

**Γεφυρώνοντας μεγάλα ομικά, γενετικά και
ιατρικά δεδομένα για την ευρεία εφαρμογή της
Ιατρικής Ακριβείας στην Ελλάδα**

ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ Π3.1

**«Ανάλυση διαχωρισμού (segregation analysis)
παραλλαγών άγνωστης κλινικής σημασίας σε οικογένειες
με ιστορικό καρκίνου»**

Φορέας	Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών «Αλέξανδρος Φλέμινγκ»
Τύπος Παραδοτέου	Άλλο
Ημερομηνία Υποβολής Παραδοτέου	31 Δεκεμβρίου 2025
Ενότητα Εργασίας	Ενότητα Εργασίας 3 «Κληρονομικός Καρκίνος - Επαναξιολόγηση Δεδομένων Αλληλούχησης Ασθενών»

Εισαγωγή

Το φάσμα των παθογόνων/πιθανώς παθογόνων παραλλαγών των ασθενών με οικογενή καρκίνο μαστού ή/και ωοθηκών στον Ελληνικό πληθυσμό παρουσιάζει μεγάλη γενετική ετερογένεια η οποία επηρεάζεται από ισχυρά ιδρυτικά φαινόμενα [1, 2]. Παρόλα αυτά έχουν ταυτοποιηθεί γενετικές παραλλαγές σε γονίδια προδιάθεσης καρκίνου μαστού ή ωοθηκών οι οποίες είναι αδιευκρίνιστης κλινικής σημασίας (VUS) και απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση προκειμένου να αξιολογηθεί περαιτέρω η παθογονικότητα και να γίνει χαρακτηρισμός και κατηγοριοποίηση αυτών. Οι παραλλαγές αυτές είναι κυρίως παρανοηματικές (missense variants), εδράζονται σε γονίδια υψηλής ή μεσαίας διεισδυτικότητας και αποτελούν γκρίζα ζώνη καθώς η κλινική τους βαρύτητα τους είναι ασαφής. Ο χαρακτηρισμός και η αποσαφήνιση του ρόλου των παραλλαγών τους αυτών μπορεί να εξηγήσει ένα ποσοστό κληρονομικών περιστατικών καρκίνου, βελτιώνοντας την κλινική διαχείριση των ογκολογικών ασθενών και των οικογενειών τους.

Σκοπός

Η παρούσα μελέτη έχει ως στόχο τον χαρακτηρισμό και την κατηγοριοποίηση παρανοηματικών παραλλαγών αδιευκρίνιστης κλινικής σημασίας, παρέχοντας πρόσθετα στοιχεία για την παθογονικότητά τους και τη συσχέτιση με την προδιάθεση σε κακοήθειες.

Ομάδα Μελέτης και Μεθοδολογία

Ασθενείς με καρκίνο μαστού ή ωοθηκών που πληρούσαν τα διεθνή κριτήρια παραπομπής γονιδιακού ελέγχου (www.nccn.org) είχαν παραπεμφθεί στο Εργαστήριο Μοριακής Γενετικής του Ανθρώπου (ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος) από συνεργαζόμενες ογκολογικές κλινικές και αναλύθηκαν για γονίδια προδιάθεσης στον καρκίνο. Οι ασθενείς είχαν προηγουμένως υπογράψει έγγραφη συγκατάθεση και ακολούθως σχεδιάστηκε λεπτομερές γενεαλογικό δέντρο τουλάχιστον τριών γενεών το οποίο συνοδευόταν από κλινικές πληροφορίες και ιστοπαθολογικές εκθέσεις. Η συλλογή των πληροφοριών έχει ακολουθήσει τους κανόνες GDPR.

Η γενετική ανάλυση των ασθενών πραγματοποιήθηκε με μαζική παράλληλη αλληλούχηση χρησιμοποιώντας το πολύ-γονιδιακό πάνελ TruSight Hereditary Cancer panel (Illumina, San Diego, USA) που περιλαμβάνει 113 γονίδια προδιάθεσης στον καρκίνο [1]. Ακολούθως αναλυτικής ενημέρωσης και έγγραφης συγκατάθεσης των εξ αίματος συγγενών τους (ασθενείς και ασυμπτωματικά άτομα), ακολούθησε ο στοχευμένος έλεγχος (**cascade testing**) για την ανιχνευθείσα γενετική παραλλαγή, η οποία πραγματοποιήθηκε με αλληλούχηση DNA κατά Sanger [1]. Η αξιολόγηση της παθογονικότητας των παρανοηματικών παραλλαγών που ταυτοποιήθηκαν πραγματοποιήθηκε μέσω της μεθόδου του **συν-διαχωρισμού (co-segregation analysis)** προκειμένου να διερευνηθεί αν οι συγκεκριμένες παραλλαγές συν-κληρονομούνται με κακοήθεις διαγνώσεις. Η κατηγοριοποίηση των παραλλαγών πραγματοποιήθηκε με βάση τις οδηγίες του Αμερικανικού Κολλεγίου Ιατρικής Γενετικής (American College of Medical Genetics-ACMG) [3], ενώ χρησιμοποιήθηκαν και τα τρέχοντα επιστημονικά δεδομένα από διεθνείς βάσεις δεδομένων, *in silico* εργαλεία πρόβλεψης της παθογονικότητας και τη σχετική βιβλιογραφία.

Αποτελέσματα - Συζήτηση

Συνολικά, επιλέχθηκαν τέσσερις παρανοηματικές γενετικές αλλαγές και συγκεκριμένα οι: (α) *BRCAl*, c.5057A>G, p.(His1686Arg), (β) *BRIP1*, c.2327C>A, p.(Ala776Asp), (γ) *RAD51C* c.80T>C, p.(Leu27Pro) και (δ) *TP53*, c.697C>A, p.(His233Asn). Τα ανωτέρω γονίδια αποτελούν γονίδια προδιάθεσης στον καρκίνο του μαστού ή/και των ωοθηκών.

(α) *BRCAl*, c.5057A>G, p.(His1686Arg)

Η σπάνια παρανοηματική αλλαγή **c.5057A>G, p.(His1686Arg)** του γονιδίου *BRCAl*, ανιχνεύθηκε σε ασθενή, η οποία είχε διαγνωσθεί με διηθητικό πορογενές καρκίνωμα του μαστού, χαμηλής διαφοροποίησης (grade 3), σε ηλικία 36 ετών. Ο όγκος ήταν ορμονοευαίσθητος, με δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού, Ki67, 50%, και παρουσίασε διήθηση σε δύο λεμφαδένες. Η ασθενής είχε βεβαρυμμένο οικογενειακό ιστορικό, με πολλαπλά περιστατικά καρκίνου του μαστού και ωοθηκών σε συγγενείς της. Πιο συγκεκριμένα, στην οικογένεια καταγράφηκαν τέσσερα περιστατικά καρκίνου του μαστού, ένα περιστατικό καρκίνου των ωοθηκών και ένα περιστατικό καρκίνου του θυρεοειδούς. Από τη μητρική πλευρά της οικογένειας, η αδελφή της γιαγιάς της ασθενούς αναφοράς, είχε διαγνωσθεί με καρκίνο του μαστού σε ηλικία 73 ετών και απεβίωσε σε ηλικία 80 ετών. Η μεγαλύτερη κόρη της εμφάνισε ετερόπλευρο καρκίνο του μαστού σε ηλικίες 56 και 62 ετών αντίστοιχα, ενώ η μικρότερη κόρη διαγνώστηκε με καρκίνο του θυρεοειδούς σε ηλικία 48 ετών. Επίσης, η κόρη του αδελφού της γιαγιάς είχε καρκίνο του μαστού σε ηλικία 36 ετών, ενώ η μία κόρη του αδελφού της γιαγιάς ανέπτυξε καρκίνο των ωοθηκών σε ηλικία 51 ετών και απεβίωσε σε ηλικία 54 ετών (Εικόνα 1).

Για να αξιολογηθεί η παθογονικότητα της παραλλαγής **p.(His1686Arg)** του γονιδίου *BRCAl*, ακολούθησε στοχευμένος έλεγχος των συγγενών της ασθενούς αναφοράς. Συνολικά, αναλύθηκαν 15 συγγενείς, εκ των οποίων οι 12 ήταν ασυμπτωματικοί και οι 3 είχαν διαγνωσθεί με κακοήθεια. Συμπεριλαμβάνοντας και την ασθενή αναφοράς, η εν λόγω παραλλαγή συνυπάρχει με την εμφάνιση κακοήθειας του μαστού σε τέσσερα άτομα στην οικογένεια (Εικόνα 1).

Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως οι γυναίκες του γενικού πληθυσμού έχουν 12% πιθανότητα, συγκριτικά με το ~72% των γυναικών που φέρουν **σαφώς/πιθανό παθογόνο** παραλλαγή στο *BRCAl*, να εκδηλώσουν καρκίνο του μαστού σε κάποια στιγμή της ζωής τους. Επιπρόσθετα, σημειώνεται αυξημένος κίνδυνος δεύτερης πρωτοπαθούς διάγνωσης κακοήθειας των μαστών, η οποία υπολογίζεται ως ~40% δια βίου. Αντίστοιχα, η πιθανότητα των γυναικών που φέρουν παθογόνους παραλλαγές στο γονίδιο *BRCAl* να αναπτύξουν καρκίνο ωοθηκών κατά τη διάρκεια της ζωής τους είναι ~44% σε σύγκριση με το 1.5% στο γενικό γυναικείο πληθυσμό [4].

Η παραλλαγή **p.(His1686Arg)** εδράζεται σε μία περιοχή της πρωτεΐνης BRCA1 με πολύ σημαντική λειτουργικότητα (BRCT domain). Η θέση του κωδικονίου 1686 είναι ιδιαίτερα συντηρημένη μεταξύ των ειδών, γεγονός που τονίζει τη σημαντικότητα της παραλλαγής. Τα *in silico* εργαλεία προβλέπουν ότι η συγκεκριμένη παραλλαγή είναι επιβλαβής για τη λειτουργία της πρωτεΐνης. Η παραλλαγή δεν έχει καταγραφεί σε πληθυσμιακές βάσεις δεδομένων (όπως η gnomAD) αλλά έχει ανιχνευθεί σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού [5] καθώς και σε συγγενείς τους μέσω της ανάλυσης διαχωρισμού. Επιπλέον, καταγράφεται στη βάση δεδομένων ClinVar (Variation ID: 183179). Τα αποτελέσματα από *in vitro* πειραματικές μελέτες δείχνουν ότι η παραλλαγή διαταράσσει τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης BRCA1, με προγνωστική αξία 95% [6, 7]. Στη συνέχεια, πρόσθετες λειτουργικές μελέτες (The saturation

genome editing -SGE assay) κατέδειξαν ότι πρόκειται για μια γενετική αλλαγή που οδηγεί σε απώλειας λειτουργίας (function score = -1.34) [6].

Με βάση τα ανωτέρω δεδομένα, η παραλλαγή ανα-κατηγοριοποιείται ως πιθανώς παθογόνος (likely pathogenic, class 4). Συνεπώς, η παραλλαγή **p.(His1686Arg)** στο γονίδιο *BRCAl* είναι κλινικά σημαντική και προδιαθέτει σε κακοήθειες του μαστού και των ωοθηκών. Η ύπαρξη της παραλλαγής οφείλει να ληφθεί υπόψιν για τη διαχείριση και την παρακολούθηση των συγγενών της ασθενούς.

(β) *BRIP1*, c.2327C>A, p.(Ala776Asp)

Η παρανοηματική παραλλαγή **c.2327C>A, p.(Ala776Asp)** του γονιδίου *BRIP1* ανιχνεύθηκε σε ετεροζυγωτία σε ασθενή, η οποία διαγνώστηκε με ορώδη καρκίνο των ωοθηκών, χαμηλής διαφοροποίησης (grade 3), σε ηλικία 55 ετών και απεβίωσε δύο χρόνια αργότερα, σε ηλικία 57 ετών. Στο πλαίσιο της διερεύνησης της παθογονικότητας της παραλλαγής αυτής, πραγματοποιήθηκε στοχευμένος έλεγχος των συγγενών της. Αρχικά, ελέγχθηκε η μητέρα της αρχικά εξεταζόμενης, η οποία είχε διαγνωσθεί με καρκίνο του ενδομητρίου ενδομητριοειδούς τύπου (grade 1) και με κακοήθεια των ωοθηκών ορώδους τύπου στην ίδια ηλικία (80 ετών). Η μητέρα της ασθενούς αναφοράς έφερε την παραλλαγή στο γονίδιο *BRIP1*, σε ετεροζυγωτία. Στη συνέχεια, αναλύθηκε η κόρη της ασθενούς αναφοράς, 33 ετών, η οποία είναι ασυμπτωματική και δεν έφερε τη συγκεκριμένη παραλλαγή. Επιπλέον, ελέγχθηκε η θεία της ασθενούς αναφοράς, η οποία είχε διαγνωσθεί με ορώδη καρκίνωμα των ωοθηκών, χαμηλής διαφοροποίησης (grade 3), και περιτοναϊκές εμφυτεύσεις η οποία απεβίωσε σε ηλικία 71 ετών. Η ασθενής αυτή έφερε την ίδια παραλλαγή. Ακολούθησε ο έλεγχος των δύο κορών της θείας, οι οποίες είναι πρώτες ξαδέλφες της ασθενούς αναφοράς. Η πρώτη κόρη είναι 47 ετών, ασυμπτωματική και η δεύτερη κόρη 58 ετών, έχει διαγνωσθεί με κακοήθεια νεφρού στην ίδια ηλικία. Καμία εξ' αυτών δεν έφερε τη συγκεκριμένη παραλλαγή.

Επιπρόσθετα, η δεύτερη αδελφή της μητέρας της ασθενούς αναφοράς, είχε νοσήσει από κακοήθεια των ωοθηκών σε ηλικία 68 ετών και απεβίωσε σε ηλικία 73 ετών, ωστόσο δεν ελέγχθηκε για την παραλλαγή. Το αναλυτικό γενεαλογικό δέντρο της οικογένειας παρουσιάζεται στην **Εικόνα 2**. Η παραλλαγή φαίνεται να συνυπάρχει με τη διάγνωση κακοήθειας ωοθηκών στην οικογένεια. Να σημειωθεί, πως οι γυναίκες που φέρουν παθογόνους παραλλαγές στο γονίδιο *BRIP1* σχετίζονται με αυξημένη δια βίου πιθανότητα εκδήλωσης κακοήθειας των σαλπίνγων και των ωοθηκών, η οποία κυμαίνεται μεταξύ 5%-15% [8] σε σύγκριση με την αντίστοιχη πιθανότητα του γενικού πληθυσμού που υπολογίζεται στο 1.5%.

Η εν λόγω παραλλαγή αφορά την αντικατάσταση της αλανίνης (ουδέτερο, μη-πολικό αμινοξύ) με το ασπαρτικό (όξινο, πολικό αμινοξύ) στο κωδικόνιο 776, δημιουργώντας μια αλλαγή με διαφορετικές ιδιότητες αμινοξέων. Αυτή η αμινοξική θέση είναι ιδιαίτερα συντηρημένη εξελικτικά μεταξύ των ειδών. Παράλληλα, τα *in silico* εργαλεία δείχνουν ότι η παραλλαγή αυτή επηρεάζει αρνητικά τη δομή και τη λειτουργία της πρωτεΐνης *BRIP1* (REVEL score threshold ≥ 0.7), [9]. Παρομοίως, προηγμένα μοντέλα που μελετούν την αλληλουχία και τις βιοφυσικές ιδιότητες της πρωτεΐνης (δομή, λειτουργία, χωροταξικές πληροφορίες, βαθμός συντηρημένων αμινοξέων, φυσικοχημική ποικιλομορφία, θερμοδυναμική σταθερότητα) υποδεικνύουν πως αυτή η παραλλαγή διαταράσσει τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης *BRIP1* με προγνωστική αξία 80% (ClinVar, Variation ID: 530292). Επίσης, η παραλλαγή αυτή δεν έχει καταγραφεί ποτέ στις πληθυσμιακές βάσεις δεδομένων (όπως το gnomAD), αλλά έχει αναφερθεί σε διεθνή βιβλιογραφία σε ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών [10].

Με βάση τα περιγραφόμενα δεδομένα, η παραλλαγή δεν δύναται να ανακατηγοριοποιηθεί, αλλά υπάρχει ισχυρή ένδειξη για την παθογονικότητα της παραλλαγής. Τα παραπάνω δεδομένα

πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά τη διαχείριση της ασθενούς και την παρακολούθηση των συγγενών της.

(γ) *RAD51C*, c.80T>C, p.(Leu27Pro)

Η παραιοηματική παραλλαγή c.80T>C, p.(Leu27Pro) στο γονίδιο *RAD51C* έχει ανιχνευθεί σε 17 ανεξάρτητες οικογένειες με καρκίνο μαστού, ωθηκών και ενδομητρίου. Στην **Εικόνα 3** φαίνεται το γενεαλογικό δέντρο μίας εκ των 17 οικογενειών που φέρει την παραιοηματική παραλλαγή p.(Leu27Pro) στο γονίδιο *RAD51C*. Συνολικά, έχουν αναλυθεί 22 άτομα συμπεριλαμβανομένων των ασθενών αναφοράς και των συγγενών τους και τα αποτελέσματα της ανάλυσης συνομίζονται στον **Πίνακα 1**. Η παραλλαγή αυτή έχει ταυτοποιηθεί κυρίως σε ασθενείς με καρκίνο μαστού ή ωθηκών, ενώ στις περισσότερες περιπτώσεις παρατηρείται οικογενειακό ιστορικό κληρονομικών τύπων κακοήθειας, κυρίως μαστού ή/και ωθηκών. Ειδικότερα, η παραλλαγή συνυπάρχει με τη διάγνωση κακοήθειας ωθηκών ή μαστού.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως οι γυναίκες που φέρουν παθογόνους παραλλαγές στο γονίδιο *RAD51C* σχετίζονται με αυξημένη δια βίου πιθανότητα εκδήλωσης κακοήθειας των σαλπίνγων και των ωθηκών, η οποία κυμαίνεται μεταξύ 10%-15% [11] σε σύγκριση με την αντίστοιχη πιθανότητα του γενικού πληθυσμού που υπολογίζεται στο 1.5%. Επιπλέον, η πιθανότητα των γυναικών που φέρουν παθογόνους παραλλαγές στο γονίδιο *RAD51C* να αναπτύξουν καρκίνο του μαστού κατά τη διάρκεια της ζωής τους είναι ~20% σε σύγκριση με το 12% στο γενικό γυναικείο πληθυσμό [11].

Τα υπολογιστικά μοντέλα δείχνουν ότι η παραλλαγή αυτή έχει επιβλαβή επίδραση στη δομή και τη λειτουργία της πρωτεΐνης [9]. Μια λειτουργική μελέτη υποδεικνύει ότι η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη παρουσιάζει μειωμένη ενεργότητα στο μονοπάτι επιδιόρθωσης βλαβών μέσω του ομόλογου ανασυνδυασμού [12]. Μοντέλα που μελετούν την αλληλουχία και τις βιοφυσικές ιδιότητες της πρωτεΐνης υποδηλώνουν ότι αλλαγή p.(Leu27Pro) διαταράσσει τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης *RAD51C* με προγνωστική αξία 80% [12, 13]. Η παραλλαγή έχει ταυτοποιηθεί σε ασθενείς με καρκίνο μαστού [14] ή ωθηκών [12, 15] στη διεθνή βιβλιογραφία, ενώ δεν έχει καταγραφεί στο γενικό πληθυσμό (βάση δεδομένων gnomAD). Επιπλέον, η παραλλαγή έχει καταγραφεί και στη βάση δεδομένων ClinVar (Variation ID: 140837).

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, η παραλλαγή ανακατηγοριοποιείται ως πιθανώς παθογόνος (likely pathogenic-Class 4). Τα παραπάνω δεδομένα πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά τη διαχείριση της ασθενούς και την παρακολούθηση των συγγενών της.

(δ) F5044, *TP53*, c.697C>A, p.(His233Asn)

Η παραιοηματική παραλλαγή c.697C>A, p.(His233Asn) του γονιδίου *TP53* ανιχνεύθηκε αρχικά σε μία ασθενή που είχε διαγνωσθεί με λοβιακό, διηθητικό καρκίνο του μαστού, μεσαίας διαφοροποίησης (grade 2) σε ηλικία 47 ετών. Ο όγκος της ήταν θετικός για τους υποδοχείς των οιστρογόνων και της προγεστερόνης ενώ δεν υπήρχε υπερ-έκφραση του HER2. Παράλληλα, η αδελφή της ασθενούς αναφοράς είχε διαγνωσθεί με καρκίνο του μαστού σε ηλικία 52 ετών. Στην οικογένεια της ασθενούς από την πατρική πλευρά, ο αδελφός του πατέρα τους είχε διαγνωσθεί με καρκίνο του προστάτη σε ηλικία περίπου 70 ετών. Από τη μητρική πλευρά, η αδελφή της μητέρας τους είχε επίσης διαγνωσθεί με καρκίνο του μαστού σε ηλικία 53 ετών, ενώ ο γιος της δεύτερης αδελφής της μητέρας τους είχε αναπτύξει καρκίνο του προστάτη. Οι γονείς της ασθενούς αναφοράς, ηλικίας 95 ετών, ήταν ασυμπτωματικοί και δεν είχαν διαγνωσθεί με κακοήθεια (Εικόνα 4).

Για να αξιολογηθεί η παθογονικότητα της παραλλαγής c.697C>A, ελέγχθηκαν οι γονείς της ασθενούς αναφοράς. Η μητέρα της, η οποία είναι 95 ετών και δεν είχε διαγνωσθεί ποτέ με κακοήθεια έφερε την παραλλαγή p.(His233Asn) σε ετεροζυγωτία. Αυτό το εύρημα είναι ιδιαίτερα σημαντικό, λαμβάνοντας υπόψη ότι το ογκοκατασταλτικό γονίδιο *TP53* είναι ένα υψηλής διεισδυτικότητας γονίδιο, σχετίζεται με το σύνδρομο Li-Fraumeni και τα άτομα που φέρουν παθογόνους παραλλαγές σε αυτό έχουν έναν πολύ υψηλό δια βίου κίνδυνο >90% να αναπτύξουν κακοήθειες έως την ηλικία των 70 ετών, όπως σάρκωμα, καρκίνωμα επινεφριδίων, κακοήθεια εγκεφάλου, μαστού σε νεαρή ηλικία).

Επιπλέον, έχουν πραγματοποιηθεί λειτουργικές δοκιμασίες που έδειξαν ότι η αντικατάσταση του αμινοξέος της ιστιδίνης από την ασπαραγίνη στο κωδικόνιο 233 δεν επηρεάζει την πρόσδεση της πρωτεΐνης TP53 στο DNA, και η αποτελεσματικότητα παραμένει η ίδια με εκείνη της πρωτεΐνης αγρίου τύπου. Παρά το γεγονός ότι η παραλλαγή αυτή εδράζεται σε περιοχή της πρωτεΐνης με σημαντικό λειτουργικό ρόλο, δε φαίνεται να αλλάζει ουσιαστικά τη δομή της πρωτεΐνης [16, 17]. Η συγκεκριμένη παραλλαγή έχει καταγραφεί σε ασυμπτωματικά άτομα άλλες δύο φορές και όχι σε ασθενείς με σύνδρομο Li-Fraumeni.

Με βάση τα παραπάνω, η παραλλαγή **p.(His233Asn)** στο γονίδιο *TP53* χαρακτηρίζεται ως πιθανώς μη επιβλαβής (likely benign, class 2). Η εν λόγω κατηγοριοποίηση κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική για την λήψη αποφάσεων της ασθενούς, καθώς και την ενημέρωση των συγγενών της.

Συμπεράσματα

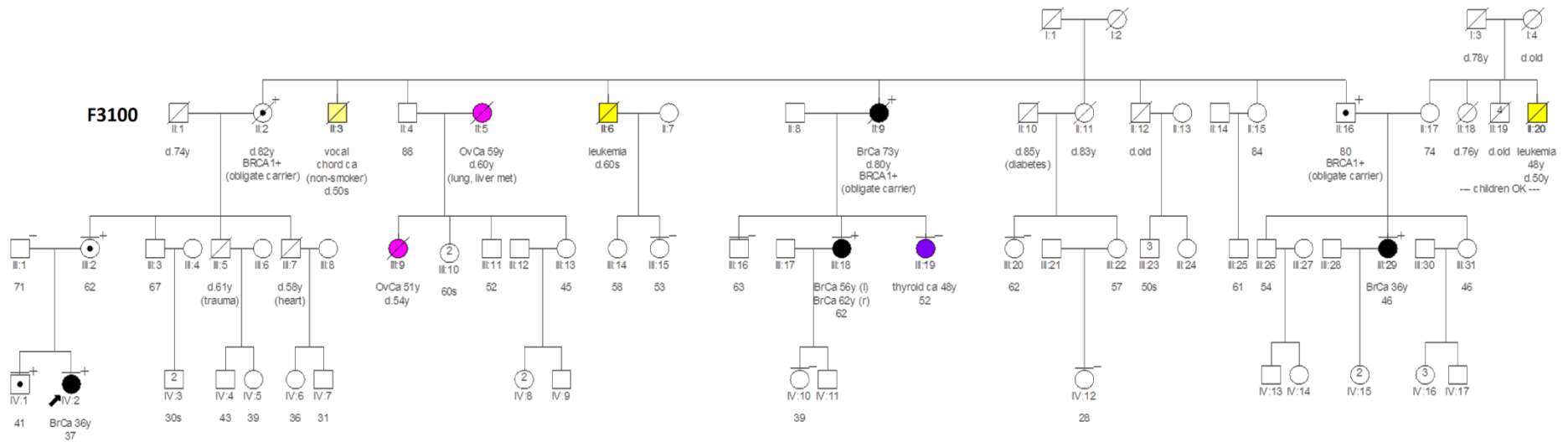
Τα αποτελέσματα από την ανάλυση διαχωρισμού, σε συνδυασμό με τα δεδομένα από τις λειτουργικές δοκιμασίες, τη συχνότητα εμφάνισης των παραλλαγών στον πληθυσμό και την εφαρμογή των κριτηρίων ACMG, συμβάλλουν ουσιαστικά στην αποσαφήνιση του ρόλου των παρνοηματικών παραλλαγών ως προς την παθογονικότητά τους. Αυτή η ολοκληρωμένη ανάλυση επιτρέπει την ασφαλή κατηγοριοποίησή τους, γεγονός που συμβάλει ουσιαστικά στη βέλτιστη κλινική διαχείριση των ασθενών και των οικογενειών τους.

Όσο αφορά την αξιολόγηση της προόδου του έργου σε σχέση με τους αρχικούς στόχους, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η ενότητα εργασίας έχει προχωρήσει εξαιρετικά, με όλους τους στόχους να επιτυγχάνονται πλήρως. Οι βασικοί στόχοι οι οποίοι περιλάμβαναν την ταυτοποίηση των γενετικών παραλλαγών και την αποσαφήνιση του ρόλου τους στην παθογονικότητα, έχουν επιτευχθεί με επιτυχία. Το έργο κατάφερε να ανιχνεύσει σημαντικές παραλλαγές σε γονίδια που σχετίζονται με την προδιάθεση στον καρκίνο και να εξάγει ασφαλή συμπεράσματα για την παθογονικότητά τους. Η λήψη πολύ λεπτομερών γενεαλογικών δέντρων, σε συνδυασμό με τις ιστολογικές εξετάσεις, παρείχε πολύτιμες πληροφορίες για τον ρόλο αυτών των παραλλαγών, προσφέροντας ουσιαστική βοήθεια στην κλινική διαχείριση και πρόληψη. Τα παραπάνω επιτεύγματα αναδεικνύουν την επιτυχία του έργου και τη δυνατότητά του να ανταποκριθεί στις αρχικές προσδοκίες και στόχους.

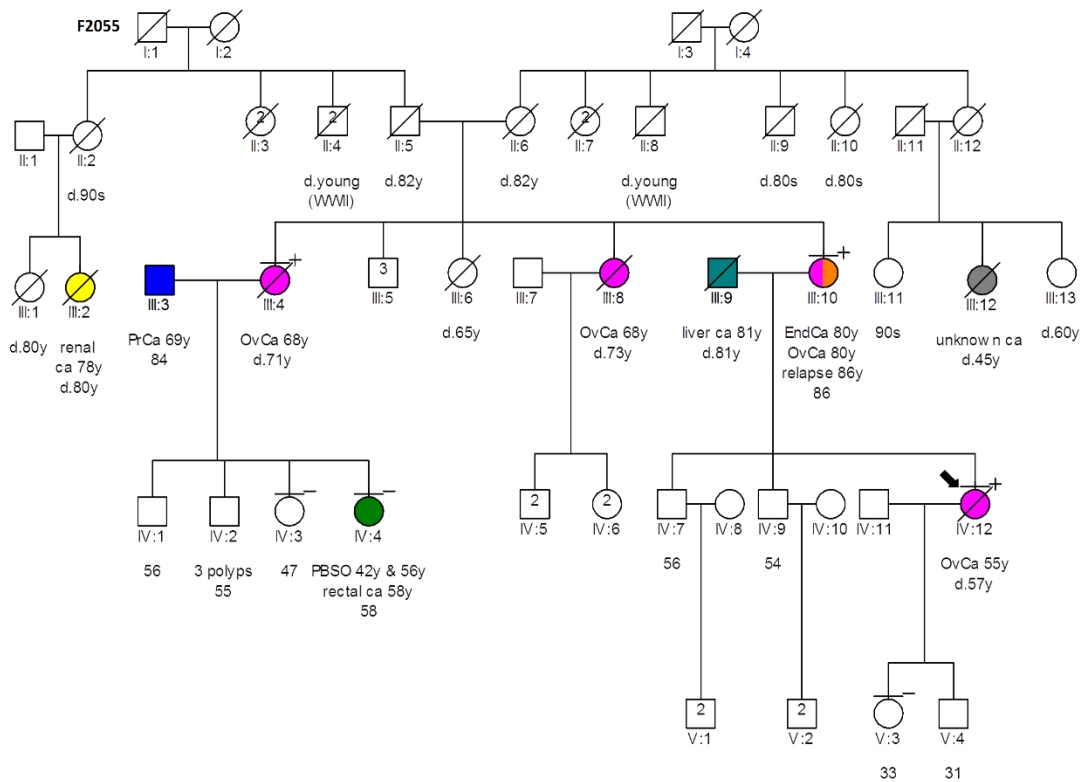
Βιβλιογραφία

- [1] Fostira F, Kostantopoulou I, Apostolou P, Papamentzelopoulou MS, Papadimitriou C, Faliakou E, Christodoulou C, Boukovinas I, Razis E, Tryfonopoulos D, Barbounis V, Vagena A, Vlachos IS, Kalfakakou D, Fountzilias G, Yannoukakos D. One in three highly selected Greek patients with breast cancer carries a loss-of-function variant in a cancer susceptibility gene. *J Med Genet* 2020;57:53-61.
- [2] Konstantopoulou I, Rampias T, Ladopoulou A, Koutsodontis G, Armaou S, Anagnostopoulos T, Nikolopoulos G, Kamakari S, Nounesis G, Stylianakis A, Karanikiotis C, Razis E, Gogas H, Keramopoulos A, Gaki V, Markopoulos C, Skarlos D, Pandis N, Bei T, Arzimanoglou I, Fountzilias G, Yannoukakos D. Greek BRCA1 and BRCA2 mutation spectrum: two BRCA1 mutations account for half the carriers found among high-risk breast/ovarian cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2008;107:431-41.
- [3] Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL, Committee ALQA. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405-24.
- [4] Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, Phillips KA, Mooij TM, Roos-Blom MJ, Jervis S, van Leeuwen FE, Milne RL, Andrieu N, Goldgar DE, Terry MB, Rookus MA, Easton DF, Antoniou AC, Brca, Consortium BC, McGuffog L, Evans DG, Barrowdale D, Frost D, Adlard J, Ong KR, Izatt L, Tischkowitz M, Eccles R, Davidson R, Hodgson S, Ellis S, Nogues C, Lasset C, Stoppa-Lyonnet D, Fricker JP, Faivre L, Berthet P, Hoening MJ, van der Kolk LE, Kets CM, Adank MA, John EM, Chung WK, Andrulis IL, Southey M, Daly MB, Buys SS, Osorio A, Engel C, Kast K, Schmutzler RK, Caldes T, Jakubowska A, Simard J, Friedlander ML, McLachlan SA, Machackova E, Foretova L, Tan YY, Singer CF, Olah E, Gerdes AM, Arver B, Olsson H. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA* 2017;317:2402-16.
- [5] Couch FJ, Hart SN, Sharma P, Toland AE, Wang X, Miron P, Olson JE, Godwin AK, Pankratz VS, Olswold C, Slettedahl S, Hallberg E, Guidugli L, Davila JI, Beckmann MW, Janni W, Rack B, Ekici AB, Slamon DJ, Konstantopoulou I, Fostira F, Vratimos A, Fountzilias G, Pelttari LM, Tapper WJ, Durcan L, Cross SS, Pilarski R, Shapiro CL, Klemp J, Yao S, Garber J, Cox A, Brauch H, Ambrosone C, Nevanlinna H, Yannoukakos D, Slager SL, Vachon CM, Eccles DM, Fasching PA. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol* 2015;33:304-11.
- [6] Findlay GM, Daza RM, Martin B, Zhang MD, Leith AP, Gasperini M, Janizek JD, Huang X, Starita LM, Shendure J. Accurate classification of BRCA1 variants with saturation genome editing. *Nature* 2018;562:217-22.
- [7] Bouwman P, van der Gulden H, van der Heijden I, Drost R, Klijn CN, Prasetyanti P, Pieterse M, Wientjens E, Seibler J, Hogervorst FB, Jonkers J. A high-throughput functional complementation assay for classification of BRCA1 missense variants. *Cancer Discov* 2013;3:1142-55.
- [8] Ramus SJ, Song H, Dicks E, Tyrer JP, Rosenthal AN, Intermaggio MP, Fraser L, Gentry-Maharaj A, Hayward J, Philpott S, Anderson C, Edlund CK, Conti D, Harrington P, Barrowdale D, Bowtell DD, Alsop K, Mitchell G, Group AS, Cicek MS, Cunningham JM, Fridley BL, Alsop J, Jimenez-Linan M, Poblete S, Lele S, Sucheston-Campbell L, Moysich KB, Sieh W, McGuire V, Lester J, Bogdanova N, Durst M, Hillemanns P, Ovarian Cancer Association C, Odunsi K, Whittemore AS, Karlan BY, Dork T, Goode EL, Menon U, Jacobs IJ, Antoniou AC, Pharoah PD, Gayther SA. Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN Genes in Women With Ovarian Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015;107.
- [9] Ioannidis NM, Rothstein JH, Pejaver V, Middha S, McDonnell SK, Baheti S, Musolf A, Li Q, Holzinger E, Karyadi D, Cannon-Albright LA, Teerlink CC, Stanford JL, Isaacs WB, Xu J, Cooney KA, Lange EM, Schleutker J, Carpten JD, Powell IJ, Cussenot O, Cancel-Tassin G, Giles GG, MacInnis RJ, Maier C, Hsieh CL, Wiklund F, Catalona WJ, Foulkes WD, Mandal D, Eccles RA, Kote-Jarai Z, Bustamante CD, Schaid DJ, Hastie T, Ostrander EA, Bailey-Wilson JE, Radivojac P, Thibodeau SN, Whittemore AS, Sieh W. REVEL: An Ensemble Method for Predicting the Pathogenicity of Rare Missense Variants. *Am J Hum Genet* 2016;99:877-85.
- [10] Andrikopoulou A, Zografos E, Apostolidou K, Kyriazoglou A, Papatheodoridi AM, Kaparelou M, Koutsoukos K, Lontos M, Dimopoulos MA, Zagouri F. Germline and somatic variants in ovarian carcinoma: A next-generation sequencing (NGS) analysis. *Front Oncol* 2022;12:1030786.
- [11] (NCCN) NCCN. NCCN clinical practice guidelines in oncology: Genetic/familial high-risk assessment – Breast, ovarian, pancreatic, and prostate 2025. Available at: www.nccn.org Accessed.
- [12] Prakash R, Rawal Y, Sullivan MR, Grundy MK, Bret H, Mihalevic MJ, Rein HL, Baird JM, Darrah K, Zhang F, Wang R, Traina TA, Radke MR, Kaufmann SH, Swisher EM, Guerois R, Modesti M, Sung P, Jasin M, Bernstein KA. Homologous recombination-deficient mutation cluster in tumor suppressor RAD51C identified by comprehensive analysis of cancer variants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022;119:e2202727119.
- [13] Hu C, Nagaraj AB, Shimelis H, Montalban G, Lee KY, Huang H, Lumby CA, Na J, Susswein LR, Roberts ME, Marshall ML, Hiraki S, LaDuca H, Chao E, Yussuf A, Pesaran T, Neuhausen SL, Haiman CA, Kraft P, Lindstrom S, Palmer JR, Teras LR, Vachon CM, Yao S, Ong I, Nathanson KL, Weitzel JN, Boddicker N, Gnanaolivu R, Polley EC, Mer G, Cui G, Karam R, Richardson ME, Domchek SM, Yadav S, Hruska KS, Dolinsky J, Weroha SJ, Hart SN, Simard J, Masson JY, Pang YP, Couch FJ. Functional and Clinical Characterization of Variants of Uncertain Significance Identifies a Hotspot for Inactivating Missense Variants in RAD51C. *Cancer Res* 2023;83:2557-71.

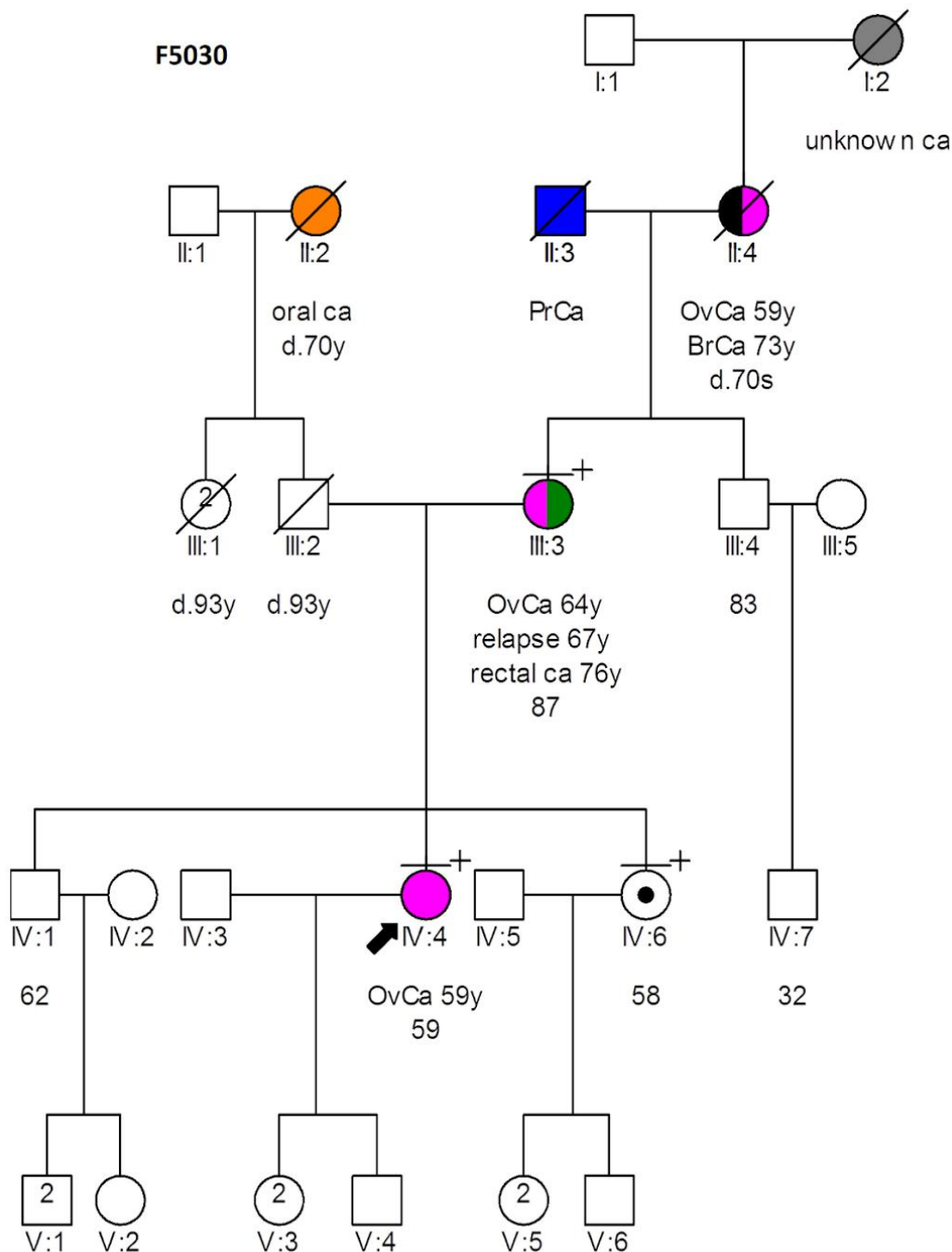
- [14] Andrikopoulou A, Chatzinikolaou S, Kyriopoulos I, Bletsas G, Kaparelou M, Liontos M, Dimopoulos MA, Zagouri F. The Mutational Landscape of Early-Onset Breast Cancer: A Next-Generation Sequencing Analysis. *Front Oncol* 2021;11:797505.
- [15] Song H, Dicks E, Ramus SJ, Tyrer JP, Intermaggio MP, Hayward J, Edlund CK, Conti D, Harrington P, Fraser L, Philpott S, Anderson C, Rosenthal A, Gentry-Maharaj A, Bowtell DD, Alsop K, Cicek MS, Cunningham JM, Fridley BL, Alsop J, Jimenez-Linan M, Hogdall E, Hogdall CK, Jensen A, Kjaer SK, Lubinski J, Huzarski T, Jakubowska A, Gronwald J, Poblete S, Lele S, Sucheston-Campbell L, Moysich KB, Odunsi K, Goode EL, Menon U, Jacobs IJ, Gayther SA, Pharoah PD. Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population. *J Clin Oncol* 2015;33:2901-7.
- [16] Malcikova J, Tichy B, Damborsky J, Kabathova J, Trbusek M, Mayer J, Pospisilova S. Analysis of the DNA-binding activity of p53 mutants using functional protein microarrays and its relationship to transcriptional activation. *Biol Chem* 2010;391:197-205.
- [17] Ahn J, Poyurovsky MV, Baptiste N, Beckerman R, Cain C, Mattia M, McKinney K, Zhou J, Zupnick A, Gottifredi V, Prives C. Dissection of the sequence-specific DNA binding and exonuclease activities reveals a superactive yet apoptotically impaired mutant p53 protein. *Cell Cycle* 2009;8:1603-15.



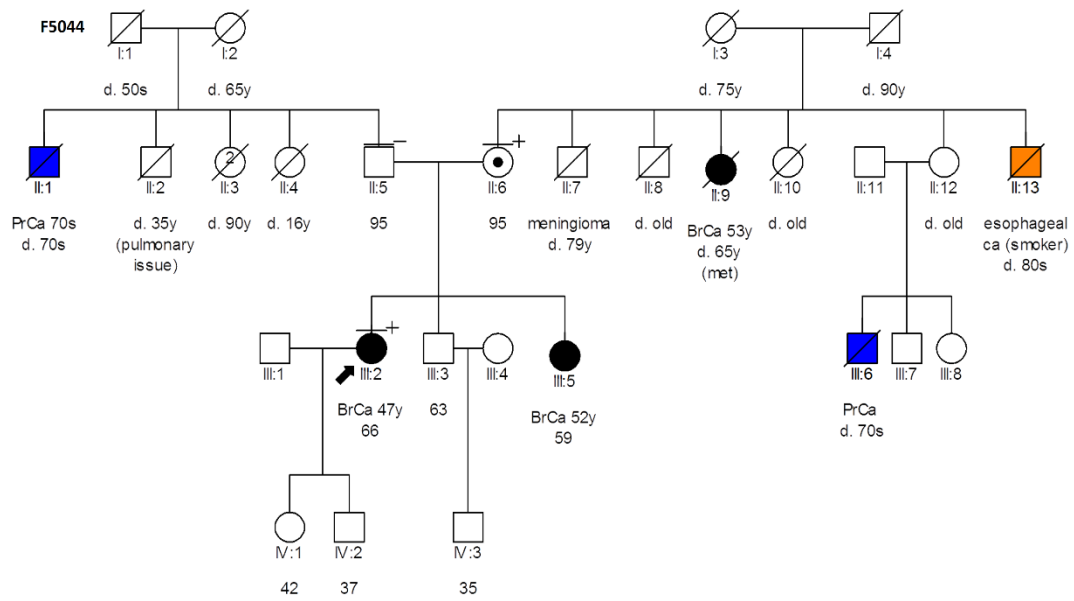
Εικόνα 1. Γενεαλογικό δέντρο της οικογένειας στην οποία ταυτοποιήθηκε η γενετική παραλλαγή *c.2327C>A, p.(Ala776Asp)*, στο γονίδιο *BRCA1*. Η ασθενής αναφοράς υποδεικνύεται με το βέλος. Οι μαύροι κύκλοι αντιστοιχούν σε περιστατικά καρκίνου του μαστού ενώ τα έγχρωμα σύμβολα αντιπροσωπεύουν άλλες κακοήθειες. Leukemia: λευχαιμία, OvCa (ovarian cancer): καρκίνος των ωθηκών, thyroid ca (thyroid cancer): καρκίνος θυρεοειδούς, vocal ca (vocal cancer): καρκίνος φωνητικών χορδών



Εικόνα 2. Γενεαλογικό δέντρο της οικογένειας στην οποία ταυτοποιήθηκε η γενετική παραλλαγή *c.2327C>A, p.(Ala776Asp)*, στο γονίδιο *BRIP1*. Η ασθενής αναφοράς υποδεικνύεται με το βέλος. Οι ροζ κύκλοι αντιστοιχούν σε περιστατικά καρκίνου των ωθηκών ενώ τα έγχρωμα σύμβολα αντιπροσωπεύουν άλλες κακοήθειες. EndCa (endometrial cancer): καρκίνος ενδομητρίου, Liver ca (liver cancer): καρκίνος ήπατος, PrCa (prostate cancer): καρκίνος προστάτη, Rectal ca (rectal cancer): καρκίνος του ορθού, Renal ca (renal cancer): καρκίνος νεφρού, unknown ca (unknown cancer): άγνωστο πρωτοπαθές, WWII (Word War II)



Εικόνα 3. Γενεαλογικό δέντρο της οικογένειας στην οποία ταυτοποιήθηκε η γενετική παραλλαγή $c.80T>C$, $p.(Leu27Pro)$, στο γονίδιο *RAD51C*. Η ασθενής αναφοράς υποδεικνύεται με το βέλος. Οι ροζ κύκλοι αντιστοιχούν σε περιστατικά καρκίνου των ωοθηκών ενώ τα έγχρωμα σύμβολα αντιπροσωπεύουν άλλες κακοήθειες. BrCa (breast cancer): καρκίνος μαστού, Oral ca (oral cancer): καρκίνος στόματος, PrCa (prostate cancer): καρκίνος προστάτη, Rectal ca (rectal cancer): καρκίνος του ορθού, unknown ca (unknown cancer): άγνωστο πρωτοπαθές



Εικόνα 4. Γενεαλογικό δέντρο της οικογένειας στην οποία ταυτοποιήθηκε η γενετική παραλλαγή $c.697C>A, p.(His233Asn)$, στο γονίδιο *TP53*. Η ασθενής αναφοράς υποδεικνύεται με το βέλος. Οι μαύροι κύκλοι αντιστοιχούν σε περιστατικά καρκίνου του μαστού ενώ τα έγχρωμα σύμβολα αντιπροσωπεύουν άλλες κακοήθειες. BrCa (breast cancer): καρκίνος μαστού, PrCa (prostate cancer): καρκίνος προστάτη, esophageal ca (esophageal cancer): καρκίνος οισοφάγου



Πίνακας 1. Ανάλυση διαχωρισμού, ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά και πληροφορίες για το οικογενειακό ιστορικό των οικογενειών των ασθενών αναφοράς και των συγγενών τους που αναλύθηκαν για τη γενετική παραλλαγή c.80T>C, p.(Leu27Pro) του γονιδίου *RAD51C*.

Κωδικός οικογένειας	Ατομικό ιστορικό	Ηλικία διάγνωσης (έτη)	Ιστοπαθολογία	Διαφοροποίηση όγκου (grade)	Υποδοχέας ER	Υποδοχέας PR	HER2	Οικογενειακό ιστορικό	Αποτέλεσμα ανάλυσης
125he	Ασυμπτωματική							Ναι (BrCa x2)	Θετικό
292he	Ασυμπτωματική							Ναι (BrCa x2, PrCa x1)	Θετικό
116enc	Καρκίνος ενδομητρίου	35	Ενδομητριοειδές					Ναι (BrCa x1)	Θετικό
3958s	Καρκίνος ωοθηκών	48	Ορώδες	3				Όχι	Θετικό
4849s	Καρκίνος ωοθηκών	59	Ορώδες	3				Ναι (BrCa x1)	Θετικό
1339	Καρκίνος μαστού	26	Πορογενές	3	Αρνητικός	Αρνητικός	Αρνητικός	Ναι (BrCa x2)	Θετικό
2058	Καρκίνος ωοθηκών	56	Ορώδες	3				Ναι (OvCa x1)	Θετικό
2110	Καρκίνος μαστού	44	Πορογενές	2	Θετικός	Θετικός	Αρνητικός	Ναι (BrCa x3, gyn ca x1, PrCa x1)	Θετικό
2136	Καρκίνος μαστού	36	Μυελοειδές	3	Αρνητικός	Αρνητικός	Αρνητικός	Ναι (BrCa x1)	Θετικό
2959	Καρκίνος ωοθηκών	54	Ορώδες	Μη διαθέσιμο				Ναι (OvCa x1)	Θετικό
3001	Καρκίνος μαστού & ωοθηκών & παγκρέατος	44, 58, 58	Πορογενές/βλεννώδες/αδenoκαρκίνωμα	2	Θετικός	Θετικός	Αρνητικός	Ναι (BrCa x1)	Θετικό

3001α	Καρκίνος μαστού	42	Λοβιακό <i>in situ</i>		Θετικός	Μη διαθέσιμος	Μη διαθέσιμος		Θετικό
3001β	Ασυμπτωματικός								Αρνητικό
3001γ	Ασυμπτωματική								Αρνητικό
3111	Καρκίνος ωοθηκών	51	Ενδομητριοειδές	2				Ναι (BrCa x2, PrCa x1)	Θετικό
3644	Καρκίνος μαστού	38	Πορογενές	3	Θετικός	Αρνητικός	Αρνητικός	Όχι	Θετικό
3933	Καρκίνος ωοθηκών	49	Ενδομητριοειδές	3				Ναι (OvCa x1, BrCa x1, PrCa x1)	Θετικό
4639	Καρκίνος μαστού	32	Πορογενές	3	Αρνητικός	Αρνητικός	Αρνητικός	Όχι	Θετικό
5030	Καρκίνος ωοθηκών	59	Ορώδες	3				Ναι (OvCa x2, EndCa x1, BrCa x1)	Θετικό
5030α	Καρκίνος ωοθηκών	64							Θετικό
5030β	Ασυμπτωματική								Θετικό
5206	Καρκίνος μαστού	55	Πορογενές	3	Αρνητικός	Αρνητικός	Αρνητικός	Ναι (BrCa x2, gyn Ca x1)	Θετικό

BrCa (breast cancer): καρκίνος μαστού, EndCa (endometrial cancer): καρκίνος ενδομητρίου, OvCa (ovarian cancer): καρκίνος ωοθηκών, PrCa (prostate cancer): καρκίνος προστάτη, gyn ca (gynecologic cancer): γυναικολογικός καρκίνος