

Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Lublin 20-090
ul. Chodzki 1
tel./fax. +48 81448 6630
Kierownik:
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos



Experimental Hematooncology
Department
Medical University
of Lublin
20-090 Lublin, POLAND
1 Chodzki St.
tel./fax. +48 81448 6630
Head:
Prof. Krzysztof Giannopoulos

Lublin 13.03.2022

OCENA

OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

dr Luizy Handschuh pt. " Charakterystyka molekularna ostrej białaczki szpikowej z wykorzystaniem badań transkryptomicznych"

Dr nauk chemicznych w dziedzinie biochemii Luiza Handschuh przedstawiła cykl 7 prac obejmujący trzy prace metodyczne, trzy prace eksperymentalne i jedną pracę przeglądową stanowiących osiągnięcie naukowe w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego. W ocenie bibliometrycznej sumaryczny *impact factor* wynosi 26,315 (liczba punktów MNiSW 395) i co warto zaznaczyć stanowi mniej niż ¼ całego, znacznego dorobku naukowego. W postępowaniu habilitacyjnym najbardziej istotne są prace, w których Kandydat jest pierwszym lub jedynym Autorem mając wiodący wkład w powstanie pracy, czyli 3 prace doświadczalne i jedno poglądowa. Swój udział w pracach metodologicznych i konieczność ich włączenia do cyklu publikacji dr Luiza Handschuh dobrze wyjaśniła w Autoreferacie.

Pierwszym etapem była optymalizacja metodyki badawczej, co Autorka wykonała w zespole badawczym ICHB PAN, Uniwersytetu Medycznego oraz Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Zaprojektowane zindywidualizowane dla chorych na ostre białaczki szpikowe (AML) mikromacierze zawierały sondy dla ponad 900 genów zostały zdeponowane w ogólnodostępnej bazie ArrayExpress Europejskiego Laboratorium Biologii Molekularnej/Europejski Instytut Bioinformatyki, co potwierdza pełną świadomość i doskonałą znajomość funkcjonowania warsztatu molekularnego. Badania były przeprowadzone w niewielkiej grupie 33 chorych, co przy dużej heterogenności klinicznej, cytogenetycznej i molekularnej AML stanowi pewne ograniczenie w interpretacji uzyskanych wyników. Autorka mając świadomość tych ograniczeń włączyła do

Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Lublin 20-090
ul. Chodzki 1
tel./fax. +48 81448 6630
Kierownik:
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos



Experimental Hematooncology
Department
Medical University
of Lublin
20-090 Lublin, POLAND
1 Chodzki St.
tel./fax. +48 81448 6630
Head:
Prof. Krzysztof Giannopoulos

badania wyłącznie pacjentów z podtypami morfologicznymi FAB M1 i M2, co było tylko częściowym rozwiązaniem, bo aktualizacje klasyfikacji WHO z 2008 i później z 2016 wprowadzały obowiązek oceny zmian cytogenetycznych i morfologicznych umożliwiających klasyfikację AML, a stosowanie oceny morfologicznej zostało tylko ograniczone dla grupy AML-NOS (ang. *Acute myeloid leukemia, not otherwise specified*). To były najprawdopodobniej ograniczenia kliniczne dotyczące charakterystyki grupy chorych, na które Badaczka nie miała wpływu. Nie wykazano znaczących różnic w profilu ekspresji genów pomiędzy podgrupami M1 i M2. Jedynym genem zróżnicowanej ekspresji pomiędzy podgrupami pacjentów okazał się gen kodujący karboksypeptydazę (CPA3), specyficznie podwyższony u pacjentów z podwójną mutacją (*FLT3+/NPM1+*), których rokowanie w grupie chorych z prawidłowym kariotypem zależy od stosunku alleli *FLT3-ITD*.

Charakterystyka ekspresji wariantów obróbkowych genu *NPM1* była tematem kolejnej pracy. W AML mutacja *NPM1* niesie za sobą lepsze rokowanie (przy braku obecności mutacji *FLT3*), a jej określenie w grupie chorych z prawidłowym kariotypem jest niezbędne do odpowiedniej klasyfikacji chorych. Dotychczasowe dane dotyczące poziomu ekspresji *NPM1* dotyczyły guzów litych, choć zespół naukowców z Polski (Zajac M i współpracownicy) w 2017 roku opublikował wyniki badania w AML wskazujące na znaczenie rokownicze ekspresji wariantów obróbkowych. Praca będąca częścią cyklu publikacji określa poziom ekspresji trzech alternatywnych transkryptów, *NPM1.1*, *NPM1.2* oraz *NPM1.3* w grupie 66 pacjentów i 16 zdrowych ochotników przy użyciu czułej metodyki emulsyjnego PCR (ddPCR). Wysoka ekspresja wariantów *NPM1.1* oraz *NPM1.3* korelowała z krótszym okresem przeżycia wolnego od choroby (ang. disease-free survival, DFS), a *NPM1.1* także z krótszym okresem całkowitego przeżycia (ang. overall survival, OS) badanych pacjentów. Ważnym uzupełnieniem oceny ekspresji była analiza transkryptomu metodą RNA-seq. Wykazano, że *NPM1* należy do 124 genów o najwyższym poziomie ekspresji w AML. Analizując dane na poziomie izoform udało się określić dodatkowo ekspresję 11 różnych transkryptów genu *NPM1*. Analizy te były zgodne z wynikami analiz ddPCR i pokazały, że transkrypt

Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Lublin 20-090
ul. Chodzki 1
tel./fax. +48 81448 6630
Kierownik:
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos



Experimental Hematooncology
Department
Medical University
of Lublin
20-090 Lublin, POLAND
1 Chodzki St.
tel./fax. +48 81448 6630
Head:
Prof. Krzysztof Giannopoulos

NPM1.1 odpowiada za ok. 63% ekspresji całego genu w AML. Opublikowane dane stanowią bardzo ważne uzupełnienie charakterystyki molekularnej AML.

W ostatniej pracy doświadczalnej stanowiącej osiągnięcie naukowe w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego analizowano ekspresje rodziny białek BCL2. Korzystając z danych RNA-seq wygenerowanych w Pracowni Genomiki ICHB PAN dla grupy 27 pacjentów z AML, FAB M1 i M2, przeanalizowano poziom ekspresji 26 genów z rodziny BCL2. Okazało się, że pięć z nich (MCL1, BAX, BCL2A1, BCL2L1 i BID) ulega wysokiej ekspresji w AML. Co ciekawe nie odnotowano zwiększonej ekspresji BCL2, mimo że inhibitor BCL2, wenetoklaks, w połączeniu ze środkami hipometylującymi lub niską dawką cytarabiny, stanowi nową terapię dla chorych na AML. W badanych próbkach AML część genów proapoptotycznych ulegało supresji, natomiast większość genów antyapoptotycznych aktywacji, ilustrując upośledzenie apoptozy w AML. Ponieważ białka z rodziny BCL2 są rozważane jako cele terapeutyczne, dr Luiza Handschuh postanowiła sprawdzić, czy istnieją różnice w poziomie ekspresji kodujących je genów między podgrupami pacjentów różnie reagujących na chemioterapię. Okazało się, że jedyną istotną statystycznie różnicą był podwyższony poziom genu BCL2L1 u pacjentów opornych na chemioterapię. Poziom ekspresji BCL2L1 jednak różnił się znacznie pomiędzy poszczególnymi pacjentami, co Autorka interpretuje, że aktywacja tego genu jest tylko jednym z czynników, który może przyczyniać się do braku odpowiedzi na leczenie.

Należy podkreślić, że wszystkie prace oryginalne zawierały wyniki badań przeprowadzonych nowoczesnymi metodami badawczymi i zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych mających *impact factor*. Prace są nowatorskie, warsztat naukowy oraz dojrzałość projektowania i przeprowadzania doświadczeń potwierdzają spełnianie kryteriów stawianych do habilitacji, charakteryzując dojrzałego i samodzielnego naukowca. Przedstawione prace stanowią niewielką część znacznego dorobku naukowego.

Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Lublin 20-090
ul. Chodzki 1
tel./fax. +48 81448 6630
Kierownik:
Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos



Experimental Hematooncology
Department
Medical University
of Lublin
20-090 Lublin, POLAND
1 Chodzki St.
tel./fax. +48 81448 6630
Head:
Prof. Krzysztof Giannopoulos

Podsumowując uważam, że przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe spełnia warunki określone w art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. ustawy z dnia 20 lipca 2018 – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) wnoszę do Rady Naukowej ICHB PAN o dopuszczenie dr. dr Luizy Handschuh do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. Krzysztof Giannopoulos
Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Lublinie