

Mgr inż. Monika Pępek

**Charakterystyka nowych zmian genetycznych w przewlekłej
białaczce szpikowej u chorych w różnych stadiach choroby
przy zastosowaniu sekwencjonowania następnej generacji**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr med. Tomasz Stokłosa

Zakład Immunologii / Zakład Biologii i Genetyki Nowotworów



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023 r.

STRESZCZENIE

Charakterystyka nowych zmian genetycznych w przewlekłej białaczce szpikowej u chorych w różnych stadiach choroby przy zastosowaniu sekwencjonowania następnej generacji.

Przewlekła białaczka szpikowa (CML, ang. *chronic myeloid leukemia*) jest pierwszym nowotworem, którego rozwój powiązano ze zmianą genetyczną, translokacją chromosomową t(9;22)(q34;q11) prowadzącą do powstania chromosomu Filadelfia z onkogenem *BCR::ABL1*. Inhibitory kinaz tyrozynowych nakierowane na *BCR::ABL1* stanowią skuteczną metodę leczenia CML, jednak u części chorych obserwowana jest oporność na stosowaną terapię. Mechanizmy oporności dzieli się na zależne i niezależne od *BCR::ABL1*. Sekwencjonowanie następnej generacji (NGS, ang. *next-generation sequencing*) umożliwia identyfikację zmian genetycznych istotnych w patogenezie i progresji wielu chorób, w tym chorób nowotworowych. Przedmiotem niniejszej pracy doktorskiej była charakterystyka nowych zmian genetycznych u chorych na CML z niekorzystnym przebiegiem choroby. W tym celu sekwencjonowaniu NGS poddano 45 próbek pochodzących od chorych w fazie blastycznej (BP, ang. *blast phase*) oraz próbki sprzed progresji CML, które były dostępne dla 25 chorych. Analiza wariantów w 193 genach istotnych w patogenezie nowotworów układu krwiotwórczego oraz onkogenezie wykazała obecność zmian o potencjalnym znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym. Zidentyfikowano zmiany punktowe i małe insercje-delecje w genach często zmutowanych w nowotworach układu krwiotwórczego takich jak: *ABL1*, *ASXL1*, *RUNX1*, *DNMT3A* i *TP53*. Zmiany liczby kopii (dotyczące genów *IKZF1*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *BCR::ABL1*) oraz dodatkowe aberracje chromosomowe (m.in. monosomia chromosomu 7 oraz złożony kariotyp) obserwowane były odpowiednio wyłącznie w próbkach z fazy BP oraz zarówno w fazie BP jak i przed progresją CML. Analiza porównawcza patogennych wariantów i zmian liczby kopii w 25 sparowanych próbkach sprzed i po progresji CML pozwoliła na identyfikację 7 wzorców dynamiki zmian genetycznych obserwowanych w wyniku nabywania, utrzymywania się i zanikania aberracji. Wariantem zarodkowym, dotychczas nieopisanym w nowotworach był przetworzony pseudogen *SMAD4* (Ψ *SMAD4*), którego obecność zidentyfikowano w 12% sparowanych próbek (3/25). Poszerzona analiza wykazała istotny wzrost częstości jego występowania w CML w porównaniu do częstości obserwowanej w populacji polskiej,

co więcej wzrost ten nie był obserwowany w innych typach białaczek tj. przewlekłej białaczce limfocytowej, ostrej białaczce szpikowej oraz ostrej białaczce limfoblastycznej. Analiza RNAseq wykazała, że Ψ SMAD4 nie ulega transkrypcji i tym samym nie reguluje ekspresji genu rodzicielskiego, ani innych, niepowiązanych genów. Poza obecnością Ψ SMAD4, profil wykrytych zmian u chorych z pseudogenem jest zbliżony do typowego profilu obserwowanego w CML. Na podstawie przeprowadzonych badań wydaje się więc, że Ψ SMAD4 jest wariantem zarodkowym niemającym bezpośredniego wpływu na progresję CML, a określenie jego roli w patogenezie CML wymaga dalszych badań.