

AUTOREFERAT

1. Imię i Nazwisko: Paweł Sadłdecki

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

1999 dyplom lekarza medycyny,
Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Łodzi

2007 tytuł doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy:

„Ocena wybranych czynników proangiogennych w surowicy krwi kobiet leczonych z powodu guzów jajnika.”

Wydział Lekarski Collegium Medicum w Bydgoszczy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu – obrona z wyróżnieniem,
praca powstała w ramach grantu promotorskiego
Komitetu Badań Naukowych 2 P05E 088 30.

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Wiesław Szymański

2008 tytuł specjalisty w dziedzinie: położnictwo i ginekologia,
Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

2011 certyfikat Podstawowego Badania Serca Płodu,
Sekcja Echokardiografii i Kardiologii Prenatalnej,
Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego

2013 tytuł specjalisty w dziedzinie: ginekologia onkologiczna
Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

1999-2000 staż podyplomowy
Regionalny Szpital Specjalistyczny im. W. Biegańskiego w Grudziądzu

2000-2003 młodszy asystent
Oddział Ginekologiczno-Położniczy
Regionalny Szpital Specjalistyczny im. W. Biegańskiego w Grudziądzu

2003-2007 studia doktoranckie
Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej
Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

2007-2010 asystent

Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej
Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

2010- obecnie adiunkt

Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej
Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

2008 – obecnie starszy asystent

Szpital Uniwersytecki nr 2 im. J. Biziela w Bydgoszczy
Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej
Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

2010 – obecnie diagnosta w Prenatalnej Poradni Genetycznej przy Klinice
Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej
Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

2013 – obecnie lekarz specjalista Ginekologii Onkologicznej
Poradnia Ginekologii Onkologicznej przy Klinice Położnictwa,
Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej
Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Jednotematyczny cykl publikacji:

Wybrane aspekty diagnostyki molekularnej i immunohistochemicznej surowicznych guzów granicznych jajnika oraz raka jajnika typu pierwszego.

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem **5 oryginalnych** prac będącym indywidualnym wkładem w naukę i rozwój wiedzy, dotyczącym diagnostyki molekularnej i immunohistochemicznej surowicznych guzów granicznych jajnika oraz raka jajnika typu pierwszego.

Sumaryczny IF dla tych publikacji wynosi **13.874 (KBN/MNiSW – 115 pkt.)**.

Wymienione prace zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych.

Całkowity **IF** wszystkich moich publikacji wynosi **48.088**
łączna wartość punktacji **KBN/MNiSzW 595.000**

Łączna liczba cytowań prac:

114 cytowań (bez autocytowań) według bazy SCOPUS

91 cytowań (bez autocytowań) według bazy Web of Science

H-index: **7** (Scopus), **6** (Web of Science)

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

Publikacja nr 1.

Paweł Sadłecki, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Marek Grabiec

Molecular diagnosis in type I epithelial ovarian cancer.

Czasopismo: Ginekologia Polska 2017 : T. 88, nr 12, s. 692-697.
wskaźnik **Impact Factor: 0.576** Punktacja **MNiSW: 15.000**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu pracy, zbieraniu danych, zapewnieniu integralności całej pracy, przeglądzie piśmiennictwa, zawartości intelektualnej manuskryptu, redakcji manuskryptu, poprawie i ostatecznej akceptacji wersji do publikacji.

Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na **80%**.

Publikacja nr 2.

Paweł Sadłecki, Paweł Walentowicz, Magdalena Bodnar, Andrzej Marszałek,
Marek Grabiec, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka

Determination of BRAF V600E (VE1) protein expression and BRAF gene mutation status in codon 600 in borderline and low-grade ovarian cancers.

Czasopismo: Tumor Biology 2017 : Vol. 39, nr 5, s. 1-8.
wskaźnik **Impact Factor: 3.650** Punktacja **MNiSW: 25.000**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, zbieraniu danych, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, zapewnieniu

integralności całego badania, przeglądzie piśmiennictwa, zawartości intelektualnej manuskryptu, redakcji manuskryptu, poprawie i ostatecznej akceptacji wersji do publikacji.

Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na **75%**.

Publikacja nr 3.

Paweł Sadłecki, Paulina Antosik, Dariusz Grzanka, Marek Grabiec,
Małgorzata Walentowicz-Sadłecka

KRAS mutation testing in borderline ovarian tumors and low-grade ovarian carcinomas with a rapid, fully integrated molecular diagnostic system.

Czasopismo: Tumor Biology 2017 : Vol. 39, nr 10, s. 1-8.

wskaznik **Impact Factor: 3.650** Punktacja **MNiSW: 25.000**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, zbieraniu danych, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, zapewnieniu integralności całego badania, przeglądzie piśmiennictwa, zawartości intelektualnej manuskryptu, redakcji manuskryptu, poprawie i ostatecznej akceptacji wersji do publikacji.

Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na **75%**.

Publikacja nr 4.

Paweł Sadłecki, Dariusz Grzanka, Marek Grabiec

Testing for NRAS mutations in serous borderline ovarian tumors and low-grade serous ovarian carcinomas.

Czasopismo: Disease Markers 2018 : Vol. 2018, s. 1-7.

wskaznik **Impact Factor: 2.348** Punktacja **MNiSW: 25.000**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, zbieraniu danych, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, zapewnieniu integralności całego badania, przeglądzie piśmiennictwa, zawartości intelektualnej manuskryptu, redakcji manuskryptu, poprawie i ostatecznej akceptacji wersji do publikacji.

Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na **85%**.

Publikacja nr 5.

Paweł Sadlecki, Jakub Jóźwicki, Paulina Antosik, Marek Grabiec

Expression of selected epithelial-mesenchymal transition transcription factors in serous borderline ovarian tumors and type I ovarian cancers.

Czasopismo: Tumor Biology 2018 : Vol. 40, nr 6 1–13 DOI: 10.1177/1010428318784807
wskaźnik **Impact Factor: 3.650** Punktacja **MNiSW: 25.000**

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, zbieraniu danych, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, zapewnieniu integralności całego badania, przeglądzie piśmiennictwa, zawartości intelektualnej manuskryptu, redakcji manuskryptu, poprawie i ostatecznej akceptacji wersji do publikacji.

Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy szacuję na **85%**.

W załączeniu:

- kopie powyższych prac (załącznik nr 4)
- oświadczenia współautorów o indywidualnym wkładzie autorskim (załącznik nr 8)
- potwierdzenie IF z poświadczeniem przez Bibliotekę Naukową Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja Kopernika (załącznik nr 5)

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

Wstęp:

Termin rak jajnika definiuje heterogenną grupę guzów, w skład której wchodzi m.in. guzy surowicze, śluzowe, endometrioidalne, jasnokomórkowe oraz niezróżnicowane. Każdy z guzów jajnika posiada indywidualne cechy molekularne oraz charakteryzuje się określonym rokowaniem. Przez wiele lat rak jajnika był postrzegany jako jednolity stan chorobowy wywodzący się z nabłonka powierzchniowego jajnika lub nabłonka torbieli inkluzyjnych posiadający potencjał różnicowania w kierunku różnych pod względem histopatologicznym guzów. Obecnie pojawia się coraz większa liczba dowodów na istnienie dwóch różnych szlaków różnicowania, prowadzących do powstania różnych typów raka jajnika. Obserwacje te stanowią podstawę dualistycznej koncepcji etiopatologicznej raka jajnika, zaprezentowanej w 2004 roku przez Kurmana. Pierwszy szlak prowadzi do przekształcenia prawidłowej tkanki jajnika w guz graniczny, który może podlegać

dalszej transformacji w: surowiczego raka jajnika o niskim potencjale wzrostu (LGSC), raka śluzowego, endometrioidalnego lub jasnokomórkowego. Guzy graniczne stanowią około 10-20% wszystkich zmian nabłonkowych zlokalizowanych w jajniku. Raki typu pierwszego charakteryzują się mutacjami wielu genów i stosunkowo dużą stabilnością genetyczną. Guzy jajnika z tej grupy charakteryzują się powolnym wzrostem, odsetkiem przeżyć 5-letnich na poziomie 55% oraz wysoką opornością na chemioterapię. Dla kontrastu raki jajnika typu drugiego cechuje dynamiczny wzrost, znaczna niestabilność genetyczna, obecność mutacji w genie białka p53 oraz wysoki współczynnik proliferacji. Do grupy tej zaliczamy nisko zróżnicowane raki surowicze jajnika (HGSC), złośliwy mieszany nowotwór mezodermalny (MMMT) oraz niezróżnicowanego raka jajnika.

Surowicze guzy graniczne oraz raki jajnika typu pierwszego są zdecydowanie rzadziej występującymi nowotworami jajnika w porównaniu do guzów typu drugiego w tym głównie HGSC. W przeprowadzonych przez mnie badaniach skupiłem się na lepiej rokującej i pozornie łatwiejszej w leczeniu grupie guzów jajnika. Biorąc jednak pod uwagę trudności w leczeniu zaawansowanych i nawrotowych postaci choroby oraz oporność na schematy chemioterapii oparte na pochodnych platyny, niewątpliwie ta grupa nowotworów jajnika jest również warta lepszego poznania.

Najczęściej stwierdzanymi zmianami genetycznymi w guzach jajnika typu pierwszego są mutacje genów *KRAS*, *BRAF*, *PTEN* i β -*katenyiny*. W wysoko zróżnicowanych rakach surowiczych oraz surowiczych guzach granicznych jajnika występują takie same sekwencje mutacji w onkogenach m.in. *KRAS* i *BRAF*. Mutacje te występują już na bardzo wczesnym etapie powstawania nowotworu surowiczego o granicznej złośliwości. Szlak RAS/RAF/MEK/ERK reguluje fundamentalne procesy komórkowe, takie jak proliferacja, różnicowanie, migracja i przeżycie. Dotychczas poznano całą grupę białek RAS o aktywności małych białek G oraz białka RAF, MEK i ERK, które mają właściwości kinaz serynowo-treoninowych lub tyrozynowych. Należą do nich 3 izoformy białka RAS: NRAS, KRAS i HRAS, 3 izoformy białka RAF: BRAF, CRAF i ARAF, kinazy MEK1 i MEK2 oraz ERK1 i ERK2. W błonie komórkowej znajdują się receptory, które po przyłączeniu cząsteczek sygnałowych ulegają dimeryzacji, co aktywuje białka RAS związane z wewnętrzną stroną błony komórkowej. Aktywowane białko RAS rekrutuje białko RAF z cytozolu do błony komórkowej prowadząc do jego aktywacji. Aktywna kinaza BRAF fosforyluje białka

MEK1 i 2, które aktywują białka ERK1 i 2. Sygnał zostaje przekazany do jądra komórkowego, co indukuje ekspresję genów odpowiedzialnych za wzrost i przeżycie komórki. Regulacja aktywności szlaku może zachodzić na każdym jego etapie począwszy od receptorów, aczkolwiek do głównych miejsc regulacji należą białka RAS i RAF, które w przypadku mutacji stają się onkogenami. Pomimo, że *NRAS*, *KRAS* i *HRAS* posiadają określone podobieństwa w budowie oraz pełnionych funkcjach, najczęściej występującą zmianą dotyczącą RAS obserwowaną w nowotworach złośliwych człowieka jest mutacja *KRAS*. Częstość występowania mutacji RAS może wahać się w zależności od rodzaju nowotworu, ale średnia częstość jej występowania w nowotworach wynosi 20%.

Przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT) jest zjawiskiem odwracalnym, w trakcie którego komórki nabłonkowe tracą swoje charakterystyczne właściwości: zanikają oddziaływania międzykomórkowe, zaburzona zostaje polarność komórek co w konsekwencji prowadzi do zaniku uporządkowania charakterystycznego dla tkanki nabłonkowej. Proces EMT powoduje wyłamanie się komórek spod kontroli inhibicji kontaktowej, zaburzona zostaje kontrola podziałów komórkowych oraz procesów różnicowania. W wyniku tych zjawisk komórki nabłonkowe zmieniają swój fenotyp — zaczynają przypominać komórki mezenchymalne, a co za tym idzie wykazują zwiększoną ruchliwość i inwazyjność. EMT jest procesem fizjologicznym mającym szczególne znaczenie podczas embriogenezy, w organizmach dorosłych EMT ma miejsce m.in. w trakcie tworzenia się łożyska, procesów zapalnych i gojenia się ran. Podczas pęknięcia pęcherzyków jajnikowych i następującej później przebudowie jajnika, fenotyp komórek nabłonka powierzchniowego jajnika może podlegać przemianie z nabłonkowego na mezenchymalny. EMT przyczynia się również do zwiększenia inwazyjności komórek guza nowotworowego, które nabywają cech macierzystych komórek nowotworowych, a następnie komórek inicjujących powstawanie guza nowotworowego, a także do występowania zjawiska oporności na chemioterapeutyki. W guzach litych utrata kontaktu pomiędzy komórkami prowadzi do zaburzenia prawidłowej architektury tkankowej oraz promowania progresji i rozsiewu komórek nowotworowych. Proces tworzenia przerzutów wiąże się z odrywaniem pojedynczych komórek od masy guza, proces ten poprzedza przerwanie połączeń międzykomórkowych i utrata przez komórki właściwości adhezyjnych. Aktualne badania wykazały, że proces EMT odgrywa

główną rolę w progresji raka jajnika. W złośliwych guzach jajnika EMT powoduje zwiększenie mobilności, inwazyjności oraz potencjału do tworzenia przerzutów przez guz nowotworowy, którego komórki nabywają cech nowotworowych komórek macierzystych. Utrata ekspresji E-kadheryny jest uważana za kluczowe zjawisko zachodzące w procesie EMT. Czynniki transkrypcyjne SNAIL, SLUG, TWIST i ZEB odgrywają dobrze udokumentowaną rolę w regulacji EMT poprzez zmniejszenie ekspresji E-kadheryny. Według najnowszych badań rola czynników transkrypcyjnych w inicjacji i progresji procesu nowotworowego polega również na katalizowaniu: procesów związanych z przeznaczeniem komórki (cell-fate), plastyczności komórek macierzystych oraz nowotworowych komórek macierzystych, transformacji nowotworowej oraz inicjacji powstawania guza nowotworowego, przeżycia komórek nowotworowych, odpowiedzi na chemioterapię, wykształceniu tolerancji immunologicznej oraz kształtowaniu mikrośrodowiska guza nowotworowego.

Dokładna identyfikacja podtypu guza nowotworowego polegająca na określeniu jego morfologii, profilu genetycznego oraz immunohistochemicznego jest niezbędna. Rozwój efektywnych strategii zahamowania wzrostu i rozsiewu nowotworu wymaga lepszego poznania szlaków komórkowych i cech molekularnych i mikrośrodowiska guza nowotworowego. Testy molekularne i immunohistochemiczne stają się częścią rutynowej praktyki, a wykrycie określonej cechy molekularnej może mieć wpływ na ustalenie rozpoznania oraz określenie precyzyjnego rokowania, w niektórych przypadkach rysują się także możliwości zastosowania leczenia celowanego.

Publikacja nr 1

Rak jajnika stanowi około 90% guzów złośliwych wywodzących się pierwotnie z jajnika. Każdy typ histologiczny raka jajnika posiada indywidualne cechy molekularne oraz charakterystyczny przebieg kliniczny. W ostatnim czasie pojawiła się duża liczba dowodów popierająca teorię istnienia dwóch głównych kierunków patogenezy raka jajnika. Pierwszy polega na przekształceniu prawidłowej tkanki jajnikowej w guz graniczny, który następnie podlega przekształceniu w nowotwór złośliwy: rak surowiczy o niskim potencjale wzrostu (LGSC), śluzowy, endometrioidalny lub jasnokomórkowy. Guzy te określane są mianem raka jajnika typu pierwszego. W

nowotworach tych często występują mutacje somatyczne genów kodujących kinazy proteinowe (*KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* oraz *ERBB2*) oraz genów odpowiedzialnych za powstawanie molekuł sygnałowych (*CTNNB1* i *PTEN*). Raki jajnika typu pierwszego charakteryzują się powolnym wzrostem oraz około 55% odsetkiem przeżyć 5-letnich. Dla kontrastu, guzy jajnika typu drugiego są zwykle nisko zróżnicowane, wysoce agresywne, gwałtownie rozprzestrzeniające się w obrębie miednicy mniejszej. Do grupy tej zaliczamy nisko zróżnicowanego raka surowiczego jajnika (HGSC), złośliwy mieszany nowotwór mezodermalny (MMMT) oraz niezróżnicowanego raka jajnika. W nowotworach tych często występuje mutacja genu supresorowego *p53*, charakterystyczny jest dla nich również wysoki indeks proliferacyjny. Szacuje się, że HGSC stanowią około 60% sporadycznych raków jajnika oraz większość guzów związanych z mutacją *BRCA1*. Poznanie profilu molekularnego guza jajnika jest niezwykle istotne ze względu na możliwość postawienia precyzyjnego rozpoznania, a także wyboru odpowiedniego leczenia po pierwotnym leczeniu operacyjnym. Istotnym zagadnieniem jest również dobór właściwego leczenia w terapii wznowy u pacjentek z zaawansowanymi postaciami raka jajnika typu pierwszego.

Poniżej pokrótce scharakteryzowano główne podtypy histologiczne raka jajnika typu pierwszego.

Rak surowiczy jajnika o niskim potencjale wzrostu

Cechami charakterystycznymi raka surowiczego o niskim potencjale wzrostu (LGSC) są młody wiek pacjentek w momencie rozpoznania, powolny wzrost oraz zdecydowanie dłuższe czasy przeżycia w porównaniu do HGSC, nawet w wyższych stopniach zaawansowania klinicznego. LGSC stanowią około 10% surowiczych raków jajnika, są mniej podatne na zastosowanie chemioterapii opartej na pochodnych platyny. Uważa się, że LGSC rozwijają się z istniejących uprzednio torbielakogruczolaków surowiczych lub surowiczych guzów granicznych, które mogą przekształcić się w inwazyjne postacie raka jajnika. Cechą charakterystyczną surowiczych guzów jajnika o granicznej złośliwości jest obecność mikroinwazji. W niektórych badaniach do 60% LGSC było związanych z obecnością surowiczych guzów granicznych. W ponad 60% LGSC są obecne mutacje *BRAF* lub *KRAS* aktywujące szlak MAPK, w guzach tych stwierdzano również obecność mutacji *HER2*. Kobiety, u których występowały mutacje w genach *KRAS* i/lub *BRAF*

charakteryzowały się lepszym rokowaniem niż te, u których mutacje te nie były obecne. Wykazano, że obecność mutacji *BRAF* występująca w surowicznych guzach granicznych była związana z nadekspresją genów wpływających na zahamowanie wzrostu komórek. Ponadto uważa się, że mutacja *BRAF* indukuje starzenie się komórek przez co progresja guzów granicznych do LGSC zostaje zahamowana. Stwierdzono także, że obecność mutacji *KRAS* może być związana z bardziej agresywnym fenotypem, w którym częściej w porównaniu do nosicielek mutacji *BRAF*, występują wznowy nowotworu. Należy podkreślić, że obecność mutacji *KRAS* w konkretnym guzie wyklucza współistnienie mutacji *BRAF* i na odwrót, w guzach w których stwierdza się obecność mutacji *BRAF* nie występują mutacje *KRAS*.

Rak endometrioidalny jajnika

Endometrioidalny rak jajnika (EC) zazwyczaj jest związany z występowaniem endometriozy, gruczolakotorbielaka endometrioidalnego lub guza granicznego. W niektórych przypadkach konieczna jest diagnostyka immunohistochemiczna pozwalająca na różnicowanie z przerzutami gruczolakoraka jelita grubego. EC wykazuje pozytywną ekspresję: cytokeratyny 7, PAX8, receptorów estrogenowych i progesteronowych, podczas gdy w gruczolakoraku pochodzenia jelitowego występuje barwienie cytokeratyny 20 oraz białka CDX2. Diagnostyka różnicowa niskozróżnicowanego EC i HGSC może stanowić wyzwanie, szczególnie w przypadku dominacji części litej w guzie nowotworowym. W takich przypadkach diagnostyka różnicowa jest możliwa dzięki zastosowaniu przeciwciał skierowanych przeciwko WT1, p53 i p16. W przypadku HGSC występuje silna, rozsianą reakcją pozytywną z powyższymi markerami podczas gdy w EC nie występuje reakcja z WT1, a w przypadku p16 oraz p53 typu dzikiego może występować śladowa reakcja. W około 10% przypadków endometrioidalnego raka jajnika mogą występować synchronicznie guzy endometrium, guzy przerzutowe z jajnika lub endometrium lub synchronicznie występujące guzy pierwotne jajnika lub endometrium. Pacjentki z występującymi synchronicznie guzami jajnika i endometrium charakteryzowały się: młodszym wiekiem, często były przed menopauzą, były nieródkami oraz częściej występowała u nich otyłość. Całkowite przeżycie w przypadku synchronicznie występujących guzów jest zazwyczaj bardzo dobre (około 10 lat) szczególnie jeżeli oba guzy miały endometrioidalną budowę histologiczną. Endometrioidalne guzy jajnika są zazwyczaj związane z mutacjami somatycznymi *CTNNB1* i *PTEN*. Częstość

występowania mutacji *CTNNB1* w guzach jajnika i endometrium jest zbliżona, ale w guzach jajnika rzadziej występuje niestabilność mikrosatelitarna oraz nieprawidłowości *PTEN*.

Rak śluzowy jajnika

Rak śluzowy jajnika (MC) jest rzadkim typem histopatologicznym, stanowi 2-4 % raków jajnika. Nowotwory śluzowe najczęściej charakteryzują się wielotorbielowatą strukturą, w 90% komórek widoczny jest śluz wypełniający zazwyczaj ponad połowę cytoplazmy. Uważa się, że MC wywodzi się ze zmian łagodnych, które poprzez śluzowe guzy o granicznej złośliwości ulegają przekształceniu do form inwazyjnych. Większość wykrywanych guzów śluzowych to guzy o złośliwości granicznej lub raki śluzowe w I stopniu zaawansowania klinicznego. W MC dominującymi zmianami molekularnymi są mutacje w szlaku RAS, fakt ten daje nadzieje na opracowanie nowych strategii leczenia przeznaczonych dla kobiet z zaawansowanymi zmianami pierwotnymi lub wznową nowotworu. Najczęściej występującym defektem genetycznym stwierdzanym w MC są mutacje genu *KRAS* i amplifikacja / nadekspresja *ERBB2*. Wyniki dostępnych badań sugerują, że rokowanie w guzach śluzowych w których nie występują mutacje w szlaku RAS, podobnie jak w nowotworach surowicznych jest gorsze. Według piśmiennictwa w ponad 75% złośliwych guzów śluzowych jajnika mogą być obecne mutacje *KRAS* jakkolwiek w niektórych opracowaniach autorzy nie wykluczyli z analizy śluzowych guzów granicznych i zmian przerzutowych. W nowotworach śluzowych stwierdza się również obecność mutacji genów *BRAF*, *TP53*, *PTEN*, *PI3KCA*, a także *CDKN2A* i *RHF 43*. Jakkolwiek rzadkie występowanie guzów śluzowych znacząco zmniejsza możliwości przeprowadzenia analizy mutacji na większą skalę.

Jasnokomórkowy rak jajnika

Jasnokomórkowy rak jajnika (CCC) stanowi 5-13% złośliwych guzów jajnika. CCC zazwyczaj jest rozpoznawany u pacjentek młodszych w porównaniu do HGSC. Zazwyczaj występuje pod postacią guza zlokalizowanego w jajniku, często współistnieje z endometriozą. CCC mają agresywny przebieg kliniczny i rzadko odpowiadają na leczenie standardowymi schematami chemioterapii opartej na pochodnych platyny. Aktualne badania sugerują, że w około 40% CCC występuje mutacja *PI3KCA*. Większość CCC wykazuje obecność dzikiego podtypu *p53*, w

guzach tych rzadko występują mutacje *BRCA1* i *BRCA2*. Kolejną cechą charakterystyczną CCC jest wysoka ekspresja HIF1 α . Uwagę zwraca wysoki odsetek guzów wykazujących ekspresję HER2/neu, 2.5 do 10 razy wyższą niż w przypadku pozostałych raków jajnika typu pierwszego i drugiego, wskazuje to na potencjalną możliwość zastosowania inhibitorów HER2/neu w leczeniu CCC. Dane dotyczące występowania mutacji *KRAS* są skąpe i niejednoznaczne. Jones i Auner i wsp. wykryli obecność mutacji *KRAS* odpowiednio w 4.7% i 26% CCC. Według Despierre i wsp. mutacje *KRAS* były obecne w 14 % CCC co stanowi istotnie niższy odsetek w stosunku do innych podtypów raka jajnika np. śluzowych. Podobny odsetek występowania mutacji *KRAS* stwierdzano również w guzach endometrioidalnych, może to potwierdzać hipotezę o wspólnym pochodzeniu obydwu podtypów raka jajnika. Według Zannoniego i wsp. mutacje *KRAS* w CCC występowały najczęściej w kodonie 12 eksonie 2.

Mutacje punktowe w komórkach nowotworowych mogą być wykrywane przy zastosowaniu różnych technik. Status mutacji genów *KRAS*, *NRAS* i *BRAF* może być określony za pomocą sekwencjonowania, które umożliwia wykrycie wszystkich potencjalnych wariantów mutacji takich jak: substytucja, insercje oraz delecja. Jakkolwiek metoda ta posiada również pewne ograniczenia, które nie pozwalają na jej powszechne zastosowanie w warunkach klinicznych, przede wszystkim nie jest to metoda wystarczająco czuła (10-30%) aby wykryć specyficzne mutacje punktowe. Czułość analityczna metody może być zwiększona poprzez pyroseqwencjonowanie, analizę krzywej temperatur topnienia, reakcję PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR). Metody Next Generation Sequencing (NGS) zapewniają wysoką czułość analityczną, oferują także możliwości diagnozowania szerokiego spektrum mutacji, posiadają również odpowiednią pojemność pozwalającą na analizę częstości zmutowanych alleli i równoczesną ocenę współistniejących mutacji. Zastosowanie bezpośredniego sekwencjonowania jako rutynowej metody diagnostycznej w warunkach szpitalnych niesie ze sobą pewne ograniczenia takie jak: konieczność zakupu drogiego wyposażenia oraz wdrożenia skomplikowanych procedur. Kolejnym czynnikiem ograniczającym zastosowanie tej metody w codziennej praktyce klinicznej są długie czasy trwania oznaczeń. Wszystkie wyżej wymienione czynniki spowodowały konieczność opracowania szybkiej, czułej i swoistej metody pozwalającej na wykrywanie mutacji punktowych. Ostatnio

pojawiła się nowa, molekularna metoda diagnostyczna pozwalająca na wykrycie mutacji *BRAF*, *KRAS* i *NRAS*. Jest to w pełni automatyczny molekularny system diagnostyczny oparty na allelo-specyficznej analizie ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR). W przeciwieństwie do wcześniej dostępnych technologii Idylla™ Mutation Test nie wymaga ręcznego przygotowania próbki (odparafinowania, trawienia bloczków parafinowych utrwalonych w formalinie oraz ekstrakcji DNA), wszystkie te procedury są zintegrowane w jednorazowym kartridżu. Zamiast tego skrawki tkanki z bloczków parafinowych utrwalonych w formalinie po włożeniu do kartridża poddawane są procesom przez Idylla™ System. Również kolejne etapy wykonywania oznaczenia np. detekcja mutacji RT-PCR i raportowanie wyników są w pełni zintegrowane i automatyczne co wyklucza konieczność zatrudnienia wysoko wyspecjalizowanego personelu. Całkowity czas wykonania oznaczenia wynosi około dwóch godzin, czas wymagany do przygotowania kartridża do oznaczenia próbki oraz uruchomienia systemu wynosi niecałe dwie minuty. Testy mutacji posiadają certyfikat CE-IVD. Dzięki zastosowaniu systemu Idylla™ Mutation Test, nawet w gorzej wyposażonych placówkach, stało się możliwe zintegrowanie danych morfologicznych i molekularnych niezbędnych do podejmowania decyzji diagnostycznych i terapeutycznych. Analiza molekularna mutacji związanych z powstawaniem nowotworów złośliwych, a także rozwój terapii celowanych przyczyniły się do istotnego postępu w rozpoznaniu i leczeniu raka jajnika. Dotychczasowa identyfikacja nowotworów jajnika opierała się głównie na określeniu ich cech morfologicznych. Obecnie trwają badania kliniczne mające na celu ocenę zastosowania czynników skierowanych bezpośrednio w elementy szlaku RAS-RAF-MEK. Wprowadzenie leczenia spersonalizowanego zrewolucjonizowało standardy postępowania w wyselekcjonowanych przypadkach. Wykrycie krytycznych mutacji somatycznych w komórkach nowotworowych poprawia dokładność diagnostyczną oraz umożliwia dokładniejsze określenie rokowania. Jednak głównym celem jest opracowanie wysoce efektywnych terapii celowanych pozwalających na istotną poprawę wyników leczenia.

Najważniejsze wnioski z Publikacji nr 1:

1. W ostatnim czasie pojawiły się liczne dowody popierające istnienie dwóch różnych szlaków prowadzących do powstania dwóch typów raka jajnika.

2. Najczęściej stwierdzanymi zmianami genetycznymi w guzach typu pierwszego są mutacje genów *KRAS*, *BRAF*, *PTEN* i β -*katenuiny*.

3. Poznanie profilu molekularnego guza jajnika pozwala na postawienie precyzyjnego rozpoznania, a także wyboru odpowiedniego leczenia po pierwotnym leczeniu operacyjnym.

4. W pełni automatyczny i zintegrowany system Idylla™ Mutation Test jest nową metodą diagnostyczną pozwalającą na szybkie wykrycie mutacji m.in. *BRAF*, *KRAS* i *NRAS*.

Znaczenie praktyczne i naukowe wyników Publikacji 1:

Poznanie profilu molekularnego guza jajnika jest niezwykle istotne ze względu na możliwość postawienia precyzyjnego rozpoznania, a także wyboru odpowiedniego leczenia po pierwotnym leczeniu operacyjnym. Istotnym zagadnieniem jest również dobór właściwego leczenia w terapii wznowy u pacjentek po pierwotnym leczeniu zaawansowanych postaci raka jajnika typu pierwszego. Dzięki zastosowaniu systemu Idylla™ Mutation Test nawet w gorzej wyposażonych placówkach, możliwe stało się zintegrowanie danych morfologicznych i molekularnych niezbędnych do podejmowania decyzji diagnostycznych i terapeutycznych.

Publikacja nr 2

Poszczególne typy histologiczne raka jajnika różnią się pod względem czynników ryzyka, rodzaju zmian prekursorowych, przebiegu klinicznego, sposobu rozprzestrzeniania, cech molekularnych, odpowiedzi na konwencjonalną chemioterapię oraz rokowania. Dlatego też priorytetem diagnostyki raka jajnika powinna być szczegółowa identyfikacja typu guza pod względem jego cech morfologicznych oraz profilu genetycznego i immunohistochemicznego. Efektywne zahamowanie rozprzestrzeniania się nowotworu jest związane z koniecznością poznania mikrośrodowiska guza, co może umożliwić modyfikację jego właściwości, m.in. wzrostu lokalnego i inwazyjności komórek nowotworowych. Mutacje genów *BRAF* i *KRAS*, elementów szlaku MAPK często występują w guzach granicznych jajnika oraz surowicznych rakach jajnika o niskim potencjale wzrostu, ponad to mogą być spotykane w guzach śluzowych. Dla kontrastu, mutacje te nie występują zupełnie w

agresywnym raku jajnika typu drugiego. V600E jest najczęściej występującą mutacją genu *BRAF* stwierdzaną w surowicznych guzach granicznych oraz surowicznych rakach jajnika o niskim potencjale wzrostu.

Głównym celem przeprowadzonego przeze mnie badania było określenie, czy w pełni zintegrowany system diagnostyczny Idylla™ może być przydatnym narzędziem diagnostycznym pozwalającym na określenie statusu mutacji *BRAF* u pacjentek z guzami granicznymi jajnika oraz rakiem jajnika o niskim potencjale wzrostu. Przydatność systemu Idylla™ nie była dotychczas oceniona w diagnostyce mutacji *BRAF* V600E w guzach jajnika.

W przeprowadzonym przeze mnie badaniu oceniono tkanki 42 pacjentek z histopatologicznie zweryfikowanymi guzami przydatków operowanych w Katedrze i Klinice Płodnictwa, Chorób Kobietych i Ginekologii Onkologicznej, Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, pomiędzy styczniem 2009 a czerwcem 2012 roku. Wszystkie pacjentki zostały poddane leczeniu operacyjnemu, a także w niektórych przypadkach chemioterapii zgodnej z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej. Na podstawie badania histopatologicznego w 35 przypadkach rozpoznano raka jajnika typu pierwszego a w 7 przypadkach guz graniczny jajnika. Immunoekspresja cytoplazmatyczna białka *BRAF* V600E (VE1) została stwierdzona w trzech przypadkach surowicznych guzów granicznych. We wszystkich przypadkach, w których stwierdzono ekspresję białka *BRAF* V600E (VE1) stwierdzono również obecność mutacji *BRAF* V600E/E2/D (protein HGVS: p.(Val600Glu)/p. (Val600Glu)/p.(Val600Asp); base change: c.1799T >A/c.17991800TG > AA/c.1799_1800TG > AT; c.1799_1800TG > AC).

W przeprowadzonym badaniu ekspresję białka VE1 oraz obecność mutacji *BRAF* V600E wykryto w trzech przypadkach, we wszystkich dotyczyły surowiczego guza granicznego jajnika. Zmutowanego białka nie wykryto w żadnym przypadku raka jajnika. Obecność mutacji *BRAF* V600E nie była związana z większym odsetkiem przeżyć pięcioletnich. Według piśmiennictwa obecność mutacji *BRAF* V600E w nowotworach jajnika jest związana z: wczesnymi stopniami zaawansowania, surowiczym typem histologicznym o granicznej złośliwości oraz lepszym rokowaniem. Wykazano, że obecność mutacji *BRAF* u pacjentek z surowiczymi guzami jajnika o granicznej złośliwości zapobiega progresji do bardziej agresywnych postaci choroby. W przypadku innych nowotworów wykrycie mutacji *BRAF* V600E ma zgoła inne

znaczenie, np. w raku brodawkowatym tarczycy oraz raku jelita grubego jest uważana za niekorzystny czynnik prognostyczny.

Obecnie mutacje *BRAF* wykrywane są zazwyczaj za pomocą metod molekularnych, takich jak konwencjonalne sekwencjonowanie, techniki Next Generation Sequencing (NGS), pyrosekwencjonowanie oraz allelospecyficzne techniki PCR z analizą krzywej temperatury topnienia. Zastosowanie wszystkich wymienionych powyżej technik wymaga dostępu do zaawansowanego laboratorium diagnostycznego i związane jest z długimi czasami wykonywania oznaczeń. W wyniku tego techniki molekularne stanowią jedynie dodatkową metodę badawczą pozwalającą na wykrycie mutacji *BRAF*. Upřednio przeprowadzone badania wykazały, że immunoznakowanie z użyciem przeciwciał monoklonalnych (VE1) specyficznie wykrywających zmutowane białko *BRAF* V600E w preparatach bloczków parafinowych utwralonych w formalinie może stanowić alternatywną metodę dla technik molekularnych skringu mutacji *BRAF*. Zastosowanie przeciwciał anti-*BRAF* V600E (VE1) zapewnia wysoki stopień wiarygodności i specyficzności w wykrywaniu zmutowanego białka *BRAF* V600E co zostało potwierdzone przez licznych autorów. W ostatnim czasie pojawiły się nowe możliwości diagnostyki molekularnej pozwalającej na wykrycie obecności mutacji *BRAF*. W pełni automatyczny molekularny system diagnostyczny Idylla™, pozwala na analizę ilościową allelospecyficzną opartą na metodzie PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR). Niewątpliwy wpływ na rozwój technik molekularnych miało pojawienie się różnych czynników pozwalających na blokowanie elementów szlaku RAS/RAF kinaz białkowych aktywowanych mitogenami. Czynniki te podlegają obecnie próbom klinicznym, a w stosunku do niektórych wykazano już obiecującą aktywność kliniczną w leczeniu nowotworów związanych z występowaniem mutacji *BRAF*.

Najważniejsze wnioski z Publikacji nr 2:

1. Najczęściej występującą mutacją genu *BRAF* stwierdzaną w surowiczych guzach granicznych oraz surowiczych rakach jajnika o niskim potencjale wzrostu jest V600E .
2. Immunoekspresja cytoplazmatyczna białka *BRAF* V600E (VE1) oraz mutacja *BRAF* V600E/E2/D została stwierdzona w 9% przypadków surowiczych guzów granicznych.

3. System Idylla™ Mutation Test pozwala na allelospecyficzną analizę ilościową mutacji opartą na metodzie RT-PCR. Jest to przydatne narzędzie umożliwiające szybką identyfikację mutacji *BRAF* V600E/E2/D u pacjentek z guzem jajnika w warunkach klinicznych.

Znaczenie praktyczne i naukowe wyników Publikacji 2:

Badania mające na celu stwierdzenie obecności mutacji *BRAF* stają się obecnie coraz bardziej powszechne, szczególnie wśród pacjentów kwalifikowanych do leczenia inhibitorami genu *BRAF* lub modulatorami szlaku MEK. W diagnostyce guzów jajnika wykrycie mutacji *BRAF* w tkankach guza stanowi dodatkowe potwierdzenie rozpoznania histopatologicznego. Szybkie rozpoznanie obecności mutacji *BRAF* V600E za pomocą zintegrowanego systemu diagnostycznego Idylla™ może być istotnym elementem diagnostyki pacjentek z surowiczymi guzami jajnika o granicznej złośliwości. Biorąc pod uwagę znaczenie kliniczne obecności mutacji *BRAF*, pozwoli to na identyfikację grupy, w której prawdopodobieństwo postępu choroby będzie mniejsze.

Publikacja nr 3

Lepsze zrozumienie molekularnych procesów karcynogenezy raka jajnika mogłoby umożliwić w przyszłości wcześniejsze wykrywanie oraz lepszą prewencję tej choroby. Poza tym może stanowić podstawę rozwoju nowych, bardziej efektywnych metod terapeutycznych. Dokładna klasyfikacja histologiczna jest szczególnie istotna w dobie leczenia spersonalizowanego, kiedy typ histologiczny guza nowotworowego stanowi często kryterium podjęcia określonej terapii. Diagnostyka molekularna ciągle nie jest rutynową częścią postępowania w przypadku rozpoznania raka jajnika. Może się to wkrótce zmienić ze względu na fakt, że markery molekularne raka jajnika stanowią obecnie przedmiot intensywnych badań.

Mutacje genów *KRAS* i *BRAF* stanowią najczęściej występujące aberracje genetyczne związane z rakami jajnika typu pierwszego oraz surowiczymi guzami granicznymi jajnika. Surowicze raki jajnika o niskim potencjale wzrostu, w których wykryto obecność mutacji *KRAS* wydają się być bardziej agresywne i bardziej prawdopodobne, że wznowa w ich przypadku może wystąpić częściej, niż w

przypadkach, w których wykryto obecność mutacji *BRAF*. Określenie profilu molekularnego guza jajnika wymaga dostępu do wysoce specyficznych i bardzo czułych metod diagnostycznych. Jednym z kandydatów do takiej metody jest w pełni zintegrowany system diagnostyczny Idylla™, oparty na metodzie PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR), pozwalający na wykrycie mutacji *KRAS* z utrwalonych w formalinie bloczków parafinowych (FFPE). Idylla™ *KRAS* Mutation Test został zaprojektowany w celu wykrywania 21 mutacji genu *KRAS*: 7 mutacji w kodonie 12 I 13 (ekson 2), 9 mutacji w kodonie 59 I 61 (ekson 3), 5 mutacji w kodonie 117 i 146 (ekson 4). Wyniki badania otrzymuje się w ciągu 2 godzin, a ryzyko zanieczyszczenia reakcji PCR jest zredukowane do minimum, ze względu na zamkniętą budowę kartridża. Według dostępnej literatury, przydatność systemu Idylla w wykrywaniu mutacji *KRAS* u pacjentek z guzami granicznymi oraz rakiem jajnika nie była dotychczas analizowana.

Celem badania było określenie czy w pełni zintegrowany, oparty na reakcji RT-PCR Idylla™ może być przydatny w szybkiej identyfikacji mutacji *KRAS* u pacjentek z guzami granicznymi jajnika oraz rakiem jajnika typu pierwszego. W badaniu wzięło udział 37 pacjentek, które były operowane w Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika pomiędzy styczniem 2009 a czerwcem 2012 roku. U wszystkich pacjentek przeprowadzono leczenie chirurgiczne, zależne od stopnia zaawansowania choroby, a niektóre z pacjentek otrzymały chemioterapię zgodnie z rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej. Na podstawie badania histopatologicznego guzów jajnika w 30 przypadkach rozpoznano raki typu pierwszego, a w 7 przypadkach surowicze guzy graniczne jajnika. W siedmiu przypadkach wykryto obecność mutacji *KRAS*, w tej grupie u trzech pacjentek rozpoznano surowiczy guz graniczny jajnika; w dwóch przypadkach stwierdzono mutację w kodonie 12 G12D (p.Gly12Asp; nucleotide: c35G>A) i jedną w kodonie 12 G12A (p.Gly12Ala; nucleotide: c35G>C). W kolejnych dwóch przypadkach mutacje *KRAS* w kodonie 12 G12A (p.Gly12Ala; nucleotide: c35G>C) oraz kodonie 12 G12V (p.Gly12Val; nucleotide: c35G>T) stwierdzono w surowiczych rakach jajnika o niskim potencjale wzrostu. U pozostałych dwóch pacjentek: jednej z śluzowym oraz endometrioidalnym rakiem jajnika stwierdzono obecność mutacji *KRAS* w kodonie 12 G12V (p.Gly12Val; nucleotide: c35G>T).

Rodzina onkogenów *RAS* składa się z trzech członków: *KRAS*, *HRAS* i *NRAS*, wszystkie z nich są zaangażowane w rozwój nowotworów u człowieka. Gen *KRAS* zlokalizowany na chromosomie 12p12 koduje białko (p21RAS) zaangażowane w szlak MAP, odpowiedzialny za kontrolowanie proliferacji i różnicowania komórek. Obecność mutacji *KRAS* powoduje konstytutywną aktywację szlaku metabolicznego prowadzącą do niekontrolowanej proliferacji oraz różnicowania komórek. Częstość występowania mutacji punktowych *KRAS* w raku jajnika szacuje się na 15-39%. W gruczolakach surowiczych jajnika nie stwierdzano obecności mutacji *KRAS* i *BRAF*, ich obecność wykryto natomiast w surowiczych granicznych guzach jajnika oraz nabłonku torbielakogruczolaków przylegających do małych guzów granicznych jajnika. Podczas gdy mutacje te są obecne w surowiczych guzach granicznych, nieinwazyjnych lub inwazyjnych mikrobrodawkowatych rakach surowiczych, nie stwierdza się ich obecności w surowiczych rakach jajnika typu drugiego. Obserwacja ta potwierdza teorię dwóch ścieżek karcynogenezy raka jajnika. Występowanie mutacji *KRAS* i *NRAS* jest relatywnie częste w zaawansowanym oraz nawrotowym raku surowiczym jajnika o niskim potencjale wzrostu. Obecność mutacji *KRAS* została również udokumentowana w rakach śluzowych, jasnokomórkowych oraz endometrioidalnych jajnika. W przeprowadzonym badaniu zidentyfikowaliśmy obecność mutacji *KRAS* u 7 pacjentek z guzami granicznymi jajnika oraz rakami jajnika typu pierwszego. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie związków pomiędzy występowaniem mutacji *KRAS* a typem histopatologicznym guza jajnika. Według piśmiennictwa mutacje *KRAS* i *BRAF* są rozpoznawane w około 1/3 przypadków guzów granicznych jajnika oraz 1/3 raków surowiczych jajnika o niskim potencjale wzrostu. Jakkolwiek nigdy nie stwierdzano obecności mutacji *KRAS* i *BRAF* w obrębie tego samego guza, sugeruje to, że każdy guz jest pod względem obecności mutacji *KRAS* lub *BRAF* swoisty. Potwierdzają to również wyniki naszego poprzedniego badania, w którym za pomocą Idylla™ Mutation Test wykryto obecność mutacji *BRAF* lub *KRAS* w 6 z 7 surowiczych guzów granicznych, aberracje te nigdy nie występowały w obrębie tego samego guza. Określenie profilu molekularnego guza, w tym również wykrywanie obecności mutacji *KRAS* jest aktualnie stosowane w celu optymalizacji leczenia w różnych nowotworach złośliwych włączając w to raka jelita grubego i odbytnicy, niedrobnokomórkowego raka płuc i raka trzustki. Badania molekularne umożliwiają identyfikację pacjentów, którzy odniosą największą korzyść z zastosowania określonej terapii. Zastosowanie

metod bezpośredniego sekwencjonowania jako rutynowej metody diagnostycznej w warunkach szpitalnych wymaga wprowadzenia skomplikowanych procedur oraz zakupu drogiego wyposażenia. Kolejnym ograniczeniem wprowadzenia tych metod w rutynowej praktyce są długie czasy trwania oznaczeń. Wszystkie te czynniki miały wpływ na rozpoczęcie poszukiwań prostej, szybkiej, czułej i dokładnej metody wykrywania mutacji punktowych. W ostatnim czasie pojawił się w pełni zautomatyzowany molekularny system diagnostyczny pozwalający na allelospecyficzną analizę ilościową opartą na reakcji RT-PCR. Wyniki przeprowadzonego przez nas badania sugerują, że Idylla™ KRAS Mutation Test może być użytecznym narzędziem diagnostycznym pozwalającym na szybkie wykrycie mutacji *KRAS* w tkance guza jajnika.

Najważniejsze wnioski z Publikacji nr 3:

- 1.** Obecność mutacji *KRAS* determinuje bardziej agresywny fenotyp nowotworu jajnika w porównaniu do związanego z występowaniem mutacji *BRAF*.
- 2.** Obecność mutacji *KRAS* wykryto w 20% przypadków, u trzech pacjentek rozpoznano surowiczy guz graniczny jajnika, a w czterech przypadkach raka jajnika typu pierwszego.
- 3.** W przeprowadzonych przez nas badaniach nie stwierdzono współistnienia mutacji *KRAS* i *BRAF* w obrębie tego samego guza jajnika. Sugeruje to, że surowicze guzy graniczne oraz raki jajnika typu pierwszego są pod względem obecności tych mutacji swoiste.
- 4.** System Idylla™ Mutation Test pozwala na allelospecyficzną analizę ilościową mutacji opartą na reakcji RT-PCR. Jest to przydatne narzędzie umożliwiające szybką identyfikację mutacji *KRAS* u pacjentek z guzami jajnika w warunkach klinicznych.

Znaczenie praktyczne i naukowe wyników Publikacji 3:

Na podstawie przeprowadzonego, badania po raz pierwszy udowodniono, że w pełni zautomatyzowany system diagnostyczny Idylla™ jest narzędziem pozwalającym na wykrycie mutacji *KRAS* w tkance nowotworowej guzów jajnika. Zastosowanie tego urządzenia pozwala ginekologom i patologom z ośrodków, które nie są wyposażone w wysoce specjalistyczny sprzęt do diagnostyki molekularnej na

połączenie diagnozy morfologicznej z danymi molekularnymi, co może mieć kluczowe znaczenie dla dalszego postępowania z pacjentką. Stwierdzenie obecności krytycznych somatycznych mutacji punktowych w komórkach nowotworowych pozwala na postawienie precyzyjnej diagnozy oraz dokładniejsze określenie rokowania.

Publikacja nr 4

Istnieją różne metody pozwalające na wykrywanie mutacji punktowych w nowotworach, najpopularniejszą z nich jest bezpośrednio sekwencjonowanie. Metoda ta pozwala na określenie wszystkich możliwych zmutowanych wariantów genu powstałych w wyniku min. substytucji, delecji czy insercji. Wprowadzenie bezpośredniego sekwencjonowania do rutynowej praktyki szpitalnej wymaga inwestycji w kosztowne wyposażenie, a także wdrożenia skomplikowanych procedur, istotnym czynnikiem ograniczającym zastosowanie tej metody w codziennej praktyce są również długie czasy trwania oznaczeń. Zapoczątkowało to poszukiwanie prostej, szybkiej oraz odpowiednio czułej i specyficznej metody pozwalającej na wykrycie mutacji punktowych. Efektem poszukiwań było stworzenie systemu diagnostycznego Idylla™ pozwalającego na wykrycie najczęściej występujących mutacji punktowych genów *NRAS*, *KRAS*, *BRAF* i *EGFR*. Jest to w pełni automatyczny molekularny system diagnostyczny przeznaczony do ilościowej allelo-specyficznej analizy opartej na reakcji PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR), został on zaaprobowany przez Komisję Europejską do diagnostyki in vitro (CE-IVD). Ponieważ system Idylla™ zapewnia wysoką dokładność genotypowania *NRAS*, *KRAS*, *BRAF* i *EGFR* może być stosowany jako wystandaryzowana metoda w ośrodkach klinicznych nie posiadających wysoce specjalistycznej aparatury służącej do analiz molekularnych. Ponadto wykonywanie oznaczeń nie wymaga zaangażowania wysoce wykwalifikowanego personelu. Dzięki wykorzystaniu tego systemu patolodzy z mniejszych ośrodków diagnostycznych mogą w łatwy sposób zintegrować rozpoznanie morfologiczne z danymi molekularnymi, co może mieć istotny wpływ na dalsze decyzje diagnostyczne i terapeutyczne. Pomimo, że występowanie mutacji *KRAS/BRAF* oraz *TP53/BRCA* jest bardzo częste w surowiczych guzach jajnika odpowiednio o niskim i wysokim potencjale wzrostu, nie stwierdza się ich obecności we wszystkich guzach złośliwych. Sugeruje to występowanie nie poznanych

dotychczas czynników wpływających na powstawanie mutacji, takich jak na przykład mutacja *NRAS*, która może być zaangażowana w powstawanie i progresję guzów nowotworowych. *NRAS* jest uznanym onkogenem biorącym udział w powstawaniu nowotworów różnych typów m.in. białaczki oraz czerniaka złośliwego. *NRAS* może być również onkogenem odpowiedzialnym za inicjowanie progresji surowiczych guzów granicznych do postaci inwazyjnych. Pierwotnym celem naszego badania była weryfikacja czy w pełni zintegrowany system diagnostyczny Idylla™ oparty na reakcji RT-PCR może być wykorzystywany do szybkiej identyfikacji mutacji *NRAS* u pacjentek z surowiczymi guzami granicznymi jajnika oraz surowiczymi rakami jajnika o niskim potencjale wzrostu. W badaniu zostały poddane analizie tkanki guzów jajnika 12 pacjentek operowanych w Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej CM UMK pomiędzy styczniem 2009 a czerwcem 2012. Wszystkie pacjentki zostały poddane leczeniu chirurgicznemu odpowiedniemu do stopnia zaawansowania klinicznego choroby, w niektórych przypadkach zgodnie z aktualnymi polskimi rekomendacjami zastosowano adjuwantową chemioterapię opartą na pochodnych platyny. Stopień zaawansowania klinicznego guzów jajnika został określony zgodnie z rekomendacjami FIGO. W oparciu o badanie histopatologiczne 5 zmian zakwalifikowano jako surowicze raki jajnika o niskim potencjale wzrostu, a 7 jako surowicze guzy graniczne jajnika. Mutacja *NRAS* w kodonie 13 (G13D, p.Gly13Asp; nucleotide: c.38G>A) została rozpoznana u jednej pacjentki z surowiczym rakiem jajnika o niskim potencjale wzrostu. Trzy geny *RAS* występujące u człowieka są odpowiedzialne za powstawanie zbudowanych z 188 i 189 aminokwasów białek określanych jako *HRAS*, *NRAS* i *KRAS* (*KRAS4A* i *KRAS4B*). Białka *RAS* są zlokalizowane po wewnętrznej stronie błony komórkowej, odpowiadają za GDP/GTP zależne przetęczenia przewodzące sygnały zewnątrzkomórkowe i mają istotne znaczenie dla wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych biorących udział w podstawowych procesach komórkowych, takich jak utrzymanie polarności, proliferacja, różnicowanie, przyleganie, migracja i apoptozę. Podstawowym efektem działania mutacji genu *NRAS* jest aktywacja komunikacji międzykomórkowej poprzez szlaków sygnałowych, głównie *RAS-RAF-MAPK* i *PI3K-AKT*. Pomimo, że *NRAS*, *KRAS* i *HRAS* posiadają pewne podobieństwa strukturalne i funkcjonalne, w nowotworach człowieka związanych z genami *RAS* najczęściej mutacje dotyczą *KRAS*. Częstość mutacji *RAS* może być zmienna w zależności od rodzaju nowotworu, szacunkowo

wynosi około 20%. Kolejnym interesującym zagadnieniem jest współistnienie mutacji w genach związanych ze szlakiem sygnałowym RAS-RAF-MAK występujące na przykład w rakach jelita grubego i odbytnicy. Vagaja i wsp. odnotowali współistnienie mutacji *KRAS* i *NRAS* w złośliwym nowotworze odbytnicy. Przeprowadzone przez nas, za pomocą systemu Idylla™ wcześniejsze badania dotyczące występowania mutacji *BRAF* i *KRAS* w guzach jajnika wykluczyły współistnienie tych mutacji w obrębie tego samego guza jajnika. Współistnienie mutacji *KRAS* i *NRAS* we wczesnych postaciach choroby nowotworowej może sugerować, że geny te kontrolują różne funkcje komórki. Efekty działania tych genów mogą być synergistyczne, *KRAS* jest pierwotnie zaangażowany w proliferację, podczas gdy *NRAS* reguluje przeżycie komórki. W guzach jajnika mutacje *KRAS* i *BRAF* pojawiają się we wczesnym etapie rozwoju, często już w guzach granicznych i konieczny jest dodatkowy czynnik spustowy, na przykład pojawienie się mutacji *NRAS*, które jest uważane za czynnik przyspieszający progresję guza. Hipotezę tą wydają się popierać wyniki naszego badania, w którym mutacja *NRAS* wystąpiła w przypadku raka surowiczego o niskim potencjale wzrostu, natomiast obecności mutacji nie wykryto w żadnym z guzów granicznych. *NRAS* został także zidentyfikowany jako istotny statystycznie predyktor gorszego rokowania. Jednakże ze względu na niską liczebność grupy badanej trudno jest sformułować ostateczne wnioski, nie mniej jednak taka zależność została przez nas stwierdzona. Niewątpliwie mała liczebność grupy badanej oraz brak istotnych statystycznie zależności pomiędzy występowaniem mutacji *NRAS* a typem histologicznym guza, również powinny być wzięte pod uwagę przy ocenie znaczenia tej obserwacji.

Obecność mutacji *NRAS* została stwierdzona również w czerniaku złośliwym, raku odbytnicy i jelita grubego, pęcherzykowym raku tarczycy oraz ostrej białaczce szpikowej. Częstość występowania mutacji *NRAS* w czerniaku złośliwym wynosi około 15-20%, obecność mutacji jest czynnikiem niekorzystnym rokowniczo, ma związek z niższym odsetkiem przeżyć całkowitych. Ponadto status mutacji *NRAS* służy jako marker biologiczny pozwalający na wyodrębnienie grupy, która może odnieść korzyści z leczenia celowanego. W rakach odbytnicy i jelita grubego mutacje *NRAS* stwierdza się w około 4% przypadków, ich obecność również jest związana z niekorzystnym rokowaniem. Stwierdzenie mutacji *NRAS* niesie ze sobą konieczność zastosowania specjalnych strategii terapeutycznych. Obecność mutacji genów

związanych z osią *EGFR* takich jak *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* i *PIK3CA* pozwala przewidywać oporność na leczenie anty-*EGFR*. Ponadto uważa się, że mutacja *NRAS* promuje transformację nowotworową w zaawansowanych rakach jelita grubego i odbytnicy. Wyniki badań *in vitro* oraz na modelach zwierzęcych sugerują, że proces ten może być odwrócony poprzez wyciszenie zmutowanych kodonów. Wyniki badań oceniających efektywność terapii celowanych, w różnych nowotworach związanych z występowaniem mutacji *NRAS* uzasadniają podjęcie dalszych badań nad rolą tych anomali genetycznych w patogenezie raka jajnika. Dzięki charakterystyce platformy diagnostycznej *Idylla™*, do diagnostyki mutacji genetycznych nie jest wymagane dodatkowe wyposażenie w urządzenia do diagnostyki molekularnej oraz zatrudnienie wysoce wykwalifikowanego personelu. Dokładność badania zależy od kilku czynników takich jak: objętość tkanki, jakość badanego DNA, a także odsetek komórek nowotworowych w próbce. Ponadto trzeba pamiętać, że aktualnie dostępne *Idylla™* zostały zaprojektowane do wykrywania określonych, najczęściej występujących mutacji genów *NRAS*, *KRAS*, *EGFR* i *BRAF*. Dlatego też system ten nie jest zdolny do wykrycia każdej nieprawidłowości genetycznej. Stwierdzenie obecności rzadkich mutacji wymaga zastosowania dodatkowych technik molekularnych.

Najważniejsze wnioski z Publikacji nr 4:

1. *NRAS* może być onkogenem odpowiedzialnym za inicjowanie progresji surowiczych guzów granicznych do postaci inwazyjnych.
2. Mutację *NRAS* w kodonie 13 stwierdzono w jednym przypadku surowiczego raka jajnika o niskim potencjale wzrostu.
3. System *Idylla™* Mutation Test pozwala na allelospecyficzną analizę ilościową mutacji opartą na reakcji RT-PCR. Jest to przydatne narzędzie umożliwiające szybką identyfikację mutacji *NRAS* u pacjentek z guzami jajnika.

Znaczenie praktyczne i naukowe wyników Publikacji 4:

Przeprowadzone przez nas badanie jest pionierskie jeżeli chodzi o identyfikację mutacji *NRAS* w guzach jajnika w warunkach klinicznych przy zastosowaniu nowego systemu diagnostycznego. W naszej ocenie platforma *Idylla™* stanowi interesujące

dotychczasowe narzędzie diagnostyczne, umożliwiające szybkie rozpoznanie statusu mutacji *NRAS* w surowiczych guzach granicznych i rakach jajnika o niskim potencjale wzrostu. Jakkolwiek kliniczna przydatność tej metody i określenie jej roli w ustaleniu dalszego postępowania z pacjentką, wymaga jeszcze weryfikacji na większej grupie chorych z nowotworami jajnika.

Publikacja nr 5

Przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT) jest odwracalnym procesem komórkowym podczas którego komórki nabłonka ulegają depolaryzacji, tracą kontakt międzykomórkowy i nabywają cech komórek mezenchymalnych. Charakterystyczną cechą procesu EMT jest utrata typowej morfologii komórek nabłonkowych i reorganizacja cytoszkieletu, dzięki której komórki nabywają potencjału migracyjnego i stają się bardziej inwazyjne. EMT odpowiada także za zwiększenie inwazyjności komórek guza nowotworowego, które nabywają cech nowotworowych komórek macierzystych, a następnie komórek inicjujących powstawanie guza nowotworowego, rozwijają także oporność na chemioterapeutyki. W guzach litych utrata właściwości adhezyjnych komórek prowadzi do zniszczenia normalnej architektury tkankowej, promuje progresję guza i rozsiew komórek nowotworowych. Na podstawie najnowszych badań udowodniono, że EMT odgrywa główną rolę w progresji raka jajnika. W złośliwych nowotworach jajnika EMT przyczynia się do zwiększenia mobilności komórek, inwazyjności oraz zwiększenia potencjału powstawania przerzutów. Komórki nowotworowe nabywają cech komórek macierzystych takich jak nadekspresja genów komórek macierzystych (CD44 i CD133) a także właściwości do samo odnawiania. Utrata ekspresji E-kadheryny jest uważana za kluczowe zdarzenie charakteryzujące EMT. Ważną rolę w regulacji EMT odgrywają czynniki transkrypcyjne takie jak SNAIL, SLUG, TWIST i ZEB, efektem ich działania jest zmniejszenie ekspresji E-kadheryny. Podczas gdy zależności pomiędzy występowaniem EMT a progresją agresywnego fenotypu guzów jajnika typu drugiego, zostały dobrze zbadane, ciągle niewiele jeszcze wiadomo na temat roli tego zjawiska w guzach granicznych i rakach jajnika o niskim potencjale wzrostu. Celem przeprowadzonego przez nas badania była analiza ekspresji czynników transkrypcyjnych zaangażowanych w proces EMT: SNAIL, SLUG, TWIST 1, TWIST 2, ZEB1

i ZEB2 w guzach granicznych i raku jajnika o niskim potencjale wzrostu, a także sprawdzenie czy ekspresja czynników EMT koreluje z cechami morfologicznymi i klinicznymi tych nowotworów.

W badaniu wzięty udział 42 pacjentki ze zweryfikowanymi histopatologicznie guzami jajnika, które były operowane w Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy pomiędzy styczniem 2009 a czerwcem 2012. Zakres przeprowadzonego leczenia operacyjnego był zależny od stopnia zaawansowania klinicznego. W niektórych przypadkach, zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej pacjentki otrzymywały adiuwantową chemioterapię opartą na pochodnych platyny. Na podstawie badania histopatologicznego w 8 przypadkach rozpoznano surowicze guzy graniczne jajnika a w 34 raki jajnika o niskim potencjale wzrostu. Ekspresja czynników transkrypcyjnych SLUG, TWIST 1, ZEB 1 i ZEB 2 została określona na podstawie wybarwienia jąder komórkowych, natomiast w przypadku SNAIL i TWIST 2 na podstawie wybarwienia cytoplazmy i/lub reakcji jądrowej. Odsetek guzów jajnika w których zaobserwowano dodatnią ekspresję czynników transkrypcyjnych przedstawiał się następująco: 85.7% SNAIL, 100% SLUG, 9.5% TWIST 1, 92.2% TWIST 2, 23.8% ZEB 1 i 0% ZEB 2. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w ekspresji czynników transkrypcyjnych pomiędzy grupą guzów granicznych a raków jajnika o niskim potencjale wzrostu. Stwierdzono istotnie wyższą ekspresję czynnika ZEB 1 w grupie po menopauzie w porównaniu do pozostałych pacjentek. Ekspresja pozostałych czynników nie różniła się w sposób istotny w zależności od statusu menopauzalnego. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic w ekspresji czynników transkrypcyjnych w zależności od typu histopatologicznego, zaawansowania klinicznego oraz stopnia zróżnicowania histopatologicznego guzów jajnika. W grupie pacjentek z guzami granicznymi, w trakcie pięcioletniego okresu obserwacji nie odnotowano żadnego zgonu podczas gdy w grupie pacjentek z rakiem jajnika odnotowano 4 zgony. Pomimo tego nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w odsetku przeżyć pięcioletnich pomiędzy grupami, należy tym miejscu podkreślić relatywnie małą liczebność badanych grup. Ponadto nie zaobserwowano również istotnych statystycznie różnic w odsetku przeżyć pięcioletnich w zależności od nasilenia ekspresji poszczególnych czynników transkrypcyjnych. W przeprowadzonym przez nas badaniu obydwie grupy – guzy graniczne oraz raki jajnika o niskim potencjale wzrostu nie różniły się istotnie pod

względem ekspresji czynników transkrypcyjnych. Obserwacja ta wskazuje, że również pod względem ekspresji czynników transkrypcyjnych guzy graniczne oraz raki jajnika o niskim potencjale wzrostu wykazują podobieństwa. Należy podkreślić, że w zdecydowanej większości badanych guzów stwierdzono silnie dodatnią ekspresję kluczowych czynników regulujących EMT - SNAIL, SLUG i TWIST 2. W przeprowadzonym przez nas badaniu nie zaobserwowaliśmy istotnych statystycznie powiązań pomiędzy ekspresją badanych czynników transkrypcyjnych a stopniem zaawansowania klinicznego i zróżnicowania histopatologicznego guzów jajnika. Jedyną istotną statystycznie zależnością była bardziej nasilona ekspresja ZEB1, zaobserwowana w przypadku kobiet pomenopauzalnych. Nie zaobserwowaliśmy również istotnych statystycznie różnic w przeżyciach pięcioletnich pacjentek z guzami granicznymi oraz rakiem jajnika o niskim potencjale wzrostu, prawdopodobnie wynikało to z małej liczebności grupy badanej. Podobne do naszych wyniki uzyskał Tuhkanen i wsp. również nie stwierdzając istotnych statystycznie różnic w ekspresji SNAIL w zależności od cech kliniczno-patologicznych guzów jajnika takich jak stopień zaawansowania klinicznego oraz zróżnicowania histopatologicznego, ekspresja SNAIL nie była również istotnym czynnikiem prognostycznym. Dla odmiany w badaniach Takai i wsp. jądrowa ekspresja SNAIL okazała się być niezależnym czynnikiem prognostycznym u pacjentek leczonych z powodu raka jajnika, w tym samym badaniu ekspresja SLUG nie była istotnym czynnikiem prognostycznym. Według Davidsona i wsp. ekspresja SNAIL i TWIST 1 była znacząco silniejsza u pacjentek z zaawansowaną chorobą nowotworową (stopień III i IV) w porównaniu do niższych stopni zaawansowania raka jajnika. Z kolei według Mao i wsp. ekspresja TWIST 2 korelowała ze stopniem zaawansowania klinicznego ale nie zróżnicowania histopatologicznego raka jajnika. Według Kim i wsp. ekspresja TWIST korelowała z czynnikami kliniczno-patologicznymi pacjentek z rakiem jajnika i była predyktorem gorszego przeżycia. Natomiast Hosono i wsp. określił ekspresję TWIST jako niezależny czynnik predykcyjny przeżycia pacjentek z rakiem jajnika.

Najważniejsze wnioski z Publikacji nr 5:

1. Odsetek guzów jajnika w których zaobserwowano dodatnią ekspresję czynników transkrypcyjnych przedstawiał się następująco: 85.7% SNAIL, 100% SLUG, 9.5% TWIST 1, 92.2% TWIST 2, 23.8% ZEB 1 i 0% ZEB 2.

2. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic ekspresji czynników transkrypcyjnych pomiędzy grupą guzów granicznych a raków jajnika o niskim potencjale wzrostu.

3. Stwierdzono istotnie wyższą ekspresję czynnika ZEB 1 w grupie pacjentek pomenopauzalnych w porównaniu do pozostałych pacjentek.

Znaczenie praktyczne i naukowe wyników Publikacji 5:

Ekspresja czynników transkrypcyjnych SNAIL, SLUG, TWIST i ZEB sugeruje, że zarówno w guzach granicznych jak i rakach jajnika o niskim potencjale wzrostu zachodzą dynamiczne przekształcenia nabłonkowo-mezenchymalne. Wyniki naszego badania sugerują, że ekspresja tych czynników może mieć miejsce na wczesnych etapach rozwoju guza nowotworowego. Brak istotnych różnic w ekspresji czynników transkrypcyjnych może stanowić dowód na wspólne pochodzenie guzów granicznych i raka jajnika o niskim potencjale wzrostu. Uzyskane przez nas wyniki stanowią uzasadnienie do podjęcia dalszych badań mających na celu określenie roli czynników transkrypcyjnych EMT w patogenezie surowicznych guzów granicznych oraz raka jajnika.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

Moje zainteresowania naukowo-badawcze od początku pracy w Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej CM UMK koncentrują się wokół następujących zagadnień:

A. Molekularne aspekty patogenezy nowotworów narządów płciowych:

Od momentu rozpoczęcia specjalizacji w dziedzinie położnictwa i ginekologii w 2001 roku, szczególnie interesowała mnie diagnostyka oraz leczenie chorób nowotworowych żeńskich narządów płciowych. Przez większość czasu mojej aktywności zawodowej pracowałem na oddziałach ginekologii onkologicznej szczególnie rozwijając swoje umiejętności w obrębie sal operacyjnych. Naturalnym stało się dla mnie zainteresowanie i chęć poznania złożonych mechanizmów etiopatogenezy nowotworów żeńskich narządów płciowych ze szczególnym

uwzględnieniem raka jajnika oraz raka błony śluzowej trzonu macicy. Uzyskanie grantu promotorskiego Komitetu Badań Naukowych w 2005 roku przez Prof. Wiesława Szymańskiego, którego byłem głównym wykonawcą, pozwoliło na przeprowadzenie badań oceniających czynniki proangiogenne w surowicy krwi oraz płynie otrzewnowym u pacjentek z łagodnymi i złośliwymi guzami jajnika. Powstawanie i rozwój sieci naczyń krwionośnych w guzach nowotworowych jest złożonym procesem, który od wielu lat stanowi przedmiot zainteresowania onkologów. Inwazyjny wzrost nowotworu związany jest z pojawieniem się w guzie naczyń krwionośnych. Powstawanie unaczynienia poprawia dostarczanie tlenu do komórek guza i ułatwia zaopatrzenie w substancje niezbędne do rozrostu tkanki nowotworowej. Poza bezpośrednim wpływem na poszczególne etapy angiogenezy, czynniki te mogą pobudzać ekspresję innych substancji proangiogennych lub aktywować je dzięki właściwościom proteolitycznym. Do czynników tych należą między innymi: czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF), interleukina 8 (IL 8) oraz zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF). W przeprowadzonych przeze mnie badaniach wykazałem, że stężenia VEGF oraz IL 8 były istotnie wyższe w surowicy krwi pacjentek z rakiem jajnika w porównaniu do pacjentek z guzami łagodnymi oraz grupy kontrolnej. Ponadto stężenia VEGF i IL 8 i bFGF w płynie z jamy otrzewnej były istotnie wyższe w porównaniu do surowicy krwi, co może sugerować istnienie miejscowego środowiska promującego angiogenezę nowotworową.

Rak błony śluzowej trzonu macicy jest najczęściej występującym nowotworem żeńskich narządów płciowych w krajach wysoko rozwiniętych. Aktualnie prowadzone badania dotyczące pacjentek z rakiem endometrium mają na celu znalezienie nowych czynników oznaczanych w tkance guza lub surowicy krwi pozwalających na ustalenie rokowania, określenie optymalnego planu terapeutycznego oraz oszacowanie ryzyka nawrotu choroby. Hipoksja odgrywa istotną rolę w rozwoju nowotworów, pomimo dobrze udokumentowanej roli niedotlenienia w mikrośrodowisku guza, jej znaczenie w raku endometrium nie jest dokładnie poznane. Składający się z czterech podjednostek czynnik indukowany hipoksją – 1 (HIF-1) działa jako kluczowy regulator homeostazy tlenowej prawie we wszystkich komórkach jądrowych ssaków. W mikrośrodowisku guza nowotworowego zmiana ulega metabolizm glukozy, z procesu tlenowego w mitochondriach na beztlenową glikolizę. HIF-1a reguluje aktywność transporterów glukozy (glucose

transporters, GLUTs) GLUT1 i GLUT3 odpowiedzialnych za wychwyt glukozy. Udowodniono, iż ekspresja GLUT-1 jest regulowana przez hipoksję w sposób zależny od HIF-1. Kolejnym czynnikiem związanym z aktywnością HIF-1a jest anhidraza węglanowa IX (CAIX). Nadekspresję CAIX stwierdzono w licznych tkankach nowotworowych, lecz nie w tkankach prawidłowych. Celem przeprowadzonych przeze mnie badań była ocena przydatności HIF-1a, GLUT-1, CAIX oznaczanych metodą immunohistochemiczną w guzie pierwotnym, które w powiązaniu z cechami klinicznymi pacjentek z rakiem błony śluzowej trzonu macicy mogłyby mieć istotne znaczenie w ustaleniu rokowania oraz indywidualnego planu leczenia.

Paweł Sadłecki, Magdalena Bodnar, Marek Grabiec, Andrzej Marszałek, Paweł Walentowicz, Alina Sokup, Jolanta Żegarska, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka

The role of hypoxia-inducible factor-1a, glucose transporter-1, (GLUT-1) and carbon anhydrase IX in endometrial cancer patients.

BioMed Res. Int. 2014 : Vol. 2014, s. 1-11.

wskaźnik **Impact Factor: 1.579** punktacja **MNiSW: 30.000**

Paweł Sadłecki, Marek Szymański, Wiesław Szymański.

Serum vascular endothelial growth factor and interleukin-8 levels in epithelial ovarian tumors.

Adv. Clin. Exp. Med. 2009 : Vol. 18, nr 2, s. 135-140.

wskaźnik **Impact Factor: 0.094** Punktacja **MNiSW: 6.000**

Paweł Sadłecki, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Marek Grabiec.

Rola angiogenezy w rozwoju nowotworów.

Przegl. Menopauz. 2010, nr 1, s. 28-31.

wskaźnik **Impact Factor: 0.221** Punktacja **MNiSW: 13.000**

Paweł Sadłecki, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Marek Grabiec.

Ocena stężeń naskórkowego czynnika wzrostu w surowicy kobiet leczonych z powodu nabłonkowych guzów jajnika.

Przegl. Menopauz. 2011, nr 3, s. 187-190.

wskaźnik **Impact Factor: 0.190** Punktacja **MNiSW: 15.000**

Paweł Sadłecki, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Wiesław Szymański, Marek Grabiec.

Porównanie stężeń VEGF, IL-8 oraz β -FGF w surowicy krwi i płynie otrzewnowym u pacjentek leczonych z powodu raka jajnika.

Ginekol. Pol. 2011 : T. 82, nr 7, s. 498-502.

wskaźnik **Impact Factor: 0.411** Punktacja **MNiSW: 15.000**

B. Diagnostyka prenatalna oraz diagnostyka ciąży powikłanej nadciśnieniem i cukrzycą ciężarnych:

W kręgu moich zainteresowań związanych z wykonywaną pracą jako lekarza ośrodka III stopnia referencyjności oraz prenatalnej poradni genetycznej leży również szeroko pojęta diagnostyka ciężarnych oraz diagnostyka prenatalna. Szczególnie interesuje mnie diagnostyka ultrasonograficzna ciąży powikłanej wadami płodu oraz diagnostyka ciąży powikłanej chorobami metabolicznymi i układu krążenia. Po odbyciu licznych kursów z zakresu ultrasonografii prenatalnej oraz echokardiografii płodowej i uzyskaniu odpowiednich certyfikatów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, Sekcji Echokardiografii Płodowej Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego oraz Fetal Medicine Foundation w Londynie, zajmuję się diagnozowaniem szczególnie trudnych przypadków wad u płodów. Badanie echokardiograficzne serca płodu jest wykonywane w celu ustalenia optymalnego postępowania okołoporodowego, co daje noworodkowi szanse na odpowiednią opiekę kardiologiczną i kardiochirurgiczną po porodzie. Współpraca z ośrodkiem echokardiografii i kardiochirurgii dziecięcej ICZMP w Łodzi zaowocowała wspólną publikacją w czasopiśmie Fetal Diagnosis and Therapy. Przedstawiliśmy przypadek rozpoznanej prenatalnie ektopii serca z zaplanowaną odpowiednio wcześniej opieką kardiochirurgiczną. Udana operacja ektopii serca stanowi podkreślenie istotnego znaczenia diagnostyki wady serca u płodu. Zagadnienia związane z diagnostyką prenatalną stanowią ciągle ogromne wyzwanie dla wszystkich zajmujących się tą dziedziną medycyny. Istnieje wiele kontrowersji związanych z przyjęciem określonej strategii postępowania, kwalifikacją do badań, rodzajem wykonywanych zabiegów, odsetkiem powikłań oraz bezpieczeństwem matki i płodu. Amniopunkcja genetyczna jest najczęściej wykonywanym zabiegiem inwazyjnym w medycynie prenatalnej. Jednym z głównych wskazań do tego zabiegu jest wiek ciężarnej powyżej 35 roku życia. W wielu krajach wskazanie to zostało zastąpione poprzez określenie indywidualnego ryzyka wystąpienia aberracji chromosomalnych w oparciu o wiek matki, wywiad rodowodowo-kliniczny, czas trwania ciąży oraz kombinację markerów biochemicznych i ultrasonograficznych. Poprawa jakości diagnostyki nieinwazyjnej oraz bardziej precyzyjne kryteria kwalifikacji do zabiegów inwazyjnych pozwalają na zredukowanie liczby wykonywanych procedur inwazyjnych a co za tym idzie zmniejszenie ilości powikłań z nimi związanych. Trend polegający na zmniejszeniu ilości wykonywanych procedur inwazyjnych przy

niezmienionym odsetku wykrywanych nieprawidłowości chromosomalnych u płodów, związany z poprawą jakości nieinwazyjnej diagnostyki prenatalnej jest odnotowywany przez wielu autorów. Efektem pracy w Prenatalnej Poradni Genetycznej i wykonywania zabiegów inwazyjnych były również publikacje dotyczące podejmowania decyzji oraz wskazań do wykonania testów diagnostycznych w I i II trymestrze ciąży w *Ginekologii Polskiej* i *BMC Pregnancy and Childbirth*.

Do częstych powikłań ciąży zaliczamy preeklampsję, nadciśnienie ciążowe oraz cukrzycę ciążarnych, choroby te powodują zwiększenie śmiertelności i chorobowości matek, płodów oraz noworodków. Jednym z ciekawszych przeprowadzonych przeze mnie badań była ocena przydatności zastosowania NT-proBNP w diagnostyce wymienionych powyżej patologii. Przeprowadzone badania dowiodły, że NT-proBNP może być przydatnym markerem w diagnostyce preeklampsji oraz nadciśnienia ciążowego i może poprawić wyniki opieki. Wyniki badania zostały opublikowane w czasopiśmie *PLoS One*.

Paweł Sadłecki, Marek Grabiec, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka

Prenatal clinical assessment of NT-proBNP as a diagnostic tool for preeclampsia, gestational hypertension and gestational diabetes mellitus.

PLoS ONE 2016 : Vol. 11, nr 9, s. e0162957, 1-14.

wskaźnik **Impact Factor: 2.806** punktacja **MNiSW: 35.000**

Paweł Sadłecki, Michał Krekora, Grzegorz Krasomski, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Marek Grabiec, Jacek Moll, Maria Respondek-Liberska

Prenatally evolving ectopia cordis with successful surgical treatment.

Fetal Diagnosis and Therapy 2011 : Vol. 30, s. 70-72.

wskaźnik **Impact Factor: 1.048** punktacja **MNiSW: 15.000**

Paweł Sadłecki, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Magdalena Pasińska, Rafał Adamczak, Marek Grabiec

Analiza wskazań do amniopunkcji genetycznej w zależności od wieku pacjentek na podstawie materiału Kliniki Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej CM UMK w Bydgoszczy.

Ginekologia Polska 2014 : T. 85, nr 6, s. 420-423.

wskaźnik **Impact Factor: 0.601** punktacja **MNiSW: 15.000**

Paweł Sadłecki, Marek Grabiec, Paweł Walentowicz, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka

Why do patients decline amniocentesis? Analysis of factors influencing the decision to refuse invasive prenatal testing.

BMC Pregnancy and Childbirth 2018 : Vol 18, s. 174, [1-7].
wskaźnik **Impact Factor: 2.263** punktacja **MNiSW: 35.000**

C. Badanie właściwości komórek macierzystych płynu owodniowego:

Efektom współpracy Prenatalnej Poradni Diagnostycznej z Zakładem Inżynierii Tkankowej CM UMK jest szereg badań oceniających możliwości wykorzystania komórek macierzystych płynu owodniowego. Uzyskane przez nas unikalne wyniki badań przedstawiane są w licznych publikacjach zagranicznych oraz na konferencjach.

Anna Bajek, Joanna Olkowska, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, Paweł Walentowicz, **Paweł Sadłicki**, Marek Grabiec, Magdalena Bodnar, Andrzej Marszałek, Robert Dębski, D. Porowińska, J.Czarnecka, Łukasz Kaźmierski, Tomasz Drewa.

High quality independent from a donor : Human Amniotic Fluid derived Stem Cells - a practical analysis based on 165 clinical cases.

J. Cell. Biochem. 2017 : Vol. 118, nr 1, s. 116-126.

wskaźnik **Impact Factor: 3.085** punktacja **MNiSW: 25.000**

Anna Bajek, J. Olkowska, N. Gurtowska, Tomasz Kloskowski, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, **Paweł Sadłicki**, Marek Grabiec, Tomasz Drewa.

Human amniotic-fluid-derived stem cells : a unique source for regenerative medicine.

Expert Opin. Biol. Ther. 2014 : Vol. 14, nr 6, s. 831-839.

wskaźnik **Impact Factor: 3.743** punktacja **MNiSW: 30.000**

Anna Bajek, Joanna Olkowska, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, **Paweł Sadłicki**, Marek Grabiec, D. Porowińska, Tomasz Drewa, Krzysztof Roszkowski.

Human adipose-derived and amniotic fluid-derived stem cells : a preliminary in vitro study comparing myogenic differentiation capability.

Med. Sci. Monitor 2017 : Vol. 23

wskaźnik **Impact Factor: 1.585** punktacja **MNiSW: 15.000**

D. Rola witaminy D w etiopatogenezie chorób:

W ostatnich latach szczególnie zainteresowała mnie problematyka związana z udziałem witaminy D w ginekologii onkologicznej. Już ponad 80 lat temu Frank Apperly zauważył, iż u mieszkańców wyższych szerokości geograficznych w Stanach Zjednoczonych występuje zwiększone ryzyko śmierci z powodu chorób nowotworowych. Następnie, w roku 1980 na podstawie wyników badań

dotyczących raka jelita grubego w powiązaniu z promieniowaniem słonecznym, przedstawiono hipotezę łączącą promieniowanie UVB, witaminę D ze zwiększonym ryzykiem występowania nowotworów. Obecnie uważa się, że niedobór witaminy D jest zjawiskiem powszechnie występującym (pandemicznym), co związane jest z niewystarczającą ekspozycją na światło słoneczne. Analiza prac opublikowanych w ostatnich latach prowadzi do wniosku, iż właściwe zaopatrzenie organizmu w witaminę D nie jest tylko problemem żywieniowym, lecz istotnym problemem endokrynologicznym i onkologicznym. Kalcytriol należy do superrodziny hormonów bezpośrednio modulujących aktywność licznych genów (około 500 genów). Poprzez wiązanie z receptorem VDR (Vitamin D Receptor) witamina D reguluje aktywność około 5% ludzkiego genomu, co wskazuje na działanie wielonarządowe i plejotropowe tego hormonu.

Występowanie niedoborów witaminy D w populacji kobiet ciężarnych w Polsce jest zjawiskiem powszechnym. W przeprowadzonych przez zespół, którego byłem członkiem badaniach analizowaliśmy stężenia witaminy D u kobiet w ciąży powikłanej: cukrzycą ciężarnych, preeklampsją oraz nadciśnieniem ciążowym. Stwierdziliśmy istotnie statystycznie niższe stężenia witaminy D w grupie pacjentek z preeklampsją. Na podstawie jedno i wieloczynnikowej analizy regresji niskie stężenia witaminy D były również związane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia preeklampsji. Na podstawie przeprowadzonych przez nasz zespół badań doszliśmy do wniosku, że rutynowe wykonywanie oznaczeń stężenia witaminy D może mieć niezwykle istotne znaczenie dla identyfikacji pacjentek ciężarnych z większym ryzykiem wystąpienia preeklampsji, która stanowi niezwykle groźne powikłanie ciąży.

Istotne niedobory witaminy D występują również u pacjentek nowotworowych. W badaniach, których byłem współautorem, stwierdziliśmy niedoborowe wartości 25(OH)D w populacji kobiet z rakiem jajnika. Średnie stężenie witaminy D w surowicy krwi u pacjentek z rakiem jajnika wynosiło 12,4 ng/ml i było istotnie statystycznie niższe niż w grupie kontrolnej (22,4 ng/ml) porównywalnej wiekowo. Pacjentki z rakiem jajnika miały 3,6 razy częściej wartości 25(OH)D poniżej 20 ng/ml (OR=3,63, 95% CI, p=0,009). W podgrupie pacjentek z rakiem jajnika i poziomem witaminy D poniżej 10 ng/ml zaobserwowaliśmy istotnie statystycznie niższy odsetek przeżyć 5-letnich, co sugerować może wpływ niedoboru witaminy D na bardziej agresywny przebieg choroby. Być może rutynowe oznaczanie stężenia

witaminy D u pacjentek z rakiem jajnika pozwoliłoby wyłonić grupę chorych szczególnie źle rokujących, wymagających bardziej agresywnego leczenia i częstego monitorowania, jak i odpowiedniej suplementacji witaminowej, co wymaga dalszych badań. Przeprowadzone przez zespół, którego byłem członkiem badania są pierwszymi potwierdzającym negatywny wpływ niedoboru witaminy D na przeżycia kobiet z rakiem jajnika.

Piotr Domaracki, **Paweł Sadłecki**, Grażyna Odrowąż-Sypniewska, Ewa Dzikowska, Paweł Walentowicz, Joanna Siódmiak, Marek Grabiec, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka

Serum 25(OH) vitamin D levels in Polish women during pregnancies complicated by hypertensive disorders and gestational diabetes.

Int. J. Mol. Sci. 2016 : Vol. 17, nr 10, s. 1574, 1-12.

wskaźnik **Impact Factor: 3.226** punktacja **MNiSW: 30.000**

Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, **Paweł Sadłecki**, Paweł Walentowicz, Marek Grabiec

Rola witaminy D w karcynogenezie raka piersi i raka jajnika.

Ginekologia Polska 2013 : T. 84, nr 4, s. 305-308.

wskaźnik **Impact Factor: 0.675** punktacja **MNiSW: 15.000**

Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Marek Grabiec, **Paweł Sadłecki**, M. Gotowska, Paweł Walentowicz, Magdalena Krintus, Aneta Mańkowska-Cyl, Grażyna Sypniewska
25(OH)D3 in patients with ovarian cancer and its correlation with survival.

Clin. Biochem. 2012 : Vol. 45, s. 1568-1572.

wskaźnik **Impact Factor: 2.450** punktacja **MNiSW: 30.000**

6. Wygłoszenie referatów na międzynarodowych i krajowych

konferencjach tematycznych:

Referaty na konferencjach krajowych:

1. Autorzy: **Paweł Sadłecki**, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Marek Grabiec, L. Moll, M. Respondek-Liberska.

Ektopia serca : prezentacja wybranych przypadków.

IV Konferencja Kardio-Prenatal. Pod red. M. Respondek-Liberskiej. Łódź, 3 XII 2010.

2. Autorzy: **Paweł Sadłecki**

Analiza przyczyn umieralności noworodków z wadami serca po diagnostyce prenatalnej, dane z www.orpkp.pl.

XI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego. Olsztyn, 31 V-2 VI 2012

3. Autorzy: Marek Szymański, **Paweł Sadłecki**, Wiesław Szymański, Tomasz Kolossa, Czesław Kępa.

Ocena trafności diagnostycznej ultrasonografii przezpochwowej oraz sonohisterografii w diagnostyce wybranych patologii ginekologicznych.

I Kongres Ultrasonografia w Ginekologii i Położnictwie. Poznań 1-2 kwietnia 2005

7. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja

o współpracy międzynarodowej:

A) Uczestniczyłem w międzynarodowych programach edukacyjnych oraz innych formach współpracy międzynarodowej, mających znaczenie dydaktyczne i popularyzatorskie:

W trakcie specjalizacji współtworzyłem polski oddział Europejskiego Stowarzyszenia Lekarzy Specjalizujących się w Położnictwie i Ginekologii (ENTOG). Aktywnie reprezentowałem Polskę na arenie międzynarodowej min. w Amsterdamie w 2003 roku w ramach XIII Annual Meeting of the European Network of Trainees in Obstetrics and Gynaecology (ENTOG). Poruszałem problemy dotyczące lekarzy specjalizujących się, szukając rozwiązań poprawiających dostępność do wykonywania procedur medycznych objętych programem specjalizacji z położnictwa i ginekologii.

2003 Haarlem Haarlemziekenhuis, Holandia – staż na Oddziale Ginekologicznym w ramach Exchange programme of the European Network of Trainees in Obstetrics and Gynaecology - 1 miesiąc

2003 ENTOG – członek, delegat krajowy na XIII Annual Meeting of the European Network of Trainees in Obstetrics and Gynaecology 2003 Amsterdam

1996 Dordrecht Merwedeziekenhuis, Holandia – staż 2 miesiące

B) Brałem aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych:

Konferencje zagraniczne:

1. Autorzy: **Paweł Sadłecki**, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Paweł Walentowicz, Marek Grabiec.

Why do patients refuse invasive prenatal testing?

International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology : Vienna, 2017.09.16

2. Autorzy: **Paweł Sadłecki**, Marek Szymański, Anna Stefańska, Grażyna Odrowąż-Sypniewska, Wiesław Szymański.

Serum and peritoneal fluid interleukin 8 levels in epithelial ovarian tumors.

15th International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology (ESGO). Berlin, Germany, 28 X-1 XI 2007.

3. Autorzy: Małgorzata Walentowicz, Wiesław Szymański, Marek Grabiec, Maria Kotschy, **Paweł Sadłecki**

Follicular fluid plasminogen-activator-inhibitor type 1 (PAI-1) concentration in IVF-ET patients.

XVIIIth European Congress of Obstetrics and Gynecology. Athens, Greece, 12-15 V 2004.

4. Autorzy: Małgorzata Walentowicz, Wiesław Szymański, Maria Kotschy, Marek Grabiec, **Paweł Sadłecki**

Follicular fluid uPa, uPAR and PAI-1 levels in IVF patients.

20th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology. Berlin, Germany, 27-30 VI 2004

5. Autorzy: Joanna Olkowska, Natalia Gurtowska, Anna Bajek, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, **Paweł Sadłecki**, Jakub Tworkiewicz, Marek Grabiec, Tomasz Drewa

Amniotic fluid as a novel and rich source of stem cells for regenerative medicine.

World Conference on Regenerative Medicine. Leipzig, Germany, 2-4 XI 2011

6. Autorzy: Joanna Olkowska, Natalia Gurtowska, Anna Bajek, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, **Paweł Sadłecki**, Tomasz Kloskowski, Jakub Tworkiewicz, Izabela Glaza, Marek Grabiec, Tomasz Drewa

Does the amniotic fluid is a good source of stem cells for tissue regeneration?

6th Annual Congress of the German Society for Stem Cell Research. Duesseldorf, Germany, 20-21 XI 2011.

7. Autorzy: Joanna Olkowska, Natalia Gurtowska, Anna Bajek, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, **Paweł Sadłecki**, Tomasz Kloskowski, Jakub Tworkiewicz, Marek Grabiec, Tomasz Drewa.

Potential of amniotic fluid-derived stem cells for urological tissue engineering.

EAU 7th South Eastern European Meeting (SEEM), and EAU 11th Central European Meeting (CEM). Timisoara, Romania, 28-29 X 2011.

8. Autorzy: Natalia Gurtowska, Joanna Olkowska, Anna Bajek, Stanisław Pierściński, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, **Paweł Sadłecki**, Robert Dębski, Marek Grabiec, Stanisław Dąbrowiecki, Tomasz Drewa.

Characterization of novel stem cells sources for urological tissue engineering.

3rd International Conference "Strategies in tissue engineering". Wurzburg, Germany, 23-25 V 2012.

9. Autorzy: Joanna Olkowska, Natalia Gurtowska, Anna Bajek, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, **Paweł Sadlecki**, Tomasz Kloskowski, Jakub Tworkiewicz, Maciej Gagat, Robert Dębski, Alina Grzanka, Marek Grabiec, Tomasz Drewa.

Smooth muscle cells differentiated from human amniotic fluid derived stem cells as a possible treatment of bladder dysfunction.

EAU 12th Central European Meeting (CEM). Dresden, Germany, 12-13 X 2012

Konferencje krajowe:

1. Autorzy: **Paweł Sadlecki**, Marek Szymański, Wiesław Szymański.

Ocena stężeń naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) w płynie z jamy otrzewnej u pacjentek leczonych z powodu raka jajnika.

XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. Jakość życia kobiety. Lublin, 16-19 IX 2009.

2. Autorzy: **Paweł Sadlecki**, Marek Szymański, M. Zalewska, Wiesław Szymański.

Ocena stężeń naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) w surowicy krwi kobiet leczonych z powodu nabłonkowych guzów jajnika.

XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. Jakość życia kobiety. Lublin, 16-19 IX 2009.

3. Autorzy: **Paweł Sadlecki**, Martyna Stankiewicz, Natalia Bronk, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, Rafał Adamczak, Magdalena Pasińska, Marek Grabiec

Analiza zabiegów amniopunkcji przeprowadzonych w latach 2010-2011 w Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobietych i Ginekologii Onkologicznej CM UMK w Bydgoszczy.

XXXI Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. „Kobieta XXI wieku”. Katowice, 19-22 września 2012

4. Autorzy: Małgorzata Walentowicz, Wiesław Szymański, Marek Grabiec,

Paweł Sadlecki

Ocena wybranych czynników fibrylizy w płynie pęcherzykowym.

Biologia rozrodu oraz zdrowie reprodukcyjne człowieka. Pod red. Waldemara Kuczyńskiego. Materiały Sympozjum Sekcji Płodności i Niepłodności PTG. Białystok, 2004

5. Autorzy: Wiesław Szymański, **Paweł Sadlecki**, Marek Szymański.

Ciąża brzuszna - opis przypadku i przegląd piśmiennictwa.

XII Ogólnopolskie Sympozjum Naukowo-Szkoleniowe Sekcji Psychosomatycznej Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego "Stany naglące w położnictwie i ginekologii". Tychy, 26-27 IX 2008

6. Autorzy: Marta Zalewska, Maciej W. Socha, Marek Szymański, **Paweł Sadlecki**, Wiesław Szymański.

Heterotopowa ciąża trojaczka jako problem diagnostyczny - opis przypadku wewnątrzmacicznej ciąży bliźniaczej i pojedynczej ciąży ektopowej.

XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. Jakość życia kobiety. Lublin, 16-19 IX 2009.

7. Autorzy: Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, Marek Grabiec, **Paweł Sadłicki**, Paweł Walentowicz, Magdalena Krintus, Aneta Mańkowska-Cyl, Grażyna Odrowąż-Sypniewska.

Ocena stężenia 25(OH)D3 u pacjentek z rakiem jajnika i ich związek z pięcioletnimi przeżyciami.

Konferencja "Witamina D. Minimum, Maximum, Optimum". Warszawa, 19-20 X 2012

8. Autorzy: Joanna Olkowska, Natalia Gurtowska, Anna Bajek, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, **Paweł Sadłicki**, Tomasz Kloskowski, Jakub Tworkiewicz, Izabela Glaza, Marek Grabiec, Tomasz Drewa.

Płyn owodniowy - nowoczesne i bogate źródło komórek macierzystych dla celów inżynierii tkankowej i medycyny regeneracyjnej.

I Ogólnopolska Konferencja Doktorantów i Młodych Naukowców "Per scientiam ad salutem aegroti". Bydgoszcz, 23-24 III 2012.

9. Autorzy: Magdalena Pasińska, Ewelina Łazarczyk, A. Repczyńska, Barbara Grolik, Agata Runge, Anetta Juraszek, Rafał Adamczak, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, **Paweł Sadłicki**, Olga Haus

Analiza badań przeprowadzonych w Katedrze i Zakładzie Genetyki Klinicznej w ramach Programu Badań Prenatalnych od 01.01.2013 do 31.03.2014.

VII Zjazd Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka, Bydgoszcz, 8-10 IX 2014.

10. Autorzy: M. Bugajska, M. Romanowska, R. Albrewczyński, Anna Bajek, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, **Paweł Sadłicki**, Marek Grabiec, Tomasz Drewa
Does the patients` individual features affect phenotypic characteristic of amniotic fluid-derived stem cells? - : the preliminary study.

Conference on: Regenerative potential of bone marrow derived cells used fresh or propagated in clinical settings Wrocław, 2015.12.14

11. Autorzy: M. Bugajska, M. Romanowska, R. Albrewczyński, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, **Paweł Sadłicki**, Marek Grabiec, Tomasz Drewa
Evaluation of new cryopreservation method on human amniotic fluid derived stem cells viability.

International Medical Students` Conference. Cracow, 16-18 IV 2015

12. Autorzy: R. Albrewczyński, Anna Bajek, Joanna Olkowska, Małgorzata Walentowicz-Sadłicka, **Paweł Sadłicki**, Marek Grabiec, Robert Dębski, Barbara Mucha, Tomasz Drewa

Stabilność kariotypu ludzkich komórek macierzystych z płynu owodniowego w długoterminowej hodowli in vitro.

III Studencka Konferencja Biologii Medycznej "Biofuzje". Warszawa, 22-24 V 2015.

13. Autorzy: R. Albrewczyński, M. Bugajska, M. Romanowska, Anna Bajek, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, **Paweł Sadłecki**, Marek Grabiec, M. Ostrowski, Tomasz Drewa.

Transdifferentiation potential of human amniotic fluid-derived stem cells into keratinocyte-like cells.

Conference on: Regenerative potential of bone marrow derived cells used fresh or propagated in clinical settings. Wrocław, 2015.12.14

C) byłem aktywnym członkiem w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych:

Byłem współorganizatorem Ogólnopolskich Warsztatów Szkoleniowo-Naukowych z zakresu endoskopii ginekologicznej odbywających się corocznie w Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy. Dzięki doskonałej obsadzie zapraszanych wykładowców z najlepszych ośrodków akademickich krajowych i zagranicznych spotkania te cieszyły się dużym zainteresowaniem uczestników z całej Polski, podnosiły także rangę Katedry i Kliniki oraz Collegium Medicum UMK.

Współorganizowałem konferencję popularyzującą wiedzę na temat diagnostyki i leczenia chorób nowotworowych u kobiet „Ginekologia onkologiczna – aktualne poglądy na diagnostykę i postępowanie z pacjentkami z nowotworami narządów płciowych” Inowrocław 2012.

D) Inne osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki:

Udział w cyklu wykładów popularyzujących nauki medyczne „Medyczna środa”, organizowany przez Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

2017 – prezentacja pt „Zastosowanie laparoskopii w Ginekologii Onkologicznej – kiedy leczenie onkologiczne może być mniej inwazyjne”

2009 – obecnie aktualizacja danych oraz koordynacja działania Ogólnopolskiego Rejestru Problemów Kardiologicznych u Płodów (**ORPKP**) w ramach Kliniki Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej Collegium Medicum UMK oraz Prenatalnej Poradni Genetycznej. **ORPKP** powstał w 2004 roku w ramach programu Ministerstwa Zdrowia **POLKARD-PRENATAL**. Jest to pierwszy taki rejestr dotyczący płodów z wadami serca i problemami kardiologicznymi w Polsce oraz jeden z pierwszych w Europie i na świecie.

Praca w zespole tłumaczy, tłumaczenie i redagowanie tekstów medycznych w czasopismach:

Ginekologia po Dyplomie
Wiadomości Położniczo-Ginekologiczne
Nowości Ginekologiczne

E) Opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji:

Od początku mojej pracy w Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy w 2003 roku, początkowo jako uczestnik studiów doktoranckich, a od 2007 roku jako pełnoetatowy nauczyciel akademicki, prowadziłem zajęcia dydaktyczne w formie ćwiczeń, seminariów oraz zajęć popołudniowych z ginekologii i położnictwa dla studentów IV, V i VI roku Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy. Prowadziłem również seminaria dla studentów pielęgniarstwa i położnictwa oraz ratownictwa medycznego Wydziału Nauk o Zdrowiu Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy. Od 2015 roku prowadzę seminaria dla studentów anglojęzycznych IV i V roku Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy.

Przeprowadzałem również egzaminy praktyczne z położnictwa i ginekologii dla studentów Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum UMK oraz dla specjalizujących się w tej dziedzinie lekarzy z województwa kujawsko-pomorskiego.

Byłem kierownikiem specjalizacji w dziedzinach:

położnictwo i ginekologia: 4 osoby

ginekologia onkologiczna: 1 osoba

Byłem również kierownikiem następujących kursów dla lekarzy specjalizujących się w położnictwie i ginekologii prowadzonych w Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej Collegium Medicum UMK:

2013-2015 Diagnostyka i terapia płodu

2013-2015 Ginekologia onkologiczna

Byłem także prelegentem na kursach doskonalących dla pielęgniarek i położnych prowadzonych w Katedrze i Klinice Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej Collegium Medicum UMK:

2013-2015 Monitorowanie płodu

2018 Współpraca naukowa z Katedrą i Zakładem Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum UMK zaowocowała powołaniem mnie na stanowisko **promotora pomocniczego** w przewodzie doktorskim „Ocena znaczenia wybranych białek osi otyłość – zapalenie - nowotwór w grupie pacjentek z rakiem błony śluzowej trzonu macicy” mgr. Pauliny Antosik.

8. Nagrody i wyróżnienia:

9. Udział w projektach badawczych:

Grant Komitetu Badań Naukowych - 2 P05E 088 30 – uzyskany w 2005 roku

W latach 2005-2007 byłem głównym wykonawcą grantu promotorskiego, w ramach którego wykonano oznaczenia szeregu czynników proangiogennych w surowicy krwi i płynie otrzewnowym u pacjentek z guzami jajnika oraz rakiem jajnika. Efektem prowadzonych badań była rozprawa doktorska, obroniona przeze mnie w 2007 roku pt. **„Ocena wybranych czynników proangiogennych w surowicy krwi kobiet leczonych z powodu guzów jajnika”**.

Wyniki badań zostały ponad to zamieszczone w poniższych publikacjach oraz zaprezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych:

Autorzy: **Paweł Sadłecki**, Marek Szymański, Wiesław Szymański.

Tytuł oryginału: **Serum vascular endothelial growth factor and interleukin-8 levels in epithelial ovarian tumors.**

Czasopismo: Adv. Clin. Exp. Med.

Szczegóły: 2009 : Vol. 18, nr 2, s. 135-140.

Autorzy: **Paweł Sadłecki**, Małgorzata Walentowicz-Sadłecka, Wiesław Szymański, Marek Grabiec.

Tytuł oryginału: **Porównanie stężeń VEGF, IL-8 oraz β -FGF w surowicy krwi i płynie otrzewnowym u pacjentek leczonych z powodu raka jajnika.**

Czasopismo: Ginekol. Pol.

Szczegóły: 2011 : T. 82, nr 7, s. 498-502.

Autorzy: **Paweł Sadłecki**, Marek Szymański, Anna Stefańska, Grażyna Odrowąż-Sypniewska, Wiesław Szymański.

Tytuł oryginału: **Serum and peritoneal fluid interleukin 8 levels in epithelial ovarian tumors.**

Tytuł całości: 15th International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology (ESGO). Berlin, Germany, 28 X-1 XI 2007.

Autorzy: **Paweł Sadłecki**, Marek Szymański, Marta Zalewska, Wiesław Szymański.

Tytuł oryginału: **Ocena stężeń naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) w surowicy krwi kobiet leczonych z powodu nabłonkowych guzów jajnika.**

Czasopismo: Ginekol. Pol.

Szczegóły: 2009 : T. 80 supl. 1E

Uwagi: XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. Jakość życia kobiety. Lublin, 16-19 IX 2009.

Autorzy: **Paweł Sadłecki**, Marek Szymański, Wiesław Szymański.

Tytuł oryginału: **Ocena stężeń naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) w płynie z jamy otrzewnej u pacjentek leczonych z powodu raka jajnika.**

Czasopismo: Ginekol. Pol.

Szczegóły: 2009 : T. 80 supl. 1E

Uwagi: XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. Jakość życia kobiety. Lublin, 16-19 IX 2009.

10. Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych

i krajowych:

Jestem recenzentem w 2 zagranicznych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym:

Journal of Obstetrics and Gynecology

Tumor Biology

11. Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych:

2001 – obecnie Polskie Towarzystwo Ginekologiczne/Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników

2018 – obecnie członek zarządu Oddziału Kujawsko-Pomorskiego Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników

2003 - obecnie Międzynarodowe Towarzystwo Ultrasonografii w Położnictwie i Ginekologii
(International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology - ISUOG)

2003 -2008 Europejskie Stowarzyszenie Lekarzy Specjalizujących się w Położnictwie i Ginekologii (European Network of Trainees In Obstetrics and Gynecology)

2007 – obecnie Europejskie Towarzystwo Ginekologii Onkologicznej
(European Society of Gynecologic Oncology - ESGO)

2010 – obecnie Polskie Towarzystwo Ginekologii Onkologicznej

Saarela P.