

# **Autoreferat**

**Dr Patrycja Gazińska**

**1. Imię i nazwisko.**

***Patrycja Gazińska***

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

*1995 – 2000*      **Wydział Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

Studia magisterskie

Uzyskany tytuł: magister inżynier zootechniki

*2000 – 2006*      **Wydział Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

Studia doktoranckie

Uzyskany tytuł: doktor nauk rolniczych w zakresie zootechniki

Temat rozprawy doktorskiej: *Czerwce (Hemiptera : Coccinea) Parku Krajobrazowego Pojezierza Iławskiego*

Promotor: prof. dr hab. Elżbieta Podsiadło

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

- 2022 – obecnie*    **Sieć Badawcza Łukasiewicz – PORT Polski Ośrodek Rozwoju Technologii, Polska**  
Stanowisko: Starszy Lider Zespołu Badawczego Biobank i Zakładu Leczniczego Biobanku (Senior Research Team Leader, Biobank Research Group and Section of the Biobank Medical Facility)
- 2021 – 2022*    **Astra Zeneca (AZ), Cambridge, UK**  
Stanowisko: Menadżer – Biomarkery diagnostyczne i AI w diagnostyce (Medycyna precyzyjna, Jednostka rozwoju diagnostyki, Badania i rozwój onkologii)
- 2018 – 2021*    **Instytut Badań nad Rakiem (Institute of Cancer Research, ICR), Londyn, UK**  
Stanowisko: Kierownik grupy – Patologia cyfrowa i eksperymentalna (Team Leader – Experimental and Digital Pathology Team)
- 2013 – 2018*    **Zakład Badań Onkologicznych, Kolegium Królewskie w Londynie (King's College London, KCL), UK**  
Stanowisko: Starszy Pracownik Naukowy ds. Patologii Piersi (Senior Breast Pathology Research Scientist)
- 2008 – 2013*    **Zakład Badań Onkologicznych, Kolegium Królewskie w Londynie (King's College London, KCL), UK**  
Stanowisko: Pracownik naukowy ds. patologii piersi (Breast Pathology Research Scientist)
- 2007 – 2008*    **Lewes Victoria Hospital, Narodowa Służba Zdrowia (National Health Service, NHS), Lewes, UK**  
Stanowisko: Asystent Opieki Zdrowotnej
- 2006 – 2007*    **Southmead Hospital, Narodowa Służba Zdrowia (National Health Service, NHS), Bristol, UK**  
Stanowisko: Asystent Opieki Zdrowotnej

**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.).**

Podstawą ubiegania się o tytuł doktora habilitowanego jest cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych, które w roku opublikowania w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 kryteria ewaluacji jakości działalności naukowej ust. 2 pkt 2. Lit B, opatrzony tytułem:

**„Znaczenie oceny histopatologicznej raka piersi  
i charakterystyki jego mikrośrodowiska”**

Sumaryczna wartość punktacji monotematycznego cyklu publikacyjnego w skład, którego wchodzi cztery pełnotekstowe, oryginalne i spójne tematycznie publikacje naukowe wynosi  $IF = 30,894$ ; co opowiada  $MEiN = 525$  pkt. Zgodnie z wytycznymi, w każdej z prac wskazałam mój merytoryczny udział w jej powstaniu. Co ważne podkreślenia, w pracach 2-4 pierwsze autorstwo jest współdzielone († *equal first co-authorship / these authors share first authorship*). Kolejność prac wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego jest uporządkowana tematycznie.

## ***Publikacja 1.***

**Gazinska P**, Grigoriadis A, Brown JP, Millis RR, Mera A, Gillett CE, Holmberg LH, Tutt AN, Pinder SE. Comparison of basal-like triple-negative breast cancer defined by morphology, immunohistochemistry and transcriptional profiles. *Modern Pathology*. 2013 Jul;26(7):955-66. doi: 10.1038/modpathol.2012.244. Epub 2013 Feb 8. PMID: 23392436.

**IF = 6,19**

**MEiN = 45**

**Cytowania WoS = 70**

### **Wkład merytoryczny:**

Mój udział w projekcie polegał na stworzeniu koncepcji pracy, stworzeniu architektury metodologicznej w obszarze badań histopatologicznych. W ramach tego projektu badawczego zajmowałam się analizą, integracją i interpretacją wszystkich wyników histopatologicznych wykorzystanych w manuskrypcie. Opracowałam metodę kompleksowej oceny histopatologicznej ludzkiego materiału tkankowego. Brałam udział w przygotowaniu manuskryptu oraz dokonałam jego krytycznej oceny całościowej, jak i odpowiedzi na recenzje.

## ***Publikacja 2.***

**Gazinska P**<sup>†</sup>, Milton C<sup>†</sup>, Iacovacci J, Ward J, Buus R, Alaguthurai T, Graham R, Akarca A, Lips E, Naidoo K, Wesseling J, Marafioti T, Cheang M, Gillett C, Wu Y, Khan A, Melcher A, Salgado R, Dowsett M, Tutt A, Roxanis I, Haider S, Irshad S. Dynamic Changes in the NK-, Neutrophil-, and B-cell Immunophenotypes Relevant in High Metastatic Risk Post Neoadjuvant Chemotherapy-Resistant Early Breast Cancers. *Clinical Cancer Research*. 2022 Oct 14;28(20):4494-4508. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-22-0543. PMID: 36161312; PMCID: PMC9561554.

**IF = 11,5**

**MEiN = 200**

**Cytowania WoS = 3**

### **Wkład merytoryczny:**

Mój udział w pracy jako równorzędny pierwszy współautor (<sup>†</sup> *equal first co-authorship; these authors share first authorship*) polegał na współtworzeniu koncepcji pracy, stworzeniu architektury metodologicznej w obszarze badań histopatologicznych. W ramach tego projektu badawczego zajmowałam się analizą, integracją i interpretacją wszystkich wyników histopatologicznych wykorzystanych w manuskrypcie. Opracowałam metodę kompleksowej oceny próbek przy wykorzystaniu narzędzi patologii cyfrowej. Brałam udział w przygotowaniu manuskryptu oraz dokonałam jego krytycznej oceny całościowej, jak i odpowiedzi na recenzje.

### **Publikacja 3.**

Graham R†, **Gazinska P†**, Zhang B, Khiabany A, Sinha S, Alaguthurai T, Flores-Borja F, Vicencio J, Beuron F, Roxanis I, Matkowski R, Liam-Or R, Tutt A, Ng T, Al-Jamal KT, Zhou Y, Irshad S. Serum-derived extracellular vesicles from breast cancer patients contribute to differential regulation of T-cell-mediated immune-escape mechanisms in breast cancer subtypes. *Frontiers in Immunology* 2023 Jun 22;14:1204224. doi: 10.3389/fimmu.2023.1204224. PMID: 37441083; PMCID: PMC10335744.

**IF = 7,3**

**MEiN = 140**

**Cytowania WoS = 0**

#### **Wkład merytoryczny:**

Mój udział w pracy jako równorzędny pierwszy współautor († *equal first co-authorship; these authors share first authorship*) polegał na współtworzeniu koncepcji pracy, stworzeniu architektury metodologicznej w obszarze badań histopatologicznych i środowiska immunologicznego guzów. W ramach tego projektu badawczego zajmowałam się analizą, integracją i interpretacją wszystkich wyników generowanych z tkankowego materiału ludzkiego wykorzystanego w manuskrypcie. Opracowałam metodę kompleksowej oceny wyników multipleksowego wybarwienia próbek przy wykorzystaniu narzędzi patologii cyfrowej. Brałam udział w przygotowaniu manuskryptu oraz dokonałam jego krytycznej oceny całościowej, jak i odpowiedzi na recenzje.

#### ***Publikacja 4.***

Grigoriadis A†, **Gazinska P†**, Pai T, Irhsad S, Wu Y, Millis R, Naidoo K, Owen J, Gillett CE, Tutt A, Coolen AC, Pinder SE. Histological scoring of immune and stromal features in breast and axillary lymph nodes is prognostic for distant metastasis in lymph node-positive breast cancers. *Journal of Pathology: Clinical Research*. 2018 Jan 8;4(1):39-54. doi: 10.1002/cjp2.87. PMID: 29416876; PMCID: PMC5783956.

**IF = 5,94**

**MEiN = 140**

**Cytowania WoS = 22**

#### **Wkład merytoryczny:**

Mój udział w pracy jako równorzędny pierwszy współautor († *equal first co-authorship; these authors share first authorship*) polegał na stworzeniu koncepcji pracy, stworzeniu architektury metodologicznej w obszarze badań histopatologicznych. W ramach tego projektu badawczego zajmowałem się analizą, integracją i interpretacją wszystkich wyników histopatologicznych wykorzystanych w manuskrypcie. Opracowałam metodę kompleksowej oceny mikro-środowiska immunologicznego guza pierwotnego jak i architektury węzłów chłonnych. Brałam udział w przygotowaniu manuskryptu oraz dokonałam jego krytycznej oceny całościowej, jak i odpowiedzi na recenzje.



# OPIS GŁÓWNEGO OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

## **Wprowadzenie**

Rak piersi (*breast cancer*, BC) jest zróżnicowaną chorobą z wieloma systemami klasyfikacji. Systemy te obejmują klasyfikację kliniczną, obrazową, patologiczną morfologiczną i molekularną, z których każda ma swoje własne podkategorie. Zastosowanie tych systemów może zwiększyć spójność diagnozy BC i ujednolicić postępowanie kliniczne z pacjentami. Podczas gdy klasyfikacje kliniczne i molekularne odgrywają kluczową rolę w określaniu rokowania i podejmowaniu decyzji terapeutycznych, to patologiczna diagnoza morfologiczna służy jako fundamentalna podstawa dla innych systemów klasyfikacji. Potwierdza złośliwość, charakteryzuje guz jako inwazyjny pochodzący z piersi i zapewnia wgląd w typ guza, stopień zaawansowania i inne krytyczne czynniki prognostyczne [1].

Coraz większy nacisk kładzie się również na mikro-środowisko guza i jego wpływ na biologię komórek nowotworowych, zachowanie i odpowiedź na leczenie. BC jest heterogeniczną chorobą, którą można sklasyfikować za pomocą kilku systemów klasyfikacji opartych na biologicznie, morfologicznie i klinicznie znaczących jednostkach. Moje badania koncentrowały się na potrójnie ujemnych rakach piersi (*triple-negative breast cancers*, TNBC) pozbawionych ekspresji receptora estrogenowego (*estrogen receptor*, ER), receptora progesteronowego (*progesterone receptor*, PR) i receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2 (*human epidermal growth factor receptor 2*, HER2), stanowiących około 12-17% klinicznie zdiagnozowanych przypadków [2]. Zmiany te charakteryzują się również wysoką częstością występowania mutacji *TP53*, a także niskim poziomem białka RB i wysokim poziomem białka p16 [3, 4]. Potrójnie ujemne raki piersi występują częściej u pacjentów w wieku poniżej 50 lat [5], którzy są pochodzenia afroamerykańskiego [6] i którzy mają bardziej agresywne zachowanie kliniczne [7-9], a także charakterystyczny wzorec przerzutów [10]. W szczególności TNBC są problematyczne klinicznie, ponieważ nie ma zatwierdzonej ukierunkowanej terapii systemowej dla tych zmian; w niektórych seriach pacjenci z potrójnie ujemnymi rakami piersi mają zwiększone ryzyko nawrotu między 1 a 3 rokiem po diagnozie i zwiększoną śmiertelność w ciągu pierwszych 5 lat po leczeniu. Obecnie chemioterapia jest jedyną dostępną terapią systemową w przypadku TNBC i jest skuteczna u podgrupy pacjentek z chorobą wrażliwą na chemioterapię [11].

Coraz więcej dowodów potwierdza hipotezę, że na progresję raka piersi wpływa rodzaj i funkcjonalność komórek odpornościowych obecnych w mikro-środowisku immunologicznym guza (*tumor immune microenvironment*, TIME). Skupienie się na limfocytach T naciekających guz (*tumor-infiltrating lymphocytes*, TIL) wykazało, że obecność limfocytów T CD8<sup>+</sup> jest prognostyczna dla trwającej remisji, napędzanej przez mechanizmy zależne od interferonu gamma (*interferon gamma*, IFN- $\gamma$ ) [12]. Podobnie, limfocyty T pomocnicze typu 1 (Th1) CD4<sup>+</sup> aktywują i regulują adaptacyjną odpowiedź immunologiczną [13]; a obecność wrodzonych limfocytów T  $\gamma\delta$  wiąże się z poprawą przeżycia, prawdopodobnie poprzez ich zdolność do nadzoru stresu tkankowego [14, 15]. Z kolei regulatorowe limfocyty T FOXP3<sup>+</sup> (Treg) odgrywają kluczową rolę w hamowaniu przeciwnowotworowych odpowiedzi immunologicznych i sprzyjają progresji choroby [16, 17]. W wysoce proliferacyjnych nowotworach piersi, np. TNBC i rakach piersi z dodatnim receptorem ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu-2 (*human epidermal growth factor receptor-2*, HER2) [18-22], które stanowią większość doniesień badających charakter nacieków immunologicznych i lokalizację w TIME, często obserwuje się TIL. Jednak w nowszych badaniach dotyczących luminałnych estrogeno (ER)-dodatnich, HER2-ujemnych raków piersi odnotowano obecność TIL jako niekorzystny czynnik prognostyczny dla przeżycia, co sugeruje różnice w biologii i znaczeniu prognostycznym nacieków immunologicznych w różnych podtypach [23-25].

W złożonym mikro-środowisku guza również komunikacja wewnątrzkomórkowa jest kluczowa i opiera się na złożonych mechanizmach. Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (*extracellular vesicles*, EV) zostały zidentyfikowane jako główne czynniki przyczyniające się do komunikacji między komórkami w lokalnym i odległym środowisku guza [26]. EV to heterogeniczne pęcherzyki o wielkości submikronowej, które obejmują mikro-pęcherzyki (*microvesicles*, MVs) (0,1-2  $\mu$ m), ciała apoptotyczne (1-5  $\mu$ m) i egzosomy (30-150 nm). Niedawno zidentyfikowano nowe subpopulacje egzosomów (duże pęcherzyki egzosomowe, 90-120 nm; małe pęcherzyki egzosomowe, 60-80 nm) oraz liczną populację niebłoniastych nanocząstek określanych jako "egzomery" (~35 nm) [27, 28]. Istnieją jednak pewne nakładające się rozmiary. Najnowsze dowody sugerują, że egzosomy i onkosomy pochodzące z nowotworów (nietypowo duże o średnicy 1-10  $\mu$ m) mogą odgrywać dychotomiczną rolę w regulacji układu odpornościowego, wzmacniając lub tłumiąc odpowiedź immunologiczną w zależności od komórki pochodzenia, komórki docelowej i jej stanu funkcjonalnego [29-31]. Istnieje coraz więcej dowodów na to, że egzosomy przyczyniają się również do

przebudowy mikro-środowiska immunologicznego guza. Komórki nowotworowe mogą unikać odporności przeciwnowotworowej poprzez pakowanie białek (ligandów) programowanej śmierci-1 (*programmed death-ligand 1*, PD-L1) do swoich egzosomów, a egzosomalny PD-L1 hamuje aktywację limfocytów T, umożliwiając im uniknięcie odporności przeciwnowotworowej [29]. Ponadto, egzosomalny PD-L1 wydaje się być odporny na blokadę przeciwciałami anti-PD-L1 [30].

Ekspresja PD-L1 jest jednak niejednorodna i dynamiczna wśród różnych BC. W kontekście heterogeniczności raka piersi, profilowanie EV pochodzących z linii komórkowej raka piersi wykazało, że zawartość pęcherzyków ma zróżnicowany charakter i różni się w zależności od komórki macierzystej. Na przykład, EV linii komórkowej TNBC MDA-MB-231 są wzbogacone w łańcuch beta cząsteczek MHC klasy I, wspierając zaangażowanie EV raka piersi w zmianę rozpoznawania układu odpornościowego w celu promowania wzrostu raka [31].

Wreszcie, kluczowe znaczenie ma nie tylko TIME i wzajemna komunikacja między komórkami nowotworowymi a limfocytami naciekającymi tkanki, ale także wzajemne interakcje z bardziej odległym środowiskiem immunologicznym, takim jak węzły chłonne (*lymph nodes*, LNs). U pacjentów z BC przerzuty do LN są ważnym czynnikiem oceny stopnia zaawansowania nowotworu, a rutynowa ocena pacjentów z inwazyjnym BC obejmuje histopatologiczną ocenę obecności przerzutów, liczby zajętych LN oraz obecności lub braku rozszerzenia pozawęzłowego [32]. LN odgrywają jednak kluczową rolę jako platforma ułatwiająca rozprzestrzenianie się antygenów i promująca interakcje między podgrupami komórek odpornościowych. W odpowiedzi na chorobę zapalne chemokiny i cytokiny pośredniczą w rekrutacji limfocytów i komórek prezentujących antygen, które uzyskują dostęp do LN poprzez drenaż limfatyczny za pośrednictwem naczyń limfatycznych. Przechodząc przez zatokę podtorebkową, te przenoszone przez limfę substancje rozprzestrzeniają się do kory, gdzie limfocyty B, śródpęcherzykowe limfocyty T i komórki dendrytyczne są rozmieszczone w sposób wysoce ograniczony pod względem wielkości, a następnie przemieszczają się przez przewody, aby dotrzeć do strefy limfocytów T parakorteksu LN. W zależności od charakteru bodźców, przedziały te mogą się rozszerzać lub zmniejszać, aby wygenerować optymalną odpowiedź limfocytów B. Ostatecznie limfocyty opuszczają LNs przez odprowadzające naczynia limfatyczne, a LNs powracają do naiwnego, spoczynkowego stanu [33].

**W oparciu o przedstawiony powyżej przegląd literatury i nasze własne badania, zainicjowaliśmy serię badań mających na celu:**

1. Zbadanie cech kliniczno-patologicznych raka piersi typu podstawnego (*basal-like*), zdefiniowanych za pomocą metod molekularnych, immunohistochemicznych i morfologicznych. Ponieważ obecnie nie ma konsensusu co do optymalnej definicji potrójnie ujemnych raków piersi typu podstawnego **[Publikacja 1]**.
2. Zbadanie czy rokowanie u pacjentów z chorobą szczytkową, u których naciek immunologiczny zmienia się po chemioterapii neoadjuwantowej (*neoadjuvant chemotherapy*, NAC) (od niskiej do wysokiej liczby TIL) może zależeć od ogólnego efektu netto pro- i przeciwnowotworowych odpowiedzi immunologicznych. Podobnie, guzy, które pozostają zimne (niskie TIL) po NAC mogą reprezentować guzy, które zachowały / przeszły ucieczkę immunologiczną, co skutkuje wysokim ryzykiem przerzutów. Zatem charakterystyka TIME u tych pacjentów mogłaby zidentyfikować potencjalne cele immunologiczne, które można by zbadać w kontekście strategii leczenia choroby odpornej na chemioterapię po NAC **[Publikacja 2]**.
3. Zbadanie zróżnicowanego wpływu surowicy pacjenta z rakiem piersi i EV pochodzących z linii komórkowej na regulację odpowiedzi immunologicznej za pośrednictwem limfocytów T **[Publikacja 3]**.
4. Kompleksowe skatalogowanie histopatologicznych cech komórek odpornościowych i innych mezenchymalnych nacieków zrębowych w tkance nowotworowej, tkance okołoguzowej i tkance węzłów pachowych oraz określenie, czy którakolwiek z tych cech ma wartość prognostyczną w raku piersi **[Publikacja 4]**.

## **Cel ten został osiągnięty poprzez szczegółową analizę w następujących obszarach [Publikacja 1]:**

Wybór pacjentów. Badanie to obejmowało integrację danych klinicznych i patologicznych od 142 pacjentek, z których żadna nie przeszła wcześniejszej terapii neoadiuwantowej.

Ocena histologiczna. Na podstawie oceny preparatów diagnostycznych (*hematoxylin and eosin*, H&E) przypadki zostały zgłoszone jako inwazyjny typ przewodowy/niespecjalny z cechami podstawnymi "Path-Basal", gdy charakteryzowały się litym wzorem wzrostu i przesuwającym się marginesem inwazji ze skąpym interweniującym zrębem. W większości przypadków obserwowano zręby bogate w limfocyty z rozległymi obszarami martwicy.

Na podstawie oceny wyników immunohistochemii przypadki podzielono na 2 grupy: potrójnie ujemne BC z dodatnim wynikiem dla receptora nabłonkowego czynnika wzrostu (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) i/lub (*cytokeratin*, CK5/6), określane jako "Core Basal", oraz BC o fenotypie pięciomarkerowym ujemnym (5NP=ujemny dla ER, PR, HER2, CK5/6 i EGFR).

Podtypowanie molekularne "PAM50-Basal" na podstawie ekspresji genów. Profile ekspresji genów raka piersi uzyskano za pomocą analizy (*Prediction Analysis of Microarray 50*, PAM50). Przypisanie guzów do podtypów molekularnych oparto na ich najwyższej korelacji rang Spearmana.

## **Cel ten został osiągnięty poprzez szczegółową analizę w następujących obszarach [Publikacja 2]:**

Wybór pacjentów. Badanie to obejmowało integrację danych klinicznych i patologicznych 153 pacjentek z chorobą resztkową nowotworu (*residual cancer burden*, RCB) II/III – TNBC (n=80); ER+/HER2-neg (n=73). Próbki wyjściowe sprzed NAC były dostępne do oceny dla 32 z 80 przypadków TNBC i 36 z 73 przypadków ER+/HER2-.

Ocena histopatologiczna. Ocena H&E w jasnym polu pozwoliła na ocenę TIL we wszystkich przypadkach. Multipleksowana immunofluorescencja została wykorzystana do identyfikacji liczebności i rozmieszczenia podzbiorów komórek odpornościowych. Określono również ilościowo poziomy punktów kontrolnych, w tym ekspresję PD-1/PD-L1. Wyniki zostały następnie zweryfikowane przy użyciu profilowania ekspresji genów związanych z rakiem i układem odpornościowym. Cytometria czasu przelotu

scharakteryzowała dynamiczne zmiany w krążących komórkach odpornościowych z NAC.

**Cel ten został osiągnięty poprzez szczegółową analizę w następujących obszarach [Publikacja 3]:**

Wybór pacjentów i modeli *in vitro*. W badaniu wzięło udział 63 pacjentów z rakiem piersi, 15 zdrowych ochotników i 4 linie komórkowe ludzkiego raka piersi. Ponadto uwzględniono 218 retrospektywnych próbek BC.

Do izolacji EV z surowic pacjentów poddawanych chemioterapii neoadiuwantowej zastosowano ultrawirowanie. Charakterystykę EV przeprowadzono za pomocą analizy śledzenia nanocząstek (*Nanoparticle Tracking Analysis*, NTA), transmisyjnej mikroskopii elektronowej (*transmission electron microscopy*, TEM) i immunoblottingu. Barwienie CD63 przeprowadzono na mikromacierzy tkankowej (TMA) 218 pacjentów z BC i modeli *in vitro* z wykorzystaniem narzędzi patologii cyfrowej. Wewnętrzne algorytmy bioinformatyczne zostały wykorzystane do obliczenia wyników ekspresji związanych z EV w ramach *The Cancer Genome Atlas* (*The Cancer Genome Atlas*, TCGA) i skorelowane z wynikami limfocytów naciekających nowotwór (TIL). Przeprowadzono stymulację *in vitro* PBMC EVs z surowicy i EVs pochodzących z linii komórkowej, a zmiany w fenotypach immunologicznych scharakteryzowano za pomocą cytometrii przepływowej. Profile cytokin oceniano za pomocą testu immunologicznego 105-plex lub testu ELISA na IL10.

**Cel ten został osiągnięty poprzez szczegółową analizę w następujących obszarach [Publikacja 4]:**

Wybór pacjentów. Badanie to obejmowało integrację danych klinicznych i patologicznych z kohorty 309 pacjentów wzbogaconych o TNBC (170/309), podczas gdy 139 pacjentów nie miało TNBC: receptor hormonalny-dodatni/HER2-ujemny (n=62), receptor hormonalny-ujemny/HER2-dodatni (n=59) i receptor hormonalny-dodatni/HER2-dodatni (n=18).

Charakterystyka histologiczna obejmowała cechy immunologiczne i zrębu w guzach pierwotnych oraz związane z nimi zajęte i niezajęte pachowe LN w rutynowych badaniach H&E. Spośród 309 pacjentów 143 miało chorobę LN-dodatnią. Oceniono 25 cech histopatologicznych, w tym stopień obecności TIL, ilościową i jakościową ocenę

ośrodków zarodkowych (*germinal centres*, GC) oraz histiocytozę zatokową. W celu zidentyfikowania optymalnych zestawów kowariancji do przewidywania przeżycia wolnego od przerzutów odległych (*distant metastasis-free survival*, DMFS) wykorzystano wielowariantowe i krzyżowo walidowane analizy regresji proporcjonalnego ryzyka. Stopień wewnątrznowotworowego i okołonowotworowego nacieku immunologicznego był związany ze zmianami architektonicznymi zarówno w niezaangażowanych, jak i zaangażowanych LN. W przypadku raków LN-dodatnich połączenie klasyfikacji Salgado, limfocytarnego zapalenia zrazików, wielkości i liczby GC w niezaangażowanych LN oraz lokalizacji GC w zaangażowanych LN niosło ze sobą istotne informacje prognostyczne.

### **Efekty wdrożenia wyżej wymienionych tematów badawczych to:**

Porównując guzy sklasyfikowane jako podstawne według tych trzech różnych metodologii ("Core Basal", "Path-Basal" i "PAM50-Basal") zidentyfikowano 116/142 potrójnie ujemnych raków piersi jako podstawne według co najmniej jednej oceny. Tylko n=13 przypadków zostało zdefiniowanych jako rak podstawnokomórkowy we wszystkich trzech metodach. Spośród nich n=9 próbek było dodatnich pod względem EGFR, n=7 było dodatnich pod względem CK5/6, n=5 było dodatnich pod względem CK14, n=5 miało dodatni status węzłowy, n=4 miały powiązane DCIS i zwłóknienie, a n=2 wykazywały naciek limfocytarny. Warto zauważyć, że we wszystkich n=13 próbkach nie stwierdzono inwazji limfatyczno-naczyniowej, podczas gdy w n=35 z pozostałych zmian (32%) zidentyfikowano inwazję limfatyczno-naczyniową (dokładny test Fishera; PL0,038). Tylko 17/68 potrójnie ujemnych raków piersi "Core Basal" zostało przypisanych jako "Path-Basal", co sugeruje niską czułość (26%) oceny histologicznej w celu identyfikacji zmian "Core Basal". W przeciwieństwie do tego, klasyfikacja "PAM50-Basal" przypisała 44/68 potrójnie ujemnych raków piersi "Core Basal" do podtypu molekularnego podobnego do podstawnego, wykazując 64% czułość, ale niską swoistość wynoszącą 51% w celu identyfikacji zmian innych niż podstawne.

Aby ocenić, czy raki piersi zdefiniowane jako podstawne za pomocą tych trzech różnych metod różniły się w przewidywaniu rokowania, oszacowano skumulowaną częstość występowania zgonów z powodu raka piersi. Potrójnie ujemne raki piersi sklasyfikowane jako "Core Basal" wykazywały zwiększone ryzyko zgonu w ciągu 15- lat od diagnozy w porównaniu z tymi przypisanymi jako "Path-Basal" lub "PAM50-Basal".

Jednakże, osoby scharakteryzowane jako "Core Basal" nie miały statystycznie istotnie różnych wyników niż te, które nie były "Core Basal", podczas gdy dwie inne charakterystyki rozdzieliły pacjentów pod względem rokowania. Znacznie lepsze 15-letnie przeżycie specyficzne dla raka piersi zaobserwowano u kobiet z guzami w grupach "PAM50-Basal" i "Path-Basal" w porównaniu z pozostałymi próbkami.

Podsumowując, niniejsze badanie wykazało, że identyfikacja i częstość klasyfikacji inwazyjnego raka piersi typu podstawnego zależy od zastosowanej metodologii. Co ważne, wykazaliśmy, że zidentyfikowane zmiany różnią się pod względem cech kliniczno-patologicznych. Chociaż wiele badań i prób klinicznych wykorzystuje klasyfikację molekularną do definiowania raka piersi typu podstawnego, możliwe jest, że podejście to nie jest specyficzne i przecenia częstość występowania fenotypu podobnego do podstawnego w potrójnie ujemnym raku piersi. Istnieje również potrzeba jasności w publikacjach dotyczących metodologii i potwierdzenia wcześniejszych obserwacji, że potrójnie ujemny rak piersi i rak piersi typu podstawnego nie są synonimami. Badanie to podkreśla potrzebę zdefiniowania rutynowo ocenianej serii cech (potencjalnie mieszanki biomarkerów morfologicznych i immunohistochemicznych) charakteryzujących tę kategorię raków inwazyjnych **[Publikacja 1]**.

Rak piersi RCB II/III TNBC i ER+/HER2- był immunologicznie "zimny" na początku i na końcu NAC. Chociaż rozkład podgrup komórek odpornościowych w podtypach był podobny, profile ekspresji mRNA były zarówno specyficzne dla podtypu, jak i chemioterapii. Choroba TNBC RCB II/III była wzbogacona o geny związane z degranulacją neutrofilii i wykazywała silną interakcję między szlakami immunologicznymi i nowotworowymi. Zaobserwowano podobieństwa w dynamicznych zmianach w biologii limfocytów B po NAC niezależnie od podtypu. Jednak NAC indukowała zmiany w lokalnym i krążącym TIME, które różniły się w zależności od podtypu i odpowiedzi. W szczególności, w chorobie resztkowej TNBC zaobserwowaliśmy obniżenie ekspresji receptorów stymulujących (CD40/OX40L) i hamujących (PD-L1/PD-1) oraz wzrost populacji komórek NK (zwłaszcza niecytolitycznych, wyczerpanych CD56dimCD16-) zarówno w lokalnym TIME, jak i obwodowych populacjach białych krwinek.

Podsumowując, przedstawiamy szczegółową ocenę opornych na chemioterapię, immunologicznie zimnych nowotworów TNBC i ER+/HER2-, identyfikując szereg potencjalnych celów immunologicznych, które wymagają dalszej eksploracji w tym



kontekście, ponieważ te pacjentki wysokiego ryzyka mogą odnieść korzyści z podejść immunomodulacyjnych, które mogą być testowane w przyszłych badaniach klinicznych. Dodatkowo, monitorowanie dynamiki immunologicznej guza podłużnie podczas chemioterapii jest wykonalne i odzwierciedla zdarzenia w obrębie guza, a zatem może pomóc we wczesnym przewidywaniu odpowiedzi terapeutycznej i potencjalnie pozwolić na dostosowanie leczenia przed ostateczną operacją **[Publikacja 2]**.

Pacjentki z TNBC wykazywały najniższą liczbę EV w surowicy, podczas gdy najwyższą wykryto w nowotworach ER+/HER2+; odzwierciedlone również w wyższym poziomie pęcherzyków CD63+ znalezionych w lokalnym mikro-środowisku guza ER+/HER2+. Analiza transkryptomyczna danych TCGA wykazała, że próbki, którym przypisano niższe wyniki EV, miały znacznie większą liczbę aktywowanych komórek T pamięci CD4+, komórek pęcherzykowych T i komórek T CD8, osocza i komórek B pamięci; podczas gdy próbki z wysokimi wynikami EV były bardziej wzbogacone o przeciwzapalne makrofagi M2 i komórki tuczne. Zaobserwowano również ujemną korelację między wynikami ekspresji EV a liczbą zrębu TIL. Eksperymenty *in vitro* potwierdziły, że krążące EV w podtypach raka piersi mają funkcjonalnie różne zdolności immunomodulacyjne, przy czym EV od pacjentek z najbardziej agresywnym podtypem raka piersi (TNBC) wykazują najbardziej immunosupresyjny fenotyp (zmniejszone CD3+HLA-DR+, ale zwiększone CD3+PD-L1 T komórki, zwiększone CD4+CD127-CD25hi T komórki regulatorowe z powiązaniem wzrostem produkcji cytokin IL10). Dogłębna ocena modulacji cytokin wywołanej przez egzosomy pochodzące z surowicy/linii komórkowej potwierdziła zróżnicowane profile cytokin zapalnych w różnych podtypach raka piersi. Badania z wykorzystaniem egzosomów pochodzących z linii komórkowej raka piersi MDA-231 TNBC dostarczyły dalszego wsparcia, że egzosomy TNBC indukowały najbardziej immunosupresyjną odpowiedź w PBMCs.

Podsumowując, nasze badanie wspiera dalsze badania nad tym, w jaki sposób EV pochodzące z nowotworów są mechanizmem, który nowotwory mogą wykorzystywać do promowania supresji immunologicznej oraz w jaki sposób podtypy raka piersi wytwarzają EV o różnych zdolnościach immunomodulacyjnych. Zrozumienie wewnątrzkomórkowych/zewnątrzkomórkowych szlaków związanych ze zmianą stanu immunologicznego z aktywnego na stłumiony przez EV jest niezbędne do opracowania skutecznych terapii ukierunkowanych na EV, mających na celu przywrócenie kompetencji immunologicznych pacjenta **[Publikacja 3]**.

Oceniono n=25 cech histopatologicznych, w tym stopień obecności TIL, ilościową i jakościową ocenę GC oraz histiocytozę zatokową. W celu zidentyfikowania optymalnych zestawów kowariancji do przewidywania przeżycia wolnego od przerzutów odległych (DMFS) wykorzystano wielowariantowe i krzyżowo walidowane analizy regresji proporcjonalnego ryzyka. Stopień wewnątrz-nowotworowego i okołonowotworowego nacieku immunologicznego był związany ze zmianami architektonicznymi zarówno w niezaangażowanych, jak i zaangażowanych LNs. Dzięki uwzględnieniu charakterystyki kliniczno-patologicznej, jak również cech histopatologicznych guza i LNs w modelach proporcjonalnego ryzyka L2, przewidywanie 5-letniego przeżycia wolnego od przerzutów odległych (*distant metastasis-free survival*, DMFS) poprawiło się o 3-15% w stosunku do wartości wyjściowej we wszystkich nowotworach i TNBC. W przypadku raków LN-dodatnich połączenie klasyfikacji Salgado, limfocytarnego zapalenia zrazików, wielkości i liczby GC w niezaangażowanych LN oraz lokalizacji GC w zaangażowanych LN niosło ze sobą istotne informacje prognostyczne. Na podstawie tych cech skonstruowano wieloczynnikową stabilną sygnaturę ryzyka, która zidentyfikowała grupy niskiego ryzyka zarówno w grupie LN-dodatnich raków piersi, jak i w grupie LN-dodatnich TNBC z prawdopodobieństwem 10-letniego DMFS wynoszącym odpowiednio 78 i 87%. Badanie to ilustruje, że poprzez uwzględnienie histopatologicznych wzorców zajętych i niezajętych LN w połączeniu z pierwotnymi cechami immunologicznymi i zrębowymi guza, można dokładniej oszacować przewidywanie rozwoju odległych przerzutów w LNs-dodatnich rakach piersi.

Podsumowując, moje badanie podkreśla wartość dodaną kompleksowego badania histopatologicznego cech nowotworowych, okołoguzowych i węzłowych w celu przewidywania odległych przerzutów. Co więcej, wyniki te wskazują na nowe histopatologiczne narzędzie prognostyczne, które poprawia dokładność przewidywania 5-letniego DMFS w rakach piersi wysokiego ryzyka. Jeśli narzędzie to zostanie zwalidowane, może zostać wdrożone do standardowej praktyki histopatologicznej **[Publikacja 4]**.

### **Piśmiennictwo dotyczące osiągnięcia głównego:**

1. Rakha EA, Tse GM, Quinn CM. An update on the pathological classification of breast cancer. *Histopathology*. 2023 Jan;82(1):5-16.
2. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2010;363:1938–1948.
3. Rakha E, Reis-Filho JS. Basal-like breast carcinoma: from expression profiling to routine practice. *Arch Pathol Lab Med*. 2009; 133 (PubMed PMID: 19492878): 860-868
4. Subhawong AP, Subhawong T, Nassar H. Most basal-like breast carcinomas demonstrate the same Rb-/p16+ immunophenotype as the HPV-related poorly differentiated squamous cell carcinomas which they resemble morphologically. *Am J Surg Pathol*. 2009; 33 (PubMed PMID: 18936692; PMCID 2965595): 163-175
5. Carey LA, Dees EC, Sawyer L. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res*. 2007; 13 (PubMed PMID: 17438091): 2329-2334
6. Morris GJ, Naidu S, Topham AK. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer*. 2007; 110 (PubMed PMID: 17620276): 876-884
7. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004; 10 (PubMed PMID: 15328174): 5367-5374
8. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98 (PubMed PMID: 11553815; PMCID 58566): 10869-10874  
10.1073/pnas.191367098
9. Subhawong AP, Subhawong T, Nassar H. Most basal-like breast carcinomas demonstrate the same Rb-/p16+ immunophenotype as the HPV-related poorly differentiated squamous cell carcinomas which they resemble morphologically. *Am J Surg Pathol*. 2009; 33: 163-175

10. Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res.* 2007; 9 (PubMed PMID: 17217540; PMCID 1851397): R4 10.1186/bcr1636
11. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res.* 2007; 13 (PubMed PMID: 17671126): 4429-4434 10.1158/1078-0432.CCR-06-3045
12. Antony PA, Piccirillo CA, Akpınarli A, Finkelstein SE, Speiss PJ, Surman DR, et al.. CD8+ T cell immunity against a tumor/self-antigen is augmented by CD4+ T helper cells and hindered by naturally occurring T regulatory cells. *J Immunol* 2005;174:2591–601.
13. Marie JC, Letterio JJ, Gavin M, Rudensky AY. TGF-beta1 maintains suppressor function and Foxp3 expression in CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Exp Med* 2005;201:1061–7.
14. Wu Y, Kyle-Cezar F, Woolf RT, Naceur-Lombardelli C, Owen J, Biswas D, et al.. An innate-like Vdelta1(+) gammadelta T cell compartment in the human breast is associated with remission in triple-negative breast cancer. *Sci Transl Med* 2019;11:eaax9364.
15. Craven KE, Gokmen-Polar Y, Badve SS. CIBERSORT analysis of TCGA and METABRIC identifies subgroups with better outcomes in triple-negative breast cancer. *Sci Rep* 2021;11:4691.
16. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immun'ty's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011;331:1565–70.
17. Ghebeh H, Barhoush E, Tulbah A, Elkum N, Al-Tweigeri T, Dermime S. FOXP3+ Tregs and B7-H1+/PD-1+ T lymphocytes co-infiltrate the tumor tissues of high-risk breast cancer patients: Implication for immunotherapy. *BMC Cancer* 2008;8:57.
18. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al.. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol* 2014;32:2959–66.
19. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Muller BM, Komor M, et al.. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:105–13.

20. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al.. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol* 2013;31:860–7.
21. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, Equeter C, Libin M, de Wind A, et al.. CD4(+) follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. *J Clin Invest* 2013;123:2873–92.
22. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, et al.. Tumor-infiltrating lymphocytes are prognostic in triple-negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann Oncol* 2014;25:1544–50.
23. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol* 2018;19:40–50.
24. Kortlever RM, Sodir NM, Wilson CH, Burkhart DL, Pellegrinet L, Brown Swigart L, et al. Myc cooperates with ras by programming inflammation and immune suppression. *Cell* 2017;171:1301–15.
25. Quigley D, Silwal-Pandit L, Dannenfelser R, Langerod A, Vollan HK, Vaske C, et al.. Lymphocyte invasion in IC10/basal-like breast tumors is associated with wild-type TP53. *Mol Cancer Res* 2015;13:493–501.
26. Wortzel I, Dror S, Kenific CM, Lyden D. Exosome-mediated metastasis: communication from a distance. *Dev Cell* (2019) 49(3):347–60. doi: 10.1016/j.devcel.2019.04.011
27. van Doormaal FF, Kleinjan A, Di Nisio M, Büller HR, Nieuwland R. Cell-derived microvesicles and cancer. *Netherlands J Med* (2009) 67(7):266–73.
28. Zhou J, Yang Y, Wang W, Zhang Y, Chen Z, Hao C, et al. Melanoma-released exosomes directly activate the mitochondrial apoptotic pathway of CD4(+) T cells through their microRNA cargo. *Exp Cell Res* (2018) 371(2):364–71. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.08.030
29. Wen SW, Lima LG, Lobb RJ, Norris EL, Hastie ML, Krumeich S, et al. Breast cancer-derived exosomes reflect the cell-of-Origin phenotype. *Proteomics* (2019) 19(8):e1800180. doi: 10.1002/pmic.201800180

30. Maacha S, Bhat AA, Jimenez L, Raza A, Haris M, Uddin S, et al. Extracellular vesicles-mediated intercellular communication: roles in the tumor microenvironment and anti-cancer drug resistance. *Mol Cancer* (2019) 18(1):55. doi: 10.1186/s12943-019-0965-7
31. Minciacchi VR, Freeman MR, Di Vizio D. Extracellular vesicles in cancer: exosomes, microvesicles and the emerging role of large oncosomes. *Semin Cell Dev Biol* (2015) 40:41–51. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.02.010
32. The Royal College of Pathologists. available from: <https://www.rcpath.org/resourceLibrary/g148-breastdataset-hires-jun16-pdf.html>. Accessed 5 June 2018.
33. Willard-Mack C. L. (2006). Normal structure, function, and histology of lymph nodes. *Toxicol. Pathol.* 34 409–424. 10.1080/01926230600867727

## **OPIS DODTKOWYCH OSIAGNIĘĆ NAUKOWYCH**

W kolejnej części autoreferatu przedstawiam dodatkowe osiągnięcia naukowe w formie dwóch pobocznych nurtów tematycznych wpisujących się w obszar współczesnych badań z zakresu onkologii. Wyniki prowadzonych badań zostały zaprezentowane w szeregu artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach z *impact factor*.

### **DODATKOWY NURT TEMATYCZNY I**

#### **Badania genetyczne, nowe cele terapeutyczne w TNBC**

Potrójnie ujemny rak piersi (*triple negative breast cancer*, TNBC) to forma raka piersi, która charakteryzuje się brakiem receptorów estrogenowych i progesteronowych (ER i PR) oraz brakiem nadmiernego wydzielania białka receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu (*human epidermal growth factor receptor 2*, HER2). TNBC stanowi około 10-15% wszystkich przypadków klinicznych raka piersi. Jest on częściej diagnozowany u kobiet poniżej 40. roku życia oraz u tych, które posiadają mutację w genie BRCA1. TNBC wyróżnia się wysoką inwazyjnością, niekorzystnym przebiegiem klinicznym oraz złym rokowaniem. Poniższe badania skupiają się głównie na zrozumieniu krajobrazu genomowego TNBC, związanego z mechanizmami uszkodzeń i naprawy DNA, niestabilnością chromosomalną oraz czynnikami związanymi z opornością na inhibitory PARP. Głównym celem tych badań jest poprawa wyników leczenia pacjentek z rakiem piersi, a także identyfikacja nowych celów terapeutycznych, diagnostycznych i prognostycznych. Przykładowo jedna z ostatnio opublikowanych prac w cyklu powiązała wysoką infiltrację komórek immunologicznych z odpowiedzią na docetaksel, a wysoki wynik sygnatury DNA (*damage response*, DDR) z odpowiedzią na karboplatynę u pacjentek z (*metastatic*) mTNBC.

#### **Piśmiennictwo dotyczące dodatkowego nurtu tematycznego I:**

1. Tovey H, Sipos O, Parker JS, Hoadley KA, Quist J, Kernaghan S, Kilburn L, Salgado R, Loi S, Kennedy RD, Roxanis I, **Gazinska P**, Pinder SE, Bliss J, Perou CM, Haider S, Grigoriadis A, Tutt A, Cheang MCU. Integrated Multimodal Analyses of DNA Damage Response and Immune Markers as Predictors of Response in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer in the TNT Trial

- (NCT00532727). Clin Cancer Res. 2023 Aug 14;OF1-OF15. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-23-0370. Epub ahead of print. **IF = 11,5 / MEiN = 200 pkt.**
2. Bland P, Saville H, Wai PT, Curnow L, Muirhead G, Nieminuszczy J, Ravindran N, John MB, Hedayat S, Barker HE, Wright J, Yu L, Mavrommati I, Read A, Peck B, Allen M, **Gazinska P**, Pemberton HN, Gulati A, Nash S, Noor F, Guppy N, Roxanis I, Pratt G, Oldreive C, Stankovic T, Barlow S, Kalirai H, Coupland SE, Broderick R, Alsafadi S, Houy A, Stern MH, Pettit S, Choudhary JS, Haider S, Niedzwiedz W, Lord CJ, Natrajan R. SF3B1 hotspot mutations confer sensitivity to PARP inhibition by eliciting a defective replication stress response. Nat Genet. 2023 Jul 31. doi: 10.1038/s41588-023-01460-5. Epub ahead of print. PMID: 37524790. **IF = 30,8 / MEiN = 200 pkt.**
  3. Peck B, Bland P, Mavrommati I, Muirhead G, Cottom H, Wai PT, Maguire SL, Barker HE, Morrison E, Kriplani D, Yu L, Gibson A, Falgari G, Brennan K, Farnie G, Buus R, Marlow R, Novo D, Knight E, Guppy N, Kolarevic D, Susnjar S, Milijic NM, Naidoo K, **Gazinska P**, Roxanis I, Pancholi S, Martin LA, Holgersen EM, Cheang MCU, Noor F, Postel-Vinay S, Quinn G, McDade S, Krasny L, Huang P, Daley F, Wallberg F, Choudhary JS, Haider S, Tutt AN, Natrajan R. 3D Functional Genomics Screens Identify CREBBP as a Targetable Driver in Aggressive Triple-Negative Breast Cancer. Cancer Res. 2021 Feb 15;81(4):847-859. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1822. Epub 2021 Jan 28. PMID: 33509944; PMCID: PMC7611219. **IF = 13,31 / MEiN = 200 pkt.**
  4. Sipos O, Tovey H, Quist J, Haider S, Nowinski S, **Gazinska P**, Kernaghan S, Toms C, Maguire S, Orr N, Linn SC, Owen J, Gillett C, Pinder SE, Bliss JM, Tutt A, Cheang MCU, Grigoriadis A. Assessment of structural chromosomal instability phenotypes as biomarkers of carboplatin response in triple negative breast cancer: the TNT trial. Ann Oncol. 2021 Jan;32(1):58-65. doi: 10.1016/j.annonc.2020.10.475. Epub 2020 Oct 21. PMID: 33098992; PMCID: PMC7784666. **IF = 51,77 / MEiN = 200 pkt.**
  5. Tutt A, Tovey H, Cheang MCU, Kernaghan S, Kilburn L, **Gazinska P**, Owen J, Abraham J, Barrett S, Barrett-Lee P, Brown R, Chan S, Dowsett M, Flanagan JM, Fox L, Grigoriadis A, Gutin A, Harper-Wynne C, Hatton MQ, Hoadley KA, Parikh J, Parker P, Perou CM, Roylance R, Shah V, Shaw A, Smith IE, Timms KM, Wardley AM, Wilson G, Gillett C, Lanchbury JS, Ashworth A, Rahman N, Harries M, Ellis P, Pinder Se, Bliss JM. CarboplatIn in BRCA1/2-mutated and triple-



- negative breast cancer BRCAness subgroups: the TNT Trial. *Nat Med*. 2018 May;24(5):628-637. doi: 10.1038/s41591-018-0009-7. Epub 2018 Apr 30. PMID: 29713086; PMCID: PMC6372067. **IF = 30,64 / MEiN = 200 pkt.**
6. Bajrami I, Marlow R, van de Ven M, Brough R, Pemberton HN, Frankum J, Song F, Rafiq R, Konde A, Krastev DB, Menon M, Campbell J, Gulati A, Kumar R, Pettitt SJ, Gurden MD, Cardenosa ML, Chong I, **Gazinska P**, Wallberg F, Sawyer EJ, Martin LA, Dowsett M, Linardopoulos S, Natrajan R, Ryan CJ, Derksen PWB, Jonkers J, Tutt ANJ, Ashworth A, Lord CJ. E-Cadherin/ROS1 Inhibitor Synthetic Lethality in Breast Cancer. *Cancer Discov*. 2018 Apr;8(4):498-515. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0603. PMID: 29610289; PMCID: PMC6296442. **IF = 26,37 / MEiN = 200 pkt.**
  7. Patel N, Weekes D, Drosopoulos K, **Gazinska P**, Noel E, Rashid M, Mirza H, Quist J, Brasó-Maristany F, Mathew S, Ferro R, Pereira AM, Prince C, Noor F, Francesch-Domenech E, Marlow R, de Rinaldis E, Grigoriadis A, Linardopoulos S, Marra P, Tutt ANJ. Integrated genomics and functional validation identifies malignant cell specific dependencies in triple negative breast cancer. *Nat Commun*. 2018 Mar 13;9(1):1044. doi: 10.1038/s41467-018-03283-z. PMID: 29535384; PMCID: PMC5849766. **IF = 11,88 / MEiN = 200 pkt.**
  8. Yates LR, Knappskog S, Wedge D, Farmery JHR, Gonzalez S, Martincorena I, Alexandrov LB, Van Loo P, Haugland HK, Lilleng PK, Gundem G, Gerstung M, Pappaemmanuil E, **Gazinska P**, Bhosle SG, Jones D, Raine K, Mudie L, Latimer C, Sawyer E, Desmedt C, Sotiriou C, Stratton MR, Sieuwerts AM, Lynch AG, Martens JW, Richardson AL, Tutt A, Lønning PE, Campbell PJ. Genomic Evolution of Breast Cancer Metastasis and Relapse. *Cancer Cell*. 2017 Aug 14;32(2):169-184.e7. doi: 10.1016/j.ccell.2017.07.005. PMID: 28810143; PMCID: PMC5559645. **IF = 22,84 / MEiN = 200 pkt.**
  9. Brasó-Maristany F, Filosto S, Catchpole S, Marlow R, Quist J, Francesch-Domenech E, Plumb DA, Zakka L, **Gazinska P**, Lippardi G, Meier P, Gris-Oliver A, Cheang MCU, Perdrix-Rosell A, Shafat M, Noël E, Patel N, McEachern K, Scaltriti M, Castel P, Noor F, Buus R, Mathew S, Watkins J, Serra V, Marra P, Grigoriadis A, Tutt AN. Erratum: PIM1 kinase regulates cell death, tumor growth and chemotherapy response in triple-negative breast cancer. *Nat Med*. 2017 Jun 6;23(6):788. doi: 10.1038/nm0617-788b. Erratum for: *Nat Med*. 2016 Nov;22(11):1303-1313. PMID: 28586336. **IF = 29,89 / MEiN = 50 pkt.**

10. Watkins J, Weekes D, Shah V, **Gazinska P**, Joshi S, Sidhu B, Gillett C, Pinder S, Vanoli F, Jasin M, Mayrhofer M, Isaksson A, Cheang MC, Mirza H, Frankum J, Lord CJ, Ashworth A, Vinayak S, Ford JM, Telli ML, Grigoriadis A, Tutt AN. Genomic Complexity Profiling Reveals That HORMAD1 Overexpression Contributes to Homologous Recombination Deficiency in Triple-Negative Breast Cancers. *Cancer Discov.* 2015 May;5(5):488-505. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1092. Epub 2015 Mar 13. PMID: 25770156; PMCID: PMC44901. **IF = 19,78 / MEiN = 50 pkt.**
11. Gracio F, Burford B, **Gazinska P**, Mera A, Mohd Noor A, Marra P, Gillett C, Grigoriadis A, Pinder S, Tutt A, de Rinaldis E. Splicing imbalances in basal-like breast cancer underpin perturbation of cell surface and oncogenic pathways and are associated with patients' survival. *Sci Rep.* 2017 Jan 6;7:40177. doi: 10.1038/srep40177. PMID: 28059167; PMCID: PMC5216415. **IF = 4,01 / MEiN = 45 pkt.**
12. de Rinaldis E, **Gazinska P**, Mera A, Modrusan Z, Fedorowicz GM, Burford B, Gillett C, Marra P, Grigoriadis A, Dornan D, Holmberg L, Pinder S, Tutt A. Integrated genomic analysis of triple-negative breast cancers reveals novel microRNAs associated with clinical and molecular phenotypes and sheds light on the pathways they control. *BMC Genomics.* 2013 Sep 23;14:643. doi: 10.1186/1471-2164-14-643. PMID: 24059244; PMCID: PMC4008358. **IF = 4,04 / MEiN = 40 pkt.**
13. Arulappu A, Battle M, Eisenblatter M, McRobbie G, Khan I, Monypenny J, Weitsman G, Galazi M, Hoppmann S, **Gazinska P**, Wulaningsih W, Dalsgaard GT, Macholl S, Ng T. c-Met PET Imaging Detects Early-Stage Locoregional Recurrence of Basal-Like Breast Cancer. *J Nucl Med.* 2016 May;57(5):765-70. doi: 10.2967/jnumed.115.164384. Epub 2015 Dec 3. PMID: 26635342. **IF = 7,44 / MEiN = 45 pkt.**

**IF = 237,9**

**MEiN = 1630 pkt.**

## **DODATKOWY NURT TEMATYCZNY II**

### **Badania histopatologiczne z zastosowaniem technologii cyfrowej**

Aplikacja najnowszych technologii opartych na cyfryzacji i analizach komputerowych preparatów histopatologicznych z uwzględnieniem integracji danych z informacjami klinicznymi o pacjencie i danymi demograficznymi umożliwiła znaczący postęp w badaniach translacyjnych i podstawowych z wykorzystaniem materiału histopatologicznego. Poniższe prace demonstrują aplikacyjne zastosowanie metod z obszaru patologii komputerowej. Opracowania systemów komputerowych do rutynowej oceny biomarkerów immunohistochemicznych, analiz mikro-środowiska guzów piersi i węzłów chłonnych. Przykładowo jedna z ostatnio opublikowanych prac w cyklu zademonstrowała zastosowanie sztucznej inteligencji do identyfikacji sygnatury prognostycznej u pacjentek z TNBC. W tym celu zostały wykorzystane obrazy cyfrowe węzłów chłonnych barwionych wyłącznie hemotoksyną i eozyną. Analizy wykazały, że informacje zawarte w obrazie histopatologicznym węzłów chłonnych, poza wykrywaniem przerzutów, mają również znaczenie w prognozowaniu pacjentek z TNBC.

### **Piśmiennictwo dotyczące dodatkowego nurtu tematycznego II:**

1. Verghese G, Li M, Liu F, Lohan A, Kurian NC, Meena S, **Gazinska P**, Shah A, Oozeer A, Chan T, Opdam M, Linn S, Gillett C, Alberts E, Hardiman T, Jones S, Thavaraj S, Jones JL, Salgado R, Pinder SE, Rane S, Sethi A, Grigoriadis A. Multiscale deep learning framework captures systemic immune features in lymph nodes predictive of triple negative breast cancer outcome in large-scale studies. *J Pathol.* 2023 May 25. doi: 10.1002/path.6088. Epub ahead of print. PMID: 37230111. **IF = 7,3 / MEiN = 140 pkt.**
2. Liu F, Hardiman T, Wu K, Quist J, **Gazinska P**, Ng T, Purushotham A, Salgado R, Guo X, Pinder SE, Grigoriadis A. Systemic immune reaction in axillary lymph nodes adds to tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer prognostication. *NPJ Breast Cancer.* 2021 Jul 5;7(1):86. doi: 10.1038/s41523-021-00292-y. PMID: 34226563; PMCID: PMC8257702. **IF = 7,52 / MEiN = 40 pkt.**
3. Howat WJ, Blows FM, Provenzano E, Brook MN, Morris L, **Gazinska P**, Johnson N, McDuffus LA, Miller J, Sawyer EJ, Pinder S, van Deurzen CH, Jones L, Sironen R, Visscher D, Caldas C, Daley F, Coulson P, Broeks A, Sanders J, Wesseling J,

Nevanlinna H, Fagerholm R, Blomqvist C, Heikkilä P, Ali HR, Dawson SJ, Figueroa J, Lissowska J, Brinton L, Mannermaa A, Kataja V, Kosma VM, Cox A, Brock IW, Cross SS, Reed MW, Couch FJ, Olson JE, Devillee P, Mesker WE, Seyaneve CM, Hollestelle A, Benitez J, Perez JI, Menéndez P, Bolla MK, Easton DF, Schmidt MK, Pharoah PD, Sherman ME, García-Closas M. Performance of automated scoring of ER, PR, HER2, CK5/6 and EGFR in breast cancer tissue microarrays in the Breast Cancer Association Consortium. *J Pathol Clin Res.* 2014 Dec 4;1(1):18-32. doi:10.1002/cjp2.3. PMID: 27499890; PMCID: PMC4858117. **IF = 7,42 / MEiN = 45 pkt.**

4. Reis S, **Gazinska P**, Hipwell JH, Mertzaniidou T, Naidoo K, Williams N, Pinder S, Hawkes DJ. Automated Classification of Breast Cancer Stroma Maturity From Histological Images. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2017 Oct;64(10):2344-2352. doi: 10.1109/TBME.2017.2665602. Epub 2017 Feb 7. PMID: 28186876. **IF = 1,75 / MEiN = 100 pkt.**
5. Bailey C, Siow B, Panagiotaki E, Hipwell JH, Mertzaniidou T, Owen J, **Gazinska P**, Pinder SE, Alexander DC, Hawkes DJ. Microstructural models for diffusion MRI in breast cancer and surrounding stroma: an ex vivo study. *NMR Biomed.* 2017 Feb;30(2):e3679. doi: 10.1002/nbm.3679. Epub 2016 Dec 21. PMID: 28000292; PMCID: PMC5244665. **IF = 3,41 / MEiN = 35 pkt.**

**IF = 27,4**

**MEiN = 360 pkt.**

## DODATKOWY NURT TEMATYCZNY III

### Immunologia raka piersi

Komórki immunologiczne w mikro-środowisku raka piersi mogą kontrolować wzrost nowotworu złośliwego. Chemioterapia i terapia ukierunkowana wykazują zdolność do modyfikowania tego mikro-środowiska immunologicznego. Poniższe prace dotyczą eksploracji zależności i związku między układem odpornościowym a rakiem piersi w kontekście klinicznym i badawczym, oraz identyfikacji potencjalnie nowych strategii terapeutycznych wykorzystujących immunoterapię w leczeniu raka piersi. Dla przykładu jedna z poniższych prac demonstruje znaczenie receptora kwasu foliowego alfa (FR $\alpha$ ), który jest centralnym czynnikiem regulującym wzrost komórek i który może stanowić istotny cel terapii przeciwnowotworowej w szczególnie agresywnym TNBC charakteryzującym się brakiem zweryfikowanych celów terapeutycznych i wysokim ryzykiem wystąpienia przerzutów nowotworowych.

### Piśmiennictwo dotyczące dodatkowego nurtu tematycznego III:

1. Wu Y, Kyle-Cezar F, Woolf RT, Naceur-Lombardelli C, Owen J, Biswas D, Lorenc A, Vantourout P, **Gazinska P**, Grigoriadis A, Tutt A, Hayday A. An innate-like  $\gamma\delta$  T cell compartment in the human breast is associated with remission in triple-negative breast cancer. *Sci Transl Med.* 2019 Oct 9;11(513):eaax9364. doi: 10.1126/scitranslmed.aax9364. PMID: 31597756; PMCID: PMC6877350. **IF = 16,3 / MEiN = 200 pkt.**
2. Josephs DH, Nakamura M, Bax HJ, Dodev TS, Muirhead G, Saul L, Karagiannis P, Ilieva KM, Crescioli S, **Gazinska P**, Woodman N, Lombardelli C, Kareemaghay S, Selkirk C, Lentfer H, Barton C, Canevari S, Figini M, Downes N, Dombrowicz D, Corrigan CJ, Nestle FO, Jones PS, Gould HJ, Blower PJ, Tsoka S, Spicer JF, Karagiannis SN. An immunologically relevant rodent model demonstrates safety of therapy using a tumour-specific IgE. *Allergy.* 2018 Dec;73(12):2328-2341. doi: 10.1111/all.13455. Epub 2018 Oct 8. PMID: 29654623; PMCID: PMC6492130. **IF = 6,78 / MEiN = 140 pkt.**
3. Cheung A, Opzoomer J, Ilieva KM, **Gazinska P**, Hoffmann RM, Mirza H, Marlow R, Francesch-Domenech E, Fittall M, Dominguez Rodriguez D, Clifford A, Badder L, Patel N, Mele S, Pellizzari G, Bax HJ, Crescioli S, Petronyi G, Larcombe-Young

- D, Josephs DH, Canevari S, Figini M, Pinder S, Nestle FO, Gillett C, Spicer JF, Grigoriadis A, Tutt ANJ, Karagiannis SN. Anti-Folate Receptor Alpha-Directed Antibody Therapies Restrict the Growth of Triple-negative Breast Cancer. *Clin Cancer Res.* 2018 Oct 15;24(20):5098-5111. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0652. Epub 2018 Aug 1. PMID: 30068707; PMCID: PMC6193548. **IF = 5,65 / MEiN = 200 pkt.**
4. Marra P, Mathew S, Grigoriadis A, Wu Y, Kyle-Cezar F, Watkins J, Rashid M, De Rinaldis E, Hessey S, **Gazinska P**, Hayday A, Tutt A. IL15RA drives antagonistic mechanisms of cancer development and immune control in lymphocyte- enriched triple-negative breast cancers. *Cancer Res.* 2014 Sep 1;74(17):4908-21. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0637. Epub 2014 Jun 30. PMID: 24980552. **IF = 9,33 / MEiN = 45 pkt.**
  5. Emami-Shahri N, Foster J, Kashani R, **Gazinska P**, Cook C, Sosabowski J, Maher J, Papa S. Clinically compliant spatial and temporal imaging of chimeric antigen receptor T-cells. *Nat Commun.* 2018 Mar 14;9(1):1081. doi: 10.1038/s41467-018-03524-1. PMID: 29540684; PMCID: PMC5852048. **IF = 11,88 / MEiN = 200 pkt.**
  6. Sobral-Leite M, Wesseling J, Smit VT, Nevanlinna H, van Miltenburg MH, Sanders J, Hofland I, Blows FM, Coulson P, **Gazinska P**, Schellens JH, Fagerholm R, Heikkilä P, Aittomäki K, Blomqvist C, Provenzano E, Ali HR, Figueroa J, Sherman M, Lissowska J, Mannermaa A, Kataja V, Kosma VM, Hartikainen JM, Phillips KA; kConFab/AOCS Investigators; Couch FJ, Olson JE, Vachon C, Visscher D, Brenner H, Butterbach K, Arndt V, Holleczer B, Hooning MJ, Hollestelle A, Martens JW, van Deurzen CH, van de Water B, Broeks A, Chang-Claude J, Chenevix-Trench G, Easton DF, Pharoah PD, García-Closas M, de Graauw M, Schmidt MK. Annexin A1 expression in a pooled breast cancer series: association with tumor subtypes and prognosis. *BMC Med.* 2015 Jul 2;13:156. doi: 10.1186/s12916-015-0392-6. PMID: 26137966; PMCID: PMC4489114. **IF = 8,01 / MEiN = 40 pkt.**
  7. Josephs DH, Bax HJ, Dodev T, Georgouli M, Nakamura M, Pellizzari G, Saul L, Karagiannis P, Cheung A, Herraiz C, Ilieva KM, Correa I, Fittall M, Crescioli S, **Gazinska P**, Woodman N, Mele S, Chiaruttini G, Gilbert AE, Koers A, Bracher M, Selkirk C, Lentfer H, Barton C, Lever E, Muirhead G, Tsoka S, Canevari S, Figini M, Montes A, Downes N, Dombrowicz D, Corrigan CJ, Beavil AJ, Nestle FO, Jones PS, Gould HJ, Sanz-Moreno V, Blower PJ, Spicer JF, Karagiannis SN. Anti-

Folate Receptor- $\alpha$  IgE but not IgG Recruits Macrophages to Attack Tumors via TNF $\alpha$ /MCP-1 Signaling. *Cancer Res.* 2017 Mar 1;77(5):1127-1141. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1829. Epub 2017 Jan 17. PMID: 28096174; PMCID: PMC6173310. **IF = 9,13 / MEiN = 45 pkt.**

8. Irshad S, Flores-Borja F, Lawler K, Monypenny J, Evans R, Male V, Gordon P, Cheung A, **Gazinska P**, Noor F, Wong F, Grigoriadis A, Fruhwirth GO, Barber PR, Woodman N, Patel D, Rodriguez-Justo M, Owen J, Martin SG, Pinder SE, Gillett CE, Poland SP, Ameer-Beg S, McCaughan F, Carlin LM, Hasan U, Withers DR, Lane P, Vojnovic B, Quezada SA, Ellis P, Tutt AN, Ng T. ROR $\gamma$ <sup>+</sup> Innate Lymphoid Cells Promote Lymph Node Metastasis of Breast Cancers. *Cancer Res.* 2017 Mar 1;77(5):1083-1096. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0598. Epub 2017 Jan 12. PMID: 28082403. **IF = 9,13 / MEiN = 45 pkt.**
9. Joshi S, Watkins J, **Gazinska P**, Brown JP, Gillett CE, Grigoriadis A, Pinder SE. Digital imaging in the immunohistochemical evaluation of the proliferation markers Ki67, MCM2 and Geminin, in early breast cancer, and their putative prognostic value. *BMC Cancer.* 2015 Jul 25;15:546. doi: 10.1186/s12885-015-1531-3. PMID: 26205655; PMCID: PMC4513675. **IF = 3,27 / MEiN = 30 pkt.**

**IF = 70,35**

**MEiN = 900 pkt.**

## DODATKOWY NURT TEMATYCZNY IV

### Komórki macierzyste gruczołu piersiowego

Charakterystyka normalnych komórek macierzystych gruczołu piersiowego jest istotna dla zrozumienia ich roli w rozwoju gruczołu piersiowego oraz w raku piersi. Jednak tożsamość tych komórek jest tematem kontrowersji, a ich lokalizacja w nabłonku gruczołu piersiowego nie jest znana. W poniższych publikacjach z zastosowaniem nowatorskich metod i kompleksowych modeli zbadano morfogenezę zrazików mlekowych i lokalizację potencjalnych markerów komórek macierzystych. Wykazano zwiększoną reprezentację komórek macierzystych w mniejszych, mniej rozwiniętych zrazikach w porównaniu do większych, bardziej dojrzałych zrazików, z wyraźnymi różnicami w gruczole u kobiet bezpotomnych (*nulliparous*) w porównaniu do kobiet, które rodziły (*parous*) oraz u nosicieli mutacji BRCA1/2 w porównaniu do nie-nosicieli. Korzystając z systemów eksperymentalnych *in vitro* i *in vivo* oraz analizy *in situ* wykazano, że hormon wzrostu (*growth hormone*, GH) jest wydzielany lokalnie przez normalne ludzkie komórki nabłonkowe gruczołu piersiowego po stymulacji progesteronem. GH zwiększa proliferację podzbioru komórek, które wykazują ekspresję receptora hormonu wzrostu (*growth hormone receptor*, GHR) i posiadają funkcjonalne cechy komórek macierzystych i wczesnych komórek potomnych.

### Piśmiennictwo dotyczące dodatkowego nurtu tematycznego IV:

1. Honeth G, Schiavinotto T, Vaggi F, Marlow R, Kanno T, Shinomiya I, Lombardi S, Buchupalli B, Graham R, **Gazinska P**, Ramalingam V, Burchell J, Purushotham AD, Pinder SE, Csikasz-Nagy A, Dontu G. Models of breast morphogenesis based on localization of stem cells in the developing mammary lobule. *Stem Cell Reports*. 2015 Apr 14;4(4):699-711. doi: 10.1016/j.stemcr.2015.02.013. Epub 2015 Mar 26. PMID: 25818813; PMCID: PMC4400614. **IF = 7,02 / MEiN = 35 pkt.**
2. Lombardi S, Honeth G, Ginestier C, Shinomiya I, Marlow R, Buchupalli B, **Gazinska P**, Brown J, Catchpole S, Liu S, Barkan A, Wicha M, Purushotham A, Burchell J, Pinder S, Dontu G. Growth hormone is secreted by normal breast epithelium upon progesterone stimulation and increases proliferation of stem/progenitor cells. *Stem Cell Reports*. 2014 Jun 3;2(6):780-93. doi:



10.1016/j.stemcr.2014.05.005. PMID: 24936466; PMCID: PMC4050343. **IF = 5,37 / MEiN = 0 pkt.**

3. Honeth G, Lombardi S, Ginestier C, Hur M, Marlow R, Buchupalli B, Shinomiya I, **Gazinska P**, Bombelli S, Ramalingam V, Purushotham AD, Pinder SE, Dontu G. Aldehyde dehydrogenase and estrogen receptor define a hierarchy of cellular differentiation in the normal human mammary epithelium. *Breast Cancer Res.* 2014 May 27;16(3):R52. doi: 10.1186/bcr3663. PMID: 24887554; PMCID: PMC4095680. **IF = 5,46 / MEiN = 40 pkt.**

**IF = 17,85**

**MEiN = 75 pkt.**

## DODATKOWY NURT TEMATYCZNY V

### Nowotwory dróg moczowych

Ochratoksyna A (OTA) jak i kwas arystolochowy są uważane za potencjalne karcynogeny dróg moczowych u ludzi, co zostało wykazane na modelu szczurzym. W poniższych publikacjach badano białko rybosomalne S6 (p-S6), jako potencjalny biomarker transformacji zmian przednowotworowych (ale nie jestem pewna czy to dobre tłumaczenie) wskazujący na aktywność ssaczego celu rapamycyny (*mammalian target of rapamycin*, mTOR), która odgrywa kluczową rolę w biosyntezie białek, proliferacji komórek, transkrypcji, metabolizmie komórkowym i apoptozie, a jednocześnie jest zaburzona funkcjonalnie w przypadku nowotworów.

Cel tego badania był dwojaki: sprawdzenie czy ekstrakty z *Aristolochia clematitidis* Pliocene lub sam kwas arystolochowy (*aristolochic acid*, AA) mogą indukować rozwój nowotworów nerek lub urotelialnych oraz przetestowanie użyteczności białka rybosomalnego p-S6 do identyfikacji transformacji przednowotworowej. Aby ocenić ekspresję p-S6, przeprowadziliśmy immunohistochemię na utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie tkankach nowotworowych i prawidłowych. Znaczną intensywność ekspresji p-S6 zaobserwowano w wysoce proliferacyjnych regionach szczurzych raków nerki i rzadkiego naczyniakomięśaka, z których wszystkie przypisywano przedłużonej ekspozycji na OTA. Tylko bardzo małe gruczolaki nerek generowane przez OTA były negatywne dla p-S6. Przykłady szczurzego włókniakomięśaka podskórnego i nasieniaka jądra, a także normalnej tkanki nerkowej, nie wykazywały lub wykazywały bardzo słabe pozytywne zabarwienie. W przeciwieństwie do modelu zwierzęcego, ludzki rak nerkowokomórkowy, rak przejściowokomórkowy górnych dróg moczowych z przypadków bałkańskiej endemicznej nefropatii i ludzki naczyniakomięśak były negatywne dla p-S6. Połączone wyniki przypominają konstytutywne zmiany w kompleksie genów stwardnienia guzowatego szczurów w szczepie Eker skorelowane z nowotworami nerek, dlatego rakotwórczość nerek szczurów spowodowana przez OTA nie naśladuje w oczywisty sposób nowotworzenia w drach moczowych u ludzi.

## **Piśmiennictwo dotyczące dodatkowego nurtu tematycznego V:**

1. Gruia A, **Gazinska P**, Herman D, Ordodi V, Tatu C, Mantle P. Revealing a Pre-neoplastic Renal Tubular Lesion by p-S6 Protein Immunohistochemistry after Rat Exposure to Aristolochic Acid. *J Kidney Cancer VHL*. 2015 Sep 8;2(4):153-162. doi: 10.15586/jkcvhl.2015.38. PMID: 28326270; PMCID: PMC5345518. **IF = 0,00 / MEiN = 0 pkt.**
2. **Gazinska P**, Herman D, Gillett C, Pinder S, Mantle P. Comparative immunohistochemical analysis of ochratoxin A tumourigenesis in rats and urinary tract carcinoma in humans; mechanistic significance of p-S6 ribosomal protein expression. *Toxins (Basel)*. 2012 Sep;4(9):643-62. doi: 0.3390/toxins4090643. Epub 2012 Sep 11. PMID: 23105973; PMCID: PMC3475221. **IF = 2,13 / MEiN = 20 pkt.**

**IF = 2,13**

**MEiN = 20 pkt.**

## DODATKOWY NURT TEMATYCZNY VI

### Inne nowotwory i mechanizmy biologiczne

Nekroptoza jest lityczną, zapalną formą śmierci komórki, która nie tylko przyczynia się do usuwania patogenów, ale może również prowadzić do patogenezы choroby. Nekroptoza jest wywoływana przez fosforylację MLKL za pośrednictwem RIPK3, która, jak się uważa, inicjuje oligomeryzację MLKL, translokację błonową i pęknięcie błony, chociaż dokładny mechanizm nie jest do końca poznany. Wykazaliśmy, że ubikwitylacja K219 licencjonuje aktywność MLKL w celu indukowania litycznej śmierci komórki, co sugeruje, że nekroptotyczny klirens patogenów, jak również patologie zależne od MLKL są pod wpływem systemu sygnalizacji ubikwityny.

Dane przedkliniczne potwierdzają kluczową rolę szlaku PI3K w raku piersi z dodatnim receptorem estrogenowym i sugerują, że połączenie inhibitorów PI3K z terapią hormonalną może przewyciężyć oporność. W tym przedoperacyjnym badaniu oceniano, czy dodanie inhibitora PI3K pictilisib (GDC-0941) może zwiększyć działanie przeciwnowotworowe anastrozolu w pierwotnym raku piersi i miało na celu zidentyfikowanie najbardziej odpowiedniej populacji pacjentów do terapii skojarzonej. Doszliśmy do wniosku, że dodanie piktilisibu do anastrozolu znacząco zwiększa supresję proliferacji komórek nowotworowych w pierwotnym raku piersi luminalnym B.

Skuteczność inhibitorów angiogenezy w nowotworach jest ograniczona przez słabo poznane mechanizmy oporności. W szczególności, zamiast poprzez indukcję angiogenezy, unaczynienie guza może wystąpić poprzez nieangiogeny mechanizm kooptacji naczyń. Wykazaliśmy, że kooptacja naczyń jest związana ze słabą odpowiedzią na antyangiogeny lek bevacizumab u pacjentów z przerzutami do wątroby raka jelita grubego. Co więcej, stwierdzamy, że kooptacja naczyń jest również powszechna w przerzutach do wątroby ludzkiego raka piersi, w warunkach, w których wyniki terapii antyangiogennej były rozczarowujące.

Umierające komórki nowotworowe odgrywają aktywną rolę w indukowaniu oporności przeciwnowotworowej, ale nie każda forma śmierci może wywołać odpowiedź immunologiczną. Co więcej, oporność na apoptozę jest głównym problemem w leczeniu raka i kontroli choroby. Chociaż termin "immunogenna śmierć komórki" nie jest w pełni zdefiniowany, aktywacja kinazy serynowo-treoninowej 1 oddziałującej z receptorem (*receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1*, RIPK1) może indukować rodzaj śmierci, która mobilizuje układ odpornościowy do walki z rakiem. Nie

opracowano jednak jeszcze protokołów leczenia klinicznego, które wykorzystywałyby immunogeny potencjał RIPK1. Przedstawiamy pierwsze przedkliniczne zastosowanie protokołu leczenia *in vivo* mięsaka tkanek miękkich, który bezpośrednio angażuje immunogeną śmierć komórek, w której pośredniczy RIPK1. Stwierdzamy, że śmierć komórek, w której pośredniczy RIPK1, znacząco poprawia lokalną kontrolę choroby, zwiększa aktywację komórek T CD8 +, a także komórek NK i zwiększa korzyści w zakresie przeżycia wynikające z blokady immunologicznych punktów kontrolnych. Uzyskane przez nas wyniki uzasadniają przeprowadzenie badania klinicznego w celu oceny korzyści w zakresie przeżycia wynikających ze śmierci komórek indukowanej przez RIPK1 u pacjentów z zaawansowaną chorobą kończyn.

### **Piśmiennictwo dotyczące dodatkowego nurtu tematycznego VI:**

1. Garcia LR, Tenev T, Newman R, Haich RO, Lippman SM, John SW, Annibaldi A, Yu L, Pardo M, Young SN, Fitzgibbon C, Fernando W, Guppy N, Kim H, Liang LY, Lucet IS, Kueh A, Roxanis I, **Gazinska P**, Sims M, Smyth T, Ward G, Bertin J, Beal AM, Geddes B, Choudhary JS, Murphy JM, Aurelia Ball K, Upton JW, Meier P. Ubiquitylation of MLKL at lysine 219 positively regulates necroptosis-induced tissue injury and pathogen clearance. *Nat Commun.* 2021 Jun 7;12(1):3364. doi: 10.1038/s41467-021-23474-5. PMID: 34099649; PMCID: PMC8184782. **IF = 17,69 / MEiN = 200 pkt.**
2. Schmid P, Pinder SE, Wheatley D, Macaskill J, Zammit C, Hu J, Price R, Bundred N, Hadad S, Shia A, Sarker SJ, Lim L, **Gazinska P**, Woodman N, Korbie D, Trau M, Mainwaring P, Gendreau S, Lackner MR, Derynck M, Wilson TR, Butler H, Earl G, Parker P, Purushotham A, Thompson A. Phase II Randomized Preoperative Window-of-Opportunity Study of the PI3K Inhibitor Pictilisib Plus Anastrozole Compared With Anastrozole Alone in Patients With Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2016 Jun 10;34(17):1987-94. doi: 10.1200/JCO.2015.63.9179. Epub 2016 Mar 14. PMID: 26976426; PMCID: PMC6075966. **IF = 28,35 / MEiN = 45 pkt.**
3. Frentzas S, Simoneau E, Bridgeman VL, Vermeulen PB, Foo S, Kostaras E, Nathan M, Wotherspoon A, Gao ZH, Shi Y, Van den Eynden G, Daley F, Peckitt C, Tan X, Salman A, Lazaris A, **Gazinska P**, Berg TJ, Eltahir Z, Ritsma L, Van Rheenen J, Khashper A, Brown G, Nystrom H, Sund M, Van Laere S, Loyer E, Dirix L,

Cunningham D, Metrakos P, Reynolds AR. Vessel co-option mediates resistance to anti-angiogenic therapy in liver metastases. *Nat Med.* 2016 Nov;22(11):1294-1302. doi: 10.1038/nm.4197. Epub 2016 Oct 17. PMID: 27748747; PMCID: PMC5104270. **IF = 29,89 / MEiN = 50 pkt.**

4. Smith HG, Jamal K, Dayal JH, Tenev T, Kyula-Currie J, Guppy N, **Gazinska P**, Roulstone V, Liccardi G, Davies E, Roxanis I, Melcher AA, Hayes AJ, Inman GJ, Harrington KJ, Meier P. RIPK1-mediated immunogenic cell death promotes anti-tumour immunity against soft-tissue sarcoma. *EMBO Mol Med.* 2020 Jun 8;12(6):e10979. doi: 10.15252/emmm.201910979. Epub 2020 May 18. PMID: 32419365; PMCID: PMC7278545. **IF = 12,14 / MEiN = 200 pkt.**

**IF = 88,07**

**MEiN = 495 pkt.**

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

**5.1. Dotychczasowa współpraca międzynarodowa:**

Zaawansowana współpraca naukowa międzynarodowa z prestiżowymi instytucjami naukowymi i klinicznymi w licznych projektach badawczych, której efektem są 42 oryginalne publikacje badawcze opublikowane w czasopismach z IF.

Współpraca zagraniczna obejmowała następujące (wybrane) jednostki naukowe:

1. ALMAC Diagnostic Services, Northern Ireland, UK.
2. Biological Services Unit, The Institute of Cancer Research, London, UK.
3. Breast Cancer Now Research Unit, King's College London, London, UK.
4. Breast Cancer Now Toby Robins Research Centre, The Institute of Cancer Research, London, UK.
5. Breast Immunology Group, School of Cancer & Pharmaceutical Sciences, King's College London, London, UK.
6. Cancer Bioinformatics, School of Cancer & Pharmaceutical Sciences, Faculty of Life Sciences and Medicine, King's College London, London, UK.
7. Centre for Cancer Research and Cell Biology, Queen's University Belfast, Belfast, Northern Ireland, United Kingdom.
8. Centre for Tumour Biology, Barts Cancer Institute, Queen Mary University of London, London, UK.
9. Clinical Trials and Statistics Unit, The Institute of Cancer Research, London, UK.
10. Department of Cellular Pathology, University College London, London, UK.
11. Department of Computational Biology, Research and Innovation Centre-Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige, Italy.
12. Department of Drug Development (DITEP), Gustave Roussy Cancer Campus, Université Paris-Saclay, Villejuif, France.
13. Department of Electrical Engineering, Indian Institute of Technology Bombay, Mumbai, India.
14. Department of Genetics, Lineberger Comprehensive Cancer Center, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina.

15. Department of Medical Oncology, The Institute of Oncology and Radiology of Serbia, Belgrade, Serbia.
16. Department of Medical Oncology, The Netherlands Cancer Institute, Antoni van Leeuwenhoek, Amsterdam, The Netherlands.
17. Department of Pathology and Cytology, The Institute of Oncology and Radiology of Serbia, Belgrade, Serbia.
18. Department of Pathology, GZA-ZNA Hospitals, Antwerp, Belgium.
19. Department of Pathology, Tata Memorial Centre-ACTREC, HBNI, Mumbai, India.
20. Department of Pathology, The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, the Netherlands.
21. Department of Pathology, University College London, London, UK.
22. Department of Pathology, University Medical Centre, Utrecht, The Netherlands.
23. Division of Cancer Biology, The Institute of Cancer Research, London, UK.
24. Division of Cancer Biology, The Institute of Cancer Research, London, UK.
25. Division of Molecular Pathology, The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, The Netherlands.
26. Division of Radiotherapy and Imaging, Institute of Cancer Research, London, UK.
27. Division of Research, Peter Mac Callum Cancer Centre, Melbourne, Australia.
28. Division of Stem Cells and Cancer, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, Victoria, Australia.
29. Faculty of Dentistry, Oral & Craniofacial Science, King's College London, London, UK.
30. Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester, UK.
31. Head and Neck Pathology, Guy's & St Thomas' NHS Foundation Trust, London, UK.
32. Institute of Cancer and Genomic Sciences, University of Birmingham, Birmingham, UK.
33. Institute of Pharmaceutical Science, Faculty of Life Sciences & Medicine, King's College London, London, UK.
34. King's Health Partners Cancer Biobank, King's College London, London, UK.



35. Liverpool Ocular Oncology Research Group, Department of Molecular and Clinical Cancer Medicine, University of Liverpool, Liverpool, UK.
36. Medical Oncology, Guy's & St Thomas' NHS Trust, London, UK.
37. Oncology and Haematology Directorate, Guy's and St Thomas' NHS Foundation Trust, London, UK.
38. Peter MacCallum Cancer Centre, University of Melbourne, Melbourne, Victoria, Australia.
39. PSL University, Institut Curie, Paris, France.
40. Ralph Lauren Centre for Breast Cancer Research, Royal Marsden Hospital NHS Foundation Trust, London, UK.
41. Randall Division of Cell and Molecular Biophysics and Institute of Mathematical and Molecular Biomedicine, King's College London, London, UK.
42. Research Oncology, King's College London School of Medicine, London, UK.
43. Richard Dumbleby Laboratory of Cancer Research School of Cancer and Pharmaceutical Sciences, King's College London, London, UK.
44. School of Cancer & Pharmaceutical Sciences, Faculty of Life Sciences and Medicine, King's College London, London, UK.
45. SGC Oxford, University of Oxford, Oxford, England, UK.
46. Stem Cells and Cancer Division, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, Victoria, Australia.
47. Systems Immunity University Research Institute and Division of Infection and Immunity, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, UK.
48. Targeted Therapy Team, The Institute of Cancer Research, Chester Beatty Laboratories, London, UK.
49. The Cancer Research UK Gene Function Laboratory, The Institute of Cancer Research, London, UK.
50. The Royal Marsden NHS Foundation Trust, London, England, UK.
51. Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin, PR China.

52. Translational Cancer Metabolism Team, Centre for Tumour Biology, Barts Cancer Institute, Cancer Research UK Centre of Excellence, Queen Mary University of London, Charterhouse Square, London, UK.
53. UCL Cancer Institute, Paul O'Gorman Building, University College London, London, UK.
54. University Hospitals Birmingham NHS Foundation Trust, Birmingham, UK.

## **5.2. Aktualna współpraca międzynarodowa:**

Od powrotu do kraju w 2022 r. i objęciu stanowiska Starszego Lidera Zespołu Badawczego Biobank i Zakładu Leczniczego Biobanku w Łukasiewicz – PORT, kontynuuję współpracę naukową z zagranicznymi instytucjami:

- a) Colorectal Clinical and Pathology Group, Medical Science, University of Oxford, Oxford, UK.
- b) Department of Breast Surgery, Royal Marsden NHS Foundation Trust, London, UK.
- c) Targeted Therapy Team, The Institute of Cancer Research, Chester Beatty Laboratories, London, UK.
- d) The Breast Cancer Now Research Unit, King's College London, London, UK.
- e) The Breast Cancer Now Toby Robins Breast Cancer Research Centre, The Institute of Cancer Research, London, UK.
- f) Wellcome Trust Sanger Institute and the University of Cambridge, Cambridge, UK.

## **5.3. Współpraca krajowa:**

- a) Breast Unit, Lower Silesian Oncology, Pulmunology and Hematology Center, Wrocław, Poland.
- b) Department of Oncology, Wrocław Medical University, Wrocław, Poland.
- c) The Institute of Human Genetics of the Polish Academy of Sciences, Poznań, Poland.
- d) 4th Military Clinical Hospital in Wrocław, Poland.
- e) Poznań University of Medical Science, Poland.

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

### 6.1. Działalność dydaktyczna i prowadzone zajęcia:

W trakcie studiów doktoranckich uczestniczyłam w opracowaniu tematyki następujących przedmiotów i prowadziłam zajęcia dydaktyczne ze studentami w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego (SGGW) w Warszawie na Wydziale Nauk o Zwierzętach na kierunku Zootechnika (2002 – 2006):

- a) Zoologia – Studia stacjonarne I<sup>o</sup> (ćwiczenia),
- b) Anatomia bezkręgowców – Studia stacjonarne I<sup>o</sup> (ćwiczenia).

### 6.2. Opieka nad młodymi naukowcami:

Uczestniczyłam w pracach doktorskich i brałam udział we wdrożeniu doktorantów z King's College London (KCL): Nirmesh Patel, Fara Brasó-Maristany, Johnathan Walkins oraz z University College London, UK (UCL): Sara Reis, Colleen Bailly w opracowanie metod histopatologicznych wykorzystanych do ich rozpraw doktorskich. Efektem czego było pięć poniższych publikacji:

- a) **Patel N**, Weekes D, Drosopoulos K, **Gazinska P**, Noel E, Rashid M, Mirza H, Quist J, Brasó-Maristany F, Mathew S, Ferro R, Pereira AM, Prince C, Noor F, Francesch-Domenech E, Marlow R, de Rinaldis E, Grigoriadis A, Linardopoulos S, Marra P, Tutt ANJ. Integrated genomics and functional validation identifies malignant cell specific dependencies in triple negative breast cancer. *Nat Commun.* 2018 Mar 13;9(1):1044. doi: 10.1038/s41467-018-03283-z – pełniłam funkcję eksperta w zakresie histopatologii, wdrażając doktoranta w metody pozwalające na wizualizację biomarkera identyfikującego komórki z amplifikacją centrosomów, a jednocześnie uzależnionych od (*Kinesin Family Member C1*, KIFC1). Metody zastosowane w tej pracy obejmowały: immunohistochemię i metody komputerowej oceny wielkości centrosomów. Efektem czego było stworzenie (*pericentrin abnormality score*, PCAB), potencjalnego biomarkera stratyfikującego pacjentów. Dodatkowo przygotowałam doktoranta do przeprowadzenia procedury tworzenia bloczków (*formalin-fixed, paraffin-embedded*, FFPE) z materiału komórkowego; podstawy oceny biomarkerów immunohistochemicznych takich jak: PCNT,

ER, PR, HER2, CK5/6, EGFR. Moja opieka nad doktorantem dotyczyła również obszaru patologii cyfrowej i digitalizacji preparatów histopatologicznych, jak i ich oceny jakościowej.

- b) **Brasó-Maristany F**, Filosto S, Catchpole S, Marlow R, Quist J, Francesch-Domenech E, Plumb DA, Zakka L, **Gazinska P**, Liccardi G, Meier P, Gris-Oliver A, Cheang MCU, Perdrix-Rosell A, Shafat M, Noël E, Patel N, McEachern K, Scaltriti M, Castel P, Noor F, Buus R, Mathew S, Watkins J, Serra V, Marra P, Grigoriadis A, Tutt AN. Erratum: PIM1 kinase regulates cell death, tumor growth and chemotherapy response in triple-negative breast cancer. *Nat Med.* 2017 Jun 6;23(6):788. doi: 10.1038/nm0617-788b. Erratum for: *Nat Med.* 2016 Nov;22(11):1303-1313 – pełniłam funkcję eksperta w zakresie histopatologii, szkoląc doktoranta w ocenie histopatologicznej eksperymentalnych modeli *in vivo* raka piersi i immunohistochemii. Moja opieka nad doktorantem dotyczyła również obszaru patologii cyfrowej i digitalizacji preparatów histopatologicznych jak i ich oceny jakościowej. Szkolni to dotyczyło również procedury dysekcji cienkoigłowej tkanki zamrożonej, jak i DNA/RNA ekstrakcji i puryfikacji w celu dalszych analiz materiału genetycznego, które pozwoliły na identyfikację (*Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase, PIM1*) jako potencjalnego celu terapeutycznego.
- c) **Watkins J**, Weekes D, Shah V, **Gazinska P**, Joshi S, Sidhu B, Gillett C, Pinder S, Vanoli F, Jasin M, Mayrhofer M, Isaksson A, Cheang MC, Mirza H, Frankum J, Lord CJ, Ashworth A, Vinayak S, Ford JM, Telli ML, Grigoriadis A, Tutt AN. Genomic Complexity Profiling Reveals That HORMAD1 Overexpression Contributes to Homologous Recombination Deficiency in Triple-Negative Breast Cancers. *Cancer Discov.* 2015 May;5(5):488-505. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-1092. Epub 2015 Mar 13 – pełniłam rolę eksperta w zakresie histopatologii, szkoląc doktoranta w interpretacji danych pochodzących z oceny histopatologicznej ludzkiego materiału tkankowego. Ponadto, metodyki związanej z dysekcją cienkoigłową tkanki zamrożonej, jak i DNA/RNA ekstrakcji i puryfikacji w celu dalszych analiz materiału genetycznego, które pozwoliły na identyfikację HORMAD1 i jego powiązaniem z niestabilnością genu w TNBC.

- d) **Reis S, Gazinska P**, Hipwell JH, Mertzaniidou T, Naidoo K, Williams N, Pinder S, Hawkes DJ. Automated Classification of Breast Cancer Stroma Maturity From Histological Images. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2017 Oct;64(10):2344-2352. doi: 10.1109/TBME.2017.2665602. Epub 2017 Feb 7 – pełniłam funkcję eksperta w zakresie histopatologii, wdrażając doktoranta w aspekty histopatologii związane z oceną dojrzałość zrębu raka piersi i jego powiązania ze wzrostem i potencjałem przerzutowym. Moja opieka nad doktorantem dotyczyła również obszaru patologii cyfrowej i digitalizacji preparatów histopatologicznych jak i ich oceny jakościowej.
- e) **Bailey C**, Siow B, Panagiotaki E, Hipwell JH, Mertzaniidou T, Owen J, **Gazinska P**, Pinder SE, Alexander DC, Hawkes DJ. Microstructural models for diffusion MRI in breast cancer and surrounding stroma: an ex vivo study. *NMR Biomed.* 2017 Feb;30(2):e3679. doi: 10.1002/nbm.3679. Epub 2016 Dec 21 – pełniłam funkcję eksperta w zakresie histopatologii, szkoląc doktoranta w wybranych aspektach podstawowej oceny histopatologicznej raka piersi, umiejętności identyfikacji poszczególnych typów komórek mikrośrodowiskiem guza. Wiedza ta była wykorzystana do dalszej charakterystyki guzów i łączenia struktur tkankowych z obrazem MRI. Stanowiło to podstawę do opracowania nowatorskiej metody pozwalającej na potencjalną identyfikację pacjentów ‘over-diagnosed and over-treated’. Doktorant był również zapoznany z procesem zabezpieczania materiału histopatologicznego od pacjenta, procesowaniem tkanek do bloczków FFPE.

### 6.3. Nagrody i wyróżnienia:

- a) Dyplom gratulacyjny za uzyskanie wysokich ocen w ankiecie przeprowadzonej wśród studentów oceniających poziom i sposób prowadzenia zajęć dydaktycznych (Warszawa, 2002).
- b) Nagroda za udział w projektach badawczych prowadzonych przez Wydział Fizjologii, Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warszawski SGGW (Warszawa 1999).

**7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.**

**7.1. Wybrane kursy i szkolenia:**

- 2022      Szkolenie kadry zarządzającej w podmiotach leczniczych wykonujących badania patomorfologiczne, Centrum Monitorowania Jakości w Ochronie Zdrowia, Kraków, PL
- 2021      Kolekcja i zarządzanie próbkami z badań klinicznych, Astra Zeneca, Cambridge, UK
- 2021      Planowanie i interpretacja wyników badań klinicznych Johns Hopkins University, US
- 2019      Sympozjum edukacyjne organizowane przez British Society of Toxicological Pathology (BSTP): Toksykologia i patologia, Cambridge, UK
- 2018      Szkolenie w zakresie hybrydyzacji fluorescencyjnej (Fluorescence In Situ Hybridization, FISH), Cambridge, UK
- 2017      Szkolenie w diagnostyce molekularnej, Nottingham University, UK
- 2016      Zarządzanie Projektami Badawczymi, The Institute of Cancer Research, UK
- 2016      Podstawy Zarządzania, King's College London, UK
- 2013      Szkolenie z zakresu patologii piersi w ramach IMPAKT 2013 Breast Cancer Conference, Belgia
- 2010      Human Tissue Act & Consent, King's College London, UK
- 2010      Szkolenie w zakresie immunohistochemii, University College London, UK

## 7.2. Pozostałe osiągnięcia:

1. Podczas zatrudnienia w Diagnostic Development Unit, Oncology R&D, AstraZeneca, Cambridge UK, zarządzałam projektami obejmującymi współpracę z partnerami wewnętrznymi i zewnętrznymi w globalnym środowisku AstraZeneca, z wykorzystaniem wiedzy naukowej, technicznej i operacyjnej. Pracowałam nad usprawnianiem i oceną wydajności systemów do patologii cyfrowej w badaniach klinicznych III fazy i testowaniem innowacyjnych systemów oceny jakości w procedurach diagnostycznych. Stworzyłam również wewnętrzną to pewnie chodzi o coś innego – przegadamy w postaci scoring guideline przeznaczoną do użytku wewnętrznego dla klinicystów a dotyczącą nowego systemu szacowania ultra-low HER2. Zajmowałam się również monitorowaniem cyfrowych narzędzi patologicznych w badaniu klinicznym: A Phase 3, Randomized, Multi-center, Open-label Study of Trastuzumab Deruxtecan (T-DXd) Versus Investigator's Choice Chemotherapy in HER2-Low, Hormone Receptor Positive Breast Cancer Patients Whose Disease Has Progressed on Endocrine Therapy in the Metastatic Setting (DESTINY-Breast06).
2. Podczas zatrudnienia w Division of Breast Cancer Research, The Institute Of Cancer Research, London UK; zarządzałam zespołem przeprowadzającym analizę histologiczną próbek ludzkich, eksperymentalnych modeli *in-vivo* i *in-vitro* w badaniach nad rakiem. Zajmowałam się również opracowywaniem innowacyjnych rozwiązań problemów związanych z metodologią badawczą. Byłam odpowiedzialna za kierowanie rozwojem strategii badawczej w obszarze histopatologii, również w celu komplementarnego wzbogacenia licznych projektów badawczych. Kierowałam projektami, optymalizacją systemów eksperymentalnych w obszarze patologii molekularnej, przy jednoczesnej współpracy z liderami innych zespołów badawczych. Prowadziłam badania w obszarze residua disease, z zastosowaniem najnowszych technologii, takich jak profilowanie przestrzenne NanoString, Vectra multiplex, patologia obliczeniowa oraz oceny H&E (Gazinska i in. Clin Cancer Res. 2022). Moja działalność naukowa dotyczyła również badań podstawowych o potencjale translacyjnym, w tym opracowanie systemu do szacowania zmian skórnych w nekrotycznym modelu zwierzęcym (Garcia i in. Nat komuna. 2021).

3. Podczas zatrudnienia w Department of Research Oncology, King's College London, Faculty of Life Science and Medicine, Division of Cancer Studies, London UK; wykorzystywałam praktyczną wiedzę i doświadczenia w szerokim zakresie rutynowych i badawczych technik histologicznych, walidacji biomarkerów immunohistochemicznych i metod *in-situ*-hybrydyzacji (ISH i FISH) etc. Moja rola obejmowała również stworzenie zintegrowanego środowiska dla wspólnych projektów uwzględniających patomorfologię między ośrodkami KCL i ICR. Współpraca z KHP Cancer Biobank w Guy's & St Thomas' Hospitals oraz z koordynatorami badań klinicznych w odniesieniu do próbek materiału tkankowego do zastosowania w badaniach translacyjnych. Niezależnie zainicjowałam badania nad mikrośrodowiskiem raka piersi (BC) i jego związkiem z zaangażowanymi i niezaangażowanymi węzłami chłonnymi pachwinowymi (LNs). Opracowałam kompleksowy system oceny umożliwiający analizę topograficzną jak i poziom stopnia infiltracji komórek immunologicznych w guzie pierwotnym raka piersi jak i zmian architektonicznych, w węzłach chłonnych. Ponadto, wykazałam, że cechy morfologiczne LN pozwalają przewidzieć DMFS. To odkrycie stało się podstawą dalszego programu badawczego w ramach grupy Cancer Bioinformatics, School of Cancer & Pharmaceutical Sciences, Faculty of Life Sciences and Medicine, King's College London, London, UK. Kontynuuję pracę z zespołem dr A Grigoriadis - wykorzystanie narzędzi patologii obliczeniowej i AI pozwalającej na identyfikację sygnatur morfologicznych w nowotworach i LN, powiązanych z charakterystyką molekularną i mających charakter prognostyczny w TNBC. Moje zainteresowanie mikrośrodowiskiem nowotworów (TIME) doprowadziło również do współpracy z prof. Salgado i dr Irshadem, gdzie odegrałam wiodącą rolę w analizach krajobrazu immunologicznego guzów pierwotnych u pacjentek z wysokim ryzykiem oporności na chemioterapię. Kontynuowałam opracowywanie złożonych procesów oceny patologii cyfrowej i molekularnej, multipleksowych analiz danych immunofluorescencyjnych i interpretację danych Nanostring. Doprowadziło to do identyfikacji liczebności i rozmieszczenia podzbiorów komórek układu odpornościowego oraz identyfikacji potencjalnych celów immunologicznych w leczeniu post-neoadjuwantowym TNBC opornego na chemioterapię i ER+HER2-BC. W rezultacie zaobserwowaliśmy obniżoną



regulację (CD40/OX40L) i hamującą (PD-L1/PD-1) ekspresję receptorów oraz wzrost populacji komórek NK CD56dimCD16-) zarówno w lokalnym formacie TIME, jak i PBMC. W badaniach tych zidentyfikowano kilka potencjalnych szlaków immunologicznych w chorobie resztkowej, które można ukierunkować na korzyść pacjentów wysokiego ryzyka. Podczas mojej kariery w Wielkiej Brytanii współpracowałam z wieloma uznanymi naukowcami i doskonałymi zespołami w dziedzinie badania nad rakiem. Prowadziłem szereg projektów związanych z patologią nowotworów, które stały się integralną częścią większej wielodyscyplinarnej pracy zespołowej.

.....  
(podpis wnioskodawcy)