

STRESZCZENIE

Klasyczny chłoniak Hodgkina znany również pod polską nazwą ziarnica złośliwa (ang. classical Hodgkin lymphoma (cHL)) jest jednym z najczęściej występujących chłoniaków. Charakteryzuje się bimodalnym rozkładem względem wieku, co czyni go jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów wśród młodych dorosłych. Stosowane obecnie metody terapeutyczne w skład których wchodzi głównie chemio i radioterapia pozwalają uzyskać trwałą remisję znajdującą odzwierciedlenie w 5 letnim współczynniku przeżyć u ponad 80% nowo zdiagnozowanych pacjentów. Wyzwanie stanowią pacjenci ze wznową dla których szanse na wyleczenie przynosi niedawno zatwierdzona immunoterapia. Pomimo wysokiego współczynnika przeżyć, stosowana standardowo terapia charakteryzuje się wieloma skutkami ubocznymi które drastycznie obniżają jakość życia pacjentów. Działania niepożądane chemio i radioterapii jak również trudność w leczeniu pacjentów ze wznową stanowią podstawę do poszukiwania nowych metod terapeutycznych, których bazę mogą stanowić molekularne mechanizmy patogenezy cHL. W związku z tym celem niniejszej rozprawy doktorskiej jest scharakteryzowanie nowych dla biologii cHL zmian na poziomie genetycznym i epigenetycznym, które mogą pozwolić na lepsze zrozumienie tej choroby.

Pierwszym zagadnieniem podjętym w ramach rozprawy doktorskiej była identyfikacja czynników transkrypcyjnych, specyficznych dla limfocytów B, które uległy utracie w cHL. Pomimo że komórki nowotworowe Hodgkina i Reed-Sternberga (HRS) w większości przypadków powstają z pre-apoptotycznych komórek GCB (ang. germinal center B-cells) to nie prezentują one cech typowych dla limfocytów B. Przeciwnie, bardzo dobrze scharakteryzowane zostało zjawisko utraty fenotypu limfocytów B, które jest niezbędnym mechanizmem przetrwania komórek HRS i uniknięcia eliminacji przez układ odpornościowy. Przedstawione w pracy doktorskiej wyniki badań wskazały na utratę czynnika transkrypcyjnego *ELF1*, nieopisanego do tej pory w kontekście cHL. Wykazano brak białka ELF1 w komórkach HRS u 89% pacjentów jak również we wszystkich przeanalizowanych liniach komórkowych wyprowadzonych od pacjentów z cHL. Ponadto udowodniono że utrata ELF1 jest wynikiem epigenetycznego wyciszenia ekspresji poprzez metylację DNA regionu promotorowego jak również skutkiem delecji heterozygotycznych.

W drugiej części badań uwzględniając szczególne znaczenie zaburzeń epigenetycznych w cHL, postanowiono zbadać rolę microRNA w tym chłoniaku. W tym celu przygotowano systematyczny przegląd dostępnej literatury dotyczącej profilu ekspresji microRNA w chłoniaku Hodgkina. Po przeanalizowaniu wybranych wyników badań wskazano grupę microRNA o podwyższonej (let-7-f, mir-9, mir-21, mir-23a, mir-27a, mir-155 i mir-196) i obniżonej ekspresji (mir-138 i mir-155) w cHL. Zaproponowano również procesy, w których deregulowane microRNA mogą odgrywać rolę. Są to: nieprawidłowy rozwój limfocytów B (mir-9, mir-150 i mir-155), szlak sygnałowy NFκB (mir-155 i mir-196) oraz ucieczka przed układem odpornościowym (mir-9 i mir-138).

W trzeciej części prowadzonych badań postanowiono sprawdzić hipotezę czy deregulacja microRNA może być skutkiem nieprawidłowej metylacji DNA w cHL. W tym celu, na podstawie własnych wyników sekwencjonowania NGS wytypowano grupę deregulowanych microRNA, które ze względu na obecność wyspy CpG w regionie pomotorowym, mogą ulegać wyciszeniu poprzez hipermetylację DNA. Potwierdzono istnienie odwrotnej korelacji między ekspresją czterech microRNA (mir-148a-3p, mir-148a-5p, mir-193a-5p i mir-339-3p) a poziomem metylacji DNA. W dalszych badaniach udowodniono że hipermetylacja DNA i wyciszenie ekspresji mir-148a nie jest zjawiskiem ograniczonym jedynie do linii komórkowych ale występuje również w komórkach HRS uzyskanych od pacjentów. Przeprowadzone badania funkcjonalne wykazały że przywrócenie ekspresji mir-148a w liniach komórkowych cHL prowadzi do zmniejszenia żywotności niektórych z badanych linii. Zaproponowano również nowe geny targetowe dla mir-148a (*IL-15*, *HOMER1*, *SUB1*, *SERPINH1*), których zmiana poziomu ekspresji może wpływać na żywotność i proliferację komórek HRS.

Podsumowując, przeprowadzone badania wskazały na utratę białka ELF1, nieopisanego wcześniej w chłoniaku Hodgkina oraz przedstawione zostały mechanizmy odpowiedzialne za to zjawisko. Ponadto, na podstawie dostępnej literatury usystematyzowano wiedzę na temat microRNA o nieprawidłowej ekspresji w tym chłoniaku. Na podstawie badań eksperymentalnych udowodniono, że metylacja DNA odpowiada za regulację ekspresji microRNA w sposób analogiczny jak w przypadku genów kodujących białka.