



الكشف عن نمط التعبير الجيني على مرضى سرطان الدم المزمن في

ناقلات كروموسومات الفيلاذلفيا

إعداد

صفاء محمد خالد الدهلوي

رسالة مقدمة لاستكمال متطلبات الحصول على درجة الماجستير في تقنية المختبرات الطبية-
علم أمراض الدم

إشراف د. هبة الخطابي

كلية العلوم الطبية التطبيقية

جامعة الملك عبدالعزيز

المملكة العربية السعودية

رجب ١٤٤٤ / يناير ٢٠٢٣

الكشف عن نمط التعبير الجيني على مرضى سرطان الدم المزمن في ناقلات كروموسوم الفيلاذلفيا

المستخلص

مقدمة: تلعب العلاجات المستهدفة لمثبطات التيروسين كيناز (TKIs) دورًا مهمًا في إدارة علاج مرضى سرطان الدم النخاعي المزمن. ومع ذلك ، لا يزال بعض المرضى يظهرين مقاومة للعلاج.

هدف الدراسة: هدف دراستنا هو إجراء تسلسل كامل لنسخ الجينات لتقييم مدى ارتباط التعبير الجيني في حالات سرطان الدم النخاعي المزمن بمقاومة العلاج المستند إلى TKI لدى المرضى.

منهجية الدراسة: تم إجراء تسلسل الحمض النووي الريبسي على ١٠ عينات من دم الإنسان تم جمعها من مرضى سرطان الدم النخاعي المزمن في مرحلتين مختلفتين (في مرحلة التشخيص ، في مرحلة الانتكاس). تم إجراء استخراج الحمض النووي الريبسي لجميع العينات ، واستخدم ٢٠ ميكروغرام من الحمض النووي الريبسي لدراسة التعبير الجيني باستخدام تقنية الجيل الثاني لقراءة التسلسل الريبوزي. تم إجراء تحليل البيانات باستخدام حزمة DESeq2 R.

النتائج: تم العثور على مجموعة من ٤٩٩ جينًا يتم التعبير عنها بشكل تفاضلي بشكل كبير في حالات سرطان الدم النخاعي المزمن داخل المجموعتين اللتين تم تحليلهما. أظهرت جميع الجينات المحررة أكثر من $|\log_2\text{Foldchange}| > 0$ تغيير في التعبير؛ أشارت نتائج تحليل التعبير الجيني إلى أن ١٢٢ جينًا كانت مرتفعة في التعبير الجيني ، بينما كان التعبير الجيني منخفض في ٣٧٧ جينًا. أيضًا وجدنا بعض الجينات لديها تعبير جيني مرتفع جدا او منخفض جدا عند مقارنتها بالجينات الأخرى ، مثل تعبير *NTRK2* ($+5 \text{ Foldchange}$) و *KRT17* ($<-5 \text{ Foldchange}$). تنتهي غالبية الجينات المحررة إلى دورة الخلية ، مسارات إشارات PI3-AKT ، FOXO ، P53 ، الشيكوخة الخلوية ، الفسفرة المؤكسدة ، الرنا الميكروي في السرطان.

الخلاصة: تكشف نتائجنا أنه في حالات سرطان الدم النخاعي المزمن مع مقاومة العلاج يوجد تغيرات جينية غير مرتبطة ب BCR-ABL ولها علاقة بعدة وظائف حيوية ومسارات خلوية مثل: (دورة الخلية ، PI3-AKT ، FOXO ، P53 ، الشيكوخة الخلوية ، الفسفرة التأكسدية ، الرنا الميكروي في السرطان) ، ووجدنا أيضا العديد من الجينات ذات التغير العالي في التعبير الجيني والتي لم يسبق اثبات علاقة بمقاومة علاج TKI في مرضى سرطان الدم النخاعي والتي تتطلب مزيدًا من التحقق من مدى ارتباطها بمقاومة العلاج في مجموعة أكبر من المرضى. يسلط هذا البحث الضوء على العديد من الآليات المستقلة ل BCR-ABL التي يمكن أن ترتبط بألية المقاومة ، والتي ستعمل على تحسين العلاج المستقبلي لمرضى سرطان الدم النخاعي المزمن.

الكلمات المفتاحية: اللوكيميا النخاعية المزمنة (CML) ، فيلاذلفيا ، مثبط التيروسين كيناز ، التعبير الجيني ، تسلسل الجيل التالي (NGS).



Gene Expression Profiling on CML Patients with Philadelphia Translocation

By

Safaa M Khaled AlDahlawi

**A thesis submitted for the requirements of the degree
of Master of Medical Laboratory Technology (Advanced
Hematology)**

Supervised by

Dr. Heba A Alkhatabi

Faculty of Applied Medical

Sciences King AbdulAziz

University

Saudi Arabia

Rajab 1444 AH– January

2023 G

Abstract

Gene Expression Profiling in CML Patients with Philadelphia Translocation

Background: Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) and other targeted medicines are crucial in the management of chronic myeloid leukemia (CML) patients' treatment. However, some patients do continue to experience less favorable outcomes and exhibit resistance to therapy. Therefore, the aim of our study is to conduct whole transcriptome sequencing to assess the differential gene expression profile in CML cases according to the patient's response to TKI-based therapy.

Method: Ten blood samples from CML patients at two different phases (diagnosis stage and relapse stage) were collected. All samples were subjected to RNA extraction, and ≤ 20 μg of RNA was used for NGS sequencing. The DESeq2 R software was used to do the data analysis.

Result: A list of 499 genes was found to have significantly differential expression levels among the two study groups. Around 122 genes were found to be upregulated, whereas 377 were found to be downregulated. There was a highly significant deregulation of NTRK2 ($>+5$ FoldChange) and KRT17 (<-5 FoldChange) expression compared to other genes. The majority of the expressed genes are involved in the cell cycle, PI3K-AKT signaling pathway, cellular senescence, oxidative phosphorylation, microRNA in cancer, FOXO and P53 signaling pathways, as well as other biological processes.

Conclusions: Our findings reveal the association between the signaling pathways and treatment resistance in CML cases. These pathways also showed a higher performance in downstream signaling of the TKI target, *BCR-ABL*. Few target genes require further validation in a larger cohort to confirm their association with TKI resistance. This research finding sheds light on several *BCR-ABL* independent mechanisms that could be associated with the resistance mechanism, which will improve future treatment of CML patients.

Key Words: Chronic Myeloid Leukemia (CML), Philadelphia, Tyrosine Kinase inhibitor, gene expression, Next generation sequencing (NGS).