

GENOMICZNY PROFIL OPORNOŚCI NA ANTRACYKLINY W DZIECIĘCYCH OSTRYCH BIAŁACZKACH

Ostre białaczki (AL), w tym ostra białaczka limfoblastyczna (ALL) i ostra białaczka mieloblastyczna (AML) są najczęstszymi nowotworami wieku dziecięcego. ALL stanowi 80% zachorowań poniżej 18. roku życia, natomiast na AML choruje około 15% dzieci z AL. W protokołach chemioterapeutycznych stosuje się leki antracyklinowe (doksorubicyna, daunorubicyna, idarubicyna, mitoksantron). Jednym z poważniejszych problemów leczenia przeciwbiałaczkowego jest zjawisko oporności na cytostatyki. Technologia mikromacierzowa umożliwia szczegółowe poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za zróżnicowaną odpowiedź na leki na wielu płaszczyznach, w tym genomu oraz transkryptomu.

Celem niniejszej pracy było wskazanie potencjalnych determinantów braku wrażliwości na wybrane antracykliny w kontekście badań z wykorzystaniem technik mikromacierzowych (CGH oraz ekspresyjnych).

W badaniach uczestniczyli pacjenci pediatryczni ze zdiagnozowaną ALL lub AML, od których pobrano szpik. Z komórek jednojądrzastych materiał do badań izolowano metodami kolumnienkowymi. DNA potrzebne było do przeprowadzenia eksperymentów metodą aCGH, natomiast RNA do macierzy ekspresyjnych. Próby analizowano pod względem jakościowym i ilościowym, znakowano, poddawano reakcji fragmentacji i oczyszczaniu. Preparaty hybrydyzowano do odpowiednich macierzy. Wszystkie etapy doświadczeń laboratoryjnych przeprowadzono zgodnie z protokołami producentów odczynników. Wyniki uzyskane w eksperymentach mikromacierzowych z sondami fluorescencyjnymi poddawano szczegółowej analizie bioinformatycznej oraz statystycznej. Wyniki z analizy mikromacierzowej zweryfikowano metodą qPCR dla wybranej grupy genów. Zidentyfikowano charakterystyczne rearanżacje cytogenetyczne i geny o zróżnicowanym poziomie ekspresji. Przeprowadzono także analizę ontologiczną.

Na podstawie wyników analiz wykazano, że podłoże oporności na antracykliny w ostrych białaczkach pediatrycznych jest zjawiskiem złożonym. U podstaw leżą nie tylko delecje czy duplikacje fragmentów chromosomów, ale również bardziej subtelne zmiany w poziomie ekspresji wielu genów. Najliczniej reprezentowane były geny odpowiedzialne za metabolizm kwasów nukleinowych, w tym czynniki transkrypcyjne. Ponadto znaczące były także geny regulujące apoptozę, szlaki sygnałowe integryn i chemokin oraz geny uczestniczące w aktywacji limfocytów B i T. Wspomniane zaburzenia mechanizmów wewnątrzkomórkowych

prowadzą głównie do ominięcia apoptozy komórek białaczkowych, ich wzmożonej proliferacji, zaburzenia adhezji międzykomórkowej, a także zahamowania aktywacji limfocytów B i T.

Analizowane profile cytogenetyczne i ekspresyjne umożliwiły identyfikację nowych markerów braku wrażliwości na antracykliny. Na podstawie uzyskanych wyników można wytypować nowe cele kolejnych badań naukowych, które mogą wspomóc efektywność terapii przeciwbiałaczkowej. Wśród wskazanych nowych potencjalnych markerów są receptory limfocytów B i T (geny *CD*), geny odpowiedzialne za wiązanie receptorów (geny *SI100*) i transport komórkowy (geny *SLC*), szlak sygnalizacji komórkowej (geny *DUSP*) oraz szlaki sygnałowe integryn (*ITGB2*) i kaspaz (geny *CASP*). Istotne w przełamaniu zjawiska lekooporności na antracykliny wydają się również rearanżacje chromosomowe, tj. del5q35.3-q32, amp8p11.21-p12 oraz del9p21.3.

Zestawienie danych transkryptomicznych i genomowych uzyskanych przy użyciu zaawansowanych technik molekularnych, daje wielowymiarowe spojrzenie na problem oporności na leki. Na podstawie wyników stwierdzono, że ekspozycja białaczkowych blastów na antracykliny inicjuje złożoną odpowiedź komórkową, która jest odzwierciedleniem globalnych zmian w ekspresji wyżej opisanych biologicznie istotnych genów.

03.03.2023

Joanna Dejewska