**STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**„Badania metabolomiczne procesów nowotworzenia na układach modelowych oraz próbkach pochodzących od pacjentów”**

**Autor: Wojciech Wojtowicz**

Rozprawa doktorska składa się z się z czterech głównych wątków opierających się na zastosowaniu badań metabolomicznych w zakresie chorób nowotworowych oraz zmian w procesach biochemicznych, które występują na skutek zaburzenia homeostazy organizmu. Zmiany obserwowalne w matrycach biologicznych uzyskiwanych od pacjentów oraz modeli komórkowych pozwalają na zapoznanie się z obserwowalnymi zmiennościami biochemicznymi podczas wystąpienia stanu patologicznego, jakim jest nowotwór. Jednocześnie, rejestrowane zmienności w profilu związków niskomasowych umożliwiają, na potencjalną dyskryminację międzygrupową dla potrzeb diagnostyki czy kontroli progresji choroby oraz wyznaczanie interesujących szlaków biochemicznych do dalszych badań w zakresie projektowania leków.

Pierwszy rozdział rozprawy skupia się na badaniach metabolomicznych z wykorzystaniem spektroskopii 1H NMR dla wybranych chorób tarczycy (NN, FA, TC) na bazie surowicy i moczu pacjentów. Wczesne wykrywanie chorób związanych z występowaniem guzków na gruczole tarczyc, w tym raka tarczycy, nadal opiera się głównie na procedurach inwazyjnych, takich jak biopsja aspiracyjna cienkoigłowa. Dlatego istnieje potrzeba opracowania nowych metod diagnostycznych, które mogłyby zapewnić mniej inwazyjną, klinicznie przydatną metodę umożliwiającą rozróżnienie zmian guzkowatych tarczycy. Stąd też, zostały oznaczone profile metaboliczne metodą analityczną 1H NMR sparowanych prób moczu i surowicy od osób zdrowych oraz pacjentów z zmianami w gruczole tarczycy. Ustalenie potencjału predykcyjnego oznaczonych metabolitów dla potrzeb dyskryminacji badanych grup oceniono z wykorzystaniem metod chemometrycznych. Wykazano, że zarówno mocz, jak i surowica zawierają informacje wystarczające do rozróżnienia pacjentów ze zmianami guzkowymi od grupy kontrolnej. Dodatkowo, zastosowanie fuzji danych z obu materiałów biologicznych pozwoliło na dalszą poprawę, jakości modeli, zwiększając skuteczność ich prognoz.

W rozdziale drugim przeprowadzono analizę nowotworów hematologicznych z zastosowaniem metabolomiki. Hematologiczne nowotwory złośliwe są często diagnozowaną grupą nowotworów i istotną przyczyną zgonów. Skuteczne leczenie tych chorób opiera się na wczesnym i dokładnym wykryciu. Specyficzne niskocząsteczkowe związki uwalniane przez komórki złośliwe i równoczesna reakcja organizmu poprzez zaburzenia w biochemicznej równowadze mogą służyć, jako biomarkery diagnostyczne i prognostyczne oraz jako narzędzie do zarządzania terapią nowotworową. W celu zidentyfikowania najważniejszych metabolitów pozwalających na różnicowanie badanych jednostek nowotworów hematologicznych zastosowano spektroskopię 1H NMR. W badaniu wykorzystano 116 próbek ekstraktu metanolowego surowicy z grup AML (n= 38), nHL (n= 26), CLL (n= 21) i HC (n= 31). Przeprowadzono wielowymiarowe i jednowymiarowe analizy danych w celu zidentyfikowania występujących zmian związków niskomasowych w badanych grupach. Złożone i szczegółowe modele VIP-PLS-DA zostały obliczone w celu uwidocznienia możliwej zmienności w zakresie ścieżek biochemicznych oraz zdolności do dyskryminacji. Właściwości predykcyjne modeli chemometrycznych zostały potwierdzone przez zastosowanie krzywych ROC i analizę statystyczną. Tworząc kompleksowe modele reprezentujące najważniejsze zmiany, wybrano dwa zestawy ważnych metabolitów, ośmiu w porównaniach HC/AML/CLL/nHL i pięciu w porównaniu AML/CLL/nHL.

 Rozdział trzeci wykorzystuje badania metabolomiczne do zastosowania w badaniach przesiewowych nowotworów piersi. Możliwość nieinwazyjnej metody badań przesiewowych w raku piersi wydaje się mieć zasadnicze znaczenie dla zmniejszenia ryzyka rozprzestrzeniania się nowotworu. Decyzja o przeprowadzeniu biopsji jest konieczna do ustalenia diagnozy i właściwego podejścia do leczenia, jednak biopsja nie jest odpowiednim narzędziem do badań przesiewowych ze względu na swoją inwazyjność. Metabolomika z możliwością wysokoprzepustowych analiz materiału biologicznego, mogłaby stanowić realną alternatywę dla pierwszego etapu w diagnostyce klinicznej. Wspomagając i uzasadniając empirycznie podjęcie decyzji o wykonaniu biopsji. Jednocześnie umożliwiając rutynową kontrolę pacjentów nawet przy podstawowych badaniach medycznych np. morfologii. Całościowe podejście do nowotworu piersi z wykorzystaniem grupy kontrolnej oraz grupy pacjentów (inwazyjnego raka przewodowego i raka przewodowego in situ) pozwoliło obliczyć modele chemometryczne z wysoką czułością i specyficznością wskazując na wysoki potencjał metabolomiki w zakresie badań przesiewowych. Jednocześnie wraz z dyskryminacją głównych grup IDC i DCIS możliwe było rozróżnienie między grupami kontrolnymi, a podgrupami z określonymi typami molekularnymi luminalny A oraz luminalny B. Jednocześnie analiza statystyczna wskazała wśród zidentyfikowanych związków takie, które potencjalne mogą zostać wykorzystane, jako biomarkery rozwoju nowotworu pomiędzy I a II (IA/B i IIA/B) stadium.

Ostatni rozdział dysertacji doktorskiej opiera się na wykorzystaniu badań metabolomicznych pacjentów trójujemnego nowotworu piersi oraz linii komórkowej MDA‑MB-468 i weryfikacji różnic w odpowiedź organizmu, a zmian na poziomie komórkowym. Nowotwory piersi należą do grupy nowotworów heterogennych. Pośród nich występuję jeden szczególny rodzaj określany jako trójujemny (TNBC). Nowotwór ten charakteryzuje się ujemnymi wynikami dla receptora progesteronowego, receptora estrogenowego alfa oraz receptora HER2. Różnice w funkcjonowaniu nowotworu i wykorzystaniu przez niego odpowiednich ścieżek biochemicznych może być powiązane z obecnością istotnych dla jego rozwoju metabolitów. W badaniu wykorzystano grupę pacjentów z TNBC oraz grupę kontrolną do sprawdzenia różnic w profilu związków niskocząsteczkowych surowicy oraz próbę zestawienia zmian względem odwiedzi metabolomicznej linii komórkowej MDA-MB-468. Dodatkowo w celu podkreślenia istotność poszczególnych szlaków biochemicznych w tym rodzaju nowotworu, wykonano czasowy eksperyment hodowli komórkowych, w których zastosowano różne warunki suplementacji komórek (aminokwasy endogenne, EAA).