

STRESZCZENIE

Ostra białaczka limfoblastyczna T-komórkowa (*T-cell acute lymphoblastic leukemia*, T-ALL) jest podtypem ostrej białaczki limfoblastycznej, najczęstszego nowotworu wieku dziecięcego. Współcześnie około 80-90% dzieci z T-ALL osiąga trwałą remisję choroby, jednak wciąż problemem klinicznym pozostaje występowanie pierwotnej oporności na leczenie i wznowy choroby. Wznowa występuje u około 15-20% dzieci z T-ALL i rokuje bardzo niekorzystnie: prawdopodobieństwo przeżycia 3 lat nie przekracza 15%. Z tego powodu wysiłki naukowe skupiają się na próbach identyfikacji nowych markerów prognostycznych, w tym markerów genetycznych i klasyfikacji podtypów T-ALL o znaczeniu rokowniczym. Pacjenci z grupy wysokiego ryzyka wznowy, zidentyfikowani już na wczesnym etapie leczenia, mogą być skierowani do przeszczepienia komórek hematopoetycznych szpiku kostnego, bądź na terapię eksperymentalną z zastosowaniem nowych leków, w tym leków celowanych, bądź immunoterapii. Identyfikacja nowych czynników prognostycznych ma prowadzić do minimalizacji ryzyka wystąpienia wznowy, której leczenie jest trudne i zwykle mało skuteczne.

W niniejszej pracy doktorskiej podjęto próbę identyfikacji czynników genetycznych o znaczeniu prognostycznym w T-ALL u dzieci leczonych w Polsce według protokołów terapeutycznych międzynarodowej grupy I-BFM: ALL IC-BFM 2002 i ALL IC-BFM 2009. Obecność wybranych czynników genetycznych tj.: obecności translokacji t(8;14)(q24;q11) z udziałem onkogenu *MYC*; oraz mutacje i zmiany liczby kopii onkogenów i genów supresorowych zaangażowanych w patogenezę T-ALL: *NOTCH1*, *FBXW7*, *PTEN*, *WT1*, *IL7R*, *STAT5B*, *FLT3*, *RUNX1*, *DNMT3A*, *SIL-TAL1*, *LEF1*, *CASP8AP2*, *MYB*, *EZH2*, *CDKN2A/B*, *MLL2*, *NUP214-ABL1*, *LMO1*, *LMO2*, *NF1*, *SUZ12*, *PTPN2* i *PHF6* korelowano z danymi klinicznymi (cechami klinicznymi w rozpoznaniu choroby, odpowiedzią na leczenie oraz wskaźnikami przeżycia pacjentów po zakończeniu leczenia).

Grupę badaną stanowiło 162 dzieci z T-ALL leczonych w Polsce według protokołów terapeutycznych międzynarodowej grupy I-BFM: ALL IC-BFM 2002 i ALL IC-BFM 2009. Mutacje i zmiany liczby kopii badanych genów wykrywano z użyciem technik: amplifikacji multipleks zależnej od ligacji sond molekularnych (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*, MLPA), analizy topnienia DNA z wysoką rozdzielczością (*High Resolution Melt*, HRM), sekwencjonowania Sangera oraz sekwencjonowania nowej generacji całego genomu z niskim pokryciem (*shallow whole genome sequencing*, sWGS). t(8;14)(q24;q11) wykrywano przy pomocy klasycznego badania cytogenetycznego metodą GTG oraz fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (*fluorescent in situ hybridization*, FISH).

Przedstawione w pracy wyniki badań wskazują, iż klon białaczkowy charakteryzujący się obecnością translokacji t(8;14)(q24;q11) z udziałem onkogenu *MYC* i współwystępującą delecją *PTEN* oraz *CDKN2A/B* jest klonem opornym na leczenie według standardowego programu chemioterapii i podlega selekcji klonalnej w trakcie leczenia. Opisany profil molekularny, tj.: obecność t(8;14)(q24;q11) wraz z delecją *PTEN* i *CDKN2A/B* może potencjalnie stanowić marker niekorzystnego rokowania dziecięcej T-ALL. Ponadto, uzyskane wyniki wskazują, iż mutacje i/lub delecje *PTEN* (*PTEN.ABN*) zwiększają ryzyko niekorzystnego rokowania u dzieci z T-ALL leczonych wg międzynarodowych protokołów terapeutycznych ALL IC-BFM 2002 oraz ALL IC-BFM 2009 i stanowią potencjalny marker molekularny białaczki T-ALL wysokiego ryzyka. Dodatkowo, status *PTEN.ABN* dostarcza dodatkowej informacji prognostycznej względem minimalnej choroby resztkowej ocenianej metodą cytometrii przepływowej (FC-MRD). Uzyskane wyniki wskazują również, iż mutacje *DNMT3A* mają ograniczony udział w patogenezie dziecięcej T-ALL. Wykorzystanie technik analizy topnienia DNA z wysoką rozdzielczością oraz sekwencjonowania Sangera stanowi alternatywę dla sekwencjonowania nowej generacji i mogą znaleźć praktyczne zastosowanie w badaniu statusu mutacji *DNMT3A* w nowotworach hematologicznych, charakteryzujących się wysoką częstością mutacji tego genu (np. w ostrej białaczce szpikowej, AML).