

8. STRESZCZENIE

Nowotwory złośliwe wieku dziecięcego występują rzadko i stanowią jedynie około 2% wszystkich rozpoznanych chorób nowotworowych, pozostając jednak drugą przyczyną zgonów dzieci powyżej 1r.ż. To heterogenna grupa chorób o niewyjaśnionej często etiologii. Część rozpoznanych w wieku dziecięcym nowotworów złośliwych jest uwarunkowana genetycznie. Zgodnie z najnowszymi doniesieniami około 8,5-10% nowotworów występujących u dzieci jest spowodowana mutacjami germinalnymi. W literaturze pojawiają się doniesienia, że częstość występowania podłoża genetycznego w nowotworach wieku dziecięcego jest niedoszacowana.

Wśród uznanych czynników genetycznych predysponujących do zachorowania na nowotwór w wieku dziecięcym należą anomalie chromosomowe np. zespół Downa i Klinefeltera- zwiększone ryzyko rozwoju białaczek i guzów germinalnych, choroby dziedziczące się autosomalnie recesywnie np. zespół Nijmegen, zespół Blooma i niedokrwistość Fanconiego- zwiększone ryzyko chorób limfoproliferacyjnych oraz guzów litych, choroby dziedziczące się autosomalnie dominująco np. zespół Li-Fraumeni, nerwiakowłókniakowatość typu 1 – częstsze występowanie guzów ośrodkowego układu nerwowego.

Nowotwory wieku dziecięcego uwarunkowane genetycznie często mają odmienny przebieg kliniczny, wymagają modyfikacji standardowo prowadzonej terapii z uwagi na oporność na leczenie bądź z uwagi na zwiększone ryzyko toksyczności (zespół Nijmegen-łamlliwość chromosomów po ekspozycji na promieniowanie rentgenowskie). Istotnie zmienia się zatem także rokowanie młodych chorych z potwierdzoną mutacją germinalną, dlatego niezwykle ważne jest jak najszybsze wysunięcie podejrzenia i zdiagnozowanie obecności danej mutacji sprawczej.

Obecnie nie ma ogólnie dostępnej metody, która pozwoliłaby na wyłonienie pacjentów grupy wysokiego ryzyka posiadania podłoża genetycznego choroby nowotworowej. Uzyskanie nowych możliwości diagnostycznych wpłynęłoby korzystnie na szybkość rozpoznania określonej zmiany w genomie i wdrożenie optymalnego leczenia, co jest szczególnie istotne w przypadku choroby odpornej na leczenie lub nawrotowej, ograniczenie powikłań związanych z toksycznością standardowego leczenia onkologicznego oraz prawdopodobnie na zmniejszenie

śmiertelności w tej grupie chorych. Ciekawą propozycję służącą selekcji pacjentów o prawdopodobnej genetycznej predyspozycji do rozwoju choroby nowotworowej u dzieci stanowi ankieta przygotowana przez Host Genetic Variation Working Group (Jongmans M. et al. Eur.J.Med.Genet. 2016)

Założonymi celami pracy były:

1. Wyłonienie grupy pacjentów, która zostanie zakwalifikowana do udzielenia świadczeń z zakresu poradnictwa genetycznego i/lub konieczności bezpośredniego wykonania badań genetycznych przy użyciu ankiety opracowanej przez *Host Genetic Variation Working Group*.
2. Ocena przydatności oraz stosowanej ankiety w wyselekcjonowaniu grupy pacjentów, która może odnieść potencjalne korzyści z analizy genetycznej.
3. Określenie częstości genetycznej predyspozycji do wystąpienia nowotworu u dzieci onkologicznych zrekrutowanych w ramach grupy badanej.
4. Określenie czynników ryzyka genetycznej predyspozycji do nowotworu.

Założenia projektu zostały przedstawione i uzyskały akceptację Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (nr uchwały: RNN/108/18/KE z dnia 10 kwietnia 2018r.).

Badanie w pierwszym etapie miało charakter badania ankietowego, którym została objęta losowo wybrana grupa dzieci leczonych w Klinice Pediatrii, Onkologii i Hematologii I Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz w polskich ośrodkach onkologii i hematologii dziecięcej: Klinice Onkologii i Hematologii Dziecięcej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Klinice Onkologii Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie, Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Klinika Pediatrii, Onkologii i Hematologii Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego im. Zamenhofa w Białymstoku, Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu. Grupa poddana badaniu ankietowemu liczyła 505 pacjentów z rozpoznanym nowotworem złośliwym w wieku od 1 dnia życia do 18 roku życia,

obu płci: 273 (54%) chłopców i 232 (46%) dziewczynki oraz ich rodzin. Pacjenci diagnozowani byli w okresie od 2014 roku do 2020 roku.

W oparciu o ankietę przygotowaną przez Host Genetic Variation Working Group (Jongmans M. et al. Eur J Med Genet. 2016) przeanalizowano dane kliniczne dotyczące dzieci z rozpoznaną chorobą nowotworową. O prawdopodobnym podłożu genetycznym nowotworu złośliwego świadczyło spełnienie co najmniej jednego z pięciu kryteriów omówionej uprzednio ankiety:

1. dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób nowotworowych;
2. nietypowa histopatologia nowotworu;
3. rozpoznanie drugiego nowotworu przed ukończeniem 18 roku życia;
4. współwystępowanie wrodzonych wad i anomalii rozwojowych;
5. występowanie podczas leczenia onkologicznego cech nadmiernej toksyczności terapii.

Pacjenci, którzy nie spełnili żadnego kryterium badania ankietowego otrzymali 0 punktów, natomiast spełnienie wszystkich kryteriów wiązało się z przyznaniem 5 punktów. Na podstawie otrzymanych rezultatów ankiety w drugim etapie prac wyłoniona została grupa pacjentów o najwyższym ryzyku posiadania mutacji germinalnej, którą zakwalifikowano do udzielenia świadczeń z zakresu poradnictwa genetycznego i badań genetycznych. W trakcie diagnostyki genetycznej użyto technik zarówno klasycznej cytogenetyki, jak i badań molekularnych. Germinalne DNA zostało wyizolowane z próbek krwi obwodowej oraz z komórek nabłonka policzka pobranych podczas wymazu.

Badaniu ankietowemu poddano grupę 505 pacjentów, w tym 273 (54%) chłopców, w wieku 6.5 (IQR: 3-12) lat. Najczęstsze rozpoznanie histopatologiczne stanowiły białaczki, zespoły mieloproliferacyjne i mielodysplastyczne – 198 (39%), guzy ośrodkowego układu nerwowego – 96 (19%) oraz chłoniaki – 61 (12%).

Najczęstszym spełnionym spośród 5 ocenianych kryteriów była nietypowa dla wieku pacjenta lub związana z wysokim ryzykiem mutacji germinalnej histopatologia nowotworu – 57 (11%) chorych. Obecność wrodzonych wad i anomalii rozwojowych przed zdiagnozowaniem nowotworu potwierdzono u 44 (9%) chorych. Warunek dodatniego wywiadu

rodzinnego w badaniu ankietowym spełniło 21 (4) pacjentów należących do 18 rodzin (w 3 rodzinach analizie poddano dwoje dzieci z rozpoznaną chorobą nowotworową). U 16 (3) badanych stwierdzono cechy nadmiernej toksyczności prowadzonego leczenia onkologicznego. U ośmiorga (2%) dzieci rozpoznano drugi i kolejny złośliwy nowotwór przed ukończeniem 18r.ż.

Trzystu siedemdziesięciu dwóch pacjentów (372/505, stanowili oni 73,7% badanej grupy) nie spełniło żadnego kryterium badania ankietowego i otrzymało tym samym 0 punktów w ankiecie. Sto jednaścioro dzieci (111/505) otrzymało 1 punkt w badaniu ankietowym i zostało zakwalifikowanych do konsultacji genetyczno – onkologicznej. Dziewiętnaścioro pediatrycznych pacjentów z nowotworem spełniło więcej niż jedno kryterium ankiety i zostało zakwalifikowanych do badań genetycznych. W Spośród tej grupy dzieci: czternaścioro pacjentów (14/505; 2,8%) spełniło dwa kryteria ankiety i otrzymało 2 punkty, czworo (4/505; 0,8%) – 3 punkty, jedna pacjentka (1/505; 0,2%) uzyskała 4 punkty.

W kolejnym etapie pracy dzieci z dodatnim wynikiem badania ankietowego były konsultowane genetyczno-onkologicznie oraz genetycznie. Spośród grupy pacjentów z jednym i więcej punktem uzyskanym w ankiecie, ostatecznie do badań genetycznych zakwalifikowano 108 pacjentów (21,4% badanej grupy). Badania genetyczne zostały wykonane u 84 pacjentów, co stanowiło 78% zakwalifikowanych do badań, a 16,6% całej grupy poddanej badaniu ankietowemu. Wariant patogenny (P) danego genu wykryto u 27 dzieci, prawdopodobnie patogenny (LP) u 8 pacjentów, natomiast wariant o nieznanym znaczeniu u 14 dzieci. Sumarycznie obecność germinalnych mutacji związanych z rozwojem nowotworu stwierdzono u 35 pacjentów spośród 505, co stanowi 6,93% badanej grupy. W 35 przypadkach nie wykryto dotychczas żadnej znanej aktualnie mutacji potencjalnie związanej z rozwojem nowotworu i tych pacjentów zakwalifikowano do dalszej diagnostyki genetycznej.

Porównując grupę pacjentów z wykrytą patogenną lub prawdopodobnie patogenną mutacją do grupy pacjentów, którzy uzyskali 0 punktów w badaniu ankietowym pod kątem rozpoznania histopatologicznego według ICCC stwierdzono, że żaden pacjent z guzem wątroby nie uzyskał 0 punktów w badaniu ankietowym (0%), podczas gdy 3 (100%) pacjentów z hepatoblastomą (nowotwór markerowy zgodnie z drugim kryterium ankiety), u których wykonano badania genetyczne uzyskało pozytywny wynik badania genetycznego ($p=0,0006$). Analogiczny wynik uzyskano dla nowotworów nabłonkowych i czerniaków: 2 (40%) versus 3

(60%; $p=0,0051$). Świadczy to o zdecydowanym udziale mutacji germinalnych w powstawaniu tych rodzajów nowotworów.

Jednym z istotnych czynników korelujących dodatnio z częstością identyfikacji mutacji sprawczej nowotworu była liczba punktów uzyskanych w ankiecie przez dane dziecko: 4 punkty – 1 dziecko – 100%; 3 punkty – 3 spośród 4 dzieci – 75%; 2 punkty – 6 spośród 14 dzieci – 43%, 1 punkt – 42 dzieci spośród 111 – 38%),

W grupie dzieci z dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku chorób nowotworowych stwierdzono obecność potencjalnie patogennych mutacji u 8 dzieci spośród 18 poddanych badaniom (44%). Wyniki badań genetycznych u pacjentów z histopatologią nowotworu związaną z wysokim ryzykiem mutacji germinalnej lub nietypowej dla wieku pacjenta wyniki badań genetycznych wykazały wariant patogenny lub prawdopodobnie patogenny u 27/57 badanych (47%). U 6/8 pacjentów (75%), którzy rozwinęli drugi nowotwór, potwierdzona została obecność mutacji germinalnej będącej potencjalną przyczyną nowotworu. Wyniki badań genetycznych pacjentów, u których stwierdzono współwystępowanie wrodzonych wad i anomalii rozwojowych wykazały obecność wariantu patogennego lub prawdopodobnie patogennego u 9/44, co stanowi 40%. Na podstawie analizy zmian na poziomie genowym dzieci z objawami nadmiernej toksyczności leczenia u 7/16 pacjentów (44%) zidentyfikowano patogenny lub prawdopodobnie wariant minimum genu odpowiadający za rozwój chorób nowotworowych.

Najczęstszym rozpoznanym zespołem genetycznym leżącym u podłoża rozwoju nowotworu był zespół Li-Fraumeni – troje dzieci, u dwojga dzieci rozpoznano rodzinną polipowatość gruczolakowatą (FAP) oraz u kolejnych dwojga nerwiakowłóknikowatość typu 1. Ponadto zdiagnozowano zespół Nijmegen, Blooma, niedokrwistość Fanconiego oraz u trojga dzieci z guzami jajnika nieprawidłowy kariotyp.

Wnioski wynikające z przeprowadzonych badań:

1. Zastosowanie ankiety opracowanej przez *Host Genetic Variation Working Group* wśród dzieci z chorobą nowotworową pozwala na wyłonienie reprezentatywnej grupy do badań genetycznych.
2. Wyselekcjonowana przy użyciu ankiety grupa pacjentów uzyskuje w ponad 40% dodatni wynik badania genetycznego

3. Większa liczba punktów uzyskanych w ankiecie przekłada się na większy odsetek dodatnich wyników badania genetycznego
4. Częstość genetycznej predyspozycji do wystąpienia nowotworu na podstawie zaproponowanego algorytmu kwalifikacji do badania genetycznego to 7%
5. Najwyższe ryzyko uzyskania dodatniego wyniku badania genetycznego mają pacjenci, u których zdiagnozowano drugi nowotwór
6. Najczęściej rozpoznawanym zespołem genetycznym leżącym u podłoża rozwoju nowotworu był zespół Li-Fraumeni.