

AUTOREFERAT
Opis dorobku i osiągnięć naukowych

dr n. med. Izabela Urszula Łaczmańska
Katedra i Zakład Genetyki
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wrocław 2017

1. Imię i nazwisko: Izabela Urszula Łaczmajska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

2007 - doktor nauk medycznych w zakresie biologii medycznej – specjalność: biologia molekularna

Akademia Medyczna we Wrocławiu, Katedra i Zakład Genetyki

Promotor: prof. dr hab. Maria Sasiadek

„Zależność pomiędzy klastogennym efektem działania mutagenów chemicznych a polimorfizmami w genach kodujących białka naprawy DNA i enzymy matabolizujące ksenobiotyki”, Wrocław, 2006;

2002 - magister biotechnologii (specjalizacja: biologia molekularna), Zakład Biofizyki,

Instytut Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Wrocławski.

Promotor: prof. dr hab. Andrzej Szczepaniak

2000 - licencjat biotechnologii, Zakład Biofizyki, Instytut Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Wrocławski.

Promotor: prof. dr hab. Andrzej Szczepaniak

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

2008 - obecnie Adiunkt w Katedrze i Zakładzie Genetyki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Pełnienie obowiązków kierownika Laboratorium Badań Cytogenetycznych.

2004 - 2008 Asystent w Katedrze Patofizjologii, Zakładzie Genetyki Akademii Medycznej we Wrocławiu.

2003 - 2004 Studia doktoranckie w Katedrze Patofizjologii, Zakładzie Genetyki Akademii Medycznej we Wrocławiu. Rezygnacja ze względu na zatrudnienie na stanowisku asystenta.

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm.).

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 6 publikacji, w tym 5 publikacji oryginalnych i jednej poglądowej opublikowanych w czasopismach naukowych znajdujących się w bazie Journal Citation Reports o łącznej punktacji **IF = 12.205, MNiSW/KBN = 123 pkt.**

Tytuł osiągnięcia naukowego:

Znaczenie wybranych genów kodujących fosfatazy tyrozynowe w etiopatogenezie sporadycznego raka jelita grubego

Spis publikacji wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego:

1. **Izabela Łaczmńska**, Maria M. Sasiadek.: Tyrosine phosphatases as a superfamily of tumor suppressors in colorectal cancer

Acta Biochim.Pol. 2011 Vol.58 no.4; s.467-470

IF: 1.491

Pkt. MNiSW/KBN: 13.000

Cytowania: 15

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zebraniu i analizie piśmiennictwa, zaplanowaniu i napisaniu pracy oraz polemice z recenzentami. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

2. **Izabela Łaczmńska**, Paweł Karpiński, Marek Bębenek, Tomasz Sędziak, David Ramsey, Elżbieta Szmida, Maria M. Sasiadek.: Protein tyrosine phosphatase receptor-like genes are frequently hypermethylated in sporadic colorectal cancer

J.Hum.Genet. 2013 Vol.58 no.1; s.11-15

IF: 2.526

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

Cytowania: 10

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu hipotez badawczych, opracowaniu metodologii badawczej, wykonaniu części oznaczeń, opracowaniu i interpretacji

wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptu, jego edycji i polemice z recenzentami. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

3. Marta Woźniak, Elżbieta Gamian, **Izabela Łaczmańska**, Maria M. Sąsiadek, Kamila Duś-Szachniewicz, Piotr Ziółkowski.: Immunohistochemical and Western blot analysis of two protein tyrosine phosphatase receptors, R and Z1, in colorectal carcinoma, colon adenoma and normal colon tissues

Histol.Histopathol. 2014 Vol.29 no.5; s.635-639

IF: 2.096

Pkt. MNiSW/KBN: 25.000

Cytowania: 0

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotez badawczych, współudziale w zaplanowaniu eksperymentu, uczestniczeniu w opracowaniu wyników badań i przygotowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 28%.

4. **Izabela Łaczmańska**, Paweł Karpiński, Joanna Kozłowska, Marek Bębenek, David Ramsey, Tomasz Sędziak, Piotr Ziółkowski, Maria M. Sąsiadek.: Copy number alterations of chromosomal regions enclosing protein tyrosine phosphatase receptor-like genes in colorectal cancer

Pathol.Res.Pract. 2014 Vol.210 no.12; s.893-896

IF: 1.397

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

Cytowania: 0

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu hipotez badawczych, opracowaniu metodologii badawczej, wykonaniu części oznaczeń, opracowaniu i interpretacji wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptu, jego edycji i polemice z recenzentami. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

5. **Izabela Łaczmańska**, Paweł Karpiński, Justyna Gil, Łukasz Łaczmański, Marek Bębenek, Maria M. Sąsiadek.: High PTPRQ expression and its relationship to expression of PTPRZ1 and the presence of KRAS mutations in colorectal cancer tissues

Anticancer Res. 2016 Vol.36 no.2; s.677-681

IF: 1.895

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

Cytowania: 0

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu hipotez badawczych, opracowaniu metodologii badawczej, wykonaniu części oznaczeń, opracowaniu i interpretacji wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptu, jego edycji i polemice z recenzentami. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

6. Izabela Łacmańska, Paweł Skiba, Paweł Karpiński, Marek Bębenek, Maria M. Sasiadek. Customized array comparative genomic hybridization analysis of 25 phosphatase encoding genes in colorectal cancer tissues.

Cancer Genomics and Proteomics. 2017 Vol 14; 69-74

IF: 2.800

Pkt. MNiSW/KBN: 25.000

Cytowania: 0

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu hipotez badawczych, opracowaniu metodologii badawczej, wykonaniu części oznaczeń, opracowaniu i interpretacji wyników badań oraz przygotowaniu manuskryptu, jego edycji i polemice z recenzentami. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

5. Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Wstęp

Rak jelita grubego to jeden z najczęstszych nowotworów występujących u człowieka. Zachorowalność na ten nowotwór systematycznie wzrasta zarówno u kobiet jak i mężczyzn, co potwierdzają dane epidemiologiczne. Około 15% przypadków raka jelita grubego to postać rodzinna, 5% - dziedziczna, natomiast 75-80% stanowi sporadyczny rak jelita grubego, o nieustalonej jeszcze do końca genetycznej etiologii. Forma sporadyczna ze względu na częstość występowania jest przedmiotem wielu prowadzonych obecnie badań. Określenie genetycznych czynników ryzyka sporadycznego raka jelita grubego jest potencjalnym źródłem do opracowania skutecznej terapii u pacjentów z tym nowotworem [Mundade i in. 2014].

Większość przypadków raka jelita grubego to przypadki sporadyczne, jednak badania dotyczące bliźniąt monozygotycznych wykazały, że istnieje zarówno genetyczna jak i środowiskowa determinanta zwiększająca podatność na zachorowanie na ten nowotwór

[Cheah 2009]. Dla poszczególnych pacjentów ryzyko sporadycznego raka jelita grubego jest połączeniem wpływu czynników środowiskowych (np. diety), genetycznych i epigenetycznych w genach niskiej penetracji, które modulują odpowiedź na te czynniki [Toland i in. 2008].

Istnieją trzy główne mechanizmy genetyczne odpowiedzialne za powstawanie i rozwój sporadycznego raka jelita grubego: 1) związany z niestabilnością chromosomową (CIN – chromosomal instability), 2) związany z niestabilnością mikrosatelitarną (MSI – microsatellite instability), 3) związany z fenotypem metylatorowym (CIMP - CpG island methylator phenotype).

Najczęstsze zmiany genetyczne obserwowane w sporadycznym raku jelita grubego to inaktywujące mutacje somatyczne genu *APC* diagnozowane w około 80% przypadków. Utrata funkcji *APC* jest związana z gromadzeniem jądrowej beta-keniny, a następnie aktywacją szlaku sygnalizacji Wnt [Cheah 2009, Samowitz 2008, Wicki i in. 2010]. Ponadto obserwuje się aktywujące mutacje protoonkogenów - badania dotyczące terapii anty-*EGFR* u chorych na raka jelita grubego wykazały, że obecność mutacji somatycznych w genach *BRAF*, *KRAS* i *PIK3C* pociąga za sobą odporność na tę terapię [Lurkin i in. 2010]. Występuje też utrata genu supresora *TP53*, co zwykle jest skutkiem utraty heterozygotyczności (LOH) na ramieniu długim chromosomu 18 (18q) [Mundade i in. 2014].

Powyższe zmiany są charakterystyczne dla ścieżki związanej z CIN (tzw. klasyczna ścieżka kancerogenezy). W ścieżce związanej z MSI obserwuje się utratę funkcji genu *APC* oraz dezaktywację genów naprawy źle sparowanych nukleotydów (MMR – mismatch repair genes), co pociąga za sobą liczne mutacje w innych genach (m.in. *TGFRβII* i *BAX*), a w ścieżce związanej z CIMP - hipermetylację promotorów licznych genów (w tym *MLH1*), mutację V300E genu *BRAF* oraz utratę funkcji *TP53* i *p16* [Mundade i in. 2014].

Dotychczas zidentyfikowano kilkaset genów istotnych dla powstawania i rozwoju nowotworów [Arena i in. 2005, Julien 2011]. Badania z wykorzystaniem mikromacierzy całogenomowych oraz ekspresyjnych ujawniły również wiele genów ważnych dla raka jelita grubego, wśród których kinazy i fosfatazy tyrozynowe odgrywają istotną rolę [Arena i in. 2005, Toland i in. 2008, van Roon i in. 2011, Wang i in. 2004, Mokarram i in. 2009].

W grupie protoonkogenów ponad 80% stanowią geny kodujące kinazy tyrozynowe [Jacob PTK 2005]. Białkowe fosfatazy tyrozynowe katalizujące reakcję defosforylacji, przeciwną do

reakcji fosforylacji, mogą odwracać działanie kinaz i dlatego kodujące je geny zwykle są klasyfikowane jako geny supresorowe. Z drugiej strony, mogą one także defosforylować białka odpowiedzialne za kontrolę stanu metabolicznego komórki i/lub apoptozę i tym samym promować proces nowotworowy [Julien i in. 2011].

Fosfatazy tyrozynowe można podzielić na dwie grupy: receptorowe białkowe fosfatazy tyrozynowe (PTPRs - Protein Tyrosine Phosphatases Receptor like) i niereceptorowe, rozpuszczalne białkowe fosfatazy tyrozynowe (NRPTPs – Non-Receptor Protein Tyrosine Phosphatases). W zależności od rodzaju reszty aminokwasowej w centrum aktywnym można je podzielić na: cysteinowe (Cys-based) (u ludzi 3 klasy, 103 geny) i asparaginianowe (Asn-based) (u ludzi 1 klasa, 4 geny) [Hoekstra i in. 2012].

Fosfatazy z resztą cysteinową dzielą się na trzy klasy. Do klasy I należy 99 enzymów: 38 klasycznych przezbłonowych białkowych fosfataz tyrozynowych (w tym 21 receptorowych i 17 niereceptorowych) oraz 61 fosfataz o podwójnej specyficzności (DSPs – Dual Specific Phosphatases), katalizujących oprócz defosforylacji reszt tyrozynowych także defosforylację reszt serynowych i treoninowych. Do klasy II należy jeden enzym – białkowa fosfataza tyrozynowa o małej masie cząsteczkowej (LMW-PTPs - low molecular weight-PTPs). Do klasy III zalicza się 3 enzymy – CDC25A, B i C. Ostatnia klasa IV obejmuje 4 enzymy z asparaginianem w centrum aktywnym (Asn-based), które katalizują defosforylację reszt tyrozynowych lub serynowych [Hoekstra i in. 2012].

Białkowe fosfatazy tyrozynowe są kodowane przez geny, które w ostatnich latach są intensywnie badane w wielu nowotworach. Opisywane są zarówno aberracje chromosomowe w regionach, w których zlokalizowane są geny fosfataz, utrata heterozygotyczności (LOH), jak i mutacje tych genów oraz ich zmiany epigenetyczne [Jacob i in. 2005, Julien i in. 2011]. Dotychczas, mimo wciąż pojawiających się publikacji o znaczeniu poszczególnych genów fosfataz w różnych nowotworach, ich rola w procesie kancerogenezy nie została do końca ustalona.

Cel badań

Celem moich badań była ocena znaczenia wybranych genów kodujących białkowe fosfatazy tyrozynowe dla powstawania i rozwoju sporadycznego raka jelita grubego oraz określenie patomechanizmów powodujących modyfikację lub utratę ich funkcji. Badania prowadzone były w ramach grantu N N401 601438 oraz w ramach badań własnych oraz działalności

statutowej Katedry Genetyki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu i posiadały zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (nr 328/2009 i 823/2012)

Grupa badana

Do wszystkich badań wykorzystano tkanki uzyskane na I Oddziale Chirurgii Onkologicznej Dolnośląskiego Centrum Onkologii we Wrocławiu podczas operacji chirurgicznej od pacjentów ze sporadycznym rakiem jelita grubego (z negatywnym wywiadem rodzinnym). Pacjenci nie byli wcześniej poddawani radio- i chemoterapii. Od pacjentów zebrano szczegółowy wywiad rodzinny a tkanki nowotworowe zostały przebadane histopatologicznie oraz molekularnie: zbadano obecność mutacji w genach *K-ras* (kodon 12 i 13) oraz *BRAF* (ekson 15, V600E), a także określono fenotyp metylatorowy CIMP (CpG island methylator phenotype).

Omówienie wyników badań

Moje zainteresowanie białkowymi fosfatazami tyrozynowymi pojawiło się podczas realizacji grantu przyznanego przez Komitet Badań Naukowych, którego byłam jednym z wykonawców: „Badania nad nowymi mechanizmami molekularnymi w etiologii sporadycznego raka jelita grubego - poszukiwanie i charakterystyka dotychczas niezidentyfikowanych obszarów genomu o nieprawidłowej metylacji” (nr wniosku N N401 601438, 2010-2013, kierownik: prof. dr hab. Maria M. Sasiadek). Podczas analizowania danych pilotażowych uzyskanych z mikromacierzy metylacyjnych okazało się między innymi, że wśród genów o wysokim stopniu metylacji licznie reprezentowana jest grupa fosfataz tyrozynowych. Sugerowało to wyłączenie lub silne hamowanie ekspresji tych genów, co wskazywało na ich potencjalną funkcję, jako genów supresorowych nowotworów.

U podstaw utraty funkcji genów supresorowych mogą leżeć różne zjawiska genetyczne: delecja genu lub jego fragmentu (tu: delecje regionów chromosomowych, mikrodelecje, delecje fragmentów genu), hipermetylacja promotora genu powodująca obniżenie lub zahamowanie jego ekspresji lub mutacje punktowe [Julien i in. 2011]. W badaniach opisanych w publikacjach stanowiących cykl habilitacyjny starałam się zbadać i wyjaśnić różne mechanizmy leżące u podstaw utraty funkcji genów kodujących wybrane białkowe fosfatazy tyrozynowe w sporadycznym raku jelita grubego.

Pierwsza publikacja z cyklu jest publikacją poglądową, która miała na celu zebranie i usystematyzowanie wiedzy na temat fosfataz tyrozynowych, ich funkcji jako genów

supresorów oraz ich znaczenia dla powstawania i rozwoju nowotworów. W pracy: Łaczmańska I, Sasiadek MM. **Tyrosine phosphatases as a superfamily of tumor suppressors in colorectal cancer** omówiłam szczegółowo stan ówczesnej wiedzy oraz wyniki badań prowadzonych dla tej grupy genów w różnych nowotworach.

Hypermetylacja wysp CpG w regionach promotorowych jest jednym z mechanizmów wyłączenia genów supresorów w komórkach nowotworowych, prowadzącym do zmniejszenia lub zahamowania ich ekspresji [Motiwala i in. 2003, Kim i in. 2011]. We wcześniejszych badaniach wybranych genów kodujących białkowe receptory fosfatazy tyrozynowe wykazano występowanie inaktywacji genu *PTPRR* w stanach przedrakowych w jelicie grubym, w raku jelita grubego, liniach komórkowych tego nowotworu oraz przerzutach do wątroby. *PTPRR* bierze udział w ścieżce RAS/RAF/MAPK/ERK. Jego wyciszenie było ściśle skorelowane z obniżeniem poziomu jego mRNA [Menigatti i in. 2009]. Wykazano także obniżenie ekspresji *PTPRG* poprzez hypermetylację promotora w pierwotnych chłoniakach skóry i *PTPRD* w glejakach wielopostaciowych [van Doorn i in. 2005, Veeriah i in. 2009]. Przy użyciu mikromacierzy metylacyjnych wykazano także nieprawidłową metylację wysp CpG w intronie 1 *PTPRG* zarówno w sporadycznym raku jelita grubego jak i w dziedzicznym raku jelita grubego niezwiązanym z polipowatością. Jednak zmiana ta nie była związana z zmianą ekspresji *PTPRG* [van Roon i in. 2011]. Dla *PTPRD*, który defosforyluje onkoproteinę STAT3 i uczestniczy w aktywacji tej ścieżki wykazano homozygotyczną delecję w niektórych nowotworach, a także hypermetylację jego promotora w raku jelita grubego [Veeriah i in. 2009, Mokkaram i in. 2009]. Badania te pozwalają na zakwalifikowanie *PTPRG* i *PTPRD* do genów supresorowych oraz sugerują, że ekspresja innych genów kodujących fosfatazy tyrozynowe może być regulowana poprzez hypermetylację.

Pierwsza oryginalna publikacja z cyklu dotyczyła statusu metylacyjnego czterech genów kodujących receptory białkowe fosfatazy tyrozynowe: *PTPRM*, *PTPRT*, *PTPRR* i *PTPRZ1*, które zostały wybrane do badania na podstawie analizy pilotażowych wyników uzyskanych z mikromacierzy metylacyjnych Illumina 27K (grant nr N N401 601438).

W pracy: Łaczmańska I, Karpinski P, Bebenek M, Sedziak T, Ramsey D, Szmida E, Sasiadek MM. **Protein tyrosine phosphatase receptor-like genes are frequently hypermethylated in sporadic colorectal cancer** do badania wykorzystano 131 tkanek uzyskanych podczas operacji chirurgicznej od pacjentów ze sporadycznym rakiem jelita grubego. Status

metylacyjny promotorów genów *PTPRM*, *PTPRT*, *PTPRR* (*PTPRQ*) i *PTPRZI* został sprawdzony przy użyciu reakcji MSPCR (methyl specific PCR – PCR metylacyjny). Wykazano, że poziom metylacji promotorów analizowanych genów był znacząco wyższy w tkankach nowotworowych w porównaniu do grupy kontrolnej, którą stanowiły zdrowe tkanki tych samych pacjentów. Fakt ten potwierdza hipotezę, że receptorowe białkowe fosfatazy tyrozynowe pełnią istotną funkcję w etiopatogenezie sporadycznego raka jelita grubego. Jednocześnie nie stwierdzono zależności pomiędzy statusem metylacyjnym badanych fosfataz a mutacjami w genach *K-ras* i *BRAF* oraz statusem CIMP.

Aby potwierdzić wpływ hipermetylacji promotorów genów na ekspresję białka oraz udowodnić znaczenie tego procesu dla biologii komórki nowotworowej w następnej publikacji zbadano ekspresję białek kodowanych przez *PTPRR* (*PTPRQ*) i *PTPRZI*. We współpracy z Katedrą Patomorfologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (kierownik: prof. dr hab. Piotr Ziółkowski) powstała praca: Wozniak M, Gamian E, Łaczmarska I, Sasiadek MM, Dus-Szachniewicz K, Ziolkowski P. **Immunohistochemical and Western blot analysis of two protein tyrosine phosphatase receptors, R and Z1, in colorectal carcinoma, colon adenoma and normal colon tissues.** W pracy tej za pomocą metod immunohistochemicznych oraz techniki Western blot wykazano, że zarówno *PTPRR* jak i *PTPRZI* są wysoko ekspresjonowane w tkankach nowotworowych uzyskanych od pacjentów ze sporadycznym rakiem jelita grubego, w tkankach gruczolakoraków oraz w zdrowych tkankach jelita grubego. Wyniki te nie potwierdziły hipotezy, że hipermetylacja promotorów genów *PTPRR* i *PTPRZI* powoduje zahamowanie, lub znaczne obniżenie ekspresji kodowanych przez nich białek. Uzyskane wyniki mogą świadczyć o złożoności procesu kancerogenezy oraz zawłości ścieżek biochemicznych zaangażowanych w ten proces. Wynik ten może sugerować potencjalną rolę *PTPRR* i *PTPRZI*, jako onkogenów, co w przypadku fosfataz tyrozynowych katalizujących reakcję defosforylacji w kooperacji z kinazami katalizującymi reakcję fosforylacji było już wcześniej sugerowane przez innych autorów [Julien i in. 2011, Hoekstra i in. 2012].

Celem kolejnej pracy było zbadanie, czy geny kodujące fosfatazy tyrozynowe ulegają innemu mechanizmowi utraty funkcji w komórkach nowotworowych – delecji. Delecje mogą występować na poziomie sekwencji danego genu (delecje całego genu lub delecje jego eksonów), albo na poziomie regionów chromosomowych (duże delecje), w których są zlokalizowane. W publikacji Łaczmarska I, Karpinski P, Kozłowska J, Bebenek M, Ramsey

D, Sedziak T, Ziolkowski P, Sasiadek MM. **Copy number alterations of chromosomal regions enclosing protein tyrosine phosphatase receptor-like genes in colorectal cancer** opisano wyniki badań przeprowadzonych na 102 tkankach, na których wykonano badanie CGH (Comparative Genomic Hybridization, porównawcza hybrydyzacja genomowa). Analiza aberracji chromosomowych wykazała amplifikację regionu 7q31.3 zawierającego *PTPRZ1* (amplifikacja w 23,5% przypadków), 12q21.2 zawierającego *PTPRQ* (*PTPRR*) (amplifikacja w 5,9% przypadków) oraz 20q12 zawierającego *PTPRT* (amplifikacja w 29,4% przypadków). Wykazano także delecję regionu 18p11.2 z genem *PTPRM* (delecja w 21,6% przypadków). Wyniki te są zbieżne z przeprowadzonymi wcześniej badaniami ekspresji białek *PTPRZ1* i *PTPRR* (*PTPRQ*) – amplifikacja genów może skutkować zwiększeniem ich ekspresji w badanej tkance.

Uzyskane wyniki wspierają hipotezę o możliwym działaniu genów *PTPRQ* i *PTPRZ1* oraz *PTPRT* jako onkogenów, podczas gdy *PTPRM* ulega delecji, co może oznaczać, że działa jako supresor.

Wykazano także korelację pomiędzy występowaniem duplikacji regionu 20q12 oraz delecji regionu 18p11.2 a brakiem mutacji genu *BRAF*. Zjawiska takie jak brak fenotypu metylatorowego (LME - Low Methylator Phenotype), stabilność sekwencji mikrosatelitarnych (MSS - Microsatellite Stable), brak mutacji *BRAF*, dystalna lokalizacja nowotworu i delecje na chromosomie 18 zostały już wcześniej opisane w klasycznej ścieżce rozwoju sporadycznego raka jelita grubego [Burnett-Hartman i in. 2013]. Moje badania wykazały, że naddatek na chromosomie 20q12 (obejmujący gen *PTPRT*) może być również związany z tą ścieżką.

Zmiany w sekwencji genów w komórkach nowotworowych nie zawsze muszą oznaczać zmiany w ich ekspresji. Rolę zmutowanego allelu może przejmować drugi, prawidłowy allel. Badania przeprowadzone wcześniej na poziomie białka (badanie ekspresji przy użyciu przeciwciał i Western Blot) zostały poszerzone o analizę z użyciem techniki Real-Time PCR (PCR w czasie rzeczywistym). W kolejnej publikacji Łaczmarska I, Karpinski P, Gil J, Łaczmanski L, Bebenek M, Sasiadek MM. **High PTPRQ Expression and Its Relationship to Expression of PTPRZ1 and the Presence of KRAS Mutations in Colorectal Cancer Tissues** opisano ekspresję dwóch genów *PTPRQ* (*PTPRR*) i *PTPRZ1*. Badania przeprowadzono na 16 tkankach nowotworowych i 16 tkankach kontrolnych pobranych od tych samych pacjentów. Wykazano istotnie statystycznie podwyższony poziom ekspresji *PTPRQ*, co kolejny raz potwierdziło wcześniej uzyskane rezultaty i hipotezę o

działaniu tego genu jako onkogenu. Wykazano także korelację pomiędzy podwyższonym poziomem ekspresji *PTPRQ* oraz podwyższonym poziomem ekspresji *PTPRZ1*, co również jest zgodne z wcześniej przedstawionymi wynikami badania CGH. Nie wykazano podwyższenia poziomu ekspresji *PTPRZ1*, jednak wcześniejsze wyniki badań i korelacja ekspresji *PTPRZ1* i *PTPRQ* silnie wskazuje na udział tego genu w etiopatogenezie sporadycznego raka jelita grubego.

Dodatkowo stwierdzono, że ekspresja *PTPRQ* była wyższa w tkankach, w których stwierdzono mutacje genu *K-ras*. Jako że białko K-ras uczestniczy w szlaku transdukcji sygnału do receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR), promującego wzrost i różnicowania komórek, jego mutacje są związane z wystąpieniem oporności na terapię anti-EGFR [Arvelo i in. 2015]. Związek pomiędzy wzrostem ekspresji *PTPRQ* i mutacjami genu *K-ras* może sugerować ich wzajemną zależność w procesie rozwoju raka jelita grubego.

Kolejnym etapem było badanie występowania wewnątrzgenowych lub całogenowych delecji wybranych genów kodujących fosfatazy tyrozynowe nieobejmujących sąsiadujących sekwencji. W pracy: Izabela Łaczmarska, Paweł Skiba, Paweł Karpinski, Marek Bebenek, Maria M. Sasiadek. **Customized array comparative genomic hybridization analysis of 25 phosphatase encoding genes in colorectal cancer tissues** analizowano 25 genów kodujących fosfatazy tyrozynowe przy użyciu porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy (aCGH – array Comparative Genomic Hybridization). Macierz ta została specjalnie zaprojektowana w celu oceny zmian w genach fosfataz na poziomie eksonów. Wśród badanych genów były geny kodujące receptorowe białkowe fosfatazy tyrozynowe, a także gen *PTEN* i trzy fosfatazy o podwójnej specyficzności (*DUSP*). Badanie wykonano dla 16 pacjentów ze sporadycznym rakiem jelita grubego. Stwierdzono 9 wewnątrzgenowych małych zmian dla 8 z 25 analizowanych genów. Siedem z nich zostało sklasyfikowanych jako warianty liczby kopii (CNV – copy number variants), natomiast dwie – jako unikatowe: jedna delecja o wielkości 2 kpb obejmująca intron 1 genu *PTPN14* oraz jedna duplikacja o wielkości 1 kpb obejmująca intron 1 genu *PTPRJ*. Analiza wykazała także naddatki i delecje całych sekwencji genowych (jako fragment dużych aberracji chromosomowych) dla 22 z 25 genów. Nie zaobserwowano zmian tylko dla fosfataz: *PTPN22*, *DUSP1*, *PTPN21*.

W prezentowanych badaniach z zastosowaniem projektowanych macierzy o wysokiej rozdzielczości potwierdzono, że regiony zawierające geny kodujące fosfatazy tyrozynowe często ulegają aberracjom, i wykazano, że delecje i duplikacje ich eksonów są rzadkie w rakach jelita grubego.

Podsumowanie

Fosfatazy tyrozynowe katalizują jedną z najważniejszych reakcji biochemicznych w komórce, regulującą aktywność wielu enzymów poprzez ich defosforylację.

W przedstawionym cyklu publikacji wykazałam, że zmiany genetyczne, którym ulegają kodujące je geny w komórkach nowotworowych są charakterystyczne nie tylko dla genów supresorów, lecz także dla onkogenów. Na tej podstawie można wnioskować, że ich rola, jako genów supresorów nowotworów nie jest jedyną, i że mogą działać także jako onkogeny.

W związku różnorodnością ich substratów i tym, że regulacja aktywności enzymatycznej wielu białek odbywa się na drodze fosfo- i defosforylacji zaburzenia funkcjonowania fosfataz bardzo silnie wpływają na procesy zachodzące w komórkach nowotworowych. Poznanie mechanizmów utraty lub zmiany funkcji tych genów może być podstawą do klasyfikacji nowotworów, prognozowania oraz terapii celowanych.

Literatura:

Arena S, Benvenuti S, Bardelli A. Genetic analysis of the kinome and phosphatome in cancer. *Cell Mol Life Sci* 2005;62:2092-9.

Arvelo F, Sojo F, Cotte C. Biology of colorectal cancer. *Ecancermedicallscience*. 2015 Apr 9;9:520. doi: 10.3332/ecancer.2015.520. Review.

Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD, Passarelli MN, Phipps AI, Wurscher MA, Grady WM, Zhu LC, Upton MP, Makar KW. Genomic aberrations occurring in subsets of serrated colorectal lesions but not conventional adenomas. *Cancer Res*. 2013, 73(9): 2863-2872.

Cheah PY. Recent advances in colorectal cancer genetics and diagnostics. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;69(1):45-55. Review.

Hoekstra E, Peppelenbosch MP, Fuhler GM: The role of protein tyrosine phosphatases in colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012, 1826(1): 179-188.

Jacob ST, Motiwala T. Epigenetic regulation of protein tyrosine phosphatases: potential molecular targets for cancer therapy. *Cancer Gene Ther* 2005 12(8):665-72.

Julien SG, Dubé N, Hardy S, Tremblay ML. Inside the human cancer tyrosine phosphatome. *Nat Rev Cancer* 2011, 11(1):35-49. Review.

Kim YH, Lee HC, Kim SY, Yeom YI, Ryu KJ, Min BH, Kim DH, Son HJ, Rhee PL, Kim JJ, Rhee JC, Kim HC, Chun HK, Grady WM, Kim YS. Epigenomic Analysis of Aberrantly Methylated Genes in Colorectal Cancer Identifies Genes Commonly Affected by Epigenetic Alterations. *Ann Surg Oncol* 2011, 18(8):2338-47.

Lurkin I, Stoehr R, Hurst CD, van Tilborg AA, Knowles MA, Hartmann A, Zwarthoff EC. Two multiplex assays that simultaneously identify 22 possible mutation sites in the KRAS, BRAF, NRAS and PIK3CA genes. *PLoS One* 2010, 5(1):e8802.

Menigatti M, Cattaneo E, Sabates-Bellver J, Ilinsky VV, Went P, Buffoli F, Marquez VE, Jiricny J, Marra G. The protein tyrosine phosphatase receptor type R gene is an early and frequent target of silencing in human colorectal tumorigenesis. *Mol Cancer* 2009;8:124.

Mokarram P, Kumar K, Brim H, Naghibalhossaini F, Saberi-firoozi M, Nouraie M, Green R, Lee E, Smoot DT, Ashktorab H. Distinct high-profile methylated genes in colorectal cancer. *PLoS One* 2009, 4(9):e7012.

Motiwala T, Ghoshal K, Das A, Majumder S, Weichenhan D, Wu YZ, Holman K, James SJ, Jacob ST, Plass C. Suppression of the protein tyrosine phosphatase receptor type O gene (PTPRO) by methylation in hepatocellular carcinomas. *Oncogene* 2003;22(41):6319-31.

Mundade R, Imperiale TF, Prabhu L, Loehrer PJ, Lu T: Genetic pathways, prevention, and treatment of sporadic colorectal cancer. *Oncoscience* 2014, 1(6): 400-406.

Samowitz WS. Genetic and epigenetic changes in colon cancer. *Exp Mol Pathol* 2008, 85(1):64-67.

Toland AE, Rozek LS, Presswala S, Rennert G, Gruber SB. PTPRJ haplotypes and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008, 17(10):2782-5.

van Doorn R, Zoutman WH, Dijkman R, de Menezes RX, Commandeur S, Mulder AA, van der Velden PA, Vermeer MH, Willemze R, Yan PS, Huang TH, Tensen CP. Epigenetic profiling of cutaneous T-cell lymphoma: promoter hypermethylation of multiple tumor suppressor genes including BCL7a, PTPRG, and p73. *J Clin Oncol* 2005;23(17):3886-96.

van Roon EH, de Miranda NF, van Nieuwenhuizen MP, de Meijer EJ, van Puijenbroek M, Yan PS, Huang TH, van Wezel T, Morreau H, Boer JM. Tumour-specific methylation of PTPRG intron 1 locus in sporadic and Lynch syndrome colorectal cancer. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(3):307-12.

Veeriah S, Brennan C, Meng S, Singh B, Fagin JA, Solit DB, Paty PB, Rohle D, Vivanco I, Chmielecki J, Pao W, Ladanyi M, Gerald WL, Liao L, Cloughesy TC, Mischel PS, Sander C, Taylor B, Schultz N, Major J, Heguy A, Fang F, Mellinghoff IK, Chan TA. The tyrosine phosphatase PTPRD is a tumor suppressor that is frequently inactivated and mutated in glioblastoma and other human cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(23):9435-40. *Cell Mol Life Sci* 2005;62(18):2092-9.

Wang Z, Shen D, Parsons DW, Bardelli A, Sager J, Szabo S, Ptak J, Silliman N, Peters BA, van der Heijden MS, Parmigiani G, Yan H, Wang TL, Riggins G, Powell SM, Willson JK, Markowitz S, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE: Mutational analysis of the tyrosine phosphatome in colorectal cancers. *Science* 2004, 304(5674): 1164-1166.

Wicki A, Herrmann R, Christofori G. Kras in metastatic colorectal cancer. *Swiss Med Wkly* 2010, 140:w13112

6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Kompletna lista publikacji wraz z określeniem mojego udziału procentowego znajduje się w **załączniku 1aI**.

Główne tematy mojej pracy naukowej poza tematem cyklu habilitacyjnego związane są z genetycznym podłożem różnych chorób.

6.1. Wpływ polimorfizmów w genach kodujących białka naprawy DNA i enzymy matabolizujące ksenobiotyki na klastogeny efekt działania mutagenów chemicznych oraz proces powstawania i rozwoju nowotworów

W krajach rozwiniętych znacząco zwiększa się częstość występowania chorób indukowanych środowiskowymi czynnikami potencjalnie mutagennymi (m.in. ksenobiotykami). Mimo wielu lat intensywnych badań nie zostało jednoznacznie rozstrzygnięte, jakie mechanizmy genetyczne warunkują osobniczą wrażliwość na działanie ksenobiotyków. Postulowany jest udział dwóch głównych grup enzymów: metabolizujących ksenobiotyki oraz enzymów naprawy DNA. Ponieważ enzymy te wykazują znaczną zmienność polimorficzną (warunkowaną występowaniem polimorfizmów w sekwencjach ich genów) prowadzone są liczne badania nad zależnością różnic w ekspresji wyżej wymienionych białek a indywidualną wrażliwością na działanie ksenobiotyków. Większość tych badań dotyczy jednak populacji chorych na różnego typu nowotwory, brak jest natomiast badań przeprowadzonych w grupach kontrolnych, które pozwalałyby na porównanie częstości występowania polimorfizmów oraz ich znaczenia dla indywidualnej wrażliwości na ksenobiotyki w grupie osób chorych i zdrowych.

Określenie krytycznych polimorfizmów wybranych genów kodujących białka naprawy DNA oraz enzymy metabolizujące ksenobiotyki mających wpływ na indywidualną wrażliwość na związki mutagenne może przyczynić się do ustalenia genetycznego profilu warunkującego zwiększone ryzyko zapadnięcia na choroby cywilizacyjne.

Badania wpływu mutagenów chemicznych na komórki były prowadzone na hodowlach limfocytów krwi obwodowej a polimorfizmy wybranych genów kodujących enzymy metabolizujące ksenobiotyki były określane dla DNA izolowanym z krwi obwodowej. Wynikiem tych badań są publikacje, których jestem współautorem lub pierwszym autorem:

1. Kamila Schlade-Bartusiak, Katarzyna Rozik, **Izabela Łaczmańska**, David Ramsey, Maria Sasiadek.: Influence of GSTT1, mEH, CYP2E1 and RAD51 polymorphisms on diepoxybutane-induced SCE frequency in cultured human lymphocytes Mutat.Res.-Genet.Toxicol.Environ.Mutagen. 2004 Vol.558 no.1-2; s.121-130

IF: 2.020

Pkt. MNiSW/KBN: 11.000

2. **Izabela Łaczmańska**, Justyna Gil, Paweł Karpiński, Agnieszka Stembalska, Joanna Kozłowska, Halina Busza, Alicja Trusewicz, Karolina Pesz, David Ramsey, Kamila Schlade-Bartusiak, Nikolaus Blin, Maria Małgorzata Sasiadek.: Influence of polymorphisms in xenobiotic-metabolizing genes and DNA-repair genes on diepoxybutane-induced SCE frequency

Environ.Mol.Mutagen. 2006 Vol.47 no.9; s.666-673

IF: 2.653

Pkt. MNiSW/KBN: 24.000

3. **Izabela Łaczmańska**, Justyna Gil, Paweł Karpiński, Agnieszka Stembalska, Alicja Trusewicz, Karolina Pesz, David Ramsey, Kamilla Schlade-Bartusiak, Nikolaus Blin, Maria Małgorzata Sasiadek.: Polymorphism in nucleotide excision repair gene XPC correlates with bleomycin-induced chromosomal aberrations

Environ.Mol.Mutagen. 2007 Vol.48 no.8; s.666-671

IF: 2.361

Pkt. MNiSW/KBN: 24.000

Ocenialiśmy także częstości badanych polimorfizmów w populacji polskiej:

4. Maria M. Sasiadek, **Izabela Łaczmańska**, Paweł Karpiński, Justyna Gil, Alicja Trusewicz, Karolina Pesz, David Ramsey, Nikolaus Blin.: Frequency of polymorphisms in gene-coding xenobiotic metabolizing enzymes and DNA repair proteins in young, healthy Polish individuals

Pol.J.Environ.Stud. 2008 Vol.17 no.6; s.933-940

IF: 0.963

Pkt. MNiSW/KBN: 13.000

W Katedrze i Zakładzie Genetyki UM byłam jednym z wykonawców badań wybranych polimorfizmów w genach kodujących enzymy metabolizujące ksenobiotyki u pacjentów z płaskonabłonkowym rakiem przełyku, podstawnokomórkowym rakiem skóry oraz sporadycznym rakiem jelita grubego. W przypadku tych nowotworów, dla których udowodniony jest silny wpływ czynników środowiskowych, a w przypadku raka jelita grubego także diety, indywidualne, niewielkie zmiany w tych genach mogą modulować

podatność na czynniki środowiskowe, a tym samym ryzyko zachorowania na te nowotwory. Badania przeprowadzone w tym zakresie opisano w następujących publikacjach:

5. Agnieszka Stembalska, Justyna Gil, **Izabela Łaczmańska**, David Ramsey, Przemysław Leszczyński, Dorota Kaczmarek, Alicja Trusewicz, Maria Jagas, Marcin Frączek.: The role of chosen polymorphisms in genes coding xenobiotic metabolizing enzymes and DNA repair proteins in laryngeal cancers

Adv.Clin.Exp.Med. 2011 Vol.20 no.5; s.583-590

IF: 0.176

Pkt. MNiSW/KBN: 13.000

6. Justyna Gil, David Ramsey, Agnieszka Stembalska, Paweł Karpiński, Karolina A. Pesz, **Izabela Łaczmańska**, Przemysław Leszczyński, Zygmunt Grzebieniak, Maria Małgorzata Sąsiadek.: The C/A polymorphism in intron 11 of the XPC gene plays a crucial role in the modulation of an individual's susceptibility to sporadic colorectal cancer

Mol.Biol.Rep. 2012 Vol.39 no.1; s.527-534

IF: 2.506

Pkt. MNiSW/KBN: 15.000

7. Karolina A. Pesz, Andrzej Bieniek, Justyna Gil, **Izabela Łaczmańska**, Paweł Karpiński, Izabela Makowska, Alicja Trusewicz, Maria M. Sąsiadek.: Polymorphisms in nucleotide excision repair genes and basal cell carcinoma of the skin

Int.J.Dermatol. 2014 Vol.53 no.12; s.1474-1477

IF: 1.312

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

6.2. Znaczenie zmian genetycznych w powstawaniu, rozwoju oraz diagnostyce i profilaktyce nowotworów

Choroby nowotworowe są obecnie jednym z poważniejszych problemów zdrowotnych i społecznych w krajach rozwiniętych a w Polsce stanowią drugą co do częstości przyczynę zgonów. Fakt ten sprawia, że problematyka powstawania i rozwoju nowotworów jest jednym z głównych tematów badań naukowych w wielu ośrodkach akademickich. Uzyskiwana wiedza na temat patomechanizmów wpływających na powstawanie nowotworów pozwoliła w

ostatnich latach na ich lepszą prewencję, diagnostykę, rozpoznawanie, określenie rokowania a także na opracowanie terapii celowanych. Badania, jakie prowadzę w Katedrze i Zakładzie Genetyki UM w tym temacie dotyczą głównie sporadycznego raka jelita grubego oraz dziedzicznego raka piersi i jajnika. Prace oryginalne poparte są pracami poglądowymi, które umożliwiają usystematyzowanie wiedzy, a także pełnią rolę dydaktyczną.

1. **Izabela Łacmańska**, Justyna Gil, Maria M. Sasiadek.: Współczesne poglądy na genetyczną etiologię glejaków mózgu

Adv.Clin.Exp.Med. 2005 Vol.14 no.3; s.559-565 (praca poglądowa)

Pkt. MNiSW/KBN: 5.000

2. Agnieszka Stembalska, **Izabela Łacmańska**.: Wybrane zagadnienia z zakresu genetyki klinicznej nowotworów w praktyce lekarza rodzinnego

Med.Ogólna 2009 T.44 nr 2; s.169-179 (praca poglądowa)

Pkt. MNiSW/KBN: 6.000

3. **Izabela Łacmańska**, Joanna Kozłowska.: Niestabilność chromosomowa w sporadycznym raku jelita grubego

Współcz.Onkol. 2009 Vol.13 nr 4; s.177-180 (praca poglądowa)

IF: 0.062

Pkt. MNiSW/KBN: 9.000

4. Paweł Karpiński, Aleksander Myszka, David Ramsey, Błażej Misiak, Justyna Gil, **Izabela Łacmańska**, Zygmunt Grzebieniak, Tadeusz Sebzda, Robert Śmigiel, Agnieszka Stembalska, Maria M. Sasiadek.: Polymorphisms in methyl-group metabolism genes and risk of sporadic colorectal cancer with relation to the CpG island methylator phenotype
Cancer Epidemiol. 2010 Vol.34 no.3; s.338-344

IF: 1.182

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

5. Joanna Kozłowska, **Izabela Łacmańska**.: Niestabilność genetyczna - jej znaczenie w procesie powstawania nowotworów oraz diagnostyka laboratoryjna
Nowotwory 2010 Vol.60 nr 6; s.548-553 (praca poglądowa)

Pkt. MNiSW/KBN: 9.000

6. Justyna Gil, Agnieszka Stembalska, **Izabela Łacmańska**, Maria Sasiadek.: Sporadyczny rak jelita grubego - czynniki modulujące indywidualną wrażliwość na zachorowanie
Współcz.Onkol. 2010 Vol.14 nr 3; s.211-216 (praca pogładowa)

IF: 0.104

Pkt. MNiSW/KBN: 13.000

7. Aleksander Mysza, Paweł Karpiński, Ryszard Ślęzak, Halina Czernomazowicz, Agnieszka Stembalska, Justyna Gil, **Izabela Łacmańska**, Damian Bednarczyk, Elżbieta Szmida, Maria Małgorzata Sasiadek.: Irrelevance of CHEK2 variants to diagnosis of breast/ovarian cancer predisposition in Polish cohort

J.Appl.Genet. 2011 Vol.52 no.2; s.185-191

IF: 1.664

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

8. Joanna Kozłowska, Paweł Karpiński, Elżbieta Szmida, **Izabela Łacmańska**, Błażej Misiak, David Ramsey, Marek Bębenek, Wojciech Kielan, Karolina A. Pesz, Maria M. Sasiadek.: Assessment of chromosomal imbalances in CIMP-high and CIMP-low/CIMP-0 colorectal cancers

Tumor Biol. 2012 Vol.33 no.4; s.1015-1019

IF: 2.518

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

We współpracy z Pracownią Endokrynologii Molekularnej przy Katedrze Endokrynologii, Diabetologii i leczenia Izotopami badałam wpływ polimorfizmów receptora witaminy D na ryzyko zachorowania na sporadycznego raka jelita grubego.

9. **Izabela Łacmańska**, Łukasz Łacmański, Marek Bębenek, Paweł Karpiński, Halina Czernomazowicz, David Ramsey, Andrzej Milewicz, Maria M. Sasiadek.: Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to the risk of colorectal cancer in the Polish population

Tumor Biol. 2014 Vol.35 no.12; s.12397-12401

IF: 3.611

Pkt. MNiSW/KBN: 25.000

6.3. Zastosowanie nowoczesnych metod genetycznych w diagnostyce niepełnosprawności intelektualnej, dysmorfii i wad rozwojowych

Zaburzenie rozwoju i niepełnosprawność intelektualna, dotyczące 1-3% populacji ogólnej, stanowią ważny problem medyczny i diagnostyczny, ale także społeczny i ekonomiczny. W ponad połowie przypadków przyczyny zaburzeń rozwojowych, jak i niepełnosprawności intelektualnej pozostają nieznane. Diagnostyka genetyczna jest jednym z etapów opieki nad pacjentem, który pozwala ustalić rozpoznanie lub wykluczyć zespoły genetyczne, a zatem zaplanować właściwe postępowanie terapeutyczne i opiekę. Obecnie stosowane techniki laboratoryjne pozwalają nie tylko na diagnostykę znanych zespołów genetycznych, ale także dokładny przegląd transkryptomu czy genomu, co umożliwia poznanie przyczyn genetycznych wielu zaburzeń. Badania z tego zakresu prowadzone są u pacjentów Poradni Genetycznej, skierowanych z powodu zaburzeń rozwoju i/lub niepełnosprawności intelektualnej. Badane zmiany są zwykle unikatowe dla pacjenta i publikowane jako opisy przypadków.

1. Ryszard Ślęzak, **Izabela Łacmańska**, Halina Busza, Halina Czermarmazowicz.: Mozaikowa postać częściowej trisomii (de novo) ramion krótkich chromosomu 12 u dziecka z licznymi cechami dysmorficznymi - opis przypadku

Pediatr.Pol. 2005 T.80 nr 8; s.697-700

Pkt. MNiSW/KBN: 4.000

2. Robert Śmigiel, Ryszard Ślęzak, **Izabela Łacmańska**, Bożena Bateraj-Kubicka, Elżbieta Bąk.: Zespół Emanuel u noworodka jako skutek rodzinnej, niezrównoważonej translokacji między chromosomami 11 i 22

Pediatr.Pol. 2005 T.80 nr 12; s.1126-1132

Pkt. MNiSW/KBN: 4.000

3. Robert Śmigiel, Anna Błońska, Elżbieta Kukawczyńska, Hanna Pikulska, **Izabela Łacmańska**, Maria Małgorzata Sasiadek.: Noworodek z wrodzoną wadą serca i cechami dysmorficznymi - opis zespołu CATCH 22

Adv.Clin.Exp.Med. 2006 Vol.15 no.1; s.175-179

Pkt. MNiSW/KBN: 5.000

4. **Izabela Łaczmańska**, Agnieszka Stembalska, Justyna Gil, Halina Czemarmazowicz, Maria Sasiadek.: Cri du chat syndrome determined by the 5p15.3->pter deletion - diagnostic problems

Eur.J.Med.Genet. 2006 Vol.49 no.1; s.87-92

IF: 1.614

Pkt. MNiSW/KBN: 10.000

5. Robert Śmigiel, **Izabela Łaczmańska**, Maria Sasiadek.: Maternal complex chromosome rearrangements involving five chromosomes 1, 4, 10, 12 and 20 ascertained through a del(4)(p14p15) detected in a mother's first affected daughter
Clin.Dysmorphol. 2007 Vol.16 no.1; s.63-64

IF: 0.523

Pkt. MNiSW/KBN: 10.000

6. Agnieszka Stembalska, **Izabela Łaczmańska**, Kamila Schlade-Bartusiak, Halina Czemarmazowicz, Marek Murawski, Maria Sasiadek.: Recombinant chromosome 4 resulting from a maternal pericentric inversion in two sisters presenting consistent dysmorphic features
Eur.J.Pediatr. 2007 Vol.166 no.1; s.67-71

IF: 1.277

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

7. Robert Śmigiel, **Izabela Łaczmańska**, Maria Wojdyło.: Mikroduplikacja regionu 7q11.23 krytycznego dla zespołu Williamsa-Beurena - problemy diagnostyczne przedstawione na podstawie opisu przypadku rozpoznanego u 11-miesięcznej dziewczynki
Neurol.Dziec. 2009 Vol.18 nr 36; s.71-75

Pkt. MNiSW/KBN: 6.000

8. Ryszard Ślęzak, **Izabela Łaczmańska**.: Zespół Phelan-McDermid (mikrodelecja 22q13) - opis przypadku

Med.Wieku Rozw. 2011 T.15 nr 1; s.96-100

Pkt. MNiSW/KBN: 9.000

9. Agnieszka Stembalska, Gizela Jagielska, **Izabela Łaczmńska**, Elżbieta Szmid, Alicja Jarczyńska, Justyna Gil.: Hexasomy 13q31.3q34 due to two marker chromosomes with inverted duplication in a fetus with increased nuchal translucency

Birth Defects Res.Part A-Clin.Mol.Teratol. 2015 Vol.103 no.4; s.255-259

IF: 1.954

Pkt. MNiSW/KBN: 25.000

10. Agnieszka Stembalska, **Izabela Łaczmńska**, Justyna Gil, Karolina A. Pesz.: Fragile X syndrome in females - a familial case report and review of the literature
Dev.Period Med. 2016 Vol.20 no.2; s.99-104

Pkt. MNiSW/KBN: 13.000

Dzięki współpracy z lekarzami możliwe było także badanie większych grup pacjentów i próba określenia patomechanizmów leżących u podstaw wybranych chorób genetycznych.

11. Robert Śmigiel, Małgorzata Piotrowicz, **Izabela Łaczmńska**, Izabela Makowska, Anna Błońska, Kristina Hoffmann, Lucjusz Jakubowski, Nikolaus Blin, Maria M. Sasiadek.: New bacterial artificial chromosome and commercial FISH probes for the 22q11.2 region in patients with congenital heart defect and with phenotype resembling DiGeorge and velocardiofacial syndromem

Adv.Clin.Exp.Med. 2007 Vol.16 no.6; s.717-723

Pkt. MNiSW/KBN: 5.000

12. Robert Śmigiel, Damian Bednarczyk, Łukasz Łaczmński, Anita Rauch, Christine Zweier, Dariusz Patkowski, **Izabela Łaczmńska.**: Study of a Hirschsprung's disease patient cohort using Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification

Adv.Clin.Exp.Med. 2010 Vol.19 no.1; s.83-88

IF: 0.103

Pkt. MNiSW/KBN: 13.000

13. **Izabela Łaczmńska**, Aleksandra Jakubiak, Ryszard Ślęzak, Karolina Pesz, Agnieszka Stembalska, Łukasz Łaczmński, Maria M. Sasiadek, Robert Śmigiel.: Badania przesiewowe techniką Multiplex Ligation - dependent Probe Amplification (MLPA) u dzieci z zaburzeniem rozwoju i niepełnosprawnością intelektualną o nieokreślonej etiologii

Med.Wieku Rozw. 2011 T.15 nr 2; s.132-139

Pkt. MNiSW/KBN: 9.000

14. Damian Bednarczyk, Robert Śmigiel, Dariusz Patkowski, **Izabela Łaczmańska**, Arleta Lebioda, Łukasz Łaczmański, Maria M. Sąsiadek.: Normal exon copy number of the GLI2 and GLI3 genes in patients with esophageal atresia

Dis.Esophagus 2013 Vol.26 no.7; s.678-681

IF: 2.057

Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

15. **Izabela Łaczmańska**, Małgorzata Szczepaniak, Aleksandra Jakubiak, Agnieszka Stembalska.: Exonic deletions in the NF1 gene in patients with neurofibromatosis type I from the Lower Silesian region of Poland

Adv.Clin.Exp.Med. 2014 Vol.23 no.4; s.517-521

IF: 1.095

Pkt. MNiSW/KBN: 15.000

16. Robert Śmigiel, Agnieszka Stembalska, Magdalena Cabała, Małgorzata Piotrowicz, **Izabela Łaczmańska**, Lucjusz Jakubowski, Maria Małgorzata Sąsiadek.: Zespół mikrodelecji 22q11.2 (zespół DiGeorge'a) bez współistniejącej wady serca - analiza fenotypu pacjentów i problemy diagnostyczne

Pediatr.Pol. 2015 T.90 nr 3; s.181-189

Pkt. MNiSW/KBN: 15.000

Powstała także praca poglądowa, która rozpocznie cykl badania genetycznych przyczyn niskorosłości.

17. **Izabela Łaczmańska**, Justyna Kuliczowska-Płaksej, Agnieszka Stembalska.: Short stature in genetic syndromes – a roadmap of selected issues in clinical practice

Adv.Clin.Exp.Med. 2017 IN PRESS

IF: 1.127

Pkt. MNiSW/KBN: 15.000

6.4. Zastosowanie nowoczesnych metod genetycznych w diagnostyce prenatalnej

Inwazyjne badania prenatalne polegają na pobraniu materiału zawierającego komórki płodu, które mogą być wykorzystane do wykonania badań cytogenetycznych i/lub molekularnych.

W ciągu ostatnich kilkunastu lat wprowadzono nowe, szybkie techniki do diagnostyki najczęstszych aneuploidii chromosomowych płodu, które wydatnie skracają czas potrzebny do uzyskania wyniku. W ostatnich latach zaczęto także stosować w Polsce test NIPT (NonInvasive Prenatal Testing), który pozwala na diagnostykę najczęstszych trisomii u płodu wykorzystując wolne płodowe DNA krążące w krwi matki. Ze względu na wciąż zwiększające się możliwości diagnostyczne i pojawiające się nowe techniki laboratoryjne badania prenatalne wykroczyły poza standardową cytogenetykę. We współpracy z lekarzami genetykami klinicznymi oraz ginekologami powstał cykl prac poglądowych na temat nowoczesnych technik diagnostycznych, w których jestem współautorem:

1. Agnieszka Stembalska, **Izabela Łacmańska**, Lech Dudarewicz.: Nieinwazyjne badania prenatalne w diagnostyce aneuploidii chromosomów 13, 18 i 21 - aspekty teoretyczne i praktyczne

Ginekol.Pol. 2011 T.82 nr 2; s.126-132 (praca poglądowa)

IF: 0.411

Pkt. MNiSW/KBN: 9.000

2. Agnieszka Stembalska, **Izabela Łacmańska**, Lech Dudarewicz.: Test PAPP-A - prenatalne badanie skriningowe aneuploidii chromosomów 13, 18 i 21

Perinatol.Neonatol.Ginekol. 2011 T.4 nr 1; s.49-53 (praca poglądowa)

Pkt. MNiSW/KBN: 6.000

3. Agnieszka Stembalska, Agnieszka Nomejko, **Izabela Łacmańska**, Lech Dudarewicz.: Wada letalna płodu a decyzja o kontynuacji ciąży - przykład opieki interdyscyplinarnej

Perinatol.Neonatol.Ginekol. 2011 T.4 nr 2; s.114-118

Pkt. MNiSW/KBN: 6.000

4. **Izabela Łacmańska**, Agnieszka Stembalska.: Nowoczesne metody molekularne w prenatalnej diagnostyce inwazyjnej

Ginekol.Pol. 2013 Vol.84 nr 10; s.871-876 (praca poglądowa)

IF: 0.675

Pkt. MNiSW/KBN: 15.000

5. **Izabela Łaczmańska**, Agnieszka Stembalska.: Nieinwazyjny test NIFTY w diagnostyce najczęstszych trisomii chromosomowych u płodu

Ginekol.Pol. 2014 T.85 nr 4; s.300-303 (praca pogładowa)

IF: 0.601

Pkt. MNiSW/KBN: 15.000

Jestem także współautorem dwóch prac oryginalnych opisujących przesiewowe techniki badania najczęstszych aneuploidii u płodu, które obrazują między innymi jak w ciągu kilku lat techniki biologii molekularnej wyparły techniki cytogenetyczne:

6. **Izabela Łaczmańska**, Agnieszka Stembalska, Ryszard Ślęzak, Joanna Kozłowska, Izabela Makowska, Halina Czernarmazowicz, Karolina A. Pesz, Robert Śmigiel, Anna Jakiel, Maria Małgorzata Sasiadek.: Rapid-FISH jako szybka metoda wykrywania najczęstszych liczbowych aberracji chromosomowych w diagnostyce prenatalnej u kobiet z grupy wysokiego ryzyka

Ginekol.Pol. 2007 T.78 nr 12; s.952-955

Pkt. MNiSW/KBN: 5.000

7. **Izabela Łaczmańska**, Justyna Gil, Agnieszka Stembalska, Izabela Makowska, Joanna Kozłowska, Paweł Skiba, Halina Czernarmazowicz, Karolina Pesz, Ryszard Ślęzak, Robert Śmigiel, Aleksandra Jakubiak, Anna Doraczyńska-Kowalik, Maria M. Sasiadek.: Szybka diagnostyka najczęstszych aneuploidii u płodu metodą QF-PCR - analiza 100 przypadków

Ginekol.Pol. 2015 T.86 nr 9; s.694-699

IF: 0.609

Pkt. MNiSW/KBN: 15.000

6.5. Metody diagnostyki genetycznej i ich zastosowanie w praktyce

Jako specjalistę laboratoryjnej genetyki medycznej interesują mnie także nowe techniki diagnostyczne oraz ich zastosowanie w praktyce. Publikacje przedstawione poniżej mają charakter dydaktyczny i adresowane są do diagnostów laboratoryjnych.

1. Joanna Kozłowska, **Izabela Łaczmańska.**: Techniki cytogenetyczne i molekularne stosowane w diagnostyce chorób uwarunkowanych genetycznie
Diagn.Lab. 2008 T.44 nr 3; s.379-387 (praca pogładowa)
Pkt. MNiSW/KBN: 2.000

2. **Izabela Łaczmańska**, Karolina Pesz, Łukasz Łaczmański.: Application of selected methods based on the polymerase chain reaction in medical molecular diagnostics
Adv.Clin.Exp.Med. 2009 Vol.18 no.1; s.85-92 (praca pogładowa)
IF: 0.094
Pkt. MNiSW/KBN: 9.000

3. Łukasz Łaczmański, **Izabela Łaczmańska.**: Walidacja metod molekularnych przeznaczonych do laboratoryjnej diagnostyki genetycznej
Diagn.Lab. 2009 T.45 nr 2; s.163-165 (praca pogładowa)
Pkt. MNiSW/KBN: 2.000

4. **Izabela Łaczmańska**, Łukasz Łaczmański.: Metoda MLPA oraz jej zastosowanie w diagnostyce chorób uwarunkowanych genetycznie
Post.Biol.Kom. 2009 Vol.36 nr 4; s.555-563 (praca pogładowa)
Pkt. MNiSW/KBN: 9.000

5. Magdalena Korytko, **Izabela Łaczmańska.**: Sekwencje mikrosatelitarne i ich wykorzystanie w diagnostyce medycznej (praca pogładowa)
Kosmos 2016 T.65 nr 1; s.11-16
Pkt. MNiSW/KBN: 12.000

6. Agnieszka Stembalska, **Izabela Łaczmańska**, Aleksandra Jakubiak.: Diagnostyka genetyczna u par z niepłodnością – wybrane zagadnienia.
Ginekologia po dyplomie **IN PRESS** (praca pogładowa)
Pkt. MNiSW/KBN: 6.000

7. Aktualnie prowadzone badania i plany naukowe

Obecnie prowadzone przeze mnie badania dotyczą dwóch zagadnień: genetycznych przyczyn zaburzeń rozwojowych i niepełnosprawności intelektualnej oraz genetycznych podstaw procesu powstawania i rozwoju nowotworów.

Przy użyciu technik MLPA (Multiplex Ligase dependent Probe Amplification, Amplifikacja sond zależna od ligacji) z zastosowaniem komercyjnych kitów oraz aCGH (array CGH, porównawcza hybrydyzacja genomowa do mikromacierzy) z zastosowaniem macierzy diagnostycznych prowadzę badania u dzieci z autyzmem. Zaburzenia ze spektrum autyzmu (autism spectrum disorder, ASD) są heterogenną grupą zaburzeń neurorozwojowych, charakteryzującą się występowaniem dwóch osiowych objawów: zaburzeń komunikacji/interakcji społecznych oraz stereotypowych, powtarzalnych zachowań. Częstość występowania ASD szacuje się na około 62/10 000.

Diagnostyka genetyczna ASD opiera się na poszukiwaniu mutacji punktowych określonych genów oraz aberracji i mikroaberracji chromosomowych. Jednym z narzędzi diagnostycznych jest technika MLPA z użyciem zestawu sond dedykowanych dla autyzmu – SALSA MLPA P343 Autism-1 obejmującego geny zlokalizowane w regionach 15q11-q13, 16p11 oraz 22q13.3. W przypadku wyników nieprawidłowych, w celu dokładnego scharakteryzowania zmiany badania te poszerzane są o badanie aCGH.

Grupę badaną stanowi obecnie 130 pacjentów (grupa ciągle powiększa się) skierowanych do Poradni Genetycznej z podejrzeniem autyzmu. Przed wykonaniem badania genetycznego pacjenci są poddawani ocenie antropometrycznej oraz dysmorfologicznej. Od rodziców/opiekunów pacjentów zbierany jest dokładny wywiad chorobowy i rodzinny. W przypadku uzyskania pozytywnych wyników u pacjenta badaniem obejmowana jest jego rodzina – rodzice, oraz inni członkowie wytypowani na podstawie analizy rodowodu.

Drugim tematem jest poszukiwanie nieinwazyjnego biomarkera opierającego się na zróżnicowanej obecności miRNA w surowicy, który umożliwiłby skuteczniejszą i bardziej dokładną diagnostykę schorzeń jelita grubego, przewidywanie rokowań, oraz monitorowanie postępu choroby i odpowiedzi na leczenie. Projekt jest prowadzony we współpracy z lekarzami chirurgami oraz Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk.

Proces kancerogenezy w jelicie grubym jest ściśle związany z utraceniem przez komórkę mechanizmów kontroli wzrostu. Wiąże się to z zaburzeniami funkcji genomu. Utrata kontroli ekspresji poszczególnych białek w komórkach patologicznych jest ściśle związana z zaburzeniem występowania różnych miRNA. MicroRNA są to niewielkie (15-150 pz), niekodujące cząsteczki RNA występujące praktycznie u wszystkich kręgowców. Pełnią one przede wszystkim funkcję regulatorową. Mogą zajmować się postranslacyjną regulacją ekspresji białek, jak również wpływają na proces proliferacji, zróżnicowania czy apoptozy komórki. Do chwili obecnej w organizmie ludzkim odkryto około dwa tysiące różnych izoform miRNA. Ocenia się, że regulują one ekspresję około 30% ludzkich genów. Zauważono, że różnice w poziomach konkretnych frakcji miRNA w badanej tkance często mają odzwierciedlenie w stężeniu tych samych cząsteczek w surowicy. Powiązanie powyższych faktów czyni miRNA bardzo dobrym markerem zarówno występowania stanów patologicznych, jak i ich stopnia zaawansowania. Co więcej, zwarta i niezwykle stabilna struktura tych cząsteczek dodatkowo potęguje ich przydatność diagnostyczną. Obecnie projekt jest na etapie rekrutacji pacjentów i walidacji metod.

Uczestniczę także w projektach prowadzonych w Katedrze Genetyki na mniejszą skalę:

1. Wpływ polimorfizmów wybranych genów ze szlaku autofagii na przebieg choroby i rokowanie u pacjentów z PPP (palmoplantar pustulosis psoriasis – łuszczyca krostkowa stóp i dłoni) - we współpracy z Katedrą Dermatologii, Wenerologii i Alergologii,
2. Wpływ polimorfizmów receptora witaminy D na ryzyko zachorowania na podstawnocomórkowego raka skóry oraz płaskonabłonkowego raka krtani.

8. Podsumowanie dorobku naukowego

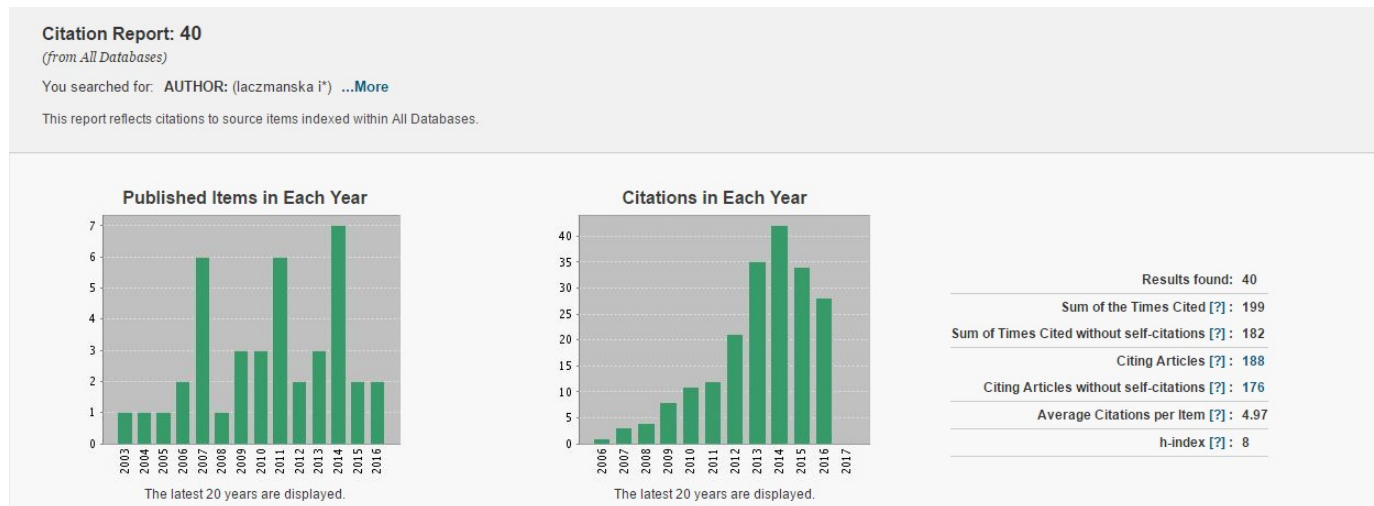
Mój dorobek naukowy to 53 artykuły pełnotekstowe opublikowane w czasopismach indeksowanych o łącznej punktacji:

IF = 44.35 (stan na dzień 02.01.2017)

MniSW/KBN = 669 (stan na dzień 02.01.2017)

Liczba cytowań bez autocytowań: 177 (WoS) (stan na dzień 02.01.2017)

h-indeks: 8 (stan na dzień 02.01.2017)



W 20 artykułach punktowanych (11 prac oryginalnych, 8 prac poglądowych, 1 opis przypadku), w tym 15 z IF jestem pierwszym autorem.

Po wyłączeniu prac wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego mój dorobek to 47 artykułów opublikowanych w czasopiśmie punktowanych o łącznej punktacji: IF = 32.145, MniSW/KBN = 546.

Wrocław, dnia... 10.01.2017

Izabela Łaczmanska