

mgr inż. Marcin Machnicki

**Określenie profilu mutacji genetycznych w raku  
gardła dolnego i raku krtani przy użyciu  
sekwencjonowania wysokoprzepustowego oraz  
poszukiwanie nowych zmian o potencjalnym znaczeniu  
klinicznym**

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

Promotor: prof. dr hab. n. med. Dominika Nowis

Zakład Immunologii / Zakład Biologii i Genetyki Nowotworów



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022

## Streszczenie

**Tytuł:** Określenie profilu mutacji genetycznych w raku gardła dolnego i raku krtani przy użyciu sekwencjonowania wysokoprzepustowego oraz poszukiwanie nowych zmian o potencjalnym znaczeniu klinicznym.

Płaskonabłonkowy rak głowy i szyi stanowi grupę chorób nowotworowych o zróżnicowanym występowaniu i przebiegu oraz niewielkiej liczbie użytecznych markerów klinicznych. Należący do tej grupy rak gardła dolnego wyróżnia się najgorszym rokowaniem, a jednocześnie, pomimo gwałtownego rozwoju technik sekwencjonowania wysokoprzepustowego, pozostaje najsłabiej scharakteryzowany pod względem genetycznym.

W niniejszej pracy przeprowadzono profilowanie genetyczne 23 i 25 próbek HPV-ujemnych raków, odpowiednio, gardła dolnego i krtani za pomocą celowanego sekwencjonowania wysokoprzepustowego (egzomowego oraz sekwencjonowania panelami genów). Profil mutacji małej skali oraz zmian liczby kopii był zbliżony do wcześniej opublikowanych wyników badań genetycznych w raku głowy i szyi. Wśród genów, które we wcześniejszych badaniach określono jako istotnie często zmutowane w raku głowy i szyi oraz raku przełyku, w badanej grupie najczęściej zmutowane były *TP53*, *FAT1*, *NOTCH1*, *KMT2C*, *CDKN2A* i *KMT2D*, natomiast najczęstszymi zmianami liczby kopii były amplifikacje *CCND1* oraz delecje *CDKN2A/B*. W ponad ¾ analizowanych guzów stwierdzono obecność mutacji o potencjalnej użyteczności klinicznej, wpływających na przebieg cyklu komórkowego, naprawę uszkodzeń DNA lub szlaki sygnałacyjne RTK/RAS/ERK i PI3K. Z wykorzystaniem wcześniej opublikowanych danych przeprowadzono także porównanie profilów mutacji małej skali w 67 rakach gardła dolnego i 595 innych rakach głowy i szyi. Nie stwierdzono znaczących różnic w częstości występowania mutacji 18 analizowanych genów, z wyjątkiem *CASP8* i *HRAS*.

W badanej grupie chorych stwierdzono relatywnie dużą częstość inaktywujących mutacji genu metylotransferazy histonów *KMT2C*, której rola w raku głowy i szyi nie została dotąd zbadana. Za pomocą techniki CRISPR-Cas9 wyindukowano mutacje *KMT2C* w linii komórkowej raka gardła dolnego FaDu i zaobserwowano, że ich obecność zwiększa zdolność tworzenia kolonii oraz tempo proliferacji komórek. Wskazuje to, że w raku głowy i szyi *KMT2C* pełni rolę genu supresorowego.