

MŁODZI NAUKOWCY WUM

– STYPENDYŚCI PROGRAMU START

Czworo młodych naukowców realizujących swoje badania w Warszawskim Uniwersytecie Medycznym otrzymało stypendia w ramach programu START Fundacji na rzecz Nauki Polskiej. Jego celem jest wspieranie wybitnych młodych badaczy i zachęcanie ich do dalszego rozwoju naukowego poprzez umożliwienie pełnego poświęcenia się swojej pracy. **Dr Klaudyna Fidyć, lek. Łukasz Milanowski, mgr Jan Szczypiński i student Tomasz Grzywa** znaleźli się wśród stu nagrodzonych, którzy zostali wybrani z 794 kandydatów. Specjalnie dla czytelników „MDW” laureaci związani z naszą uczelnią przygotowali opis swoich osiągnięć naukowych uhonorowanych przez Fundację rocznym stypendium.

Dr Klaudyna Fidyć

– Zakład Immunologii WUM

Od sierpnia 2021 roku realizuję staż doktorski w Zakładzie Immunologii WUM pod kierownictwem dr hab. Magdaleny Winiarskiej. Znalazienie się wśród grona laureatów programu START 2022 możliwe było dzięki badaniom prowadzonym przeze mnie podczas studiów doktoranckich w programie Studium Medycyny Molekularnej WUM pod opieką naukową dr hab. Małgorzaty Firczuk.

Celem moich badań było opracowanie nowych, bardziej skutecznych i selektywnych metod leczenia chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną z prekursorów limfocytów B (OBL). W moich badaniach skupiłam się na podtypie OBL z rearanżacją genu MLL (ang. *mixed lineage leukemia*, MLLr OBL). Nowoczesnym podejściem terapeutycznym stosowanym obecnie w hematologii jest wprowadzanie do schematów leczenia związków celowanych. Jednym ze związków celowanych stosowanych w leczeniu nowotworów hematologicznych jest wenetoklaks, selektywny inhibitor białka antyapoptotycznego BCL-2. Związek ten jest zarejestrowany przez Europejską Agencję Leków i stosowany w leczeniu przewlekłej białaczki limfocytowej oraz ostrej białaczki mieloblastycznej, a dodatkowo jest testowany w badaniach klinicznych u chorych na OBL. Dodatkowe



badania wykazały jednak, że monoterapia z zastosowaniem wenetoklaksu w różnych nowotworach hematologicznych, w tym w MLLr OBL, nie jest całkowicie skuteczna, gdyż u części chorych dochodzi do wykształcenia oporności. Zainteresowana tymi obserwacjami, w czasie moich studiów doktoranckich postanowiłam wyjaśnić, co wpływa na ograniczone dzia-

łanie wenetoklaksu w MLLr OBL oraz znaleźć potencjalne związki, które mogłyby wspomóc działanie tego leku. Bardzo pomocne w realizacji tego zadania było zdobycie przeze mnie grantu Preludium (2018/31/N/NZ5/01438) oraz odbycie stażu na Uniwersytecie Oksfordzkim w ramach projektu Etiuda (oba projekty finansowane przez Narodowe Centrum Nauki).

„Celem moich badań było opracowanie nowych, bardziej skutecznych i selektywnych metod leczenia chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną z prekursorów limfocytów B (OBL)”

dr Klaudyna Fidył

W moich badaniach wykorzystałam różne modele badawcze, w tym ustalone linie komórkowe oraz materiał pierwotny, który wraz z zespołem gromadziliśmy we współpracy z kilkoma ośrodkami klinicznymi w Polsce. Bardzo istotnym elementem moich badań była optymalizacja metody namnażania komórek pierwotnych OBL *in vivo*, co skutkuje otrzymaniem komórek typu primograft (inaczej PDX, ang. *patient derived xenograft*). Realizacja tego zadania była możliwa dzięki współpracy z naukowcami z Uniwersytetu w Newcastle, z zespołu prof. Olafa Heidenreicha (obecnie Prinses Máxima Centrum).

Namnożone komórki typu primograft wykorzystałam w badaniach *in vivo* mających na celu wyjaśnienie mechanizmów oporności na wenetoklaks w MLLr OBL. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń zaobserwowałam, że długotrwała ekspozycja na wenetoklaks *in vivo* jest skuteczna tylko w połowie przypadków, co jest zgodne z danymi literaturowymi. W celu wyłonienia szlaków odpowiedzialnych za ograniczone działanie wenetoklaksu, przeanalizowaliśmy profile ekspresji genów komórek białaczkowych, które uległy progresji *in vivo* mimo terapii. Zaobserwowaliśmy znaczące spadki ekspresji genów związanych z indukcją apoptozy i zahamowaniem cyklu komórkowego, których produkty należą do szlaków zależnych od białka p53.

Na podstawie tych wyników postawiliśmy hipotezę, że leki działające niezależnie od białka p53 mogą skutecznie wzmacniać działanie wenetoklaksu w MLLr OBL. Doskonałym lekiem do kombinacji z wenetoklaksem okazał się inhibitor układu tioredoksyny, który działa niezależnie od szlaku p53 – auranofina. Co ciekawe, auranofina w monoterapii wykazuje działanie przeciwbiałaczkowe w modelach *in vitro* i *in vivo* w MLLr OBL, co udowodniłam w mojej pracy doktorskiej, oraz co zaprezentowaliśmy z zespołem w artykule opublikowanym w *Molecular Oncology*.

W świetle tych obserwacji, niezwykle istotne było odkrycie przeze mnie synergistycznego działania kombinacji wenetoklaksu i auranofiny w różnych modelach MLLr OBL *in vitro* i *in vivo*. W dalszych badaniach wykazałam, że jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za synergistyczne działanie tej kombinacji jest indukcja proapoptotycznego białka NOXA przez auranofinę. Co ciekawe, auranofina indukuje NOXA już na poziomie transkrypcyjnym, jednak dokładne wyjaśnienie tego zjawiska umożliwił mi wyjazd w ramach programu Etiuda na Uniwersytet Oksfordzki, do laboratorium prof. Thomasa Milne. W czasie 3-miesięcznego stażu udało mi się wykazać, że auranofina zwiększa ekspresję NOXA poprzez wprowadzanie zmian epigenetycznych. Wyniki przedstawiające przeciwbiałaczkowe działanie kombinacji wenetoklaksu i auranofiny oraz mechanizm indukcji NOXA zostały opublikowane w czasopiśmie *Oncogene*.

Otrzymanie stypendium w ramach programu START 2022 jest dla mnie niezwykłym wyróżnieniem oraz wsparciem do dalszego rozwoju w pracy naukowej. W ramach stażu podoktorskiego kontynuuję badania nad terapią nowotworów wywodzących się z limfocytów B, w szczególności immunoterapią z wykorzystaniem limfocytów T modyfikowanych chimerycznymi receptorami antygenowymi (CAR-T).

Lek. Łukasz Milanowski

– Klinika Neurologii Wydziału Nauk o Zdrowiu WUM

Stypendium START Fundacji na rzecz Nauki Polskiej otrzymałem za dotychczasowe badania w zakresie genetyki choroby Parkinsona oraz innych parkinsonizmów. Większość projektów została wykonana w Mayo Clinic w Stanach Zjednoczonych, pod opieką prof. Zbigniewa Wszółka, światowej sławy specjalisty od genetyki choroby Parkinsona, współodkrywcy jednego z pierwszych genów powiązanych z rodzinną chorobą Parkinsona (LRRK2). Koncentrowałem się głównie na wykonaniu analiz genów powiązanych z wczesną postacią choroby Parkinsona, tj. PRKN, PINK1 i DJ1. Inne analizy koncentrowały się



„Stypendium START Fundacji na rzecz Nauki Polskiej otrzymałem za dotychczasowe badania w zakresie genetyki choroby Parkinsona oraz innych parkinsonizmów”

lek. Łukasz Milanowski

na chorobie Perry’ego: profilowaniu neuropsychologicznym i analizie haplotypów. Zespół Perry’ego to choroba dziedziczna autosomalnie dominująca, z 4 objawami osiowymi: parkinsonizmem, centralną niewydolnością oddechową, utratą masy ciała oraz zaburzeniami psychicznymi. Innym zadaniem była analiza najczęstszego genetycznego czynnika ryzyka choroby Parkinsona, GBA, w populacji nigeryjskiej. Pacjenci z populacji subsaharyjskiej są nie-

doszacowani w badaniach genetycznych, natomiast cechują się największą różnorodnością genetyczną. Obecnie część prac jest kontynuowana, w tym analiza kliniczna, funkcjonalna oraz kliniczna polskiej rodziny z chorobą Parkinsona. Łącznie ze współpracownikami wykonaliśmy sekwencjonowanie całokomomowe i wytypowaliśmy wariant CTSB p.Gly284Val jako najbardziej prawdopodobnie odpowiedzialny za zachorowanie na chorobę Parkinsona. CTSB koduje katepsynę B, enzym należący do proteaz lizosomalnych odpowiedzialnych za wiele fizjologicznych i patologicznych procesów w organizmie człowieka. Katepsyna B odgrywa ważną rolę w patogeniezie choroby Parkinsona. Loci CTSB zostały ujawnione jako genetyczny czynnik ryzyka w ostatniej analizie GWAS. Co ciekawe, wariant CTSB był genetycznym modyfikatorem ryzyka i wieku zachorowania na chorobę Parkinsona związaną z GBA i otępieniem z ciałami Lewy’ego. Przeprowadzono dotychczas również pewne badania funkcjonalne katepsyny B w chorobie Parkinsona. Wykazano bezpośredni udział

katepsyny cysteinowej B (CtsB) w degradacji alfa-synukleiny. CtsB rozszczepiają α -syn w jego regionie amyloidowym i omijają tworzenie włókienek. Znaczenie CtsB w metabolizmie alfa-synukleiny ujawniono również w mysich modelach mutacji SNCA p.Ala53Thr. Stwierdzono wzrost aktywności CtsB w lizosomach z bezobjawowych i objawowych SNCA p.Ala53Thr w porównaniu ze zdrowymi kontrolami. W trakcie zeszłorocznego pobytu w Department of Neurology, Mayo Clinic dokonano screeningu w różnych innych populacjach oraz przeprowadzono analizę aktywności katepsyny B fibroblastów pobranych od pacjentów oraz fibroblastów kontrolnych. W przypadku potwierdzenia naszej teorii byłby to pierwszy patogenny wariant CTSB w dotychczasowej literaturze. Planuję również kontynuację zbierania materiału od pacjentów z rodzinną postacią choroby Parkinsona. Wraz z moim opiekunem naukowym planujemy zbierać materiały od pacjentów z chorobą Parkinsona, takie jak: płyn mózgowo-rdzeniowy, fibroblasty, celem wykorzystania w późniejszych badaniach.

Tomasz Grzywa

– student V roku kierunku lekarskiego, Zakład Immunologii WUM

Jestem obecnie studentem V roku kierunku lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. W styczniu bieżącego roku ukończyłem kształcenie w Szkole Doktorskiej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego złożeniem rozprawy doktorskiej. Swój projekt doktorski realizowałem w Zakładzie Immunologii pod opieką prof. Jakuba Gołąba.

Pracę naukową w zespole prof. Jakuba Gołąba rozpocząłem w lutym 2019 roku, gdy jako student II roku studiów pomyślnie przeszedłem rekrutację do Studenckiego Koła Naukowego działającego przy Zakładzie Immunologii. W tym czasie w centrum zainteresowań badawczych zespołu było poznanie roli arginazy w regulacji odpowiedzi przeciwnowotworowej. Arginaza jest enzymem hydrolizującym aminokwas argininę do mocznika i ornityny. Arginina jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania wielu komórek układu odpornościo-



wego, a jej brak hamuje m.in. proliferację oraz wytwarzanie cytokin przez limfocyty T. Nadmierne wytwarzanie arginazy powodujące deplecję argininy z mikrośrodowiska jest jednym z mechanizmów prowadzących do zahamowania odpowiedzi przeciwnowotworowej. Dokładną rolę arginazy opisaliśmy w naszym artykule prze-

glądowym opublikowanym w czasopiśmie *Frontiers in Immunology* (IF=7,561).

W jednym z projektów badawczych, w których uczestniczyłem wykazaliśmy, że w mikrośrodowisku guza wraz z jego wzrostem dochodzi do akumulacji komórek z ekspresją arginazy, przede wszystkim makrofagów i komórek supresorowych

„Obecnie kontynuuję badania nad immunoregulatorową rolą komórek CEC w ramach grantu Preludium Narodowego Centrum Nauki”

Tomasz Grzywa

pochodzenia szpikowego. Arginaza wytwarzana przez te komórki powoduje deplecję na poziomie lokalnym, jak również systemowym, prowadząc do zahamowania proliferacji limfocytów T. Co istotne, zastosowanie inhibitora arginazy umożliwiło zahamowanie wzrostu guza oraz nasiliło proliferację limfocytów T rozpoznających antygen w mysim modelu raka płuca (*Oncoimmunology*, IF=8,110).

Poza komórkami mieloidalnymi arginaza jest wytwarzana przez wiele innych populacji komórek. Naszą uwagę przykuła populacja komórek erytroidalnych wykazujących ekspresję cząsteczki CD71 (komórki CEC, ang. *CD71⁺ erythroid cells*). Komórki CEC to progenitory oraz prekursorzy transportujących tlen erytrocytów. Ich immunoregulatorowa rola została opisana w 2013 roku na łamach *Nature*. Wówczas postawiono hipotezę, iż cecha ta jest charakterystyczna tylko dla komórek CEC

w okresie noworodkowym. Jednak kolejne lata badań wykazały istotną rolę komórek CEC w regulacji odpowiedzi odpornościowej w wielu fizjologicznych i patologicznych warunkach. W ramach projektu doktorskiego przygotowałem przegląd literatury opisującej rolę komórek CEC w regulacji odpowiedzi immunologicznej, który został opublikowany w czasopiśmie *Pharmacology & Therapeutics* (IF=12,310).

W ramach mojego doktoratu wykazałem, że funkcja immunoregulatorowa jest cechą wspólną komórek CEC w różnych warunkach, niezależnie od czynnika indukującego ich ekspansję (*Communications biology*, IF=6,258). Wykorzystując mysie modele niedokrwistości wykazałem, że indukcja ekspansji komórek CEC w śledzionie nie wpływa na odpowiedź humoralną i odporność nieswoistą, natomiast znacząco hamuje odpowiedź komórkową. Komórki CEC indukowane przez niedokrwistość wykazują ekspresję arginazy oraz wysoki poziom reaktywnych form tlenu, co przekłada się na zahamowanie przez nie proliferacji limfocytów T.

Chcąc nadać aplikacyjny charakter moim odkryciom, przeprowadziłem badania wykazujące, że komórki CEC ulegają ekspansji we krwi obwodowej u pacjentów z niedokrwistością i prowadzą do upośledzenia wytwarzania interferonu gamma (IFN- γ) przez limfocyty T. Dodatkowo, wykazałem, że komórki CEC wyizolowane ze szpiku zdrowych dawców hamują aktywację i proliferację limfocytów T.

Poprzednie badania sugerowały, że właściwości immunoregulatorowe komórek CEC mogą ulegać zmianom wraz z różnicowaniem. Postanowiliśmy zatem dokładnie opisać tę hipotezę w artykule przeglądowym opublikowanym w czasopiśmie *Cancers* (IF=6,639). Następnie w swoich badaniach wykazałem, że supresja limfocytów T przez komórki CEC jest najsilniejsza na najwcześniejszych stadiach ich różnicowania. Wraz z dalszym różnicowaniem komórki CEC całkowicie tracą one właściwości immunoregulatorowe. Co ciekawe, hematopoetyczne komórki macierzyste oraz progenitorowe, jak również dojrzałe erytrocyty, pomimo wysokiej ekspresji arginazy nie wpływają na proliferację limfocytów T. Potwierdza to, że właściwości immunoregulatorowe są przejściową cechą pojawiającą się w trakcie różnicowania komórek erytroidalnych.

Obecnie kontynuuję badania nad immunoregulatorową rolą komórek CEC w ramach grantu Preludium Narodowego Centrum Nauki, który otrzymałem w grudniu 2021 roku i który realizuję pod opieką prof. Dominiki Nowis w Laboratorium Medycyny Doświadczalnej WUM.

Wyróżnienie tytułem laureata programu START Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej, dodatkowo jako jednej z najmłodszych osób w historii programu, jest dla mnie ogromnym wyróżnieniem i docenieniem dotychczasowej pracy naukowej oraz stanowi motywację do dalszej pracy i rozwoju naukowego.

Mgr Jan Szczypiński

– stypendysta oraz kierownik grantów NCN realizowanych w Katedrze i Klinice Psychiatrycznej WUM

W mojej pracy naukowej skupiam się na tworzeniu i adaptacji nowych narzędzi służących do badań interesujących mnie procesów mózgowych i psychicznych. Wykorzystuję również nowoczesne metody neuroobrazowania oraz analizy danych. Moje badania dotyczą głównie, choć nie tylko, pacjentów z grup psychiatrycznych.

Pedofilia jest główną przyczyną przemocy seksualnej wobec dzieci i, szczególnie w ostatnich latach, budzi duże emocje



„W mojej pracy naukowej skupiam się na tworzeniu i adaptacji nowych narzędzi służących do badań interesujących mnie procesów mózgowych i psychicznych. Wykorzystuję również nowoczesne metody neuroobrazowania oraz analizy danych. Moje badania dotyczą głównie, choć nie tylko, pacjentów z grup psychiatrycznych”

mgr Jan Szczypiński

w debacie publicznej. Przemoc seksualna wobec dzieci ma druzgocący wpływ na zdrowie psychiczne oraz życie ofiar. Jednakże znaczna część mężczyzn, u których diagnozuje się zaburzenie pedofilne, nie popełnia czynów pedofilnych. Ponadto, większość sprawców przemocy seksualnej wobec dzieci nie cierpi na zaburzenie pedofilne.

Najnowsze badania wskazują, że to właśnie czynniki, takie jak skłonność do podejmowania nieprzemyślanych (impulsywnych) decyzji czy nieprawidłowe oszacowanie stanów mentalnych innych osób, mogą być związane z popełnianiem czynów pedofilnych. Istotna jest również aktywność mózgu leżąca u podłoża tych procesów. Dzięki wykorzystaniu technik obrazowania mózgu, takich jak funkcjonalny rezonans magnetyczny (fMRI) w ostatnich latach udało się określić nieprawidłowości w działaniu

mózgu odnoszące się właśnie do czynów pedofilnych. Technikę fMRI wykorzystuję również w badaniach prowadzonych przeze mnie w Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. W moim projekcie doktorskim staram się zbadać różnice pomiędzy grupami mężczyzn ze zdiagnozowaną pedofilią, sprawców czynów pedofilnych z kontaktem fizycznym (P+), sprawców czynów pedofilnych bez kontaktu fizycznego (P-) (głównie korzystających z pornografii) oraz dopasowaną pod względem wykształcenia grupę kontrolną (HC). Dzięki takiemu doborowi grup jestem w stanie zobrazować różnice w zachowaniu oraz działaniu mózgu, które odnoszą się specyficznie do pedofilii i do przemocy seksualnej wobec dzieci. W pierwszym etapie moich badań skupiłem się na opracowaniu oraz stworzeniu odpowiednich procedur eksperymentalnych, które pozwoliłyby opisać charakterystykę zachowania oraz działania mózgu, dotyczącą interesujących mnie procesów – rozumienia stanów mentalnych dzieci i dorosłych, a także kontroli zachowania.

W szczególności stworzyłem i opracowałem od podstaw oryginalne zadanie eksperymentalne – Nencki Children Eyes Test (NCET), które pozwala na pomiar umiejętności rozumienia stanów mentalnych dzieci, a także neuronalnych korelatów tej umiejętności. Przeprowadziłem również badanie fMRI z wykorzystaniem NCET, z udziałem zdrowych osób dorosłych, w celu potwierdzenia adekwatności tego zadania w kolejnym etapie badań.

W drugim etapie, który jest obecnie w realizacji, staram się opisać różnice w zakresie wpływu negatywnych emocji na kontrolę zachowania pomiędzy grupami P+, P- oraz HC. Dodatkowo badam, jak mężczyźni z tych grup rozpoznają stany mentalne dorosłych i dzieci. Dane zebrane podczas wykonywania zadania NCET są obecnie analizowane w celu opisanego różnic między grupami P+, P- oraz HC.

Jednocześnie, w artykule naukowym opublikowanym w maju w czasopiśmie *Journal of Psychiatry Research* opisałem wyniki eksperymentu, w którym wykonałem specyficzne zadanie – emocjonalne Go/NoGo – do zbadania interakcji

tych dwóch czynników: wpływu emocji na zdolność kontroli zachowania. W zadaniu tym razem z bodźcami Go (wymagających reakcji) i NoGo (wymagających powstrzymania się od reakcji) prezentowane były zdjęcia neutralne bądź nacechowane negatywnie. Wyniki wskazały na nieprawidłowości w neuronalnych korelatach kontroli poznawczej pod wpływem negatywnych emocji w grupie P+, lecz nie w grupach P- i HC. W grupie P+ zaobserwowałem spadek aktywności grzbietowo-bocznej kory przedczołowej podczas prezentacji negatywnych zdjęć w porównaniu do zdjęć neutralnych. Równocześnie, w grupach P- i HC zaobserwowałem wzrost aktywności w tym obszarze. Grzbietowo-boczna kora przedczołowa jest obszarem zaangażowanym w procesy kontroli poznawczej, i zazwyczaj jej aktywność zwiększa się, gdy emocjonalne bodźce prezentowane są wraz z zadaniem poznawczym. Moje wyniki wskazują, że w grupie P+, lecz nie P-, występuje specyficzne zaburzenie kontroli poznawczej pod wpływem bodźców negatywnych, co prawdopodobnie może być czynnikiem zwiększającym ryzyko przemocy seksualnej wobec dzieci. Wyniki te sugerują potrzebę treningu kontroli poznawczej w grupach przestępców seksualnych. Jest to pierwsze badanie dotyczące interakcji bodźców emocjonalnych i procesów poznawczych w grupach P- i P+. Brak różnic między HC i P- potwierdza, że zaburzenia zachowania oraz działania mózgu powiązane są z przynależnością do grupy sprawców przemocy seksualnej, a nie wyłącznie z zaburzoną preferencją seksualną.

Badania opisane powyżej zostaną przedstawione w sposób szczegółowy w mojej rozprawie doktorskiej przygotowywanej pod opieką dr. hab. Andrzeja Jakubczyka (Katedra i Klinika Psychiatryczna Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego) oraz dr. Marka Wypycha (Pracownia Obrazowania Mózgu Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN).

Badania realizowane są w ramach grantów NCN OPUS (2016/21/B/HS6/01143; kierownik projektu: prof. Marcin Wojnar) oraz ETIUDA (2020/36/T/HS6/00092; kierownik projektu: mgr Jan Szczypiński). ■