

AUTOREFERAT

dr Anna Supernat

Zakład Onkologii Translacyjnej
Gdański Uniwersytet Medyczny
Gdańsk 2022

1. Imię i nazwisko:

Anna Supernat

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

- 2015 tytuł doktora nauk chemicznych w dziedzinie biochemii; Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, praca doktorska pt. „Analiza wybranych markerów nowotworowych w raku trzonu macicy” (Katedra Biotechnologii Medycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny), promotor: prof. dr hab. Jacek Bigda; promotor pomocniczy: prof. dr hab. Anna Żaczek
- 2010 dyplom Międzywydziałowych Studiów Podyplomowych „Współczesne Metody Analityki z Elementami Diagnostyki Molekularnej” przy Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego i Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
- 2009 tytuł magistra na kierunku biotechnologia, Studia magisterskie uzupełniające na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, praca magisterska pt. „Ocena częstości występowania wybranych mutacji genu *APOB* związanych z hipercholesterolemią rodzinną w polskiej populacji” (Katedra i Zakład Biologii i Genetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny), promotor: prof. dr hab. Janusz Limon
- 2007 tytuł licencjata na kierunku biotechnologia, studia licencjackie na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, praca licencjacka pt. „Badania funkcjonalne genu LDLR” (Katedra i Zakład Biologii i Genetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny), promotor: prof. dr hab. Bartosz Wasąg

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

Od 2020 Koordynator Centrum Analiz Biostatystycznych i Bioinformatycznych, Gdański Uniwersytet Medyczny

- 2019 Genetyk Analityczny w firmie MNM Diagnostics, Poznań
- Od 2018 Ekspert Narodowego Centrum Badań i Rozwoju
- Od 2016 Adiunkt w Zakładzie Onkologii Translacyjnej, Instytut Biotechnologii Medycznej i Onkologii Doświadczalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny
- 2015-2016 Pracownik naukowy (postdoc) w Laboratorium Genomiki Funkcjonalnej Raka Jajnika, Instytut w Cambridge, Cancer Research UK, należącym do Uniwersytet w Cambridge (Wielka Brytania)
- 2014-2015 Asystent w Katedrze Biotechnologii Medycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny
- 2014-2019 Współwłaściciel Biovento Sp. z o.o. (Gdański Park Naukowo-Technologiczny, Gdańsk, Polska)
- 2011-2013 Właściciel firmy biotechnologicznej BIOCRYSTAL (Pomorski Park Naukowo-Technologiczny, Gdynia, Polska)
- 2008 Staż Erasmus w laboratorium diagnostycznym Lionex w Brunzwiku (Niemcy)
- 2007 Staż studencki w laboratorium mikrobiologicznym BRUSS w Gdyni (Polska)

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej:

Osiągnięcie naukowe wynikające z 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce stanowi cykl 6 powiązanych tematycznie publikacji dotyczących pogłębionej analizy i interpretacji wyników sekwencjonowania guzów pierwotnych oraz płynnych biopsji u chorych onkologicznych ze szczególnym uwzględnieniem raka jajnika. Prace te, publikowane w latach 2021-2023, są rezultatem współpracy z zagranicznymi zespołami badawczymi.

H-Index (według Scopus // Web of Science, stan na 13.06.2023r.): **13 // 12**

Liczba cytowań, bez autocytowań (według Scopus // Web of Science, stan na 13.06.2023r.):
1007 // 966

Całkowity dorobek Impact Factor (z wyłączeniem publikacji wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego): **130,611**

Sumaryczny Impact Factor osiągnięcia naukowego: **45,921**

Łączna liczba punktów MNiE prac składających się na osiągnięcie (według załącznika do komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 31 lipca 2019 r.): **840**

a) tytuł osiągnięcia naukowego:

Pogłębiona diagnostyka pacjentów onkologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem nowotworów ginekologicznych, w oparciu o metody wysokoprzepustowego sekwencjonowania płynnych biopsji i uczenie maszynowe.

b) publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

4.1. **Supernat A (autor korespondencyjny)**, Popęda M, Pastuszak K, Best MG, Grešner P, Veld SI', Siek B, Bednarz-Knoll N, Rondina MT, Stokowy T, Wurdinger T, Jassem J, Żaczek AJ. Transcriptomic landscape of blood platelets in healthy donors. Sci Rep. 2021 Aug 3;11(1):15679. doi: 10.1038/s41598-021-94003-z. PMID: 34344933 [IF=4,997, MEiN=140, Q1].

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: zaproponowaniu hipotezy badawczej, zaprojektowaniu koncepcji pracy, doborze zespołu projektowego składającego się z interdyscyplinarnej grupy specjalistów, zaplanowaniu eksperymentów, interpretacji wyników, pisaniu manuskryptu, aktywnym udziale w odpowiadaniu na zarzuty recenzentów oraz zdobyciu finansowania na badania.

4.2. Pastuszak K*, **Supernat A* (*równy wkład pracy, autor korespondencyjny)**, Best MG, In 't Veld SGJG, Łapińska-Szumczyk S, Łojkowska A, Różański R, Żaczek AJ, Jassem J, Wurdinger T, Stokowy T. imPlatelet classifier: image-converted RNA biomarker profiles enable blood-based cancer diagnostics. Mol Oncol. 2021 Oct;15(10):2688-2701. doi: 10.1002/1878-0261.13014. Epub 2021 Jun 20. PMID: 34013585 [IF=7,449, MEiN=140, Q1].

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: zbieraniu materiału do badań, obróbce krwi, tworzeniu kliniczno-patologicznej bazy chorych, zaproponowaniu hipotezy badawczej, złożeniu zespołu projektowego składającego się z interdyscyplinarnej grupy specjalistów, planowaniu eksperymentów, projektowaniu koncepcji pracy, interpretacji wyników,

wizualizacji wyników, pisaniu manuskryptu, aktywnym udziale w odpowiadaniu na zarzuty recenzentów, zdobyciu finansowania na badania.

4.3. Gao Y, Liu CJ, Li HY, Xiong XM, Li GL, In 't Veld SGJG, Cai GY, Xie GY, Zeng SQ, Wu Y, Chi JH, Liu JH, Zhang Q, Jiao XF, Shi LL, Lu WR, Lv WG, Yang XS, Piek JMJ, de Kroon CD, Lok CAR, **Supernat A**, Łapińska-Szumczyk S, Łojkowska A, Żaczek AJ, Jassem J, Tannous BA, Sol N, Post E, Best MG, Kong BH, Xie X, Ma D, Wurdinger T, Guo AY, Gao QL. Platelet RNA enables accurate detection of ovarian cancer: an intercontinental, biomarker identification study. *Protein Cell*. 2022 Nov 10;pwac056. doi: 10.1093/procel/pwac056. Online ahead of print. PMID: 36905391 [IF=15,328, MEiN=140, Q1].

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: zbieraniu materiału klinicznego do badań, obróbce krwi, tworzeniu kliniczno-patologicznej bazy chorych, interpretacji wyników, wprowadzaniu poprawek do manuskryptu oraz zdobyciu finansowania na badania.

4.4. Łukasiewicz M, Pastuszak K, Łapińska-Szumczyk S, Różański R, Veld SGJGI', Bieńkowski M, Stokowy T, Ratajska M, Best MG, Wurdinger T, Żaczek AJ, **Supernat A***, Jassem J* (***równy wkład pracy, autor korespondencyjny**). Diagnostic Accuracy of Liquid Biopsy in Endometrial Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021 Nov 16;13(22):5731. doi: 10.3390/cancers13225731. PMID: 34830891 [IF=4,997, MEiN=140, Q1].

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: zaproponowaniu hipotezy badawczej, zaprojektowaniu koncepcji pracy, złożeniu zespołu projektowego składającego się z interdyscyplinarnej grupy specjalistów, zaplanowaniu eksperymentów, zbieraniu materiału do badań, tworzeniu kliniczno-patologicznej bazy chorych, wykonywaniu eksperymentów, interpretacji wyników, pisaniu manuskryptu, aktywnym udziale w odpowiadaniu na zarzuty recenzentów oraz zdobyciu finansowania na badania.

4.5. Cygert S, Pastuszak K, Górski F, Sieczczyński M, Juszczyk P, Rutkowski A, Lewalski S, Różański R, Jopek MA, Jassem J, Czyżewski A, Wurdinger T, Best MG, Żaczek AJ, **Supernat A (autor korespondencyjny)**. Platelet-Based Liquid Biopsies through the Lens of Machine Learning. *Cancers (Basel)*. 2023 Apr 17;15(8):2336. doi: 10.3390/cancers15082336. PMID: 37190262; PMCID: PMC10136732.

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: zbieraniu materiału do badań, obróbce krwi, tworzeniu kliniczno-patologicznej bazy chorych, zaproponowaniu hipotezy badawczej, złożeniu zespołu projektowego składającego się z interdyscyplinarnej grupy specjalistów, planowaniu eksperymentów, projektowaniu koncepcji pracy, interpretacji wyników, wizualizacji wyników, pisaniu manuskryptu, aktywnym udziale w odpowiadaniu na zarzuty recenzentów, zdobyciu finansowania na badania.

4.6. Duchnowska R, **Supernat A**, Pęksa R, Łukasiewicz M, Stokowy T, Ronen R, Dutkowski J, Umińska M, Iżycka-Świeszewska E, Kowalczyk A, Och W, Rucińska M, Olszewski WP, Mandat T, Jarosz B, Bieńkowski M, Biernat W, Jassem J. Pathway-level mutation analysis in primary high-grade serous ovarian cancer and matched brain metastases. *Sci Rep.* 2022 Nov 29;12(1):20537. doi: 10.1038/s41598-022-23788-4. PMID: 36446793 [IF=4,997, MEiN=140, Q1].

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: optymalizacji protokołów laboratoryjnych, izolacji DNA z materiału klinicznego, koordynowaniu procesu sekwencjonowania całego egzomu, analizie i interpretacji danych, wizualizacji danych, pisaniu manuskryptu oraz zdobyciu finansowania na badania.

W pracach zawarto wyniki uzyskane podczas realizacji działania badawczego MINIATURA Narodowego Centrum Nauki (nr umowy UMO-2018/02/X/NZ5/01408), grantu badawczego SONATA Narodowego Centrum Nauki (nr umowy UMO-2018/31/D/NZ5/01263) oraz grantu badawczo-rozwojowego LIDER Narodowego Centrum Nauki i Rozwoju (nr umowy (LIDER/14/0059/L-11/19/NCBR/2020), kierowanych przez habilitantkę.

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

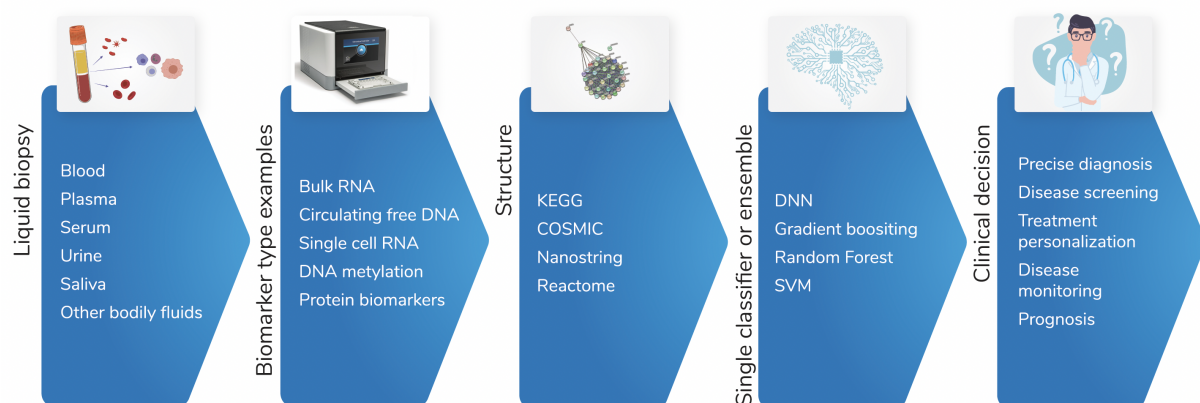
Wstęp

Chociaż wskaźniki śmiertelności z powodu nowotworów spadają dzięki postępowi medycyny, zachorowalność na wiele nowotworów, w tym raka piersi, prostaty czy trzonu macicy sukcesywnie się zwiększa [1]. Aby jeszcze skuteczniej leczyć nowotwory, konieczna jest wcześniejsza diagnostyka, spersonalizowana terapia, a także efektywne monitorowanie efektów leczenia. Powyższe problemy można częściowo rozwiązać, wprowadzając nowoczesne metody analizy materiału od pacjenta, w postaci wysokoprzepustowego sekwencjonowania guzów pierwotnych, a także poprzez zastosowanie testów opartych na płynnych biopsjach, tj. próbkach płynów ustrojowych, przede wszystkim krwi, pobranych od chorego w nieinwazyjny sposób.

W ciągu ostatniej dekady płynne biopsje zyskały duże zainteresowanie jako potężne narzędzie w medycynie spersonalizowanej, ponieważ umożliwiają one monitorowanie rozwoju choroby, tj. obserwację pacjentów w czasie rzeczywistym, a także ocenę rokowania chorych. Dzięki minimalnie inwazyjnym procedurom, płynna biopsja dostarcza ważnych informacji nt. m.in. krążącego DNA guza (ang. ctDNA, *circulating tumor DNA*) czy transkryptomu płytek edukowanych przez nowotwór (ang. TEPs, *Tumor Educated Platelets*).

Analiza płynnych biopsji może też być stosowana do wykrywania minimalnej choroby resztkowej (ang. MRD, *Minimal Residual Disease*), doboru leczenia, a ostatnie dane wskazują również na jej potencjał we wczesnej diagnostyce raka, umożliwiającą szybsze wykrycie nowotworów [2].

Kluczową zaletą płynnych biopsji i sekwencjonowania jest to, że mogą one stanowić nieinwazyjną alternatywę dla tradycyjnych biopsji tkanek. Biopsje tkanek wymagają inwazyjnych procedur, mogą być bolesne i niosą ze sobą ryzyko powikłań, podczas gdy biopsje płynne można wykonać podczas standardowej morfologii krwi. To sprawia, że płynne biopsje mogą być bardziej dostępne dla pacjentów, którzy w przeciwnym razie nie mogliby się poddać zabiegom lub badaniom o wyższym stopniu inwazyjności. Taka pogłębiona morfologia, jaką jest sekwencjonowanie materiału od chorego, może być wspomagana zaawansowanymi metodami obliczeniowymi i modelami uczenia maszynowego (**Rycina 1**) i ma szansę znacząco wesprzeć praktykę kliniczną w przyszłości.



Rycina 1 Ogólny schemat przedstawiający koncepcję prowadzonych przez wnioskodawcę prac badawczych. Po pobraniu płynnej biopsji (krok 1) analizowane są krążące biomarkery przy użyciu najnowszej dostępnej wysokoprzepustowej technologii sekwencjonowania (krok 2); następnie wygenerowane dane odnoszone są do struktury biologicznej – np. publicznie dostępnego repozytorium (krok 3); wybierany jest optymalny protokół klasyfikacji, bądź analizy, dostosowanej do big data (krok 4); ostatecznie wynik klasyfikatora może zostać wykorzystywany przez klinicystę (krok 5). DNN – głęboka sieć neuronowa (deep neural network); SVM – maszyna wektorów nośnych (support vector machine) [rycina wykonana przez firmę Projektowanie Graficzne Grzegorz Kreft na zlecenie Anny Supernat].

Wyzwania pojawiające się w onkologii wymagają czułych, dogłębnych metod analitycznych. Właśnie dlatego w Zakładzie Onkologii Translacyjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, podczas prac laboratoryjnych, których wyniki zostały opublikowane w manuskryptach wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego, wykorzystano następujące metody wysokoprzepustowe: sekwencjonowanie RNA w trybie „bulk” (płytki krwi TEPs), sekwencjonowanie krążącego DNA guza (ctDNA) w oparciu o panel wybranych genów,

sekwencjonowanie DNA guza pierwotnego w oparciu o panel wybranych genów. Sekwencjonowanie objęło materiał pochodzący od chorych na nowotwory ginekologiczne (raka jajnika, raka trzonu macicy), ale także od chorych cierpiących na inne nowotwory, np. na raka piersi, raka jelita grubego, niedrobnokomórkowego raka płuca, raka trzustki, raka prostaty, glejaka czy mięsaka. Kontrolę stanowili zdrowi ochotnicy, a także pacjenci cierpiący na choroby nienowotworowe (hab. choroby neurodegeneracyjne, nadciśnienie).

Tematyka moich prac badawczych, prowadzonych w latach 2016-2023, inspirowana była rocznym stażem w Cancer Research UK, Cambridge Institute, University of Cambridge (Cambridge, Wielka Brytania). Rzeczony staż umożliwił mi pogłębienie wiedzy na temat biologii raka jajnika, a także nawiązanie współpracy z Cancer Center Amsterdam, University Medical Center Amsterdam (Holandia) i skupienie się na płynnych biopsjach w raku jajnika ze szczególnym uwzględnieniem płytek edukowanych przez nowotwór. Prowadzone badania były dodatkowo wspierane przez Specjalistów z kierowanego przeze mnie Centrum Analiz Biostatystycznych i Bioinformatycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Badania zawarte w cyklu sześciu publikacji prowadzono we współpracy z następującymi ośrodkami:

- Department of Neurosurgery, Brain Tumor Center Amsterdam, Cancer Center Amsterdam, Amsterdam UMC, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands (prof. Thomas Würdinger, dr Myron G. Best, Sjors In 't Veld)
- University of Utah Molecular Medicine Program, Salt Lake City, UT, USA (prof. Matthew T. Rondina).
- Department of Clinical Science, University of Bergen, Norway (dr hab. inż. Tomasz Stokowy).
- Department of Gynecological Oncology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, China (dr Yue Gao, Prof. Quing-Lei Gao, Prof. An-Yuan Gao).
- Katedra i Klinika Onkologii i Radioterapii, Gdański Uniwersytet Medyczny (prof. Jacek Jassem)
- Katedra i Zakład Patomorfologii, Gdański Uniwersytet Medyczny (dr Michał Bienkowski, dr Rafał Pęksa),
- Katedra Ginekologii, Położnictwa i Neonatologii (dr Sylwia Łapińska-Szumczyk)
- Zakład Historii i Filozofii Nauk Medycznych, Gdański Uniwersytet Medyczny (dr Bartłomiej Siek)
- Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny (dr hab. Magda Ratajska)
- Katedra algorytmów i modelowania systemów, Wydział Elektroniki, Telekomunikacji i Informatyki, Politechnika Gdańska (mgr inż. Krzysztof Pastuszak)

- Katedra systemów multimedialnych, Wydział Elektroniki, Telekomunikacji i Informatyki, Politechnika Gdańska (dr inż. Sebastian Cygert, prof. Andrzej Czyżewski)

Cel badań

Celem zasadniczym prowadzonych prac badawczych, przedstawionych w cyklu spójnych tematycznie publikacji była dogłębna diagnostyka materiału klinicznego, pobranego od chorych onkologicznych. Wykorzystane wysokoprzepustowe techniki biologii molekularnej były źródłem bardzo złożonych danych, typu *big data*, co wymusiło posłużenie się zaawansowanymi obliczeniowo modelami biostatystycznymi oraz algorytmami uczenia maszynowego. Dane pochodziły z eksperymentów wykorzystujących sekwencjonowanie DNA i RNA w płynnych biopsjach (lub guzach pierwotnych), pobranych od chorych na raka, pacjentów cierpiących na choroby nienowotworowe, a także od zdrowych ochotników, stanowiących punkt odniesienia do poczynionych obliczeń. Uzyskane wyniki umożliwiły wyjaśnienie zjawisk biologicznych leżących u podłoża chorób nowotworowych, torując drogę do możliwie precyzyjnej klasyfikacji i przez to dokładniejszej diagnostyki pacjentów onkologicznych w przyszłości.

Cele szczegółowe osiągnięcia habilitacyjnego przedstawiają się następująco i są szczegółowo omówione w podrozdziale „Wyniki”:

- a. Dogłębna analiza biostatystyczna transkryptomu płytek krwi u zdrowych ochotników (**praca 4.1**) prowadząca do zbudowania punktu referencyjnego, służącego stworzeniu wiarygodnych klasyfikatorów rozróżniających profil RNA chorych onkologicznych (**prace 4.2, 4.3, 4.4, 4.5**).
- b. Opracowanie klasyfikatora opartego o głębokie sieci neuronowe celem wykorzystania zaprojektowanego algorytmu uczenia maszynowego do detekcji raka jajnika i raka endometrium (**prace 4.2 i 4.4**)
- c. Weryfikacja użyteczności klinicznej profilowania TEPs u chorych na raka jajnika i chorych ze zmianami łagodnymi jajników w międzykontynentalnej kohorcie 761 przypadków w odniesieniu do rutynowo stosowanego markera CA-125 (**praca 4.3**)
- d. Wykorzystanie doświadczenia zdobytego w aplikacji modeli uczenia maszynowego w **pracach 4.2-4.4** do opracowania nowego, wydajnego obliczeniowo narzędzia do prostej klasyfikacji binarnej: „rak versus zdrowy”, w oparciu o dane pochodzące z 5 typów nowotworów (**praca 4.5**)
- e. Wykorzystanie zdrowych tkanek jajnika, guzów pierwotnych jajnika i guzów wtórnych do analizy profilu mutacyjnego u starannie wyselekcjonowanej grupy chorych na raka jajnika, które rozwinęły przerzuty do mózgu (**praca 4.6**);

Wykorzystana metodologia

Po stronie laboratoryjnej, w przedstawionym cyklu prac, wykorzystywałam metody badawcze takie jak sekwencjonowanie RNA płytek krwi w trybie „bulk sequencing”, sekwencjonowanie panelu wybranych genów w wolnokrążącym DNA guza i w leukocytach oraz sekwencjonowanie całego egzomu w tradycyjnych biopsjach. Dodatkowo, uzyskane wyniki zostały odniesione do publicznie dostępnych repozytoriów, gromadzących dane z sekwencjonowania DNA w guzach pierwotnych.

Z uwagi na złożoność uzyskanych wyników z sekwencjonowania oraz znacząco wysoką liczbę użytych próbek (płynne biopsje, N=2367; guzy pierwotne, N=519), w cyklu prac zastosowano szerokie spektrum metod obliczeniowych, wykorzystując zaawansowane metody statystyczne oraz wybrane modele uczenia maszynowego:

- Klasteryzacja bez nadzoru;
- Heatmapy;
- Annotacja do ścieżek sygnalizacyjnych (REACT, Reactome, KEGG, GO-BP);
- Lasy losowe;
- Maszyna wektorów nośnych;
- Głębokie sieci neuronowe;
- Konwolucyjne sieci neuronowe;
- Gradient boosting.

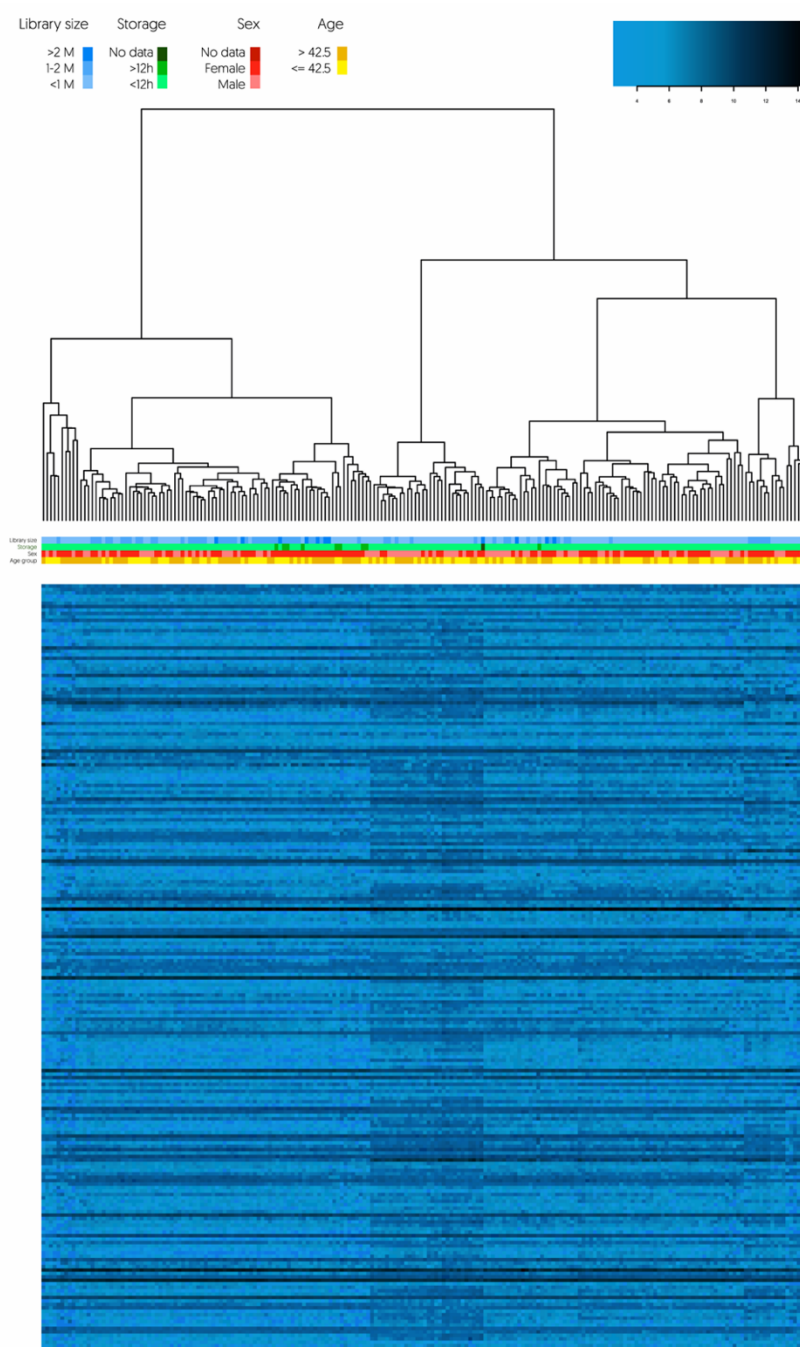
Wyniki

Choć nowotwory stanowią szczególnie trudne wyzwanie terapeutyczne, na szczególną uwagę zasługuje rak jajnika, cechujący się wysoką śmiertelnością. Nowotwór ten jest niebezpieczny, ponieważ często pozostaje niewykryty aż do osiągnięcia zaawansowanego stadium. W przeciwieństwie do innych rodzajów raka, rak jajnika zwykle nie powoduje żadnych charakterystycznych objawów we wczesnych stadiach. Objawy, takie jak wzdęcia, ból brzucha i trudności w jedzeniu, mogą być niejednoznaczne i łatwe do przeoczenia. Ponadto, jajniki znajdują się głęboko w jamie brzusznej, co utrudnia do nich dostęp podczas badania, przyczyniając się do jeszcze większych opóźnień w rozpoznaniu, co znacząco utrudnia leczenie [3].

Ad. a) Aby wesprzeć proces wcześniejszej diagnostyki raka jajnika w oparciu o płynne biopsje, a także zgłębić podłoże molekularne tego nowotworu, rozpoczęłam od przygotowania warsztatu badawczego. Pragnąc skupić na sekwencjonowaniu RNA płytek edukowanych przez nowotwór w przyszłych pracach, postanowiłam zbadać zawartość transkryptomiczną płytek u zdrowych ochotników, budując w ten sposób punkt referencyjny.

Wyniki tych analiz zostały zamieszczone w pracy **4.1: Supernat et al. | Transcriptomic landscape of blood platelets in healthy donors**. O ile wiadomym było, że zaburzony profil ekspresji jest powszechny w chorobach nowotworowych lub sercowo-naczyniowych, dane referencyjne dotyczące osób zdrowych były rzadkie lub oparte na niewielkiej liczbie próbek, przez co zasługiwały na kompleksowe zbadanie [4–7].

W pracy wykorzystano 204 próbki krwi pobrane od asymptomatycznych dawców. Profil ekspresji został zbadany w odniesieniu do wieku, płci, czasu przechowywania krwi, jakości skonstruowanych bibliotek, a także miejsca pobrania krwi, z uwagi na fakt, że badanie było wielośrodkowe (**Rycina 2**).



Rycina 2 Heatmapa przedstawiająca ekspresję 224 genów z co najmniej czterokrotnymi średnimi zmianami między dwoma grupami, ujawnionymi przez nienadzorowane klastrowanie hierarchiczne. Legenda kolorów wskazuje płeć, wiek, jednostkę pobierania krwi, czas przechowywania i wielkość biblioteki każdej próbki. Klastry przedstawiają znaczące podobieństwo pod względem ekspresji genów.

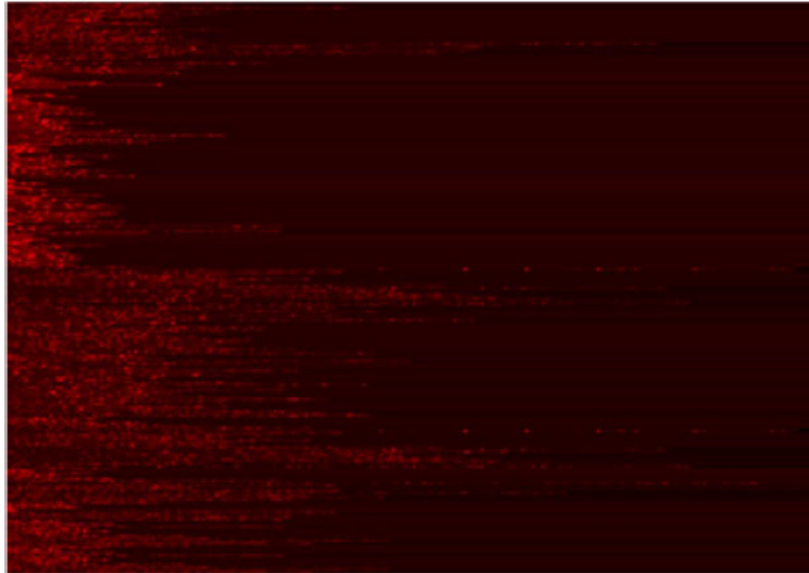
W toku prac eksperymentalnych wykazano, że geny *B2M*, *PPBP*, *TMSB4X*, *ACTB*, *FTL*, *CLU*, *PF4*, *F13A1*, *GNAS*, *SPARC*, *PTMA*, *TAGLN2*, *OAZ1* i *OST4* cechowały się najwyższą ekspresją w analizowanej kohorcie, wykazując spójność i pozostając na wysokim poziomie ekspresji u wszystkich dawców. Gen *CSF3R* ulegał nadekspresji u mężczyzn, a dychotomizacja kohorty według mediany wieku wykazała podwyższony poziom *KSRI* u osób starszych. Nienadzorowana klasteryzacja danych ujawniła dwie grupy donorów (**Rycina 2**), niezależne od wieku, płci, czasu przechowywania materiału, ośrodka zbierającego materiał czy jakości biblioteki. Gdy próbki były analizowane globalnie (jako wektory), wyżej wymienione czynniki wprowadzały pewien, aczkolwiek niewielki, stopień zmienności międzygrupowej i/lub wewnątrzgrupowej.

Poczynione analizy umożliwiły wykazanie, że transkryptom płytkowy zachowuje ogólną spójność, z bardzo nielicznymi wariantami splicingowymi odbiegającymi od powszechnego krajobrazu transkrypcyjnego. Chociaż analiza wielowymiarowa ujawniała statystycznie istotną zmienność między analizowanymi grupami, biologicznie, zmiany te były niewielkie i nieistotne z punktu widzenia klasyfikacji chorych zastosowanej w pracach **4.2**, **4.3**, **4.4** i **4.5**. Przedstawiona praca może stanowić punkt odniesienia dla badań dotyczących zarówno płytek krwi pobranych od zdrowych ochotników, jak i dla stanów patologicznych wpływających na płytkowy transkryptom. Choć przedmiot mojego osiągnięcia dotyczy nowotworów, nasz Zespół analizował także płytki w chorobach nienowotworowych, takich jak stwardnienie rozsiane, epilepsja czy nadciśnienie [8].

Ad. b) Wykonane w pracy **4.1** analizy umożliwiły wiarygodne opracowanie algorytmów uczenia maszynowego do publikacji **4.2**, **4.3**, **4.5** i **4.6**. Przedmiotem pracy **4.2: Pastuszak et al. | imPlatelet classifier: image-converted RNA biomarker profiles enable blood-based cancer diagnostics**. było opracowanie klasyfikatora imPlatelet, umożliwiającego diagnostykę nowotworu jajnika na podstawie profilu ekspresji RNA płytek. Do tej pory do klasyfikacji używano maszyny wektorów nośnych wspomaganą przez algorytm roju [4,8–10]. Klasyfikator opracowany przez nasz Zespół w Zakładzie Onkologii Translacyjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego najpierw przekształcał dane z sekwencjonowania na obrazki (**Rycina 3**), a następnie wykorzystywał głęboką sieć neuronową do oceny „rak jajnika” versus „zdrowy dawca”.

W pracy dodatkowo zastosowano selekcję ścieżek sygnalizacyjnych pozyskaną z Encyklopedii KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), umożliwiającą preselekcję cech branych do treningu. Klasyfikator rozróżniał przypadki nienowotworowe od

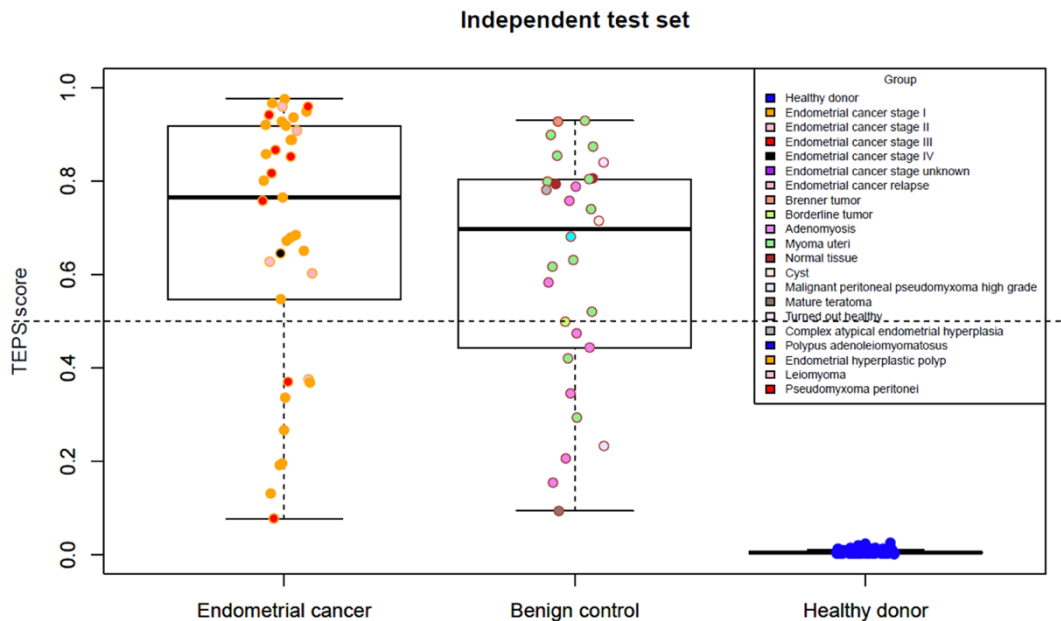
pacjentów z rakiem jajnika z dokładnością wahającą się od 0,91 do 0,95 w niezależnych zbiorach danych. Ważnym wnioskiem płynącym z pracy 4.2 był fakt, że wydajność imPlatelet znacznie przewyższała dotychczas opublikowane metody, a także nasze własne dotychczasowe próby klasyfikacji.



Rycina 3 Przykładowa próbka zsekwencjonowanych płytek krwi, należąca do zdrowego donora. Ekspresja RNA przekształcana jest na obrazy, gdzie każdy piksel reprezentuje inny gen, a intensywność koloru piksela odpowiada poziomowi ekspresji danego transkryptu. Przygotowane obrazki są następnie wykorzystywane przez głęboką sieć neuronową do predykcji „zdrowy” versus „rak”.

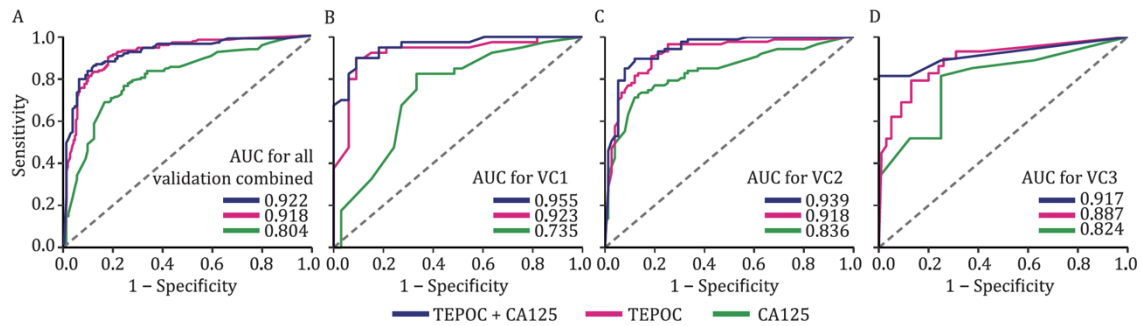
Bazując na warsztacie badawczym pracy 4.2, wykorzystując zdobytą w Wielkiej Brytanii wiedzę na temat krążącego DNA guza, a także opierając się na doświadczeniu z okresu realizacji pracy doktorskiej, zdecydowałam się również na analizę płynnych biopsji u chorych na raka endometrium. W manuskrypcie 4.4 **Łukasiewicz et al. | Diagnostic Accuracy of Liquid Biopsy in Endometrial Cancer** udało się połączyć analizę dwóch źródeł płynnej biopsji. Wykorzystując jedną próbkę krwi pełnej, badaliśmy użyteczność płytek krwi i ctDNA do, odpowiednio, przedoperacyjnej diagnostyki raka endometrium oraz określenia histologii nowotworu, która warunkuje postępowanie terapeutyczne. Obok danych z płynnych biopsji, wspieraliśmy się dodatkowo publicznie dostępnymi danymi obejmującymi sekwencjonowanie DNA z 519 próbek guza pierwotnego. O ile klasyfikator dedykowany płytkom osiągał skuteczność na poziomie 93,1% w zestawie testowym, rozróżnienie pomiędzy rakiem endometrium a łagodnymi schorzeniami ginekologicznymi okazało się zdecydowanie większym wyzwaniem, ze skutecznością wynoszącą 60,7% (**Rycina 4**).

Klasyfikator dedykowany do ctDNA rozróżniał próbki guza pierwotnego ze skutecznością 96,0%, a próbki krwi ctDNA ze skutecznością 69,8%. Kluczowym wnioskiem płynącym z badania był fakt, że płynne biopsje wykazują potencjał w diagnostyce raka endometrium. Zarówno profil TEPs, jak i profil mutacyjny ctDNA okazały się użytecznym źródłem wiedzy w zakresie oceny statusu choroby, przy czym konieczne są dalsze prace, oparte o większą liczbę próbek.



Rycina 4 Wykres pokazujący, z jakim prawdopodobieństwem próbka może być przypisana do kategorii „nowotwór”. O ile dyskryminacja pomiędzy chorą (endometrial cancer) a zdrowym ochotnikiem (healthy donor) ma wysoką skuteczność dyskryminacji, tak rozróżnienie chorych na raka endometrium od osób z nienowotworowym schorzeniem ginekologicznym (benign control) jest znacznie trudniejsze.

Ad. c) Równoległe do manuskryptu 4.2, współpracowaliśmy w ramach interkontynentalnego projektu, którego efektem była praca 4.3: **Gao et al. | Platelet RNA enables accurate detection of ovarian cancer: an intercontinental, biomarker identification study.** W manuskrypcie wykorzystaliśmy zsekwencjonowane RNA płytek zebranych od 761 wcześniej nieleczonych pacjentek szpitalnych z potwierdzonymi histologicznie guzami jajnika, a także 167 zdrowych osób z grupy kontrolnej. Chore rekrutowane były w dziewięciu ośrodkach medycznych w Chinach, Stanach Zjednoczonych i Europie. W pracy skupiliśmy się na porównaniu rutynowo stosowanego w diagnostyce i monitoringu nawrotów raka jajnika markera CA-125 z profilem transkryptomycznym TEPs. Dodatkowo, testowaliśmy kombinację obu tych podejść (**Rycina 5**). Udowodniliśmy, że płytki krwi są bardziej informatywne od obecnie stosowanych metod, przy czym najwyższą precyzję diagnostyczną osiąga się dzięki połączeniu obu markerów.



Rycina 5 Wyniki obrazujące wydajność profilowania TEPs, analizy biomarkera CA-125 oraz kombinacji obu tych biomarkerów (TEPOC – marker płytkowy; VC1 – validation cohort 1; VC2 – validation cohort 2; VC3 – validation cohort 3).

Dodatkową wartością pracy było włączenie do badanej kohorty chorych z innymi dolegliwościami ginekologicznymi, np. grupy pacjentek z endometriozą czy z guzami łagodnymi typu borderline. Pozwoliło to na pogłębioną analizę transkryptomu TEPs w odniesieniu chociażby do podejrzeń raka jajnika. Opracowana przez nas metoda wykazała się zadowalającą wiarygodnością, wysoką skutecznością, a także uniwersalnością stosowania w okresie przedoperacyjnym diagnozy raka jajnika. Udało nam się udowodnić wysoką skuteczność detekcji i zwalidować ją w populacjach różnych grup etnicznych, heterogennych histologicznie podtypach, a nawet we wczesnym stadium choroby. Co ważne, poczynione odkrycia zostały dodatkowo potwierdzone za pomocą niezależnej metody – RT-qPCR (*ang. Reverse Transcriptase quantitative Polymerase Chain Reaction*).

Ad. d) Ponieważ proces trenowania algorytmów uczenia maszynowego potrafi być bardzo obciążający obliczeniowo i czasochłonny, bazując na doświadczeniach zgromadzonych podczas realizacji prac 4.2-4.4, postanowiliśmy przetestować skuteczność innych podejść uczenia maszynowego niż stosowane wcześniej głębokie sieci neuronowe (klasyfikator imPlatelet; prace 4.2 i 4.4) czy podejście oparte o maszynę wektorów nośnych (klasyfikator thromboseq; prace naszych Współpracowników z UMC Amsterdam [4,8–10]).

Wiedząc, że walidacja zastosowań klinicznych płynnych biopsji jest ogromnym wyzwaniem, w pracy 4.5: **Cybert et al. | Platelet-Based Liquid Biopsies through the Lens of Machine Learning**, postanowiliśmy przetestować skuteczność naszych klasyfikatorów poprzez: i) wykorzystanie danych pochodzących od zdrowych ochotników i chorych reprezentujących 5 różnych typów raka; oraz ii) weryfikację tzw. *batch effect* wynikającego ze zbierania próbek przez różne ośrodki. W pracy skupiono się na prostej klasyfikacji binarnej („chory na raka” versus „zdrowy ochotnik”).

Skuteczność wykorzystanych klasyfikatorów (opartych o metody imPlatelet, ResNet-18 i Boosting) została zaprezentowana w **Tabeli 1**. Co ważne, skuteczność predykcji modeli

utrzymywała się na wysokim poziomie 0,9 również dla danych pochodzących z niezależnych szpitali.

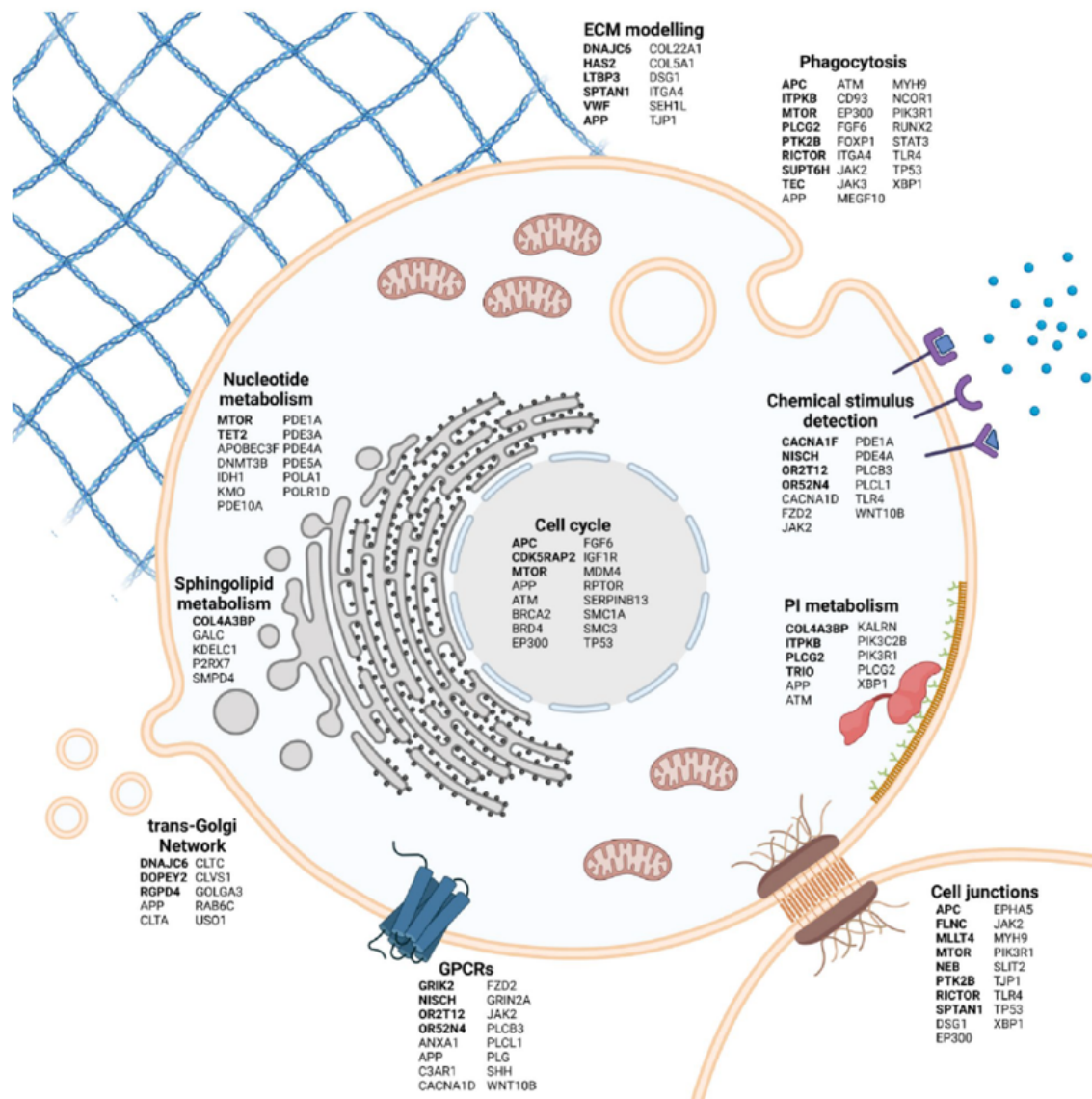
Tabela 1. Wyniki klasyfikacji binarnej „zdrowy ochotnik” versus „pacjent onkologiczny”. (zastosowane metryki: Val Bal. Acc. – zrównoważona skuteczność predykcji w zbiorze walidacyjnym; Test Bal. Acc. – zrównoważona skuteczność predykcji w zbiorze testowym; Val AUC – pole pod wykresem krzywej ROC w zbiorze walidacyjnym; Test AUC. – pole pod wykresem krzywej ROC w zbiorze testowym).

Model	Val Bal. Acc.	Test Bal. Acc.	Val AUC	Test AUC
imPlatelet	0.902	0.891	0.970	0.966
ResNet-18	0.898	0.883	0.957	0.950
Boosting	0.907	0.889	0.962	0.960

Na podstawie prac obliczeniowych poczynionych w pracy 4.5. wysnuliśmy wniosek, że wszystkie modele dawały porównywalne, wysokie wyniki predykcji „zdrowy” versus „chory”, przy czym model boosting wydał się wyborem optymalnym z uwagi na swą prostotę i mniejsze zapotrzebowanie obliczeniowe w porównaniu z sieciami neuronowymi. Co ważne, trenowanie modeli na innych szpitalach nie wpływało negatywnie na wynik predykcji w innych ośrodkach.

Ad. e) Kontynuacja prac nad podłożem molekularnym raka jajnika znalazła odzwierciedlenie w manuskrypcie 4.5: **Duchnowska et al. | Pathway-level mutation analysis in primary high-grade serous ovarian cancer and matched brain metastases.** Ponieważ przerzuty do mózgu są rzadkim zdarzeniem w raku jajnika, cechy molekularne guzów, które rzeczywiście mają tendencję do formowania ognisk w tym organie, są słabo poznane. Dlatego też zdecydowaliśmy się zsekwencjonować materiał pochodzący z guzów pierwotnych, przerzutów odległych, a także biopsji zdrowej tkanki jajnika. Materiał kliniczny, zgromadzony w postaci bloczków parafinowych, został poddany izolacji DNA, a następnie sekwencjonowaniu całego egzomu. Wnikliwa analiza mutacji zachodzących w komórkach nowotworowych pozwoliła na wyodrębnienie ścieżek sygnalizacyjnych, które ulegają zaburzeniu u chorych z przerzutami do mózgu.

Mutacje w DNA linii germinalnej stwierdzono w siedmiu przypadkach (70%). Dotyczyły one genów *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *RAD50*, *ERCC*, *RPA1*, *MLH1* i *ATR*. Mutacje somatyczne *TP53* stwierdzono w dziewięciu przypadkach (90%). Zakłócone ścieżki sygnalizacyjne w przerzutach odległych względem ogniska pierwotnego stanowiły złożoną sieć powiązań i obejmowały zjawiska takie jak cykl komórkowy, degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej, układ połączeń komórkowych, metabolizm nukleotydów, metabolizm lipidów, układ odpornościowy, receptory sprzężone z białkiem G czy wewnątrzkomórkowy transport pęcherzykowy (**Rycina 6**).



Rycina 6 Główne ścieżki sygnalizacyjne rozregulowane w komórkach nowotworowych pochodzących z przerzutów do mózgu. Rycina oparta o wyniki repozytoriów REACT, KEGG i GO-BP, przygotowana przez dr Michała Bieńkowskiego.

Kluczowym wnioskiem płynącym z pracy była konkluzja, że globalne podejście do analizy ścieżek sygnalizacyjnych pozwala na bardziej intuicyjną interpretację danych w porównaniu z rozważaniem aberracji pojedynczych genów, zapewniając tym samym możliwość identyfikowania istotnych klinicznie zmian w przerzutach do mózgu. Podejście oparte o analizę ścieżek sygnalizacyjnych zostało przez nas wykorzystane również w pracach 4.1, 4.2 i 4.4 i 4.5.

Najważniejsze wnioski pochodzące z cyklu publikacji:

- a. Transkryptom zdrowych dawców zachowuje wysoką stabilność. Choć zmienne takie jak wiek, płeć czy długość przechowywania próbek wprowadzają zmienność w ekspresji analizowanych transkryptów, biologicznie zmiany te można uznać za pomijalne w kontekście diagnostyki. Praca stanowi punkt referencyjny dla prac **4.2-4.5**.
- b. W toku prac skupionych na opracowaniu klasyfikatora imPlatelet udało się skutecznie rozróżnić chore na raka jajnika od zdrowych kontroli (praca **4.2**). Opracowany klasyfikator osiągał nieco niższą skuteczność w diagnostyce raka endometrium (praca **4.4**), co zostało potwierdzone również za pomocą klasyfikatora thromboSeq, opracowanego w Cancer Center Amsterdam [11].
- c. Połączenie profilowania RNA płytek z rutynowo stosowanym markerem CA-125 daje wysoką skuteczność predykcji klasyfikatora i może znaleźć zastosowanie w diagnostyce i monitorowaniu raka jajnika (praca **4.3**).
- d. Doświadczenie zdobyte podczas aplikacji modeli uczenia maszynowego w pracach **4.2-4.4** posłużyło opracowaniu nowego, wydajnego obliczeniowo narzędzia, opartego o metodę boosting, do prostej klasyfikacji binarnej: „rak versus zdrowy”, w oparciu o dane pochodzące z 5 typów nowotworów (**praca 4.5**)
- e. Analiza profilu mutacyjnego DNA guzów pierwotnych u wąskiej grupy chorych na raka jajnika, które rozwinęły przerzuty do mózgu (**praca 4.6**) pokazała, że globalne podejście do analizy ścieżek sygnalizacyjnych pozwala na bardziej intuicyjną interpretację danych w porównaniu z rozważaniem aberracji pojedynczych genów, zapewniając tym samym możliwość identyfikowania istotnych klinicznie zmian w przerzutach do mózgu.

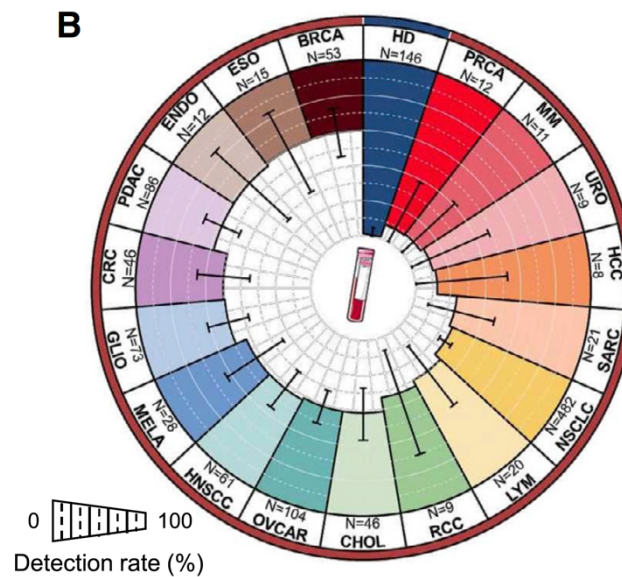
Opisany powyżej cykl publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe został także uzupełniony o dwa rozdziały napisane przez nasz Zespół na zamówienie Wydawnictwa PZWL. Książka zatytułowana „Nowoczesna diagnostyka w onkologii”, wydana w 2021 roku pod redakcją naukową dr n. med. Pauli Dobosz, zawiera rozdział „Precyzyjne zapobieganie i leczenie nowotworów – nowe wyzwania dla płynnych biopsji” autorstwa Marty Łukasiewicz, Anny Supernat i Anny J. Żaczek, a także rozdział „Sztuczna inteligencja w onkologii – nowe narzędzia do diagnostyki i medycyny spersonalizowanej” autorstwa Michała Żuka, Krzysztofa Pastuszaka oraz Anny Supernat. W międzyczasie, w ramach współpracy z UMC Amsterdam udało się opublikować kolejną pracę, której wyniki wpisują się tematycznie w cykl publikacji wymienionych w osiągnięciu habilitacyjnym:

In 't Veld SGJG, Arkani M, Post E, Antunes-Ferreira M, D'Ambrosi S, Vessies DCL, Vermunt L, Vancura A, Muller M, Niemeijer AN, Tannous J, Meijer LL, Le Large TYS, Mantini G, Wondergem NE, Heinhuis KM, van Wilpe S, Smits AJ, Drees EEE, Roos E, Leurs CE, Tjon Kon Fat LA, van der Lelij EJ, Dwarshuis G, Kamphuis MJ, Visser LE, Harting R, Gregory A, Schweiger MW, Wedekind LE, Ramaker J, Zwaan K, Verschueren H, Bahce I, de Langen AJ, Smit EF, van den Heuvel MM, Hartemink KJ, Kuijpers MJE, Oude

Egbrink MGA, Griffioen AW, Rossel R, Hiltermann TJN, Lee-Lewandrowski E, Lewandrowski KB, De Witt Hamer PC, Kouwenhoven M, Reijneveld JC, Leenders WPJ, Hoeben A, Verdonck-de Leeuw IM, Leemans CR, Baatenburg de Jong RJ, Terhaard CHJ, Takes RP, Langendijk JA, de Jager SC, Kraaijeveld AO, Pasterkamp G, Smits M, Schalken JA, Łapińska-Szumczyk S, Łojkowska A, Żaczek AJ, Lokhorst H, van de Donk NWCJ, Nijhof I, Prins HJ, Zijlstra JM, Idema S, Baayen JC, Teunissen CE, Killestein J, Besselink MG, Brammen L, Bachleitner-Hofmann T, Mateen F, Plukker JTM, Heger M, de Mast Q, Lisman T, Pegtel DM, Bogaard HJ, Jassem J, **Supernat A**, Mehra N, Gerritsen W, de Kroon CD, Lok CAR, Piek MJM, Steeghs N, van Houdt WJ, Brakenhoff RH, Sonke GS, Verheul HM, Giovannetti E, Kazemier G, Sabrkhany S, Schuurin E, Sistermans EA, Wolthuis R, Meijers-Heijboer H, Dorsman J, Oudejans C, Ylstra B, Westerman BA, van den Broek D, Koppers-Lalic D, Wesseling P, Nilsson RJA, Vandertop WP, Noske DP, Tannous BA, Sol N, Best MG, Wurdinger T. Detection and localization of early- and late-stage cancers using platelet RNA. *Cancer Cell*. 2022 Sep 12;40(9):999-1009.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2022.08.006. PMID: 36055228 [IF=38,585, MEiN=200, Q1].

Manuskrypt stanowi największe pod względem liczby włączonych próbek badanie wykonane na zsekwencjonowanych płytkach krwi. W manuskrypcie pokazujemy, że płynne biopsje oparte na transkryptomie płytek umożliwiają wykrycie aż 18 rodzajów raka. Wykorzystany w pracy klasyfikator thromboSeq prawidłowo wykrywał obecność raka w dwóch trzecich z 1096 próbek krwi pobranych od pacjentów z rakiem w stadium I-IV oraz w połowie z 352 guzów w stadium I-III, osiągając specyficzność 99% w bezobjawowych kontrolach. Kontrole objawowe, w tym choroby zapalne i sercowo-naczyniowe oraz łagodne nowotwory, zwiększyły liczbę wyników fałszywie dodatnich do średniej swoistości 78%. Dodatkowo, klasyfikator thromboSeq prawidłowo określił miejsce pochodzenia guza w pięciu różnych typach guzów u ponad 80% pacjentów z rakiem.

Co ważne, analizy TEPs w przytoczonej pracy objęły również rak jajnika. **Rycina 5** pokazuje, z jaką skutecznością udało się wykryć poszczególne rodzaje nowotworów. Uzyskane wyniki podkreślają potencjalne właściwości paneli RNA pochodzących z TEPs, mające na celu uzupełnienie obecnych podejść do badań przesiewowych raka na podstawie krwi.



Rycina 5 Wyniki obrazujące skuteczność wykrywania poszczególnych typów nowotworów. O ile najłatwiej rozróżnić zdrową kontrolę od próbek pacjentów onkologicznych, tak detekcja raka piersi okazała się największym wyzwaniem (HD – healthy donor, MM – multiple myeloma, URO – urothelial carcinoma, HCC – hepatocellular carcinoma, SARC – sarcoma, NSCLC – non-small cell lung cancer, LYM – lymphoma, RCC – renal cell carcinoma, CHOL – cholangiocarcinoma, OVCAR – ovarian cancer, HNSCC – head and neck squamous carcinoma, MELA – melanoma, GLIO – glioma, CRC – colorectal cancer, PDAC – pancreatic cancer, ENDO – endometrial cancer, ESO – esophageal cancer, BRCA – breast cancer).

Praktyczne wykorzystanie wyników badań

Ostatnią dekadę można uznać za okres rozkwitu płynnych biopsji. Ta minimalnie inwazyjna metoda pobierania próbek umożliwia wygodną i powtarzalną diagnostykę oraz charakterystykę wielu chorób w czasie rzeczywistym [12–14]. Opracowywane nowoczesne testy diagnostyczne opierają się na ogromnym postępie w naszej zdolności do oczyszczania i analizy składników płynów ustrojowych (komórki, płytki krwi, wolnokrążące DNA, wolnokrążące RNA, białka czy biomarkery metabolitów) oraz wprowadzeniu technik o wysokiej wydajności, które pozwalają na bezprecedensową rozdzielczość wykonywanej analizy. Synergia wielu krążących biomarkerów może ujawnić specyfikę chorób, przy czym kluczowe jest zidentyfikowanie określonych kombinacji markerów, które sygnalizują stan pacjenta, pochodzenie i progresję choroby. Pozyskane informacje mogą stanowić cenne źródło wiedzy na klinicystów, wpływając na ich proces decyzyjny.

Co więcej, prawdopodobnym jest, że szczegółowość przeprowadzanych analiz płynnych biopsji będzie tylko wzrastała z uwagi na obniżające się koszty metod takich jak sekwencjonowanie czy też rosnącą jakością analiz, w postaci chociażby wykorzystania

sekwencjonowania długich odczytów. Trzeba mieć przy tym na uwadze, że złożoność wygenerowanych danych i mnogość funkcji tworzą i będą tworzyły potrzebę opracowania bardzo zaawansowanych podejść obliczeniowych niż zakładanie prostego punktu odcięcia dla interpretacji wyniku końcowego. Płynne biopsje mają szansę zmienić sposób opieki nad pacjentem w nadchodzących latach. Jednak zanim potencjał płynnych biopsji zostanie w pełni wykorzystany, potrzebujemy algorytmów uczenia maszynowego, które mogą łączyć różne źródła danych w celu uzyskania precyzyjnego profilu choroby. W ten sposób płynne biopsje będą mogły zostać wykorzystane jako narzędzie umożliwiające wybór optymalnego leczenia. kierować wyborem leczenia. Obecnym wyzwaniem jest uczynienie z płynnych biopsji narzędzia klinicznego i opanowanie złożoności obliczeniowej wdrażanych testów [12].

Reasumując, płynne biopsje stanowią bardzo cenne źródło wiedzy na temat choroby nowotworowej i mają szansę stać się w przyszłości rutynową metodą analizy próbek pobieranych od osób z podejrzeniem nowotworu. Wyniki prac badawczych uzyskanych w przytaczanych przeze mnie manuskryptach stanowią kolejny krok w kierunku spersonalizowanej medycyny. Analiza płynnych biopsji pobieranych od chorych ma szansę przyczynić się do wcześniejszej diagnostyki, pozwolić na dynamicznie śledzenie postępu choroby nowotworowej, a także ocenę odpowiedzi na leczenie. Wraz z kolejnymi osiągnięciami technologicznymi, powinna być dostępna szybsza, tańsza i dokładniejsza analiza materiału pochodzącego od chorych. W dłuższej perspektywie, wyniki projektu mają szansę przyczynić się do obniżenia śmiertelności wśród chorych oraz zwiększenia ich komfortu życia podczas terapii. Realizacja przedstawionych działań naukowych może przełożyć się także na wydłużenie całkowitego przeżycia pacjentów oraz doprowadzić do obniżenia kosztów po stronie systemu ochrony zdrowia i pracodawcy.

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

Staż podoktorski w Cancer Research UK, University of Cambridge (Wielka Brytania)

Moją naukową motywacją do działania jest potrzeba zapewnienia pacjentom wczesnej diagnostyki medycznej i skuteczniejszego leczenia. Gdy kończyłam studia doktorskie, nadzieją na rozwiązanie tego problemu okazywały się płynne biopsje – materiał pobrany w nieinwazyjny sposób od pacjenta. Ponieważ w 2015 roku moje doświadczenie ograniczało się do biopsji tradycyjnych, wiedzę na temat analizy płynnych biopsji zdobywałam podczas rocznego pobytu w Instytucie Cambridge, należącym do organizacji Cancer Research UK działającej w ramach Uniwersytetu w Cambridge w Wielkiej Brytanii. To właśnie w Cambridge, pod okiem dr Anny Piskorz, której wiele zawdzięczam, uczyłam się izolacji wolnokrążącego DNA guza z płynnych biopsji i stawiałam swoje pierwsze kroki w

dziedzinie sekwencjonowania następnej generacji, do którego dostęp w Polsce był na tamten moment ograniczony. To wtedy też po raz pierwszy rozpoczęłam prace związane z rakiem jajnika, co później przełożyło się na tematykę moich projektów badawczych. Mój staż doczekał się kontynuacji w postaci półrocznej umowy o pracę, którą podpisałam z Uniwersytetem w Cambridge. Wyniki prac badawczych, w których brałam udział, zostały opublikowane w następujących manuskryptach:

Montfort A, Owen S, Piskorz AM, **Supernat A**, Moore L, Al-Khalidi S, Böhm S, Pharoah P, McDermott J, Balkwill FR, Brenton JD. Combining measures of immune infiltration shows additive effect on survival prediction in high-grade serous ovarian carcinoma. *Br J Cancer*. 2020 Jun;122(12):1803-1810. doi: 10.1038/s41416-020-0822-x. Epub 2020 Apr 6. PMID: 32249277; PMCID: PMC7283353 [IF=5.791].

Mouliere F, Chandrananda D, Piskorz AM, Moore EK, Morris J, Ahlborn LB, Mair R, Goranova T, Marass F, Heider K, Wan JCM, **Supernat A**, Hudecova I, Gounaris I, Ros S, Jimenez-Linan M, Garcia-Corbacho J, Patel K, Østrup O, Murphy S, Eldridge MD, Gale D, Stewart GD, Burge J, Cooper WN, van der Heijden MS, Massie CE, Watts C, Corrie P, Pacey S, Brindle KM, Baird RD, Mau-Sørensen M, Parkinson CA, Smith CG, Brenton JD, Rosenfeld N. Enhanced detection of circulating tumor DNA by fragment size analysis. *Sci Transl Med*. 2018 Nov 7;10(466):eaat4921. doi: 10.1126/scitranslmed.aat4921. PMID: 30404863; PMCID: PMC6483061 [IF=18.643].

Macintyre G, Goranova TE, De Silva D, Ennis D, Piskorz AM, Eldridge M, Sie D, Lewsley LA, Hanif A, Wilson C, Dowson S, Glasspool RM, Lockley M, Brockbank E, Montes A, Walther A, Sundar S, Edmondson R, Hall GD, Clamp A, Gourley C, Hall M, Fotopoulou C, Gabra H, Paul J, **Supernat A**, Millan D, Hoyle A, Bryson G, Nourse C, Mincarelli L, Sanchez LN, Ylstra B, Jimenez-Linan M, Moore L, Hofmann O, Markowitz F, McNeish IA, Brenton JD. Copy number signatures and mutational processes in ovarian carcinoma. *Nat Genet*. 2018 Sep;50(9):1262-1270. doi: 10.1038/s41588-018-0179-8. Epub 2018 Aug 13. PMID: 30104763; PMCID: PMC6130818 [IF=31.077].

Współpraca z Cancer Center Amsterdam, UMC Amsterdam (Holandia)

Podczas mojego pobytu w Wielkiej Brytanii, Szef tamtejszego laboratorium, Profesor James Brenton, przesłał do Członków swojego Laboratorium artykuł opublikowany w czasopiśmie *Cancer Cell*, dotyczący tematyki płytek krwi edukowanych przez nowotwór [4]. Zafascynowana tym nietypowym rodzajem płynnej biopsji, postanowiłam nawiązać współpracę z Profesorem Thomasem Wurdingerem i dr Myronem Bestem (Cancer Center Amsterdam, Holandia) – wiodącymi Autorami rzeczzonego manuskryptu. Podczas pierwszego spotkania podjęliśmy decyzję o współpracy. O ile do mnie należało zebranie płytek krwi od chorych na raka jajnika, raka trzonu macicy oraz próbek kontrolnych, moi nowi

Współpracownicy zlecili sekwencjonowanie zebranych w Gdańsku płytek. W efekcie opublikowaliśmy serię manuskryptów traktujących o TEPs, zawartych w pracach **4.1-4.5** oraz manuskrypcie poniżej:

In 't Veld SGJG, Arkani M, Post E, Antunes-Ferreira M, D'Ambrosi S, Vessies DCL, Vermunt L, Vancura A, Muller M, Niemeijer AN, Tannous J, Meijer LL, Le Large TYS, Mantini G, Wondergem NE, Heinhuis KM, van Wilpe S, Smits AJ, Drees EEE, Roos E, Leurs CE, Tjon Kon Fat LA, van der Lelij EJ, Dwarshuis G, Kamphuis MJ, Visser LE, Harting R, Gregory A, Schweiger MW, Wedekind LE, Ramaker J, Zwaan K, Verschueren H, Bahce I, de Langen AJ, Smit EF, van den Heuvel MM, Hartemink KJ, Kuijpers MJE, Oude Egbrink MGA, Griffioen AW, Rossel R, Hiltermann TJN, Lee-Lewandrowski E, Lewandrowski KB, De Witt Hamer PC, Kouwenhoven M, Reijneveld JC, Leenders WPJ, Hoeben A, Verdonck-de Leeuw IM, Leemans CR, Baatenburg de Jong RJ, Terhaard CHJ, Takes RP, Langendijk JA, de Jager SC, Kraaijeveld AO, Pasterkamp G, Smits M, Schalken JA, Łapińska-Szumczyk S, Łojkowska A, Żaczek AJ, Lokhorst H, van de Donk NWCJ, Nijhof I, Prins HJ, Zijlstra JM, Idema S, Baayen JC, Teunissen CE, Killestein J, Besselink MG, Brammen L, Bachleitner-Hofmann T, Mateen F, Plukker JTM, Heger M, de Mast Q, Lisman T, Pegtel DM, Bogaard HJ, Jassem J, **Supernat A**, Mehra N, Gerritsen W, de Kroon CD, Lok CAR, Piek MJJ, Steeghs N, van Houdt WJ, Brakenhoff RH, Sonke GS, Verheul HM, Giovannetti E, Kazemier G, Sabrkhany S, Schuurin E, Stermans EA, Wolthuis R, Meijers-Heijboer H, Dorsman J, Oudejans C, Ylstra B, Westerman BA, van den Broek D, Koppers-Lalic D, Wesseling P, Nilsson RJA, Vandertop WP, Noske DP, Tannous BA, Sol N, Best MG, Wurdinger T. Detection and localization of early- and late-stage cancers using platelet RNA. *Cancer Cell*. 2022 Sep 12;40(9):999-1009.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2022.08.006. PMID: 36055228 [IF=38,585, MEiN=200, Q1].

O ile staż w Cambridge został mi umożliwiony przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej dzięki programowi SKILLS-STAZE, tak moje dalsze działania zostały docenione nagrodą Fundacji na rzecz Nauki Polskiej START, dzięki której mogłam odbyć 4-tygodniową wizytę studyjną w Cancer Center Amsterdam, co umożliwiło mi kontynuację badań.

Współpraca z innymi ośrodkami naukowymi

W międzyczasie, przy okazji realizacji projektów wymagających obróbki bioinformatycznej, nawiązałam także współpracę z Uniwersytetem w Bergen (Norwegia), czego efektem był manuskrypt:

Supernat A, Vidarsson OV, Steen VM, Stokowy T. Comparison of three variant callers for human whole genome sequencing. *Sci Rep*. 2018 Dec 14;8(1):17851. doi: 10.1038/s41598-018-36177-7. PMID: 30552369; PMCID: PMC6294778 [IF=4,997].

Współpracowałam też z Pomorskim Uniwersytetem Medycznym w Szczecinie oraz Uniwersytetem a Aarhus (Dania), co przełożyło się na następującą pracę:

Łuczowska K, Sokolowska KE, Taryma-Lesniak O, Pastuszek K, **Supernat A**, Bybjerg-Grauholm J, Hansen LL, Paczkowska E, Wojdacz TK, Machaliński B. Bortezomib induces methylation changes in neuroblastoma cells that appear to play a significant role in resistance development to this compound. *Sci Rep.* 2021 May 10;11(1):9846. doi: 10.1038/s41598-021-89128-0. PMID: 33972578; PMCID: PMC8110815 [IF=4,997].

Ostatnią istotną aktywnością publikacyjną była współpraca z Uniwersytetem Gdańskim, gdzie wraz z moją Przyjaciółką, dr Dorotą Krzyżanowską, opracowałyśmy publikację:

Krzyżanowska DM, Supernat A, Maciąg T, Matuszewska M, Jafra S. Selection of reference genes for measuring the expression of *aiiO* in *Ochrobactrum quorumnocens* A44 using RT-qPCR. *Sci Rep.* 2019 Sep 11;9(1):13129. doi:10.1038/s41598-019-49474-6. PMID: 31511547; PMCID: PMC6739375 [IF=4,997].

Równoległe do opisanych powyżej działań, dokonałam też zgłoszenia patentowego, podpisałam umowę licencyjną z University of Cambridge oraz współpracowałam z firmą MNM Bioscience Inc (Cambridge, MA, USA).

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

Choć obecnie mój etat na Uczelni ma charakter badawczy i wykłady prowadzę sporadycznie, jako nauczyciel akademicki przez lata byłam zaangażowana w prowadzenie dydaktyki w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym i Uniwersytecie Gdańskim. Prowadziłam najpierw seminaria, a później wykłady z przedmiotu „Biologia Komórki” dla I roku studiów licencjackich Biotechnologii (Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego). Uczestniczyłam też w tworzeniu, a później prowadziłam seminaria z "Biologii Molekularnej", skierowane zarówno do polskojęzycznych, jak i anglojęzycznych studentów I roku medycyny Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Gdy Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii wprowadził tzw. "concept-based learning", brałam udział w opracowaniu materiałów na wykłady dostosowane do nowego podziału treści programowych, a także kierowałam zespołem dydaktycznym przygotowującym materiały na ćwiczenia audytoryjne dla studentów Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii (Moduł 01 – Podstawy Biotechnologii, Moduł 02 – Biomolekuły, Moduł 04 – Organizmy Wielokomórkowe).

Dodatkowo, sporadycznie prowadzę wykłady z "Podstaw biotechnologii" dla studentów podyplomowej Farmacji Przemysłowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Obok

przekazywania wiedzy podstawowej, nawiązuję też do odkryć swojego Zespołu badawczego i pokazuję Studentom, w jaki sposób uzyskana wiedza przekłada się na świat nauki. Jestem też autorką narzędzia dydaktycznego dla doktorantów, studentów i licealistów: gry edukacyjnej „Ewolucja molekularna nowotworów”, która powstała w odpowiedzi na przygotowane przeze mnie warsztaty dla licealistów w ramach programu „Nauka to ludzie” prowadzonego przez dr Agnieszkę Anielską. Mój kontakt z licealistami był też kontynuowany w ramach współpracy z Gdańskim Inkubatorem Przedsiębiorczości STARTER, gdzie podczas cyklu spotkań „Inspiracyjne spotkania ekspertów z rynku pracy z młodzieżą” opowiadałam młodemu pokoleniu z Uniwersyteckiego Liceum Ogólnokształcącego im. Pawła Adamowicza o tym, jak wyglądała moja kariera naukowca na przestrzeni lat. Kontynuując współpracę z Gdańską Fundacją Przedsiębiorczości, rozmyślałam nad programem edukacji finansowej dla dzieci. Uczestniczyłam w „Konferencji BeZee – trendy w edukacji”, gdzie razem z nauczycielami i psychologami zastanawialiśmy się, jak najlepiej przygotować młodzież do wejścia na rynek pracy. Efektem mojego wystąpienia było zorganizowanie dnia otwartego Centrum Analiz Biostatystycznych i Bioinformatycznych, podczas którego licealiści mogli się zapoznać z różnymi ścieżkami kariery obranymi przez moich Pracowników.

Obecnie jestem zatrudniona na czas nieokreślony na stanowisku adiunkta w Laboratorium Onkologii Translacyjnej, Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Swoje wysiłki naukowe zwracam ku analizie tzw. *big data*, głównie w dziedzinie onkologii. Pasję tą realizuję również, prowadząc Centrum Analiz Biostatystycznych i Bioinformatycznych (core facility) Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. By lepiej pełnić powierzone mi funkcje, podjęłam studia Executive Master of Business Administration na Uniwersytecie Gdańskim. Obok kierowania Zespołem biologów molekularnych, biostatystyków, bioinformatyków oraz specjalistów ds. sztucznej inteligencji, koordynuję też tzw. Koszyk Badań 4 (Artificial Intelligence and Big Data), działający w ramach Priorytetowego Obszaru Badawczego 1 "Onkologia" (Program "Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza"). Jestem także opiekunem interdyscyplinarnego, anglojęzycznego naukowego koła studenckiego „Stream of Thoughts” działającego w ramach Związku Uczelni Fahrenheita – Federacji Uniwersytetów: Uniwersytetu Gdańskiego, Politechniki Gdańskiej i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Uznając za priorytet wzmocnienie polskiego potencjału badawczego i wykorzystując zdobyte zagranicą doświadczenie, jestem zaangażowana w mentoring młodych naukowców, z którymi mam przyjemność współpracować. **Do tej pory wypromowałam 8 prac licencjackich i 3 prace magisterskie. W tym roku akademickim mam pod opieką kolejne dwie studentki realizujące swoje prace licencjackie pod moim kierunkiem. Jestem też promotorem pomocniczym jednego doktoranta, a także opiekuję się dwoma pracownikami, którzy planują bronić swoich doktoratów w trybie eksternistycznym i których działalność oplacam z kierowanych przez siebie grantów. Recenzowałam także manuskrypty dla następujących czasopism z listy filadelfijskiej: Blood, Bioinformatics, Cancers (Basel),**

Clinical Epigenetics, International Journal of Molecular Sciences, Genes, Journal of Obstetrics and Gynecology Research oraz Journal of Endocrinology.

Pragnąc wzmacniać potencjał badawczy Uczelni, angażuję się też w funkcjonowanie Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Moja aktywność w tym zakresie obejmuje: a) organizację bezpłatnych godzin konsultacji biostatystycznych i bioinformatycznych dla naukowców Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; b) organizację i uczestnictwo w cyklu warsztatów z zakresu programowania w języku R; c) pomoc naukowcom uniwersytetu w aplikacji o granty; d) współpracę z Kwesturą w zakresie opracowania optymalnych stawek pracy biostatystyków i bioinformatyków; e) współpracę z Działem Zarządzania Procesami w zakresie utworzenia e-dokumentacji – sprawnego systemu obrotu dokumentami, który przyspiesza badania naukowe prowadzone na Uniwersytecie; f) prowadzenie rozmów z zespołem HR odnośnie rozmów ewaluacyjnych i profilowania kompetencji; g) nawiązywanie współpracy pomiędzy Zakładem Onkologii Translacyjnej a Politechniką Gdańską celem wspólnej realizacji projektów studenckich, dotyczących płynnych biopsji oraz kliniczno-patologicznych baz chorych.

Z perspektywy praktycznego zastosowania wyników badań istotna jest także edukacja społeczeństwa. Współpracując z dr Agnieszką Anielską z Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, wzięłam udział w projekcie „Nauka to ludzie” dedykowanemu spotkaniom z licealistami i ich nauczycielami oraz projekcie „How to science?” dedykowanemu młodym naukowcom z Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Podczas warsztatów dzieliłam się swoim doświadczeniem z zakresu badań translacyjnych. Wzięłam także udział w inicjatywie „Gdańsk stolicą młodych naukowców”. Jestem także kierownikiem po stronie Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego projektu konsorcyjnego EIT-HEI innovAId, który pozwala młodym naukowcom rozwinąć potencjał przedsiębiorczości i stwarza warunki do odkrycia swoich talentów i rozwoju własnego start-upu w dziedzinie zdrowia cyfrowego.

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

Od 2019 roku współpracowałam z firmą MNM Bioscience (<https://mnm-bioscience.com>) – start upem biotechnologicznym oferującym pacjentom analizę opartą o spersonalizowane rozwiązanie, tj. badanie genomu. Firma powstała w Poznaniu, obecnie działa również w Cambridge (Massachusetts, Stany Zjednoczone). Początkowo pracowałam w tej inicjatywie na stanowisku genetyka analizy genetycznej, później pełniłam rolę konsultanta technologii, gdy firma rozważała poszerzenie swojej oferty o płynne biopsje.

Na uwagę zasługuje również moja współpraca z firmą tailor bio (<https://tailor.bio>) skupionej wokół precyzyjnego dobierania leczenia u chorych onkologicznych w oparciu o ich wyniki z sekwencjonowania. W związku z działalnością tego start upu, Uniwersytet w Cambridge

(Wielka Brytania) podpisał ze mną umowę licencyjną na wykorzystanie know-how związanego z sekwencjonowaniem ctDNA i guzów pierwotnych. Opracowana platforma ma pomóc w personalizacji leczenia chorych na różne rodzaje nowotworu w oparciu o profil zmian liczby kopii genów.

W przebiegu swojej kariery zawodowej uczestniczyłam w ponad 30 kursach specjalistycznych, w tym w 14 zorganizowanych przez Uniwersytet w Cambridge:

- Programming Concepts: Introduction
- An Introduction to Solving Biological Problems with R
- Unix: Introduction to the Command Line Interface
- How to peer-review research papers
- How to write an academic paper and get it published
- Project Management
- Introduction to Project Management – An interactive session for women researchers to introduce you to the fundamentals of managing your research project (Athena Swan Initiative)
- Time management
- Email Management
- Managing and Developing Effective Teams
- Mental Awareness: How to recognize symptoms of depression and where to seek help
- Effective Staff Review and Development
- Supervising Undergraduate Students
- Equality and Diversity

Przebieg pracy naukowej przed uzyskaniem stopnia doktora

Moja kariera naukowa zaczęła się od realizacji prac, licencjackiej i magisterskiej, w Katedrze i Zakładzie Biologii i Genetyki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Przy tej okazji posiadałam umiejętność analizy i przygotowywania próbek do sekwencjonowania, co w dużej mierze wpłynęło na moje podejście metodologiczne przy realizacji dalszych projektów badawczych. O wyborze miejsca realizacji pracy doktorskiej zdecydowała moja dwuletnia aktywność w Kole Naukowym Bio-Med (2007-2009, projekt: „Markery Nowotworowe”), a także sympatia, którą darzyłam moich przyszłych Promotorów: prof. dr hab. Annę Żaczek i prof. dr hab. Jacka Bigdę. Uczestnicząc w latach 2008/09 w cyklu wykładów „Biologia komórki nowotworowej” prowadzonym przez prof. dr hab. Annę Żaczek, mogłam się przekonać, jak fascynujące mogą być badania naukowe na rakiem. Pasja, z jaką Prof. Żaczek opowiadała o swoich badaniach skłoniła mnie do podjęcia pracy doktorskiej pod Jej bezpośrednią opieką.

Podjmując studia doktoranckie, zdecydowałam się również na uczestnictwo w Międzywydziałowych Studiach Podyplomowych „Współczesne Metody Analityki z Elementami Diagnostyki Molekularnej” przy Wydziale Chemii i Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. W międzyczasie realizowałam cykle warsztatów oraz szkolenia z zakresu łączenia świata nauki i biznesu. Uczestniczyłam także w zagranicznych kursach skupionych na prowadzeniu badań translacyjnych oraz na Sekwencjonowaniu Następnej Generacji. Ułatwiło mi to w późniejszym czasie założenie własnej działalności gospodarczej.

Podczas studiów doktoranckich uczęszczałam na liczne, prestiżowe konferencje, krajowe (4) i zagraniczne (8). Pozwoliło mi się to zorientować w obecnych trendach w medycznej onkologii. Dowiedziałam się, jakie metodologie są i będą wykorzystywane na świecie w diagnostyce nowotworów oraz jak ważne jest promowanie interdyscyplinarnego podejścia w terapii raka. Poszerzyłam także swoją widzę z zakresu biologii nowotworów, ulepszyłam trwające już badania, znalazłam inspirację w kwestii pisania kolejnych wniosków o granty, nawiązałam kontakt z innymi badaczami oraz stałam się członkiem organizacji ESMO (European Society for Molecular Oncology) i ASCO (American Society for Clinical Oncology).

Choć moje studia doktoranckie zostały dwukrotnie przerwane urlopem macierzyńskim, dołożyłam wszelkich starań, by moja kariera naukowa spowolniła w tych okresach w minimalnym stopniu. Podczas pierwszego urlopu zajęłam się pisaniem publikacji, z kolei w drugiej ciąży aplikowałam, z sukcesem, o subsydlum POMOST Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, które pozwoliło mi na nadzór pracy z domu, przyczyniając się do realizacji projektów w założonych ramach czasowych.

Kończąc doktorat, byłam autorem dziewięciu prac opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej (osiem oryginalnych, jedna przeglądowa), z których w siedmiu byłam pierwszym autorem. Dodatkowo, byłam w tamtym okresie autorem 16 doniesień konferencyjnych. Moją pracę doktorską zatytułowaną „Znaczenie kliniczne wybranych markerów molekularnych w raku błony śluzowej trzonu macicy” obroniłam we styczeniu 2015r., przy czym badania nad molekularnymi biomarkerami nowotworowymi prowadzę po dzień dzisiejszy.

Piśmiennictwo

1. Siegel, R.L.; Miller, K.D.; Wagle, N.S.; Jemal, A. Cancer Statistics, 2023. *CA. Cancer J. Clin.* **2023**, *73*, 17–48, doi:10.3322/caac.21763.
2. Markou, A.; Tzanikou, E.; Lianidou, E. The Potential of Liquid Biopsy in the Management of Cancer Patients. *Semin. Cancer Biol.* **2022**, *84*, 69–79, doi:10.1016/j.semcancer.2022.03.013.
3. Lisio, M.-A.; Fu, L.; Goyeneche, A.; Gao, Z.-H.; Telleria, C. High-Grade Serous

- Ovarian Cancer: Basic Sciences, Clinical and Therapeutic Standpoints. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 952, doi:10.3390/ijms20040952.
4. Best, M.G.; Sol, N.; Kooi, I.; Tannous, J.; Westerman, B.A.; Rustenburg, F.; Schellen, P.; Verschueren, H.; Post, E.; Koster, J.; et al. RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics. *Cancer Cell* **2015**, *28*, 666–676, doi:10.1016/j.ccell.2015.09.018.
 5. Hartman, R.J.G.; Korporaal, S.J.A.; Mokry, M.; de Jager, S.C.A.; Meeuwssen, J.A.L.; van der Laan, S.W.; Lansu, N.R.; Zoet, G.A.; Pasterkamp, G.; Urbanus, R.T.; et al. Platelet RNA Modules Point to Coronary Calcification in Asymptomatic Women with Former Preeclampsia. *Atherosclerosis* **2019**, *291*, 114–121, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2019.10.009.
 6. Wysokinski, W.E.; Tafur, A.; Ammash, N.; Asirvatham, S.J.; Wu, Y.; Gosk-Bierska, I.; Grill, D.E.; Slusser, J.P.; Mruk, J.; McBane, R.D. Impact of Atrial Fibrillation on Platelet Gene Expression. *Eur. J. Haematol.* **2017**, *98*, 615–621, doi:10.1111/ejh.12879.
 7. Eicher, J.D.; Wakabayashi, Y.; Vitseva, O.; Esa, N.; Yang, Y.; Zhu, J.; Freedman, J.E.; McManus, D.D.; Johnson, A.D. Characterization of the Platelet Transcriptome by RNA Sequencing in Patients with Acute Myocardial Infarction. *Platelets* **2016**, *27*, 230–239, doi:10.3109/09537104.2015.1083543.
 8. In 't Veld, S.G.J.G.; Arkani, M.; Post, E.; Antunes-Ferreira, M.; D'Ambrosi, S.; Vessies, D.C.L.; Vermunt, L.; Vancura, A.; Muller, M.; Niemeijer, A.-L.N.; et al. Detection and Localization of Early- and Late-Stage Cancers Using Platelet RNA. *Cancer Cell* **2022**, *40*, 999-1009.e6, doi:10.1016/j.ccell.2022.08.006.
 9. Best, M.G.; Veld, S.G.J.G.I. 't; Sol, N.; Wurdinger, T. RNA Sequencing and Swarm Intelligence-Enhanced Classification Algorithm Development for Blood-Based Disease Diagnostics Using Spliced Blood Platelet RNA. *Nat. Protoc.* **2019**, *14*, 1206–1234, doi:10.1038/s41596-019-0139-5.
 10. Best, M.G.; Sol, N.; In 't Veld, S.G.J.G.; Vancura, A.; Muller, M.; Niemeijer, A.-L.N.; Fejes, A.V.; Tjon Kon Fat, L.-A.; Huis In 't Veld, A.E.; Leurs, C.; et al. Swarm Intelligence-Enhanced Detection of Non-Small-Cell Lung Cancer Using Tumor-Educated Platelets. *Cancer Cell* **2017**, *32*, 238-252.e9, doi:10.1016/j.ccell.2017.07.004.
 11. In 't Veld, S.G.J.G.; Arkani, M.; Post, E.; Antunes-Ferreira, M.; D'Ambrosi, S.; Vessies, D.C.L.; Vermunt, L.; Vancura, A.; Muller, M.; Niemeijer, A.-L.N.; et al. Detection and Localization of Early- and Late-Stage Cancers Using Platelet RNA. *Cancer Cell* **2022**, *40*, 999-1009.e6, doi:10.1016/j.ccell.2022.08.006.
 12. Alix-Panabières, C. The Future of Liquid Biopsy. *Nature* **2020**, *579*, S9–S9, doi:10.1038/d41586-020-00844-5.
 13. Pastuszak, K.; Supernat, A.; Best, M.G.; In 't Veld, S.G.J.G.; Łapińska-Szumczyk, S.; Łojkowska, A.; Róžański, R.; Żaczek, A.J.; Jassem, J.; Würdinger, T.; et al. ImPlatelet Classifier: Image-Converted RNA Biomarker Profiles Enable Blood-Based Cancer Diagnostics. *Mol. Oncol.* **2021**, doi:10.1002/1878-0261.13014.
 14. Sol, N.; Leurs, C.E.; Veld, S.G.I. 't; Strijbis, E.M.; Vancura, A.; Schweiger, M.W.; Teunissen, C.E.; Mateen, F.J.; Tannous, B.A.; Best, M.G.; et al. Blood Platelet RNA Enables the Detection of Multiple Sclerosis. *Mult. Scler. J. - Exp. Transl. Clin.* **2020**, *6*, 2055217320946784, doi:10.1177/2055217320946784.