

Τίτλος Διδακτορικής Διατριβής: «*Ανάλυση γενωμικού προφίλ και προσδιορισμός φορτίου μεταλλαγών του όγκου σε υγρή βιοψία.*»

Υποψήφια Διδάκτωρ: . Φλώρου Χατζηγιαννίδου Χρυσή

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

- 1) ΧΡΗΣΤΟΣ ΠΑΠΑΔΗΜΗΤΡΙΟΥ, Παθολόγος-Ογκολόγος, Καθηγητής Ιατρικής, Υπεύθυνος Ογκολογικής Μονάδας Αρεταίειου Νοσοκομείου, ΕΚΠΑ, Αθήνα (Επιβλέπων)
- 2) Μανούσος Κωνσταντουλάκης, Καθηγητής Χειρουργικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Διευθυντής Β΄ Χειρουργικής Κλινικής ΕΚΠΑ, Αρεταίειο Νοσοκομείο, ΕΚΠΑ, Αθήνα
- 3) Κωνσταντίνος Μπράμης, Επίκουρος Καθηγητής Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Αρεταίειο Νοσοκομείο, ΕΚΠΑ, Αθήνα

Σύντομη περίληψη Διδακτορικής Διατριβής

Εισαγωγή: Η ανάλυση του μοριακού προφίλ του όγκου και ο υπολογισμός της τιμής TMB (Tumor Mutational Burden) πραγματοποιείται σε καρκινικό ιστό εγκλεισμένο σε παραφίνη. Παρόλα αυτά έχει αρκετά μειονεκτήματα που σχετίζονται κυρίως με την επεμβατικότητα της διαδικασίας λήψης υλικού, ενώ συχνά δεν αποτυπώνει επαρκώς την ετερογένεια του όγκου, δυσχαιρένοντας την θεραπευτική προσέγγιση. Αντιθέτως, η CGP (Comprehensive Genomic Profiling) και ο υπολογισμός του TMB στο πλάσμα (PlasmaTMB-PTMB) αντιπροσωπεύουν τη βιολογία του καρκίνου, καθιστούν εφικτή την παρακολούθηση του ασθενούς σε πραγματικό χρόνο και αναμένεται να υπερισχύουν του ιστού, σε περιπτώσεις μη προσβάσιμου/εγχειρήσιμου όγκου και μεταστατικών αλλοιώσεων. Πρόβλημα παραμένει η μη επαρκής τυποποίηση (standardization) των μεθοδολογιών ανάλυσης σε πλάσμα (Whole Exome Sequencing / στοχευμένα panel γονιδίων) καθώς και τα ποσοστά ασυμφωνίας τόσο μεταξύ των διαφορετικών τεχνολογιών, όσο και μεταξύ ιστού και πλάσματος.

Μέθοδος: Θα πραγματοποιηθεί απομόνωση καρκινικού DNA από ιστούς εγκλεισμένους σε παραφίνη και απομόνωση ελεύθερου κυκλοφορούντος DNA από πλάσμα, σε 100 ασθενείς με συμπαγή όγκο. Θα γίνει η ανάλυση γενωμικού προφίλ σε πλάσμα και σε ιστό και θα αναπτυχθεί κατάλληλος αλγόριθμος για τον προσδιορισμό του PTMB. Επιπλέον θα απομονωθεί το γενετικό υλικό των λευκοκυττάρων των ασθενών, ώστε να γίνει η ταυτοποίηση των μεταλλαγών που αντιστοιχούν αποκλειστικά στο ελεύθερο καρκινικό DNA. Η ανίχνευση μεταλλαγών θα πραγματοποιηθεί με τη μέθοδο αλληλούχησης επόμενης γενιάς (στοχευμένο panel γονιδίων). Τέλος, θα γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων και με διαφορετική πλατφόρμα αλληλούχησης.

Αποτελέσματα: Η μελέτη θα εστιάσει στη στατιστική ανάλυση των δεδομένων, τη σύγκριση της αντλούμενης πληροφορίας από ιστό και πλάσμα και την παρακολούθηση των ασθενών (follow-up) που θα λάβουν θεραπεία βάσει της υγρής βιοψίας. Σκοπός είναι να αξιολογηθεί η κλινική χρησιμότητα της υγρής βιοψίας για την καθημερινή κλινική πράξη.

Συμπέρασμα: Η υγρή βιοψία δύναται να αποτελέσει μία εναλλακτική, μη επεμβατική και εξίσου αξιόπιστη μέθοδο CGP ανάλυσης και μέτρησης δεικτών για στοχεύουσα θεραπεία και ανοσοθεραπεία.

Title of the PhD Thesis: "*Comprehensive Genomic Profiling (CGP) and Tumor Mutational Burden (TMB) assessment in liquid biopsy*"

PhD Candidate: Florou – Chatzigiannidou Chryssiis, MSc

Three-member Advisory Committee:

- 1) Mr. Christos Papadimitriou, Pathologist – Oncologist, Professor of Therapeutic Oncology, Head of Oncology Unit, Aretaieio Hospital, NKUA, Athens (supervisor)
- 2) Manousos Konstantoulakis, Professor of Surgery, Medical University of NKUA, Director of B' Surgical Department NKUA, Aretaieio Hospital, NKUA, Athens
- 3) Konstantinos Bramis, Assistant Professor of Surgery Medical University of NKUA, Aretaieio Hospital, NKUA, Athens

Brief Summary of the PhD Thesis

Introduction: Tumor molecular profiling and TMB (Tumor Mutational Burden) assessment is currently performed via analysis of paraffin-embedded (FFPE) cancer tissue. Nevertheless, it has several disadvantages, mainly related to the invasiveness of the method, while it does not adequately capture the heterogeneity of the tumor, complicating the therapeutic approach. In contrast, CGP (Comprehensive Genomic Profiling) and TMB (PTMB) assessment through liquid biopsy overcome such disadvantages, enabling the real-time monitoring of patients. Liquid biopsies are expected to outperform tissue biopsies, in cases of inaccessible/unresectable tumors and metastatic lesions. However, there is no sufficient standardization of plasma protocols (Whole Exome Sequencing / targeted gene panels). Furthermore, different levels of concordance between different technologies and in matched tissue and plasma genomic profiles are observed.

Methods: Tissue DNA, from paraffin-embedded tissues (FFPE), and cell free DNA (cfDNA) from plasma will be extracted from 100 patients with solid tumors. Plasma and tissue genomic profiling will be carried out by next-generation sequencing (targeted gene panel). An appropriate PTMB algorithm will be developed. Additionally, the isolated genomic DNA from whole peripheral blood will be used for the characterization of ctDNA (circulating tumor DNA) – derived only variants. Finally, the genomic profiling data will be compared to those produced from a different sequencing platform.

Results: The study will focus on the statistical analysis of the NGS obtained data, the comparison between tissue and plasma derived information and the follow-up of patients, treated based on liquid biopsy results. The purpose of this study is to evaluate the clinical utility of liquid biopsy for daily clinical practice.

Conclusion: Liquid biopsy might be an alternative, non-invasive and equally reliable method of CGP analysis for targeted therapy and immunotherapy.