



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

# **AUTOREFERAT**

**dr n. med. Michał Jarząb**

III Klinika Radioterapii i Chemioterapii

Gliwice 2019

## **AUTOREFERAT**

(załącznik nr 2 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego)

**Imię i nazwisko:** Michał Jarzab

### **Posiadane stopnie naukowe i dyplomy:**

2001	lekarz, Wydział Lekarski w Katowicach, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach (obecnie Śląski Uniwersytet Medyczny)
2003	pełne prawo wykonywania zawodu lekarza, Śląska Izba Lekarska w Katowicach
2006	doktor nauk medycznych, na podstawie rozprawy „Podstawowa i indukowana kwasem retinowym ekspresja symportera sodowo-jodkowego w komórkach raka piersi”, promotor prof. dr hab. n. med. Zdzisław Krawczyk, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie
2011	specjalista w zakresie onkologii klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

### **Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:**

2001-nadal	Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach
2001-2003	laborant, Zakład Biologii Nowotworów
2003-2006	asystent, Zakład Biologii Nowotworów
2006-2011	specjalista, Zakład Biologii Nowotworów, a następnie Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów
2006-2009	asystent, Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej
2009-2011	adiunkt, Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej
2011-nadal	adiunkt, III Klinika Radioterapii i Chemioterapii
2018	p.o. zastępcy kierownika, Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej
2013-nadal	koordynator, Breast Unit - Centrum Chorób Piersi

### ***Część biograficzna***

Urodziłem się w Tychach, pierwsze lata życia spędziłem w Bytomiu, a Szkołę Podstawową i IV Liceum Ogólnokształcące im. St. Staszica ukończyłem w Sosnowcu w roku 1995. Rodzice moi są lekarzami, a ja od samego początku interesowałem się biologią, medycyną i naukami ścisłymi. Jako uczeń liceum ogólnokształcącego brałem udział w Olimpiadzie Chemicznej i Biologicznej, którą ukończyłem z wyróżnieniem, dającym mi możliwość otwartego wyboru kierunku studiów. Zrezygnowałem jednak z tego prawa i po zdaniu egzaminów wstępnych zostałem przyjęty na Wydział Lekarski w Katowicach Śląskiej Akademii Medycznej (obecnie Śląski Uniwersytet Medyczny). Moja Żona, Magdalena, jest lekarzem psychiatrą, mam córkę.

**Droga zawodowa.** W czasie studiów medycznych brałem czynny udział w pracach Studenckiego Towarzystwa Naukowego, w kole przy Katedrze i Zakładzie Biochemii, a następnie Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych i Hematologii, kierowanej przez prof. Jerzego Hołowieckiego. Ze względu na chęć poznania technik w zakresie rozwijającej się biologii molekularnej, na IV roku studiów rozpocząłem pracę w studenckim kole naukowym, działającym przy Instytucie Onkologii w Gliwicach. W Zakładzie Biologii Nowotworów pracowałem w zespole prof. Zdzisława Krawczyka (pod opieką prof. dr hab. Katarzyny Lisowskiej), a także pod opieką dr hab. M. Rusina, dr hab. Doroty Butkiewicz i dr Jarosława Szarego. W tym czasie miałem sposobność poznać i nauczyć się podstawowych technik biologii molekularnej.

Po ukończeniu studiów zdecydowałem się podjąć pracę w tym Zakładzie, chcąc rozszerzyć znajomość nowoczesnych technik, które można by wykorzystać w rozwijającej się wówczas od załóżka onkologii translacyjnej. W tym czasie przygotowałem swoją pracę doktorską pod kierunkiem prof. Zdzisława Krawczyka, pt. "Podstawowa i indukowana kwasem retinowym ekspresja symportera sodowo-jodkowego w komórkach raka piersi". Pracę tę obroniłem w roku 2006 przed Radą Naukową Centrum Onkologii — Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie. Odbyłem także staż podyplomowy i po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych podjąłem pracę jako asystent naukowo-badawczy w Klinice Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej Centrum Onkologii - Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddziału w Gliwicach, gdzie w 2005 roku rozpocząłem specjalizację w zakresie onkologii klinicznej. Tytuł specjalisty onkologa klinicznego uzyskałem w roku 2011, w kierowanej przez prof. Rafała Tarnawskiego III Klinice Radioterapii i Chemioterapii, w której pracuję do dziś na stanowisku adiunkta. W roku 2013 rozpocząłem specjalizację z radioterapii onkologicznej. Równoległe, od 2001 roku zaangażowany byłem w utworzenie i pracę jednej w pierwszych w Polsce jednostek zajmującej się zastosowaniem metod genomiki funkcjonalnej w onkologii translacyjnej (Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej, kier. dr n. med. Małgorzata Wiench, a następnie dr n. med. Małgorzata Oczko-Wojciechowska).

Od 2007 roku zaangażowany jestem w również w prowadzenie badań klinicznych - w latach 2007-2018 uczestniczyłem w 6 badaniach klinicznych fazy II-III, rozpoczynając od roli współbadacza, w latach 2009-2018 byłem głównym badaczem w akademickim badaniu prospektywnym, którego wyniki są przedmiotem monografii przedstawionej jako osiągnięcie

habilitacyjne, a od tego roku jestem także głównym badaczem w prospektywnym badaniu sponsorowanym. W tym okresie odbyłem liczne szkolenia w zakresie zasad Dobrej Praktyki Klinicznej.

W roku 2013 Dyrektor Instytutu Onkologii w Gliwicach powierzył mi zadanie organizacji Centrum Chorób Piersi w naszym Instytucie („Breast Unit”). Udało mi się zorganizować według zasad Europejskiego Towarzystwa Raka Piersi EUSOMA dobrze działający zespół konsyliarny, który do dziś zaplanował leczenie przeciwnowotworowe dla ponad 3000 chorych.

**Rozwój naukowy.** Mój rozwój naukowy odbywał się równolegle do rozwoju zawodowego. W pracy naukowej opierałem się głównie na grantach KBN, a później NCN i NCBiR. Ogółem uczestniczyłem w 22 grantach naukowych, w tym w dwóch byłem kierownikiem projektu, a w 9 grantach głównym wykonawcą, odpowiedzialnym za analizę bioinformatyczną. Obecnie jestem koordynatorem w dużym projekcie NCBiR w ramach konkursu STRATEGMED2 pt. ”Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego (MILESTONE)”, uzyskanym w 2015 roku przez Instytut Onkologii w Gliwicach jako Lidera Konsorcjum, a zaplanowanym do września 2019 r. Byłem współautorem wniosku do NCBiR dla tego projektu, jestem też w tym granicy głównym wykonawcą części dotyczącej raka piersi. Uczestniczyłem w realizacji projektów europejskich, w tym badania GENRISK-T (6 Program Ramowy, EU: FP6 36495). Uczestniczę aktywnie w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, w tym ASCO (trzykrotnie jako autor lub współautor od 2012 r.), SABCS, ESMO, ESTRO, EACR i innych.

**Analiza bibliometryczna.** Sumarycznie, mój dorobek dotyczący pełnotekstowych publikacji liczy 59 pozycji, w tym 42 publikacje w czasopismach z listy Science Citation Reports (SCR), łączny współczynnik oddziaływania wynosi Impact Factor (IF) = 109.41. Spośród publikacji oryginalnych, 35 opublikowanych zostało w czasopismach z listy SCR (łączny IF = 98,33), a 17 w innych czasopismach. W 2 opublikowanych pracach jestem pierwszym autorem, w 11 innych pracach drugim autorem publikacji, w tych pracach łączny IF 18.26. Jestem także współautorem 7 prac o charakterze poglądowym lub przedstawiających uzgodnienia wytycznych postępowania klinicznego (łączny IF = 7.09).

21 publikacji dotyczy badań w zakresie translacyjnej genomiki nowotworów (łączny IF 44,79), 12 prac badań podstawowych metodami transkryptomiki (IF 43,94), 10 prac opublikowanych w języku angielskim związanych jest z analizą klinicznej przydatności klasycznych lub molekularnych czynników predykcyjnych oraz wykorzystaniem metod z zakresu biostatystyki (łączny IF 13,43). 16 publikacji dotyczy innych zagadnień lub zostało opublikowanych po polsku (łączny IF 7,36).

20 publikacji pełnotekstowych powstało w ciągu ostatnich 5 lat (2014-2018, łączny IF 48,3). 6 prac powstało przed doktoratem (łączny IF 19,14), a po doktoracie opublikowałem 12 prac, w których jestem jednym z autorów wiodących (łączny IF 18,26).

Jestem także autorem lub współautorem 8 rozdziałów w podręcznikach lub książkach i 5 pełnotekstowych publikacji pokonferencyjnych, opublikowanych w suplementach czasopism. Spośród 142 opublikowanych streszczeń doniesień konferencyjnych, w 55 jestem

wśród autorów wiodących (1., 2., 3. lub ostatni autor), a 65 opublikowano w międzynarodowych czasopismach naukowych; 60 streszczeń jest w języku polskim.

61 publikacji jest cytowanych (Web of Science), w sumie 1018 cytowań (993 cytowania bez autocytowań). Mój indeks Hirscha  $h = 16$  (Web of Science).

**Działalność dydaktyczna.** Nadzorowałem prace magisterskie wykonywane w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej (3 magistrantów) oraz prace prowadzone w ramach Koła Studenckiego Towarzystwa Naukowego ŚUM (z moim udziałem przygotowano 5 prac, w tym 3 prace wyróżnione). Uczestniczyłem w organizacji cyklicznego seminarium "Genomika w medycynie" oraz Konferencji Naukowej poświęconej mikromacierzom DNA. Organizowałem dwukrotnie warsztaty dydaktyczne dotyczące analizy danych mikromacierzowych.

Uczestniczyłem także w organizacji warsztatów Studium Medycyny Molekularnej (SMM), w których byłem jednym z głównych koordynatorów programu naukowego, a także byłem wykładowcą w ramach innej edycji Szkoły SMM.

Jestem współautorem „Zaleceń diagnostyczno-terapeutycznych w onkologii” oraz zaleceń dotyczących terapii nowotworów neuroendokrynych. Uczestniczę jako wykładowca w konferencjach edukacyjnych, w tym „Onkologia w Praktyce Klinicznej”, „Akademia Raka Piersi”, „Nowości w leczeniu raka piersi”, a także „Akademia Młodego Onkologa” „Postępy Onkologii”, „Biologia Molekularna Nowotworów w Praktyce Klinicznej”

**Członkostwo w towarzystwach naukowych i ciałach doradczych, działalność organizacyjna.** Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Onkologicznego, Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej, Polskiego Towarzystwa Radioterapii Onkologicznej, American Association of Clinical Oncology, European Society of Medical Oncology, European Society for Radiotherapy and Oncology.

W roku 2013, 2015 i 2016 byłem członkiem Zespołu Ekspertów Narodowego Centrum Nauki. Byłem członkiem zespołu ekspertów do spraw onkologii molekularnej przy Konsultancie Krajowym ds. Onkologii Klinicznej. Byłem także członkiem Komisji Rewizyjnej Śląskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej.

**Szkolenia krajowe i zagraniczne.** W latach 2005-2012 odbyłem 8 kursów specjalizacyjnych w zakresie onkologii klinicznej, a równolegle uczestniczyłem w 3 kursach Affymetrix Gene Chip User Meeting przeznaczonych dla użytkowników technologii mikromacierzy oligonukleotydowych Affymetrix. Uczestniczyłem także w dalszych 5 kursach analizy danych mikromacierzowych. Szkolenia te były prowadzone zarówno za granicą jak i w kraju.

W październiku 2006 szkoliłem się w ośrodku radioterapii onkologicznej oraz laboratorium hematologii Thomas Jefferson University, Filadelfia, USA. Mój pobyt (prof. M. Werner-Wąsik, prof. M. Wąsik) dotyczył analizy markerów molekularnych pod kątem ich przydatności w leczeniu nowotworów płuca i w onkohematologii.

W czerwcu 2007 roku szkoliłem się w MD Anderson Cancer Center, Houston, USA, w laboratorium Dr Lajosa Pusztai'a w zakresie technik analizy genomicznych markerów predykcyj-

nych w raku piersi. Na ten pobyt uzyskałam stypendium American Society of Clinical Oncology. Uczestniczyłem także jako obserwator w pracy Dept. Breast Medical Oncology (kier. prof. G. Hortobagyi). Odebrałem także wizyty wiodących europejskich ośrodków terapii raka piersi (Breast Medical Oncology, Institut Jules Bordet, Bruksela, prof. M. Piccart, 2012 oraz Breast Unit, Champalimaud Clinical Center, Lizbona, prof. Fatima Cardoso, 2018).

### **Nagrody i wyróżnienia:**

Wyróżnienie: prezentacja pracy w sesji plenarnej, prezentacja w programie prasowym i stypendium konferencyjne za pracę: „Heterogeneity of genomic signatures in breast cancer core-biopsy”, IMPAKT Breast Cancer Conference 2013, Bruksela, 2-4 maja 2013

III nagroda za najlepszą prezentację, XVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chirurgii Onkologicznej, Warszawa 24-26 05.2012 (Czarnecka A i wsp.)

Nagroda im. Hilarego Koprowskiego za najlepszą publikację naukową (zespołowa), 2007

Nagroda - stypendium American Society of Clinical Oncology International Development and Education (IDEA), 2007 (mentor: Dr Lajos Pusztai, MD Anderson Cancer Center, Houston, TX)

Nagroda Dyrektora Centrum Onkologii za najlepszą publikację naukową (zespołowa), 2006

Nagroda Główna im. Jeremiego Święckiego podczas I Kongresu Polskiej Onkologii oraz nagroda za najlepszą prezentację plakatową w sesji "Onkologia doświadczalna", Katowice 2002,

Nagroda za najlepszą prezentację ustną – stypendium wyjazdowe na Eastern-Atlantic Students Research Forum, Miami 2000 i wyróżnienie za najlepszą prezentację plakatową w sesji „Immunologia”, przyznane podczas 10th European Students Conference, Berlin 1999

Wyróżnienie za najlepszą prezentację plakatową w sesji „Transplantation”, przyznane podczas 11th European Students Conference, Berlin 2000

**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. nr 65, poz. 595 ze zm.)

**Tytuł osiągnięcia**

**naukowego:**

**Chemioterapia przedoperacyjna raka piersi u młodych kobiet**

(monografia)

Autor:

**Michał Jarzab**

Rok wydania:

**2019**

Wydawnictwo:

**Polska Grupa ds. Nowotworów Endokrynych**

(w ramach konsorcjum projektu MILESTONE)

Recenzenci wydawniczy:

**prof. hab. n. med. Jerzy Wojnar**

(Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach)

**dr hab. n. med. Andrzej Wygoda**

(Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie,

Oddział w Gliwicach)

Przedstawionym osiągnięciem naukowym jest monografia „Chemioterapia przedoperacyjna raka piersi u młodych kobiet”. Opublikowana drukiem rozprawazawiera 235 stron, 55 rycin, 15 tabel i 242 pozycje piśmiennictwa. Monografię przygotowano w ramach projektu „Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego (MILESTONE)”, kier. projektu prof. dr hab. n. med. Rafał Tarnawski, koordynator zadania dot. raka piersi dr n. med. Michał Jarzab (Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, umowa STRATEGMED2/267398/4/ NCBR/2015). Część wyników analizowanych w pracy uzyskano wcześniej w ramach projektu „Ocena molekularnych sygnatur predykcyjnych dla przewidywania odpowiedzi na chemioterapię neoadjuwantową w raku piersi techniką badania ekspresji genów”, kier. dr n. med. Michał Jarzab (Narodowe Centrum Nauki, N N402 686140, umowa 6861/B/P01/ 2011/40). Opublikowana analiza przyjęła formę monografii, gdyż zawiera częściowe wyniki badań genomicznych, na podstawie których przygotowujący jest wniosek o ochronę patentową testu genomicznego dla chorych na raka piersi, opracowywanego w ramach projektu MILESTONE. Ponieważ publikacja danych genomicznych w czasopismach z listy JCR musi opierać się o udostępnienie źródłowych surowych danych mikromacierzowych, dokona się ona po złożeniu wniosku patentowego (przewidziane na wrzesień 2019).

Praca zawiera część przeglądową, część kliniczną oraz część genomyczną. W części badawczej, oparta jest na wynikach leczenia dużej grupy chorych, u których stosowano chemioterapię przedoperacyjną. Ze względu na profil ośrodka, prowadzącego chemioterapię przedoperacyjną raka piersi od lat 90-tych, do Instytutu Onkologii w Gliwicach zgłaszała się znaczna liczba młodych kobiet wymagających terapii. Większość z nich była leczona w latach 2010–2015 przez zespół z udziałem autora pracy. Równocześnie, chemioterapii poddawano pełne spektrum pacjentek w wieku średnim i starszym. W tym okresie zaplanowano badanie, w którym w sposób prospektywny zabezpieczano materiał guza do badań molekularnych i w

zunifikowany sposób monitorowano chemioterapię. Poddano analizie również potencjalne metody wspomaganie diagnostyki mogące wpłynąć na jej poprawę i lepsze dostosowanie terapii do chorych. Analizowano czynniki, które mogą wpływać na wynik badania histopatologicznego ze szczególnym uwzględnieniem heterogenności guza. Poddano również ocenie możliwość wykorzystania badania PET/TK i badania MR do wczesnej oceny skuteczności chemioterapii. W pracy oceniano także wykorzystanie badań molekularnych do scharakteryzowania fenotypu nowotworu, w tym wykorzystanie więcej niż jednego wycinka z biopsji gruboigłowej do badania genomycznego.

W zakresie metod, które nie są stosowane rutynowo w diagnostyce, podstawowym celem, jaki postawiono sobie w pracy, była ocena, czy ich wykorzystanie jest możliwe w codziennej praktyce klinicznej. Badania – zaplanowane prospektywnie – były wykonywane w kilkuletnim trybie rekrutacji przy zmieniającej się obsadzie personelu, niezbędnych zmianach w zakresie sprzętu i oprogramowania, a także innych trudnościach logistycznych, stąd istotnym elementem analizy było porównanie danych pochodzących z codziennej praktyki z ich reanalizą w warunkach podwyższonej standaryzacji.

**Grupę badaną** stanowiło 490 kobiet, mediana wieku w momencie rozpoczęcia terapii wynosiła 46,1 roku (zakres 20-74 lata). Najliczniejsza była podgrupa pacjentek między 40-45 rokiem życia (96 chorych, 20%), druga z kolei była populacja chorych w wieku 35-40 lat (18%). W przedziałach między 45 a 60 rokiem życia lokowała się podobna liczba chorych (po 12-13%). W wieku poniżej 35 lat było 51 pacjentek, między 60-65 rokiem życia 44 pacjentki, a chore po 65 roku życia stanowiły tylko 6% badanej grupy. W sumie, 138 chorych rozpoczęło chemioterapię do 40 roku życia (28,2%), a 352 chore po 40 r.ż. (71,8%). 59% chorych było przed menopauzą, a 41% po menopauzie lub w okresie okołomenopauzalnym.

W badanej grupie 56% rozpoznanych raka dotyczyło stopnia zróżnicowania G3, tylko 8% nowotworów charakteryzowało się wysokim zróżnicowaniem G1. 19% chorych wykazywało Ki67 poniżej 20%. Najczęściej reprezentowane w badanej grupie były podtypy raka: luminalny B HER2-ujemny (34%) oraz potrójnie ujemny (TNBC, 20%).

U chorych wykorzystywano w okresie objętym badaniem różne schematy chemioterapii. Sumarycznie, 43% badanej grupy chorych leczonych było wg schematu TAC, 30% chorych chemioterapią sekwencyjną antracykliny-taksany, a pozostałe 27% chorych leczono chemioterapią opartą głównie o antracykliny lub z wykorzystaniem schematu AT. W monitorowaniu chemioterapii wykorzystano badanie PET/TK i badanie MR piersi.

Jako główny punkt końcowy w badaniu wykorzystano osiągnięcie całkowitej regresji guza w ocenie histopatologicznej preparatu operacyjnego. W badanej grupie, dzięki chemioterapii przedoperacyjnej uzyskano możliwość leczenia operacyjnego i pełnej oceny odpowiedzi na chemioterapię u 427 z 490 chorych, które rozpoczęły to leczenie (87,1%). Spośród tych chorych, 103 pacjentki (24,1%) miały całkowitą regresję nowotworu (ypT0/is ypN0).

**W omówieniu wyników** skupiono się na tych cechach, dla których wykazano istotne zależności. Wiek w momencie rozpoczęcia leczenia był powiązany z prawdopodobieństwem uzyskania całkowitej odpowiedzi w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym (pCR), szansa pCR malała o 3% na każdy rok różnicy w wieku zachorowania ( $p=0,007$ ). Trend ten był znacząco słabszy do 40 r.ż., a powyżej tej granicy bardziej wyraźny (w tej podgrupie spadek szansy pCR o 4% na każdy rok różnicy wieku,  $p=0,02$ ). Chorzy, u których doszło do pCR,



byli znacząco młodsi niż pacjenci bez pCR (mediana wieku zachorowania 43,4 roku vs 46,5 lat,  $p=0,002$ ). Odsetek pCR u chorych do 40 r.ż. wynosił 30,1%, a po 40 r.ż. 21,7% ( $p=0,067$ ).

Wiek w badanej grupie wpływał na wiele czynników związanych z wyjściową prezentacją nowotworu i jego leczeniem. Chore do 40 r.ż. miały częściej nowotwory o wyższej frakcji proliferacyjnej (mediana Ki67 40%) niż chore po 40 r.ż. (mediana 30%,  $p=0,009$ ), mimo iż nie obserwowano istotnych różnic w stopniu zróżnicowania guza powiązanych z wiekiem. Rozkład podtypów biologicznych raka różnił się między grupami wiekowymi ( $p=0,04$ ). U chorych młodych częściej występowały nowotwory potrójnie ujemne (mediana wieku chorych z TNBC 43 lata), znacząco później występowały nieluminalne nowotwory HER2-dodatnie (51,9 lat,  $p=0,032$ ). W HER2-dodatnich nowotworach o fenotypie luminalnym obserwowano pośredni wiek rozpoczęcia terapii (44,8 lat). Dostrzeżono także zmniejszanie wraz z wiekiem zachorowania prawdopodobieństwa, że HER2-dodatni nowotwór będzie luminalny. Wśród chorych najmłodszych (<35 r.ż.) rzadko występowały nowotwory luminalne A, a częstość nowotworów luminalnych B HER2-ujemnych, najczęstszych w badanej grupie, nie wykazywała tak wyraźnego związku z wiekiem zachorowania.

W badanej grupie pacjentek poddanych chemioterapii przedoperacyjnej, wśród chorych młodych (<40 r.ż.) częstsza była choroba nisko zaawansowana, w sumie chore w I i II stopniu zaawansowania klinicznego stanowiły 60,8% tej grupy. U chorych starszych częściej rozpoznawano zaawansowaną postać nowotworu (IIIB/C lub niemasywną postać stopnia IV) – zaawansowanie to stwierdzono u 31,8% chorych w wieku 60-65 lat, w porównaniu do 17,6% w grupie chorych poniżej 35 r.ż. Na opisane wyniki niewątpliwie wpływ miał tryb kwalifikacji do leczenia i selekcja chorych. Chore w młodszym wieku częściej poddawano bardziej intensywnej chemioterapii (w grupie do 40 r.ż. schemat TAC wykorzystano u 58,7% chorych, w grupie powyżej 40 r.ż. tylko u 37,3%), u chorych starszych częściej w pierwszych latach badania stosowano chemioterapię II generacji. W obu grupach wiekowych podobna była częstość wykorzystania sekwencyjnej chemioterapii z wykorzystaniem antracyklin i taksanów, która stanowiła dominujący schemat terapii w końcowej fazie badania.

Część czynników klinicznych, które nie były ewidentnie powiązane z wiekiem chorych wpływała na szanse pCR. Do czynników takich należał stopień zróżnicowania guza, niskie zróżnicowanie G3 wiązało się z istotnie wyższym odsetkiem pCR (33%). Biorąc pod uwagę, że obserwowano zależność parametrów proliferacji od wieku, a czynnika tego nie obserwowano dla stopnia zróżnicowania (mimo powiązaniego czynnika z odpowiedzią), dokonano re-analizy rozpoznań histopatologicznych pod kątem oceny podtypu histologicznego oraz oceny stopnia zróżnicowania. W przeanalizowanej podgrupie 75 chorych część z rozpoznań G2 okazała się być zaniżona (28,2% tych rozpoznań zakwalifikowano przy re-analizie do stopnia G3).

Inne badane czynniki, oceniane pod kątem ich wpływu na szanse uzyskania pCR, wykazywały we wcześniejszych analizach związek z wiekiem chorych. U chorych z Ki67>20% odsetek pCR był wysoki, wynosił 30,2%. Wśród chorych z ujemną lub niską ekspresją receptora estrogenowego także obserwowano duży odsetek pCR, odpowiednio 36,5% oraz 41%. Ujemny receptor progesteronowy także wiązał się z wyższym odsetkiem pCR (38,6%), choć ekspresja tego białka oceniona jako niska już nie była tak silnie powiązana z odpowiedzią. Podtyp potrójnie ujemny nowotworu wiązał się z częstym występowaniem pCR (40,9%), podczas gdy w podtypie luminalnym A odsetek ten był bardzo niski (6,2%). Większa średnica guza

zmniejszała szanse na uzyskanie całkowitej odpowiedzi, w stopniu I-IIA odsetek całkowitych odpowiedzi wynosił 31,8%, podczas gdy w stopniu zaawansowania IIIA odsetek ten wynosił tylko 15,5%. Wszystkie powyżej omówione różnice są istotne statystycznie w stosunku do pozostałych podgrup chorych ( $p < 0,05$ ).

Niektóre istotne czynniki kliniczne nie były aż tak silnie powiązane z odsetkiem całkowitych odpowiedzi. Między podtypem luminalnym B HER2-ujemnym (pCR u 19,3% chorych), luminalnym B HER2-dodatnim (27%) oraz podtypem HER2-dodatnim nieluminalnym (pCR u 35,6% chorych) obserwowane różnice nie były statystycznie istotne. Grupa chorych w stopniu zaawansowania IIIB/C i IV wykazywała odsetek odpowiedzi 22,5%, nie różniący się istotnie od średniej w całej grupie i wyższy niż w stopniu IIIA. Na obserwowane wyniki może mieć wpływ fakt, że w okresie objętym badaniem większość chorych na HER2-dodatnie nowotwory, najczęstsze w wysokich stopniach zaawansowania, leczona była przedoperacyjnie (a część także pooperacyjnie) bez wykorzystania leków anty-HER2, nierfundowanych w Polsce w tym okresie.

U chorych monitorowano odpowiedź metaboliczną na terapię za pomocą badania PET/TK po 1 cyklu terapii. U chorych z pCR mediana regresji standaryzowanego współczynnika wychwytu SUVmax wynosiła 50%, u chorych bez pCR 21% ( $p < 0,0001$ ). Po około 6 tygodniach leczenia wykonywano badanie MR piersi dla wczesnej oceny odpowiedzi morfologicznej guza. U chorych z pCR mediana regresji największego wymiaru guza wynosiła około 41,4%, podczas gdy w grupie bez pCR 23,7% ( $p < 0,0001$ ). Kiedy oceniono przydatność diagnostyczną tych dwóch parametrów za pomocą krzywej charakterystyki operacyjnej odbiornika ROC, pole pod krzywą AUC dla oceny w badaniu PET/TK wynosiło 0,70, a dla oceny w badaniu MR 0,73 (interpretując te dane należy uwzględnić, że badania nie są wykonywane w tym samym punkcie czasowym, badanie MR oceniało odpowiedź w późniejszym punkcie czasowym). Dokonano także re-analzy oceny regresji metabolicznej w badaniu PET/TK. W badanej podgrupie 94 chorych obserwowano umiarkowaną korelację stopnia regresji SUVmax ocenianego na podstawie badań rutynowych i standaryzowanych ( $R=0,6$ ), wskazującą na konieczność opracowania lepszych metod oceny odpowiedzi dla praktyki klinicznej.

Ponieważ oceniane czynniki histopatologiczne, kliniczne i obrazowe były od siebie zależne, a także częściowo powiązane z wiekiem chorych, dla oceny niezależności wieku od tych parametrów oraz możliwości przewidywania pCR na ich podstawie podjęto próbę konstrukcji modelu wieloczynnikowego. Ze wszystkich czynników ocenianych pojedynczo metodą krokowej regresji logistycznej wyselekcjonowano cztery istotne zmienne, dostępne jeszcze przed rozpoczęciem chemioterapii i w sposób niezależny powiązane z szansą pCR. Najsilniejszym z nich był Ki67, zwiększający szanse pCR o 2,8% na każdą jednostkę zmiany odsetka Ki67 w guzie. Trzy kolejne czynniki, wyraźnie mniej istotne niż Ki67, były porównywalnie silnie powiązane z szansą pCR (FDR – odsetek wyników fałszywie dodatnich dla tych cech wynosił około 5%). Były to: wiek chorych, zmniejszający ryzyko pCR o około 3% na każdy rok różnicy, fenotyp guza oraz stan receptora estrogenowego. W zakresie fenotypu istotnie większą szansę pCR obserwowano dla nowotworów HER2-dodatnich; podobnie szanse zwiększała niska ekspresja receptora estrogenowego. Rozpoznanie raka potrójnie ujemnego nie było istotne w analizie wieloczynnikowej, prawdopodobnie większość znaczenia tego czynnika ujawniła się w obrębie cechy Ki67 (wszystkie badane TNBC wykazywały Ki67 powyżej 20%). Model oparty o cztery czynniki kliniczne wykazywał zdolność przewidywania pCR wyższą niż pojedynczo oceniana regresja w PET/TK i MR (AUC dla modelu 0,79). Kiedy do

modelu dodano regresję ocenianą w obu badaniach, jedynie Ki67, fenotyp guza i receptor estrogenowy pozostały istotne w ich kontekście; wiek nie był w takim modelu niezależnym czynnikiem przewidującym pCR. Pole pod krzywą ROC w modelu 6-czynnikowym było wysokie (AUC = 0,84), wskazując na dużą przydatność takiego skojarzenia badań dla przewidywania odpowiedzi.

**Wykonano także badania genomiczne** (analizę transkryptomu metodą mikromacierzy oligonukleotydowych). Dokonano porównania ekspresji kluczowych markerów definiujących fenotyp raka piersi, to jest ER, PR i HER2 pomiędzy wynikami badań immunohistochemicznych a pomiarem transkryptów tych genów metodą mikromacierzy oligonukleotydowych wysokiej gęstości. Doskonałą zgodność obserwowano dla białka HER2 oraz dla ekspresji receptora estrogenowego i progesteronowego ocenionych jako wysokie oraz ujemne. Dla oceny ER i PR w badaniu immunohistochemicznym wskazującej na niską rozległość/intensywność barwienia, zgodność z ekspresją transkryptów ESR1 i PGR była słaba, zwłaszcza dla tego drugiego białka.

W przeciwieństwie do tych trzech markerów, parametry proliferacji (indeks mitotyczny i ocena Ki67 drogą immunohistochemii) wykazywała bardzo słabą zgodność z ekspresją genu *MKI67*, a także dwóch innych genów proliferacji: *CDK1* i *AURKA*.

Ponieważ w ekspresji pojedynczych transkryptów obserwowano spore rozbieżności pomiędzy oceną w badaniach immunohistochemicznych i morfologicznych a badaniem na poziomie transkrypcji genów, dokonano analizy zgodności dla klasyfikatorów wielogenowych. Wielogenowe sygnatury redukują możliwy szum w pomiarze ekspresji pojedynczych transkryptów i mogą rzetelniej oddawać istniejące cechy biologiczne.

Do analizy wybrano najbardziej biologicznie uwarunkowany klasyfikator genomiczny, to jest sygnaturę molekularnego podtypu raka PAM50 (ang. Prediction Analysis of Microarrays), definiując cztery podtypy molekularne: Basal, Her2, LumA i LumB. W ocenianym zbiorze 66 próbek od chorych poddanych chemioterapii najczęściej występował podtyp Basal (87% badanych raków potrójnie ujemnych); próbki o fenotypie bazalnym występowały także w innych podtypach (stanowiły 20-25% raków HER2-dodatnich i 26,7% raków luminalnych B). Nowotworów o bazalnym podtypie raka nie stwierdzano wśród raków luminalnych A/X.

Drugim co do częstości rozpoznawanym podtypem genomicznym był podtyp LumB. Grupa ta stanowiła 60% wyodrębnianej klinicznie populacji raków luminalnych B HER2-ujemnych. Podtyp LumB obserwowano także wśród raków luminalnych HER2-dodatnich (30% tej grupy).

Genomiczny podtyp LumA rozpoznawano wśród wszystkich populacji klinicznych poza rakami potrójnie ujemnymi, stanowił 25% HER2-dodatnich raków neluminalnych, 10% raków luminalnych B HER2-dodatnich oraz 13,3% nowotworów luminalnych B HER2-ujemnych.

Najrzadziej badanie genomiczne wskazywało genomiczny podtyp raka jako Her2. Podtyp ten stanowił połowę raków rozpoznanych klinicznie jako HER2-dodatnie neluminalne, oraz tylko 40% nowotworów luminalnych B HER2-ujemnych. Ta ostatnia populacja – jako jedyna – w mniej niż połowie próbek wykazywała zgodność między klasyfikacją kliniczną i genomiczną. Tylko dla jednej próbki (raka potrójnie ujemnego) klasyfikator genomiczny wskazywał na najrzadszy podtyp, Normal-like.

Dokonano także oceny, jak molekularny podtyp raka oceniany w badaniu genomycznym wiąże się z szansą na uzyskanie całkowitej regresji w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym. pCR obserwowano w 40% raków Basal i 38,5% LumB, oraz w 25% raków HER2-dodatnich. Wśród raków podtypu LumA nie obserwowano pCR.

W poszukiwaniu możliwych przyczyn rozbieżności między histopatologiczną a genomyczną oceną parametrów związanych z pCR, zwłaszcza opisujących proliferację, poddano analizie genomicznej 3 wycinki z każdego ogniska nowotworu. Badanie wykonano w grupie 60 chorych spośród analizowanych powyżej, w sumie analizie poddano 180 badań mikromacierzowych (dla 6 chorych nie udało się uzyskać wystarczającej jakości danych mikromacierzowych). Oszacowania zmienności dokonano na danych mikromacierzowych poddanych tzw. ocenie nienadzorowanej, metodą analizy głównych składowych (ang. Principal Component Analysis, PCA). Analiza tych danych wskazała, że dla większości chorych profil dla pobranych wycinków – choć heterogeny – jest zbieżny, a znacznie większa jest heterogenność między chorymi niż rozbieżność między trzema wycinkami z tego samego guza. W większości sytuacji w których obserwowano heterogenność, jeden z punktów pomiaru był oddalony znacznie wyraźniej od dwóch pozostałych. W żadnej z sytuacji nie obserwowano bardzo dużych rozbieżności.

Ponieważ zmienność w badanych próbkach, oceniana w analizie głównych składowych, może nie mieć znaczenia dla podejmowania decyzji klinicznych, dokonano próby oceny wybranych sygnatur genomicznych o znaczeniu prognostycznym lub predykcyjnym. Analizowano sygnatury PAM50, SSP2006, AIMS, SCMOD1, SCMOD2, Genius, intClust, wg implementacji ich badawczej wersji w pakiecie *genefu* (R/Bioconductor). Wykorzystując przewidywanie podtypu genomicznego na podstawie badanych 7 sygnatur, podzielono analizowaneraki na cztery grupy: 1) takie, w których między badanymi trzema wycinkami nie obserwowano rozbieżności dla żadnej z sygnatur, 2) takie w których rozbieżności między sygnaturami obserwowano w jednym z trzech wycinków, 3) takie, gdzie rozbieżności były w 2 wycinkach oraz 4) z rozbieżnościami we wszystkich trzech badanych próbkach. Grupa chorych bez żadnych rozbieżności (identyczna predykcję podtypu we wszystkich trzech wycinkach i niezależnie od wykorzystanej sygnatury) była liczna (24 pacjentów z ogólnej grupy 60 chorych, to jest 40%). Wśród nowotworów z 1 lub 2 rozbieżnościami w zakresie predykcji (27% badanych próbek) obserwowano głównie małe i nieistotne odstępstwa, zwykle dotyczące tylko 1 lub 2 badanych sygnatur genomicznych.

Głębokie i trudne w interpretacji rozbieżności między trzema badanymi wycinkami obserwowano w aż 33% wykonanych badań (20 pacjentów z grupy 60 poddanych analizie). Dotyczyły one głównie nowotworów luminalnych i HER2-dodatnich. W podsumowaniu tej części pracy, w przeprowadzonych badaniach genomicznych obserwowano rozbieżności między genomyczną a histopatologiczno-kliniczną predykcją fenotypu raka, jednak dla dużej części chorych nie były one powiązane z heterogennością utkania guza. Tego typu różnice, znacząco wpływające na wynik oceny genomicznej, dostrzeżonou 1/3 chorych.

Jako ostatni etap analizy, dokonano oceny przeżycia bez nawrotu lub progresji u chorych w zależności od uzyskania pCR. W badanej grupie chorych progresję choroby stwierdzono u ogromnej większości chorych, nie poddanych leczeniu operacyjnemu (62/63 chorych, 98,4%) oraz u 94 chorych z grupy 400 chorych operowanych i utrzymanych w obserwacji (23,5%). Z obserwacji utracono 4 chorych (8,2%). W całej grupie średni szacowany czas do nawrotu wy-

nosił 68,7 miesiąca, po 5 latach obserwacji 64,9% chorych pozostawało bez nawrotu/progresji. Mediana czasu obserwacji u 307 chorych pozostających bez nawrotu wynosiła 52,2 mieś. (rozstęp międzykwartylowy 37,5-77,1 mieś., zakres 6-112 mieś.)

W grupie chorych, u których w badaniu pooperacyjnym stwierdzono pCR 5-letnie przeżycie bez nawrotu lub progresji wynosiło 87,1%, podczas kiedy w grupie chorych, u których odpowiedzi nie stwierdzono, 5-letnie przeżycie dotyczyło 69,8% chorych. Różnica między badanymi grupami była istotna statystycznie ( $p=0,01$ , log-rank).

Analizie poddano wpływ fenotypu guza i jego stopnia zaawansowania na przeżycie wolne od nawrotu/progresji. Różnice związane z oboma cechami były silnie istotne (test log-rank,  $p<0,0001$ ). Medianę przeżycia osiągnięto dla dwóch podtypów – HER2-dodatniego (po 54,7 miesiąca) oraz luminalnego B HER2-ujemnego (po 92,9 miesiąca). W podtypie potrójnie ujemnym większość zdarzeń wystąpiła w ciągu pierwszych 36 miesięcy, a od 51 miesiąca odsetek chorych bez nawrotu wynosi 71%.

Porównanie rokowania w zależności od wyjściowego stopnia zaawansowania wskazało, że po obserwacji 5-letniej pomiędzy stopniem I-IIA, stopniem IIB oraz stopniem IIIA różnice sięgają około 10 punktów procentowych (87,8% vs 78% vs 69,7%,  $p<0,0001$ , test log-rank). Rokowanie dla łączonego stopnia IIIB-C oraz chorych w stopniu IV było wyraźnie gorsze, po 5 latach bez progresji pozostawało 31,5% badanych.

Dokonano łączonej analizy podtypu biologicznego guza oraz uzyskania pCR. Ponieważ chory z całkowitą odpowiedzią wykazywali mniejsze różnice w rokowaniu, związane z podtypem, a grupa ta jest względnie niewielka, analizowano ją łącznie; wyłączono chorych z podtypem luminalnym A, wśród których pCR zdarzał się b. rzadko. U wszystkich analizowanych chorych z pCR odsetek przeżycia po 5 latach bez nawrotu/progresji wynosił 87,5%. Wśród chorych na nowotwory luminalne B HER2-ujemne oraz potrójnie ujemne, u których nie stwierdzono pCR, PFS po 5 latach obserwacji wynosił odpowiednio 63,6% i 59,3%, jednak w grupie TNBC do nawrotów odchodziło znacznie szybciej. W dwóch grupach nawrót stwierdzono u ponad połowy chorych. Pierwszą były HER2-dodatnie raki piersi bez pCR, medianę zdarzeń osiągnięto w tej grupie po 43 miesiącach, a po 5 latach bez nawrotu pozostawało 37,4%. Drugą grupą były HER2-ujemne nowotwory luminalne B, u których — jeśli nie osiągnięto wyjściowo pCR — zdarzenia u połowy chorych występowały po 92,9 miesiącach.

**W podsumowaniu**, w niniejszej pracy wykazano, iż wiek jest niezależnym czynnikiem wpływającym na szanse uzyskania całkowitej regresji guza, ocenianej w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym. Szansa na pCR jest najwyższa u chorych młodszych, częściowo w związku z nadreprezentacją w tej grupie podtypów o większej proliferacji i chemiowrażliwości. Wykazano, że przewidywanie odpowiedzi na chemioterapię na podstawie parametrów uzyskanych metodą klasycznej oceny biopsji gruboigłowej jest możliwe, choć wyniki te obarczone są istotnym błędem oceny, dotyczy to zwłaszcza parametrów związanych z proliferacją guza. Udokumentowano, że genomyczna ocena proliferacji na podstawie badania w trzech niezależnych wycinkach z guza jest możliwa i daje wyniki powtarzalne; zastosowanie takiego badania w praktyce wymaga szerszej walidacji.

Udowodniono również dużą przydatność praktyczną wczesnej oceny odpowiedzi na leczenie w zaawansowanych badaniach obrazowych – PET/TK i MR piersi. Badania te dodają informację do istniejących i uznanych cech klinicznych. W kontekście przewidywania odpowiedzi

w badaniach obrazowych (już w trakcie trwania chemioterapii) nie obserwowano niezależnego od pozostałych rozpatrywanych cech wpływu wieku na wyniki chemioterapii.

**Szereg wyników uzyskanych w pracy ma charakter w pełni oryginalny.** Po pierwsze, choć wiele analiz jednoośrodkowych i populacyjnych wiąże wiek chorych z rokowaniem, to doniesień, w których w szerszej grupie wiązano by go z odsetkiem odpowiedzi na chemioterapię jest niewiele. Po drugie, znaczna część tych analiz pochodzi albo z lat dawnych i dotyczy chemioterapii wcześniejszej generacji, albo z badań klinicznych, w których brak pełnej reprezentatywności, zwłaszcza wśród chorych o większym zaawansowaniu wyjściowym. Po trzecie, jest to pierwsze badanie, w którym metodę PET/TK u chorych przed 40 rokiem życia wykorzystano szerzej nie tylko do wyjściowej oceny zaawansowania, ale także oceny odpowiedzi na leczenie, włączając także chore o większym zaawansowaniu (miejscowo zaawansowany rak piersi lub choroba skąpoprzerezutowa). Jest to również jedno z nielicznych badań w piśmiennictwie, w którym porównuje się dwie zaawansowane modalności dla oceny odpowiedzi na chemioterapię (PET/TK i MR piersi), jedyne, które odnosi tę analizę do większej populacji młodych kobiet. Jest to także jedna z nielicznych analiz, w których wykazano, że wiek chorych jest czynnikiem niezależnie wpływającym na częstość pCR oraz jedyna, w której ten aspekt analizowany jest w kontekście odpowiedzi na leczenie w zaawansowanych badaniach obrazowych. Wysoce oryginalny charakter ma też ocena fenotypu raka ocenianego w biopsji na podstawie kilku wycinków guza. Choć w piśmiennictwie analizowano zgodność wycinków pobieranych przy biopsji z badaniem pooperacyjnym, to prób optymalizacji klasyfikatorów molekularnych z biopsji jest niewiele. Żadna nie było przeprowadzono w grupie liczącej prawie 200 badań genomicznych, w żadnej także nie podjęto szerszego porównania różnych klasyfikatorów zbudowanych na podstawie uzyskanych danych.

Istotnym dla populacji polskiej doniesieniem oryginalnym jest także niezwykle niekorzystne rokowanie u HER2-dodatnich chorych, leczonych z ograniczonym wykorzystaniem leków anty-HER2. Choć w wielu badaniach światowych rokowanie tej grupy chorych znacząco poprawia się, podgrupa leczona w Polsce 2009-2016, jeszcze przed rozszerzeniem kryteriów programu terapeutycznego raka piersi, wykazuje znacząco gorsze rokowanie niż wszystkie inne badane populacje, włączając nowotwory potrójnie ujemne. Jest to istotny argument, mogący wyjaśniać część trendów rokowania raka piersi, obserwowanych w naszym kraju, w porównaniu do innych populacji.

W ramach projektu MILESTONE, finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, opracowywany jest na podstawie uzyskanych danych klasyfikator podtypu molekularnego raka piersi, który będzie dopasowany do skąpego materiału, pobieranego drogą biopsji gruboigłowej przed chemioterapią. Podstawowym celem narzędzia jest lepszy dobór metody terapii przedoperacyjnej dla chorych, co może w perspektywie dać poprawę jej wyników.

## **Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych:**

Moja dotychczasowa praca naukowa koncentrowała się w zakresie wprowadzania i wykorzystania nowych metod onkologii translacyjnej oraz wykorzystaniu technik biostatystyki do poszukiwania nowych markerów przydatnych w planowaniu leczenia onkologicznego.

### **1. Badania podstawowe w zakresie transkryptomiki nowotworów**

W roku 2001 (kiedy skończyłem studia) Instytut Onkologii w Gliwicach, jako lider konsorcjum skupiającego Śląską Akademię Medyczną (obecnie Śląski Uniwersytet Medyczny), Politechnikę Śląską oraz Uniwersytet Śląski wygrał konkurs na grant zamawiany ogłoszony przez Komitet Badań Naukowych i uruchomił pierwszą w Polsce Pracownię Mikromacierzy DNA, później przekształconą w Pracownię Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej („Zastosowanie metod nowoczesnej genomiki funkcjonalnej do rozwiązania istotnych problemów z zakresu biotechnologii i medycyny”, PBZ-KBN-040/P04/2001). Ta nowoczesna technika badań wysokoprzepustowych stanowiła dla całego zespołu ogromne wyzwanie, zarówno w sensie warsztatowym (wykonanie badań mikromacierzowych wymagało izolacji RNA o wysokiej jakości, z materiału tkankowego pobranego śródoperacyjnie, który wymagał dobrego scharakteryzowania histopatologicznego), jak i w sensie bioinformatycznym. Tworzące się podwaliny badań wielkoskalowych wymagały nowych narzędzi, ich opracowania podjął się zespół prof. Andrzeja Świerniaka z Politechniki Śląskiej. Miałem możliwość stałej interakcji z członkami tego zespołu: prof. A. Świerniakiem, prof. K. Fujarewiczem, prof. J. Polańską, dr K. Simkiem i poznania podstaw wiedzy potrzebnej do interpretowania wyników badań genomicznych. Z czasem w ramach licznych szkoleń, w tym zagranicznych, poszerzałem wiedzę w zakresie biostatystyki, genomiki i bioinformatyki i (we współpracy z zespołem Politechniki Śląskiej) byłem zaangażowany w wiele projektów dotyczących analizy tych danych.

Jako pierwszy nowotwór, w którym prowadzono badania mikromacierzowe, wybrano brodawkowatego raka tarczycy. Było to związane nie tylko z zaangażowaniem w te analizy zespołu leczącego nowotwory endokrynne z Zakładu Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej (kier. prof. Barbara Jarzab, badania genomiczne nadzorowały dr n. med. Małgorzata Wiench, a następnie dr n. med. Małgorzata Oczko-Wojciechowska), ale również z faktem, że w stosunku do raka piersi, raka płuca czy nowotworów jelita grubego na tym etapie nowotwór ten zyskiwał znacznie mniejszą uwagę w kontekście nowych mechanizmów molekularnych. Stąd, pierwsza szersza analiza w tym zakresie, przygotowana w latach 2003-2004 i opublikowana w 2005 roku w *Cancer Research* spotkała się z szerokim zainteresowaniem (cytowana ponad 250 razy). Publikacja ta dotyczyła porównania transkryptomu raka brodawkowatego w stosunku do tarczycy niezmięnionej nowotworowo, głównie pod kątem identyfikowania źródeł zmienności transkryptomu. Było to jedno z pierwszych doniesień, w których zwracano uwagę na rolę sygnału pochodzącego z nacieku limfocytarnego w guzie i identyfikowano jego cechy transkryptomowe; choć zespół autorski na ówczesnym etapie nie

był jeszcze w pełni świadomy znaczenia tego znaleziska. W publikacji tej odpowiedzialny byłem za przełożenie wyników analiz biostatystycznych na format zrozumiały dla czytelników bez podłoża ścisłego, w tym graficzne opracowanie wyników oraz brałem udział w przygotowaniu biologicznej interpretacji danych. Od tego czasu starałem się również rozwijać umiejętność transponowania wyników analiz bioinformatycznych na język zrozumiały dla szerszego grona biologów i lekarzy; kompetencje te rozwijałem w dalszej współpracy w badaniach mikromacierzowych z wieloma zespołami w Polsce.

W zakresie raka tarczycy, wykonując badania materiału nowotworowego pobieranego od ludzi, nasz zespół szybko zrozumiał, że bez dobrych modeli zwierzęcych niemożliwe jest uzyskanie szerszego wglądu we wczesne fazy inicjacji choroby nowotworowej. Stąd, badania nad transkryptomem raka brodawkowego tarczycy kontynuowano w oparciu o materiał pobierany z myszy transgenicznych rozwijających raka brodawkowego na tle mutacji *BRAF V600E*. Mysz ta została uzyskana przez dr n. med. Dagmarę Rusinek we współpracy z zespołem prof. Wiesławy Widłak z Zakładu Biologii Nowotworów naszego Instytutu; dr Rusinek koordynowała także dalsze prace genomiczne. W projekt ten byłem intensywnie zaangażowany od etapu zarysowania jego koncepcji do uzyskania finansowania z Narodowego Centrum Nauki, choć przygotowując to badanie, nie byliśmy jeszcze w pełni świadomi znaczenia, jakiego nabierze mutacja *BRAF V600E* w związku z rozwojem metod terapii celowanych w innych nowotworach. Uzyskany przez nasz zespół pod kierunkiem dr D. Rusinek obraz różnic między *BRAF V600E*-zmutowanymi i pozostałymi rakami brodawkowatymi interpretowaliśmy w kontekście nowo pojawiających się danych The Cancer Genome Atlas.

Równocześnie, w ramach dużego międzynarodowego konsorcjum uczestniczyliśmy w scharakteryzowaniu transkryptomu raka brodawkowego tarczycy indukowanego promieniowaniem. Próbkami raka pochodziły z repozytorium Chernobyl Tissue Bank, koordynowanego przez prof. Geraldine Thomas z Imperial College w Londynie. Badania mikromacierzowe wykonywane były w dwóch ośrodkach – w COI w Gliwicach oraz w Université Libre w Brukseli (prof. J. Dumont, prof. C. Maenhaut). Równoległe wykonanie tych samych badań w dwóch laboratoriach dało nam unikalną możliwość pracy nad standaryzacją metod analitycznych i wprowadziło znacznie szersze zrozumienie czynników biologicznych i technicznych wpływających na wynik analizy transkryptomu, zgodnie z pojawiającymi się od 2005 roku wysiłkami dla standaryzacji badań genomicznych (konsorcjum MicroArrayQuality Control, MAQC, później przemianowano na „Massive Analysis and QC Society”). W ramach tego projektu powstała m.in. publikacja w Eur J Nucl Med. Mol Imaging, dotycząca indukowanego promieniowaniem różnic w transkryptomie raków brodawkowatych. Ponieważ skala tych różnic była niewielka, tym większe znaczenie miała standaryzacja techniki badań mikromacierzowych. W wykonanie analiz bioinformatycznych w tym zakresie byłem zaangażowany wraz z bioinformatykami Pracowni Genomiki Funkcjonalnej Instytutu Onkologii, dr n. med. inż. Michałem Świerniakiem oraz dr n. tech. inż. Aleksandrą Pfeifer.

Ponieważ od 2005 roku, równoległe z rozwojem kompetencji w zakresie genomiki, bioinformatyki i biostatystyki rozwijałem swoje umiejętności kliniczne w zakresie onkologii, a zwłaszcza leczenia systemowego, z tym większym zainteresowaniem przyjąłem propozycję prof. J. Styczyńskiego (Katedra Pediatrii, Hematologii i Onkologii Collegium Medicum Uni-



wersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy) uczestnictwa w projekcie dotyczącym analizy transkryptomu nowotworowych limfoblastów od dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną, pod kątem ich wrażliwości na cytostatyki. Projekt oprócz znaczenia translacyjnego miał także istotne podłoże w zakresie nauk podstawowych, a ocena chemiowrażliwości na cytostatyki dokonywana była *in vitro*, dając unikalny wzorzec chemiowrażliwości dla każdego chorego, który korelowano z transkrypcją genów. Badania materiału pobranego w Bydgoszczy (opracowanego przez głównego autora, dr J. Szczepanek) wykonane zostały w naszym laboratorium w Gliwicach (dr M. Oczko-Wojciechowska, mgr M. Kowalska), a ja odpowiedzialny byłem za bioinformatyczną analizę danych. Wykonując te analizy, korzystałem z doświadczeń wcześniej zdobytych we współpracy z zespołem dr hab. Magdaleny Chechlińskiej i dr hab. J.K. Siwickiego z Zakładu Immunologii COI w Warszawie — byłem zaangażowany w analizę danych pochodzących z doświadczeń nad profilem ekspresji w ludzkich limfoblastach T po pozbawieniu ich stymulacji IL-2 (*BMC Genomics*, 2009). W równoległym projekcie prowadzonym przez prof. Jolantę Jurę (Zakład Biochemii Ogólnej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego) identyfikowaliśmy wpływ IL-1 i IL-6 na ekspresję genów w makrofagach pozyskiwanych w monocytach od dawców (*Biochemica et Biophysica Acta – Gene Regulatory Mechanisms* 2008), analiza bioinformatycznamikromacierzy przygotowanych w Gliwicach prowadzona była wspólnie z zespołem prof. R. Przewłockiego (Instytut Farmakologii PAN w Krakowie, dr M. Korostyński, dr M. Piechota).

W ramach mojego macierzystego Zakładu, to jest Zakładu Biologii Nowotworów, przemianowanego po połączeniu na Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów (kier. prof. dr hab. n. med. Piotr Widlak) byłem zaangażowany w prowadzone w grupie najpierw prof. Z. Krawczyka, a potem prof. K. Lisowskiej badania dotyczące podstawowych mechanizmów regulacji fenotypu komórki nowotworowej. Z sukcesem udało nam się zastosować badania transkryptomyczne do oceny mechanizmów indukowanych hipoksją w komórkach czerniaka, w tym pod kątem różnic między przewlekłą hipoksją a zjawiskiem cyklicznej hipoksji-reoksygenacji (cykl publikacji przygotowanych przez pierwszego autora, dr n. med. Magdalenę Olbryt). Owocem badań nad wpływem różnych mechanizmów związanych z ekspresją genów stresu komórkowego na transkryptom było spostrzeżenie, że ten sam mechanizm może być związany z aspektami technicznymi wykorzystania liposomalnych nośników do transfekcji DNA do komórek; owocem tych badań była publikacja w *BMC Mol. Biology* (Anna Fiszer-Kierzkowska i wsp., 2011).

#### **Przeddoktoratem:**

1. Jarzab B, Wiench M, Fujarewicz K, Simek K, **Jarzab M**, Oczko-Wojciechowska M, Wloch J, Czarniecka A, Chmielik E, Lange D, Pawlaczek A, Szpak S, Gubala E, Swierniak A. Gene expression profile of papillary thyroid cancer: sources of variability and diagnostic implications. *Cancer Res.* 2005 Feb 15;65(4):1587-97. **IF=7,616 MNiSW=24**
2. Olbryt M, **Jarzab M**, Jazowiecka-Rakus J, Simek K, Szala S, Sochanik A. Gene expression profile of B 16(F10) murine melanoma cells exposed to hypoxic conditions in vitro. *Gene Expr.* 2006;13(3):191-203. **IF=1,156 MNiSW=20**
3. Vydra N, Malusecka E, **Jarzab M**, Lisowska K, Glowala-Kosinska M, Benedyk K, Widlak P, Krawczyk Z, Widlak W. Spermatoocyte-specific expression of constitutively active heat shock factor 1 induces HSP70i-resistant apoptosis in male germ cells. *Cell Death Differ.* 2006 Feb;13(2):212-22. **IF=7,463 MNiSW=24**

#### **Po doktoracie:**

4. Jura J, Wegrzyn P, Korostynski M, Guzik K, Oczko-Wojciechowska M, **Jarżab M**, Kowalska M, Piechota M, Przewlocki R, Koj A. Identification of interleukin-1 and interleukin-6-responsive genes in human monocyte-derived macrophages using microarrays. *Biochemica et Biophysica Acta – Gene Regulatory Mechanisms*. 2008; 1779(6-7): 383-389 **IF=2,282 MNiSW=20**
5. Chechlinska M, Siwicki JK, Gos M, Oczko-Wojciechowska M, **Jarżab M**, Pfeifer A, Jarżab 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. **IF=3,759 MNiSW=32**
6. Fiszer-Kierzkowska A, Vydra N, Wysocka-Wycisk A, Kronekova Z, **Jarżab M**, Lisowska KM, Krawczyk Z. Liposome-based DNA carriers may induce cellular stress response and change gene expression pattern in transfected cells. *BMC Mol Biol*. 2011 Jun 10;12:27. **IF=2,857 MNiSW=30**
7. Olbryt M, Habryka A, Tyszkiewicz T, Rusin A, Cichoń T, **Jarżab M**, Krawczyk Z. Melanoma-associated genes, MXI1, FN1, and NME1, are hypoxia responsive in murine and human melanoma cells. *Melanoma Res*. 2011 Oct;21(5):417-25. **IF=2,187 MNiSW=25**
8. Szczepanek J, Pogorzala M, **Jarżab M**, Oczko-Wojciechowska M, Kowalska M, Tretyn A, Wysocki M, Jarżab 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. **IF=1,713 MNiSW=20**
9. Olbryt M, Habryka A, Student S, **Jarżab M**, Tyszkiewicz T, Lisowska KM. Global gene expression profiling in three tumor cell lines subjected to experimental cycling and chronic hypoxia. *PLoS One*. 2014 Aug 14;9(8):e105104. **IF=3,234 MNiSW=40**
10. Rusinek D, Swierniak M, Chmielik E, Kowal M, Kowalska M, Cyplinska R, Czarniecka A, Piglowski W, Korfanty J, Chekan M, Krajewska J, Szpak-Ulczo S, **Jarżab M**, Widlak W, Jarżab B. BRAFV600E-Associated Gene Expression Profile: Early Changes in the Transcriptome, Based on a Transgenic Mouse Model of Papillary Thyroid Carcinoma. *PLoS One*. 2015 Dec 1;10(12):e0143688. **IF=3,057 MNiSW=40**
11. Handkiewicz-Junak D, Swierniak 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, **Jarżab M**, Swierniak A, Jarżab B. Gene signature of the post-Chernobyl papillary thyroid cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016 Jul;43(7):1267-77. **IF=7,277 MNiSW=45**
12. Rusinek D, Krajewska J, **Jarżab M**. Mouse models of papillary thyroid carcinoma - short review. *Endokrynol Pol*. 2016;67(2):212-23. **Publ. pogładowa. IF=1,341 MNiSW=15**

## 2. Ekspresja genów a fenotyp kliniczny raka piersi

Zagadnienia dotyczące raka piersi zainteresowały mnie jeszcze w okresie studiów, tuż po ich zakończeniu uzyskałem tzw. mały grant Komitetu Badań Naukowych, którego byłem kierownikiem, a następnie grant promotorski (kier. prof. dr hab. n. med. Zdzisław Krawczyk) — pierwsze analizy dotyczyły możliwości indukowania w komórkach raka piersi ekspresji genu symportera sodowo-jodkowego (*NIS*, *SLC5A5*) za pomocą kwasu retinowego, najpierw w komórkach ustalonej linii MCF-7, a następnie w liniach pierwotnych wyprowadzanych z materiału klinicznego. Badanie podstawowej i stymulowanej ekspresji *NIS* w raku piersi było ciekawe, że gen ten, kodujący białko symportera zaangażowanego w transport jonu jodkowego do wnętrza komórki wiązano z możliwością indukowania wychwytu jodu promieniotwórczego przez komórki raka piersi. Ekspresja genu *NIS* na komórkach nowotworowych raka tarczycy pozwala na zdeponowanie w guzie dużej dawki promieniowania metodami medycyny nuklearnej i jest warunkiem powodzenia terapii jodem promieniotwórczym w raku tarczycy. Stąd, hipoteza postawiona w *Nature Medicine* (zespół Carrasco i wsp., 2000, doi:10.1038/78630) sugerowała możliwe wykorzystanie endogennej lub indukowanej ekspresji *NIS* do terapii raka piersi. Pierwsze sugestie, potwierdzające doniesienia literaturowe wskazywały, że część raków piersi wykazuje ekspresję *NIS*, a w linii MCF-7 możliwe jest jej wzmożenie za pomocą retinoidów. Część z tych badań, prezentowana na I Kongresie Polskiej Onkologii w Katowicach w roku 2002 została nagrodzona Nagrodą Główną im. Jeremiego Świąckiego. Dla zobiektywizowania ilościowej oceny ekspresji *NIS*, w 2002 roku, pod kie-

runkiem dr n. med. Małgorzaty Wiench rozpocząłem wdrażanie metodologii oceny ekspresji NIS za pomocą ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym, wykorzystując jedno z pierwszych urządzeń do QPCR zainstalowanych w Polsce. Wyniki tych badań, przedstawione w mojej pracy doktorskiej „Podstawowa i indukowana kwasem retinowym ekspresja symportera sodowo-jodkowego w komórkach raka piersi” wskazywały, że co prawda część nowotworów piersi wykazuje podwyższoną ekspresję NIS, jednak zarówno częstość występowania nadekspresji jak i skala stymulacji były niższe niż oczekiwane klinicznie. Równocześnie, pilotowe prace nad powtórzeniem wyników amerykańskich na modelu zwierzęcym nie doprowadziły do oczekiwanych rezultatów.

Jednak, analizując ekspresję genu NIS zaobserwowałem możliwość jej związku z wybranymi parametrami klinicznymi nowotworu, w tym hormonowrażliwością i zainteresowałem się zagadnieniem wykorzystania badania ekspresji genów w raku piersi do zrozumienia biologii tego nowotworu. Prowadząc prace doświadczalne i zapoznając się z gromadzącym się piśmiennictwem zrozumiałem, że terapia raka piersi musi zakładać pełną znajomość jego złożonego profilu molekularnego i że proste rozwiązanie nie ma szans szerokiego powodzenia w terapii tej choroby, jeśli nie będzie kierowane markerami molekularnymi. Stąd, włączyłem się aktywnie do zespołu wdrażającego technikę mikromacierzy DNA do analizy transkryptomu raka piersi. W pracach zespołu, kierowanego przez prof. Ewę Grzybowską i prof. Katarzynę Lisowską, w pierwszym etapie skoncentrowano się (we współpracy z zespołem prof. Jana Lubińskiego) na analizie transkryptomu nowotworów dziedzicznych i poszukiwaniu różnic w ich fenotypie w stosunku do raków sporadycznych. W pierwszym doniesieniu, opublikowanym w 2006 roku (*Heredit Cancer ClinPract.*) jestem drugim autorem, byłem głównym wykonawcą analizy bioinformatycznej. Ponieważ w toku prowadzonych analiz okazało się, podobnie jak dla ekspresji NIS, że różnice między nowotworami dziedzicznymi i sporadycznymi wywołane są głównie heterogennością biologicznych podtypów guza; w projekcie skupiono się na tym aspekcie analizy i pogłębiono go w drugiej publikacji (*Lisowska i wsp., 2011*).

W 2007 roku wizytowałem w ramach stypendium ASCO IDEA (*International Development and Education Award*) Dept. Breast Medical Oncology w MD Anderson Cancer Center, kier. prof. G. Hortobagyi; mentorem był Dr Lajos Pusztai. Zetknięcie z szeroką gamą protokołów w terapii przedoperacyjnej raka piersi, badań klinicznych I fazy kierowanych molekularnie u chorych w stadium rozsiewu, jak również z badaniami genomicznymi było dla mnie inspiracją do dalszego rozwoju. W toku badań prowadzonych w zakresie raka piersi i innych nowotworów nabywałem szerszych umiejętności w zakresie transkryptomiki raka. Zainspirowało mnie to do podjęcia prac w zakresie predykcji najbardziej istotnych klinicznie cech tego nowotworu, w tym jego chemiowrażliwości; wykorzystałem w tym zakresie wiedzę zgromadzoną również podczas pobytów w ośrodkach zagranicznych. Zagadnienie to było wówczas w pełni zgodne z rosnącym trendem do wykorzystania badań transkryptomicznych jako czynnika predykcyjnego. Obecnie lepiej rozumie się, że główne znaczenie tych metod oparte jest o ich wartość prognostyczną, a predykcyjnych wielogenowych testów molekularnych (w przeciwieństwie do testów opartych o jeden gen lub białko) jest niewiele.

Na podstawie wcześniejszych doświadczeń dotyczących pobierania materiału do badań molekularnych w raku piersi (wycinki pooperacyjne mrożone w badaniu nowotworów z mutacją

BRCA1/2, wycinki śródoperacyjne pobierane świeżo, pierwotne hodowle komórek izolowanych z wycinka w badaniach NIS), a także obserwacji pracy zespołu histopatologów w MD Anderson zdecydowano, że przy pobieraniu materiału metodą biopsji gruboigłowej (podstawowa metoda oceny przed chemioterapią przedoperacyjną) konieczne jest pobranie więcej niż jednego wycinka do badania molekularnego oraz równoczesna analiza profilu dla redukcji heterogenności. Hipotezę, że wykorzystanie wielu wycinków może przyczynić się do redukcji heterogenności, zdecydowano się weryfikować prospektywnie gromadząc materiał kliniczny, od 2010 roku na szerszą skalę. Projekt, zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną Centrum Onkologii — Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddziału w Gliwicach, początkowo finansowany był ze środków grantów wewnętrznych Instytutu, a następnie poprzez grant Narodowego Centrum Nauki (kier. M. Jarzab). Do 2013 roku zgromadzono materiał biologiczny od 302 chorych, a u 119 chorych wykonano badania metodą QPCR. Rozpoczęto także wykonywanie badań mikromacierzowych, a wstępne wyniki („Heterogeneity of genomicsignatures in breast cancer corebiopsy”, 27 chorych, 81 mikromacierzy) prezentowano na konferencji IMPAKT (Breast Cancer Translational Research Conference, Bruksela, 2013r.), zostały one wyróżnione prezentacją pracy w sesji plenarnej, prezentacją w programie prasowym i stypendium konferencyjnym. W toku projektu prowadzono zarówno analizy dotyczące potencjalnego zaczenia znanych cech molekularnych – np. wykorzystania ekspresji genów stresu komórkowego HSP90 w kontekście ekspresji genów proliferacji do przewidywania odpowiedzi na chemioterapię przedoperacyjną (Jarzab i wsp., 2016), jak i poszukiwanie nowych predyktorów. Równocześnie, biorąc pod uwagę czas jaki konieczny jest zarówno dla zgromadzenia materiału w sposób prospektywny, jak i dla uzyskania niezbędnego czasu obserwacji klinicznej, próbowano wdrożyć metody analizy genomicznej w materiale archiwalnym. We współpracy z zespołem Kliniki Onkologii CM UJ (dr P. Różanowski, prof. J. Pawłęga) analizowano jakość RNA w bloczkach parafinowych raka piersi pod kątem pomiaru ekspresji genów. Ponieważ w laboratorium Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej zespół z moim udziałem uruchomił jeden z pierwszych w kraju systemów mikromacierzy Illumina (spodziewano się zarówno większej efektywności kosztowej, jak i szerszej możliwości analizy np. mikromacierzy SNP niż w równolegle używanym systemie Affymetrix, obecnie ThermoFisher), podjęto próbę wykorzystania rozwijanej na tej platformie technologii DASL (cDNA-mediated, Annealing, Selection, extension and Ligation) do analizy materiału w bloczkach parafinowych. W Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej dokonano wdrożenia techniki, a ogólnopolskie konsorcjum kierowane przez prof. R. Duchnowską (Klinika Onkologii, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie) zgromadziło materiał guza pierwotnego od chorych na potrójnie ujemnego zaawansowanego raka piersi. Celem konsorcjum była ambitna próba rozróżnienia pomiędzy chorymi, u których dojdzie do przerzutów do mózgu, w stosunku do chorych u których w OUN nie stwierdzono rozsiewu, mimo zajęcia innych narządów, na podstawie profilu ekspresji guza pierwotnego. Ze względu na bardzo słabą jakość RNA w co najmniej 1/2 zgromadzonych bloczków parafinowych, badania genomyczne udało się wykonać w 119 próbkach z prawie 500 bloczków zebranych przez konsorcjum. W przeprowadzonej analizie genomicznej stwierdzono, że skala różnic pomiędzy chorymi, u których rozwinęły się przerzuty do mózgu, w stosunku do grupy chorych bez przerzutów jest na tyle mała, że nie da się obserwowanych różnic potwierdzić w populacji niezależ-

nej. Czy na ten wynik miała wpływ ogólna trudność w przewidywaniu rokowania na podstawie ekspresji guza pierwotnego, liczba chorych zgromadzonych w badaniu czy też parametry techniczne, trudno dziś odpowiedzieć. Ponieważ byłem w tym badaniu głównym wykonawcą analizy bioinformatycznej i nadzorowałem część laboratoryjną, moim odległym planem i zobowiązaniem wobec chorych, od których pobrano materiał do badań, jest próba powrotu do tej analizy za pomocą nowych technik, w tym metody NGS, w kolejnych projektach badawczych. Jednak, dzisiejsze ograniczenia metody w odniesieniu do materiału z blozków parafinowych nakazują nam ostrożność i aktywnie przeszukujemy doniesienia literaturowe w poszukiwaniu technik, które można by zastosować w tym zakresie.

Na podstawie wszystkich pozytywnych i negatywnych doświadczeń we wcześniejszych analizach transkryptomicznych, a także wstępnych wyników uzyskanych przeze mnie w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki, zaprojektowano większy projekt badawczo-rozwojowy, dotyczący próby wdrożenia tych wyników do praktyki klinicznej i opracowania wydajnego testu transkryptomicznego do analizy materiału pobieranego drogą biopsji gruboigłowej, co omówiono w pierwszej części niniejszego autoreferatu. Badanie dotyczące raka piersi jest częścią większego projektu, kierowanego przez prof. Rafała Tarnawskiego i realizowanego przez Centrum Onkologii w Gliwicach jako lidera konsorcjum, w skład którego wchodzi Politechnika Śląska, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Uniwersytet Medyczny w Warszawie, Polskie Towarzystwo Patologów, Polska Grupa Nowotworów Endokrynych oraz partnerzy komercyjni, odpowiedzialni za wdrożenie testu. Projekt ten, zatytułowany „Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego [MILESTONE]” finansowany jest przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach konkursu STRATEGMED2 (nr umowy 267398/4/NCBR/2015) i nakierowany na optymalne scalenie informacji z badań molekularnych i obrazowych dla poprawy leczenia miejscowego raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego. Jako główny punkt końcowy w badaniu wybrano poprawę leczenia miejscowego (w zakresie piersi i tarczycy dotyczy to głównie ograniczenia rozległości leczenia chirurgicznego), gdyż w wąskich czasowo-ramach projektu łatwiej uzyskać walidację prospektywną wyników. Jednak, potencjał projektowanych przez nas testów molekularnych wychodzi poza ich znaczenie dla terapii miejscowej, gdyż stratyfikacja podtypu raka piersi na podstawie badań molekularnych ma dzisiaj podstawowe znaczenie również dla doboru terapii systemowych.

#### **Przeddoktoratem:**

- 13.** Dudaladava V, **Jarżab M**, Stobiecka E, Chmielik E, Simek K, Huzarski T, Lubiński J, Pamuła J, Pekala W, Grzybowska E, Lisowska K. Gene Expression Profiling in Hereditary, BRCA1-linked Breast Cancer: Preliminary Report. *Hered Cancer Clin Pract.* 2006 Jan 15;4(1):28-38. doi: 10.1186/1897-4287-4-1-28. **IF=0 MNiSW=5**

#### **Po doktoracie:**

- 14.** **Jarżab M**, Różanowski P, Kowalska M, Żebracka J, Rudnicka L, Stobiecka E, Jarżab B, Stachura J, Pawłęga J. Optimization of the method of RNA isolation from paraffin blocks to assess gene expression in breast cancer. *Pol J Pathol.* 2008;59(2):85-91 **IF=0 MNiSW=9**
- 15.** Lisowska KM, Dudaladava V, **Jarżab M**, Huzarski T, Chmielik E, Stobiecka E, Lubinski J, Jarżab B. BRCA1-related gene signature in breast cancer: the role of ER status and molecular type. *Front Biosci (Elite Ed).* 2011 Jan 1;3:125-36. **IF=0 MNiSW=0**
- 16.** **Jarżab 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, Jarżab 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 HistochemCytobiol.* 2016;54(4):202-209. **IF=1,389 MNiSW=15**
17. Duchnowska R, Jarzab M, Żebracka-Gala J, Matkowski R, Kowalczyk A, Radecka B, Kowalska M, Pfeifer A, Foszczyńska-Kłoda M, Musolino A, Czartoryska-Arlukowicz B, Litwiniuk M, Surus-Hyla A, Szablowska-Siwik S, Karczmarek-Borowska B, Dębska-Szmich S, Głodek-Sutek B, Sosińska-Mielcarek K, Chmielowska E, Kalinka-Warzocho E, Olszewski WP, Patera J, Żawrocki A, Pliszka A, Tyszkiewicz T, Rusinek D, Oczko-Wojciechowska M, Jassem J, Biernat W; Polish Brain Metastasis Consortium. Brain Metastasis Prediction by Transcriptomic Profiling in Triple-Negative Breast Cancer. *Clin Breast Cancer.* 2017 Apr;17(2):e65-e75. **IF=2,703 MNiSW=25**

### **3. Badania w zakresie translacyjnego wykorzystania wyników badań genomicznych i transkryptomocnych**

Jak opisano wcześniej, badania transkryptomocne zarówno w raku piersi, jak i w innych nowotworach podejmowaliśmy z nadzieją identyfikacji nowych markerów potencjalnie przydatnych w diagnostyce klinicznej. Analizy te rozpoczęto w kontekście raka tarczycy, wykorzystując zbiór danych uzyskany wcześniej, jak również dalsze badania mikromacierzowe. Wspólnie z zespołem prof. K. Fajurewicz i prof. A. Świerniaka z Politechniki Śląskiej dokonano rankingu przydatności markerów transkryptomocnych do diagnostyki molekularnej (Endocrine-Related Cancer 2007). Na podstawie wykonanych przygotowaliśmy zgłoszenie do Europejskiego Urzędu Patentowego dotyczące sygnatury transkryptomocnej raka tarczycy (nr zgłoszenia EP2366800A1 z dnia 01-03-2010, tytuł „Kit, method and use for the diagnosis of papillarythyroid cancer using a geneexpression profile”, zespół autorów M. Jarzab, M. Oczko-Wojciechowska, M. Wiench, K. Fajurewicz, A. Pfeifer, M. Świerniak, B. Jarzab). Niestety, ze względu na brak wówczas szerszego finansowania nie udało się uzyskać ochrony patentowej; biorąc pod uwagę zmieniające się potrzeby diagnostyczne, konieczne było także dostosowanie rozwiązań technologicznych. Z tego względu badania transkryptomocne rozszerzono o ocenę transkryptomu nowotworów pęcherzykowych (drugi co do częstości zróżnicowany nowotwór tarczycy), wykorzystując materiał mrożony (*Endokrynol Pol.* 2013, *Int J Mol Sci* 2017) oraz bloczki parafinowe (*BMC Med. Genomics* 2013) i uzyskując skuteczną sygnaturę różnic (główni autorzy: dr n. tech. A. Pfeifer, dr n. med. B. Wojtaś). Zespół kierowany przez dr M. Oczko-Wojciechowską dokonał także szerokiej analizy transkryptomu raka rdzeniastego tarczycy (*ScientificReports* 2017), poszukując powiązań istotnych czynników molekularnych i klinicznych z profilem ekspresji genów. W badaniach tych uczestniczyłem głównie od strony klinicznego wykorzystania wyników oraz aspektów technicznych i analizy. Na podstawie tych prac i wszystkich wcześniejszych wyników, w ramach omawianego wcześniej projektu NCBiR MILESTONE podjęliśmy się opracowania i walidacji kompleksowego klasyfikatora dla potrzeb rozpoznawania raka tarczycy, w oparciu o materiał z biopsji cienkoigłowej i uwzględniając różne podtypy nowotworów tarczycy. Zadania te koordynowane są przez dr n. med. Jolantę Krajewską i dr n. med. Małgorzatę Oczko-Wojciechowską, a ja jestem ich aktywnym uczestnikiem, również od strony zagadnień związanych z planowaniem badania i analizą danych.

Możliwości klinicznego wykorzystania oceny chemiowrażliwości dostrzeżono także w zakresie omawianych wcześniej badań transkryptomu ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci (Szczepanek i wsp., *J Appl Genet.* 2012), a na podstawie badań wcześniej prowadzonych w zakresie transkryptomu raka piersi związanego z mutacjami BRCA1/2, we współpracy z Cen-

trum Onkologii w Warszawie (prof. J. Kupryjańczyk) rozpoczęto badania transkryptomu raka jajnika pod kątem jego potencjalnej chemiowrażliwości. Badania te prowadziła prof. K. Lisowska, były one podstawą Jej rozprawy habilitacyjnej. W ramach tych badań wykonywałem całość analizy bioinformatycznej, część prac równoległe prowadził dr n. tech. inż. S. Student (Politechnika Śląska). Mimo że analizie poddano prawie 100 raków jajnika, bardzo dobrze przygotowanych przez histopatologa, o dobrej jakości RNA, oraz dobrej dokumentacji klinicznej, nie udało się zidentyfikować mocnych czynników powiązanych z chemiowrażliwością nowotworu. Jednak, zidentyfikowano wiele bardzo istotnych wzorców zmienności związanych m.in. z histopatologicznymi cechami nowotworu; badania podsumowano w roku 2014 (*Frontiers in Oncology*). Oryginalnym spostrzeżeniem było zidentyfikowanie na etapie analiz nienadzorowanych dwóch wyodrębniających się podtypów molekularnych raka jajnika; zespół prof. Lisowskiej kontynuował dalej badania tego zagadnienia. Wszystkie opisane wyżej doświadczenia leżały u podłoża kształtu następnych naszych projektów, zaprojektowanych do oceny chemiowrażliwości raka piersi w materiale z biopsji gruboigłowej.

W ramach poszukiwania możliwości optymalizacji postępowania klinicznego poprzez identyfikację nowych markerów podejmowaliśmy także głęboko sprecyzowane zadania dotyczące analizy relatywnie rzadkich nowotworów pod kątem dobrze określonej cechy. I tak, zespół prof. K. Zakrzewskiego (Klinika Neurochirurgii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi) prowadził badania dotyczące związku profilu ekspresji gwiazdziaków pilocytarnych z ich lokalizacją i obrazem radiologicznym; w badaniach mikromacierzowych wykonanych w COI w Gliwicach uwidoczono wyraźną przewagę różnic profilu ekspresji w zależności od lokalizacji w stosunku do radiologicznych cech guza. W publikacji podsumowującej te badania (*BMC Cancer 2015*) byłem drugim autorem. Analizując profil ekspresji gruczolaków przysadki (współpraca ze Śląskim Uniwersytetem Medycznym, dr hab. Adam Rudnik, główny wykonawca części molekularnej mgr Jadwiga Żebracka) zidentyfikowano transkrypty różnicujące guzy wykazujące czynność hormonalną i guzy nieczynne. Z kolei, w badaniach transkryptomicznych nowotworów trzustki (główny badacz dr hab. Marek Olakowski, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach), krtani (prof. dr hab. Jarosław Markowski, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach), innych nowotworów głowy i szyi (prof. dr hab. Adam Maciejewski, Centrum Onkologii w Gliwicach) oraz raka sromu (dr hab. Magdalena Kowalewska, Centrum Onkologii w Warszawie) przez porównanie utkania nowotworu do tkanek niezmiennych nowotworowo otaczających guz lub porównanie zajętych i niezajętych węzłów chłonnych zidentyfikowano nowe markery transkryptomiczne, możliwe do zastosowania w diagnostyce; wyniki publikowano m.in. w *BMC Cancer* (Kowalewska i wsp., 2012).

Niezwykle ciekawym wyzwaniem było dla mnie zaangażowanie w projekt dotyczący analizy ekspresji genów w raku płuca. Badanie to, realizowane przez Gdański Uniwersytet Medyczny (prof. Jacek Jassem, prof. Witold Rzyman) nakierowane było na poszukiwanie genów potencjalnie powiązanych z rokowaniem. Jednak, w badaniu wykonywanym w populacji polskiej w grupie badanej dominowały nowotwory płaskonabłonkowe, tylko około 1/3 stanowiły raki gruczołowe. Na konferencji ECCO 14 w Barcelonie (2007) prezentowałem te wyniki w sesji doniesień ustnych, przedstawiając wczesne oszacowania wartości predykcyjnej wyniku ujemnego dla ryzyka nawrotu na około 68%, jednak duża heterogenność grupy utrudniała analizę,

a uzyskanych danych wstępnych nie udało się potwierdzić. Stąd, analizy skierowano głównie w stronę różnic powiązanych z paleniem tytoniu przez chorych, opierając je częściowo na wynikach mikromacierzowych, a częściowo na badaniach przeprowadzonych metodą QPCR w GUMed w Gdańsku (Szymanowska i wsp., *Adv Med. Sci* 2013). Biorąc pod uwagę istotne różnice w ekspresji genów między rakami gruczołowymi i płaskonabłonkowymi uzyskaliśmy projekt finansowany przez NCN (kier. prof. R. Suwiński), w którym wykorzystano badania ekspresji genów do oceny małych bioptatów, pobieranych drogą bronchoskopii. W projekcie tym byłem głównym wykonawcą części biologiczno-bioinformatycznej, razem z mgr T. Tyszkiewiczem; wyniki opublikowano w *Plos One* (2012).

Biorąc pod uwagę zmieniającą się sytuację dotyczącą spektrum badań molekularnych koniecznych w analizach genomicznych, w tym wyniki badań m. in. *The Cancer Genome Atlas*, już w 2008 roku dostrzegliśmy potrzebę rozwoju metod sekwencjonowania genomowego i ich zastosowania w onkologii. Byłem koordynatorem procedury zakupu sekwenatora Illumina Genome Analyzer Iix, jednego z pierwszych urządzeń NGS w kraju – środki na zakup uzyskano w ramach projektu POIG.02.01.00-00-166/08-00 „Śląska BIO-FARMA. Centrum Biotechnologii, Bioinżynierii i Bioinformatyki”. Dzięki uruchomieniu urządzenia w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Genomiki Funkcjonalnej (dr n. med. M. Oczko-Wojciechowska) stopniowo udało się wprowadzić sekwencjonowanie NGS zarówno jako metodę badawczą, jak i narzędzie badań genetycznych w ramach procedur diagnostycznych; w tym ostatnim zakresie urządzenie zostało zastąpione po latach poprzez wielokrotnie mniejsze nowoczesne sekwenatory NGS. Metodą NGS rozszerzyliśmy m.in. analizę różnic między rakami a gruczolakami pęcherzykowymi w poszukiwaniu nowych markerów diagnostycznych tej choroby (Świerniak i wsp., *Mol Cell Endocrinol* 2016), a zespół Pracowni dalej kontynuuje te badania m.in. poszukując nowych genów fuzyjnych w raku brodawkowatym.

#### Po doktoracie:

18. Fajarewicz K, **Jarżab M**, Eszlinger M, Krohn K, Paschke R, Oczko-Wojciechowska M, Wiench M, Kukulska A, Jarżab B, Swierniak A. A multi-gene approach to differentiate papillary thyroid carcinoma from benign lesions: gene selection using support vector machines with bootstrapping. *EndocrRelat Cancer*. 2007 Sep;14(3):809-26. **IF=5,193 MNiSW=32**
19. Olakowski M, Tyszkiewicz T, **Jarżab M**, Król R, Oczko-Wojciechowska M, Kowalska M, Kowal M, Gala GM, Kajor M, Lange D, Chmielik E, Gubala E, Lampe P, Jarżab B. NBL1 and anillin (ANLN) genes over-expression in pancreatic carcinoma. *Folia HistochemCytobiol*. 2009;47(2):249-55. **IF=1,081 MNiSW=13**
20. Markowski J, Tyszkiewicz T, **Jarżab M**, Oczko-Wojciechowska M, Gierek T, Witkowska M, Paluch J, Kowalska M, Wygoda Z, Lange D, Jarżab B. Metal-proteinase ADAM12, kinesin 14 and checkpoint suppressor 1 as new molecular markers of laryngeal carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2009 Oct;266(10):1501-7. **Publ. poglądowa. IF=1,167 MNiSW=27**
21. Kowalewska M, Radziszewski J, Goryca K, Bujko M, Oczko-Wojciechowska M, **Jarżab 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. **IF=3,333 MNiSW=30**
22. Szczepanek J, **Jarżab M**, Oczko-Wojciechowska M, Kowalska M, Tretyn A, Haus O, Pogorzala M, Wysocki M, Jarżab 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. **IF=1,847 MNiSW=20**
23. Suwinski R, Klusek A, Tyszkiewicz T, Kowalska M, Szczesniak-Klusek B, Gawkowska-Suwinska M, Tukiendorf A, Kozielski J, **Jarżab M**. Gene expression from bronchoscopy obtained tumour samples as a predictor of outcome in advanced inoperable lung cancer. *PLoS One*. 2012;7(7):e41379. **IF=3,73 MNiSW=40**
24. Pfeifer A, Wojtas B, Oczko-Wojciechowska M, Kukulska A, Czarniecka A, Eszlinger M, Musholt T, Stokowy T, Swierniak M, Stobiecka E, Rusinek D, Tyszkiewicz T, Kowal M, **Jarżab 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;6:38. **IF=3,914 MNiSW=30**
25. Wojtaś B, Pfeifer A, **Jarzab M**, Czarniecka A, Krajewska J, Swierniak M, Stokowy T, Rusinek D, Kowal M, Zebracka-Gala J, Tyszkiewicz T, Oczko-Wojciechowska M, Stobiecka E, Lange D, Paschke R, Jarzab B. Unsupervised analysis of follicular thyroid tumours transcriptome by oligonucleotide microarray gene expression profiling. *Endokrynol Pol*. 2013;64(5):328-34. **IF=1,208 MNiSW=15**
  26. Tyszkiewicz T, **Jarzab M**, Szymczyk C, Kowal M, Krajewska J, Jaworska M, Fraczek M, Krajewska A, Hadas E, Swierniak M, Markowski J, Lange D, Poltorak S, Wiench M, Krecicki T, Jarzab J, Maciejewski A. Epidermal differentiation complex (locus 1q21) gene expression in head and neck cancer and normal mucosa. *Folia HistochemCytobiol*. 2014;52(2):79-89. **IF=1,364 MNiSW=15**
  27. Lisowska KM, Olbryt M, Dudaladava V, Pamuła-Piłat J, Kujawa K, Grzybowska E, **Jarzab M**, Student S, Rzepecka IK, Jarzab B, Kupryjańczyk J. Gene expression analysis in ovarian cancer - faults and hints from DNA microarray study. *Front Oncol*. 2014 Jan 28;4:6. **IF=0 MNiSW=7**
  28. 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. **IF=3,265 MNiSW=30**
  29. Zebracka-Gala J, Rudnik A, Hasse-Lazar K, Larysz D, **Jarzab M**, Krajewska J, Bażowski P, Jarzab B. Molecular classification of pituitary adenomas: in search for criteria useful for high-throughput studies. *Endokrynol Pol*. 2016;67(2):148-56. **IF=1,341 MNiSW=15**
  30. Swierniak 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 Sep 15;433:130-7. **IF=3,754 MNiSW=35**
  31. Wojtas B, Pfeifer A, Oczko-Wojciechowska M, Krajewska J, Czarniecka A, Kukulska A, Eszlinger M, Musholt T, Stokowy T, Swierniak 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. *Int J Mol Sci*. 2017 Jun 2;18(6). pii: E1184. **IF=3,687 MNiSW=30**
  32. Oczko-Wojciechowska M, Swierniak M, Krajewska J, Kowalska M, Kowal M, Stokowy T, Wojtas B, Rusinek D, Pawlaczek A, Czarniecka A, Szpak-Ulczoek 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 Feb 9;7:42074. **IF=4,122 MNiSW=40**
  33. 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. **Publ. poglądowa. IF=1,592 MNiSW=20**

#### **4. Analiza klinicznej przydatności klasycznych lub molekularnych czynników prognostycznych/predykcyjnych oraz wykorzystanie metod z zakresu biostatystyki w odniesieniu do różnych nowotworów złośliwych**

Wyniki uzyskiwane w podstawowych analizach genomycznych starano się przenieść do praktyki klinicznej. Uczestniczyłem w zaplanowaniu i analizie danych badań prowadzonych przez dr hab. Agnieszkę Czarniecką (Klinika Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej naszego Instytutu) dotyczących znaczenia mutacji *BRAF V599E* dla rokowania chorych na brodawkowatego raka tarczycy (zakończone publikacją w *PLOS One*, dane opublikowane przez nasz zespół były potem uwzględniane w wielu międzynarodowych meta-analizach). W tym modelu opracowano podstawy techniki czułego badania mutacji *BRAF*, które potem wdrożono do wykorzystania m.in. w testach predykcyjnych dla czerniaka, zanim zostały one wyparte przez rozwiązania komercyjne.

Równocześnie uczestniczyłem w wielu badaniach, nakierowanych na analizę znaczenia czynników klinicznych dla rokowania i odpowiedzi na leczenie. Dotyczyło to m.in. znaczenia zaawansowania w obrębie regionalnych węzłów chłonnych, wpływu dawki <sup>131</sup>I na wyniki le-

czenia izotopowego (dwie publikacje w *Thyroid Res.*, 2010) oraz znaczenia stężenia tyreoglobuliny dla stratyfikacji ryzyka u chorych na zróżnicowane raki tarczycy. W kilku innych pracach, opublikowanych w języku polskim, analizowaliśmy inne czynniki istotne dla rokowania u chorych na nowotwory tarczycy. Brałem także udział w badaniach dotyczących poszukiwania czynników prognostycznych w niskozróżnicowanych glejakach OUN oraz w próbach poszukiwania metod leczenia tej choroby drogą radioimmunoterapii. Uczestniczyłem także w prowadzonej przez dr hab. Zorana Stojceva (Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach) analizie dotyczącej czynników wpływających na rokowanie u chorych na raka żołądka.

Analizy biostatystyczne, w których uczestniczyłem, odnosiły się także do zagadnień ściśle teoretycznych. W publikacji opublikowanej w *Mathematical Biosciences* przez zespół prof. Andrzeja Polańskiego (Politechnika Śląska) podjęto próbę analizy rozkładu ekspresji genów u chorych na raka brodawkowego dla rozróżnienia cech tej ekspresji mających znaczenie bardziej pierwotne i bardziej wtórne (rozdzielanie skutków od przyczyn).

#### **Przeddoktoratem:**

34. Czarniecka A, Włoch J, **Jarżab M**, Krajewska J, Kukulska A, Roskosz J, Puch Z, Wróbel A, Wollak M, Turska M, Stojcev Z, Maka B. [Clinical course and treatment of patients with differentiated thyroid carcinoma diagnosed during the year 1995]. *Endokrynol Pol.* 2005 Sep-Oct;56(5):758-65. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=3**

#### **Po doktoracie:**

35. Wygoda Z, Kula D, Bierzyńska-Macyszyn G, Larysz D, **Jarżab M**, Właszczuk P, Bazowski P, Wojtacha M, Rudnik A, Stepień T, Kaspera W, Etmńska A, Składowski K, Tarnawski R, Kokocińska D, Jarżab B. Use of monoclonal anti-EGFR antibody in the radioimmunotherapy of malignant gliomas in the context of EGFR expression in grade III and IV tumors. *Hybridoma (Larchmt).* 2006 Jun;25(3):125-32. **IF=0,411 MNiSW=7**
36. Nikiel B, Chekan M, Jaworska M, **Jarżab M**, Maksymiuk B, Lange D. Ekspresja wybranych molekul adhezyjnych (kadheryny E, CD44, LGAL3 i CA50) w raku brodawkowym tarczycy. [Expression of the selected adhesive molecules (cadherin E, CD44, LGAL3 and CA50) in papillary thyroid carcinoma]. *Endokrynol Pol.* 2006 Jul-Aug;57(4):326-35. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=3**
37. Czarniecka A, **Jarżab M**, Krajewska J, Sacher A, Półtorak S, Włoch J. [The impact of the extent and time of operation on the survival in patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC)]. *Endokrynol Pol.* 2006 Jul-Aug;57(4):347-55. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=3**
38. Czarniecka A, **Jarżab M**, Krajewska J, Jurecka-Lubieniecka B, Paliczka E, Sacher A, Półtorak S, Włoch J. [Evaluation of the therapeutic benefits in relation to the extent of surgery in patients with differentiated thyroid carcinoma]. *Endokrynol Pol.* 2006 Jul-Aug;57(4):362-9. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=3**
39. Kukulska A, Krajewska J, Roskosz J, Handkiewicz-Junak D, **Jarżab M**, Paliczka E, Puch Z, Wygoda Z, Gubała E, Jarżab B. [Optimization of 131I ablation in patients with differentiated thyroid carcinoma: comparison of early outcomes of treatment with 100 mCi versus 60 mCi]. *Endokrynol Pol.* 2006 Jul-Aug;57(4):374-9. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=3**
40. Krajewska J, Czarniecka A, **Jarżab M**, Kukulska A, Handkiewicz-Junak D, Hasse-Lazar K, Gubała E, Puch Z, Paliczka E, Roskosz J. [Relapse of differentiated thyroid carcinoma in low-risk patients]. *Endokrynol Pol.* 2006 Jul-Aug;57(4):386-91. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=3**
41. Jurecka-Lubieniecka B, Paliczka E, Czarniecka A, **Jarżab M**, Handkiewicz D, Hasse-Lazar K, Kukulska A. [Hypoparathyroidism after surgery on thyroid cancer: is there a delayed chance for recovery after a prolonged period of substitutive therapy?]. *Endokrynol Pol.* 2006 Sep-Oct;57(5):501-8. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=3**
42. Polanski A, Polanska J, **Jarżab M**, Wiench M, Jarżab B. Application of Bayesian networks for inferring cause-effect relations from gene expression profiles of cancer versus normal cells. *Math Biosci.* 2007 Oct;209(2):528-46. **IF=1,186 MNiSW=27**
43. Czarniecka A, **Jarżab M**, Krajewska J, Chmielik E, Szcześniak-Klusek B, Stobiecka E, Kokot R, Sacher A, Półtorak S, Włoch J. Prognostic value of lymph node metastases of differentiated thyroid cancer (DTC) according to the local advancement and range of surgical excision. *Thyroid Res.* 2010 Oct 29;3(1):8. **IF=0 MNiSW=0**

44. Kukulska A, Krajewska J, Gawkowska-Suwińska M, Puch Z, Paliczka-Cieslik E, Roskosz J, Handkiewicz-Junak D, **Jarżab M**, Gubała E, Jarżab B. Radioiodine thyroid remnant ablation in patients with differentiated thyroid carcinoma (DTC): prospective comparison of long-term outcomes of treatment with 30, 60 and 100 mCi. *Thyroid Res.* 2010 Nov 1;3(1):9. **IF=0 MNiSW=0**
45. Larysz D, Kula D, Kowal M, Rudnik A, **Jarżab M**, Blamek S, Bierzyńska-Macyszyn G, Kowalska M, Bażowski P, Jarżab B. Epidermal growth factor receptor gene expression in high grade gliomas. *Folia Neuropathol.* 2011;49(1):28-38. **IF=1,234 MNiSW=20**
46. Larysz D, Zebracka-Gala J, Rudnik A, Hasse-Lazar K, Kowalska M, **Jarżab M**, Król A, Szpak-Ulczoek S, Bażowski P, Jarżab B. Expression of genes FOLR1, BAG1 and LAPT4B in functioning and non-functioning pituitary adenomas. *Folia Neuropathol.* 2012;50(3):277-86. **IF=1,547 MNiSW=20**
47. Szymanowska-Narloch A, Jassem E, Skrzypski M, Muley T, Meister M, Dienemann H, Taron M, Rosell R, Rzepko R, Jarżab M, Marjański T, Pawłowski R, Rzyman W, Jassem J, Jarżab M, Marjański T, Pawłowski R, Rzyman W, Jassem J. Molecular profiles of non-small cell lung cancers in cigarette smoking and never-smoking patients. *Adv Med Sci* 2013;58(2):196–206. **IF=0,964 MNiSW=15**
48. Czarniecka A, Kowal M, Rusinek D, Krajewska J, **Jarżab M**, Stobiecka E, Chmielik E, Zembala-Nozyska E, Poltorak S, Sacher A, Maciejewski A, Zebracka-Gala J, Lange D, Oczko-Wojciechowska M, Handkiewicz-Junak D, Jarżab 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. **IF=3,057 MNiSW=40**
49. Krajewska J, **Jarżab M**, Czarniecka A, Roskosz J, Kukulska A, Handkiewicz-Junak D, Puch Z, Wygoda Z, Paliczka-Cieslik E, Kropińska A, Gubała E, Jurecka-Lubieniecka B, Jarżab B. Ongoing risk stratification for differentiated thyroid cancer (DTC) - stimulated serum thyroglobulin (Tg) before radioiodine (RAI) ablation, the most potent risk factor of cancer recurrence in M0 patients. *Endokrynol Pol.* 2016;67(1):2-11. **IF=1,341 MNiSW=15**
50. Rusinek D, Chmielik E, Krajewska J, **Jarżab M**, Oczko-Wojciechowska M, Czarniecka A, Jarżab 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. **Publ. ogłoszona. IF=3,687 MNiSW=30**

## 5. Inne

Uczestniczyłem także w innych badaniach. Na początku mojej drogi zawodowej w Zakładzie Biologii Nowotworów naszego Instytutu byłem zaangażowany w analizę struktury promotora genu *hsp70.1*, uczestniczyłem w wykonaniu badań różnych konformacji przyjmowanych przez jego zmienne obszary. Bardzo ciekawiła mnie także wielogenowa predyspozycja do chorób cywilizacyjnych, wówczas – ponieważ badania dla nowotworów nie były jeszcze zaawansowane — dotyczyło to głównie chorób autoimmunologicznych. Wyniki dotyczące znaczenia zmienności HLA-DRB1 w kontekście SNP genu CTLA4 opublikowaliśmy w *Thyroid* (Kula i wsp., 2006). Starłem się także wchodzić w interakcje naukowe w zakresie radiologii onkologicznej i histopatologii onkologicznej, gdyż uważam, że badania nowych markerów muszą ściśle opierać się o interakcję klinicysta-patolog-radiolog-biolog molekularny-bioinformatyk. W tym zakresie uczestniczyłem w analizach dotyczących diagnostycznego znaczenia parametrów dyfuzji w obrazie MR różnych zmian w wątrobie, a także w badaniach dotyczących zmienności rozpoznania histopatologicznych w ocenie między wieloma diagnostami (interobserver agreement). Uczestniczyłem również w pracach dotyczących analizy technicznych aspektów badania immunohistochemicznego i znaczeniu endogennej aktywności biotyny w tarczycy dla interpretacji badania (*Thyroid Res.* 2009).

Ponieważ jako onkolog kliniczny aktywnie angażowałem się w zagadnienia leczenia systemowego chorych na nowotwory neuroendokrynne, jestem współautorem zaleceń postępowania, zarówno Polskiej Sieci Guzów Neuroendokrynnych, jak i Polskiej Unii Onkologii. Jestem także autorem lub współautorem rozdziałów w książkach dotyczących tego zakresu zagadnień.

**Przeddoktoratem:**

51. Fiszer-Kierzkowska A, Wysocka A, **Jarżab M**, Lisowska K, Krawczyk Z. Structure of gene flanking regions and functional analysis of sequences upstream of the rat hsp70.1 stress gene. *BiochimBiophys Acta*. 2003 Jan 3;1625(1):77-87. **IF=2,137 MNiSW=11**
52. Kula D, Bednarczuk T, Jurecka-Lubieniecka B, Polanska J, Hasse-Lazar **K, Jarżab M**, Steinhof-Radwanska K, Hejduk B, Zebracka J, Kurylowicz A, Bar-Andziak E, Stechly T, Pawlaczek A, Gubala E, Krawczyk A, Szpak-Ulczoek S, Nauman J, Jarżab B. Interaction of HLA-DRB1 alleles with CTLA-4 in the predisposition to Graves' disease: the impact of DRB1\*07. *Thyroid*. 2006 May;16(5):447-53. **IF=1,92 MNiSW=20**

**Podoktoracie:**

53. Lange D, Sporny S, Sygut J, Kulig A, **Jarżab M**, Kula D, Jarżab B. [Histopathological diagnosis of thyroid cancer in a multicenter trial]. *Endokrynol Pol*. 2006 Jul-Aug;57(4):336-42. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=3**
54. Nikiel B, Chekan M, **Jarżab M**, Lange D. Endogenous avidin biotin activity (EABA) in thyroid pathology: immunohistochemical study. *Thyroid Res*. 2009 Apr 8;2(1):5. doi: 10.1186/1756-6614-2-5. **IF=0 MNiSW=0**
55. Stojcev Z, Bobowicz M, Jarżab M, Pawłowska-Stojcev T, Banasiewicz T. Morbidity, mortality and survival after stomach resection with or without splenectomy--the single centre observations. *Pol Przegl Chir*. 2013 Aug;85(8):433-7. **IF=0 MNiSW=6**
56. Kos-Kudła B, Blicharz-Dorniak J, Handkiewicz-Junak D, Jarżab B, **Jarżab M**, Kunikowska J, Kuśnierz K, Król R, Królicki L, Krzakowski M, Nasierowska-Guttmejer A, Nowakowska-Duława E, Patkowski W, Szawłowski AW; Consensus Conference; Polish Network of Neuroendocrine Tumours. Neuroendocrine neoplasms (recommended by the Polish Network of Neuroendocrine Tumours). *Endokrynol Pol*. 2013;64(6):418-43. **Publ. wytycznych postępowania. IF=1,208 MNiSW=15**
57. Rembak-Szynkiewicz J, Bobek-Billewicz B, **Jarżab M**, Jurkowski M, Stobiecka E, Ponikiewska D, Pawlik I. Ocena przydatności obrazowania dyfuzji metodą rezonansu magnetycznego w diagnostyce różnicowej łagodnych i złośliwych zmian ogniskowych w wątrobie. *Nowotwory J Oncol* 2014;64(5):377-82. **Publ. w jęz. polskim. IF=0 MNiSW=5**
58. Danch-Wierzchowska M, Borys D, Bobek-Billewicz B, **Jarżab M**, Swierniak A. Simplification of breast deformation modelling to support breast cancer treatment planning. *Biocybernetics and Biomedical Engineering* 2016; 36(4): 531-536, **Publ.poglądowa. IF=1,031 MNiSW=15**
59. Kos-Kudła B, Rosiek V, Borowska M, Bałdys-Waligórska A, Bednarczuk T, Blicharz-Dorniak J, Bolanowski M, Boratyn-Nowicka A, Cichocki A, Ćwikła JB, Falconi M, Foltyn W, Handkiewicz-Junak F, Hubalewska-Dydejczyk A, Jarżab B, **Jarżab M**, Junik R, Kajdaniuk D, Kamiński G, Kolasińska-Ćwikła A, Kowalska A, Król R, Królicki L, Kunikowska J, Kuśnierz K, Lampe P, Lange D, Lewczuk-Myślicka A, Lewiński A, Lipiński M, Londzin-Olesik M, Marek B, Nasierowska-Guttmejer A, Nowakowska-Duława E, Pilch-Kowalczyk J, Ruchała M, Siemińska L, Sowa-Staszczak A, Starzyńska T, Steinhof-Radwanska K, Strzelczyk J, Sworczak K, Syrenicz A, Szawłowski A, Szczepkowski M, Wachuła E, Zajęcki W, Zemczak A, Zgliczyński W. Pancreatic neuroendocrine neoplasms - management guidelines (recommended by the Polish Network of Neuroendocrine Tumours). *Endokrynol Pol*. 2017;68(2):169-197. **Publ. wytycznych postępowania. IF=1,059 MNiSW=15**