

Chłoniak Hodgkina (ang. Hodgkin lymphoma, HL) jest jedną z najczęściej występujących chorób nowotworowych układu chłonnego występującą u osób w wieku 15-35 lat. Przypadki HL stanowią około 15% wszystkich zachorowań na chłoniaki w Polsce. Cechą charakterystyczną HL jest obecność specyficznych komórek nowotworowych, zwanych komórkami Hodgkina i Reed-Sternberga (ang. HRS cells) w preparatach bioptatów z zajętych przez nowotwór węzłów chłonnych. Rzadkość występowania tych komórek - zajmują około 1-5% węzła chłonnego - utrudnia znacząco poznanie genetycznego podłoża tej choroby.

Nowe możliwości poznania genetyki HL zrodziły się dzięki wykorzystaniu tzw. płynnej biopsji i analizom wolnokrążącego pozakomórkowego DNA (ang. cell-free DNA, cfDNA). Pozakomórkowe DNA to zdegradowane fragmenty DNA o długości 50-200pz, uwalniane do osocza krwi głównie w momencie śmierci komórki. Płynna biopsja składa się z następujących etapów: 1) pobranie krwi obwodowej od pacjenta; 2) izolacja cfDNA; 3) analiza pochodzącej z nowotworu frakcji cfDNA - wolnokrążącego, nowotworowego DNA (ang. circulating tumor DNA, ctDNA). Jak wcześniej wykazano, genom komórek HRS jest odzwierciedlony w cfDNA, co czyni płynną biopsję doskonałą techniką umożliwiającą diagnostykę i monitorowanie stanu zdrowia pacjenta.

Inaktywacja genów poprzez ich hipermetylację, polegającą na dodawanie grup metylowych do DNA, jest niezwykle istotna w rozwoju chłoniaka Hodgkina. W związku z tym, prezentowany projekt zakłada analizę poziomu metylacji genomowego DNA (gDNA) oraz cfDNA w próbkach pochodzących z linii komórkowych, krwi oraz bioptatów pacjentów z HL i porównaniu uzyskanych wyników z profilem metylacji gDNA i cfDNA w próbkach uzyskanych od zdrowych ochotników. Analiza wykonana zostanie z wykorzystaniem technik sekwencjonowania nowej generacji (ang. next generation sequencing, NGS). Pozwalają one na szybkie i precyzyjne poznanie sekwencji DNA i identyfikację metylowanych nukleotydów w obrębie analizowanego fragmentu DNA. Efektem tej części projektu będzie stworzenie panelu pięciu genów - potencjalnych biomarkerów chłoniaka Hodgkina - hipermetylowanych w komórkach HL, ale nie metylowanych w komórkach nie nowotworowych.

W drugiej części realizacji projektu zaplanowano ponowną analizę poziomu metylacji cfDNA w osoczu krwi pacjentów ze zdiagnozowanym chłoniakiem Hodgkina, po zakończeniu przez nich terapii. Po ponownym pobraniu próbki krwi od tych pacjentów przeanalizowany zostanie poziom metylacji cfDNA genów, wytypowanych jako potencjalne biomarkery HL. Analogiczną analizę zamierzamy wykonać używając próbek krwi pacjentów z nowo zdiagnozowanym chłoniakiem Hodgkina. Pozwoli to na oszacowanie użyteczności płynnej biopsji jako narzędzia do pomiaru choroby resztkowej chłoniaka Hodgkina a także weryfikację możliwości jej wykorzystania w diagnostyce.

Podsumowując, w ramach proponowanego projektu planujemy utworzenie panelu genów - potencjalnych biomarkerów chłoniaka Hodgkina oraz zbadanie możliwości wykorzystania płynnej biopsji, jako narzędzia wykorzystywanego w diagnostyce i monitorowaniu stanu zdrowia pacjentów z chłoniakiem Hodgkina.