

**Załącznik nr 7 do wniosku o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia
doktora habilitowanego dr Luizie Handschuh**

STRESZCZENIE

**Charakterystyka molekularna ostrej białaczki szpikowej z wykorzystaniem
badań transkryptomicznych**

Ostra białaczka szpikowa (ang. *acute myeloid leukemia*, AML) należy do najbardziej agresywnych chorób nowotworowych człowieka. Do jej rozwoju dochodzi na skutek mutacji w prekursorach komórek mieloidalnych. Niedojrzałe, nieprawidłowe komórki namnażają się w szpiku kostnym zakłócając przebieg procesu hematopoezy i upośledzając funkcjonowanie całego organizmu. Nieleczona AML prowadzi do śmierci w ciągu kilku tygodni, a terapia jest mało skuteczna i często dochodzi do wznowy choroby i lekooporności. Mimo iż AML stała się chorobą modelową w badaniach genomicznych, istnieje potrzeba poszukiwania nowych czynników związanych z jej patogenezą i rozwojem oraz opracowywania nowych strategii terapeutycznych. Zadania te utrudnia fakt, że AML jest chorobą heterogenną, a jej podtypy prezentują odmienne cechy kliniczne i molekularne.

Celem moich badań była charakterystyka AML na poziomie transkryptomu, najpierw ogólna i kompleksowa, a następnie szczegółowa, nakierowana na konkretne geny i ich transkrypty alternatywne. Aby zrealizować ten cel opracowałam własny warsztat metodyczny, współpracując z bioinformatykami oraz lekarzami hematologami, którzy pozyskali materiał od pacjentów i dostarczyli dane kliniczne. Pierwszym podejściem, które zastosowałam były oligonukleotydowe mikromacierze DNA własnej produkcji. W wyniku analizy danych mikromacierzowych wyłoniłam 83 geny o najbardziej zmienionym poziomie ekspresji w AML względem próbek kontrolnych. Były wśród nich znane onkogeny (np. *KRAS*, *CEBPA*, *MYC*), potencjalne biomarkery (np. *STMN1*, *ANGPT1*), ale także geny nie związane dotąd z patogenezą AML (np. *ENO1*, *FCN1*). Z zastosowaniem metod ilościowego PCR pokazałam, że poziom ekspresji genów *ANXA3*, *S100A9* i *WT1* różnił się istotnie pomiędzy podtypem AML FAB M1 i M2, a ekspresję genów *CAT* i *WT1* skorelowałam z odpowiedzią pacjentów na leczenie.

Wraz ze współpracownikami opracowałam nową metodę identyfikacji mutacji w genie *NPM1*, kodującym wielofunkcyjne białko nukleofozminę. Metodami emulsyjnego PCR (ddPCR) oraz sekwencjonowania transkryptomu (RNA-seq) przeanalizowałam ekspresję 11 alternatywnych transkryptów genu *NPM1*. Pokazałam, że poziom części z nich jest podwyższony w AML względem zdrowych kontroli, spada po uzyskaniu remisji i ponownie rośnie w trakcie wznowy choroby. Wysoką ekspresję prezentował także jeden z transkryptów niekodujących. Wysoki poziom transkryptów *NPM1.1* i *NPM1.3* obecny w momencie diagnozy skorelowałam z krótszym okresem przeżycia wolnego od choroby.

Korzystając z danych RNA-seq przeprowadziłam również szczegółową analizę 26 genów kodujących regulujące apoptozę białka z rodziny *BCL2*. Wykazałam różnice i wzajemne relacje pomiędzy poziomem ekspresji poszczególnych genów, a także powiązałam informacje na temat ekspresji genów z danymi klinicznymi oraz obecnością mutacji zidentyfikowanych za pomocą sekwencjonowania eksomów. Stwierdziłam znaczące obniżenie w AML poziomu ekspresji genów *BMF*, *BNIP1* i *HRK* kodujących białka proapoptotyczne. Z kolei u pacjentów opornych na chemioterapię zaobserwowałam podwyższoną ekspresję genu *BCL2L1*, kodującego antyapoptotyczne białko BCL-XL. Poziom ekspresji *BCL2L1* był pozytywnie skorelowany z poziomem ekspresji *BECN1*, kodującego białko 1, białko związane z autofagią, oraz protoonkogenu *MDM2*, a negatywnie skorelowany z poziomem ekspresji genu *BID*, kodującego aktywator apoptozy. Wykazałam związek pomiędzy ekspresją genów *BCL2L1*, *BID*, *BOK* i *HRK* a obecnością mutacji w genach *BRCA2* i *RUNX1* oraz pomiędzy ekspresją *BCL2L1* i *BCL2L11* a obecnością mutacji w genie *IDH2*. Wysoki poziom genów *BCL2L13* i *BIK* powiązałam z niekorzystnym rokowaniem.

Aktualny stan wiedzy na temat AML, wyłaniający się z badań transkryptomicznych, podsumowałam w jednoautorskiej pracy przeglądowej, wchodzącej w skład cyklu publikacyjnego wraz z trzema pracami metodycznymi i trzema pracami prezentującymi wyniki oryginalnych badań. Cykl ten stanowi podstawę do ubiegania się o nadanie mi stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych.