

STRESZCZENIE

T-komórkowa ostra białaczka limfoblastyczna stanowi rzadki podtyp ostrej białaczki limfoblastycznej, będącej najczęściej diagnozowanym nowotworem wieku dziecięcego. Z klinicznego punktu widzenia, T-ALL charakteryzuje się agresywnym przebiegiem oraz stosunkowo wysokim odsetkiem pierwotnej oporności na leczenie i nawrotów choroby. Rozwój T-ALL następuje na skutek wystąpienia nieprawidłowości w procesie dojrzewania prekursorów komórek T. Aktywacja protoonkogenów oraz inaktywacja genów supresorowych prowadzi do zahamowania różnicowania tymocytów, a także do ich niekontrolowanej proliferacji i unikania apoptozy. Procesy leukemogenezy mogą rozpocząć się na każdym etapie złożonego procesu różnicowania komórek T i mogą zachodzić pod wpływem aberracji genetycznych i epigenetycznych. Wśród pacjentów z T-ALL obserwuje się dużą heterogenność immunofenotypową i (epi-)genetyczną, co w połączeniu z relatywnie niską częstością występowania T-ALL sprawia, że poznanie biologii tej białaczki stanowi duże wyzwanie.

Mimo znaczących postępów w zrozumieniu biologii tej choroby, rola czynników epigenetycznych oraz niekodującej części genomu pozostaje mało poznana. Na szczególną uwagę zasługują cząsteczki miRNA, czyli krótkie oligonukleotydy, których funkcją jest negatywna regulacja ekspresji genów. miRNA są zaangażowane w wiele procesów komórkowych, a ich nieprawidłowa ekspresja i zaburzone funkcjonowanie może przyczynić się do rozwoju i progresji nowotworów. Stan wiedzy na ten temat roli miRNA w białaczce T-ALL w momencie rozpoczęcia realizacji badań opisanych w niniejszej rozprawie doktorskiej ukazywał jedynie wycinek globalnej sieci regulatorowej, w którą zaangażowane są miRNA. Dlatego celem badań przedstawionych w niniejszej rozprawie było wykorzystanie sekwencjonowania nowej generacji do poszukiwania miRNA ulegających nieprawidłowej ekspresji w T-ALL, identyfikacja ich genów docelowych, identyfikacja ścieżek i procesów biologicznych przez nie regulowanych oraz wykazanie działania onkogenego lub supresorowego wybranych miRNA w modelu komórkowym T-ALL *in vitro*.

Niniejsza rozprawa doktorska stanowi zbiór pięciu publikacji dotyczących ekspresji i roli miRNA w T-ALL. Pierwsza z prac stanowi przegląd literatury naukowej na temat roli cząsteczek miRNA w białaczce T-ALL, zarówno w kontekście ich biologicznego znaczenia dla patogenezy tego nowotworu, jak i ich potencjalnej użyteczności w charakterze markerów diagnostycznych i prognostycznych. Pozostałe publikacje to prace oryginalne, których celem była identyfikacja cząsteczek miRNA o nieprawidłowej ekspresji w komórkach pierwotnych T-ALL (uzyskanych od pacjentów przy rozpoznaniu białaczki) i w liniach komórkowych T-ALL w stosunku do prawidłowych komórek T oraz identyfikacja genów docelowych regulowanych przez wybrane miRNA i zbadanie efektu onkogenego lub supresorowego tych interakcji miRNA-mRNA *in vitro*.

Wyniki uzyskane w ramach realizacji niniejszej pracy doktorskiej pokazują, że badane miRNA, które ulegają nieprawidłowej ekspresji w próbkach pacjentów z T-ALL, wykazują

działanie onkogenne w liniach komórkowych T-ALL, co odzwierciedlone jest wpływem na proliferację, cykl komórkowy i apoptozę komórek T-ALL. Efekt fenotypowy podwyższonej ekspresji hsa-miR-20b-5p oraz hsa-miR-363-3p jest, przynajmniej po części, wynikiem wyciszenia dwóch ważnych genów supresorowych, *PTEN* i *BIM*. Ponadto, zaburzona ekspresja hsa-miR-363-3p oraz zaburzony poziom metylacji regionów promotorowych mogą stanowić mechanizmy deregulacji aktywności ścieżek sygnałowych JAK-STAT i potencjalnie także innych ścieżek zależnych od kinaz JAK. Identyfikacja tych mechanizmów może w przyszłości przyczynić się do poszerzenia kryteriów włączenia pacjentów do opcji leczenia ukierunkowanego na ścieżkę JAK-STAT.

Wyniki uzyskane w niniejszej rozprawie wskazują na złożoność i znaczenie interakcji miRNA-mRNA w deregulacji ścieżek i procesów istotnych dla biologii T-ALL i tym samym na rolę miRNA w patogenezie tej białaczki.