

Załącznik nr 2

# A U T O R E F E R A T

dr n. med. Wojciech Józwicki

Zakład Patologii Nowotworów i Patomorfologii

Wydział Nauk o Zdrowiu

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Bydgoszcz, 2016

## Spis treści

1. IMIĘ I NAZWISKO.....	3
2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE / ARTYSTYCZNE - Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.....	3
2.1 UKOŃCZONE PODYPLOMOWE KURSY DOSKONALĄCE.....	3
3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH / ARTYSTYCZNYCH .....	4
4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.).....	5
4.1 TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO:.....	5
4.2 WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO .....	5
4.3 OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO/ARTYSTYCZNEGO WW PRACY/PRAĆ I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA .....	5
4.3.1 Początek koncepcji.....	5
4.3.2 Publikacja 1: <i>Muscle-invasive urothelial cell carcinoma of the human bladder: multidirectional differentiation and ability to metastasize, Hum. Pathol. 2007 Vol. 38 s. 741-746</i> .....	8
4.3.3 Publikacja 2: <i>Expression of OCT4A: the first step to the next stage of urothelial bladder cancer progression. Int. J. Mol. Sci. 2014 Vol. 15 s. 16069-16082</i> .....	8
4.3.4 Publikacja 3: <i>Expression of RCAS1 correlates with urothelial bladder cancer malignancy. Int. J. Mol. Sci. 2015 Vol. 16 s. 3783-3803</i> .....	10
4.3.5 Publikacja 4: <i>Frequency of CD4+CD25+Foxp3+ Cells in Peripheral Blood in Relation to Urinary Bladder Cancer Malignancy Indicators Before and After Surgical Removal. Oncotarget 2016 Vol. 7, No. 10, s. 11450-62</i> .....	12
4.3.6 Publikacja 5: <i>Changes in immunogenicity during the development of urinary bladder cancer: a preliminary study. Int. J. Mol. Sci. 2016, 17(3), 285</i> .....	14
4.3.7 Podsumowanie.....	16
5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH (ARTYSTYCZNYCH)	19
5.1 NAJWAŻNIEJSZA TEMATYKA POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ BADAWCZYCH .....	19
5.2 PODSUMOWANIE WSPÓŁCZYNNIKA ODDZIAŁYWANIA IF, PUNKTACJI MINISW ORAZ LICZBY PUBLIKACJI W POSZCZEGÓLNYCH KATEGORIACH.....	20

**1. Imię i Nazwisko**

Wojciech Józwicki

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

- 18.12.1987 r. - **tytuł lekarza** - dyplom ukończenia Akademii Medycznej w Bydgoszczy, Nr 149/1987
- 12.04.1991 r. - dyplom **I stopnia specjalizacji w zakresie patomorfologii**, Nr 12/1991
- 29.10.1996 r. - dyplom **specjalisty II stopnia w zakresie patomorfologii**, Nr 1167/22/I/1996
- 29.06.2005 r. - **stopień doktora nauk medycznych w zakresie medycyny**, Wydział Lekarski Collegium Uniwersytetu Mikołaja Kopernika - dyplom NR 2485; tytuł rozprawy doktorskiej: "Inny sposób oceny biologii procesu nowotworowego u pacjentów z rakiem pęcherza moczowego. Topograficzne badania narządowe." - promotor: prof. dr hab. Jan Domaniewski

**2.1 Ukończone podyplomowe kursy doskonalące**

1. Polskie Centrum Edukacji Anna Osińska Warszawa, Bydgoszcz 20 lutego 2016, Kurs: "Komunikacja i umiejętności prowadzenia rozmowy z pacjentem"
2. Kurs doskonalący: "Co chcemy wiedzieć o diagnostyce chłoniaków", 23-24.03.2012, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Warszawa
3. Kurs doskonalący nr 1-722-62-021-2009: "Limfadenopatie odczynowe, chłoniaki złośliwe i inne choroby limfoproliferacyjne", 01-06.06.2009, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Pracownia Patomorfologii, Warszawa
4. Kurs doskonalący nr 1-722-63-014-2009: "Standardy diagnostyczne w raku stercza", 29-30.05.2009, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Studium Kliniczno-Dydaktyczne Zakład Patomorfologii, Warszawa
5. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, 09-10.12.2005, Kurs Doskonalący nr 1-722-54-007-2005 w zakresie "Immunohistochemia w diagnostyce patomorfologicznej guzów tkanek miękkich", Warszawa
6. 10 Wojskowy Szpital Kliniczny z Polikliniką SPZPZ, 18.10-17.11.2004, kurs doskonalący w zakresie diagnostyki cytologicznej: "Biopsja Aspiracyjna

„cienkoigłowa cz 1: Teoria i Praktyka technik pozyskiwania materiału diagnostycznego”, Bydgoszcz

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

- 2008 - nadal** Kierownik Zakładu Patologii Nowotworów i Patomorfologii Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy (po przekształceniu Zakładu Patologii Nowotworów Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy w jednostkę uniwersytecką)
- 07.2007-2007** Kierownik Zakładu Patologii Nowotworów Centrum Onkologii im. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy
- 2007 - 2007** Adiunkt w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
- 2006 - 2006** Starszy wykładowca w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
- 2004 - 2006** Wykładowca w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
- 1996 - 2004** Wykładowca w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Klinicznej Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
- 1988 - 1996** Asystent w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Klinicznej Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy

4. Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego:

**"Morfologiczne, molekularne i immunologiczne przesłanki kształtowania biologicznej złośliwości raka urotelialnego pęcherza moczowego"** na podstawie cyklu 5 publikacji (IF = 17.979; MNiSW = 154).

4.2 Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

1. Ewa Domanowska, **Wojciech Jozwicki**, Jan Domaniewski, Ryszard Golda, Zdzisław Skok, Halina Wiśniewska, Renata Sujkowska, Zbigniew Wolski, Grazyna Jozwicka: Muscle-invasive urothelial cell carcinoma of the human bladder: multidirectional differentiation and ability to metastasize. Hum. Pathol. 2007 Vol. 38 s. 741-746. **IF = 3.034; MNiSW = 24 pkt.**
2. **Wojciech Józwicki**, Anna A. Brożyna, J. Siekiera: Expression of OCT4A: the first step to the next stage of urothelial bladder cancer progression. Int. J. Mol. Sci. 2014 Vol. 15 s. 16069-16082. **IF = 2.862; MNiSW = 30 pkt.**
3. **Wojciech Józwicki**, Anna A. Brożyna, J. Siekiera, A.T. Slominski: Expression of RCAS1 correlates with urothelial bladder cancer malignancy. Int. J. Mol. Sci. 2015 Vol. 16 s. 3783-3803. **IF = 2.862; MNiSW = 30 pkt.**
4. **Wojciech Józwicki**, Anna A. Brożyna, J. Siekiera, A.T. Slominski: Frequency of CD4+CD25+Foxp3+ Cells in Peripheral Blood in Relation to Urinary Bladder Cancer Malignancy Indicators Before and After Surgical Removal. Oncotarget 2016 Vol. 7, No. 10, s. 11450-62. **IF = 6.359; MNiSW = 40 pkt.**
5. **Wojciech Józwicki**, Anna A. Brożyna, J. Siekiera, A.T. Slominski: Changes in immunogenicity during the development of urinary bladder cancer: a preliminary study. Int. J. Mol. Sci. 2016, 17(3), 285. **IF = 2.862; MNiSW = 30 pkt.**

4.3 Omówienie celu naukowego/artystycznego ww pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

4.3.1 Początek koncepcji

Diagnostyka guzów urotelialnych układu moczowego wymaga bezwzględnie diagnostyki histopatologicznej. Do standardu diagnostycznego raka urotelialnego pęcherza moczowego (UBC = Urothelial Bladder Cancer) należy ocena złośliwości histologicznej (G), głębokości inwazji (pT), statusu węzłowego (pN) oraz typu histologicznego - cech ogólnie akceptowanych jako czynniki prognostyczne. Jednak nawet uwzględnienie zróżnicowania prognostycznego w guzach papilarnych i niepapilarnych (o przebiegu odpowiednio bardziej i mniej korzystnym), a także po uwzględnieniu obecności komponenty raka in situ, nie daje dobrej przewidywalności przebiegu UBC. Stąd uzasadnione poszukiwanie nowych czynników prognostycznych, w tym parametrów lepiej opisujących złośliwość guza urotelialnego. Moją uwagę zwróciły doniesienia dotyczące wpływu wariantowego różnicowania raka urotelialnego na rokowanie. Identyfikacja wariantów histologicznych opierała się na obserwacji, że rak urotelialny pęcherza moczowego posiada **skłonność do wielokierunkowego różnicowania**. Zgodnie z danymi literaturowymi gorzej rokowały przypadki np. z różnicowaniem nieklasycznym typu sarkomatoidnego, gniazdowego, mikropapilarnego i limfoepitelialno-podobnego. W 2004 roku ukazała się nowa klasyfikacja Guzów Dróg Moczowych Światowej Organizacji Zdrowia, w której uwzględniono 12 typów nieklasycznego różnicowania w obrębie guzów urotelialnych, tj. z różnicowaniem płaskonabłonkowym, z różnicowaniem gruczołowym, z różnicowaniem trofoblastycznym, gniazdowy, mikrotorbielkowy, mikropapilarny, limfoepitelialno-podobny, chłoniakopodobny, plasmocytoidny, sarkomatoidny, olbrzymiokomórkowy i niezróżnicowany. Postanowiłem zbadać w autorskim podejściu metodologicznym wartość różnicowania nieklasycznego, jako czynnika prognostycznego. Jednym z celów mojej pracy doktorskiej była "(...) ocena prognostycznej wartości różnicowania klasycznego i nieklasycznego w inwazyjnym raku urotelialnym pęcherza moczowego (...)". Wariantowe rozważanie różnicowania nieklasycznego zakładało jego prominentny odsetek w guzie, a w przypadku tzw. guzów mieszanych, każde z różnicowań nieklasycznych musiało stanowić co najmniej 20-30% utkania guza. **W moich badaniach oszedłem od oceny wariantów różnicowania nieklasycznego, na rzecz autorskiej liczby typów różnicowań nieklasycznych (Nonclassic Differentiation Number = NDN), mogących w jednym guzie występować w mniejszym odsetku, za to liczniej.** Do oceny odsetka różnicowania nieklasycznego w guzie, użyłem autorskiej subiektywnej metody kolejnych przybliżeń, dzieląc mikroskopowy obraz guza wycinku na kolejne połowy, do IV podziału włącznie, uzyskując dokładność metody około 6,5%, a następnie notowałem liczbę wszystkich typów różnicowania nieklasycznego,

występujących w guzie w odsetku co najmniej 6,5%. Stwierdziłem wówczas, że: (1) obecność w guzie pojedynczego utkania nieklasycznego, **nie miała wpływu na przeżycie**, (2) większa rozległość różnicowania nieklasycznego w guzie związana była z krótszym przeżyciem oraz (3) **liczba różnych nieklasycznych różnicowań większa niż 2 (NDN > 2), w rakach urotelialnych pT2-pT4, związana była z krótszym przeżyciem**. Te obserwacje zostały opublikowane w 2005 roku (Jozwicki et al., "Usefulness of histologic homogeneity estimation of muscle-invasive urinary bladder cancer in an individual prognosis: a mapping study", 2005, Urology). Wielokierunkowość różnicowania raka urotelialnego nigdy dotąd nie była rozważana w aspekcie **liczby** różnych typów nieklasycznych różnicowań w jednym guzie (NDN). W dostępnej literaturze nie znalazłem wcześniejszych opracowań na ten temat. W kolejnej późniejszej publikacji (Józwicki, et al., "Prognostic and diagnostic implications of histological differentiation in invasive urothelial cell carcinoma of the bladder : variant or non-classic differentiation number", 2010, Central Eur. J. Urol.), potwierdziliśmy słuszność takiego podejścia, poszerzając skalę metodologiczną do granic optycznej dostrzegalności ognisk nieklasycznego różnicowania w obrazie mikroskopowym. Wykazaliśmy, że utkanie nieklasyczne obecne jest w 84% przypadków, z czego ponad połowa guzów nie kwalifikuje się do definicji wariantu, ponieważ różnicowanie nieklasyczne stanowi w nich zaledwie 1-10%. Jeżeli różnicowanie wariantowe można wykazać w około 11% guzów urotelialnych [1], oznacza to, że w 89% raków urotelialnych różnicowanie nieklasyczne nie jest brane pod uwagę (bo nie jest wariantowe), a około 73% raków może być **niesłusznie uważanych za czyste postaci raków o utkaniu klasycznym**. Oczekiwanie, aż z drobnego ogniska powstanie wariant, innymi słowy - kiedy guz urotelialny, o pierwotnie klasycznym obrazie, uzyska wyraźnie różny (nieklasyczny) fenotyp histomorfologiczny (2), może być powodem niewłaściwej oceny znaczenia prognostycznego utkania nieklasycznego. Ze względu na czas, w którym dochodzi do rozwoju wariantu (prominentna obecność utkania nieklasycznego w guzie), prognoza może odzwierciedlać zaawansowanie pT i w mniejszym stopniu zależeć od różnicowania nieklasycznego (3). W naszym badaniu obecność pojedynczego różnicowania nieklasycznego (NDN = 1) nie wpływała na czas przeżycia, który nie różnił się znamienne od obserwowanego w rakach o różnicowaniu klasycznym (NDN = 0).

#### Literatura:

1. Nadeem M, Ather MH, Impact of histopathological variant on the outcome of patients treated by radical cystectomy, Korean J Urol. 2014 Jun; 55(6) : 385-9.

2. Mahul B Amin, Histological variants of urothelial carcinoma: diagnostic, therapeutic and prognostic implications, *Modern Pathology* (2009) 22, S96–S118.
3. Black PC, Brown GA, Dinney CP. The impact of variant histology on the outcome of bladder cancer treated with curative intent. *Urol Oncol* 2009;27:3–7.

**4.3.2 Publikacja 1: Muscle-invasive urothelial cell carcinoma of the human bladder: multidirectional differentiation and ability to metastasize, *Hum. Pathol.* 2007 Vol. 38 s. 741-746**

Badanie przeprowadziliśmy w grupie 93 pacjentów z rakiem pęcherza moczowego, u których przeprowadzono cystektomię i usunięto łącznie 1085 węzłów chłonnych regionalnych. Stosując kryterium NDN, u ponad 80% pacjentów stwierdziliśmy obecność nieklasycznego różnicowania (NDN > 0). Dzięki temu, aż u 75 pacjentów możliwa była ocena ryzyka przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych, które wzrastało z 8,7% w rakach z wyłącznym utkaniem klasycznym (NDN = 0), do 35,5% w rakach urotelialnych, w których liczba różnych typów nieklasycznych różnicowań wyniosła co najmniej 2 (NDN ≥ 2). Liczba pozytywnych węzłów chłonnych była ponad 2 razy większa w przypadkach, w których wartość NDN przekraczała 2 (NDN > 2). **W wielowariantowej analizie, parametr NDN został oceniony jako niezależny czynnik predykcyjny przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych.** Zaobserwowaliśmy ponadto dodatnią korelację wartości parametru NDN z zaawansowaniem pT, co jest zgodne z doniesieniami o większej tendencji do wielokierunkowego różnicowania w guzach pęcherza naciekających mięśniówkę (pT2-pT4).

Oryginalne osiągnięcie:

1. Wykazano wysoką wartość parametru NDN, **jako niezależnego czynnika predykcyjnego**, w ocenie ryzyka powstania przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych w UBC.
2. Wykazano wartość oceny **najmniejszych ognisk różnicowania nieklasycznego, jako wczesnego wykładnika progresji złośliwości UBC o pierwotnie klasycznym utkaniu.**
3. Poczynione obserwacje uzasadniają podjęcie dalszych badań wyjaśniających wartość NDN, jako predyktora biologicznej złośliwości UBC.

**4.3.3 Publikacja 2: Expression of OCT4A: the first step to the next stage of urothelial bladder cancer progression. *Int. J. Mol. Sci.* 2014 Vol. 15 s. 16069-16082**



Brak przewidywalności indywidualnego przebiegu raka pęcherza moczowego oznacza, że mechanizmy kształtowania złośliwości procesu nie są dobrze poznane. Rak urotelialny należy do nowotworów o wyjątkowej biologii. Demonstrując skrajnie różną złośliwość w tzw. zaawansowaniu powierzchniowym (pTa-pT1) i głębokim (pT2-pT4), albo prezentując morfologię papilarną (pTa) lub niepapilarną (pTis), wymaga postępowania w skrajnie radykalnych planach terapeutycznych. W takich sytuacjach problemem są tzw. przypadki graniczne, w których trudno jest podjąć decyzję terapeutyczną. Przykład: czy pacjent z granicznym zaawansowaniem pT1-pT2, tj. z podejrzeniem mikroinwazji muscularis propria (pT2), w bardzo dobrej kondycji klinicznej, powinien być niezwłocznie poddany radykalnej cystektomii, czy też można z zabiegiem poczekać nieco dłużej, dając pacjentowi dodatkowy czas życia z własnym pęcherzem? W pracy podjęliśmy próbę wskazania molekularnego parametru, pomocnego w podjęciu właściwej decyzji. OCT4 (OCT3, octamer-binding transcription factor, także znany jako POU5F1) jest czynnikiem transkrypcyjnym, biorącym udział w zarządzaniu pluripotencjalnymi właściwościami embrionalnych komórek macierzystych. OCT4 nie jest obecny w komórkach dojrzałego organizmu za wyjątkiem komórek germinalnych. Można jednak z jego pomocą śledzić tzw. komórki macierzyste nowotworu (cancer stem cells = CSCs). CSCs to mała subpopulacja komórek, które inicjują proces nowotworowy, a także są odpowiedzialne za wznowę i rozsiew choroby. CSCs pierwotnie wyizolowane z ostrej białaczki szpikowej, w latach następnych zostały zidentyfikowane także w innych nowotworach, w tym guzach mózgu, piersi, prostaty i płuc. CSCs są odporne na chemio- i radioterapię, dlatego ich obecność w obrębie guza związana jest ze złą prognozą. Ekspresja OCT4A, jako markera fenotypu komórek macierzystych, oznaczano immunohistochemicznie w obrębie komórek nowotworowych guza pierwotnego i w obrębie przerzutów. Ekspresję oraz odsetek komórek prezentujących fenotyp OCT4 analizowano w zestawieniu z histo-klinicznymi wykładnikami złośliwości takimi, jak pT (staging), G (grading), TIT (Tissue Invasive Type = typ naciekania tkankowego) i NDN (Nonclassic Differentiation Number = liczba nieklasycznych różnicowań) oraz z trzema stadiami progresji UBC, zdefiniowanymi jako: przekroczenie błony podstawnej nabłonka z inwazją blaszki właściwej błony śluzowej (I stadium progresji), inwazja muscularis propria ściany pęcherza (II stadium progresji) i przerzutowanie (III stadium progresji). Ponadto w badaniu zdefiniowano nowy parametr oceny histologicznej złośliwości TIT (Tissue Invasive Type), jako zestawienie histologicznych typów inwazji w porządku o wzrastającej agresywności. Wykazaliśmy, że wzrost odsetka komórek nowotworowych o ekspresji

OCT4A związany jest z nasileniem histologicznych wykładników złośliwości raka urotelialnego (pT, G, TIT i NDN) i wyprzedza lub towarzyszy kolejnym stadiom progresji guza. Uzyskanie przez komórki nowotworowe cech komórek macierzystych (nieśmiertelność, zdolność do migracji, odporność na radio- i chemioterapię i in.), wpływa na złośliwość guza. Wzrost złośliwości ujawnia się wyższym zaawansowaniem pT, większym odróżnicowaniem (G), agresywniejszym typem inwazji (TIT) oraz intensywniejszym rozwojem nieklasycznego różnicowania (NDN). Wynika z tego, że złośliwość raka urotelialnego pęcherza moczowego posiada wymiar molekularny. W badaniu wykazaliśmy, że zdolność do transformacji złośliwości jest uwarunkowana molekularnie obecnością czynnika transkrypcyjnego OCT4A. Kolejne stadium progresji guza wymaga wyprzedzającej zmiany molekularnej, która może należeć do patomechanizmu transformacji złośliwości. Ponadto ocena ekspresji OCT4A może być parametrem pomocnym w procesie decyzyjnym, przy wyborze terapii w przypadkach granicznych pTis-pT1 i pT1-pT2: wyższy odsetek komórek z ekspresją OCT4A promuje bardziej radykalną terapię. Podobnych badań UBC nie opisano w dostępnej literaturze.

Oryginalne osiągnięcie:

1. **Zdefiniowanie metodologiczne parametru TIT (Tissue Invasive Type)**, jako zestawienie histologicznych typów inwazji UBC, w porządku o wzrastającej agresywności.
2. Wykazanie, że uzyskanie przez komórki nowotworowe **fenotypu komórek macierzystych** zmienia biologiczne zachowanie UBC który **dynamizuje wykładniki histologicznej złośliwości**, tj. pT, G, TIT, NDN.
3. Wykazanie, że **zmiana molekularna** w obrębie komórek nowotworowych, związana z obecnością czynnika transkrypcyjnego OCT4A, **wyprzedza kolejne stadia progresji UBC**.
4. Wykazanie, że **wyższy odsetek** komórek nowotworowych o fenotypie komórek macierzystych powinien skłaniać do **wyboru bardziej radykalnej terapii w przypadkach granicznych pTis-pT1 oraz pT1-pT2**.

#### **4.3.4 Publikacja 3: Expression of RCAS1 correlates with urothelial bladder cancer malignancy. Int. J. Mol. Sci. 2015 Vol. 16 s. 3783-3803**

Kolejnym krokiem było zbadanie ekspresji cząsteczki RCAS1. Pomysł wpisywał się w poszerzenie wiedzy o molekularnej charakterystyce raka urotelialnego pęcherza moczowego,

a jednocześnie otwierał horyzont badań nad wzajemną relacją guza nowotworowego i układu immunologicznego. Nowe koncepcje promocyjne zwracają uwagę na "dialog" komórek nowotworowych z mikrośrodowiskiem guza, w którym supresorowe oddziaływanie na komórki immunokompetentne, staje się kluczowym elementem wpływającym na rozwój guza. Idea ucieczki z pod nadzoru immunologicznego zakłada, że niektóre elementy układu immunologicznego mają ochronny wpływ na rozwój guza nowotworowego. Interakcja pomiędzy guzem a układem immunologicznym wymaga jednak **molekularnych regulatorów**. Jednym z najważniejszych jest **RCAS1**, którego komórkowa ekspresja, według niektórych autorów, związana jest ze złą prognozą. RCAS1 jest białkiem kodowanym u ludzi przez gen *EBAG9*, i bierze udział w ujawnianiu immunomodulacyjnych możliwości komórek nowotworowych. Zatrzymanie cyklu komórkowego i/lub apoptozy w komórkach posiadających receptor dla RCAS1, może prowadzić do ucieczki guza z pod nadzoru immunologicznego. W pracy analizowaliśmy ekspresję RCAS1 w komórkach raka urotelialnego pęcherza moczowego oraz w makrofagach i fibroblastach jego mikrośrodowiska. Ocenialiśmy zależność pomiędzy ekspresją RCAS1 a wykładnikami histologicznej złośliwości takimi, jak grading histologiczny (G), pT, TIT, NDN, a także zdolność do przerzutowania (pN). W pracy zdefiniowaliśmy autorsko dwa obszary guza nowotworowego o różnej dynamice wzrostu: **CP (Central Part)** - centralna część guza, o mniejszej aktywności mitotycznej i **BP (Border Part)** - obwodowa część guza, o większej aktywności mitotycznej. Indeks mitotyczny obszarów CP i BP w obrębie guzów pT2-pT4, był statystycznie znamienne różny ( $p = 0.0001$ ). W pracy wykazaliśmy, że nasilenie wykładników histologicznej złośliwości w guzie (G, TIT, NDN, pT i pN) było skorelowane z ekspresją RCAS1 w komórkach z obwodowych obszarów guza (BP). Oznacza to, że status G, TIT, NDN, pT czy pN określa w istocie status ucieczki guza z pod nadzoru immunologicznego, ponieważ UBC wzrasta ("ucieka") w polach BP. Stwierdziliśmy, że parametry złośliwości pT, pN oraz przeżycie wolne od przerzutów były znamienne skorelowane z ekspresją RCAS1 w komórkach nowotworowych, podczas gdy G, TIT i NDN - z ekspresją RCAS1 w fibroblastach (CAFs) i makrofagach (TAMs) mikrośrodowiska guza. Poczynione obserwacje sugerują, że **histo-kliniczny wymiar złośliwości guza jest zależny od udziału RCAS1 w różnych ścieżkach sygnałowych**.

Oryginalne osiągnięcie:

1. **Zdefiniowanie** metodologiczne obszarów UBC o różnej dynamice wzrostu: CP - o mniejszej aktywności mitotycznej i BP - o większej aktywności mitotycznej.
2. Wykazanie, że **ucieczka z pod nadzoru immunologicznego dokonuje się w obszarach guza o większej aktywności mitotycznej (BP)**.
3. Wykazanie, że **manifestacja wykładników złośliwości histoklinicznej jest skorelowana ze wzrostem ekspresji RCAS1 w komórkach nowotworowych (pT, pN oraz przeżycie wolne od przerzutów) i w komórkach mikrośrodowiska CAFs i TAMs (G, TIT i NDN), co sugeruje, że złośliwość UBC zależy od udziału RCAS1 w różnych ścieżkach sygnałowych**.
4. Wykazanie, że analiza ekspresji RCAS1 może umożliwić **indywidualizację prognozy UBC**, przez ocenę lokalnego statusu układu immunologicznego.

**4.3.5 Publikacja 4: Frequency of CD4+CD25+Foxp3+ Cells in Peripheral Blood in Relation to Urinary Bladder Cancer Malignancy Indicators Before and After Surgical Removal. Oncotarget 2016 Vol. 7, No. 10, s. 11450-62**

Ucieczka z pod nadzoru immunologicznego nie jest jedynym mechanizmem promującym rozwój guza nowotworowego. Komórki T regulatorowe (Tregs) CD4+CD25+Foxp3+ także stymulują tolerancję immunologiczną ułatwiając progresję guza nowotworowego. Tregs powodują zahamowanie proliferacji cytotoksycznych komórek T CD8+. Dokładny mechanizm oddziaływania Tregs na karcinogenezę nie jest poznany, chociaż podwyższony odsetek komórek T regulatorowych we krwi obwodowej jest często obserwowany w różnych nowotworach. Nie znalazłem opracowań w literaturze światowej na temat roli Tregs w kształtowaniu biologii raka urotelialnego pęcherza moczowego. Podjęliśmy próbę analizy poziomu Tregs we krwi obwodowej u chorych z rakiem w zaawansowaniu pT2-pT4. Analizę przeprowadziliśmy w korelacji z histoklinicznymi wykładnikami złośliwości: G, pT, TIT, NDN, pN oraz prawdopodobieństwo zgonu. Fenotyp komórek regulatorowych (Treg) we krwi obwodowej i efektorowych (TILs = Tumor Infiltrates Lymphocytes) w UBC ocenialiśmy z użyciem odpowiednio cytometrii przepływowej i immunohistochemii. Obserwowaliśmy nieznacznie wyższe wartości Tregs w guzach o wyższym zaawansowaniu (pT2-pT4), w stosunku do guzów pTa i pT1, co może być związane z pierwotnie silniejszą odpowiedzią immunologiczną wobec guza w początkowym zaawansowaniu (pTa-pT1), która następnie ulega supresji, z wyższym odsetkiem Tregs, w guzach o zaawansowaniu pT2-pT4. W pracy sugerujemy **dwie fazy rozwoju UBC**, którym towarzyszy różna

przeciwnowotworowa odpowiedź immunologiczna. **Obserwowaliśmy znamieny wzrost aktywności Treg od zaawansowania pTa do pT2 oraz znamienne zmniejszenie odsetka TILs w obrębie guzów o zaawansowaniu pT2-pT4.** Obserwowane zmiany związane są najprawdopodobniej z ewolucją odpowiedzi immunologicznej przeciw UBC, z intensywnej w pierwszej fazie rozwojowej guza, do wyciszonej w późniejszej fazie rozwoju. W dostępnej literaturze światowej brak podobnych opracowań. Supresja początkowo intensywnej odpowiedzi immunologicznej promuje rozwój guza, czyli pojawienie się fazy późniejszej, i najprawdopodobniej odbywa się z udziałem wzrastającego odsetka Tregs. **Świadczy o tym również obserwacja, że wyższy odsetek Tregs był skorelowany z ekspresją RCAS1 w polach BP (Border Part) raka, czyli z ucieczką guza z pod nadzoru immunologicznego.** W pracy podkreśliliśmy, że supresja odpowiedzi immunologicznej związana jest z co najmniej dwoma stadiami progresji guza: stadium pierwszym, kiedy papilarne zmiany nieinwazyjne (pTa) stają się inwazyjnymi w zakresie ograniczonym do błony śluzowej (pT1) i stadium drugim, kiedy komórki raka naciekają muscularis propria ściany pęcherza moczowego (pT2). **W poprzednim doniesieniu wykazaliśmy wzrost ekspresji fenotypu komórek macierzystych związany z rozwojem tych samych stadiów progresji, co może sugerować wspólny udział OCT4A i Tregs w rozwoju UBC.** Taka koncepcja wymaga jednak dalszych badań. Wyższy odsetek Tregs był znamienne skorelowany ze wzrostem zaawansowania guza w przedziale pTa-pT2 i z agresywnością inwazji (TIT). Obserwacja jest najprawdopodobniej związana z większą immunogennością guzów o agresywniejszej biologii, których dalszy rozwój wymaga wyższego, ochronnego odsetka Tregs. Ich zadaniem jest wyciszenie antynowotworowej odpowiedzi immunologicznej w UBC. W badaniu wykazaliśmy, że supresja odpowiedzi, z wyższym odsetkiem Tregs, zachodzi we wczesniej fazy zaawansowania guza (pTa-pT2), po której odsetek Tregs jest znamienne niższy i spada w ciągu fazy późniejszej. Zauważyliśmy, że **niższy poziom Tregs oraz TILs w późniejszej fazy zaawansowania UBC jest skorelowany z rozwojem nieklasycznego różnicowania (NDN > 0).** Wynika z tego, że rozwojowi różnicowania nieklasycznego towarzyszy słabsza antynowotworowa odpowiedź immunologiczna (spadek poziomu TILs w obrębie guza), w której najprawdopodobniej rola Tregs nie jest już prominentna. W pracy sugerujemy, że **późna faza rozwoju UBC może być związana z uzyskaniem przez komórki guza statusu mniejszej immunogenności, z którą następnie związany jest wzrost ryzyka rozsiewu i zgonu.** Ze względu na fakt, że zmniejszenie immunogenności UBC obserwowaliśmy w guzach NDN > 0, **zasugerowaliśmy, że zmiana immunogenności UBC może być związana**

z rozwojem utkania nieklasycznego. Zauważyliśmy także, że wartość poziomu Treg-post do 2%, w naszej populacji badanej związana ze zgonem pacjentów, i najprawdopodobniej jest wykładnikiem **silnej tolerancji immunologicznej** na antygeny UBC.

Oryginalne osiągnięcie:

1. **Zdefiniowanie faz rozwoju UBC: wczesnej**, określonej zaawansowaniem pTa-pT1, agresywniejszym typem inwazji (TIT) i ekspresją RCAS1, oraz **późnej**, określonej przez zaawansowanie pT2-4, rozsiew do węzłów chłonnych (pN) i rozwój różnicowania nieklasycznego (NDN).
2. Sformułowanie obserwacji, że **wysoka immunogenność UBC w pierwszej fazie rozwoju** (wysoki poziom TILs), jest związana z wyższym poziomem Tregs, najprawdopodobniej wyciszających antynowotworową odpowiedź immunologiczną.
3. Sformułowanie obserwacji, że **późna faza rozwoju UBC** jest najprawdopodobniej związana z **uzyskaniem przez komórki guza statusu mniejszej immunogenności**, z którą następnie związany jest wzrost ryzyka rozsiewu i zgonu.
4. Sformułowanie obserwacji, że **zmiana immunogenności UBC jest związana z rozwojem utkania nieklasycznego**.
5. Sformułowanie obserwacji, że **niski odsetek Treg** (w naszym badaniu do 2%) po cystektomii, może być **wykładnikiem silnej tolerancji immunologicznej** wobec komórek nowotworowych UBC.
6. **Niski odsetek Tregs** w późnej fazie rozwoju guza, któremu towarzyszy słaba antynowotworowa odpowiedź immunologiczna (**niski poziom TILs**), jest **nowym, ważnym, czynnikiem prognostycznym UBC**. W naszym badaniu pacjenci z najniższym poziomem Tregs po cystektomii zmarli jako pierwsi.

#### **4.3.6 Publikacja 5: Changes in immunogenicity during the development of urinary bladder cancer: a preliminary study. Int. J. Mol. Sci. 2016, 17(3), 285**

Obserwacje poczynione w **publikacji 4**, dotyczące zmian w zakresie odsetka komórek T regulatorowych we krwi obwodowej (Tregs), liczby komórek efektorowych w obrębie guza nowotworowego (TILs), z sugestią zmian immunogenności raka urotelialnego pęcherza moczowego i rozwoju tolerancji immunologicznej w późniejszej fazie rozwoju guza, skłoniły mnie do zaplanowania badania, które mogłoby odpowiedzieć na pytanie: Czy w trakcie

rozwoju UBC następuje rzeczywista zmiana immunogenności guza? W dostępnej literaturze światowej nie znalazłem opracowań na ten temat. Celem badania była ocena korelacji pomiędzy obecnością naciekających guz limfocytów (TILs) o fenotypie CD4+, CD8+, CD20+, CD25+ i FoxP3+ a histoklinicznymi wykładnikami złośliwości (zaawansowanie pT, NDN, TIT, pN i ryzyko zgonu pacjenta) oraz z poziomem Tregs we krwi obwodowej, z uwzględnieniem wczesnej i późnej fazy rozwoju UBC. Założyłem, że analiza wskazanych parametrów pozwoli przewidywać zmianę immunogenności UBC. Wykazaliśmy, że niska liczba CD4+ TILs jest związana ze złą prognozą. Liczba komórek efektorowych CD4+ i CD8+ TILs, odpowiedzialnych za antynowotworową odpowiedź układu immunologicznego, była znamienne niższa w późnej fazie rozwoju guza oraz w UBC, w których rozwijało się różnicowanie nieklasyczne (NDN > 0). Również poziom Tregs we krwi obwodowej był niższy w guzach bardziej zaawansowanych. Komórek efektorowych było znamienne mniej w guzach o bardziej agresywnym typie inwazji (TIT) i w guzach przerzutujących. **Na podstawie uzyskanych danych stwierdziliśmy, że odpowiedź antynowotworowa zależy od zaawansowania guza i jest mniej efektywna w guzach bardziej zaawansowanych.** Niski poziom Tregs we krwi oraz w obrębie guza (TILs) **w późnej fazie rozwoju**, przemawia za istnieniem **innego mechanizmu supresyjnego**, w którym Tregs mają mniejsze znaczenie. Niskie wartości Tregs oraz TILs w późnej fazie rozwoju UBC mogą sugerować rozwój **lokalnej tolerancji immunologicznej na antygeny guza**, co prowadzi do agresywniejszej inwazji i przerzutowania. Stwierdziliśmy także, że rozwój różnicowania nieklasycznego (NDN) związany jest z wysokim ryzykiem przerzutów i złej prognozy w rakach bardziej zaawansowanych (późnej fazy rozwoju guza). Sformułowaliśmy tezę, że spadek immunogenności UBC może być związany z rozwojem nieklasycznego różnicowania, zwłaszcza, że znamienne niskie liczby komórek efektorowych obserwowaliśmy w guzach NDN > 0. Według doniesień innych autorów układ immunologiczny rozwija odpowiedź antynowotworową lub tolerancję immunologiczną w zależności od ilości antygenów nowotworowych oraz od sposobu w jaki są prezentowane. Sformułowaliśmy koncepcję, że **wielokierunkowe różnicowanie UBC może być odzwierciedleniem podobnego procesu, w którym z rozwój nieklasycznego różnicowania indukuje rozwój tolerancji immunologicznej wobec fenotypowo specyficznym antygenom UBC, np. płaskonabłonkowym, gruczołowym, jasnokomórkowym, wielkokomórkowym, plasmocytoidnym, limfocytoidnym, sarkomatoidnym, różnicującym się w tzw. różnicowaniu nieklasycznym.** Poczynione obserwacje sugerują dostosowanie terapii

opartych o regulację aktywności systemu immunologicznego do fazy rozwoju UBC. **Terapie wyciszające supresorowy wpływ na układ immunologiczny, z użyciem leków anti-Treg, powinny być rozważane wówczas, gdy poziomy Tregs są najwyższe, a guz demonstruje niską ekspresję histoklinicznych wykładników złośliwości: (pT1-pT2, różnicowanie klasyczne (NDN= 0), mniej agresywny typ inwazji (TIT), brak przerzutów (pN = 0) z wysokimi szansami na długie przeżycie. Z kolei początkowa terapia UBC z niską liczbą TILs, dużym zaawansowaniem (pT3-pT4), z obecnością różnicowania nieklasycznego (NDN > 0), z obecnością agresywnych typów inwazji i przerzutów, z wysokim ryzykiem zgonu, powinna być ukierunkowana na przerwanie tolerancji immunologicznej wobec antygenów nowotworowych, umożliwiając układowi immunologicznemu skuteczną odpowiedź.**

Oryginalne osiągnięcie:

1. Sformułowanie wniosku, że **antynowotworowa odpowiedź układu immunologicznego zależy od fazy rozwoju UBC i jest mniej efektywna w późnej fazie (zaawansowanie pT3-pT4, obecność różnicowania nieklasycznego (NDN > 0), obecność agresywnych typów inwazji, przerzutów oraz wysokie ryzyko zgonu).**
2. Sformułowanie tezy, że w późniejszej fazie rozwoju UBC podstawowym mechanizmem supresji układu immunologicznego jest **rozwój tolerancji immunologicznej wobec guza.**
3. Sformułowanie tezy, że **w powstawaniu tolerancji immunologicznej wobec UBC może mieć udział rozwój różnicowania nieklasycznego (NDN), w czasie którego najprawdopodobniej dochodzi do oryginalnej prezentacji antygenów nowotworowych.**
4. Sformułowanie wniosku o konieczności dostosowania strategii terapeutycznych do fazy rozwoju UBC. **Terapie wyciszające supresorowy wpływ Tregs na układ immunologiczny, z użyciem leków anti-Treg, powinny być rozważane wówczas, gdy poziomy Tregs są najwyższe, a guz demonstruje słabą manifestację histoklinicznych wykładników złośliwości. W późnej fazie rozwoju guza, początkowa terapia UBC z niską liczbą TILs i silną manifestacją histoklinicznych wykładników złośliwości, powinna być ukierunkowana na przerwanie tolerancji immunologicznej wobec antygenów nowotworowych i umożliwienie układowi immunologicznemu wyprowadzenia skutecznej odpowiedzi.**

#### 4.3.7 Podsumowanie



**A. Wartość merytoryczna osiągnięcia**

Przedstawione osiągnięcie naukowe polega na uzyskaniu oryginalnej wiedzy, z zakresu podstawowej wiedzy medycznej, dotyczącej procesu kształtowania biologicznej złośliwości raka urotelialnego pęcherza moczowego (UBC).

Pozyskano wiedzę o tym, że:

- (1) Różnicowanie nieklasyczne oceniane autorskim parametrem NDN [Publikacja 1] oraz autorskim parametrem typu inwazji tkankowej TIT [Publikacja 2, Publikacja 3], są wiarygodnymi i informatywnymi wykładnikami histologicznej złośliwości UBC, obok powszechnie uznanych: G, pT, pN.
- (2) Autorskie zdefiniowanie obszarów o zróżnicowanym tempie wzrostu, z pomocą indeksu mitotycznego, jako CP - część centralną, o mniejszej i BP - część obwodową, o większej aktywności mitotycznej, pozwala lepiej ocenić warunki ucieczki UBC z pod nadzoru immunologicznego [Publikacja 3] oraz wykładniki histologicznej złośliwości w korelacji z aktywnością układu immunologicznego określonego przez poziomy Tregs we krwi obwodowej oraz liczbę limfocytów naciekających guz TILs [Publikacja 4, Publikacja 5]
- (3) Autorskie zdefiniowanie wczesnej i późnej fazy rozwoju UBC, w oparciu o dynamikę manifestacji histoklinicznych wykładników złośliwości, pozwala lepiej ocenić wpływ aktywności układu immunologicznego określonego przez poziomy Tregs we krwi obwodowej oraz liczbę limfocytów naciekających guz TILs na dynamikę rozwoju i progresję złośliwości guza. [Publikacja 4, Publikacja 5]
- (4) Złośliwość UBC jest wypadkową molekularnych uwarunkowań komórek nowotworowych i mikrośrodowiska guza [Publikacja 2, Publikacja 3] oraz aktywności układu immunologicznego [Publikacja 4, Publikacja 5]
- (5) Uzyskanie przez komórki UBC fenotypu komórek macierzystych z ekspresją RCAS1, dynamizuje wykładniki histologicznej złośliwości: pT, G, TIT i NDN oraz wyprzedza kolejne stadia progresji guza. [Publikacja 2]
- (6) Ucieczka UBC z pod nadzoru immunologicznego dokonuje się w obszarach guza o większej aktywności mitotycznej (BP). [Publikacja 3]

- (7) Manifestacja histoklinicznych wykładników złośliwości UBC ma najprawdopodobniej różne podłoże sygnałowe z udziałem RCAS1, tj. z komórek nowotworowych (pT, pN oraz przeżycie wolne od przerzutów) i komórek mikrośrodowiska guza CAFs i TAMs (G, TIT i NDN). [Publikacja 3]
- (8) Wyższe poziomy Tregs we wczesnej fazie rozwoju UBC są najprawdopodobniej wymuszone koniecznością wyciszenia antynowotworowej odpowiedzi układu immunologicznego wobec wysoko immunogennego guza. [Publikacja 4] Mniejsza immunogenność guza w późniejszej fazie rozwoju
- (9) Mniejsza immunogenność w późniejszej fazie rozwoju UBC, a co za tym idzie słabsza odpowiedź antynowotworowa układu immunologicznego, związana jest ze wzrostem ryzyka rozsiewu i zgonu [Publikacja 4, Publikacja 5],
- (10) Zmiana immunogenności UBC oraz rozwój tolerancji immunologicznej wobec guza są związane z rozwojem tkania nieklasycznego (NDN) [Publikacja 4, Publikacja 5]
- (11) Niski odsetek Treg (do 2%) po cystektomii, może być wykładnikiem obecności silnej tolerancji immunologicznej wobec komórek nowotworowych UBC [Publikacja 4]
- (12) W późniejszej fazie rozwoju UBC podstawowym mechanizmem supresji układu immunologicznego jest rozwój tolerancji immunologicznej wobec komórek nowotworowych UBC [Publikacja 5]

#### **B. Znaczenie praktyczne osiągnięcia**

- (1) Wyższy odsetek komórek nowotworowych o fenotypie komórek macierzystych powinien skłaniać do wyboru bardziej radykalnej terapii w przypadkach granicznych pTis-pT1 oraz pT1-pT2. [Publikacja 2]
- (2) Analiza ekspresji RCAS1 może umożliwić indywidualną prognozę w raku urotelialnym pęcherza moczowego, przez ocenę lokalnego statusu układu immunologicznego [Publikacja 3]
- (3) Niski odsetek Tregs w późnej fazie rozwoju guza, któremu towarzyszy słaba antynowotworowa odpowiedź immunologiczna (niski poziom TILs), jest nowym, ważnym, czynnikiem prognostycznym UBC. [Publikacja 4]

- (4) Fazowość rozwoju guza i związana z tym zmiana jego immunogenności oraz rozwój tolerancji immunologicznej uzasadniają ukierunkowanie terapii immunologicznych a/ na wyciszający supresorowy wpływ Tregs na układ immunologiczny, z użyciem leków anti-Treg, w sytuacji gdy poziomy Tregs są najwyższe, a guz demonstruje słabą manifestację histoklinicznych wykładników złośliwości (wczesna faza rozwoju guza) oraz /b/ na przerwanie tolerancji immunologicznej wobec antygenów nowotworowych i umożliwienie układowi immunologicznemu wyprowadzenia skutecznej odpowiedzi (późna faza rozwoju guza) [Publikacja 5]

### C. Wykorzystanie w przyszłości

- (1) Poczynione obserwacje uzasadniają podjęcie dalszych badań wyjaśniających wartość NDN, jako predyktora biologicznej złośliwości UBC, w szczególności rolę różnicowania nieklasycznego w mechanizmie powstawania tolerancji immunologicznej, w późnej fazie rozwoju guza.
- (2) Parametry NDN oraz TIT mogą być wykorzystane do dodatkowej oceny złośliwości UBC w badaniach klinicznych, szczególnie na etapie kwalifikacji pacjentów.
- (3) Zdefiniowanie Tregs oraz ognisk różnicowania nieklasycznego jako celów nowych terapii w raku urotelialnym pęcherza moczowego.

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

### 5.1 Najważniejsza tematyka pozostałych osiągnięć badawczych

Poza głównym tematem badań związanych z poszukiwaniem nowych czynników prognostycznych i predykcyjnych w raku urotelialnym pęcherza moczowego oraz z oceną kształtowania jego złośliwości, podejmowałem także współpracę w ramach innych programów badawczych, z których do najważniejszych należą:

1. Rola endokrynnego systemu witaminy D (receptora witaminy D<sub>3</sub>, enzymów metabolizujących witaminę D) oraz melanogenezy w patogenezie czerniaka złośliwego.
2. Standardy i strategie oznaczania mutacji somatycznych w genach KRAS, NRAS i EGFR w rakach jelita grubego i płuc.

3. Rola mikrośrodowiska procesu nowotworowego w rozwoju procesu nowotworowego.

5.2 Podsumowanie współczynnika oddziaływania IF, punktacji MNiSW oraz liczby publikacji w poszczególnych kategoriach

Łączny współczynnik oddziaływania dla wszystkich publikacji wynosi **IF = 92.007**, w tym **IF = 24.274** przypada na publikacje, w których jestem pierwszym autorem i **IF = 32.377**, w których jestem drugim autorem.

Suma punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wszystkich publikacji wynosi **MNiSW = 1090 pkt.**, w tym **MNiSW = 293 pkt.** przypada na publikacje, w których jestem pierwszym autorem i **MNiSW = 377 pkt.**, w których jestem drugim autorem.

Jestem autorem lub współautorem: a/ **48** oryginalnych publikacji naukowych, w tym **31** w czasopismach z listy filadelfijskiej (**IF = 89.165** i **MNiSW = 827 pkt.**) oraz **17** w czasopismach bez "impact factor" (**MNiSW = 104 pkt.**), b/ **4** opisów przypadków, w tym **3** w czasopismach z "impact factor" (**IF = 2.490** i **MNiSW = 55 pkt.**) oraz **1** w czasopiśmie bez "impact factor" (**MNiSW = 2 pkt.**), c/ **1** pracę poglądową w czasopiśmie "bez impact factor", d/ **19** rozdziałów w podręcznikach, w tym **14** w zagranicznych (**MNiSW = 73 pkt.**) oraz **5** w krajowych (**MNiSW = 10 pkt.**), e/ **6** referatów zjazdowych, w tym **1** międzynarodowy (**MNiSW = 3 pkt.**) oraz **5** krajowych, f/ **99** streszczeń zjazdowych, w tym **28** ze zjazdów międzynarodowych oraz **71** ze zjazdów krajowych, g/ **4** publikacji pełnotekstowych w suplementach czasopism, w tym **1** w czasopiśmie z "impact factor" (**IF = 0.352** i **MNiSW = 10 pkt.**) oraz **3** w czasopismach bez "impact factor" (**MNiSW = 6 pkt.**).

Szczegółowa lista publikacji i analiza bibliometryczna przygotowana przez Bibliotekę Medyczną Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy przedstawiona jest w odrębnym dokumencie.

*Wojciech Józwicki*