

AUTOREFERAT

Dr n med. Anna Szumera-Ciećkiewicz

Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie
– Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Warszawa, 2020

Spis treści	Strona
I. Dane osobowe	3
II. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	3
III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
IV. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)	4
a. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego	4
b. (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)	4-6
c. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.	6-24
V. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.	25
a. Dane bibliometryczne – podsumowanie dorobku naukowego	25
b. Główne obszary badań naukowych	25-26
i. Nowotwory układu chłonnego i krwiotwórczego	26-34
ii. Czerniak i nowotwory skóry	35-40
iii. Nowotwory tkanek miękkich	40-43
iv. Nowotwory kości	43-47
v. Varia	47-52
c. Udział w projektach badawczych	52-54
d. Nagrody i wyróżnienia	54
VI. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.	55-56

I. Dane osobowe

Imię i nazwisko: Anna Szumera-Ciećkiewicz

Miejsce pracy:

- Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie
- Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

II. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

1998: matura, II Liceum Ogólnokształcące im. Jana III Sobieskiego w Krakowie;

2004: tytuł lekarza medycyny, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, Wydział Lekarski;

2012: tytuł lekarza specjalisty patomorfologa;

2013: tytuł doktora nauk medycznych w dziedzinie nauk medycznych, zakresie medycyny pt. „Ocena mutacji genu *EGFR* w materiale histopatologicznym i cytologicznym jako wstępny etap kwalifikacji pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca do terapii celowanej inhibitorami kinaz tyrozynowych”, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, promotor: Prof. nadzw. dr hab. n med. Monika Prochorec-Sobieszek; recenzenci: Prof. dr hab. n med. Andrzej Marszałek, Dr hab. n med. Rafał Krenke.

III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2003-2004: technik, Zakład Patologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

2004-2005: staż podyplomowy w Szpitalu Uniwersyteckim Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków oraz w Szpitalu Bielańskim, Warszawa

2005-2012: asystent, szkolenie specjalizacyjne z patomorfologii, Zakład Patologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa (aktualnie: Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa; w opisie działalności naukowej zastosowano wymiennie obie nazwy w zależności od roku publikacji)

Od 2013: adiunkt, Kierownik Pracowni Patomorfologii Cyfrowej, Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Od 2014: Kierownik Pracowni Koordynacji Badań, Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa

Staż naukowe:

1-31.08.2003: Hospital of the University of Rome “Tor Vergata”;

27.07-13.08.2002: Hospital of the University of Rome “Tor Vergata”;

1-31.07.2001: Centre Hospitalier Universitaire Bicetre, Assistance Publique Hopitaux de Paris.

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

a) Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

„Charakterystyka chłoniaka grudkowego z uwzględnieniem epidemiologii i określeniem heterogenności w badaniach translacyjnych w kontekście znaczenia klinicznego”.

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

Osiągnięcie stanowi cykl **5 prac oryginalnych**, które powstały po uzyskaniu doktora nauk medycznych i w których wnioskodawca jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Sumaryczny Impact Factor cyklu wynosi **12,074** punktów, a punktacja MNiSW **345** punktów. Dodatkowo indywidulany wkład autorski wraz z wkładem proporcjonalnym przedstawiono pod każdą z wymienionych prac.

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Gałązka K., Szpor J., Rymkiewicz G., Jesionek-Kupnicka D., Gruchała A., Ziarkiewicz-Wróblewska B., Poniatowska-Broniek G., Demczuk S., Prochorec-Sobieszek M.: Distribution of lymphomas in Poland according to World Health Organization classification: analysis of 11718 cases from National Histopathological Lymphoma Register project - the Polish Lymphoma Research Group study, w: International Journal of Clinical and Experimental Pathology, vol. 7, nr 6, 2014, ss. 3280-3286;

IF: 1,891 pkt. MNiSW: 25 pkt. (praca oryginalna)

Udział wnioskodawcy: pierwszy autor i autor korespondencyjny, stworzenie koncepcji i projektu badania, koordynacja badania, tworzenie bazy danych, współpraca przy analizie statystycznej i interpretacja wyników, przegląd piśmiennictwa, zredagowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji. Proporcjonalny wkład wnioskodawcy: 75%

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Wojciechowska U., Didkowska J., Poleszczuk J., Rymkiewicz G., Paszkiewicz-Kozik E., Sokół K., Prochorec-Sobieszek M., Walewski J.: Population-based epidemiological data of follicular lymphoma in Poland: 15 years of observation, w: Scientific Reports, Nature Publishing Group, vol. 10, nr 1, 2020, ss. 1-8, DOI:10.1038/s41598-020-71579-6

IF: 3,998 pkt. MNiSW: 140 pkt. (praca oryginalna)

Udział wnioskodawcy: pierwszy autor i autor korespondencyjny, stworzenie koncepcji i projektu badania, koordynacja badania, tworzenie bazy danych, współpraca przy analizie statystycznej i interpretacja wyników, przegląd piśmiennictwa, zredagowanie manuskryptu, przygotowanie

odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji. Proporcjonalny wkład wnioskodawcy: 70%

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Rymkiewicz G., Sokół K., Paszkiewicz-Kozik E., Borysiuk A., Poleszczuk J., Bachnio K., Bystydziński Z., Woroniecka R., Grygalewicz B., Kotarska M., Stańczak M., Owczarek D., Pytlak B., Prochorec-Sobieszek M., Walewski J.: Significance of CD10 protein expression in the diagnostics of follicular lymphoma: A comparison of conventional immunohistochemistry with flow cytometry supported by the establishment of BCL2 and BCL6 rearrangements, w: International Journal of Laboratory Hematology, vol. 42, nr 4, 2020, ss. 453-463, DOI:10.1111/ijlh.13222

IF: 2,141 pkt. MNiSW: 70 pkt. (praca oryginalna)

Udział wnioskodawcy: pierwszy autor i autor korespondencyjny, stworzenie koncepcji i projektu badania, koordynacja badania, tworzenie bazy danych, ocena barwień immunohistochemicznych, współpraca przy analizie statystycznej i interpretacja wyników, wizualizacja wyników w tym zdjęć mikroskopowych, przegląd piśmiennictwa, zredagowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji.

Proporcjonalny wkład wnioskodawcy: 75%

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Poleszczuk J., Kuczkiewicz-Siemion O., Paszkiewicz-Kozik E., Rymkiewicz G., Sokół K., Borysiuk A., Kotarska M., Kawecka M., Owczarek D., Pytlak B., Walewski J., Prochorec-Sobieszek M.: PD1 distribution pattern, regardless of the cell origin, is an independent microenvironmental prognostic factor for progression-free survival in follicular lymphoma, w: Pathology Research and Practice, vol. 216, nr 10, 2020, ss. 1-6, DOI:10.1016/j.prp.2020.153096

IF: 2,050 pkt. MNiSW: 40 pkt. (praca oryginalna)

Udział wnioskodawcy: pierwszy autor i autor korespondencyjny, stworzenie koncepcji i projektu badania, koordynacja badania, tworzenie bazy danych, ocena barwień immunohistochemicznych, współpraca przy analizie statystycznej i interpretacja wyników, wizualizacja wyników w tym zdjęć mikroskopowych, przegląd piśmiennictwa, zredagowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji.

Proporcjonalny wkład wnioskodawcy: 80%

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Poleszczuk J., Paszkiewicz-Kozik E., Rymkiewicz G., Sokół K., Borysiuk A., Kotarska M., Kawecka M., Owczarek D., Pytlak B., Walewski J., Prochorec-Sobieszek M.: EZH2 Expression in Follicular Lymphoma Is Variable and Independent from the Progression of Disease Within 24 Months of First Treatment, w: ANTICANCER RESEARCH 40: xxx-xxx (2020)

doi:10.21873/anticancerres.11xxx. Praca przyjęta do druku w numerze grudniowym (12) 2020 ANTICANCER RESEARCH (dołączono poświadczenie z redakcji).

IF: 1,994 pkt. MNiSW: 70 pkt. (praca oryginalna)

Udział wnioskodawcy: pierwszy autor i autor korespondencyjny, stworzenie koncepcji i projektu badania, koordynacja badania, tworzenie bazy danych, ocena barwień immunohistochemicznych, współpraca przy analizie statystycznej i interpretacja wyników, wizualizacja wyników w tym zdjęć mikroskopowych, przegląd piśmiennictwa, zredagowanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji.

Proporcjonalny wkład wnioskodawcy: 80%

- c) Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wstęp

Epidemiologia chłoniaka grudkowego

Chłoniak grudkowy (*Follicular Lymphoma*; FL) jest jednym z najczęstszych chłoniaków nieziarniczych (*Non-Hodgkin Lymphoma*; NHL), a jego odsetek zachorowań różni się w zależności od regionu geograficznego. W Europie Zachodniej i USA FL stanowi 20-40% wszystkich NHL, podczas gdy w Europie Wschodniej, Azji i krajach rozwijających się jego rozpowszechnienie jest około trzykrotnie niższe. FL dotyczy głównie dorosłych w średnim wieku (mediana 60 lat), z nieco wyższym współczynnikiem zapadalności u kobiet. W krajach zachodnich trend wzrostowy zachorowalności na NHL, przypisuje się głównie zwiększającej się zapadalności na FL. Jednym z głównych czynników ryzyka predysponujących do rozwoju FL jest ekspozycja na duże dawki pestycydów i herbicydów, które mogą indukować translokację genu *BCL2* t(14;18)(q32;q21). Heterogenność FL stanowi istotne wyzwanie diagnostyczne i terapeutyczne – spektrum FL obejmuje zarówno zmiany *in situ* i formy indolentne jak również postacie agresywne, transformujące w rozlanego chłoniaka z dużych komórek B, nieokreślonego inaczej (*Diffuse Large B-cell Lymphoma, Not Otherwise Specified*; DLBCL, NOS). Histopatologicznie, FL składa się z komórek B wywodzących się z centrów proliferacyjnych grudek chłonnych i zawiera centrocycy oraz centroblasty, które prawie zawsze wykazują choć ogniskowy grudkowy wzorec wzrostu. Bezwzględna liczba centroblastów przypadających duże pole widzenia musi zostać oceniona przez patomorfologa w celu określenia histologicznego stopnia złośliwości (*Grade, G*), który znajduje odzwierciedlenie w Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób dla Onkologii (*International Classification of Diseases-Oncology*; ICD-O-3). Większość przypadków to chłoniaki o niskim stopniu złośliwości (G1/G2), podczas gdy podtypy wysokim stopniu złośliwości (G3) są rzadsze i stanowią około 10–20% przypadków. Częstość występowania stopnia 3A w porównaniu z 3B nie została dogłębnie zbadana. FL G3B jest rzadki i biologicznie jest bliżej spokrewniony z DLBCL, NOS; klinicznie objawia się wyższą śmiertelnością krótszym

czasem remisji po chemioterapii. Przypadki bez specyfikacji stopnia (nieokreślone inaczej, NOS) są aktualnie klasyfikowane łącznie z tzw. pediatrycznym FL. Ponadto, w poprawionej 4 edycji klasyfikacji nowotworów tkanek krwiotwórczych i limfoidalnych Światowej Organizacji Zdrowia (*World Health Organization*, WHO) wydzielono także neoplazję grudkową *in situ* (ISFN), wcześniej określaną jako chłoniak grudkowy *in situ*. W reaktywnych węzłach chłonnych ISFN występuje w około 3% przypadków i wiąże się z niskim wskaźnikiem progresji klinicznej.

Dotychczas opublikowano jedynie pojedyncze badania epidemiologiczne dotyczące FL w Polsce. Co więcej obecny stan wiedzy opiera się prawie wyłącznie na danych przedstawionych w ramach projektu HAEMACARE dla Europy, który obejmował zaledwie 10% populacji Polski (dane z 3 lokalnych rejestrów).

Badania translacyjne w chłoniaku grudkowym

Etiopatogeneza FL bazuje na transformacji limfocytów B ośrodków rozmnażania, poprzez szlak aktywowany translokacją t(14;18)(q32;q21) z udziałem genów *BCL2* i *IGH*. Większość przypadków chłoniaka grudkowego ma klasyczny immunofenotyp obejmujący pozytywną ekspresję antygenów pan B (CD20, CD19, CD22 i CD79a) oraz CD10, BCL6 i BCL2 oraz brak markerów CD5, cykliny D1 i CD43. Histopatologicznie FL charakteryzuje się niejednorodną prezentacją; oprócz przypadków o typowej morfologii, immunofenotypie i cechach genetycznych, występują zmiany prekursorowe tj. ISFN i formy agresywne transformujące do DLBCL, NOS. Ponadto, w około 10% FL spotykane są architektoniczne lub cytologiczne cechy różnicowania plazmocytoidnego, monocytoidnego lub spotykanego w chłoniakach strefy brzeżnej.

Utkanie FL zawiera nie tylko grudki z nowotworowymi limfocytami B, ale także liczne towarzyszące komórki podścieliska, w tym limfocyty T, makrofagi, komórki dendrytyczne i tuczne. Koncepcja patogenezy i progresji FL w głównej mierze opiera się na funkcjonalnych oddziaływaniach między komórkami nowotworowymi a składnikami mikrośrodowiska. W wielu badaniach stwierdzono, że mikrośrodowisko odgrywa kluczową rolę w patogenezie, przebiegu i odpowiedzi na terapię FL. W ostatnich latach podkreślono złożoność interakcji komórek zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną związaną z FL. Głębsze zrozumienie szlaków regulacji immunologicznej i interakcji w mikrośrodowisku FL pozwoliło na wdrożenie nowych leków opartych na modulacji immunologicznej. Jego znaczenie zostało potwierdzone obiecującymi wynikami połączenia immunoterapii (niwolumab lub pembrolizumab) z rytuksymabem w leczeniu chorych na FL w badaniach II fazy. Z tego powodu duże zainteresowanie budzi rola inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych, przede wszystkim ekspresji receptora programowanej śmierci komórki 1 (*Programmed Death Receptor 1*; PD-1) i jego liganda (*Programmed Death Receptor 1 Ligand*; PD-L1). Drugim obiecującym punktem uchwytu terapii celowanej w FL ulegającemu progresji lub wznowie jest blokada szlaku prowadzącego przez metylotransferazę EZH2 (*Enhancer of Zeste Homolog 2*). Ocena statusu EZH2 jest wiodącym markerem predykcyjnym dla ukierunkowanego wyboru leczenia (tazemetostat). W najnowszej modyfikacji Międzynarodowego Indeksu Prognostycznego Chłoniaków Grudkowych (*Molecular 7 Follicular Lymphoma*

International Prognostic Index; m7FLIPI) mutacja *EZH2* została włączona jako korzystny czynnik rokowniczy. Niemniej jednak w rutynowej diagnostyce histopatologicznej profil m7FLIPI nadal nie jest rutynowo oceniany. Równocześnie pojawiło się wiele prac wskazujących na znaczenie ekspresji białka *EZH2* na komórkach nowotworowych w tym w chłoniakach nieziarniczych oraz licznych nowotworach litych; wyniki większości publikacji wskazują, iż wysoka ekspresja *EZH2* jest związana z niekorzystnym i bardziej agresywnym przebiegiem. Dokumentacja obrazująca charakterystykę profilu ekspresji *EZH2* w ocenie immunohistochemicznej z uwzględnieniem znaczenia rokowniczego jest dość skąpa a większość wyników sprzeczne; prawdopodobnie jest to związane ze złożonością szlaku wiodącego przez oś *EZH2* i jego wieloczynnikową modulacją.

Celem projektu było określenie charakterystyki epidemiologicznej chłoniaka grudkowego w Polsce przeprowadzonej w odniesieniu do histopatologicznej weryfikacji rozpoznań (praca pierwsza i druga) oraz badania translacyjne obejmujące komórki chłoniaka grudkowego i mikrośrodowiska w kontekście ich znaczenia klinicznego (praca trzecia, czwarta i piąta).

- ✓ **Pierwsza praca:** Szumera-Ciećkiewicz A., Gałązka K., Szpor J., Rymkiewicz G., Jesionek-Kupnicka D., Gruchała A., Ziarkiewicz-Wróblewska B., Poniatowska-Broniek G., Demczuk S., Prochorec-Sobieszek M.: Distribution of lymphomas in Poland according to World Health Organization classification: analysis of 11718 cases from National Histopathological Lymphoma Register project - the Polish Lymphoma Research Group study, w: *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, vol. 7, nr 6, 2014, ss. 3280-3286;

Celem pracy było przedstawienie częstości występowania chłoniaków w Polsce na podstawie danych z Krajowego Rejestru Histopatologicznego Chłoniaków (KRHC) oraz porównanie ich dystrybucji względem Europy, Ameryki Północnej i Południowej. Ponadto zrewidowano częstość występowania indolentnych i agresywnych B-komórkowych chłoniaków nieziarniczych. Do analizy porównawczej wykorzystano wyniki opublikowane w ramach realizacji projektów HAEMACARE, GLOBOCAN 2008, Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem oraz pracy autorstwa Laurini JA et al.

Chłoniaki stanowią niejednorodną grupę nowotworów o zmiennej zapadalności, etiologii i rokowaniu. Badania populacyjne większości rejestrów nowotworów stosują klasyfikację obejmującą jedynie dwie kategorie chłoniaka Hodgkina (*Hodgkin Lymphoma*; HL) i chłoniaki nieziarnicze. Oddzielnie kodowane są również rozrosty z komórek plazmatycznych i białaczki. Tylko niektóre rejestry opcjonalnie zbierają dane zgodnie z ICD-O-3 zbieżną z klasyfikacją WHO, która dla patomorfologów i klinicystów jest podstawowym sposobem definiowania nowotworów. Krajowy Rejestr Histopatologiczny Chłoniaków został uruchomiony w 2006 roku przy wsparciu Krajowego Programu Zwalczania Chorób Nowotworowych oraz we współpracy z Polską Grupą Badawczą Chłoniaków i Sekcją Hematopatologii Polskiego Towarzystwa Patologów.

W badaniu przeprowadzonym w latach 2007-2012 zebrano dane kliniczne i wyniki histopatologiczne wraz z określeniem rodzaju ocenianego materiału, wynikami badań dodatkowych m.in. immunohistochemii, cytometrii przepływowej, badań molekularnych oraz rozpoznaniem zakodowanym zgodnie z ICD-O-3. Wszystkie powyższe dane oraz rozpoznania histopatologiczne zostały zweryfikowane przez patomorfologów specjalizujących rozpoznawaniu nowotworów układu chłonnego. W badaniu KRHC było zaangażowanych 24 zakładów patologii podzielonych na 4 kategorie według liczby zgłoszonych pacjentów: ≥ 500 (8 ośrodków), 300-500 (8 ośrodków), 100-299 (4 ośrodki), < 100 (4 ośrodki). Całkowita liczba zgłoszonych pacjentów wyniosła 14 792. Wykluczaliśmy przypadki: z prekursorowych nowotworów limfoidalnych z komórek B i komórek NK/T, o niepełnej rejestracji i zduplikowane zgłoszenia. Wszystkie niejednoznaczne i niepełne wyniki histopatologiczne zostały ponownie omówione w celu wyjaśnienia rozbieżności. Ostateczna liczba pacjentów zakwalifikowanych do analizy wynosiła 11 718. Najwyższa zapadalność przypadała na szóstą, siódmą i ósmą dekadą życia i była równa odpowiednio 22,4%, 23,6% i 23,6% dla wszystkich zgłoszonych przypadków. Ogólny stosunek kobiet do mężczyzn wynosił 0,85. Według KRHC trzema najczęstszymi typami NHL w Polsce były DLBCL, NOS (32,9%; 2587), przewlekła białaczka limfocytowa/chłoniak z małych limfocytów (*Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma*; CLL/SLL; 31,84%; 2504) i chłoniak z komórek płaszczu (*Mantle Cell Lymphoma*; MCL; 9,04%; 711). Stosunek indolentnych do agresywnych NHL wynosił 1,72 co odpowiadało odpowiednio 63,25% (4809) vs. 36,25% (2794) przypadków, a uzyskany wynik był zbliżony do wskaźników dla populacji Europy i Ameryki Północnej. Największą różnicę w rozkładzie NHL między Polską w porównaniu z Europą i Ameryką Północną zaobserwowano względem częstości występowania FL: odpowiednio 4,89% vs. 16,6% i 33,8%. Dane z projektu GLOBOCAN pozwoliły na porównanie częstości zachorowań na NHL, HL i szpiczaka; w KRHC dominującą grupą była NHL (73,31%), pacjenci z HL stanowili 13,37% natomiast rozpoznanie szpiczaka potwierdzono jedynie u 13,32%. W porównaniu do wyników dla Europy, Ameryki Północnej i Krajowego Rejestru Nowotworów jest to niemal dwukrotnie niższa zapadalność. Podobną tendencję widać dla CLL/SLL. Przypuszczalnie ma to związek z modelem diagnostyki szpiczaka i CLL/SLL, które często rozpoznaje się na podstawie obrazu klinicznego, badań laboratoryjnych i obrazowych, przy wsparciu cytometrii przepływowej i z pominięciem diagnostyki histopatologicznej szpiku bądź węzła chłonnego. Częstość występowania NHL była porównywalna: KRHC 92,21%; HAEMACARE 92,08%; Ameryka Środkowa i Południowa 87,3%; Ameryka Północna 90,4%. Różnica w dystrybucji chłoniaków indolentnych i agresywnych oraz podtypów NHL była najbardziej istotna między Ameryką Środkową i Południową a Ameryką Północną i Europą. Model zachorowań z przewagą agresywnych chłoniaków DLBCL, NOS i MCL pozwala zaliczyć Polskę do krajów rozwijających się. Ponownie odnotowano istotnie niższy odsetek FL w porównaniu do danych z Ameryki Północnej (4,89% vs. 33,8%), gdzie jest to aktualnie najczęstszy chłoniak. Dla porównania w Europie Zachodniej zapadalność na FL wynosi 16,6%. Pozawęzłowy chłoniak strefy brzeżnej systemu MALT (*Marginal Zone B-cell Lymphoma of the Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*; MALT) jest trzecim najczęściej występującym podtypem NHL w Ameryce

Środkowej i Południowej, stanowiąc 6,9%; w Ameryce Północnej ogólna częstość MALT jest podobna (6,3%). W Polsce ten podtyp chłoniaka nie był powszechnie rozpoznawany i stanowił jedynie 3,3%. Ponadto istotne różnice statystyczne między wynikami KRHC i HAEMACARE zaobserwowano w grupie niezdefiniowanych nowotworów układu chłonnego bez ostatecznego rozpoznania histopatologicznego (0,46% vs. 21,66%).

Podsumowując analiza 11 718 przypadków chłoniaków sklasyfikowanych na podstawie ICD-O-3 zgodnie z wytycznymi WHO i pod nadzorem patomorfologów jest pierwszym, tak znaczącym badaniem obejmującym populację Polski. Dotychczas jedynym źródłem danych określających zachorowalność na nowotwory układu chłonnego były podsumowania publikowane przez Krajowy i Regionalne Rejestry Nowotworów. Istotne różnice między wynikami KRHC a badaniami europejskimi i amerykańskimi dotyczą dystrybucji podtypów NHL. W naszym badaniu zanotowano wyższą zapadalność na agresywne chłoniaki z komórek B, w tym DLBCL, NOS i MCL oraz istotnie niższą częstość występowania FL i MALT. Dzięki bezpośredniemu zaangażowaniu patomorfologów w zbieranie danych w KRHC odsetek nieokreślonych nowotworów układu chłonnego był niski (<1% wszystkich rozpoznań). Praca ta była inspiracją do podjęcia głębszej analizy populacyjnej dotyczącej epidemiologii chłoniaka grudkowego.

- ✓ **Druga praca:** Szumera-Ciećkiewicz A., Wojciechowska U., Didkowska J., Poleszczuk J., Rymkiewicz G., Paszkiewicz-Kozik E., Sokół K., Prochorec-Sobieszek M., Walewski J.: Population-based epidemiological data of follicular lymphoma in Poland: 15 years of observation, w: Scientific Reports, Nature Publishing Group, vol. 10, nr 1, 2020, ss. 1-8, DOI:10.1038/s41598-020-71579-6

Niniejsze badanie miało na celu kompleksową ocenę epidemiologiczną FL w Polsce. Do analizy wykorzystano dane z lat 2000-2014 pochodzące z Krajowego Rejestru Nowotworów, ogólnopolskiego, populacyjnego rejestru nowotworów gromadzącego informacje z 16 wojewódzkich jednostek. Zastosowano podwójny system kodyfikacji według ICD-O-3 i 10 rewizji Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych (*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*; ICD-10). Dzięki temu możliwe było dokładne określenie FL względem histopatologicznego stopnia złośliwości stosując następującą kodyfikację odpowiednio wg ICD-10 i ICD-O-3: FL G1 9695/3 i C82.0, FL G2 9691/3 i C82.1, G3 - 9680/3 i C82.2, G3A - C82.3 oraz G3B - C82.4. Odsetek przypadków potwierdzonych histopatologicznie i kompletność rejestracji przekroczył 90%. Główny Urząd Statystyczny był źródłem danych dotyczących umieralności z powodu nowotworów (na podstawie aktów zgonu) oraz liczebności i struktury populacji Polski według płci i 5-letnich grup wiekowych dla każdego roku obserwacji. Liczba przypadków, procenty, współczynniki surowe i standaryzowane według wieku i płci zostały obliczone na podstawie skorygowanej europejskiej populacji standardowej z 2014 r.

Spośród wszystkich nowych przypadków NHL zgłoszonych podczas 15-letniej obserwacji FL stanowił 6,3%; 5,6% u mężczyzn i 6,9% u kobiet. FL zajmował czwarte miejsce wśród wszystkich zdiagnozowanych NHL z dojrzałych komórek B i miał wskaźnik zapadalności $0,87/10^5$. Nasza analiza okazała się zatem zgodna z wynikami otrzymanymi w pierwszej pracy. Nie zaobserwowaliśmy istotnego trendu w standaryzowanych współczynnikach zachorowalności na FL dla całej badanej populacji ($p=0,34$), natomiast był widoczny nieznaczny spadek w grupie mężczyzn ($p=0,07$) i znaczne zwiększenie zapadalności wśród kobiet ($p<0,001$). Standaryzowany współczynnik zachorowalności w badanym okresie wzrósł o około 50% w populacji kobiet, z $0,6/10^5$ do $0,9/10^5$. W 2014 roku w Polsce standaryzowany współczynnik śmiertelności dla chorych na FL wynosił $0,59/10^5$ dla mężczyzn i $0,37/10^5$ dla kobiet. Wyższą śmiertelność mężczyzn stwierdzono w całym okresie obserwacji; w latach 2000 i 2014 różnice w umieralności mężczyzn i kobiet wynosiły odpowiednio ponad 55% i 46%. Śmiertelność mężczyzn i kobiet nie wykazywała istotnych trendów, a wartości standaryzowanego współczynnika śmiertelności wynosiły $0,43-0,76/10^5$ dla mężczyzn i $0,25-0,44/10^5$ dla kobiet. Rozkład morfologicznych podtypów FL wskazywał na wysoki odsetek przypadków nieokreślonych (NOS), które stanowiły około 70%. FL indolentne (G1 i G2) dotyczyły 48% i 18% przypadków natomiast ponad jedną trzecią obejmowały histologicznie agresywne FL (G3). FL rozpoznawano przede wszystkim u dorosłych, ze średnią wieku 61 lat (60 lat dla mężczyzn i 61 lat dla kobiet). Według uzyskanych wyników tylko około 10% zachorowań odnotowano przed 40 rokiem życia. Najwięcej zachorowań u mężczyzn występowało między 75 a 99 rokiem życia, natomiast u kobiet między 65 a 74 rokiem życia. Wskaźniki zachorowalności na FL były podobne w populacji kobiet i mężczyzn w prawie wszystkich grupach wiekowych, z wyjątkiem przedziałów wiekowych 65-74 i 75-99 lat, gdzie zapadalność jest wyższa w populacji mężczyzn niż kobiet o 22% oraz 41% odpowiednio. Częstość występowania FL w poszczególnych grupach wiekowych wykazywała podobny rozkład jak pozostałe NHL za wyjątkiem DLBCL, NOS, który najczęściej obejmował pacjentów w zaawansowanym wieku (>75 lat).

Uprzednio argumentowano, że niskie wskaźniki zachorowalności zarówno na nowotwory układu chłonnego i krwiotwórczego w porównaniu z Europą Zachodnią mogą być zaniżone w związku z niepełnym procesem rejestracji nowych przypadków. Nasze badanie miało charakter populacyjny, a przypadki potwierdzone histopatologicznie i kompletność gromadzonych danych przekroczyła 90%. W analizie HAEMACARE standaryzowany współczynnik zapadalności na FL dla pacjentów w wieku do 54 lat z Europy Wschodniej był podobny jak w innych częściach Europy, natomiast mniejszą zapadalność obserwowano w grupie wiekowej 75-99 lat. Nasze wyniki nie potwierdziły tej obserwacji; największą liczbą zachorowań u mężczyzn występowała między 75 a 99 rokiem życia, podczas gdy u kobiet między 65 a 74 rokiem życia. Wydaje się, że zapadalność na FL nie jest też niższa ze względu na krótszą długość życia w Polsce lub obniżenie dostępu do diagnostyki dla pacjentów w podeszłym wieku.

Różnice w zapadalności na FL pomiędzy populacjami Europy Zachodniej i Wschodniej mogą być związane ze zmienną ekspozycją na czynniki ryzyka, m.in. długotrwałym narażeniem na pestycydy. Zwiększona

zapadalność na FL istotnie koreluje m.in. z działaniem lindanu (*izomer gamma 1,2,3,4,5,6-heksachlorocykloheksanu*; HCH) insektycydu, którego użycie zostało zakazane na całym świecie w 2009 roku. Po II wojnie światowej lindan był szeroko rozpylany w Europie i USA, a niebezpieczne odpady powstające w wyniku jego syntezy były składowane w wielu miejscach. Uwalniane toksyczne, rozpuszczalne w wodzie i przenikające do gleby zanieczyszczenia HCH ulegają bioakumulacji w łańcuchu pokarmowym. Według najnowszego raportu środowiskowego Polska jest krajem borykającym się z trwałymi zanieczyszczeniami organicznymi lecz ich skala jest znacznie niższa niż w innych krajach europejskich, tj. Niemczech, Holandii, Hiszpanii, Francji czy Czechach. Wieloczynnikowe analizy statystyczne czynników etiologicznych wpływających na zachorowania na FL wskazują, iż palenie papierosów wiąże się ze zwiększonym ryzykiem w przeciwieństwie do większego spożycia alkoholu, które skutkuje obniżeniem współczynników zapadalności na FL. Nawyki palenia w krajach Europy Wschodniej zmieniają się dynamicznie. Obecnie Polska znajduje się w pierwszej dziesiątce krajów na świecie z największym rocznym spadkiem rozpowszechnienia palenia u obu płci; jednak nadal ponad 8 milionów Polaków pali codziennie. Równocześnie Polska nieprzerwanie należy do jednego ze światowych liderów spożycia czystego alkoholu, o utrzymującym się trendzie wzrostowym. W przeciwieństwie do krajów Europy Zachodniej i USA w Polsce brakuje wielkoskalowych badań molekularnych i genetycznych pozwalających na szerszą dyskusję nad wpływem ich wyników na niską zachorowalność na FL. Nasze badanie zostało przeprowadzone w erze rytuksymabu więc wydaje się, że wpływ leczenia miał minimalne znaczenie na śmiertelność. Ponadto warto podkreślić, iż standaryzowany współczynnik umieralności dla FL w Polsce w 2014 roku jest podobny do danych publikowanych przez U.S. National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results Program (SEER). W naszej analizie opisano wyższą śmiertelność wśród mężczyzn w porównaniu z kobietami - różnice sięgają do 50%. Zjawisko to można lepiej zrozumieć, jeśli weźmiemy pod uwagę fakt, że najwięcej zachorowań u mężczyzn występuje między 75 a 99 rokiem życia, podczas gdy u kobiet o dekadę wcześniej (między 65 a 74 rokiem życia). Bardziej zaawansowany wiek przypuszczalnie wpływa na ograniczenie możliwości terapeutycznych z powodu nakładających się chorób współistniejących.

Podsumowując, nasze badanie potwierdza, że Polska należy do grupy krajów o niskim współczynniku zachorowalności na FL. Nasze wyniki bazujące na danych KRN obejmujące 15 lat obserwacji przy ścisłej współpracy z patomorfologami stanowią wiarygodne źródło epidemiologicznej charakterystyki FL. Wzrastający trend zapadalności na FL u kobiet jest wyraźny, ale nadal niższy niż w Europie Środkowej i Zachodniej. Śmiertelność w przypadku FL w Polsce utrzymuje się na stałym poziomie natomiast porównanie z innymi krajami europejskimi jest utrudnione ze względu na różne metody prezentacji danych. Dane epidemiologiczne dotyczące FL w Polsce stanowią istotną inspirację do dalszych badań mających na celu zidentyfikowanie czynników ryzyka w naszej populacji. W pracach trzeciej, czwartej i piątej przeprowadzono badania translacyjne w celu lepszego zrozumienia charakterystyki komórek FL, ich interakcji z mikrośrodowiskiem i znaczenia klinicznego.

- ✓ **Trzecia praca:** Szumera-Ciećkiewicz A., Rymkiewicz G., Stanienda-Sokół K., Paszkiewicz-Kozik E., Borysiuk A., Poleszczuk J., Bachnio K., Bystydzieński Z., Woroniecka R., Grygalewicz B., Kotarska M., Stańczak M., Owczarek D., Pytlak B., Prochorec-Sobieszek M., Walewski J.: Significance of CD10 protein expression in the diagnostics of follicular lymphoma: A comparison of conventional immunohistochemistry with flow cytometry supported by the establishment of BCL2 and BCL6 rearrangements, w: International Journal of Laboratory Hematology, vol. 42, nr 4, 2020, ss. 453-463, DOI:10.1111/ijlh.13222

Celem tego badania było przedstawienie różnic ekspresji CD10 w FL ocenianej za pomocą analizy immunohistochemicznej (IHC) w porównaniu z cytometrią przepływową (FCM). Omówiliśmy możliwe przyczyny uzyskania rozbieżnych wyników i wyodrębniliśmy zalety i wady każdej metody wykrywania CD10. Ponadto przeanalizowaliśmy charakterystyczne cechy immunofenotypowe komórek FL uzyskanych w kontekście rearanżacji genów *BCL2* i *BCL6*, wyników oceny kariotypów oraz danych klinicznych.

CD10 (inaczej: *Common Acute Lymphoblastic Leukemia Antigen*; CALLA) jest diagnostycznie istotnym markerem powierzchniowym FL i jest wykrywany w około 70% przypadków. Początkowo nie było dostępne swoiste przeciwciało do badań immunohistochemicznych, a wyniki wykazywały dużą zmienność ekspresji CD10 (od 20% do 100%). Sytuacja poprawiła się dopiero po 1999 roku, kiedy wprowadzono przeciwciało monoklonalne (klon 56C6) do użycia na skrawkach histologicznych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (*Formalin-Fixed Paraffin-Embedded*; FFPE). Niemniej jednak, CD10 może być ujemny w obszarach różnicowania w kierunku strefy brzeżnej, naciekach FL w szpiku kostnym lub w wyższych histologicznych stopniach złośliwości FL (G3). W tych przypadkach spotykane są dodatnie odczyny z CD43 i FOXP1 i częściej odnotowuje się brak ekspresji *BCL2* oraz rearanżacji *BCL2*. Pomimo powyższych ograniczeń CD10 jest nadal rekomendowany przez WHO jako najważniejszy antygen w diagnostyce histopatologicznej FL. Pozostałe markery identyfikujące pochodzenie z ośrodków rozmnażania, tj. LMO2, GCET1 i HGAL, ulegają tylko częściowej ekspresji i nie są w pełni zalecane w rutynowej diagnostyce.

W badaniu przeanalizowano 76 pacjentów z FL podzielonych na dwie kohorty ze względu na obecność [CD10(+)] lub brak [CD10(-)] ekspresji antygenu CD10. W analizie uwzględniono dane kliniczne: wiek, płeć, poziom dehydrogenazy mleczanowej (*Lactate Dehydrogenase*; LDH) i hemoglobiny, stopień zaawansowania wg Ann Arbor, Follicular Lymphoma International Prognostic Index 1 (FLIPI-1I), FLIPI-2, odsetki limfocytów, monocytów i neutrofilii w krwi obwodowej. Analiza objęła dane histopatologiczne tj. stopień histologicznej złośliwości, podtyp architektoniczny (rozlany, grudkowy, mieszany) i immunofenotyp (CD10, CD20, MUM1, BCL2, BCL6, CD5, Ki67). Wyniki barwień immunohistochemicznych porównano z immunoprofilem określonym w cytometrii przepływowej i oceną w badaniach genetycznych (cytogenetyka/kariotyp oraz fluorescencyjna hybrydyzacja in situ; FISH). Klinicznie istotną różnicę zaobserwowano dla wieku rozpoznania: FL CD10(-) występowały znamienne częściej u starszych pacjentów (mediana 69 lat vs. 49 lat; $p<0,002$)

oraz charakteryzowały się wyższą częstością histologicznie agresywnych postaci ($p < 0,001$). Analiza pozostałych danych klinicznych i morfologii krwi obwodowej nie wykazała istotności statystycznej. Mediana czasu trwania obserwacji dla kohort FL CD10(-) i CD10(+) wynosiła odpowiednio 4 lata i 6,3 lat, z maksymalnymi wartościami 16,1 i 19 lat. Pomimo, że kohorta CD10(-) miała bardziej niekorzystny rozkład kofaktorów, nie zaobserwowaliśmy żadnych istotnych różnic w całkowitym przeżyciu (*Overall Survival*; OS). Analiza ekspresji CD10 wykazała, niemal idealną zgodność pomiędzy oceną we wszystkich metodach. Rozbieżności dotyczyły tylko u 1 pacjenta przy porównaniu FCM z IHC. Przyczyną powyższej obserwacji była ogniskowa, brzeżna reakcja w barwieniu immunohistochemicznym. Wszystkie przypadki FL były CD20 dodatnie, a ekspresję CD10 stwierdzono u 77,6% przypadków. Analiza w podgrupach pozwoliła nam wykazać wyższą ekspresję MUM1 w przypadkach CD10 ujemnych ($p < 0,001$). Najczęstszy immunofenotyp FL CD10(+) oceniany w FCM charakteryzował się: CD45 (+) / CD19 (+) słabszy / CD20 (+) wyższy / CD22 (+) / CD10 (+) / BCL2 (+) wyższy / CD43 (-) / CD44 (+/-) słabsze / dim / CD38 (+) / CD79 β (+) / CD81 (+) wyższe / λ (+) / IgD (-), IgM (+), IgG (-) / FMC7 (+) słabsze / CD5 (-) / CD11c (-) / CD23 (-) / CD25 (+/-) / CD62L (+) / HLA-DR (+) dim / CD52 (+) wyżej / CD49d (+) / CD54 (+) wyżej / CD200 (-) / CD305 (-). Przypadki CD10 (-) FL miały tendencję do zmniejszonej ekspresji BCL2 i zwiększonej ekspresji CD5, CD11c, CD25, CD43 i CD44. Kariotypy uzyskano w 15 z 22 (70%) przypadków FL. W 11 przypadkach były to kariotypy złożone (>2 aberracje), charakteryzowały się licznymi aberracjami (od 6 do 41, średnio 13) i obejmowały kilka chromosomów. W 3 przypadkach kariotyp był prosty (≤ 2 aberracje), a w 1 przypadku kariotyp. Dziewięć przypadków wykazało typową translokację t(14;18). W kariotypach zaobserwowano większą częstość występowania zmian +X, del(6)(q21) i dup(1)(q25;q44). Badanie FISH wykazało *IGH-BCL2* lub *BCL2R* (rearanżację; R) w 13 z 21 pacjentów (62%) (w 11 przypadkach tylko *BCL2R*, w 2 przypadkach *BCL2R* i *BCL6R*). W trzech przypadkach bez *IGH-BCL2* lub *BCL2R* zaobserwowano dodatkowe kopie *BCL2*. Całkowita liczba przypadków ze zmianami *IGH-BCL2* lub *BCL2* wyniosła 16 z 21 przypadków (76%). *BCL6R* (w 4 przypadkach (24%) jako zmiana izolowana, w 2 przypadkach (12%) współwystępowanie z *BCL2R*) lub dodatkowe kopie *BCL6* zidentyfikowano w 7 z 17 przypadków (41%). Stwierdziliśmy, iż FL CD10(-) wykazywały immunohistochemicznie słabsze barwienie z BCL2 a zależność ta była również widoczna w postaci niewielkiego odsetka przypadków z rearanżacją genu *BCL2*. W naszym badaniu wśród pacjentów bez *BCL2R* 50% miało histologiczny stopień złośliwości G3A, a 50% stopień G2. Ponadto w grupie FL CD10(-) zidentyfikowaliśmy aż w około 30% przypadków z rearanżacją *BCL6R*.

Podsumowując, zgodnie z przedstawionymi danymi potwierdziliśmy, że barwienie IHC klonem 56C6 jest metodą porównywalną do FCM w ocenie ekspresji CD10 i rozpoznawaniu FL. Rutynowe badanie histopatologiczne węzłów chłonnych z badaniem IHC pozostaje metodą diagnostyczną FL w większości ośrodków hematologicznych. Pomimo morfologicznych różnic FL ma charakterystyczny immunofenotyp w FCM. Jest to metoda szczególnie przydatna w uzyskiwaniu materiału do diagnostyki z trudno dostępnych lokalizacji, np. powiększonych węzłów chłonnych przestrzeni zaotrzewnowej. Pozwala również na pozyskanie

zawiesiny żywych komórek, które można wykorzystać do określenia kariotypu. Przypadki CD10 ujemne są częściej identyfikowane wśród histologicznie agresywnych FL jednakże wpływ ekspresji CD10 na OS pozostaje ograniczony.

- ✓ **Czwarta praca:** Szumera-Ciećkiewicz A., Poleszczuk J., Kuczkiewicz-Siemion O., Paszkiewicz-Kozik E., Rymkiewicz G., Stanienda-Sokół K., Borysiuk A., Kotarska M., Kawecka M., Owczarek D., Pytlak B., Walewski J., Prochorec-Sobieszek M.: PD1 distribution pattern, regardless of the cell origin, is an independent microenvironmental prognostic factor for progression-free survival in follicular lymphoma, w: Pathology Research and Practice, vol. 216, nr 10, 2020, ss. 1-6, DOI:10.1016/j.prp.2020.153096

Badanie miało na celu określenie wpływu mikrośrodowiska, w tym osi PD-1/PD-L1 na przebieg kliniczny FL. Przedstawiono charakterystykę profilu komórek T CD4/CD8 i makrofagów towarzyszących nowotworowi (*Tumor-Associated Macrophages*; TAMs), ich rozmieszczenie i liczebność w kontekście znaczenia prognostycznego dla grup pacjentów pozostających wyłącznie pod obserwacją (*Watch&Wait*; W&W) oraz zakwalifikowanych do immunochemioterapii.

Dotychczas wyniki dotyczące znaczenia prognostycznego ekspresji PD-1 na populacji pomocniczych limfocytów T w FL są sprzeczne; początkowo zostały one opisane jako niezależny niekorzystny czynnik prognostyczny, jednakże kolejnych pracach stwierdzono, iż zwiększony naciek limfocytów T PD-1(+) nie miał wpływu lub wręcz sprzyjał lepszemu rokowaniu. Sprzeczne wnioski mogą być spowodowane różnicami w kryteriach włączenia pacjentów, postępowaniu klinicznym lub brakiem standaryzacji technik stosowanych do oceny komórek PD-1(+). Ekspresję PD-L1 na komórkach FL stwierdzono w nielicznych opracowaniach; stanowiła ona poniżej 10% FL ogółem i była opisywana głównie przypadkach o wyższym histologicznym stopniu złośliwości lub w przebiegu transformacji w DLBCL, NOS.

W naszej pracy w barwieniach immunohistochemicznych oceniono następujące antygeny PD-1, PD-L1, CD3, CD4, CD8, CD163, CD68-PGM1, CD68KP1, CD57. Analizę przeprowadzono uwzględniając gęstość (wyrażona w odsetku dodatnich komórek przypadających na całkowite pole powierzchni FL) jak i rozmieszczenie pozytywnie wybarwionych komórek (wewnątrzguzkowe, okołoguzkowe, międzyguzkowe, rozlane). W naszym badaniu do oceny włączono grupę 71 pacjentów z FL, ze stosunkiem mężczyzn do kobiet 0,48 i medianą wieku 52 lata (zakres: 22-88 lat, SD=14,4). Wszystkie przypadki zostały ponownie sklasyfikowane zgodnie z zaleceniami diagnostycznymi 4 rewizji klasyfikacji WHO nowotworów układu chłonnego i krwiotwórczego. Uwzględniono przypadki z potwierdzonym histopatologicznie rozpoznaniem FL stopnia 1, 2 lub 3A, z reprezentatywnym materiałem histopatologicznym pochodzącym z nieleczonego wcześniej węzła chłonnego i dostępnością do danych klinicznych. Różnice statystyczne między kohortą W&W i leczoną immunochemioterapią stwierdzono dla stopnia zaawansowania Ann Arbor i skali FILIP-1 (odpowiednio $p<0,001$ i $p<0,002$). Nie stwierdziliśmy różnic w całkowitym czasie przeżycia między kohortami natomiast

krzywe przeżycia wolnego od progresji (*Progression Free Survival*; PFS) potwierdziły, że większość progresji wystąpiła do 5 lat, a połowa pacjentów pozostała bez progresji po 5 latach obserwacji w grupie W&W. PD-1 dodatnie [PD-1(+)] komórki były obecne w większości przypadków (91,5% dodatnich vs. 8,5% ujemnych) z predylekcją do lokalizacji wewnątrz- i okołogrudkowej (61,5% przypadków). Widoczne były różnice w intensywności barwienia PD-1: komórki wewnątrz- i okołogrudkowe charakteryzowała ciemnobrązowa reakcja, podczas gdy komórki międzypęcherzykowe i rozlane miały istotnie jaśniejsze wybarwienie. Pacjenci z międzypęcherzykową i rozlaną ekspresją PD-1 mieli istotnie zmniejszone PFS w całej grupie badanej i wśród chorych poddawanych immunochemioterapii (odpowiednio $p=0,014$ i $p=0,07$); przedstawiona zależność nie była istotna w grupie W&W. Komórki FL cechowały się całkowitym brakiem ekspresji białka PD-L1 we wszystkich ocenianych przypadkach, natomiast część komórek mikrośrodowiska prezentowała ziarniste i błonowe odczyny; dotyczyły one zazwyczaj 1-5% komórek (43,7% grupy badanej) i nie miały predylekcji względem lokalizacji. Populację TAMs, wybarwionych zarówno CD68KP1, jak i CD68-PGM1 w celu przybliżenia linii różnicowania M1/M2, stwierdzono przy stosunkowo małej gęstości (<5%) odpowiednio w 53,3% i 40,8% przypadków. Barwienie CD163 było ujemne w 45,1% przypadków lub wykazywało gęstość od niskiej do umiarkowanej (22,5% i 19,7%). Polaryzacja wewnątrz- i okołogrudkowa makrofagów CD163 była istotna; w porównaniu z dominującymi układami międzyguzkowymi i rozlanymi dla barwień CD68KP1 i CD68-PGM1 (odpowiednio CD163 – 17,9% i dla CD68KP1/CD68-PGM1 – 70,7% i 69,4%). Komórki CD57(+) zidentyfikowaliśmy w większości przypadków (85,7%), ale ich liczebność była niska (1-5% i >6% komórek CD57(+) odpowiednio w 45,7% i 30% przypadków). Rozkład komórek CD57(+) miał tendencję do odzwierciedlania ziarnistego barwienia PD-L1. Nie znaleźliśmy żadnych istotnych statystycznie różnic klinicznych dla rozkładu CD4, CD8, CD163, CD68KP1, CD68-PGM1, CD57 bądź PD-L1 w komórkach podścieliska.

Podsumowując, w naszej pracy udowodniliśmy, że wzorzec dystrybucji komórek PD-1(+) w FL ma znaczenie w przewidywaniu PFS. Gorsze rokowanie pacjentów dotyczyło FL z międzyguzkowymi i rozlanymi naciekami PD-1(+) komórek niezależnie od gęstości nacieków i ich immunofenotypu. Opisane przez nas różnice w intensywności barwienia komórek PD-1(+) pokrywają się z najnowszymi doniesieniami bazującymi na hipotezie przebudowy mikrośrodowiska FL, w tym komórek T w kierunku tzw. fenotypu „wyczerpanego”. Komórki przeważnie ułożone wewnątrzguzkowo wykazują wysoką ekspresję PD-1 (tzw. PD-1 high) i charakteryzują się dodatnimi odczynami z CXCR5, interleukiną-21, BCL6 natomiast są TIM-3 ujemne; komórki w obszarach międzyguzkowych o słabszej reakcji z PD-1 (tzw. PD-1 low) znamionują fenotyp „wyczerpany” z wysoką ekspresją TIM-3 i obniżoną CXCR5 i BCL6 – funkcjonalnie są to komórki o zmniejszonej zdolności do produkcji cytokin i przekazywania sygnałów komórkowych. W naszym badaniu „podwójny” charakter komórek PD-1(+) odzwierciedlają różnice w intensywności barwienia IHC. Przewaga PD-1(+) o obniżonej intensywności barwienia IHC i międzyguzkowym/rozlanym rozmieszczeniu w grupie pacjentów o znamienne krótszym PFS znamionuje ich wpływ na progresję choroby. Zależności te są

widoczne w całej grupie badanej i u pacjentów poddawanych immunochemioterapii. Od strony praktycznej ocena komórek PD-1 w rutynowym badaniu histopatologicznym FL wydaje się stosunkowo prostym elementem, tym bardziej, że wystarczy określić jedynie ich lokalizację a nie gęstość.

- ✓ **Piąta praca:** Szumera-Ciećkiewicz A., Poleszczuk J., Paszkiewicz-Kozik E., Rymkiewicz G., Sokół K., Borysiuk A., Kotarska M., Kawecka M., Owczarek D., Pytlak B., Walewski J., Prochorec-Sobieszek M.: EZH2 Expression in Follicular Lymphoma Is Variable and Independent from the Progression of Disease Within 24 Months of First Treatment, w: ANTICANCER RESEARCH 40: xxx-xxx (2020) doi:10.21873/anticancer.11xxx. Praca przyjęta do druku w numerze grudniowym (12) 2020 ANTICANCER RESEARCH (dołączono poświadczenie z Redakcji).

Celem pracy była charakterystyka ekspresji EZH2 w kontekście cech klinicznych, histopatologicznych i immunofenotypowych FL. Do oceny klinicznej zastosowaliśmy oprócz klasycznych OS, PFS także nawrót FL w ciągu 24 miesięcy od pierwszej immunochemioterapii (*Progression of Follicular Lymphoma within 24 Months of First Treatment*; POD24).

Niezależnie od ogólnej poprawy przeżycia w FL nadal, główną przyczyną zgonów jest progresja i transformacja FL. W 10-letnich badaniach obserwacyjnych najgorsze rokowanie wykazują pacjenci z wysokim FLIPI-1, transformacją FL do DLBCL oraz ci chorzy, którzy nie osiągnęli czasu przeżycia wolnego od progresji w ciągu 24 miesięcy od rozpoznania i rozpoczęcia leczenia. Według najnowszych doniesień POD24 najdokładniej definiuje grupę chorych o niekorzystnym OS i wysokim ryzyku zgonu.

Metylotransferaza EZH2 jest enzymem złożonym z 746 aminokwasów z grupy metylotransferaz histonów kodowanym przez gen *EZH2* zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 7 w pozycji 7q35. Jest funkcjonalnym składnikiem kompleksu Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2) i katalizuje metylację histonu H3 lizyny 27 (H3Kme27). EZH2 odgrywa kluczową rolę w tłumieniu transkrypcji, rozwoju i różnicowaniu tkanek. Natomiast w komórkach nowotworowych aktywuje transkrypcję i stymuluje proliferację. Zmiany EZH2, zarówno nadekspresja białka, jak i mutacje, opisano w guzach litych, tj. rakach piersi, wątroby, żołądka, dróg moczowych, prostaty, czerniaku oraz w chłoniakach nieziarniczych m.in. DLBCL, NOS, FL, chłoniaku Burkitta i innych agresywnych NHL wywodzących się z komórek B. Szlak EZH2 obejmuje represję cyklinozależnego inhibitora kinazy CDKN1A, który ma fundamentalne znaczenie w tworzeniu się centrów proliferacyjnych (*Germinal Center*; GC). W FL, który jest chłoniakiem pochodzącym z GC, EZH2 jest konstytutywnie aktywowany i wpływa represyjnie na geny kontrolujące proliferację, jak i końcowego różnicowania. Jednym z możliwych wyjaśnień na utratę białka EZH2 jest mutacja w obrębie tyrozyny 646 polegająca na wzmocnieniu funkcji (*Gain-Of-Function*; GOF). W piśmiennictwie mutacje EZH2 opisywane są w około 25% przypadków FL i uważa się, wpływają korzystnie na przebieg kliniczny. Wyniki ekspresji białka EZH2 w FL są sprzeczne. Niektóre badania wykazały, że wysoki poziom białka EZH2 koreluje

z wyższą agresywnością FL. Niemniej jednak, w dostępnym piśmiennictwie wizualizacja mikroskopowa profilu ekspresji EZH2 pozostaje mocno ograniczona. Dodatkowo najnowsze obserwacje wykazały, że ekspresja i dystrybucja EZH2 jest znacznie bardziej skomplikowana i jest związana z wieloma przyczynami pozagenetycznymi. EZH2 pozostaje w bliskich interakcjach m.in. *MYC*, *BCL-2*, *BCL-6* i *TP53*. Ostatnio dyskutowane jest znaczenie oddziaływania między *MYC* a *TP53* oraz *MYC* i *EZH2*. Wpływ ekspresji białek *MYC*, *BCL2*, *BCL6* lub *p53* w FL na POD24 nie został jeszcze dokładnie zbadany.

To retrospektywne badanie jednośrodkowe obejmowało 75 pacjentów, u których zdiagnozowano FL z dostępnym materiałem tkankowym. Grupy W&W i leczonych immunochemioterapią obejmowały odpowiednio 31 i 44 chorych. Pacjenci, u których nastąpiła progresja w ciągu pierwszych 24 miesięcy leczenia od rozpoczęcia leczenia, mieli znacznie gorsze przeżycie całkowite w porównaniu z tymi, którzy nie mieli progresji w ciągu pierwszych dwóch lat ($p=0,00085$). Współczynnik hazardu (*Hazard Ratio*; HR) dla pacjentów z POD24 dla danych klinicznych obejmujących wiek, płeć, poziomy LDH i hemoglobiny, stadium zaawansowania wg Ann Arbor, FLIPI-1 i FLIPI-2, nie były istotne statystyczne. Ekspresja EZH2 została zidentyfikowana jako wysoka ($\geq 70\%$ komórek FL wykazujących ekspresję) lub niska ($< 70\%$ komórek FL wykazujących ekspresję) odpowiednio w 33,3% (25/75) i 66,7% (50/75) przypadkach FL. Ekspresja była umiarkowana do silnej, co było porównywalne z dodatnimi kontrolami. Utrzymujące się silne zabarwienie zidentyfikowano w komórkach o morfologii podobnej do centroblastów. Utratę ekspresji EZH2 obserwowano w przypadkach wszystkich histologicznych stopniach złośliwości (G1 - 46,0%, 23/50; G2 - 40,0%, 20/50; i G3a - 14,0%, 7/50). Odsetki histologicznych wzorców utkania FL (grudkowy, grudkowo-rozłany i rozłany) były podobne w grupach o wysokiej i niskiej ekspresji EZH2. Jedyną kliniczną korelacją między profilem ekspresji EZH2 był wiek; starsi pacjenci mieli wyższy poziom EZH2 (60,5 vs. 52,0 lat). Wykazano również słabe różnice statystyczne w profilu białek BCL2 i MUM1. Na poziomie białka obserwowaliśmy „utratę” BCL2 i „przyrost” MUM1 w grupie z wyższą ekspresją EZH2 (EZH2 wysoki vs. EZH2 obniżony: dla BCL2(-) - 48,0%, 12/25 vs. 22,0%, 11/50, $p=0,042$; dla MUM1(+) - 44,0%, 11/25 vs. 20,0%, 10/50, $p=0,039$). Ekspresja *MYC* i *p53* była istotnie wyższa w grupie z wyższym EZH2 (EZH2 wysoki vs. EZH2 obniżony: dla *MYC*(+) - 76,0%, 19/25 vs. 8,0%, 4/50, $p<0,001$; dla *p53*(+) - 56,0%, 14/25 vs. 6,0%, 3/50; $p<0,001$). POD24 nie był statystycznie powiązany z profilem ekspresji EZH2 ani immunofenotypem FL. Stratyfikacja z POD24 wykazała podobny profil kliniczny pacjentów. Wysoka ekspresja EZH2 była prawie taki sam u pacjentów z i bez POD24 (43,8%, 7/16 vs. 36,8%, 14/38). Histopatologiczna klasyfikacja FL oraz immunofenotyp komórek chłoniaka nie miały wpływu POD24.

Podsumowując, po raz pierwszy przedstawiliśmy profil ekspresji EZH2 w FL w kontekście POD24. Nie zaobserwowaliśmy statystycznie istotnego wpływu poziomu ekspresji EZH2 na rokowanie. Żadna z cech klinicznych ani histopatologicznych nie miała znaczenia dla POD24 jednak stratyfikacja pacjentów według POD24 pozwoliła nam wyodrębnić chorych, którzy powinni pozostać pod intensywną obserwacją ze względu na podwyższone ryzyko progresji. Stwierdziliśmy, że białko EZH2 ulega silnej ekspresji w komórkach

podobnych do centroblastów, a jego utratę obserwowaliśmy niezależnie od histologicznego stopnia złośliwości bądź podtypu. Stwierdziliśmy, że wysokie poziomy EHZ2 są częściej identyfikowane w przypadkach z ekspresją niższą dla BCL2 i wyższą dla MUM1, MYC, p53. W dyskusji zwróciliśmy uwagę, że zasadna jest kompleksowa, wielopoziomowa ocena EHZ2 ze względu na złożoność regulacji szlaków sygnałowych EHZ2. Poza genetycznymi zmianami m.in. mutacji *EZH2* regulacja na poziomie epigenetycznym wydaje się mieć kluczowe znaczenie; potwierdzają to również wyniki ostatnich badań wskazujące, iż terapia celowana anty-EZH2 może być korzystna niezależnie od statusu *EZH2*. Naszym zdaniem rola EHZ2 w onkogenezie nowotworów układu chłonnego pozostaje nadal jednym z istotnych obszarów do dalszych badań.

Wnioski i praktyczne znaczenie publikacji

- ✓ W Polsce zapadalność na FL jest niska w porównaniu do Europy Zachodniej i Ameryki Północnej;
- ✓ Odsetek FL według danych zgromadzonych w Krajowym Rejestrze Histopatologicznym Chłoniaków i w Krajowym Rejestrze Nowotworów stanowi odpowiednio 4,89% i 6,3% wszystkich NHL;
- ✓ Standaryzowany współczynnik zachorowalności na FL w Polsce wynosi 0,87/10⁵ i wykazuje tendencję wzrostową w populacji kobiet;
- ✓ Populacja kobiet zapada na FL o dekadę wcześniej w stosunku do mężczyzn i charakteryzuje się niższym standaryzowanym współczynnikiem umieralności (odpowiednio 0,25-0,44/10⁵ vs. 0,43-0,76/10⁵);
- ✓ Współpraca patomorfologów w procesie rejestracji nowych zachorowań FL istotnie poprawia jakość zbieranych danych i pozwala na eliminację zgłoszeń nieokreślonych chłoniaków;
- ✓ barwienie IHC klonem 56C6 jest metodą porównywalną do FCM w ocenie ekspresji CD10 i rozpoznawaniu FL;
- ✓ Przypadki CD10(-) są częstsze wśród histologicznie agresywnych FL jednakże obserwacja ta nie przekłada się na OS;
- ✓ FL CD10(-) wykazują słabszą ekspresję BCL2 i wyższą MUM1; charakteryzują się odmiennym immunofenotypem w FCM i mają niższy odsetek *BCL2R* oraz częstszą *BCL6R*.
- ✓ Komórki FL nie wykazują ekspresji PD-L1, niemniej jednak część komórek mikrośrodowiska może prezentować ziarnistą i błonową reakcję;
- ✓ Komórki PD-1(+) mają „dwoistą” naturę; zlokalizowane wewnątrz-/okołogrudkowo wykazują silną reakcję w IHC natomiast nacieki międzygrudkowe i rozlane charakteryzuje niska ekspresja PD-1;
- ✓ Międzygrudkowe i rozlane nacieki PD-1(+) komórek niezależnie od ich gęstości wpływają na obniżenie PFS dla pacjentów z FL ogółem i poddawanych immunochemioterapii;
- ✓ Ocena lokalizacji komórek PD-1 w rutynowym badaniu histopatologicznym FL może być wartością dodaną w określaniu ryzyka PFS.

- ✓ **Pacjenci z FL i wysokim ryzykiem POD24 mają znacznie gorsze przeżycie całkowite.**
- ✓ **Ekspresja EZH2 w FL jest zmienna i niejednorodna; utrata ekspresji EZH2 spotykana jest zarówno w grudkowych jak i rozlanych podtypach oraz niezależnie od histologicznego stopnia złośliwości; ponadto komórki, które zachowują silną ekspresję EZH2 mają morfologię odpowiadającą centroblastom.**
- ✓ **FL z wysoką ekspresją EZH2 wykazują niższe poziomy BCL2 i wyższe poziomy MUM1, MYC i p53.**
- ✓ **POD24 nie jest statystycznie związany z profilem ekspresji EZH2, cechami histopatologicznymi ani immunofenotypem FL.**

Piśmiennictwo:

1. WHO Global Status Report On Alcohol and Health. Geneva: WHO, 2011.
2. <https://icd.who.int/browse10/2016/en#/C81-C96>.
3. Smoking prevalence and attributable disease burden in 195 countries and territories, 1990-2015: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet (London, England)*. May 13 2017;389(10082):1885-1906.
4. Akpa CA, Kleo K, Lenze D, Oker E, Dimitrova L, Hummel M. DZNep-mediated apoptosis in B-cell lymphoma is independent of the lymphoma type, EZH2 mutation status and MYC, BCL2 or BCL6 translocations. *PLoS One*. 2019;14(8).
5. Alavanja MCR, Hofmann JN, Lynch CF, et al. Non-hodgkin lymphoma risk and insecticide, fungicide and fumigant use in the agricultural health study. *PLoS One*. 2014;9(10):e109332-e109332.
6. Amé-Thomas P, Tarte K. The yin and the yang of follicular lymphoma cell niches: role of microenvironment heterogeneity and plasticity. *Seminars in cancer biology*. Feb 2014;24:23-32.
7. Andorsky DJ, Yamada RE, Said J, Pinkus GS, Betting DJ, Timmerman JM. Programmed death ligand 1 is expressed by non-hodgkin lymphomas and inhibits the activity of tumor-associated T cells. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. Jul 1 2011;17(13):4232-4244.
8. Ansell SM, Hurvitz SA, Koenig PA, et al. Phase I study of ipilimumab, an anti-CTLA-4 monoclonal antibody, in patients with relapsed and refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. Oct 15 2009;15(20):6446-6453.
9. Apostolidis J, Mokhtar N, Al Omari R, Darweesh M, Al Hashmi H. Follicular lymphoma: Update on management and emerging therapies at the dawn of the new decade. *Hematological oncology*. Dec 31 2019.
10. Bachmann IM, Halvorsen OJ, Collett K, et al. EZH2 expression is associated with high proliferation rate and aggressive tumor subgroups in cutaneous melanoma and cancers of the endometrium, prostate, and breast. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. Jan 10 2006;24(2):268-273.
11. Baecklund F, Foo J-N, Bracci P, et al. A comprehensive evaluation of the role of genetic variation in follicular lymphoma survival. *BMC Med Genet*. 2014;15:113-113.
12. Basso K, Dalla-Favera R. Germinal centres and B cell lymphomagenesis. *Nature Reviews Immunology*. 2015/03/01 2015;15(3):172-184.
13. Béguelin W, Popovic R, Teater M, et al. EZH2 is required for germinal center formation and somatic EZH2 mutations promote lymphoid transformation. *Cancer Cell*. 2013;23(5):677-692.
14. Béguelin W, Teater M, Gearhart MD, et al. EZH2 and BCL6 Cooperate to Assemble CBX8-BCOR Complex to Repress Bivalent Promoters, Mediate Germinal Center Formation and Lymphomagenesis. *Cancer Cell*. Aug 8 2016;30(2):197-213.
15. Béguelin W, Teater MR, Meydan C, Phillip JM, Melnick A. EZH2 Gain-of-Function Mutations Generate a Lymphoma-Permissive Immune Niche. *Blood*. 2019;134(Supplement_1):2768-2768.
16. Bellido M, Rubiol E, Ubeda J, et al. Flow cytometry using the monoclonal antibody CD10-Pe/Cy5 is a useful tool to identify follicular lymphoma cells. *European journal of haematology*. Feb 2001;66(2):100-106.
17. Białopiotrowicz E, Noyszewska-Kania M, Kachamakova-Trojanowska N, et al. Serine Biosynthesis Pathway Supports MYC-miR-494-EZH2 Feed-Forward Circuit Necessary to Maintain Metabolic and Epigenetic Reprogramming of Burkitt Lymphoma Cells. *Cancers*. Mar 3 2020;12(3).
18. Bisserier M, Wajapeyee N. Mechanisms of resistance to EZH2 inhibitors in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*. May 10 2018;131(19):2125-2137.
19. Blaker YN, Spetaten S, Brodtkorb M, et al. The tumour microenvironment influences survival and time to transformation in follicular lymphoma in the rituximab era. *British journal of haematology*. Oct 2016;175(1):102-114.
20. Böhm J, Muenzner JK, Caliskan A, et al. Loss of enhancer of zeste homologue 2 (EZH2) at tumor invasion front is correlated with higher aggressiveness in colorectal cancer cells. *Journal of cancer research and clinical oncology*. Sep 2019;145(9):2227-2240.

21. Bosga-Bouwer AG, van Imhoff GW, Boonstra R, et al. Follicular lymphoma grade 3B includes 3 cytogenetically defined subgroups with primary t(14;18), 3q27, or other translocations: t(14;18) and 3q27 are mutually exclusive. *Blood*. Feb 1 2003;101(3):1149-1154.
22. Boughan KM, Caimi PF. Follicular Lymphoma: Diagnostic and Prognostic Considerations in Initial Treatment Approach. *Current oncology reports*. May 23 2019;21(7):63.
23. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. Nov 2018;68(6):394-424.
24. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Roncador G, et al. High numbers of tumor-infiltrating programmed cell death 1-positive regulatory lymphocytes are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. Mar 20 2009;27(9):1470-1476.
25. Casulo C, Le-Rademacher J, Dixon J, et al. Validation of POD24 As a Robust Early Clinical Endpoint of Poor Survival in Follicular Lymphoma: Results from the Follicular Lymphoma Analysis of Surrogacy Hypothesis (FLASH) Investigation Using Individual Data from 5,453 Patients on 13 Clinical Trials. *Blood*. 2017;130(Supplement 1):412-412.
26. de Jong D. Molecular pathogenesis of follicular lymphoma: a cross talk of genetic and immunologic factors. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. Sep 10 2005;23(26):6358-6363.
27. de Jong D, de Boer JP. Predicting transformation in follicular lymphoma. *Leukemia & lymphoma*. Sep 2009;50(9):1406-1411.
28. Deng Y, Chen X, Huang C, et al. EZH2/Bcl-2 Coexpression Predicts Worse Survival in Diffuse Large B-cell Lymphomas and Demonstrates Poor Efficacy to Rituximab in Localized Lesions. *Journal of Cancer*. 2019;10(9):2006-2017.
29. Esho C, Perkins S, Kampalath B, Shidham V, Juckett M, Chang CC. Decreased CD10 expression in grade III and in interfollicular infiltrates of follicular lymphomas. *American journal of clinical pathology*. Jun 2001;115(6):862-867.
30. Faviana P, Marconcini R, Ricci S, et al. EZH2 Expression in Intestinal Neuroendocrine Tumors. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM*. Oct 2019;27(9):689-693.
31. Freeman CL, Kridel R, Moccia AA, et al. Early progression after bendamustine-rituximab is associated with high risk of transformation in advanced stage follicular lymphoma. *Blood*. Aug 29 2019;134(9):761-764.
32. Fritz A. ICD-O-3 terminology approved for use with cases diagnosed January 1, 2014 and after. *Journal of registry management*. Fall 2013;40(3):140-143.
33. Gałazka K, Szpor J, Maryniak R, Olszewski W, Mioduszewska O, Stachura J. Incidence of lymphomas in Poland. The national register data for 2006. *Polish journal of pathology : official journal of the Polish Society of Pathologists*. 2007;58(3):199-206.
34. Goodman A, Patel SP, Kurzrock R. PD-1-PD-L1 immune-checkpoint blockade in B-cell lymphomas. *Nature reviews. Clinical oncology*. Apr 2017;14(4):203-220.
35. Gribben JG. Implications of the tumor microenvironment on survival and disease response in follicular lymphoma. *Current opinion in oncology*. Sep 2010;22(5):424-430.
36. Guo S, Li X, Rohr J, et al. EZH2 overexpression in different immunophenotypes of breast carcinoma and association with clinicopathologic features. *Diagnostic pathology*. Apr 26 2016;11:41.
37. Guo Y, Karube K, Kawano R, et al. Low-grade follicular lymphoma with t(14;18) presents a homogeneous disease entity otherwise the rest comprises minor groups of heterogeneous disease entities with Bcl2 amplification, Bcl6 translocation or other gene aberrances. *Leukemia*. Jun 2005;19(6):1058-1063.
38. Harris NL, Nadler LM, Bhan AK. Immunohistologic characterization of two malignant lymphomas of germinal center type (centroblastic/centrocytic and centrocytic) with monoclonal antibodies. Follicular and diffuse lymphomas of small-cleaved-cell type are related but distinct entities. *The American Journal of Pathology*. Nov 1984;117(2):262-272.
39. Hoffmann F, Niebel D, Aymans P, Ferring-Schmitt S, Dietrich D, Landsberg J. H3K27me3 and EZH2 expression in melanoma: relevance for melanoma progression and response to immune checkpoint blockade. *Clinical epigenetics*. Feb 10 2020;12(1):24.
40. Huang X, Yan J, Zhang M, et al. Targeting Epigenetic Crosstalk as a Therapeutic Strategy for EZH2-Aberrant Solid Tumors. *Cell*. Sep 20 2018;175(1):186-199 e119.
41. Huet S, Xerri L, Tesson B, et al. EZH2 alterations in follicular lymphoma: biological and clinical correlations. *Blood Cancer J*. 2017;7(4):e555-e555.
42. Iannetti A, Ledoux AC, Tudhope SJ, et al. Regulation of p53 and Rb Links the Alternative NF-κB Pathway to EZH2 Expression and Cell Senescence. *PLoS Genetics*. Sep 2014;10(9).
43. Italiano A, Soria JC, Toulmonde M, et al. Tazemetostat, an EZH2 inhibitor, in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and advanced solid tumours: a first-in-human, open-label, phase 1 study. *The Lancet. Oncology*. May 2018;19(5):649-659.
44. Jacob MC, Souvignet A, Pont J, et al. One tube with eight antibodies for 14-part bone marrow leukocyte differential using flow cytometry. *Cytometry. Part B, Clinical cytometry*. Jul 2017;92(4):299-309.
45. Jang SH, Lee JE, Oh MH, et al. High EZH2 Protein Expression Is Associated with Poor Overall Survival in Patients with Luminal A Breast Cancer. *Journal of breast cancer*. Mar 2016;19(1):53-60.
46. Jurinovic V, Kridel R, Staiger AM, et al. Clinicogenetic risk models predict early progression of follicular lymphoma after first-line immunochemotherapy. *Blood*. Aug 25 2016;128(8):1112-1120.
47. Jurinovic V, Passerini V, Oestergaard MZ, et al. Evaluation of the m7-FLIPI in Patients with Follicular Lymphoma Treated within the Gallium Trial: EZH2 mutation Status May be a Predictive Marker for Differential Efficacy of Chemotherapy. *Blood*. 2019;134(Supplement_1):122-122.

48. Kampilafkos P, Melachrinou M, Kefalopoulou Z, Lakoumentas J, Sotiropoulou-Bonikou G. Epigenetic modifications in cutaneous malignant melanoma: EZH2, H3K4me2, and H3K27me3 immunohistochemical expression is enhanced at the invasion front of the tumor. *The American Journal of dermatopathology*. Feb 2015;37(2):138-144.
49. Kaufmann O, Flath B, Spath-Schwalbe E, Possinger K, Dietel M. Immunohistochemical detection of CD10 with monoclonal antibody 56C6 on paraffin sections. *American journal of clinical pathology*. Jan 1999;111(1):117-122.
50. Klanova M, Klener P. BCL-2 Proteins in Pathogenesis and Therapy of B-Cell Non-Hodgkin Lymphomas. *Cancers*. 2020;12(4):938.
51. Kridel R, Chan FC, Mottok A, et al. Histological Transformation and Progression in Follicular Lymphoma: A Clonal Evolution Study. *PLoS Med*. 2016;13(12):e1002197-e1002197.
52. Kroll ME, Murphy F, Pirie K, Reeves GK, Green J, Beral V. Alcohol drinking, tobacco smoking and subtypes of haematological malignancy in the UK Million Women Study. *British journal of cancer*. Aug 21 2012;107(5):879-887.
53. Küppers R, Stevenson FK. Critical influences on the pathogenesis of follicular lymphoma. *Blood*. 2018;131(21):2297-2306.
54. Laurini JA, Perry AM, Boilesen E, et al. Classification of non-Hodgkin lymphoma in Central and South America: a review of 1028 cases. *Blood*. Dec 6 2012;120(24):4795-4801.
55. Lee H, Yoon SO, Jeong WY, Kim HK, Kim A, Kim BH. Immunohistochemical analysis of polycomb group protein expression in advanced gastric cancer. *Human pathology*. Oct 2012;43(10):1704-1710.
56. Leich E, Salaverria I, Bea S, et al. Follicular lymphomas with and without translocation t(14;18) differ in gene expression profiles and genetic alterations. *Blood*. 2009;114(4):826-834. doi: 810.1182/blood-2009-1101-198580. Epub 192009 May 198526.
57. Li B, Chng WJ. EZH2 abnormalities in lymphoid malignancies: underlying mechanisms and therapeutic implications. *Journal of hematology & oncology*. Nov 21 2019;12(1):118.
58. Lockmer S, Ren W, Brodtkorb M, et al. M7-FLIPI is not prognostic in follicular lymphoma patients with first-line rituximab chemo-free therapy. *British journal of haematology*. Jan 2020;188(2):259-267.
59. Lue JK, Prabhu SA, Liu Y, et al. Precision Targeting with EZH2 and HDAC Inhibitors in Epigenetically Dysregulated Lymphomas. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. Sep 1 2019;25(17):5271-5283.
60. Maguer-Satta V, Besancon R, Bachelard-Cascales E. Concise review: neutral endopeptidase (CD10): a multifaceted environment actor in stem cells, physiological mechanisms, and cancer. *Stem cells (Dayton, Ohio)*. Mar 2011;29(3):389-396.
61. Masudo K, Suganuma N, Nakayama H, et al. EZH2 Overexpression as a Useful Prognostic Marker for Aggressive Behaviour in Thyroid Cancer. *In vivo (Athens, Greece)*. Jan-Feb 2018;32(1):25-31.
62. Meng X, Huang Z, Wang R, et al. The prognostic role of EZH2 expression in rectal cancer patients treated with neoadjuvant chemoradiotherapy. *Radiation oncology (London, England)*. Aug 27 2014;9:188.
63. Menter T, Bodmer-Haeckl A, Dirnhofer S, Tzankov A. Evaluation of the diagnostic and prognostic value of PDL1 expression in Hodgkin and B-cell lymphomas. *Human pathology*. Aug 2016;54:17-24.
64. Menter T, Tzankov A. Mechanisms of Immune Evasion and Immune Modulation by Lymphoma Cells. *Frontiers in oncology*. 2018;8:54.
65. Miranda-Filho A, Pineros M, Znaor A, Marcos-Gragera R, Steliarova-Foucher E, Bray F. Global patterns and trends in the incidence of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer causes & control : CCC*. May 2019;30(5):489-499.
66. Montoto S, Lopez-Guillermo A, Altes A, et al. Predictive value of Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) in patients with follicular lymphoma at first progression. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. Oct 2004;15(10):1484-1489.
67. Morin RD, Johnson NA, Severson TM, et al. Somatic mutations altering EZH2 (Tyr641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal-center origin. *Nat Genet*. 2010;42(2):181-185.
68. Morschhauser F, Tilly H, Chaidos A, et al. Phase 2 Multicenter Study of Tazemetostat, an EZH2 Inhibitor, in Patients with Relapsed or Refractory Follicular Lymphoma. *Blood*. 2019;134(Supplement_1):123-123.
69. Myklebust JH, Irish JM, Brody J, et al. High PD-1 expression and suppressed cytokine signaling distinguish T cells infiltrating follicular lymphoma tumors from peripheral T cells. *Blood*. Feb 21 2013;121(8):1367-1376.
70. National Cancer Institute. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/follicular.html>. *The Surveillance, Epidemiology, and End Results*
71. Neves Filho EH, Hirth CG, Frederico IA, Burbano RM, Carneiro T, Rabenhorst SH. EZH2 expression is dependent on MYC and TP53 regulation in diffuse large B-cell lymphoma. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. Apr 2020;128(4):308-315.
72. Ng M, Freeman MK, Fleming TD, et al. Smoking prevalence and cigarette consumption in 187 countries, 1980-2012. *Jama*. Jan 8 2014;311(2):183-192.
73. Nie L, Wei Y, Zhang F, et al. CDK2-mediated site-specific phosphorylation of EZH2 drives and maintains triple-negative breast cancer. *Nature communications*. Nov 8 2019;10(1):5114.
74. Nienstedt JC, Schroeder C, Clauditz T, et al. EZH2 overexpression in head and neck cancer is related to lymph node metastasis. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. Mar 2018;47(3):240-245.
75. Olejniczak SH, Stewart CC, Donohue K, Czuczman MS. A quantitative exploration of surface antigen expression in common B-cell malignancies using flow cytometry. *Immunological investigations*. 2006;35(1):93-114.
76. O'Shea D, O'Riain C, Taylor C, et al. The presence of TP53 mutation at diagnosis of follicular lymphoma identifies a high-risk group of patients with shortened time to disease progression and poorer overall survival. *Blood*. 2008;112(8):3126-3129.
77. Panjwani PK, Charu V, DeLisser M, Molina-Kirsch H, Natkunam Y, Zhao S. Programmed death-1 ligands PD-L1 and PD-L2 show distinctive and restricted patterns of expression in lymphoma subtypes. *Human pathology*. Jan 2018;71:91-99.

78. Pastore A, Jurinovic V, Kridel R, et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *The Lancet. Oncology*. Sep 2015;16(9):1111-1122.
79. Paszkiewicz-Kozik E, Kulik J, Fabisiewicz A, et al. Presence of t(14;18) positive cells in blood and bone marrow does not predict outcome in follicular lymphoma. *Medical oncology (Northwood, London, England)*. 2009;26(1):16-21.
80. Qu X, Li H, Brazier RM, et al. Genomic alterations important for the prognosis in patients with follicular lymphoma treated in SWOG study S0016. *Blood*. Jan 3 2019;133(1):81-93.
81. Rao ZY, Cai MY, Yang GF, et al. EZH2 supports ovarian carcinoma cell invasion and/or metastasis via regulation of TGF-beta1 and is a predictor of outcome in ovarian carcinoma patients. *Carcinogenesis*. Sep 2010;31(9):1576-1583.
82. Reijm EA, Timmermans AM, Look MP, et al. High protein expression of EZH2 is related to unfavorable outcome to tamoxifen in metastatic breast cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. Nov 2014;25(11):2185-2190.
83. Richendollar BG, Pohlman B, Elson P, Hsi ED. Follicular programmed death 1-positive lymphocytes in the tumor microenvironment are an independent prognostic factor in follicular lymphoma. *Human pathology*. Apr 2011;42(4):552-557.
84. Rossi C, Gravelle P, Decaup E, et al. Boosting $\gamma\delta$ T cell-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity by PD-1 blockade in follicular lymphoma. *Oncoimmunology*. 2019;8(3):1554175.
85. Sakhdari A, Class C, Montalban-Bravo G, et al. Loss of EZH2 Protein Expression in Myelodysplastic Syndrome Correlates with EZH2 Mutation and Portends a Worse Outcome. *Blood*. 2019;134(Supplement_1):3016-3016.
86. Sander B, de Jong D, Rosenwald A, et al. The reliability of immunohistochemical analysis of the tumor microenvironment in follicular lymphoma: a validation study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Haematologica*. Apr 2014;99(4):715-725.
87. Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. Nov 11 2010;116(19):3724-3734.
88. Schnotalle P, Koch K, Au-Yeung RKH, et al. T-Cell Clustering in Neoplastic Follicles of Follicular Lymphoma. *Cancer microenvironment : official journal of the International Cancer Microenvironment Society*. Dec 2018;11(2-3):135-140.
89. Shi M, Shahsafaei A, Liu C, Yu H, Dorfman DM. Enhancer of zeste homolog 2 is widely expressed in T-cell neoplasms, is associated with high proliferation rate and correlates with MYC and pSTAT3 expression in a subset of cases. *Leukemia & lymphoma*. Jul 2015;56(7):2087-2091.
90. Shiogama S, Yoshida S, Soga D, Motohashi H, Shintani S. Aberrant expression of EZH2 is associated with pathological findings and P53 alteration. *Anticancer research*. Oct 2013;33(10):4309-4317.
91. Singla N, Krabbe LM, Aydin AM, et al. Multi-institutional evaluation of the prognostic significance of EZH2 expression in high-grade upper tract urothelial carcinoma. *Urologic oncology*. Jul 2018;36(7):343 e341-343 e348.
92. Skibola CF, Berndt SI, Vijai J, et al. Genome-wide association study identifies five susceptibility loci for follicular lymphoma outside the HLA region. *American journal of human genetics*. Oct 2 2014;95(4):462-471.
93. Smeltzer JP, Jones JM, Ziesmer SC, et al. Pattern of CD14+ follicular dendritic cells and PD1+ T cells independently predicts time to transformation in follicular lymphoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. Jun 1 2014;20(11):2862-2872.
94. Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P, et al. Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood*. Sep 1 2004;104(5):1258-1265.
95. Sorigue M, Oliveira A, Mercadal S, et al. m7FLIPI and targeted sequencing in high-risk follicular lymphoma. *Hematological oncology*. Dec 2019;37(5):564-568.
96. Stevens WBC, Mendenhall M, Redd R, et al. Prognostic relevance of CD163 and CD8 combined with EZH2 and gain of chromosome 18 in follicular lymphoma: a study by the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Haematologica*. Aug 2017;102(8):1413-1423.
97. Stevenson FK, Stevenson GT. Follicular lymphoma and the immune system: from pathogenesis to antibody therapy. *Blood*. 2012;119(16):3659-3667.
98. Su LH, Basavaraj A, Krutchinsky AN, et al. Ezh2 controls B cell development through histone H3 methylation and IgH rearrangement. *Nature Immunology*. 2003/02/01 2003;4(2):124-131.
99. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition)*: IARC: Lyon; 2017.
100. Tian X, Pelton A, Shahsafaei A, Dorfman DM. Differential expression of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) protein in small cell and aggressive B-cell non-Hodgkin lymphomas and differential regulation of EZH2 expression by p-ERK1/2 and MYC in aggressive B-cell lymphomas. *Modern Pathology*. 2016/09/01 2016;29(9):1050-1057.
101. Tian X, Xu J, Dorfman DM. Utility of Combined EZH2, p-ERK1/2, p-STAT, and MYC Expression in the Differential Diagnosis of EZH2-positive Hodgkin Lymphomas and Related Large B-Cell Lymphomas. *The American journal of surgical pathology*. Jan 2019;43(1):102-109.
102. Tobin JWD, Keane C, Gunawardana J, et al. Progression of Disease Within 24 Months in Follicular Lymphoma Is Associated With Reduced Intratumoral Immune Infiltration. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. Dec 1 2019;37(34):3300-3309.
103. Toyokawa G, Takada K, Tagawa T, et al. Prevalence of Enhancer of Zeste Homolog 2 in Patients with Resected Small Cell Lung Cancer. *Anticancer research*. Jun 2018;38(6):3707-3711.
104. van Galen JC, Dukers DF, Giroth C, et al. Distinct expression patterns of polycomb oncoproteins and their binding partners during the germinal center reaction. *European Journal of Immunology*. 2004;34(7):1870-1881.

105. van Kemenade FJ, Raaphorst FM, Blokzijl T, et al. Coexpression of BMI-1 and EZH2 polycomb-group proteins is associated with cycling cells and degree of malignancy in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. Jun 15 2001;97(12):3896-3901.
106. Velichutina I, Shakhovich R, Geng H, et al. EZH2-mediated epigenetic silencing in germinal center B cells contributes to proliferation and lymphomagenesis. *Blood*. Dec 9 2010;116(24):5247-5255.
107. Vijgen J, de Borst B, Weber R, Stobiecki T, Forter M. HCH and lindane contaminated sites: European and global need for a permanent solution for a long-time neglected issue. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*. May 2019;248:696-705.
108. Wagener N, Macher-Goeppinger S, Pritsch M, et al. Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) expression is an independent prognostic factor in renal cell carcinoma. *BMC cancer*. Oct 4 2010;10:524.
109. Wahlin BE, Aggarwal M, Montes-Moreno S, et al. A unifying microenvironment model in follicular lymphoma: outcome is predicted by programmed death-1--positive, regulatory, cytotoxic, and helper T cells and macrophages. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. Jan 15 2010;16(2):637-650.
110. Wan L, Li X, Shen H, Bai X. Quantitative analysis of EZH2 expression and its correlations with lung cancer patients' clinical pathological characteristics. *Clinical & translational oncology : official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*. Feb 2013;15(2):132-138.
111. Westin JR, Chu F, Zhang M, et al. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label, phase 2 trial. *The Lancet. Oncology*. Jan 2014;15(1):69-77.
112. Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol*. Jun 2011;12(6):492-499.
113. Wojciechowska U, Olasek P, Czauderna K, Didkowska J. *Nowotwory złośliwe w Polsce w 2014 roku. Cancer in Poland in 2014*. Warszawa Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie; 2016.
114. Wojtyniak B, Moskalewicz J, Stokwiszewski J, Rabaczko D. Gender-specific mortality associated with alcohol consumption in Poland in transition. *Addiction (Abingdon, England)*. Dec 2005;100(12):1779-1789.
115. Wu X, Scott H, Carlsson SV, et al. Increased EZH2 expression in prostate cancer is associated with metastatic recurrence following external beam radiotherapy. *The Prostate*. Jul 2019;79(10):1079-1089.
116. Xerri L, Bachy E, Fabiani B, et al. Identification of MUM1 as a prognostic immunohistochemical marker in follicular lymphoma using computerized image analysis. *Human pathology*. Oct 2014;45(10):2085-2093.
117. Xerri L, Dirnhofer S, Quintanilla-Martinez L, et al. The heterogeneity of follicular lymphomas: from early development to transformation. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. Feb 2016;468(2):127-139.
118. Xie M, Huang X, Ye X, Qian W. Prognostic and clinicopathological significance of PD-1/PD-L1 expression in the tumor microenvironment and neoplastic cells for lymphoma. *International immunopharmacology*. Dec 2019;77:105999.
119. Xu J, Wang Z, Lu W, et al. EZH2 promotes gastric cancer cells proliferation by repressing p21 expression. *Pathology, research and practice*. Jun 2019;215(6):152374.
120. Xu P, Liu X, Ouyang J, Chen B. TP53 mutation predicts the poor prognosis of non-Hodgkin lymphomas: Evidence from a meta-analysis. *PLoS One*. 2017;12(4):e0174809.
121. Xu Y, McKenna RW, Kroft SH. Assessment of CD10 in the diagnosis of small B-cell lymphomas: a multiparameter flow cytometric study. *American journal of clinical pathology*. Feb 2002;117(2):291-300.
122. Xu-Monette ZY, Zhou J, Young KH. PD-1 expression and clinical PD-1 blockade in B-cell lymphomas. *Blood*. Jan 4 2018;131(1):68-83.
123. Yakovlev E. Alcoholism and mortality in Eastern Europe: <https://wol.iza.org/articles/alcoholism-and-mortality-in-eastern-europe/long>. *IZA World of Labor* 2015.
124. Yamada A, Fujii S, Daiko H, Nishimura M, Chiba T, Ochiai A. Aberrant expression of EZH2 is associated with a poor outcome and P53 alteration in squamous cell carcinoma of the esophagus. *International journal of oncology*. Feb 2011;38(2):345-353.
125. Yamagishi M, Hori M, Fujikawa D, et al. Targeting Excessive EZH1 and EZH2 Activities for Abnormal Histone Methylation and Transcription Network in Malignant Lymphomas. *Cell reports*. Nov 19 2019;29(8):2321-2337 e2327.
126. Yang ZZ, Grote DM, Ziesmer SC, Xiu B, Novak AJ, Ansell SM. PD-1 expression defines two distinct T-cell sub-populations in follicular lymphoma that differentially impact patient survival. *Blood Cancer J*. Feb 20 2015;5(2):e281.
127. Yonemitsu Y, Imazeki F, Chiba T, et al. Distinct expression of polycomb group proteins EZH2 and BMI1 in hepatocellular carcinoma. *Human pathology*. Sep 2009;40(9):1304-1311.
128. Yu L, Yu TT, Young KH. Cross-talk between Myc and p53 in B-cell lymphomas. *Chronic diseases and translational medicine*. Sep 2019;5(3):139-154.
129. Yuda S, Maruyama D, Maeshima AM, et al. Influence of the watch and wait strategy on clinical outcomes of patients with follicular lymphoma in the rituximab era. *Annals of hematology*. Dec 2016;95(12):2017-2022.
130. Zhang X, Zhao X, Fiskus W, et al. Coordinated Silencing of Myc-Mediated miR-29 by HDAC3 and EZH2 As a Therapeutic Target of Histone Modification in Aggressive B-Cell Lymphomas. *Cancer Cell*. Oct 16 2012;22(4):506-523.
131. Zhao X, Lwin T, Zhang X, et al. Disruption Of MYC-MiRNA-EZH2 Loop To Suppress Aggressive B-Cell Lymphoma Survival And Clonogenicity. *Leukemia*. Dec 2013;27(12):2341-2350.
132. Zhao Y, Ding L, Wang D, et al. EZH2 cooperates with gain-of-function p53 mutants to promote cancer growth and metastasis. *The EMBO Journal*. 2019/03/01 2019;38(5):e99599.
133. Zhou X, Liu N, Zhang J, et al. Increased expression of EZH2 indicates aggressive potential of urothelial carcinoma of the bladder in a Chinese population. *Scientific reports*. Dec 12 2018;8(1):17792.
134. Zhou Z, Gao J, Popovic R, et al. Strong expression of EZH2 and accumulation of trimethylated H3K27 in diffuse large B-cell lymphoma independent of cell of origin and EZH2 codon 641 mutation. *Leukemia & lymphoma*. 2015;56(10):2895-2901.

- V. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

a. Dane bibliometryczne – podsumowanie dorobku naukowego

(stan na dzień 29.10.2020)

Jestem autorem i współautorem artykułów naukowych opublikowanych w indeksowanych czasopismach krajowych i zagranicznych o łącznej punktacji:

IF: 136,329 pkt, MNiSW: 2824 pkt.

W skład dorobku publikacyjnego wchodzi:

Oryginalne pełnotekstowe prace naukowe: **IF: 110,993 pkt, MNiSW: 2050 pkt**

Opisy przypadków: **IF: 7,812 pkt, MNiSW: 268 pkt**

Prace poglądowe: **IF: 15,038 pkt, MNiSW: 506 pkt**

Rozdziały w podręcznikach krajowych: **7;**

Prace popularno-naukowe i inne: **4;**

Listy do redakcji czasopism posiadających IF: **1;**

Publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism: **1.**

Opublikowane wystąpienia zjazdów międzynarodowych: **37;**

Opublikowane wystąpienia ze zjazdów krajowych: **IF: 12;**

Wystąpienia zjazdowe niepublikowane: **28**

Wykłady szkoleniowe/dydaktyczne: **36**

Łącznie **254** cytowań (bez autocytowań **245**, indeks Hircha wynosi: **10** (źródło: ISI Web of Science Core Collection)

Łącznie **266** cytowań (bez autocytowań **258**), indeks Hircha wynosi: **10** (źródło: Scopus)

W załączniku nr 6 przedstawiono Analizę bibliometryczną publikacji sporządzoną przez Bibliotekę Naukową, Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie.

W załączniku nr 7 przedstawiono Wykaz innych publikacji i wystąpień poświadczony przez Bibliotekę Naukową, Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie.

b. Główne obszary badań naukowych

W trakcie swojej pracy zawodowej i naukowej jako lekarz specjalista patomorfolog we współpracy klinicznej i z zespołami badawczymi zajmuję się zagadnieniami związanymi z histopatologią różnych nowotworów. Dotychczas miałam zaszczyt pracować przede wszystkim z zespołami Katedry i Zakładu Patomorfologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (prof. Jerzy Stachura, prof. Krzysztof Okoń),

Zakładu Diagnostyki Hematologicznej (prof. Monika Prochorec-Sobieszek) i Zakładu Hematologii Eksperymentalnej (prof. Przemysław Juszczynski) Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Zakładem Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej (prof. Monika Prochorec-Sobieszek) oraz Kliniką Nowotworów Tkanek Miękkich, Kości i Czerniaków (prof. Piotr Rutkowski, prof. Anna M. Czarnecka) i Kliniką Hematologii (prof. Jan Walewski, dr Ewa Paszkiewicz-Kozik) Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie oraz licznymi ośrodkami zagranicznymi. **Moje główne osiągnięcia naukowe są związane z pracą naukową w dwóch ośrodkach Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie oraz Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie.** Osią moich zainteresowań od strony patomorfologa są nowotwory układu chłonnego i krwiotwórczego, czerniak i nowotwory skóry, nowotwory tkanek miękkich i kości oraz inne nowotwory. Moja działalność naukowa związana jest w wykorzystaniem znajomości różnych technik m.in. konwencjonalnej mikroskopii optycznej, mikroskopii elektronowej, immunohistochemii i immunofluorescencji na materiale tkankowym, metody mikromacierzy tkankowych, cytometrii przepływowej, hybrydyzacji in situ, fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ, technik wspomagających patomorfologię cyfrową. W większości badań naukowych, w których brałam udział zastosowano również zaawansowane techniki eksperymentalne m.in. sekwencjonowanie nowej generacji, sekwencjonowanie techniką Sangera, immunoblotting, metody w oparciu o linie komórkowe i warunki hodowli komórkowej, ilościową reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym, analizę transkryptomu przez sekwencjonowanie RNA, zastosowanie wektorów i transdukcji retrowirusowych, wyciszanie ekspresji genów za pośrednictwem RNAi, testy proliferacji i apoptozy, testy aktywacji komórek T, izolację egzosomu, spektrometrię masy, badania na zwierzętach, w tym wykorzystanie heteroprzeszczepów. Oprócz prac oryginalnych jestem autorem prac poglądowych, w tym prac poglądowych o charakterze rekomendacji, rozdziałów w podręcznikach krajowych oraz prac kazuistycznych z zakresu hematologii. Poniżej przedstawiam omówienie dorobku naukowego z zachowaniem podziału tematycznego oraz chronologii czasowej publikacji.

i. Nowotwory układu chłonnego i krwiotwórczego

1. Nowotwory mieloproliferacyjne

Okoń K., **Szumera A.**, Papla B., Pietkun I., Zduńczyk A., Rucińska M., Skotnicki A., Stachura J.: *Morphometric classification of hairy cell leukemia in bone marrow trephine biopsy*, w: *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, vol. 25, nr 4, 2003, ss. 227-234

Badanie powstało we współpracy Zakładu Patomorfologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego (CMUJ) z Kliniką Hematologii CMUJ i Kliniką Hematologii i Chorób Wewnętrznych Szpitala Specjalistycznego im. Ludwika Rydygiera. Celem badania była analiza parametrów cytologicznych i histologicznych trepanobiopsji szpiku kostnego w celu określenia heterogenności komórek białaczki włochatokomórkowej. Grupa badana

składała się z 28 pacjentów. Zastosowano immunohistochemię w celu identyfikacji komórek białaczkowych. Przetwarzanie obrazu i pomiary przeprowadzono za pomocą systemu analizy obrazu i niestandardowych programów m.in. do pomiarów planimetrycznych jąder zastosowano automatyczną segmentację. Mierzonymi parametrami były: pole powierzchni, obwód, minimalna, średnia i maksymalna średnica oraz zestaw współczynników kształtu. Względne objętości beleczek kostnych, tkanki tłuszczowej, krwiotwórczej i nacieku nowotworowego oceniano metodą punktową. Objętość jądra była mierzona metodą punktowego przecięcia z próbką. Zwłóknienie szpiku kostnego oceniano za pomocą systemu testów krzywoliniowych. W badaniu stwierdzono znaczną zmienność jąder komórkowych i możliwe było ich zaklasyfikowanie do 3 typów różniących się przebiegiem klinicznym i cechami histologicznymi. Niniejsza praca potwierdziła niejednorodność populacji komórek białaczki włochatokomórkowej.

Prochorec-Sobieszek M., Nasilowska-Adamska B., Szumera-Ciećkiewicz A., Tomaszewska A., Halaburda K., Szczepinski A., Szymanska-Giemza O., Ziarkiewicz-Wróblewska B., Marianska B.: The significance of oral labial biopsy in hepatic graft-versus-host disease diagnosis in patients following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation - a preliminary report, w: Annals of Transplantation, vol. 17, nr 3, 2012, ss. 85-92, DOI:10.12659/AOT.883462

Badanie zostało wykonane w Zakładzie Diagnostyki Hematologicznej oraz Klinice Transplantacji Komórek Krwiotwórczych Instytutu Hematologii i Transfuzjologii we współpracy z Zakładem Patomorfologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i Zakładem Patologii Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie. Praca obejmuje zagadnienie choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD), które jest najważniejszym powikłaniem po allogenicznym przeszczepie hematopoetycznych komórek macierzystych (allo-HSCT), odpowiedzialnym za zwiększoną śmiertelność. Duże znaczenie we wczesnym wykrywaniu ogólnoustrojowego GvHD ma zastosowanie adekwatnych testów przesiewowych GvHD. Praca jest pierwszym badaniem dotyczącym znaczenia biopsji błony śluzowej części ustnej wargi w diagnostyce choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi po allo-HSCT (H-GvHD). Wybrano 21 pacjentów po alloHSCT: 12 pacjentów z H-GvHD potwierdzonym klinicznie i w badaniach laboratoryjnych oraz 9 pacjentów bez cech GvHD (grupa kontrolna). Badania histopatologiczne i immunohistochemiczne próbek tkanek obejmowały: 15 próbek błony śluzowej jamy ustnej (OM), 19 gruczołów ślinowych warg (LSG) i 5 próbek wątroby. Wszyscy pacjenci mieli klinicznie prawidłową błonę śluzową jamy ustnej a u 4 pacjentów z H-GvHD stwierdzono objawy kserostomii. Badanie histologiczne LSG i / lub OM potwierdziło rozpoznanie GvHD u 9 z 12 pacjentów z H-GvHD. Zmiany mikroskopowe obejmowały: nacieki limfocytowe i ciała apoptotyczne w OM oraz nacieki zapalne z minimalną przewagą limfocytów T CD8 + w nabłonku kanalików w LSG. W grupie kontrolnej 4 z 9 pacjentów miało łagodne przewlekłe zapalenie, które nie spełniało kryteriów GvHD. Obraz histopatologiczny biopsji wątroby korelował z klinicznym rozpoznaniem GvHD. Ocena mikroskopowa biopsji LSG i / lub OM potwierdziła kliniczne rozpoznanie H-GvHD, niezależnie od braku klinicznych objawów GVHD w jamie ustnej.

W pracy zwrócono uwagę, iż cechy histopatologiczne GvHD mogą być subtelne; rozpoznanie wymaga całościowego podejścia kliniczno-patologicznego i laboratoryjnego, aby wykluczyć inne choroby o podobnych cechach histopatologicznych.

Czardybon W., Windak R., Gołas A., Gałęzowski M., Sabiniarz A., Dolata I., Salwińska M., Guzik P., Zawadzka M., Gabor-Worwa E., Winnik B., Żurawska M., Kolańska E., Wincza E., Bugaj M., Danielewicz M., Majewska E., Mazan M., Dubin G., Noyszewska-Kania M., Jabłonska E., Szydlowski M., Sewastianik T., Puła B., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Prochorec-Sobieszek M., Mądro E., Lech-Maranda E., Warzocha K., Tamburini J., Juszczynski P., Brzózka K.: A novel, dual pan-PIM/FLT3 inhibitor SEL24 exhibits broad therapeutic potential in acute myeloid leukemia, w: *Oncotarget*, vol. 9, nr 24, 2018, ss. 16917-16931, DOI:10.18632/oncotarget.24747

Badanie zostało zrealizowane przy współpracy Zakładu Hematologii Eksperymentalnej, Zakładu Diagnostyki Hematologicznej, Kliniki Hematologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii oraz Selvita S.A. z siedzibą w Krakowie, Małopolskiego Centrum Biotechnologii, oraz Institut Cochin, Département Développement, Reproduction, Cancer, w Paryżu, Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, w Paryżu i Equipe Labellisée, Ligue Nationale Contre le Cancer (LNCC) w Paryżu. Osia pracy była wewnętrzna duplikacja tandemowa kinazy tyrozynowej 3 typu Fms (FLT3-ITD), która jest jedną z najczęstszych zmian genetycznych u pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML). Chociaż inhibitory kinazy tyrozynowej FLT3 początkowo wykazują aktywność kliniczną, oporność na leczenie nieuchronnie pojawia się w ciągu kilku miesięcy. Uważa się, że kinazy PIM są głównymi czynnikami napędzającymi fenotyp oporności, a ich hamowanie w nawrotach przywraca wrażliwość komórek na inhibitory FLT3. Zatem jednoczesne hamowanie PIM i FLT3 stanowi obiecującą strategię w terapii AML. Z tego powodu zespół opracował SEL24-B489 - silny, podwójny inhibitor PIM i FLT3-ITD. SEL24-B489 wykazywał znacznie szerszą aktywność względem linii komórkowych AML i pierwotnych blastach AML niż selektywne inhibitory FLT3-ITD lub PIM. SEL24-B489 charakteryzował się również znaczną aktywnością w komórkach z mutacjami domeny kinazy tyrozynowej FLT3 (TKD), które prowadzą do oporności na inhibitory FLT3. Ponadto SEL24-B489 hamował wzrost szerokiego panelu linii komórkowych AML w modelach heteroprzeszczepów z wyraźną zależnością farmakodynamiczną-farmakokinetyczną. Podsumowując, dane z tej pracy podkreśliły wyjątkową podwójne działanie SEL24-B489, która znosi aktywność szlaków sygnałowych zaangażowanych w proliferację, hamowanie apoptozy i translację oraz metabolizm białek. Wyniki te potwierdziły potencjał terapeutyczny podwójnego inhibitora PIM / FLT3-ITD w leczeniu AML.

Ponadto jestem pierwszym autorem lub współautorem **prac poglądowych** dotyczących mieloproliferacji:

- ✓ Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Szymańska-Giemza O.: Diagnostyka różnicowa nadpłytkowości samoistnej, w: *Hematologia*, vol. 3, nr 3, 2012, ss. 201-210

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Prochorec-Sobieszek M.: Zespół szarych płytek, w: *Hematologia*, vol. 5, nr 2, 2014, ss. 115-121

Jestem także pierwszym autorem lub współautorem prac kazuistycznych dotyczących mieloproliferacji

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Nasilowska-Adamska B., Prochorec-Sobieszek M., Borg K., Sawczuk-Chabin J., Mariańska B., Lech-Maranda E., Warzocha K.: Izolowana wznowa pozaszpikowa w gruczole piersiowym u chorej na ostrą białaczkę szpikową z inv(16)(p13;q22) i genem fuzyjnym CBFβ-MYH11 po allogenicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych — opis przypadku i przegląd piśmiennictwa, w: *Hematologia*, vol. 3, nr 4, 2012, ss. 359-366
- ✓ Chraszczewska M., Sokół K., Kuczkiewicz-Siemion O., Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Acquired von Willebrand syndrome associated with plasma cell myeloma - a rare histopathological bone marrow image, w: *Polish Journal of Pathology*, vol. 70, nr 4, 2019, ss. 311-316, DOI:10.5114/pjp.2019.93135
- ✓ Malenda A., Kołkowska-Leśniak A., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Lech-Maranda E., Warzocha K.: Skuteczność lenalidomidu u chorego na szpiczaka plazmocytozy wspólistniejącego z zespołem mielodysplastycznym związanym z izolowaną delecją chromosomu 5q-, w: *Hematologia*, vol. 7, nr 1, 2016, ss. 77-84, DOI:10.5603/Hem.2016.0006

2. Nowotwory limfoproliferacyjne

Jesione-Kupnicka D., Bojo M., Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Jabłońska J., Kalinka-Warzocha E., Kordek R., Młynarski W., Robak T., Warzocha K., Lech-Maranda E.: HLA-G and MHC Class II Protein Expression in Diffuse Large B-Cell Lymphoma, w: *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, vol. 64, nr 3, 2016, ss. 225-240, DOI:10.1007/s00005-015-0372-8

Praca powstała dzięki współpracy Zakładu Patologii, Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Oddziału Chemioterapii Szpitala im. Mikołaja Kopernika w Łodzi, Katedry Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Katedry Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Zakładu Diagnostyki Hematologicznej i Kliniki Hematologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Ekspresję ludzkiego antygenu leukocytarnego-G (HLA-G) i białka HLA klasy II badano w barwieniach immunohistochemicznych węzłów chłonnych od 148 pacjentów z rozlanym chłoniakiem z dużych komórek B (DLBCL) i powiązano z klinicznym przebiegiem choroby. Ujemna ekspresja HLA-G wiązała się z mniejszym prawdopodobieństwem osiągnięcia całkowitej remisji ($p=0,04$). Pacjenci z ujemną ekspresją HLA-G wykazywali tendencję do niższego wskaźnika 3-letniego całkowitego przeżycia (OS) w porównaniu z pacjentami z dodatnią ekspresją HLA-G ($p=0,08$). Ograniczając analizę do pacjentów otrzymujących wyłącznie chemioterapię rytuksymabem, szacowany wskaźnik 3-letniego OS u pacjentów z dodatnią

ekspresją HLA-G wyniósł 73,3% w porównaniu z 47,5% ($p=0,03$) u pacjentów z ujemną ekspresją. Pacjenci z ujemną ekspresją HLA klasy II wykazywali niższy wskaźnik 3-letniego OS w porównaniu z osobami z dodatnią ekspresją ($p=0,04$). Utrata ekspresji HLA klasy II ($p=0,05$) i przynależność do grupy średnio wysokiego / wysokiego ryzyka IPI ($p=0,001$) niezależnie zwiększały ryzyko zgonu. Ekspresja HLA klasy II również zachowała swoją wartość prognostyczną u pacjentów otrzymujących rytuksymab; wskaźnik 3-letniego OS wyniósł 65,3% u pacjentów z dodatnią ekspresją HLA klasy II w porównaniu z 29,6% ($p=0,04$) u pacjentów z utratą ekspresji HLA klasy II. Zgodnie z naszą wiedzą po raz pierwszy wykazano ekspresję białka HLA-G w DLBCL i jej związek z klinicznym przebiegiem choroby. Ponadto potwierdzono związek między utratą ekspresji białka HLA klasy II i słabą przeżywalnością pacjentów leczonych immunochemioterapią.

Szydłowski M., Kiliszek P., Sewastianik T., Jabłonska E., Białopiotrowicz E., Gorniak P., Polak A., Markowicz S., Nowak E., Grygorowicz M., Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Malenda A., Lech-Maranda E., Warzocha K., Juszczynski P.: *FOXO1 activation is an effector of SYK and AKT inhibition in tonic BCR signal-dependent diffuse large B-cell lymphomas*, w: *Blood*, vol. 127, nr 6, 2016, ss. 739-748, DOI:10.1182/blood-2015-06-654111

Badanie w całości zrealizowano w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Hamowanie kinazy tyrozynowej śledziona (SYK) w chłoniakach rozproszonych z dużych komórek B (DLBCL) zależnych od sygnału receptora tonicznego komórek B (BCR) hamuje proliferację komórek, zmniejsza biosyntezę cholesterolu i wyzwała apoptozę, przynajmniej częściowo poprzez mechanizm obejmujący aktywność osi 3-kinazy fosfatydylinozytolu / AKT. Ponieważ FOXO1 jest głównym efektem tego szlaku, zbadaliśmy jego rolę w toksyczności hamowania szlaku BCR. Hamowanie SYK w komórkach DLBCL z toniczną sygnalizacją BCR zmniejszyło poziomy fosfo-AKT i fosfo-FOXO1 i wyzwoliło ekspresję genów kierowaną przez FOXO1. Wprowadzenie konstytutywnie aktywnej mutacji FOXO1 wywołuje zatrzymanie cyklu komórkowego i apoptozę, co wskazuje, że zwiększona aktywność FOXO1 jest toksyczna dla komórek DLBCL. Wyciszenie FOXO1 przy użyciu krótkiego RNA doprowadził do prawie całkowitej odporności na chemiczny inhibitor SYK R406, co pokazuje, że FOXO1 jest również wymagane do śmierci komórek indukowanej przez R406. FOXO1 w tych komórkach jest również zaangażowany w regulację ekspresji głównego regulatora biosyntezy cholesterolu, SREBP1. Ponieważ HRK jest kluczowym efektem hamowania SYK, scharakteryzowaliśmy mechanizm łączący aktywację FOXO1 i indukcję HRK, który obejmuje zależne od kaspazy rozszczepienie represora transkrypcji DREAM HRK. AKT w komórkach chłoniaka może być regulowane przez inne sygnały niż BCR, oceniliśmy także łączne działanie inhibitora AKT MK-2206 z R406 i stwierdziliśmy wyraźnie synergistyczną toksyczność zależną od FOXO1. W pierwotnych DLBCL ekspresja FOXO1 była obecna w 80% guzów, korelowała z aktywnością SYK i była związana z dłuższym całkowitym przeżyciem. Wyniki te pokazują, że FOXO1 jest wymagany do toksyczności indukowanej przez kinazy SYK i AKT.

Sewastianik T., Szydłowski M., Jabłonska E., Białopiotrowicz E., Kiliszek P., Gorniak P., Polak A., Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Kaminski T., Markowicz S., Nowak E., Grygorowicz M., Warzocha K., Juszczynski P.: *FOXO1 is a TXN- and p300-dependent sensor and effector of oxidative stress in diffuse large B-cell lymphomas characterized by increased oxidative metabolism*, w: *Oncogene*, vol. 35, nr 46, 2016, ss. 5989-6000, DOI:10.1038/onc.2016.126

Praca została zrealizowana przy współpracy Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Zakładu Fizykochemii Miękkiej Materii Instytutu Chemii Fizycznej, Polskiej Akademii Nauk w Warszawie i Zakładu Immunologii Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie. Profilowanie molekularne doprowadziło do zidentyfikowania podtypów rozlanych chłoniaków z dużych komórek B (DLBCL) różniących się sygnalizacją onkogenną i programami metabolicznymi. Podtyp OxPhos-DLBCL charakteryzuje się wzmocnioną mitochondrialną fosforylacją oksydacyjną. Ponieważ zwiększony metabolizm oksydacyjny prowadzi do nadprodukcji potencjalnie toksycznych reaktywnych form tlenu (RFT), staraliśmy się zidentyfikować mechanizmy odpowiedzialne za adaptację komórek OxPhos do tych warunków. W badaniu scharakteryzowano mechanizm obejmujący szlak FOXO1-TXN-p300 chroniący komórki OxPhos-DLBCL przed toksycznością ROS. Zidentyfikowaliśmy mechanizm transkrypcyjny zależny od BCL6 prowadzący do względnej nadekspresji TXN w komórkach OxPhos. Stwierdziliśmy, że komórki OxPhos pozbawione TXN były bardziej wrażliwe na RFT i doksorubicynę niż komórki kontrolne. W związku z tym całkowity czas przeżycia pacjentów z wysoką ekspresją mRNA TXN, leczonych schematami zawierającymi doksorubicynę, jest znacznie krótszy niż pacjentów z niską ekspresją mRNA TXN. Nadekspresja TXN ogranicza acetylację FOXO1, w której pośredniczy p300 i jej translokację jądrową w odpowiedzi na stres oksydacyjny, osłabiając w ten sposób aktywność transkrypcyjną FOXO1 w kierunku genów zaangażowanych w apoptozę i hamowanie cyklu komórkowego. Pokazaliśmy również, że „knockdown” FOXO1 w komórkach z wyciszoną ekspresją TXN znacząco zmniejsza apoptozę indukowaną przez ROS, co wskazuje, że FOXO1 jest głównym „czujnikiem” i efektem stresu oksydacyjnego w OxPhos-DLBCL. Dane te podkreślają dynamiczną, zależną od panujących warunków modulację funkcji supresorowych FOXO1 poprzez acetylację i ujawniają potencjalnie punkty uchwytu w terapiach celowanych dla DLBCL.

Szydłowski M., Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Derezińska E., Hoser G., Wasilewska D., Szymańska-Giemza O., Jabłonska E., Białopiotrowicz E., Sewastianik T., Polak A., Czardybon W., Gałęzowski M., Windak R., Zaucha J., Warzocha K., Brzózka K., Juszczynski P.: *Expression of PIM kinases in Reed-Sternberg cells fosters immune privilege and tumor cell survival in Hodgkin lymphoma*, w: *Blood*, vol. 130, nr 12, 2017, ss. 1418-1429, DOI:10.1182/blood-2017-01-760702

Praca została zrealizowana przy współpracy Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Pracowni Cytometrii Przepływowej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, Selvita S.A. w Krakowie i Zakład Propedeutyki Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku oraz Polskiej Grupy

Badawczej Chłoniaków. Komórki Reeda-Sternberga (RS) w klasycznym chłoniaku Hodgkina (cHL) wykazują ekspresję wielu białek immunoregulacyjnych, które kształtują mikrośrodowisko cHL i pozwalają komórkom nowotworowym uniknąć nadzoru immunologicznego. Ekspresja niektórych białek immunoregulacyjnych jest sterowana przez czynniki transkrypcyjne przeżywalności, takie jak NFκB i STAT. Ponieważ te czynniki również indukują ekspresję onkogennych kinaz serynowo/treoninowych PIM1/2/3 i w związku z faktem, że kinazy PIM modulują aktywność transkrypcyjną NFκB i STAT, postawiliśmy hipotezę, że te kinazy wspierają przeżycie komórek RS i sprzyjają ich przywilejowi immunologicznemu. Zbadaliśmy więc ekspresję PIM1/2/3 w cHL i oceniliśmy ich rolę powstawaniu odporności i utrzymywaniu przeżycia komórek RS. PIM1/2/3 były obecne w pierwotnych i hodowanych komórkach RS, a ich ekspresja była wzmacniana przez aktywność JAK-STAT i NFκB. Genetyczne lub chemiczne hamowanie PIM za pomocą nowo opracowanego inhibitora pan-PIM, SEL24-B489, wywoływało apoptozę komórek RS. Zahamowanie PIM zmniejszyło translację białek, zablokowało sygnalizację JAK-STAT i znacznie osłabiło ekspresję genów zależną od NFκB. W modelu heteroprzeszczepu cHL SEL24-B489 opóźnił wzrost guza o 95,8% ($p=0.0002$). Ponadto SEL24-B489 zmniejszył ekspresję wielu cząsteczek zaangażowanych w rozwój immunosupresyjnego mikrośrodowiska, w tym galektyny-1 i PD-L1/2. W doświadczeniach na hodowlanych komórkach T inkubowanych z komórkami RS traktowanymi SEL24-B489 wykazywały one wyższą ekspresję markerów aktywacji niż komórki T inkubowane z kontrolnymi komórkami RS. Podsumowując, nasze dane wykazały, że kinazy PIM w cHL mają efekt plejotropowy, wpływając na „ucieczkę” immunologiczną guza i wspierając przeżycie komórek RS. Hamowanie kinaz PIM zmniejsza żywotność komórek RS i zakłóca szlaki sygnalizacyjne. Badanie potwierdziło, iż kinazy PIM są obiecującymi celami terapeutycznymi w cHL.

*Białopiotrowicz E., Noyszewska-Kania M., Kachamakova-Trojanowska N., Łoboda A., Cybulska M., Grochowska A., Kopczyński M., Mikula M., Prochorec-Sobieszek M., Firczuk M., Graczyk-Jarzynka A., Radosław Z., Ząbek A., Młynarz P., Dulak J., Gorniak P., Szydłowski M., Pyziak K., Martyka J., Sroka-Porada A., Jabłonska E., Polak A., Kowalczyk P., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Chapuy B., Rzymiski T., Brzózka K., Juszczynski P.: Serine Biosynthesis Pathway Supports MYC-miR-494-EZH2 Feed-Forward Circuit Necessary to Maintain Metabolic and Epigenetic Reprogramming of Burkitt Lymphoma Cells, w: *Cancers, Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*, vol. 12, nr 3, 2020, ss. 1-20, DOI:10.3390/cancers12030580*

Badanie przeprowadzono w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii we współpracy z Wydziałem Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, Małopolskim Centrum Biotechnologii w Krakowie, Zakładem Genetyki, Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowym Instytutem Badawczym, Zakładem Immunologii Klinicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Politechniką Wrocławską, 9Ryvu Therapeutics S.A. w Krakowie i Department of Hematology and Oncology, University Medical Center Göttingen w Niemczech. Onkogen MYC odgrywa kluczową rolę w patogenezie

Chłoniak Burkitta (BL) nowotworu, kontrolując geny zaangażowane w apoptozę, proliferację i metabolizm komórkowy. Szlak biosyntezy seryny (SBP) łączy glikolizę z cyklami kwasu foliowego i metioniny, wspierając biosyntezę niektórych aminokwasów, nukleotydów, glutationu i donora grup metylowych, S-adenozylometioniny (SAM). W pracy przedstawiliśmy, że BLs wykazują nadekspresję enzymów SBP, dehydrogenazę fosfoglicerynianową (PHGDH) i aminotransferazę fosfoseryny 1 (PSAT1). Oba geny są kontrolowane przez zależny od MYC czynnik transkrypcyjny ATF4. Genetyczna ablacja PHGDH / PSAT1 lub chemiczne hamowanie PHGDH za pomocą NCT-503 zmniejszyło proliferację i klonogenność linii komórkowych BL. NCT-503 obniżył poziom glutationu, zwiększył ilość reaktywnych form tlenu i wywołał apoptozę. Zgodnie z rolą SAM jako donora grupy metylowej, NCT-503 zmniejszył metylację DNA i histonów i doprowadził do ponownej ekspresji supresorów nowotworów ID4, KLF4, CDKN2B i TXNIP. Aktualnie wiadomo, że wysoki poziom H3K27me3 tłumi negatywny regulator MYC miR-494. NCT-503 zmniejszył liczebność H3K27me3, zwiększył poziom miR-494 i zmniejszył ekspresję MYC i zależnej od MYC metylotransferazy histonowej, EZH2. Co zaskakujące, chemiczne/genetyczne rozerwanie SBP nie opóźniło wzrostu heteroprzeszczepów BL i raka piersi, co sugeruje istnienie mechanizmów kompensujących brak PHGDH/PSAT1 in vivo.

Jabłońska E., Białopiotrowicz E., Szydłowski M., Prochorec-Sobieszek M., Juszczynski P., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: DEPTOR is a microRNA-155 target regulating migration and cytokine production in diffuse large B-cell lymphoma cells, w: *Experimental Hematology*, vol. 88, 2020, ss. 56-67, DOI:10.1016/j.exphem.2020.07.005

Badanie w całości zrealizowano w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. MicroRNA-155 (MiR-155) bierze udział w prawidłowym rozwoju komórek B i limfomogenezie, wpływając na różnicowanie, ruchliwość komórek i sygnalizację wewnątrzkomórkową. W tym badaniu szukaliśmy nowych celów MiR-155 potencjalnie zaangażowanych w deregulację szlaku receptora komórek B (BCR) w rozlanym chłoniaku z dużych komórek B (DLBCL). Udowodniliśmy, że MiR-155 tłumi DEPTOR (fosfatazę mTOR) i c-CBL (ligazę ubikwityny E3 SYK) poprzez bezpośrednie interakcje regionu 3' nieulegającego translacji. W pierwotnych DLBCL MiR-155 wykazuje wzorec ekspresji z DEPTOR i c-CBL. Hamowanie MiR-155 zmniejszyło ekspresję docelowych genów NFκB i komórek DLBCL wrażliwych na ibrutynib, potwierdzając rolę MiR-155 w modulacji sygnalizacji BCR. Ponieważ funkcja DEPTOR w DLBCL nigdy nie została zbadana, najpierw oceniliśmy jego ekspresję w serii 76 nowo zdiagnozowanych pacjentów z DLBCL. Ekspresja białka DEPTOR była znacznie niższa w DLBCL bardziej agresywnych spoza ośrodków rozmnażania (non-GCB) w porównaniu do podtypu GCB. W modelach linii komórkowych hamowanie ekspresji DEPTOR sprzyjało migracji komórek DLBCL w kierunku gradientu CXCL12. Wreszcie utrata lub nabycie DEPTOR modulowało ekspresję specyficznych cytokin prozapalnych i chemokin. W ten sposób zidentyfikowaliśmy DEPTOR jako nowy cel MiR-155, który

ma różną ekspresję w podtypach GCB i non-GCB oraz moduluje migrację komórek i ekspresję cytokin w komórkach DLBCL.

*Ponadto jestem pierwszym autorem lub współautorem **prac poglądowych** mających dotyczących limfoproliferacji:*

- ✓ Prochorec-Sobieszek M., Rymkiewicz G., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Jesionek-Kupnicka D.: Nowotwory układu chłonnego, w: Zalecenia do diagnostyki histopatologicznej nowotworów / Nasierowa-Guttmajer Anna, Górnicka Barbara (red.), 2013, Centrum Onkologii, Oddział Gliwice, Polskie Towarzystwo Patologów, ISBN 978-83-909137-1-1, ss. 249-256
- ✓ Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Diagnostyka hematopatologiczna chłoniaków "szarej strefy", w: Hematologia, vol. 4, nr 2, 2013, ss. 114-122
- ✓ Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Aktualny stan wiedzy na temat patomorfologii cyfrowej, w: Hematologia, vol. 8, nr 1, 2017, ss. 1-11, DOI:10.5603/Hem.2017.0001
- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Prochorec-Sobieszek M.: Najważniejsze zmiany w diagnostyce agresywnych chłoniaków z komórek B według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia z 2017, w: Hematologia, vol. 9, nr 1, 2018, ss. 1-14, DOI:10.5603/Hem.2018.0001
- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Rymkiewicz G., Grygalewicz B., Jesionek-Kupnicka D., Gruchała A., Ziarkiewicz-Wróblewska B., Gałązka K., Reszeć J., Borg K., Prochorec-Sobieszek M.: Comprehensive histopathological diagnostics of aggressive B-cell lymphomas based on the updated criteria of the World Health Organisation's 2017 classification, w: Polish Journal of Pathology, vol. 69, nr 1, 2018, ss. 1-19, DOI:10.5114/pjp.2018.75332
- ✓ Pytlak B., Chraszczewska M., Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Metylotransferaza EZH2 jako cel terapeutyczny w nowotworach układu chłonnego, w: Hematologia, vol. 10, nr 1, 2019, ss. 9-18, DOI:10.5603/Hem.2019.0012
- ✓ Sokół K., Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Znaczenie neprylizyny (CD10) w hematologii, w: Hematologia, vol. 10, nr 1, 2019, ss. 19-28, DOI:10.5603/Hem.2019.0013.

*Jestem także pierwszym autorem lub współautorem prac kazuistycznych dotyczących **limfoproliferacji**:*

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Prochorec-Sobieszek M., Lech-Maranda E.: Hodgkin's lymphoma mimicking tuberculosis in cervical lymph nodes, w: Polish Journal of Pathology, vol. 65, nr 1, 2014, ss. 83-88, DOI:10.5114/pjp.2014.42676
- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Bikowska-Opalach B., Prochorec-Sobieszek M.: "Double trouble" – synchronous mantle cell lymphoma and metastatic squamous cell carcinoma in an inguinal lymph node, w: Polish Journal of Pathology, vol. 68, nr 3, 2017, ss. 270-274, DOI:10.5114/pjp.2017.71538

ii. Czerniak i nowotwory skóry

García-Silva S, Benito-Martín A, Sánchez-Redondo S, Hernández-Barranco A, Ximénez-Embún P, Nogués L, Mazariegos MS, Brinkmann K, Amor López A, Meyer L, Rodríguez C, García-Martín C, Boskovic J, Letón R, Montero C, Robledo M, Santambrogio L, Sue Brady M, **Szumera-Ciećkiewicz A**, Kalinowska I, Skog J, Noerholm M, Muñoz J, Ortiz-Romero PL, Ruano Y, Rodríguez-Peralto JL, Rutkowski P, Peinado H. Use of extracellular vesicles from lymphatic drainage as surrogate markers of melanoma progression and BRAFV600E mutation. *J Exp Med*. 2019 May 6;216(5):1061-1070. doi: 10.1084/jem.20181522. Epub 2019 Apr 11. Erratum in: *J Exp Med*. 2019 Apr 22;; PMID: 30975894; PMCID: PMC6504207.

Badanie to powstało na bazie współpracy Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego z Microenvironment and Metastasis Laboratory, Molecular Oncology Program, Spanish National Cancer Research Center w Madrycie, Children's Cancer and Blood Foundation Laboratories, Department of Pediatrics, Weill Cornell Medicine w Nowym Jorku, Proteomics Unit-ProteoRed-Instituto de Salud Carlos III, Spanish National Cancer Research Center w Madrycie, Exosome Diagnostics, GmbH, Martinsried w Niemczech, Electron Microscopy Unit, Spanish National Cancer Research Center w Madrycie, Hereditary Endocrine Group, Spanish National Cancer Research Center w Madrycie, Department of Pathology, Microbiology & Immunology, Albert Einstein College of Medicine w Nowym Jorku, Memorial Sloan Kettering Cancer Center w Nowym Jorku, Exosome Diagnostics, Inc., Waltham w USA, Department of Dermatology, Medical school, Universidad Complutense de Madrid, Instituto and +12, Hospital Universitario 12 de Octubre w Madrycie, Department of Pathology, Medical school, Universidad Complutense de Madrid, Instituto and +12, Hospital Universitario 12 de Octubre w Madrycie i Microenvironment and Metastasis Laboratory, Molecular Oncology Program, Spanish National Cancer Research Center w Madrycie, Hiszpanii. Analiza płynnych biopsji pacjentów z nowotworem może poprawić diagnostykę i rokowanie. Ocena zastępczych markerów progresji w krążących pęcherzykach zewnątrzkomórkowych może być skuteczną nieinwazyjną metodą monitorowania chorych na czerniaka. Scharakteryzowaliśmy pęcherzyki zewnątrzkomórkowe oczyszczone z drenażu limfatycznego, czyli chłonki (ES) pochodzącej od chorych na czerniaka w III stopniu zaawansowania, uzyskanej po limfadenektomii. Analiza proteomiczna wykazała, że egzosomy pochodzące z surowicy obfitują w białka charakteryzujące progresję czerniaka. Ponadto stwierdziliśmy, że mutację BRAFV600E można wykryć w pęcherzykach zewnątrzkomórkowych pochodzących z ES i jej obecność koreluje ze zwiększonym ryzykiem nawrotu.

Szumera-Ciećkiewicz A., Bosisio F., Teterycz P., Antoranz A., Delogu F., Koljenović S., van de Wiel B., Blokk W., van Kempen L., Rutkowski P., van Akkooi A., Cook M., Massi D.: SOX10 is as specific as S100 protein in detecting metastases of melanoma in lymph nodes and is recommended for sentinel lymph node assessment, w: *European Journal of Cancer*, vol. 137, 2020, ss. 175-182, DOI:10.1016/j.ejca.2020.06.037

Badanie powstało dzięki współpracy Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego z Laboratory of Translational Cell and Tissue Research and Pathology Department, KU Leuven and UZ Leuven w Belgii, Department of Health Sciences, Clinical Pharmacology and Oncology Unit, University of Florence, Florence w Włoszech, Department of Pathology, Erasmus MC, University Medical Centre Rotterdam w Holandii, Department of Pathology, The Netherlands Cancer Institute - Antoni van Leeuwenhoek Hospital, Amsterdam w Holandii, Department of Pathology, Division of Laboratories, Pharmacy and Biomedical Genetics, University Medical Center, Utrecht w Holandii, Department of Pathology, University Medical Center Groningen, University of Groningen, Groningen w Holandii, Department of Surgical Oncology, Netherlands Cancer Institute - Antoni van Leeuwenhoek, Amsterdam w Holandii, Histopathology, Royal Surrey County Hospital, Guildford w Wielkiej Brytanii, Section of Pathological Anatomy, Department of Health Sciences, University of Florence, Florence we Włoszech. Biopsja węzła wartowniczego (SLN) pozostaje kluczowa dla określenia stopnia zaawansowania czerniaka. European Organisation for Research and Treatment of Cancer Melanoma Group zaleca wykonanie barwienia immunohistochemicznego w celu powtarzalnej identyfikacji przerzutów czerniaka. Białko S100 (pS100) jest powszechnie stosowanym antygenem melanocytowym ze względu na jego wysoką czułość pomimo stosunkowo niskiej swoistości. Białko HMG-box 10 związane z SRY (SOX10) jest czynnikiem transkrypcyjnym charakteryzującym komórki pochodzące z grzebienia nerwowego. Ulega jednolitej ekspresji w jądrach melanocytów, komórek nerwowych i komórek mioepitelialnych. Patomorfolodzy czasami preferują SOX10 jako marker czerniaka, ale dotychczas nie został on jeszcze oceniony na dużą skalę, aby potwierdzić, że jest wiarygodnym, powtarzalnym sposobem zalecany do rutynowej oceny SLN. 401 pacjentów z przerzutami czerniaka do węzłów chłonnych zostało włączonych do badania. Wykonano mikromacierze tkankowe o dużej gęstości i oceniano odczyny z SOX10 i pS100 wykonane w technice immunohistochemicznej. Slajdy zostały zdigitalizowane, udostępnione i ocenione przez panel doświadczonych patologów specjalizujących się w diagnostyce czerniaka. Zdecydowana większość czerniaków była podwójnie dodatnia dla pS100 i SOX10 (93,2%); niewielki odsetek przypadków (3,9%) to czerniaki z wynikiem podwójnie ujemnym. Zaobserwowano następujące rozbieżności między dwoma markerami: 1,9% pS100 (-) / SOX10 (+) i 0,75% pS100 (+) / SOX10 (-). SOX10 nie ulegał ekspresji w komórkach podścieliska węzłów chłonnych, dzięki temu interpretacją barwienia była mniej kontrowersyjna. Stwierdziliśmy, że SOX10 jest równie specyficzny jak pS100 w wykrywaniu przerzutów czerniaka w do węzłów chłonnych. Interpretacja barwienia SOX10 jest wysoce powtarzalna w różnych ośrodkach i wykonywana przez różnych patologów.

*Kowalik A., Jurkowska M., Mierzejewska E., Ługowska I., Gos A., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Zięba S., Kosęła-Paterczyk H., van der Oord J., Dębiec-Rychter M., Szamotulska K., Siedlecki J., Rutkowski P.: The prognostic*

role of BRAF and WNT pathways activation in kinase inhibitors-naïve clinical stage III cutaneous melanoma, w: Melanoma Research, vol. 30, nr 4, 2020, ss. 348-357, DOI:10.1097/CMR.0000000000000658

Praca powstała w oparciu o współpracę Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego z Zakładem Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach, Niepublicznym Zakładem Opieki Zdrowotnej Genomed, Zakładem Epidemiologii i Biostatystyki Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie oraz Department of Pathology, Laboratory of Translational Cell and Tissue Research, KU Leuven and University Hospitals Leuven w Belgii, Department of Human Genetics, KU Leuven and University Hospitals Leuven w Belgii. Aktualnie nie ma spersonalizowanego leczenia chorych na czerniaka w III stopniu zaawansowania ze względu na brak przydatnych markerów patologicznych do prognozowania indolentnego lub agresywnego przebiegu choroby. Celem tego badania było zbadanie genomu czerniaka za pomocą profilowania mutacyjnego 50 genów wpływających na szlaki kancerogenezy u losowo wybranych 93 pacjentów w III stadium zaawansowania, nieleczonych wcześniej inhibitorami kinazy (KI). Zmiany genomowe stwierdzono w 27 z 50 badanych genów, a co najmniej jeden wariant patogenny wykryto w 77 z 93 przypadków (82,7%). Na przeżywalność negatywnie wpłynęła obecność mutacji somatycznych w *AKT1*, *ATM*, *CDH1* i *SMARCB1*, podczas gdy stan *BRAF*(+) w populacji w III stadium bez leczenia KI korelował z dłuższą medianą całkowitego przeżycia. Zmiany genomowe w szlaku WNT korelowały z naciekiem pozawęzłowym przez czerniaka ($p=0,027$) i większą liczbą przerzutowych węzłów chłonnych ($p=0,045$). Pod względem przeżycia w modelu Cox potwierdzono gorsze rokowanie u chorych z mutacją na szlaku WNT [współczynnik ryzyka (HR)=2,9, $p=0,017$] oraz lepsze rokowanie w przypadku mutacji w szlaku *BRAF* (HR=0,5, $p=0,004$). Zmiana na szlaku WNT/ β -kateniny była związana z bardziej agresywnym przebiegiem choroby. W oparciu o uzyskane wyniki koncepcja blokowania aktywności szlaku WNT w wybranych przypadkach wydaje się obiecującą i komplementarną opcją terapeutyczną hamowania szlaku *BRAF*.

Borkowska A., Szumera-Ciećkiewicz A., Spalek M., Teterycz P., Czarnecka A., Kowalik A., Rutkowski P.: Mutation profile of primary subungual melanomas in Caucasians, w: Oncotarget, vol. 11, nr 25, 2020, ss. 2404-2413, DOI:10.18632/oncotarget.27642

Badanie zostało zrealizowane w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowym Instytucie Badawczym i Zakładzie Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach. Czerniak pod paznokciowy (SUM) jest niezwykle rzadką chorobą; dlatego nie jest dobrze scharakteryzowany genetycznie. Patogeneza SUM nie jest związana z uszkodzeniem DNA wywołanym przez promieniowanie UV i teoretycznie powinna się różnić od innych podtypów czerniaka. Nasze badanie miało na celu zdefiniowanie profilu mutacji SUM u rasy białej. Do identyfikacji często mutowanych loci w 50 genach związanych z nowotworem w 31 pierwotnych guzach SUM wykorzystano analizę genomiczną nowej generacji opartą na sekwencjonowaniu. Najwięcej mutacji w SUM stwierdzono w *KIT* - w 13% przypadków i

NRAS - także w 13%, natomiast w BRAF - tylko w 3% przypadków. Nasze wyniki potwierdziły wysoką częstość mutacji KIT i NRAS w SUM, a także niską częstość występowania mutacji BRAF. Zidentyfikowaliśmy także nowe, dotychczas nie opisane mutacje KRAS, CTNNB1, TP53, ERBB2 i SMAD4 w SUM. Nasze odkrycia dostarczają nowych informacji na temat patogenezy molekularnej SUM.

Borkowska AM, **Szumera-Ciećkiewicz A**, Spalek MJ, Teterycz P, Czarnecka AM, Rutkowski PL. *Clinicopathological Features and Prognostic Factors of Primary Acral Melanomas in Caucasians. J Clin Med. 2020 Sep 16;9(9):E2996. doi: 10.3390/jcm9092996. PMID: 32948014.*

Badanie zostało zrealizowane w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowym Instytucie Badawczym Czerniaki skóry zlokalizowane na kończynach kończyn (czerniak dłoni i stóp; HFM) stanowią rzadką grupę wśród wszystkich czerniaków u rasy białej. HFM wiąże się ze złym rokowaniem. Naszym celem była ocena cech kliniczno-patologicznych, odległych wyników i czynników prognostycznych w pierwotnej HFM u rasy białej. Dokonano weryfikacji danych pacjentów leczonych w latach 1997-2014, u których rozpoznano pierwotnego czerniaka skóry w I-II stadium klinicznym i wykonano biopsję węzła wartowniczego. Analiza została przeprowadzona w celu określenia czynników kliniczno-patologicznych wpływających na wyniki w kohorcie HFM i czerniaków pod paznokciowych. Wśród 2537 kolejnych pacjentów z rozpoznaniem pierwotnego czerniaka skóry stwierdzono 247 przypadków HFM (9,7%), przy medianie czasu obserwacji 7,8 roku. Mediana grubości guza pierwotnego wg skali Breslowa w czerniakach pod paznokciowych i HFM wynosiła odpowiednio 4,0 mm i 3,3 mm i była istotnie wyższa niż w całej populacji (mediana 2,2 mm; $p < 0,01$). W grupie HFM 37,6% guzów było owrzodzonych. Przerzuty do wartowniczego węzła chłonnego (SLN) stwierdzono w 28,3% HFM. 10-letnie przeżycie całkowite w grupie HFM i czerniakach pod paznokciowych wyniosło odpowiednio 48,1% i 49,3% w porównaniu z 63,0% w przypadku czerniaków innych niż HFM. Nasze wyniki potwierdziły, że pacjenci z HFM wykazują gorsze przeżycie całkowite w porównaniu z całą populacją pacjentów chorujących na czerniaka, przy czym płeć męska i dodatni status biopsji SLN są niezależnymi negatywnymi czynnikami prognostycznymi.

Teterycz P, Czarnecka AM, Indini A, Spalek MJ, Labianca A, Rogala P, Cybulska-Stopa B, Quaglino P, Ricardi U, Badellino S, **Szumera-Ciećkiewicz A**, Falkowski S, Mandala M, Rutkowski P. *Multimodal Treatment of Advanced Mucosal Melanoma in the Era of Modern Immunotherapy, w Cancers (Basel) Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), vol. 12, 2020, pp. 1-15, DOI: 10.3390/cancers12113131.*

Badanie zostało zrealizowane w oparciu o wyniki zgromadzone w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowym Instytucie Badawczym w Warszawie i Krakowie oraz w ośrodkach włoskich: Melanoma Unit, Department of Oncology and Hematology, Papa Giovanni XXIII Hospital w Bergamo, Department of Medical Sciences, Dermatologic Clinic, University of Turin, Department of Oncology, Radiation Oncology, University of Turin, Department of Oncology, Radiotherapy Unit, AOU Città

della Salute e della Scienza di Torino. Czerniak błony śluzowej jest epidemiologicznie i molekularnie rzadką chorobą odrębną od czerniaka rozwijającego się z melanocytów zlokalizowanych w skórze. Niewiele wiadomo także o jego terapii. Celem niniejszej pracy była ocena wyników immunoterapii i radioterapii w grupie pacjentów z zaawansowanym czerniakiem błony śluzowej na podstawie doświadczeń pięciu ośrodków w Polsce i we Włoszech. Do tego retrospektywnego badania włączono 82 pacjentów (53 kobiety, 29 mężczyzn). Mediana wieku w tej grupie wyniosła 67,5 (IQR: 57,25-75,75). Wszyscy pacjenci otrzymali przeciwciała anti-PD1 lub anti-CTLA4 w pierwszej lub drugiej linii leczenia. Dwudziestu trzech pacjentów otrzymało radioterapię podczas leczenia anti-PD1. W pierwszej linii leczenia mediana czasu przeżycia wolnego od progresji (PFS) osiągnęła 6 miesięcy w grupie anti-PD1, co było statystycznie lepsze niż 3,1 miesiąca w grupie z innymi modalnościami ($p=0,004$). Mediana całkowitego przeżycia (OS) wyniosła 16,3 miesiąca (CI: 12,1-22,3) w całej kohorcie. Pacjenci, którzy otrzymali radioterapię (RT) w trakcie leczenia anti-PD1 mieli medianę PFS 8,9 miesiąca (CI: 7,4-NA), podczas gdy pacjenci leczeni pojedynczą terapią anti-PD1 mieli medianę PFS 4,2 miesiąca (CI: 3,0 -7,8); ta różnica była istotna statystycznie ($p=0,047$). Przeciwciała anti-PD1 są skuteczną opcją leczenia zaawansowanego czerniaka błony śluzowej. Dodanie RT mogło być korzystne w wybranej podgrupie pacjentów z czerniakiem błony śluzowej.

Ponadto jestem pierwszym autorem lub współautorem prac poglądowych dotyczących czerniaka i nowotworów skóry:

- ✓ Cook M., Massi D., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Van den Oord J., Blokx W., Kempen L., Balamurugan T., Bosisio F., Koljenovic S., Portelli F., van Akkooi A., Grp E.: An updated European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) protocol for pathological evaluation of sentinel lymph nodes for melanoma, w: European Journal of Cancer, vol. 114, 2019, ss. 1-7, DOI:10.1016/j.ejca.2019.03.010
- ✓ Pytlak B., Prochorec-Sobieszek M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: SOX10 as an immunohistochemical marker in cancer diagnostics, w: Nowotwory Journal of Oncology, vol. 69, nr 2, 2019, ss. 58-64, DOI:10.5603/2019.0011
- ✓ Wiśniewski P., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Nasierowska-Guttmejer A.: New pathomorphological classification of melanomas, w: Nowotwory Journal of Oncology, vol. 69, nr 3-4, 2019, ss. 103-107, DOI:10.5603/NJO.2019.0020
- ✓ Rutkowski P., Wysocki P., Nasierowska-Guttmejer A., Jeziorski A., Wysocki W., Kalinka-Warzocho E., Świtaj T., Kozak K., Kamińska-Winciorek G., Czarnecka A., Koseła-Paterczyk H., Wiśniewski P., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Zdzenicki M., Cybulska-Stopa B., Ziobro M., Fijuth J., Kawecki A., Rudnicka L., Owczarek W., Krzakowski M.: Cutaneous melanoma, w: Oncology in Clinical Practice, vol. 16, nr 4, 2020, ss. 163-182, DOI:10.5603/OCP.2020.0021

Jestem również autorem lub współautorem rozdziałów w podręcznikach krajowych dotyczących czerniaka i nowotworów skóry:

- ✓ Rutkowski P., Wiśniewski P., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: (Nowotwory melanocytarne skóry - obrazy kliniczne i dermoskopowe) Informacje kliniczno-patologiczne, w: Biblioteka Chirurga Onkologa. Tom 16: Atlas zmian nowotworowych skóry / Rutkowski Piotr, Owczarek Witold (red.), 2019, Via Medica, ISBN 9788366311619, ss. 16-24
- ✓ Rutkowski P., Słowińska M., Napierała M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Inne nowotwory złośliwe skóry, w: Biblioteka Chirurga Onkologa. Tom 16: Atlas zmian nowotworowych skóry / Rutkowski Piotr, Owczarek Witold (red.), 2019, Via Medica, ISBN 9788366311619, ss. 77-78
- ✓ Rutkowski P., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Wiśniewski P.: Mięsak Kaposiego (KS, Kaposi sarcoma), w: Biblioteka Chirurga Onkologa. Tom 16: Atlas zmian nowotworowych skóry / Rutkowski Piotr, Owczarek Witold (red.), 2019, Via Medica, ISBN 9788366311619, ss. 75-76
- ✓ Rutkowski P., Napierała M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Włókniakomięsak guzowaty skóry (DFSP, dermatofibrosarcoma protuberans), w: Biblioteka Chirurga Onkologa. Tom 16: Atlas zmian nowotworowych skóry / Rutkowski Piotr, Owczarek Witold (red.), 2019, Via Medica, ISBN 9788366311619, ss. 69-70
- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Rutkowski P., Wiśniewski P.: Chłoniaki skóry, w: Biblioteka Chirurga Onkologa. Tom 16: Atlas zmian nowotworowych skóry / Rutkowski Piotr, Owczarek Witold (red.), 2019, Via Medica, ISBN 9788366311619, ss. 78-81

Jestem także pierwszym autorem pracy kazuistycznej dotyczącej nowotworów skóry:

- ✓ Szumera-Ciećkiewicz A., Ptaszyński K.: Benign fibrous histiocytoma of the skin metastasizing to the inguinal lymph node, w: Polish Journal of Pathology, vol. 62, nr 3, 2011, ss. 183-186

iii. Nowotwory tkanek miękkich

Kosela-Paterczyk H., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Szacht M., Haas R., Morysiński T., Dziewirski W., Prochorec-Sobieszek M., Rutkowski P.: Efficacy of neoadjuvant hypofractionated radiotherapy in patients with locally advanced myxoid liposarcoma, w: *EJSO - European Journal of Surgical Oncology, Elsevier*, vol. 42, nr 6, 2016, ss. 891-898, DOI:10.1016/j.ejso.2016.02.258

Badanie zostało zrealizowane przez zespół Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego we współpracy z Netherlands Cancer Institute, Amsterdam w Holandii. Tłuszczakomięsak śluzowaty (MLPS) wydaje się bardziej wrażliwy na promieniowanie w porównaniu z innymi mięsakami tkanek miękkich (MTM). Zastosowanie przedoperacyjnej radioterapii hipofrakcjonowanej 5 × 5 Gy przez pięć kolejnych dni, a następnie natychmiastowa operacja u chorych z miejscowo zaawansowanym MTM teoretycznie może zapewnić dobrą kontrolę miejscową. Głównym celem naszej pracy była ocena

skuteczności hipofrakcjonowanej radioterapii w warunkach przedoperacyjnych u chorych z miejscowo zaawansowanym pierwotnym MLPS. Od lutego 1999 r. Do marca 2014 r. 32 pacjentów z pierwotnym MLPS leczono przedoperacyjną radioterapią hipofrakcjonowaną przez 5 kolejnych dni, a następnie wykonywano natychmiastową operację (mediana dawki 5×5 Gy). Mediana wielkości guza wynosiła 10,5 cm. U jednego pacjenta guz znajdował się na kończynie górnej, u pozostałych (31 pacjentów) na kończynie dolnej. U 90% pacjentów uzyskano histologicznie ujemne marginesy chirurgiczne (R0). U 34% chorych doszło do odległego nawrotu choroby, wznowę miejscową stwierdzono u 9,3% chorych. 5-letnie przeżycie wolne od nawrotów miejscowych (LRFS) wyniosło 90%, a przeżycie całkowite 68%. We wszystkich analizowanych wycinkach chirurgicznych stwierdzono cechy odpowiedzi na radioterapię (szkliwienie, zwłóknienie, obniżenie komórkowości, wylewy krwi poszerzenie naczyń). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w zakresie OS i LRFS dla komponentu „okrągłokomórkowego” (round-cell component), histologicznego stopnia złośliwości, ekspresji BCL2 i TP53, martwicy pooperacyjnej i rozmiaru guza. W próbkach po radioterapii wykryto istotnie wyższą dodatnią ekspresję TP53 w porównaniu z pierwotnymi biopsjami. Leczenie skojarzone z hipofrakcjonowaną radioterapią, po której następuje natychmiastowa operacja, wydaje się być skuteczną terapią w MLPS, wykazując dobrą miejscową kontrolę i zadawalającą odpowiedź histopatologiczną na terapię.

Kosela-Paterczyk H, Spałek M, Borkowska A, Teterycz P, Wągrodzki M, Szumera-Ciećkiewicz A, Morysiński T, Castaneda-Wysocka P, Cieszanowski A, Zdzienicki M, Goryń T, Rutkowski P. Hypofractionated Radiotherapy in Locally Advanced Myxoid Liposarcomas of Extremities or Trunk Wall: Results of a Single-Arm Prospective Clinical Trial. J Clin Med. 2020 Aug 1;9(8):2471. doi: 10.3390/jcm9082471. PMID: 32752185; PMCID: PMC7464815

Badanie w całości wykonano w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowym Instytucie Badawczym. Głównym celem badania była kontynuacja oceny skuteczności hipofrakcjonowanej radioterapii (RT) w warunkach przedoperacyjnych u chorych z miejscowo zaawansowanym pierwotnym tłuszczakomięsakiem śluzowatym (MLPS). Jednoramienne prospektywne eksploracyjne badanie kliniczne włączało pacjentów z MLPS do przedoperacyjnej RT 5×5 Gy z opóźnionym zabiegiem chirurgicznym. Punktami końcowymi badania był odsetek wczesnych powikłań gojenia się ran i 5-letnia kontrola miejscowa. Uwzględniono 29 chorych z guzami na kończynie dolnej. Mediana maksymalnych rozmiarów guza wynosiła 13 cm (IQR 10-15 cm). Wczesna tolerancja na RT była dobra. Powikłania ran pooperacyjnych wystąpiły u 11 chorych (37,9%), powikłania późne dotyczyły 13,8% chorych. Do analiz skuteczności włączono łącznie 27 pacjentów. Histopatologiczne cechy odpowiedzi na RT wykryto we wszystkich analizowanych materiałach pooperacyjnych. U 25 pacjentów uzyskano marginesy R0, dwóch pacjentów miało resekcję R1. Żaden z pacjentów nie miał wznowy miejscowej. Przedoperacyjna hipofrakcjonowana radioterapia z przedłużającą się

przerwą między radioterapią a operacją jest wydolną metodą leczenia MLPS, zapewniającą dobrą kontrolę miejscową i niskie wskaźniki toksyczności leczenia.

*Ponadto jestem pierwszym autorem lub współautorem **prac poglądowych** mających dotyczących nowotworów tkanek miękkich:*

- ✓ Czarnecka A., Sobczuk P., Kostrzanowski M., Spalek M., Chojnacka M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Rutkowski P.: Epithelioid Sarcoma - From Genetics to Clinical Practice, w: Cancers, Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), vol. 12, nr 8, 2020, ss. 1-19, DOI:10.3390/cancers12082112
- ✓ Rutkowski P., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Gastrointestinal stromal tumours (GIST) - 2018, w: Oncology in Clinical Practice, vol. 14, nr 6, 2018, ss. 399-407, DOI:10.5603/OCP.2018.0053
- ✓ Rutkowski P., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego (GIST) - 2018, w: Onkologia w Praktyce Klinicznej - Edukacja, Via Medica sp. z o.o., vol. 4, nr 6, 2018, ss. 487-496
- ✓ Sobiborowicz A., Czarnecka A., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Rutkowski P., Świtaj T.: Diagnosis and treatment of angiomyolipoma (AML) tumours, w: Oncology in Clinical Practice, vol. 16, nr 3, 2020, ss. 116-132, DOI:10.5603/OCP.2020.0008
- ✓ Sobiborowicz A., Czarnecka A., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Rutkowski P., Świtaj T.: Diagnosis and treatment of malignant PEComa tumours, w: Oncology in Clinical Practice, vol. 16, nr 1, 2020, ss. 22-33, DOI:10.5603/OCP.2020.0003
- ✓ Sobiborowicz A., Czarnecka A., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Rutkowski P., Świtaj T.: Rozpoznanie i leczenie limfangioleiomiomatozy (LAM) z grupy PEComa, w: Onkologia w Praktyce Klinicznej - Edukacja, Via Medica sp. z o.o., 2020

*Jestem także pierwszym autorem lub współautorem **prac kazuistycznych** dotyczących nowotworów tkanek miękkich:*

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Wapnienie guzowate - opis przypadku, w: Onkologia w Praktyce Klinicznej, vol. 7, nr 6, 2011, ss. 327-331
- ✓ Ptaszyński K., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Bartczak A.: Cellular angiofibroma with atypia or sarcomatous transformation – case description with literature review, w: Polish Journal of Pathology, vol. 63, nr 3, 2012, ss. 207-211, DOI:10.5114/PJP.2012.31508
- ✓ Braun M., Kuncman W., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Kosela-Paterczyk H., Musiał J., Jesionek-Kupnicka D., Ryś J., Kordek R.: Benign-Looking Primary Fibrosarcoma of the Uterus, w: Polish Journal of Pathology, vol. 70, nr 2, 2019, ss. 148-152, DOI:10.5114/pjp.2019.87108
- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Kuczkiewicz-Siemion O., Seliga K., Grabowska-Kierył M., Tysarowski A., Wągrodzki M., Świtaj T., Prochorec-Sobieszek M., Rutkowski P.: Pigmented/melanocytic malignant

perivascular epithelioid cell tumor with TFE3-SFPQ(PSF) rearrangement - a challenging diagnosis of PEComa family of tumors, w: Polish Journal of Pathology, vol. 70, nr 4, 2019, ss. 317-322, DOI:10.5114/pjp.2019.93136

- ✓ Stanowska O., Morysiński T., Rutkowski P., Klimczak A., **Szumera-Ciećkiewicz A.**: Malignant granular cell tumor of the lumbar region – a case report and review of the criteria for diagnosis, w: Nowotwory Journal of Oncology, vol. 70, nr 1, 2020, ss. 33-36, DOI:10.5603/NJO.2020.0007

iv. Nowotwory kości

*Ptaszyński K., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Pękul M., Nowecki Z.: Differential diagnosis of small round cell tumours (SRCT), fluorescence in situ hybridization (FISH) AND immunohistochemical (IHC) study, w: Polish Journal of Pathology, vol. 60, nr 4, 2009, ss. 151-162*

Praca została zrealizowana w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie i dotyczyła nowotworów drobnookrągłokomórkowych (SRCT) kości i tkanek miękkich, które stanowią niejednorodną grupę guzów o podobnych cechach histologicznych i cytologicznych. Do postawienia diagnozy niezbędne są badania immunohistochemiczne (IHC) z szerokimi panelami przeciwciał. W wielu przypadkach pomocne jest badanie molekularne (FISH). Celem pracy była ocena wartości testów IHC i FISH w diagnostyce różnicowej SRCT. Materiał uzyskano od pacjentów zdiagnozowanych i leczonych w Centrum Onkologii - Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie w okresie luty 2003 - marzec 2009. 131 pacjentów ze wstępnym rozpoznaniem SRCT kości lub tkanek miękkich zostało zakwalifikowanych do badania. U wszystkich pacjentów materiał z guza pierwotnego pobrano metodą otwartej lub biopsji grubo igłowej. W trakcie leczenia pacjentów monitorowano, zgłaszano wznowy miejscowe i odległe przerzuty. Badanie IHC było wykonywane rutynowo przy użyciu szerokiego zestawu przeciwciał. Testy FISH: *EWSR1*, *SS18 (SYT)*, *FKHR (FOXO1A)* i *FUS* przeprowadzono przy użyciu dwubarwnych sond typu „break-apart”. Testy IHC dla CD99 i FLI-1 wykazały niską specyficzność, niską czułość, barwienie miogeniną wykazało wysoką specyficzność i czułość. Panel „chłoniaczy” z LCA, CD20, CD79a, TdT, CD3 wykazał akceptowalną specyficzność i czułość. Uzyskano 28 (21,37%) nieinformacyjnych wyników FISH, wskazujących na brak sygnałów pozwalających na określenie obecności rearanżacji genów. Diagnostyczna ocena SRCT wymaga badań IHC jako metody wstępnej. FISH jest niezbędny w wielu przypadkach SRCT do postawienia ostatecznego rozpoznania, ale wymaga właściwie zachowanej tkanki, w przeciwnym razie odsetek wyników nie informacyjnych istotnie wzrasta. W podsumowaniu niniejszej pracy zaproponowano algorytm diagnostyczny obejmujący testy IHC i FISH.

*Ptaszyński K., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Owczarek J., Mrozkowiak A., Pękul M., Barańska J., Rutkowski P.: Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in chordoma, w: Polish Journal of Pathology, vol. 60, nr 2, 2009, ss. 81-87*

Praca została zrealizowana w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie obejmowała analizę pacjentów ze struniakiem, który jest rzadkim guzem powstałym z embrionalnych pozostałości struny grzbietowej, występującym najczęściej w okolicy krzyżowo-guzicznej oraz w obszarze głowy i szyi. Obecne leczenie obejmuje zabieg chirurgiczny i / lub radioterapię wiązką protonów. W kilku przypadkach, zwłaszcza w okolicy głowy i szyi, operacja nie jest możliwa. Terapia wiązką protonów nie zawsze jest wystarczająco skuteczna, aby radykalnie wyleczyć pacjentów stąd istotne jest poszukiwanie nowych terapii. Jednym z obecnych podejść terapeutycznych w różnych nowotworach jest terapia celowana, a jednym z celów jest *EGFR*. Celem tej pracy była ocena ekspresji *EGFR* i stanu genu *EGFR* w struniakach. Przebadano 21 guzów zarówno immunohistochemicznie przeciwciałem anti-*EGFR* i jak i w technice FISH. 81% przypadków struniaka wykazało ekspresję *EGFR* na poziomie białka. W sześciu przypadkach (26,6%) wyniki FISH dla *EGFR* zostały sklasyfikowane jako pozytywne (średnia liczba kopii *EGFR* > lub = 4 na komórkę). Zidentyfikowano jeden przypadek aneuploidii chromosomu 7.

Ptaszyński K., Szumera-Ciećkiewicz A., Zakrzewska K., Tuziak T., Mrozkowiak A., Rutkowski P.: HER2, EGFR and TOP1A gene amplification and protein expression in synovial sarcoma before and after combined treatment, w: Polish Journal of Pathology, vol. 60, nr 1, 2009, ss. 10-18

Badanie to zostało również wykonane w całości w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie. Mięsak maziówkowy (SyS) występuje głównie u młodych dorosłych i charakteryzuje się agresywnym przebiegiem. Leczenie skojarzone obejmujące chemioterapię, radioterapię i chirurgiczne wycięcie guza nadal nie jest zadowalające, ze średnim 5-letnim przeżyciem 30-50%. Niedawno pojawiły się nowe ukierunkowane opcje leczenia, np. antagoniści *HER2* i *EGFR*. Wstępne badania ujawniły immunohistochemiczną nadekspresję *EGFR* w SyS; dlatego też rozpoczęto próby z terapią antagonistami *EGFR*. Celem naszego badania była ocena stanu *HER2*, *EGFR* i *TOP1A* w SyS przed i po terapii skojarzonej. Wykonano testy immunohistochemiczne i FISH. Wykazano, iż większość SyS nie wykazuje nadekspresji białka *HER2* lub amplifikacji genów; białko *TOP1A* ulegało silnej ekspresji immunohistochemicznej w 78% przypadków, przy braku wykrywalnej zmiany statusu genu. Chociaż większość przypadków SyS wykazywała nadekspresję białka *EGFR*, nie towarzyszyła jej amplifikacja tego genu.

Przybył J., Kozak K., Koseła-Paterczyk H., Falkowski S., Świtaj T., Ługowska I., Szumera-Ciećkiewicz A., Ptaszyński K., Grygalewicz B., Chechlińska M., Pieńkowska-Grela B., Dębiec-Rychter M., Siedlecki J., Rutkowski P.: Gene expression profiling of peripheral blood cells: new insights into Ewing sarcoma biology and clinical applications, w: Medical Oncology, vol. 31, nr 8, 2014, ss. 109-109, DOI:10.1007/s12032-014-0109-2

Badanie powstało w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie we współpracy z Department of Human Genetics, KU Leuven and University Hospitals Leuven w Belgii. Mięsak Ewinga (ES)

jest związany z szybką osteolizą i martwicą a obecnie akceptowane kliniczne parametry prognostyczne nie pozwalają dokładnie przewidzieć przeżycia dla pacjentów wysokiego ryzyka. Ponadto ani podtyp *EWS-FLI1 / ERG* w guzie, ani wykrywanie transkryptów fuzyjnych w próbkach krwi obwodowej (PB) nie ma wartości prognostycznej u pacjentów z ES. Oceniliśmy częstość występowania krążących komórek guza (CTC) u 34 dorosłych pacjentów z ES. Ponieważ CTC zostały potwierdzone tylko u niewielkiej podgrupy pacjentów, zbadaliśmy dalej profile ekspresji leukocytów PB przy użyciu panelu genów związanych ze stanem układu odpornościowego i zwiększoną inwazyjnością guza. Ponadto przeanalizowaliśmy zmiany w rutynowych badaniach krwi w badanej kohorcie pacjentów i skorelowaliśmy nasze ustalenia z wynikami klinicznymi. Zaobserwowano jednolity spadek ekspresji *ZAP70* w komórkach PB wśród wszystkich pacjentów z ES w porównaniu z osobami zdrowymi. Monocytoza i nieprawidłowa ekspresja genów *CDH2* i *CDT2* w komórkach PB istotnie korelowały ze złym rokowaniem u pacjentów z ES. Nasze badanie potwierdza wcześniej zaproponowaną hipotezę o systemowym charakterze ES. Opierając się na profilach ekspresji komórek PB, zaprezentowaliśmy mechanizm, dzięki któremu układ odpornościowy może być zaangażowany w nasilenie osteoklastogenezy i progresję choroby u pacjentów z ES. Ponadto wykazaliśmy wartość prognostyczną badania molekularnego PB i trakcie rutynowej diagnostyki histopatologicznej.

Ługowska I., Pieńkowski A., Szumera-Ciećkiewicz A., Kosela-Paterczyk H., Teterycz P., Głogowski M., Kozak K., Klimczak A., Falkowski S., Rutkowski P.: Odległe wyniki leczenia dorosłych chorych na mięsaka kościopochodnego, w: Polski Merkurusz Lekarski, MEDPRESS, vol. 42, nr 250, 2017, ss. 158-164

Kolejnym badaniem powstałym w oparciu o zasoby Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie było podsumowanie wyników leczenia chorych na mięsaka kościopochodnego w przez ostatnie 20 lat. Analizie poddano dane kliniczne 299 chorych na mięsaka kościopochodnego w wieku od 14 do 81 lat (mediana 32 lata) leczonych w latach 1998-2016 w Centrum Onkologii w Warszawie. Postępowanie terapeutyczne polegało na zastosowaniu chemioterapii okołoperacyjnej z antracyklinami i cisplatyną oraz resekcji ogniska pierwotnego i przerzutów. W analizie statystycznej wykorzystano estymator Kaplana Meiera, test log-rank oraz model proporcjonalnego hazardu Coxa. W analizowanej grupie u 38 (13%) chorych stwierdzono rozsiew choroby w chwili rozpoznania. Wielkość ogniska pierwotnego przekraczała 8 cm w 61% przypadków. W ocenie histopatologicznej dominował podtyp konwencjonalny osteosarcoma (76% ocenionych preparatów) oraz 3 stopień złośliwości histologicznej (79%). Wyniki 5-letnich przeżyć całkowitych dla chorych ze zlokalizowaną chorobą wynosiły 46%. Czynniki negatywnie wpływającymi na rokowanie była obecność przerzutów odległych, lokalizacja osiowa ogniska pierwotnego, brak możliwości resekcji nowotworu, stopień złośliwości histologicznej G3 oraz starszy wiek chorych. Najlepsze wyniki leczenia chorych na mięsaka kościopochodnego można osiągnąć przy leczeniu wielospecjalistycznymi, a także dzięki współpracy pomiędzy specjalistami zajmującymi się mięsakami w ośrodkach referencyjnych a personelem lokalnych szpitali, gdzie prowadzona może być diagnostyka i leczenie chorych na kostniakomięsaki.

Ponadto jestem pierwszym autorem lub współautorem **prac poglądowych** dotyczących nowotworów kości:

- ✓ Obuchowicz A., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Ptaszyński K., Rutynowska-Pronicka O., Madziara W., Tiszler-Cieslik E., Cieniala M., Pietrzak J., Glowacki J., Perek D.: Intraspinal Mesenchymal Chondrosarcoma in a 14-year-old Patient: Diagnostic and Therapeutic Problems in Relation to the Review of Literature, w: Journal of Pediatric Hematology Oncology, vol. 34, nr 5, 2012, E188-E192, DOI:10.1097/MPH.0b013e318257a421
- ✓ Rutkowski P., Mazurkiewicz T., Krzakowski M., Ptaszyński K., Klepacka T., Grzesiakowska U., Falkowski S., Świtaj T., Nowecki Z., Morysiński T., Spindel J., Chmielik E., Dragan S., Nazar J., Kotrych D., Skowroński J., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Szafrąński A., Szumilo J., Karpik M., Balcerkiewicz K., Mazuryk R., Jarosz B., Rychłowska-Pruszyńska M., Rzeszutko M., Nowakowski A., Woźniak W.: Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego u dorosłych chorych na pierwotne nowotwory złośliwe kości, w: Onkologia w Praktyce Klinicznej, vol. 6, 2010, ss. 355-369
- ✓ Rutkowski P., Mazurkiewicz T., Krzakowski M., Ptaszyński K., Klepacka T., Grzesiakowska U., Falkowski S., Świtaj T., Nowecki Z., Morysiński T., Spindel J., Chmielik E., Dragan S., Nazar J., Kotrych D., Jan S., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Szafrąński A., Szumilo J., Karpik M., Balcerkiewicz K., Mazuryk R., Jarosz B., Rychłowska-Pruszyńska M., Rzeszutko M., Nowakowski A., Ryś J., Olszewski W., Woźniak W.: Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego u chorych na pierwotne nowotwory złośliwe kości u dorosłych, w: Nowotwory Journal of Oncology, vol. 61, nr 2, 2011, ss. 159-168
- ✓ Rutkowski P., Mazurkiewicz T., Kotrych D., Krzakowski M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Klepacka T., Ługowska I., Grzesiakowska U., Falkowski S., Świtaj T., Szacht M., Wągradzki M., Bohatyrewicz A., Spindel J., Chmielik E., Dragan S., Nazar J., Makuła D., Szafrąński A., Pieńkowski A., Goryń T., Rychłowska-Pruszyńska M., Ptaszyński K., Guzik G., Rzeszutko M., Mazuryk R., Kopacz J., Kaczmarczyk J., Nowakowski A., Małydk P.: Zalecenia dotyczące postępowania diagnostyczno-terapeutycznego u chorych na pierwotne nowotwory złośliwe kości, w: Biuletyn Polskiego Towarzystwa Onkologicznego NOWOTWORY, VM Media sp. z o.o. VM Group sp.k., vol. 1, nr 3, 2016, ss. 284-297
- ✓ Rutkowski P., Mazurkiewicz T., Kotrych D., Krzakowski M., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Klepacka T., Ługowska I., Grzesiakowska U., Falkowski S., Świtaj T., Szacht M., Wągradzki M., Bohatyrewicz A., Spindel J., Chmielik E., Dragan S., Nazar J., Makuła D., Szafrąński A., Pieńkowski A., Goryń T., Rychłowska-Pruszyńska M., Ptaszyński K., Guzik G., Rzeszutko M., Mazuryk R., Kopacz J., Kaczmarczyk J., Nowakowski A., Małydk P.: Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego u chorych na pierwotne nowotwory złośliwe kości, w: Chirurgia Narządów Ruchu i Ortopedia Polska, vol. 65, nr 5, 2016, ss. 183-194

Jestem również pierwszym autorem rozdziałów w podręcznikach krajowych dotyczących nowotworów kości:

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.:** Polski Rejestr Nowotworów Kości, w: Mięsaki kości / Rutkowski Piotr (red.) 2016, Via Medica, ISBN 978-83-7599-266-3, ss.
- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.:** Perspektywy diagnostyki mięsaków kości, w: Mięsaki kości / Rutkowski Piotr (red.), 2016, Via Medica, ISBN 978-83-7599-266-3, ss. 262-266

Jestem także pierwszym autorem prac kazuistycznych dotyczących nowotworów kości:

- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.,** Ptaszyński K., Grabowski P., Krajewski R., Tacikowska M.: Mesenchymal chondrosarcoma of the orbit: two cases and a brief review of the literature, w: Polish Journal of Pathology, vol. 63, nr 1, 2012, ss. 80-84
- ✓ **Szumera-Ciećkiewicz A.,** Ptaszyński K., Pawełas A., Rutkowski P.: Oncogenic Osteomalacia Associated With Phosphaturic Mesenchymal Tumour, Mixed Connective Tissue Type Of The Knee, w: Polish Journal of Pathology, vol. 60(4), 2009, ss. 193-9

v. Varia

1. Rak płuca

Tysarowski A., Kowalski D., Kowalczyk O., Chyczewski L., Antoszevska E., Limon J., Kowalik A., Gózdź S., Krawczyk P., Łaczmanski Ł., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Olszewski W., Krzakowski M., Siedlecki J.: Walidacja wybranych ośrodków zaangażowanych w diagnostykę molekularną chorób nowotworowych w zakresie oznaczania mutacji w genie *EGFR1*, w: *Onkologia w Praktyce Klinicznej*, vol. 7, 2011, ss. 138-145

W powyższym wieloośrodkowym badaniu wzięło udział: Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie, Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku, Pracownia Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach, Dział Chemioterapii i Onkologii Klinicznej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach, Pracownia Immunologii i Genetyki Katedry i Kliniki Pneumonologii, Onkologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, NZOZ GeneSys we Wrocławiu. W Rak płuca to jeden najczęściej występujących nowotworów złośliwych w Polsce i na świecie. Celem tej pracy było wykazanie, czy ośrodki zaangażowane w diagnostykę molekularną nie drobnokomórkowego raka płuca (NDRP) posiadają odpowiedni potencjał, aby skutecznie przeprowadzić analizę statusu genu *EGFR1* w zakresie zmian w eksonach 19. i 21. Dodatkowo autorzy podjęli się wypracowania odpowiednich standardów postępowania w diagnostyce molekularnej NDRP. Wynikiem przeprowadzonego procesu walidacji były następujące zalecenia dla laboratoriów diagnostycznych: materiał do izolacji DNA powinien zawierać nie mniej niż 50% utkania nowotworowego; procedury izolacji DNA ze skrawków parafinowych wymaga ujednoliconego stosowania gotowego zestawu do izolacji DNA; w

przypadku braku jednoznacznego wyniku, powinno się wykorzystać dwie metody oznaczania mutacji, zaleca się, aby jednego z wykonywanych oznaczeń dokonać przy wykorzystaniu metody sekwencjonowania bezpośredniego; zaleca się rozszerzenie panelu analizowanych eksonów do 18., 19., 20. i 21.; od momentu wypisania skierowania na badanie diagnostyczne do momentu przekazania wyniku badania nie powinno upłynąć więcej niż 10 dni roboczych.

Szumera-Ciećkiewicz A., Olszewski W., Tysarowski A., Kowalski D., Głogowski M., Krzakowski M., Siedlecki J., Wągradzki M., Prochorec-Sobieszek M.: *EGFR mutation testing on cytological and histological samples in non-small cell lung cancer: a Polish, single institution study and systematic review of European incidence*, w: *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, vol. 6, nr 12, 2013, ss. 2800-2812

Badanie przeprowadzono w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie i ono tematem przewodnim mojej rozprawy doktorskiej. Celem pracy była ocena częstości występowania mutacji *EGFR* w nie drobnokomórkowym raku płuca (NSCLC) na podstawie analizy materiału cytologicznego i histologicznego wraz z przeglądem piśmiennictwa na temat częstości występowania mutacji *EGFR* w Europie. Do badania włączono 273 pacjentów z potwierdzonym NSCLC: 189 materiałów histopatologicznych (FFPE), 12 świeżych i 72 utrwalonych alkoholem preparatów cytologicznych. DNA ekstrahowano z wszystkich typów materiału, a mutację *EGFR* w eksonach 18-21 analizowano metodą bezpośredniego sekwencjonowania. Ponadto liczbę kopii genu *EGFR* w przypadkach o wystarczającym materiale histopatologicznym (110 pacjentów) oceniano techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH). Odsetek mutacji somatycznych *EGFR* wyniósł 10,62%. Pozytywne wyniki FISH (amplifikacja lub wysoka polisomia genu *EGFR*) stwierdzono u 33 pacjentów (30,0%). Najsilniejszą korelację z występowaniem mutacji *EGFR* stwierdzono dla typu histologicznego (gruczolakorak; $p < 0,01$), płci (kobiety; $p < 0,01$) i dodatniego wyniku FISH ($p < 0,05$). Jest to pierwsze badanie na podstawie, którego oszacowano częstość występowania mutacji *EGFR* w polskiej populacji. Materiał cytologiczny odzyskany z utrwalonych preparatów i zabarwiony hematoksyliną i eozyną wykazywał jakość DNA porównywalną ze świeżymi komórkami nowotworowymi i próbkami z materiału histopatologicznego.

Ponadto jestem współautorem rozdziału w podręczniku krajowym dotyczącym udziału patomorfologa w kwalifikacji do leczenia celowanego:

Olszewski W., **Szumera-Ciećkiewicz A.:** Rola patomorfologa w doborze leczenia celowanego, w: *Leczenie ukierunkowane na cele molekularne w onkologii i hematoonkologii* / Wojtukiewicz Marek Z., Sierko Ewa (red.), 2013, VM Media Sp z o.o. VM Group sp. k. (Grupa Via Medica), ISBN 9788375996227, ss. 138-154

Jestem również pierwszym autorem pracy kazuistycznej dotyczącej zmiany przerzutowej do płuc:

Szumera-Ciećkiewicz A., Olszewski W., Piech K., Głogowski M., Prochorec-Sobieszek M.: Endobronchial metastasis from hepatocellular carcinoma - A case description with literature review, w: International Journal of Clinical and Experimental Pathology, vol. 6, nr 9, 2013, ss. 1942-1947

2. Rak jelita grubego

Szymańska E., Nowak P., Kolmus K., Cybulska M., Goryca K., Derezińska-Wołek E., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Brewińska-Olchowik M., Grochowska A., Piwocka K., Prochorec-Sobieszek M., Mikula M., Miączyńska M.: *Synthetic lethality between VPS4A and VPS4B triggers an inflammatory response in colorectal cancer*, w: *EMBO Molecular Medicine*, vol. 12, nr 2, 2020, ss. 1-21, DOI:10.15252/emmm.201910812

Praca powstała w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie wraz z Zakładem Genetyki oraz Zakładem Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego, Zakładem Diagnostyki Hematologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Pracownią Cytometrii Przepływowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk oraz Kliniką Gastroenterologii, Hepatologii i Onkologii Klinicznej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie. Zmiany liczby kopii genów somatycznych odgrywają kluczową rolę w onkogenezie. Utrata regionów chromosomalnych zawierających geny supresorowe może prowadzić do delecji tzw. genów „pasażerujących” (passenger genes). W niniejszym badaniu stwierdzono, że gen *VPS4B*, kodujący ATPazę zaangażowaną w przebudowę błony zależną od *ESCRT*, jest genem pasażerującym, który często ulega delecji w wielu typach raka, zwłaszcza w raku jelita grubego (CRC). Zaobserwowaliśmy obniżenie poziomu mRNA i białka *VPS4B* w próbkach pacjentów z CRC. Zidentyfikowaliśmy paralog *VPS4A* jako syntetyczny śmiertelny interaktor dla *VPS4B* in vitro i w heteroprzeszczepach myszy. Zubożenie obu białek spowodowało głęboką zmianę transkryptomu komórkowego i spowodowało śmierć komórki, której towarzyszyło uwolnienie cząsteczek immunomodulujących pośredniczących w odpowiedzi zapalnej i przeciwnowotworowych. Nasze wyniki identyfikują parę nowych, celów dla spersonalizowanej terapii w onkologii i dostarczają uzasadnienia do opracowania inhibitorów *VPS4* skierowanych terapii nowotworów z niedoborem *VPS4B*.

3. Choroby nerek

Poniższe trzy prace oryginalne i praca kazuistyczna, których jestem autorem lub współautorem powstały w trakcie studiów medycznych i mojej aktywności w studenckim kole naukowym (opiekun naukowy Prof. dr n med. Krzysztof Okoń)

Okoń K., **Szumera A.**, Kuźniewski M.: *Are CD34+ cells found in renal interstitial fibrosis?*, w: *American Journal of Nephrology*, vol. 23, nr 6, 2003, ss. 409-414, DOI:10.1159/000074298

Badanie zrealizowano w Katedrze i Zakładzie Patologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Antygen CD34 jest markerem prekursorowych komórek szpikowych i komórek śródbłonna, ale także podgrupy komórek wrzecionowatych. Celem badania było określenie możliwej roli komórek CD34 + w rozwoju kłębuszkowego zapalenia nerek. Do pracy zakwalifikowano 30 biopsji nerek, które zabarwiono immunohistochemicznie na CD34 i aktyną mięśni gładkich (SMA). Wyniki oceniono półilościowo a względną objętość śródmiąższową (RIV) oceniono metodą liczenia punktów. Uwzględniono dane kliniczne, takie jak płeć, wiek, poziom kreatyniny i mocznika w surowicy. Komórki wrzecionowate CD34(+) i miofibroblasty SMA(+) były obecne w podścielisku nerek we wszystkich przypadkach poza jednym. W błoniastym, błoniasto-proliferacyjnym i segmentalno-proliferacyjnym zapaleniu kłębuszków nerkowych komórki CD34(+) obserwowano w skupieniach, natomiast w nefropatii IgA oraz segmentalnym i ogniskowym stwardnieniu kłębuszków nerkowych obserwowano wyłącznie pojedyncze, rozproszone komórki. Gęstość komórek CD34(+) wykazała dodatnią korelację z gęstością miofibroblastów i RIV. Poziomy kreatyniny i mocznika w surowicy były związane z RIV nerki oraz w mniejszym stopniu z liczbą miofibroblastów i komórek CD34(+). Wyniki naszej pracy pozwoliły na udokumentowanie obecności komórek wrzecionowatych CD34(+) w podścielisku w kłębuszkowych zapaleniach nerek.

Okoń K., Szumera A., Kuźniewski M., Smoleński O.: Relative interstitial volume is correlated with renal function even in non-representative biopsy, w: Polish Journal of Pathology, vol. 56, nr 1, 2005, ss. 9-13

Badanie zrealizowano w Katedrze i Zakładzie Patologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Biopsja nerki powinna spełniać kryteria reprezentatywności materiału do oceny histopatologicznej, czyli zawierać odpowiednią liczbę kłębuszków nerkowych. Celem pracy była ocena związku między zmianami podścieliska, szkliwienie kłębuszków i czynnością nerek. Materiał składał się z 28 biopsji nerki zawierających mniej niż 5 niezmiądzonych kłębuszków. W każdym przypadku odnotowano procent całkowicie stwardniałych kłębuszków. Względna objętość podścieliska oceniano metodą liczenia punktów. Do analizy włączono dane kliniczne, takie jak płeć, wiek, poziomy kreatyniny i mocznika w surowicy. Średni procent całkowicie zeszkliwiałych kłębuszków wynosił 39,6%; średnia względna objętość podścieliska była równa 29,6%. Poziom kreatyniny był silnie skorelowany ze względną objętością podścieliska ($R = 0,70$), ale korelacja poziomu kreatyniny z odsetkiem zeszkliwiałych kłębuszków była znacznie słabsza ($R = 0,38$). Związek między rozplemieniem podścieliska a czynnością nerek jest widoczny także w przypadku materiału biopsyjnego o ograniczonej reprezentatywności. Korelacja czynności nerek ze zmianami podścieliska jest silniejsza niż związek z liczbą zeszkliwiałych kłębuszków. Te wyniki mogą wskazywać na znaczenie prognostyczne zmian śródmiąższowych.

Jestem również pierwszym autorem pracy kazuistycznej

- ✓ **Szumera A.**, Okoń K., Dobrowolska B., Dobrowolski Z.: Adrenal Rest Presenting As A Renal Cyst. A Case Report, w: Polish Journal of Pathology, vol. 54, nr 4, 2003, ss. 273-276

4. Rak szyjki macicy

Szumera A., Okoń K.: *Karyometric features differentiate early invasive cervical squamous cell carcinoma from preinvasive carcinoma*, w: Polish Journal of Pathology, vol. 52, nr 4, 2001, ss. 193-197

Badanie zrealizowano w Katedrze i Zakładzie Patologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Celem pracy było zbadanie, czy cechy kariometryczne odzwierciedlają zmianę fenotypową od przedinwazyjnego do wczesnego raka płaskonabłonkowego szyjki macicy. Materiał do badań uzyskano od 12 pacjentów zdiagnozowanych w Katedrze Patomorfologii. Każdy materiał zawierał zarówno zmiany przedinwazyjne, jak i mikroinwazyjne. System akwizycji i analizy obrazu składał się z mikroskopu połączonego z kamerą CCD i komputerem PC. Oprogramowanie oparte na systemie AnalySIS 3.0 pozwoliło na automatycznie wykrywanie jąder komórkowych i pomiar wybranych parametrów. W każdym przypadku przeanalizowano 250 jąder komórkowych zarówno z komponenty przedinwazyjnej, jak i inwazyjnej. Stwierdzono istotne różnice w podstawowych parametrach kariometrycznych zarówno w poszczególnych przypadkach, jak i między badanymi grupami. Obecne wyniki potwierdziły obecność wczesnych zmian cytologicznych charakteryzujących początek inwazji. Z praktycznego punktu widzenia wyniki sugerują, że cechy kariometryczne mierzone przy udziale cyfrowej analizy obrazu mogą być wykorzystywane jako narzędzie wspierające diagnostykę zwłaszcza w przypadkach, w których rozpoznanie mikroinwazji jest trudne.

5. Rak piersi

Olszewski W., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Piechocki J., Towpik E., Olszewski W.: *The characteristics of the sentinel lymph node metastasis in predicting the axillary lymph node status in patients with breast carcinoma*, w: Polish Journal of Pathology, vol. 60, nr 3, 2009, ss. 138-143

Pracę zrealizowano w całości w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie. Przerzuty do węzłów chłonnych są najważniejszymi czynnikami prognostycznymi u chorych na raka piersi. Stwierdzenie obecności przerzutu w biopsji wartowniczego węzła chłonnego (SLN) skutkuje rozszerzeniem zabiegu o limfadenopatię pachową. Celem pracy było określenie czynników predykcyjnych dla przerzutów do węzłów wartowniczych na podstawie cech morfologicznych przerzutów do węzłów wartowniczych oraz charakterystyki guza pierwotnego. Zidentyfikowano 128 pacjentek z dodatnim wynikiem biopsji SLN z powodu raka piersi w latach 2005-2007. Przerzuty raka piersi w każdym SLN oceniano na podstawie ich

wielkości, lokalizacji w węźle (podtorebkowe, mieszane - podtorebkowe i mięszone, mięszone, wieloogniskowe lub rozległe) oraz opisywano przekraczanie torebki węzłowej. Silnymi czynnikami predykcyjnymi przerzutów do ALN były: średnica przerzutów w SLN (7,6mm vs 4,4mm) i wielkość zdefiniowana według klasyfikacji WHO (ITC 0% vs. 100%, mikroprzerzuty 23,5% vs 76,5%, makroprzerzuty 51,9% vs 48,1%) . Przerzuty SLN o średnicy powyżej 3 mm wiązały się z około dwukrotnie częstszymi przerzutami ALN. Przy rozległych przerzutach SLN stwierdzono najwyższy odsetek przerzutów ALN (65% vs. 35%). Słabymi czynnikami wpływającymi na obecność przerzutów w ALN były: średnica guza pierwotnego (> 2 cm), immunohistochemiczny status HER2 dodatni, naciekanie tkanki tłuszczowej okołowęzłowej oraz wyższy histologiczny stopień złośliwości pierwotnego guza. Niektóre dodatkowe cechy morfologiczne, które można łatwo ocenić w rutynowym badaniu histopatologicznym SLN w raku piersi, mają wartość w określaniu statusu ALN i powinny być uwzględnione w raporcie histopatologicznym.

c. Udział w projektach badawczych

Kierownik projektu: "Cyfrowe laboratorium badań naukowych w hematologii". Projekt finansowany przez Unię Europejską z Narodowego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Umowy nr POIG.02.03.00-14-111/13. Okres realizacji: 20.10.2014- 31.12.2015r.

Kierownik projektu nr GW23/2017 pt. „Charakterystyka chłoniaka grudkowego z uwzględnieniem epidemiologii i badań translacyjnych”; Projekt finansowany przez Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy. Okres realizacji: 2017- 2019.

Kierownik projektu nr GW20/2020 pt. „Molekularna charakterystyka chłoniaka anaplastycznego ALK negatywnego z uwzględnieniem mutacji punktowej *MSC^{E116K}*”, Projekt finansowany przez Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy. Okres realizacji: 2020- 2022

Wsparcie naukowe w realizacji grantów:

- ✓ Rola kinaz seryny 10 histonu H3 (H3S10) w deregulacji transkrypcji w chłoniakach rozlanych z dużych komórek B; Narodowe Centrum Nauki, Konkurs: OPUS 15, Kierownik: prof. Przemysław Juszczynski, Instytut Hematologii i Transfuzjologii.
- ✓ Proangiogenne funkcje kinaz PIM w szpiczaku plazmocytowym; Narodowe Centrum Nauki, Konkurs: ETIUDA 8 , Kierownik: lek. Filip Garbicz, Instytut Hematologii i Transfuzjologii.
- ✓ Rola kinaz PIM w niszy naczyniowej szpiczaka mnogiego, Narodowe Centrum Nauki, Konkurs: PRELUDIUM 16, Kierownik: lek. Filip Garbicz, Instytut Hematologii i Transfuzjologii.
- ✓ Kinazy PIM jako nowy, racjonalny cel terapeutyczny w nowotworach układu chłonnego; Narodowe Centrum Nauki, Konkurs: OPUS 2, Kierownik: dr hab. Przemysław Juszczynski, Instytut Hematologii i Transfuzjologii.

- ✓ Rola kinaz PIM w biologii makrofagów związanych z klasycznym chłoniakiem Hodgkina, Narodowe Centrum Nauki, Konkurs: SONATA 13, Kierownik: dr Maciej Szydłowski, Instytut Hematologii i Transfuzjologii.

Aktualne wsparcie naukowe w realizacji grantów, programów badawczych i badań klinicznych realizowanych w Narodowym Instytucie Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie – Państwowym Instytucie Badawczym (rok 2020):

- ✓ Znaczenie prognostyczno-predykcyjne biomarkerów molekularnych podczas leczenia w sposób skojarzony dorosłych chorych na nieresekcyjne lub granicznie resekcyjne mięsaki kończyn i tułowia (grant wewnętrzny), Kierownik: Prof. A.M. Czarnecka;
- ✓ Indywidualizowana hipofrakcjonowana radioterapia z hipertermią w leczeniu nieresekcyjnych lub granicznie resekcyjnych nowotworów tkanek miękkich i kości (SINDIR): badanie kliniczne II fazy, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Leczenie w sposób skojarzony dorosłych chorych na nieresekcyjne lub granicznie resekcyjne mięsaki kończyn i tułowia przy zastosowaniu przedoperacyjnej chemioterapii, hipofrakcjonowanej radioterapii planowanej techniką kratownicy i radykalnego leczenia chirurgicznego: badanie kliniczne II fazy, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Badanie kliniczne: leczenie chorych na nieresekcyjne mięsaki przestrzeni zaotrzewnowej przy zastosowaniu radykalnej radioterapii planowanej techniką kratownicy: badanie kliniczne I fazy, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Analiza skuteczności zastosowania radioterapii stereotaktycznej u chorych na zaawansowane mięsaki tkanek miękkich, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Ustalenie optymalnych schematów leczenia neoadjuwantowego chorych na mięsaki tkanek miękkich, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Analiza skuteczności zastosowania radykalnej radioterapii u chorych na nieresekcyjne pierwotne lub nawrotowe mięsaki przestrzeni zaotrzewnowej, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Hipertermia skojarzona z radioterapią stereotaktyczną jako „boost” dla immunoterapii czerniaków z przerzutami odległymi: badanie kliniczne II fazy z losowym doбором chorych, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Rola immunoterapii i radioterapii w leczeniu chorych na zaawansowane czerniaki skóry i błon śluzowych, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Charakterystyka kliniczna, molekularna oraz immunohistochemiczna czerniaków rąk i stóp, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Ocena wpływu SRS/SBRT na obszar zmian w mózgu u pacjentów chorych na czerniaki, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;

- ✓ Ocena wyników systemowego leczenia przed- i pooperacyjnego u chorych na czerniaki w stopniu III, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Analiza czynników prognostycznych dla przeżycia i predykcyjnych dla wyników leczenia w grupie chorych na czerniaki uogólnione do ośrodkowego układu nerwowego, Kierownik: Prof. P. Rutkowski;
- ✓ Analiza wyników adjuwantowego leczenia chorych na czerniaki w III stadium zaawansowania wg AJCC8, po radykalnej resekcji, stosowanego w KNTMKiCz, Kierownik: Prof. P. Rutkowski.
- ✓ Współwykonawca grantu p.t. „Opracowanie systemu immunologiczno-molekularnego profilowania chrzęstniakomięsaków”, Narodowe Centrum Nauki, Konkurs: OPUS-17, Kierownik: prof. Piotr Rutkowski, Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy.

d. Nagrody i wyróżnienia

2017 - Juszczyński Przemysław, Szydłowski Maciej, Kiliszek Przemysław, Sewastianik Tomasz, Jabłńska Ewa, Białopiotrowicz Emilia, Gorniak Patryk, Polak Anna, Markowicz Sergiusz, Nowak Eliza, Grygorowicz Monika, Prochorec-Sobieszek Monika, **Szumera-Ciećkiewicz Anna**, Malenda A., Lech-Marańda E., Warzocha Krzysztof: Nagroda im. Jakuba Karola Parnasa za najlepszą pracę doświadczalną opublikowaną w roku 2016 z zakresu biochemii lub biologii doświadczalnej, wykonaną całkowicie w pracowni na terenie Polski.

2017 - Juszczyński Przemysław, Szydłowski Maciej, Sewastianik Tomasz, Jabłńska Ewa, Białopiotrowicz Emilia, Gorniak Patryk, Polak Anna, Warzocha Krzysztof, Grygorowicz Monika, Kiliszek Przemysław, Markowicz Sergiusz, Nowak Eliza, **Szumera-Ciećkiewicz Anna**, Kaminski TS., Malenda A., Lech-Marańda E.: Nagroda im. Hilarego Koprowskiego za najlepszą wykonaną w polskim ośrodku badawczym pracę naukową w zakresie onkologii klinicznej lub doświadczalnej: za cykl prac dotyczących roli sygnału receptora B-komórkowego w chłoniakach.

2019 - Trzecie miejsce w kategorii za najlepszą realizację Grantu wewnętrznego w Narodowym Instytucie Onkologii im. Marii Skłodowskiej Curie – Państwowym Instytucie Badawczym [GW23/2017]: Charakterystyka chłoniaka grudkowego z uwzględnieniem epidemiologii i określeniem heterogenności w badaniach translacyjnych. Kierownik: **Szumera-Ciećkiewicz A.**

Za istotne wyróżnienie w karierze patomorfologa uznaję również umieszczenie zdjęcia mikroskopowego (barwienie immunohistochemiczne) na okładce czasopisma **Blood** (vol. 130, nr 12, 2017). Zdjęcia, których byłam autorem lub współautorem znalazły się również kilkakrotnie na okładkach **Polish Journal of Pathology** oraz **Hematologii**.

VI. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

a. Osiągnięcia dydaktyczne

Od **2013** jestem wykładowcą w Centrum Medycznym Kształcenia Podyplomowego (CMKP) i prowadzę wykłady na kursach specjalizacyjnych przeznaczonych dla przyszłych patomorfologów, hematologów i onkologów klinicznych. **W załączniku nr 6 przedstawiono pełny wykaz wykładów poświadczony przez Bibliotekę Naukową, Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie.**

Jestem również tłumaczem poniższych rozdziałów w książkach dedykowanych studentom medycyny oraz lekarzom przygotowującym się do egzaminu specjalizacyjnego z patomorfologii:

Szumera-Ciećkiewicz A.: Zaburzenia hemodynamiczne, zakrzepica i wstrząs, w: Robbins Patologia / Kumar Vinay, Abbas Abul, Aster Jon (red.), 2014, Elsevier Urban & Partner, ISBN 9788376099033, ss. 81-106

Szumera-Ciećkiewicz A.: Zapalenie i naprawa tkanek, w: Robbins Patologia / Kumar Vinay, Abbas Abul, Aster Jon (red.), 2014, Elsevier Urban & Partner, ISBN 9788376099033, ss. 33-80

Szumera-Ciećkiewicz A.: Zaburzenia hemodynamiczne, zakrzepica i wstrząs, w: Robbins Patologia - wydanie polskie / Kumar Vinay, Abbas Abul, Aster Jon (red.), 2019, Edra Urban & Partner, ISBN 978-83-66310-18-6, ss. 111-135

Szumera-Ciećkiewicz A.: Zapalenia i naprawa tkanek, w: Robbins Patologia - wydanie polskie / Kumar Vinay, Abbas Abul, Aster Jon (red.), 2019, Edra Urban & Partner, ISBN 978-83-66310-18-6, ss. 65-109

Ponadto jestem **promotorem pomocniczym** dwóch doktorantek Narodowego Instytutu Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie – Państwowego Instytutu Badawczego oraz opiekunem jednego lekarza w trakcie specjalizacji z patomorfologii.

W czasach studenckich byłam przewodniczącą kilku studenckich kół naukowych m.in. patomorfologii przy Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, w Krakowie.

b. Osiągnięcia organizacyjne oraz popularyzujące naukę lub sztukę

Od **2010** pełnię obowiązki sekretarza Polskiego Rejestru Nowotworów Kości, aktualnie **Polskiej Grupy Mięsakowej** (PGM). W ramach pełnionej funkcji biorę aktywny udział w przygotowaniu spotkań jako organizator i wykładowca. Misją działalności jest integracja środowiska zajmującego się diagnostyką i leczeniem mięsaków tkanek miękkich i kości w celu prowadzenia wspólnej działalności naukowej oraz opracowywania rekomendacji i standardów postępowania. PGM aktywnie współpracuje z organizacjami zrzeszającymi pacjentów SARCOMA Stowarzyszenie Chorych na Mięsaki i Czerniaki; na bazie tej współpracy powstały m.in. materiały informacyjne (broszura, ulotki) dla lekarzy i pacjentów, których jestem współautorem.

Od 2013 jestem nieprzerwanie (aktualnie trzecia kadencja) sekretarzem **Oddziału Warszawskiego Polskiego Towarzystwa Patologów**. Oprócz zaangażowania w przygotowanie cyklicznych spotkań Oddziału i aktywnego udziału w postaci wystąpień naukowych, jestem inicjatorem corocznego konkursu dla lekarzy specjalizujących się w patomorfologii pozwalającego na pokrycie opłaty zjazdowej w European Congress of Pathology (ECP) w latach 2017-2019. W 2016 byłam także członkiem Komitetu Organizacyjnego XX Jubileuszowego Zjazdu Polskiego Towarzystwa Patologów Warszawa, 2-4.06.2016.

Od 2013 roku pełnię funkcję sekretarza w **sekcji hematopatologii** przy Polskiej Grupie Badawczej Chłoniaków. Biorę aktywny udział w spotkaniach grupy i przygotowałam liczne prezentacje dotyczące badań własnych i zespołu sekcji hematopatologii.

Od 2013 jestem także członkiem Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Oddział Mazowiecki.

Od 2017 roku jestem aktywnym członkiem **European Organisation for Research and Treatment of Cancer Melanoma Group (EORTC Melanoma Group)**. W 2017 roku byłam współorganizatorem spotkania grupy, które odbyło się w Warszawie, Centrum Onkologii – Instytucie im. M. Skłodowskiej-Curie. Biorę aktywny udział w spotkaniach grupy – zarówno w formie prezentacji przypadków, wykładów jak również w sesjach dotyczących planowania wspólnych badań naukowych. Jestem pierwszym lub wiodącym autorem znaczących publikacji, które ilustrują mój aktywny wkład w prace EORTC Melanoma Group:

Cook M., Massi D., **Szumera-Ciećkiewicz A.**, Van den Oord J., Blokx W., Kempen L., Balamurugan T., Bosisio F., Koljenovic S., Portelli F., van Akkooi A., Grp E.: An updated European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) protocol for pathological evaluation of sentinel lymph nodes for melanoma, w: European Journal of Cancer, vol. 114, 2019, ss. 1-7, DOI:10.1016/j.ejca.2019.03.010

Szumera-Ciećkiewicz A., Bosisio F., Teterycz P., Antoranz A., Delogu F., Koljenović S., van de Wiel B., Blokx W., van Kempen L., Rutkowski P., van Akkooi A., Cook M., Massi D.: SOX10 is as specific as S100 protein in detecting metastases of melanoma in lymph nodes and is recommended for sentinel lymph node assessment, w: European Journal of Cancer, vol. 137, 2020, ss. 175-182, DOI:10.1016/j.ejca.2020.06.037.

Anna Szumera-Ciećkiewicz