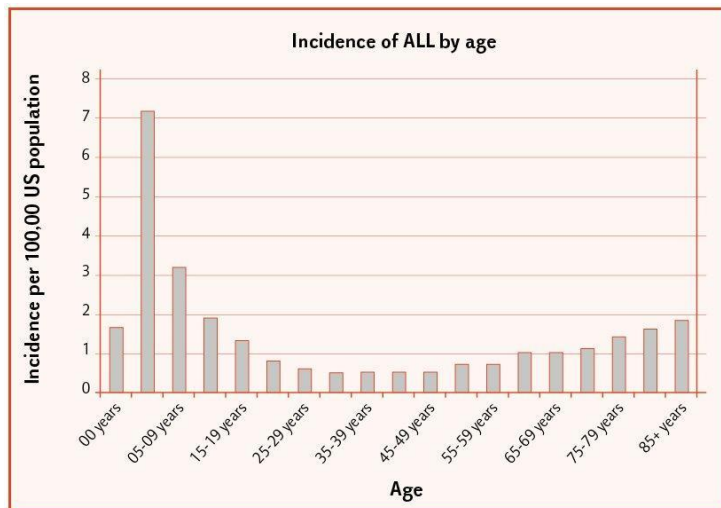
* <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/12/2929>



Introduzione alla Leucemia Linfoblastica Acuta (ALL)

Definizione

La Leucemia Linfoblastica Acuta è una malattia tumorale che colpisce principalmente i bambini, ma può verificarsi anche in adolescenti e adulti.



Cause ambientali e genetiche

La ALL si sviluppa per via di una combinazione di cause genetiche e ambientali:



Cause ambientali:

- Esposizione ad alte dosi di radiazioni
- Vivere in prossimità di insediamenti industriali

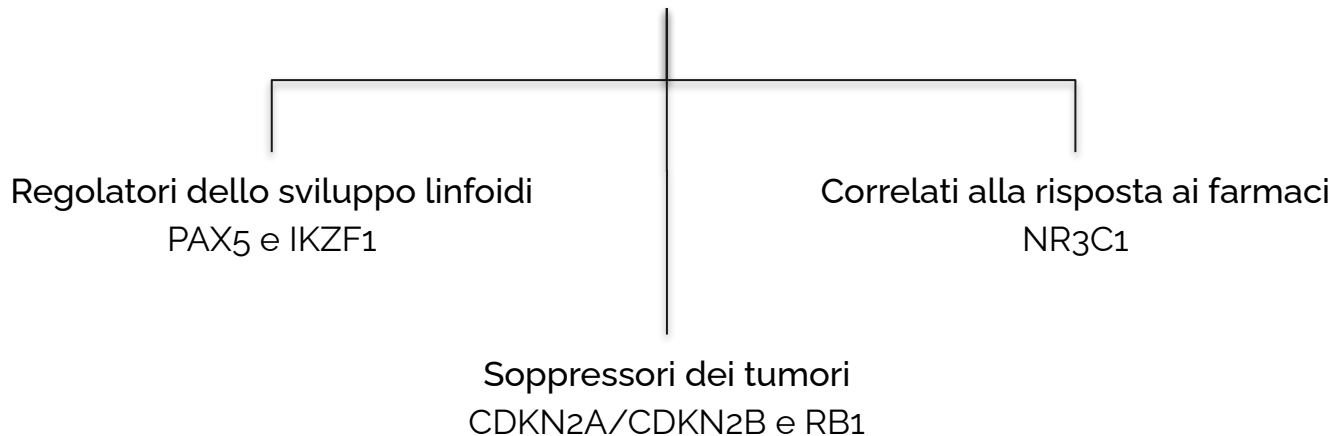
Cause genetiche:

- trasformazione maligna di cellule linfoidi
- anomalie genetiche:
 - traslocazioni cromosomiche
 - aneuploidie in geni responsabili dello sviluppo delle cellule linfoidi.

L'importanza dell' analisi genomica - Microarray

Prima dell'avvento delle tecniche NGS si faceva ampio uso di microarray genomici.

L' analisi genomica ha permesso di identificare alterazioni ricorrenti che coinvolgono geni quali:



Spesso, questi geni sono colpiti da un solo tipo di alterazione, come delezioni focali o ampie e traslocazioni, agendo in modo haploinsufficiente o dominante negativo

L'importanza dell' analisi genomica - Next-Generation sequencing

L'uso delle tecnologie di Next-Generation sequencing (NGS) ha contribuito a migliorare la comprensione delle alterazioni genetiche permettendo l'individuazione dei:

- **geni di fusione**: risultato di un'anomalia genetica in cui due geni diversi si uniscono per formare un nuovo gene ibrido
- **cambiamenti nell'espressione genica**: possono causare alterazioni nel modo in cui le cellule linfocitarie crescono e si comportano, contribuendo così alla ALL.

In generale il processo di analisi dei dati segue tre principali fasi:

1. **"Alignment"**: le read risultanti dall'esperimento NGS vengono confrontate con il genoma di riferimento umano. (SAM sequence alignment/map)
2. **"variant calling"**: le sequenze allineate vengono confrontate con le sequenze di riferimento per identificare le posizioni in cui ci sono differenze, come mutazioni o altre variazioni. (VCF variant call format)
3. **"filtering and annotation"**: le varianti vengono selezionate in base a criteri specifici e annotate per capire quali potrebbero avere effetti biologici.

TCF3-HLF: fusione genica che caratterizza un particolare sottotipo di ALL noto per avere una prognosi molto sfavorevole.

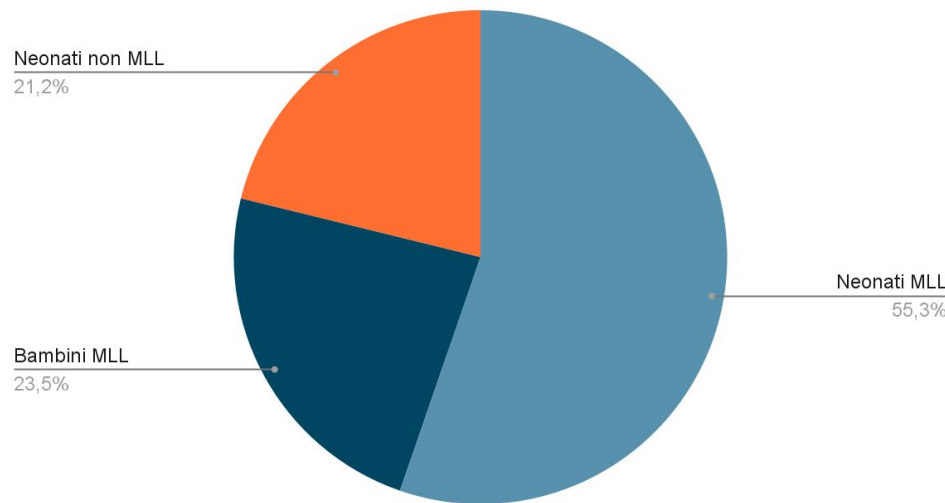
Attraverso l'uso delle tecnologie di **NGS** al fine di analizzare approfonditamente le caratteristiche biologiche di questa forma di ALL sono stati raggiunti alcuni risultati chiave:

- **Associazione con PAX5:** è stato scoperto che la fusione genica TCF3-HLF è associata ad una condizione di haploinsufficienza di PAX5.
- **Espressione genica simile a cellule staminali e mieloidi:** Le cellule leucemiche potrebbero essere "riprogrammate" per assomigliare a cellule ematiche immature, questo comporta una maggior resistenza ai farmaci.
- **Sensibilità a diversi farmaci:** in particolare, le cellule leucemiche sembrano rispondere positivamente ai glucocorticoidi, agli antraciclinici e soprattutto all'inibitore specifico di BCL2 chiamato venetoclax (ABT-199).

Caso studio - MLL-Rearranged

In questo caso studio si discute di una forma molto aggressiva di ALL con cambiamenti nel gene chiamato **Mixed Lineage Leukaemia** (MLL) attraverso l'analisi del genoma completo (WGS), dell'esoma (WES) e del sequenziamento dell'RNA (RNA-seq).

67 pazienti MLL confrontati con 18 pazienti non MLL



Lo studio si è concentrato nell'analisi delle mutazioni genetiche aggiuntive presenti nel caso di pazienti con MLL:

In particolare è stato notato che le poche mutazioni genetiche sembravano influenzare un percorso di segnalazione chiamato "kinase-PI3K-RAS" in circa il 47% dei casi dei neonati.

Mentre i bambini più grandi presentavano più mutazioni genetiche nei regolatori epigenetici

Tuttavia queste mutazioni spesso erano presenti solo in alcune parti delle cellule tumorali e scomparivano quando la malattia ritornava

Conclusioni - NGS nella quotidianità clinica

Viene inoltre affrontato il dilemma che i medici si trovano di fronte nell'utilizzo delle informazioni generate dalle ampie ricerche di sequenziamento del DNA di nuova generazione (NGS) nella pratica clinica quotidiana:

da un lato

dall' altro

Crescita costante delle quantità di informazioni molecolari che ampliano la comprensione della malattia

La necessità di tradurre queste scoperte in benefici tangibili per i pazienti.
Migliorando il monitoraggio della malattia e la scoperta di nuovi farmaci.

L'articolo infine delinea uno dei prossimi obiettivi fondamentali ovvero l'implementazione dell'NGS nelle pratiche cliniche per il monitoraggio del carico di malattia residua (MRD).

Grazie per l'attenzione