

Dr n. med. Jarosław Piotr Jendrzejewski

Autoreferat

Analiza regionu 14q13.3 w aspekcie
molekularno-klinicznym w patogenezie raka
brodawkowego tarczycy

Katedra i Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych
Gdański Uniwersytet Medyczny



Gdańsk 2020

1. Imię i Nazwisko: Jarosław Piotr Jendrzejewski

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

Doktor nauk medycznych w dyscyplinie medycyna (23.01.2014r), specjalność biologia molekularna, endokrynologia, Gdański Uniwersytet Medyczny, tytuł rozprawy doktorskiej: „*Rola polimorfizmu rs944289 w predyspozycji do raka brodawkowatego tarczycy*”, promotor: prof. dr hab. Krzysztof Sworczak.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

2017-obecnie, Adiunkt, Katedra i Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych, Gdański Uniwersytet Medyczny

2014-2017 Wolontariusz, Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego

2014-2015 Research Assistant Professor, Department of Molecular Virology, Immunology and Medical Genetics, College of Medicine, Ohio State University, Columbus, OH, USA

2008-2014 Postdoctoral Researcher, Comprehensive Cancer Center, The Ohio State University, Columbus, OH, USA

2007-2008 Wolontariusz, Regionalne Centrum Diabetologii Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny)

2007-2008 Asystent, Katedra i Zakład Farmakologii Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny)

2002-2007 Rezydent, Klinika Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Akademickiego Centrum Klinicznego Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny)

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy.

Osiągnięcie naukowe zostało udokumentowane cyklem 4 prac oryginalnych, opublikowanych w latach 2015-2019 w recenzowanych czasopismach. We wszystkich pracach jestem pierwszym autorem oraz autorem do korespondencji. Wszystkie wymienione prace zostały opublikowane po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora nauk medycznych.

A) Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Analiza regionu 14q13.3 w aspekcie molekularno-klinicznym w patogenezie raka brodawkowatego tarczycy”

B) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia:

1. **Jendrzejewski J**, Thomas A, Liyanarachchi S, Eiterman A, Tomsic J, He H, Radomska HS, Li W, Nagy R, Sworzczak K, de la Chapelle A 2015 *PTCSC3 Is Involved in Papillary Thyroid Carcinoma Development by Modulating S100A4 Gene Expression*. J Clin Endocrinol Metab 100:E1370-1377.

Punktacja IF: 5.531

Punktacja MNiSW: 40

2. **Jendrzejewski J**, Liyanarachchi S, Nagy R, Senter L, Wakely PE, Thomas A, Nabhan F, He H, Li W, Sworzczak K, Ringel MD, Kirschner LS, de la Chapelle A 2016 *Papillary Thyroid Carcinoma: Association Between Germline DNA Variant Markers and Clinical Parameters*. Thyroid 26:1276-1284.

Punktacja IF: 5.515

Punktacja MNiSW: 35

3. **Jendrzejewski J**, Liyanarachchi S, Eiterman A, Thomas A, He H, Nagy R, Senter L, Sworzczak K, de la Chapelle A 2019 *Fine mapping of 14q13 reveals novel variants associated with different histological subtypes of papillary thyroid carcinoma*. Int J Cancer 144:503-512.

Punktacja IF: 4.982

Punktacja MNiSW: 140

4. **Jendrzejewski J**, Sworczak K, Comiskey DF Jr., de la Chapelle A, *Clinical implications of GWAS variants associated with differentiated thyroid cancer*. Endokrynologia Polska 2019;70(5):423-429

Punktacja IF: 1.521

Punktacja MNiSW: 40

Łączny współczynnik IF prac składających się na „osiągnięcie naukowe” wynosi **17.549**. **Łączna liczba punktów MNiSW** prac składających się na „osiągnięcie naukowe” wynosi **255**.

Opis indywidualnego wkładu habilitanta w powstanie każdej publikacji znajduje się w załączniku nr 4 (Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki), kopie prac stanowiących „osiągnięcie naukowe” znajdują się w załączniku nr 5, oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych prac znajdują się w załączniku nr 6, natomiast analiza bibliometryczna publikacji wykonana przez Bibliotekę Główną Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego znajduje się w załączniku nr 7.

C) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Moje zainteresowania naukowe skupiają się na genetycznym podłożu raka brodawkowatego tarczycy (ang. *papillary thyroid carcinoma*, PTC), który jest najczęstszym nowotworem gruczołów dokrewnych. W swoich projektach próbowałam określić jakie polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP) zwiększają ryzyko rozwoju PTC, wskazać na mechanizmy w jakich wpływają na onkogenezę oraz zidentyfikować ich potencjalne związki z przebiegiem klinicznym PTC.

Rak tarczycy (ang. *thyroid carcinoma*, TC) dzieli się na raka rdzeniastego (ang. *medullary thyroid carcinoma*, MTC) i nierdzeniaste (ang. *non medullary thyroid carcinoma*, NMTC). Te ostatnie dzielą się na raka niskozróżnicowanego

(ang. *poorly differentiated thyroid carcinoma, PDTC*), anaplastycznego (ang. *anaplastic thyroid carcinoma, ATC*), brodawkowego i pęcherzykowego (ang. *follicular thyroid carcinoma, FTC*). PTC i FTC są określane jako raki wysokozróżnicowane (ang. *differentiated thyroid carcinoma, DTC*). Najczęstszą postacią histologiczną raka tarczycy jest PTC stanowiący około 80% wszystkich przypadków. Rak tarczycy jest rzadkim nowotworem. W Polsce w 2010r. stanowił 2.6% wszystkich przypadków nowotworów u kobiet i 0.5% u mężczyzn. Jakkolwiek PTC jest rzadką chorobą, od kilku dekad obserwuje się stały wzrost liczby zachorowań, najpewniej związany z postępowaniem w technikach diagnostycznych, głównie szeroką dostępnością ultrasonografii. W Stanach Zjednoczonych obserwuje się coroczny 5% wzrost liczby zachorowań zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Podobne dane odnoszą się do populacji polskiej (<http://onkologia.org.pl>).

Badania populacyjne wykazały, że rodzinność TC jest jedną z najsilniejszych wśród nowotworów. W badaniach populacyjnych ryzyko rozwoju TC dla krewnych pierwszego stopnia chorych z tym nowotworem wynosiło od 8.48 do 12.42. Dla porównania dla raka piersi, gdzie mutacja w genie *BRCA* odgrywa dość istotną rolę, powyższe ryzyko wynosiło od 1.83 do 2.01. Czynniki genetyczne są istotne w rozwoju MTC, gdzie onkogenna mutacja w genie *RET* dziedziczona autosomalnie dominująco jest stwierdzana u około 25% chorych. Mendelowski typ dziedziczenia sprawia, że MTC istotnie zawyża średnią dziedziczenia dla TC, pomimo tego, że stanowi on tylko około 5% wszystkich przypadków raka tarczycy. Badania analizujące postacie nierdzieniaste wykazały, że dla krewnych pierwszego stopnia iloraz szans (ang. *odds ratio, OR*) rozwoju NMTC wynosi średnio około 4, a więc istotnie mniej niż dla TC, aczkolwiek ciągle znacznie powyżej ryzyka obliczonego dla innych nowotworów. Wydawałoby się, że skoro genetyczny czynnik jest istotny w patogenezie NMTC badania analizy sprzężeń z łatwością zidentyfikują polimorfizmy odpowiedzialne za rozwój tego guza. Wyniki badań wykorzystujących analizę sprzężeń wskazały na szereg loci związanych z rozwojem NMTC, jednakże w zaledwie kilku z nich udało się wskazać na transkrypt, którego dysregulacja może prowadzić do PTC. Wyniki prac wykorzystujących analizę sprzężeń oraz dane z badań asocjacyjnych wskazały, że w genetycznym podłożu DTC mutacje o wysokim stopniu penetracji

odpowiadające za klasyczny mendlowski wzorzec dziedziczenia odgrywają prawdopodobnie marginalną rolę. Decydujący wpływ na powstawanie PTC wydają się mieć polimorfizmy o niskiej penetracji. Warianty takie są trudne do wykrycia w klasycznej analizie sprzężeń ale mogą być zidentyfikowane w badaniach asocjacyjnych. Pierwsze badanie asocjacyjne całego genomu (ang. *genome wide association study*, GWAS) w NMTC wskazało na dwa SNP zlokalizowane w dwóch loci (rs944289 w locus 14q13.3 i rs965513 w locus 9q22.33) związane z ryzykiem rozwoju raka tarczycy (rs944289: OR=1.37, $p=2.0 \times 10^{-9}$; rs965513: OR=1.75, $p=1.7 \times 10^{-27}$). W pracy będącej osią mojego doktoratu („*The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type*”) opisałem nowy długi niekodujący międzygenowy RNA gen (ang. *long intergenic non coding RNA*, lincRNA) nazwany *Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 3 (PTCSC3)* zlokalizowany 3.2 kilo par zasad od wariantu rs944289 w locus 14q13.3. Wykazałem, że *PTCSC3* ulega tarczycowo specyficznej transkrypcji z supresją ekspresji w tkance raka tarczycy. Supresja ta jest silniejsza u chorych posiadających allel ryzyka dla rozwoju PTC (rs944289[T]). Wyniki mojej pracy sugerowały przynależność *PTCSC3* do genów supresorowych, aczkolwiek dokładny patomechanizm działania tego transkryptu w rozwoju PTC pozostawał nieznany. **Celem prac będących cyklem „osiągnięć naukowych” była:**

1. Analiza mechanizmu w jaki dysregulacja ekspresji *PTCSC3* znajdującego się w regionie 14q13.3 genomu wpływa na powstawanie PTC.
2. Identyfikacja nowych SNP związanych z ryzykiem powstania PTC poprzez sekwencjonowanie następnej generacji (ang. *next generation sequencing*, NGS) locus 14q13.3.
3. Analiza wpływu SNP związanych z PTC znajdujących się w locus 14q13.3 na ekspresję sąsiadujących genów (*PTCSC3*, *MBIP* i *NKX2-1*).
4. Analiza związku pomiędzy genotypem wariantów zwiększających ryzyko dla PTC znajdujących się w regionie 14q13.3 a obrazem klinicznym raka tarczycy.

W **publikacji 1** analizowałem mechanizm w jaki *PTCSC3* wpływa na rozwój PTC. Ekspresja *PTCSC3* ulega silnej supresji zarówno w tkance PTC jak i w komórkowych liniach raka tarczycy. Dlatego przy pomocy wektora plazmidowego pcDNA3 odtworzyłem transkrypcję *PTCSC3* w linii komórkowej raka tarczycy (linia TPC-1) i wykorzystując mikromacierze Agilent Sure Print G3 Human Gene Expression 8 60K arrays analizowałem ekspresję genów w komórkach TPC-1 transfekowanych wektorem pcDNA3 (kontrola) i wektorem pcDNA zawierającym *PTCSC3*. Wykazałem, że odtworzenie ekspresji *PTCSC3* w komórkach raka tarczycy wpływa na transkrypcję 467 genów, w tym na wiele transkryptów związanych z procesem nowotworzenia takich jak *S100A4*, *RHOB*, *MOAP1*, *AKT*, *CTSA*, *MECP2*, *FLNA*, *C19orf33* i *GDF15*. Następnie porównałem dane z analizy ekspresji genów w liniach TPC-1 z danymi z analizy ekspresji genów w parach tkanka tarczycowa i tkanka PTC pobranych od 9 chorych z PTC. Do oceny stopnia nasilenia transkrypcji w tkance tarczycowej i tkance PTC wykorzystałem zestaw do mikromacierzowej analizy ekspresji Affymetrix HG-U133. Dodatkowo oceniałem zmiany w ekspresji transkryptów w linii komórkowej raka tarczycy BCPAP ze stabilną ekspresją *PTCSC3* uzyskaną dzięki wszczęciu genu *PTCSC3* do genomu linii komórkowej BCPAP przy pomocy wektora pcDNA3.1 oraz kontroli (linia komórkowa BCPAP z wszczepionym do genomu wektorem pcDND3.1). Powyższa wieloczynnikowa analiza wskazała na transkrypt *S100A4* ulegający supresji transkrypcji w liniach TCP-1 i BCPAP w odpowiedzi na odtworzenie ekspresji *PTCSC3*. Zmiany w ekspresji *S100A4* i *PTCSC3* wykazałem poprzez reakcję łańcuchowej polimerazy z analizą ilości produktu w czasie rzeczywistym (ang. *real-time* PCR) i potwierdzoną na poziomie translacji przez Western blot. Wykazałem, że transkrypcja *S100A4* jest silnie wzmożona w tkance guza pobranej od chorych z PTC podczas gdy ekspresja *PTCSC3* w tej samej tkance ulega silnej supresji. *S100A4* jest ważnym transkryptem związanym ze zwiększonym potencjałem złośliwości nowotworów. Wykazałem, że odtworzenie ekspresji *PTCSC3* w komórkach BCPAP hamuje ich inwazyjność i zdolność do migracji. Dane z piśmiennictwa wskazują, że *S100A4* wpływa na inwazyjność guzów litych poprzez dysregulację ekspresji *VEGF* i *MMP-9*. Wykazałem, że ekspresja tych ostatnich ulega supresji w komórkach BCPAP z odtworzoną ekspresją *PTCSC3*, co potwierdza wpływ *PTCSC3* na inwazyjność

PTC poprzez szlak zarządzany przez *S100A4*. Wyniki mojej publikacji jako pierwsze w literaturze wskazywały, że supresorowy mechanizm działania *PTCSC3* jest między innymi efektem jego wpływu na regulację ekspresji *S100A4*. Wskazały one także na *S100A4* jako ważny transkrypt związany z większym potencjałem złośliwości PTC. Białko *S100A4* należy do rodziny protein odpowiedzialnych za regulację kluczowych z punktu widzenia rozwoju nowotworu procesów takich jak proliferacja, wzrost, zdolność do migracji i naciekania okolicznych tkanek. Nadekspresję *S100A4* wykazano w raku piersi, trzustki i pęcherza moczowego, co wiązało się z większym potencjałem metastatycznym tych guzów. Wyniki badań nad transgenicznymi myszami wykazały, że nadekspresja i supresja *S100A4* była związana odpowiednio z większym i mniejszym ryzykiem przerzutów raka piersi. Całość powyższych wyników wskazuje na istotną rolę *S100A4* w modelowaniu złośliwości guzów litych. W nielicznych doniesieniach z badań nad PTC wskazano, że nadekspresja *S100A4* jest związana z większym ryzykiem przerzutów. Wyniki mojej pracy potwierdziły, że *S100A4* ulega istotnej nadekspresji w tkance guza PTC w porównaniu z tkanką tarczycową nieobjętą procesem nowotworowym. Udowodniłem, że ekspresja *S100A4* w komórkach linii raka wysokorozóżnicowanego tarczycy ulega supresji w odpowiedzi na odtworzenie ekspresji *PTCSC3*, co skutkuje zmniejszeniem ich potencjału do migracji i naciekania. Wyniki mojej pracy wyjaśniają jeden z aspektów supresorowego wpływu *PTCSC3* w patogenezie PTC oraz mogą się przyczynić do zidentyfikowania w przyszłości chorych z bardziej agresywnymi postaciami PTC, co może mieć wpływ na konieczność wdrożenia bardziej agresywnych form terapii w tej grupie pacjentów. W mojej publikacji podkreślałem, że działania *PTCSC3* są zapewne dwutorowe jako genu supresorowego lub onkogenu w zależności od etapu karcinogenezy. Sugerowałem, że *PTCSC3* wpływa zapewne na rozwój PTC także poprzez inne mechanizmy. Rzeczywiście, w pracach Xia i wsp. oraz Wang i wsp. wykazano, że *PTCSC3* reguluje proliferację PTC poprzez szlak zarządzany przez Wnt/ β -katetynę.

Badania GWAS wykorzystują znajomość regionów ludzkiego genomu wykazujących nierównowagę sprzężeń (ang. *linkage disequilibrium*, LD) skatalogowaną w bazie HapMap (International HapMap Project,

<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>). Poprzez genotypowanie SNP znajdujących się w LD z innymi polimorfizmami badania GWAS są w stanie przeanalizować pod kątem zmienności genetycznej cały genom i wskazać polimorfizmy związane z danym fenotypem. Badania GWAS zidentyfikowały wiele SNP związanych z danym nowotworem, jednakże nie do końca pozostaje jasne, czy wskazany w badaniu polimorfizm jest funkcjonalnym wariantem czy jedynie tak zwanym flagowym SNP (ang. *flag SNP*) wskazującym poprzez LD na inny sąsiadujący z nim funkcjonalny wariant. Dwa niezależne badania GWAS wskazały, że w locus 14q13.3 relatywnie blisko siebie (89 kilo par zasad) znajdują się dwa warianty (rs944289 i rs116909374) związane z ryzykiem powstania PTC. W regionie tym znajdują się trzy ważne dla prawidłowego funkcjonowania tarczycy geny (*PTCSC3*, *MBIP* i *NKX2-1*). Dane te wskazywały na 14q13.3 jako jeden z kluczowych w patogenezie PTC. **W publikacji 3** wyszedłem z założenia, że jeśli w 14q13.3 znajdują się dwa warianty związane z PTC zidentyfikowane w dwóch niezależnych badaniach GWAS to możliwe, że w tym regionie genomu mogą znajdować się także inne nieodkryte dotychczas polimorfizmy istotne dla rozwoju PTC. Wykorzystując platformę MiSeq do sekwencjonowania następnej generacji dokonałem analizy 300 kilo par zasad regionu (GRCh37/hg19, chr14: 36,508,000-36,808,100) zawierającego rs944289 i rs116909374 celem poszukiwania nowych polimorfizmów związanych z ryzykiem powstania PTC. Analizę przeprowadziłem w 1416 zdrowych kontroli i 1216 chorych z PTC pochodzących z Ohio w Stanach Zjednoczonych. Badanie było główną osią naukowego grantu przyznanego mi w 2013 roku przez American Thyroid Association (ThyCa-ATA 2013 Grants). Dzięki powyższej analizie zidentyfikowałem pięć nowych wariantów niosących ryzyko dla PTC (rs368187, rs1632250, rs1863347, rs1755787 i rs28397092), które wykazywały związek z rakiem tarczycy niezależnie od opisanych wcześniej GWAS SNP. Poszczególne warianty wykazywały związek z różnymi podtypami PTC. PTC nie jest homogennym nowotworem jeśli chodzi o postać histologiczną. Składa się on z dwóch dominujących histologicznych podtypów, to jest postaci klasycznej (ang. *classic PTC*, cPTC) oraz wariantu pęcherzykowego (ang. *follicular variant PTC*, fvPTC), oraz kilku dużo rzadszych podtypów takich jak postać *hobnail*, wariant wysokokomórkowy, onkocytarny, kolumnowy, szklawiejący i postać cribriform

morular. Poszczególne podtypy histologiczne wykazują nieco odmienny przebieg kliniczny. Zidentyfikowany w publikacji 3 wariant rs368187 wykazał związek z PTC (OR=1.31, $p=2.20 \times 10^{-6}$), podczas gdy rs1632250 (OR=1.24, $p=2.22 \times 10^{-3}$), rs1863347 (OR=1.31, $p=2.15 \times 10^{-4}$) i rs1755787 (OR=1.24, $p=2.06 \times 10^{-3}$) wykazały związek z cPTC (n=891). Jeden wariant (rs28397092) wykazał związek z fvPTC (n=234: OR=1.51, $p=1.36 \times 10^{-3}$). Wyniki publikacji 3 wskazały na nowe polimorfizmy związane ze zwiększonym ryzykiem powstania PTC oraz wskazały na różnice w genetycznym podłożu pomiędzy poszczególnymi podtypami histologicznymi PTC. Do tej pory zidentyfikowano relatywnie niewiele polimorfizmów zwiększających ryzyko rozwoju PTC. Nowością jest wskazanie na różnice w genetycznym podłożu pomiędzy podtypem fvPTC i cPTC wykazane w publikacji 3. Dane z projektu The Cancer Genome Atlas (<https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>) wskazały, że mutacje BRAFV600E i RAS występują odpowiednio w cPTC i fvPTC i nie nakładają się wzajemnie, co może oznaczać, że w każdym z tych podtypów ważną rolę mogą odgrywać inne geny. Moje wyniki dostarczyły danych potwierdzających powyższą obserwację.

Mutacje i polimorfizmy genetyczne zwiększają ryzyko powstawania nowotworów poprzez wpływ na funkcję i/lub ekspresję genów. Dlatego identyfikacja predysponujących do PTC polimorfizmów jest pierwszym krokiem służącym do poznania nowych molekularnych ścieżek powstawania PTC. Dla przykładu, wskazanie na rs944289 jako związanego z PTC skutkowało wykryciem nowego genu (*PTCSC3*) oraz wskazaniem mechanizmu, poprzez który powyższy transkrypt wpływa na powstawanie PTC (szlak *S100A4* i *Wnt/β-katetyny*). Celem identyfikacji funkcjonalnych wariantów w **publikacji 3** analizowałem przy pomocy *real-time* PCR zmiany w ekspresji genów znajdujących się w 14q13.3 (*PTCSC3*, *MBIP* i *NKX2-1*) w tkance tarczycy i tkance guza pobranych od 55 chorych z PTC i porównałem je z genotypem SNP wykazujących związek z PTC zlokalizowanych w 14q13.3. Wykazałem zmiany w ekspresji *PTCSC3*, *MBIP* i/lub *NKX2-1* w tkance tarczycowej związane z genotypem odpowiednio 261, 112 i 4 SNPs oraz odpowiednio 6, 19 i 134 SNPs w tkance guza. Zidentyfikowałem jeden wariant (rs1952712) wykazujący związek z ekspresją wszystkich analizowanych genów (*PTCSC3*, *MBIP* i *NKX2-1*). Wariant

ten był związany z ryzykiem rozwoju PTC ($OR=1.20$, $p=6.03 \times 10^{-3}$) jednakże ryzyko to nie było istotne po włączeniu do statystycznego modelu zidentyfikowanych wcześniej GWAS SNPs (rs944289 i rs116909374) znajdujących się w 14q13.3, co wskazuje na powiązanie genotypów tych polimorfizmów. Powyższe dane wskazują na rs1952712 jako być może kluczowy funkcjonalny polimorfizm wpływający na ekspresję istotnych z punktu widzenia prawidłowego funkcjonowania tarczycy genów zlokalizowanych w regionie 14q13.3. Wśród polimorfizmów wykazujących niezależny od rs944289 i rs116909374 związek z PTC zidentyfikowałem wariant rs1863347 jako związany z supresją transkrypcji *PTCSC3* w tkance tarczycowej u chorych z PTC oraz wariant rs28397092 związany z supresją *PTCSC3* i *MBIP* w niedotkniętej procesem nowotworowym tkance tarczycowej. Wyniki te wskazują, że odkryte przeze mnie SNP związane z ryzykiem powstania PTC modelują ekspresję sąsiadujących genów, co może być przyczyną zwiększonej predyspozycji rozwoju raka tarczycy. Jak opisano powyżej, *PTCSC3* wykazuje cechy genu supresorowego, a więc wykazany przeze mnie hamujący wpływ allelu ryzyka rs1863347 i rs28397092 na jego transkrypcję może tłumaczyć mechanizm działania powyższych polimorfizmów.

W swojej pracy naukowej staram się skupiać nie tylko na czysto molekularnych aspektach mechanizmów predysponujących do rozwoju PTC ale także odpowiedzieć na pytanie w czy dane z wiedzy o podłożu molekularnym PTC mogą wpływać na podejmowane decyzje diagnostyczne czy terapeutyczne. Stąd w swoich pracach starałem określić czy SNP zwiększające ryzyko powstania PTC mogą wpływać na przebieg kliniczny raka tarczycy. PTC jest nowotworem o relatywnie łagodnym przebiegu klinicznym. Pięcioletni wskaźnik przeżycia dla PTC wynosi około 98% i jest jednym z najkorzystniejszych wśród nowotworów. Chociaż śmiertelność jest niska, choroba rezydualna lub nawracająca występuje w około 20–30% przypadków. Ocena ryzyka nawrotu PTC może pomóc w identyfikacji pacjentów wymagających bardziej agresywnych form terapii i ściślejszej pooperacyjnej obserwacji. W **publikacji 2 i 3** starałem się odpowiedzieć na pytanie czy germinalne warianty genetyczne związane z ryzykiem rozwoju PTC mogą wpływać na przebieg choroby i tym samym być użytecznymi w praktyce klinicznej. Do analizy wybrałem SNPs zidentyfikowane

w publikacji 3 (rs368187, rs1632250, rs1863347, rs1755787 i rs28397092) znajdujące się w locus 14q13.3 oraz warianty germinalne wskazane w dwóch pierwszych badaniach GWAS przeprowadzonych u chorych z niedzieniałym rakiem tarczycy (rs944289 (14q13), rs116909374 (14q13), rs965513 (9q22), rs2439302 (8p12) i rs966423 (2q35)). W obu publikacjach badanie przeprowadzono na dużej populacji 1216 chorych z PTC i 1416 kontroli pochodzących z Ohio w Stanach Zjednoczonych. W **publikacji 2 i 3** wykazałem, że rs965513 jest związany z większą średnicą guza w momencie rozpoznania choroby oraz pozatarczycowym naciekaniem tkanek. Wielkość guza oraz jego pozatarczycowa ekspansja jest uznanym czynnikiem ryzyka nawrotu PTC. SNP rs2439302 wykazał związek z wieloogniskowością oraz częstszym zajęciem węzłów chłonnych, które także opisano jako czynniki ryzyka nawrotu PTC. Wykazałem, że rs94489 i rs368187 były związane z przerzutami odległymi, natomiast allel ryzyka dla rs11690937 był związany z przerzutami do węzłów chłonnych. Kolejnym interesującym związkiem wykazany w publikacji 2 i 3 jest zwiększone ryzyko dla pozatarczycowej ekspansji dla wariantów rs1632250, 1863347, rs1755787 i rs2439302 w grupie chorych z mikrorakiem PTC (microPTC). W tej grupie pacjentów określenie czynników ryzyka gorszego przebiegu klinicznego ma szczególnie ważne znaczenie z uwagi na wybór pomiędzy oszczędzającą a radykalną strategią leczenia operacyjnego i pooperacyjną decyzją o uzupełniającym leczeniu radiojodem. Wyniki publikacji 2 i 3 były jednymi z pierwszych pokazujących możliwość wnioskowania o klinicznym przebiegu PTC na podstawie analizy genotypu wariantów germinalnych. W piśmiennictwie szeroko udokumentowano związek mutacji somatycznych takich jak na przykład BRAFV600E z bardziej agresywnym przebiegiem klinicznym PTC. Jednakże analiza mutacji somatycznych wymaga analizy DNA z tkanki guza, zwykle z materiału pobranego operacyjnie, podczas gdy analiza germinalnego DNA może się odbyć przed planowanym leczeniem poprzez izolację materiału genetycznego uzyskanego na przykład z leukocytów krwi obwodowych. Wiedza o ewentualnych czynnikach ryzyka przed leczeniem może wpływać na wybór terapii i pooperacyjnego nadzoru.

W publikacji 2 dodatkowo analizowałem, czy ekspresja genów zlokalizowanych w pobliżu wariantów zlokalizowanych w locus 14q13.3

(*PTCSC3*, *MBIP* i *NKX2-1*) oraz pozostałych loci wskazanych z dwóch pierwszych badaniach GWAS w NMTC (*FOXE1*, *DIRC3*, *PTCSC2*, i *NRG1*) była związana z obrazem klinicznym. Wykazałem, że ekspresja *MBIP* i *PTCSC3* zlokalizowanych blisko wariantu rs944289 w locus 14q13.3 była związana z silniejszą ich supresją w tkance guza u mężczyzn w porównaniu z kobietami. PTC występuje około 3-4 razy częściej u kobiet, co jest związane z częstszym występowaniem chorób tarczycy w tej populacji, co skutkuje częstszym wykonywaniem USG tarczycy i większą rozpoznawalnością PTC w tej grupie chorych. Dotychczas nie udowodniono odmienności w genetycznym podłożu PTC pomiędzy mężczyznami i kobietami. Dane z analizy ekspresji *MBIP* i *PTCSC3* wskazują na możliwe epigenetyczne tło obserwowanych różnic w częstości PTC pomiędzy płciami. Analizowany w publikacji 2 wariant GWAS rs944289 znajduje się 332 kb od genu *NK2 Homeobox 1 (NKX2-1)* zwanego także *Thyroid Transcription Factor 1 (TTF1)*. Gen ten jest jednym z kluczowych transkryptów odpowiedzialnych za prawidłowy rozwój tarczycy w życiu płodowym. Z tego powodu jest on uważany za potencjalnie ważny docelowy transkrypt dla wariantów związanych z PTC zlokalizowanych w 14q13.3. W publikacji 2 wykazałem, że transkrypcja *NKX2-1* ulegała silniejszej supresji w tkance guza u chorych z przerzutami do węzłów chłonnych, co może sugerować istotny wpływ *NKX2-1* na zdolność PTC do pozatarczycowej ekspansji. Według mojej wiedzy są to jedyne dane dostępne w bazie Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>, grudzień 2019r.) sugerujące potencjalny wpływ *NKX2-1* na zdolność PTC do pozatarczycowego rozprzestrzeniania się.

W **publikacji 4** zebrałem dane z wszystkich dostępnych na dzień pisania pracy badań GWAS umieszczonych w bazie Pubmed, w których analizowano związek pomiędzy SNPs a obrazem klinicznym DTC. Do tej pory opublikowano osiem badań GWAS w DTC, które zidentyfikowały łącznie 31 polimorfizmów związanych z tym nowotworem. W publikacji 4 wskazuję, że większość ze SNP predysponujących do raka tarczycy występuje często w populacji ogólnej. Wskazuję, że ryzyko jaki niosą warianty GWAS jest zazwyczaj niskie ($OR < 2.0$), co jest zgodne z teorią „częsta choroba-częsty wariant” oraz metodologią badań GWAS, które wykorzystują do analizy genomu platformy do genotypowania zawierające częste warianty. Co ważne, warianty GWAS wykazują skumulowany

efekt w różnych populacjach, co potwierdza ich ważną rolę w patogenezie PTC. Dla przykładu, model wielogenowego dziedziczenia DTC wykazał, że każdy allel ryzyka pierwszych pięciu opublikowanych GWAS SNP (rs965513, rs944289, rs966423, rs2439302 i rs116909374) zwiększał OR dla PTC o odpowiednio 1,51 i 1,35 dla populacji amerykańskiej i polskiej. Dla osób z siedmioma lub więcej allelami ryzyka iloraz szans wystąpienia PTC zwiększał się do odpowiednio 13,38 i 6,16. Dane dla populacji USA i Polski były zbieżne, chociaż skumulowane OR dla tych ostatnich były wyraźnie niższe. Różnica ta wynikała prawdopodobnie z niejednorodności obu populacji, niezidentyfikowanych jeszcze czynników środowiskowych wpływających na rozwój PTC i/lub z faktu, że w analizowanych badaniach polskie kontrole były młodsze niż przypadki. W publikacji 4 usystematyzowałem dotychczasowe wyniki prac oceniających związek pomiędzy obrazem klinicznym a wariantami germinalnymi w oparciu o skalę TNM opracowaną przez Union for International Cancer Control/TNM (UICC/TNM). Skala ta pośrednio dość dobrze określa stopień zaawansowania DTC. Niestety, ma ona ograniczoną zdolność przewidzenia nawrotu choroby oraz szacowania śmiertelności. Tym niemniej, biorąc pod uwagę dość dobre rokowanie w PTC (98% przeżyć 5-cio letnich) jest ona powszechnie akceptowana i stosowana na całym świecie. W publikacji 4 wskazuję, że dotychczas określono związek germinalnych wariantów z pozatarczycową ekspansją guza (rs965513, rs966423), jego średnicą (rs965513, rs966423), wieloogniskowością (rs944289, rs2439302), przerzutami do węzłów chłonnych (rs965513, rs116909374 i rs2439302) i przerzutów odległych (rs944289). Wskazuje to, że warianty germinalne nie tylko zwiększają ryzyko powstania DTC ale mogą także wpływać na obraz kliniczny. Jednym z najważniejszych odkryć dotyczących związku klinicznego pomiędzy wariantami germinalnymi a obrazem klinicznym jest udokumentowanie w badaniu przeprowadzonym w Polsce związku pomiędzy rs966423 a całkowitą śmiertelnością. Jeśli wyniki tego badania zostaną potwierdzone w niezależnej populacji, rs966423 stanie się ważnym czynnikiem ryzyka gorszego rokowania w DTC. Jak wskazuję w publikacji 4, interesującym faktem jest to, że nie zawsze allel ryzyka był związany z bardziej agresywną cechą PTC, co może wskazywać na złożoność genetycznego podłoża tego nowotworu, ze zmianami genetycznymi mającymi

różne funkcje w poszczególnych etapach nowotworowej transformacji i wzrostu guza.

Podsumowanie osiągnięć pracy habilitacyjnej:

1. W wieloczynnikowej analizie uwzględniającej mikromacierzową ekspresję genów w dwóch liniach komórkowych raka tarczycy z odtworzoną ekspresją *PTCSC3* oraz mikromacierzowej analizie ekspresji genów w tkance tarczycowej i tkance PTC wykazałem że *PTCSC3* hamuje ekspresję *S100A4*, *VEGF* i *MMP-9* co skutkuje zmniejszoną zdolnością komórek raka tarczycy do migracji i naciekania. Wyniki te tłumaczą supresorowy mechanizm działania *PTCSC3* poprzez szlak zarządzany przez *S100A4*.
2. Wykryłem pięć nowych wariantów genetycznych (rs368187, rs1632250, rs1863347, rs1755787 i rs28397092) związanych z ryzykiem powstania różnych podtypów histologicznych PTC (w tym na wariant rs368187 związany z ryzykiem rozwoju wszystkich podtypów PTC).
3. Wskazałem, że powyższe SNP wpływają na ekspresję ważnych z punktu widzenia patogenezy PTC genów zlokalizowanych w locus 14q13.3 (*PTCSC3*, *MBIP* i *NKX2-1*).
4. Wykazałem, że germinalne warianty genetyczne są związane z szeregiem ważnych klinicznych parametrów PTC takich jak wielkość guza (rs965513), wieloogniskowość (rs2439302), pozatarczycowa ekspansja (rs965513), przerzuty do lokalnych węzłów chłonnych (rs2439302, rs116909374) i przerzuty odległe (rs944289, rs368187). Wskazałem na związek czterech wariantów (rs1632250, 1863347, rs1755787 i rs2439302) z większym potencjałem złośliwości micoPTC.
5. Wykazałem, że nie zawsze allel ryzyka dla DTC był związany z bardziej agresywnym przebiegiem klinicznym co wskazuje na złożoność genetycznego podłoża DTC z wariantami mającymi zapewne różną rolę na poszczególnych etapach nowotworowej transformacji tyreocytów i wzrostu guza.

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

A) Staże i kursy w zagranicznych lub krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich:

- **2008-2015** Department of Molecular Virology, Immunology and Medical Genetics, College of Medicine, Ohio State University, Ohio, USA. Pobyt naukowy, w czasie którego zajmowałem się badaniami nad genetycznym podłożem raka wysokozróżnicowanego tarczycy w zespole prof. Alberta de la Chapelle. W latach **2008-2014** pracowałem na stanowisku Postdoctoral Researcher, **od 2014 do 2015** jako Research Assistant Professor kierując własnym zespołem badawczym.
- **2012** Kurs *Regulatory & Non-coding RNAs* (2012), The Cold Spring Harbor Laboratory, Long Island, USA

B) Udział w projektach badawczych:

- National Cancer Institute Grants P30CA16058. 2008-2015. Rola: współwykonawca. Miejsce wykonania: Ohio State University, OH, USA.
- *Genetic and signaling pathways in epithelial thyroid cancer* National Cancer Institute Grants P01CA124570. 2010-2015. Rola: współwykonawca. Miejsce wykonania: Ohio State University, OH, USA.
- *Analysis of locus 14q13.3 in search of mutations predisposing to Papillary Thyroid Carcinoma (PTC)*. Grant American Thyroid Association Thy-Ca Research. 2013-2015. Rola: kierownik naukowy projektu. Miejsce wykonania: Ohio State University, OH, USA.
- *Low penetrance genes in the predisposition to papillary thyroid cancer*. Specialized Program of Research Excellence National Cancer Institute P50 CA168505. 2014-2015. Rola: współwykonawca. Miejsce wykonania: Ohio State University, OH, USA.

C) Wygłoszenie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych:

- Wykład w sesji głównej poświęconej genetycznemu podłożu raka tarczycy na 83 konferencji Amerykańskiego Towarzystwa Tarczycowego w Puerto Rico w 2013r. Temat wykładu „*Large Non-Coding RNAs: Novel Genes Involved in Papillary Thyroid Carcinoma Pathogenesis*”.

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

A) Osiągnięcia dydaktyczne:

Przed uzyskaniem stopnia doktora:

1. Prowadzenie ćwiczeń z przedmiotu *Propedeutyka Chorób Wewnętrznych*, Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny), 2004-2006.
2. Prowadzenie ćwiczeń z przedmiotu *Farmakologia*, Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Gdańsku (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny), 2007-2008.
3. Prowadzenie ćwiczeń z przedmiotu *Farmacology*, Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Gdańsku, (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny), Oddział English Division, 2007-2008.

Po uzyskaniu stopnia doktora:

1. Prowadzenie ćwiczeń z przedmiotu *Introduction to Internal Medicine*, Wydział Lekarski, Oddział English Division, Gdański Uniwersytet Medyczny, 2017-2019.
2. Prowadzenie ćwiczeń z przedmiotu *Propedeutyka Chorób Wewnętrznych*, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny, 2017-2019.
3. Prowadzenie ćwiczeń z przedmiotu *Choroby Wewnętrzne*, Wydział Lekarski, Oddział Stomatologiczny (kierunek lekarsko-dentystyczny), Gdański Uniwersytet Medyczny, 2017-2019.

4. Prowadzenie ćwiczeń i seminariów z przedmiotu *Internal Medicine, Endocrinology*, Wydział Lekarski, Oddział English Division, Gdański Uniwersytet Medyczny, 2017-obecnie.
5. Prowadzenie ćwiczeń z przedmiotu *Choroby Wewnętrzne, Endokrynologia*, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny, 2017-obecnie.

B) Opieka naukowa nad studentami i zawodowa nad lekarzami w toku specjalizacji:

- Opiekun naukowy dwóch studentów prowadzących badania w ramach mojego projektu „*Locus 14q13.3 in papillary thyroid cancer predisposition*”. Tematy studenckich ramion projektu: 1. *The role of PTCSC3 in thyroid carcinogenesis* (Andrew Thomas) 2. *Fine mapping of 14q13.3 locus in search for novel variants associated with papillary thyroid cancer* (Andrew Eiterman). Projekty prowadzone w latach 2014-2015 w czasie mojej pracy w Ohio State University finansowane z grantu ATA Thy-Ca 2013.
- Opieka naukowa nad kółkiem endokrynologicznym *Student Endocrine Society of the Medical University of Gdańsk*, Wydział Lekarski, Oddział English Division, Gdański Uniwersytet Medyczny, 2014-obecnie.
- Kierownik specjalizacji z chorób wewnętrznych rezydenta z Kliniki Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych UCK, 2018-obecnie. Dane osobowe rezydenta w załączniku nr 4.

C) Rozdziały w książkach/skrypty:

- Babińska A, Berendt-Obołończyk M, Błaut K, Cieszyński Ł, Gnacińska-Szymańska M, Hellmann M, **Jendrzewski J**, Kaniuka-Jakubowska S, Karwacka I, Kłosowski P, Kmiec P, Lewczuk-Myślicka A, Łubińska M, Stodulski D, Wiśniewski P, Świątkowska-Stodulska R, Sworczak K/ pod red. R. Świątkowskiej-Stodulskiej i K. Sworzaka. (2016) *Endokrynologia. Skrypt dla studentów medycyny*. Wydawca: Gdański Uniwersytet Medyczny, s:89-101. **Jestem współautorem rozdziału o raku tarczycy.**

D) Wykłady na kursach szkoleniowych:

- Wykładowca na kursie szkoleniowym dla lekarzy w ramach *Gdańskich Dni Nadciśnienia Tętniczego i Cukrzycy* (w 2003r. i 2005r.)
- Wykładowca na *XVIII Kursie Kształcenia Ustawicznego z Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Metabolicznych*, Toruń, Polska, 2017r.

E) Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych:

- International Journal of Cancer (IF 4.982), 1 recenzja
- Journal of the Endocrine Society, 2 recenzje
- BMC Medical Genomics (IF 2.568), 1 recenzja
- Polish Archives of Internal Medicine (IF 2.882), 2 recenzje
- OncoTargets and Therapy (IF 3.046), 1 recenzja
- Journal of Orthopaedic Surgery and Research (IF=1.907), 1 recenzja

F) Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych:

- *Towarzystwo Internistów Polskich*, 2008-2009, członek zwyczajny
- *American Thyroid Association*, 2013-2015, członek zwyczajny

G) Nagrody i wyróżnienia:

- **2009** Nagroda naukowa zespołowa pierwszego stopnia JM Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania nad optymalizacją rozpoznawania nowotworów złośliwych.
- **2012** Nagroda naukowa zespołowa pierwszego stopnia JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za współautorstwo publikacji opisujących mechanizm powstawania raka tarczycy związany z zaburzeniem genów z klasy mikroRNA.

- **2017** Nagroda naukowa zespołowa drugiego stopnia JM Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za współautorstwo skryptu „Endokrynologia”

7. Omówienie publikacji nie wchodzących w skład “osiągnięcia naukowego.

A) Lista publikacji nie wchodzących w skład “osiągnięcia naukowego”:

1. **Jendrzejewski J**, Gockowski K, Jasiel-Wojculewicz H, Zapasnik A, Kulczycka J, Wyrzykowski B 2006 *A case report of posttraumatic deep vein thrombosis of the lower limbs in a patient with factor V Leiden mutation and the congenital absence of the inferior vena cava*. Pol Arch Med Wewn 115:345-350. **IF=0**
2. Wizner B., Dubiel J, Zdrojewski T, Opolski G, Czech M, Manikowski A, Wyrzykowski B, Fedyk-Łukasik M, Stompór M, Mogilnaya I, **Jendrzejewski J**, Turek P, Marchel M, Grodzicki T. **2006** *Polish study for assessment of diagnosis, treatment and costs of heart failure in Poland in a random sample of out-patient clinics and hospitals, at different levels of care. Methodological aspects of the study conducted within The National Project of Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases (POLKARD 2003-2005)*. Folia Cardiologica vol 13 nr 1 :73-82. **IF=0**
3. Sosinska-Mielcarek K, Senkus-Konefka E, Jassem J, Kulczycka J, **Jendrzejewski J**, Jaskiewicz K 2008 *Cardiac involvement at presentation of non-small-cell lung cancer*. J Clin Oncol 26:1010-1011. **IF=17.157**
4. Wizner B, Dubiel JS, Opolski G, Fedyk-Lukasik M, Zdrojewski T, Marchel M, Stompór M, Turek P, Czech M, Wyrzykowski B, Mogilnaya I, **Jendrzejewski J**, Grodzicki T 2010 *Access to selected diagnostic procedures in the management of heart failure patients in Poland - POLKARD 2005*. Kardiol Pol 68:265-272. **IF=0.523**

5. Jazdzewski K, Boguslawska J, **Jendrzejewski J**, Liyanarachchi S, Pachucki J, Wardyn KA, Nauman A, de la Chapelle A 2011 *Thyroid hormone receptor beta (THRB) is a major target gene for microRNAs deregulated in papillary thyroid carcinoma (PTC)*. J Clin Endocrinol Metab 96:E546-553. **IF=5.967**
6. **Jendrzejewski J**, Tomsic J, Lozanski G, Labanowska J, He H, Liyanarachchi S, Nagy R, Ringel MD, Kloos RT, Heerema NA, de la Chapelle A 2011 *Telomere length and telomerase reverse transcriptase gene copy number in patients with papillary thyroid carcinoma*. J Clin Endocrinol Metab 96:E1876-1880. **IF=5.967**
7. **Jendrzejewski J**, He H, Radomska HS, Li W, Tomsic J, Liyanarachchi S, Davuluri RV, Nagy R, de la Chapelle A 2012 *The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type*. Proc Natl Acad Sci U S A 109:8646-8651. **IF=9.737**
8. He H, Li W, Wu D, Nagy R, Liyanarachchi S, Akagi K, **Jendrzejewski J**, Jiao H, Hoag K, Wen B, Srinivas M, Waidyaratne G, Wang R, Wojcicka A, Lattimer IR, Stachlewska E, Czetwertynska M, Dlugosinska J, Gierlikowski W, Ploski R, Krawczyk M, Jazdzewski K, Kere J, Symer DE, Jin V, Wang Q, de la Chapelle A 2013 *Ultra-rare mutation in long-range enhancer predisposes to thyroid carcinoma with high penetrance*. PLoS One 8:e61920. **IF=3.534**
9. He H, Li W, Liyanarachchi S, **Jendrzejewski J**, Srinivas M, Davuluri RV, Nagy R, de la Chapelle A 2015 *Genetic predisposition to papillary thyroid carcinoma: involvement of FOXE1, TSHR, and a novel lincRNA gene, PTCSC2*. J Clin Endocrinol Metab 100:E164-172. **IF=5.351**
10. Obołończyk L, Berendt-Obołończyk M, Karwacka I, **Jendrzejewski J**, Sworczak K 2017 Visual Vignette. Endocr Pract 23:1361. **IF=3.805**

11. **Jendrzejewski J**, Obolonczyk L, Leczycka ME, Utracka A, Ciura P, Makowski W, Sworzak K 2018 *A case report of insulin autoimmune syndrome in a Central European individual*. Clin Chem Lab Med 56:e132-e134. **IF=3.638**
12. Lubinska M, Hoffmann M, **Jendrzejewski J**, Kobiela P, Kobiela J, Sworzak K 2018 *Successful surgical treatment of pheochromocytoma during pregnancy*. Pol Arch Intern Med 128:322-323. **IF=2.882**
13. Cieszynski L, **Jendrzejewski J**, Wisniewski P, Owczarzak A, Sworzak K 2019 *Hair cortisol concentration in a population without hypothalamic-pituitary-adrenal axis disorders*. Adv Clin Exp Med 28:369-373. **IF=1.227**
14. Lewandowska-Graban K, Zdrojewska M, **Jendrzejewski J**, Sledzinski M, Peksa R, Sworzak K 2019 *A case report of melanoma metastasis to adrenal gland*. Pol Arch Intern Med 129:636-637. **IF=2.882**
15. Stefański A, Bładowska N, Więzkowska A, Wojtyniak B, Ignaszewska-Wyrzykowska A, Jasiel-Wojculewicz H, **Jendrzejewski J**, Rutkowski M, Zdrojewski T. *Statistical methods for the assessment of students' knowledge as illustrated by the introduction to internal medicine exam*. Eur. J. Transl. Clin. Med. 2019; vol. 2, nr 1, s. 22-27. **IF=0**

B) Podsumowanie najważniejszych odkryć z prac nie wchodzących w skład „osiągnięcia naukowego”:

Rola długich niekodujących RNA w predyspozycji do PTC .

Badania GWAS wskazują na warianty związane z ryzykiem powstania danego nowotworu, jednakże zazwyczaj nie wyjaśniają mechanizmu w jaki wykryte polimorfizmy przyczyniają się do zwiększonego ryzyka rozwoju guza. Określenie mechanizmu działania powyższych polimorfizmów jest trudne, ponieważ GWAS SNP'y znajdują się często w regionach międzygenowych i w

związku z tym nie mają typowego działania jak rzadkie mutacje zmieniające zazwyczaj strukturę genów kodujących. W pierwszym badaniu GWAS w NMTC dwa wykryte SNP także znajdowały się w regionach międzygenowych. Wariant rs65513 (9q22) znajdował się relatywnie blisko ważnego z punktu widzenia funkcji tarczycy genu *FOXE1* (*Forkhead Box E1*) zwanego także *Thyroid Transcription Factor 2* (*TTF2*), natomiast najbliższym wówczas znanym genem zlokalizowanym w sąsiedztwie rs944289 (14q13.3) był transkrypt *MBIP* (119 kilo par zasad od rs944289). Większość autorów sugerowała, że zapewne docelowym genem dla rs944289 był transkrypt *NKX2-1* opisany powyżej (odległy o 336 kilo par zasad od rs944289). W pracy „*The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type*” (publikacja 7) wskazałem, że wariant rs944289 znajdujący się w locus 14q13.3 znajduje się 3.2 kilo par zasad od nieznanego dotychczas genu z grupy lincRNA nazwanego przeze mnie *PTCSC3*. Przy pomocy szybkiej amplifikacji końców cDNA z użyciem ligazy RNA (ang. *RNA ligase mediated rapid amplification of cDNA ends*) oraz Northern blot wykazałem, że gen ten składa się z 4 eksonów o łącznej długości 1.2 kilo par zasad. Wykazałem, że *PTCSC3* jest transkrybowany prawie wyłącznie w tkance tarczycowej i ulega silnej supresji w tkance guza PTC. Udowodniłem, że odtworzenie jego ekspresji w komórkach linii komórkowych raka tarczycy (TPC-1 i BCPAP) hamuje wzrost i proliferację komórek raka. Wykazałem, że allel ryzyka rs944289[T] hamują aktywność promotora dla *PTCSC3* generowaną przez czynniki transkrypcyjne C/EBP alpha p42 i C/EBP beta (ang. *CCAAT/enhancer Binding Protein, C/EBP*). Potwierdziłem, że supresja *PTCSC3* jest zależna od genotypu rs944289 w opisany powyżej sposób w tkance guza pobranej od chorych z PTC. Powyższe wyniki były główną osią mojej pracy doktorskiej. W późniejszych pracach innych autorów potwierdzono supresorowy charakter *PTCSC3* poprzez wpływ na szlak Wnt/ β -Catenin. Co ciekawe, w jednej z prac wykazano, że odtworzenie ekspresji *PTCSC3* w komórkach linii raka anaplastycznego hamowało oporność komórek raka na doksorubicynę poprzez szlak *STAT3* (Wang XM. i wsp.: *LncRNA PTCSC3 affects drug resistance of anaplastic thyroid cancer through STAT3/INO80 pathway*). Wynik te sugerują ważną rolę *PTCSC3* w patogenezie NMTC oraz mogą się przyczynić do

opracowania nowych metod terapeutycznych. Jako współbadacz analizowałem poprzez jakie transkrypty oddziałują drugi z wykrytych w badaniach GWAS polimorfizm rs965513 zlokalizowany w locus 9q22. W pracy „*Genetic predisposition to papillary thyroid carcinoma: involvement of FOXE1, TSHR, and a novel lincRNA gene, PTCSC2*”, w której byłem współautorem (publikacja 9) opisaliśmy nieznaną dotychczas lincRNA, który nazwaliśmy *Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 2 (PTCSC2)*. Wykazaliśmy, że transkrypt ten podobnie jak *PTCSC3* ulega supresji w tkance PTC i supresja ta jest silniejsza u chorych z allelem ryzyka rs965513[A]. Wyniki naszych prac poświęconych analizie mechanizmów predyspozycji wariantów wykrytych w badaniach GWAS wskazały na istotną rolę genów z klasy lincRNA w patogenezie PTC.

Rola genów z klasy microRNA w predyspozycji do PTC.

Nowotwory charakteryzują się złożonymi czynnikami inicjującymi, na które składa się dysfunkcja lub dysregulacja ekspresji odpowiednich genów nałożona na oddziaływanie specyficznych dla danego nowotworu czynników środowiskowych. W predyspozycji do NMTC zaproponowano szereg genów, w tym niekodujące transkrypty z klasy mikroRNA (ang. *microRNA*, miR). W pracy „*Thyroid hormone receptor beta (THRB) is a major target gene for microRNAs deregulated in papillary thyroid carcinoma (PTC)*”, w której byłem współautorem (publikacja 5) opisaliśmy supresyjny wpływ miR na ekspresję genu dla receptora beta hormonów tarczycy (*THRB*). Wykazaliśmy, że transfekcja komórek linii komórkowych CAKI-2 miR-21, miR-146a, miR-221 i miR-181a hamowała ekspresję *THRB* na poziomie transkrypcji dla miR-21, miR-146a, miR-221 i poziomie translacji dla miR-21, miR-146a, miR-221 i miR-181a. Potwierdziliśmy, że zmiana w ekspresji *THRB* w liniach CAKI-2 spowodowana przez badane miR wpływała na geny *DIO1* i *APP*, które są regulowane przez *THRB*. Wykazaliśmy supresję *THRB* w tkance guza PTC z towarzyszącą nadekspresją badanych miR. Całość wyników wskazywała, że dysregulacja ekspresji miR w tkance PTC wpływa na karcinogenezę poprzez *THRB*.

Rola długości telomerów i odwrotnej telomerazy w predyspozycji do PTC.

W bardzo ciekawej pracy Capezzone i wsp. opublikowanej w *Journal of Clinical Endocrinology&Metabolism* w roku 2008 („*Short telomeres, telomerase reverse transcriptase gene amplification, and increased telomerase activity in the blood of familial papillary thyroid cancer patients*”) wskazano na istotne różnice w długości odcinków telomerowych u chorych z postacią sporadyczną (*sporadic PTC, sPTC*) i rodzinną (*familial PTC, fPTC*) raka brodawkowego tarczycy. W pracy „*Telomere length and telomerase reverse transcriptase gene copy number in patients with papillary thyroid carcinoma*”, w której byłem pierwszym autorem (publikacja 6) analizowałem długość regionów telomerowych w populacji chorych z postacią rodzinną (n=42) i sporadyczną (n=65) PTC pochodzących z Ohio w Stanach Zjednoczonych. W badanej populacji długość telomerów jak i aktywność odwrotnej telomerazy nie wykazywała różnic pomiędzy badanymi grupami, co jak wskazuję mogło wynikać z demograficznych rozbieżności między populacją włoską i amerykańską dotyczącą wieku i stosunku mężczyzn do kobiet i/lub wpływem niezidentyfikowanych czynników genetycznych specyficznych dla lokalnych populacji. Wyniki mojej pracy sugerowały możliwość odmienności w genetycznym podłożu PTC z zależności od populacji.

Rola rzadkich mutacji o wysokiej penetracji w rodzinnej postaci PTC.

Szacuje się, że około 5-10% wszystkich przypadków PTC wykazuje rodzinność (ang. *familial PTC, fPTC*), co oznacza, że u co najmniej 2 krewnych I-go stopnia dla probanda stwierdzono PTC. W pracy „*Ultra-rare mutation in long-range enhancer predisposes to thyroid carcinoma with high penetrance*”, w której byłem współautorem (publikacja 8) analizowaliśmy poprzez całogenomową analizę sprzężeń chorych z rodziny, w której można było zaobserwować występowanie PTC w każdym pokoleniu, co sugerowało mendlowski typ dziedziczenia. Dzięki analizie sprzężeń wykryliśmy zmianę nukleotydów A>C (4q32A>C) w regionie międzygenowym chromosomu 4 (chr4:165491559, GRCh37/hg19). Mutacja ta była obecna u wszystkich członków rodziny dotkniętych PTC (poza jednym przypadkiem) i u czterech członków z łagodnymi zmianami ogniskowymi tarczycy. Mutacja ta zmieniała aktywność miejsca

wiązającego dla czynników transkrypcyjnych POU2F1 i YY1. Nie wykryliśmy jej w dużej populacji sPTC (n=2676) ani u chorych z fPTC pochodzących z 38 innych rodzin. Wyniki te wskazywały, że jakkolwiek genetyczne podłoże PTC składa się zapewne w większości z wariantów o niskiej penetracji, w rodzinach wykazujących zbliżony do mendlowskiego typ dziedziczenia można wykryć rzadkie „rodzinne” mutacje wykazujące wysoką penetrację.

Podsumowanie najważniejszych odkryć z prac poświęconej aspektom klinicznym.

Praca na oddziale internistycznych skutkowałą kilkoma pracami poświęconymi opisowi rzadkich przypadków klinicznych takich jak przerzut raka niedrobnokomórkowego płuca do serca (współautor), niezwykle rzadkiego zespołu wrodzonego braku żyły głównej z współtowarzyszącą mutacją Leiden V (pierwszy autor), limfocytowego zapalenia przysadki (współautor), zespołu Hiraty u pacjenta rasy kaukaskiej (pierwszy autor), rozpoznaniu i leczeniu pheochromocytoma w ciąży (współautor) i przerzutów czerniaka do nadnerczy (współautor).

Piśmiennictwo

- Chen, H., C. Xu, et al. (2014). "S100 protein family in human cancer." *Am J Cancer Res* 4(2): 89-115.
- Davies, B. R., M. O'Donnell, et al. (2002). "Expression of S100A4 protein is associated with metastasis and reduced survival in human bladder cancer." *J Pathol* 196(3): 292-299.
- Eng, C., D. Clayton, et al. (1996). "The relationship between specific RET proto-oncogene mutations and disease phenotype in multiple endocrine neoplasia type 2. International RET mutation consortium analysis." *JAMA* 276(19): 1575-1579.
- Ferlay, J., D. M. Parkin, et al. (2010). "Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008." *Eur J Cancer* 46(4): 765-781.
- Ferlay, J., H. R. Shin, et al. (2010). "Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008." *Int J Cancer* 127(12): 2893-2917.
- Frich, L., E. Glatre, et al. (2001). "Familial occurrence of nonmedullary thyroid cancer: a population-based study of 5673 first-degree relatives of thyroid cancer patients from Norway." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10(2): 113-117.
- Goldgar, D. E., D. F. Easton, et al. (1994). "Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands." *J Natl Cancer Inst* 86(21): 1600-1608.
- Grum-Schwensen, B., J. Klingelhofer, et al. (2005). "Suppression of tumor development and metastasis formation in mice lacking the S100A4(mts1) gene." *Cancer Res* 65(9): 3772-3780.
- Gudmundsson, J., P. Sulem, et al. (2012). "Discovery of common variants associated with low TSH levels and thyroid cancer risk." *Nat Genet* 44(3): 319-322.
- Gudmundsson, J., P. Sulem, et al. (2009). "Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations." *Nat Genet* 41(4): 460-464.
- He, H., A. Bronisz, et al. (2013). "SRGAP1 is a candidate gene for papillary thyroid carcinoma susceptibility." *J Clin Endocrinol Metab* 98(5): E973-980.
- He, H., W. Li, et al. (2013). "Ultra-rare mutation in long-range enhancer predisposes to thyroid carcinoma with high penetrance." *PLoS One* 8(5): e61920.
- He, H., R. Nagy, et al. (2009). "A susceptibility locus for papillary thyroid carcinoma on chromosome 8q24." *Cancer Res* 69(2): 625-631.
- Hemminki, K. and C. Dong (2000). "Familial relationships in thyroid cancer by histo-pathological type." *Int J Cancer* 85(2): 201-205.
- Hrafnelsson, J., H. Tulinius, et al. (2001). "Familial non-medullary thyroid cancer in Iceland." *J Med Genet* 38(3): 189-191.

- Hwangbo, Y. and Y. J. Park (2018). "Genome-Wide Association Studies of Autoimmune Thyroid Diseases, Thyroid Function, and Thyroid Cancer." *Endocrinol Metab (Seoul)* 33(2): 175-184.
- Jia, W., X. J. Gao, et al. (2013). "S100A4 silencing suppresses proliferation, angiogenesis and invasion of thyroid cancer cells through downregulation of MMP-9 and VEGF." *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 17(11): 1495-1508.
- Kohler, B. A., E. Ward, et al. (2011). "Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2007, featuring tumors of the brain and other nervous system." *J Natl Cancer Inst* 103(9): 714-736.
- Lee, W. Y., W. C. Su, et al. (2004). "Expression of S100A4 and Met: potential predictors for metastasis and survival in early-stage breast cancer." *Oncology* 66(6): 429-438.
- Malchoff, C. D., M. Sarfarazi, et al. (2000). "Papillary thyroid carcinoma associated with papillary renal neoplasia: genetic linkage analysis of a distinct heritable tumor syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* 85(5): 1758-1764.
- Peiling Yang, S. and J. Ngeow (2016). "Familial non-medullary thyroid cancer: unraveling the genetic maze." *Endocr Relat Cancer* 23(12): R577-R595.
- Prazeres, H. J., F. Rodrigues, et al. (2008). "Loss of heterozygosity at 19p13.2 and 2q21 in tumours from familial clusters of non-medullary thyroid carcinoma." *Fam Cancer* 7(2): 141-149.
- Risch, N. (2001). "The genetic epidemiology of cancer: interpreting family and twin studies and their implications for molecular genetic approaches." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10(7): 733-741.
- Saenko, V. A. and T. I. Rogounovitch (2018). "Genetic Polymorphism Predisposing to Differentiated Thyroid Cancer: A Review of Major Findings of the Genome-Wide Association Studies." *Endocrinol Metab (Seoul)* 33(2): 164-174.
- Suh, I., S. Filetti, et al. (2009). "Distinct loci on chromosome 1q21 and 6q22 predispose to familial nonmedullary thyroid cancer: a SNP array-based linkage analysis of 38 families." *Surgery* 146(6): 1073-1080.
- Swierniak, M., A. Wojcicka, et al. (2016). "Association between GWAS-Derived rs966423 Genetic Variant and Overall Mortality in Patients with Differentiated Thyroid Cancer." *Clin Cancer Res* 22(5): 1111-1119.
- Wang, X., X. Lu, et al. (2017). "LncRNA PTCSC3/miR-574-5p Governs Cell Proliferation and Migration of Papillary Thyroid Carcinoma via Wnt/beta-Catenin Signaling." *J Cell Biochem* 118(12): 4745-4752.
- Wang, X. M., Y. Liu, et al. (2018). "LncRNA PTCSC3 affects drug resistance of anaplastic thyroid cancer through STAT3/INO80 pathway." *Cancer Biol Ther* 19(7): 590-597.
- Xia, S., R. Ji, et al. (2017). "Long noncoding RNA papillary thyroid carcinoma susceptibility candidate 3 (PTCSC3) inhibits proliferation and invasion of glioma cells by suppressing the Wnt/beta-catenin signaling pathway." *BMC Neurol* 17(1): 30.

8. Analiza bibliometryczna dorobku na podstawie danych dostępnych w

bazie "Thomson Reuters Web of Science" – dostęp do baz w dniu

27.11.2019r.

- Sumaryczny IF: **80.399**
- Łączna liczba cytowań wg *Web of Science Core Collection*: **351** (w tym bez autocytowań: **339**)
- Indeks-h: **9**

9. Oświadczenie.

Oświadczam, że nie ubiegałem się uprzednio o stopień doktora habilitowanego.

