

STRESZCZENIE

Mutacja *EGFR^{vIII}* polega na delecji eksonów 2-7 kodujących zewnątrzkomórkową domenę receptora EGFR. Mimo braku miejsca wiążącego ligand, receptor pozostaje stale aktywny, ulega dimeryzacji i fosforylacji, nawet pod nieobecność liganda. Niska, ale konstytutywna aktywność *EGFR^{vIII}* oraz nie w pełni wyjaśniony mechanizm jego ograniczonej endocytozy i degradacji może prowadzić do hiperaktywacji co najmniej jednego ze szlaków transdukcji sygnałów, co przekłada się na różnice biologiczne między komórkami *EGFR^{vIII}*-pozytywnymi i *EGFR^{vIII}*-negatywnymi. Obecności *EGFR^{vIII}* zazwyczaj towarzyszy amplifikacja ekstrachromosomalna (amplikony *EGFR^{vIII}*), której przypisuje się z kolei istotną rolę w oporności na terapię przeciwnowotworową. Biologia *EGFR^{vIII}* nie została do końca poznana i wymaga dalszych badań, szczególnie, że *EGFR^{vIII}* jest neoantygenem obecnym wyłącznie w komórkach nowotworowych, i zakłada się, że może stanowić idealny cel dla terapii przeciwnowotworowej.

Obecność *EGFR^{vIII}* w komórkach glejaków wielopostaciowych została potwierdzona, natomiast częstość wykrywania tego zmutowanego wariantu w innych nowotworach wciąż pozostaje kwestią sporną, ze względu na wiele sprzecznych danych opublikowanych w ostatnich latach. Co więcej, ekspresja *EGFR^{vIII}* wykrywana jest zazwyczaj tylko w niewielkim odsetku komórek guza, wobec czego zakłada się, że może wpływać na inne komórki w obrębie guza. Dotychczas stosowano wiele rozwiązań w celu wykrywania *EGFR^{vIII}*, jednak ze względu na ograniczenia każdej z metod, w połączeniu ze specyfiką samej mutacji, żadna z nich nie wydaje się być wystarczająco uniwersalna.

W ramach badań do rozprawy doktorskiej wypracowano metodę detekcji ekspresji *EGFR^{vIII}* na poziomie mRNA za pomocą ilościowej reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym. Wykazano, że metoda ta charakteryzuje się dużo wyższą czułością niż inne stosowane metody, dzięki czemu umożliwia detekcję mutacji nawet przy niewielkim wyjściowym stężeniu matrycy. W badaniach poddano analizie ekspresji i bezwzględnej liczby cząsteczek mRNA 155 wycinków nowotworowych jelita grubego, piersi, gruczołu krokowego oraz glejaków wielopostaciowych. Wykazano, że *EGFR^{vIII}*-pozytywnych jest 27,59% glejaków, 8,11% nowotworów jelita grubego oraz 6,52% nowotworów gruczołu krokowego, odnotowując znaczne różnice w ekspresji i liczbie kopii pomiędzy poszczególnymi próbkami. W żadnym spośród 43 analizowanych wycinków nowotworów piersi nie odnotowano ekspresji tego wariantu. W ramach badań wykazano,

że ze wszystkich analizowanych modeli do badań nad EGFR^{vIII}, najbardziej optymalnym jest heterogenna linia komórkowa DK-MG oraz jej pochodne uzyskane metodą seryjnych rozcieńczeń. Na opracowanym modelu wykazano, że występowanie EGFR^{vIII} nawet w niewielkiej subpopulacji komórek nowotworowych może wpływać na biologię całej populacji. Obecność EGFR^{vIII} zmniejsza wrażliwość komórek na apoptozę, senescencję, zwiększa proliferację oraz odsetek udanych prób zainicjowania guza w modelu podskórnym u myszy SCID. Wyniki pozwalają wnioskować także, że komórki EGFR^{vIII}-negatywne są zależne od EGFR^{vIII}-pozytywnych w ogólnej populacji.

Uzyskanie wyniki wskazują, że zarówno rola EGFR^{vIII} w różnym, często niewielkim odsetku komórek nowotworowych w guzie, jak i mechanizmy leżące u podstaw działania tego zmutowanego receptora wymagają dalszych badań, w celu optymalizacji i opracowywania nowych strategii terapeutycznych, w tym szczególnie immunoterapii CAR-T.