



## AUTOREFERAT

*dr n. med. Anetta Sulewska*

Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

*Kierownik Zakładu*  
*prof. dr hab. med. Jacek Nikliński*

Białystok 2024

## 1. IMIĘ I NAZWISKO

Anetta Sulewska

## 2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

- 30/09/2009** tytuł doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok, tytuł rozprawy doktorskiej: „Metylacja promotora genu *P16<sup>INK4A</sup>* w stanach przedrakowych w płucu”, promotor prof. dr hab. Lech Chyczewski
- 08/06/2003** dyplom ukończenia studiów podyplomowych z Biologii Molekularnej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
- 30/04/2000** świadectwo uzyskania przygotowania pedagogicznego. Wydział Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, Białystok
- 20/04/2000** tytuł magistra biologii w zakresie biologii środowiskowej. Wydział Biologii, Uniwersytet w Białymstoku, Białystok, tytuł pracy magisterskiej: „Mechanizmy adaptacyjne *Wolffia arrhiza* do zmieniających się warunków środowiska”, promotor prof. dr hab. Romuald Czerpak

## 3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH

- 12/2023- 06/2024** asystent dydaktyczny (1/8 etatu), Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
- 03/2020-12/2022** udział w diagnostyce i sekwencjonowaniu wirusa SARS-CoV-2, Akademicki Ośrodek Diagnostyki Patomorfologicznej i Genetyczno-Molekularnej Sp. z o.o. w Białymstoku
- 06/2014-10/2023** prace diagnostyczne w pracowni genetyczno-molekularnej, Akademicki Ośrodek Diagnostyki Patomorfologicznej i Genetyczno-Molekularnej Sp. z o.o. w Białymstoku
- 10/2013- obecnie** starszy specjalista naukowo-techniczny, Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
- 05/2012-09/2012** specjalista naukowo-techniczny, Zakład Klinicznej Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
- 10/2000-05/2012** specjalista naukowo-techniczny, Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

## 4. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT.2 USTAWY

### 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

***Zastosowanie Sygnatur Niekodującego RNA we Wczesnej Diagnostyce i Różnicowaniu Podtypów Niedrobnokomórkowego Raka Płuca (NSCLC) – Krok w Stronę Medycyny Spersonalizowanej***

### 4.2. Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. Pkt 2b Ustawy wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Do osiągnięcia naukowego należy cykl **3 oryginalnych** artykułów naukowych oraz **1 praca poglądowa**, opublikowane w latach 2022-2023 w anglojęzycznych, recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Sumaryczny współczynnik oddziaływania Impact Factor (IF) artykułów wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi **22**. Liczba punktów wg Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) i Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) wynosi **620**.

**Tabela 1.** Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem habilitacji ze wskaźnikami bibliometrycznymi z roku opublikowania pracy i opisem wkładu habilitanta. Punkty IF/MNiSW/MEiN liczone według wskaźników podanych dla roku opublikowania pracy; Legenda: \* autor korespondencyjny † equal contribution

Lp.	Publikacja	IF	MNiSW i MEiN	Wkład habilitanta zgodnie z publikacjami
(1)	Sulewska, A. *†; Niklinski, J.; Charkiewicz, R. †; Karabowicz, P.; Biecek, P.; Baniecki, H.; Kowalczyk, O.; Kozłowski, M.; Modzelewska, P.; Majewski, P.; Tryniszewska, E.; Reszec J.; Dzieciol-Anikiej, Z.; Piwkowski, C.; Gryczka, R.; Ramlau R. A Signature of 14 Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) as a Step towards Precision Diagnosis for NSCLC. <i>Cancers (Basel)</i> <b>2022</b> , <i>14</i> , 439, doi:10.3390/cancers14020439. <b>Praca oryginalna</b>	5,20	140	koncepcja badań, metodyka, analiza formalna, wykonanie badań, wizualizacja, pisanie - przygotowanie pierwotnej wersji publikacji, zarządzanie projektem, <b>pozyskanie finansowania (MINIATURA-2 Nr N/NCN/MI/18/001/1184)</b> , autor korespondencyjny, equal contribution
(2)	Charkiewicz, R. *†; Sulewska, A. †; Charkiewicz, A.; Gyenesei, A.; Galik, B.; Ramlau, R.; Piwkowski, C.; Stec, R.; Biecek, P.; Karabowicz, P.; Michalska-Falkowska, A.; Miltyk, W.; Niklinski, J*. miRNA-Seq Tissue Diagnostic Signature: A Novel Model for NSCLC Subtyping. <i>Int. J. Mol. Sci.</i> <b>2023</b> , <i>24</i> , 13318, doi:10.3390/ijms241713318. <b>Praca oryginalna</b>	5,60	140	koncepcja badań, metodyka, analiza formalna, wykonanie badań, walidacja wyników, pisanie - przygotowanie pierwotnej wersji publikacji, equal contribution
(3)	Charkiewicz, R. *†; Sulewska, A.†; Mroz, R.; Charkiewicz, A.; Naumnik, W.; Kraska, M.; Gyenesei, A.; Galik, B.; Junttila, S.; Miskiewicz, B.; Stec, R.; Karabowicz, P.; Zawada, M.; Miltyk, W.; Niklinski, J*. Serum Insights: Leveraging the Power of miRNA Profiling as an Early Diagnostic Tool for Non-Small Cell Lung Cancer. <i>Cancers</i>	5,20	200	koncepcja badań, metodyka, analiza formalna, wykonanie badań, walidacja wyników, pisanie - przygotowanie pierwotnej wersji publikacji, equal contribution

	( <i>Basel</i> ) <b>2023</b> , 15, 4910, doi:10.3390/cancers15204910. <b>Praca oryginalna</b>			
	<b>Prace oryginalne</b>	<b>16</b>	<b>480</b>	
<b>(4)</b>	<b>Sulewska, A.*</b> ; Pilz, L.; Manegold, C.; Ramlau, R.; Charkiewicz, R.; Niklinski, J*. A Systematic Review of Progress toward Unlocking the Power of Epigenetics in NSCLC: Latest Updates and Perspectives. <i>Cells</i> <b>2023</b> , 12, 905, doi:10.3390/cells12060905 <b>Praca poglądowa</b>	6,00	140	koncepcja pracy, pisanie i redagowanie pierwotnego szkicu, autor korespondencyjny
	<b>RAZEM</b>	<b>22</b>	<b>620</b>	

### 4.3. Omówienie ww. osiągnięcia naukowego

#### 4.3.1. Wprowadzenie

Niedrobnokomórkowy rak płuca (NSCLC) jest najczęstszym typem raka płuc, stanowiącym ok. 85% przypadków [1]. NSCLC dzieli się na dwa główne podtypy: raka płaskonabłonkowego (*ang. squamous cell carcinoma, SCC*) i gruczolakoraka płuca (*ang. adenocarcinoma, ADC*). Oba podtypy różnią się pod względem histologii, lokalizacji, czynników ryzyka, odpowiedzi na leczenie i rokowania [2]. Wykrycie i dokładne podtypowanie NSCLC stanowią więc kluczowy element procesu leczenia oraz poprawy prognozy pacjentów. Jednakże, obecna diagnostyka i klasyfikacja NSCLC stoją w obliczu wielu wyzwań i ograniczeń.

Jednym z głównych problemów diagnostycznych jest brak skutecznych metod przesiewowych. NSCLC często rozwija się bezobjawowo na wczesnych etapach, co sprawia, że większość pacjentów jest diagnozowanych w zaawansowanym stadium choroby, kiedy skuteczność terapii jest ograniczona [3]. Obecne badania przesiewowe, takie jak niskodawkowa tomografia komputerowa, mają niską zdolność do rozróżnienia między łagodnymi a złośliwymi zmianami w płucach, co prowadzi do fałszywie pozytywnych wyników i podejmowania zbędnych procedur inwazyjnych. Dodatkowo, niska czułość tych badań sprawia, że małe guzki, szczególnie zlokalizowane w centralnym obszarze płuc, mogą pozostać niewykryte [2–4]. Badania te nie pozwalają również na pobranie próbek do testów molekularnych, które często są kluczowe dla wyboru właściwego schematu leczenia. W związku z tym, pacjenci z NSCLC muszą poddać się dodatkowym procedurom, takim jak biopsja lub badania endoskopowe [5].

Diagnostyka histopatologiczna, uważana za złoty standard, także posiada swoje ograniczenia [6]. Brak standaryzacji protokołów i kryteriów klasyfikacji NSCLC na podstawie cech morfologicznych może prowadzić do niezgodności i błędów w diagnozie. Ponadto, może istnieć problem z niewystarczającą ilością materiału tkankowego, zwłaszcza u pacjentów poddających się procedurom minimalnie inwazyjnym [7]. Natomiast, nieodpowiednie zarządzanie próbkami

może prowadzić do ich degradacji lub zanieczyszczenia [8]. Dodatkowym wyzwaniem, przed którym stoją histopatolodzy jest heterogenność i klonalna ewolucja guza. NSCLC manifestuje różne podtypy histologiczne i wzorce molekularne zarówno w jednym guzie, jak i między różnymi guzami w organizmie pacjenta. NSCLC może również zmieniać się w czasie, nabywając nowe mutacje, zmiany epigenetyczne i mechanizmy oporności na terapię [9]. To sprawia, że dokładne klasyfikowanie NSCLC i monitorowanie jego rozwoju nie jest prostym zadaniem. Szacuje się, że w około 15-20% przypadków pobranych metodą biopsji tkankowej, dokładne określenie podtypu NSCLC za pomocą klasycznych technik histopatologicznych jest problematyczne [10]. W takich sytuacjach rak jest identyfikowany jako rak niedrobnokomórkowy bez określenia podtypu, określane jako NOS (nieokreślony inaczej).

Metoda biopsji płynnej wydaje się być obiecującą alternatywą, ze względu na niską inwazyjność, umożliwiającą detekcję krążących kwasów nukleinowych pochodzenia nowotworowego wydzielanych do krwi i innych płynów ustrojowych. Surowicze miRNA charakteryzują się stabilnością, obfitością oraz łatwością izolacji. Co więcej, odzwierciedlają heterogeniczność i dynamikę komórek nowotworowych oraz ich mikrośrodowiska. Dotychczasowe badania sugerują potencjał wykorzystania sygnatur surowiczego miRNA w diagnozie, prognozie oraz ocenie odpowiedzi na leczenie u pacjentów z NSCLC **(4)** [11–13]. Niemniej jednak większość tych badań opiera się na ograniczonej liczbie próbek, różnych metodach analizy oraz normalizacji, co negatywnie wpływa na powtarzalność i porównywalność wyników. Z tego powodu wykorzystanie biopsji płynnej do diagnozy i klasyfikacji NSCLC wciąż pozostaje przedmiotem kontrowersji [7,9].

Rosnąca rola medycyny spersonalizowanej i znaczenie nowatorskich strategii przeciwnowotworowych podkreślają pilną potrzebę precyzyjnej klasyfikacji histopatologicznej NSCLC, z jednoczesnym uwzględnieniem szczegółowej analizy profili mutacyjnych [1,14,15]. Niestety, tradycyjne techniki histopatologiczne nie dostarczają informacji o zmianach w materiale genetycznym. W rezultacie pacjenci z NSCLC często muszą poddać się dodatkowym badaniom molekularnym, co prowadzi do opóźnień w diagnozie i leczeniu [16].

Należy zauważyć, że obecnie dostępne leczenie celowane przynosi optymalne efekty terapeutyczne przede wszystkim w przypadku wariantów NSCLC innych niż rak płaskonabłonkowy. Inhibitory kinazy tyrozynowej receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR), takie jak erlotynib, gefitinib i afatynib, stosowane jako pierwszorzędowe leczenie zaawansowanego NSCLC, wykazują wyraźną skuteczność przede wszystkim w przypadku typów histologicznych odmiennych od raka płaskonabłonkowego [17]. Włączenie przeciwciał

monoklonalnych przeciw czynnikowi wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF), na przykład bevacizumabu, do tradycyjnych schematów cytostatycznych jest uzasadnione u pacjentów bez zagrażających życiu krwawień, oraz nieobjętych diagnozą raka płaskonabłonkowego [18]. Co więcej, korzyści terapeutyczne wynikające z inhibitorów anaplastycznej kinazy limfocytów (ALK), takie jak crizotylib, ceritinib, alectinib i brigatinib, ograniczają się do jednostek z gruczolakorakiem płuc z fuzjami ALK. Substancje immunokompetentne, takie jak pembrolizumab, stosowane równocześnie z protokołami chemioterapii, stanowią ścieżkę terapeutyczną dla pacjentów, u których brak definitywnej diagnozy podtypu płaskonabłonkowego [19]. Jedynym środkiem, zatwierdzonym przez FDA do molekularnie ukierunkowanej interwencji w zaawansowanym raku płaskonabłonkowym płuca, jest necitumumab, stosowany w połączeniu z gemcytabiną i cisplatyną jako terapia pierwszego rzutu [19].

Nadzieją na postęp w diagnostyce i leczeniu NSCLC jest poszukiwanie sygnatur molekularnych, opartych na niekodujących cząsteczkach RNA (ncRNA), takich jak mikroRNA (miRNA) i długie niekodujące RNA (lncRNA), które są istotną częścią maszynerii epigenetycznej komórki [20–22]. Zmiany epigenetyczne wpływają na ekspresję genów, ale w odróżnieniu od mutacji, nie zmieniają sekwencji DNA [23–25]. Pojawienie się zaawansowanych metod biologii molekularnej, takich jak sekwencjonowanie nowej generacji (NGS), umożliwia szybkie i efektywne sekwencjonowanie dużych fragmentów genomu lub transkryptomu oraz wykrywanie różnorodnych zmian genomowych, takich jak mutacje punktowe, insercje/delecje, zmiany liczby kopii i fuzje genów. NGS zapewnia wszechstronne profilowanie genomu raka, a także zdolność do identyfikacji nowych lub rzadkich mutacji o znaczeniu klinicznym [26–28]. Ponadto, NGS może wykrywać zmiany epigenetyczne, takie jak metylacja DNA i transkrypty niekodującego RNA [29]. Poszukiwanie biomarkerów genetycznych i epigenetycznych przy użyciu technologii wysokoprzepustowych stanowi krok w kierunku opracowania testów molekularnych, umożliwiających bardziej precyzyjną diagnostykę NSCLC, w porównaniu z tradycyjnym badaniem histopatologicznym.

Nowe testy molekularne powinny charakteryzować się znacznym potencjałem do poprawienia dokładności i powtarzalności diagnozy oraz podtypowania NSCLC, szczególnie w przypadkach, w których klasyczne techniki histopatologiczne osiągają swoje ograniczenia. Te nowoczesne testy powinny umożliwić wykrywanie biomarkerów genetycznych i epigenetycznych, odgrywających kluczową rolę we wczesnej diagnostyce, wyborze optymalnej terapii oraz prognozowaniu przeżycia pacjentów. Co istotne, pobranie materiału biologicznego do przeprowadzenia nowych testów molekularnych powinno być mniej inwazyjne w porównaniu do tradycyjnej biopsji

tkankowej. Co oznacza, że przewaga nowych testów powinna polegać na możliwości wykonywania badań w różnych materiałach biologicznych, takich jak krew, ślina, mocz lub kał. Ponadto, nowoczesne testy powinny odzwierciedlać heterogenność i ewolucję klonalną NSCLC. Rak płuca może ulegać zmianom w odpowiedzi na terapię, a nowe testy molekularne powinny pozwolić na analizę dynamiki raka, co z kolei umożliwi dostosowywanie terapii do zmieniających się potrzeb pacjentów. W świetle tych informacji, testy molekularne oparte na sygnaturach ncRNA mogą stanowić realny krok w kierunku medycyny precyzyjnej.

#### 4.3.2. Stan Wiedzy i Geneza Cyklu Prac Osiągnięcia Naukowego

Profilowanie ncRNA, może stanowić realne wsparcie dla analiz histopatologicznych, umożliwiając identyfikację biomarkerów diagnostycznych, prognostycznych oraz określenie potencjalnych celów terapeutycznych. To podejście stanowi podstawę dla rozwoju spersonalizowanych strategii leczenia, dostosowanych do indywidualnych cech molekularnych pacjentów. Wiadomym jest, że terapie celowane mogą znacząco przekładać się na poprawę wyników klinicznych oraz jakość życia pacjentów (4), [30]. Przedstawione w niniejszej rozprawie habilitacyjnej osiągnięcie naukowe poszerza i wzbogaca wcześniejsze badania nad sygnaturami genowymi, które mogą znaleźć praktyczne zastosowanie w diagnostyce i podtypowaniu NSCLC.

Biorąc pod uwagę miRNA, Yang i wsp. [13] opracowali panel składający się z czterech krążących miRNA (miR-146b, miR-205, miR-29c i miR-30b) do wczesnego wykrywania NSCLC. Ekspresja wyselekcjonowanych miRNA była istotnie zwiększona w próbkach surowicy pacjentów z NSCLC w porównaniu z grupą kontrolną, a także wykazywała wysoką wartość AUC = 0,96 (*ang. the area under the curve*) i czułość (0,92) w rozróżnianiu NSCLC od grup kontrolnych. Panel ten wykazał również lepszą skuteczność wykrywania gruczolakoraka niż raka płaskonabłonkowego oraz odzwierciedlał zaawansowanie guza i „ciążenie guzem” (*ang. tumor burden*). Ponadto dwa z tych miRNA (miR-146b i miR-29c) były związane z gorszym przeżyciem pacjentów, zwłaszcza w przypadku diagnozy raka płaskonabłonkowego. Autorzy sugerują, że panel 4-miRNA stanowi nowatorski, czuły i nieinwazyjny marker surowicy krwi, umożliwiający wczesne rozpoznawanie NSCLC.

Inni naukowcy również analizowali potencjał diagnostyczny sygnatur miRNA w NSCLC. Ying i wsp. [31], stworzyli panel pięciu miRNA (let-7a-5p, miR-1-3p, miR-1291, miR-214-3p, miR-375) o wysokiej czułości (83,0%) i specyficzności (90,7%) w wykrywaniu NSCLC, niezależnie od palenia, płci i pochodzenia etnicznego pacjentów. Zhu i wsp. [32] opracowali klasyfikator oparty na czterech miRNA (miR-23b, miR-221, miR-148b and miR-423-3p), który odróżnił raka płuc od zmian nienowotworowych, osiągając wysokie AUC (0,885). Duan i wsp. [33], zidentyfikowali

zestaw trzech miRNA (miR-492, miR-590-3p, miR-631), których ekspresja była istotnie zwiększona u pacjentów z NSCLC i wykazywała AUC wynoszące 0,828, czułość na poziomie 86,7% i specyficzność na poziomie 71,7%. Wang i wsp. [34] zidentyfikowali panel pięciu miRNA w surowicy (miR-483-5p, miR-193a-3p, miR-25, miR-214, miR-7), które wykazywały wysokie wartości AUC (0,976 i 0,823) w wykrywaniu NSCLC, zwłaszcza we wczesnych stadiach. Inagaki i wsp. [35] skonstruowali i dokonali screeningu modelu diagnostycznego do wykrywania raka płuc, opartego na 1123 miRNA. W badaniach walidacyjnych model ten wykazał AUC=0,98, czułość na poziomie 85,7% i specyficzność na poziomie 95,9%. Ponadto, model charakteryzował się wyższą czułością detekcji wczesnego stadium gruczolakoraka płuc (77,8%) od klasycznego biomarkera – CEA (*ang. carcinoembryonic antygen*), który osiągnął poziom 27,8%.

Uważa się, że sygnatury lncRNA także mogą wspomóc rutynowe badania histopatologiczne NSCLC. Lin i wsp. [36] wykazali, że ekspresja dwóch krążących lncRNA: SNHG1 i RMRP, odróżniała raka płuc od nienowotworowej grupy kontrolnej. Podobnie Yuan i wsp. [37] skonstruowali panel składający się z czterech krążących lncRNA (RMRP, NEAT1, TUG1 i MALAT1), który charakteryzował się wysoką wartością diagnostyczną zarówno w przypadku SCC (AUC=0,85), jak i ADC (AUC=0,93). Większość opracowanych sygnatur lncRNA koncentrowała się na prognozie i predykcji NSCLC. Na przykład, sygnatura siedmiu lncRNA (APTR, DHRS4-AS1, ITGA9-AS1, LINC01137, LOC101927972, RPARP-AS1 i SH3BP5-AS1) [38] oraz sześciu lncRNA (LINC01287, SNAP25-AS1, LINC00470, AC104809.2, LINC00645 i LINC01010) [39] miały wartość prognostyczną dla raka płuc. Kolejna sygnatura sześciu lncRNA (LINC01819, ZNF649-AS1, HNF4A-AS1, FAM222A-AS1, LINC02323 i LINC00672) była niezależnym predyktorem wznowy raka gruczołowego płuc [40]. Natomiast, ekspresja dwóch lncRNA (TMPO-AS1 i C1orf132) [41] oraz kolejnych trzech lncRNA (LINC02555, APCDD1L-DT i OTX2-AS1) [42] były związane z prognozą pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym płuc.

Pomimo obiecujących rezultatów wskazujących na potencjał wdrożeniowy sygnatur ncRNA, ich implementacja do praktyki klinicznej napotyka na liczne wyzwania. Niezbędne są skoordynowane działania w obszarze weryfikacji i powtarzalności wyników, standaryzacji metodologii, analizy danych wielkoskalowych, aspektów etycznych związanych z prywatnością pacjentów, kontrolowania kosztów oraz zapewnienia dostępności zaawansowanych technologii. Dodatkowo, kluczowa jest edukacja społeczeństwa oraz efektywna integracja sygnatur genetycznych z obecnymi protokołami leczenia. Tworzenie zespołów multidyscyplinarnych stanowi kluczową strategię w przełamywaniu tych barier. Takie podejście umożliwia pełne



wykorzystanie potencjału sygnatur ncRNA w diagnostyce i terapii oraz może się przyczynić do znaczącego podniesienia jakości opieki zdrowotnej.

Biorąc pod uwagę istotność i złożoność wyżej opisanych zagadnień, sformułowałam hipotezę badawczą zakładającą, że sygnatury ncRNA stanowią skuteczne narzędzie wspomagające rutynową diagnostykę oraz podtypowanie NSCLC. W moich badaniach skoncentrowałam się na sygnaturach miRNA i lncRNA. Aby zapewnić powtarzalność wyników, zwracałam szczególną uwagę na odpowiednie zabezpieczanie i procedowanie materiału biologicznego. Wszystkie etapy analiz przeprowadzono zgodnie ze standardowymi procedurami operacyjnymi (SOP), które zostały szczegółowo opisane w dwóch publikacjach naukowych, w których jestem współautorem (**4B,5B**). W moich badaniach dążyłam do opracowania modeli diagnostycznych z wykorzystaniem zaawansowanych technik uczenia maszynowego. Zamierzeniem było stworzenie modeli skutecznie rozróżniających przypadki NSCLC od grupy kontrolnej (niebędącej rakiem), a także gruczolaka od raka płaskonabłonkowego. Uzyskanie modeli klasyfikacyjnych o wysokiej czułości, specyficzności i wartości AUC wydaje się być istotne w kontekście aktualnych wyzwań przed którymi stoją diagnostyci i terapeuci zajmujący się pacjentami z NSCLC.

**Moje badania, stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego, koncentrowały się na:**

1. Opracowaniu sygnatur lncRNA do wczesnej diagnostyki i podtypowania NSCLC w materiale tkankowym pacjentów, z wykorzystaniem techniki qPCR oraz metod uczenia maszynowego.
2. Opracowaniu sygnatur miRNA do podtypowania NSCLC w materiale tkankowym pacjentów, z wykorzystaniem techniki NGS i zaawansowanych metod statystycznych.
3. Opracowaniu sygnatur miRNA, do wczesnej diagnostyki NSCLC w surowicy krwi pacjentów, z wykorzystaniem techniki NGS i metod uczenia maszynowego.

Wyniki moich badań zaowocowały cyklem powiązanych tematycznie prac naukowych, poświęconych zastosowaniu sygnatur genowych we wczesnej diagnostyce i różnicowaniu podtypów NSCLC. W autoreferacie prace te są cytowane i omawiane zgodnie z kolejnością ujętą w Tabeli 1. W celu uzyskania transparentności i czytelności publikacje naukowe będące podstawą osiągnięcia naukowego są numerowane zgodnie z kolejnością załączenia ich w Tabeli 1, nie jako cytacja, ale jako odpowiedni numer w nawiasie okrągłym z zastosowaniem pogrubionej czcionki. Podobnie przedstawione są numery pozostałych publikacji, w których jestem współautorem.

### 4.3.3. Omówienie najważniejszych wyników cyklu prac osiągnięcia naukowego

#### 4.3.3.1. Sygnatury lncRNA do Wczesnej Diagnostyki i Precyzyjnego Podtypowania NSCLC w Tkance Guza

W pierwszym etapie moich badań, opisanych w pracy nr **(1)**, skoncentrowałam się na opracowywaniu sygnatur lncRNA do wczesnej diagnostyki i precyzyjnego podtypowania NSCLC w tkance guza. Wykorzystałam multidyscyplinarne podejście, analizując wyniki reakcji qPCR (ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy) za pomocą narzędzi uczenia maszynowego. Zbadałam poziom ekspresji wyselekcjonowanych DElncRNA (*ang. differentially expressed lncRNAs – DElncRNA*) oraz opracowałam dwa klasyfikatory: diagnostyczny i różnicujący podtypy.

W celu wybrania cząsteczek do badań przeanalizowałam bazę danych PubMed, kierując się ściśle określonymi kryteriami. Poszukiwałam lncRNA, które wykazywały zmienioną ekspresję w NSCLC (w liniach komórkowych lub tkankach), odgrywały potencjalną rolę w patogenezie NSCLC, oraz były badane za pomocą metod molekularnych, takich jak NGS, mikromacierze, qPCR, etc. Następnie, wyselekcjonowałam 14 lncRNA (HAGLR, ADAMTS9-AS2, LINC00261, MCM3AP-AS1, TP53TG1, C14orf132, LINC00968, LINC00312, TP73-AS1, LOC344887, LINC00673, SOX2-OT, AFAP1-AS1, LOC730101), które spełniały wyżej wymienione kryteria **(1)**.

Poziom ekspresji wybranych cząsteczek mierzyłam za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (qPCR). Biorąc pod uwagę wszystkie przypadki NSCLC, stwierdziłam, że 9 spośród 14 lncRNA (HAGLR, ADAMTS9-AS2, LINC00261, MCM3AP-AS1, TP53TG1, C14orf132, LINC00968, LINC00312, TP73-AS1) ulegało obniżonej ekspresji w tkance nowotworowej w porównaniu z tkanką zdrową płuc; dwa lncRNA (LOC344887 i LINC00673) ulegały nadekspresji, a trzy lncRNA (SOX2-OT, AFAP1-AS1, LOC730101) wykazywały statystycznie nieistotne różnice. Analizując tkankę nowotworową SCC w porównaniu z normalną tkanką płuc, zaobserwowałam istotny spadek ekspresji 10 spośród 14 lncRNA (HAGLR, ADAMTS9-AS2, LINC00261, MCM3AP-AS1, TP53TG1, C14orf132, LINC00968, LINC00312, TP73-AS1, AFAP1-AS1); 3 lncRNA (LOC344887, SOX2-OT, LINC00673) wykazywały podwyższoną ekspresję, a ekspresja lncRNA LOC730101 wykazywała statystycznie nieistotne różnice. U pacjentów z ADC stwierdziłam, że 7 spośród 14 lncRNA (HAGLR, ADAMTS9-AS2, LINC00261, C14orf132, LINC00968, LINC00312, TP73-AS1) ulegało obniżonej ekspresji w nowotworze w porównaniu ze zdrową tkanką płuc; dwie lncRNA ulegały nadekspresji (LINC00673 AFAP1-AS1), a pięć lncRNA (LOC344887, SOX2-OT, MCM3AP-AS1, TP53TG1, LOC730101) wykazywały statystycznie nieistotne różnice **(1)**.

Biorąc pod uwagę rozpoznanie histologiczne, stwierdziłam że ekspresja 10 spośród 14 lncRNA była związana z podtypem NSCLC. W ADC, w porównaniu z nowotworem SCC, stwierdziłam

zwiększoną ekspresję 8 lncRNA (HAGLR, ADAMTS9-AS2, LINC00261, LINC00673, MCM3AP-AS1, LINC00312, TP73-AS1, AFAP1-AS1) i zmniejszoną ekspresję 2 lncRNA (LOC344887 i SOX2-OT) **(1)**.

Następnie uzyskane wartości Ct i delta Ct wykorzystałam do zbudowania klasyfikatora regresji logistycznej, który z powodzeniem odróżniał tkankę nowotworową od nienowotworowej. Wartość AUC wynosiła  $0,98 \pm 0,01$  a wszystkie średnie metryki modelu były powyżej 0,9. Jednakże, w drugim klasyfikatorze regresji logistycznej do rozróżniania podtypów NSCLC, średnia powierzchnia pod krzywą ROC (AUC) wynosiła  $0,84 \pm 0,09$ . Wszystkie średnie metryki były słabsze niż w pierwszym modelu, ale wciąż powyżej 0,75, sugerując, że 14 lncRNA razem wzięte potencjalnie mogą odróżniać tkankę SCC od tkanki ADC **(1)**.

Aby poprawić metryki drugiego modelu regresji logistycznej, stworzyłam gradientowy model drzewa decyzyjnego (GBDT). Spowodowało to wzrost wartości AUC do  $0,88 \pm 0,08$ , przy innych średnich metrykach powyżej 0,75. Lepsze wyniki wiązały się z uwzględnieniem interakcji między zmiennymi i lepszym radzeniem sobie z większą ilością szumu w danych. Analiza wyjaśniająca GBDT za pomocą SHAP (*ang: Shapley Additive exPlanations*) podkreśliła istotność zmiennych dla rozróżniania między SCC a ADC. Dlatego, ostateczny uproszczony model regresji logistycznej zbudowałam przy użyciu czterech najlepszych lncRNA (AFAP1-AS1, SOX2-OT, LINC00261 i LINC00673). Wykazał on najlepszy potencjał diagnostyczny z wartością AUC wynoszącą  $0,88 \pm 0,07$  oraz innymi średnimi metrykami powyżej 0,8 **(1)**.

Powyższe wyniki potwierdzają, że wyselekcjonowane lncRNA mogą stanowić obiecujące narzędzie wspierające rutynową diagnozę histopatologiczną NSCLC. Chciałabym podkreślić, że wyniki przedstawiłam w formie ustnej prezentacji podczas 12th European Regional Conference on Thoracic Oncology; Prezentacja: **Sulewska A.: *Deciphering long non-coding RNAs in non-small cell lung cancer: the dark matter matters***. Wilno, 2021.

**Podsumowując pierwszą część osiągnięcia naukowego, wykazałam:**

1. możliwość wykorzystania lncRNA izolowanych z tkanki guza jako biomarkerów do wczesnego wykrywania i różnicowania podtypów NSCLC;
2. różnice w ekspresji badanych 14 lncRNA między NSCLC a grupą kontrolną;
3. różnice w ekspresji badanych 14 lncRNA między SCC a ADC;
4. skuteczność zbudowanego klasyfikatora regresji logistycznej w odróżnianiu tkanki nowotworowej od tkanki zdrowej na podstawie wartości Ct i delta Ct 14 lncRNA;
5. możliwość wykorzystania klasyfikatora gradientowego drzewa decyzyjnego (GBDT) do stworzenia uproszczonego modelu regresji opartego na czterech lncRNA (AFAP1-AS1,

SOX2-OT, LINC00261 i LINC00673), który okazał się solidnym predyktorem podtypu NSCLC (ADC vs. SCC);

6. multidyscyplinarne podejście, integrujące sztuczną inteligencję (uczenie maszynowe) z analizą qPCR, do precyzyjnej diagnostyki NSCLC.

#### 4.3.3.2. Sygnatury miRNA do Precyzyjnego Podtypowania NSCLC w Tkance Guza

W drugiej części moich badań, opisanych w pracy nr **(2)**, skoncentrowałam się na opracowaniu sygnatur miRNA do precyzyjnego podtypowania NSCLC w tkance guza. Wykonałam analizy NGS oraz zaawansowane analizy statystyczne, na podstawie których zidentyfikowałam DE miRNA (*ang. differentially expressed miRNAs*) oraz opracowałam sygnaturę miRNA o silnym potencjale różnicującym podtypy NSCLC.

W oparciu o przeprowadzone analizy NGS, zidentyfikowałam 31 DE miRNA w podtypach NSCLC, spośród których 27 miRNA wykazywało obniżoną ekspresję w ADC w porównaniu do SCC, podczas gdy 4 miRNA (miR-3617-5p, miR-4709-5p, miR-1294 i miR-4636) wykazywały zwiększoną ekspresję w ADC w porównaniu do SCC. Pięć miRNA o najniższej ekspresji to: miR-944, miR-205-5p, miR-383-5p, miR-3927-3p i miR-448 **(2)**.

Po zastosowaniu alternatywnego podejścia statystycznego, obejmującego kilka etapów, (*ang. differential abundance analysis, LASSO/elastic-net regression, log<sub>2</sub> transformation, and MDS plot generation*), stworzyłam sygnaturę miRNA-seq składającą się z 17 miRNA, efektywnie różnicującą podtypy NSCLC. Spośród nich, 12 miRNA (miR.-326, miR-450a-5p, miR-1287-5p, miR-556-5p, miR-542-3p, miR-30b-5p, miR-4728-3p, miR-450a-1-3p, miR-375, miR-147b, miR-7705 i miR-653-3p) wykazało zwiększoną ekspresję, podczas gdy 5 miRNA (miR-944, miR-205-5p, miR-205-3p, miR-149-5p i miR-6510-3p) wykazało obniżoną ekspresję w ADC w porównaniu do SCC. Ponadto, zauważyłam, iż cztery miRNA o obniżonej ekspresji (miR-944, miR-205-5p, miR-205-3p i miR-6510-3p) były wspólne zarówno dla wcześniejszej analizy DE, jak i dla opracowanej sygnatury **(2)**.

Użyteczność diagnostyczną stworzonej sygnatury 17 miRNA oceniłam poprzez konstrukcję krzywej ROC (*ang. receiver operating characteristic curve*). Analiza ROC wykazała wysoką wartość obszaru pod krzywą (AUC) wynoszącą 0,994, co potwierdziło znaczny potencjał diagnostyczny opracowanej sygnatury miRNA **(2)**.

**Podsumowując drugą część osiągnięcia naukowego, wykazałam:**

1. możliwość wykorzystania miRNA izolowanych z tkanki guza jako biomarkerów różnicujących podtypy NSCLC;

2. różnice w ekspresji 31 miRNA między ADC a SCC;
3. możliwość opracowania sygnatury 17 miRNA do precyzyjnego rozróżniania przypadków ADC od SCC, z wykorzystaniem zaawansowanych metod statystycznych do analizy wyników reakcji NGS;
4. potencjalne zastosowanie kliniczne sygnatury 17 miRNA do podtypowania NSCLC, potwierdzone analizą krzywej ROC.

#### 4.3.3.3. Sygnatury miRNA do Wczesnej Diagnostyki NSCLC w Surowicy Krwi Pacjentów

W trzeciej części badań, opisanych w pracy nr **(3)**, skoncentrowałam się na opracowywaniu sygnatur miRNA do wczesnej diagnostyki NSCLC w surowicy pacjentów. Wykorzystałam multidyscyplinarne podejście, analizując wyniki NGS z zastosowaniem narzędzi uczenia maszynowego. Uzyskałam pełny obraz ekspresji miRNA, zidentyfikowałam DEmiRNA, przeanalizowałam ich udział w procesach komórkowych i szlakach sygnałowych oraz opracowałam sygnaturę miRNA do wczesnego wykrywania NSCLC.

W oparciu o przeprowadzone analizy NGS, zidentyfikowałam 690 miRNA o zwiększonej ekspresji oraz 2 miRNA o zmniejszonej ekspresji (miR-32-5p i miR-3613-5p) w NSCLC w porównaniu z kontrolą (pacjenci z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc – grupa POChP lub innymi nienowotworowymi chorobami płuc – grupa niePOChP). Po zaostrożeniu kryteriów filtracji, liczba cząsteczek miRNA zmniejszyła się do 28. Wszystkie z nich wykazywały zwiększoną ekspresję **(3)**.

Przeprowadzając kompleksowe analizy porównawcze między badanymi podgrupami, stwierdziłam obecność wspólnie różnicowo ekspresjonowanych mikroRNA (DEmiRNA). W szczególności, 9 mikroRNA (let-7a-2-3p, miR-103a-2-5p, miR-105-5p, miR-1178-3p, miR-1180-5p, miR-1208, miR-1225-3p, miR-1225-5p, miR-1227-3p) wykazało zwiększoną ekspresję w trzech porównaniach: ADC vs. POChP, ADC vs. niePOChP i ADC vs. SCC. Ponadto, miR-202-3p wykazało zwiększoną ekspresję zarówno w NSCLC vs. niePOChP, jak i POChP vs. niePOChP, a 3 mikroRNA (miR-3173-3p, miR-6819-3p i miR-6821-5p) wykazały zwiększoną ekspresję zarówno w NSCLC vs. POChP, jak i NSCLC vs. niePOChP **(3)**.

Wykonując analizę wzbogacenia funkcjonalnego zauważyłam, że różnicowo ekspresjonowane (DE) mikroRNA w grupie NSCLC były zaangażowane w różne procesy biologiczne, funkcje molekularne, komórkowe oraz szlaki sygnałowe. Zidentyfikowałam kilka nadreprezentowanych terminów GO (*ang. Gene Ontology*), potencjalnie związanych z patogenezą NSCLC, w tym proces metaboliczny związków azotu, ekspresję genów i proces biosyntezy. Ponadto, przeprowadzając analizę szlaków KEGG (*ang. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) zidentyfikowałam szlaki

potencjalnie związane z nowotworzeniem, takie jak biosynteza kwasów tłuszczowych, połączenia zwierające, oraz szlak p53 **(3)**.

W celu znormalizowania poziomów ekspresji genów, przed konstrukcją gradientowego modelu drzewa decyzyjnego (GBDT), skorzystałam z metody normalizacji TMM. Opracowany przeze mnie model GBDT posiadał wysoki potencjał diagnostyczny w rozróżnianiu NSCLC od pacjentów bez nowotworu, osiągając wartość AUC wynoszącą  $0,91 \pm 0,05$ , czułość na poziomie 0,806 oraz swoistość na poziomie 0,859. Został on oparty na analizach 2588 cząsteczek miRNA izolowanych z surowicy **(3)**.

Korzystając z metody Shapley Additive exPlanations (SHAP), zidentyfikowałam 25 miRNA, które w największym stopniu oddziaływały na metryki modelu. Na ich podstawie, opracowałam pięć uproszczonych modeli wykorzystujących SHAP, używając najistotniejszych 5, 10, 15, 20 i 25 miRNA. Spośród tych 5 modeli najlepszy okazał się zbudowany z 15 miRNA ( $AUC = 0,9625 \pm 0,04$ ). Grupę tą stanowiło 8 miRNA o obniżonej ekspresji (let-7i-5p, miR-3613-5p, miR-126-3p, miR-145-5p, miR-136-3p, miR-7-5p, miR-320a, miR-32-5p) oraz 7 miRNA o zwiększonej ekspresji (miR-6087, miR-877-5p, miR-4429, miR-1297, miR-205-5p, miR-6828-3p, miR-200a-5p) **(3)**.

Uzyskane wyniki sugerują, że wyselekcjonowana grupa 15 surowicznych miRNA może stanowić nowoczesne i użyteczne narzędzie diagnostyczne do rozróżniania między pacjentami z NSCLC a grupą kontrolną.

**Podsumowując trzecią część osiągnięcia naukowego, wykazałam:**

1. możliwość wykorzystania miRNA izolowanych z surowicy jako nieinwazyjnych biomarkerów do wczesnego wykrywania NSCLC;
2. obecność 28 DEmiRNA w surowicy krwi, różnicujących między NSCLC a nienowotworowymi chorobami płuc;
3. zaangażowanie DEmiRNA w szlaki biologiczne i mechanizmy molekularne związane z NSCLC, na podstawie analiz GO i KEGG;
4. Możliwość wykorzystania klasyfikatora gradientowego drzewa decyzyjnego (GBDT) opartego na 15 miRNA do wczesnego wykrywania NSCLC w surowicy krwi;
5. multidyscyplinarne podejście, integrujące sztuczną inteligencję (uczenie maszynowe) z analizami NGS do precyzyjnej diagnostyki NSCLC.

#### 4.3.3.4. Osiągnięcia i Wyzwania w Badaniach Zmian Epigenetycznych w NSCLC – Praca Poglądowa

Cykl prac uzupełnia praca poglądowa **(4)** przedstawiająca w sposób kompleksowy najnowsze osiągnięcia i wyzwania w obszarze badań epigenetycznych NSCLC. Dokonując przeglądu systematycznego piśmiennictwa według schematu PRISMA, wytypowałam z bazy danych PubMed 110 publikacji. Prace te potwierdzają, że zmiany epigenetyczne, takie jak metylacja DNA, modyfikacje histonów i ekspresja niekodującego RNA, odgrywają istotną rolę w powstaniu i progresji NSCLC. Ponadto wskazują, iż zaburzenia epigenetyczne można badać w różnym materiale biologicznym, w tym w tkance guza, kondensacie wydychanego powietrza, wydzielinach oskrzelowych, krwi obwodowej i egzosomach.

W pracy zwróciłam szczególną uwagę na biomarkery epigenetyczne, które posiadają potencjał poprawy wczesnej diagnozy i prognozy NSCLC, umożliwiając różnicowanie między próbkami nowotworowymi a nienowotworowymi, identyfikowanie podtypów histologicznych oraz prognozowanie przeżycia pacjentów. Niemniej jednak wskazałam iż, uzyskane wyniki mogą się różnić między laboratoriami, co wymaga ich dalszej walidacji i standaryzacji technologii. Ponadto zauważyłam że, terapie epigenetyczne w sposób znaczący zmieniają biologię NSCLC. Na przykład, inhibitory metylotransferaz DNA, inhibitory deacetylazy histonów i modulatory miRNA, wykazują skuteczność przeciwnowotworową w przypadku NSCLC, poprzez indukcję apoptozy, zatrzymanie cyklu komórkowego i przywrócenie wrażliwości na terapie konwencjonalne lub ukierunkowane. Dodatkowo, zwróciłam uwagę na rolę substancji pochodzenia naturalnego i suplementów diety, jako potencjalnych regulatorów epigenetycznych o niskiej toksyczności i działaniu przeciwnowotworowym. Zaznaczyłam jednakże, iż kliniczna skuteczność i bezpieczeństwo leków epigenetycznych, w tym pochodzenia naturalnego, nadal budzą wątpliwości i wymagają optymalizacji **(4)**.

Analiza piśmiennictwa przedstawiona w pracy poglądowej wyraźnie wskazuje, że badania epigenetyczne istotnie przyczyniły się do lepszego zrozumienia molekularnych mechanizmów oraz klinicznych implikacji NSCLC. Sugeruje również, że epigenetyka może w przyszłości stać się integralnym elementem medycyny personalizowanej NSCLC **(4)**. Jednakże, osiągnięcie tego celu wymaga pełnego zrozumienia ograniczeń i wyzwań, które towarzyszą badaniom epigenetycznym oraz opracowania metod ich skutecznego i efektywnego wdrożenia do praktyki klinicznej.

#### 4.3.3.5. Podsumowanie osiągnięcia naukowego

W cyklu prac, wchodzących w skład dzieła habilitacyjnego, przedstawiłam kompleksowe podejście do opracowania sygnatur ncRNA o wartości diagnostycznej dla niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC). W tym celu połączyłam techniki molekularne z analizą danych z wykorzystaniem narzędzi uczenia maszynowego. Analizując materiał tkankowy pobrany od pacjentów z NSCLC, zidentyfikowałam 14 długich niekodujących RNA (lncRNA) jako potencjalne biomarkery do wczesnej diagnostyki i podtypowania NSCLC **(1)**. Dodatkowo, wykazałam obecność 31 różnicowo ekspresjonowanych mikroRNA (DEmiRNA) ,pomędzy ADC i SCC oraz opracowałam sygnaturę 17 miRNA o silnym potencjale różnicującym podtypy **(2)**. Natomiast, w ramach analizy surowicy krwi pobranej od pacjentów z NSCLC, zidentyfikowałam 28 DEmiRNA, między NSCLC a grupą kontrolną oraz stworzyłam sygnaturę 15 miRNA do wczesnego wykrywania NSCLC **(3)**. Wyniki moich badań podkreślają możliwość wykorzystania niekodujących RNA jako skutecznych narzędzi wspomagających rutynową diagnostykę histopatologiczną NSCLC. Ponadto, zastosowane w moich badaniach multidyscyplinarne podejście, łączące badania molekularne z metodami uczenia maszynowego, poszerza horyzonty medycyny personalizowanej w obszarze NSCLC.

#### 4.3.4. Bibliografia

1. Molina, J.R.; Yang, P.; Cassivi, S.D.; Schild, S.E.; Adjei, A.A. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clin. Proc.* **2008**, *83*, 584–594, doi:10.4065/83.5.584.
2. Khodabakhshi, Z.; Mostafaei, S.; Arabi, H.; Oveisi, M.; Shiri, I.; Zaidi, H. Non-small cell lung carcinoma histopathological subtype phenotyping using high-dimensional multinomial multiclass CT radiomics signature. *Comput. Biol. Med.* **2021**, *136*, 104752, doi:10.1016/j.combiomed.2021.104752.
3. Li, C.; Wang, H.; Jiang, Y.; Fu, W.; Liu, X.; Zhong, R.; Cheng, B.; Zhu, F.; Xiang, Y.; He, J.; et al. Advances in lung cancer screening and early detection. *Cancer Biol. Med.* **2022**, *19*, 591–608, doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2021.0690.
4. Kalinke, L.; Thakrar, R.; Janes, S.M. The promises and challenges of early non-small cell lung cancer detection: patient perceptions, low-dose CT screening, bronchoscopy and biomarkers. *Mol. Oncol.* **2021**, *15*, 2544–2564, doi:10.1002/1878-0261.12864.
5. P., J.; Li, T.; Yoneda, K.Y. Molecular testing strategies in non-small cell lung cancer: optimizing the diagnostic journey. *Transl. Lung Cancer Res.* **2019**, *8*, 286–301, doi:10.21037/tlcr.2019.04.14.
6. Galli, G.; Rossi, G. Lung cancer histology-driven strategic therapeutic approaches. *Shanghai Chest* **2020**, *4*, 29, doi:doi.org/10.21037/shc.
7. Padinharayil, H.; Varghese, J.; John, M.C.; Rajanikant, G.K.; Wilson, C.M.; Al-Yozbak, M.; Renu, K.; Dewanjee, S.; Sanyal, R.; Dey, A.; et al. Non-small cell lung carcinoma (NSCLC): Implications on molecular pathology and advances in early diagnostics and therapeutics. *Genes Dis.* **2023**, *10*, 960–989, doi:10.1016/j.gendis.2022.07.023.
8. Vaught, J.B.; Henderson, M.K. Biological sample collection, processing, storage and information



- management. *IARC Sci. Publ.* **2011**, *163*, 23–42.
9. Nicoś, M.; Krawczyk, P. Genetic Clonality as the Hallmark Driving Evolution of Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)* **2022**, *14*, 1813, doi:10.3390/cancers14071813.
  10. Tane, S.; Nishio, W.; Ogawa, H.; Hokka, D.; Tane, K.; Tanaka, Y.; Tauchi, S.; Uchino, K.; Sakai, Y.; Ohbayashi, C.; et al. Clinical significance of the “not otherwise specified” subtype in candidates for resectable non-small cell lung cancer. *Oncol. Lett.* **2014**, *8*, 1017–1024, doi:10.3892/ol.2014.2302.
  11. Zhou, C.; Chen, Z.; Zhao, L.; Zhao, W.; Zhu, Y.; Liu, J.; Zhao, X. A novel circulating miRNA-based signature for the early diagnosis and prognosis prediction of non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Lab. Anal.* **2020**, *34*, e23505, doi:10.1002/jcla.23505.
  12. Zhang, Y.; Roth, J.A.; Yu, H.; Ye, Y.; Xie, K.; Zhao, H.; Chang, D.W.; Li, M.H.H.; Qu, J.; Wu, X. A 5-microRNA signature identified from serum microRNA profiling predicts survival in patients with advanced stage non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis* **2019**, *40*, 643–650, doi:10.1093/carcin/bgy132.
  13. Yang, X.; Zhang, Q.; Zhang, M.; Su, W.; Wang, Z.; Li, Y.; Zhang, J.; Beer, D.G.; Yang, S.; Chen, G. Serum microRNA Signature Is Capable of Early Diagnosis for Non-Small Cell Lung Cancer. *Int. J. Biol. Sci.* **2019**, *15*, 1712–1722, doi:10.7150/ijbs.33986.
  14. Herbst, R.S.; Heymach, J. V; Lippman, S.M. Lung cancer. *N. Engl. J. Med.* **2008**, *359*, 1367–1380, doi:10.1056/NEJMra0802714.
  15. Shroff, G.S.; Groot, P.M. de; Papadimitrakopoulou, V.A.; Truong, M.T.; Carter, B.W. Targeted Therapy and Immunotherapy in the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *Radiol. Clin. North Am.* **2018**, *56*, 485–495, doi:10.1016/j.rcl.2018.01.012.
  16. Paulina Krzyszczyk; Acevedo, A.; Davidoff, E.J.; Timmins, L.M.; Marrero-Berrios, I.; Patel, M.; White, C.; Lowe, C.; Sherba, J.J.; Hartmanshenn, C.; et al. The growing role of precision and personalized medicine for cancer treatment. *Technol. (Singap World Sci)* **2018**, *6*, 79–100, doi:10.1142/S2339547818300020.
  17. Pal, S.K.; Figlin, R.A.; Reckamp, K. Targeted therapies for non-small cell lung cancer: an evolving landscape. *Mol. Cancer Ther.* **2010**, *9*, 1931–1944, doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-0239.
  18. Lauro, S.; Onesti, C.E.; Righini, R.; Marchetti, P. The use of bevacizumab in non-small cell lung cancer: an update. *Anticancer Res.* **2014**, *34*, 1537–1545.
  19. Chen, Z.; Akbay, E.; Mikse, O.; Tupper, T.; Cheng, K.; Wang, Y.; Tan, X.; Altabef, A.; Woo, S.-A.; Chen, L.; et al. Co-clinical trials demonstrate superiority of crizotinib to chemotherapy in ALK-rearranged non-small cell lung cancer and predict strategies to overcome resistance. *Clin. Cancer Res.* **2014**, *20*, 1204–1211, doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-1733.
  20. Ratti, M.; Lampis, A.; Ghidini, M.; Salati, M.; Mirchev, M.B.; Valeri, N.; Hahne, J.C. MicroRNAs (miRNAs) and Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) as New Tools for Cancer Therapy: First Steps from Bench to Bedside. *Target Oncol.* **2020**, *15*, 261–278, doi:10.1007/s11523-020-00717-x.
  21. Martino, M.T. Di; Riillo, C.; Scionti, F.; Grillone, K.; Polerà, N.; Caracciolo, D.; Arbitrio, M.; Tagliaferri, P.; Tassone, P. miRNAs and lncRNAs as Novel Therapeutic Targets to Improve Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)* **2021**, *13*, 1587, doi:10.3390/cancers13071587.
  22. Wani, J.A.; Majid, S.; Imtiyaz, Z.; Rehman, M.U.; Alsaffar, R.M.; Shah, N.N.; Alshehri, S.; Ghoneim, M.M.; Imam, S.S. MiRNAs in Lung Cancer: Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Potential. *Diagnostics (Basel)* **2022**, *12*, 1610, doi:10.3390/diagnostics12071610.
  23. Ansari, J.; Shackelford, R.; El-Osta, H. Epigenetics in non-small cell lung cancer: from basics to therapeutics. *Translational lung cancer Res.* **2016**, *5*, 155–171, doi:10.21037/tlcr.2016.02.02.
  24. Shi, Y.-X.; Sheng, D.-Q.; Cheng, L.; Song, X.-Y. Current Landscape of Epigenetics in Lung Cancer:

- Focus on the Mechanism and Application. *J. Oncol.* **2019**, 8107318, doi:10.1155/2019/8107318.
25. Pathak, A.; Tomar, S.; Pathak, S. Epigenetics and Cancer: A Comprehensive Review. *Asian Pacific J. Cancer Biol.* **2023**, *8*, 75–89, doi:10.31557/APJCB.2023.8.1.75-89.
  26. Imyanitov, E.N.; Iyevleva, A.G.; Levchenko, E. V Molecular testing and targeted therapy for non-small cell lung cancer: Current status and perspectives. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2021**, *157*, 103194, doi:10.1016/j.critrevonc.2020.103194.
  27. Viñal, D.; Martínez, D.; Higuera, O.; Castro, J. de Genomic profiling in non-small-cell lung cancer in young patients. A systematic review. *ESMO Open* **2021**, *6*, 100045, doi:10.1016/j.esmoop.2020.100045.
  28. Maglio, G. De; Pasello, G.; Dono, M.; Follador, M.F.A.; Sciortino, M.; Malapelle, U.; Tiseo, M. The storm of NGS in NSCLC diagnostic-therapeutic pathway: How to sun the real clinical practice. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2022**, *169*, 103561, doi:10.1016/j.critrevonc.2021.103561.
  29. Hussen, B.M.; Abdullah, S.T.; Salihi, A.; Sabir, D.K.; Sidiq, K.R.; Rasul, M.F.; Hidayat, H.J.; Ghafouri-Fard, S.; Taheri, M.; Jamali, E. The emerging roles of NGS in clinical oncology and personalized medicine. *Pathol. - Res. Pract.* **2022**, *230*, 153760, doi:10.1016/j.prp.2022.153760.
  30. Fehlmann, T.; Kahraman, M.; Ludwig, N.; Backes, C.; Galata, V.; Keller, V.; Geffers, L.; Mercaldo, N.; Hornung, D.; Weis, T.; et al. Evaluating the Use of Circulating MicroRNA Profiles for Lung Cancer Detection in Symptomatic Patients. *JAMA Oncol.* **2020**, *6*, 714–723, doi:10.1001/jamaoncol.2020.0001.
  31. Ying, L.; Du, L.; Zou, R.; Shi, L.; Zhang, N.; Jin, J.; Xu, C.; Zhang, F.; Zhu, C.; Wu, J.; et al. Development of a serum miRNA panel for detection of early stage non-small cell lung cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2020**, *117*, 25036–25042, doi:10.1073/pnas.2006212117.
  32. Zhu, Y.; Li, T.; Chen, G.; Yan, G.; Zhang, X.; Wan, Y.; Li, Q.; Zhu, B.; Zhuo, W. Identification of a serum microRNA expression signature for detection of lung cancer, involving miR-23b, miR-221, miR-148b and miR-423-3p. *Lung Cancer* **2017**, *114*, 6–11, doi:10.1016/j.lungcan.2017.10.002.
  33. Duan, X.; Qiao, S.; Li, D.; Li, S.; Zheng, Z.; Wang, Q.; Zhu, X. Circulating miRNAs in Serum as Biomarkers for Early Diagnosis of Non-small Cell Lung Cancer. *Front. Genet.* **2021**, 673926, doi:10.3389/fgene.2021.673926.
  34. Wang, C.; Ding, M.; Xia, M.; Chen, S.; Le, A. Van; Soto-Gil, R.; Shen, Y.; Wang, N.; Wang, J.; Gu, W.; et al. A Five-miRNA Panel Identified From a Multicentric Case–control Study Serves as a Novel Diagnostic Tool for Ethnically Diverse Non-small-cell Lung Cancer Patients. *EBioMedicine* **2015**, *2*, 1377–1385, doi:10.1016/j.ebiom.2015.07.034.
  35. Inagaki, M.; Uchiyama, M.; Yoshikawa-Kawabe, K.; Ito, M.; Murakami, H.; Gunji, M.; Minoshima, M.; Kohnoh, T.; Ito, R.; Kodama, Y.; et al. Comprehensive circulating microRNA profile as a supersensitive biomarker for early-stage lung cancer screening. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **2023**, *149*, 8297–8305, doi:10.1007/s00432-023-04728-9.
  36. Lin, Y.; Leng, Q.; Zhan, M.; Jiang, F. A Plasma Long Noncoding RNA Signature for Early Detection of Lung Cancer. *Transl. Oncol.* **2018**, *11*, 1225–1231, doi:10.1016/j.tranon.2018.07.016.
  37. Yuan, S.; Xiang, Y.; Guo, X.; Zhang, Y.; Li, C.; Xie, W.; Wu, N.; Wu, L.; Cai, T.; Ma, X.; et al. Circulating Long Noncoding RNAs Act as Diagnostic Biomarkers in Non-Small Cell Lung Cancer. *Front. Oncol.* **2020**, *7*, 537120, doi:10.3389/fonc.2020.537120.
  38. Lin, T.; Fu, Y.; Zhang, X.; Gu, J.; Ma, X.; Miao, R.; Xiang, X.; Niu, W.; Qu, K.; Liu, C.; et al. A seven-long noncoding RNA signature predicts overall survival for patients with early stage non-small cell lung cancer. *Aging (Albany NY)* **2018**, *11*, 2356–2366, doi:10.18632/aging.101550.
  39. Cao, Q.; Dong, Z.; Liu, S.; An, G.; Yan, B.; Lei, L. Construction of a metastasis-associated ceRNA network reveals a prognostic signature in lung cancer. *Cancer Cell Int.* **2020**, *3*, 208, doi:10.1186/s12935-020-01295-8.

40. Zhang, X.; Han, J.; Du, L.; Li, X.; Hao, J.; Wang, L.; Zheng, G.; Duan, W.; Xie, Y.; Zhao, Y.; et al. Unique metastasis-associated lncRNA signature optimizes prediction of tumor relapse in lung adenocarcinoma. *Thorac. cancer* **2020**, *11*, 728–737, doi:10.1111/1759-7714.13325.
41. Peng, F.; Wang, R.; Zhang, Y.; Zhao, Z.; Zhou, W.; Chang, Z.; Liang, H.; Zhao, W.; Qi, L.; Guo, Z.; et al. Differential expression analysis at the individual level reveals a lncRNA prognostic signature for lung adenocarcinoma. *Mol. Cancer* **2017**, *6*, 98, doi:10.1186/s12943-017-0666-z.
42. Zheng, R.; Zheng, M.; Wang, M.; Lu, F. Identification of a prognostic long noncoding RNA signature in lung squamous cell carcinoma: a population-based study with a mean follow-up of 3.5 years. *Arch. Public Heal.* **2021**, *79*, 61, doi:10.1186/s13690-021-00588-2.

## 5. INFORMACJA O WYKAZANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ

### 5.1. Aktywność naukowa PRZED UZYSKANIEM stopnia doktora

Uczestniczyłam w badaniach **markerów białkowych do wczesnej diagnostyki NSCLC (1A)**. Badania te były związane z tematyką mojej rozprawy doktorskiej. Posługując się metodami immunohistochemicznymi badaliśmy ekspresję P16INK4a, TP53 i Rb w BCCD (*ang. Bronchiolar Columnar Cell Dysplasia*). Zmiana ta została po raz pierwszy zasugerowana jako stan przedrakowy przez Ullman R i Bongiovanni M w 2003 roku. (Ullman R, Bongiovanni M, Halbweld I, Petzmann S, Gogg-Kammerer M, Sapino A, Papotti M, Bussolati G, Popper HH. Bronchiolar columnar cell dysplasia - genetic analysis of a novel preneoplastic lesion of peripheral lung. *Virchows Arch*, 2003; 442: 429-436). Stwierdziliśmy brak ekspresji białka P16INK4a w 70% przypadków u pacjentów z ADC. W dwóch przypadkach zaobserwowaliśmy nieprawidłową lokalizację cytoplazmatyczną tego białka. Białko TP53 wykazywało ekspresję w 26,7% przypadków BCCD, a białko Rb w 48,3% przypadków. Uzyskane wyniki wskazują, że BCCD może stanowić stan przedrakowy prowadzący zarówno do rozwoju ADC jak i SCC. Sugerowaliśmy, że obserwacje te mogły mieć implikacje dla wczesnej diagnostyki i leczenia NSCLC. Warto zaznaczyć, że pomimo początkowego zainteresowania zmianą BCCD, nie została ona oficjalnie uznana za stan przedrakowy i nie występuje w klasyfikacji histologicznej NSCLC.

Badałam również **zaburzenia epigenetyczne w NSCLC**. Publikacja dotycząca tej tematyki (**2A**) koncentrowała się na analizie metylacji promotorów dwóch genów supresorowych: *DAPK* i *RASSF1A* za pomocą metody MSP (*ang. Methylation-Specific PCR*). Metylacja genów jest modyfikacją epigenetyczną prowadzącą do wyciszenia ich ekspresji. W NSCLC, hypermetylacja genów związanych z kontrolą cyklu komórkowego i apoptozą może powodować nieprawidłowe funkcjonowanie komórek oraz inaktywację genów supresorowych. Proces ten odgrywa kluczową rolę w promowaniu niekontrolowanego podziału komórki i unikaniu programowanej

śmierci. Dodatkowo, metylacja genów może służyć jako biomarker diagnostyczny i prognostyczny, umożliwiając identyfikację podtypów raka płuca oraz prognozowanie rokowania pacjentów. Ponadto, badania metylacji DNA mają potencjał identyfikacji nowych celów terapeutycznych i wspomagania rozwoju strategii leczenia ukierunkowanego na zmiany epigenetyczne. Wyniki badań w których uczestniczyłam, ujawniły hipermetylację promotora *DAPK* w 24 (34%) oraz *RASSF1A* w 18 (26%) przypadków. Analizując różne cechy kliniczno-patologiczne NSCLC, zauważyliśmy, że metylacja promotora *DAPK* była częstsza w raku płaskonabłonkowym (46%) niż w gruczolakoraku (25%) i raku wielkokomórkowym (22%), choć różnice nie były istotne statystycznie ( $p=0,3$ ). Natomiast metylacja *RASSF1A* wykazywała istotny statystycznie związek z typem histologicznym raka ( $p=0,06$ ). W przypadku gruczolakoraka, 45% guzów wykazywało metylację promotora *RASSF1A*, w porównaniu do 17% raka płaskonabłonkowego oraz 22% raka wielkokomórkowego. Analiza obu markerów zgodnie z systemem TNM nie wykazała istotnych statystycznie różnic między stopniami I, IIa i IIIa ani dla *DAPK* ( $p=0,2$ ), ani dla *RASSF1A* ( $p=0,1$ ). Jednakże, gdy zgrupowano stadia I i II i porównano ze stadiem IIIa, znaleziono istotny związek między metylacją *RASSF1A* a TNM ( $p=0,03$ ). Pacjenci z guzami wykazującymi metylację promotora *DAPK* mieli istotnie gorsze przeżycie całkowite ( $p=0,02$ ) w porównaniu do pacjentów bez metylacji. Jednakże, związek między statusem metylacji promotora *RASSF1A* a ogólnym przeżyciem nie osiągnął istotności statystycznej ( $p=0,48$ ). Uzyskane wyniki wskazują na związek metylacji genów *DAPK* i *RASSF1A* z rozwojem i progresją NSCLC.

Uzupełnienie badań stanowiły dwie **prace poglądowe, w których jestem pierwszym autorem**. W pracy poglądowej **(3A)** omówiliśmy **rolę metylacji DNA jako jednego z mechanizmów epigenetycznych regulujących ekspresję genów**. W publikacji podkreśliliśmy, że wzór metylacji DNA jest ustalany w trakcie embriogenezy i przenoszony na różnicujące się komórki i tkanki. W komórkach prawidłowych wysoki poziom metylacji występuje w DNA pozagenowym (cytozyny chodzące w skład w dinukleotydu CpG), podczas gdy wyspy CpG w promotorach genów są niemetylowane, z wyjątkiem nieaktywnych genów chromosomu X i genów podlegających imprintingowi genomowemu. Ponadto, zwróciliśmy uwagę, że zmiany we wzorze metylacji, występujące wraz ze starzeniem się organizmu i na wczesnych etapach kancerogenezy, mogą prowadzić do wyciszenia ponad dziewięćdziesięciu genów. W odniesieniu do raka płuca zaznaczyliśmy, że zaburzenia wzoru metylacji DNA występują nie tylko w wyspach CpG, ale także w innych dinukleotydach, np. CpA. Taka metylacja została zaobserwowana w trzech regionach eksonu 5 genu p53 (metylacja "non-CpG"). Wskazaliśmy również, iż zrozumienie procesu

metylacji DNA i jego zaburzeń jest przydatne w poszukiwaniu nowych markerów umożliwiających wczesne wykrywanie raka.

Kontynuując wcześniejszą tematykę, dokonaliśmy **przeglądu metod biologii molekularnej stosowanych do analizy metylacji DNA**, zarówno w całym genomie jak i pojedynczych genach **(4A)**. Techniki te obejmują cięcie genomu enzymami restrykcyjnymi wrażliwymi na metylację i modyfikację DNA wodorosiarczynem sodu do odróżnienia sekwencji metylowanych od niemetylowanych. Ponadto, stosuje się różne odmiany metody PCR, w tym MS-PCR, MS-nested PCR, Real-Time PCR, QAMA, HeavyMethyl i MSHRM. Enzymy restrykcyjne mogą być wykorzystywane łącznie z PCR lub hybrydyzacją (Southern blot i mikromacierze DNA). Scharakteryzowaliśmy również bardziej zaawansowane techniki, takie jak MALDI-TOF MS i HPLC.

- (1A)** Pankiewicz, W.; **Sulewska, A.**; Niklinska, W.; Naumnik, W.; Laudanski, J.; Niklinski, J.; Chyczewski, L. Immunoexpression of P16(INK4a), Rb and TP53 proteins in bronchiolar columnar cell dysplasia (BCCD) in lungs resected due to primary non-small cell lung cancer. *Folia Histochem. Cytobiol.* **2008**, *46*, 89–96, doi:10.2478/v10042-008-0013-8.
- (2A)** Niklinska, W.; Naumnik, W.; **Sulewska, A.**; Kozłowski, M.; Pankiewicz, W.; Milewski, R. Prognostic significance of DAPK and RASSF1A promoter hypermethylation in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Folia Histochem. Cytobiol.* **2009**, *47*, 275–280, doi:10.2478/v10042-009-0091-2.
- (3A)** **Sulewska, A.**; Niklinska, W.; Kozłowski, M.; Minarowski, L.; Naumnik, W.; Niklinski, J.; Dabrowska, K.; Chyczewski, L. DNA methylation in states of cell physiology and pathology. *Folia Histochem. Cytobiol.* **2007**, *45*, 149–158.
- (4A)** **Sulewska, A.**; Niklinska, W.; Kozłowski, M.; Minarowski, L.; Naumnik, W.; Niklinski, J.; Dabrowska, K.; Chyczewski, L. Detection of DNA methylation in eucaryotic cells. *Folia Histochem. Cytobiol.* **2007**, *45*, 315–324.

Następnym kierunkiem badań była **analiza poziomu sFasL w surowicy pacjentów z rakiem przełyku (5A)**. Uważa się, że w nowotworach przełyku podwyższona ekspresja surowiczego ligandu Fas (sFasL) i obniżony poziom receptora Fas są związane z „ucieczką” raka spod nadzoru układu immunologicznego. Oznaczaliśmy poziom sFasL w surowicy pacjentów z płaskonabłonkowym rakiem przełyku, przed podjęciem terapii oraz zdrowych ochotników, za pomocą testu ELISA. Średni poziom sFasL w surowicy pacjentów z rakiem przełyku okazał się istotnie statystycznie wyższy niż w grupie kontrolnej (1,567+/-1,786 vs. 0,261+/-0,435, p<0,0001). Poziomy sFasL w surowicy były znacząco wyższe w zaawansowanych stadiach (II vs IV p<0,034; III vs IV p<0,041; z wyjątkiem II vs III p=0,281), u pacjentów z przerzutami do węzłów chłonnych (N0 vs N1 p<0,0389) lub przerzutami odległymi (M0 vs. M1 p<0,0388), a istotnie niższe u pacjentów z dobrze zróżnicowanymi guzami (G1 vs G2 p<0,0272). Poziomy rozpuszczalnego FasL nie korelowały z płcią, wiekiem, wielkością guza, stopniem zaawansowania T, paleniem tytoniu czy historią spożycia alkoholu. Różnice w przeżyciu między wysokim a niskim poziomem sFasL przed leczeniem w grupie poddanej chirurgii i chemio- i/lub radioterapii nie

były istotne statystycznie ( $p=0,525$ ;  $p=0,840$ ). Wyniki wskazują, że podwyższone poziomy sFasL w surowicy mogą być związane z postępowaniem choroby u pacjentów z płaskonabłonkowym rakiem przełyku.

- (5A)** Kozłowski, M.; Kowalczyk, O.; **Sulewska, A.**; Dziegielewska, P.; Lapuc, G.; Laudanski, W.; Niklińska, W.; Chyczewski, L.; Nikliński, J.; Laudanski, J. Serum soluble Fas ligand (sFasL) in patients with primary squamous cell carcinoma of the esophagus. *Folia Histochem. Cytobiol.* **2007**, *45*, 199–204.

Kolejnym obszarem analiz było **badanie poziom tiocyjanianów (SCN-) w ślinie chorych na mukowiscydozę (CF)** w porównaniu ze zdrowymi niepalącymi i palącymi osobami **(6A)**. Tiocyjaniany występują powszechnie w przyrodzie i stanowią niezbędny element systemu obronnego organizmu. Pełnią one rolę substratu dla laktoperoksydazy (LPO). Średnie stężenie SCN- w ślinie pacjentów z mukowiscydozą wynosiło  $0,031 \pm 0,0052$  g/l, u zdrowych niepalących  $0,039 \pm 0,0048$  g/l, a u zdrowych palących  $0,048 \pm 0,0161$  g/l. Pomimo obiecujących wstępnych wyników badań, istotne wydaje się powiększenie grupy badanej oraz użycie alternatywnego materiału biologicznego (BALF lub indukowanej płwociny) w celu pogłębienia zrozumienia roli tiocyjanianów w mukowiscydozie.

- (6A)** Minarowski, Ł.; Sands, D.; Minarowska, A.; Karwowska, A.; **Sulewska, A.**; Gacko, M.; Chyczewska, E. Thiocyanate concentration in saliva of cystic fibrosis patients. *Folia Histochem. Cytobiol.* **2008**, *46*, 245–246, doi:10.2478/v10042-008-0037-0.

### 5.1.1. Współprace naukowe (krajowe i zagraniczne)

**BRAK**

### 5.1.2. Informacja o krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych

1.

**Sulewska A**, Modrzejewski W, Kowalczyk O, Kasacka I, Jackowski R, Hirnle T, Musiał W, Chyczewski L. Attempts to detect Helicobacter pylori in atherosclerotic plaques. Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku 2004 : Vol. 49 suppl. 1, s. 239-241 (**polski referat zjazdowy**)

2.

**Sulewska A**, Modrzejewski W, Kowalczyk O, Chyczewski L. Próby wykrywania Helicobacter pylori metodami molekularnymi w blaszkach miażdżycowych u chorych. Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku 2004 : Vol. 49 suppl. II, s. 162 (**polskie streszczenie zjazdowe**)

3.

Kozłowski M, Kowalczyk O, **Sulewska A**, Łapuc G, Ludański W, Dziegielewska P, Niklińska W, Chyczewski L, Nikliński J, Ludański J. Serum vascular endothelial growth factor C(VEGF-C) and D(VEGF-D) in patients with esophageal cancer. Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery 2009: 9, suppl. 1, s. S44 (**zagraniczne streszczenie zjazdowe**)

4.

Kozłowski M, Kowalczyk O, **Sulewska A**, Grabowicz M., Łapuc G, Ludański W, Dziegielewska P, Niklińska W, Chyczewski L, Nikliński J, Ludański J. Serum vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), C(VEGF-C) and D(VEGF-D) in patients with esophageal cancer. 11th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus, Budapest, Hungary, September 10 - 13, 2008. Program and Abstract Book. s. abstr. no P308 (**zagraniczne streszczenie zjazdowe**)

5.

Kozłowski M, Kowalczyk O, **Sulewska A**, Grabowicz M, Łapuć G, Laudański W, Dzięgielewski P, Chyczewski L, Nikliński J, Laudański J. Surowicze stężenia naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu C (VEGF-C) i naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu D (VEGF-D) u chorych na raka przełyku. Doniesienie wstępne. *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska* 2008 : 5, supl. 1, s. S 58 (*polskie streszczenie zjazdowe*)

6.

Łapuć G, Kowalczyk O, Laudański W, Kozłowski M, **Sulewska A**, Grabowicz M, Dzięgielewski P, Cybulski A, Chyczewski L, Nikliński J, Laudański J. Stężenia naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu C (VEGF-C) i D(VEGF-D) w surowicy u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) leczonych operacyjnie - doniesienie wstępne. *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2008 : 4, supl. B, s.B40 (*polskie streszczenie zjazdowe*)

7.

Nikliński J, Niklińska W, Chyczewski L, Kozłowski M, Pankiewicz W, Naumnik W, Laudański W, **Sulewska A**, Laudański J. Prognostic significance of p16INK4A, DAPK and RASSF1A promoter hypermethylation in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Journal of Thoracic Oncology* 2007 : Vol. 2 no 8 suppl. 4: 12th World Conference on Lung Cancer, Seoul, Korea, September 2 - 6, 2007, s. S526 (*zagraniczne streszczenie zjazdowe*)

8.

Barzał-Nowosielska M, Miąsko A, Gołdowska E, **Sulewska A**, Chyczewski L. Ocena częstości występowania ludzkiego wirusa brodawczaka (HPV) oraz ocena poziomu ekspresji białka p53 w brodawczakach jamy ustnej. *XLI Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików, Stare Jabłonki, 14-15.09. 2006 r. Streszczenia. s. 5* (*polskie streszczenie zjazdowe*)

9.

Pankiewicz W, Cylik J, **Sulewska A**, Naumnik Wojciech, Laudański Jerzy, Chyczewski Lech. Zmiany przedrakowe w płucach resekowanych z powodu pierwotnego raka. *XLI Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików, Stare Jabłonki, 14-15.09. 2006 r. Streszczenia. s. 81* (*polskie streszczenie zjazdowe*)

10.

Kozłowski M, Nikliński J, Laudański J, Chyczewski L, Kowalczyk O, **Sulewska A**, Dzięgielewski P, Łapuć G, Cybulski A, Bernacki A. Serum vascular endothelial growth factor D (VEGF-D) in resected non-small-cell lung cancer (NSCLC): preliminary report. *Lung Cancer* 2004 : 45, supl. 3, s. S34. (*zagraniczne streszczenie zjazdowe*)

11.

Kasacka I, Piąt-Marcinkiewicz B, Pankiewicz W, **Sulewska A**. Morphological evaluation of the lungs in rats with experimentally induced renal failure. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku* 2004 : Vol. 49 supl. 1, s. 204-206 (*polski referat zjazdowy*)

12.

Kasacka I, Pankiewicz W, **Sulewska A**. Obraz morfologiczny płuc szczurów z doświadczalną przewlekłą niewydolnością nerek. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku* 2004 : Vol. 49 supl. II, s. 85 (*polskie streszczenie zjazdowe*)

13.

Barzał-Nowosielska M, Miąsko A, Starostawska E, **Sulewska A**, Chyczewski L. Detection of human papillomavirus in papillomas of oral cavity. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2001 : Vol. 39 supl. 2, s. 189-190 (*polski referat zjazdowy*)

14.

Niklińska W, Chyczewski L, **Sulewska A**, Nikliński J. Clinical application of molecular markers in operable non-small cell lung cancer (NSCLC) : prognostic value of c-erbB-2 and RB alterations. *Współczesna Onkologia, nr 5 dodatek specjalny s. 73-74* (*polskie streszczenie zjazdowe*)

15.

Rydzewska-Rosołowska A.E, Kasacka I, **Sulewska A**, Rudy A., Chyczewski L. Pulmonary neuroendocrine cells in physiology and pathology. *Folia Histochemica et Cytobiologica. 2001 : Vol. 39 supl. 2, s. 58-63* (*polski referat zjazdowy*)

### 5.1.3. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach

- 2001-2009 Członek zwyczajny Polskiego Towarzystwa Patologów, Oddział w Białymstoku
- 2001-2009 Członek zwyczajny Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików Oddział w Białymstoku

### 5.2. Aktywność naukowa PO UZYSKANIU stopnia doktora

Wiodącym obszarem moich zainteresowań naukowych są **zmiany genetyczne i epigenetyczne w NSCLC**. Pierwsza publikacja dotycząca tej tematyki, po uzyskaniu stopnia doktora (**1B**), koncentrowała się na badaniu częstości występowania mutacji genu *KRAS* w zaawansowanych stadiach NSCLC. Badania ujawniły wyjątkowy przypadek podwójnej mutacji w kodonach 12 i 13 genu *KRAS* u pacjenta z ADC. Testy molekularne na przerzutach do mózgu u tego samego pacjenta potwierdziły, że kombinacja wariantów była mutacją monoalleliczną, nieodnotowaną dotąd w bazie danych COSMIC (*ang. Catalogue of Somatic Mutations in Cancer*). W przerzutach do mózgu nie wykryto mutacji w kodonach 12 i 13 ani w egzonach 19 i 21 genu *EGFR*. Uzyskane wyniki wskazują na mozaikowość molekularną genu *KRAS* i zróżnicowanie między pierwotnym i przerzutowym gruczolakorakiem płuca. To zróżnicowanie może mieć istotne znaczenie podczas selekcji pacjentów do terapii ukierunkowanej.

Następnie skupiliśmy się na **profilowaniu ekspresji genów za pomocą wysokoprzepustowej techniki mikromacierzy DNA**. Badania te miały na celu stworzenie sygnatury klasyfikującej podtypy NSCLC (**2B**). Uzyskane wyniki pokazały istotne różnice w profilach ekspresji genów między ADC a SCC. Na ich podstawie opracowaliśmy sygnaturę składającą się z 53 genów, która różnicowała podtypy NSCLC z dokładnością wynoszącą 93%. Na etapie walidacji, nasz predyktor klasyfikował pacjentów z ADC z 100% wrażliwością i 88% specyficnością. Chociaż analiza ekspresji genów nie dostarczyła dodatkowej wartości poprzez przewidywanie statusu progresji NSCLC, to jednak pozwoliła na dokładne sklasyfikowanie guzów NSCLC. Z tego względu, może ona stanowić przydatne narzędzie diagnostyczne dla precyzyjnego wyboru pacjentów do terapii ukierunkowanych.

W kolejnym etapie badań (**3B**) ocenialiśmy **wpływ dwóch różnych strategii normalizacji, z użyciem U6 snRNA i hsa-miR-103 jako genów referencyjnych, na poziomy ekspresji hsa-miR-205 i hsa-miR-21, pod kątem klasyfikacji podtypów NSCLC**. Poziomy ekspresji miRNA ocenialiśmy metodą qPCR a uzyskane wyniki zostały wykorzystane do opracowania testu diagnostycznego przy użyciu dwóch strategii normalizacji danych. Analizowane cząsteczki miRNA okazały się skutecznymi narzędziami do rozróżniania między ADC a SCC (zgodność



diagnoz histologicznych i metod molekularnych większa niż 88%). Analiza wydajności testów miRNA, opartych na dwóch strategiach normalizacji, wykazała, że hsa-miR-103 miał niewielką przewagę (wrażliwość 83,33% i 100%, odpowiednio w zestawie klasyfikacyjnym i weryfikacyjnym) w porównaniu do U6 snRNA. Pozwala to wnioskować, że testy molekularne oparte na ekspresji miRNA skutecznie klasyfikują podtypy NSCLC i mogą stanowić przydatne narzędzie diagnostyczne w selekcji pacjentów do terapii ukierunkowanej.

- (1B) Charkiewicz, R.; Niklińska, W.; Zalewski, G.; Charkiewicz, A.; Kozłowski, M.; **Sulewska, A.**; Chyczewski, L. New monoallelic combination of KRAS gene mutations in codons 12 and 13 in the lung adenocarcinoma. *Adv. Med. Sci.* **2013**, *58*, 83–89, doi:10.2478/v10039-012-0080-0.
- (2B) Charkiewicz, R.; Niklinski, J.; Claesen, J.; **Sulewska, A.**; Kozłowski, M.; Michalska-Falkowska, A.; Reszec, J.; Moniuszko, M.; Naumnik, W.; Niklinska, W. Gene Expression Signature Differentiates Histology But Not Progression Status of Early-Stage NSCLC. *Transl. Oncol.* **2017**, *10*, 450–458, doi:10.1016/j.tranon.2017.01.015.
- (3B) Charkiewicz, R.; Pilz, L.; **Sulewska, A.**; Kozłowski, M.; Niklinska, W.; Moniuszko, M.; Reszec, J.; Manegold, C.; Niklinski, J. Validation for histology-driven diagnosis in non-small cell lung cancer using hsa-miR-205 and hsa-miR-21 expression by two different normalization strategies. *Int. J. Cancer* **2016**, *138*, 689–697, doi:10.1002/ijc.29816.

Następny aspekt moich badań obejmował procedury biobankowania materiału biologicznego. Uczestniczyłam w pracach wielośrodkowego i multidyscyplinarnego zespołu opracowującego **system biobankowania i analiz molekularnych w celu diagnozowania i leczenia raka płuc (projekt MOBIT)**. Wykorzystaliśmy zaawansowane techniki, takie jak NGS, profilowanie miRNA, metabolomikę, proteomikę oraz obrazowanie PET/MRI. W publikacji (4B) szczegółowo opisaliśmy projektowanie oraz przebieg pracy nad projektem, a także przewidywane korzyści dla medycyny precyzyjnej w onkologii. Wnioski płynące z publikacji wskazują, że projekt MOBIT stanowi innowacyjne i zintegrowane podejście do identyfikacji nowych biomarkerów i molekularnych mechanizmów raka płuc, wykorzystując technologie o dużej przepustowości i zaawansowane techniki obrazowania. Celem projektu była poprawa diagnozy, prognozy i terapii pacjentów z rakiem płuc, poprzez opracowanie kompleksowego i spersonalizowanego profilu molekularnego raka. Ponadto, projekt miał pełnić rolę wzorca dla biobankowania i analiz molekularnych w przypadku innych typów nowotworów i chorób nienowotworowych.

Kolejnym etapem analiz, wykraczającym poza projekt MOBIT, było **opracowanie i zweryfikowanie procedur kontroli jakości dedykowanych dla próbek surowicy/plazmy oraz tkanki, dostosowanych do wysokoprzepustowych badań translacyjnych opartych na podejściu multiomics (5B)**. Wykorzystane w badaniu biopróbki i dane pochodziły od pacjentów onkologicznych z polskich klinik, gromadzonych w ściśle standaryzowanych warunkach. Procedury kontroli jakości obejmowały różne etapy, takie jak monitorowanie hemolizy, kontrola ekstrakcji RNA, ocena jakości biblioteki cDNA, oraz weryfikacja surowych danych NGS.

Potwierdziliśmy skuteczność i niezawodność proponowanych procedur kontroli jakości, gwarantując dostarczenie biopróbek o wysokiej jakości, odpowiedniej do badań -omicznych. Procedury te charakteryzowały się wysoką czułością i specyficzością w identyfikacji oraz wykluczaniu próbek dotkniętych hemolizą, degradacją RNA czy innymi czynnikami, które mogłyby zagrażać jakości i integralności próbek. Dodatkowo, procedury te oferowały możliwość dostosowania do zróżnicowanych umiejętności i potrzeb różnych jednostek biobankujących.

Wnioski płynące z naszych analiz wskazują, że zastosowanie kompleksowych procedur kontroli jakości dostosowanych do analiz -omicznych może ułatwić prowadzenie rozległych badań w różnych dziedzinach medycyny, przyczynić się do postępu w badaniach i obniżenia ich kosztów oraz poprawić wyniki leczenia pacjentów **(5B)**. Podkreśliliśmy również kluczową rolę biobanków jako istotnej infrastruktury dla wysokoprzepustowych badań translacyjnych oraz potrzebę standaryzacji praktyk i współpracy między biobankami, badaczami a przemysłem. Wkład naszych analiz do dziedziny biobankowania polega na dostarczeniu badaczom skutecznego narzędzia do zapewnienia jakości biopróbek w badaniach wysokoprzepustowych, szczególnie tam, gdzie obecne wytyczne są ograniczone lub niepełne. W publikacji **(5B)** jestem jednym z dwóch **autorów korespondencyjnych**.

- (4B)** Niklinski, J.; Kretowski, A.; Moniuszko, M.; Reszec, J.; Michalska-Falkowska, A.; Niemira, M.; Ciborowski, M.; Charkiewicz, R.; Jurgilewicz, D.; Kozłowski, M.; Ramlau R.; Piwkowski C.; Kwasniewski M.; Kaczmarek M.; Ciereszko A.; Wasniewski T.; Mroz R.; Naumnik W.; Sierko E.; Paczkowska M.; Kisluk J.; **Sulewska A.**; et al. Systematic biobanking, novel imaging techniques, and advanced molecular analysis for precise tumor diagnosis and therapy: The Polish MOBIT project. *Adv. Med. Sci.* **2017**, *62*, 405–413, doi:10.1016/j.advms.2017.05.002.
- (5B)** Michalska-Falkowska, A.; Niklinski, J.; Juhl, H.; **Sulewska, A.**; Kisluk, J.; Charkiewicz, R.; Ciborowski, M.; Ramlau, R.; Gryczka, R.; Piwkowski, C.; et al. Applied Molecular-Based Quality Control of Biobanked Samples for Multi-Omics Approach. *Cancers (Basel)* **2023**, *15*, 3742, doi:10.3390/cancers15143742.

Współpraca z innymi jednostkami zaowocowała pięcioma niezwiązanymi tematycznie publikacjami. Uczestniczyłam w badaniach **wartości prognostycznej VEGF-C, VEGF-D, receptora VEGF-3 (VEGFR-3) oraz podoplaniny (PDPN) w raku przełyku (6B)**. Stwierdziliśmy, że VEGF-C, PDPN, VEGF-D i VEGFR-3 ulegały nadekspresji, odpowiednio w 52,4%, 52,4%, 32,1% i 51,2% przypadków. Korelacja między ekspresją VEGF-C i PDPN a przerzutami do węzłów chłonnych, głębokością nacieku guza oraz stopniem zaawansowania nowotworu była istotna statystycznie ( $P < 0,05$ ). Analiza regresji logistycznej wykazała, że wielkość guza ( $P = 0,001$ ), głębokość nacieku guza ( $P = 0,002$ ) oraz ekspresja PDPN ( $P = 0,022$ ) były istotnymi predyktorami regionalnych przerzutów do węzłów chłonnych. Jedno- i wieloczynnikowa analiza przeżycia wykazała, że głębokość nacieku guza, przerzuty do węzłów chłonnych, stopień histologiczny, stopień zaawansowania nowotworu, wielkość guza a także ekspresja VEGF-C i PDPN były istotnymi

niezależnymi czynnikami prognostycznymi dla całkowitego czasu przeżycia. Analiza wieloczynnikowa dowiodła, że wielkość guza ( $P=0,049$ ), pozostały guz ( $P<0,001$ ) oraz ekspresja *PDPN* ( $P=0,02$ ) były niezależnymi czynnikami niekorzystnego całkowitego przeżycia. Badania sugerują, że ekspresja *PDPN* może być predyktorem regionalnych przerzutów do węzłów chłonnych, a *VEGF-C* i *PDPN* mogą być istotnymi czynnikami prognostycznymi u pacjentów po chirurgicznym usunięciu guza.

Następnie, brałam udział w badaniach dotyczących ***gęstości i dystrybucji polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) hormonu anty-Mullerian (AMH) oraz receptorów AMHRII u pacjentów z kryptorchizmem (7B)***. Dodatkowo, ocenialiśmy zaburzenia hormonalne potencjalne związane z niezstąpionymi jądrami poprzez analizę poziomów AMH, czynnika podobnego do insuliny 3 (*INSL3*) i inhibiny B. Nasze wyniki nie wykazały istotnych statystycznie różnic w poziomach tych hormonów między grupą z kryptorchizmem a grupą kontrolną. Wszystkie przypadki mutacji homozygotycznych i heterozygotycznych IVS 5-6 C>T były powiązane z mutacjami homozygotycznymi i heterozygotycznymi IVS 10+77 A>G oraz 482 A>G. W większości przypadków wszystkich czterech polimorfizmów genotyp homozygotyczny recesywny był związany z kryptorchizmem. Jednakże, z uwagi na niewielką liczbę pacjentów w badaniu, nie można było wyciągnąć definitywnych wniosków. Nasze wyniki sugerują, że genotypy AMHRII -482 A>G, AMHRII IVS 10+77 A>G, AMHRII IVS 5-6 C>T oraz AMH Ile49Ser mogą dominować u chłopców z kryptorchizmem.

Kolejny obszar badań obejmował udział w ***ustalaniu molekularnych podstaw oporności na kolistynę u sześciu szczepów pozajelitowych Escherichia coli (8B)***. Wykorzystując technologie sekwencjonowania krótkiego i długiego fragmentu oraz hybrydowy montaż odczytów Unicycler, dokonaliśmy kompletnego odtworzenia struktury chromosomów bakteryjnych i plazmidów. Dodatkowo, przeprowadziliśmy test elektrotransformacji w celu potwierdzenia wpływu plazmidu IncX4 na fenotyp oporności na kolistynę u klinicznych szczepów *E. coli*. Stwierdziliśmy, że sześć szczepów pozajelitowych *E. coli* produkowało *mcr-1.1* oraz posiadało szereg czynników zjadliwości. Gen kodujący transferazę pEtN, *mcr-1.1*, został zlokalizowany w plazmidzie IncX4 o długości 33,3 kbp, nazwanym pMUB-MCR, w sąsiedztwie genu kodującego fosfatazę lipidów związanych z błoną typu PAP2. Nasze wyniki wskazują, że plazmidy IncX4 zawierające *mcr* są coraz bardziej rozpowszechnione wśród szczepów *E. coli*, co czyni je "epidemicznymi" plazmidami. Są one odpowiedzialne za przenoszenie determinantów oporności na kolistynę między różnymi klonami *E. coli* oraz krążenie między środowiskiem naturalnym, przemysłowym i klinicznym.

Uczestniczyłam również w badaniach mających na celu **zidentyfikowanie obiektywnych parametrów do oceny zaburzeń równowagi chodu u osób ze stwardnieniem rozsianym (SM) i skorelowanie ich ze wskaźnikiem masy ciała (BMI) i wiekiem (9B)**. Przebadaliśmy pacjentów ze stwardnieniem rozsianym i zdrowe osoby, oceniając zadania statyczne i dynamiczne. Stwierdziliśmy znaczące różnice w obciążeniu stóp i wydajności chodu między pacjentami ze stwardnieniem rozsianym a grupą kontrolną. W warunkach statycznych BMI korelowało z niektórymi parametrami stóp u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym, podczas gdy wiek korelował z maksymalnym obciążeniem stopy. W warunkach dynamicznych wiek słabo korelował z kątem nachylenia stopy. Nasze wyniki sugerują, że BMI i wiek powinny być brane pod uwagę przy ocenie zaburzeń równowagi chodu u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.

We współpracy z Kliniką Okulistyki UMB dokonałam **przeglądu piśmiennictwa dotyczącego roli miRNA w jaskrze**, skupiając się na potencjale tych cząsteczek jako biomarkerów, zrozumieniu mechanizmów choroby i określeniu celów terapeutycznych **(10B)**. Omówiliśmy również ograniczenia badań, podkreślając konieczność standaryzacji protokołów badawczych i współpracy interdyscyplinarnej. Mimo wyzwań, badania nad miRNA w jaskrze przynoszą cenne spostrzeżenia i potencjał wczesnego wykrywania oraz spersonalizowanego leczenia. Jednocześnie, uważamy, że dalsze badania oraz walidacja uzyskanych wyników na niezależnej grupie chorych są niezbędne do pełnego zrozumienia znaczenia miRNA w jaskrze. W przedstawionej pracy jestem autorem o statucie „**equal contribution**”. Aktualnie opracowujemy wyniki sekwencjonowania miRNA wyizolowanego z płynu komorowego chorych na jaskrę, które zaprezentujemy we wspólnej publikacji.

- (6B)** Juchniewicz, A.; Niklińska, W.; Kowalczyk, O.; Laudański, W.; **Sulewska, A.**; Dziegielewski, P.; Milewski, R.; Naumnik, W.; Kozłowski, M.; Nikliński, J. Prognostic value of vascular endothelial growth factor-C and podoplanin mRNA expression in esophageal cancer. *Oncol. Lett.* **2015**, *10*, 3668–3674, doi:10.3892/ol.2015.3824.
- (7B)** Komarowska, M.D.; Milewski, R.; Charkiewicz, R.; Matuszczak, E.; **Sulewska, A.**; Zelazowska-Rutkowska, B.; Hermanowicz, J.; Nikliński, J.; Debek, W.; Hermanowicz, A. Are anti-Müllerian hormone and its receptor polymorphism associated with the hormonal condition of undescended testes? *Adv. Med. Sci.* **2016**, *61*, 288–292, doi:10.1016/j.advms.2016.03.004.
- (8B)** Majewski, P.; Gutowska, A.; Smith, D.G.E.; Hauschild, T.; Majewska, P.; Hryszko, T.; Gizycka, D.; Kedra, B.; Kochanowicz, J.; Glowński, J.; Drewnowska, J.; Swiecicka, I.; Sacha P.T.; Wieczorek P.; Iwaniuk, D.; **Sulewska A.**; Radosław Charkiewicz R.; et al. Plasmid Mediated mcr-1.1 Colistin-Resistance in Clinical Extraintestinal Escherichia coli Strains Isolated in Poland. *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 547020, doi:10.3389/fmicb.2021.547020.
- (9B)** Dziecioł-Anikiej, Z.; Malinowska, P.; Daunoraviciene, K.; Pauk, J.; Kułakowska, A.; Dardzińska-Głębocka, A.; **Sulewska, A.** Quantitative parameters of gait imbalance in multiple sclerosis patients. *Acta Bioeng. Biomech.* **2022**, *24*, 15–21.
- (10B)** Dobrzycka, M. †; **Sulewska, A.†**; Biecek, P.; Charkiewicz, R.; Karabowicz, P.; Charkiewicz, A.; Golaszewska, K.; Milewska, P.; Michalska-Falkowska, A.; Nowak, K.; et al. miRNA Studies in

Glaucoma: A Comprehensive Review of Current Knowledge and Future Perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 24(19):14699, doi:3390/ijms241914699.

### 5.2.1. Informacja o odbytych stażach w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru

#### 02/06-30/06/ 2012 (29 dni)

Postdoctoral Monthly Training at the **Department of Experimental Surgery**, Medical Faculty Mannheim, University of Heidelberg, and the **Department Molecular Oncology of Solid Tumors, DKFZ, Germany**. Opiekun: prof. dr med. Heike Allgayer.

W trakcie stażu zdobyłam wiedzę praktyczną w zakresie: hodowli komórkowych, transfekcji linii komórkowych, izolacji całkowitego RNA oraz microRNA, Western Blot, pomiaru białka przy pomocy BCA, projektowania primerów do reakcji PCR, mutagenyzy ukierunkowanej, transformacji bakterii, selekcji kolonii, profilowania genowego, metylacji DNA, zasad profilowania genowego i miRNA, zasad biobankowania tkanek.

#### 06/10-02/11/2013 (28 dni)

Postdoctoral Monthly Training at the **Department of Experimental Surgery**, Medical Faculty Mannheim, University of Heidelberg, and the **Department Molecular Oncology of Solid Tumors, DKFZ, Germany**. Opiekun: prof. dr med. Heike Allgayer.

W trakcie stażu zdobyłam i pogłębiłam wiedzę praktyczną w zakresie: hodowli komórkowych, transfekcji linii komórkowych, izolacji RNA oraz białek, Western Blot, testu lucyferazy, badań inwazji i migracji komórek przez matrygel, mutagenyzy ukierunkowanej, Chicken Chorioallantoic Membrane (CAM) assay.

#### 26/05-13/06/2014 (19 dni)

**Practical application of molecular methods for viruses, fungi and parasite detection.** Training at **Department of Virology, Bacteriology and Mycology** University Hospital Henri Mondor 51 avenue du Mal de Lattre de Tassigny, Creteil, **France**. Opiekun. Dr Stephane Chevaliez.

W trakcie stażu zdobyłam wiedzę praktyczną dotyczącą molekularnych metod wykrywania wirusów (*CMV*, *EBV*, *HBV*, *HCV*, *BKV*), grzybów (*Candida*, *Aspergillus*) oraz pasożytów (*Toxoplasma gondii*).

**Rezultatem staży odbytych w Niemczech** było opublikowanie **trzech prac naukowych**, we **współpracy z naukowcami z DKFZ**, w tym pracy poglądowej, którą włączyłam jako dodatek do osiągnięcia naukowego **(4)**.

- (4)** Sulewska, A.; Pilz, L.; Manegold, C.; Ramlau, R.; Charkiewicz, R.; Niklinski, J. A Systematic Review of Progress toward Unlocking the Power of Epigenetics in NSCLC: Latest Updates and Perspectives. *Cells* **2023**, *12*, 905, doi:10.3390/cells12060905

- (3B) Charkiewicz, R.; Pilz, L.; **Sulewska, A.**; Kozłowski, M.; Niklińska, W.; Moniuszko, M.; Reszec, J.; Manegold, C.; Nikliński, J. Validation for histology-driven diagnosis in non-small cell lung cancer using hsa-miR-205 and hsa-miR-21 expression by two different normalization strategies. *Int. J. Cancer* **2016**, *138*, 689–697, doi:10.1002/ijc.29816.
- (4B) Nikliński, J.; Kretowski, A.; Moniuszko, M.; Reszec, J.; Michalska-Falkowska, A.; Niemira, M.; Ciborowski, M.; Charkiewicz, R.; Jurgilewicz, D.; Kozłowski, M.; Ramlau R.; Piwkowski C.; Kwasniewski M.; Kaczmarek M.; Ciereszko A.; Wasniewski T.; Mroz R.; Naumnik W.; Sierko E.; Paczkowska M.; Kisluk J.; **Sulewska A.**; Cybulski, A.; Mariak, Z.; Kedra, B.; Szamatowicz, J.; Kurzawa, P.; Minarowski, L.; Charkiewicz, A.E.; Mroczko, B.; Malyszko, J.; Manegold, C.; Pilz, L.; Allgayer, H.; Abba, M.; Juhl, H.; Koch, F.; MOBIT Study Group. Systematic biobanking, novel imaging techniques, and advanced molecular analysis for precise tumor diagnosis and therapy: The Polish MOBIT project. *Adv. Med. Sci.* **2017**, *62*, 405–413, doi:10.1016/j.advms.2017.05.002.

### 5.2.2. Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów

#### 5.2.2.1. Granty badawcze zrealizowane

- 2018-2019**     **2018/02/X/NZ1/01943 - KIEROWNIK PROJEKTU: dr Anetta Sulewska**- Ocena ekspresji długich niekodujących RNA (lncRNA) we wczesnych stadiach zaawansowania gruczolakoraka płuca (AC). Działanie naukowe, finansowane ze środków **Narodowego Centrum Nauki** w konkursie **MINIATURA-2**, realizowane było przez okres 12 miesięcy od 04.12.2018 r. do 03.12.2019 r.
- 2010-2013**     **N N403 577 938** - prof. dr hab. Jerzy Ludański - Ocena prognostyczna profilu ekspresji markerów limfangiogenezy w niedrobnokomórkowym raku płuca leczonym operacyjnie - finansowanym przez **MNiSW** w ramach 38 konkursu na finansowanie projektów badawczych. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2010-2013**     **N N401 378 539** - dr hab. Wiesława Ewa Niklińska - Ocena potencjału przerzutowania w guzach pierwotnych niedrobnokomórkowego raka płuca za pomocą profilowania genetycznego -finansowanym przez **MNiSW** w ramach 39 konkursu na finansowanie projektów badawczych. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2011-2014**     **N N403 120 440** - prof. dr hab. Jacek Nikliński - Ocena ekspresji wybranych microRNA u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca leczonych operacyjnie - finansowanym przez **MNiSW** w ramach 40 konkursu na finansowanie projektów badawczych. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2015-2020**     **STRATEGMED2/266484/2/NCBR/2015-** prof. dr hab. Jacek Nikliński - Stworzenie referencyjnego modelu Diagnostyki Personalizowanej Guzów Nowotworowych w oparciu o analizę heterogenności guza z wykorzystaniem biomarkerów genomowych, transkryptomu i metabolomu oraz badań obrazowych PET/MRI jako narzędzia do wdrażania i monitorowania terapii zindywidualizowanej, **akronim: MOBIT** - finansowanym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2021-2023**     **POIR.01.01.01-00-1232/20-00** – prof. dr hab. Jacek Nikliński - Opracowanie i walidacja kliniczna nowego hybrydowego testu molekularnego (SARS-HYB45) do bezpośredniej i szybkiej diagnostyki SARS-CoV-2: aplikacja laboratoryjna i „point-of-care” (POC) - finansowanym przez **Narodowe Centrum Badań i**

**Rozwoju w ramach Poddziałania 1.1.1 Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020**, przy współfinansowaniu ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego. **BADACZ**

#### 5.2.2.2. **Granty badawcze nie przyjęte do realizacji**

**2011** Id: 148314 **KIEROWNIK PROJEKTU: dr Anetta Sulewska** - Ocena profilu metylacji DNA we wczesnych stadiach zaawansowania niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) u chorych leczonych operacyjnie – SONATA

#### 5.2.2.3. **Projekty badawczo-rozwojowych zrealizowane**

**2021-2022** **praca przedwdrożeniowa** – dr Magdalena Knapp - Nowy test diagnostyczny oparty o 5-genową sygnaturę miRNA do diagnozowania różnicowego podtypów histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca. Różnicowanie molekularne raków płaskonabłonkowych i niepłaskonabłonkowych (raki gruczolowe i raki wielkokomórkowe) – w ramach programu operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 „**Inkubator Innowacyjności 4.0**” realizowanego przez konsorcjum Instytut Innowacji Technologii Politechniki Białostockiej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku oraz Uniwersytet w Białymstoku. **BADACZ/WYKONAWCA**

#### 5.2.2.4. **Projekty dydaktyczno-badawcze w ramach dotacji projakościowej Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) zrealizowane**

**2013-2015** **15/KNOW/2013** - Anna Rusek - Badanie molekularnych mechanizmów aktywności cząsteczek microRNA zaangażowanych w proces nowotworzenia i metastazy na przykładzie wybranych linii komórkowych nowotworu jelita. **WSPÓŁWYKONAWCA**

**2013-2015** **18/KNOW/2013** - Dalia Pakalniskyte - Molecular biomarkers of prognostic and predictive value in lung cancer: miRNA expression profile using microarray technology in patients with early stage NSCLC – preliminary study. **WSPÓŁWYKONAWCA**

#### 5.2.2.5. **Projekty badawcze w ramach działalności statutowej UMB zrealizowane**

**2011** 113-38691L – **KIEROWNIK PROJEKTU: dr Anetta Sulewska** - Ocena metylacji genów supresorowych APC i RASSF1A we wczesnych stadiach zaawansowania niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC)

**2018** N/ST/ZB/18/004/1184 - **KIEROWNIK PROJEKTU: dr Anetta Sulewska** - Ocena ekspresji długich niekodujących RNA (lncRNA) we wczesnych stadiach zaawansowania raka płaskonabłonkowego płuca (LUSC) u chorych leczonych operacyjnie

**2009** 3-84963L - dr Oksana Kowalczyk - Ocena ekspresji mRNA wybranych chemokin u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**

**2009** 3-84964L - prof. dr hab. Jacek Nikliński - Ocena częstości występowania amplifikacji genu MET u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**

- 2009** 3-84965L - prof. dr hab. Jacek Nikliński - Ocena statusu mutacyjnego wybranych składników drogi sygnalizacyjnej RAS/RAF/MEK/ERK1/2 u chorych na gruczolaka płuca z regionu północno-wschodniej Polski. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2012** 124-84558L - dr hab. Radosław Charkiewicz - Podoplanina jako potencjalny marker prognostyczny we wczesnych stadiach zaawansowania niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2012** 123-84663L - prof. dr hab. Jacek Nikliński - Ocena wartości klinicznej występowania genu fuzyjnego EML4-ALK u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) leczonych operacyjnie. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2016** N/ST/ZB/16/006/1184 - dr hab. Radosław Charkiewicz - Ocena ekspresji wybranych microRNA w surowicy krwi chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2016** N/ST/ZB/16/002/1184 - prof. dr hab. Jacek Nikliński - Analiza ekspresji microRNA w surowicy krwi chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2017** N/ST/ZB/17/007/1184 - dr hab. Radosław Charkiewicz - Molekularna metoda klasyfikacji podtypów niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2017** N/ST/ZB/17/002/1119 - prof. dr hab. Wiesława Niklińska - Analiza ekspresji wybranych genów jako nowe narzędzie klasyfikacji podtypów histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2017** N/ST/ZB/17/001/1147 - dr hab. Beata Konarzewska - Porównanie wpływu leczenia farmakologicznego i grupowego psychoterapeutycznego, prowadzonego w nurcie psychodynamicznym na poziom metylacji genu BDNF wśród pacjentów z rozpoznaniem zaburzeń nerwicowych. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2019** SUB/1/DN/19/001/1119 - prof. dr hab. Wiesława Niklińska - Analiza mutacji onkogennych w osoczu krwi u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2019** SUB/1/DN/20/001/1184 - prof. dr hab. Jacek Nikliński - Profilowanie miRNA w moczu u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2020** SUB/1/DN/20/001/1119 - prof. dr hab. Wiesława Niklińska - Ocena zaburzeń molekularnych genu MET na poziomie genomowym i transkryptomowym u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2020** SUB/1/DN/20/001/1184 - prof. dr hab. Jacek Nikliński - Profilowanie miRNA w moczu u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2022** SUB/1/DN/22/001/1184 - prof. dr hab. Jacek Nikliński - Zaawansowana analiza molekularna nowotworowych guzów litych przy wykorzystaniu multigenowych testów panelowych w technologii NGS. **WSPÓŁWYKONAWCA**



- 2022** SUB/1/DN/22/002/1184 - mgr Patrycja Aleksandra Buktaho - Identyfikacja interakcji istotnych molekularnie wariantów sekwencyjnych o charakterze somatycznym u pacjentek z niedziedzicznym rakiem piersi oraz rakiem jajnika przy wykorzystaniu multigenowych testów panelowych w technologii NGS. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2023** B.SUB.23.507 - dr hab. Joanna Konopińska, Ocena ekspresji panelu niekodujących cząsteczek RNA u pacjentów z różnymi schorzeniami gałki ocznej. **WSPÓŁWYKONAWCA**

#### 5.2.2.6. Projekty badawcze w ramach działalności statutowej UMB w trakcie realizacji

- 2024** B.SUB.24.512 - dr hab. Radosław Charkiewicz, Profilowanie ekspresji wybranych miRNA w diagnostyce różnicowej podtypów niedrobnokomórkowego raka płuca jako istotny element medycyny personalizowanej. **WSPÓŁWYKONAWCA**
- 2024** B.SUB.24.573 - prof. dr hab. Jacek Nikliński, Identyfikacja zmian o podłożu genetyczno-molekularnym w guzach litych - ocena ekspresji genów zaangażowanych w pierwotną karcynogenezę oraz wtórną progresję u pacjentów z rakiem jelita grubego oraz rakiem płuc. **WSPÓŁWYKONAWCA**

#### 5.2.3. Współprace naukowe (krajowe i zagraniczne)

Współprace wielośrodkowe i multidyscyplinarne, których efektem są **wspólne publikacje naukowe oraz jeden patent** (numer publikacji jest umieszczony w nawiasie zwykłym i jest tożsamy z numerem nadanym w autoreferacie):

#### Współpraca międzynarodowa

- **German Cancer Research Center (DKFZ), Niemcy. Publikacje: (4)(3B)(4B)**
- **Szentagothai Research Center, Genomic and Bioinformatic Core Facility, Węgry. Publikacje: (2)(3) oraz patent nr 241607**
- **Turku Bioscience Centre, University of Turku & Åbo Akademi University, Finlandia. Publikacje: (2)(3)**
- **Interuniversity Institute for Biostatistics and Statistical Bioinformatics, Hasselt University, Belgia. Publikacja: (2B)**
- **Indivumed Services, Hamburg, Niemcy. Publikacje: (5B)**
- **International Biobanking and Education, Medical University of Graz, Austria. Publikacja: (5B)**

#### Publikacje:

- (2)** Charkiewicz, R. \*†; Sulewska, A. †; Charkiewicz, A.; Gyenesei, A.; Galik, B.; Ramlau, R.; Piwkowski, C.; Stec, R.; Biecek, P.; Karabowicz, P.; Michalska-Falkowska, A.; Miltyk, W.; Niklinski, J\*. miRNA-Seq Tissue Diagnostic Signature: A Novel Model for NSCLC Subtyping. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 13318, doi:10.3390/ijms241713318.
- (3)** Charkiewicz, R. \*†; Sulewska, A.†; Mroz, R.; Charkiewicz, A.; Naumnik, W.; Kraska, M.; Gyenesei, A.; Galik, B.; Junttila, S.; Miskiewicz, B.; Stec, R.; Karabowicz, P.; Zawada, M.; Miltyk, W.; Niklinski,

J\*. Serum Insights: Leveraging the Power of miRNA Profiling as an Early Diagnostic Tool for Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)* **2023**, *15*, 4910, doi:10.3390/cancers15204910.

- (4) **Sulewska, A.\***; Pilz, L.; Manegold, C.; Ramlau, R.; Charkiewicz, R.; Niklinski, J\*. A Systematic Review of Progress toward Unlocking the Power of Epigenetics in NSCLC: Latest Updates and Perspectives. *Cells* **2023**, *12*, 905, doi:10.3390/cells12060905.
- (2B) Charkiewicz, R.; Niklinski, J.; Claesen, J.; **Sulewska, A.**; Kozłowski, M.; Michalska-Falkowska, A.; Reszec, J.; Moniuszko, M.; Naumnik, W.; Niklinska, W. Gene Expression Signature Differentiates Histology But Not Progression Status of Early-Stage NSCLC. *Transl. Oncol.* **2017**, *10*, 450–458, doi:10.1016/j.tranon.2017.01.015.
- (3B) Charkiewicz, R.; Pilz, L.; **Sulewska, A.**; Kozłowski, M.; Niklinska, W.; Moniuszko, M.; Reszec, J.; Manegold, C.; Niklinski, J. Validation for histology-driven diagnosis in non-small cell lung cancer using hsa-miR-205 and hsa-miR-21 expression by two different normalization strategies. *Int. J. Cancer* **2016**, *138*, 689–697, doi:10.1002/ijc.29816.
- (4B) Niklinski, J.; Kretowski, A.; Moniuszko, M.; Reszec, J.; Michalska-Falkowska, A.; Niemira, M.; Ciborowski, M.; Charkiewicz, R.; Jurgilewicz, D.; Kozłowski, M.; Ramlau R.; Piwkowski C.; Kwasniewski M.; Kaczmarek M.; Ciereszko A.; Wasniewski T.; Mroz R.; Naumnik W.; Sierko E.; Paczkowska M.; Kisluk J.; **Sulewska A.**; et al. Systematic biobanking, novel imaging techniques, and advanced molecular analysis for precise tumor diagnosis and therapy: The Polish MOBIT project. *Adv. Med. Sci.* **2017**, *62*, 405–413, doi:10.1016/j.advms.2017.05.002.
- (5B) Michalska-Falkowska, A.; Niklinski, J.; Juhl, H.; **Sulewska, A.**; Kisluk, J.; Charkiewicz, R.; Ciborowski, M.; Ramlau, R.; Gryczka, R.; Piwkowski, C.; et al. Applied Molecular-Based Quality Control of Biobanked Samples for Multi-Omics Approach. *Cancers (Basel)* **2023**, *15*, 3742, doi:10.3390/cancers15143742.
- 2002 patent nr 241607:** „Panel biomarkerów miRNA do diagnozowania różnicowego podtypów histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca”. Dzięki zastosowaniu technologii NGS oraz narzędzi bioinformatycznych wytypowaliśmy biomarkery miRNA do diagnozowania podtypów niedrobnokomórkowego raka płuc. Zidentyfikowane biomarkery miRNA stanowią precyzyjne narzędzie do różnicowania dwóch głównych podtypów raka (SCC vs. ADC), co wspomaga właściwe rozpoznanie, kluczowe dla terapii spersonalizowanych. **WSPÓŁAUTOR**

### Współpraca krajowa poza jednostką macierzystą

- Wydział Matematyki i Nauk Informacyjnych Politechniki Warszawskiej. **Publikacje: (1)(2)(5B)**
- Katedra i Klinika Onkologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. **Publikacje: (1)(4)(4B)**
- Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu. **Publikacje: (1)(2)(5B)(4B)**
- Klinika Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny. **Publikacje: (2)(3)(5B)**

### Publikacje:

- (1) **Sulewska, A. \*†**; Niklinski, J.; Charkiewicz, R. †; Karabowicz, P.; Biecek, P.; Baniecki, H.; Kowalczyk, O.; Kozłowski, M.; Modzelewska, P.; Majewski, P.; Tryniszewska, E.; Reszec J.; Dzieciol-Anikiej, Z.; Piwkowski, C.; Gryczka, R.; Ramlau R. A Signature of 14 Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) as a Step towards Precision Diagnosis for NSCLC. *Cancers (Basel)* **2022**, *14*, 439, doi:10.3390/cancers14020439.

- (2) Charkiewicz, R. \*†; **Sulewska, A.** †; Charkiewicz, A.; Gyenesei, A.; Galik, B.; Ramlau, R.; Piwkowski, C.; Stec, R.; Biecek, P.; Karabowicz, P.; Michalska-Falkowska, A.; Miltyk, W.; Niklinski, J\*. miRNA-Seq Tissue Diagnostic Signature: A Novel Model for NSCLC Subtyping. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 13318, doi:10.3390/ijms241713318.
- (3) Charkiewicz, R. \*†; **Sulewska, A.** †; Mroz, R.; Charkiewicz, A.; Naumnik, W.; Kraska, M.; Gyenesei, A.; Galik, B.; Junttila, S.; Miskiewicz, B.; Stec, R.; Karabowicz, P.; Zawada, M.; Miltyk, W.; Niklinski, J\*. Serum Insights: Leveraging the Power of miRNA Profiling as an Early Diagnostic Tool for Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)* **2023**, *15*, 4910, doi:10.3390/cancers15204910.
- (4) **Sulewska, A.\***; Pilz, L.; Manegold, C.; Ramlau, R.; Charkiewicz, R.; Niklinski, J\*. A Systematic Review of Progress toward Unlocking the Power of Epigenetics in NSCLC: Latest Updates and Perspectives. *Cells* **2023**, *12*, 905, doi:10.3390/cells12060905.
- (2B) Charkiewicz, R.; Niklinski, J.; Claesen, J.; **Sulewska, A.**; Kozłowski, M.; Michalska-Falkowska, A.; Reszec, J.; Moniuszko, M.; Naumnik, W.; Niklinska, W. Gene Expression Signature Differentiates Histology But Not Progression Status of Early-Stage NSCLC. *Transl. Oncol.* **2017**, *10*, 450–458, doi:10.1016/j.tranon.2017.01.015.
- (4B) Niklinski, J.; Kretowski, A.; Moniuszko, M.; Reszec, J.; Michalska-Falkowska, A.; Niemira, M.; Ciborowski, M.; Charkiewicz, R.; Jurgilewicz, D.; Kozłowski, M.; Ramlau R.; Piwkowski C.; Kwasniewski M.; Kaczmarek M.; Ciereszko A.; Wasniewski T.; Mroz R.; Naumnik W.; Sierko E.; Paczkowska M.; Kisluk J.; **Sulewska A.**; et al. Systematic biobanking, novel imaging techniques, and advanced molecular analysis for precise tumor diagnosis and therapy: The Polish MOBIT project. *Adv. Med. Sci.* **2017**, *62*, 405–413, doi:10.1016/j.advms.2017.05.002.
- (5B) Michalska-Falkowska, A.; Niklinski, J.; Juhl, H.; **Sulewska, A.**; Kisluk, J.; Charkiewicz, R.; Ciborowski, M.; Ramlau, R.; Gryczka, R.; Piwkowski, C.; et al. Applied Molecular-Based Quality Control of Biobanked Samples for Multi-Omics Approach. *Cancers (Basel)* **2023**, *15*, 3742, doi:10.3390/cancers15143742.

#### 5.2.4. Informacja o krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych

1. **Sulewska A.** Deciphering long non-coding RNAs in non-small cell lung cancer: the dark matter matters. 12th European Regional Conference on Thoracic Oncology: What we really can in COVID-19 pandemic? Vilnius, Lithuania, 18th of June 2021. (*zagraniczne streszczenie zjazdowe –prezentacja ustna*)
2. **Sulewska A**, Pankiewicz W, Naumnik W, Nikliński J, Kozłowski M, Kowalewska J, Chyczewski L. Loss of p16 protein and hypermethylation of p16 gene in bronchiolar columnar cell dysplasia. *Virchows Archiv.* 2010: 457, 2, s. 165. Intercongress Meeting of the European Society of Pathology, Promoting excellence in cellular pathology, Kraków/Poland 31 August - 3 September 2010. (*polskie streszczenie zjazdowe-prezentacja ustna*)
3. Golec P, Pancewicz J, **Sulewska A**, Charkiewicz R, Eljaszewicz A, Niklińska W, Kozłowski M. Ocena ekspresji ligandów szlaków niekanonicznych WNTβ-kateniny w niedrobnokomórkowym raku płuca (NSCLC). XI Kongres Polskiego Towarzystwa Kardio-Torakochirurgów, Bydgoszcz, 1-3 czerwca 2023. (*polskie streszczenie zjazdowe*)
4. Bossowski A, Sawicka B, **Sulewska A**, Borysewicz-Sańczyk H, Żelazowska-Rutkowska B. Analysis of miR-15a-5p, miR-126-3p and miR-142-5p levels in blood of children and adolescents with thyroid diseases. *Endokrynologia Polska* 2022 : 73, Suppl. A, s. 21. (*polskie streszczenie zjazdowe*)
- 5.

- Sawicka B, **Sulewska A**, Borysewicz-Sańczyk H, Żelazowska-Rutkowska B, Bossowski A. Analysis of miR-15a-5p, miR-126-3p, miR-142-5p and miR-150-5p levels in blood of children and adolescents with thyroid diseases. *Hormone Research in Paediatrics* 2022 : 95, Suppl. 2, s. 404. **(zagraniczne streszczenie zjazdowe)**
- 6.**
- Sawicka B, **Sulewska A**, Kulczyńska-Przybik A, Bossowski F, Dulewicz M, Borysewicz-Sańczyk H, Mroczo B, Nikliński J, Bossowski A. Usefulness of evaluation of selected blood microRNAs in children and adolescent with thyroid diseases. X Zjazd i XXVI Sympozjum Polskiego Towarzystwa Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej. Gdańsk, 20-22 października 2022. Program i materiały z sympozjum. s. 92. **(polskie streszczenie zjazdowe)**
- 7.**
- Golec P, Pancewicz J, Charkiewicz R, **Sulewska A**, Kozłowski M. The evaluation of non-canonical WNT/ $\beta$ -catenin ligands expression status in non-small cell lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology* 2019 : 14, 10 (Suppl), s. S964. **(zagraniczne streszczenie zjazdowe)**
- 8.**
- Charkiewicz R, Burzykowski T, Claesen J, Peppe D, **Sulewska A**, Kozłowski M, Reszeć J, Moniuszko M, Niklińska W, Nikliński J. Profilowanie miRnomowe jako nowy obszar w diagnostyce różnicowej podtypów histopatologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca. *Advances in Respiratory Medicine* 2018 : 86, supl. 4, s. 17-18. **(polskie streszczenie zjazdowe)**
- 9.**
- Charkiewicz R, Nikliński J, Claesen J, **Sulewska A**, Kozłowski M, Michalska-Falkowska A, Reszeć J, Moniuszko M, Naumnik W, Niklińska W. Sygnatura genowa jako nowe narzędzie klasyfikacji podtypów histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca. XI Konferencja Polskiej Grupy Raka Płuca, Warszawa 16-18 listopad 2017. **(polskie streszczenie zjazdowe)**
- 10.**
- Charkiewicz R, Kozłowski M, **Sulewska A**, Milewski R, Niklińska W, Nikliński J. Molecular subclassification of NSCLC based on hsa-mir-205 and hsa-mir-21 expression using real time PCR. *Translational Lung Cancer Research* 2014 : 3, 5, s. 325-326. **(zagraniczne streszczenie zjazdowe)**
- 11.**
- Niklińska W, Charkiewicz R, Kozłowski M, Milewski R, **Sulewska A**, Pancewicz-Wojtkiewicz J, Miąsko A, Chomczyk M. Molekularna diagnostyka różnicowa raka płaskonabłonkowego i gruczolakoraka płuca w oparciu o badania ekspresji miR-205 i miR-21 za pomocą techniki Real-Time PCR. XLVIII Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików "Od MAKRO do NANO. Nowe horyzonty i nowe możliwości w naukach podstawowych i klinicznych", Wisła, 3-6 września 2014. Program. Streszczenia. s. 19 [Abstr. IV.6.] **(polskie streszczenie zjazdowe)**
- 12.**
- Kozłowski M, Chyczewski L, Nikliński J, Milewski R, Dąbrowska K, **Sulewska A**, Laudański W, Garbowicz M, Laudański J. Clinical significance of intratumoral lymphatics, intratumoral and peritumoral lymphatic vessels invasion detected by D20-40 in patients with resected esophageal cancer. 20<sup>th</sup> European Conference on General Thoracic Surgery, European Society of Thoracic Surgeons, Essen - Germany, 10 - 13 June 2012 – Abstracts, s. 188-189. **(zagraniczne streszczenie zjazdowe)**
- 13.**
- Kozłowski M, Kowalczyk O, Mroczo B, **Sulewska A**, Dzięgielewski P, Laudański W, Szmitkowski M, Chyczewski L, Nikliński J, Laudański J. Kliniczne znaczenie surowiczych stężeń inhibitora metaloproteinazy 1 (sTIMP-1) i naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu A (sVEGF-A) u chorych na raka przełyku. *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska* 2010 : 7, supl. 1, s. S81. **(polskie streszczenie zjazdowe)**
- 14.**
- Zalewski G, **Sulewska A**, Wołczyński Sławomir, Chyczewski Lech. Is p. Asn680Ser polymorphism of follicle stimulating hormone receptor (FSHR) associated with regulation of FSHR gene expression? *Virchows Archiv* 2010 : 457, 2, s. 234-235. **(polskie streszczenie zjazdowe)**

### 5.2.5. Recenzje w czasopismach naukowych

- Molecular Diagnosis & Therapy IF=4,0 wg. JCR – 1 manuskrypt
- European Journal of Medical Research IF=4,2 wg. JCR – 1 manuskrypt
- Cancer Cell International IF=5,8 wg. JCR – 2 manuskrypty

### 5.2.6. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach

<b>2009-2018</b>	Członek zwyczajny Polskiego Towarzystwa Patologów, Oddział w Białymstoku
<b>2009-2016</b>	Członek zwyczajny Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików Oddział w Białymstoku
<b>2017-obecnie</b>	Przewodniczący Komisji Rewizyjnej Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików Oddział w Białymstoku

## 6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ

### 6.1. Działalność dydaktyczna

W ramach działalności dydaktycznej angażuję się, od 2000 roku, w prowadzenie zajęć z biologii molekularnej dla studentów farmacji, analityki medycznej i stomatologii (ćwiczenia, seminaria, wykłady). Prowadziłam również zajęcia w języku angielskim ze studentami **English Division** oraz uczestniczyłam w programach **KNOW i ImPRESS** realizowanych przez Uniwersytet Medyczny w Białymstoku. W programie pn.: „**Międzynarodowe, interdyscyplinarne studia doktoranckie w zakresie biologii medycznej oraz biostatystyki. Szkolenia w zakresie badań opartych na technologiach wielkoskalowych i biostatystyce oraz wsparcie kariery młodych naukowców poprzez mobilność międzynarodową i międzysektorową**”. Akronim: ImPRESS. Umowa nr: 3773/H2020/COFUND/2017/2 oraz umowa nr: 369363/PnH/2017 z późniejszymi zmianami, opracowywałam ćwiczenia w języku angielskim pn.: „**Learning techniques of molecular biology**” oraz byłam **pomocniczym opiekunem naukowym doktoranta Bence Galika**. W ramach programu KNOW (Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący) byłam współwykonawcą dwóch projektów dydaktyczno-badawczych **15/KNOW/2013 i 18/KNOW/2013** doktorantów: Anny Rusek i Dalii Pakalniskyte.

W dniu 14 września 2021 roku miałam przyjemność prowadzić **wykład „Mikromacierze - zasada metody oraz zastosowanie w diagnostyce chorób infekcyjnych”**, oraz **ćwiczenia „Izolacja kwasów nukleinowych (kolumnowa, magnetyczna)”** w ramach **kursu specjalizacyjnego z mikrobiologii** zatytułowanego „Metody niehodowlane (serologiczne i biologii molekularnej) w

diagnostyce mikrobiologicznej”. Ponadto, udzielałam pomocy przy realizacji części eksperymentalnej **trzech prac dyplomowych**. Były to: praca doktorska Grzegorza Łapucia pt. „Ekspresja wybranych genów w różnych typach histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca”, praca magisterska Patrycji Bukłaho pod tytułem „Ocena wartości diagnostycznej długich niekodujących RNA (lncRNA) u pacjentów z rakiem niedrobnokomórkowym płuca (NSCLC)”, oraz praca magisterska Magdaleny Ducher pt. „Ocena ekspresji wybranych microRNA u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca leczonych operacyjnie”.

### 6.1.1. Kursy i szkolenia

#### przed uzyskaniem stopnia doktora

- 27/11/2002** szkolenie z teorii dotyczącej metody podwójnego barwienia w immunohistochemii, standaryzacji badań w patologii i wykonywania testów DAKO EnVision Doublestain kit i interpretacji wyników. Zakład Patomorfologii. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego. Warszawa.
- 09/06-13/06/2003** Szkoła Letnia „Postępy Biologii Molekularnej”. Katedra Biochemii i Biotechnologii. Akademia Rolnicza w Poznaniu, Zakład Genetyki Człowieka PAN, Amersham Biosciences, Poznań.
- 22/06-25/06/2009** Letni Kurs Hodowli Komórek Zwierzęcych. Zakład Cytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa.
- 22/09/2009** warsztaty z zakresu użytkowania systemu LightCycler, Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. Bydgoszcz

#### po uzyskaniu stopnia doktora

- 05/06-11/06/2011** szkolenie z zakresu analizy kopii genów metodą FISH. Klinika Onkologii i Radioterapii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk.
- 24/06/2012** szkolenie „Wykorzystanie techniki FEP (Fluorescence End Point) w diagnostyce genetycznej mikroorganizmów. GeneSys, Wrocław.
- 09/10-10/10/2014** konferencja naukowo-szkoleniowa „Analiza DNA-Praktyka”, Poznań.
- 2018/2019** kurs języka angielskiego z elementami języka medycznego dla kadry dydaktycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w ramach projektu pn.: „Program Zintegrowanego Rozwoju Jakości Kształcenia na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020, Białystok.
- 01/02/2023** szkolenie z obsługi AltoStar Automation System AM16, Altona Diagnostics, Białystok.

**Kursy i szkolenia online doskonalące język angielski, prowadzone przez certyfikowanych nauczycieli z USA:**

<b>04/2017</b>	Fluency School (Speak Confident English)
<b>09/09 2018-obecnie</b>	Membership of Rachel's English Academy
<b>03/2019-05/2020</b>	Advanced Conversation (Speak Confident English)
<b>06/2020- 01/2024</b>	Mastering Conversation (Speak Confident English)
<b>06/2021-03/2022</b>	Powerful Public Speaking (Speak Confident English)
<b>18/12/2023</b>	Full Accent Evaluation, Mr. Stokes (Rachel's English Academy)

## 6.2. Działalność popularyzatorska

Opublikowałam trzy prace popularyzujące naukę z zakresu biologii:

- Mical, A.H.; Krotke, A.; **Sulewska, A.** Physiological and metabolic features of *Wolffia arrhiza* and her practical advantage. *Folia Pomeranae Univ. Technol. Stetin.* **1999**, *77*, 263–266 (w trakcie studiów magisterskich).
- Mical, A.H.; Krotke, A.; **Sulewska, A.** Zmiany niektórych wskaźników biochemicznych u wolfii bezkorzeniowej hodowanej na ściekach. *Gospodarka Wodna.* **2000**, *5*, 182–184 (w trakcie studiów magisterskich).
- **Sulewska A.** Jack W. Szostak noblista o polskich korzeniach. *Medyk Białostocki.* **2009**, *82*, 31–32.

Byłam członkiem **zespołu redakcyjnego *Folia Histochemica et Cytobiologica*** (2009-2014) oraz **zespołu redakcyjnego *Medyka Białostockiego*** (2008-2009). Ponadto, byłam członkiem komitetów organizacyjnych dwóch międzynarodowych konferencji: **“Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop Endocrine Disrupters and Carcinogenic Risk Assessment”**, Białystok, 8-12 May 2001 Medical Academy of Białystok, Białystok, Poland oraz **“International Conference on: Non-small cell lung cancer: standards and new trends in diagnosis and therapy”**, October 5–7, 2001, Medical Academy of Białystok, Białystok, Poland.

## 7. INNE INFORMACJE DOTYCZĄCE KARIERY ZAWODOWEJ

### 7.1. Programy europejskie lub inne programy międzynarodowe

„Międzynarodowe, interdyscyplinarne studia doktoranckie w zakresie biologii medycznej oraz biostatystyki. Szkolenia w zakresie badań opartych na technologiach wielkoskalowych i biostatystyce oraz wsparcie kariery młodych naukowców poprzez mobilność międzynarodową i międzysektorową”. Akronim: ImPRESS. Umowa nr: 3773/H2020/COFUND/2017/2 oraz umowa nr: 369363/PnH/2017 z późniejszymi zmianami. **Funkcje:** opracowanie ćwiczeń w języku angielskim pn.: **„Learning techniques of molecular biology”** na potrzeby projektu; **pomocniczy**

*opiekun naukowy Bence Galika*, doktoranta Międzynarodowych interdyscyplinarnych studiów doktoranckich.

## 7.2. Współpraca z sektorem gospodarczym

**2021-2022**     **praca przedwdrożeniowa** – dr Magdalena Knapp - Nowy test diagnostyczny oparty o 5-genową sygnaturę miRNA do diagnozowania różnicowego podtypów histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca. Różnicowanie molekularne raków płaskonabłonkowych i niepłaskonabłonkowych (raki gruczołowe i raki wielkokomórkowe) – w ramach programu operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 „**Inkubator Innowacyjności 4.0**” realizowanego przez konsorcjum Instytut Innowacji Technologii Politechniki Białostockiej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku oraz Uniwersytet w Białymstoku. **BADACZ/WYKONAWCA**

## 7.3. Prawa własności przemysłowej, w tym uzyskane patenty krajowe lub międzynarodowe

Jestem współautorem **jednego patentu** oraz **trzech zgłoszeń patentowych**:

**2002**     **patent nr 241607**: „Panel biomarkerów miRNA do diagnozowania różnicowego podtypów histologicznych niedrobnokomórkowego raka płuca”. Dzięki zastosowaniu technologii NGS oraz narzędzi bioinformatycznych wytypowaliśmy biomarkery miRNA do diagnozowania podtypów niedrobnokomórkowego raka płuc. Zidentyfikowane biomarkery miRNA stanowią precyzyjne narzędzie do różnicowania dwóch głównych podtypów raka (SCC vs. ADC), co wspomaga właściwe rozpoznanie, kluczowe dla terapii personalizowanych. **WSPÓŁAUTOR**

**2003**     **zgłoszenie nr 17P51320PL00** „Laboratoryjne naczynie reakcyjne oraz zestaw laboratoryjnych naczyń reakcyjnych”. Stworzyliśmy naczynie reakcyjne i zestaw naczyń reakcyjnych do procedur biologii molekularnej, które pozwalają na przeprowadzenie dwóch reakcji o różnych profilach termicznych i odczyt ich wyniku bez otwierania naczynia. Naczynie reakcyjne zawiera wkład, który dzieli przestrzeń wewnętrzną korpusu na dwie komory, połączone otworem wylotowym, przez który przenosi się produkt pierwszej reakcji do drugiej komory. **WSPÓŁAUTOR**

**2003**     **zgłoszenie nr 17P52231PL00** „Sposób wykrywania materiału genetycznego wirusa SARS-CoV-2, sposób diagnozowania *in vitro* zakażenia wirusem SARS-CoV-2 w wersji laboratoryjnej i zestaw testowy”. Opracowaliśmy innowacyjny sposób i zestaw do wykrywania wirusa SARS-CoV-2 w próbkach biologicznych w warunkach laboratoryjnych. Metoda obejmuje lizę próbki, odwrotną transkrypcję, izotermiczną amplifikację LAMP z użyciem starterów dla genów N i M wirusa oraz kontrolę wewnętrzną. Zestaw zawiera trzy zestawy starterów dla każdego z tych genów oraz naczynie reakcyjne umożliwiające przeprowadzenie reakcji RT i LAMP. **WSPÓŁAUTOR**

**2003**     **zgłoszenie nr 17P52232PL00** „ Sposób wykrywania materiału genetycznego wirusa SARS-CoV-2, sposób diagnozowania *in vitro* zakażenia wirusem SARS-CoV-2 w wersji POC i zestaw testowy”. Opracowaliśmy nowatorski sposób i zestaw do szybkiego diagnozowania zakażenia wirusem SARS-CoV-2 w warunkach nielaboratoryjnych, bezpośrednio przy łóżku pacjenta, poprzez izotermiczną amplifikację materiału genetycznego wirusa (LAMP). Metoda obejmuje lizę próbki biologicznej, reakcję odwrotnej transkrypcji z trzema zestawami starterów dla genów N i M wirusa oraz reakcję LAMP z detekcją kolorymetryczną produktu. Zestaw zawiera startery, kontrole



SARS-CoV-2 i kontrolę wewnętrzną (ACTB), a także naczynie reakcyjne z dwiema komorami. **WSPÓŁAUTOR**

## 8. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

Podsumowanie dorobku naukowego z wypunktowaniem osiągnięć przed i po uzyskaniu stopnia naukowego doktora przedstawiłam w Tabeli 2.

**Tabela 2.** Zbiorczy wykaz najważniejszych osiągnięć naukowych habilitanta

	Przed doktoratem			Po doktoracie		
	Liczba	IF	MNiSW	Liczba	IF	MNiSW i MEiN
Publikacje oryginalne	4	4,393	52	12	43,722	1010
Publikacje pogładowe	2	1,772	26	2	11,6	280
<b>RAZEM</b>	<b>6</b>	<b>6,165</b>	<b>78</b>	<b>14</b>	<b>55,322</b>	<b>1290</b>
Referaty zjazdowe z IF	2	1,188	16	-	-	-
Referaty zjazdowe bez IF	2	-	10	-	-	-
Streszczenia ze zjazdów międzynarodowych	4	-	-	5	-	-
Streszczenia ze zjazdów krajowych	7	-	-	9	-	-
Udział w grantach	-	-	-	5	-	-
Kierowanie grantami	-	-	-	1	-	-
Udział w projektach badawczo-rozwojowych				1		
Udział w projektach KNOW	-	-	-	2	-	-
Udział w projektach statutowych UMB	-	-	-	19	-	-
Kierowanie projektami statutowymi UMB	-	-	-	2	-	-
Patenty i zgłoszenia patentowe	-	-	-	4	-	-
Sumaryczny IF wszystkich opublikowanych prac						<b>61,487</b>
Sumaryczna punktacja MNiSW wszystkich opublikowanych prac						<b>1368</b>
Całkowita liczba cytowań wg. Web of Science Core Collection bez autocytowań						287
Całkowita liczba cytowań wg. Web of Science All Databases bez autocytowań						345
Liczba cytowań wg. Scopus						330
H index Web of Science						<b>10</b>
H index Scopus						<b>11</b>