

Prof. dr hab. n. med. Jacek Gronwald
Zakład Genetyki i Patomorfologii
Pomorski Uniwersytet Medyczny
ul. Połabska 4
70-115 Szczecin

Szczecin, dnia 28.08.2019.

Ocena osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego i dydaktycznego

dr n. med. Agnieszki Adamczyk

Dane biograficzno-zawodowe

Dr n. med. Agnieszka Adamczyk jest absolwentem Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, gdzie w 1998 uzyskała tytuł magistra biologii na podstawie pracy pt. „Interakcje komórek nowotworowych z makrofagami”. Praca została wykonana w Zakład Mikrobiologii i Immunologii Instytutu Biologii Molekularnej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie pod kierownictwem prof. Pryjmy. W 2001 roku koleżanka Adamczyk uzyskała tytuł magistra biologii radiacyjnej na podstawie pracy pt. „Influence of p53 status on radiation induced genomic instability in murine osteoblastic cell lines with different p53 background”. Praca została wykonana i obroniona w University College London pod kierownictwem dr Prise. W 2008 roku habilitantka uzyskała tytuł dr n. med. w dziedzinie biologia medyczna na podstawie rozprawy pt. „Ocena predykcyjnego znaczenia promieniowrażliwości fibroblastów zrębu nowotworu i limfocytów u chorych na raka szyjki macicy”. Promotorem pracy zrealizowanej w Zakładzie Radiobiologii Klinicznej, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie była prof. Anna Gasińska. Habilitantka od 1998 roku jest pracownikiem Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie (1998-2017 Zakład Radiobiologii Klinicznej; od 2017 Zakład Patomorfologii Nowotworów), od 2009 roku pełni funkcję adiunkta naukowo-badawczego

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe dr Agnieszka Adamczyk wskazała monotematyczny cykl publikacji pt: *„Prognostyczne znaczenie wybranych parametrów biologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem potencjalnych markerów oporności na trastuzumab, u chorych na raka piersi z nadekspresją HER2”*.

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem 6 prac oryginalnych:

1. Grela-Wojewoda A, Niemiec J, Sas-Korczyńska B, Cedrych I, Domagała-Haduch M, **Adameczyk A**, Ambicka A, Kołacz J, Jakubowicz J. Prognostic Role of Nodal Status and Clinically Asymptomatic Valvular Insufficiency in Patients with HER2-positive Breast Cancer Treated with Chemotherapy, Radiotherapy and Trastuzumab in an Adjuvant Setting. *Anticancer Res.* 2015;35(7):4063-72.

IF=1.895

2. **Adameczyk A**, Niemiec J, Janecka A, Harazin-Lechowska A, Ambicka A, Grela-Wojewoda A, Domagała-Haduch M, Cedrych I, Majchrzyk K, Kruczak A, Ryś J, Jakubowicz J. Prognostic value of *PIK3CA* mutation status, PTEN, androgen receptor expression for metastases free survival a in HER2 positive breast cancer patients treated with trastuzumab in adjuvant setting. *Pol J Pathol* 2015; 66 (2): 133-141.

IF=1.240

3. **Adameczyk A**, Niemiec J, Ambicka A, Mucha-Malecka A, Ryś J, Mituś J, Wysocki WM, Cichocka A, Jakubowicz J. Survival of breast cancer patients according to changes in expression of selected markers between primary tumor and lymph node metastases. *Biomark Med.* 2016; 10(3):219-28.

IF=2.020

4. **Adameczyk A**, Grela-Wojewoda A, Domagała-Haduch M, Ambicka A, Harazin-Lechowska A, Janecka A, Cedrych I, Majchrzyk K, Kruczak A, Ryś J, Niemiec J. Proteins Involved in HER2 Signalling Pathway, Their Relations and Influence on Metastasis-Free Survival in HER2-Positive Breast Cancer Patients Treated with Trastuzumab in Adjuvant Setting. *J Cancer.* 2017 Jan 1;8(1):131-139.

IF=3.249

5. Niemiec J, **Adameczyk A**, Harazin-Lechowska A, Ambicka A, Grela-Wojewoda A, Majchrzyk K, Kruczak A, Sas-Korczyńska B, Ryś J. Podoplanin-positive Cancer-associated Stromal Fibroblasts in Primary Tumor and Synchronous Lymph Node Metastases of HER2-overexpressing Breast Carcinomas. *Anticancer Res.* 2018 Apr;38(4):1957-1965.

IF=1,865

6. **Adamczyk A**, Kruczak A, Harazin-Lechowska A, Ambicka A, Grela-Wojewoda A, Domagała-Haduch M, Janecka-Widła A, Majchrzyk K, Cichocka A, Ryś J, Niemiec J. Relationship between HER2 gene status and selected potential biological features related to trastuzumab resistance and its influence on survival of breast cancer patients undergoing trastuzumab adjuvant treatment. *Onco Targets Ther.* 2018 Aug 3;11:4525-4535. doi: 10.2147/OTT.S166983. eCollection 2018.

IF=2,656

W 4 pracach Habilitantka jest 1-wszym, w których jej wkład był dominujący i polegał na zaplanowaniu koncepcji badań i wyborze metody badawczych, prowadzeniu badania i nadzorze nad etapami badania, analizie statystycznej, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu. Udział procentowy habilitanta w tych pracach został oszacowany na około 60%. Dwie z tych prac zostały wyróżnione Nagrodą im. Hilarego Koprowskiego przyznaną przez Polskie Towarzystwo Onkologiczne za najlepszą polską pracę naukową w dziedzinie onkologii za rok 2016. Cykl uzupełniają 2 prace w których Kandydatka była 2-gim i 6-tym autorem i jej wkład wynosił odpowiednio 20 i 10%. Łączny IF prac wynosi 12,925, a w pracach z 1-wszym autorstwem 9,165. Prace powstały w ramach realizacji dwóch grantów przyznanych przez: (i) Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (N N401 2344) (Kierownik grantu) oraz Narodowe Centrum Nauki (2013/09/B/NZ5/00764) (Wykonawca grantu).

Omówienie celu naukowego oraz osiągniętych wyników zaprezentowanych w pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Celem prac wybranych do cyklu było:

1. Wyróżnienie potencjalnych markerów oporności na trastuzumab w oparciu o analizę przeżycia całkowitego, wolnego od przerzutów i bezobjawowego, w tym:
 - ocena ekspresji białek: PTEN, IGF-1R β , MUC4, HER3, HER4, EGFR, AR, Ki-67
 - ocena dwóch mutacji w genie *PIK3CA* (mutacje p.H1047R, p.E545K)
 - ocena genu *HER2* (ocena amplifikacji, stosunku *HER2/CEP17* oraz polisomi)

- ocena obecności fibroblastów związanych z nowotworem wykazujących ekspresję podoplaniny
2. Pogłębienie wiedzy na temat biologii raka piersi z nadekspresją receptora HER2 dzięki analizie wzajemnych korelacji pomiędzy badanymi parametrami oraz zależności pomiędzy nimi a czynnikami klinicznymi i histologicznymi.
 3. Ocena obecności fibroblastów związanych z nowotworem wykazujących ekspresję podoplaniny w guzie pierwotnym i synchronicznym przerzucie w węźle chłonnym.
 4. Ocena zmian w ekspresji receptora estrogenowego, progesteronowego oraz HER2 pomiędzy guzem pierwotnym i synchronicznym przerzutem w węźle chłonnym.
 5. Ocena wpływu wczesnych i subklinicznych powikłań kardiologicznych w postaci niedomykalności zastawek o dowolnym stopniu nasilenia i zmian w LVEF (frakcji wyrzutowej lewej komory) na przeżycie wolne od przerzutów pacjentów z HER2-dodatnim rakiem piersi leczonych uzupełniająco chemicznie, napromienianiem i trastuzumabem.

W publikacjach 1, 2, 4, 5, 6 materiałem do badań była grupa ($T \geq 1$, $N \geq 0$, $M0$) chorych na raka piersi z nadekspresją receptora HER2 leczonych operacyjnie z następowym leczeniem chemicznym i trastuzumabem. Radykalne leczenie operacyjne przeprowadzono w Klinice Chirurgii Onkologicznej, Centrum Onkologii, Oddział w Krakowie w latach 2007 – 2014. Następnie zastosowano uzupełniająco leczenie chemiczne, hormonoterapię, napromienianie (w zależności od wskazań) i ostatecznie trastuzumab. Dane dotyczące ekspresji receptora estrogenowego (ER) i progesteronowego (PR) oraz HER2 ocenianych immunohistochemicznie uzyskano z historii chorób.

Tylko w przypadku barwienia immunohistochemicznego *HER2* ocenianego na 2+, wykonywane jest diagnostycznie oznaczenie amplifikacji genu *HER2* metodą FISH, i możliwe było uzyskanie tej informacji z historii choroby. Dlatego też dla większości chorych (wszystkie przypadki gdy wynik barwienia IHC oceniono na 3+) dodatkowo oznaczono status genu *HER2* (amplifikacja, stosunek *HER2/CEP17*, polisomia) przy zastosowaniu metody FISH.

Ekspresję białek: EGFR, HER3, HER4, IGFR, MUC4, PTEN, podoplaniny, Ki-67, AR analizowano w oparciu o barwienia immunohistochemiczne na skrawkach parafinowych z materiału utrwalonego w formalinie.

Dodatkowo materiał nowotworowy zatopiony w parafinie posłużył do oceny mutacji *PIK3CA* (H1047R i E545K). DNA wyizolowano z tkanki nowotworowej utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie a obecność mutacji oceniono metodą qPCR.

W celu oceny niedomykalności zastawek oraz zmiany frakcji wyrzutowej lewej komory (LVEF) wykonano badanie echokardiologiczne. Badania te wykonano przed, w trakcie i po zakończeniu leczenia trastuzumabem.

W publikacji nr 3 dotyczącej problemu odróżnicowania ekspresji szeregu białek w przerzucie do węzłów chłonnych w różnych podtypach molekularnych materiałem była grupa chorych (T $\geq$ 1, N $\geq$ 1, M0) na raka piersi leczonych uzupełniająco chemicznie. Pacjentki nie były uprzednio leczone chemicznie ani napromienianiem. Radykalne leczenie operacyjne przeprowadzono w Klinice Chirurgii Onkologicznej, Centrum Onkologii, Oddział w Krakowie w latach 2001 – 2011. Następnie zastosowano uzupełniającą chemioterapię, hormonoterapię, radioterapię (w zależności od wskazań).

W oparciu o barwienia immunohistochemiczne na skrawkach parafinowych z materiału utrwalonego w formalinie analizowano ekspresję następujących białek: ER, PR, HER2, CK5/6, P-kadheryny, CD44, CD24, ALDH, Ki-67, EGFR, Ep-CAM. Ocenę ekspresji przeprowadzono w materiale z guza pierwotnego oraz synchronicznego przerzutu do węzłów chłonnych.

Habilitantka uzyskała następujące wyniki:

1. Obecność wybranych, potencjalnych czynników oporności na trastuzumab w komórkach raka piersi z nadekspresją HER2.

W badanej grupie raków piersi z nadekspresją HER2 w około połowie przypadków nie wykryło ekspresji receptorów estrogenowego i progesteronowego (artykuł nr 2, 4, Tabela 1). Ekspresja AR była obecna w 78,6% przypadków (artykuł nr 2, Tabela 1), EGFR w 18,0%, HER3 w 28,3%, MUC4 w 33,3% a PTEN 18,9% przypadków (artykuł nr 4, Tabela 1).

Statystycznie istotnie niższą wartość indeksu wiązania Ki-67 zaobserwowano w guzach bez ekspresji EGFR ($p=0,022$), a także w nowotworach z ekspresją PTEN ($p=0,035$). Wyższy poziom Ki-67LI był obecny w nowotworach w stopniu G3 i bez ekspresji ER/PR, jednak te zależności nie osiągnęły istotności statystycznej. Nowotwory charakteryzujące się brakiem ekspresji MUC4 zazwyczaj nie wykazywały także ekspresji PTEN i HER3 (artykuł nr 4, Tabela 1). Ekspresja AR wiązała się z brakiem ekspresji EGFR (artykuł nr 2, Tabela 1).

Ocena mutacji w genie *PIK3CA* wykazała obecność w 14,0% guzów mutacji H1047R i w 2,0% mutacji E545K. Nie wykryto związku między mutacjami w genie *PIK3CA* a

ekspresją badanych białek, stopniem zaawansowania nowotworu (pT), zajęciem węzłów chłonnych (pN) czy stopniem złośliwości nowotworu (artykuł nr 4, Tabela 1).

2. Status genu *HER2* i zależności między innymi czynnikami biologicznymi i klinicznymi.

W badanej grupie na podstawie barwienia IHC, 29 guzów wykazywało ekspresję receptora *HER2* ocenioną na 2+, a 86 ocenioną jako silna (3+) (artykuł nr 6, Tabela 1). Barwienie FISH wykazało amplifikację genu *HER2* w 115 przypadkach, jednak w 2 przypadkach z silną ekspresją białka (3+) nie wykazano amplifikacji genu *HER2*. Silna ekspresja receptora *HER2* (IHC 3+) wiązała się ze zwiększoną amplifikacją genu *HER2* ocenioną metodą FISH czyli wyższej liczbie kopii genu *HER2* na komórkę i wyższemu stosunkowi sygnałów pochodzących od sond *HER2/CEP17*.

Dodatkowo wykazałno związek między parametrami ocenianymi w FISH a markerami ocenianymi immunohistochemicznie:

- niższa amplifikacja genu *HER2* (niższą liczbę kopii *HER2* na komórkę i niższy stosunek *HER2/CEP17*) została zaobserwowano w nowotworach z dodatnimi receptorami steroidowymi.
- wyższa amplifikacja *HER2* (liczba kopii genu *HER2*) korelowała z silną ekspresją *HER4* i słabszą ekspresją *HER3* oraz *IGF-1R*

Inne parametry, w tym pT, pN, mutacje w genie *PIK3CA*, ekspresja *EGFR* i *MUC4* nie były związane ze stanem genu *HER2*.

Zaobserwowano, że nowotwory z polisomią charakteryzowały się większą liczbą kopii genu *HER2* na komórkę, ale niższym stosunkiem *HER2/CEP17*.

3. Ekspresja podoplaniny w fibroblastach podścieliska nowotworu.

Ekspresję podoplaniny w fibroblastach związanych z nowotworem wykryto w przypadku 167 z 203 badanych guzów pierwotnych i w 35 z 87 synchronicznych przerzutów w węźle chłonnym (artykuł nr 5, Tabela 1). Zaobserwowano podobny wzór barwienia podoplaniną między guzem a węzłem chłonnym ($p < 0,001$). Wśród 87 par guz-węzeł, w 52 przypadkach ekspresja podoplaniny została wykazana w obu lokalizacjach, a w 12 przypadkach w obu lokalizacjach obserwowano brak ekspresji.

W celu określenia pochodzenia pCAFs w przerzucie do węzła chłonnego, dodatkowo została zbadana ekspresja markerów specyficznych dla komórek dendrytycznych grudek chłonnych i komórek fibroblastycznych siateczki, wchodzących w skład podścieliska węzła: podoplaniny, CD21 i α SMA. Zarówno w przypadku guza pierwotnego jak i węzła, pCAF wykazywały ekspresję α SMA i brak ekspresji CD21. Taki ich immunofenotyp sugeruje, że komórki te nie wywodzą się pierwotnie z węzła chłonnego.

Badania tego typu dotyczące guza pierwotnego i przerzutowego wykonywane były po raz pierwszy.

4. Prognostyczne znaczenie analizowanych parametrów biologicznych.

Habilitationka wykazała, że u chorych z przewodowym naciekającym rakiem piersi z nadekspresją HER2 leczonych uzupełniająco chemicznie i trastuzumabem, niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi wpływającymi na prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od przerzutów (artykuły nr 1-4, 6) lub bez objawów choroby (artykuł nr 5) są:

- wysoki indeks wiązania Ki-67 ($Ki-67 > 50\%$) ($p=0,014$, $p=0,027$) (odpowiednio artykuł nr 2, 4, Tabela 1)
- jednoczesna ekspresja AR i brak ekspresji PTEN ($p=0,007$) (artykuł nr 2, Tabela 1)
- zajęcie węzłów chłonnych w stopniu pN2+3, ($p=0,041$, $p=0,040$) (artykuł nr 1, 2, Tabela 1)
- ekspresja HER3 ($p=0,018$) (artykuł nr 6, Tabela 1)
- ekspresja HER3 jednocześnie połączona z brakiem ekspresji PTEN ($p=0,043$) (artykuł nr 4, Tabela 1),
- ekspresja HER3 jednocześnie połączona z wysokim stosunkiem sygnałów od sond *HER2/CEP17* ($p=0,001$) (artykuł nr 6, Tabela 1)
- obecność w zrębie nowotworu fibroblastów z ekspresją podoplaniny ($p=0,058$) (artykuł nr 5, Tabela 1)
- wykryta niedomykalność zastawek podczas lub po terapii trastuzumabem ($p=0,001$) (artykuł nr 1, Tabela 1)

5. Porównanie immunofenotypu komórek ogniska pierwotnego nowotworu i synchronicznego przerzutu w węzle chłonnym.

Habilitationka zaobserwowała, że w ponad 90% przypadków ekspresja ER/PR, HER2, CK5/6 i EGFR utrzymywała się na takim samym poziomie w komórkach raka w ognisku

pierwotnym i synchronicznym przerzucie do węzła chłonnego. W przypadku ekspresji CD44, CD24, ALDH, Ep-CAM, Ki-67 i P kadheryny zaobserwowano znacznie większe różnice w poziomie ekspresji pomiędzy tymi dwoma lokalizacjami (artykuł nr 3, Tabela 1).

Analiza z podziałem na podtypy molekularne: luminalny A i B, z nadekspresją HER2 oraz potrójnie ujemny ujawniła, że zmiany poziomu ekspresji HER2 miały miejsce głównie w rakach z ekspresją receptora HER2 (podtypy z nadekspresją HER2 i luminalny B) (artykuł nr 3, Tabela 1). Zmiana w ekspresji pozostałych markerów, z wyjątkiem CD24, nie była istotnie statystycznie związana z podtypem raka piersi.

6. Czynniki ryzyka rozwoju powikłań kardiologicznych u chorych leczonych z powodu raka piersi z nadekspresją HER2.

W analizowanej grupie chorych (artykuł nr 1, Tabela 1) terapię trastuzumabem przerwano u 18,6% pacjentek, u których wystąpiły utrzymujące się powikłania kardiologiczne. Powikłania były częściej obserwowane w grupie starszych chorych ($p=0,051$) oraz pacjentek, które otrzymały wysoką dawkę antracyklin $>300 \text{ mg/m}^2$ w połączeniu z docetakselem ($p=0,005$). Nie zaobserwowano wpływu hormonoterapii, radioterapii, masy ciała (indeks BMI) oraz innych współistniejących chorób na wystąpienie powikłań kardiologicznych.

W 31,6% przypadków nie stwierdzono rozwoju niedomykalności zastawek przed, w trakcie i po zakończeniu leczenia trastuzumabem. Bezobjawowa niedomykalność zastawki mitralnej i trójdzielnej w stopniu III lub wyższym występowała częściej u starszych chorych ($p=0,070$) oraz pacjentek, które otrzymały $>300 \text{ mg/m}^2$ antracyklin z docetakselem ($p=0,005$). W całej grupie chorych zaobserwowano zmniejszenie LVEF z 68,1% przed leczeniem trastuzumabem do 66,7% po leczeniu. Obniżenie LVEF było najbardziej wyraźne w podgrupie otrzymującej radioterapię i gdy niedomykalność zastawek stwierdzono podczas i po zakończeniu leczenia trastuzumabem ($p<0,001$).

Na podstawie uzyskanych wyników Habilitantka sformułowała następujące wnioski:

1. Ekspresja receptora HER3 jest najistotniejszym czynnikiem warunkującym oporność na trastuzumab, co może być związane z faktem, że heterodimer HER2/HER3 jest najsilniejszym aktywatorem kaskad sygnałowych prowadzących do proliferacji. Dotychczasowe badania nad wpływem ekspresji HER3 na przeżycie są niejednoznaczne, przedstawione w cyklu wyniki włączają się w nurt aktualnych zagadnień i zwiększają wiedzę na temat roli HER3. Potwierdzenie wpływu ekspresji receptora HER3 na oporność na

trastuzumab i na przeżycie mogłoby sugerować celowość włączenia oznaczania ekspresji tego białka do rutynowej diagnostyki.

2. Obecność dodatkowych czynników (brak ekspresji PTEN, wysoki stosunek sygnałów sond *HER2/CEP17*), które jednocześnie z ekspresją HER3 wpływają na przeżycie chorych na raka piersi sugeruje, że oporność na trastuzumab wydaje się być zależna od szeregu czynników i końcowy obraz jest wypadkową wielu zmian zachodzących w komórce nowotworowej.

3. Ekspresja podoplaniny w fibroblastach zrębu nowotworu będąca niekorzystnym czynnikiem rokowniczym potwierdza hipotezę, że na przeżycie mogą mieć wpływ nie tylko zmiany w komórkach nowotworowych ale też samo podścielisko nowotworu.

4. Podobny wzór barwienia podoplaniną w fibroblastach związanych z nowotworem w guzie i przerzucie w węźle chłonnym wskazuje, że fibroblasty związane z nowotworem towarzyszą przerzutującym komórkom rakowym w czasie migracji z guza pierwotnego do węzła chłonnego.

5. Podtyp molekularny raka (podtypy z nadekspresją HER2 i rak luminalny B) wiąże się ze zmianą ekspresji HER2 w guzie pierwotnym i korespondującym przerzutem do węzła chłonnego.

6. Terapia trastuzumabem wiąże się z wystąpieniem niedomykalności zastawek a istotne zmniejszenie LVEF zaobserwowano tylko u kobiet leczonych napromienianiem, u których jednocześnie wystąpiła niedomykalność zastawek podczas i po zakończeniu leczenia trastuzumabem

7. Związek między przeżyciem wolnym od przerzutów a rozwojem niedomykalności zastawek sugeruje, że parametr ten może być niezwiązanym z nowotworem markerem skuteczności leczenia trastuzumabem.

Podsumowanie:

Temat podjęty przez dr Adamczyk jest ważny w kontekście naukowym i potencjalnie duże znaczenie praktyczne. Leczenie trastuzumabem jest od wielu lat standardem u pacjentek z rakiem piersi z nadekspresją HER2. Oporność na leczenie jak i działania uboczne są dobrze udokumentowane, stąd badania dotyczące oceny wybranych markerów potencjalnie związanych z niepowodzeniem na takie leczenie uważam za potrzebne i na czasie. Uważam, że trafniejszym byłoby włączenie do cyklu tylko prac, w których Habilitantka jest pierwszym autorem, ale zdaje sobie sprawę, że Kandydatka chciała

zaprezentować bardziej całościowy obraz badań, w które również w mniejszym stopniu była zaangażowana. Badania zostały zaplanowane i przeprowadzone prawidłowo oraz udokumentowane poprzez publikacje w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania. Część prac została wysoko nagrodzona (patrz wyżej). Niektóre analizy jak np. ocena na przeżycie zależności pomiędzy statusem *HER2* i wieloma potencjalnymi czynnikami oporności na trastuzumab (ekspresja *PTEN*, *IGF-1R*, *MUC4*, *EGFR*, *HER3*, *HER4*, mutacje w genie *PIK3CA*), czy dotyczące zmian molekularnych w guzie pierwotnym i przerzutowym były wykonane po raz pierwszy. Podobnie bardzo ważna z praktycznego punktu widzenia obserwacja, że wykryta niedomykalność zastawek podczas lub po terapii trastuzumabem jest związana z gorszym przeżyciem jest odkryciem oryginalnym. Prace stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego udowadniają, że dr Adamska operuje warsztatem naukowym na wysokim poziomie. Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe spełnia kryteria wymagane przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego.

Pozostały dorobek naukowy

Zainteresowania badawcze Kandydatki skupiają się głównie na poszukiwaniu biologicznych markerów o znaczeniu prognostycznym (wskazujących na wynik leczenia) i predykcyjnym (pozwalających na wybór optymalnego leczenia) dla terapii stosowanych we współczesnej onkologii.

Poniżej zostały przedstawione główne nurty badań naukowych, w które Kandydatka była lub nadal jest zaangażowana.

1. Prognostyczne znaczenie tempa proliferacji komórek w nowotworach mózgowia.

Przed stopnia doktora nauk medycznych, uczestniczył w badaniach dotyczących prognostycznego znaczenia tempa proliferacji komórek w nowotworach mózgowia (glejakach), oznaczanego na podstawie IW Ki-67, IW BrdUrd i liczby AgNOR/jądro komórkowe. Badania te zostały opublikowane w 3 artykułach oraz zaprezentowane na 4 konferencjach.

2. Prognostyczne markery biologiczne w raku odbytnicy leczonych chirurgicznie i napromienianiem.

W latach 2003-2006 dr Adamczyk była zaangażowana (jako wykonawca) w realizację grantu badawczego zamawianego przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji, Nr PBZ-KBN-091/P05/50 pt.: „Ocena wpływu wybranych czynników biologicznych raka odbytnicy na

skojarzone leczenie chirurgiczne i napromienianiem”. Celem prac była ocena znaczenia markerów biologicznych dla wczesnej reakcji raka na przedoperacyjne napromienianie u chorych na niezaawansowanego raka odbytnicy, leczonych dwoma schematami różniącymi się przerwą pomiędzy radioterapią (RT) a operacją: (i) krótkie napromienianie (RT, 5Gy/frakcję/5 dni), przeprowadzone ok. 1 tygodnia przed zabiegiem chirurgicznym oraz (ii) schemat, gdzie przerwa pomiędzy napromienianiem a leczeniem chirurgicznym wynosiła 4-5 tygodni. Oceniano tempo proliferacji (indeks wiązania bromodeoksyurydyny (IW BrdUrd), odsetek komórek w fazie S cyklu komórkowego oraz indeks wiązania MIB-1) oraz ekspresję szeregu białek: CD34, GLUT-1, Ku70, BCL-2, P53.

Wyniki uzyskane w badaniu dają wgląd w biologię popromiennej reakcji raka odbytu, która jest istotnym czynnikiem warunkującym powodzenie przedoperacyjnej radioterapii nowotworów tej lokalizacji i zostały przedstawione w 4 publikacjach oraz w 8 doniesieniach konferencyjnych.

3. Czynniki prognostyczne oraz promieniowrażliwość fibroblastów zrębu nowotworu i limfocytów u chorych na raka szyjki macicy.

Przed rozpoczęciem badań związanych z doktoratem Kandydatka zajmowała się wpływem unaczynienia na przeżycie chorych raka na szyjki macicy oraz znaczeniem fibroblastów izolowanych ze zrębu nowotworu a w szczególności możliwością wykorzystania ocenianej *in vitro* promieniowrażliwości do przewidzenia wystąpienia odczynów popromiennych u chorych na raka szyjki macicy. Rozwinięciem tego tematu były badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej. W latach 2005-2008 była wykonawcą grantu promotorskiego pt. „Ocena predykcyjnego znaczenia promieniowrażliwości limfocytów u chorych na raka szyjki macicy leczonych napromienianiem lub napromienianiem i chemioterapią”. Celem pracy doktorskiej była ocena promieniowrażliwości fibroblastów zrębu nowotworu i limfocytów u chorych na raka szyjki macicy oraz zbadanie korelacji pomiędzy ocenioną *in vitro* promieniowrażliwością komórek a odczynami popromiennymi u chorych leczonych napromienianiem lub napromienianiem i chemicznie. W celu oceny promieniowrażliwości fibroblastów zrębu nowotworu, oznaczano za pomocą cytometru przepływowego indeks wiązania bromodeoksyurydyny, zmiany w rozmieszczeniu komórek w cyklu komórkowym oraz poziom apoptozy po wcześniejszym napromienianiu. Promieniowrażliwość limfocytów była oceniana trzema testami: testem kometowym (oceniający poziom uszkodzeń DNA), testem G0 (oceniający poziom aberracji

chromosomowych) i G2 (oceniający poziom uszkodzeń chromatydowych). Dodatkowo cytofluorymetrycznie oznaczono subpopulacje limfocytów T (CD4+, CD8+ i CD4+/CD8+).

Wyniki wyżej wymienionych badań wskazujące między innymi na niekorzystny wpływ małej liczby naczyń krwionośnych na przeżycie oraz brak użyteczności ocenianej *in vitro* promieniowrażliwości fibroblastów i limfocytów zostały przedstawione w 3 publikacjach oraz w 12 doniesieniach.

4. Prognostyczne znaczenie markerów komórek nowotworowych i komórek podścieliska u chorych na przewodowego naciekającego raka piersi nieleczonych chemicznie lub leczonych antracyklinami lub/i taksanami.

W trakcie badań będących tematem pracy doktorskiej a także po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych dr Adamczyk zaangażowała się w badania dotyczące charakterystyki immunofenotypu komórek nowotworowych oraz komórek podścieliska nowotworu w raku piersi oraz wpływu tych cech na przeżycie u chorych nieleczonych chemicznie lub leczonych antracyklinami lub/i taksanami. Część tych zagadnień była realizowana w ramach grantu pt.: „Porównanie immunofenotypu komórek guza pierwotnego z immunofenotypem komórek przerzutów w węzłach chłonnych oraz próba wyróżnienia komórek macierzystych i ocena ich biologicznego znaczenia w podtypach raka piersi różniących się immunofenotypowo”, realizowanym w latach 2009-2012, którego Habilitantka była kierownikiem. Dodatkowo zajęto się problemem występowania błonowego barwienia przy zastosowaniu przeciwciała MIB-1 w ocenie ekspresji białka Ki-67. Należy zaznaczyć, że błonowy wzór barwienia może wpływać na wynik oznaczenia tempa proliferacji w raku piersi.

Wyniki tych badań zostały opublikowane w 9 artykułach, a także zostały zaprezentowane w 16 doniesieniach konferencyjnych.

5. Rak piersi u mężczyzn.

Badaniem objęto mężczyzn chorych na raka piersi, leczonych w latach 1976-2010 w Krakowskim Oddziale Centrum Onkologii. Oceniano w komórkach nowotworowych ekspresję receptorów steroidowych (ER, PR, AR) a także HER2, EGFR, Ki-67, cytokeratyn 5/6, wimentyny, P-kadheryny i SMA a w podścielisku guza gęstość unaczynienia krwionośnego i limfatycznego.

Analiza tego rzadkiego nowotworu doprowadziła do powstania 3 publikacji i 1 doniesienia konferencyjnego.

6. Parametry mammografii spektralnej i ich związek z cechami klinicznymi i biologicznymi.

Mammografia spektralna jest połączeniem badania rentgenowskiego piersi, jakim jest mammografia, z dożylnym podaniem środka kontrastowego. W badaniach zapoczątkowanych i prowadzonych we współpracy z dr hab. med. Elżbietą Łuczyńską kierownikiem Zakładu Radiologii i Diagnostyki Obrazowej, analizowano między innymi związek pomiędzy parametrami mammografii spektralnej a ocenianą na podstawie barwień immunohistochemicznych gęstością unaczynienia krwionośnego i limfatycznego, obecnością fibroblastów z ekspresją podoplaniny w podścielisku guza czy charakterystyką histologiczną nowotworu.

Wyniki zostały opublikowane w 4 artykułach i w 3 doniesieniach konferencyjnych.

7. Markery przejścia epitelialno-mezenchymalnego w jasnokomórkowym raku nerki.

Ostatnim tematem, w który Habilitantka była są badania nad oceną markerów przejścia epitelialno-mezenchymalnego w raku jasnokomórkowym nerki. Celem badań była ocena zależności pomiędzy tymi markerami a cechami klinicznymi oraz ich wpływem na potencjał do przerzutowania. W ramach projektu oceniano immunohistochemicznie ekspresję ZEB2, wimentyny, N- i E- kadheryny, PTEN, GLUT-1 surwiwiny i Ki-65 oraz za pomocą qPCR status mutacji w genach *KRAS* i *PIK3CA*.

Dotychczasowe wyniki zostały zaprezentowane w 1 i w 1 doniesieniu zjazdowym.

Podsumowanie dorobku naukowego:

Oprócz 6 prac będących podstawą osiągnięcia naukowego (IF=12,925) Kandydatka jest autorem/współautorem 27 prac opublikowanych w krajowych i zagranicznych czasopismach naukowych o łącznym IF = 44,188. Dodatkowo jest autorem/współautorem 4 prac oryginalnych, 4 prac poglądowych i 3 popularno-naukowych opublikowanych w krajowych i zagranicznych czasopismach naukowych nie posiadających IF. Tematyka tych prac została omówiona powyżej. Sumaryczny IF tych prac wynosi 56,824 (57,113 z pracą w suplemencie czasopisma). Punktacja KBN/MNiSW = 675. Prace były cytowane według bazy Web of Science (WOS) 192 razy, a ich Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WOS) wynosi 9. Kilka prac Hapilitantki zostały specjalnie nagrodzone (patrz wyżej).

Dr Adamczyk była Kierownikiem jednego grantu badawczego oraz była zaangażowana w realizację 3 innych grantów jako wykonawca.

Habilitantka jest autorem/współautorem 68 doniesień zjazdowych w tym 27 międzynarodowych i 41 krajowych. Spośród wymienionych wyżej doniesień, 21 streszczeń opublikowano w czasopismach naukowych a 41 streszczenia w materiałach zjazdowych.

Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne

Dr Adnieszka Adamczyk prowadzi zajęcia dydaktyczne na kierunku Kosmetologia, Wydział Turystyki i Promocji Zdrowia, Górnośląska Wyższa Szkoła Handlowa im. Wojciecha Korfanteo w Katowicach:

- od 2018 roku, przedmiot „Biologia z genetyką” dla studentów I roku;
- od 2017 do chwili obecnej prowadzenie seminariów magisterskich
- od 2016– przedmiot „Immunologia” dla studentów III roku

Kandydatka w latach: 2011-2015 prowadziła wykłady podczas kursów CMKP dla lekarzy specjalizujących się w radioterapii onkologicznej „Radiobiologia doświadczalna i kliniczna, sposoby frakcjonowania dawki promieniowania” oraz w latach: 2011, 2014, 2015 wykłady podczas kursów dla fizyków medycznych.

Dr Adamczyk była promotorem pomocniczym w jednym przewodzie doktorskim (Centrum Onkologii - Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie). W latach 2017-18 była promotorem 6 prac magisterskich (Górnośląska Wyższa Szkoła Handlowa im. Wojciecha Korfanteo w Katowicach, Wydział Turystyki i Promocji Zdrowia, Kierunek Kosmetologia). W recenzowała 9 prac w czasopismach międzynarodowych. Brał aktywny udział (sekretarz Komitetu Naukowego) w organizacji czterech edycji Konkursu Prezentacji Naukowych, skierowanego do młodych naukowców, organizowanego w głównej mierze przez Krakowskie Oddziały Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych i Polskiego Towarzystwa Onkologicznego w latach 2014, 2015, 2017 i 2018.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że cykl prac wskazany przez dr Agnieszkę Adamczyk jako osiągnięcie naukowe będące podstawą wniosku, jak i Jej pozostały dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna.

Prof. dr hab. n. med. Jacek Gronwald