



CENTRUM ONKOLOGII – INSTYTUT
IM. MARII SKŁODOWSKIEJ-CURIE
ODDZIAŁ W GLIWICACH

AUTOREFERAT

Dr n. med. Małgorzata Oczko-Wojciechowska

Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej

Gliwice 2019

1. Imię i Nazwisko: Małgorzata Oczko-Wojciechowska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

(z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej).

2.1. Rozwój naukowy

2002 – uzyskanie tytułu magistra biologii na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Katedra Biofizyki i Biologii Komórki: praca magisterska wykonana w Zakładzie Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej oraz w Zakładzie Biologii Molekularnej obecnie Centrum Badań Translacyjnych Centrum Onkologii-Instytutu, Oddziału w Gliwicach

Tytuł pracy magisterskiej: „Ukierunkowana mutageniza cDNA protoonkogenu RET w wektorach plazmidowych”

Promotor: prof. dr hab. Barbara Jarząb

2015 uzyskanie stopnia doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna na podstawie obrony pracy doktorskiej pod tytułem „Optymalizacja badań z wykorzystaniem oligonukleotydowych mikromacierzy DNA”. Stopień został nadany uchwałą Rady Naukowej Centrum Onkologii, Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie.

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Barbara Jarząb

Praca wyróżniona

2.2. Rozwój zawodowy

1995 – 1998 – Medyczna Szkoła Policealna Województwa Śląskiego im. Jacka Koraszewskiego w Gliwicach

1998 – 2002 – Studia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego

2003 – uzyskanie prawa wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego

2015 – uzyskanie tytułu specjalisty w dziedzinie laboratoryjna genetyka medyczna

Miejsce specjalizacji: Zakład Genetyki Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi, Kierownik specjalizacji: mgr Wanda Hawuła. Zakład Genetyki Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

1998 – do nadal, Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej, Centrum Onkologii, Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach (**1998 – 2002** – technik analityki medycznej;

2002 – 2015 – asystent naukowo-badawczy; **2015** – do nadal adiunkt)

2009 – 2017 – zastępca kierownika Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej

2017 – do nadal – Kierownik Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej

CZĘŚĆ BIBLIOGRAFICZNA (dokładne dane w załączniku do autoreferatu)

Jestem autorem lub współautorem 44 publikacji (na dzień 21.01.2019, publikacja ze stycznia 2019r. nie została włączona do oceny bibliometrycznej) o łącznym współczynniku oddziaływania (ang. Impact

Factor) 95,832 (na dzień 13.12.2018). Liczba punktów KBN/MNiSW wynosi 871. Jestem pierwszym autorem 3 publikacji, a w 4 pracach jestem drugim autorem. Łączna liczba cytowań na dzień 13.12.2018 r. wynosi w bazie Web of Science – 510 a w bazie Scopus – 596, natomiast indeks Hirscha wynosi w bazie Web of Science 11 a w bazie Scopus 12.

Jestem autorem lub współautorem 84 prezentacji na konferencjach zagranicznych i 100 na konferencjach ogólnopolskich. Aktywnie uczestniczyłam w 40 konferencjach, prezentując wyniki badań. Jestem również autorem następujących rozdziałów w książkach:

1. „Genetyka kliniczna nowotworów” 2016 pod redakcją prof. J. Lubińskiego

Rozdział: Genetyka kliniczna raka rdzeniastego tarczycy. Autorzy: Barbara Jarząb, **Małgorzata Oczko-Wojciechowska**, Jolanta Krajewska, Jan Włoch, Zbigniew Wygoda.

2. „Genetyka kliniczna” 2017 pod redakcją prof. Lubińskiego

Rozdział: Predyspozycja dziedziczna do guzów chromochłonnych i przyzwojaków. Autorzy: Kornelia Hasse-Lazar, **Małgorzata Oczko-Wojciechowska**, Barbara Jarząb.

3. Seria Biblioteka Chirurga onkologa pt. „Nowe strategie leczenia raka tarczycy” 2018:

Rozdział 3. Diagnostyka molekularna raka tarczycy. Autor: **Małgorzata Oczko-Wojciechowska**

Rozdział 11. Rak rdzeniasty tarczycy – od biologii molekularnej do decyzji lekarskiej. Autorzy: Barbara Jarząb, **Małgorzata Oczko-Wojciechowska**, Jolanta Krajewska, Agnieszka Czarniecka

Szkolenia krajowe i zagraniczne.

Uczestniczyłam w następujących kursach i szkoleniach dotyczących zastosowania techniki mikromacierzy DNA, zarówno pod kątem eksperymentalnym jak i analizy danych, oraz dotyczących przygotowania i analizy danych otrzymanych metodą sekwencjonowania nowej generacji:

2018

Exploring Human Genetic Variation European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI), Hinxton, Cambridge, Wielka Brytania, 10-11.07.2018

2011

Kurs Target Enrichment and NGS, European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, Niemcy 14-18.06.2011

2008

GeneChip® EXON 1.0 ST Array Practical Data Analysis Course, Bioinformatics and Genomics Unit Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche c/o Az. Ospedaliera S. Luigi, Orbassano, Turyn, Włochy, 19-21.11.2008

Course in Practical DNA Microarray Analysis, NGFN (German National Genome Research Network), Monachium, Niemcy, 5-8.05.2008

2007

Staż w Laboratory of Receptor Biology and Gene Expression, National Cancer Institute Bethesda, USA, 6-15.06. 2007

Poznan Microarray Workshop, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, 9-12.07.2007

prac magisterskich, a obecnie jestem promotorem pomocniczym pracy doktorskiej wykonywanej w ramach projektu MILESTONE na Politechnice Śląskiej w Gliwicach.

Jestem również kierownikiem specjalizacji z laboratoryjnej genetyki medycznej dla 3 specjalizantów.

Uczestnictwo w grantach.

Od roku 2001 uczestniczyłam w 16 projektach naukowych w tym byłam kierownikiem jednego grantu, a wykonawcą lub głównym wykonawcą w pozostałych projektach. Uczestniczyłam w jednym projekcie europejskim (GENRISK-T) oraz jednym grantem na rzecz obronności i bezpieczeństwa Państwa (ARIADNA 2010). 12 projektów było finansowanych przez Komitet Badań Naukowych, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego lub Narodowe Centrum Nauki. Brałam również udział w dwóch projektach Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (BIOTEST, MILESTONE). Głównym moim zadaniem w tych projektach było wykonanie badania profilu ekspresji genów oraz dokonanie interpretacji biologicznej a także w dwóch projektach byłam odpowiedzialna za analizę bioinformatyczną danych transkryptomicznych. Obecnie jestem kierownikiem zadania genomycznego w projekcie NCBIR: „Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego [MILESTONE]” konkurs STRATEGMED2. Uczestniczę również w badaniu klinicznym STARTRK2 (Basket Study of Entrectinib (RXDX-101) for the Treatment of Patients With Solid Tumors Harboring NTRK 1/2/3 (Trk A/B/C), ROS1, or ALK Gene Rearrangements (Fusions)).

- 4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):**

a) tytuł osiągnięcia naukowego

MONOGRAFIA: „Ocena zastosowania klasyfikatora molekularnego w diagnostyce guzków tarczycy w minimalnej ilości materiału pobranego drogą biopsji cienkoigłowej”.

- b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy);**

Autor: Małgorzata Oczko-Wojciechowska

Tytuł: „Ocena zastosowania klasyfikatora molekularnego w diagnostyce guzków tarczycy w minimalnej ilości materiału pobranego drogą biopsji cienkoigłowej”

Rok wydania: 2019

Wydawnictwo: Polska Grupa ds. Nowotworów Endokrynnych

Recenzenci wydawniczy: dr hab. Zbigniew Adamczewski, dr hab. Lucyna Siemińska

Omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

W pracy skupiono się na opracowaniu metodyki dla uzyskania możliwości wprowadzenia diagnostyki molekularnej guzków tarczycy. Zagadnienie to stało się popularne w tyreologii z szeregu powodów:

W ostatnich latach obserwuje się stały wzrost występowania raka tarczycy (Jung i wsp., 2014; Pellegriti i wsp., 2013). Częstość zachorowania na raka tarczycy w Stanach Zjednoczonych wzrosła z 3,6 na 100 000 w roku 1973 do 8,7 na 100 000 w roku 2002 (Jung i wsp., 2014). Obecnie, rak tarczycy w Stanach Zjednoczonych jest na piątym miejscu najczęściej występujących nowotworów u kobiet, a we

2006

A Joint EMBL/Affymetrix Exon Arrays Workshop: From Experiment to Biological Understanding, Heidelberg, 4-9.10.2006

Summer School of Molecular Medicine, Gliwice, 26-28.06.2005, XXIII Zimowa Szkoła Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, Kraków, 22-25.02.2006

2005

Workshop attached the Jubilee Meeting of the European Thyroid Association " Functional Genomics in Thyroid research. Methods under scrutiny", European Thyroid Association, Ateny, Grecja, 26.05.2005

W ramach specjalizacji z laboratoryjnej genetyki medycznej odbyłam również szereg kursów związanych z diagnostyką genetyczną. Kursy zostały przeprowadzone przez Zakład Genetyki Centrum Matki Polki w Łodzi, Katedrę i Zakład Genetyki Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy oraz Katedrę i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna.

Od 2000 r. aktywnie uczestniczę w organizacji ogólnopolskiej Konferencji Naukowo-Szkoleniowej „Rak tarczycy i inne nowotwory złośliwe układu wydzielania wewnętrznego”, która odbywa się w cyklu pięcioletnim.

Uczestniczyłam w organizacji oraz byłam wykładowcą Letniej Szkoły Cytologii Tarczycy i Konferencji Naukowej „Cytologia i biologia molekularna zmian w tarczycy – od wirtualnej diagnostyki cytologicznej do decyzji o deeskalacji modelu terapii”, organizowanej w Centrum Onkologii-Instytucie, Oddziale w Gliwicach, 24-26.08.2017.

Byłam organizatorem i wykładowcą warsztatów „Endocrinology Meets Cancer”, które odbyły się jako wydarzenie satelitarne Kongresu Europejskiego Towarzystwa Endokrynologicznego (ESE) dniach 2-3 maja 2014 r. przeprowadzonych w Centrum Onkologii-Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddziale w Gliwicach, we współpracy z European Society of Endocrinology, European Neuroendocrine Tumor Society, European Network for the Study of Adrenal Tumors oraz European Thyroid Association – Cancer Research Network.

W 2011 roku jako członek Komitetu Organizacyjnego brałam udział w pracach związanych z organizacją 35 europejskiej konferencji Europejskiego Towarzystwa Tarczycowego (35th European Thyroid Association Annual Meeting), 10-14.09.2011, Kraków

Jako sekretarz ETA-CRN (European Thyroid Association- Cancer Research Network, obecnie Cancer Group) uczestniczyłam w organizacji „ETA-CRN Symposium” jako satelitarnego wydarzenia do corocznej konferencji Europejskiego Towarzystwa Tarczycowego (European Thyroid Association) w roku 2014, 2016, 2017 i 2018. Uczestniczyłam zarówno w organizacji sympozjum jak również w tworzeniu programu naukowego.

Byłam opiekunem dwóch doktorantów, którzy przygotowywali swoje prace doktorskie w ramach Międzynarodowych Studiów Doktoranckich „Molecular Genomics, Transcriptomics and Bioinformatics in Cancer” w Zakładzie Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej Centrum Onkologii-Instytut, Oddział w Gliwicach w latach 2008-2012, jak również nadzorowałam przygotowywanie dwóch

Włoszech, a na drugim miejscu u kobiet poniżej 45 r.ż. Rutynowa diagnostyka guzów tarczycy opiera się głównie na ocenie cytologicznej materiału uzyskanego po nakłuciu biopsyjnym, a wynik oceny cytologicznej jest podstawą do dalszego postępowania klinicznego. W przypadku podejrzenia złośliwości guza wymagane jest postępowanie operacyjne, a w przypadku łagodnej zmiany pozostaje się przy obserwacji. Adekwatnie do wzrostu częstości raka tarczycy wzrasta również wykorzystanie biopsji cienkoigłowej w diagnostyce guzków tarczycy i w Stanach Zjednoczonych wykonuje się 350 000 biopsji każdego roku (Faquin i wsp., 2011)

Ocena cytologiczna materiału biopsyjnego opiera się na klasyfikacji Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology, która wyszczególnia 6 kategorii, różniących się ryzykiem raka (Cibas i wsp., 2017). Pomimo uznania biopsji cienkoigłowej za złoty środek w diagnostyce guzów tarczycy ok. 6-16% wykonanych biopsji jest niediagnostycznych, a ok. 20-30% wyników cytologicznych jest nieokreślonych (Paschke i wsp., 2017) ponieważ nie pozwalają na jednoznaczne zróżnicowanie zmiany łagodnej do złośliwej. Dotyczy to głównie kategorii Bethesda III (Hsiao i wsp., 2014), w której ryzyko raka tarczycy wynosi od 6% do 30% (Cibas i wsp., 2017), a nawet 48% (Bongiovanni i wsp., 2012) oraz kategorii Bethesda IV, która odnosi się do podejrzenia nowotworu pęcherzykowego. W takim przypadku pacjenci poddawani są operacji diagnostycznej. Aby uniknąć niepotrzebnej operacji, która niesie za sobą wiele komplikacji, konieczne jest wsparcie nieokreślonego wyniku cytologicznego guza tarczycy innymi metodami. Od roku 2012, w którym przedstawiono pierwszy klasyfikator molekularny wspierający diagnostykę cytologiczną guzów tarczycy, stosowanie klasyfikatorów molekularnych w diagnostyce przedoperacyjnej weszło w Stanach Zjednoczonych do postępowania rutynowego, zalecanego przez towarzystwa naukowe (American Thyroid Association). Główną wadą tych testów jest fakt, że są one dostępne jedynie w Stanach Zjednoczonych, natomiast ich cena przekracza kilka tysięcy dolarów. Co więcej, testy te wymagają również dodatkowych nakładów biopsyjnych, co zwiększa dyskomfort pacjenta oraz wydłuża czas wykonania samej biopsji. Również brak jest rekomendacji do wykonywania tych testów w Europie, ponieważ nie zostały one przetestowane na populacji europejskiej.

Z tych względów, w Instytucie Onkologii w Gliwicach podjęto zadanie przygotowania klasyfikatora molekularnego guzków tarczycy, które stało się przedmiotem części tarczycowej projektu MILESTONE, zgłoszonego do Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR). Projekt ten uzyskał finansowanie (STRATEGMED2/267398/4 /NCBR /2015) i od 2015 roku jest realizowany w Instytucie Onkologii w Gliwicach, a ja jestem odpowiedzialna za wykonanie badań molekularnych.

Na test oparty o ekspresję genów zdecydowano się z kilku powodów.

1. Test analizujący ekspresję genów jest najpowszechniej stosowany do tej pory i najszerzej zweryfikowany przez badania wieloośrodkowe.
2. Częstość występowania charakterystycznych mutacji dla zmian złośliwych tarczycy jest zależna od populacji, jak również nie występują one w każdej złośliwej zmianie. Istotna część znanych mutacji np. takich jak mutacje genów *RAS*, rearanżacja *PAX8-PPRG* występują również w zmianach łagodnych. Dlatego, naszym zdaniem, oparcie diagnostyki molekularnej guzów tarczycy o badania DNA jest niecelowe.

W trakcie przygotowań do tego zadania zdałam sobie sprawę, że równolegle do poszukiwania klasyfikatora molekularnego konieczne jest zbadanie, czy jest możliwa taka minimalizacja materiału

biologicznego, pobranego z guza tarczycy, żeby można było uzyskać wiarygodny wynik z materiału resztkowego, pozostałego w igle biopsyjnej po wykonaniu rozmazu cytologicznego.

Z tego też względu, celem niniejszego badania, zgłoszonego jako osiągnięcie habilitacyjne, była ocena zastosowania ultra małych ilości materiału pochodzącego z pozostałości w igle po biopsji cienkoigłowej guzów tarczycy do badania z wykorzystaniem klasyfikatora molekularnego opartego o ekspresję genów.

Możliwość wykorzystania takiej pozostałości po biopsji pozwoliłaby na wykonanie testu molekularnego w tym samym nakłuciu, z którego został wykonany preparat cytologiczny oraz uniknąć ponownej biopsji. Ma to znaczenie nie tylko ze względu na większy komfort pacjenta, ale również często kolejne nakłucia tego samego guza zawierają większą ilość krwi, co może wpływać na wynik. Ocenę przydatności takiego materiału oparto o ocenę RNA, jako, że planowany test diagnostyczny będzie oceniał ekspresję genów. W badaniu oceniono biopsje resztkowe (pozostałość w igle po wykonaniu preparatu cytologicznego w porównaniu do biopsji pełnej pobranej z tego samego guza).

Tak więc, przed przystąpieniem do głównego celu wykonano ocenę przydatności ultra małych ilości materiału uzyskanych metodą mikrodyssekcji laserowej. W tym celu selekcjonowano tyreocyty zmienione nowotworowo z raka brodawkowatego tarczycy oraz prawidłowe tyreocyty pobrane z tarczycy niezmienionej makroskopowo. Uzyskany materiał poddano ocenie całego transkryptomu i porównano do wyników uzyskanych z pełnego skrawka guza. Mikrodyssekcja laserowa zastosowana do selekcji komórek nowotworowych wydaje się być najlepszą metodą do diagnostyki molekularnej nowotworów. Jednakże, w standardowej, rutynowej działalności jest ona trudna do przeprowadzenia i diagnostyka molekularna opiera się o pełny materiał z guza. Konieczne jest również, aby zbadać czy domieszka innych komórek (podścielisko, komórki stanu zapalnego) jest przeszkodą w prawidłowej ocenie charakterystycznego profilu dla raka tarczycy.

Należy podkreślić, że opracowanie klasyfikatora molekularnego było głównym celem projektu MILESTONE w jego części dotyczącej tarczycy. Ze względu na wymagania NCBIr klasyfikator ten powinien przejść zgłoszenie patentowe. Dlatego nie było możliwe podanie składu genowego klasyfikatora w przedstawionej monografii. Skład ten zostanie opublikowany zaraz po spełnieniu warunków postępowania patentowego. Niemniej, należy podkreślić, że podjęcie się zadania opracowania klasyfikacji molekularnej w ultra małych ilościach materiału jest oryginalnym pomysłem Autorki, wykonywanym w ramach projektu MILESTONE, chociaż niezależnym od projektu zgłoszonego do NCBIr, gdzie założono, że główny klasyfikator będzie opierał się o pełną biopsję w całości przeznaczoną do badania molekularnego.

W pierwszym etapie omawianego badania, zgłoszonego jako osiągnięcie habilitacyjne, wykorzystano 18 próbek zawierających tyreocyty raka brodawkowatego tarczycy oraz 15 próbek zawierających prawidłowe tyreocyty, pobrane metodą mikrodyssekcji laserowej oraz 15 pełnych skrawków pobranych z guza i 12 pełnych skrawków pobranych z tarczycy prawidłowej. Ocenę ekspresji genów wykonano w oparciu o mikromacierze HG-U133 2.0 PLUS firmy Affymetrix (ThermoFisher).

W drugim etapie badania oceniono przydatność materiału resztkowego pochodzącego z biopsji cienkoigłowej guzów tarczycy. W tym etapie 260 próbek, czyli 130 pary: biopsja pełna/biopsja resztkowa zostało poddanych analizie całego transkryptomu z wykorzystaniem mikromacierzy HTA-2.0 Affymetrix (ThermoFisher). Badanie wykazało, że 15 pęcherzyków tarczycowych jest wystarczające do wyizolowania odpowiedniej ilości materiału genetycznego, koniecznego do wykonania analiz molekularnych w celu oceny całego transkryptomu komórki pęcherzykowej.

Niejako pobocznym celem badania była analiza roli biologicznej genów wyselekcjonowanych jako markery ekspresyjne raka brodawkowatego tarczycy.

Wyselekcjonowano 9 genów, charakterystycznych dla raka brodawkowatego tarczycy, wśród których ekspresja 7 genów (*TFF3*, *FN1*, *MPPED2*, *MET*, *KCNJ2*, *TACSTD2*, *GALE*) różnicowała zarówno pełny skrawek pobrany z raka brodawkowatego tarczycy od pełnego skrawka tarczycy niezmienionej jak i wyodrębnione tyreocyty raka brodawkowatego tarczycy od niezmienionych tyreocytów, pobranych metodą mikrodyssekcji laserowej. Natomiast znamienne obniżona ekspresja dwóch genów (*PTCSC* oraz *CTGF*) charakteryzowała tylko komórki raka brodawkowatego tarczycy, pobrane metodą mikrodyssekcji laserowej. Ponadto, w przeprowadzonej analizie komórek selekcjonowanych metodą mikrodyssekcji laserowej, wykazano, że komórki podścieliska istotnie wpływają na profil ekspresji genów raka brodawkowatego tarczycy.

W diagnostycznej części badania oceniono ilość uzyskanego RNA z materiału będącego pozostałością w igle po biopsji cienkoigłowej guzów tarczycy, z której wykonano preparat cytologiczny oraz z biopsji pełnych, w całości przeznaczonych do badania molekularnego. Uzyskane ilości RNA były znamienne większe z biopsji pełnych. Mimo to, z biopsji resztkowych uzyskano wystarczającą ilość do przeprowadzenia reakcji służącej do oceny profilu ekspresji genów metodą mikromacierzy DNA.

W pierwszej części oceny transkryptomu materiału biopsyjnego, z zastosowaniem metody nienadzorowanej, nie wykazano istotnych różnic w profilu ekspresji genów między biopsją pełną a biopsją resztkową. Natomiast analiza nadzorowana wykazała, że 0,5% wszystkich genów ocenianych metodą mikromacierzy ulega istotnym zmianom w ekspresji między dwoma typami biopsji (pełna vs resztkowa). Celem ostatniego etapu badania była selekcja genów różnicujących łagodne i złośliwe guzki tarczycy na podstawie zbioru biopsji resztkowych oraz biopsji pełnych.

Opracowano 15 genowy klasyfikator, który poprawnie klasyfikuje 93% próbek i charakteryzuje się wysoką czułością i specyficznością. Klasyfikator nazwano roboczo ThyroPred-1_ultra.

Przygotowany test jest pierwszym molekularnym testem diagnostycznym, stosowanym w przedoperacyjnej diagnostyce guzków tarczycy, który został opracowany w oparciu o populację polską. Jednocześnie jest to pierwszy na świecie ekspresyjny test molekularny, oparty o wykorzystanie materiału resztkowego pozostałego w igle biopsyjnej po wykonaniu biopsji guzka tarczycy. Wartość diagnostyczna tego testu wymaga badania walidacyjnego, które w chwili obecnej jest prowadzone w ramach projektu MILESTONE. Jak już podkreślano, skład genowy tego testu będzie objęty postępowaniem patentowym. Po przeprowadzeniu tego postępowania wyniki zostaną opublikowane. Niemniej, istota zgłaszanego osiągnięcia nie zależy od składu genowego poszukiwanego klasyfikatora złośliwości guzków tarczycy. Przedstawiona monografia, moim zdaniem, jednoznacznie udowadnia, że dysponujemy metodą wiarygodnej oceny ekspresji genów w materiale pozostałym w igle biopsyjnej po wykonaniu niezbędnego rozmazu cytologicznego.

Bongiovanni M, Spitale A, Faquin WC, Mazzucchelli L, Baloch ZW. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: a meta-analysis. *Acta Cytol*; 2012, 56:333–339

Cibas ES, Ali SZ. The 2017 Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid*. 2017 Nov; 27(11):1341-1346

Faquin WC, Bongiovanni M, Sadow PM. Update in thyroid fine needle aspiration. *Endocr Pathol*. 2011 Dec; 22(4):178-83

Hsiao SJ, Nikiforov YE. Molecular approaches to thyroid cancer diagnosis. *Endocr Relat Cancer*. 2014 Oct; 21(5):T301-13

Jung CK, Little MP, Lubin JH, et al. The increase in thyroid cancer incidence during the last four decades is accompanied by a high frequency of BRAF mutations and a sharp increase in RAS mutations. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:E276-E285

Paschke R, Cantara S, Crescenzi A, Jarzab B, Musholt TJ, Sobrinho Simoes M. European Thyroid Association Guidelines regarding Thyroid Nodule Molecular Fine-Needle Aspiration Cytology Diagnostics. *Eur Thyroid J*. 2017 Jul; 6(3):115-129

Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, et al. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol*. 2013;2013:965212

Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych:

Moje zainteresowania naukowe skupiają się wokół biologii molekularnej nowotworów oraz poszukiwania markerów molekularnych do zastosowań diagnostycznych oraz jako czynników prognostycznych czy predykcyjnych w nowotworach, a w szczególności w raku tarczycy.

A. Diagnostyka molekularna raków zróżnicowanych – selekcja markerów molekularnych charakterystycznych dla raka brodawkowatego i pęcherzykowego tarczycy oraz wspomagających różnicowanie między zmianami złośliwymi a łagodnymi.

Rak brodawkowaty tarczycy

Pracę badawczą rozpoczęłam na studiach, dołączając do zespołu Zakładu Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej Centrum Onkologii-Instytutu, Oddziału w Gliwicach, kierowanego przez prof. Barbarę Jarzab. Jedno z pierwszych zadań, w które się zaangażowałam dotyczyło organizacji i utworzenie banku guzów tarczycy. Współpraca z Kliniką Chirurgii Onkologicznej w Centrum Onkologii-Instytucie, Oddziale w Gliwicach (z dr hab. Janem Włochem i dr hab. Agnieszką Czarniecką) pozwoliła na zgromadzanie unikalnego materiału badawczego wykorzystywanego w dalszych badaniach. Współpraca ta zaowocowała pierwszymi badaniami dotyczącymi częstości występowania dwóch najczęstszych rearanżacji genu *RET* (*RET/PTC1* i *RET/PTC3*) w raku brodawkowatym tarczycy w populacji polskiej. Gen *RET* koduje receptor błonowy o aktywności kinazy tyrozynowej biorący udział w przekazywaniu sygnału szlaku kinaz MAPK (ang. mitogen-activated protein kinases) aktywujących proliferację i różnicowanie się komórek. Zmiany *RET/PTC* są ściśle związane z ekspozycją na promieniowanie jonizujące. Zmiany te są często obserwowane są u dzieci, co również potwierdziły nasze badania, w których częstość rearanżacji w przebadanej populacji wyniosła 27% natomiast jeżeli pod uwagę byli brani pacjenci poniżej 21 r. ż., częstość ta wzrastała prawie dwukrotnie i wynosiła 50% (Wlench i wsp., 2001). Pod koniec lat 90 ubiegłego wieku intensywnie rozwinęła się wielkoskalowa analiza ekspresji genów dająca możliwość analizy tysięcy genów jednocześnie, co do tej pory nie było możliwe. Intensywnie rozpoczęto analizować szerokie spektrum genów a także transkryptom nowotworów. W swojej pracy badawczej w dużej mierze oparłam się na zastosowaniu wysokowydajnych metod pozwalających na ocenę profilu ekspresji genów w celu selekcji potencjalnych markerów molekularnych. Wielkoskalowe badania były możliwe do prowadzenia dzięki utworzeniu w 2001r. w Zakładzie Medycyny Nuklearnej i Onkologii Endokrynologicznej pierwszej w Polsce Pracowni Mikromacierzy DNA. Powstała ona po przyznaniu przez Komitet Badań Naukowych projektu zamawianego dla Konsorcjum, którego liderem był Instytut Centrum Onkologii, Oddział w Gliwicach. Konsorcjum zrzeszało Śląską Akademię Medyczną (obecnie Śląski Uniwersytet Medyczny), Politechnikę Śląską oraz Uniwersytet Śląski w Katowicach. Początkowo Pracownia Mikromacierzowa

działała na rzecz konsorcjum a następnie została włączona w struktury już istniejącego laboratorium diagnostycznego tworząc Pracownię Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej, której jestem kierownikiem. Pierwsze badania związane z wykorzystaniem technik wysokoprzepustowych, takich jak mikromacierze DNA, zostały uruchomione w 2003 r. wykorzystując aparaty firmy Affymetrix (obecnie Thermofisher). Bezpośrednio brałam udział w uruchomieniu i organizacji Pracowni Mikromacierzowej jak i opracowaniu metodyki badawczej dotyczącej zarówno odpowiedniego przechowywania, przygotowania oraz analizy materiału. Pierwsze badania z wykorzystaniem mikromacierzy DNA dotyczyły oceny profilu ekspresji genów raka brodawkowatego tarczycy w porównaniu do ekspresji genów obserwowanych w tarczycy niezmienionej makroskopowo (Jarzab i wsp., 2005). W pracy tej wykonałam badanie z wykorzystaniem mikromacierzy DNA oraz brałam udział w interpretacji biologicznej wyników. Praca ta prezentowała wyniki uzyskane na największej grupie próbek tkankowych, ale przede wszystkim przedstawiła nowatorskie podejście do analizy transkryptomu. W badaniu tym podjęliśmy współpracę z grupą profesora Andrzeja Świerniaka i (obecnie) profesora Krzysztofa Fajurewicza z Politechniki Śląskiej. Zastosowana metoda bioinformatyczna, polegająca na dekompozycji wartości szczególnych (ang. Singular Value Decomposition) pozwoliła na ocenę głównych źródeł zmienności w badanym materiale. Główną zmiennością była różnica między rakiem brodawkowatym tarczycy, a tarczycą niezmienioną makroskopowo, ale co ciekawe, zaobserwowaliśmy, że ważnym czynnikiem podlegającym zmianie jest ekspresja genów zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną, co wcześniej nie było prezentowane w raku brodawkowatym tarczycy. W chwili obecnej praca ta jest cytowana 265 razy. W kolejnych badaniach skupiliśmy się zarówno na najlepiej różnicujących genach, uzyskanych w powyższej analizie takich jak gen *DPP4* (Ozog i wsp., 2005) czy też *TIMP1* i *FN1* (Gubala i wsp., 2006) jak również meta analizie łączącej nasze wyniki z surowymi danymi uzyskanymi przez innych badaczy (Fajurewicz i wsp., 2007). Dodatkowo w wyniku przeprowadzonej meta-analizy wykonanej na połączeniu badań własnych i dostępnych w repozytoriach wraz z grupą prof. Andrzeja Świerniaka i prof. Krzysztofa Fajurewicza zaproponowaliśmy panel genów najlepiej różniących raka brodawkowatego tarczycy od zmian łagodnych w materiale pooperacyjnym (Fajurewicz i wsp., 2007). Uzyskane wyniki zaowocowały zgłoszeniem do Europejskiego Urzędu Patentowego dotyczącym sygnatury transkryptomowej raka tarczycy (nr zgłoszenia EP2366800A1 z dnia 01-03-2010, tytuł „Kit, method and use for the diagnosis of papillary thyroid cancer using a gene expression profile”, zespół autorów M. Jarzab, M. Oczko-Wojciechowska, M. Wiench, K. Fajurewicz, A. Pfeifer, M. Świerniak, B. Chociaż projekt związany przygotowaniem zgłoszenia patentowego, ze względów na ograniczone możliwości finansowe został zawieszony, pozwolił na zdobycie doświadczenia i wiedzy związanej z przeprowadzeniem postępowania patentowego. We wszystkich tych pracach brałam udział w wykonaniu badania jak również interpretacji wyników względem dostępnego piśmiennictwa.

Dalsze badania możliwe były do realizacji dzięki uczestnictwu w 6. Programie Ramowym Unii Europejskiej GENRISK- „Defining the genetic component of thyroid cancer risk at low doses”. EU: FP6 36495. Projekt koordynowany był przez prof. Michaela Atkinsona z Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH) oraz prof. Geraldine Thomas z Imperial College w Londynie, która jest koordynatorem Chernobyl Tissue Bank. Centrum Onkologii – Instytut, Oddział w Gliwicach było częścią konsorcjum, a grupa, w której uczestniczyłam pod kierownictwem pani prof. Barbary Jarzab odpowiedzialna była za wykonanie oceny transkryptomu raka brodawkowatego tarczycy, indukowanego promieniowaniem. Dla standaryzacji badań oraz zrozumienia i oceny wpływu techniki mikromacierzy część próbek była wykonywana również w Université Libre w Brukseli (prof. J. Dumont, prof. C. Maenhaut). Znaczna część badań została

wykonana przez ze mnie jak również zajmowałam się koordynacją współpracy między Pracownią, a Bankiem Tkanek w Czarnobylu. Uzyskane wyniki w pracy wykazały, że różnica między indukowanym promieniowaniem, a sporadycznym rakiem brodawkowatym tarczycy jest niewielka, wyodrębniliśmy 300 genów o znamienne różniące się ekspresji (Handkiewicz-Junak D i wsp.,). Co interesujące, projekt ten wykazał, że również niewielka różnica we wzorze ekspresji genów obserwowana jest w tkance tarczycy niezmiennionej makroskopowo, pobranej z drugiego płata tarczycy u osób narażonych na promieniowanie jonizujące (Dom i wsp.,). Również efektem współpracy w projekcie było wyselekcjonowanie nowego markera raka brodawkowatego tarczycy, genu *AGR2* (ang. Anterior gradient protein) wpływającego na proliferację i migrację komórek (di Maro i wsp.,). Powstała również praca poglądowa dotycząca profilu ekspresji genów raka tarczycy indukowanego promieniowaniem jonizującym (Maenhaut i wsp.,). Udział w obu projektach, europejskim i zamawianym, pozwolił mi na zdobycie ogromnego doświadczenia w planowaniu i koordynacji badań, jak również ukierunkował moje zainteresowania badawcze w stronę zastosowania wielkoskalowej analizy ekspresji genów w diagnostyce molekularnej. Realizację tego celu umożliwiło mi otrzymanie finansowania z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego grantu „Opracowanie punktów kontrolnych dla oceny jakości procedury amplifikacji i znakowania mikromacierzy oligonukleotydowych”, którego byłam kierownikiem. W ramach tego projektu zaproponowałam optymalizację metody i kryteria oceny jakości w badaniu ekspresji genów za pomocą mikromacierzy oligonukleotydowych dla wykorzystania tej techniki w diagnostyce. Również moja rozprawa doktorska „Optymalizacja badań z wykorzystaniem mikromacierzy DNA”, nakierowana była na określenie czynników wpływających na wykonanie badania globalnego profilu ekspresji genów, a także opracowanie punktów kontrolnych, pozwalających na zastosowanie tego typu badań w diagnostyce. Przeanalizowałam ponad 1200 mikromacierzy i ponad 4000 próbek RNA wyizolowanego z różnych typów nowotworów i prawidłowych tkanek. Zdobyte doświadczenie wykorzystałam przy realizacji projektu finansowanego przez NCBIR: „Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego [MILESTONE]” konkurs STRATEGMED2. W projekcie tym jestem odpowiedzialna za opracowanie klasyfikatora molekularnego wspomagającego rozpoznanie cytologiczne guzków tarczycy. Dodatkowo podjęłam się autorskiego projektu mającego na celu opracowania klasyfikatora molekularnego, dedykowanego do zastosowania w pozostałości materiału biopsyjnego w igle po wykonaniu preparatu cytologicznego, co jest przedmiotem mojej monografii. W chwili obecnej rozpoczęto procedury mające na celu zgłoszenie patentowe opracowanego klasyfikatora.

Moje zainteresowania markerami molekularnymi, w diagnostyce raka brodawkowatego tarczycy związane są również z poszukiwaniem markerów prognostycznych. W ciągu ostatniej dekady pojawiło się wiele doniesień proponujących mutację genu *BRAF* w kodonie 600 (transwersja tyminy na adeninę w nukleotydzie 1799) jako niezależny marker prognostyczny w raku brodawkowatym tarczycy. Początkowo wiązano mutacje genu *BRAF* V600E głównie z nawrotem choroby i bardziej agresywnym przebiegiem. Kolejne doniesienia nie potwierdzały korelacji tej mutacji z gorszym rokowaniem w raku brodawkowatym tarczycy. Również badanie, w którym uczestniczyłam a prowadzone przez dr hab. Agnieszkę Czarniecką oraz dr Dagmarę Rusinek nie wykazało korelacji między mutacją V600E genu *BRAF* z większą agresywnością choroby (Czarniecka i wsp., 2015). Z tego też względu dalsze nasze badania ukierunkowane zostały na ocenę korelacji mutacji promotora genu *TERT*, którego współwystępowanie z mutacją genu *BRAF* zostało powiązane z gorszym rokowaniem w raku brodawkowatym tarczycy. Analiza przeprowadzona na polskiej grupie pacjentów wykazała, że mutacja promotora genu *TERT* koreluje z przerzutami do węzłów chłonnych i bardziej zaawansowaną chorobą. Jest to jedyne polskie badanie oceniające wpływ obu mutacji na nawrót i agresywny przebieg

raka brodawkowego tarczycy (Rusinek i wsp., 2019). Wyniki własne, jak i ocena dotychczasowych wyników związanych z poszukiwaniem markerów prognostycznych raka tarczycy zaowocowały współautorstwem w 3 publikacjach przeglądowych poruszających najbardziej aktualne tematy związane z oceną mutacji genu *BRAF* jako czynnika prognostycznego, obecności zjawiska heterogenności w raku tarczycy, czy też oceną przyczyny wzrostu zachorowań na raka tarczycy (Czarnecka i wsp., 2016; Rusinek i wsp., 2017; Chmielik i wsp., 2018).

Prężne działanie Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej w zakresie transkryptomiki pozwoliło na rozwijanie badań dotyczących oceny transkryptomu min. guzów pęcherzykowych tarczycy. Diagnostyka guzów pęcherzykowych jest wyzwaniem nawet dla doświadczonego patologa. W obrazie mikroskopowym preparatu histopatologicznego gruczolak pęcherzykowy odróżnia się od raka pęcherzykowego naciekaniem torebki i/lub inwazją do naczyń, czego nie można zaobserwować w przypadku biopsji cienkoigłowych diagnostycznych. Dlatego poszukiwania markerów złośliwości guzów pęcherzykowych prowadzona jest od wielu lat. W badaniach, w których uczestniczyłam, profil ekspresji genów został przeprowadzony w materiale mrożonym (Wojtas i wsp., 2013, 2017) oraz archiwalnym (błoczki parafinowe) (Pfeifer i wsp., 2013). W pracach tych opracowaliśmy panele genowe różnicujące między złośliwymi a łagodnymi guzami tarczycy uzyskując ok. 72% poprawnej klasyfikacji próbek. W projektach tych koordynowałam pracę studentów studiów doktoranckich oraz odpowiadałam za wykonanie badań mikromacierzowych.

W 2007 r. utworzono Konsorcjum przez Centrum Onkologii – Oddział w Gliwicach, Politechnikę Śląską, Śląską Akademię Medyczną (obecnie Śląski Uniwersytet Medyczny) oraz Uniwersytet Śląski, co zaowocowało uzyskaniem środków w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka „Rozwój ośrodków o wysokim potencjale badawczym” projekt POIG.02.01.00-00-166/08-00 i utworzeniem „Śląskiej BIO-FARMY. Centrum Biotechnologii, Bioinżynierii i Bioinformatyki”. W ramach projektu uruchomiłam sekwencjonowanie nowej generacji (ang. next generation sequencing, NGS) w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej. W chwili obecnej technika ta stosowana jest również w rutynowej diagnostyce wykonywanej w Pracowni. Wprowadzenie sekwencjonowania nowej generacji oraz współpraca z innymi ośrodkami umożliwiła szeroką analizę mutacji w guzach pęcherzykowych tarczycy (Świerniak M i wsp., 2016) oraz pozwoliła na wykrycie nowych genów fuzyjnych w raku brodawkowym tarczycy (Pfeifer i wsp., 2019).

Współpraca z grupą prof. Piotra Wiślickiego w zakresie obrazowania i profilowania lipidów w tkance tarczycy pozwoliła na scharakteryzowanie profilu lipidowego raka brodawkowego tarczycy (Wojakowska i wsp., 2018).

Bibliografia:

Wiench M, Włoch J, **Oczko M**, Gubała E, Jarzab B. [Rearrangement of the RET gene in papillary thyroid carcinoma]. Wiad Lek. 2001;54 Suppl 1:64-71

Jarzab B, Wiench M, Fajarsiewicz K, Simek K, Jarzab M, **Oczko-Wojciechowska M**, Włoch J, Czarnecka A, Chmielik E, Lange D, Pawlaczek A, Szpak S, Gubała E, Świerniak A. Gene expression profile of papillary thyroid cancer: sources of variability and diagnostic implications. Cancer Res. 2005 Feb 15;65(4):1587-1597

Gubała E, Wiench M, **Oczko-Wojciechowska M**, Lange D, Włoch J, Czarnecka A, Chmielik E, Nikiel B, Wygoda Z, Kukulska A, Handkiewicz-Junak D, Szpak-Ulcioz S, Krawczyk A, Roskosz J, Jarzab B. Analiza ekspresji wybranych genów w raku brodawkowym tarczycy techniką mikromacierzy DNA. Endokrynol Pol. 2005 Sep-Oct;56(5):752-757

Ozóg J, Jarzab M, Pawlaczek A, **Oczko-Wojciechowska M**, Włoch J, Roskosz J, Gubała E. Expression of DPP4 gene in papillary thyroid carcinoma. Endokrynol Pol. 2006;57 Suppl A:12-7. Polish

Fujarewicz K, Jarzab M, Eszlinger M, Krohn K, Paschke R, **Oczko-Wojciechowska M**, Wiench M, Kukulska A, Jarzab B, Świerniak A. A multi-gene approach to differentiate papillary thyroid carcinoma from benign lesions: gene selection using support vector machines with bootstrapping. *Endocr Relat Cancer*. 2007 Sep;14(3):809-826

Handkiewicz-Junak D, Świerniak M, Rusinek D, **Oczko-Wojciechowska M**, Dom G, Maenhaut C, Unger K, Detours V, Bogdanova T, Thomas G, Likhtarov I, Jaksik R, Kowalska M, Chmielik E, Jarzab M, Świerniak A, Jarzab B. Gene signature of the post-Chernobyl papillary thyroid cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016 Jul;43(7):1267-77

Di Maro G, Salerno P, Unger K, Orlandella FM, Monaco M, Chiappetta G, Thomas G, **Oczko-Wojciechowska M**, Masullo M, Jarzab B, Santoro M, Salvatore G. Anterior gradient protein 2 promotes survival, migration and invasion of papillary thyroid carcinoma cells. *Mol Cancer*. 2014 Jun 30;13:160. doi: 10.1186/1476-4598-13-160

Dom G, Tarabichi M, Unger K, Thomas G, **Oczko-Wojciechowska M**, Bogdanova T, Jarzab B, Dumont JE, Detours V, Maenhaut C. A gene expression signature distinguishes normal tissues of sporadic and radiation-induced papillary thyroid carcinomas. *Br J Cancer*. 2012 Sep 4;107(6):994-1000

Maenhaut C, Detours V, Dom G, Handkiewicz-Junak D, **Oczko-Wojciechowska M**, Jarzab B. Gene Expression Profiles for Radiation-induced Thyroid Cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2011; 23(4): 282-288

Czarniecka A, Kowal M, Rusinek D, Krajewska J, Jarzab M, Stobiecka E, Chmielik E, Zembala-Nozynska E, Poltorak S, Sacher A, Maciejewski A, Zebracka-Gala J, Lange D, **Oczko-Wojciechowska M**, Handkiewicz-Junak D, Jarzab B. The Risk of Relapse in Papillary Thyroid Cancer (PTC) in the Context of BRAFV600E Mutation Status and Other Prognostic Factors. *PLoS One*. 2015 Jul 15;10(7):e0132821

Rusinek D, Pfeifer A, Krajewska J, **Oczko-Wojciechowska M**, Handkiewicz-Junak D, Pawlaczek A, Zebracka-Gala J, Kowalska M, Cyplinska R, Zembala-Nozynska E, Chekan M, Chmielik E, Kropinska A, Lamch R, Jurecka-Lubieniecka B, Jarzab B, Czarniecka A. Coexistence of TERT Promoter Mutations and the BRAF V600E Alteration and Its Impact on Histopathological Features of Papillary Thyroid Carcinoma in a Selected Series of Polish Patients. *Int J Mol Sci*. 2018 Sep 6;19(9)

Chmielik E, Rusinek D, **Oczko-Wojciechowska M**, Jarzab M, Krajewska J, Czarniecka A, Jarzab B. Heterogeneity of Thyroid Cancer. *Pathobiology*. 2018;85(1-2):117-129

Rusinek D, Chmielik E, Krajewska J, Jarzab M, **Oczko-Wojciechowska M**, Czarniecka A, Jarzab B. Current Advances in Thyroid Cancer Management. Are We Ready for the Epidemic Rise of Diagnoses? *Int J Mol Sci*. 2017 Aug 22;18(8). pii: E1817

Czarniecka A, **Oczko-Wojciechowska M**, Barczyński M. BRAF V600E mutation in prognostication of papillary thyroid cancer (PTC) recurrence. *Gland Surg*. 2016 Oct;5(5):495-505

Wojtaś B, Pfeifer A, Jarzab M, Czarniecka A, Krajewska J, Świerniak M, Stokowy T, Rusinek D, Kowal M, Zebracka-Gala J, Tyszkiewicz T, **Oczko-Wojciechowska M**, Stobiecka E, Lange D, Paschke R, Jarzab B. Analiza profilu ekspresji gruczolaków i raków pęcherzykowych tarczycy w celu różnicowania łagodnych i złośliwych nowotworów tarczycy. Unsupervised analysis of follicular thyroid tumours transcriptome by oligonucleotide microarray gene expression profiling. *Endokrynol Pol*. 2013;64(5):328-34

Pfeifer A, Wojtas B, **Oczko-Wojciechowska M**, Kukulska A, Czarniecka A, Eszlinger M, Musholt T, Stokowy T, Świerniak M, Stobiecka E, Rusinek D, Tyszkiewicz T, Kowal M, Jarzab M, Hauptmann S, Lange D, Paschke R, Jarzab B. Molecular differential diagnosis of follicular thyroid carcinoma and adenoma based on gene expression profiling by using formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *BMC Med Genomics*. 2013 Oct 7;6(1):38

Wojtas B, Pfeifer A, **Oczko-Wojciechowska M**, Krajewska J, Czarniecka A, Kukulska A, Eszlinger M, Musholt T, Stokowy T, Świerniak M, Stobiecka E, Chmielik E, Rusinek D, Tyszkiewicz T, Halczok M, Hauptmann S, Lange D, Jarzab M, Paschke R, Jarzab B. Gene Expression (mRNA) Markers for Differentiating between Malignant and Benign Follicular Thyroid Tumours. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017 Jun 2;18(6). pii: E1184

Pfeifer A, Rusinek D, Zebracka-Gala J, Czarniecka A, Chmielik E, Zembala-Nożyńska E, Wojtaś B, Gielniewski B, Szpak-Ulczo S, **Oczko-Wojciechowska M**, Krajewska J, Polańska J, Jarzab B. Novel TG-FGFR1 and TRIM33-NTRK1 transcript fusions in papillary thyroid carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 21 January 2019

Świerniak M, Pfeifer A, Stokowy T, Rusinek D, Chekan M, Lange D, Krajewska J, **Oczko-Wojciechowska M**, Czarniecka A, Jarzab M, Jarzab B, Wojtas B. Somatic mutation profiling of follicular thyroid cancer by next generation sequencing. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;433:130-7

Wojakowska A, Cole LM, Chekan M, Bednarczyk K, Maksymiak M, **Oczko-Wojciechowska M**, Jarzab B, Clench MR, Polańska J, Pietrowska M, Widlak P. Discrimination of papillary thyroid cancer from non-cancerous thyroid tissue based on lipid profiling by mass spectrometry imaging. *Endokrynol Pol.* 2018;69(1):2-8

B. Diagnostyka molekularna raka rdzeniastego tarczycy – selekcja markerów molekularnych charakterystyczny dla tego nowotworu

Rak rdzeniasty tarczycy wywodzi się z komórki C tarczycy i charakteryzuje się odmienną biologią od nowotworów wywodzących się z komórki pęcherzykowej tarczycy. Jest nowotworem rzadkim i stanowi ok. 3-4% wszystkich raków tarczycy. W ok. 25% występuje jako postać dziedziczna, która związana jest z występowaniem germinalnych aktywujących mutacji proto-onkogenu *RET*. Rak rdzeniasty tarczycy jest unikalnym modelem nowotworzenia ponieważ mutacje genu *RET* charakteryzują się wysokim potencjałem transformujących i wysoką penetracją dlatego też nowotwór ten rozwija się u ponad 99% nosicieli tej mutacji. Z tego względu wprowadzenie diagnostyki genetycznej jest konieczne, zarówno w celu identyfikacji osób z dziedziczną postacią jak i nosicieli mutacji. Diagnostyka genetyczna raka rdzeniastego tarczycy jako pierwsza w Polsce została wprowadzona w 1998 r. przez prof. Barbarę Jarzab w Centrum Onkologii-Instytucie, Oddziale w Gliwicach. Badania nad wprowadzeniem takiego testu były prowadzone już od 1996 r. W tym czasie nie było szeroko dostępnych metod diagnostyki molekularnej i opracowaniem testu diagnostycznego zajęła się dr Małgorzata Wiench. Jako studentka pierwszego roku Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytetu Śląskiego dołączyłam do zespołu zajmującego się wdrożeniem diagnostyki genetycznej w raku rdzeniastym tarczycy i miałam możliwość uczestniczenia we wdrażaniu testu molekularnego do rutynowej diagnostyki germinalnej. Pierwsze moje zadania dotyczyły opracowania metodyki izolacji DNA z krwi obwodowej oraz wykonania sekwenjonowania DNA metodą Sangera (Wiench i wsp., 2001, Włoch i wsp., 2001, 2005). Swoją warsztat technik molekularnych stale udoskonalałam o nowe narzędzia genomiki funkcjonalnej takie jak mutageneza ukierunkowana, która pozwala na wprowadzenie dowolnej mutacji w wybranym miejscu genu co było podstawą mojej pracy magisterskiej pt.: „Ukierunkowana mutageneza cDNA proto-onkogenu *RET* w wektorach plazmidowych”. Dodatkowo w związku z uruchomieniem banku guzów tarczycy możliwe było wykonywanie badań w materiale pochodzącym z guza raka rdzeniastego tarczycy. Czynnikiem molekularnym odpowiedzialnym za dziedziczną postać raka rdzeniastego tarczycy jest doskonale znany, są to mutacje genu *RET*, ale nieznane są czynniki wpływające na rozwój sporadycznej postaci tego nowotworu. W pierwszym etapie podjęliśmy się badania zmian germinalnych będących polimorfizmami jednonukleotydowymi w obrębie genu *RET* i ich korelacji z predyspozycją do rozwoju raka rdzeniastego tarczycy (Wiench i wsp.,). Natomiast w drugim etapie przeprowadzone zostały analizy somatycznej mutacji genu *RET* obecnej tylko w guzie raka rdzeniastego tarczycy (Wiench M i wsp., 2001). W kolejnych badaniach skupiałam się na ocenie somatycznych mutacji genów *RAS* w materiale pooperacyjnym pobranym od pacjentów z postacią sporadyczną i dziedziczną raka rdzeniastego tarczycy (Oczko-Wojciechowska i wsp., 2015). Jest to jedno z kilku badań dotyczących tej tematyki na świecie i jedyne przeprowadzone na populacji polskiej. Wykazaliśmy, że częstość mutacji genów *RAS* (głównie genu *H-RAS*) jest wysoka i wynosi blisko 69% wśród próbek sporadycznego raka rdzeniastego tarczycy, ujemnych pod względem występowania mutacji genu *RET*. W 2005 r. uzyskaliśmy finansowanie w ramach projektu Ministerstwa Nauki i Informatyzacji, które pozwoliło na scharakteryzowanie profilu ekspresji genów raka rdzeniastego tarczycy (Oczko-Wojciechowska i wsp., 2005). Wstępne wyniki wskazywały na podobieństwo transkryptomu dziedzicznego i sporadycznego raka rdzeniastego tarczycy co przemawia za wspólną ścieżką patogenezy molekularnej. Badanie to

wykazało również, że niewielkie różnice we wzorze ekspresji genów mogą mieć inne podłoże. Z tego też względu rozszerzono badanie o kolejne próbki. Badanie opublikowane w 2017 r. wykonane we współpracy z dr Jolantą Krajewską i dr Michałem Świerniakiem, obejmowało analizę 60 próbek w tym 22 próbki dziedzicznego i 38 sporadycznego raka rdzeniastego tarczycy i jest największym badaniem oceniającym transkryptom raka rdzeniastego tarczycy prezentowanym do tej pory (Oczko-Wojciechowska wsp., 2017). Badanie to potwierdziło, że nie ma istotnych różnic w profilu ekspresji genów między postacią dziedziczną i sporadyczną raka rdzeniastego tarczycy. Natomiast zaproponowano 3 geny (*NNAT*, *CDC14B*, *NTRK3*), których ekspresja może różnicować próbki z wykrytymi mutacjami charakterystycznymi dla MEN2A od MEN2B.

Często dziedziczna postać tego nowotworu jest objawem zespołu mnogich nowotworów układu wydzielania wewnętrznego typu 2 (ang. multiple endocrine neoplasia type 2, MEN 2) któremu towarzyszą inne endokrynopatie takie jak guz chromochłonny nadnerczy. Tego też względu brałam udział w badaniu związanym z oceną częstości występowania tych guzów u pacjentów, u których mutacja genu *RET* została wykryta oraz w innym badaniu dotyczącym guzów chromochłonnych o dużym potencjale złośliwości (Kotecka-Blicharz i wsp., 2016, 2018).

Bibliografia

Wiench M, Wygoda Z, Gubała E, Włoch J, **Oczko M**, Jarzab B. The genetic background of medullary thyroid carcinoma in young patients. *Folia Histochem Cytobiol.* 2001;39 Suppl 2:163-164

Wiench M, Kwaśniewski M, Gubała E, Wygoda Z, Pawlaczek A, **Oczko M**, Jarzab B. [Proto-oncogene RET somatic mutations in medullary thyroid carcinoma]. *Wiad Lek.* 2001;54 Suppl 1:415-21

Włoch J, Wygoda Z, Wiench M, Gubała E, Kula D, **Oczko M**, Lange D, Jarzab B. [Consequences of clinical genetic analysis of RET proto-oncogene]. *Wiad Lek.* 2001;54 Suppl 1:406-14

Wiench M, Włoch J, Wygoda Z, Gubała E, **Oczko M**, Pawlaczek A, Kula D, Lange D, Jarzab B. RET polymorphisms in codons 769 and 836 are not associated with predisposition to medullary thyroid carcinoma. *Cancer Detect Prev.* 2004;28(4):231-236

Włoch J, **Oczko-Wojciechowska M**, Szpak-Ulczoł S, Jarzab B. Rak rdzeniasty tarczycy: od badań molekularnych do kliniki [Medullary thyroid carcinoma: from molecular studies to clinical decision]. *Endokrynol Pol.* 2005 May-Jun;56(3):362-369

Oczko-Wojciechowska M, Włoch J, Wiench M, Fajarewicz K, Simek K, Gala G, Gubała E, Szpak-Ulczoł S, Jarzab B. Gene expression profile of medullary thyroid carcinoma--preliminary results. *Endokrynol Pol.* 2006 Jul-Aug;57(4):420-6

Oczko-Wojciechowska M, Pfeifer A, Rusinek D, Pawlaczek A, Zebracka-Gala J, Kowalska M, Kowal M, Świerniak M, Krajewska J, Gawlik T, Chmielik E, Czarniecka A, Szpak-Ulczoł S, Jarzab B. The prevalence of somatic RAS mutations in medullary thyroid cancer - a Polish population study. *Endokrynol Pol.* 2015;66(2):121-5

Oczko-Wojciechowska M, Świerniak M, Krajewska J, Kowalska M, Kowal M, Stokowy T, Wojtas B, Rusinek D, Pawlaczek A, Czarniecka A, Szpak-Ulczoł S, Gawlik T, Chmielik E, Tyszkiewicz T, Nikiel B, Lange D, Jarzab M, Wiench M, Jarzab B. Differences in the transcriptome of medullary thyroid cancer regarding the status and type of RET gene mutations. *Sci Rep.* 2017;7:42074

Kotecka-Blicharz A, Hasse-Lazar K, Jurecka-Lubieniecka B, Pawlaczek A, **Oczko-Wojciechowska M**, Bugajska B, Ledwon A, Król A, Michalik B, Jarzab B. Occurrence of pheochromocytoma tumours in RET mutation carriers - a single-centre study. *Endokrynol Pol.* 2016;67(1):54-8

Kotecka-Blicharz A, Hasse-Lazar K, Handkiewicz-Junak D, Gawlik T, Pawlaczek A, **Oczko-Wojciechowska M**, Michalik B, Szpak-Ulczok S, Krajewska J, Jurecka-Lubieniecka B, Jarzab B. 131-I MIBG therapy of malignant pheochromocytoma and paraganglioma tumours - a single-centre study. *Endokrynol Pol.* 2018;69(3):246-251

C. Optymalizacja leczenia raka tarczycy, zalecenia krajowych towarzystw naukowych dotyczące diagnostyki i leczenia.

W 2018 r. ukazała się aktualizacja polskich rekomendacji dotyczących diagnostyki i leczenia raka tarczycy, w przygotowaniu których brałam udział.

Jarzab B, Dedecjus M, Słowińska-Klencka D, Lewiński A, Adamczewski Z, Anielski R, Bağtaj M, Bałdys-Waligórska A, Barczyński M, Bednarczuk T, Bossowski A, Buziak-Bereza M, Chmielik E, Cichocki A, Czarniecka A, Czepczyński R, Dziecioł J, Gawlik T, Handkiewicz-Junak D, Hasse-Lazar K, Hubalewska-Dydejczyk A, Jażdżewski K, Jurecka-Lubieniecka B, Kalembska M, Kamiński G, Karbownik-Lewińska M, Klencki M, Kos-Kudła B, Kotecka-Blicharz A, Kowalska A, Krajewska J, Kropińska A, Kukułska A, Kulik E, Kułakowski A, Kuzdak K, Lange D, Ledwon A, Lewandowska-Jabłońska E, Łącka K, Michalik B, Nasierowska-Guttmejer A, Nauman J, Niedziela M, Małacka-Tendera E, **Oczko-Wojciechowska M**, Olczyk T, Paliczka-Cieślak E, Pomorski L, Puch Z, Roskosz J, Ruchała M, Rusinek D, Sporny S, Stanek-Widera A, Stojcev Z, Syguda A, Syrenicz A, Szpak-Ulczok S, Tomkalski T, Wygoda Z, Włoch J, Zembala-Nożyńska E. Guidelines of Polish National Societies Diagnostics and Treatment of Thyroid Carcinoma. 2018 Update. *Endokrynol Pol.* 2018;69(1):34-74

D. Poszukiwanie markerów molekularnych diagnostycznych i predykcyjnych w innych nowotworach

Rak krtani

Dużym wyzwaniem dla mnie był projekt kierowany przez dr hab. Jarosława Markowskiego, który miał na celu poszukiwanie markerów molekularnych wspierających diagnostykę histologiczną raka krtani. W projekcie tym byłam odpowiedzialna za wykonanie badania oceny transkryptomu jak i analizy bioinformatycznej. Efektem tego projektu było wyselekcjonowanie 4 genów (*ADAM12*, *2-CDK2*, *KIF14*, *CHES1*), których ekspresja nie była wcześniej wiązana z rakiem krtani (Markowski i wsp., 2009, 2009, 2013).

Markowski J, Tyszkiewicz T, Jarzab M, **Oczko-Wojciechowska M**, Gierek T, Witkowska M, Paluch J, Kowalska M, Wygoda Z, Lange D, Jarzab B. Metal-proteinase ADAM12, kinesin 14 and checkpoint suppressor 1 as new molecular markers of laryngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009 Oct;266(10):1501-1507

Markowski J, Jarzab M, **Oczko-Wojciechowska M**, Tyszkiewicz T, Witkowska M, Kowalska M, Lange D, Jarzab B, Likus W, Paluch J. Profil ekspresji genów w raku płaskonabłonkowym krtani in vivo przy użyciu mikromacierzy oligonukleotydowych wysokiej gęstości [Gene expression profile in laryngeal cancer in vivo by high – density oligonucleotide microarrays analysis]. *Polski Przegląd Otorinolaryngologiczny*, Volume 2, Issue 2, April–June 2013, Pages 63-69

Markowski J, **Oczko-Wojciechowska M**, Gierek T, Jarzab M, Paluch J, Kowalska M, Wygoda Z, Pfeifer A, Tyszkiewicz T, Jarzab B, Niedzielska I, Borgiel-Marek H. Gene expression profile analysis in laryngeal cancer by high-density oligonucleotide microarrays. *J Physiol Pharmacol.* 2009 May;60 Suppl 1:57-63

Rak piersi

W ramach projektu STRATEGMED2 „Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego [MILESTONE]” jako kierownik części genomicznej odpowiadam za wykonanie badań transkryptomicznych również w raku piersi. Część projektu dotycząca raka piersi kierowana jest przez dr Michała Jarzabę, kierownika sekcji Breast

Unit w Centrum Onkologii-Instytucie, Oddziale w Gliwicach. Głównym celem badania dotyczącego raka piersi jest poszukiwanie markerów molekularnych do zastosowania prognostycznego i predykcyjnego, w szczególności wspomagających ocenę odpowiedzi na przedoperacyjną chemioterapię. Pierwsze uzyskane wyniki dotyczyły możliwości zastosowania oceny ekspresji genów związanych z proliferacją (*MK167* i *CDK1*) oraz genu stresu komórkowego *HSP90* jako markerów molekularnych predykcyjnych w odpowiedzi na przedoperacyjną chemioterapię (Jarzab M i wsp., 2016). W ramach działalności Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej wdrożyłam wraz z zespołem Pracowni możliwość oceny globalnej ekspresji genów w materiale archiwalnym. Jest to niezwykle trudne zagadnienie, ponieważ materiał genetyczny uzyskiwany z blozków parafinowych zwykle jest bardzo niskiej jakości, co często uniemożliwia wykonanie badania ekspresji genów. Konieczna jest optymalizacja stosowanej metody analitycznej, ale również standaryzacja wykonania blozków parafinowych dla uzyskania jak najlepszej jakości materiału do badań. Jednym z pierwszych dużych projektów wykorzystujących materiał archiwalny do oceny transkryptomu była próba rozróżnienia chorych na raka piersi, u których dojdzie do przerzutów do mózgu, od chorych bez rozsiewu do OUN pomimo zajęcia innych narządów. Badanie to opierało się na ocenie profilu ekspresji genów w guzie pierwotnym (Duchnowska i wsp., 2017). Z całego zgromadzonego materiału tylko ok. 1/5 próbek możliwa była do wykorzystania w ocenie transkryptomu. W dużej mierze wpływ na taki wynik mógł mieć fakt, że najstarsze bloczki parafinowe przeznaczone do badań wykonane zostały jeszcze w 1997 r. bez zachowania obecnych reguł dotyczących preparatyki co uniemożliwia wykorzystanie takiego materiału do badań molekularnych.

Bibliografia:

Jarzab M, Kowal M, Bal W, **Oczko-Wojciechowska M**, Rembak-Szynkiewicz J, Kowalska M, Stobiecka E, Chmielik E, Tyszkiewicz T, Kaszuba M, Nowicka E, Lange B, Czarniecka A, Krajewska J, Dyla A, Dobrut M, Lange D, Jarzab B, Bobek-Billewicz B, Tarnawski R. Ratio of proliferation markers and HSP90 gene expression as a predictor of pathological complete response in breast cancer neoadjuvant chemotherapy. *Folia Histochem Cytobiol.* 2016;54(4):202-209

Renata Duchnowska, Michał Jarzab, Jadwiga Zebracka-Gala, Rafał Matkowski, Anna Kowalczyk, Barbara Radecka, Małgorzata Kowalska, Aleksandra Pfeifer, Małgorzata Foszczynska-Kłoda, Antonino Musolino, Bogumiła Czartoryska-Arłukowicz, Maria Litwiniuk, Anna Surus-Hyla, Sylwia Szablowska-Siwik, Bożenna Karczmarek-Borowska, Sylwia Dębska-Szmich, Beata Głodek-Sutek, Katarzyna Sosinska-Mielcarek Ewa Chmielowska, Ewa Kalinka-Warzocho, Wojciech P. Olszewski, Janusz Patera, Anton Zawrocki, _ Agnieszka Pliszka, Tomasz Tyszkiewicz, Dagmara Rusinek, **Małgorzata Oczko-Wojciechowska**, Jacek Jassem, Wojciech Biernat. Brain Metastasis Prediction by Transcriptomic Profiling in Triple-Negative Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer* 2017; Volume 17, Issue 2, e65-e75

Ostra białaczka limfoblastyczna u dzieci

W większości swojej pracy badawczej skupiłam się na zastosowaniu oceny transkryptomu w guzach litych, dlatego ciekawym doświadczeniem było dla mnie zaangażowanie się w badanie dotyczące transkryptomu nowotworowych limfoblastów od dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną w kontekście oceny ich wrażliwości na cytostatyki. Wraz z głównym autorem dr Joanną Szczepanek odpowiadałam za opracowanie metody izolacji RNA z limfoblastów oraz wykonanie badania mikromacierzowego.

Szczepanek J, Pogorzala M, Jarzab M, **Oczko-Wojciechowska M**, Kowalska M, Tretyn A, Wysocki M, Jarzab B, Styczynski J. Expression profiles of signal transduction genes in ex vivo drug-resistant pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Anticancer Res.* 2012 Feb;32(2):503-6.

Szczepanek J, Jarzab M, **Oczko-Wojciechowska M**, Kowalska M, Tretyn A, Haus O, Pogorzala M, Wysocki M, Jarzab B, Styczynski J. Gene expression signatures and ex vivo drug sensitivity profiles in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Appl Genet.* 2012 Feb;53(1):83-91

Inne nowotwory

Doświadczenie zdobyte w analizie transkryptomu raka tarczycy wykorzystałam w szeregu innych projektów min. w badaniu dotyczącym poszukiwania zmian w profilu ekspresji genów gwiazdźniaków pilocytarnych u dzieci w zależności od ich lokalizacji (Zakrzewski i wsp., 2015). Jak również uczestniczyłam w scharakteryzowaniu transkryptomu raka trzustki (Olakowski i wsp., 2009) oraz raka sromu przez porównanie utkania nowotworu do tkanek niezmiennych nowotworowo otaczających guz lub porównanie zajętych i niezajętych węzłów chłonnych. (Kowalewska i wsp., 2012).

Bibliografia:

Zakrzewski K, Jarzab M, Pfeifer A, **Oczko-Wojciechowska M**, Jarzab B, Liberski PP, Zakrzewska M. Transcriptional profiles of pilocytic astrocytoma are related to their three different locations, but not to radiological tumor features. *BMC Cancer.* 2015 Oct 24;15:778

Olakowski M, Tyszkiewicz T, Jarzab M, Król R, **Oczko-Wojciechowska M**, Kowalska M, Kowal M, Gala G, Kajor M, Lange D, Chmielik E, Gubala E, Lampe P, Jarzab B. BNL1 and anilin (ANLN) genes overexpression in pancreatic carcinoma. *Folia Histochemica Cytobiologica* 2009; 47(2): 249-255

Kowalewska M, Radziszewski J, Goryca K, Bujko M, **Oczko-Wojciechowska M**, Jarzab M, Siedlecki JA, Bidzinski M. Estimation of groin recurrence risk in patients with squamous cell vulvar carcinoma by the assessment of marker gene expression in the lymph nodes. *BMC Cancer.* 2012 Jun 6;12:223

E. Ocena transkryptomu stymulowanych komórek odpowiedzi immunologicznej.

W badaniach dotyczących transkryptomu raka tarczycy zaobserwowaliśmy duże zmiany w ekspresji genów związanych z odpowiedzią immunologiczną, dlatego też cennym doświadczeniem był dla mnie udział w projektach prowadzonych przez dr hab. Magdalenę Chechlińską z Zakładu Immunologii Centrum Onkologii-Instytutu w Warszawie oraz dr hab. Jolantę Jurę z Zakładu Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Jagiellońskiego. W pierwszym projekcie zidentyfikowano sygnaturę wyjścia z cyklu komórkowego limfoblastów T pozbawionych czynnika wzrostu (Chechlińska i wsp., 2009). Natomiast drugi projekt nakierowany był na określenie wpływu IL-1 i IL-6 na ekspresję genów w makrofagach pochodzących z monocytów krwi obwodowej (Jura i wsp., 2008).

Bibliografia:

Jura J, Wegrzyn P, Korostyński M, Guzik K, Oczko-Wojciechowska M, Jarzab M, Kowalska M, Piechota M, Przewłocki R, Koj A. Identification of interleukin-1 and interleukin-6-responsive genes in human monocyte-derived macrophages using microarrays. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Jun-Jul;1779(6-7):383-9

Chechlińska M, Siwicki JK, Gos M, **Oczko-Wojciechowska M**, Jarzab M, Pfeifer A, Jarzab B, Steffen J. Molecular signature of cell cycle exit induced in human T lymphoblasts by IL-2 withdrawal. *BMC Genomics.* 2009 Jun 8;10:261

F. Inne projekty

Uczestniczyłam również w projekcie mającym na celu identyfikację szlaków odpowiedzi immunologicznej mogących wyjaśnić mniejszą skuteczność szczepionki przeciw krztuścowej DPT z pełnokomórkowym lub niepełnokomórkowym komponentem krztuścowym (Gzyl i wsp., 2007).

Innym projektem, w którym brałam udział, również nakierowanym na identyfikację szlaków była ocena różnic w profilu ekspresji genów jądrzastych komórek krwi obwodowej u pacjentów z nefropatią cukrzycową w porównaniu do pacjentów bez nefropatii (Moczulski i wsp., 2007).

Kolejnym projektem, w którym wykorzystałam analizę transkryptomu było badanie prowadzone przez prof. Marię Obolenskaya (Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine). Głównym celem była ocena podobieństw między swoistą odpowiedzią *in vitro* na IFN- α w szczurzych hepatocytach, a naturalnymi procesami regeneracji wątroby (Kuklin i wsp., 2013).

Miałam również możliwość uczestniczenia w projekcie na rzecz obronności i bezpieczeństwa Państwa (AriaDNA 2010) pt.: „Opracowanie dla potrzeb kryminalistyki nowoczesnego systemu identyfikacji osobniczej oraz populacyjnej na poziomie pojedynczych komórek ludzkich” realizowanym wspólnie z Biurem Badań Kryminalistycznych ABW. W projekcie tym uczestniczyłam w identyfikacji transkryptów specyficznych dla populacji kaukaskiej i chińskiej (Daca-Roszak i wsp., 2018).

Bibliografia:

Gzyl A, **Wojciechowska-Oczko M**, Jarzab B, Augustynowicz E, Mosiej E, Ślusarczyk J. Zastosowanie mikronośników DNA do oceny profilu ekspresji genów komórek hodowli splenocytów myszy immunizowanych szczepionkami przeciwkrtuścowymi i zakażanych szczepami B. pertussis [Application of DNA microcarriers for evaluation of mice splenocytes genes expression after immunization with pertussis vaccines and challenged with different B. pertussis strains] Med Dośw Mikrobiol. 2007;59(2):149-59

Moczulski DK, Fojcik H, Wielgorecki A, Trautsolt W, Gawlik B, Kosiorz-Gorczyńska S, **Oczko-Wojciechowska M**, Wiench M, Strojek K, Zukowska-Szzechowska E, Grzeszczak W. Expression pattern of genes in peripheral blood mononuclear cells in diabetic nephropathy Diabetic Medicine 2007; 24: 266-271

Kuklin A, Tokovenko B, Makogon N, **Oczko-Wojciechowska M**, Jarzab B, Obolenskaya M. Hepatocytes response to interferon alpha levels recorded after liver resection. J Interf Cytok Res. 2013; 34: 90-99

Daca-Roszak P, Swierniak M, Jaksik R, Tyszkiewicz T, **Oczko-Wojciechowska M**, Zebracka-Gala J, Jarzab B, Witt M, Zietkiewicz E. Transcriptomic population markers for human population discrimination. BMC Genet. 2018 Aug 7;19(1):54

Glinie 18.02.2019

Małgorzata Oczko-Wojciechowska