

AUTOREFERAT

Joanna Huszno

Zakład Radioterapii
Narodowy Instytut Onkologii im Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy
Oddział w Gliwicach

Spis treści

1. Imię nazwisko
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe.
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art.219ust 1 pkt.2 ustawy z dnia 20 lipca 2018. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021r. poz.478 z późn.zm.)
 - a). Tytuł osiągnięcia naukowego.
 - b). Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego.
 - c). Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.
 - a). Analiza bibliometryczna dorobku naukowego.
 - b). Tematyka publikacji nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.
6. Informacja o wykazaniu się istotną aktywnością naukową w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej w szczególności zagranicznej.
7. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych organizacyjnych oraz popularyzujących naukę:
 - a). Prowadzenie zajęć dydaktycznych ze studentami.
 - b). Działalność organizacyjna, członkostwo w towarzystwach naukowych.
 - c). Zagraniczne staże i szkolenia naukowe.
 - d). Nagrody i wyróżnienia.

AUTOREFERAT

1. **Imię i nazwisko:** Joanna Maria Huszno
2. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**
 - Dyplom ukończenia studiów wyższych magisterskich (5 letnich) z wynikiem bardzo dobrym na kierunku Biologia w zakresie Biologia Ogólna i Eksperymentalna – Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, 25/05/2004.
 - Studia podyplomowe w zakresie *Administracji i Zarządzania* na Wydziale Prawa i Administracji. Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. 2005/2006.
 - Dyplom ukończenia studiów wyższych lekarskich – Śląska Akademia Medyczna w Katowicach (obecnie Śląski Uniwersytet Medyczny), Wydział Lekarski w Katowicach, 29.06.2007.
 - Lekarski Egzamin Państwowy, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi, 27/09/2008.
 - Dyplom uzyskania stopnia doktora nauk biologicznych, Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska w Katowicach, 24.10.2008. Tytuł rozprawy: „*Badania ultrastrukturalne gonady męskiej w cyklu rozrodczym dojrzałego samca Danio rerio (Teleostei: Cyprinidae)*”
 - Studia podyplomowe w zakresie Zarządzanie projektem badawczym i komercjalizacja wyników badań na Wydziale Zarządzania Uniwersytetu Ekonomicznego w Katowicach 2012/2013.
 - Dyplom uzyskania stopnia specjalisty w dziedzinie Onkologia Kliniczna, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi, 15/10/2014.
 - Studia podyplomowe w zakresie Prawa w Ochronie Zdrowia na Wydziale Prawa i Administracji. Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. Od 19/10/2013 do 07/09/2014.
 - Studia podyplomowe w zakresie Medycyna Bólu na Medyczne Centrum Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Od 01/02/2015 do 01/10/2016.
 - Szkolenie specjalizacyjne w dziedzinie genetyka kliniczna, Śląski Uniwersytet Medyczny; Katedra i Zakład Biologii Ogólnej, Molekularnej i Genetyki. Od 29/12/2014 do 28/12/2019.
 - Dyplom uzyskania stopnia specjalisty w dziedzinie Genetyka Kliniczna, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi. 12/04/2019.

- W trakcie specjalizacji w dziedzinie Radioterapia Onkologiczna, Narodowy Instytut Onkologii im Marii Skłodowskiej Curie Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach, Zakład Radioterapii od 26/11/2019.
- Członek Zarządu Śląski Oddział Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej od 2017 roku do 16/11/2021.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

- **Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Histologii i Embriologii Zwierząt.** 40-032 Katowice ul. Bankowa 12. Asystent naukowo – dydaktyczny. Nauczyciel akademicki - 1/12/2006 do 30/06/2007.
- **Szpital im L. Rydygiera w Katowicach** 40-211 Katowice Bogucice, ul. Markiefki 87 (obecnie NZOZ Szpital Zakonu Bonifratrów pw. Aniołów Stróżów w Katowicach). Lekarz stażysta, staż podyplomowy. 01/10/2007 - 31/10/2008.
- **Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Klinika Onkologii Klinicznej.** 31-531 Kraków, ul. Śniadeckich 10. Asystent naukowo – dydaktyczny. Nauczyciel akademicki - 1/10/2008 - 01/12/2008.
- **Narodowy Instytut Onkologii im Marii Skłodowskiej – Curie. Państwowy Instytut Badawczy. Oddział w Gliwicach.** 44-100 Gliwice ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15. Lekarz w trakcie specjalizacji z Onkologii Klinicznej - realizacja programu specjalizacji w trybie pozarezydenckim (umowa o pracę) od 01/12/2008 do 15/10/2014.

Lekarz specjalista z dziedziny Onkologia Kliniczna od 15/10/2014 do 19/05/2015.

Asystent naukowy w Klinice Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej, następnie w Przychodni Przyklinicznej oraz I Klinice Radioterapii i Chemioterapii - 19/05/2015 do 01/02/2019.

- **Zagłębiowskie Centrum Onkologii Szpital Specjalistyczny im. Sz. Starkiewicza w Dąbrowie Górniczej.** ul. Szpitalna 13, 41-300 Dąbrowa Górnicza. Starszy asystent na Oddziale Onkologii Klinicznej od 01/05/2019 do 01/11/2019.
- **Narodowy Instytut Onkologii im Marii Skłodowskiej – Curie. Państwowy Instytut Badawczy. Oddział w Gliwicach.** 44-100 Gliwice ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15.

Starszy asystent specjalista z dziedziny Onkologia Kliniczna i Genetyka Kliniczna w Poradnia Genetyki Onkologicznej i Diagnostyki Molekularnej do nadal.

Starszy asystent w trakcie specjalizacji z Radioterapii Onkologicznej w Zakładzie Radioterapii od 01/11/2019 do nadal.

Część biograficzna.

Po uzyskaniu dyplomu maturalnego w roku 1999 w II Liceum Ogólnokształcącym im. Heleny Malczewskiej w Zawierciu podjęłam studia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach w zakresie Biologia Ogólna i Eksperymentalna. Po dwóch latach studiów na Wydziale Biologii w roku 2001 rozpoczęłam dodatkowo, równoległe studia na Wydziale Lekarskim Śląskiej Akademii Medycznej (obecnie Śląski Uniwersytet Medyczny) w Katowicach. W dniu 25/05/2004 uzyskałam dyplom ukończenia studiów wyższych magisterskich (pięcioletnich) na Wydziale Biologii, a następnie w dniu 29/06/2007 roku dyplom ukończenia studiów wyższych lekarskich na Śląskim Uniwersytecie Medycznym. W latach 2004-2008 realizowałam program studiów doktoranckich na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska w Katedrze Embriologii i Histologii Zwierząt pod kierunkiem Prof. Dr hab. Jerzy Klag. W okresie czasu od 1/12/2006 do 30/06/2007 roku byłam zatrudniona na stanowisku asystenta naukowo dydaktycznego w powyższej Katedrze. W roku 2008 na drodze postępowania konkursowego zostałam zatrudniona na stanowisku asystenta w Klinice Onkologii Klinicznej, Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Po odbyciu stażu podyplomowego w Szpitalu im L. Rydygiera w Katowicach Bogucicach (obecnie NZOZ Szpital Zakonu Bonifratrów pw. Aniołów Stróżów w Katowicach) (2007 - 2008), zostałam zatrudniona w Klinice Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie, Oddział w Gliwicach, kierowanej wówczas przez dr hab. n. med. Elżbietę Nowara. W dniu 27/09/2008 po zakończeniu stażu podyplomowego zdałam Lekarski Egzamin Państwowy. W 01/12/2008 rozpoczęłam pracę w Klinice Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie. W tym samym roku obroniłam rozprawę doktorską na Wydziale Biologii i Ochronie Środowiska. W okresie czasu od 2008 roku do roku 2014 realizowałam program specjalizacji z zakresu onkologia kliniczna w Klinice Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej, zakończony egzaminem specjalizacyjnym 15/10/2014 i uzyskaniem tytułu lekarza specjalisty w dziedzinie onkologia kliniczna. W 2015 roku na drodze postępowania konkursowego zostałam zatrudniona na stanowisku asystenta w Klinice

Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej. Od grudnia 2014 roku do 06/12/2018 realizowałam program specjalizacyjny z dziedziny Genetyka Kliniczna w Śląskim Uniwersytecie Medycznym w Katedrze i Zakładzie Biologii Ogólnej, Molekularnej i Genetyki zakończony egzaminem specjalizacyjnym 12/04/2019 i uzyskaniem tytułu lekarza specjalisty w dziedzinie genetyka kliniczna. Do 30/06/2020 pracowałam również w Wielospecjalistycznym Zakładzie Opieki Zdrowotnej w Rudzie Śląskiej w poradni onkologicznej. W dniu 26/11/2019 rozpoczęłam szkolenie specjalizacyjne z dziedziny radioterapia onkologiczna w Zakładzie Radioterapii Narodowego Instytutu Onkologii im Marii Skłodowskiej – Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach. Jednocześnie pracuję, jako specjalista w dziedzinie onkologii klinicznej i genetyki w Poradni Genetyki Onkologicznej i Diagnostyki Molekularnej w Narodowym Instytucie Badawczym w Gliwicach. Wykształcenie medyczne i biologiczne uzupełniłam o studia podyplomowe z dziedziny: Administracji i Zarządzania (Wydział Prawa i Administracji Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach); Zarządzanie projektem badawczym i komercjalizacja wyników badań (Wydział Zarządzania Uniwersytetu Ekonomicznego w Katowicach), Prawa w Ochronie Zdrowia (Wydział Prawa i Administracji Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach) oraz Medycyna Bólu (Medyczne Centrum Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum).

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

a). Tytuł osiągnięcia naukowego:

Ocena wartości wybranych czynników molekularnych oraz wskaźników stanu zapalnego w prognozowaniu skuteczności i toksyczności systemowego leczenia chorych na raka piersi.

b). Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego (IF 14,069; MNiSW 334):

A. Ocena wartości prognostycznej wybranych markerów molekularnych oraz wskaźników stanu zapalnego u chorych na raka piersi.

1. **Huszno J**, Kołosza Z. *Prognostic value of the neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratio in breast cancer patients.* **Oncol Lett.** 2019 Dec;18(6):6275-6283. doi: 10.3892/ol.2019.10966. Epub 2019 Oct 8. **IF 2.311; MNiSW 70.**
2. **Huszno J**, Nożyńska E, Lange D, Kołosza Z, Nowara E. *The association of tumor lymphocyte infiltration with clinicopathological factors and survival in breast cancer.* **Pol J Pathol.** 2017;68(1):26-32. doi: 10.5114/pjp.2017.67612. **IF: 0.865; MNiSW 15.**
3. **Huszno J**, Kołosza Z, Grzybowska E. *BRCA1 mutation in breast cancer patients: Analysis of prognostic factors and survival.* **Oncol Lett.** 2019 Feb; 17(2):1986-1995. doi: 10.3892/ol.2018.9770. Epub 2018 Nov 28. **IF: 2.311; MNiSW 70.**
4. **Huszno J**, Budryk M, Kołosza Z, Tęcza K, Pamuła Piłat J, Nowara E, Grzybowska E. *A Comparison between CHEK2*1100delC/ I157T Mutation Carrier and Non carrier Breast Cancer Patients: A Clinicopathological Analysis.* **Oncology.** 2016;90(4):193-8. doi: 10.1159/000444326. Epub 2016 Mar 19. **IF: 2.262; MNiSW 20.**
5. **Huszno J**, Kołosza Z. *Molecular characteristics of breast cancer according to clinicopathological factors.* **Mol Clin Oncol.** 2019 Aug;11(2):192-200. doi: 10.3892/mco.2019.1869. Epub 2019 May 28. **MNiSW 20.**
6. **Huszno J**, Kołosza Z, Mrochem-Kwarciak J, Grzybowska E. *Overall survival analysis of > 65-year-old patients with breast cancer based on their molecular, clinicopathological and laboratory factors.* **Arch Med Sci.** 2022; 18(3): 800–804. **IF 3.707; MNiSW 100.**

B. Uwarunkowania toksyczności chemioterapii i radioterapii u chorych na wczesnego raka piersi w zależności od markerów molekularnych.

1. **Huszno J**, Budryk M, Kołosza Z, Nowara E. *The risk factors of toxicity during chemotherapy and radiotherapy in breast cancer patients according to the presence of BRCA gene mutation.* **Contemp Oncol (Pozn).** 2015; 19(1): 72-6. **MNiSW 14.**
2. **Huszno J**, Budryk M, Kołosza Z, Nowara E. *The influence of BRCA1/BRCA2 mutations on toxicity related to chemotherapy and radiotherapy in early breast cancer patients.* **Oncology.** 2013; 85(5): 278-82. **IF 2.613; MNiSW 25.**

c). Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Rak piersi jest heterogenną chorobą zarówno w aspekcie przebiegu klinicznego, jak i odpowiedzi na leczenie, które prowadzone jest z uwzględnieniem podtypów molekularnych wyróżnionych na podstawie cech biologicznych nowotworu. Tradycyjny system klasyfikacji oparty jest na następujących czynnikach: indeks mitotyczny Ki67 (z wartością graniczną 20%), status steroidowych receptorów estrogenowych (ER), receptorów progesteronowych (PR) oraz ocena nadekspresji receptora HER2. Inne czynniki prognostyczne to stopień zaawansowania nowotworu według klasyfikacji TNM (wielkość guza, obecność przerzutów w węzłach chłonnych, obecność przerzutów odległych) oraz typ histologiczny nowotworu. Niezbędnym elementu raportu patomorfologicznego jest również ocena stopnia histologicznej złośliwości (G) punktowanego w skali od 1 do 3.

Klasyfikacja podtypów biologicznych opracowana została podczas Konferencji w St. Gallen w modyfikacji z 2013 roku na podstawie oceny wskaźników immunohistochemicznych. Podział raka piersi na podtypy ma znaczenie prognostyczne i stanowi podstawę określenia sposobu leczenia systemowego. Typy luminalne stanowią 60% wszystkich raków piersi. Podtyp luminalny A jest nowotworem ER-dodatnim i/lub PR-pozytywnym, bez nadekspresji receptora HER2 i z niskim indeksem proliferacyjnym Ki67. Charakteryzuje się dobrym rokowaniem oraz znamienne niższym ryzykiem nawrotu choroby w porównaniu do innych podtypów choroby. Podtyp luminalny B raka piersi dotyczy 15%-20% raka piersi i wykazuje bardziej agresywny fenotyp, wyższy stopień złośliwości histologicznej (G), wyższy indeks proliferacyjny (Ki67%) oraz gorsze rokowanie. Wyróżnia się podtyp luminalny B bez nadekspresji HER2 (ER-pozytywne, HER2-ujemne, wysoki indeks Ki67, niskie PgR < 20%) oraz podtyp luminalny B z nadekspresją HER2 (ER-pozytywne, HER2 - dodatnie, każde Ki67, dowolne PgR). Rak piersi HER2 dodatni „nieluminalny” stanowi 15%-20% podtypów. Charakteryzuje się nadekspresją HER2 i/lub amplifikacją genu HER2 oraz ujemnym statusem receptorów ER i PR. Kolejnym podtypem jest „potrójnie ujemny” bez specjalnego podtypu (dawniej przewodowy) bez nadekspresji HER2 oraz z ujemnym statusem receptorów steroidowych (ER/PR-).

Odkrywanie nowych celów molekularnych w komórkach nowotworowych stanowi ważne zadanie współczesnej onkologii i istotnie wpływa na indywidualizację terapii. W ostatnich latach obserwuje się bardzo znaczny wzrost wpływu czynników genetycznych na proces diagnostyczny i decyzje terapeutyczne chorych na nowotwory, w tym na raka piersi. Postęp diagnostyki molekularnej pozwolił na wyróżnienie nowych czynników molekularnych,

takich jak: geny *BRCA1/2*, *CHEK2*, *TP53* czy *PALB2*. Dodatkowo pojawiły się doniesienia naukowe, w których potwierdzona została rola nacieków limfocytarnych nowotworów (TILs) w procesie karcynogenezy oraz progresji choroby nowotworowej. Zwraca się również uwagę na znaczenie wskaźników NLR, PLR, MLR oraz innych parametrów laboratoryjnych, jako czynników prognostycznych u chorych na nowotwory, w tym na raka piersi.

. Główny obszar moich zainteresowań dotyczy zagadnienia roli czynników molekularnych oraz immunohistochemicznych w raku piersi ze szczególnym uwzględnieniem oceny zależności pomiędzy mutacjami genów (*BRCA*, *CHEK2*, *NOD2*), obecnością nacieków limfocytarnych w tkance guza (TILs), wskaźnikami stanu zapalnego NLR (wskaźnik neutrofilowo – leukocytny), PLR (wskaźnik płytkowo-leukocytny), MLR (wskaźnik monocytarno-limfocytarny), a dobrze znanymi prognostycznymi i predykcyjnymi czynnikami klinicznymi. Analizowałam również częstość wystąpienia nowotworów u członków rodziny chorych z obecnością wyżej wymienionych czynników molekularnych oraz wskaźnikami stanu zapalnego (TILs, NLR, PLR, MLR). W drugiej części osiągnięcia naukowego przeanalizowałam uwarunkowania toksyczności chemioterapii i radioterapii u chorych na wczesnego raka piersi w zależności od markerów molekularnych (mutacja genów *BRCA1/2*).

Moje własne obserwacje podczas pracy w Narodowym Instytucie Onkologii im Marii Skłodowskiej – Curie w Gliwicach (Klinika Onkologii Klinicznej i Eksperymentalnej, Breast Unit), a także współpraca z Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów oraz praca w Poradni Genetycznej zaowocowały publikacjami omawianymi poniżej. Ukończone studia w zakresie Biologii Ogólnej oraz realizowanie programu specjalizacyjnego w zakresie genetyki klinicznej pozwoliło mi dodatkowo zaangażować się w dziedzinę onkogenetyki. Poniższe publikacje koncentrują się głównie na praktycznych aspektach moich badań, będąc próbą uzupełnienia tradycyjnych systemów klasyfikacji raka piersi o nowe czynniki molekularne, immunohistochemiczne oraz wskaźniki stanu zapalnego w celu optymalizacji procesów diagnostycznych i terapeutycznych.

W pierwszej publikacji pt. „*Prognostic value of the neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratio in breast cancer patients*” przeprowadziłam ocenę znaczenia współczynników neutrofilowo-limfocytarnego (NLR), płytkowo-limfocytarnego (PLR) oraz monocytowo-limfocytarnego (MLR), jako czynników prognostycznych u chorych na raka piersi (BC). Dodatkowo przeanalizowałam zależność pomiędzy wyżej wymienionymi wskaźnikami, a uznanymi czynnikami klinicznymi i histopatologicznymi.

Obecność stanu zapalnego wpływa na każdy etap powstawania nowotworu, w tym na inicjację, promocję i progresję guza. Biomarkery takie jak, liczba neutrofilów, limfocytów i płytek krwi, a także stosunek neutrofilów do limfocytów (NLR), liczby płytek krwi do limfocytów (PLR) oraz monocytów do limfocytów (MLR) są wskaźnikami stanu zapalnego. Dotychczasowe badania wykazały, że powyższe parametry laboratoryjne mogą być czynnikami prognostycznymi dla kilku typów nowotworów, takich jak rak jajnika, prostaty, czy nowotwory przewodu pokarmowego. Pojawiają się również doniesienia naukowe dotyczących chorych na raka piersi.

Retrospektywne badanie przeprowadzone zostało w Narodowym Instytucie Onkologii im Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach (NIO) i obejmowało analizę 436 kobiet diagnozowanych i leczonych w okresie od stycznia 2005 do czerwca 2018. Wartość prognostyczną przeżycia całkowitego (OS) dla wskaźników PLR, NLR i MLR ocenialiśmy z zastosowaniem analizy jednoczynnikowej i wieloczynnikowej. Dane dotyczące wieku w chwili rozpoznania, stanu menopauzalnego, stadium choroby według klasyfikacji TNM, rozpoznania histopatologicznego, stanu receptorów estrogenowych i progesteronowych, stanu receptora HER2 oraz wywiadu rodzinnego pozyskiwano na podstawie dokumentacji medycznej oraz raportów patomorfologicznych. Parametry laboratoryjne oceniano przed rozpoczęciem leczenia systemowego. Punkt odcięcia dla wskaźników NLR, PLR i MLR określano na podstawie krzywej ROC. NLR zdefiniowano, jako „podwyższony” przy wartości $>2,65$; MLR przy wartości $>0,28$ a PLR uznano za „podwyższony” powyżej 190,9.

Powyższa analiza wykazała, że u kobiet z rakiem piersi podwyższone wskaźniki NLR ($>2,65$) (nieznamienne) oraz PLR ($>190,9$) (znamiennie) oznaczone przed rozpoczęciem leczeniem związane były z gorszym czasem przeżycia całkowitego (OS). Pięcioletni czas przeżycia całkowitego był niższy w grupie chorych z $NLR > 2,65$ w porównaniu z grupą $NLR \leq 2,65$ (82,5 vs 89,6%; $p=0,053$), a także znamienne niższy w podgrupie chorych z potrójnie ujemnym podtypem raka piersi (TNBC; 70,3 vs 89,3%; $p=0,034$) oraz u pacjentek z guzem o ujemnym statusie receptora estrogenowego [ER(-)] (66,6 vs 83,6%; $p=0,018$). Podobnie, 5-letnie OS było niższe u pacjentów z $PLR > 190,9$ w porównaniu z grupą $PLR \leq 190,9$ (78,7 vs 89,4%; $p=0,020$). Gorszy czas OS związany z podwyższoną wartością wskaźnika PLR zaobserwowano również w podgrupach chorych z TNBC (68,2 vs 88,5%; $p=0,032$) oraz z guzami o ujemnym statusie receptora ER(-) (57,7 vs 83,6%, $p=0,002$). W analizie jednoczynnikowej wyróżniono następujące czynniki prognostyczne: wiek pacjenta [współczynnik ryzyka (HR)=1,03; 95% przedział ufności (CI): 1,00-1,05; $p=0,018$], wielkość

guza (T3-4 vs. T1-2, HR=2,75; 95% CI: 1,69-4,48; p=0,0001), obecność przerzutów do węzłów chłonnych (N+ vs. N0, (HR=3,74; 95% CI: 2,17-6,46; p=0,0001), status receptora estrogenowego (ER(+)) vs ER(-), HR=0,51; 95% CI: 0,32-0,83; p=0,007) oraz wskaźnik PLR (PLR>190,9 vs ≤190,9, HR=2,02; 95% CI: 1,12-3,65; p=0,020). Nie zaobserwowano natomiast zależności pomiędzy wartością wskaźnika MLR, a czasem przeżycia całkowitego (p=0,830). W analizie wieloczynnikowej wartości NLR i PLR były nieznamiennie negatywnymi czynnikami prognostycznymi. Natomiast, w podgrupie pacjentów z ujemnym stanem receptora ER podwyższone wartości wskaźników NLR (HR=2.40; 95% CI: 1.20-4.80; p=0,013) i PLR (HR=2.51; 95% CI: 1.23-5.14; p=0,012) były istotnie niezależnymi, negatywnymi czynnikami prognostycznymi.

W analizie czynników klinicznych i histopatologicznych wykazałam, że pacjentki z podwyższoną wartością wskaźnika NLR (>2,65) były częściej w młodszym wieku (mediana 47,7 vs. 53,5 lat, p=0,021), w okresie przed menopauzalnym (62% vs. 49%, p=0,021) oraz posiadały częściej ujemny stan receptora estrogenowego (47% vs. 32%, p=0,008) w porównaniu z podgrupą chorych z wartością wskaźnika NLR≤2,65. Chore z podwyższoną wartością NLR miały również tendencję do obecności wyższego stopnia złośliwości histologicznej guza G3 (48% vs. 37%, p=0,062). W przeprowadzonym badaniu nie obserwowano różnicy pomiędzy grupami chorych z NLR>2,65 i NLR≤2,65 w odniesieniu do wielkości guza (T1-T2: 71% vs. 78%; p= 0,187), obecności węzłów chłonnych bez przerzutów (N0) (57% vs. 55%; p=0,803) oraz podtypu raka piersi (p=0,242). Chore z wysokim wskaźnikiem PLR (>190,9) charakteryzowały się znamienne częściej stopniem złośliwości histologicznej G3 (54% vs. 37%; p=0,020), ujemnym statusem receptora ER (52% vs. 32%; p=0,005) oraz podtypem raka piersi TNBC (31% vs. 18%; p=0,028) w porównaniu do kobiet z niskim wskaźnikiem PLR. Nie zaobserwowano natomiast zależności między wielkością wskaźnika PLR (>190,9 vs. ≤190,9) a nadekspresją receptora HER2 (43% vs. 41%, p=0,883), wielkością guza (T3-T4: 31% vs. 23%, p=0,146) oraz obecnością przerzutów w węzłach chłonnych (48% vs. 44%; p=0,564). Podwyższoną wartość wskaźnika PLR częściej obserwowano u pacjentek przed menopauzą (65% vs. 49%, p=0,035). Podobnie, pacjentki z podwyższonym wskaźnikiem MLR (>0,28) częściej miały ujemny status receptora ER (42% vs. 31%; p=0,031) w porównaniu z pacjentami z niższym wskaźnikiem MLR. Nie zaobserwowano natomiast różnicy między grupami chorych z wysokim i niskim wskaźnikiem MLR pod względem wielkości guza (T3-T4: 27% vs. 21%; p=0,186), obecności przerzutów do węzłów chłonnych (42% vs. 46%; p=0,345), nadekspresji receptora HER2 (42% vs. 41%,

p=0,920), histologicznego stopnia złośliwości G3 (40% vs. 39%; p=0,783) oraz stanu menopauzalnego (okres przed menopauzalny: 55% vs. 49%, p=0,209) [1].

W kolejnej publikacji pt „*The association of tumor lymphocyte infiltration with clinicopathological factors and survival in breast cancer*” przeanalizowałam zależność pomiędzy naciekami limfocytarnymi guza (TILs) (w stopniu od 0-3), a dobrze znanymi czynnikami klinicznymi i patomorfologicznymi u chorych na raka piersi. Powstawanie nowotworu, jego wzrost, naciek i tworzenie przerzutów zależą od biologicznych cech raka i jego oddziaływań z mikrośrodowiskiem. Przeprowadzone dotychczas badania potwierdziły udział TILs w procesie nowotworzenia oraz progresji choroby. Jak do tej pory nie stwierdzono silnej korelacji pomiędzy TILs w raku piersi a cechami klinicznymi. Niektóre badania wykazały wyższy stopień TILs w raku piersi z nadekspresją receptora HER2, ujemnym statusem receptora steroidowego i wysokim zróżnicowaniem.

Analizie poddano parafinowe skrawki z materiału pooperacyjnego 76 kobiet z wczesnym stadium raka piersi. Leczenie operacyjne a następnie systemowe chorych przeprowadzono w latach 2008 – 2010 w Centrum Onkologii – Instytut im Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach (obecnie NIO w Gliwicach). Dane dotyczące wieku, chorób towarzyszących, stanu menopauzalnego, stosowania używek, procedury chirurgicznej, stadium choroby według klasyfikacji TNM, badania histopatologicznego, stanu receptorów estrogenowych oraz progesteronowych, obecności nadekspresji receptora HER2 i występowanie raka drugiej piersi, podobnie jak w poprzednich pracach uzyskano na podstawie historii choroby oraz raportów patomorfologicznych.

Ocena stopnia nacieku limfocytarnego (TILs) przeprowadzona została na materiale pooperacyjnym obejmującym wycinek z guza z przylegającymi tkankami. Resorpcyjne zmiany po przeprowadzeniu biopsji gruboigłowej zostały wyeliminowane z procesu oceny. Stopień nacieku limfocytarnego (TILs) określono zgodnie z kryteriami Klintrupa i Mohammeda, jako: brak nacieku, naciek łagodny, umiarkowany oraz nasilony. TILs został klasyfikowany, jako: nieobecny (klasa 0), łagodny (klasa 1), umiarkowany (klasa 2) i nasilony (klasa 3).

Nacieki limfocytarne obserwowano w tkance guza u 87% (66/76) chorych. Nasilony naciek limfocytarny (stopień 3) wykryto u 7% (5/76) chorych. TILs w stopniu 1 i 2 odnotowano odpowiednio u 45% i 35% kobiet. 10 (13%) guzów nie wykazywało nacieku limfocytarnego (TILs) (stopień 0). Wyższy stopień TILs (stopień 2 i 3) obserwowano częściej

u młodszych chorych (poniżej 65 roku życia) w porównaniu do kobiet w wieku >65 roku życia (47% vs. 24%; $p=0,099$). Naciek limfocytarny (TILs) był wykryty u wszystkich chorych z chorobami wirusowymi w wywiadzie (zakażenie HBV lub HCV odnotowano u 4% chorych). Natomiast, TILs rzadziej występował u chorych na cukrzycę (33% vs. 89%, $p=0,044$) oraz u chorych z nadciśnieniem tętniczym (HA) w wywiadzie (79% vs. 89%, $p=0,257$). Wyższy stopień nacieku TILs (stopień 2 i 3) był częściej związany z ujemnym statusem receptorów estrogenowych (64% vs. 29%) i progesteronowych (63% vs. 24%), odpowiednio $p=0,004$ i $p=0,001$. Umiarkowany i nasilony naciek limfocytarny rozpoznawano również częściej przy równoczesnym ujemnym statusie obu receptorów steroidowych (ER- / PR-) (72% vs. 27%), $p=0,001$ w porównaniu z dodatnim statusem obu receptorów (ER+/PR+). Dodatkowo, wyższy stopień TILs korelował z nadekspresją lub amplifikacją HER2 w odniesieniu do guzów HER2 negatywnych (62% vs. 32%, $p=0,016$). Wyższy stopień złośliwości histologicznej (G3) wykryto również częściej w nowotworach o stopniu TIL 2-3 w porównaniu do niższych stopni (G1-G2) (57% vs. 36%, $p=0,095$).

Nacieki limfocytarne obserwowane były u wszystkich nosicielek mutacji *BRCA*. W przeprowadzonej analizie nie stwierdzono zależności pomiędzy stopniem nasilenia TILs a obecnością mutacji *BRCA1/2* (7% TILs 0-1 vs. 9% TILs 2-3, $p=0,692$). Oceniając stopień zaawansowania nowotworu według klasyfikacji TNM stwierdziłam, brak zależności pomiędzy przerzutami do węzłów chłonnych i wyższym stopniem nacieku limfocytarnego (TILs 2-3) (47% vs. 40%, $p=0,604$). W analizowanej grupie zaobserwowano nieznamiennie częściej obecność TILs w stopniu 2-3 w guzach o większym rozmiarze (T3-4) w porównaniu z guzami w stopniu T1-2 (75% vs. 40%, $p=0,301$). Wszystkie chore leczone były z powodu wczesnego raka piersi. Przerzutów odległych nie stwierdzono. Zaobserwowano tendencję do obecności wyższego stopnia nacieku limfocytarnego w przypadku obustronnego raka piersi w porównaniu do raka jednostronnego (71% vs. 39%; $p=0,124$) [2].

Na podstawie oceny czynników histologicznych dokonałam podziału raka piersi w analizowanej grupie na podtypy zgodnie z zaleceniami Konferencji w St. Gallen w modyfikacji z 2013 roku. Zależało mi zwłaszcza na określeniu korelacji poszczególnych podtypów raka piersi ze stopniami nacieku limfocytarnego. Analizowałam stopień TILs, jako czynnik, który mógłby stanowić uzupełnienie dotychczasowej tradycyjnej klasyfikacji podtypów biologicznych raka piersi. Nowotwory z wyższym stopniem TILs (grupa 2-3) wykryto u 20% chorych z podtypem Luminalnym A raka piersi, u 28% chorych z podtypem Luminalnym B oraz u 67% chorych z „potrójnie ujemnym” rakiem piersi (TNBC).

Największy odsetek, bo aż 89% TILs w stopniu umiarkowanym i nasilonym raportowano w przypadku „nieluminalnego” podtypu raka piersi. Powyższe wyniki wskazują na związek TILs wyższego stopnia z podtypami o gorszym rokowaniu (TNBC oraz „nieluminalny” HER2 dodatni).

Podsumowanie:

- Podwyższone wartości wszystkich wskaźników (NLR, PLR, MLR) związane były z obecnością ujemnego statusu receptorów estrogenowych.
- Podwyższone wartości wskaźników NLR oraz PLR, z wyjątkiem MLR korelowały z obecnością czynników takich jak, młodszy wiek oraz wyższy stopień złośliwości histologicznej (G3).
- Nie stwierdzono zależności pomiędzy wartością wskaźników NLR, PLR i MLR, a obecnością przerzutów w węzłach chłonnych (N+) oraz wielkością guza (T).
- Wyższy stopień nacieków limfocytarnych TILs (stopień 2 i 3) guza korelował z obecnością czynników takich jak: młodszy wiek chorych, ujemny status receptorów steroidowych zarówno estrogenowych, jak i progesteronowych, wyższy stopień złośliwości histologicznej (G3), nadekspresja receptora HER2 oraz podtyp raka piersi TNBC.
- Wyższy stopień nacieków limfocytarnych TILs guza korelował z większą ilością negatywnych czynników prognostycznych w porównaniu do wskaźników PLR, NLR i MLR. Wydaje się, więc że stopień nacieków limfocytarnych TILs guza może być niezależnym, negatywnym czynnikiem prognostycznym. Wyższe wartości NLR i PLR były istotnie negatywnymi czynnikami prognostycznymi dla podgrup takich jak: TNBC, z negatywnym statusem receptorów estrogenowych (ER-) oraz z wyższym stopniem złośliwości histologicznej G3.

W publikacji pt. “*BRCA1 mutation in breast cancer patients: Analysis of prognostic factors and survival*” przeprowadziłam analizę zależności pomiędzy obecnością mutacji w genie *BRCA*, a czynnikami klinicznymi i histopatologicznymi. Badaną grupę stanowiło 446 chorych na raka piersi (wyłącznie kobiety), które były diagnozowane i leczone w przedziale czasowym od 2007 do 2016 roku w Narodowym Instytucie Onkologii im Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach [3]. Obecność czynników prognostycznych oraz czas przeżycia chorych analizowane były u 60 chorych na raka piersi z obecnością mutacji w genie *BRCA*. Grupę kontrolną stanowiło 386 chorych na raka piersi bez potwierdzonej mutacji w genie *BRCA*. Chore w obu grupach były leczone według tego samego protokołu. Pacjentki były poddawane kontrolnym badaniom klinicznym, co trzy miesiące w pierwszych dwóch latach, następnie, co sześć miesięcy do piątego roku od rozpoznania, a później, co rok. Dane kliniczne i histopatologiczne pozyskiwano na podstawie dokumentacji medycznej oraz raportów patomorfologicznych. Wszystkie chore przeszły badania genetyczne oraz otrzymały konsultacje w Poradni Genetyki Onkologicznej i Diagnostyki Molekularnej Przychodni Przyklinicznej Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach. Analizę mutacji przeprowadzono za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy – Multiplex PCR. Oceniliśmy wówczas trzy najczęściej występujące mutacje genu *BRCA1* w polskiej populacji, czyli 5382insC, C61G i 4153delA. Analiza statystyczna została przeprowadzona przy użyciu oprogramowania STATISTICA 7 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Cechy jakościowe przedstawiono jako odsetek ich występowania i oceniono testem Fishera oraz testem χ^2 z poprawką Yatesa. Uznano, że $p < 0,05$ wskazuje na statystycznie istotną różnicę. Prawdopodobieństwo przeżycia całkowitego (OS) oszacowano metodą Kaplana-Meiera. Czynniki prognostyczne OS oszacowano za pomocą modelu proporcjonalnego ryzyka Coxa.

Dla ogólnej grupy 446 chorych mediana wieku w chwili rozpoznania wynosiła 51,8 lat (zakres 23,7–78,3 lat). U nosicielek mutacji w genie *BRCA* ($n = 60$) i osób niebędących nosicielkami mutacji ($n = 386$) mediana wieku wynosiła odpowiednio, 43,5 lat (zakres 23,7–74,4 lat) i 53,1 lat (zakres 25,6–78,3 lat). Nosicielki mutacji genu *BRCA* były istotnie młodsze ($p < 0,0001$) w porównaniu do chorych bez mutacji. Łącznie 263 kobiety (59,0%) były w okresie przedmenopauzalnym (80% nosicielek i 56% nie-nosicielek) ($p = 0,0004$). Przerzuty do węzłów chłonnych (N +) wykryto częściej w grupie kontrolnej (bez obecności mutacji w genie *BRCA*) (45,9% vs. 18,3%, $p = 0,0001$). Zrazikowy rak inwazyjny był również

raportowany w protokołach patomorfologicznych znamienne częściej u chorych bez mutacji genu *BRCA* (12,2% vs. 5%). Z drugiej strony, miejscowo zaawansowany rak piersi (T3-T4) był znamienne częściej obserwowany u nosicielek mutacji genu *BRCA* (38,3% vs. 19,4%, $p=0,002$). Jak oczekiwano, pacjentki z mutacją genu *BRCA* miały częściej negatywny status receptora estrogenowego (66,7% vs. 35,5%, $p=0,0001$) i receptora PR (71,7% vs. 41,7%, $p=0,0002$), wyższy stopień złośliwości histologicznej (G3; 50% vs. 29,5%, $p=0,002$), brak nadekspresji receptora HER2 (98,3% vs. 56,2%, $p=0,0001$) oraz podtyp raka piersi TNBC (61,7% vs. 15,0%, $p=0,0001$). Zaobserwowano również predyspozycje do rozwoju nowotworów wtórnych u nosicielek mutacji (35% vs. 9,6%, $p=0,0001$).

W analizie podgrup nie stwierdzono istotnych różnic między młodszymi (≤ 40 lat) a starszymi (>40 lat) nosicielkami mutacji *BRCA* w odniesieniu od czynników kliniczno-patologicznych. Wśród młodszych chorych (≤ 40 lat) obserwowano nieznamienne częściej ujemny status receptorów ER (77% vs. 60%, $p=0,258$). Nie stwierdzono natomiast różnicy w odniesieniu do ujemnego statusu receptora progesteronowego (77% vs. 68%, $p=0,560$) oraz nadekspresji receptora HER2 (100% vs. 97,4%, $p=1,00$) w zależności od wieku u nosicielek mutacji genu *BRCA*. U chorych bez mutacji genu *BRCA* nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy młodszymi chorymi (≤ 40 lat), a osobami w wieku >40 lat w odniesieniu do czynników takich jak: TNBC (20,0% vs. 14,4%, $p=0,373$), ujemny stan receptora ER (42,2% vs. 34,6%, $p=0,324$), ujemny stan receptora PR (42,2% vs. 41,6%) i nadekspresja receptora HER2 (48,9% vs. 43,1%, $p=0,524$). W przeprowadzonej analizie nosicielki mutacji w genie *BRCA* miały znamienne gorszy czas przeżycia całkowitego w porównaniu do chorych bez potwierdzonej mutacji ($p=0,017$). Wskaźnik dziesięcioletniego OS wyniósł 78,0% dla całej badanej grupy: 65,9% dla nosicielek mutacji *BRCA* i 81,1% dla kontrolnej grupy.

Biorąc pod uwagę powyższe wyniki przeprowadziłam podobną analizę w odniesieniu do nosicielek mutacji genu *CHEK2* z rozpoznany rakiem piersi. W publikacji pt „*A Comparison between CHEK2*1100delC/I157T Mutation Carrier and Noncarrier Breast Cancer Patients: A Clinicopathological Analysis*” podjęłam próbę scharakteryzowania chorych na raka piersi z potwierdzoną obecnością mutacji genu *CHEK2* pod względem czynników takich jak: stan receptorów steroidowych (estrogenowe, progesteronowe), obecność nadekspresji receptora HER2, oceny Ki67, wielkości guza, obecności przerzutów nowotworowych w węzłach chłonnych, wieku chorych, stanu menopauzalnego, chorób nowotworowych w rodzinie oraz obecności raka drugiej piersi [4]. Analizę przeprowadzono

na podstawie dokumentacji medycznej i raportów patomorfologicznych 100 chorych na raka piersi, które w latach 2012 -2014 otrzymywały leczenie onkologiczne takie jak: chemioterapię w oparciu o antracykliny/taxany, hormonoterapię i/lub immunoterapię w Centrum Onkologii – im Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach (obecnie NIO w Gliwicach). Wszystkie chore to kobiety z południowej części Polski - Śląska. 46 (46%) pacjentek było nosicielkami mutacji *CHEK2*: 3 (6,5%) to wariant 1100delC a 43 (93,5%) to wariant I157T.

Ocenę mutacji *CHEK2**1100delC i I157T przeprowadzono z zastosowaniem reakcji łańcuchowej polimerazy odpowiednio ASA-PCR oraz RFLP-PCR. W każdej amplifikacji zastosowano kontrolę dodatnią i ujemną. Żadna chora w populacji śląskiej nie była nosicielką mutacji w genach *BRCA1* (c.68_69delAG, c.181T>G, c.4034delA, c.5266dupC) oraz *BRCA2* (.5946delT, c.9403delC). Przeprowadziłam analizę porównawczą dwóch grup chorych: 46 (46%) nosicielek mutacji genu *CHEK2* oraz 54 (54%) chorych bez mutacji. Mediana wieku chorych z obecnością mutacji genu *CHEK2* wynosiła 54 lata (od 25 do 74 lat), a chorych bez mutacji 52 lata (od 30 do 77 lat). W prezentowanej analizie nosicielki mutacji genu *CHEK2* były nieistotnie starsze (>65 roku życia) niż chore bez mutacji (17% vs. 7%, $p=0,215$). Nie stwierdziłam różnicy pomiędzy obiema analizowanymi grupami w odniesieniu do stanu menopauzalnego (po menopauzie: 56% vs. 59%; $p=0,840$). W całej badanej grupie 43% kobiet było w okresie przed menopauzą a pozostałe 57% w okresie po menopauzie. Choroby towarzyszące obserwowano u 49 (49%) chorych: 56% nosicielek mutacji i 42% chorych bez mutacji *CHEK2* ($p=0,166$). Niedoczynność tarczycy została wykryta nieznacznie częściej u kobiet bez mutacji *CHEK2* (13% vs. 2%, $p=0,066$). Nie stwierdziłam istotnych różnic pomiędzy obiema grupami w odniesieniu do chorób układu sercowo-naczyniowego (24% vs. 24%) i chorób zakaźnych (7% vs. 7%). 25 (54%) nosicielek mutacji *CHEK2* miało obciążony wywiad rodzinny chorobami nowotworowymi, w tym rakiem piersi opisanym u 11 (24%) z nich. Inne nowotwory występujące w rodzinie to: rak żołądka (11%), nerek (4%), płuc (7%) oraz guzy OUN (9%). Rak żołądka w wywiadzie rodzinnym raportowany był częściej u nosicielek mutacji genu *CHEK2* (11%) w porównaniu do chorych bez mutacji (2%), $p=0,092$. W całej badanej grupie, nowotwory w wywiadzie rodzinnym były obserwowane nieznamiennie częściej u kobiet w wieku poniżej 65 roku życia w porównaniu z chorymi starszymi (>65 roku życia) (31% vs. 10%, $p=0,135$). Nowotwory w wywiadzie rodzinnym raportowane były częściej w grupie chorych z podtypem luminalnym B w porównaniu do innych podtypów (59% vs. 42%, $p=0,185$). W badanej grupie u 4% chorych rozwinął się obustronny rak piersi w tym u 3% chorych bez mutacji *CHEK2* i 1% nosicielek mutacji.

Oceniając stopień zaawansowania nowotworu według klasyfikacji TNM wykazano, że większość chorych uczestniczących w badaniu ($n=82$; 82%) ma wczesnego raka piersi (TNM od IA do IIB). Zaobserwowano również tendencję do częstszego występowania przerzutów do węzłów chłonnych u chorych bez mutacji w porównaniu z nosicielami mutacji (46% vs. 28%, $p=0,098$). W przeciwieństwie do tego, nosicielki mutacji *CHEK2* wykazywały nieznamiennie częściej miejscowo zaawansowanego raka piersi (T3-T4) niż chore bez mutacji (24% vs. 13%, $p=0,194$). Nie stwierdzono różnic między dwiema analizowanymi grupami w odniesieniu do statusu receptora ER ($p=1,00$), statusu receptora PR ($p=1,00$) oraz nadekspresji receptora HER2 (16% vs. 11%, $p=0,360$). Wykazano natomiast tendencję do niższego stopnia histologicznej złośliwości (G1-G2) u nosicielek mutacji genu *CHEK2* w porównaniu do chorych bez mutacji (82% vs. 70%, $p=0,212$). Niższy indeks mitotyczny (Ki67 <20%) był opisany u 78% nosicielek mutacji i 50% chorych bez mutacji ($p=0,036$). Podobnie jak w poprzednich publikacjach również i w tym badaniu analizowano rozkład mutacji genu *CHEK2* w poszczególnych podtypach biologicznych raka piersi. Luminalny B podtyp raka piersi był diagnozowany częściej u nosicielek mutacji *CHEK2* (39% vs. 20%; $p=0,048$). Obecność luminalnego typu A raka piersi była porównywalna w obu grupach (63% vs. 50%, $p=0,266$). Potrójnie negatywny rak piersi (TNBC) był obserwowany u 11% chorych w całej badanej grupie. TNBC był nieznamiennie częściej raportowany u chorych bez mutacji genu *CHEK2* (15% vs. 7%, $p=0,217$). Nie stwierdzono różnic w odniesieniu do podtypów luminalnych pomiędzy wariantami I157T i 1100delC genu *CHEK2*. U żadnej chorej z wariantem mutacji I157T nie obserwowano potrójnie negatywnego raka piersi [4].

Zbiorcza analiza zawierająca podsumowanie wyników powyższych badań przedstawiona została w publikacji pt: „*Molecular characteristics of breast cancer according to clinicopathological factors*” [5]. Celem przeprowadzonej analizy była ocena zależności między czynnikami molekularnymi, takimi jak: mutacja genów *BRCA*, *CHEK2*, *NOD2* oraz czynnikami kliniczno-histopatologicznymi u kobiet z rozpoznaniem raka piersi.

Na podstawie danych kliniczno-patologicznych z poprzednich badań przeprowadzonego w latach 2007-2016 w Centrum Onkologii – Instytut im Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach (obecnie NIO w Gliwicach) wykonano analizę czynników prognostycznych u pacjentek z rakiem piersi z potwierdzonymi mutacjami genów *BRCA1* ($n = 73$), *CHEK2* ($n = 51$) i *NOD2* ($n = 31$). Grupę kontrolną wybrano spośród chorych na raka piersi bez mutacji ($n = 392$). Pacjentki we wszystkich grupach (nosiciele mutacji *BRCA1*, *CHEK2* i *NOD2* oraz grupa kontrolna) były leczone według tego samego

protokołu. Wszystkie chore wyraziły pisemną świadomą zgodę na wykorzystanie ich materiału biologicznego w badaniach klinicznych. Wstępne wyniki badań dla chorych z obecnością mutacji genów *BRCA*, *CHEK2* lub *NOD2* zostały przedstawione w naszych poprzednich publikacjach. Status mutacji *CHEK2* * 1100delC i I157T (GenBank NM_007194.3) oceniano odpowiednio za pomocą technik ASA-PCR i RFLP-PCR. W niniejszym badaniu przeanalizowano najczęstsze mutacje genu *BRCA1* (c.68_69delAG, c.181T> G, c.4034delA, c.5266dupC i c.3700_3704del5; GenBank NM_007294.3) i *BRCA2* (c.5946delT i c.9403delC; GenBank NM_000059.3) występujące w populacji śląskiej. W badanej grupie oceniano również obecność mutacji c.3016_3017insC w *NOD2* (GenBank NM_022162.1). Analizę mutacji przeprowadzono za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy – Multiplex PCR.

Mediana wieku kobiet z rozpoznaniem raka piersi z obecnością mutacji genu *BRCA1* wynosiła 43 lata (zakres 24–74 lata), a dla grupy kontrolnej 53 lata (zakres 26–78 lat). Nosicielki mutacji genu *BRCA* również znamienne częściej znajdowały się w wieku przedmenopauzalnym w porównaniu z grupą kontrolną (71 vs. 49%, $p=0,0005$). Mediana wieku kobiet z potwierdzoną mutacją genu *CHEK2* wynosiła 50 lat (zakres 26–71). W niniejszej analizie nosicielki mutacji genu *CHEK2* były młodsze, choć nie istotnie, w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,081$). Nie stwierdzono istotnych różnic między nosicielkami mutacji genu *CHEK2*, a grupą kontrolną pod względem stanu menopauzalnego (47 vs. 51%, $p=0,656$). Mediana wieku w chwili rozpoznania raka piersi u nosicielek mutacji genu *NOD2* wynosiła 47 lat (zakres 27–68). Wszystkie chore z obecnością mutacji genu *NOD2* były młodsze w porównaniu z pacjentkami z grupy kontrolnej. Najmłodsze chore były w grupie nosicielek mutacji genu *BRCA1* (mediana wieku 43 lata), następnie odpowiednio z mutacją genu *NOD2* (mediana wieku 47 lat) oraz z mutacją genu *CHEK2* (mediana wieku 50 lat).

Wywiad rodzinny obciążony chorobami nowotworowymi odnotowano u 123 (31%) kobiet w grupie kontrolnej oraz u 80 (52%) w grupie chorych z mutacjami genów ($p=0,0001$). Występowanie nowotworów w rodzinie obserwowano częściej u nosicielek mutacji genu *CHEK2* (61 vs. 31%, $p=0,0001$) i nosicielek mutacji genu *NOD2* (58 vs. 31%, $p=0,005$) w porównaniu z pacjentkami z grupy kontrolnej. Stwierdzono również tendencję do częstszego występowania nowotworów w rodzinie u chorych z mutacjami genu *BRCA1* (42 vs. 31%, $p=0,065$). Rak piersi w rodzinie występował znamienne częściej w podgrupach z mutacjami

w genach *BRCA1* (25 vs. 10%, $p=0,0009$), *CHEK2* (27 vs. 10%, $p=0,001$) oraz *NOD2* (35 vs. 10%, $p=0,0003$) w porównaniu z grupą kontrolną.

U chorych z mutacją genu *BRCA1* znamienne częściej obserwowano: ujemny status receptorów steroidowych (62 vs. 31%, $p=0,0001$), histologiczny typ złośliwości nowotworu G3 (55 vs. 31%, $p=0,0001$) oraz brak nadekspresji receptora HER2 (7% vs. 51%, $p=0,0001$). W porównaniu do grupy kontrolnej, u chorych z obecnością mutacji w genie *CHEK2* znamienne częściej obserwuje się dodatni status receptora estrogenowego (82 vs. 66%, $p=0,001$), dodatni status receptora progesteronowego (78 vs. 59%, $p=0,009$) oraz brak nadekspresji receptora HER2 (82% vs. 49%, $p=0,0001$). Stopień histologiczny raka piersi różnił się między pacjentkami z mutacjami *CHEK2* a grupą kontrolną (12% G3 vs. 31% G3, $p=0,003$). Brak nadekspresji receptora HER2 obserwowano istotnie częściej u nosicieli mutacji *NOD2* (90 vs. 49%, $p=0,0001$) w porównaniu z grupą kontrolną. Z drugiej strony nie zaobserwowano różnic między nosicielami mutacji w genie *NOD2*, a grupą kontrolną pod względem ujemnego statusu receptora estrogenowego (29 vs. 34%, $p=0,253$) oraz progesteronowego (32 vs. 41%, $p=0,447$). Niższy stopień złośliwości histologicznej, G1-G2, obserwowano z podobną częstością u nosicieli mutacji *NOD2* oraz w grupie kontrolnej (74 vs. 69%, $p=0,687$). Guzy G3 wykryto u 26% nosicieli mutacji i 31% badanych w grupie kontrolnej.

Podobnie, jak w przypadku chorych z obecnością nacieków limfocytarnych również w analizie dotyczącej mutacji *BRCA* oceniłam rozkład mutacji w poszczególnych podtypach raka piersi. *BRCA* zależny rak piersi znamienne częściej był obserwowany w potrójnie negatywnym podtypie raka piersi (TNBC) w porównaniu do grupy kontrolnej (44% vs. 18%, $p<0,001$). Przeciwnie, podtypy Luminalny A (13% vs. 4%, $p=0,0001$) oraz Luminalny B (56% vs. 34%, $p=0,0001$) występowały znamienne częściej u chorych na raka piersi bez mutacji *BRCA1/2* niż u nosicielek mutacji. Podtyp luminalny A wykryto u 53% nosicielek mutacji genu *CHEK2* i 45% nosicielek mutacji genu *NOD2*. Luminalne podtypy B, w szczególności podtypy Luminalne B HER2-dodatni, były obserwowane częściej w grupie kontrolnej bez mutacji (odpowiednio 56% i 33%) w porównaniu z nosicielkami mutacji: *BRCA1* (odpowiednio 34 i 7%, $p=0,0001$); *CHEK2* (odpowiednio 33% i 12%, $p=0,0001$) i *NOD2* (odpowiednio 26% i 6%, $p=0,0001$) [5].

Kontynuację cyklu publikacji stanowi praca pt. „*Overall survival analysis of > 65-year-old patients with breast cancer based on their molecular, clinicopathological and laboratory factors*”. Celem artykułu była charakterystyka chorych na raka piersi w wieku >

65 lat pod względem czynników, klinicznych, histologicznych (podtyp histologiczny, stopień G, Ki67, status receptorów steroidowych, obecność nadekspresji receptora HER2), molekularnych (obecność mutacji genów *BRCA1*, *CHEK2*, *NOD2*) oraz laboratoryjnych (PLT, poziom limfocytów, neutrofilii, limfocytów, wskaźniki NLR, PLR, MLR, Hgb). Przeanalizowano dokumentację medyczną 723 chorych na raka piersi diagnozowanych i leczonych w Narodowym Instytucie Onkologii w latach 2005 – 2019. Spośród badanej grupy wyodrębniono 92 chorych w wieku > 65 lat. Grupę kontrolną stanowiły chore w wieku < 50 lat (306 chorych). Łącznie analizie poddano 398 z 723 chorych na raka piersi.

Stopień histologiczny G3 (39,2 vs 25,0%; $p=0,013$) oraz podtyp TNBC (21,9 vs. 13,0%; $p=0,073$) były obserwowane istotnie częściej w grupie młodszych chorych (<50 lat) w porównaniu do grupy osób w wieku >65 lat. Natomiast, dodatni status receptora steroidowego [receptor estrogenowy (ER+)/receptor progesteronowy (PR+)] (76,1 vs 66,3%; $p=0,096$), niższy stopień złośliwości histologicznej G1-2 ($p=0,031$) oraz podtyp Luminalny A raka piersi (26.1% vs. 15%, $p=0,019$) raportowano częściej u chorych >65 roku życia.

U chorych w wieku >65 lat obserwowano znamienne częściej wyższy poziom limfocytów we krwi ($p=0,001$), niższy poziom PLT ($p=0,004$), niższy wskaźnik NLR ($p=0,008$) i PLR ($p=0,0001$) w porównaniu z grupą chorych w wieku <50 lat. Podobnie niższe wartości wskaźnika MLR raportowano częściej u chorych starszych ($p=0,070$).

Mutacja genów *BRCA1* (19,0 vs 7,1%; $p=0,024$) oraz *CHEK2* (10,9 vs 4,4%; $p=0,147$) były istotnie częściej wykrywane u chorych w wieku <50 lat. Nie zaobserwowano związku między obecnością mutacji *NOD2*, a wiekiem chorych (26,0 vs 22,6%; $p=0,563$).

Analiza jednoczynnikowa wykazała, że w grupie chorych >65 lat czynnikami prognostycznymi są: węzły chłonne z przerzutami (N+ vs. N0, $p=0,025$) oraz stopień złośliwości histologicznej (G3 vs. G1-2, $p=0,031$). Podobne wyniki uzyskano w analizie wieloczynnikowej dla węzłów chłonnych z przerzutami ($p=0,017$) oraz stopień G ($p=0,020$).

Czynnikami prognostycznymi dla chorych młodszych w analizie jednoczynnikowej były: wielkość guza (T3-4 vs. T1-2, $p=0,0001$), przerzuty w węzłach chłonnych (N+ vs. N0, $p=0,039$), status receptorów ER (ER+ vs. ER-, $p=0,0003$) i nadekspresja receptora HER2 (HER2+ vs. HER2-, $p=0,032$). W analizie wieloczynnikowej tylko wielkość guza ($p=0,001$) oraz status receptora ER ($p=0,010$) stanowiły czynniki prognostyczne dla chorych w wieku <50 lat.

U chorych w wieku >65 lat obserwowano gorszy czas przeżycia całkowitego w porównaniu do młodszych chorych, chociaż różnica nie była istotna (test log-rank $p=0,079$). Pięcioletni czas całkowitego przeżycia wynosił 88,1% dla młodszych pacjentek (<50 lat) i 82,7% dla pacjentów w wieku >65 lat. Analiza wieloczynnikowa wykazała, że wiek, wielkość guza (T), zajęcie węzłów chłonnych (N) oraz status receptorów estrogenowych ER były niezależnymi czynnikami prognostycznymi [6].

Podsumowanie:

- Obecność mutacji była związana z młodszym wiekiem rozpoznania choroby, niezależnie od typu mutacji (*BRCA1*, *CHEK2* lub *NOD2*).
- U chorych będących nosicielkami mutacji w genie *BRCA1* obserwowano częściej podtypy raka: TNBC i HER2-ujemny Luminalny B rak piersi, u chorych z obecnością mutacji *CHEK2* podtyp HER2-ujemny Luminalny A i Luminalny B oraz u chorych z mutacją w genie *NOD2* podtyp Luminalny A i TNBC.
- U nosicieli mutacji w genach *CHEK2* i *NOD2* obserwowano korzystne czynniki prognostyczne, takie jak, węzły chłonne bez przerzutów N (-) oraz brak nadekspresji receptora HER2. Dodatkowo niski stopień złośliwości histologicznej guza G1-G2 u chorych z mutacją genu *CHEK2*.
- Występowanie nowotworów w rodzinie obserwowano częściej u nosicieli mutacji genów *CHEK2* i *NOD2*. Rak piersi w rodzinie występował zmiennie częściej we wszystkich podgrupach chorych z mutacjami (*BRCA*, *CHEK2* oraz *NOD2*).
- Czynniki prognostycznymi dla chorych w wieku >65 lat były: niższy stopień złośliwości histologicznej G1-2, wyższy poziom limfocytów, niższe wartości wskaźników NLR i PLR oraz PLT.
- Wiek chorych na raka piersi >65 lat był negatywnym czynnikiem prognostycznym, niezależnym od innych czynników.

Wnioski:

Powyższe publikacje wskazują na związek pomiędzy wyższym stopniem nacieku limfocytarnego (TILs) (2 i 3 stopień) z negatywnymi predykcyjnymi i prognostycznymi

czynnikami takimi jak: młodszy wiek chorych, ujemny status receptorów steroidowych zarówno, wyższy stopień złośliwości histologicznej (G3), nadekspresja receptora HER2, podtyp raka piersi TNBC oraz obecnością przerzutów do węzłów chłonnych i wielkością guza T3-T4.

Podwyższone wartości wskaźników NLR oraz PLR, z wyjątkiem MLR korelowały z obecnością czynników takich jak, młodszy wiek oraz wyższy stopień złośliwości histologicznej (G3). Ponadto, podwyższone wartości wszystkich wskaźników związane były z ujemnym statusem receptorów estrogenowych. Wyższy poziom limfocytów, niższe wartości wskaźników NLR, PLR, MLR oraz PLT charakterystyczne były dla starszego wieku chorych (>65 lat). Wyższy stopień nacieków limfocytarnych TILs guza korelował z większą ilością negatywnych czynników prognostycznych w porównaniu do wskaźników PLR, NLR i MLR. Wydaje się, więc być silniejszym, negatywnym czynnikiem prognostycznym. Wyższe wartości NLR i PLR były istotnie negatywnymi czynnikami prognostycznymi dla podgrup takich jak: TNBC, negatywny status ER oraz z wyższym stopniem złośliwości histologicznej G3. Chociaż starszy wiek chorych był niezależnym, negatywnym czynnikiem prognostycznym, to korelował z występowaniem czynników korzystnych tj: niższy stopień G1-G2, podtyp Luminalny A raka piersi, dodatni status receptorów ER/PR, brak mutacji genu *BRCA* oraz niższe wartości wskaźników NLR, PLR, MLR.

Obecność mutacji genu *BRCA* wiązało się z ujemnym stanem receptorów steroidowych, wyższym stopniem złośliwości histologicznej (G3) oraz potrójnie negatywnym podtypem raka piersi (TNBC). U nosicieli mutacji w genie *CHEK2* obserwowano korzystne czynniki prognostyczne, takie jak, niski stopień złośliwości histologicznej guza G1-G2, dodatni status receptorów steroidowych oraz brak nadekspresji receptora HER2. W grupie chorych z mutacją genu *NOD2* obserwowano czynniki korzystne takie jak: węzły chłonne bez przerzutów oraz brak nadekspresji receptora HER2. Podtyp potrójnie ujemnego raka piersi (TNBC) był charakterystyczny dla chorych obecnością mutacji genów *BRCA* oraz *NOD2*. Podtyp Luminalny A obserwowano u chorych z obecnością mutacji genów *CHEK2* i *NOD2*.

1. Huszno J, Kolosza Z. Prognostic value of the neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratio in breast cancer patients. **Oncol Lett.** 2019 Dec;18(6):6275-6283. doi: 10.3892/ol.2019.10966. Epub 2019 Oct 8.

2. Huszno J, Nożyńska EZ, Lange D, Kołosa Z, Nowara E. The association of tumor lymphocyte infiltration with clinicopathological factors and survival in breast cancer. **Pol J Pathol**. 2017;68(1):26-32. doi: 10.5114/pjp.2017.67612.
3. Huszno J, Kołosa Z, Grzybowska E. BRCA1 mutation in breast cancer patients: Analysis of prognostic factors and survival. *Oncol Lett*. 2019 Feb; 17(2):1986-1995.
4. Huszno J, Budryk M, Kołosa Z, Tęcza K, Pamuła Piłat J, Nowara E, Grzybowska E. "A Comparison between CHEK2*1100delC/I157T Mutation Carrier and Noncarrier Breast Cancer Patients: A Clinicopathological Analysis". *Oncology*. 2016; 90 (4): 193-8.
5. Huszno J, Kołosa Z. Molecular characteristics of breast cancer according to clinicopathological factors. *Mol Clin Oncol*. 2019 Aug;11(2):192-200. doi: 10.3892/mco.2019.1869. Epub 2019 May 28.
6. Huszno J, Kołosa Z, Mrochem-Kwarciak J, Grzybowska E. Overall survival analysis of > 65-year-old patients with breast cancer based on their molecular, clinicopathological and laboratory factors. *Archives of Medical Science*. 2022. IF 3.318; MNiSW 100.

Uwarunkowania toksyczności chemioterapii i radioterapii u chorych na wczesnego raka piersi w zależności od markerów molekularnych.

Zastosowanie terapii onkologicznych w praktyce klinicznej wiąże się z możliwością wystąpienia działań niepożądanych o różnym stopniu nasilenia. Powikłania terapii mogą dotyczyć zaburzeń pracy układu pokarmowego (nudności, wymioty, biegunka, zapalenie błon śluzowych), układu krwiotwórczego (neutropenia, małopłytkowość, niedokrwistość, powikłania zatorowo-zakrzepowe), wodno-elektrolitowego, układu sercowo- naczyniowego oraz zaburzeń prawidłowej funkcji nerek, wątroby czy układu nerwowego. Celem drugiej części cyklu prac była analiza uwarunkowania toksyczności chemioterapii i radioterapii u chorych na wczesnego raka piersi w zależności od markerów molekularnych (mutacja genów *BRCA1/2*).

W publikacjach pt "*The influence of BRCA1/BRCA2 mutations on toxicity related to chemotherapy and radiotherapy in early breast cancer patients*" [1] oraz "*The risk factors of toxicity during chemotherapy and radiotherapy in breast cancer patients according to the presence of BRCA gene mutation*" [2] przeanalizowałam zależność pomiędzy obecnością mutacji genu *BRCA*, a działaniami niepożądanymi chemioterapii opartej na antracyklinach oraz radioterapii u chorych na raka piersi. Nosicielstwo mutacji genu *BRCA1* zwiększa ryzyko rozwoju raka piersi do 80% i ryzyka wystąpienia raka jajników do 40%. Wyżej wymieniona

mutacja występuje w około 5-10% raków piersi, zwłaszcza u kobiet poniżej 50 roku życia. *BRCA1* i *BRCA2* są genami supresorowymi odpowiedzialnymi za naprawę uszkodzeń DNA, regulację cyklu komórkowego, kontrolę transkrypcyjną, ubikwityzację i regulację apoptozy. Funkcjonalne białka *BRCA1/2* biorą udział w naprawie dwuniciowych pęknięć DNA zakłócając rekombinację homologiczną, transkrypcję mRNA, regulację cyklu komórkowego i ubikwityzację białek. Brak funkcjonalnego białka *BRCA1* prowadzi do zwiększonej wrażliwości na czynniki powodujące uszkodzenie DNA.

W publikacji pt „*The influence of BRCA1/BRCA2 mutations on toxicity related to chemotherapy and radiotherapy in early breast cancer patients*” przeanalizowano dokumentację medyczną 270 kobiet z rozpoznaniem wczesnego raka piersi, które były leczone w latach 2006-2012 w Narodowym Instytucie Onkologii im Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach. Wszystkie chore zostały zbadane pod kątem obecności mutacji *BRCA1* i *BRCA2* (*BRCA1*: c.5266dupC, c.6869delAG, c.181T> G, c.4040delA; *BRCA2*: c.5946delT, c.9403delC). Analizę mutacji przeprowadzono za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy – Multiplex PCR. Wszystkie chore otrzymały chemioterapię zawierającą antracykliny. Najczęściej stosowano schematy: FAC (5-fluorouracyl 500 mg/m², adriamycyna 50 mg/m², cyklofosfamid 500 mg/m²), AC (adriamycyna 60 mg/m², cyklofosfamid 600 mg/m²), AT (adriamycyna 50 mg/m², docetaxel 75 mg/m²) oraz TAC (docetaxel 75 mg/m², adriamycyna 50 mg/m², cyklofosfamid 500 mg/m²). Radioterapię uzupełniającą zastosowano u 178 (66%) pacjentek (Dc 50Gy w 25 frakcjach).

Mutacja *BRCA* wykryta została u 41 (15%) chorych na rakach piersi. Średni wiek kobiet z wykrytą mutacją genu *BRCA1/2* wynosił 43 lata (zakres 25-74), a dla chorych bez mutacji 50 lat (w przedziale od 29,5 do 79 lat), $p < 0,001$. Niezależnie od obecności mutacji chore leczone były według takiego samego protokołu. Na podstawie analizy danych uzyskanych z dokumentacji medycznej ustaliłam, że nie było znamiennej statystycznie różnicy pomiędzy obiema grupami chorych (z obecnością mutacji *BRCA1/2* i bez stwierdzonej mutacji) w odniesieniu do ogólnej toksyczności leczenia (suma wszystkich powikłań w stopniu 4) (3 vs. 4%, $p = 0,344$). Natomiast, powikłania w stopniu 3 według CTCAE były obserwowane znamienne częściej u chorych bez potwierdzonej mutacji (7 vs. 13%, $p = 0,0008$). Powikłania ze strony przewodu pokarmowego w postaci nudności i wymiotów w stopniu 3-4 również raportowano istotnie częściej u chorych bez mutacji genów *BRCA1/2* (6 vs. 0%, $p = 0,05$). Neutropenia była istotnie częściej obserwowana u pacjentów z mutacją genów *BRCA1/2* (32 vs. 10%), ale tylko po 1 cyklu chemioterapii ($p = 0,0007$). Nie

stwierdzono częstszego występowania pozostałych powikłań leczenia systemowego u chorych z mutacjami genu *BRCA*. Biegunkę zaobserwowano tylko u 6 (2%) pacjentów, w tym 5 (2%) chorych bez mutacji i 1 (2,5%) z obecnością mutacji ($p=1,000$). Nie raportowano również istotnych różnic między dwoma grupami w odniesieniu do zapalenia błony śluzowej (8 vs. 9%, $p=1,000$), niedokrwistości (0 vs 0,5%, $p=1,000$) oraz infekcji (1,5 i 2,5%). Dwunastu (4,5%) chorych wymagało wcześniejszego zakończenia leczenia z powodu toksyczności chemioterapii, głównie z powodu neutropenii w stopniu 3-4. Nie było wśród nich nosicielek mutacji genów *BRCA1/2*.

Przeprowadziłam również ocenę wartości Hgb, WBC, poziomu kreatyniny i bilirubiny przed rozpoczęciem leczenia u chorych z obecnością i bez obecności mutacji genu *BRCA1/2*. Zaobserwowaliśmy, że poziom hemoglobiny i liczba białych krwinek na początku leczenia były niższe, ale w zakresie normy u nosicieli mutacji *BRCA1/2* (odpowiednio $p=0,00001$ i $p=0,027$). Natomiast, poziomy kreatyniny i bilirubiny były wyższe u osób bez potwierdzonej mutacji genów *BRCA* (odpowiednio $p=0,0003$ i $p=0,0002$).

Wczesny odczyn popromienny radioterapii w postaci popromiennego zapalenia skóry stopnia 3–4 według NCI CTCAE, takie jak suche i wilgotne złuszczenie skóry oraz ból, odnotowano u 10% pacjentów z mutacjami *BRCA1/2* i u 12% bez mutacji ($p=0,3$). Odczyn popromienny obserwowano znamienne częściej u chorych po mastektomii w porównaniu do chorych po leczeniu oszczędzającym (56 vs. 44%, $p=0,016$).

Kontynuację badań dotyczących zależności pomiędzy toksycznością chemioterapii i radioterapii, a obecnością mutacji genów *BRCA1/2* przeprowadzono na większej grupie chorych na raka piersi ($n=370$) otrzymujących leczenie w latach 2006-2012. Wyniki analizy zostały opublikowane w artykule pt: *“The risk factors of toxicity during chemotherapy and radiotherapy in breast cancer patients according to the presence of BRCA gene mutation”*, który ukazał się w czasopiśmie *Contemporary Oncology* w 2015 roku (2). Obecność mutacji genów *BRCA1/2* została potwierdzona u 48 (13%) chorych, w tym u 2 mutacja genu *BRCA2*, a u pozostałych 46 mutacja genu *BRCA1*. U 326 (87%) chorych nie wykryto obecności mutacji genów *BRCA*. Nosicielki mutacji genu *BRCA* były częściej w stanie przedmenopauzalnym w porównaniu do chorych bez mutacji (64% vs. 39%, $p=0,02$). Cechą charakterystyczną chorych z potwierdzoną obecnością mutacji *BRCA* były również stan potrójnie negatywny podtyp raka piersi (52% vs. 19%, $p=0,0001$) oraz negatywny stan receptorów steroidowych (71% vs. 47%, $p=0,012$). Wyższy stopień T (wielkość guza) był nieznamiennie częściej obserwowany u kobiet z mutacją genu *BRCA* (47% vs. 37%),

$p=0,192$. Węzły chłonne z obecnością przerzutów były znacznie częściej raportowane w grupie chorych bez mutacji genu *BRCA* (48% vs. 19%, $p=0,0002$). Podobnie, nadekspresja receptora HER2 była istotnie częściej wykrywana u kobiet bez mutacji w porównaniu z nosicielkami mutacji genu *BRCA* (33% vs. 6%), $p=0,0002$.

Powikłania leczenia w stopniu 1-4 obserwowano u 64% chorych, w tym u 16% ($n=58$) w stopniu 3-4. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi w stopniu 3-4 były: neutropenia (15%), nudności i wymioty (4%), stan zapalny błony śluzowej jamy ustnej (5%), anemia (0,5%) oraz infekcja (0,8%). Nie zaobserwowano znamiennej różnicy, co do toksyczności 3–4 stopnia u pacjentek bez mutacji w porównaniu z nosicielkami mutacji genu *BRCA* (18% vs. 12%), $p=0,346$. Natomiast powikłania ze strony górnego odcinka przewodu pokarmowego, takie jak nudności i wymioty, występowały tylko u chorych bez mutacji (5% vs. 0, $p=0,240$). Podobne obserwacje dotyczyły anemii (0,6% vs. 0, $p=1,00$) oraz infekcji (1% vs. 0, $p=1,00$). Nie raportowano zależności pomiędzy wystąpieniem stanu zapalnego śluzówek jamy ustnej (2% vs. 2,2%, $p=0,988$), a obecnością mutacji. Brak było powikłań takich jak, biegunka, czy też infekcji w stopni 3-4.

Przeprowadzona analiza potwierdziła wyniki poprzedniej publikacji. Powikłania hematologiczne, takie jak neutropenia w stopniu 3-4 były znacznie częściej obserwowane u chorych z obecnością mutacji genów *BRCA1/2*, ale tylko po pierwszym cyklu leczenia (29% vs. 10%, $p=0,0002$). Podobnie, niższe wartości WBC (17% vs. 4%, $p=0,0015$) oraz Hgb (30% vs. 11%, $p=0,0005$) przed rozpoczęciem terapii występowały u nosicielek mutacji genów *BRCA*. W odniesieniu do powikłań radioterapii uzyskane wyniki były również zgodne z tymi, które zaprezentowano w poprzedniej publikacji. Wczesny odczyn radioterapii w stopniu 3-4 obserwowano u 7 (3%) chorych, w tym u 6 (4%) bez mutacji oraz u 1 (3%) z potwierdzoną mutacją genu *BRCA* ($p=0,880$). Powikłania wymagające przerwania leczenia występowały tylko u pacjentek bez mutacji (1% vs. 0, $p=0,860$). Skutki uboczne obserwowano nieznacznie częściej u chorych po przebytej mastektomii w porównaniu do pacjentek po leczeniu oszczędzającym (10% vs. 6%), $p=0,212$.

Publikacja pt: *“The risk factors of toxicity during chemotherapy and radiotherapy in breast cancer patients according to the presence of BRCA gene mutation”* poszerzona została o analizę czynników ryzyka powikłań chemioterapii i radioterapii niezależnie od obecności mutacji genów *BRCA*. Wyróżniono następujące czynniki ryzyka: wiek chorych >70 lat ($p=0,02$) oraz występowanie chorób towarzyszących, zwłaszcza chorób układu krążenia ($p=0,044$), nadciśnienia tętniczego ($p=0,039$) oraz wirusowego zapalenia wątroby ($p=0,045$).

Nie stwierdzono natomiast zależności pomiędzy czynnikami takimi jak, zaawansowanie choroby ($p=0,367$), stan menopauzalny ($p=0,694$), stan sprawności ($p=0,100$), stosowanie używek ($p=0,367$), a powikłaniami leczenia. Chore z obecnością mutacji genów *BRCA* były istotnie młodsze od chorych bez potwierdzonej mutacji ($p=0,03$). Mediana wieku wynosiła 43 lata dla nosicielek mutacji genu *BRCA* (zakres wieku od 25 do 74 lat), a dla kobiet bez mutacji 50 lat (zakres od 29,5 do 79 lat). Podobnie, choroby towarzyszące częściej raportowano u nosicielek mutacji ($p=0,003$), zwłaszcza nadciśnienie tętnicze ($p=0,02$) oraz choroby układu krążenia ($p=0,018$). Nie było związku między obecnością innych chorób towarzyszących, a obecnością mutacji.

1. Huszno J, Budryk M, Kołosza Z, Nowara E. "The influence of BRCA1/BRCA2 mutations on toxicity related to chemotherapy and radiotherapy in early breast cancer patients". *Oncology*. 2013; 85 (5): 278-82.
2. Huszno J, Budryk M, Kołosza Z, Nowara E. "The risk factors of toxicity during chemotherapy and radiotherapy in breast cancer patients according to the presence of BRCA gene mutation". *Contemp Oncol (Pozn)*. 2015; 19 (1): 72-6.

Podsumowanie:

- Nosicielki mutacji genu *BRCA1/2* są znacznie młodsze i częściej z rozpoznaniem podtypu TNBC niż chore bez mutacji (odpowiednio $p < 0,001$ i $p < 0,001$).
- Chore z obecnością mutacji genu *BRCA*, wydają się być bardziej narażone na wystąpienie neutropenii po pierwszym cyklu leczenia ($p=0,0007$).
- Poziom hemoglobiny i liczba białych krwinek na początku leczenia były niższe u nosicieli mutacji *BRCA1/2* (odpowiednio $p=0,00001$ i $p=0,027$).
- Brak zwiększonej ogólnej toksyczności związanej z chemioterapią wśród chorych z mutacjami genu *BRCA*.
- Powikłania ze strony przewodu pokarmowego (nudności i wymioty) częściej były obserwowane u chorych bez mutacji.
- Brak różnicy w odniesieniu do wystąpienia wczesnego odczynu popromiennego radioterapii pomiędzy chorymi z obecnością i bez obecności mutacji genów *BRCA1/2*.

Wnioski:

Obecność mutacji genu *BRCA* nie wpłynęła znamienne na częstość występowania odczynu popromiennego oraz ogólnej toksyczności chemioterapii. Nosicielki mutacji genów *BRCA* istotnie częściej narażone były na wystąpienie neutropenii na początku leczenia (po I cyklu chemioterapii), a chore bez obecności mutacji na powikłania ze strony górnego odcinka przewodu pokarmowego (nudności i wymioty).

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.

a). Analiza bibliometryczna dorobku naukowego.

Szczegółowy wykaz publikacji i doniesień konferencyjnych oraz analiza bibliometryczna zostały zawarte w załącznikach 3 i 4 dołączonych do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego.

b). Tematyka publikacji nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.

Poza powyższym, cyklem dziewięciu prac, będących podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, mój dorobek naukowy obejmuje publikacje, których tematyka stanowi powiązanie aktualnych doświadczeń w onkologii i genetyce klinicznej. Przedstawione publikacje stanowią podsumowanie moich wieloletnich zainteresowań dotyczących czynników molekularnych, klinicznych oraz laboratoryjnych i patomorfologicznych w chorobach nowotworowych. Tematyka prac obejmuje również zagadnień dotyczących powikłań leczenia, w tym ukierunkowanego molekularnie, roli farmakogenetyki w chorobach nowotworowych oraz diagnostyki i terapii nowotworów, w szczególności raka piersi, raka nerki, nowotworów przewodu pokarmowego oraz dermatosarcoma protuberans. Mój dorobek naukowy obejmuje: dwadzieścia pięć publikacji oryginalnych, ośmiu prac przeglądowych, cztery opisy przypadków oraz jeden list do Redakcji, których jestem pierwszym autorem. Poza tym jestem współautorem trzech prac przeglądowych oraz siedmiu prac oryginalnych. Prace zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych. Ze względu na tematykę poruszanych zagadnień dotychczasowe publikacje można pogrupować następująco:

A. Cykl publikacji dotyczący analizy molekularnych, klinicznych, patomorfologicznych oraz laboratoryjnych czynników prognostycznych u mężczyzn chorych na raka piersi.

Rak piersi u mężczyzn (male breast cancer - MBC) jest rzadką chorobą. Stanowi mniej niż 1% wszystkich przypadków zachorowań na raka piersi oraz 0,2% wszystkich

nowotworów u mężczyzn. Najlepiej udokumentowanym czynnikiem genetycznym MBC są mutacje genu *BRCA2*. Pozostałe geny, których mutacja może zwiększyć ryzyko zachorowania na raka piersi to: *BRCA1*, *PTEN*, *TP53* i *CHEK2*. Czynniki prognostyczne u mężczyzn chorych na raka piersi, podobnie jak u kobiet z tym samym rozpoznaniem to: wielkość guza (T), liczba węzłów chłonnych z obecnością przerzutów (N+), stan receptorów steroidowych - ER, PR oraz nadekspresja receptora HER2.

W pierwszej publikacji pt. „*Prognostic Value of the Neutrophil-Lymphocyte, Platelet-Lymphocyte, and Monocyte-Lymphocyte Ratios in Male Breast Cancer Patients*” przeprowadziłam ocenę współczynników neutrofilowo-limfocytarnego (NLR), płytkowo-limfocytarnego (PLR) oraz monocytowo-limfocytarnego (MLR), jako czynników prognostycznych u mężczyzn chorych na raka piersi (BC). Analizę przeprowadzona została u 38 mężczyzn, którzy byli diagnozowani i leczeni z powodu raka piersi w Narodowym Instytucie Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach w okresie czasu od stycznia 2005 do grudnia 2018. Ocenę wskaźników NLR, PLR, MLR oraz pozostałych parametrów laboratoryjnych przeprowadzono przed rozpoczęciem leczenia. Jako podwyższone wartości poszczególnych wskaźników przyjęto: NLR >2.74; PLR >169.1 oraz MLR >0.30. W efekcie przeprowadzonej analizy zaobserwowaliśmy tendencję do występowania gorszego czasu przeżycia całkowitego (OS) wśród mężczyzn z rozpoznaniem raka piersi z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych (N +) (5-letnie OS: 43,5 vs 73,9%; $p = 0,087$), z większym wymiarem guza (T4 vs T1 + T2) (42,0 vs 70,5%; $p = 0,061$), ujemnym stanem receptorów steroidowych (PR-) (28,6 vs 65,6%; $p=0,109$)/ (ER-) ($P=0.275$) oraz wyższym stopniem złośliwości histologicznej G3 (46.4% vs.70.7%, $P=0.217$). Korzystnymi czynnikami w odniesieniu do OS były: wiek ≤ 56 lat ($p = 0,028$) oraz wywiad rodzinny obciążony w kierunku chorób nowotworowych ($p = 0,001$). Przeprowadzona analiza wykazała, że podwyższone wartości wskaźników MLR ($> 0,30$) ($p = 0.025$) oraz PLR ($> 169,1$) ($p = 0.008$), a także niższy poziom limfocytów ($p = 0,010$) i hemoglobiny ($P=0.039$) były związane z gorszym czasem przeżycia całkowitego u mężczyzn z BC. Podobnie, chociaż nieistotnie, negatywny wpływ na OS miały: podwyższone wartości NLR ($> 2,74$) ($p = 0.078$) oraz podwyższona liczba płytek krwi ($> 281 \times 10^3$) ($p = 0,056$) [1]. Powyższe wyniki mogą wskazywać na rolę wyników badań laboratoryjnych takich jak: wskaźniki MLR, PLR, poziom limfocytów i hemoglobiny jako czynników wpływających na czas przeżycia całkowitego u mężczyzn chorych na raka piersi.

Obecnie w piśmiennictwie znajdują się pojedyncze opisy przypadków dotyczące diagnostyki i leczenia raka piersi u mężczyzn. W drugiej pracy z cyklu pt. *“BRCA2 gene mutation, c.2808_2811delACAA (p.Ala938Profs), in male breast cancer – clinicopathological analysis based on a case report”* przedstawiono przypadek 75-letniego mężczyzny z obciążonym wywiadem rodzinnym w kierunku chorób nowotworowych (dwie córki z rozpoznaniem raka piersi w wieku, odpowiednio 46 i 38 lat), u którego rozpoznano miejscowo zaawansowanego raka piersi. Dodatkowo u chorego przeprowadzono diagnostykę molekularną oraz poradnictwo genetyczne. Wykonano sekwencjonowanie kompletnej sekwencji kodującej genów *BRCA1* i *BRCA2* wraz z przylegającymi sekwencjami intronowymi. Stwierdzono obecność *BRCA2* c.2808_2811del ACAA (p.Ala938Profs). Według bazy BIG, c.2808_2811del ACAA p. (p.Ala938Profs) jest drugą najczęściej zgłaszaną mutacją *BRCA2* powodującą przesunięcie ramki odczytu. Celem pracy była analiza związku między wyżej wspomnianą mutacją, a czynnikami kliniczno-patologicznymi. W analizowanym przypadku chorego obecność mutacji c.2808_2811delACAA (p.Ala938-Profs) w genie *BRCA2* wiązała się z rozpoznaniem w późniejszym wieku (75 lat), wyższym stopniem złośliwości histologicznej, wyższym indeksem mitotycznym (Ki-67), dodatnim statusem receptorów steroidowych (ER/PR), brakiem nadekspresji receptora HER2 oraz rozpoznaniem luminalnego B HER2 ujemnego podtypu raka piersi. Powyższe wyniki pozostają w zgodności z dotychczasowymi danymi w literaturze. Ryzyko raka piersi jest również wyższe u mężczyzn z mutacją genu *BRCA2* (7%). Obecność mutacji c.2808_2811delACAA (p.Ala938Profs) w genie *BRCA2* potwierdzono metodą Sangera u jednej z córek chorego, u której również rozpoznano raka piersi. Rak piersi u córki chorego został zdiagnozowany w wieku 38 lat. Badanie histopatologiczne wykazało obecność inwazyjnego, zrazikowego raka piersi, G2, ER (+), PR (+) oraz brak nadekspresji receptora HER2. U drugiej córki również z rozpoznaniem raka piersi nie udało się wykonać badania w kierunku mutacji obecnej w rodzinie. Rozpoznanie choroby nastąpiło u niej w wieku 41 lat, a podtyp raka piersi i cechy histologiczne guza były takie same jak u ojca. Powyższe wyniki wskazują na dziedziczną postać raka piersi w rodzinie. Zastosowanie techniki NGS w badaniach genetycznych zwiększyło wykrywanie zmian genetycznych u chorych na raka piersi [2].

1. **Huszno J**, Kołosa Z, Mrochem-Kwarciak J, Zajusz A. Prognostic Value of the Neutrophil-Lymphocyte, Platelet-Lymphocyte, and Monocyte-Lymphocyte Ratios in Male Breast Cancer Patients. *Oncology*. 2020; 98 (7): 487-492. doi: 10.1159/ 000505627. Epub 2020 Apr 28.

2. **Huszno J**, Fiszer-Kierzkowska A, Piękowski W, Mazur M. BRCA2 gene mutation, c.2808_2811delACAA (p.Ala938Profs), in male breast cancer – clinicopathological analysis based on a case report. *Przegląd Menopauzalny*. 2019;18 (4):227-229. doi: 10.5114/pm.2019.93120. Epub 2020 Jan 15.

B. Cykl publikacji niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego, a dotyczących analizy czynników molekularnych, klinicznych, histopatologicznych oraz wskaźników laboratoryjnych u chorych na raka piersi.

W kolejnym cyklu publikacji przeprowadzona została charakterystyka chorych na raka piersi z obecnością mutacji genów *TP53* lub *NOD2*. Ocenialiśmy zależność pomiędzy obecnością wyżej wymienionych mutacji, a czynnikami klinicznymi i histopatologicznymi. Dodatkowo podjęta została próba przeanalizowania wpływu mutacji o nieznanym znaczeniu (VUS) genów *BRCA1* oraz *BRCA2* na ryzyko zachorowania na raka piersi oraz charakterystyki klinicznej i histopatologicznej.

TP53 jest genem supresorowym uczestniczącym w regulacji punktów kontrolnych cyklu komórkowego, naprawę DNA i proces apoptozy. Mutacja genu *TP53* wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na nowotwory ze spektrum zespołu Li-Fraumeni (LFS), czyli mięsaki, kostniakomięsaki, ostre białaczki i inne nowotwory hematologiczne, glejaki i inne nowotwory układu nerwowego, raki kory nadnerczy, nowotwory skóry, raki piersi, raki przewodu pokarmowego (trzustki, jelita grubego, żołądka, wątroby). W publikacji pt: “*TP53 mutations and SNPs as prognostic and predictive factors in patients with breast cancer*” przeprowadziłam podsumowanie aktualnego stanu wiedzy na temat mutacji somatycznych i germlinalnych genu *TP53* oraz polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP), jako czynników prognostycznych i predykcyjnych u chorych na raka piersi. W powyższej publikacji zebrałam również aktualne wówczas wytyczne i rekomendacje dla chorych na raka piersi z potwierdzoną obecnością mutacji genu *TP53*.

W raku piersi częstotliwość mutacji genu *TP53* wynosi około 20% -30%. Chorzy z mutacją *TP53* mają 50% ryzyko rozwoju nowotworów (włączając w to raka piersi) poniżej 30 roku życia i zwiększone do 93% ryzyko rozwoju nowotworu w ciągu życia. Według piśmiennictwa, mutacje somatyczne genu *TP53* były częściej opisywane w nowotworach o wyższym stopniu zaawansowania lub w podtypach raka bardziej agresywnym przebiegu (takim jak potrójnie ujemny rak piersi lub rak z nadekspresją lub amplifikacją receptora HER2). W podtypie „potrójnie negatywnego” raka piersi częstość mutacji w genie *TP53* sięga

80%. Ponadto, szereg badań wskazuje na rolę mutacji genu *TP53*, jako czynnika predykcyjnego dla chemioterapii, hormonoterapii (w raku piersi) lub inhibitorów PARP (np. olaparybu w leczeniu raka jajnika). Oprócz mutacji genu *TP53* coraz więcej badań dotyczy polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP), czyli zmienności sekwencji DNA polegającej na zmianie pojedynczego nukleotydu. Liczba nowo odkrytych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) są systematycznie zwiększa się. Najczęściej badanym SNP (SNP72) jest odmiana G/C w drugim położeniu kodonu 72 w egzonie 4, co prowadzi do powstania wariantów białka Arg72 lub Pro72. Według piśmiennictwa genotyp Pro/Pro kodonu 72 *TP53* może być niezależnym czynnikiem prognostycznym dla pacjentów z rakiem piersi. Rekomendacje dotyczące oceny ryzyka, poradnictwa genetycznego, badań przesiewowych w kierunku raka piersi oraz procedur klinicznych u nosicielek mutacji genu *TP53* zostały przedstawione w wytycznych NCCN dotyczących dziedzicznego raka piersi i jajnika. Obecność mutacji genu *TP53* może mieć implikacje kliniczne, w tym wpływać na decyzje o wykonaniu mastektomii, czy też zastosowaniu radioterapii terapeutycznej. U chorych na raka piersi obecność mutacji genu *TP53* może stanowić niezależny czynnik gorszego rokowania. Rola mutacji *TP53* i SNP, jako czynników predykcyjnych dla powodzenia chemioterapii i radioterapii jest nadal przedmiotem badań [1].

W kolejnych pracach z cyklu: “*TP53 Gene Polymorphisms (C.[215G>C]) in Breast Cancer Patients and Predisposition to Family Cancers - Single Center Experience*” [2] oraz „*The comparison between TP53 gene polymorphisms (c.[215G>C]) homozygotes and heterozygotes in Breast Cancer Patients: A clinicopathological analysis*” [3], przedstawiono doświadczenia własne Ośrodka dotyczące polimorfizmu genu *TP53* (c.[215G>C]) u chorych na raka piersi.

Celem pierwszej pracy była ocena związku między polimorfizmami genu *TP53* (c.[215G>C]), a predyspozycją do występowania nowotworów w rodzinie. Przeprowadzono retrospektywną analizę dokumentacji medycznej 89 chorych na raka piersi, diagnozowanych i leczonych systemowo w Centrum Onkologii – Instytut im Marii Skłodowskiej Curie Oddział w Gliwicach. Diagnostyka genetyczna przeprowadzono w latach 2012-2016. Porównywałam homozygoty (CC) polimorfizmu germinacyjnego genu *TP53* (21%) z heterozygotami (GC) (79%) w odniesieniu do obecności chorób nowotworowych w wywiadzie rodzinnym. Choroby nowotworowe w rodzinie odnotowano u 72% chorych z polimorfizmem genu *TP53* i były raportowane niezamiennie częściej u heterozygot w porównaniu do homozygot genu *TP53* (75% vs. 58%, p=0.161). Najczęstszymi nowotworami w rodzinie w analizowanej

grupie to: rak piersi (33%), chłoniaki (17%), rak jelita grubego (9%), guzy OUN (8%), rak trzustki (7%), rak żołądka (6%), rak jajnika (6%), rak nerki (5%), rak kości (5%), rak płuc (4%) oraz rak wątroby (2%). Rak nerki wśród członków rodziny występował częściej w grupie homozygot *TP53* w porównaniu z grupą heterozygot (16% vs. 0, $p=0.03$). Podobne, obserwacje dotyczyły raka wątroby (5% vs. 1,5%, $p=0.391$). Natomiast, rak jelita grubego (13% vs. 0, $p=0.196$), jajnika (6% vs. 0, $p=0.572$), piersi (26% vs. 6%, $p=0.592$) oraz rak płuca nieznamiennie częściej raportowane były w grupie heterozygot genu *TP53*. Nie stwierdzono zależności pomiędzy występowaniem rakiem żołądka (5% vs. 6%, $p=1.00$), kości (5% vs. 4,5%, $p=1.00$), chłoniakami (16% vs. 16%, $p=1.00$), nowotworami OUN (6% vs. 5%, $p=1.00$) a polimorfizmem genu *TP53* (c.[215G>C]). Podsumowując, polimorfizm genu *TP53* mogą predysponować do rozwoju nowotworów nerek i wątroby (homozygoty genu *TP53*) oraz raka piersi, jajnika i jelita grubego (heterozygoty genu *TP53*) w rodzinie [2]. Dodatkowo w publikacji przeprowadzono wstępną charakterystykę polimorfizmów genu *TP53* pod względem czynników kliniczno – patologicznych. Chore będących homozygotą pod względem genu *TP53* charakteryzowały się podtypem zrazikowego, inwazyjnego raka piersi, przerzutami do węzłów chłonnych oraz wyższym wskaźnikiem indeksu mitotycznego Ki67 ($> 20\%$). Natomiast większy wymiar guza ($T > 2$), obecność nadekspresji receptora HER2 oraz cukrzyca w wywiadzie były najczęściej obserwowane u kobiet będących heterozygotami pod względem genu *TP53* [2].

Analiza czynników klinicznych i histopatologicznych kontynuowana była w kolejnej publikacji pt: *The comparison between TP53 gene polymorphisms (c.[215G>C]) homozygotes and heterozygotes in Breast Cancer Patients: A clinicopathological analysis*". Celem tej pracy było porównanie polimorfizmów genu *TP53* (c. [215G> C]) homozygot typu dzikiego GG z heterozygotami GC pod względem czynników kliniczno-patologicznych [3]. Negatywny status receptora estrogenowego (43% vs 21%, $p = 0,340$) oraz wyższy stopień histologiczny G3 (80% vs 33%, $p = 0,130$) były raportowane nieistotnie częściej u homozygot genu *TP53* w wieku poniżej 50 lat. Homozygoty i heterozygoty genu *TP53* różnią się od siebie pod względem czynników kliniczno-patologicznych, takich jak: typ histologiczny, przerzuty do węzłów chłonnych, wyższy wskaźnik indeksu mitotycznego Ki67 ($> 20\%$), stopień złośliwości histologicznej G3, status ER / PR, wielkość guza ($T > 2$), nadekspresja receptora HER2, choroby nowotworowe w rodzinie oraz chorób towarzyszących (cukrzyca). Nie stwierdzono różnicy w odniesieniu do mediany wieku (51 vs. 52 lat, $p=0.785$) oraz stanu menopauzalnego (37% vs. 38%, $p=1.00$) pomiędzy homozygotami i

heterozygotami genu *TP53*. Kolejnym etapem pracy była ocena polimorfizmu *TP53* (homozygota/heterozygota) w poszczególnych podtypach biologicznych raka piersi. W podgrupie młodszych chorych (<50 roku życia) podtyp luminalny B był obserwowany niezamiennie częściej w przypadku heterozygot (50% vs. 29%, $p=0.415$). W przeciwieństwie do tego podtyp TNBC był raportowany niezamiennie częściej w podgrupie homozygot *TP53* niż heterozygot (21% vs. 15%, $p=0.495$) [3].

Uwzględniając wyniki poprzednich badań zdecydowałam się na uzupełnienie cyklu publikacji o analizę chorych na raka piersi (kobiety z populacji śląskiej) z obecnością mutacji w genie *NOD2* wariant 3020insC pod względem czynników klinicznych i patomorfologicznych. Wyniki analizy pt *“The 3020insC allele of the NOD2 gene in breast cancer patients – a clinicopathological analysis”* przedstawione zostały w formie prezentacji posterowej i opublikowane w streszczeniu zjazdowym (czasopismo The Breast) na Kongresie - 15th St. Gallen International Breast Cancer Conference Primary Therapy of Early Breast Cancer, który miał miejsce w roku 2017 w Wiedniu oraz opublikowane w czasopiśmie International Journal of Research Studies in Medical and Health Sciences [4]. Gen *NOD2* został zidentyfikowany na chromosomie 16q12 przez Hugot i współautorów. Składa się z 12 egzonów i koduje cytoplazmatyczne białko zbudowane z 1040 aminokwasów. Białko *NOD2* jest zaangażowane w reakcję zapalną i aktywację czynnika jądrowego kappa-B ($\text{NF}\kappa\text{B}$). Mutacja genu *NOD2* wariant 3020insC zwiększa predyspozycję do rozwoju wielu typów nowotworów, np. raka piersi. W przypadku mutacji w genie *NOD2* 3020insC aktywacja czynnika $\text{NF}\kappa\text{B}$ jest silniejsza. Insercja cytozyny w egzonie 11 powoduje przesunięcie ramki odczytu i w konsekwencji podstawienie leucyny w pozycji 1007 (Leu1007fsinsC) w białku *NOD2*. Wyżej wymieniona mutacja powoduje wcześniejszą terminację syntezowanego białka, co prowadzi do skrócenia sekwencji białkowej o 33 aminokwasy. Zmutowany allel jest częściej obserwowany u kobiet z wczesnym rakiem piersi oraz u kobiet z przewodowym rakiem piersi in situ. Allel *NOD2* 3020insC jest względnie częsty (7,3%) w populacji polskiej. Przeanalizowałam dokumentację medyczną 27 chorych na raka piersi z potwierdzoną mutacją w genie *NOD2* wariant 3020insC. Wszystkie chore, podobnie jak w przypadku poprzednich badań, były diagnozowane i leczone w Centrum Onkologii – Instytut im Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach (obecnie NIO w Gliwicach). Status receptorów steroidowych, nadekspresja receptora HER2 oraz ocenę indeksu Ki67 określano za pomocą rutynowych technik immuno histochemicznych. Mutację w genie *NOD2* oceniano techniką PCR. Genomowy DNA wyodrębniono z leukocytów krwi obwodowej standardową metodą z

proteinazą K. Badania molekularne mutacji 3020insC przeprowadzono za pomocą testu PCR specyficznego dla allelu przy użyciu standardowego zestawu. Średni wiek nosicieli mutacji *NOD2* w chwili diagnostyki wynosił 46 lat (w przedziale 27-64 lata). 63% kobiet zostało zdiagnozowanych w wieku poniżej 50 lat, a 19% kobiet poniżej 35 roku życia. Żadna chora nie była w wieku >65 roku życia. U 16 (60%) nosicieli mutacji *NOD2* odnotowano obecność nowotworów w rodzinie, w tym raka piersi u 9 chorych (34%). Nowotwory przewodu pokarmowego (rak żołądka lub rak jelita grubego) w wywiadzie rodzinnym były raportowane u 6 chorych (22%). Choroby towarzyszące były obserwowane u 34% chorych, włączając w to choroby układu sercowo naczyniowego (19%), cukrzycę (4%), choroby zakaźne (4%) oraz niedoczynność tarczycy (11%). U większości nosicieli mutacji genu *NOD2* stwierdzono brak nadekspresji receptora HER2 (82%) oraz dodatni status receptorów steroidowych (ER+/PR+) (71%). Przerzuty w węzłach chłonnych obserwowano u 26% chorych. Większość nosicieli mutacji *NOD2* miało mniejszą wielkość guza (T1-T2) – 89%. Wyższy stopień złośliwości histopatologicznej G3 był wykryty u 19% chorych z mutacją *NOD2*. Podobnie jak w poprzednich badaniach oceniano rozkład mutacji *NOD2* wariant 3020insC w poszczególnych podtypach raka piersi. Potrójnie negatywny podtyp (TNBC) był opisany u 26% nosicieli mutacji. U większości chorych obserwowano luminalny podtyp raka piersi, w tym u 44% luminalny A, a u 16% luminalny B [4].

W publikacji pt: „*Clinicopathological characteristics of breast cancer patients with NOD2 mutation according to age*” przeprowadzono analizę czynników klinicznych i histopatologicznych w zależności od wieku (≥ 50 vs. < 50 lat) chorych z obecnością mutacji genu *NOD2* [5]. Celem niniejszej pracy była charakterystyka chorych na raka piersi z obecnością mutacji genu *NOD2* w wieku ≥ 50 lat pod względem czynników kliniczno-patologicznych oraz wywiadu rodzinnego. Pacjentki w wieku ≥ 50 lat porównano z grupą kontrolną oraz z nosicielami mutacji genu *NOD2* w wieku < 50 lat. Chore z obecnością mutacji genu *NOD2* w wieku ≥ 50 lat miały istotnie rzadziej wyższy stopień złośliwości histologicznej G3 ($p = 0,004$) i nadekspresję HER2 ($p = 0,043$) w porównaniu z chorymi z mutacją genu *NOD2* w wieku < 50 lat. Dodatni status receptora ER oraz brak nadekspresji receptora HER2 były obserwowane znamienne częściej u chorych na raka piersi z mutacją w genie *NOD2* w porównaniu do grupy kontrolnej bez mutacji, niezależnie od wieku. Podobnie, podtypy luminalny A lub luminalny B HER2-ujemny raka piersi. Nie obserwowano różnicy między nosicielami mutacji genu *NOD2*, a grupą kontrolną w odniesieniu podtypu histologicznego raka piersi. Wieloczynnikowa regresja logistyczna wykazała, że chore w

wieku ≥ 50 lat mają mniejsze ryzyko wystąpienia mutacji genu *NOD2* w porównaniu z młodszą grupą wiekową (OR = 0,61; p = 0,020) [5].

W następnej publikacji z cyklu pt. „*Comparison between NOD2 gene mutation carriers (3020insC) and non-carriers in breast cancer patients: a clinicopathological and survival analysis*” porównano chorych na raka piersi z obecnością mutacji genu *NOD2* 3020insC z grupą kontrolną bez mutacji pod kątem czynników kliniczno-patologicznych i czasu przeżycia. Chore w obu grupach były w podobnym przedziale wiekowym w momencie rozpoznania (46.0 vs. 45.5 lat) [6]. Dokonaliśmy przeglądu dokumentacji medycznej 72 pacjentek z wczesnym rakiem piersi, które były diagnozowane i leczone w COI w Gliwicach. Dwadzieścia osiem (39%) kobiet było nosicielkami mutacji genu *NOD2*, a 44 (61%) stanowiło grupę kontrolną bez mutacji. Nie stwierdzono różnic między obu grupami w odniesieniu do chorób współistniejących (35.7% vs. 29.5%; p = 0.612; OR = 1.32), wielkość guza (T) (89.3% vs. 86.4%, p = 1.00; OR = 0.76) oraz stanu receptorów steroidowych (ER: 28.6% vs. 29.5%, p = 1.00; OR = 1.05) (PR: 32.1% vs. 27.3%, p = 0.791; OR = 0.79). Chore z obecnością mutacji genu *NOD2* charakteryzowały się podtypem potrójnie ujemnego raka piersi (TNBC) (25% vs. 11,4%; p = 0,194), obecnością węzłów chłonnych bez przerzutów (N0) (71,4% vs. 43,2%, p = 0,029), brakiem nadekspresji receptora HER2 (82,1% vs. 63,6%, p = 0,115) oraz niższym stopniem histologicznej złośliwości (G1 + G2) (78,6% vs 63,6%, p = 0,202; OR = 0,48). W analizie wywiadu rodzinnego stwierdzono, że obecność mutacji *NOD2* wiąże się nieznamiennie ze zwiększonym ryzykiem raka piersi (35.7% vs. 20.5%, p = 0.178; OR = 2.16), nerek (3.6% vs. 0, p = 0.389) i jelita grubego (25% vs. 15.9%, p = 0.373, OR = 1.76). W przeprowadzonej analizie nie stwierdzono różnicy między nosicielami mutacji genu *NOD2* i osobami bez mutacji pod względem czasu przeżycia całkowitego (5-letnie OS: 96% vs. 93%, p = 0,427) [6].

W artykule pt. „*BRCA1/BRCA2 variants of uncertain significance in clinical practice: A case report*” przedstawione zostały opisy przypadków chorych na raka piersi z wykrytymi mutacjami o nieznanym znaczeniu (VUS) genu *BRCA1* c.3454G>A (p.Asp1152Asn) oraz genu *BRCA2* c.2374T>C (p.Tyr792His). Wykonano sekwencjonowanie kompletne sekwencji kodującej genów *BRCA1* oraz *BRCA2* wraz z przylegającymi sekwencjami intronowymi. Obecność c.3454G>A (p.Asp1152Asn) VUS w genie *BRCA1* stwierdzono u 64-letniej kobiety z podtypem luminalnym A raka piersi (ER+++, PR+++, HER2+, G2). U pacjentki zdiagnozowano obustronny raka piersi oraz raka trzonu macicy. Wywiad rodzinny bez obciążeń chorobami nowoworowymi. U drugiej chorej lat 33 rozpoznano podtyp luminalny B

raka piersi (G-2, ER +++, PR +++, Ki-67 10%, HER2 +++). Wywiad rodzinny obciążony występowaniem chorób nowotworowych (rak płuc, rak nadnerczy). Dodatkowo u chorej rozpoznano współwystępowanie mutacji genu *CHEK2*. W publikacji przeprowadzono charakterystykę kliniczną oraz histologiczną u chorych na raka piersi z rozpoznanymi zmianami typu VUS. Na podstawie aktualnych wytycznych obecność zmiany VUS nie może być podstawą decyzji terapeutycznych, ponieważ na podstawie dostępnych informacji nie można jednoznacznie określić wpływu obecności takich wariantów na ryzyko wystąpienia raka. Klasyfikacja wariantu może ulec w przyszłości zmianie na podstawie nowych danych medycznych i naukowych. Postępowanie u chorych na nowotwory z obecnością zmiany VUS powinno uwzględniać wywiad rodzinny chorych oraz cechy kliniczne i patomorfologiczne guza [7].

1. **Huszno J**, Grzybowska E. TP53 mutations and SNPs as prognostic and predictive factors in patients with breast cancer. *Oncol Lett*. 2018 Jul;16(1):34-40. doi: 10.3892/ol.2018.8627. Epub 2018 May 3.
2. **Huszno J**, Kolosza Zofia, Nowara Elżbieta. TP53 Gene Polymorphisms (C.[215G>C]) in Breast Cancer Patients and Predisposition to Family Cancers -Single Center Experience. *International Journal of Research Studies in Medical and Health Sciences* Volume 2, Issue 5, 2017, PP 17-22.
3. **Huszno J**, Grzybowska E, Nycz Bochenek M, Kołosza Z, Tęcza K, Pamuła Piłat J, Mazur M, Nowara E. The comparison between TP53 gene polymorphisms (c.[215G>C]) homozygotes and heterozygotes in Breast Cancer Patients: A clinicopathological analysis. *International Journal of Cancer Therapy and Oncology*. Volume 5 • Number 1 • 2017; 1-6.
4. **Huszno J**, Grzybowska E, Kołosza Z, Tęcza K, Pamuła-Piłat J, Mazur M, Nowara E. *The 3020insC allele of the NOD2 gene in breast cancer patients – a clinicopathological analysis*. **International Journal of Research Studies in Medical and Health Sciences**, Sryahwa Publications, vol. 2, nr 6, 2017, ss. 3-7.
5. **Huszno J**, Kolosza Z, Nycz-Bochenek M, Lisik M, Mazur M, Pamuła-Piłat J, Grzybowska E. Clinicopathological characteristics of breast cancer patients with *NOD2* mutation according to age. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2020;24(2):79-86. doi: 10.5114/wo.2020.97475. Epub 2020 Jul 3.
6. **Huszno J**, Kołosza Z, Tęcza K, Pamuła-Piłat J, Mazur M, Grzybowska E. Comparison between *NOD2* gene mutation carriers (3020insC) and non-carriers in breast cancer patients: a clinicopathological and survival analysis. *Arch Med Sci Civil Dis* 2018; 3: e10–e15.
7. Huszno J, Piękowski W, Mazur M, Pamuła –Piłat J, Zajkiewicz A, Fiszer-Kierzkowska A, Oczko-Wojciechowska M. *BRCA1/BRCA2* variants of uncertain significance in clinical practice: A case report. *MOLECULAR AND CLINICAL ONCOLOGY* 15: 222, 2021.

C. Cykl publikacji poświęcony roli polimorfizmów genowych w terapii przeciwnowotworowej (inhibitory kinazy tyrozynowej oraz przeciwciała ukierunkowane na cele molekularne) oraz roli farmakogenetyki i farmakokinetyki w leczeniu systemowym nowotworów.

W ostatnich latach nastąpił intensywny rozwój farmakogenetyki — dziedziny nauki, której celem jest wyselekcjonowanie na podstawie badań genetycznych chorych, którzy uzyskają największe korzyści terapeutyczne z zastosowanego leczenia, bez wystąpienia silnych reakcji niepożądanych. Praca stanowi podsumowanie przeglądu badań na temat farmakogenetyki i farmakokinetyki w leczeniu chorych na raka piersi. Skupiono się na badaniach polimorfizmów genowych dotyczących białek transportujących oraz polimorfizmów wpływających na metabolizm leków przeciwnowotworowych stosowanych w terapii chorych na raka piersi (inhibitory mitoz, alkaloidy barwinka różowego, cytostatyki alkilujące, antymetabolity, antracykliny, związki platyny). Przeglądu dokonano na podstawie piśmiennictwa dostępnego w bazie PubMed i ScienceDirect. Omówiono wpływ zidentyfikowanych polimorfizmów na rozwój reakcji toksycznych zdrowych tkanek oraz odpowiedzi guza na leczenie. Dotychczas żadne z omawianych badań nie umożliwiło zidentyfikowania polimorfizmów jednoznacznie przydatnych w praktyce klinicznej.

1. **Huszno J**, Nowara E. Farmakokinetyka i farmakogenetyka w systemowym leczeniu chorych na raka piersi. *Onkologia w Praktyce Klinicznej*. 2010; 6 (4); 159–170.
2. **Huszno J**, Nowara E, Suwiński R. Znaczenie polimorfizmów genowych w chemioterapii nowotworów. *NOWOTWORY Journal of Oncology*. 2011; 61; 2; 141–149.
3. **Huszno J**, Nowara E, Suwiński R. Rola polimorfizmów genowych w terapii celowanej molekularnie – inhibitory kinazy tyrozynowej. *Onkol. Pol.* 2012; 15 (3): 111-115.
4. **Huszno J**, Nowara E, Suwiński R. Rola polimorfizmów genowych w terapii przeciwnowotworowej ukierunkowanej na cele molekularne – przeciwciała monoklinalne. *Onkol. Pol.* 2011; 14 (3); 157-162.

D. Cykl prac poświęcony ocenie powikłań leczenia systemowego nowotworów, zwłaszcza leczenia ukierunkowanego molekularnie.

Powikłania leczenia systemowego nowotworów, zarówno chemioterapii, jak i leczenia ukierunkowanego molekularnie obserwowane są u dużej części chorych i mogą znacznie pogorszyć jakość życia. Jednym z raportowanych powikłań są zmiany skórne w postaci zespołu ręka – stopa (palmar-plantar erythrodysesthesia, PPE) w przebiegu leczenia raka jajnika z zastosowaniem pegylowanej liposomalnej doksorubicyny (antracykliny zamkniętej

w strukturze liposomu). Objawy PPE to bolesny rumień oraz oddzielanie się naskórka na wewnętrznej powierzchni dłoni i podeszwach stóp oraz, rzadziej zapalenie błony śluzowej jamy ustnej, pochwy. Jeszcze rzadziej rumień jest obecny na skórze całego ciała. W retrospektywnej analizie pt „*Skin toxicity after palliative chemotherapy containing pegylated liposomal doxorubicin for ovarian cancer patients*” poszukiwaliśmy czynników predysponujących do rozwoju zespołu ręka – stopa u 61 chorych. PPE zaobserwowano u 36%. Ryzyko PPE wzrastało wraz z liczbą podanych cykli leczenia. Innym czynnikiem ryzyka tego powikłania była anemia. Wiech chorych, stan menopauzalny oraz stan sprawności chorych nie wpływały na częstość powikłań skórnych. Nasza publikacja nie potwierdziła znaczenia PPE, jako czynnika prognostycznego lub predykcyjnego. Zwróciliśmy natomiast uwagę na duże znaczenie prawidłowej profilaktyki w celu przeciwdziałania rozwojowi PPE oraz na konieczność współpracy ze specjalistami z dziedziny dermatologii w celu łagodzenia i prawidłowego leczenia PPE [1].

Powikłania skórne obserwowane są również często podczas leczenia czerniaka z zastosowaniem inhibitorów BRAF (Wemurafenib). Zmiany skórne w przebiegu leczenia wemurafenibem dzieli się na: wczesne (świąd, suchość skóry, nadwrażliwość na światło słoneczne, rumień, zapalenie tkanki podskórnej, osutka skórna, łysienie, zmiana struktury włosa, zapalenie mieszków włosowych, rogowacenie mieszkowe, nadmierne rogowacenie, erytrodstezja dłoniowo-podeszwowa, zmiany zapalne), późne (brodawki zwykłe, rogowacenie słoneczne, raki skóry–podstawnokomórkowy, płaskonabłonkowy, rogowiaki kolczysto -komórkowe oraz rogi skórne) oraz reakcje nadwrażliwości w trakcie terapii wemurafenibem. Mogą pojawić się również liczne znamiona melanocytowe oraz nowe pierwotne ogniska czerniaka. W przeprowadzonej analizie ocenialiśmy profil bezpieczeństwa wemurafenibu oraz powikłania skórne, ze szczególnym uwzględnieniem raka skóry, w grupie chorych leczonych z powodu zaawansowanego czerniaka. Podczas leczenia wemurafenibem toksyczność skórna rozwinęła się u wszystkich chorych (5 kobiet oraz 8 mężczyzn).

Najczęściej obserwowana była rozproszona hyperkeratotyczna wysypka obwodowa (69%), nadwrażliwość na światło (15%) oraz rogowiak kolczystokomórkowy (keratoacanthoma). Rak kolczystokomórkowy skóry (SCC) rozwinął się u 38% chorych i wymagał leczenia operacyjnego. Rak skóry występował częściej u kobiet niż u mężczyzn (60% vs. 25%), $p = 0.249$, a także u chorych z prawidłową wagą (55% vs. 0%), $p = 0.09$. Zaobserwowaliśmy nieznamiennie wydłużenie czasu przeżycia całkowitego (OS) u chorych z SCC (11.8 vs. 9.4 miesięcy), $p = 0.4$. Mediana OS wynosiła 26 miesięcy, a mediana czasu OS od

zdiagnozowania przerzutów odległych wynosiła 9.8 miesiąca. Właściwe leczenie dermatologiczne (miejscowe i ogólnoustrojowe) pozwoliło na kontynuację leczenia wemurafenibem poprzez znaczne zmniejszenie powikłań skórnych [2].

Kolejnym istotnym powikłaniem leczenia systemowego jest kardiotoxyczność związana z przeciwciałem monoklonalnym - Trastuzumabem stosowanym w leczeniu raka piersi. Kardiotoxyczność może manifestować się, jako objawowa niewydolność serca z obniżeniem frakcji wyrzutowej lewej komory (LVEF) lub bezobjawowe obniżenie LVEF. Częstość występowania dysfunkcji mięśnia sercowego w przebiegu monoterapii trastuzumabem wynosi 4%-7%, w tym 3% w stopniu toksyczności 3 lub 4 według CTCAE. Celem publikacji była ocena częstości występowania kardiotoxyczności w analizowanej grupie oraz próba wyodrębnienia czynników ryzyka tego powikłania podczas leczenia trastuzumabem. Obniżenie LVEF obserwowano u 39% chorych. W większości przypadków było to bezobjawowe obniżenie LVEF do 10% wartości wyjściowej. Objawowe obniżenie LVEF o więcej niż 15% wystąpiło u 5 chorych (4%). W analizowanej grupie chorych, czynnikami ryzyka wystąpienia powikłań kardiologicznych były: wcześniejsza radioterapia na lewą stronę klatki piersiowej ($p = 0.05$), wyższym BMI, niższa wyjściowa LVEF ($p < 0.001$) oraz ujemny status receptorów steroidowych ($p=0.045$). Wcześniejsze leczenie z zastosowaniem antracyklin nieznacznie zwiększało ryzyko powikłań kardiologicznych ($p=0.08$). Radioterapia stanowiła istotny czynnik ryzyka w szczególności u osób starszych ($p = 0.0003$). Czynniki takie jak: cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, stan menopauzalny, używki, wiek chorych czy stopień zaawansowania choroby nie wpływały na częstość występowania kardiotoxyczności. Nie stwierdzono różnicy pomiędzy grupą chorych leczonych adjuwantowo a otrzymujących trastuzumab w związku z rozsiewem choroby [3]. Uzyskane wyniki stanowiły podstawę do kontynuacji badania nad kardiotoxycznością Trastuzumabu. W następnej pracy ocenialiśmy wpływ statusu receptorów steroidowych (estrogenowych i progesteronowych) na kardiotoxyczność trastuzumabu. Zaobserwowano predyspozycje do wystąpienia powikłań kardiologicznych (13% vs. 5%) u chorych z ujemnym stanem receptora steroidowego ($p = 0,08$). Rola innych czynników, takich jak: starszy wiek ($p = 0.009$), wcześniejsza radioterapia na okolicę lewej strony klatki piersiowej ($p = 0.02$) oraz chemioterapia zawierająca antracykliny ($p = 0.01$) została potwierdzona [4].

Kolejnym, często występującym powikłaniem leczenia systemowego nowotworów są nudności i wymioty. Podstawą zapobiegania tego typu powikłaniom jest odpowiednia profilaktyka prowadzona z uwzględnieniem rekomendacji takich jak: wytyczne postępowania

diagnostyczno terapeutycznego PTOK (Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej), rekomendacje ASCO (American Society of Clinical Oncology), ESMO (the European Society of Oncology), czy MASCC, (the Multinacional Association of Supportive Care in Cancer). Niespójność pomiędzy rekomendacjami, a praktyką kliniczną w odniesieniu do profilaktyki indukowanych chemioterapią NiW była tematem wielośrodkowego, międzynarodowego, prospektywnego badania klinicznego NERO. Celem pracy była ocena całkowitej odpowiedzi (CR) (brak NiW lub brak konieczności stosowania dodatkowych leków przeciwwymiotnych) u chorych, którzy w dniach 1-5 po wysoko lub średnio emetogenicnej chemioterapii otrzymywali profilaktykę przeciwwymiotną. Do badania włączono 1,089 chorych. Leczenie zgodne z rekomendacjami zastosowano u 23% chorych. Wyższy odsetek CR obserwowano u chorych otrzymujących profilaktykę zgodnie z rekomendacjami w porównaniu do pacjentów leczonych w sposób niespójny z wytycznymi (62.2% vs. 52.6%, $p < 0.05$). Różnice pod tym względem obserwowano również w odniesieniu do schematów leczenia AC/non-AC o wysokim potencjale emetogenności (HEC) (60.2% vs. 47.8%), oraz o średnim ryzyku emetogenności (MEC) (73.8% vs. 57.8%). Różnice odnotowano również w odniesieniu do chorych otrzymujących wcześniej chemioterapię oraz chorych, którzy wcześniej nie otrzymywali takiego leczenia (65.9% vs. 53.8%). Powyższe wyniki wskazują na potrzebę modyfikacji rekomendacji [5].

1. Nowara E, **Huszno J**. Skin toxicity after palliative chemotherapy containing pegylated liposomal doxorubicin for ovarian cancer patients. *Ann Palliat Med*. 2013; 2(2): 71-5. doi: 10.3978/j.issn.2224-5820.2013.02.02.
2. Nowara E, **Huszno J**, Słomian G, Nieckula J. Skin toxicity in BRAF(V600) mutated metastatic cutaneous melanoma patients treated with vemurafenib. *Postep Derm Alergol* 2016; 33(1): 52–56.
3. **Huszno J**, Leś D, Sarzyczny-Słota D, Nowara E. Cardiac side effects of trastuzumab in breast cancer patients - single center experiences. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2013; 17(2): 190-5. doi: 10.5114/wo.2013.34624. Epub 2013 Apr 29.
4. **Huszno J**, Badora A, Nowara E. The influence of steroid receptor status on the cardiotoxicity risk in HER2-positive breast cancer patients receiving trastuzumab. *Arch Med Sci*. 2015 Apr 25;11(2):371-7. doi: 10.5114/aoms.2015.50969. Epub 2015 Apr 23.
5. Aapro M, Caprariu Z, Chilingirov P, Chrápavá M, Curca R, Gales L, Grigorescu AC, **Huszno J**, Karlínová B, Kellnerová R, Malejčiková M, Marincak M, Petrul E, Pluzanski A, Pokorná P, Pribulova Z, Rubach M, Steger GG, Walaszewska-Czyz A. Assessing the impact of antiemetic guideline compliance on prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting: Results of the nausea/emesis registry in oncology (NERO). *European Journal of Cancer*. Volume 166, May 2022, Pages 126-133.

E. Zbiór prac dotyczący diagnostyki, leczenia oraz czynników klinicznych i patomorfologicznych w nowotworach przewodu pokarmowego – rak żołądka.

Rak żołądka (GC) jest jednym z najczęstszych typów raka. Większość nowotworów żołądka (90-95%) to gruczolakoraki. Inne typy obejmują chłoniaki (2/3) i mięsaki (1/4). Chorzy, u których operacja nie jest możliwa ze względu na zaawansowanie raka, zwykle wymagają leczenia paliatywnego w postaci chemioterapii. Najczęściej stosowanymi cytostatykami są cisplatyna (DDP) i 5-fluorouracyl (5FU) w różnych schematach. Celem publikacji było podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat leczenia systemowego ze szczególnym uwzględnieniem terapii celowanej i personalizacji w medycynie. Poszerzenie wiedzy na temat biologii raka żołądka umożliwia indywidualizowanie leczenia chorych. Przykładem jest dołączenie przeciwciała monoklonalnego – trastuzumabu do chemioterapii w przypadku obecności nadekspresji receptora HER2. Niektórzy autorzy twierdzą, że u chorych z przerzutami do otrzewnej nie należy leczyć irynotekanu ze względu na podwyższone ryzyko niedrożności przewodu pokarmowego. U chorych rasy kaukaskiej S-1 (tegafur, gimeracil, oteracil) jest bardziej toksyczny i mniej skuteczny niż w populacji azjatyckiej. Podczas leczenia chorych z rozsianą chorobą nowotworową należy zawsze pamiętać o gorszym rokowaniu. Chorzy w stopniu sprawności ZUBROD<2, w zależności od chorób towarzyszących oraz możliwości terapeutycznych ośrodka prowadzącego terapię powinni otrzymać leczenie systemowe, leczenie wspomagające lub być włączanymi do badań klinicznych. Takie postępowanie stanowi podstawę indywidualizacji leczenia w raku żołądka [1].

Rak żołądka charakteryzuje się różnym stopniem wydzielania śluzu. Rak śluzotwórczy (MUC) jest histologicznym podtypem o gorszym rokowaniu. Celem publikacji pt „*Mucin secretion activity of gastric cancer as a prognostic factor: a clinicopathological analysis*” było porównanie raka śluzotwórczy (MUC) (34 (48.6%)) z rakiem żołądka nieprodukującym śluzu (NMUC) (36 (51.4%)). Analiza przeprowadzona na grupie 70 chorych z potwierdzonym w badaniu histopatologicznym rakiem żołądka wykazała, że sam podtyp histologiczny MUC nie jest negatywnym czynnikiem rokowniczym. Gorsze rokowanie wynikało z wyższego stopnia zaawansowania choroby, zwłaszcza z obecnością zmian przerzutowych. Zaobserwowaliśmy zależność pomiędzy typem raka MUC a płcią (kobiety) ($p = 0.017$) oraz typem rozlanym raka. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy dwoma grupami raka żołądka w zależności od wieku, lokalizacji guza, wielkości guza lub stadium

choroby. W grupie raka NMUC częstość występowania przerzutów do wątroby była istotnie większa ($p=0,001$). Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami raka MUC i NMUC w odniesieniu do lokalizacji przerzutów w obrębie węzłów chłonnych i przestrzeni zaotrzewnowej. Odpowiedź na leczenie (CR + PR) była taka sama w obu grupach (11% NMUC, 11% MUC). Rozsiew choroby był obserwowany w krótszym czasie (do 6 miesięcy) w grupie chorych z rakiem żołądka NMUC w porównaniu do raka śluzotwórczego (22% vs. 13%). Wskaźnik przeżycia całkowitego (OS) oraz przeżycia wolnego od progresji (PFS) u chorych z typem MUC był niższy w porównaniu do typu NMUC [2].

Kolejna publikacja dotyczyła nowotworów podścieliskowych przewodu pokarmowego GIST (gastrointestinal stromal tumors), rzadko występujących guzów, które stanowią 0,1–3% wszystkich raków przewodu pokarmowego. Guzy GIST najczęściej umiejscawiają się w żołądku (60%), następnie w jelicie cienkim (30%), odbytnicy i przełyku. Celem pracy była analiza częstości występowania innych nowotworów u chorych leczonych z powodu GIST. Dodatkowo porównano pod względem czynników klinicznych oraz histopatologicznych grupę chorych na GIST z innymi nowotworami z grupą chorych tylko na nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego. U około 27% (22 z 82) chorych z badanej populacji, GIST występowały razem z innymi nowotworami. Najczęstszymi towarzyszącymi nowotworami były rak jelita grubego (dziewięć przypadków) i gruczolakorak żołądka (cztery przypadki), a także gruczolakorak trzustki (trzy przypadki). Obserwowano tendencję do częstszej lokalizacji GIST w jelicie cienkim u chorych z współwystępowaniem innych nowotworów w porównaniu do chorych z samym rozpoznaniem GIST ($p < 0.09$). Podobnie, zmiany o niskim stopniu agresywności również częściej raportowano u chorych na GIST z towarzyszącymi innymi nowotworami ($p < 0.05$). Nie stwierdzono różnic fenotypowych w komórkach GIST pomiędzy dwiema grupami [3].

1. Nowara E, Boratyn-Nowicka A, Polakiewicz-Gilowska A, Drosik A, Kustra M, **Huszno J**. Chemotherapy for gastric cancer patients - time for personalization in medicine? *Contemp Oncol (Pozn)*. 2012; 16(1): 86-9. doi: 10.5114/wo.2012.27342. Epub 2012 Feb 29.
2. **Huszno J**, Mrochen-Domin I, Zembala-Nożyńska E, Tukiendorf A, Lange D, Nowara E. Mucin secretion activity of gastric cancer as a prognostic factor: a clinicopathological analysis. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2012; 16(2): 159-64. doi: 10.5114/wo.2012.28796. Epub 2012 May 29.
3. Liszka Ł, Zielińska-Pajak E, Pajak J, Gołka D, **Huszno J**. Coexistence of gastrointestinal stromal tumors with other neoplasms. *J Gastroenterol*. 2007; 42(8): 641-9.

F. Cykl publikacji poświęcony diagnostyce, leczenia oraz czynników klinicznych, patomorfologicznych, molekularnych oraz laboratoryjnych w raku nerki.

Guz Wilmsa (nephroblastoma, WT) jest jednym z najczęstszych nowotworów złośliwych u dzieci. W literaturze opisano pojedyncze przypadki nephroblastoma (około 3% opisanych przypadków) u dorosłych. Przedoperacyjna diagnostyka guza Wilmsa u chorych dorosłych jest trudna z powodu braku specyficznych cech w badaniach obrazowych. W obrazie histopatologicznym nie ma różnicy w nephroblastoma u dzieci i dorosłych. Na podstawie bazy PubMed dokonano przeglądu literatury dotyczącej nephroblastoma u dorosłych w odniesieniu do cech klinicznych, histopatologicznych, strategii leczenia, powikłań terapii oraz czynników prognostycznych. Radykalna nefrektomia (usunięcie guza z nerką, nadnerczem oraz węzłami chłonnymi po stronie guza) jest leczeniem z wyboru w przypadku jednostronnego guza Wilmsa. Częściowa resekcja nerek (leczenie oszczędzające nerki) jest dozwolona tylko w dokładnie określonych przypadkach, takich jak wady rozwojowe drugiej nerki, choroby genetyczne z wysokim ryzykiem nephroblastoma oraz u chorych z jedną nerką. Najskuteczniejszymi chemioterapeutykami w leczeniu guza Wilmsa są: aktynomycyna D (ACT), winkrystyna (VCR), doksorubicyna (ADM), cyklofosfamid (ctx), ifosfamid (IFO), etopozyd i karboplatyna (zarówno w monoterapii, jak i w schematach wielolekowych). Nefroblastoma jest rakiem wrażliwym na radioterapię. Obecnie, radioterapia ma zastosowanie w bardziej zaawansowanej chorobie (stopień III, IV i V) oraz w niektórych wcześniejszych stadiach z niekorzystnym typem histologicznym. Ze względu na fakt, że nefroblastoma jest bardzo rzadkim typem raka, dorośli pacjenci powinni być leczeni w indywidualny sposób w oparciu o dostępne schematy stosowane u dzieci. Toksyczność leczenia u dorosłych jest wyższa niż u dzieci. Wysokie ryzyko powikłań hematologicznych i niehematologicznych w stopniu 3 lub 4 może prowadzić do redukcji dawki cytostatyków w odniesieniu do zalecanych dawek w protokołach pediatrycznych. Nefroblastoma (guz Wilmsa) u dorosłych jest najczęściej rozpoznawany w stadium IV, dlatego rokowanie w tej grupie chorych pozostaje mniej korzystna [1, 2].

Kolejne publikacje to cykl prac dotyczących skuteczności oraz powikłań ukierunkowanego molekularnie leczenia systemowego raka nerki. Systemowe leczenie raka nerki w postaci terapii celowanej molekularnie oraz immunoterapii stosuje się u chorych z chorobą miejscowo zaawansowaną, którzy nie mogą mieć wykonanej radykalnej operacji oraz w rozsiały procesie nowotworowym. Terapia celowana raka nerki obejmuje 4 grupy leków: inhibitory receptorowych kinaz tyrozynowych (sunitynib, sorafenib, pazopanib, aksytynib,

kabozantynib), inhibitory kinazy serynowo-treoninowej mTOR (temsyrolimus, ewerolimus), przeciwciała monoklonalne anti-VEGF (bewacyzumab) i przeciwciała monoklonalne o aktywności anti-PD/PD-L1 (niwolumab). W publikacji dotyczącej leczenia ukierunkowanego molekularnie w raku nerki przedstawiłam własne obserwacje dotyczące zastosowania sunitynibu w monoterapii u chorych na zaawansowanego raka nerki (mRCC - metastatic renal cell carcinoma). Analiza obejmowała 40 chorych na jasnokomórkowego raka nerki z przerzutami, którzy otrzymywali sunitynib w dawce 50 mg doustnie, codziennie przez 4 tygodnie z dwutygodniową przerwą. Oceniano odpowiedź na leczenie oraz powikłania terapii. Dodatkowo analizowano zależności między czynnikami, takimi jak: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, obciążenia kardiologiczne, lokalizacja zmian przerzutowych i powikłań a czasami przeżycia. Zastosowanie sunitynibu w pierwszej linii leczenia obciążone było niewielkim odsetkiem powikłań w 3-4 stopniu toksyczności i dotyczyły nudności (3%) oraz anemii (3%). Częściową regresję uzyskano u 8% chorych a u 52% - stagnację. Całkowita remisja zmian przerzutowych została opisana w przypadku mnogiego rozsiewu raka jasnokomórkowego nerki do płuc. Lokalizacja przerzutów w wątrobie ($p=0,08$) i węzłach chłonnych ($p=0,009$) oraz nadciśnienie tętnicze ($p=0,08$) rozpoznane przed leczeniem związane było z większym ryzykiem zgonu [3, 4].

W kolejnej publikacji ocenialiśmy skuteczności i profil toksyczności ewerolimus w leczeniu II rzutu w mRCC. Ewerolimus jest selektywnym inhibitorem mTOR, który został zarejestrowany w terapii zaawansowanego raka nerkowo -komórkowego. Analizie poddano 33 chorych na zaawansowanego raka nerki, którzy w latach 2010 – 2016 otrzymywali ewerolimus w II linii leczenia w związku z progresją na interferonie lub inhibitorach kinazy tyrozynowej (sunitynib lub pazopanib). Klinikznymi i patologicznymi czynnikami związanymi z progresją choroby w trakcie leczenia ewerolimusem były: nikotynizm i nadużycie alkoholu ($p = 0,029$), wyższy stopień histopatologicznej złośliwości według Fuhrmana ($p = 0,166$), obecność martwicy guza ($p = 0,383$), naciekanie tkanki tłuszczowej ($p = 0,040$), obecność przerzutów w węzłach chłonnych ($p = 0,193$) oraz nadnerczach ($p=0,067$). Toksyczność leku w 3–4 stopniu obserwowano u 9 (27%) chorych i była obserwowana częściej wśród pacjentów z niższym stopniem sprawności ($p = 0,333$), bardziej zaawansowaną chorobą w momencie diagnozy (przerzuty w węzłach chłonnych, $p = 0,05$) oraz wyższy stopień złośliwości histologicznej według Fuhrmana ($p = 0,04$). Mediana czasu leczenia ewerolimusem wynosiła 4 miesiące (w przedziale od 1 do 58 miesięcy). Mediana czasu wolnego od progresji choroby (PFS) wynosiła 4 miesiące, a czasu przeżycia

całkowitego (OS) 11 miesięcy. Profil toksyczności i skuteczność ewerolimusu w naszej grupie pacjentów były spójne z wynikami innych badań klinicznych oraz z doświadczeniami wieloośrodkowymi [5].

Następna praca z cyklu publikacji pt: „*Checkpoint Kinase 2 (CHEK2) Mutation in Renal Cell Carcinoma: A Single-Center Experience*” dotyczy oceny roli mutacji I157T i *CHEK2* * 1100delC genu *CHEK2* w ccRCC. Przeprowadzono retrospektywną analizę dokumentacji medycznej 40 pacjentów z rozpoznaniem jasnokomórkowego raka nerki (RCC), u których wykonano badania genetyczne i konsultacje w Poradni Genetycznej Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie i Instytucie Onkologii, Oddział w Gliwicach. Celem pracy była ocena mutacji I157T i *CHEK2* * 1100delC genu kinazy punktu kontrolnego 2 (*CHEK2*) w RCC. Analizowano czynniki takich jak: wielkość guza, stopień złośliwości histologicznej, naciek nadnerczy, inwazja naczyń krwionośnych oraz naciek torebki. Oceniano również występowanie wtórnych nowotworów oraz wywiad rodzinny obciążony chorobami nowotworowymi. Tylko u trzech chorych wykryto mutację genu *CHEK2* (I157T) typu „missense” i wszyscy byli kobietami. Mutacji skracającej białko *CHEK2* * 1100delC nie zaobserwowano u żadnego z chorych. U kobiet z obecnością mutacji typu „missense” stwierdzono następujące cechy: węzły chłonne bez przerzutów (N0), wyższy stopień złośliwości histologicznej (G3) (n=2), naciek torebki nerkowej (n=1), brak inwazji naczyń krwionośnych oraz brak przerzutów choroby. Ze względu na małą grupę chorych w powyższej publikacji nie udało się wykazać istotnie statystycznie różnic pod względem powyższych czynników pomiędzy chorymi RCC z i bez mutacji genu *CHEK2*. U dwóch pacjentów z mutacją genu *CHEK2* zdiagnozowano drugi nowotwór wiele lat po pierwszym rozpoznaniu - rak piersi 15 lat po nefrektomii i rak nerki 2 lata po nefrektomii oraz oponiak 9 lat po nefrektomii. Nasze wyniki nie wykazały zależności między mutacją genu *CHEK2*, a wywiadem rodzinnym obciążonym chorobami nowotworowymi. Wskazane jest przeprowadzenie badań na większej grupie chorych [6].

Kontynuacja analizy czynników prognostycznych w raku nerki (RCC) przeprowadzona została w publikacji pt: “*The Role of Neutrophil-Lymphocyte Ratio, Platelet-Lymphocyte Ratio, and Platelets in the Prognosis of Metastatic Renal Cell Carcinoma*”. Celem pracy była ocena znaczenia współczynników neutrofilowo-limfocytarnego (NLR), płytkowo-limfocytarnego (PLR) oraz monocytowo-limfocytarnego (MLR), jako czynników prognostycznych u chorych z przerzutowym rakiem nerkowokomórkowym (mRCC). Dokonałmy retrospektywnego przeglądu dokumentacji medycznej 141 chorych z mRCC

(2006–2016). Wartość wskaźnika NLR była określona, jako „podwyższona” > 3.68 , a wartość PLR, jako „podwyższona” > 144.4 . Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji choroby (PFS) i czasu przeżycia całkowitego (OS) była krótsza w przypadku podwyższonych wartości wskaźników NLR i PLR. Podwyższona wartość neutrofili również była związana z gorszym czasem OS i PFS. W analizie wieloczynnikowej wyższe NLR ($p = 0.007$) i PLR ($p = 0.006$) były niezależnymi czynnikami prognostycznymi dla krótszego OS wraz z czynnikami takimi jak: BMI ≤ 30 ($p = 0.004$), wyższym stopniem Fuhrmana ($p = 0.0002$), niższym poziomem hemoglobiny ($p = 0.010$) i ZUBROD 2 ($p = 0.0002$). Wyższy poziom wskaźnika PLR ($p = 0.0002$) był niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym dla PFS wraz z wyższym stopniem Fuhrmana ($p = 0.001$), wyższą wartością neutrofili ($p = 0.001$) i niższą wartością limfocytów ($p = 0.013$). Podsumowując, podwyższona wartość wskaźników NLR, PLR oraz wyższa wartość PLT i neutrofili ocenianych przed rozpoczęciem leczenia korelowały z krótszym czasem OS i PFS u chorych z rozpoznaniem mRCC. W naszej analizie NLR i PLR były niezależnymi czynnikami prognostycznymi dla OS. Natomiast, PLR i liczba neutrofili były niezależnymi czynnikami prognostycznymi dla PFS.

Dodatkowo przeprowadzono analizę czynników klinicznych i histopatologicznych w korelacji z wskaźnikami NLR, PLR, MLR i PLT. U chorych z NLR > 3.68 obserwowano istotnie częściej niższy poziom hemoglobiny (dla kobiet < 11.0 g / dl; dla mężczyzn < 13 g / dl) (54,8% vs 23,6%, $p = 0.001$). Podobnie, wyższy NLR korelował z obecnością podwyższonego wskaźnika PLR (> 144.4) (96,8% vs 47,3%, $p = 0.0001$) oraz małopłytkowością ($PLT \leq 400 \times 10^9 / l$) (89,1% vs 71,0%, $p = 0.020$). Nie stwierdzono związku między czynnikami klinicznymi takimi jak: płeć ($p = 0.526$), wiek ($p = 0.840$), otyłość ($p = 0.808$), pierwsze objawy - krwawienie ($p = 0.600$), utrata masy ciała ($p = 1.00$) i NLR. Podobnie nie stwierdzono związku między czynnikami histologicznymi, takimi jak stopień Fuhrmana ($p = 0.536$), wielkość guza ($p = 0.823$), martwica tkanek ($p = 0.621$), przerzuty do nadnerczy ($p = 0.227$), naciekanie tkanki tłuszczowej tkanki ($p = 0.676$), obecność przerzutów do węzłów chłonnych ($p = 0.298$), naciekanie naczyń krwionośnych ($p = 0.830$) i NLR. Podwyższony wskaźnik PLR (> 144.4) był natomiast związany z niższym poziomem hemoglobiny (dla kobiet < 11.0 g / dl; dla mężczyzn < 13.0 g / dl) (41,5% vs. 15,3%, $p = 0.001$) i wyższym NLR (> 3.68) (36,6 % wobec 1,7%, $p = 0.0001$). Odnotowano również tendencję do występowania nacieków tkanki tłuszczowej u pacjentów z wyższym PLR (> 144.4) (41,5% vs 27,1%, $p = 0.108$). Nie stwierdzono zależności między PLR a innymi czynnikami histologicznymi. Nie zaobserwowano również istotnego związku między PLR a

czynnikami klinicznymi takimi jak: płeć ($p = 0,282$), wiek ($p = 0,496$), otyłość ($p = 0,417$), pierwsze objawy – krwawienie z dróg moczowych ($p = 0,827$), czy utrata masy ciała ($p = 0,337$). Natomiast, wyższa wartość PLT ($> 400 \times 10^9 / l$) była istotnie związana z czasem od rozpoznania ≤ 12 miesięcy (76,2% vs. 41,7%, $p = 0,004$), z utratą masy ciała, jako pierwszym objawem choroby (57,1% vs. 21,7%, $p = 0,002$), podwyższonym poziomem neutrofilii ($> 6,00 \times 10^9 / l$) (57,1% vs. 15,0%, $p = 0,0001$), wyższym poziomem leukocytów ($> 10,00 \times 10^9 / l$) (47,6% vs. 8,3%, $p = 0,0001$), niższym poziomem hemoglobiny (dla kobiet $< 11,0$ g / dl; dla mężczyzn $< 13,0$ g / dl) (52,4% vs. 26,7%, $p = 0,018$), podwyższonym NLR ($> 3,68$) (42,9% vs. 18,3%, $p = 0,012$) i wyższym PLR ($> 144,4$) (100,0% vs. 50,8%, $p = 0,0001$). Małopłytkowość ($PLT \leq 400 \times 10^9 / l$) obserwowano częściej u pacjentów z niższym PLR ($\leq 144,4$) (100% vs 74,4%, $p = 0,0001$). Wyższy poziom leukocytów ($> 10,00 \times 10^9 / l$) (66,7% vs 0,0%, $p = 0,0001$), niedokrwistość (60,0% vs 22,5%, $p = 0,0001$), wyższa liczba PLT ($> 400,0 \times 10^9 / l$) (40,0% wobec 8,1%, $p = 0,0001$), podwyższone NLR ($> 3,68$) (63,3% wobec 10,8%, $p = 0,0001$), podwyższone PLR ($> 144,4$) (83,3% wobec 51,4%, $p = 0,002$), LDH $> 1,5 \times 220$ U / l (21,1% vs 1,2%, $p = 0,001$) i poziom wapnia $> 2,5$ mmol / l (57,1% vs 16,7%, $p = 0,0004$) obserwowano istotnie częściej u pacjentów z neutrofilią ($> 6,00 \times 10^9 / l$) [7].

1. **Huszno J**, Starzyczny-Słota D, Jaworska M, Nowara E. Adult Wilms' tumor - diagnosis and current therapy. *Cent European J Urol.* 2013;66(1):39-44. doi: 10.5173/ceju.2013.01.art12. Epub 2013 Apr 26.
2. **Huszno J**, Starzyczny-Słota D, Jaworska M, Nowara E. Unfavorable prognosis of nephroblastoma in adults. *Cent European J Urol.* 2013; 66(1): 45-8. doi: 10.5173/ceju.2013.01.art13. Epub 2013 Apr 26.
3. **Huszno J**, Starzyczny-Słota D, Nowara E. Sunitynib u chorych na raka nerki z przerzutami – doświadczenia własne. *Onkol. Pol.* 2012, 15, 2: 60-64.
4. **Huszno J**. Całkowita remisja mnogich zmian przerzutowych w płucach u chorego na raka jasnokomórkowego nerki po zastosowaniu sunitynibu. *Onkologia w Praktyce Klinicznej.* Vol 10, Supp. A (2014).
5. **Huszno J**, Nowara E. Everolimus in every day practice of metastatic renal cell carcinoma therapy – one-center experience. *OncoReview.* 2016/Vol. 6/Nr 3/B188-194
6. **Huszno J**, Kołosza Z. Checkpoint Kinase 2 (CHEK2) Mutation in Renal Cell Carcinoma: A Single-Center Experience. *J Kidney Cancer VHL.* 2018 Apr 18;5(1):19-23. doi: 10.15586/jkcvhl.2018.101. eCollection 2018.
7. **Huszno J**, Kolosza Z, Mrochem-Kwarciak J, Rutkowski T, Składowski K. The Role of Neutrophil-Lymphocyte Ratio, Platelet-Lymphocyte Ratio, and Platelets in the Prognosis of Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Oncology.* 2019;97(1):7-17. doi: 10.1159/000498943. Epub 2019 May 2.

G. Zbiór prac dotyczący diagnostyki, leczenia oraz czynników klinicznych i patomorfologicznych w raku piersi.

Nadekspresja receptora HER2 lub amplifikacja onkogenu HER2/neu (ERBB2) występuje w około 20% raka piersi i stanowi silny czynnik prognostyczny nawrotu choroby oraz gorszego czasu przeżycia całkowitego (OS) zwłaszcza w przypadku obecności przerzutów w węzłach chłonnych. Jest także ważnym czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na leczenie trastuzumabem u chorych z nadekspresją receptora HER2 (+++). W publikacji pt „*Human epidermal growth factor receptor 2 status in breast cancer: A comparison between borderline positive human epidermal growth factor receptor 2 and strongly positive human epidermal growth factor receptor 2 tumors*” porównywałam grupę chorych z guzem wykazującym pośrednie nasilenie barwienia IHC (HER++) z grupą o guzach z silną nadekspresją (+++) HER2 pod względem cech klinicznych i histopatologicznych, odpowiedzi na leczenie oraz kardiotoksyczności. Analizie poddano 166 chorych z wczesnym lub zaawansowanym rakiem piersi kwalifikowanych do leczenia trastuzumabem. U wszystkich chorych z guzem HER++ w badaniu IHC oceniano amplifikację genu HER2 metodą FISH. Obie grupy były porównywalne pod względem wieku w momencie diagnozy (6% vs. 10%); $p=0.459$, stanu menopauzalnego (76% vs. 68%; $p=0.347$), chorób towarzyszących z wyjątkiem cukrzycy (4% tylko u chorych z HER2+++), oraz nadwagi. Porównanie obu grup wykazało, że u chorych z guzami HER++ częściej obserwowano wczesnego raka piersi w porównaniu do chorych z guzami HER+++ (54% vs. 18%) $p=0.002$. Nie wykazano natomiast różnicy pod względem statusu receptorów steroidowych (ER/PR) ($p=1.00$) pomiędzy obiema podgrupami. Przerzuty w węzłach chłonnych (N+) obserwowane były znacząco częściej w grupie z silną nadekspresją HER2 (HER2+++), $p=0.04$, a przerzuty odległe występowały tylko u chorych z guzem o nadekspresji HER2+++ (8%). Nawrót choroby (72% vs. 36%) $p=0.006$ oraz progresja (57% vs. 27%) $p=0.02$ również częściej raportowane były w tej grupie chorych. Silna nadekspresja HER2 +++ predysponowała do rozwoju innych nowotworów (rak tarczycy, jajnika, trzonu macicy czy podstawniokomórkowy rak skóry) w analizowanej grupie (4% vs. 0, $p=0.236$). Grupa z pośrednim nasileniem barwienia miała częściej niższy stopień zaawansowania choroby (wczesny rak piersi) oraz lepsze wyniki leczenia niż grupa z silną nadekspresją HER2 (54% vs. 18%; $p=0.002$). Wykazywała także mniejsze ryzyko kardiotoksyczności w trakcie leczenia trastuzumabem [1].

Leczenie humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym - trastuzumabem znacząco wydłuża czas wolny od progresji choroby (PFS) oraz czasu przeżycia całkowitego (OS)

chorych na HER2 pozytywnego raka piersi. Pomimo tego u części chorych dochodzi do progresji choroby, dlatego konieczne są nowe leki ukierunkowane na zaawansowanego raka piersi z nadekspresją receptora HER2. W publikacji pt. „*Current therapeutic strategies of anti-HER2 treatment in breast cancer patients*” przedstawiono aktualne wówczas nowe leki ukierunkowane na receptor HER2, wprowadzone do praktyki klinicznej w leczeniu zaawansowanego raka piersi. Jednym z opisanych leków jest pertuzumab, rekombinowane, humanizowane przeciwciało monoklonalne IgG1, które wiąże się z zewnątrzkomórkową domeną dimeryzacji (subdomena II) białka receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2), co w konsekwencji blokuje zależną od ligandu heterodimeryzację HER2 z innymi receptorami rodziny HER, w tym EGFR, HER3 i HER4. W rezultacie prowadzi to do hamowania sygnalizacji wewnątrzkomórkowej inicjowanej przez ligand za pomocą dwóch głównych szlaków sygnałowych: kinazy aktywowanej mitogenami (MAP) i kinazy 3fosfatydyloinozytolu, co może powodować odpowiednio zatrzymanie wzrostu komórek i apoptozę. Pertuzumab pośredniczy w cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC). Lek jest wskazany do stosowania w skojarzeniu z trastuzumabem i docetakselem u dorosłych pacjentów chorych na raka piersi HER2-dodatniego z przerzutami lub z nieresekcyjną wznową miejscową, którzy nie byli leczeni wcześniej za pomocą terapii przeciw-HER2 lub chemioterapii choroby przerzutowej. Pertuzumab jest także wskazany do stosowania w skojarzeniu z trastuzumabem i chemioterapią w leczeniu neoadjuwantowym dorosłych pacjentów chorych na HER2-dodatniego raka piersi, miejscowo zaawansowanego, zapalnego lub we wczesnym stadium z wysokim ryzykiem wznowy oraz w leczeniu adjuwantowym. Kolejny lek to TDM-1 (Trastuzumab emtanzyna), będący koniugatem przeciwciała – trastuzumabu z lekiem DM1 (inhibitorem mikrotubul). Trastuzumab łączy się z receptorem HER2 i hamuje przekazywanie sygnału do wnętrza komórki. Cytostatyk połączony z przeciwciałem dostaje się do wnętrza komórki na drodze endocytozy. We wnętrzu komórki przekształca się do aktywnego metabolitu za pośrednictwem lizosomów i dostaje się do miejsca docelowego. DM1, cytotoksyczny składnik trastuzumabu emtanzyny, łączy się z tubuliną hamując jej polimeryzację i powodując zatrzymanie komórek w fazie G2/M cyklu komórkowego, co ostatecznie prowadzi do śmierci komórek na drodze apoptozy. Preparat stosowany jest w monoterapii, jest w leczeniu dorosłych z HER2 dodatnim, nieoperacyjnym miejscowo zaawansowanym lub przerzutowym rakiem piersi, po wcześniejszej terapii trastuzumabem i taksanami. Omówiliśmy również alternatywną drogę podania trastuzumabu – podanie podskórne oraz zagadnienie dotyczące równoczesnego podawania trastuzumabu z antracyklinami. Przytoczone w publikacji badania wykazało, że

równoczesne podawanie trastuzumabu z antracyklinami nie zapewnia dodatkowych korzyści. Kolejna grupa leków opisanych w publikacji to inhibitory mTOR. Jednym z mechanizmów oporności na trastuzumab jest zwiększenie aktywacji szlaku PI3K/AKT/mTOR. Aktywacja szlaku PI3K wynikająca ze spadku lub utraty aktywności PTEN lub aktywującej mutacji domeny katalitycznej PI3K (PIK3CA) jest odpowiedzialna za oporność na trastuzumab. Wyniki badań fazy I i II wskazują na możliwość ponownego uwrażliwienia komórek na trastuzumab po użyciu doustnego inhibitora szlaku mTOR (everolimus). Kilka leków znajdowało się na etapie badań klinicznych. Są to: Ertumaxomab, Neratinib, Afatinib oraz białka szoku cieplnego (Hsp 90) [2].

Kolejną nową grupą leków wprowadzoną do leczenia chorych z rakiem piersi są inhibitory kinaz zależnych od cyklin CDK4/6. Kinazy cyklinozależne (cdk - ang. cyclindependent kinase) wchodzi w skład kompleksów odpowiadających za przejście między fazami cyklu komórkowego. Za przejście z fazy G1 do S odpowiedzialność biorą kompleksy cyklina D/Cdk4, cyklina D/Cdk6 i cyklina E/Cdk2. W celu uzyskania pełnej aktywności kompleksu konieczne jest związanie się ze sobą właściwej cykliny i kinazy cyklinozależnej, a także usunięcie grup fosforanowych z cdk, hamujących aktywność kinazową tego białka. Podczas przebiegu cyklu komórkowego poziom cyklinozależnych kinaz zmienia się. Zwiększenie aktywności cdk może prowadzić do rozregulowania cyklu komórkowego oraz upośledzenia funkcjonowania punktów kontrolnych w komórkach nowotworowych. Natomiast inhibicja cdk w komórkach nowotworowych prowadzi do zatrzymania proliferacji i śmierci na drodze apoptozy. Na podstawie przeglądu literatury w bazie PubMed opracowałam przegląd przedklinicznych oraz klinicznych badań dotyczących aktywności oraz powikłań inhibitorów kinaz zależnych od cyklin takich jak: Palbociclib, Abemaciclib oraz Ribociclib w raku piersi. Inhibitory kinaz są obiecującą grupą leków. Prowadzonych było wiele badań klinicznych oceniających ich skuteczność i bezpieczeństwo w terapii zarówno guzów litych jak i chłoniaków. Pierwszym lekiem tej grupy, który znalazł zastosowanie w praktyce klinicznej jest Palbociclib. Został zarejestrowany w leczeniu chorych na hormonowrażliwego, ujemnego pod względem receptora ludzkiego czynnika wzrostu naskórka typ2 (HR+/HER2-) lokalnie zaawansowanego lub rozlanego raka piersi. Palbociclib stosowany jest w skojarzeniu z inhibitorem aromatazy lub z fulwestrantem. Podobnie rybociklib i abemacyklib [3].

W kolejnym cyklu publikacji próbowałam wyróżnić kliniczne i patomorfologiczne czynniki ryzyka progresji choroby podczas leczenia trastuzumabem chorych na raka piersi z

nadekspresją receptora HER2. Przeanalizowano dokumentację medyczną 64 chorych na zaawansowanego, HER2 dodatniego raka piersi, którzy otrzymywali Trastuzumab w leczeniu przerzutowego raka piersi. Najczęstszym miejscem progresji podczas terapii trastuzumabem były płuca 25 (39%), ośrodkowy układ nerwowy (CNS) 8 (13%), skóra 9 (14%), lokoregionalne węzły chłonne 19 (30%), wątroba 18 (28%) oraz kości 17 (27%). Najlepszą odpowiedź na leczenie obserwowałam u chorych z przerzutami do skóry, płuc oraz lokoregionalnych węzłów chłonnych. Chorzy z przerzutami do płuc znacznie częściej mieli obciążony wywiad rodzinnny chorobami nowotworowymi w porównaniu do kobiet z inną lokalizacją zmian przerzutowych (24% vs. 2,6%), $p = 0,048$. Przerzuty do płuc były częstsze podczas terapii zawierającej trastuzumab z chemioterapią niż monoterapii trastuzumabem 17/8 (58% vs. 41%), $p = 0,043$. Przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego były obserwowane nieznacznie częściej u kobiet po menopauzie 8/0 (22% vs 0%), $p = 0,093$. Zaobserwowano tendencję do obecności zmian przerzutowych w wątrobie u chorych z guzami o ujemnym statusie receptorów estrogenowych (13/20; 72% vs. 44%, $p=0.053$). Obecność zmian przerzutowych w kościach wiązała się z pozytywnym statusem receptorów steroidowych ($p=0.019$) oraz drugim nowotworem w wywiadzie ($p=0.06$). Podsumowując czynnikami ryzyka progresji choroby w analizowanej grupie były: stan menopauzalny (przerzuty do OUN), status receptorów steroidowych (przerzuty do wątroby, węzłów chłonnych oraz przerzuty do kości), obciążony wywiad rodzinnny chorobami nowotworowymi (przerzuty do płuc) oraz palenie papierosów (przerzuty do wątroby) [4].

W publikacji pt „*Tamponada serca w przebiegu raka piersi, jako objaw nawrotu choroby*” na podstawie opisu przypadku chorej na raka piersi przeanalizowałam przypadek nawracającej tamponady serca, jako negatywnego czynnika prognostycznego. Płyn w osierdziu może być wynikiem procesu nowotworowego nawet w 35% przypadków. Nowotwory pierwotne osierdzia zdarzają się bardzo rzadko. W większości przypadków są to zmiany przerzutowe, najczęściej w przebiegu raka oskrzela (40%), raka piersi (22%), białaczek i chłoniaków (15%), mięsaków (4%), raka żołądka i jelita grubego (3%). W opisanym przypadku tamponada była jednym z pierwszych objawów klinicznych nawrotu, a następnie progresji choroby. Po rozpoznaniu raka piersi chora została poddana chemioterapii neoadiuwantowej według schematy CAF, następnie przeprowadzono zabieg operacyjny – amputacja piersi lewej. Na podstawie badania histopatologicznego materiału pooperacyjnego stwierdzono dodatni odczyn w kierunku receptora ER (++) i PR (++) oraz nadekspresję receptora HER2 (+++). U chorej zastosowano pooperacyjną radioterapię oraz włączono

uzupełniającą hormonoterapię inhibitorem aromatazy. Dziewięć miesięcy po zakończeniu leczenia chora była hospitalizowana na oddziale kardiologii z powodu zagrażającej tamponady serca. Przeprowadzono nakłucie worka osierdziowego z odbarczeniem 1100 ml krwistego płynu, w którym stwierdzono obecność komórek nowotworowych — gruczolakoraka. Stwierdzono nawrót choroby. Odbarczenie osierdza spowodowało poprawę stanu ogólnego i umożliwiło rozpoczęcie chemioterapii. Chora została poddana leczeniu paliatywnemu: chemioterapii z immunoterapią (paklitaxel z trastuzumabem), wspomagane intensywnym leczeniem kardiologicznym. Po IV cyklach leczenia chora była ponownie hospitalizowana na oddziale kardiologii z powodu zagrażającej tamponady serca. Ponownie odbarczono 1400 ml krwistego płynu, stwierdzając progresję choroby. Ze względu na objawy neurologiczne wykonano badanie tomografii komputerowej głowy, w którym zobrazowano obecność przerzutów w mózdzku i mózgu. U chorej zastosowano leczenie przeciwobrzękowe oraz radioterapię na obszar mózgowia. Czas przeżycia od momentu pierwszego wystąpienia tamponady wynosił ponad 8 miesięcy. Przerzuty nowotworowe do osierdza powinny być zawsze brane pod uwagę w diagnostyce różnicowej możliwych przyczyn tamponady, zwłaszcza u chorych leczonych w przeszłości z powodu nowotworu złośliwego [5].

1. **Huszno J**, Nowara E. Human epidermal growth factor receptor 2 status in breast cancer: A comparison between borderline positive human epidermal growth factor receptor 2 and strongly positive human epidermal growth factor receptor 2 tumors. *Clinical Cancer Investigation Journal*. 2015; 4: 307 – 311.
2. **Huszno J**, Nowara E. Current therapeutic strategies of anti- HER2 treatment in breast cancer patients. *Contemporary Oncology*. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2016;20(1):1-7. doi: 10.5114/wo.2016.58495. Epub 2016 Mar 16.
3. **Huszno J**. The role of CDK inhibitors in breast cancer therapy. *International Journal of Cancer Therapy and Oncology*. 4 (3) 2016.
4. **Huszno J**, Nowara E. Risk factors for disease progression in HER2-positive breast cancer patients based on the location of metastases. *Prz Menopauzalny*. 2015 Sep;14(3):173-7. doi: 10.5114/pm.2015.54341. Epub 2015 Sep 30.
5. **Huszno J**, Starzyczny-Słota D, Boba M, Nowara E. Tamponada serca w przebiegu raka piersi, jako objaw nawrotu choroby. *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2013, tom 9, nr 1, 37–40.

H. Opracowanie i opublikowanie po obronie pracy doktorskiej cyklu prac dotyczących organizacji komórkowej gonady męskiej modelowego gatunku *Danio rerio* z uwzględnieniem analizy stereologicznej.

Kolejny cykl prac to podsumowanie dwóch publikacji powstałych na bazie rozprawy doktorskiej pt „*Badania ultrastrukturalne gonady męskiej w cyklu rozrodczym dojrzałego samca Danio rerio (Teleostei Cyprinidae)*”. *Danio pręgowane* (*Danio rerio*) (Hamilton, 1822; Buchanan, 1822, 1823) stanowi modelowy gatunek doświadczalny, wykorzystywany w bardzo wielu badaniach embriologicznych, cytogenetycznych, toksykologicznych, patologicznych oraz systematycznych. W pierwszej publikacji oceniałam strukturę i ultrastrukturę gonady męskiej *Danio rerio* oraz proces spermatogenezy w aspekcie poszczególnych etapów cyklu płciowego. Dodatkowo analizowałam ultrastrukturę komórek somatycznych w jądrze danio i zmiany, jakim podlegają w miarę trwania kolejnych etapów cyklu. Na podstawie przeprowadzonej w badaniu mikroskopowym analizy wykazano, że jądro badanego gatunku należy do typu kanalikowego anastomozującego, o nieograniczonym rozmieszczeniu spermatogonii. Spermatogeneza reprezentuje typ cystyczny. Komórki linii płciowej w cyście znajdują się na tym samym etapie spermatogenezy, co gwarantuje obecność łączących je mostków cytoplazmatycznych. Uwzględniając kryteria topograficzne, morfologiczne i cytologiczne wyróżniono trzy typy komórek wczesnej spermatogenezy tj. spermatogonia A, spermatogonia B oraz spermatocyty I rzędu. W procesie spermiogenezy u *Danio rerio* wyróżnia się 4 stadia. Poszczególne stadia różniły się między sobą stopniem kondensacji chromatyny, ułożeniem centrioli, stopniem rozwoju witki, ilością cytoplazmy oraz zawartością i rozmieszczeniem organelli, zwłaszcza mitochondriów. Na podstawie analizy ultrastruktury plemniki badanego gatunku można zaliczyć do typu II według klasyfikacji Mattei (1970). Do komórek somatycznych gonady męskiej *Danio rerio* należą komórki Leydiga, komórki Sertolego oraz komórki mięśniowe. Komórki Sertolego biorą udział w fagocytozie kropli cytoplazmatycznych oraz nieprawidłowo wykształconych komórek linii płciowej, zwłaszcza spermatyd w końcowym okresie spermiogenezy oraz plemników. Wakuole fagocytarne pojawiają się na całym obwodzie cysty. Komórki Leydiga wykazują ultrastrukturalne cechy komórek uczestniczących w sterydogenezie i występują, jako komórki jasne i ciemne. Komórki mięśniowe nie podlegają znaczącym zmianom ultrastrukturalnym podczas cyklu płciowego [1].

W następnej pracy przeprowadziłam ilościową ocenę zmiany względnej objętości przedziałów zawierających poszczególne stadia rozwojowe komórek linii płciowej i tkanki interstycjalnej w kolejnych etapach cyklu płciowego z zastosowaniem metod stereologicznych. Analiza stereologiczna przeprowadzona przy zastosowaniu testów nieparametrycznych ANOVA wykazała istotne różnice pomiędzy poszczególnymi etapami

cyklu płciowego. Różnice dotyczyły objętości względnej cyst zawierających komórki linii płciowej oraz tkanki interstycjalnej. Podczas trwania cyklu płciowego dochodziło do stopniowego zmniejszania się objętości cyst zawierających spermatogonia A, spermatogonia B, spermatocyty oraz spermatydy we wczesnym etapie spermiogenezy. Jednocześnie zwiększała się znacznie objętość cyst zawierających spermatydy na późnym etapie spermiogenezy oraz plemniki. W etapie VIII dodatkowo zmniejszyła się objętość cyst zawierających spermatydy na późnym etapie spermiogenezy, co spowodowane było dalszym przekształcaniem się spermatyd w plemniki. Względna objętość tkanki somatycznej nie uległa istotnym zmianom.

Materiał do badań w obu pracach stanowiły dojrzałe płciowo osobniki męskie danio pręgowanego *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan, 1822, 1823). Ryby pochodziły z hodowli prowadzonej w Instytucie Zoologicznym Uniwersytetu Wrocławskiego (pozwolenie nr 05/2008 LKEt we Wrocławiu).

1. Rupik W, **Huszno J**, Klag J. Cellular organisation of the mature testes and stages of spermiogenesis in *Danio rerio* (Cyprinidae; Teleostei)--structural and ultrastructural studies. *Micron*. 2011 Dec;42(8):833-9. doi: 10.1016/j.micron.2011.05.006. Epub 2011 Jun 15.
2. **Huszno J**, Klag J. The reproductive cycle in the male gonads of *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae). Stereological analysis. *Micron*. 2012; 43(5): 666-72. doi: 10.1016/ j.micron. 2011.12.001. Epub 2011 Dec 14.

I. Pozostałe prace niewchodzące w skład wyżej wymienionego cyklu publikacji.

Pozostałe prace dotyczą badań przeprowadzonych na innych niż wyżej wymienione typach nowotworów. W pierwszej publikacji oceniałam skuteczność imatinibu (leku z grupy inhibitorów kinazy tyrozynowej) w nieoperacyjnym włókniakomięsaku guzowatym (dermatofibrosarcoma protuberans - (DFSP). DFSP jest rzadko występującym mięsakiem skóry i tkanki podskórnej, o miejscowym, agresywnym wzroście naciekającym. W przypadku resekcyjności zmiany leczeniem z wyboru u chorych z tego typu rozpoznaniem jest radykalny zabieg operacyjny. Przerzuty występują rzadko (1-4%) i z reguły w późnym okresie przebiegu choroby. Głównym problemem klinicznym są nawroty miejscowe. W swojej praktyce klinicznej miałam do czynienia z przypadkiem 62 letniej chorej z rozpoznaniem nieresekcyjnego guza DSFP okolicy stawu barkowego lewego z naciekiem sąsiadujących tkanek. W badaniu fizykalnym w obrębie obręczy barkowej po stronie lewej rozległa zmiana

naciekowa sięgająca od mostka poprzez staw ramienny z tyłu do krawędzi łopatki. Dolnym brzegiem zmiana sięga 1/3 górnej części lewego ramienia. Część środkowa zmiany w postaci egzofitycznego, broczącego guza o rozmiarach 30x25 cm. Zaawansowanie schorzenia nie pozwalało na przeprowadzenie radykalnego zabiegu operacyjnego. Pobrano materiał do badania histopatologicznego potwierdzając rozpoznanie. Przeprowadzone badania obrazowe wykluczyły rozsiew choroby. Chora została zakwalifikowana do leczenia imatinibem. W ocenie efektu leczenia po 3 cyklach w badaniu fizykalnym i w badaniach obrazowych częściowa regresja zmiany powyżej 50%. Podczas terapii zaobserwowano powikłania hepatologiczne (5-krotne zwiększenie wartości transaminaz). Z powodu obserwowanej toksyczności zaprzestano podawania leku. Po uzyskaniu normalizacji poziomu transaminaz leczenie kontynuowano w zredukowanej dawce. Dalsza tolerancja leczenia była dobra. W ocenie efektu leczenia dalsza regresja a następnie stagnacja zmian. Zastosowanie Imatynibu pozwoliło uzyskać korzyść kliniczną w postaci znacznej regresji zmian. Uzyskano dobrą odpowiedź na leczenie oraz znaczną poprawę jakości życia chorej. Toksyczność leczenia dotyczyła wzrostu wartości transaminaz. Zredukowanie dawki pozwoliło na kontynuację leczenia z bardzo dobrą tolerancją [1].

W publikacji pt „*The Ca125 concentration in intraperitoneal fluid as a prognostic factor in ovarian cancer*” opisaliśmy wyniki badania mającego na celu oszacowanie zależności pomiędzy stężeniem markera CA125 w płynie otrzewnowym a odpowiedzią na chemioterapię dootrzewnową oraz przeżycie chorych na raka jajnika. Do badania włączono 17 chorych na zaawansowanego raka jajnika z wodobrzuszem, u których pomimo zastosowania chemioterapii dożylną (paklitaxel z carboplatiną) nie udało się uzyskać regresji choroby. Mediana schematów chemioterapii stosowanych przed leczeniem dootrzewnowym to dwa schematy (przedział od 1 do 6). Następnie zastosowano chemioterapię dootrzewnową z cisplatyną. Dawka cisplatyny wynosiła 80 mg/m² w 1000 ml roztworu soli fizjologicznej w jednogodzinym wlewie dootrzewnowym za pomocą kaniuli. Stężenie markera Ca125 było mierzone dwukrotnie w płynie dootrzewnowym: przed wlewem chemioterapii dootrzewnowej i 24 godziny po wlewie. Następnie usuwano kaniulę. Referencyjne stężenie Ca125 w surowicy jest mniejsze niż 35 j.m. / ml. Stężenie Ca125 w płynie wewnątrzotrzewnowym było wyższe niż stężenie Ca125 w surowicy. Cytostatyczny roztwór w jamie otrzewnej pozostawiono na 24 godziny, po czym usunięto ciecz. Po IPCT wszystkie chore, u których zaobserwowano odpowiedź kliniczną kontynuowały dożylną chemioterapię z cisplatyną. Skuteczność kliniczną oceniano przy użyciu kryteriów RECIST oraz na podstawie pomiarów

stężenia Ca125, co 12 tygodni. Mediana czasu całkowitego przeżycia (OS) wyniosła 37,4 miesiąca. OS w ciągu 2 i 5 lat wynosił odpowiednio 65%, 34%. Chorzy, u których stężenie wewnątrztonowe Ca125 zmniejszyło się ponad 3 razy, żyli nieznamiennie dłużej niż chorzy z mniejszą redukcją stężenia Ca125 (78,5 vs 33,1 miesiąca), $p = 0,06$. Zmniejszenie stężenia wewnątrztrzewnowego Ca125 nie było zależne od liczby poprzednich schematów chemioterapii, typu operacji czy wieku, odpowiednio $p = 0,6, 0,09, 0,34$. IPCT było skuteczną i bezpieczną i metodą leczenia. Spadek stężenia Ca125 w płynie otrzewnowym po chemioterapii dootrzewnowej może być czynnikiem prognostycznym dla przeżycia całkowitego u chorych na raka jajnika z opornym na leczenie wodobrzusze [2].

W kolejnej publikacji opisaliśmy znaczenie mikrośrodowiska guza (TM, mastocyty) dla jego wzrostu (negatywny czynnik prognostyczny). Pomimo postępów w diagnozowaniu, leczeniu chirurgicznym oraz leczeniu systemowym chorzy z gruczolakorakiem przewodowym trzustki (PDAC) mają wciąż złe rokowanie. W przeciwieństwie do postępu we wczesnej diagnozie i wynikach leczenia innych chorób nowotworowych, wyniki dla PDAC nie zmieniają się znacząco przez lata. W poniższej publikacji na podstawie przeglądu literatury podsumowaliśmy aktualne wówczas informacje dotyczące możliwości leczenia systemowego chorych z gruczolakorakiem przewodowym trzustki. Od 1997 roku dużą rolę w leczeniu systemowym miejscowo zaawansowanego oraz rozsianego PDAC zajmuje gemcytabina zarówno w monoterapii jak i schematach wielolekowych (mediana OS 5 do 8 miesięcy). Dołączenie innych leków takich jak 5 fluorouracyl, kapecytabina, cisplatyna, docetaxel, irinotekan, oxaliplatyna, pemetrexed oraz cetuximab nie wydłużyło znamienne przeżycia. Natomiast, skutecznym schematem leczenia w PDAC okazał się FOLFIRINOX (oxaliplatyna, irinotekan, leukoworyna, 5 fluorouracyl) – mediana OS 11.1 miesięcy. Jednakże schemat ten może być stosowany tylko u chorych z bardzo dobrym stopniem sprawności i ograniczonymi chorobami towarzyszącymi z powodu możliwych poważnych powikłań wyżej wymienionego schematu. Alternatywnym schematem leczenia może być połączenie gemcytabiny z nabpaklitaxelem, wykazujący znamienne wyższą skuteczność w porównaniu z monoterapią gemcytabiną, przy akceptowalnej toksyczności i OS 8.5 miesiąca. Leki ukierunkowane molekularnie badane u chorych na PDAC to: erlotynib (inhibitor kinazy tyrozynowej) oraz bewacizumab (przeciwciało o działaniu antyangiogennym). Badanie III fazy wykazało, że dodanie erlotynibu do gemcytabiny znamienne polepszyło medianę przeżycia całkowitego (OS) oraz przeżycia wolnego od progresji (PFS). Dołączenie bewacizumabu do gemcytabiny wydłużyło PFS bez wpływu na OS. W artykule poruszono

także kwestię znaczenia mikrośrodowiska guza (TM) (makrofagi związane z guzem, mastocyty) w procesie rozrostu guza. Potencjalna rola oksydazy acylokoenzymu A (ACOX1), enzymu uczestniczącego w beta oksydacji kwasów tłuszczowych, w rokowaniu chorych na PDAC została opisana w kilku pracach. Nadekspresja ACOX1 wpływa na nieprawidłową funkcję czynnika NFκB, który powoduje przekształcenie makrofagów do fenotypu M2 wpływającego na rozwój guza. Prowadzone były badania nad nowymi lekami ukierunkowanymi molekularnie na składniki mikrośrodowiska guza. Takim lekiem jest Masitinib – inhibitor kinazy tyrozynowej ukierunkowany na mastocyty. Badanie III fazy wykazało, że dołączenie masitinibu do gemcytabiny u chorych z nadekspresją ACOX1 wydłużyła medianę OS do 11.7 miesiąca w porównaniu do monoterapii gemcytabiną (mediana OS 5.6 miesięcy). Odsetek rocznego przeżycia to 48% vs. 8%. Dodatkowo wykazano, że chorzy na PDAC z nadekspresją ACOX1 mają gorsze rokowanie w porównaniu do ogólnej populacji PDAC (mediana OS 5.6 miesięcy vs. 7.0 miesięcy). Głównymi powikłaniami leczenia masitinibu były powikłania hematologiczne [3].

W publikacji pt „*Problemy związane z niewłaściwą suplementacją diety kwasem foliowym w aspekcie medycznym i społecznym*” powstałej przy współpracy z Poradnią Genetyczną Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 6 Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach Górnośląskiego Centrum Zdrowia Dziecka i Matki im. Jana Pawła II. Celem pracy było przedstawienie zagadnień związanych z suplementacją kwasem foliowym oraz przyczyn powstawania wad cewy nerwowej u płodu. Wiedza Polek na temat suplementacji kwasem foliowym oceniona została w oparciu o badanie ankietowe kobiet przebywających na trzech oddziałach położniczych szpitali województwa śląskiego. Spośród 125 respondentek objętych badaniem, zdecydowana większość nie stosowała zalecanej suplementacji i nie знаła dziennej dawki zapotrzebowania na kwas foliowy. Jak wynika z deklaracji badanych, głównym źródłem wiedzy na temat konieczności zażywania kwasu foliowego był lekarz ginekolog. Jednocześnie należy podkreślić, że lekarze rodzinni informowali w tym zakresie 1,6% kobiet, a lekarze pediatrzy jedynie 0,8% badanych. W artykule podano uwarunkowania genetyczne i środowiskowe oraz mechanizm powstawania wad cewy nerwowej. Skutki medyczne i społeczne niedoboru kwasu foliowego w diecie przedstawiono na przykładzie opisu otwartej wady cewy nerwowej u braci bliźniąt. W pracy wykazano konieczność szerszego przekazywania pacjentkom w wieku rozrodczym wiedzy na temat suplementacji kwasem foliowym przez lekarzy ginekologów i lekarzy medycyny rodzinnej, a także pediatrów. Zwrócono uwagę na możliwości uzyskania kompleksowej

porady lekarskiej w Poradni Genetycznej z uwagi na genetyczne uwarunkowania wad cewy nerwowej [4].

Następną publikacją w cyklu był komentarz – odpowiedź na list do Redakcji *“Answer to the Teresa Pusiol comments to the paper “The association of tumor lymphocyte infiltration with clinico-pathological factor and survival in breast cancer”*. W powyższym komentarzu podkreślona została rola nacieku limfocytarnego (TILs), jako czynnika prognostycznego razem z nadekspresją receptora HER2. Zwrócono uwagę również na metodę badania. Stopień nacieku limfocytarnego (TILs) określono zgodnie z kryteriami Klintrupa i Mohammeda, jako: brak nacieku, naciek łagodny, umiarkowany oraz nasilony. TILs został klasyfikowany, jako: nieobecny (klasa 0), łagodny (klasa 1), umiarkowany (klasa 2) i nasilony (klasa 3). Analiza czynników klinicznych i histopatologicznych przeprowadzona została na dwóch grupach chorych z niższym (stopień 0 i 1) oraz z wyższym stopniem nacieku limfocytarnego guza TILs (stopień 2 i 3) [5].

Kolejna publikacja pt *„Outcome of COVID-19 infection in cancer patients during active systemic anticancer treatment. Single-institution experience. A retrospective analysis”* zawiera analizę wpływu zakażenia COVID-19 na przebieg leczenia systemowego chorych na nowotwory. Analizie poddano 20 chorych z wykrytą infekcją COVID19 (10 kobiet i 10 mężczyzn), w tym 8 (40%) chorych z rozpoznaniem nowotworów przewodu pokarmowego (rak żołądka, przełyku, jelita grubego), 4 (20%) z rozpoznaniem raka płuca, 3 (15%) raka pęcherza moczowego, 2 (10%) raka piersi, 2 (10%) nowotworów ginekologicznych oraz 1 (5%) z rozpoznaniem nowotworu regionu głowy i szyi. Zakażenie COVID19 obserwowano znamienne częściej u kobiet w porównaniu do mężczyzn ($p=0.005$), nieznacznie częściej u pacjentów z chorobami towarzyszącymi (4.3% vs. 33.3%; $p = 0.336$) oraz u chorych z rozpoznaniem nowotworów przewodu pokarmowego (62.5% vs. 50%; $p = 0.670$). Dodatkowo, wyższe ryzyko zakażenia COVID19 obserwowano u chorych z $NLR < 4.84$ ($p = 0.0877$). Natomiast, znamienne niższe ryzyko zachorowania na COVID19 obserwowano u chorych z rozpoznaniem nowotworów dróg moczowych oraz z podwyższonym CRP ($p=0.074$ i $p=0.065$) [6].

1. **Huszno J**, Starzyczy-Słota D, Nowara E. Zastosowanie imatinibu w leczeniu nieoperacyjnego dermatofibrosarcoma protuberans zlokalizowanego w okolicy stawu barkowego. *Przegl Dermatol* 2014, 101, 197–200.

2. Nowara E, Badora-Rybicka A, Swiderska K, Nieckula J, Kubeczko M, **Huszno J**. The Ca125 concentration in intraperitoneal fluid as a prognostic factor in ovarian cancer. *Journal of Tumor* 2016; 4(5-6): 474-477.
3. Nowara E, **Huszno J**. Masitinib plus gemcitabine for personalized treatment of PDAC patients with overexpression of ACOX1. *EXPERT REVIEW OF PRECISION MEDICINE AND DRUG DEVELOPMENT*, 2016 VOL. 1, NO. 6, 479 – 485.
4. Nycz-Bochenek M, **Huszno J**, Lisik M. Problemy związane z niewłaściwą suplementacją diety kwasem foliowym w aspekcie medycznym i społecznym. *Przegląd Pediatryczny*. 2/2016.
- 5 **Huszno J**, Zembala-Nożyńska E, Lange D, Kołosza Z, Nowara E. Letter to the Editor. Answer to the Teresa Pusiol comments to the paper “The association of tumor lymphocyte infiltration with clinico-pathological factor and survival in breast cancer” by Huszno et al. *Pol J Pathol* 2017; 68 (3): 269-269.
- 6 Nowara E, Działach E, Grajek M, Kołosza Z, **Huszno J**. Outcome of COVID-19 infection in cancer patients during active systemic anticancer treatment. Single-institution experience. A retrospective analysis. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2021;25(3):147-152. doi: 10.5114/wo.2021.109362. Epub 2021 Sep 21

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

- *Praca statutowa:*

- 1). Zbadanie wpływu wariantów polimorficznych genów TYMS, MTHFR, GSTP1 i ABCB1 na efekt toksyczny i skuteczność chemioterapii z udziałem 5 fluorouracylu u chorych na raka piersi. 2011.
- 2). Ocena powikłań i przebiegu leczenia systemowego chorych na nowotwory z wirusowym zapaleniem wątroby typu C(HCV) i B(HBV). 2016.
- 3). Ocena skuteczności neoadjuwantowej chemioterapii u chorych na raka piersi w zależności od stopnia nacieku limfocyteranego guza (TILs) z uwzględnieniem biologicznych podtypów raka. 2016.
- 4). Radioablacja chorych na raka stercza. 2020.
- 5). Badanie zmienności genetycznej pacjentek z obciążeniem rodzinnym lub rozpoznaniem raka piersi w korelacji z wczesnym rozwojem choroby, odpowiedzią na chemioterapię oraz premedykacją antyemetykami. 2022.
- 6). Ocena skuteczności i tolerancji radioterapii u chorych na raka żołądka. Ocena możliwości indywidualizacji leczenia w oparciu o markery molekularne i immunologiczne. 2022.

- *Badanie kliniczne:*

Nieinterwencyjne badanie obserwacyjne *”Wpływ postrzegania wytycznych dotyczących profilaktyki wymiotów u chorych na nowotwory, leczonych powtarzającymi się cyklami chemioterapii w schematach o średnim lub wysokim potencjale emetogennym (MEC lub HEC) w Europie Wschodniej”* NERO – rejestr nudności/ wymiotów w onkologii – kierowanie badaniem.

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

a). Prowadzenie zajęć dydaktycznych ze studentami:

- 1). Prowadzenie zajęć dydaktycznych o tematyce Podstawy embriologii zwierząt ze studentami dziennych i zaocznych studiów magisterskich podczas pracy na stanowisku asystenta naukowo – dydaktycznego na Katedrze Histologii i Embriologii Zwierząt w Uniwersytecie Śląskim w Katowicach.
- 2). Prowadzenie zajęć dydaktycznych o tematyce Onkologia dla studentów medycyny W Oddziale Chorób Wewnętrznych i Chemioterapii Onkologicznej. Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.
- 3). Wykłady podczas konferencji edukacyjnych w dziedzinie Onkologii Klinicznej oraz w ramach szkoleń w Centrum Onkologii – Instytutu im M Skłodowskiej Curie Oddział w Gliwicach.
- 4). Wykład z zakresu genetyki klinicznej dla studentów V-go roku Wydziału Lekarskiego

b). Działalność organizacyjna, członkostwo w towarzystwach naukowych.

1. Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej (PTOK).
2. Polskie Towarzystwo Onkologii (PTO).
3. European Society of Clinical Oncology (ESMO).
4. Polskie Towarzystwo Genetyki Człowieka (PTGC)

c). Zagraniczne staże i szkolenia naukowe.

- Ośrodek Genomiki Medycznej OMICRON Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum lipiec 2018 roku.

- Department of Urology, School of Medicine Sismanoglio Hospital. Uczestnictwo w Międzynarodowej Sesji Polsko – Greckiej.

d). Nagrody i wyróżnienia.

Wyróżnienia i nagrody prac prezentowanych na konferencjach polskich i międzynarodowych:

- V Uro Onco Forum. Ateny, Grecja. 05 -09/11/2014.

- IV Uro-Onco Forum. Verona, Włochy. 09/10-13/10/2013

- XII Śląska Szkoła Onkologii Klinicznej. Śląski Oddział PTOK. Wisła. 21-23/10/2016.

- V Śląska Szkoła Onkologii. Śląski Oddział PTOK. Szczyrk. 14-16/10/2010.

Nagroda Ministra Zdrowia za podręcznik akademicki: *Onkologia. Podręcznik dla studentów medycyny. Pomoc dla lekarzy specjalizujących się w onkologii.* pod redakcją Rafała Steca, Andrzeja Deptały i Marty Smoter. Rozdział 15. **Joanna Huszno**. Poradnictwo genetyczne w onkologii.