

ZAŁĄCZNIK NR 3

Autoreferat

Dr n. med. Monika Lejman

Pracownia Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii

WYDZIAŁ LEKARSKI

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Lublin 2020

Spis treści

1.	Imię i nazwisko:	4
2.	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej.	4
3.	Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.	5
4.	Omówienie osiągnięcia wynikającego z art. 219 ust. 1 pkt. 2b Ustawy.	5
4.1.	Tytuł osiągnięcia naukowego:.....	5
4.2.	Omówienie cyklu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.	8
4.3.	Podsumowanie głównego osiągnięcia naukowo-badawczego przedstawionego do postępowania habilitacyjnego i zastosowanie uzyskanych wyników.	27
5.	Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną, w tym realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.	34
5.1.	Tematyka pozostałych prac badawczych.	35
5.1.1.	Badania genetyczne w ostrej białaczce limfoblastycznej w kontekście trudności terapeutycznych, powikłań czy niepowodzeń leczenia.	35
5.1.2.	Badania genetyczne w ostrej białaczce limfoblastycznej – poszukiwanie markerów genetycznych mogących mieć wymierny wpływ na efekty leczenia.	43
5.1.3.	Praca Doktorska	55
5.1.4.	Współpraca z klinicystami	58
5.1.5.	Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych.	62
5.2.	Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych.	64
5.2.1	Prezentacje ustne i plakatowe na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych.	65
5.2.2	Wykłady na zaproszenie.	68
5.2.3	Otrzymane wyróżnienia	69
5.2.4	Członkostwo w towarzystwach naukowych	69
5.2.5	Członkostwo w komitetach redakcyjnych	69
5.2.6	Recenzje prac naukowych.....	69
5.2.7	Staże i szkolenia w ośrodkach naukowych	70
5.2.8	Międzynarodowa i krajowa współpraca naukowo-badawcza oraz diagnostyczna.	72
5.2.9	Pozostałe projekty badawcze, w których uczestniczyłam lub nadal uczestniczę	75
6.	Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne oraz popularyzujące naukę	76
6.1.	Osiągnięcia dydaktyczne.....	76
6.2.	Kształcenie podyplomowe	79

6.3.	Działalność zawodowa i organizacyjna.	80
6.4.	Popularyzowanie nauki w zakresie onkologii i hematologii dziecięcej.....	82
7.	Informacje dotyczące kariery zawodowej inne niż w punkcie 1-6.....	82
7.1.	Kursy i szkolenia poza wymaganymi programem specjalizacji diagnostów:.....	82

1. Imię i nazwisko:

Monika Małgorzata Lejman

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

- **Stypendium Ministra Edukacji Narodowej** na rok akademicki 1999/2000 za wysokie wyniki w nauce i szczególne osiągnięcia w pracy naukowej. Warszawa, 1.10.1999 r.
- 27.06.2000 r. – uzyskanie tytułu magistra biotechnologii z wynikiem bardzo dobrym, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi. Nr dyplomu: 7792.
- **Dyplom uznania Rektora UMCS** za bardzo dobre wyniki w nauce podczas studiów w latach 1995-96/1999-2000. Nr dyplomu: 394.
- 15.10.2003 r. – uzyskanie uprawnień do wykonywania zawodu Diagnosty Laboratoryjnego nr 4717. Nr dyplomu: 31/2003 seria AA 07498
- 29.05.2012 r. – uzyskanie tytułu specjalisty w dziedzinie laboratoryjna genetyka medyczna pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Jerzego R. Kowalczyka – Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi. Nr dyplomu: 34/D/OKP/2012 r.
- 22.11.2012 r. – uzyskanie stopnia doktora nauk medycznych, tytuł rozprawy:
„Optymalizacja wybranych metod badawczych w ocenie chimeryzmu komórkowego po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych u dzieci”, nadanego przez Uniwersytet Medyczny w Lublinie.

Promotor – prof. dr hab. n. med. Jerzy R. Kowalczyk. Klinika Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, UM w Lublinie.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

Zatrudnienie akademickie:

- 01.02.2017 – 30.06.2020 r. – asystent badawczo-dydaktyczny w Pracowni Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii UM w Lublinie
- 1.07.2020 r. do chwili obecnej – profesor uczelni badawczo-dydaktyczny w Pracowni Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii UM w Lublinie

Zatrudnienie szpitalne:

- 1.07.2000 – 30.09.2000 r. – wolontariat w Pracowni Cytogenetycznej Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Lublinie (obecnie Uniwersytecki Szpital Dziecięcy)
- 3.10.2000 – 28.05.2012 r. – młodszy asystent w Pracowni Cytogenetycznej (obecnie Dział Diagnostyki Genetycznej) Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Lublinie (obecnie Uniwersytecki Szpital Dziecięcy)
- 29.05.2012 – 12.08.2018 r. – starszy asystent w Pracowni Cytogenetycznej (obecnie Dział Diagnostyki Genetycznej) Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Lublinie (obecnie Uniwersytecki Szpital Dziecięcy)
- 13.08.2018 r. do chwili obecnej – **kierownik Działu Diagnostyki Genetycznej** Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Lublinie

4. Omówienie osiągnięcia wynikającego z art. 219 ust. 1 pkt. 2b Ustawy.

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.

„WYKORZYSTANIE TECHNIK MOLEKULARNYCH W ANALIZIE CZYNNIKÓW WPŁYWAJĄCYCH NA EFEKTYWNOŚĆ LECZENIA U DZIECI Z CHOROBYMI HEMATOLOGICZNYMI”

Podstawą o ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest cykl publikacji w dziedzinie nauki medycznej i nauki o zdrowiu, dyscyplinie nauki medycznej, składający się z pięciu oryginalnych prac pełnotekstowych i dwóch opisów przypadków o łącznej wartości bibliometrycznej IF = **16,111** oraz łącznej punktacji PK/MNiSW = **495**.

Wymienione prace stanowiące cykl publikacji powstały w latach 2017–2020 (po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych). We wszystkich pracach jestem pierwszym autorem i zarazem autorem korespondującym. Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe

znajdują się w **załączniku nr 5**. Oświadczenia współautorów prac wchodzących w skład osiągnięcia określające indywidualny wkład autorski w powstanie publikacji znajdują się w **załączniku nr 6**.

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

1. **Monika Lejman**, Katarzyna Drabko, Borys Styka, Dorota Winnicka, Mariusz Babicz, Ilona Jaszczuk, Jerzy R. Kowalczyk. **Usefulness of post-transplant hematopoietic chimera monitoring by use of the quantitative fluorescence polymerase chain reaction method**. *Transplant. Proc.* 2017 vol. 49 nr 8 s. 1903-1910, bibliogr. poz. 31. DOI: 10.1016/j.transproceed.2017.04.013.

IF = 0,806; PK/MNiSW = 15 (Praca oryginalna)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, opracowaniu metody badawczej i wykonaniu pracy laboratoryjnej, zebraniu i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa oraz przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Komunikowałam się z redakcją i recenzentami oraz przeprowadziłam korektę ostatecznej wersji tekstu.

2. **Monika Lejman**, Joanna Zawitkowska, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Magdalena Cienkusz, Aleksandra Mroczkowska, Jerzy Kowalczyk, Katarzyna Drabko. **Mixed Chimerism has no Influence on Outcome in Children with Aplastic Anaemia after Haematopoietic Stem Cell Transplantation**. *In Vivo* 2019 vol.33 nr 6 s. 2051-2057, bibliogr. poz 29. DOI: 10.21873/invivo.11703.

IF = 1,541; PK/MNiSW = 40 (Praca oryginalna)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu pracy laboratoryjnej, zebraniu i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa oraz przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Komunikowałam się z redakcją i recenzentami oraz przeprowadziłam korektę ostatecznej wersji tekstu.

3. **Monika Lejman**, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Joanna Zawitkowska, Aleksandra Mroczkowska, Dominik Grabowski, Jerzy Kowalczyk, Katarzyna Drabko. **Impact of early chimerism status on clinical outcome in children with acute lymphoblastic leukaemia after haematopoietic stem cell transplantation**. *BMC Cancer* 2019 vol.19 1141, s.1024, bibliogr. poz. 30. DOI: 10.1186/s1285-019-6360-3.

IF = 3,150; PK/MNiSW = 100 (Praca oryginalna)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, wykonaniu pracy laboratoryjnej, zebraniu i interpretacji wyników, zebraniu i przeglądzie piśmiennictwa oraz przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Komunikowałam się z redakcją i recenzentami oraz przeprowadziłam korektę ostatecznej wersji tekstu.

4. **Monika Lejman**, Joanna Zawitkowska, Borys Styka, Mariusz Babicz, Dorota Winnicka, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Agata Pastorczak, Joanna Taha, Wojciech Młynarski, Jerzy R. Kowalczyk. **Microarray testing as an efficient tool to redefine hyperdiploid paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia patients.** Leuk. Res. 2019 vol. 83 [art. nr] 106163, s. 1-11. bibliogr. poz. 25. DOI: 10.1016/j.leukres.2019.05.013.

IF = 2,214; PK/MNiSW = 70 (Praca oryginalna)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu wyników i ich interpretacji, przeglądzie piśmiennictwa oraz przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Komunikowałam się z redakcją i recenzentami oraz przeprowadziłam korektę ostatecznej wersji tekstu.

5. **Monika Lejman**, Monika Włodarczyk, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Joanna Zawitkowska. **Use of microarrays and MLPA for integrating diagnostics and personalizing treatment – Case report of patient with Ph-like acute B-cell lymphoblastic leukemia.** Ann. Agric. Environ. Med. 2020. s. 1-4, bibliogr, DOI: 10.26444/aaem/115393.

IF = 0,982; PK/MNiSW = 70 (Opis przypadku)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i interpretacji wyników pacjenta, przeglądzie piśmiennictwa oraz przygotowaniu manuskryptu. Komunikowałam się z redakcją i recenzentami oraz przeprowadziłam korektę ostatecznej wersji tekstu.

6. **Monika Lejman**, Monika Włodarczyk, Joanna Zawitkowska, Jerzy R. Kowalczyk. **Comprehensive chromosomal aberrations in a case of a patient with TCF3-HLF-positive BCP-ALL.** BMC Med. Genomics 2020 vol.13 s. 1-7. DOI:10.1186/s12920-020-0709-y.

IF = 2,570; PK/MNiSW = 100 (Opis przypadku)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i interpretacji wyników pacjenta, przeglądzie piśmiennictwa oraz przygotowaniu manuskryptu. Komunikowałam się z redakcją i recenzentami oraz przeprowadziłam korektę ostatecznej wersji tekstu.

7. **Monika Lejman**, Monika Włodarczyk, Borys Styka, Agata Pastorczak, Joanna Zawitkowska, Joanna Taha, Łukasz Sędek, Katarzyna Skonieczka, Marcin Braun, Olga Haus, Tomasz Szczepański, Wojciech Młynarski, Jerzy R. Kowalczyk. **Advantage and Limitations of SNP Array in the Molecular Characterization of Pediatric T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia.** Front. Oncol. 2020. vol.10. s. 1-7. DOI: 10.3389/fonc.2020.01184

IF = 4,848; PK/MNiSW = 100 (Praca oryginalna)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa oraz przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Komunikowałam się z redakcją i recenzentami oraz przeprowadziłam korektę ostatecznej wersji tekstu.

4.2. Omówienie cyklu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wprowadzenie

W latach dziewięćdziesiątych nastąpił znaczący rozwój diagnostyki molekularnej opartej na technikach reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, Polymerase Chain Reaction), multipleksowej amplifikacji zależnej od ligacji (MLPA, Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification) czy porównawczej hybrydyzacji genomowej (CGH, Comparative Genomic Hybridization) oraz mikromacierzy (microarray, microchip). Badania z wykorzystaniem technik biologii molekularnej przyczyniły się do: poznania mechanizmów nowotworzenia, nowoczesnej klasyfikacji chorób w oparciu o parametry molekularne, stratyfikacji pacjentów do grup ryzyka na podstawie markerów genetycznych, monitorowania choroby resztkowej w trakcie trwania terapii i po zakończonej chemioterapii, monitorowania chimeryzmu po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych u dzieci oraz wczesnego wykrywania wznowy lub odrzucenia przeszczepu na poziomie molekularnym i stosowania

interwencji terapeutycznych czy możliwości stosowania terapii celowanej w oparciu o wykryte rearanżacje genomowe [1, 2]. Współczesna diagnostyka laboratoryjna ma istotne znaczenie i stała się elementem algorytmów stosowanych w protokołach terapeutycznych w onkohematologii dziecięcej [3]. Podstawę do opracowania rutynowych testów genetycznych stanowią wcześniej prowadzone badania naukowe, a następnie standaryzacja techniki w laboratorium w oparciu o rekomendacje i nabywanie doświadczenia w prowadzonych testach [4, 5].

Allogeniczna transplantacja komórek krwiotwórczych (allo-HSCT, allogeneic – Hematopoietic Stem Cell Transplantation) znajduje zastosowanie w terapii chorób nowotworowych, przede wszystkim białaczek oraz wrodzonych i nabytych chorób nienowotworowych, tj. niewydolności szpiku, niedoborów odporności, niektórych chorób metabolicznych i hemoglobinopatii [6]. Po allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych w organizmie biorcy dochodzi do powstania zjawiska zwanego chimeryzmem komórkowym, czyli stanu występowania jednocześnie komórek o dwóch różnych genotypach (biorcy i dawcy) w organizmie biorcy. Zatem biorca staje się molekularną i komórkową chimerą [7]. Początkowo sądzono, że kompletna hematopoeza dawcy jest kluczowa, aby zapewnić przyjęcie przeszczepu po allo-HSCT u ludzi [8, 9]. Wkrótce odkryto, że hematopoeza biorcy i dawcy może ze sobą współistnieć po transplantacji. Ten stan jednoczesnego występowania hematopoetycznych komórek biorcy i dawcy nazywa się chimeryzmem mieszanym (MC, Mixed Chimerism). Kiedy wszystkie hematopoetyczne komórki po przeszczepieniu pochodzą od dawcy, pacjent nazywany jest „pełną chimerą” i wykazuje chimeryzm całkowity (CC, Complete Chimerism). Wykrywanie wyłącznie komórek autologicznych świadczy o całkowitym braku chimeryzmu, czyli o tym, że nastąpiła odnowa autologiczna (AR, Autologous Recovery) i odrzucenie przeszczepu. Ewolucja chimeryzmu po przeszczepieniu jest bardzo złożonym i dynamicznym procesem, w związku z tym pacjent po HSCT z chimeryzmem całkowitym może rozwinąć stan chimeryzmu mieszanego i odwrotnie [10]. Głównym celem monitorowania chimeryzmu komórkowego u pacjenta po allo-HSCT jest przede wszystkim: możliwość dokumentacji przyjęcia lub odrzucenia przeszczepu przez biorcę, ocena ryzyka wznowy choroby nowotworowej oraz ocena ryzyka wystąpienia choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD, Graft versus Host Disease). Jednym z najczęstszych powikłań po allo-HSCT zwłaszcza przy przeszczepach od dawców niespokrewnionych oraz po transplantacjach od dawców częściowo niezgodnych jest wystąpienie choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD). Dowiedziono, że występowanie przejściowego lub stabilnego chimeryzmu mieszanego (zwłaszcza w subpopulacji limfocytów T) może świadczyć o

wytworzeniu pewnego rodzaju tolerancji immunologicznej między komórkami dawcy i biorcy, co stanowi czynnik zmniejszający ryzyko wystąpienia ostrej lub przewlekłej GvHD, ale jednocześnie zwiększa ryzyko wznowy ze względu na osłabienie efektu przeszczep przeciwko białaczce (GvL, Graft versus Leukemia) [11, 12]. Zarówno diagnostyka, jak i monitorowanie GvHD opierają się na kryteriach klinicznych, natomiast ocena chimeryzmu sprowadza się do oceny ryzyka GvHD oraz oceny ryzyka wznowy, której sprzyja zbyt intensywna profilaktyka GvHD. Badanie chimeryzmu potransplantacyjnego u dzieci z chorobami nowotworowymi i nienowotworowymi jest często niedocenianym narzędziem diagnostycznym. Do tej pory nie opracowano jednoznacznego harmonogramu oznaczeń chimeryzmu hematopoetycznego po allo-HSCT u dzieci. Ocena przydatności badań chimeryzmu w wykrywaniu wznowy choroby nowotworowej jest niewątpliwie związana z wyborem zastosowanej metody diagnostycznej oraz częstotliwości oznaczeń chimeryzmu u pacjenta. Obecnie metodą uznawaną za standard jest technika reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) z wykorzystaniem starterów znakowanych fluorescencyjnie oraz automatyczną analizą długości sekwencji w sekwenatorze [10, 13]. W laboratoryjnej praktyce ważny jest nie tylko wybór odpowiedniej techniki, ale przeprowadzenie jej standaryzacji i walidacji w laboratorium w celu określenia czułości i jakości danej metody, zwłaszcza przy opracowaniu ilościowym wyniku.

Kolejnym przykładem zastosowania metod biologii molekularnej jest badanie niezrównoważenia genomu w postaci mikrodelecji i mikroduplikacji z wykorzystaniem wysokorozdzielczej macierzy CytoScan HD u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL, Acute Lymphoblastic Leukemia). Mikromacierze genomowe wykorzystujące sondy badające polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) opisane zostały prawie 20 lat temu, ale od tego czasu rozwój technologii znacznie przyspieszył, zapewniając większy zasięg i niższe koszty ekonomiczne [14]. Komercyjne platformy Affymetrix GeneChip SNP są szczególnie wykorzystywane w hematoonkologii dziecięcej do badania zmienności liczby kopii (CNA, Copy Number Alteration) jako standardowej procedury określania statusu *IKZF1^{plus}* u dzieci z BCP-ALL (ALL z prekursorowych komórek B). Ta wysokorozdzielcza macierz składa się z 1 900 000 sond genomowych i 750 000 sond SNP, dlatego analiza zapewnia dokładny obraz niezrównoważonych aberracji genetycznych. Powyższa technologia ma ogromne zalety, gdyż umożliwia analizę struktury genomu z pominięciem etapu zakładania hodowli komórkowych i przygotowywania płytek metafazalnych do oceny chromosomów, a więc nie wymaga dzielących się komórek. Zdarza się, że pozornie dobre prognozy dla pacjentów mogą być zakłócone przez ukryte anomalie genetyczne, których nie wykrywamy za pomocą metody FISH lub kariotypu somatycznego.

Przykładem jest kariotyp hiperdiploidalny, który pomimo wysokiej częstości występowania u dzieci z ALL (około 30%) nadal pozostaje słabo scharakteryzowaną grupą pod względem genetycznym. Morfologia chromosomów często nie spełnia norm, co sprawia, że analizy cytogenetyczne są trudne i obciążone dużym błędem w interpretacji. Dokładna analiza kariotypu molekularnego pozwala odpowiedzieć na stale zadawane pytania dotyczące wznów (prawie 20%) pacjentów z hiperdiploidalnym kariotypem lub pacjentów niewchodzących w remisję po zastosowanym leczeniu i prezentujących pozytywny wynik dla choroby resztkowej. Analizując dokładne punkty pęknięć w genach podlegającym fuzjom, możemy wytypować cel terapeutyczny dla pacjenta, a następnie potwierdzić go metodą FISH z wybraną sondą lub RT-PCR.

Ostra białaczka limfoblastyczna T-komórkowa występuje rzadziej niż BCP-ALL i stanowi około 15% wszystkich przypadków ALL u dzieci. Ze względu na znacznie gorsze rokowanie u tych pacjentów wciąż poszukuje się nowych czynników rokowniczych, a przede wszystkim aberracji chromosomowych i ich powiązań z efektami leczenia. Szybka identyfikacja określonych podgrup ma zasadnicze znaczenie dla stratyfikacji odpowiedzi na leczenie w celu poprawienia wskaźników wyleczeń. W tym celu wykorzystuje się przede wszystkim techniki molekularne takie jak FISH, mikromacierze SNP czy sekwencjonowanie nowej generacji RNA.

W świetle dotychczasowych doniesień na temat znaczenia chimeryzmu komórkowego po allo-HSCT w moich naukowych badaniach podjęłam powyższy temat. Po przeprowadzeniu standaryzacji techniki diagnostycznej badałam kliniczne znaczenie występowania chimeryzmu mieszanego u pacjentów poddanych allo-HSCT z powodu wrodzonych i nabytych niedokrwistości aplastycznych, a następnie poszukiwałam powiązań z efektami terapii pacjentów. Analizowałam także znaczenie oznaczania wczesnego chimeryzmu u pediatrycznych pacjentów po zabiegu allo-HSCT z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej. Kolejnym tematem badawczym związanym z wykorzystaniem technik molekularnych stała się analiza aberracji genetycznych występujących u dzieci z ALL przez wykorzystanie wysokorozdzielczej mikromacierzy CytoScan HD. Moje badania miały na celu ocenę parametrów genetycznych, które mogą mieć potencjalny wpływ na efekt leczenia u dzieci z BCP-ALL i T-ALL.

Cel badań:

Nadrzędnym celem prowadzonych przeze mnie badań w ciągu ostatnich lat było wykorzystanie technik molekularnych w diagnostyce hematoonkologicznej u dzieci oraz

analizie czynników mogących wpływać na efekty terapii u dzieci leczonych zarówno z powodu chorób nowotworowych, jak i nienowotworowych.

Cele szczegółowe:

1. Opracowanie, wystandaryzowanie metody QF-STR PCR do badań chimeryzmu komórkowego u dzieci po transplantacji komórek krwiotwórczych oraz analiza chimeryzmu u pacjentów poddanych allo-HSCT z powodu wrodzonych i nabytych niedokrwistości aplastycznych oraz znaczenie oznaczania wczesnego chimeryzmu u pacjentów poddanych allo-HSCT z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej.
2. Analiza niezrównoważenia genomu oraz charakterystyka molekularna u dzieci z BCP ALL z wykorzystaniem techniki mikromacierzy i poszukiwanie celów terapeutycznych.
3. Analiza wzoru molekularnego i jego kliniczne znaczenie w dziecięcej T komórkowej ostrej białaczce limfoblastycznej.

Omówienie uzyskanych wyników:

Ad 1. Usefulness of post-transplant hematopoietic chimera monitoring by use of the quantitative fluorescence polymerase chain reaction method.

Przydatność monitorowania hematopoetycznego chimeryzmu po przeszczepieniu za pomocą metody ilościowej fluorescencyjnej łańcuchowej reakcji polimerazy.

W pracy omawiam wykorzystanie techniki molekularnej STR PCR (Short Tandem Repeats PCR) do badania chimeryzmu komórkowego u dzieci po allo-HSCT. Przeszczepianie macierzystych komórek krwiotwórczych stało się dobrze ugruntowaną procedurą leczenia wielu złośliwych i niezłośliwych schorzeń u dzieci oraz dorosłych pacjentów [15]. Dane literaturowe opisują niekwestionowane zalety i duży potencjał metody PCR w czasie rzeczywistym (RQ PCR, Real-Time Quantitative PCR) umożliwiającej analizę chimeryzmu z czułością co najmniej 10^{-3} , jednak większość europejskich centrów stosuje metodę opartą o analizę polimorfizmu mikrosatelitarnych loci (STR-PCR) [16]. W metodzie tej analiza produktów odbywa się w czasie elektroforezy kapilarnej wrażliwej na ilość i jakość DNA [7, 17].

Celem pracy była ocena przydatności metody QF-PCR (Quantitative Fluorescence PCR) w analizie chimeryzmu po allo-HSCT zgodnie z przyjętym harmonogramem oraz określenie najbardziej użytecznych markerów dla spokrewnionych i niespokrewnionych dawców. Przeanalizowałam wyniki badań 102 dzieci z nowotworowymi i nienowotworowymi chorobami układu hematopoetycznego poddanych allogeniczej

transplantacji macierzystych komórek krwiotwórczych wykonanej w II Katedrze Pediatrii i Klinice Hematologii, Onkologii i Transplantologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Lublinie. Materiałem do badań było genomowe DNA wyizolowane z komórek jednojądrzastych krwi obwodowej lub szpiku kostnego. Próbkę krwi lub szpiku pobierane były od par biorca–dawca przed przeszczepem oraz według ustalonego schematu po transplantacji od biorców. Dla wszystkich par biorca i dawca objętych badaniem określono profil genetyczny DNA przy pomocy zestawu AmpFISTR® SGMPlus przed allo-HSCT. Powyższy panel okazał się w pełni wystarczający dla wytypowania markerów informatywnych. Każdy profil był szczegółowo sprawdzany pod względem występowania niekorzystnych zjawisk, które wpływałyby na ilościowy wynik oznaczenia. Najwięcej par biorca–dawca badanej grupy pacjentów charakteryzowało się aż 9 markerami informatywnymi, szczególnie przy parze z niespokrewnionym dawcą (18% badanej grupy). Pacjenci mieli średnio od 4 do 5 markerów informatywnych niezależnie od rodzaju dawcy (niezwiązanego lub pokrewnego). Najbardziej polimorficznym markerem okazał się D2S1338 (locus 2q), najmniej D16S539 (locus 16q). Przy przeszczepach niespokrewnionych marker D21S11 był najbardziej polimorficzny, jednak przy badaniu markera pod względem występowania „stutter peaks” (zacinający się pik występujący przed właściwym pikiem dawcy lub biorcy), to znacznie częściej były one obserwowane przy D21S11 (własne obserwacje). Wykonano analizę pod względem układów markerów informatywnych. Zdecydowanie najczęstszym typem układy alleli był typ E – stanowił aż 57% w badanej grupie, typ heterozygotyczny, przy czym jeden z alleli dla biorcy i dawcy był wspólny. Zgodnie z planowanym harmonogramem chimery można było oznaczyć już 6 lub 7 dni po przeszczepieniu u 97% pacjentów. Izolacja DNA nie była możliwa tylko u 3% pacjentów z powodu braku wszczepienia molekularnego.

Jak wykazaliśmy w pracy, pomimo niekwestionowanych zalet ilościowej metody PCR w czasie rzeczywistym, która przy bardzo niskim poziomie mieszanego chimeryzmu biorcy jest najbardziej czułą techniką, to metoda QF PCR pozostaje powszechnym i niezawodnym narzędziem do jakościowej oceny chimeryzmu komórkowego. Przy mieszanym chimeryzmie, kiedy poziom komórek biorcy osiąga 30–50%, to technika QF PCR (ze współczynnikiem zmienności 5%) jest dokładniejsza niż PCR w czasie rzeczywistym [18]. Willash i współ. porównali obie metody i podkreślili fakt, że RQ-PCR jest bardzo czułą metodą, jednak może przy tym prowadzić do znacznego odsetka wyników fałszywie dodatnich. Takie wyniki mogą oznaczać interwencję terapeutyczną u pacjenta i narażenie na niepotrzebne ryzyko wywołania choroby przeszczep przeciw gospodarzowi [19].

Przedstawiona standaryzacja metody w tej pracy może stać się podstawą do opracowania metodyki w innych laboratoriach zajmujących się monitorowaniem chimeryzmu po allo-HSCT. Na podstawie wyników przedstawionych w tym artykule uważam, że wskazane byłoby skonsolidowanie metody i protokołu analizy chimeryzmu dla wszystkich laboratoriów diagnostycznych zajmujących się chimeryzmem krwiotwórczym po allo-HSCT w Polsce. W ten sposób możliwe byłoby wdrożenie międzynarodowych programów kontroli jakości dotyczących chimeryzmu po allo-HSCT. Wykazałam, że w przypadku monitorowania chimeryzmu bardzo ważny jest właściwie przyjęty harmonogram analizy chimeryzmu i – jako unikatowa dla tego typu prac – możliwość monitorowania pacjenta już od 7 doby po transplantacji. Możliwość śledzenia wyników na tak wczesnym etapie pozwala na podejmowanie interwencji terapeutycznych, co bezpośrednio wpływa na efekt leczenia pacjentów po allo-HSCT. Praca stała się podstawą do opracowania w naszym ośrodku transplantacyjnym własnego harmonogramu monitorowania chimeryzmu po allo-HSCT dla dzieci z chorobami nowotworowymi i nienowotworowymi oraz do opracowania specjalnych wyników zawierających podgląd do wszystkich oznaczeń chimeryzmu pacjenta po allo-HSCT.

Ad. 2. Mixed Chimerism has no Influence on Outcome in Children with Aplastic Anaemia after Haematopoietic Stem Cell Transplantation.

Mieszany chimeryzm nie ma wpływu na wyniki transplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych u dzieci z niedokrwistością aplastyczną.

Kolejna praca z mojego cyklu powstała w toku badań nad mieszanym chimeryzmem, który mogą prezentować pacjenci po allo-HSCT z niedokrwistością aplastyczną. Anemia Fanconiego (FA, Fanconi Anemia), niedokrwistość Diamonda- Blackfana (DBA, Diamond-Blackfan Anemia), wrodzona dyskeratoza (DC, Dyskeratosis Congenita), zespół Shwachman-Diamonda (SDS, Shwachman-Diamond Syndrome) oraz ciężka wrodzona neutropenia (SCN, Severe Congenital Neutropenia) to najczęstsze wrodzone zaburzenia hematopoezy wieku dziecięcego. Nabyta niedokrwistość aplastyczna (AA, Aplastic Anemia) jest stosunkowo rzadką chorobą diagnozowaną u dzieci. Allo-HSCT od dawcy rodzinnego jest leczeniem pierwszej linii w przypadku wrodzonej i nabytej niedokrwistości aplastycznej u dzieci. Jednym z ciężkich powikłań transplantacji komórek krwiotwórczych jest nieprzyjęcie lub odrzucenie przeszczepu.

Celem naszych badań była analiza zależności między występowaniem mieszanego chimeryzmu hematopoetycznego po allo-HSCT a przeżyciem pacjentów leczonych z powodu wrodzonych i nabytych niedokrwistości oraz przedstawienie ewolucji chimeryzmu w okresie

poprzeszczepowym. Chimeryzm monitorowano w następujących punktach czasowych: co tydzień do dnia +60, następnie 1x w miesiącu do 1 roku po allo-HSCT; później analizę chimeryzmu przeprowadzano co 2–6 miesięcy. W przypadku wskazań klinicznych chimeryzm analizowano niezależnie od punktów czasowych schematu monitorowania. Do badania włączono 27 pacjentów leczonych allo-HSCT w Klinice Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej z powodu wrodzonych lub nabytych niedokrwistości. Materiałem do badań genetycznych było genomowe DNA izolowane z komórek jednojądrzastych krwi obwodowej. Wszystkie analizy chimeryzmu metodą STR-PCR wykonywano w Pracowni Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii UM w Lublinie. Metoda ilościowej fluorescencyjnej łańcuchowej reakcji polimerazy zastosowana w tym projekcie była wiarygodna, wystandaryzowana w naszym laboratorium i opisana przez nas wcześniej w literaturze. W badanej grupie mediana czasu obserwacji wyniosła 6,12 lat (od 2,00–14,8 lat). Całkowite przeżycie (OS, Overall Survival) wyniosło 0.87, w tym we wrodzonych niedokrwistościach – 1,0; w ciężkich anemiach aplastycznych– 0.78 ($p = 0,1$) i nie zależało od rodzaju choroby.

Mieszany chimeryzm obserwowano statystycznie częściej przy spokrewnionym dawcy. Nie stwierdzono zależności między rodzajem kondycjonowania czy dawką komórek macierzystych, a występowaniem mieszanego chimeryzmu po allo-HSCT. Nie stwierdzono różnicy w całkowitym przeżyciu między pacjentami z mieszanym chimeryzmem (OS 0.90) i całkowitym chimeryzmem (OS 0.93). W naszym badaniu zaobserwowaliśmy dwa wzorce stabilnego mieszanego chimeryzmu (SMC, Stable Mixed Chimerism). W pierwszym stwierdziliśmy znaczną przewagę komórek pochodzących od dawcy, wynoszącą od 95% do 97%. W drugim stwierdziliśmy mieszany chimeryzm z wahaniami między 50% a 90% komórek dawcy. Stabilny mieszany chimeryzm zaobserwowaliśmy u siedmiu pacjentów z ciężką aplastyczną anemią (SAA, Severe Aplastic Anemia) i dwóch pacjentów z wrodzoną niedokrwistością (pacjent z DBA oraz pacjent z FA). Do końca czasu obserwacji nie zdiagnozowano u nich choroby nowotworowej. W całej grupie zmarło czterech pacjentów, wszyscy leczeni z powodu SAA. Przyczynami zgonów były: poprzeszczepowa choroba limfoproliferacyjna (PTLD, Post-Transplant Lymphoproliferative Disease), inwazyjna infekcja grzybicza, niewydolność wielonarządowa, odrzucenie przeszczepu i powikłania infekcyjne po zabiegu usunięcia wyrostka robaczkowego.

W naszym badaniu występowanie MC nie wpływało na całkowite przeżycie dzieci z wrodzoną i nabytą niedokrwistością po allo-HSCT. Efekt terapeutyczny można uzyskać nawet przy mieszanym chimeryzmie, szczególnie w przypadku chorób nienowotworowych [20, 21]. Na podstawie wyników można sądzić, że mieszany chimeryzm (przejściowy i

stabilny chimeryzm mieszany) są bezpieczne dla pacjentów z SAA, ale u pacjentów z niedokrwistościami wrodzonymi utrzymywanie się hematopoezy u biorcy może zwiększać ryzyko transformacji nowotworowej [22]. Z powyższego powodu należy rozważnie podejmować decyzje terapeutyczne (np. wycofanie immunosupresji, zastosowanie infuzji limfocytów dawcy czy też decyzje o kolejnej transplantacji).

W tej pracy dowiedliśmy, że tylko stałe monitorowanie chimeryzmu z wykorzystaniem wystandaryzowanej metody molekularnej daje przydatne i wiarygodne dane dotyczące przeszczepów i pozwala obserwować stan kliniczny pacjenta. W związku z tym wyniki tej pracy mogą być pomocne zarówno w ustaleniu wytycznych postępowania u dzieci z wrodzoną oraz nabytą niedokrwistością po allo-HSCT, którzy prezentują mieszany chimeryzm hematopoetyczny, oraz przy ustaleniu harmonogramu oznaczania chimeryzmu dla tych pacjentów. Nasza publikacja jest pierwszą w Polsce i jedną z nielicznych na świecie, które opisują monitorowanie chimeryzmu w grupie chorych z niedokrwistością aplastyczną. Praca ta jest kontynuowana i aktualnie rozszerzana o dodatkowe badania chimeryzmu na subpopulacjach limfocytów T, co pozwoli w przyszłości zaprezentować kolejne ciekawe wyniki.

Wstępne wyniki tych badań prezentowałam na 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, Geneva 1 - 4 kwietnia 2012.

Ad. 3. Impact of early chimerism status on clinical outcome in children with acute lymphoblastic leukaemia after haematopoietic stem cell transplantation.

Znaczenie badania wczesnego chimeryzmu u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną po przeszczepieniu hematopoetycznych komórek macierzystych.

Kliniczne znaczenie wczesnego monitorowania chimeryzmu u dzieci leczonych allo-HSCT z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej stało się tematem przewodnim kolejnej pracy. Monitorowanie stanu wszczepienia jest istotne w ocenie ryzyka odrzucenia przeszczepu oraz wystąpienia ostrej lub przewlekłej formy choroby GvHD. Ustalanie się chimeryzmu w hematopoetycznym systemie po allogeniczej transplantacji jest złożonym procesem, na który wpływa wiele czynników zarówno tych przed transplantacją, jak i po niej. Kliniczne znaczenie monitorowania chimeryzmu komórkowego po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych może być rozpatrywane w zależności od różnych aspektów przeprowadzonej transplantacji: wskazanie do przeszczepu, przygotowanie biorcy do transplantacji, źródło komórek przeszczepianych, dawka przeszczepianych komórek, sposób przygotowania materiału do przeszczepu, stopień pokrewieństwa i zgodność dawcy, rodzaj badanego materiału poprzyszczepowego [23, 24]. Większość prac opisuje

monitorowanie chimeryzmu jako czynnik prognostyczny wznowy w chorobach nowotworowych, a w przypadku dzieci z ALL wykrycie wzrastającego chimeryzmu mieszanego rekomenduje podawanie dodatkowo infuzji limfocytów dawcy (DLI, donor lymphocyte infusion) lub innego rodzaju immunoterapię [25]. Wykazano, że pełny chimeryzm dawcy osiągnięty przed 30 dniem po allo-HSCT jest czynnikiem związanym z niskim ryzykiem wznowy choroby [26, 27]. Jednak znaczenie oznaczania bardzo wczesnego chimeryzmu do 28 doby po allo-HSCT pozostaje niejasne i niezbadane, szczególnie u dzieci z ALL.

Celem pracy była analiza ewolucji wczesnego chimeryzmu do 28 doby po allo-HSCT u dzieci z ALL i jego roli w ocenie całkowitego przeżycia i przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS, Event-Free Survival). Oceniono wpływ różnych czynników mogących mieć wpływ na status wczesnego chimeryzmu po allo-HSCT. Badaniem objęto 56 dzieci poddane allogenicznej transplantacji komórek hematopoetycznych w Klinice Hematologii Onkologii i Transplantologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie w latach 2002–2018, u których pierwotnie zdiagnozowano ostrą białaczkę limfoblastyczną. W czasie recenzowania tej pracy ważnym pytaniem, jakie nam postawiono, było, jak poradziłyśmy sobie z izolacją DNA od pediatrycznego pacjenta w 7 dobie po allo-HSCT. Pozyskanie wiarygodnego materiału do badania chimeryzmu jest bardzo istotne i zostało opisane w metodycznej części pracy, co zostało docenione przez recenzentów. Bardzo wczesny chimeryzm oceniano z krwi obwodowej (PB) w dniach +7, +14, +21 i +28 po HSCT. W późniejszym okresie chimeryzm monitorowano zgodnie z wytycznymi EBMT (European Bone Marrow Transplantation) w ramach rutynowej obserwacji pacjentów z ALL po allo-HSCT [28]. Mediana czasu obserwacji w badanej kohorcie pacjentów wyniosła 4,58 lat (1,00 – 15,79 lat). Pięcioletnie całkowite przeżycie i przeżycie wolne od zdarzeń dla całej grupy pacjentów wynosiło odpowiednio 0.84 i 0.80. Kolejne analizy prowadzone były w grupach dzieci z całkowitym (CC) i mieszanym chimeryzmem (MC) w dniach +14, +21, +28. Natomiast w dniu +7 wszyscy pacjenci, z wyjątkiem jednego, mieli mieszany chimeryzm, w związku z tym nie przeprowadziłyśmy analiz statystycznych dla tego punktu czasowego. Nie wykazano różnic statystycznych w OS i EFS między pacjentami z CC i MC w analizowanych punktach czasowych. Średni poziom chimeryzmu dawcy w dniu +7 wynosił 60%, w dniu +14 osiągnął 90%, w dniu +21 oraz +28 odpowiednio 96% i 98%. W badanej grupie pacjentów dawca zgodny niespokrewniony, dawca płci męskiej, liczba przeszczepionych komórek dawcy CD34+ wynosząca powyżej $4,47 \times 10^6$ kg/mc biorcy oraz brak seroterapii ATG (globulina antytymocytarna) były statystycznie powiązane z wyższym poziomem wczesnego chimeryzmu dawcy. Wiek pacjenta w chwili przeszczepu, płeć biorcy, źródło komórek

macierzystych (krew obwodowa/szpik kostny), sposób kondycjonowania oraz immunofenotyp białaczki (T ALL/B ALL) nie miały wpływu na status wczesnego chimeryzmu. Kolejne analizy dotyczyły ryzyka występowania ostrej lub/i przewlekłej postaci GvHD. U 23 pacjentów wystąpiła ostra choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGvHD, acute GvHD) stopnia II-IV. Zaobserwowano, że poziom chimeryzmu dawcy powyżej 80% nie miał wpływu na częstość występowania ostrej i przewlekłej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (a/cGvHD). U dwóch pacjentów podjęto decyzje terapeutyczne na podstawie obserwacji wczesnego chimeryzmu. W dniu +21 po HSCT stwierdzono wzrost chimeryzmu biorcy i z tego powodu wcześniej zakończono leczenie immunosupresyjne. Pacjenci osiągnęli całkowity chimeryzm dawcy odpowiednio w dniach +40 i +90 po allo-HSCT, a pod koniec okresu obserwacji pacjenci żyli w pełnej remisji choroby zasadniczej, odpowiednio 2,5 i 3,5 roku po HSCT z całkowitym chimeryzmem dawcy. W pełnej remisji choroby żyje 48 dzieci (86%), u 45 z nich utrzymuje się całkowity chimeryzm dawcy, u 3 dzieci wykryliśmy pełną hematopoezę biorcy. W badanej grupie pacjentów ośmiu pacjentów (14%) zmarło. Wznowa białaczki wystąpiła u 5 z nich (9%), u wszystkich po dniu +28 po HSCT (od 3 miesiąca do 4,5 lat). Trzech pacjentów (5%) zmarło z powodu powikłań związanych z przeszczepem. Wszyscy pacjenci ze wznową choroby osiągnęli całkowity chimeryzm dawcy w dobie +14 po HSCT. Narastający chimeryzm biorcy zaobserwowano u nich odpowiednio w dniach +91, +93, +331, +444 i +1285. Wznowa potwierdzona została między 7 a 10 dniem po zdiagnozowaniu wzrastającego chimeryzmu biorcy. Nie zaobserwowano statystycznie istotnej różnicy w częstości wznów (CI, Cumulative Incidence) u pacjentów z chimeryzmem dawcy niższym i wyższym niż 60% w dniu +7, jak również u pacjentów z MC i CC w analizowanych punktach czasowych.

Nasze badania podkreślają znaczenie bardzo wczesnego monitorowania chimeryzmu po transplantacji jako diagnostycznego narzędzia do przewidywania odrzucenia przeszczepu, a co za tym idzie – możliwości szybkiego włączenia skutecznej interwencji terapeutycznej. Opisana praca jest unikatowa pod względem wyboru grupy badanych pacjentów tj. dzieci z ALL po allo-HSCT. W literaturze dostępnych jest niewiele publikacji dotyczących monitorowania chimeryzmu na tak wczesnym etapie po HSCT w populacji pediatrycznej. W większości są to prace opisujące grupę pacjentów dorosłych i dzieci z chorobami nowotworowymi tj. ALL, AML, CML, MDS. Chciałabym zaznaczyć, że jest to pierwsze takie retrospektywne badanie w populacji polskiej i pierwsza polska praca podkreślająca znaczenie kliniczne prowadzonych analiz. Badania prowadzone w ramach powyższego projektu wnoszą cenny wkład w ocenę efektów leczenia dzieci z ALL po transplantacji komórek krwiotwórczych. Co więcej, recenzenci sugerowali, aby kontynuować badania

obserwacyjne na większych grupach pacjentów, angażując do współpracy inne ośrodki transplantacyjne, co też mamy w planach. Doniesienia na ten temat stanowią cenny wkład dla ustalenia standardów opieki nad pacjentem z ALL po transplantacji komórek krwiotwórczych.

Wstępne wyniki tych badań prezentowałam na IX Zjeździe Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej w Poznaniu, 10-12 maja 2018.

Ad. 4. Microarray testing as an efficient tool to redefine hyperdiploid paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia patients.

Mikromacierze jako skuteczne narzędzie do ponownego zdefiniowania pacjentów z kariotypem hiperdiploidalnym z BCP ALL.

Celem pracy była charakterystyka rearanżacji genetycznych w grupie pacjentów z BCP ALL prezentujących kariotyp hiperdiploidalny lub bez wyniku cytogenetycznego spowodowanego nieudaną hodowlą komórkową.

Kariotyp hiperdiploidalny, szczególnie ten z wysoką hiperdiploidią (51–65 chromosomów w kariotypie somatycznym), jest związany z dobrą prognozą dla pacjenta (OS wynosi 90% dla pacjentów z BCP ALL i hiperdiploidalnym kariotypem) przy określonych parametrach klinicznych, takich jak: niski poziom białych krwinek, średnia wieku 4 lata w chwili diagnozy [29, 30, 31, 32]. Pacjenci z wysoką hiperdiploidią powinni prezentować kombinacje trisomii chromosomów 4, 10, 17 oraz 18 bez obecności trisomii chromosomu 5, który – jak opisuje Heerema i współ. [33] – może mieć negatywny efekt. Ukryte genetyczne rearanżacje związane mikrodelecjami lub mikroduplikacjami genów związanych z leukemogenezą mogą mieć niekorzystny wpływ na dobrą prognozę pacjentów z hiperdiploidią. Niestety w przypadku pacjentów z niską hiperdiploidią (47–50 chromosomów) prognozy są wciąż niejasne [34]. W związku z tym oprócz klasycznego kariotypowania, które może być nieefektywne z powodu nieudanych hodowli komórkowych, należy pacjentom wykonać kariotyp molekularny przy pomocy wysokorozdzielczych mikromacierzy CytoScan HD.

W pracy przebadano populację 55 pacjentów z nowo zdiagnozowaną BCP ALL i leczonych według protokołu ALL IC BFM 2009 (The Intercontinental Berlin-Frankfurt-Munster Study Group). Wszyscy pacjenci mieli wykonany wcześniej kariotyp somatyczny z barwieniem GTG, ale tylko u 32 pacjentów udało się ustalić hiperdiploidię. Badania mikromacierzowe ujawniły niską hiperdiploidię (Low Hyperdiploidy) u 7 pacjentów i wysoką hiperdiploidię (HeH, High Hyperdiploidy) u 48 pacjentów. Nie zaobserwowano żadnych

przypadków zamaskowanej hipodiploidii ani haploidii. Dodatkowo zaobserwowano 93 zmiany strukturalne o wielkości powyżej 10Mpz w tym: 32 delecje i 61 duplikacje. W przypadku pacjentów z HeH najczęściej występowała modalna liczba chromosomów (MCN) 55. Jedną z grup sklasyfikowanych w ramach HeH była hiperdiploidia z trisomią 4, 10, 17. Potrójne trisomie (+ 4, + 10, + 17) znaleziono w 27 przypadkach z medianą liczby modalnej 57 (zakres 54–64). W tej grupie najczęstszą nieprawidłowością były duplikacje regionu długiego ramienia chromosomu 1q, które zaobserwowano w 11 przypadkach. Pokrywającym się regionem we wszystkich przypadkach był region 1q21.2-1q32.2. Utratę heterozygotyczności (LOH; loss of heterozygosity) zaobserwowano w chromosomie 9 (7,2%) i 20 (5,4%), a także w przypadku chromosomów 11, 15, 19, 2, 5, 13 i 16. Ogólnie LOH obserwowano częściej w grupie pacjentów z HeH.

W badanej grupie wykryto 68 zmian liczby kopii (CNA) obejmujące delecje między innymi w genach *CDKN2A/CDKN2B*, *PAX5*, *RBI*, *ETV6*, *IKZF1*. Szczególnie ciekawym odkryciem było ujawnienie trzech pacjentów prezentujących delecję w genie *IKZF1* współistniejącą z delecją w genach *CDKN2A/CDKN2B*, co daje podstawę do kwalifikacji pacjenta do grupy *IKZF1^{plus}* [35]. Pierwszy pacjent prezentował wewnątrzgenową delecję eksonów od 2 do 7 genu *IKZF1* oraz delecję obu genów *CDKN2A/CDKN2B*. Dwaj pozostali pacjenci prezentowali delecje całego ramienia krótkiego chromosomu 7 oraz delecje *CDKN2A/CDKN2B* i duplikację 1q.

Praca podkreśla wartość zastosowanej techniki jako narzędzia koniecznego do otrzymywania rzetelnych i wiarygodnych diagnostycznych wyników w aspekcie ukrytych zmian genetycznych w kariotypie hiperdiploidalnym takich jak delecje w genie *IKZF1*. W nowym protokole leczenia status grupy *IKZF1^{plus}* jest bardzo ważny w stratyfikacji pacjenta do grupy wysokiego ryzyka przy pozytywnym wyniku choroby resztkowej oznaczonej metodą molekularną. Wyniki kariotypu molekularnego zdefiniowały mikrodelecje w docelowych genach. Korzyści z analizy mikromacierzy są niekwestionowane zwłaszcza w aspekcie ograniczeń metody cytogenetycznej, analizy GTG oraz licznych niepowodzeń w hodowli komórkowych szpiku kostnego. Metoda mikromacierzy może pozwolić na redefiniowanie rokowania dla pacjentów z hiperdiploidią. Co więcej, takie podejście zarówno pozwala na racjonalne zastosowanie mikromacierzy SNP, jak i zapewnia realne korzyści finansowe.

Wyniki tych badań zostały zaprezentowane na wykładzie XXVIII PTHIT 2019 (Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologii i Transfuzjologii) Łódź, 12 – 14 września, 2019

Ad. 5. Use of microarrays and MLPA for integrating diagnostics and personalizing treatment – Case report of patient with Ph-like acute B-cell lymphoblastic leukemia.

Użycie mikromacierzy oraz MLPA dla integracji diagnostyki i personalizacji leczenia – opis przypadku pacjenta z B komórkową ostrą białaczką limfoblastyczną Ph-like.

Białaczka BCR/ABL1-like jest nowo wyodrębnionym podtypem ostrej białaczki limfoblastycznej wywodzącej się z prekursorowych komórek limfocytów B, charakteryzującej się podobnym profilem ekspresji genów do białaczki z fuzją genową *BCR/ABL1*. Podtyp Philadelphia (Ph)-like ALL stanowi około 15% BCP-ALL i cechuje go wysokie ryzyko wznowy (50%) oraz skrócone przeżycie, wyrażone 5-letnim EFS na poziomie 62% [36, 37, 38]. Większość rearanżacji genowych odnosi się do genów zaangażowanych w różnicowanie i dojrzewanie linii B (*IKZF1*, *PAX5*, *EBF1*, *VPREB1*), regulujących procesy proliferacji limfocytów B (*CRLF2*, *CDKN2A/2B*) oraz genów (*PDGFRB*, *ABL1*, *JAK2*, *CSF1R*), których zmieniona ekspresja aktywuje kinazy szklaków metabolicznych wpływających na nowotworzenie [39, 40, 41, 42]. Dzięki identyfikacji markerów genetycznych mogących przyczynić się do identyfikacji pacjentów o wyższym ryzyku wznowy możemy wpłynąć na poprawę wyników leczenia ALL. Do identyfikacji tych aberracji służą narzędzia diagnostyczne w postaci połączonych metod cytogenetycznych i molekularnych.

Kolejna praca z cyklu przedstawia przypadek kliniczny pacjenta, u którego zidentyfikowano potencjalny cel terapeutyczny do leczenia ewentualnej wznowy. W pracy opisano 9-letniego chłopca z BCP-ALL leczonego zgodnie z protokołem ALL IC-BFM 2009 (ALL Intercontinental-BFM 2009). Na podstawie danych klinicznych chłopiec został sklasyfikowany jako grupa ryzyka pośredniego (IRG). Wykonano podstawowe testy genetyczne: kariotyp somatyczny oraz badania FISH przy pomocy sond molekularnych: BCR/ABL1, KMT2A, ETV6/RUNX1 (Vysis, Abbott Molecular, Illinois, USA). Wszystkie wyniki były prawidłowe i nie wykryto żadnych aberracji typowych dla BCP-ALL. Jedenaście miesięcy po zakończeniu pierwszej linii leczenia pacjent miał wznowę mieszaną z zajęciem szpiku i nacieczeniem jąder. Ponownie wykonano rutynowe testy genetyczne. Nie ujawniono rearanżacji genetycznych dla *BCR/ABL1*, *KMT2A*, *ETV6/RUNX1*. W badanym materiale w komórkach szpiku kostnego stwierdzono nieprawidłowy kariotyp hiperdiploidalny męski: 51, XY, + 5, + 8, + 18, + 19, + 21. Przebieg terapii pacjenta skłonił mnie do wykonania badań retrospektywnych z wykorzystaniem metod molekularnych MLPA (P036-E3, P335-C1, MRC Holland, Amsterdam, Holandia). Wynik wskazał nieprawidłowości w obrębie chromosomu 5. Przeprowadzono dodatkowy test przy użyciu techniki mikromacierzy CytoScan HD (Thermo

Fischer, Waltham, MA) w komórkach białaczkowych pobranych w momencie diagnozy i ze wznowy. Dodatkowy marker chromosomowy pochodzący z chromosomu 5 znaleziono w próbkach z diagnozy i ze wznowy. W dodatkowym markerze pochodzącym z chromosomu 5 zidentyfikowano delecje obejmującą między innymi: ostatni ekson genu *CSF1R*, cały gen *PDGFRB* i pierwszy ekson genu *EBF1*. Test mikromacierzy potwierdził trisomie chromosomów 8, 18, 19 i 21 w próbce ze wznowy. Nasze obserwacje dotyczące rearanżacji w obrębie genu *CSF1R* zostały dodatkowo potwierdzone z wykorzystaniem sondy typu breakpart (CytoCell, Cytocell Ltd, Oxford Gene Technology, Cambridge, Wielka Brytania). Pacjent został zakwalifikowany do allo-HSCT. Obecnie pacjent żyje bez nawrotu choroby dwa lata po zabiegu transplantacji.

Na podstawie wyników można przypuszczać, że doszło do potencjalnej fuzji pomiędzy fragmentem 5' genu *CSF1R* a drugim eksonem genu *EBF1*. Niestety brak materiału biologicznego w postaci RNA uniemożliwiło potwierdzenie tego wyniku z wykorzystaniem techniki RT PCR. Dane literaturowe opisują, że *EBF1* jest partnerem fuzyjnym najczęściej dla *PDGFRB*, podczas gdy nie ma doniesień na temat fuzji pomiędzy *CSF1R/EBF1*. Receptor czynnika 1 stymulujący kolonie (*CSF1R*) koduje receptor transbłonowy kinazy tyrozynowej odpowiedzialny za proliferację i różnicowanie makrofagów. Jedynym dotychczas opisanym partnerem fuzji dla *CSF1R* jest gen *SSBP2*. Częstość tej fuzji dla ALL typu Ph-like wynosi około 2,6%. Badania z wykorzystaniem hodowli komórkowych wykazały, że komórki z fuzją *CSF1R-SSBP2* były wrażliwe na inhibitory kinazy tyrozynowej – imatynib i dazatynib. Ponadto inhibitory *CSF1R* są obiecującą klasą leków immunomodulujących, które w połączeniu z immunoterapiami przeciwnowotworowymi pomogą osiągnąć korzyści kliniczne dla pacjentów [43, 44, 45, 46].

Zmiany dotyczące sygnalizacji kinazowej dotyczą 90% pacjentów z ALL typu Ph-like. W przypadku większej liczby zmian powodujących aktywację kinaz zastosowanie inhibitorów kinaz tyrozynowych jest skuteczną formą terapii. Personalizacja leczenia poprzedzona szybką diagnostyką jest możliwa po kompleksowej analizie danych genetycznych, w tym identyfikacji szlaków sygnałowych i receptorów cytokin zaangażowanych w proces transformacji nowotworu. Podsumowując, chciałabym podkreślić istotę badania profili genetycznych przy użyciu właściwych technik molekularnych, a zastosowanie zintegrowanych molekularnych narzędzi analitycznych pozwoli poprawić diagnozę i personalizację leczenia ALL typu Ph-like. Ten rodzaj doniesienia stanowi cenny dowód, jak ważne jest wykorzystanie różnych technik diagnostycznych i ich integracja w celu opracowania wyniku dla pacjenta, który może wpłynąć na efekt terapeutyczny.

Ad. 6. Comprehensive chromosomal aberrations in a case of a patient with TCF3-HLF-positive BCP-ALL

Kompleksowe aberracje chromosomalne u pacjenta z BCP-ALL oraz fuzją TCF3-HLF.

Translokacja t(17;19)(q22;p13) z utworzeniem fuzji *TCF3-HLF* jest bardzo rzadką rearanżacją w ALL, która jest związana z wyjątkowo niekorzystnym rokowaniem dla pacjenta [47]. Produkt genu fuzyjnego *TCF3-HLF* działa jako czynnik transkrypcyjny prowadzący do odróżnicowania dojrzałych limfocytów B do stanu niedojrzałego (limfoidalne komórki macierzyste). Proces ten inicjuje tworzenie komórek przedbiałaczkowych [48]. Ze względu na rzadkość tej aberracji chromosomowej w literaturze opisano tylko kilka przypadków [49].

W drugim opisie przypadku z mojego cyklu prac przedstawiono przypadek kliniczny 15-letniej pacjentki z BCP ALL leczonej zgodnie z protokołem ALL IC-BFM 2009 (ALL Intercontinental-BFM 2009), u której zidentyfikowano retrospektywnie t(17;19)(q22;p13). Wykonano podstawowe testy genetyczne obowiązujące w bieżącym protokole: kariotyp somatyczny oraz badania FISH przy pomocy sond molekularnych: BCR/ABL1, KMT2A, ETV6/RUNX1 (Vysis, Abbott Molecular, Illinois, USA). Wszystkie wyniki były prawidłowe i nie wykryto żadnych aberracji typowych dla BCP-ALL. Na podstawie pozostałych danych klinicznych (wiek powyżej 6 lat; WBC poniżej 20,000 / μ l; dobra odpowiedź na sterydy, 5% blastów w 15 dniu leczenia oraz MRD-FMC >0.1% <10%) pacjentka została sklasyfikowana do grupy ryzyka pośredniego (IRG). Dwanaście miesięcy od diagnozy pacjentka miała wznowę. Ponownie wykonano rutynowe testy genetyczne. Nie ujawniono rearanżacji genetycznych dla BCR/ABL1, KMT2A, ETV6/RUNX1 z wyjątkiem dodatkowego sygnału pochodzącego z chromosomu 22. Pacjentka była leczona według protokołu IntReALL 2010 HR. Zmarła z powodu progresji choroby.

Retrospektywne badania genetyczne obejmowały dodatkowe testy genetyczne (FISH i mikromacierz) na materiale z momentu diagnozy, które wykazały obecność fuzji *TCF3-HLF* (Cytocell, Cytocell Ltd., Oxford Gene Technology, Cambridge, Wielka Brytania) w 89% jąder interfazalnych. Dodatkowo przeprowadzono testy przy użyciu mikromacierzy CytoScan HD do analizy zmiany liczby kopii, która wykazała dodatkowe aberracje w postaci delecji fragmentu długiego ramienia chromosomu 13 (13q12.2-q21.1) zawierającego gen *RBI*, delecje wewnątrzgenowe w obrębie genu *PAX5* (eksony 1-6) i duplikacje wewnątrzgenową *NOTCH1* (eksony 3-34). Zmiany 13q, *PAX5* i *NOTCH1* oraz fuzja *TCF3-HLF* były obecne w tych samych klonach komórkowych. Brak aberracji 13q w kariotypie wskazuje, że w hodowli komórkowej obserwowane były tylko komórki o normalnym kariotypie. Delecje 13q zostało potwierdzone za pomocą techniki FISH (CCP13/CCP21 FISH Probe Kit, CytoTest). Komórki

interfazalne z delecją 13q stanowiły 86,4% w chwili rozpoznania. Pomimo badań molekularnych, które ujawniły częściową delecję 13q, tej aberracji nie stwierdzono w kariotypie. Translokacja t(17;19) wiąże się ze słabą odpowiedzią na leczenie i wczesnym nawrotem choroby. W naszym przypadku delecja *RBI* była zidentyfikowana w jądrach interfazalnych w momencie diagnozy, nie stwierdzono tej aberracji we wznowie. Delecja 13q może zwiększać ryzyko niepowodzenia leczenia. Jednak jak dotąd delecja 13q nie była opisywana jako niezależny wskaźnik prognostyczny w BCP ALL.

Nasz przypadek opisuje pierwszy raz pacjentkę z fuzją *TCF3-HLF* oraz delecją 13q(q12.2-q21.1). Pacjent ze współistnieniem takich zmian chromosomowych i fuzji *TCF3-HLF* nie został jeszcze opisany. Kompleksowa identyfikacja wszystkich aberracji chromosomowych w momencie diagnozy może być ważna dla określenia skumulowanego wpływu opisanych aberracji na aktywność onkogenów lub genów supresorowych, a także na przebieg kliniczny choroby. Ponadto złożone zmiany kariotypu pacjenta i ewolucja klonalna komórek nowotworowych wskazują na potrzebę zastosowania terapii eksperymentalnej u pacjenta. Zaletą tej pracy jest prezentacja interesującego przypadku ewolucji klonalnej komórek białaczkowych oraz skumulowanych implikacji (diagnostycznych i prognostycznych) zmian genetycznych pacjenta.

Wyniki tych badań zostały zaprezentowane na IX Zjeździe Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. Poznań, 10-12 maja 2018.

Ad. 7. Advantage and Limitations of SNP Array in the Molecular Characterization of Pediatric T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia.

Korzyści i ograniczenia metody mikromacierzy SNP w molekularnej charakterystyce dziecięcej ostrej białaczki T komórkowej.

Ostra białaczka limfoblastyczna z komórek T (T-ALL) występuje z mniejszą częstotliwością (około 15%) niż BCP ALL i ma zdecydowanie gorsze rokowanie u dzieci. T-ALL jest biologicznie heterogenną chorobą nowotworową z licznymi aberracjami genetycznymi w genomie białaczkowym [50]. Obecnie terapia dostosowana do ryzyka i odpowiednia opieka wspomagająca skutkują stosunkowo wysokim 5-letnim współczynnikiem przeżycia całkowitego (OS) wynoszącym 80%. Jednak skuteczne leczenie nawrotów T-ALL nadal stanowi kliniczne wyzwanie [51, 52]. W ciągu ostatnich 10 lat zaawansowane badania genomowe i transkryptomyczne z wykorzystaniem technik o dużej przepustowości pozwoliły lepiej zrozumieć patogenezę T-ALL [53]. Jednak nadal istnieje ograniczona wiedza na temat związku nieprawidłowości liczby kopii genomu (CNA) w dziecięcej T-ALL z przebiegiem

choroby i jej wynikiem. W naszym badaniu przeanalizowaliśmy wzór molekularny wybranych genów, stosując mikromacierz SNP, w zależności od immunofenotypu, cech klinicznych i wyniku leczenia.

Grupę badaną stanowiło 27 dziewczynek i 59 chłopców ze średnią wieku 8,37 lat w chwili diagnozy T-ALL. Mikromacierze SNP znacznie poprawiły genetyczną charakterystykę naszych pacjentów. Zidentyfikowaliśmy nieprawidłowy kariotyp molekularny u 66 pacjentów. U 56 pacjentów nie stwierdzono żadnych nieprawidłowości w cytogenetyce klasycznej. Po zweryfikowaniu przy pomocy mikromacierzy aż 43 pacjentów prezentowało aberracje chromosomowe (duplikacje lub delecje chromosomalnych regionów przekraczających 10 Mb, które powinny być potencjalnie widoczne cytogenetycznie). W 13 przypadkach zmiany były ograniczone tylko do utraty heterozygotyczności (LOH). Nie stwierdzono monosomii ani przypadków LOH całego chromosomu, co jest charakterystyczne dla B komórkowej białaczki. Ponadto w 7 przypadkach (8%) zauważyliśmy rozbieżność między wynikami z cytogenetyki klasycznej i mikromacierzy SNP. W dwóch przypadkach mikromacierze SNP umożliwiły identyfikację bardzo ważnych klinicznie aberracji, które nie zostały wykryte przez kariotypowanie. Regiony *NUP214* i *ABL1* ulegają amplifikacji u 5–6% pacjentów z T-ALL [54]. Amplifikacja genu *NUP214-ABL1* jest związana z wyższym ryzykiem nawrotu i oporności w T-ALL. Nieprawidłowa ekspresja kinazy ABL1 w wyniku fuzji *NUP214-ABL1* jest celem terapii inhibitorami ABL1. Dlatego identyfikacja fuzji ABL1 w T-ALL jest niezwykle ważna z diagnostycznego i terapeutycznego punktu widzenia [55]. Wykryta w naszym badaniu pozachromosomalna (episomalna) amplifikacja *NUP214-ABL1* została dodatkowo potwierdzona za pomocą techniki FISH. Ponadto zidentyfikowaliśmy pacjenta z chromotryptycznym wzorem na chromosomie 11. Chromotrypsja związana jest z agresywnym przebiegiem nowotworu i niekorzystnym rokowaniem [56]. Biologiczne i kliniczne znaczenie tej niestabilności genomu z udziałem innych chromosomów niż intrachromosomalna amplifikacja 21 (*iAMP21*) w ALL wymaga dalszych badań [57]. Przeanalizowaliśmy zmianę liczby kopii w 92 różnych genach związanych z leukemogenezą. Delecje w obrębie genu kodującego czynnik transkrypcyjny *PAX5* zidentyfikowaliśmy u 14% pacjentów. Brak lub zmniejszona ekspresja *RUNX1* wpływa również na aktywność onkogenów *MYB*, *MYC* i *GATA3*, co potwierdza kluczową rolę *RUNX1* w patogenezie T-ALL [58]. W opisaney grupie pacjentów zmiany *RUNX1*, *MYB* i *GATA3* dotyczyły odpowiednio 8,1% (n = 7), 12,8% (n = 11) i 1,2% (n = 1) przypadków. Delecje w obrębie genu kodującego centralny mediator transkrypcji Wnt, *LEF1* stwierdzono w 12,8% (n = 11) przypadków. Wang i in. wskazał, że niższa ekspresja *LEF1* jest związana z ETP-ALL [59], ale nie możemy porównać naszych danych z opublikowanymi wynikami ze względu na

ograniczoną liczbę przypadków ETP-ALL (n = 2) w naszej kohorcie. Rola genu supresorowego *PHF6* w patogenezie T-ALL nie jest w pełni poznana, ale pozostaje jednym z częstych genów ulegającym delecjom w tej chorobie. Liczba CNA *PHF6* w analizowanej grupie wynosiła 14%. Delecje w genie *RBI* wykryto w 24,4% (n = 21) przypadków. Zidentyfikowaliśmy zmianę liczby kopii w obrębie *JAZF1* w 5,81% przypadków (n = 5). Aberracje chromosomowe z udziałem tego genu są związane z patogenezą guzów zrębu endometrium, a sam *JAZF1* działa jako represor transkrypcji [60]. Do chwili obecnej nie opisano żadnych zmian w tym genie w kontekście chorób hematologicznych, w tym ALL. Chociaż zmiany *NOTCH1* odgrywają kluczową rolę w patogenezie T-ALL, nieprawidłowości *NOTCH1* wykryto w 10,5% (n = 9) przypadków białaczki w naszej grupie. Podobnie zaobserwowaliśmy, że zmiany *FBXW7* występowały znacznie rzadziej w naszej kohorcie w porównaniu z częstością stwierdzoną w innych badaniach (3,4% vs. 19-20%) [61, 62]. Mikromacierze SNP nie są odpowiednim narzędziem do oceny statusu rearanżacji *NOTCH1* i *FBXW7* jako pojedynczej techniki, należy zastosować inne metody takie jak sekwencjonowanie, aby uzyskać pełny profil aberracji w tych genach u pacjentów z T-ALL. Zidentyfikowaliśmy zmiany genetyczne obejmujące geny szlaku PI3K/mTOR w 20 przypadkach (*PTEN*: n = 10, *AKT1*: n = 6, *PIK3CD*: n = 4). Delecje *CDKN2A/B* (odpowiednio n = 62, 72,1% in = 51, 59,3%) wykazały jeszcze większą częstość występowania niż opisane w innych badaniach. Według naszych wyników tylko delecje *CDKN2A* były powiązane z dojrzałą postacią T-ALL (90,5%) w porównaniu z common T-ALL (73,9%) i pre-T-ALL (68,0%), (p=0,04). Nasze dane wykazały również statystycznie istotne współwystępowanie delecji w *CDKN2A* i *LEF1*, *PAX5*, *TRG* i *MTAP*, a także *CDKN2B* i *PAX5*, *TRG*, *JAK2* i *MTAP*. Współwystępowanie delecji *CDKN2A* i *CDKN2B* wykazano w 51 przypadkach. Nie zaobserwowaliśmy związku między delecją *CDKN2A* a wysoką liczbą WBC. Gen *FIP1L1* prezentował CNA u 20,9% pacjentów. Delecje w *FIP1L1* były częściej związane z gorszą odpowiedzią na prednizon i wyższym poziomem MRD w dniu 15 (> 10%). Do chwili obecnej nie opisano przypadku wskazującego na związek między wewnątrzgenową delecją *FIP1L1* a patogenezą T-ALL. Powtarzające się mikroduplikacje w T-ALL są mniej powszechne. *MYB* (6q23.3) stwierdza się w 10% przypadków jako lokalne duplikacje obejmujące wyłącznie locus *MYB* [63]. Co ciekawe, w naszym badaniu duplikacje w *MYB* istnieją tylko w połączeniu z duplikacjami *AIH1*, co stanowi 12,94% przypadków.

Powyższa praca opisuje badanie niezrównoważenia genomu u dzieci z T komórkową białaczką i jednoznacznie wskazuje na wartość zastosowanej metody jako techniki niezbędnej i uzupełniającej pełną molekularną charakterystykę pacjentów z T-ALL. Wyniki z mikromacierzy dodawały nowe lub uzupełniające informacje genetyczne do wyników

cytogenetycznych poprzez lepsze zdefiniowanie punktów pęknięć chromosomów. W badaniu opisano zarówno użyteczność wykorzystanej techniki, jak i jej ograniczenia (brak możliwości identyfikacji mutacji czy fuzji genowych). Wysokorozdzielcza mikromacierz CytoScan HD pozwala na identyfikację aberracji genetycznych niewykrywanych rutynowo w cytogenetyce klasycznej, a jednocześnie mających ogromne kliniczne znaczenia dla pacjenta w przypadku możliwości zastosowania terapii celowanych. Główną zaletą macierzy jest to, że materiałem badawczym jest genomowe DNA wyizolowane komórek nowotworowych zamiast preferencyjnie dzielących się komórek w hodowli komórkowej.

Chciałabym podkreślić, że jest to pierwsza polska praca opisująca badanie zmiany liczby kopii z wykorzystaniem mikromacierzy SNP w populacji dzieci z T-ALL.

4.3. Podsumowanie głównego osiągnięcia naukowo-badawczego przedstawionego do postępowania habilitacyjnego i zastosowanie uzyskanych wyników.

Istotą działań zmierzających do poprawy wyników leczenia dzieci z chorobami układu krwiotwórczego jest precyzyjna identyfikacja ryzyka niepowodzenia leczenia, poszukiwanie markerów genetycznych związanych z agresywnym przebiegiem nowotworu oraz nowych strategii terapeutycznych w oparciu o najnowsze techniki molekularne. Moje prace stanowią cenny wkład w rozwój nauki i mogą być podstawą do przygotowania nowych zoptymalizowanych standardów opieki nad pacjentem po allogeniczej transplantacji komórek krwiotwórczych oraz algorytmów diagnostycznych dla pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną.

Zaprezentowane wyniki przedstawiają konsekwentnie przygotowane eksperymenty badawcze poczynając od wdrożenia techniki do pracy laboratoryjnej, jej optymalizacji po walidację i standaryzację. Przeprowadzenie badań na grupie pacjentów zarówno z chorobami nowotworowymi, jak i nienowotworowymi pozwoliło na ustalenie harmonogramu pobrań do analizy chimeryzmu komórkowego i obserwacje jego dynamiki w czasie potransplantacyjnym. Wnikliwe obserwacje oparte o wystandaryzowaną metodę diagnostyczną pozwoliły na skuteczne i szybkie wprowadzenie efektywnej interwencji terapeutycznej.

Wyniki przedstawione w kolejnych pracach prezentują zastosowanie wysokoprzepustowej techniki analitycznej mikromacierzy CytoScan HD w identyfikacji markerów genetycznych, które pozwolą na uzupełnienie leczenia przeciwnowotworowego dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną o spersonalizowane terapie dla pacjentów. Jak

dowodzą wyniki badań, dotychczasowe metody diagnostyczne jak cytogenetyka klasyczna oraz technika FISH są niewystracającym narzędziem identyfikującym pacjentów ze szczególnym ryzykiem niepowodzenia leczenia. W związku z tym opracowanie nowych standardów wykonywania badań molekularnych z uwzględnieniem rutynowo wykonywanego kariotypu molekularnego dla każdego pacjenta z ostrą białaczką limfoblastyczną wydają się być nieuniknione.

Na uwagę zasługuje fakt konsekwentnego prowadzenia badań w opisanych pracach w oparciu o wystandaryzowane metody diagnostyczne. Przedstawione prace mają nie tylko aspekt poznawczy, ale i kliniczny, a ich wyniki będą miały zastosowanie w codziennej praktyce klinicznej w celu poprawy efektów leczenia u pacjentów pediatrycznych.

W dalszej pracy naukowej planuję kontynuować badania nad analizą wczesnego chimeryzmu i obserwacji dynamiki w czasie po allo-HSCT w wielośrodkowym badaniu prospektywnym, obejmując tym samym pacjentów całej Polski. Badania nad chimeryzmem mieszanym u dzieci z chorobami nienowotworowym na subpopulacjach już są kontynuowane przez mnie i analizowane. Zamierzam też prowadzić badania nad pacjentami z całej Polski z T-ALL, prowadząc prospektywne badania nad tą grupą pacjentów z wykorzystaniem CytoScan HD mikromacierzy.

Bibliografia

1. Dawidowska M., Wachowiak J., *Rozwój badań molekularnych w hematoonkologii – monitorowanie minimalnej choroby resztkowej w ostrej białaczce limfoblastycznej i potransplantacyjnego chimeryzmu hematopoetycznego*. Now. Lek., 2007; 76, s. 282-291.
2. Roberts K.G., Li Y, Payne-Turner D., Harvey R.C. et al., *Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia*. N Engl J Med. 2014; 371(11), s. 1005–1015.
3. Derwich K., Lejman M., Taha J., Pastorczak A., Młynarski W., Styczyński J., Szczepański T., *Standardy postępowania diagnostycznego w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. (Diagnostic guidelines for acute lymphoblastic leukemia in children. Polish Society of Pediatric Oncology and Hematology Recommendations.)*. Prze. Pediatr. 2019, vol. 48, s. 12-18.
4. Hastings R., Howell R., Bricarelli F.D. et al, *General guidelines and quality assurance for cytogenetics. A common European framework for quality assessment for constitutional, acquired and molecular cytogenetic investigations. E.C.A. permanent*

- working group for cytogenetics and society*. Eur. Cytogeneticists Association Newsletter, 2012; 29, s. 7–25.
5. Clark J.R., Scott S.D., Jack A.L. et al, *Monitoring of chimeras following allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT): Technical recommendations for the use of Short Tandem Repeat (STR) based techniques, on behalf of the United Kingdom National External Quality Assessment Service for Leucocyte Immunophenotyping Chimerism Working Group*. Br J of Haematol 2015; 168, s. 26–37.
 6. Hołowiecki J., *Wskazania do przeszczepu komórek krwiotwórczych*. Pol Arch Med Wewn. 2008, 118; 11, s. 658–663.
 7. Dawidowska M., Jółkowska-Baraniak J., Guz K. i wsp., *Analiza chimeryzmu poprzyszczepowego metodą STR-PCR i RQ-PCR*. Hematologia molekularna patogeneza, patomechanizmy i metody badawcze. Red. Witt M., Szczepański T., Dawidowska M. Ośrodek Wyd. Nauk. 2009, s. 239–252.
 8. McCann S.R., Lawler M., *Mixed chimerism: detection and significance following BMT*. Bone Marrow Transplant. 1993, 11, s. 91–94.
 9. McCann S.R., Crampe M., Molloy K. et al., *Hematopoieic chimerism following stem cell transplantation*. Transfus Apheresis Sci. 2005, 32, s. 55–61.
 10. Antin J.H., Childs R., Filipovich A.H. et al., *Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: Recommendations from a workshop at the 2001 Tandem Meetings*. Biol. Blood Marrow Transpl., 2001, 7, s. 473–485.
 11. Bader P., Willasch A., Klingebiel T., *Monitoring of post-transplant remission of childhood malignancies: is there a standard?* Bone Marrow Transplant. 2008, 42, s. 31–34.
 12. Ozyurek E., Cowan M.J., Koerper M.A. et al., *Increasing mixed chimerism and the risk of graft loss in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant disorders*. Bone Marrow Transplant. 2008, 42, s. 83–91.
 13. Spyridonidis A., Zeiser R., Wäsch R. et al., *Capillary electrophoresis for chimerism monitoring by PCR amplification of microsatellite markers after allogeneic hematopoietic cell transplantation*. Clin Transplant. 2005, 19, s. 350–356.
 14. Chee M., Yang R., Hubbell E. et al., *Accessing genetic information with high-density DNA arrays*. Science 1996, 274, s. 610–614.
 15. Wachowiak J., *Przeszczepianie komórek krwiotwórczych u dzieci*. Acta Haematol Pol. 2009, 40, s. 321–331.

16. Thiede C., Bornhäuser M., Ehninger G. et al., *Strategies and clinical implications of chimerism diagnostics after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Acta Haematol. 2004; 112, s. 16–23.
17. Barrios M., Jimenez-Velasco A., Romez-Gomez J. et al., *Chimerism status is a useful predictor of relapse after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia*. Haematologica. 2003, 88, s. 801–810.
18. Alizadeh M., Bernard M., Danic B. et al., *Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction*. Blood. 2002; 99, s. 4618–4625.
19. Willasch A.M., Kreyenberg H., Shayegi N. et al., *Monitoring of Hematopoietic Chimerism after Transplantation for Pediatric Myelodysplastic Syndrome: Real-Time or Conventional Short Tandem Repeat PCR in Peripheral Blood or Bone Marrow?* Biol Blood Marrow Transplant. 2014; 20, s. 1918–1925.
20. Svenberg P., Mattsson J., Ringden O. et al., *Allogeneic hematopoietic SCT in patients with non-malignant diseases, and importance of chimerism*. Bone Marrow Transplant 2009, 44, s. 757–763.
21. Dufour C., Veys P., Carraro E. et al., *Similar outcome of upfront-unrelated and matched sibling stem cell transplantation in idiopathic paediatric aplastic anaemia. A study on behalf of the UK Paediatric BMT Working Party, Paediatric Diseases Working Party and Severe Aplastic Anaemia Working Party of EBMT*. Br J of Haematol 2015; 171, s. 585–594.
22. Bonfim C., Ribeiro L., Nichele S. et al., *Long-term survival, organ function, and malignancy after hematopoietic stem cell transplantation for fanconi anemia*. Biol Blood Marrow Transplant 2016, 22(7), s. 1257–1263.
23. Bader P., Beck J., Frey A. et al., *Serial and quantitative analysis of mixed hematopoietic chimerism by PCR in patients with acute leukemias allows the prediction of relapse after allogeneic BMT*. Bone Marrow Transplant. 1998, 21, s. 487–495.
24. Bieniaszewska M., Balon J., Hałaburda K. i współ., *Kliniczne znaczenie wczesnego, całkowitego chimeryzmu po allogenicznej transplantacji komórek macierzystych hematopoezy*. Acta Haematol Pol. 2004, 35, s. 217–225.
25. Bader P., Kreyenberg H., Hoelle W. et al., *Increasing Mixed Chimerism Is an Important Prognostic Factor for Unfavorable Outcome In Children With Acute Lymphoblastic Leucemia After Allogeneic Stem Cell Transplantation: Possible Role For Pre-Emptive Immunotherapy?* J Clin Oncol. 2004, 22, s. 1696–1706.

26. Lassaletta A., Ramirez M., Montero J.M. et al. *Full donor chimerism by day 30 after allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation is associated with a low risk of relapse in pediatric patients with hematological malignancies*. Bone Marrow Transplant. 2005, 19, s. 504–506.
27. McSweeney P.A., Storb R., *Mixed chimerism: preclinical studies and clinical applications*. Biol Blood Marrow Transplant. 1999, 5, s. 192–203.
28. Bader P., *Documentation of Engraftment and Chimerism After HSCT*. [in:] Carreras E., Dufour C., Mohty M., Kröger N. (eds), *The EBMT Handbook Springer*, Cham, Switzerland 2019, p. 539–545.
29. Hunger S.P., Loh M.L., Whitlock J.A. et al. *Committee COGALL. Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: acute lymphoblastic leukemia*. Pediatric Blood & Cancer. 2013; 60, s. 957–63. doi: 10.1002/pbc.24420 PubMed PMID: 23255467.
30. Kowalczyk J.R., Grossi M., Sandberg A.A., *Cytogenetic Findings in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia*. Cancer Genetic and Cytogenetics 1985; 15, s. 47–64.
31. Chilton L., Buck G., Harrison C.J. et al., *High hyperdiploidy among adolescents and adults with acute lymphoblastic leukaemia (ALL): cytogenetic features, clinical characteristics and outcome*. Leukemia 2014; 28, s. 1511–1518.
32. Paulsson K., Johansson B., *High Hyperdiploid Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia*. Genes, Chromosomes Cancer. 2009; 48, s. 637–660.
33. Heerema N.A., Sather H.N., Sensel M.G. et al. *Prognostic Impact of Trisomies of Chromosomes 10, 17, and 5 Among Children with Acute Lymphoblastic Leukemia and High Hyperdiploidy (> 50 Chromosomes)*. J Clin Oncol 2000; 18(9), s. 1876–1887.
34. Moorman A.V., Richards S.M., Martineu M. et al. *Outcome heterogeneity in childhood high-hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia*. Blood 2003; 102, s. 2756–62.
35. Stanulla M., Dagdan E., Zaliouva M. et al., *IKZF1plus defines a new minimal residual disease-dependent very poor prognostic profile in pediatric B cell precursor acute lymphoblastic leukemia*. J Clin Oncol 2018; 38, s. 1–9.
36. Mullighan C.G., Su X., Zhang J. et al., *Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia*. N. Engl. J. Med. 2009; 360, s. 470–480.
37. den Boer M.L., van Slegtenhorst M., De Menezes R.X et al., *A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study*. Lancet Oncol. 2009; 10, s. 125–134.
38. Roberts K.G., Morin R.D., Zhang J et al., *Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia*. Cancer Cell 2012; 22,s. 153–166.

39. Roberts K.G., Li Y, Payne-Turner D. et al., *Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia*. N Engl J Med. 2014; 371(11), s. 1005–1015.
40. Roberts K.G., *Why and how to treat Ph-like ALL?* BEST PRACT RES CL HA. 2018; 31, s. 351–356.
41. Madzio J., Pastorczak A., Młynarski W., *Molecular background and therapeutic perspectives of acute lymphoblastic leukemia BCR-ABL1-like*. Hematologia 2014; 5(2), s. 154–161.
42. Roberts K.G., Gu Z., Payne-Turner D. et al., *High frequency and poor outcome of Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia in adults*. J Clin Oncol. 2017; 35, s. 394–401.
43. Khan M., Siddigi R., Tran T.H., *Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia: A review of the genetic basis, clinical features, and therapeutic options*. Semin Hematol. 2018; 55(4), s. 235–241.
44. Schwab C., Ryan S.L., Chilton L. et al., *EBF1-PDGFRB fusion in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL): genetic profile and clinical implications*. Blood 2016; 127(18), s. 2214–2218.
45. Boer J.M., Steeghs E.M., Marchante J.R. et al., *Tyrosine kinase fusion genes in pediatric BCR-ABL1-like acute lymphoblastic leukemia*. Oncotarget. 2017; 8(3), s. 4618–4628.
46. Cannarile M.A., Weisser M., Jacob W. et al., *Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) inhibitors in cancer therapy*. J Immunother Cancer. 2017; 5(1), s. 53.
47. Watanabe A., Inukai T., Kagami K. et al., *Resistance of t(17;19)-acute lymphoblastic leukemia cell lines to multiagents in induction therapy*. Cancer Med. 2019; 8(11), s. 5274–5288.
48. Piao J., Takai S., Kamiya T. et al., *Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors selectively induce cytotoxicity in TCF3-HLF-positive leukemic cells*. Cancer Lett. 2017; 386, s. 131–140.
49. Takeda R., Yokoyama K., Ogawa M. et al., *The first case of elderly TCF3-HLF-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia*. Leuk Lymphoma. 2019; 6, s. 1–4.
50. Muffly L., Larson R.A., *Improving outcomes in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: promising results from the Children's Oncology Group incorporating nelarabine into front-line therapy*. Transl Pediatr (2012); 1(2), s. 120–122.
51. Noronha E.P., Marques L.V.C., Andrade F.G. et al., *The Profile of Immunophenotype and Genotype Aberrations in Subsets of Pediatric T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia*. Front Oncol. 2019; 9, s. 316.

52. Pui C.H., Robison L.L., Look A.T., *Acute lymphoblastic leukaemia*. Lancet 2008; 371(9617), s. 1030–1043.
53. Lustosa de Sousa D.W., de Almeida Ferreira F.V., Cavalcante Félix F.H. et al., *Acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: prognostic factors and analysis of survival*. Rev Bras Hematol Hemoter. 2015; 37(4),s. 223–229.
54. Papenhausen P., Kelly C.A., Zhang Z. et al. *Multidisciplinary analysis of pediatric T-ALL: 9q34 gene fusions*. Cancer Genet 2019; 231-232, s. 1–13.
55. Zhou M.H., Yang Q.M., *NUP214 fusion genes in acute leukemia (Review)*. Oncology Letters 2014; 8, s. 959–962.
56. Ratnaparkhe M., Hlevnjak M., Kolb T. et al., *Genomic profiling of Acute lymphoblastic leukemia in ataxia telangiectasia patients reveals tight link between ATM mutations and chromothripsis*. Leukemia 2017; 31, s. 2048–2056.
57. Li Y, Schwab C., Ryan S. et al., *Constitutional and somatic rearrangement of chromosome 21 in acute lymphoblastic leukaemia*. Nature 2014; 508(7494), s. 98–102.
58. Choi A., Illendula A., Pulikkan J.A. et al., *RUNX1 is required for oncogenic Myb and Myc enhancer activity in T-cell acute lymphoblastic leukemia*. Blood 2017; 130(15), s. 1722–1733.
59. Wang M., Zhang C., *Low LEF1 expression is a biomarker of early T-cell precursor, an aggressive subtype of T-cell lymphoblastic leukemia*. PLoS One. 2020; 15(5), e0232520.
60. Tsuyoshi H., Yoshida Y., *Molecular biomarkers for uterine leiomyosarcoma and endometrial stromal sarcoma*. Cancer Sci. 2018; 109(6), s. 1743–1752.
61. Mansur M.B., Hassan R., Barbosa T.C. et al., *Impact of complex NOTCH1 mutations on survival in paediatric T-cell leukaemia*. BMC Cancer. 2012; 12, s. 9. Published 2012 Jan 6.
62. Yuan L., Lu L., Yang Y. et al., *Genetic mutational profiling analysis of Tcell acute lymphoblastic leukemia reveal mutant FBXW7 as a prognostic indicator for inferior survival*. Ann Hematol. 2015; Nov; 94 (11), s. 1817–28.
63. Karrman K., Johansson B., *Pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia*. Genes Chromosomes Cancer 2017; 56, s. 89–116.

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

Mój sumaryczny IF wynosi **92,582**, natomiast punktacja MNiSW – **2166 pkt**.

Poza powyższym monotematycznym cyklem 7 prac będących podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego nauk medycznych mój dorobek obejmuje **29** publikacji, w tym: **20** oryginalnych pełnotekstowych prac w czasopismach z Impact Factor (IF=**61,345** MNiSW – **1305 pkt** wszystkie po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych), 1 oryginalna praca pełnotekstowa wielośrodkowa w czasopiśmie z Impact Factor (IF=**2,331**, MNiSW - **20 pkt**), 1 oryginalna praca pełnotekstowa w czasopiśmie bez Impact Factor (MNiSW – **40 pkt** po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych), 3 opisy przypadków w czasopismach z Impact Factor (IF=**5,139** MNiSW – **150 pkt** wszystkie po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych), 3 opisy przypadków w czasopismach bez Impact Factor (MNiSW – **30 pkt** po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych), jednej pracy przeglądowej w czasopiśmie bez Impact Factor (MNiSW – **20 pkt** po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych). Ponadto jestem współautorem 4 oryginalnych prac pełnotekstowych w czasopismach z Impact Factor (IF=**7,654** MNiSW – **72 pkt** wszystkie przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych) oraz jednego opisu przypadku w czasopiśmie bez Impact Factor (MNiSW – **4 pkt** przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych).

Jestem autorem lub współautorem **110** doniesień zjazdowych, w tym **32** przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych (**15** ze zjazdów międzynarodowych oraz **17** ze zjazdów krajowych); **80** po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych (**33** ze zjazdów międzynarodowych oraz **47** ze zjazdów krajowych).

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych łączny IF wynosi **7,656**, natomiast punktacja MNiSW – **76 pkt**.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych łączny IF wynosi **84,926** natomiast punktacja MNiSW – **2090 pkt**; w tym praca wielośrodkowa Impact Factor **2,331**; PK- **20**

Liczba cytowań z dnia 22.07.2020 roku wg bazy Web of Science Core Collection bez prac wielośrodkowych:

- bez autocytowań: 113

- z autocytowaniami: 123

h-index według bazy Web of Science Core Collection: 6

Liczba cytowań z dnia 22.07.2020 roku wg bazy Web of Science Core Collection dla prac wielośrodkowych:

- bez autocytowań: 10

- z autocytowaniami: 11

Liczba cytowań z dnia 22.07.2020 roku wg bazy Scopus bez prac wielośrodkowych:

- bez autocytowań: 128

- z autocytowaniami: 139

h-index według bazy Scopus: 6

Liczba cytowań z dnia 22.07.2020 roku wg bazy Scopus dla prac wielośrodkowych:

- bez autocytowań: 10

- z autocytowaniami: 10

Pełne teksty prac stanowiących mój dorobek naukowy znajdują się w **załączniku nr 7**.

Podsumowanie działalności naukowo-badawczej przedstawia analiza bibliometryczna opracowana przez Pracownię Bibliograficzną Biblioteki Głównej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie z dnia 22.07.2020 r. zamieszczona w **załączniku nr 8**.

5.1. Tematyka pozostałych prac badawczych.

Od początku mojej pracy zawodowej moje zainteresowania skupiały się na wykorzystywaniu metod diagnostycznych jako doskonałych narzędzi do poszukiwania markerów genetycznych mogących przyczynić się w znacznej mierze do poznania i zrozumienia mechanizmów nowotworzenia, a także w wielu przypadkach pozwalających na ustalenie właściwego rozpoznania, a w procesie leczenia pomagających klinicyście dokonać wyboru optymalnej terapii. Postęp wiedzy, dotyczący zmian genetycznych związanych z powstaniem i progresją nowotworów, rozszerza przydatność kliniczną oceny statusu genetycznych czynników prognostycznych.

5.1.1. Badania genetyczne w ostrej białaczce limfoblastycznej w kontekście trudności terapeutycznych, powikłań czy niepowodzeń leczenia.

Różnice w charakterystyce cytogenetycznej i molekularnej komórek białaczkowych stały się tematem przewodnim moich zainteresowań naukowych od roku 2005. Białaczki są najczęstszym nowotworem wieku dziecięcego, pracując w laboratorium ściśle współpracującym z wiodącym ośrodkiem Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej UM w Lublinie, nie sposób pozostać obojętnym na tak fascynujący temat badawczy.

Prof. dr hab. n. med. Jerzy Kowalczyk był koordynatorem leczenia ALL w ramach projektu badawczego ALL IC-BFM 2002, a następnie ALL IC-BFM 2009. W związku z tym współpracowałam z klinicystami odpowiedzialnymi za raportowanie danych klinicznych ze wszystkich ośrodków hematologicznych oraz diagnostami pracującymi w laboratoriach wykonujących badania genetyczne w Polsce, koordynując wyniki badań genetycznych obligatoryjnie opracowywanych w ramach protokołów terapeutycznych. Przeanalizowałam i opracowałam wyniki genetyczne dzieci leczonych protokołem ALL IC BFM-2002 i ALL IC BFM-2009. Wymiernym efektem są powstałe publikacje (po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych), w tym praca opisująca wyniki leczenia dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną w ramach protokołu ALL IC-BFM 2002, gdzie jestem **trzecim autorem** pracy. Praca ta powstała we współpracy z prof. Janem Starym z Kliniki Hematologii i Onkologii Dziecięcej w Pradze (Charles University and University Hospital Motol).

W ramach współpracy z dr n. med. Joanną Zawitkowską z Kliniki Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej UM w Lublinie powstało pięć prac oryginalnych, w tym cztery, gdzie jestem **drugim autorem** oraz dwa opisy przypadków klinicznych. Jedna z prac przedstawia dane kliniczne dzieci z ALL Ph-dodatnią oraz wyniki leczenia tej grupy dzieci w Polsce w latach 2005–2017. Druga praca dotyczy toksyczności towarzyszących terapii przeciwnowotworowej u dzieci. Trzecia praca dotyczy analizy danych klinicznych dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną w kontekście niepowodzeń pierwszej linii leczenia. Kolejna praca miała na celu analizę częstości powikłań infekcyjnych, epidemiologii zakażeń, opracowaniu profilu infekcyjnego oraz analizę wskaźnika śmiertelności u dzieci z ALL w pediatrycznych ośrodkach hematologicznych w latach 2012–2017 w Polsce. Celem ostatniej pracy była ocena częstości występowania infekcji VCV i wyników leczenia przeciwwirusowego u dzieci z ALL leczonych w polskich ośrodkach hematologicznych w latach 2012–2019.

Wspólnie z prof. dr hab. n. med. Katarzyną Derwich z Kliniki Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu opracowałyśmy standardy diagnostyczne w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci stosowane w ramach nowego protokołu terapeutycznego AIEOP BFM ALL 2017 stanowiące tym samym rekomendacje Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. Standardy zostały opisane jako praca przeglądowa, w której jest **drugim autorem**.

Poza cyklem prac poniżej przedstawiam pozostałe publikacje z ich krótką charakterystyką.

1. Joanna Zawitkowska, **Monika Lejman**, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Katarzyna Drabko, Marcin Płonowski, Joanna Balsa, Michał Romiszewski, Agnieszka Mizia-Malarz, Andrzej Kołtan, Katarzyna Derwich, Grażyna Karolczyk, Tomasz Ociepa, Magdalena Ćwiklińska, Joanna Trelńska, Joanna Owoc-Lempach, Maciej Niedźwiecki, Aleksandra Kiermasz, Jerzy Kowalczyk. **Clinical characteristics and analysis of treatment result in children with Ph-positive acute lymphoblastic leukaemia in Poland between 2005 and 2017.** Eur. J. Haematol. 2018 vol. 101 nr 4 s. 542-548. DOI: 10.1111/ejh.13142.

IF = 2,217; PK/MNiSW = 25 (Praca oryginalna)

Celem pracy była analiza danych klinicznych i wyników leczenia dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną z obecnością rearanżacji *BCR/ABL1* ALL w Polsce w latach 2005–2017. Pacjenci z ALL Ph-dodatnią kwalifikowane są do grupy wysokiego ryzyka z powodu niezadawalających wyników leczenia pomimo stosowania intensywnej chemioterapii i allo-HSCT. Łącznie zdiagnozowano 2951 z ALL w latach 2005–2017, spośród których 44 (1,5%) pacjentów wykryto translokację t(9;22)(q34;q11.2) prowadzącą do utworzenia fuzyjnego genu *BCR/ABL1*. Średnia czasu obserwacji badanej grupy wynosiła 3 lata. Całkowite przeżycie (OS) i przeżycie wolne od zdarzeń (EFS) wynosiło odpowiednio 0.73 oraz 0.64. OS i EFS pacjentów po HSCT wynosiło 0.78 i 0.66, natomiast bez HSCT 0.6 i 0.6, $p = 0,27$ i 0.63 . OS wynosiło 0.8 dla pacjentów leczonych chemioterapią oraz imatynibem i 0.61 dla pacjentów leczonych tylko z wykorzystaniem chemioterapii, $p = 0.22$, podczas gdy EFS wynosił 0.66 (leczenie imatynibem) i 0.61 (bez imatynibu), $p = 0.41$. Nasze badanie sugeruje, że włączenie imatynibu do intensywnej chemioterapii poprawia wyniki leczenia. Ograniczeniem tego badania była niewielka liczba pacjentów i różnorodne schematy chemioterapii.

2. Jerzy R. Kowalczyk, Joanna Zawitkowska, **Monika Lejman**, Katarzyna Drabko, Marzena Samardakiewicz, Michał Matysiak, Michał Romiszewski, Walentyna Balwierz, Magdalena Ćwiklińska, Bernarda Kazanowska, Joanna Owoc-Lempach, Jacek Wachowiak, Katarzyna Derwich, Elżbieta Adamkiewicz-Drożyńska, Maciej Niedźwiecki, Joanna Trelńska, Wojciech Młynarski, Mariusz Wysocki, Andrzej Kołtan, Tomasz Szczepański, Maryna Krawczuk-Rybak, Anna Kitszel, Maria Wiczorek, Tomasz Urański, Tomasz Ociepa, Grażyna Sobol-Milejska, Agnieszka Mizia-Malarz, Grażyna Karolczyk, Jan Stary. **Long-term treatment results of Polish pediatric and adolescent patients enrolled in the ALL IC-BFM 2002 trial.** Am. J. Hematol. 2019, s. 1-4.

IF = 6,973; PK/MNiSW = 140 (Praca oryginalna)

Praca przedstawia wyniki leczenia 1872 pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną leczonych od listopada 2002 r. do listopada 2011 r. według protokołu ALL IC-BFM 2002 w 14 polskich ośrodkach hematologicznych. Okres obserwacji zakończył się 31 grudnia 2016 r. Grupa badana obejmowała 56,6% chłopców i 43,4% dziewcząt. Aberracje chromosomowe ujawniono w 523 przypadkach (27,9%). Hipodiploidię stwierdzono u 22 pacjentów (2,1%), fuzję *BCR/ABL1* wykryto u 65 pacjentów (3,5%), a rearanżacje *KMT2A* u 42 pacjentów (2,2%). W całej grupie odnotowano 268 zgonów (14,3%). Oszacowany po 5 latach kumulacyjny wskaźnik śmiertelności wynosił 4,4% w grupie standardowego ryzyka (SR), 14,2% w grupie pośredniego ryzyka (IR) i 37,3% w grupie wysokiego ryzyka (HR). Częstość zgonów przy całkowitej remisji była znacząco wyższa u dzieci ≥ 10 roku życia w porównaniu do młodszych oraz w T-ALL versus BCP-ALL. Różnice nie były istotne statystycznie pomiędzy chłopcami i dziewczynkami. U 275 dzieci (14,7%) wystąpiła wznowa, z czego 51 było w grupie SR (8,4% pacjentów stratyfikowanych do grupy SR), 147 w grupie IR (16,4%), 77 w HR (21,2%). Całkowite przeżycie wynosiło 86% po 5 latach, natomiast przeżycie wolne od zdarzeń – 79%, co dowodzi, że ALL IC-BFM 2002 okazał się skutecznym protokołem leczenia dzieci z ALL w polskich pediatrycznych ośrodkach hematologicznych.

3. Joanna Zawitkowska, **Monika Lejman**, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Katarzyna Drabko, Marcin Płonowski, Joanna Balsa, Michał Romiszewski, Agnieszka Mizia-Malarz, Andrzej Kołtan, Katarzyna Derwich, Grażyna Karolczyk, Tomasz Ociepa, Magdalena Ćwiklińska, Joanna Trelńska, Joanna Owoc-Lempach, Maciej Niedźwiecki, Aleksandra Kiermasz, Jerzy Kowalczyk. **Grade 3 and 4 toxicity profiles during therapy of childhood acute lymphoblastic leukemia.** In Vivo 2019 vol. 33 nr 4 s. 1333-1339. DOI: 10.21873/invivo.11608.

IF = 1,541; PK/MNiSW = 40 (Praca oryginalna)

W pracy tej przeanalizowano czynniki ryzyka, cechy kliniczne i profile toksyczności podczas chemioterapii u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) leczonych w pediatrycznych ośrodkach hematologicznych. Ogółem 902/1872 dzieci miało toksyczność stopnia 3 lub 4. Spośród analizowanych powikłań najczęstsze były infekcje oraz toksyczność pokarmowa i wątrobowa. Mediana czasu obserwacji wyniosła 6,8 lat. Wskaźniki OS i EFS w analizowanej grupie były niższe niż zgłoszone dla grupy bez

toksyczności stopnia ≥ 3 . W analizie jednoczynnikowej zidentyfikowaliśmy liczbę toksycznych epizodów, grupę ryzyka i status remisji, które miały znaczący wpływ na wynik. Analiza wieloczynnikowa wykazała, że grupa ryzyka i liczba epizodów toksycznych ≥ 3 są statystycznie istotne dla wyników. Opracowane przez nas profile toksyczności mogłyby zostać wykorzystane w przyszłych protokołach terapeutycznych w celu zmniejszenia skutków ubocznych podczas chemioterapii u dzieci.

4. Joanna Zawitkowska, Katarzyna Drabko, Anna Szmydki-Baran, Agnieszka Zaucha-Prażmo, **Monika Lejman**, Krzysztof Czyżewski, Patrycja Zalas-Więcek, Olga Gryniewicz-Kwiatkowska, Aneta Czajńska-Deptuła, Elwira Kulicka, Katarzyna Semczuk, Łukasz Hutnik, Liliana Chełmecka-Wiktorczyk, Joanna Klepacka, Jowita Frączkiewicz, Małgorzata Salamonowicz, Renata Tomaszewska, Olga Zajac-Spychala, Ninela Irga-Jaworska, Ewa Bień, Marcin Płonowski, Magdalena Bartnik, Tomasz Ociepa, Filip Pierlejewski, Mariola Woszczyk, Zuzanna Gamrot-Pyka, Zofia Małas, Agnieszka Urbanek-Dądela, Weronika Stolpa, Jakub Musiał, Jan Styczyński. **Infectious profile in children with ALL during chemotherapy: a report of study group for infections.** J. Infect. Chemother. 2019 vol. 25 s. 774-779. DOI: 10.1016/j.jiac.2019.04.005.

IF = 1,722; PK/MNiSW = 70 (Praca oryginalna)

Śmiertelność związana z leczeniem w obecnie opublikowanych badaniach ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) u dzieci wynosi 2–4%, głównie z powodu infekcji. Celem pracy była analiza zapadalności, epidemiologii, profilu zakażenia i wskaźnika zgonów u dzieci z ALL. Analiza retrospektywna objęła 1363 pacjentów w wieku 1–18 lat z nowo zdiagnozowaną ALL, którzy byli leczeni w 16 ośrodkach hematologii dziecięcej w latach 2012–2017 w Polsce, zgodnie z protokołami ALL IC-BFM 2002 i 2009 (International Berlin Frankfurt-Munster Study Group). W naszym badaniu 726 z 1363 (53,2%) dzieci miało zakażenie bakteryjne podczas chemioterapii. Ogółem 251/1363 (18,4%) dzieci miało infekcje wirusowe. 304 epizody udokumentowano za pomocą testu PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy). Zakażenie grzybicze zgłoszono u 278 (20,4%) dzieci. W ostatnich latach odnotowano większą częstotliwość zakażeń grzybiczych. W naszym materiale wskaźnik zgonów wynosił 2,4%, głównie z powodu infekcji grzybiczej. Nasze wyniki przedstawiają epidemiologię chorób zakaźnych w polskiej populacji pacjentów z ALL. Najczęstsze były infekcje bakteryjne, a następnie grzybicze i wirusowe.

5. Joanna Zawitkowska, **Monika Lejman**, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Natasza Sekuła, Teresa Greczkowska-Chmiel, Katarzyna Drabko. **Severe drug-induced hypertriglyceridemia treated with plasmapheresis in children with acute lymphoblastic leukemia.** Transfus. Apher. Sci. 2019 vol. 58 s. 634–637. DOI: 10.1016/j.transci.2019.08.025.

IF = 1,285; PK/MNiSW = 40 (Opis przypadku)

W pracy przedstawiono dwóch pacjentów, u których po podaniu asparaginazy (ASP) i steroidów, podczas leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej, wystąpiła ciężka hipertriglicerydemia. Przeanalizowano wyniki badań laboratoryjnych, genetycznych i kliniczne dane tych pacjentów, u których obserwowano szybko wzrastające stężenie trójglicerydów. U obu pacjentów wykonano zabieg plazmaferezy odpowiednio po dziesięciu dniach i po trzech dniach od zaobserwowania ciężkiej hipertriglicerydemii. W obu przypadkach plazmafereza była dobrze tolerowana i nastąpiło zmniejszenie hipertriglicerydemii. U jednego z pacjentów rozwinęło się zapalenie trzustki. Naszym zdaniem plazmafereza wydaje się być bezpieczna i skuteczna w zmniejszaniu hipertriglicerydemii. Jednak powinna być wykonywana, gdy tylko poziom trójglicerydów wzrośnie powyżej 1000 mg/dl, aby zapobiec poważnym powikłaniom. Pacjenci powinni kontynuować chemioterapię bez ASP. Istotne jest regularne monitorowanie profilu lipidowego, enzymów trzustkowych oraz układu krzepnięcia podczas leczenia ASP i sterydami.

6. Dorota Jedlińska, Marcelina Kaleta, Joanna Zawitkowska, Andrzej Kościuk, **Monika Lejman**, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Katarzyna Drabko. **Multiple complications of the induction phase chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia.** J. Educ. Health Sport 2019 vol. 2019 s. 121-126. DOI: 10.5281/zenodo.3371094.

IF = 0,000; PK/MNiSW = 5 (Opis przypadku)

Chemioterapia w ALL pomimo wysokiej skuteczności często prowadzi do wielu różnych powikłań, które niosą konsekwencje takie jak niepowodzenie terapii, przerwy w chemioterapii, wydłużoną hospitalizację, śmierć. W pracy został przedstawiony przypadek 6-letniej dziewczynki z pre B common ALL leczonej według protokołu AIEOP BFM ALL 2017, która miała wiele poważnych powikłań po chemioterapii

podczas fazy indukcyjnej leczenia. Badania genetyczne wykonane dla tej pacjentki nie wykazały żadnych anomalii.

7. Joanna Zawitkowska, **Monika Lejman**, Katarzyna Drabko, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Marcin Płonowski, Joanna Balsa, Michał Romiszewski, Agnieszka Mizia-Malarz, Andrzej Kołtan, Katarzyna Derwich, Grażyna Karolczyk, Tomasz Ociepa, Magdalena Ćwiklińska, Joanna Trelńska, Joanna Owoc-Lempach, Maciej Niedźwiecki, Aleksandra Kiermasz, Jerzy Kowalczyk. **First-line treatment failure in childhood acute lymphoblastic leukaemia: the Polish Paediatric Leukaemia and Lymphoma Study Group experience.** *Medicine.* 2020 vol. 99 s. 1-6. DOI:10.1097/MD.0000000000019241.

IF = 1,552; PK/MNiSW = 70 (Praca oryginalna)

Celem tego badania była ocena czynników ryzyka nawrotu i zgonów związanych z leczeniem w ostrej białaczce limfoblastycznej (ALL) u dzieci mieszkających w Polsce.

Do badania włączono łącznie 1872 pacjentów z nowo zdiagnozowaną ALL, leczonych zgodnie z protokołem ALL IC-BFM 2002 w 14 polskich pediatrycznych ośrodkach hematologicznych w latach 2002–2011. Niepowodzenie leczenia stwierdzono u 384 pacjentów. Analiza jednoczynnikowa zidentyfikowała czynniki w każdej grupie ryzyka, które znacznie różniły się pomiędzy dziećmi, których leczenie się nie powiodło, a tymi, które pozostały w pierwszej remisji. Analiza wieloczynnikowa wykazała, że tylko wiek (powyżej 10 roku życia) w grupie wysokiego ryzyka był niekorzystnym czynnikiem prognostycznym. Aby ułatwić analizę, pacjentów podzielono na trzy grupy: dzieci ze wznową, które przeżyły; dzieci ze wznową, które zmarły; dzieci bez wznowy, które zmarły z powodu toksyczności. Nasza analiza wykazała, że wiek powyżej 10 lat jest szczególnym czynnikiem ryzyka niepowodzenia pierwszej linii leczenia, zarówno pod względem wznowy, jak i śmiertelności związanej z leczeniem.

8. Joanna Zawitkowska, **Monika Lejman**, Anna Szmydki-Baran, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Krzysztof Czyżewski, Magdalena Dziedzic, Patrycja Zalas-Więcek, Olga Gryńiewicz-Kwiatkowska, Aneta Czajńska-Deptuła, Agnieszka Gietka, Katarzyna Semczuk, Łukasz Hutnik, Liliana Chełmecka-Wiktorczyk, Iwona Żak, Jowita Frączkiewicz, Małgorzata Salamonowicz, Renata Tomaszewska, Olga Zając-Spychała, Ninela Irga-Jaworowska, Ewa Bień, Marcin Płonowski, Magdalena Bartnik, Tomasz Ociepa, Filip Peirlejewski, Katarzyna Machnik, Zuzanna Gamrot-Pyka, Wanda

Badowska, Tomasz Brzeski, Agnieszka Urbanek-Dądela, Weronika Stolpa, Agnieszka Mizia-Malarz, Katarzyna Skowron-Kandzia, Jakub Musiał, Jan Styczyński. **Viracella-zoster virus infection in the pediatric population with acute lymphoblastic leukemia in Poland.** J. Med. Virol. 2020 s.1-5. DOI:10.1002/jmv.26008

IF = 2,021; PK/MNiSW = 70 (Praca oryginalna)

Badanie to miało na celu ocenę częstości występowania infekcji VZV i wyników leczenia przeciwwirusowego u dzieci z ALL leczonych w polskich ośrodkach hemoonkologicznych w latach 2012–2019. Podczas chemioterapii 406/1874 pacjentów (21,6%) doświadczyło infekcji wirusowych. Częstość występowania zakażenia wirusem ospy wietrznej i półpaśca (VZV, Varicella-zoster virus) w całej grupie dzieci z ALL wynosiła 1,8%. Wśród nich 34 (8,4%) pacjentów zdiagnozowano zakażenie VZV. Zakażenie półpaścem wystąpiło u 24 (70,6%) dzieci, a ospa wietrzna u 10 (29,4%). Średni czas od rozpoczęcia chemioterapii do pojawienia się półpaśca wynosił $7,26 \pm 4,05$ miesiąca. Zakażenie VZV występowało głównie podczas terapii podtrzymującej, fazy reindukcji i indukacji. Nie stwierdzono korelacji między dawką lub rodzajem sterydu a kolejnym zachorowaniem na półpaśca. Całkowita liczba limfocytów u tych pacjentów w pierwszym dniu półpaśca była zmniejszona. Z powodu tej infekcji nie zaobserwowano poważnych komplikacji. Wszyscy pacjenci przeżyli. Zaobserwowano małą częstość zakażeń VZV wśród dzieci i młodzieży z ALL w Polsce. Ta analiza wskazuje, że obecnie stosowane metody terapeutyczne są skuteczne u dzieci z nowotworem i zakażeniem VZV. Główny nacisk należy położyć na zapobieganiu opóźnień w chemioterapii.

9. Katarzyna Derwich, **Monika Lejman**, Joanna Taha, Agata Pastorczak, Wojciech Młynarski, Jan Styczyński, Tomasz Szczepański. **Standardy postępowania diagnostycznego w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. (Diagnostic guidelines for acute lymphoblastic leukemia in children. Polish Society of Pediatric Oncology and Hematology Recommendations.)**. Prze. Pediatr. 2019 vol. 48 s.12-18.

IF = 0,000; PK/MNiSW = 5 (Praca przeglądowa)

Standardy przygotowano w ramach Polskiej Pediatrycznej Grupy ds. Leczenia Białaczek i Chłoniaków oraz Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. Rekomendacje zostały opracowane w oparciu o wytyczne protokołu terapeutycznego AIEOP-BFM ALL 2017, który jest stosowany we wszystkich ośrodkach

onkologicznych w Polsce od 01.10.2018 r. u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną Rekomendacje dotyczą badań diagnostycznych wykonywanych w momencie rozpoznania ALL (cytomorfologii, cytometrii przepływową, cytogenetyki i genetyki molekularnej, ocena MRD przy pomocy technik biologii molekularnej, diagnostyka pozaszpikowej lokalizacji ALL) oraz badań wykonywanych w celu oceny odpowiedzi na zastosowane leczenie.

5.1.2. Badania genetyczne w ostrych białaczkach u dzieci – poszukiwanie markerów genetycznych mogących mieć wymierny wpływ na efekty leczenia.

Początkowo moje badania ograniczały się do cytogenetyki klasycznej oraz molekularnej (FISH, fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ - Fluorescence in situ Hybridization), ale w miarę rozwoju naszego laboratorium rozszerzyłam badania o techniki molekularne takie jak PCR, MLPA czy mikromacierze.

Bardzo ważne dla mnie prace (osiem prac po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych) są efektem współpracy z prof. dr. hab. n. med. Wojciechem Młynarskim z Kliniki Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Wszystkie prace są związane z poszukiwaniem markerów genetycznych, które często definiują typ białaczki oraz mogą pozwalać prognozować przebieg choroby czy odpowiedź na zaproponowane leczenie (uzyskanie remisji, wznowa, nabycie oporności). W ramach tej współpracy byłam odpowiedzialna za zabezpieczanie materiału biologicznego do badań projektowych, przesyłanie próbek do badań lub wykonywanie części badań dla ośrodka łódzkiego, opracowanie wyników genetycznych oraz monitorowanie uzupełniania danych klinicznych pacjentów. Obecnie opracowujemy dane genetyczne na temat statusu delekcji genu *IKZF1* u pacjentów z BCP ALL w ramach poprzednich protokołów oraz wstępne dane z nowego protokołu terapeutycznego AIEOP BFM ALL 2017, czego efektem będzie kolejna wspólna praca oryginalna.

Współpraca z dr. hab. n. med. Małgorzatą Dawidowską z Zakładu Genetyki Molekularnej i Klinicznej Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk zaowocowały trzema pracami oryginalnymi. Jedna z nich dotyczyła polimorfizmu genetycznego związanego z odpowiedzią na leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci (BCP-ALL). Kolejne dwie odnoszą się do poszukiwania nowych markerów genetycznych w dziecięcej T ALL. Współudział w tworzeniu tych prac wytyczył mi moje zainteresowania na ten podtyp białaczki, gdzie nie ma jeszcze sprecyzowanych i opisanych markerów genetycznych, które odgrywałyby ważną rolę w stratyfikacji do grup terapeutycznych. Wszystkie powstały po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych powstały dwa interesujące opisy przypadków klinicznych w ramach współpracy z innymi ośrodkami. W ramach tych prac opracowywałam wyniki badań pacjentów oraz przygotowywałam ryciny do manuskryptu. Pierwsza praca powstała we współpracy z dr. hab. n. med. Radosławem Chabrem z Kliniki Onkohematologii Dziecięcej w Rzeszowie. Druga praca powstała w kooperacji z mgr Anną Kulikowską z Pracowni Cytogenetyki z Uniwersyteckiego Centrum Patomorfologii w Warszawie i przedstawiała wykorzystanie metod cytogenetyki klasycznej i metod biologii molekularnej w ustaleniu ostatecznego wyniku dla pacjenta z rzadką $t(9;10)(q34;q22)$.

Z dr Teofilą Książek współpracowałam przy ostatniej publikacji wielośrodkowej i pomagałam w weryfikacji wyników cytogenetycznych z rearanżacją *MLL/MLLT10* u dzieci z ostrą białaczką szpikową.

Poza cyklem prac poniżej przedstawiam pozostałe publikacje z ich krótką charakterystyką.

1. Agata Pastorczak, Wojciech Fendler, Beata Zalewska-Szewczyk, Patryk Górniak, **Monika Lejman**, Joanna Trelńska, Justyna Walenciak, Jerzy Kowalczyk, Tomasz Szczepański, Wojciech Młynarski, From The Polish Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. **Asparagine Synthetase (ASNS) gene polymorphism is associated with the outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia by affecting early response to treatment.** *Leuk.Res.* 2014 vol. 38 s. 180-183. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.10.027.

IF = 2,351; PK/MNiSW = 25 (Praca oryginalna)

Enzym L-asparaginaza (ASNaza) jest jednym z kluczowych składników w protokole leczenia dziecięcej ALL, zarówno w okresie indukcji remisji, jak i okresie poindukcyjnym. Sekwencja powtórzona tandemowo o długości 14 bp zlokalizowana w pierwszym intronie genu *ASNS* może działać jako element wzmacniający transkrypcję; nosiciele więcej niż 2 powtórzeń ($> R2$) mogą wykazywać wyższą ekspresję ASNS. Celem pracy było znalezienie związku z wynikami leczenia u 264 dzieci z ALL. Polimorfizm sekwencji przeanalizowano u wszystkich 264 dzieci. Genotypowanie wariantu wykazało, że 231 (87,5%) pacjentów miało homozygotyczny genotyp R2/R2, 31 (12%) było heterozygotami R2/R3, a dwoje (0,5%) homozygotami R3/R3. Wieloczynnikowy model proporcjonalnej regresji hazardu skorygowany o wiek w momencie rozpoznania (HR (95% CI) = 1,05 (1,04–1,09)) i grupa wysokiego ryzyka (HR (95% CI) = 3,47 (1,74–6,88)) ujawniła, że nosiciele R3 ze słabą odpowiedzią w dniu 15 miało zwiększone ryzyko niekorzystnych zdarzeń, HR (95% CI) = 2,72 (1,06–

6,96). Wyniki te sugerują warunkową interakcję między polimorfizmem *ASNS* a wczesną odpowiedzią na chemioterapię u dzieci i młodzieży z ALL.

2. Patryk Górniak, Agata Pastorczak, Beata Zalewska-Szewczyk, **Monika Lejman**, Joanna Trelńska, Marta Chmielewska, Agnieszka Sokół-Jeżewska, Jerzy Kowalczyk, Tomasz Szczepański, Michał Matysiak, Bernarda Kaznowska, Wojciech Młynarski From The Polish Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. **Polymorphism in IKZF1 gene affects age at onset of childhood acute lymphoblastic leukemia.** Leuk. Lymphoma. 2014 vol. 55 s. 2174-2178. DOI: 10.3109/10428194.2013.866661.

IF = 2,891; PK/MNiSW = 25 (Praca oryginalna)

Przeprowadzone badania całego genomu (GWA) wykazały, że zmiany pojedynczego nukleotydu w obrębie allele w locus 7p12.2 (gen *IKZF1*) powoduje zwiększone ryzyko ALL u dzieci. Zbadaliśmy, czy allel ryzyka w rs4132601 również koreluje z dobrze zbadanymi czynnikami prognostycznymi wśród 508 polskich pacjentów pediatrycznych z nowo zdiagnozowaną ALL. Dodatkowo, aby sprawdzić, czy allel ryzyka jest powiązany przez somatyczną ewolucję nowotworu, zbadaliśmy częstość delecji *IKZF1* w klonach białaczkowych pochodzących ze 153 uprzednio genotypowanych przypadków ALL u dzieci. Wyniki analizy zapewniają statystycznie istotne poparcie dla związku między polimorfizmem rs4132601 a wiekiem w momencie rozpoznania ALL u dzieci ($p < 0,04$). Nie znaleziono związku między wariantem allelu a występowaniem delecji *IKZF1*. Dane te dostarczają kolejnych dowodów na biologiczną rolę genetycznych markerów w rozwoju ALL.

3. Marcin Braun, Agata Pastorczak, Wojciech Fendler, Joanna Madzio, Bartłomiej Tomasik, Joanna Taha, Marta Bielska, Łukasz Sędek Tomasz Szczepański, Michał Matysiak, Katarzyna Derwich, **Monika Lejman**, Jerzy Kowalczyk, Bernarda Kaznowska, Wanda Badowska, Jan Styczyński, Nina Irga-Jaworowska, Joanna Trelńska, Beata Zalewska-Szewczyk, Filip Pierlejewski, Iwona Włodarska, Wojciech Młynarski From The Polish Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. **Biallelic loss of CDKN2A is associated with poor response to treatment in pediatric acute lymphoblastic leukemia.** Leuk. Lymphoma 2017 vol. 58 s. 1162-1171. DOI: 10.1080/10428194.2016.1228925.

IF = 2,644; PK/MNiSW = 25 (Praca oryginalna)

Inaktywacja genów supresorowych zlokalizowanych w locus 9p21 (*CDKN2A*, *CDKN2B*) występuje u nawet 30% dzieci z B prekursorową ostrą białaczką limfoblastyczną (BCP-ALL), ale jej niezależne znaczenie prognostyczne pozostaje kontrowersyjne. W celu zbadania prognostycznego wpływu delecji i metylacji promotora u 9p21 zbadano 641 dzieci z nowo zdiagnozowanym BCP-ALL przy użyciu specyficznej dla metylacji multipleksowej zależnej od ligacji amplifikacji (MS-MLPA). Wykryto w sumie 169 (26,4%) mikrodelecji w 9p21, z czego 71 było homozygotycznych. Pacjenci z homozygotycznymi delecjami *CDKN2A* byli starsi w momencie rozpoznania ($p < 0,001$), częściej oporni na steroidy ($p = 0,049$), mieli większą liczbę WBC ($p < 0,001$), wyższą MRD w dniu 15 ($p = 0,013$) i niższe przeżycie bez nawrotów [$p = 0,028$; współczynnik ryzyka: 2,28 (95% przedział ufności: 1,09–4,76)] niż u pacjentów bez tych zmian. Delecje homozygotyczne *CDKN2A* współlistniały z delecjami *IKZF1* i *PAX5* ($p < 0,001$). Podsumowując, homozygotyczne delecje *CDKN2A*, ale nie metylacja promotora, są związane ze słabą odpowiedzią na leczenie i zwiększonym ryzykiem nawrotu pediatrycznego BCP-ALL.

4. Agata Pastorczak, Łukasz Sędek, Marcin Braun Joanna Madzio, Alicja Sonsala, Magdalena Twardoch, Wojciech Fendler, Karin Nebral, Joanna Taha, Marta Bielska, Patryk Górniak, Magdalena Romiszewska, Michał Matysiak, Katarzyna Derwich, **Monika Lejman**, Jerzy R. Kowalczyk, Wanda Badowska, Maciej Niedźwiecki, Bernarda Kazanowska, Katarzyna Muszyńska-Roslan, Grażyna Sobol-Milejska, Grażyna Karolczyk, Andrzej Kołtan, Tomasz Ociepa, Tomasz Szczepański, Wojciech Młynarski. **Surface expression of Cytokine Receptor-Like Factor 2 increases risk of relapse in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients harboring IKZF1 deletions.** *Oncotarget* 2018 vol. 9 s. 25971-25982. DOI: 10.18632/oncotarget.25411

IF = 0,000; PK/MNiSW = 40 (Praca oryginalna)

Rearanżacje genu *CRLF2* prowadzące do nadekspresji *CRLF2* reprezentują najbardziej rozpowszechnione zmiany molekularne w ostrej białaczkę limfoblastycznej podobnej do BCR-ABL1 (ALL). Przebadaliśmy prospektywnie czy ekspresja powierzchniowa cytokiny *CRLF2* w komórkach białaczkowych jest związana z przeżywalnością i odpowiedzią na leczenie indukcyjne u dzieci z B prekursorową ostrą białaczką limfoblastyczną (BCP-ALL). Analiza cytometrii przepływowej komórek białaczkowych pochodzących ze szpiku kostnego wykazała, że 7,51% (29/286) z 386 pediatrycznych pacjentów z BCP-ALL było *CRLF2*-dodatnich (*CRLF2*pos) w czasie diagnozy. Mediana minimalnej choroby resztkowej (MRD) była niższa u pacjentów z

CRLF2^{pos} niż z CRLF2-ujemnymi (CRLF2^{neg}) w dniu 15 (MRD15) po terapii indukcyjnej [0,01% (0,001-0,42%) vs. 0,45% (0,05-3,50%); p=0,001]. Natomiast MRD15 był wyższy u pacjentów z BCP-ALL z delecją genu *IKZF1* niż u pacjentów z BCP-ALL bez delecji *IKZF1* [1,18% (0,061-2,0%) vs 0,33% (0,03-2,6%); p = 0,003]. Co ciekawe, nie zaobserwowano wpływu delecji *IKZF1* na wysoki poziom MRD15 u pacjentów wyrażających ekspresję CRLF2. Pomimo niskiego poziomu MRD15 pacjenci *IKZF1*del(+)/CRLF2^{pos} wykazywali gorsze przeżycie wolne od nawrotów (RFS) niż inne grupy pacjentów (p=0,003). Te odkrycia pokazują, że ekspresja powierzchniowego CRLF2 jest związana ze zwiększonym ryzykiem nawrotu u dzieci z BCP-ALL, u których występuje delecja *IKZF1*.

5. Bartłomiej Tomasik, Agata Pastorczak, Wojciech Fendler, Marcin Bartłomiejczyk, Marcin Braun, Marcin Mycko, Joanna Madzio, Ewa Polakowska, Edyta Ulińska, Michał Matysiak, Katarzyna Derwich, **Monika Lejman**, Jerzy Kowalczyk, Wanda Badowska, Bernarda Kazanowska, Tomasz Szczepański, Jan Styczyński, Nina Irga-Jaworowska, Wojciech Młynarski From The Polish Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. **Heterozygous carriers of germline c.657_661del5 founder mutation in NBN gene are at risk of central nervous system relapse of B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia.** Haematologica 2018 vol 103 s. e200-e203, DOI: 10.3324/haematol.2017.181198.

IF = 7,570; PK/MNiSW = 40 (Praca oryginalna)

Mutacja c.657_661del5 linii germlinalnej w genie *NBN* upośledza funkcję białka nibryny i zwiększa ryzyko rozwoju BCP-ALL u dzieci. Ze względu na wysoką częstotliwość nosicieli *NBN* c.657_661del5 w krajach słowiańskich ich populacje stanowią unikalny model do badania wpływu tej zmiany na rozwój i przebieg białaczki. Dlatego cechy biologiczne i przebieg kliniczny białaczki zbadano u 578 polskich dzieci z BCP-ALL, w tym u 17 (2,94%) pacjentów z mutacją heterozygotyczną linii germlinalnych c.657_661del5 w genie *NBN*. Rearanżacja *MLL* były jedyną cechą biologiczną, która znacząco różnicowała nosicieli mutacji *NBN* i pacjentów z *NBN* typu dzikiego (wt-*NBN*) (3/14 vs. 26/535, OR = 4,41, 95% CI: 1,19-16,30, p = 0,026). Heterozygotyczni nosiciele mutacji c.657del5 mieli gorsze wyniki zarówno pod względem całkowitego, jak i przeżycia wolnego od nawrotów niż pacjenci wt-*NBN*: HR = 3,34 (95% CI: 1,20-9,31, p = 0,022) i HR = 3,44 (95 % CI: odpowiednio 1,23-9,59, p = 0,026). Ponadto rearanżacja genu *MLL* i heterozygotyczny nosiciel mutacji c.657_661del5 w genie *NBN* miał niezależny negatywny wpływ na ryzyko nawrotu

OUN (HR = 7,98; 95% CI: 1,87-33,99, p = 0,004 i HR = 14,85; 95% CI: odpowiednio 4,21-52,26, p <0,001, odpowiednio). Nasze ustalenia wskazują, że pojedyncza mutacja w allelu genu *NBN* linii germinalnej wpływa na wyniki kliniczne BCP-ALL u dzieci i zwiększa ryzyko nawrotu OUN.

6. Ewa Wrona, Marcin Braun, Agata Pastorczak, Joanna Taha, **Monika Lejman**, Jerzy Kowalczyk, Wojciech Fendler, Wojciech Młynarski. **MLPA as a complementary tool for diagnosis of chromosome 21 aberrations in childhood BCP-ALL**. J. Appl. Genet. 2019 vol. 60 s. 347-355. DOI: 10.1007/s13353-019-00509-8

IF = 2,027; PK/MNiSW = 70 (Praca oryginalna)

Nieprawidłowości w chromosomie 21 są najczęstszymi aberracjami genetycznymi wykrywanymi w B komórkowej ostrej białaczce limfoblastycznej. U większości pacjentów dość skutecznie wykonuje się badania genetyczne przy pomocy FISH i kariotypowania; jednak niektóre przypadki mogą wymagać użycia dodatkowych narzędzi. Próbkę szpiku kostnego 373 pacjentów z BCP-ALL badano pod kątem zmian liczby kopii chromosomu 21 (CNV) za pomocą sond P327 z wykorzystaniem techniki MLPA. Wyniki MLPA i cytogenetyki porównano między grupami w zależności od rodzaju nieprawidłowości stwierdzonej na chromosomie 21. W grupie 235 pacjentów w badaniu FISH stwierdzono trisomię chromosomu 21 w 56 przypadkach (23,81%), fuzję ETV6-RUNX1 w 34 (14,47%) i iAMP21 u 3 (1,28%), u pozostałych 142 (60,43%) pacjentów nie stwierdzono aberracji chromosomowej 21. Mediana zmian kopii wszystkich badanych sond w MLPA we wspomnianych grupach wyniosła odpowiednio 1,47 (IQR 1,28–1,77) vs. 1,00 (IQR 1,00–1,09) vs. 2,79 (IQR 1,97–2,83) vs. 1,00 (1,00–1,11). Wspomniana wyżej zmiana liczby kopii w grupie fuzyjnej ETV6-RUNX1 była podobna u pacjentów bez znanej aberracji chromosomu 21 (p = 0,71). Co ciekawe, obie grupy różniły się od pacjentów z trisomią chromosomu 21 (p <10⁻⁵) i iAMP21 (p <10⁻⁵). Wszystkie przypadki iAMP21 zostały poprawnie zdiagnozowane przez MLPA. Wydaje się, że MLPA jest dobrym dodatkowym narzędziem w procesie diagnostycznym do analizy CNV chromosomu 21, szczególnie w przypadkach z iAMP21.

7. Ewa Wrona, Justyna Jakubowska, Bartłomiej Pawlik, Agata Pastorczak, Joanna Madzio, **Monika Lejman**, Łukasz Sędek, Jerzy Kowalczyk, Tomasz Szczepański, Wojciech Młynarski. **Gene expression of ASNS, LGMN and CTSB is elevated in a**

subgroup of childhood BCP-ALL with PAX5 deletion. Oncol. Lett. 2019 s. 1-7.
DOI: 10.3892/ol.2019.11046.

IF = 2,311; PK/MNiSW = 70 (Praca oryginalna)

Oporność na L-asparaginazę (L-asp) jest głównym czynnikiem przyczyniającym się do słabych wyników leczenia kilku podtypów ostrej białaczki limfoblastycznej (BCP-ALL). Synteza asparaginy (ASNS), legumainy (LGMN) i katepsyny B (CTSB) odgrywają kluczową rolę w oporności na L-asp. Związek między podtypami genetycznymi BCP-ALL a ekspresją ASNS, LGMN i CTSB może wyjaśnić mechanizm niepowodzenia leczenia. Próbkę szpiku kostnego 52 dzieci z BCP-ALL zostały przebadane pod kątem nieprawidłowości genetycznych oraz poziomów ekspresji genów ASNS, LGMN i CTSB. Kohortę podzielono dalej na grupy odpowiadające kluczowym aberracjom genetycznym występującym w BCP-ALL: aberracja BCR/ABL1, hiperdiploidia, hipodiploidia, rearanżacja ETV6/RUNX1 i inne BCP-ALL bez zidentyfikowanej pierwotnej aberracji genetycznej (other BCP-ALL). Analiza podgrup oparta na różnicach w CNV wykazała znaczący wzrost mediany ekspresji ASNS, LGMN i CTSB w grupie pacjentów z BCP-ALL bez znanych rearanżacji, ale z delecją w genie *PAX5* ($P = 0,0117$; $P = 0,0036$; $P < 0,0001$, odpowiednio) w porównaniu z tymi z *PAX5* typu dzikiego. Pacjenci z wysoką ekspresją ASNS wykazywali dłuższe przeżycie wolne od nawrotów (RFS) w porównaniu z pacjentami z niskim poziomem ASNS ($P = 0,0315$; HR, 0,19; 95% CI, 0,04-0,86); 5-letni RFS dla pacjentów w grupie z wysoką ekspresją ASNS wynosił 90,15% (95% CI, 87,90–92,40%). Pomimo wpływu na ekspresję ASNS, LGMN i CTSB delecja *PAX5* nie wpłynęła na RFS w drugiej grupie BCP-ALL ($p = 0,6839$). Wyniki tego badania wykazały wysoki poziom ekspresji ASNS, LGMN i CTSB w grupie BCP-ALL bez znanych rearanżacji z jednocześnie występującą delecją *PAX5* i brakiem dalszego pogorszenia w 5-letnim RFS. Wysoki poziom ekspresji ASNS jako pojedynczy czynnik był silnie związany z poprawą wyników leczenia.

8. Joanna Madzio, Agata Pastorczyk, Łukasz Sędek, Marcin Braun, Joanna Taha, Kamila Wypyszczak, Joanna Trelńska, **Monika Lejman**, Katarzyna Muszyńska-Roslan, Bartłomiej Tomasik, Katarzyna Derwich, Andrzej Kołtan, Bernarda Kaznowska, Nina Irga-Jaworowska, Wanda Badowska, Michał Matysiak, Jerzy Kowalczyk, Jan Styczyński, Wojciech Fendler, Tomasz Szczepański, Wojciech Młynarski. **GATA3 germline variant is associated with CRLF2 expression and predicts outcome in**

pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. Genes Chromosomes Cancer 2019 vol. 58 s. 619-626. DOI: 10.1002/gcc.22748.

IF = 3,444; PK/MNiSW = 140 (Praca oryginalna)

Wariant rs3824662 w *GATA3* linii germinalnej jest czynnikiem ryzyka dla ostrej białaczki limfoblastycznej typu Ph-like ALL, biologicznego podtypu BCP-ALL definiowanego przez odrębny profil ekspresji genów i obecność specyficznych aberracji somatycznych, w tym rearanżacji *CRLF2*. W tym badaniu sprawdziliśmy, czy rs3824662 w *GATA3* wiąże się z ekspresją *CRLF2* w komórkach białaczkowych i ma wpływ na rokowanie u dzieci z BCP-ALL leczonych zgodnie z protokołami ALL Intercontinental Berlin-Frankfurt-Münster (IC BFM) 2009 (n = 645) i ALL IC BFM 2002 (n = 216). Zaobserwowano wysoką ekspresję *CRLF2* zarówno na poziomie białka, jak i mRNA (czterokrotnie wyższy w AA niż w CA + CC) wśród nosicieli wariantów AA w *GATA3*, niezależnie od obecności fuzji *P2RY8-CRLF2*. Ponadto wariant AA w rs3824662 był istotnym czynnikiem wpływającym na minimalny poziom resztkowej choroby pod koniec fazy indukcji i na całkowite przeżycie, niezależnie od grupy ryzyka i protokołu. Wariant rs3824662 w *GATA3* linii germinalnej jest czynnikiem prognostycznym, który wiąże się z ekspresją *CRLF2* w komórkach białaczkowych, co potwierdza hipotezę, że *GATA3* może wywierać wpływ regulacyjny na szlak *CRLF2* w pediatrycznym BCP-ALL.

9. Monika Kraszevska, Małgorzata Dawidowska, Maria Kosmalka, Łukasz Sędek, Władysław Grzeszczak, Jerzy R. Kowalczyk, Tomasz Szczepański, Michał Witt, **Monika Lejman**, Jacek Wachowiak, Wojciech Młynarski, Grażyna Sobol, Martyna Krawczuk Rybak, Wanda Badowska, Anna Balcerska, Maria Wieczorek. **BCL11B, FLT3, NOTCH1, FBXW7 mutation status in T-cell acute lymphoblastic leukemia patients.** Blood Cells Mol. Dis. 2013 vol. 50 s. 33-38. DOI: 10.1016/j.bcmd.2012.09.001.

IF = 2,331; PK/MNiSW = 20 (Praca oryginalna) - praca wielośrodkowa

W tej pracy scharakteryzowaliśmy status mutacji genów *BCL11B* i *FLT3*, prawdopodobnie zaangażowanych w patogenezę T-ALL, wraz z *FBXW7* i *NOTCH1* znanymi genami zaangażowanymi w proces leukemogenezy w T-ALL u 65 pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną (dzieci i młodzież). Naszym celem było również oszacowanie wartości prognostycznej mutacji *NOTCH1* i *FBXW7* w protokole ALL-IC BFM 2002. Mutacje *FLT3* i *BCL11B* wykryto odpowiednio u 3% i 2% pacjentów.

Mutacje *FBXW7* zaobserwowano u 8% pacjentów, natomiast *NOTCH1* uległ mutacji u 40% pacjentów. Nie stwierdzono korelacji między mutacjami *NOTCH1* i *FBXW7* a czynnikami klinicznymi lub cechami molekularnymi. W sumie wykryliśmy dziewięć mutacji, które nie zostały wcześniej opisane przez innych. Osiem z nich znaleziono w *NOTCH1*, a jedną w genie *BCL11B*. Obserwowane częstości mutacji w genach *NOTCH1* i *FBXW7* są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami, co potwierdza postulowany udział tych dwóch genów w patomechanizmie T-ALL. Co więcej, w tej pracy raportujemy częstość mutacji *FLT3* i *BCL11B*, które dotychczas nie były szeroko badane w T-ALL. Ostatecznie sugerujemy przypuszczalną rolę *BCL11B* jako onkogeny w patogenezie T-ALL.

10. Małgorzata Dawidowska, Maria Kosmalska, Łukasz Sędek, Aleksandra Szczepankiewicz, Magdalena Twardoch, Alicja Sonsala, Bronisława Szarzyńska-Zawadzka, Katarzyna Derwich, **Monika Lejman**, Katarzyna Pawelec, Agnieszka Obitko-Płudowska, Katarzyna Pawińska-Wąsikowska, Kinga Kwiecińska, Andrzej Kołtan, Agnieszka Dyla, Władysław Grzeszczak, Jerzy R. Kowalczyk, Tomasz Szczepański, Ewa Ziętkiewicz, Michał Witt. **Association of germline genetic variants in RFC, IL15 and VDR genes with minimal residual disease in pediatric B-cell precursor ALL.** Sci. Rep. 2016 s. 1-15. DOI: 10.1038/srep29427.

IF = 4,259; PK/MNiSW = 40. (Praca oryginalna)

Minimalna choroba resztkowa (MRD) umożliwia wiarygodną ocenę powodzenia terapii w ALL. Jednak niewiele wiadomo na temat związku między statusem MRD a germinálną zmiennością genetyczną. Przebadaliśmy 159 pacjentów rasy kaukaskiej (słowiańskiej) z pediatryczną ALL, leczonych zgodnie z protokołami ALL-IC-BFM 2002/2009, w poszukiwaniu związku między 23 germinálnymi polimorfizmami a statusem MRD w dniu 15, 33 i 12 tygodniu, z uwzględnieniem parametrów klinicznych. Trzy warianty były istotnie związane z MRD: rs1544410 w *VDR* (MRD-dzień15); rs1051266 w *RFC* (MRD-dzień 33, MRD-tydzień 12), niezależnie i jako efekt addytywny z rs10519613 w *IL15* (MRD-dzień 33). Allele ryzyka dla dodatniej MRD to: Allel *VDR* (OR = 2,37, 95% CI = 1,07–5,21, P = 0,03, MRD-dzień 15); A z *RFC* (OR = 1,93, 95% CI = 1,05–3,52, P = 0,03, MRD-dzień 33 i MRD-tydzień 12, P <0,01); A dla *IL15* (OR = 2,30, 95% CI = 1,02–5,18, P = 0,04, MRD-dzień 33). Ryzyko dla statusu MRD-dzień33-dodatniego było wyższe u pacjentów z allelami ryzyka zarówno w loci *RFC*, jak i *IL15* niż u pacjentów z allelami ryzyka w jednym locus lub allele ryzyka: 2 vs. 1 (OR = 3,94, 95% CI = 1,28–12,11, P = 0,024), 2 vs 0 (OR = 6,75, 95% CI = 1,61–

28,39, $P = 0,012$). Germinalny polimorfizm w genach jest związany z farmakokinetyką/farmakodynamiką leków przeciwbiałaczkowych, odpornością przeciwnowotworową pacjenta oraz jest powiązany ze statusem MRD i może pomóc w poprawie oceny ryzyka w ALL.

11. Małgorzata Dawidowska, Roman Jasik, Monika Drobna, Bronisława Szarzyńska-Zawadzka, Maria Kosmalka, Łukasz Sędek, Ludmiła Machowska, Anna Lalik, **Monika Lejman**, Marek Ussowicz, Krzysztof Kałwak, Jerzy R. Kowalczyk, Tomasz Szczepański, Michał Witt. **Comprehensive Investigation of miRNome Identifies Novel Candidate miRNA-mRNA Interactions Implicated in T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia.** *Neoplasia* [online] 2019 vol. 21 s. 294-310. DOI: 10.1016/j.neo.2019.01.004.

IF = 5,696; PK/MNiSW = 140 (Praca oryginalna)

Genetyczny profil T-ALL został w dużej mierze scharakteryzowany przez sekwencjonowanie nowej generacji. Jednak transkryptom miRNA (miRNome) T-ALL nie był intensywnie badany. Stosując małe sekwencjonowanie RNA, scharakteryzowaliśmy miRNome w 34 próbkach pediatrycznych z T-ALL, w tym ekspresję isomiRs i identyfikowaliśmy nowych kandydatów miRNAs (wcześniej nieopatrzonych adnotacjami w miRBase). Po raz pierwszy pokazujemy, że podtypy immunofenotypowe T-ALL reprezentujące różne profile ekspresji miRNA. Aby rozszerzyć charakterystykę miRNome w T-ALL (do 82 przypadków T-ALL), połączyliśmy nasze wyniki z danymi dostępnymi w Gene Expression Omnibus. Korzystając z algorytmów analizy i prognozowania, zidentyfikowaliśmy miRNAs o różnej ekspresji i ich role w procesach o potencjalnym znaczeniu w patogenezie T-ALL, w tym sygnalizacji za pośrednictwem interleukiny-6, sygnalizacji mTOR i regulacji apoptozy (zdefiniowane w Gene Ontology i Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes). Swoją uwagę skupiliśmy też na hsa-mir-106a-363 i sprawdziliśmy funkcjonalnie interakcje hsa-miR-20b-5p i hsa-miR-363-3p z 3' regionami niepodlegającymi translacji potencjalnych celów (PTEN, SOS1, LATS2). Hsa-mir-106a-363 jest paralogiem prototypowego onkogennego hsa-mir-17-92 z jeszcze nieustaloną rolą w patogenezie T-ALL. Nasze badanie przedstawiły solidne podstawy do dalszych analiz funkcjonalnych dotyczących roli interakcji miRNA-mRNA w T-ALL.

12. Radosław Chaber, Artur Gurgul, Grażyna Wróbel, Anna Tomoń, Sylwia Paszek, Natalia Potocka, Olga Haus, **Monika Lejman**, Kornelia Łach, Tomasz Szmatoła, Igor Jasielczuk, Blanka Rybka, Renata Ryczan-Krawczyk, Sylwia Stapor, Krzysztof Ciebiera, Christopher J. Arthur, Izabela Zawlik. **The distinguishable DNA whole genome methylation profile of 2 cases of pediatric precursor B acute lymphoblastic leukaemia (BCP ALL) with prodromal, preleukemic phase: A case report.** *Medicine*. 2018 vol. 97 s. 1-9. DOI: 10.1097/MD.00000000000012763.

IF = 1,870; PK/MNiSW = 40 (Opis przypadku)

Rzadko obserwuje się przedłużoną fazę przed definitywnym rozpoznaniem BCP ALL u dzieci. Przedstawiono opisy dwóch przypadków pacjentów z BCP ALL z fazą prodromalną trwającą kilka tygodni. U pierwszego pacjenta wystąpiła aplastyczna faza przedleukemiczna, a u drugiego – reumatyczna faza wstępna. Analiza metylacji profilu całego genomu DNA komórek szpiku kostnego uzyskana podczas diagnozy ujawniła wzór metylacji, który można łatwo odróżnić zarówno od zdrowych, jak i standardowych próbek BCP ALL szpiku kostnego. Biologiczna implikacja tej obserwacji pozostaje niejasna, z wieloma zróżnicowanymi metylowanymi loci zaangażowanymi w wiele procesów, takich jak neurogeneza, organizacja i adhezja komórek, a także aktywacja leukocytów i apoptoza. Częstość występowania i znaczenie kliniczne tych zmian nie są znane, ale dane te wskazują, że epigenetyczne podstawy BCP ALL z przedłużoną fazą prodromalną wymagają bardziej szczegółowej oceny.

13. Anna Kulikowska, Anna Pastwińska, Agnieszka Stefaniak, Karolina Karabin, Borys Styka, Marta Libura, **Monika Lejman**, Elżbieta Chmarzyńska-Mróż. **Wykorzystanie metod cytogenetycznych i molekularnych w ocenie statusu genetycznego oraz przebieg leczenia u pacjenta z rzadką dziecięcą postacią ALL BCR/ABL1-like spowodowaną translokacją t(9;10)(q34;q22).** (The use of cytogenetic and molecular methods in the assessment of genetic status and the course of treatment in a patient with rare childhood form of BCR-ABL1-like ALL due to the translocation t(9;10)(q34;q22)). *Acta Haematol.Pol.*2019 vol.50 s. 215-222. DOI: 10.2478/ahp-2019-0034.

IF = 0,000; PK/MNiSW = 20 (Opis przypadku)

Badania cytogenetyczne są niezbędne w ocenie czynników rokowniczych w ostrej białaczce limfoblastycznej (ALL) u dzieci. Głównymi niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi są: translokacja t(9;22) prowadząca do fuzji genów *BCR-ABL1* oraz

translokacje chromosomu 11 w prążku 11q23, warunkujące rearanżację genu *KMT2A*. Gen *ABL1* może tworzyć fuzję z kilkoma innymi genami, prowadząc do profilu ekspresji zbliżonego do obserwowanego w ALL Ph(+). Przypadki ALL z takimi fuzjami genetycznymi zostały zakwalifikowane do nowego podtypu określanego jako BCR-ABL1-like. W pracy przedstawiamy rolę badań cytogenetycznych i molekularnych w terapii 14-miesięcznego chłopca z rozpoznaniem BCB-ALL. Podczas diagnostyki ALL za pomocą badania FISH wykluczono fuzję genów *BCR/ABL1* i rearanżację genu *KMT2A*. Stwierdzono natomiast obecność trzech i czterech sygnałów pochodzących z genu *ABL1*. Analiza kariotypu i dodatkowo wykonane badania FISH pozwoliły ustalić kariotyp pacjenta jako nieprawidłowy, złożony z ewolucją klonalną. Zaobserwowane punkty pęknięć wskazywały na możliwość zaangażowania w fuzję genu *ZMIZ1*. Obecność genu fuzyjnego *ZMIZ1-ABL1* została potwierdzona metodą multiplex PCR i sekwencjonowaniem metodą Sanger. Gen fuzyjny *ZMIZ1-ABL1* może kodować aktywowaną konstytutywnie formę kinazy tyrozynowej, która stanowi potencjalny cel działania leków będących inhibitorami tych enzymów. Z uwagi na nieliczne odnotowane przypadki fuzji genów *ZMIZ1-ABL1* istnieje konieczność przyglądania się z uwagą efektom leczenia u pacjentów obciążonych tą translokacją.

14. Teofila Książek, Małgorzata Czogała, Przemysław Kaczowka, Beata Sadowska, Katarzyna Pawińska-Wąsikowska, Mirosław Bik-Multanowski, Barbara Sikorska-Fic, Michał Matysiak, Jolanta Skalska-Sadowska, Jacek Wachowiak, Anna Rodziewicz-Konarska, Alicja Chybicka, Katarzyna Muszyńska-Roslan, Maryna Krawczuk-Rybak, Dominik Grabowski, Jerzy Kowalczyk, Lucyna Maciejka-Kembłowska, Elżbieta Adamkiewicz-Drożyńska, Wojciech Młynarski, Renata Tomaszewska, Tomasz Szczepański, Joanna Pohorecka, Grażyna Karolczyk, Agnieszka Mizia-Malarz, Katarzyna Mycko, Wanda Badowska, Karolina Zielezińska, Tomasz Urański, Irena Karpińska-Derda, Mariola Woszczyk, Małgorzata Ciebiera, **Monika Lejman**, Szymon Skoczeń, Walentyna Balwierz. **High frequency of fusion gene transcript resulting from t(10;11)(p12;q23) translocation in pediatric acute myeloid leukemia in Poland.** Front. Pediatr. 2020 vol. 8; 278, s. 1-7, DOI: 10.3389/fped.2020.00278

IF = 2,634; PK/MNiSW = 70 (Praca oryginalna)

Przegrupowania 11q23/*MLL* są często wykrywane w ostrej białaczce szpikowej u dzieci. Analiza ich znaczenia klinicznego jest trudna ze względu na mnogość partnerów

fuzji translokacyjnej i ich niską częstotliwość. Obecność translokacji t(10;11)(p12;q23) w ostrej białaczce szpikowej u dzieci (AML) jest uważana za drugą najczęstszą translokację wykrytą po t(9;11)(p22;q23) w pediatrycznej AML. Obecność powyższej translokacji została wcześniej zidentyfikowana jako niekorzystny czynnik prognostyczny. Od czerwca 2015 r. stosuje się protokół terapeutyczny wymagający szczegółowej diagnostyki genetycznej w dziecięcej AML. Do listopada 2019 r. przeprowadzono badania molekularne u 195 dzieci ze zdiagnozowaną AML w celu zidentyfikowania nosicieli transkryptów genów fuzyjnych dla 28 najczęstszych translokacji chromosomalnych w ostrej białaczce. Transkrypt genu fuzyjnego translokacji t(10;11)(p12;q23) z udziałem genu *MLL* został wykryty z nieoczekiwanie wysoką częstotliwością (8,9%) w naszych badaniach. Była to najwyższa częstotliwość spośród wszystkich wykrytych przegrupowań *MLL*, a także innych wykrytych transkryptów genów fuzyjnych z aberracji chromosomalnych charakterystycznych dla AML. Aberracja chromosomowa między chromosomami 10 i 11 może być stosunkowo częsta w niektórych populacjach. Wydaje się, że zwracanie uwagi na ten fakt i zapewnienie właściwej diagnozy genetycznej jest ważne dla odpowiedniego przydzielenia pacjentów do grup ryzyka protokołów leczenia dziecięcej AML.

5.1.3. Praca Doktorska

W związku z tym, że byłam odpowiedzialna za wdrożenie do pracy laboratoryjnej techniki opartej na biologii molekularnej, która wykorzystuje licznie występujące w genomie ludzkim specyficzne niekodujące, powtarzające się sekwencje DNA, stanowiące cechę identyfikującą człowieka, moje zainteresowania zwróciły się w stronę transplantologii. Zastosowanie tej techniki pozwoliło na monitorowanie chimeryzmu bez względu na różnicę w płci biorcy i dawcy. W metodzie molekularnej stosuje się specyficzne startery amplifikujące loci minisatelitarne oraz mikrosatelitarne. Wobec tak wielu możliwości analizy chimeryzmu pojawił się pomysł na projekt naukowy, w którym mogłabym porównać jednocześnie różne techniki molekularne. Badania do mojego projektu były finansowane z **grantu promotorskiego NN407 5954 40** (lata 2010–2012), którego byłam jedynym wykonawcą. Przebadano 50 pacjentów po allo-HSCT oraz ich dawców następującymi technikami: VNTR/STR PCR z analizą fragmentów na żelu agarozowym (56% pacjentów przebadanych), metodą RQ PCR prowadzoną w czasie rzeczywistym (12% pacjentów przebadanych) oraz multipleksowym STR PCR z analizą w kapilarnym analizatorze fragmentów (100% pacjentów przebadanych). Porównując metody, stwierdzono, że mała ilość DNA jest czynnikiem ograniczającym metodę VNTR/STR, w przypadku pozostałych

wymagania są niewielkie, zwłaszcza dla multipleksowego STR PCR. Najważniejsze znaczenie dla wszystkich metod ma jakość otrzymanego DNA, które w sposób zdecydowany wpływa na otrzymany wynik zarówno jakościowy, jak i ilościowy. Metoda multipleksowego STR PCR wykazała się najwyższą informatywnością stosowanych markerów (100% analizowanych par biorca–dawca niezależnie od płci i od stopnia spokrewnienia). Wykazano, że czułość metody RQ PCR wynosi 0,06% i jest większa w porównaniu do multipleksowego STR PCR, gdzie czułość przy jednym z alleli wynosiła 0,4%. W związku z nielicznymi doniesieniami literaturowymi na temat przydatności klinicznej badań chimeryzmu komórkowego do przewidywania wznowy choroby nowotworowej czułość reakcji pozostaje czynnikiem budzącym jeszcze wiele pytań. Wyniki oznaczeń chimeryzmu komórkowego są wiarygodne i powtarzalne zarówno przy metodzie RQ PCR, jak i przy multipleksowym STR PCR. Technika VNTR/STR ze względu na jakościowy charakter oznaczeń oceniana była pod względem wiarygodności, powtarzalności oraz ekonomiki. Wykazano, że jest najbardziej ekonomiczną i najprostszą techniką, ale pracochłonną i mało precyzyjną w porównaniu do innych metod. Niedogodnością badania chimeryzmu techniką RQ PCR jest przeprowadzanie standaryzacji dla szerokiego panelu polimorfizmów, aby zapewnić możliwość jak najwyższej informatywności markerów różnicujących biorcę i dawcę, co wiąże się z bardzo wysokimi kosztami. Ponadto wykazano, że RQ PCR charakteryzuje się niską precyzją wyniku w przypadku progresywnego chimeryzmu mieszanego, kiedy wartość procentowa biorcy sięga do 60%. Stosuje się wówczas dodatkowe metody przeliczania zawartości procentowej biorca/dawca w badanym materiale. W przypadku multipleksowego STR PCR można uzyskiwać wyniki z każdego markera informatywnego i porównywać je ze sobą, obliczać średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe oraz współczynnik zmienności dla każdego oznaczenia, co dodatkowo pozwala na sprawdzenie wiarygodności i precyzji metody.

Wnikliwe porównanie poszczególnych technik badawczych w odniesieniu do danych literaturowych pozwoliło na wybór metody multipleksowego STR PCR jako optymalnej techniki do oznaczenia chimeryzmu hematopoetycznego po allo-HSCT.

Efektom pracy była rozprawa doktorska pod tytułem „Optymalizacja wybranych metod badawczych w ocenie chimeryzmu komórkowego po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych u dzieci”, a także prezentacje zjazdowe:

1. Beata Wójcik, Katarzyna Drabko, Marta Choma, Agnieszka Zaucha-Prażmo, **Monika Lejman**, Dorota Winnicka, Jerzy Kowalczyk. Safety and efficacy of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation with myeloablative regimen in children with acute myeloid leukaemia: a single-centre experience. Bone Marrow Transplant. 2011 vol. 46 suppl. 1 s. S283, 37th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow

- Transplantation. 27th Meeting of the EBMT Nurses Group. 10th Meeting of the EBMT Data Management Group. Paris, 3-6 April 2011. Streszczenie.
2. **Monika Lejman**, Dorota Winnicka, Mariusz Babicz, Borys Styka, Ilona Jaszczuk, Anna Poluha, Marta Holweg, Hanna Wiśniewska-Ślusarz, Małgorzata Mitura Lesiuk, Katarzyna Drabko, Marta Choma, Beata Wójcik, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Jerzy Kowalczyk. Complex changes in karyotype of a child with acute myeloid leukaemia (AML) after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Chromosome Res.* 2011 vol. 19 suppl. 1 s. S141-S142, 8th European Cytogenetics Conference. Porto, 2-5 July 2011. Streszczenie.
 3. **Monika Lejman**, Katarzyna Drabko, Marta Choma, Beata Wójcik, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Jerzy Kowalczyk. Mixed chimerism has no impact on survival in children with severe aplastic anaemia post stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2012 vol. 47 suppl. 1 s. S383, 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Geneva, 1-4 April 2012. Streszczenie.
 4. Katarzyna Drabko, M. Ussowicz, A. Pieczonka, J Goździk, R Dębski, **Monika Lejman**, Marta Choma, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Beata Wójcik, J. Wachowiak, A. Chybicka, M. Wysocki, Jerzy Kowalczyk. Mixed chimerism seems to improve survival of children with aplastic anaemia after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: preliminary report. On Behalf of the Polish Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation Group. *Bone Marrow Transplant.* 2013 vol. 48 suppl. 2 s. S417, 39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. London, 7-10 April 2013. Streszczenie.
 5. **Monika Lejman**, Katarzyna Drabko, Dorota Winnicka, Mariusz Babicz, Borys Styka, Ilona Jaszczuk, Katarzyna Wojciechowska, Marta Holweg, Jerzy Kowalczyk. Mixed chimerism hasn't impact on survival in children with severe aplastic anemia post stem cell transplantation. V Polski Kongres Genetyki. Łódź, 19-22 września 2016 r. Streszczenie s. 242.
 6. **Monika Lejman**, Katarzyna Drabko, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Marta Choma, Beata Wójcik, Dominik Grabowski, Magdalena Cienkusz, Dorota Winnicka, Borys Styka, Mariusz Babicz, Jerzy R. Kowalczyk. Interwencje terapeutyczne u pacjentów z chimeryzmem mieszanym po transplantacji komórek krwiotwórczych. *Prz. Pediatr.* 2018 vol. 47 nr 2 suppl. s. 95-96, IX Zjazd Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. Poznań, 10-12 maja 2018. Streszczenie.

5.1.4. Współpraca z klinicystami.

Allogeniczne transplantacje komórek krwiotwórczych u dzieci z chorobami nienowotworowymi i nowotworowymi.

Wdrożona przeze mnie metoda oznaczania chimeryzmu w naszym laboratorium zaowocowała współpracą z klinicystami (dr n. med. Agnieszka Zauchą-Prażmo), dla których opracowywałam wyniki chimeryzmu pacjentów z nienowotworowymi chorobami hematologicznymi po allo-HSCT. Analiza czynników ryzyka związanych z procedurą przeszczepiania oraz stan kliniczny pacjenta może przyczynić się do poprawy wyników leczenia przy pomocy allogenicznego przeszczepienia hematopoetycznych komórek krwiotwórczych. Zakażenia u dzieci po allo-HSCT pozostają nadal ważną przyczyną śmiertelności. Tematyka została przedstawiona w pracy, przy której współpracowałam. Dzieci z anemią Fanconiego miały wysoką częstość występowania infekcji grzybiczych. W naszej analizie aGVHD nie miało wpływu na występowanie zakażeń, chociaż wyniki badań nie wykazywały istotności statystycznej. W kolejnej pracy przedstawiliśmy analizę wyników leczenia i przeżycia u dzieci z chorobami nienowotworowymi po allo-HSCT ze szczególnym uwzględnieniem analizy czynników ryzyka śmiertelności związanej z przeszczepem (TRM, transplant-related mortality). Wynik leczenia analizowano retrospektywnie przez 10 kolejnych lat w 4 ośrodkach transplantologii dziecięcej w Polsce. Aby porównać wyniki, dane pacjentów analizowano zgodnie z diagnozą, wiekiem pacjenta w chwili przeszczepu, typem dawcy, źródłem komórek macierzystych, schematami kondycjonowania, dawką przeszczepionych komórek CD34 + i wynikiem TRM u dzieci. TRM występowało częściej u pacjentów przy przeszczepie od niespokrewnionego dawcy, u biorców krwi obwodowej oraz u pacjentów otrzymujących powyżej 5×10^6 /kg komórek CD34+. Prawdopodobieństwo TRM było wyższe u pacjentów ze SCID ($p = 0,02$).

Przedstawiam publikacje dotyczące transplantacji komórek krwiotwórczych u dzieci z chorobami nienowotworowymi (wszystkie prace powstały po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych):

1. Agnieszka Zaucha-Prażmo, Joanna Zawitkowska, **Monika Lejman**, Jerzy R. Kowalczyk, Krzysztof Czyżewski, Magdalena Dziedzic, Anna Pieczonka, Olga Zajęc-Spychała, Jolanta Goździk, Jowita Frączkiewicz, Małgorzata Salamonowicz, Ewa Gorczyńska, Krzysztof Kałwak, Jacek Wachowiak, Jan Styczyński. **Infection profile in children and adolescents with bone marrow failures treated with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.** *Pediatr. Transplant.* 2019 s. 1-7.

IF = 1,425; PK/MNiSW = 40 (Praca oryginalna)

2. Agnieszka Zaucha-Prażmo, Elżbieta Sadurska, Anna Pieczonka, Jolanta Goździk, Robert Dębski, Katarzyna Drabko, Joanna Zawitkowska, **Monika Lejman**, Jacek Wachowiak, Jan Styczyński, Jerzy R. Kowalczyk. **Risk factors for transplant outcomes in children and adolescents with non-malignant diseases following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.** Ann. Transplant. 2019 vol. 24 s. 374-382.

IF = 0,990; PK/MNiSW = 40 (Praca oryginalna)

Genetyka kliniczna – diagnostyka aberracji wrodzonych

Początki mojej pracy zawodowej związane były z metodami cytogenetyki klasycznej zarówno przy analizie kariotypu u pacjentów z podejrzeniem choroby genetycznej, jak i u dzieci z chorobami układu krwiotwórczego. Kolejno rozwijałam swoje umiejętności, szkoląc się i wdrażając do laboratorium kolejne techniki między innymi MLPA.

Pierwsza praca opisuje 4-letniego pacjenta z unikalną odziedziczoną po ojcu delecją eksonu 9 genu *GABRB3* i objawami klinicznymi w postaci poważnego opóźnienia mowy, niepełnosprawności intelektualnej, cech autystycznych, drżenia i zaburzeń chodu oraz napadów padaczkowych. W pracy omówiono podobieństwa i różnice z innymi przypadkami obejmującymi zmiany w regionie 15q11-q13 oraz przegląd literatury. Mój udział w pracy polegał na diagnostyce i opracowaniu wyniku MLPA z wykorzystaniem zestawu sond P343 dla pacjenta i jego rodziców, przygotowaniu ryciny do pracy oraz aktywnym uczestniczeniu w poprawianiu manuskryptu podczas recenzji.

Druga praca opisuje rzadką dziedziczną chorobę metaboliczną, jaką jest niedobór sulfatazy (MSD, Multiple Sulfatase Deficiency). Aktywność sulfatazy zależy od potranslacyjnej modyfikacji katalizowanej przez enzym generujący formyloglicynę (FGE) kodowany przez gen *SUMF1*. Mutacje w *SUMF1* powodują syndrom MSD o złożonym fenotypie cech. W pracy tej opisaliśmy pierwszy w Polsce przypadek pacjenta z nieopisaną jak dotąd mutacją c.337G>A [p.Glu113Lys] w heterozygotycznej kombinacji ze znaną delecją drugiego allelu c.519+5_519+8del [p.Ala149_Ala173del]. Obraz kliniczny sugerował początkowo późną dziecięcą leukodystrofię metachromatyczną z opóźnieniem rozwoju, a następnie regresję zdolności wzrokowych, słuchowych i motorycznych jako najbardziej widoczne objawy kliniczne. Objawy rybiej łuski i niewielkie cechy dysmorficzne poprowadziły badania laboratoryjne w kierunku MSD. Na podstawie struktury krystalicznej

przewidujemy, że wymiana glutaminianu na lizynę wpływa zarówno na aktywność FGE, jak i stabilność wewnątrzkomórkową. Korelacje genotyp-fenotyp zaobserwowano wcześniej w MSD, opis przypadku powinien przyczynić się do prawidłowej diagnozy i prognozowania dotkniętych osób. Mój udział w pracy polegał na opracowaniu kariotypu dla pacjenta, ustalaniu wspólnie dr Jaszczuk algorytmu diagnostycznego dla pacjenta oraz uczestniczeniu w poprawianiu manuskryptu podczas recenzji. Jest to bardzo ważna dla mnie praca, gdyż powstała w wyniku współpracy z trzema zagranicznymi ośrodkami z Larsem Schlotawą z Department of Medical Genetics z Cambridge, Thomasem Dierks, Karthikeyan Radhakrishnan z Department of Chemistry z Bielefeld oraz Andreas Ohlenbusch University Medical Center Goettingen z Goettingen.

Trzecia publikacja miała na celu wykazanie istotnej roli pozytonowej tomografii emisyjnej 18F-fluoro-2-deoksy-d-glukozy (FDG) w połączeniu z obrazowaniem angiografii anatomicznej tomografii komputerowej (PET/CTA) w przypadku 15-letniego chłopca z bólem w klatce piersiowej, nadciśnieniem tętniczym i cechami zespołu aorty środkowej w angiografii tomografii komputerowej (CTA). Ostatecznie zdiagnozowano zespół Williamsa-Beurena. Przypadek wskazuje, że obrazowanie PET/CT FDG może być niezbędne w procesie diagnostycznym zespołu aorty środkowej u dzieci. Sugerujemy, aby tę technikę obrazowania wziąć pod uwagę w procesie diagnostycznym układowej waskulopatii, szczególnie u dzieci. Mój udział w pracy polegał na opracowaniu wyniku MLPA dla pacjenta, ustalaniu wspólnie dr Jaszczuk algorytmu diagnostycznego dla pacjenta oraz uczestnictwie w poprawianiu manuskryptu podczas recenzji.

Czwarta publikacja jest wynikiem współpracy z Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie i ich badaniach nad aberracjami cytogenetycznie zrównoważonymi. Przedstawiliśmy sześciu pacjentów ze zrównoważoną translokacją chromosomalną de novo (BCT) i jednym pacjentem z inwersją de novo, u których zmapowaliśmy punkty przerwania do rozdzielczości 1 pz, stosując sekwencjonowanie całego genomu. We wszystkich siedmiu przypadkach stwierdzono zakłócenie co najmniej jednego genu. U dwóch pacjentów fenotypowy wpływ zmutowanych genów jest dobrze znany (*NF1A*, *ATP7A*). U pięciu pacjentów aberracja uszkodziła geny: *PARD3*, *EPHA6*, *KLF13*, *STK24*, *UBR3*, *MLLT10* i *TLE3*, których wpływ na ludzki fenotyp jest słabo poznany. Nasze wyniki sugerują nowe geny kandydujące do zwyrodnienia siatkówki z wytrzeszczem (*EPHA6*), opóźnieniem rozwojowym z upośledzeniem mowy (*KLF13*) i opóźnieniem rozwojowym z guzem dioplastrioplastycznym guza neuroepitelialnego (*UBR3*). Identyfikacja dokładnej struktury objawowych BCT za pomocą sekwencjonowania nowej generacji jest realną metodą zarówno dla diagnozowania, jak i poszukiwania nowych genów kandydujących na choroby u ludzi.

Mój udział polegał na opracowaniu wyniku cytogenetycznego jednego z pacjentów, udostępnieniu materiałów diagnostycznych; brałam również aktywny udział w ostatecznej korekcie manuskryptu.

Przedstawiam publikacje dotyczące opracowywania wyników genetycznych u dzieci z chorobami wrodzonymi (prace powstały po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych):

1. Krzysztof Szczałuba, Ilona Jaszczuk, **Monika Lejman**, Agata Makarewicz, Renata Koncewicz, Urszula Demkow. **Paternally inherited GABRB3 intragenic deletion in a boy with autistic features and Angelman syndrome phenotype – case report and literature review.** Autism Open Access. 2016 vol. 6 s. 1-4. DOI:10.4172/2165-7890.1000182

IF = 0,000; PK/MNiSW = 5 (Opis przypadku)

2. Ilona Jaszczuk, Lars Schotawa, Thomas Dierks, Andreas Ohlenbusch, Dominique Koppenhöfer, Mariusz Babicz, **Monika Lejman**, Karthikeyan Radhakrishnan, Agnieszka Ługowska. **Expanding the genetic cause of multiple sulfatase deficiency: A novel SUMF1 variant in a patient displaying a severe late infantile form of the disease.** Mol. Genet. Metab. 2017 vol. 121 s.252-258. DOI: 10.1016/j.ymgme.2017.05.013

IF = 3,774; PK/MNiSW = 25 (Praca oryginalna)

3. Violetta Opoka-Winiarska, Maria B. Tomaszek, Aleksandra Sobiesiak, Aleksandra Rybkowska, **Monika Lejman**, Ilona Jaszczuk, Magdalena M. Woźniak, Edyta Zielonka-Lamparska, Beata Chrabko. **The importance of FDG PET/CT in the diagnostic process of the middle aortic syndrome in a 15-year-old boy patient with suspected systematic vasculitis and final diagnosis of Williams-Beuren syndrome.** Rheumatol.Int. 2020. s1-8. DOI: 10.1007/s00296-020-04550-3

IF = 1,983; PK/MNiSW = 70 (Opis przypadku)

4. Victor Murcia Pienkowski, Marzena Kucharczyk, Małgorzata Rydzanicz, Barbara Poszewiecka, Katarzyna Pachota, Marlena Młynek, Piotr Stawiński, Agnieszka, Pollak, Joanna Kosińska, Katarzyna Wojciechowska, **Monika Lejman**, Agata Cieślukowska, Dorota Wicher, Agnieszka Stembalska, Karolina Matuszewska, Anna Materna-Kiryłuk, Anna Gambin, Krystyna Chranowska, Małgorzata Krajewska-

Walasek, Rafał Płoski. **Breakpoint Mapping of Symptomatic Balanced Translocations links the EPHA6, KLF13 and UBR3 Genes to Novel Phenotype.** J. Clin. Med. 2020, 9, 1245; DOI: 10.3390/jcm9051245

IF = 3,303; PK/MNiSW = 140 (Praca oryginalna)

5.1.5. Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych.

Od 2003 r. rozpoczęłam działalność naukową w Pracowni Cytogenetycznej działającej przy Klinice Hematologii i Onkologii Dziecięcej UM w Lublinie. Moja czynna praca polegała na diagnostyce pacjentów oraz opracowywaniu wyników cytogenetycznych oraz molekularnych do prac naukowych. Fluorescencyjna hybrydyzacja in situ (FISH) przy użyciu swoistych dla chromosomu sond DNA szybko stała się częścią klinicznej praktyki laboratoryjnej. Jednak jako stosunkowo nowy test kliniczny nie był on jeszcze wystandaryzowany, dlatego każde laboratorium musiało ustalić własne kryteria analizy.

W jednej z prac w tym celu oceniliśmy specyficzność dwukolorowej sondy translokacyjnej BCR/ABL1 poprzez ustalenie zakresu wyników dodatnich pod względem fuzji BCR/ABL1 w grupie zdrowych dawców szpiku. Odsetek wyników fałszywie dodatnich (FPR, false positive results), określony przez procent BCR/ABL1-pozytywnych stwierdzonych w próbkach zdrowych dawców, oszacowano na 2,3% (średnio 1–4%). Zatem wartość odcięcia dla fałszywie dodatnich jąder ustalono na 5%.

Kolejna praca skupia się na zespołach mielodysplastycznych (MDS, myelodysplastic disorders) jako zróżnicowanej i niejednorodnej grupie klonalnych i potencjalnie złośliwych zaburzeń szpiku kostnego (BM, bone marrow). Porównawcza hybrydyzacja genomowa (CGH, comparative genomic hybridization) to technika, która pozwala na wykrycie nierównowazenie chromosomowego. W naszym badaniu przedstawiliśmy 5 przypadków MDS i 4 przypadki ostrej białaczki szpikowej (AML, acute myelodysplastic leukemia). Dzięki analizie CGH o wysokiej rozdzielczości (HR – CGH) byliśmy w stanie wykryć zmiany liczby kopii DNA w 8 z 9 próbek. W 5/9 przypadkach dane HR-CGH były wysoce porównywalne z wynikami kariotypu oraz FISH. Dodatkowo w 3 próbkach HR-CGH ujawnił obecność zmian, które nie zostały wykryte przez konwencjonalną cytogenetykę: del(5p), del(5)(q33q34), del(9)(q21q31) i nullisomia X. Wysoka skuteczność, specyfika i czułość tej metody są zgodne z konwencjonalnymi technikami cytogenetyki i FISH.

W kolejnej pracy opisaliśmy grupę 89 dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną, u których wykonaliśmy diagnostykę za pomocą techniki CGH. Eksperymenty z CGH przeprowadzono zgodnie z instrukcją producenta z niewielkimi modyfikacjami. Każdą próbkę

zweryfikowano przy pomocy standardowej techniki GTG i FISH. Nie otrzymaliśmy wyniku z cytogenetyki klasycznej od 12 pacjentów (13,5%), a u 22 pacjentów (24,7%) stwierdzono prawidłowy kariotyp. Zmiany strukturalne i liczbowe stwierdzono w 55 przypadkach (61,8%), wykazując różne nieprawidłowości, w tym monosomie, trisomie, tetrasomie, izochromosomy i markery o nieznanym pochodzeniu. Jednak wszystkie próbki zostały pomyślnie przeanalizowane przez CGH. Wykazaliśmy, że HR CGH jest rzetelną i stosunkowo szybką jednostopniową metodą identyfikacji aberracji, których nie można wykryć za pomocą cytogenetyki klasycznej.

Kolejny artykuł opisuje przypadek niemowlęcia płci żeńskiej z powstałą de novo częściową trisomią długiego ramienia chromosomu 6 (6q24→qter). Stwierdzone u dziecka wady: małogłowie, spłaszczona potylica, szeroki rozstaw źrenic, skośne ustawienie szpar powiekowych do dołu, łukowate wygięcie do dołu wargi górnej z obniżeniem kącików ust, małożuchwie, szeroka pletwiasta szyja, szeroko rozstawione brodawki sutkowe, opóźnienie tempa wzrastania, odpowiadają cechom opisywanych w literaturze przypadków występowania rearanzacji z zaangażowaniem dystalnego fragmentu długiego ramienia chromosomu 6. W wykonanych badaniach obrazowych stwierdzono występowanie u probanta także wady serca. Fenotyp dziecka odpowiada zespołowi częściowej trisomii 6q2, co zostało potwierdzone badaniem cytogenetycznym i molekularnym.

Ostatnia publikacja jest wynikiem współpracy z Panem prof. dr. hab. n. med. Wojciechem Młynarskim. Prowadzone badania wykazały, że mapowanie SNP regionów 7p12.2 (*IKZF1*), 9p21 (*CDKN2A*), 10q21.2 (*ARID5B*) i 14q11.2 (*CEBPE*) oraz status nosicielstwa dla recesywnie dziedzicznego zespołu Nijmegen (NBS) mają wpływ na podwyższone ryzyko zachorowania na ostrą białaczkę limfoblastyczną. Aby zbadać te korelacje, przeanalizowano 398 przypadków dziecięcej ALL i 731 próbek kontrolnych z Polski. Stwierdzono statystycznie istotny związek między genotypem w 7p12.2 (*IKZF1*), 10q21.2 (*ARID5B*) a locus związanym z NBS, 8q21.3 (*NBN*) i ryzykiem ALL; iloraz szans (OR) wynosił odpowiednio 1,34 (P = 0,002), 1,33 (P = 0,003) i 1325,21 (P = 0,0028). Dane stanowią dowód na rolę wariantów polimorficznych w regionach 7p12.2 (*IKZF1*) i 10q21.2 (*ARID5B*) na podatność na zachorowanie ALL.

Przedstawiam publikacje dotyczące opracowywania wyników genetycznych u dzieci z chorobami nowotworowymi i wrodzonymi (prace powstały przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych):

1. Jerzy R. Kowalczyk, Anna Gaworczyk, Dorota Winnicka, **Monika Lejman**, Mariusz Babicz. Fluorescence in situ hybridization BCR/ABL Fusion signal rate in interphase nuclei of healthy volunteer donors: a test study for establishing false positive rate. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2003 vol. 142 s. 51-55

IF = 1,542; PK/MNiSW = 10 (Praca oryginalna)

2. Mariusz Babicz, Jerzy R. Kowalczyk, Dorota Winnicka, Anna Gaworczyk, **Monika Lejman**, Rafał Dmowski, Katarzyna Kaczanowska. The effectiveness of high-resolution-comperative genomic hybridization in detecting the most common chromosomal abnormalities in pediatric myelodysplastic syndromes. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2005 vol. 158 s. 49-54

IF = 1,640; PK/MNiSW = 15 (Praca oryginalna)

3. Ilona Krupa, Jerzy R. Kowalczyk, Anna Gaworczyk, Elżbieta Gajewska-Obel, Wanda Furmaga-Jabłońska, Mariusz Babicz, **Monika Lejman**, Dorota Winnicka, Marta Holweg, Borys Styka. Zespół wad wrodzonych u dziecka z trisomię 6q2. (A syndrome of congenital defects in an infant with 6q2 trisomy). *Pediatr. Pol.* 2007 t.82 s. 342-344

IF = 0,000; PK/MNiSW = 4 (Opis przypadku)

4. Jerzy R. Kowalczyk, Mariusz Babicz, Anna Gaworczyk, **Monika Lejman**, Dorota Winnicka, Borys Styka, Ilona Jaszczuk. Structural and numerical abnormalities resolved in one-step analysis: the most common chromosomal rearrangements detected by comperative genomic hybridization in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2010 vol. 200 s. 161-166

IF = 1,551; PK/MNiSW = 20 (Praca oryginalna)

5. Agata Pastorczak, Patryk Górniak, A. Sherborge, F. Hosking, Joanna Trelńska, **Monika Lejman**, Tomasz Szczepański, Maciej Borowiec, Wojciech Fendler, Jerzy R. Kowalczyk, R.S. Houlston, Wojciech Młynarski. **Role of 657delNBN mutation and 7p12.2 (IKZF1), 9p21 (CDKN2A), 10q21.2 (ARID5B) and 14q11.2 (CEBPE) variation and risk of childhood ALL in the Polish population.** *Leuk. Res.* 2011 vol.35 s.1534-1536.

IF = 2,923; PK/MNiSW = 27 (Praca oryginalna)

5.2. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych.

Aktywnie uczestniczę w konferencjach krajowych i międzynarodowych, głosząc wykłady na zaproszenie oraz prezentując naukowe doświadczenia w postaci plakatów, posterów lub prezentacji multimedialnych.

5.2.1 Prezentacje ustne i plakatowe na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych.

Referaty ustne, w których jestem współautorem z zakresu zagadnień diagnostyki genetycznej w onkologii i hematologii dziecięcej (po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych):

1. Joanna Zawitkowska, Katarzyna Drabko, Anna Szmydki-Baran, Agnieszka Zaucha-Prażmo, **Monika Lejman**, Krzysztof Czyżewski, Patrycja Zalas-Więcek, Olga Gryniwicz-Kwiatkowska, Aneta Czajńska-Deptuła, Elwira Kulicka, Katarzyna Semczuk, Łukasz Hutnik, Liliana Chelmecka-Wiktorczyk, Joanna Klepacka, Jowita Frączkiewicz, Małgorzata Salamonowicz, Renata Tomaszewska, Olga Zając-Spychała, Ninela Irga-Jaworska, Ewa Bień, Marcin Płonowski, Magdalena Bartnik, Tomasz Ociepa, Filip Pierlejewski, Mariola Woszczyk, Zuzanna Gamrot-Pyka, Zofia Małas, Agnieszka Urbanek-Dądela, Weronika Stolpa, Jakub Musiał, Jan Styczyński. Infekcje wirusowe u dzieci z ALL podczas chemioterapii: Raport Grupy ds. Zakażeń. XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Łódź, 12 - 14.09.2019. – konferencja krajowa.
2. Joanna Zawitkowska, Monika Lejman, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Katarzyna Drabko, Marcin Płonowski, Joanna Balsa, Michał Romiszewski, Agnieszka Mizia-Malarz, Andrzej Kołtan, Katarzyna Derwich, Grażyna Karolczyk, Tomasz Ociepa, Magdalena Ćwiklińska, Joanna Trelińska, Joanna Owoc-Lempach, Maciej Niedźwiecki, Aleksandra Kiermasz, Jerzy Kowalczyk. Toxicity profile during therapy of childhood acute lymphoblastic leukemia: A report from the Polish pediatric leukemia and lymphoma study group. Childhood Leukemia Early Adverse Reaction: CLEAR 2019. Copenhagen, 11 - 19.05.2019. – konferencja międzynarodowa.
3. Beata Kulik-Rechberger, **Monika Lejman**, Borys Styka. Polimorfizmy wybranych genów a stężenie 25(OH)D u dzieci po okresie letnim. (Polymorphisms of selected genes and 25(OH)D concentration in children after the summer period): VIII Zjazd - XXIV Symposium Polskiego Towarzystwa Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej. Lublin, 03-5.10.2019 – konferencja krajowa.
4. Joanna Madzio, Agata Pastorczak, Marcin Braun, Joanna Taha, Kamila Wypyszczak, Joanna Trelińska, **Monika Lejman**, Katarzyna Muszyńska Roslan, Katarzyna Derwich, Andrzej Kołtan, Łukasz Sędek, Bernarda Kazanowska, Nina Irga-Jaworowska, Wanda Badowska, Michał Matysiak, Jerzy Kowalczyk, Jan Styczyński, Tomasz Szczepański,

- Wojciech Młynarski. Rearanżacje genu PAX5 w ostrej białaczce limfoblastycznej z prekursorowych komórek B (BCP-ALL) u dzieci – nowy podtyp białaczki? IX Zjazd Polskiego Towarzystwa Onkologii I Hematologii Dziecięcej, Poznań, 10 - 12.05.2018. – konferencja krajowa.
5. Katarzyna Bąbol-Pokora, Kamila Wypyszcak, Maciej Borowiec, Beata Zalewska Szewczyk, Sylwia Kołtan, Ewa Bernatowska, Maja Klaudel-Dreszler, Katarzyna Drabko, **Monika Lejman**, Tomasz Klekawka, Marek Ussowicz, Krzysztof Kałwak, Wojciech Młynarski. Wykorzystanie technologii analiz genomowych NGS w diagnostyce ciężkich zaburzeń hematologicznych i immunologicznych. Polskiego Towarzystwa Onkologii I Hematologii Dziecięcej, Poznań, 10 - 12.05.2018. – konferencja krajowa.
 6. Małgorzata Dawidowska, Bronisława Szarzyńska-Zawadzka, Roman Jaksik, Monika Drobna, Łukasz Sędek, **Monika Lejman**, Jerzy R. Kowalczyk, L. Machowska, Tomasz Szczepański, Michał Witt. T-cell acute lymphoblastic leukemia from miRNA transcriptome perspective: in-sights into biology and heterogeneity. EHA-SWG Scientific Meeting: New Molecular Insight and Innovative Management Approaches for Acute Lymphoblastic Leukemia. Barcelona, 12-14.04.2018. – konferencja międzynarodowa
 7. Małgorzata Dawidowska, Bronisława Szarzyńska-Zawadzka, Monika Drobna, Maria Kosmalska, Roman Jaksik, **Monika Lejman**, Ł. Sędek, T. Szczepański, M. Witt. T-cell acute lymphoblastic leukemia from miRNA transcriptome perspective: in-sights into biology and prognostic potential of miRNA. IX Zjazd Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka, Bydgoszcz, 13-15.09.2018. – konferencja krajowa.
 8. Maria B. Tomaszek, Ilona Jaszczuk, **Monika Lejman**, Aleksandra Rybkowska, Aleksandra Sobiesiak, Violetta Opoka-Winiarska. XII Konferencja Naukowo-Szkoleniowa: Wyzwania w reumatologii dziecięcej. Kazimierz Dolny, 5-7.04.2018. – konferencja krajowa.
 9. Agnieszka Ługowska, Ilona Jaszczuk, Lars Schotawa, Thomas Dierks, Andreas Ohlenbusch, Dominique Koppenhöfer, Mariusz Babicz, **Monika Lejman**, Karthikeyan Radhakrishnan. Deficyt sulfatazowy (MSD) u dziecka z leukodystrofią i objawami „rybiej łuski” o charakterze przejściowym. XV Międzynarodowa Konferencja Chorób Rzadkich, „Choroby rzadkie – otwórz serce i umysł” Białobrzegi, 29.06-02.07.2017. – konferencja międzynarodowa.
 10. Małgorzata Dawidowska, Maria Kosmalska, Łukasz Sędek, A. Szczepankiewicz, M Twardoch, A. Sonsala, B. Szarzyńska-Zawadzka, K. Derwich, **M. Lejman**, K. Pawelec,

A. Obitko-Płudowska, K. Pawińska- Wąsikowska, K. Kwiecińska, A. Kołtan, A. Dyla, W Grzeszczak, Jerzy Kowalczyk, T. Szczepański, E. Ziętkiewicz, M. Witt. Germline polymorphisms associated with minimal residual disease (MRD) in pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL). V Polski Kongres Genetyki. Łódź, 19-22.09.2016. – konferencja krajowa.

Pełna lista międzynarodowych i krajowych doniesień zjazdowych została przedstawiona w załączniku nr 4: „Wykaz osiągnięć naukowych stanowiący znaczny wkład w rozwój dziedziny: nauki medyczne i nauki o zdrowiu”. Wśród konferencji, podczas których prezentowane były wyniki badań, których jestem autorem lub współautorem:

- European Human Genetics Conference, Virtual Conference, June 6-9, 2020,
- XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Łódź, 12-14.09.2019,
- 2nd European Society for Immunodeficiencies Focused Meeting. Brussels, 18-21.09.2019; CLEAR 2019, Kopenhaga, 9 - 11.05.2019,
- 18th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID 2018), Lisbon. 24-27.10.2018,
- IX Zjazd Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka, Bydgoszcz, 13-15.09.2018,
- European Human Genetics Conference, Milan, 16-19.06.2018,
- International Pediatric Conference: The faces of contemporary pediatric from clinical problems to public health. Rzeszów, 24-26.05.2018,
- IX Zjazd Polskiego Towarzystwa Onkologii I Hematologii Dziecięcej, Poznań, 10 - 12.05.2018,
- 11th Biennial Childhood Leukemia and Lymphoma Symposium, Helsinki, 21 - 22.05.2018; Proceedings of the 25th Pediatric Rheumatology European Society Congress. Lisbon, 5-8.09.2018,
- XII Konferencja Naukowo-Szkoleniowa: Wyzwania w reumatologii dziecięcej. Kazimierz Dolny, 5-7.04.2018,
- XV Międzynarodowa Konferencja Chorób Rzadkich, „Choroby rzadkie – otwórz serce i umysł” Białobrzegi,
- 9th Midsummer Meeting on Pediatric Hematology, Oncology and Stem Cell Transplantation. Karpacz, 9-11.06.2017; 29.06-02.07.2017,

- VIII Lviv-Lublin Conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Lublin, 18-20.09.2017,
- XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Warszawa, 21-23.09.2017,
- V Konferencja: Polska Pediatria – w poszukiwaniu dróg dalszego rozwoju. V Ogólnopolski Zjazd Pediatrycznego Forum Profilaktyki Chorób Cywilizacyjnych. Lublin, 4-5.03.2016,
- European Human Genetics Conference, Barcelona, 21-24.05.2016,
- VIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Katowice, 2 - 4.06.2016,
- XII Konferencja Naukowa Katedry i Zakładu Higieny: "Środowiskowe źródła zagrożeń zdrowotnych". Krynica Zdrój, 9-11.06.2016,
- 21st European Hematology Association Congress. Copenhagen, 9-12.06. 2016;
- V Polski Kongres Genetyki. Łódź, 19-22.09.2016,
- XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów. Szczecin, 23-26.09.2015,
- 10th European Cytogenetics Conference. Strasbourg, 4-7.07.2015,
- XXXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Pediatrycznego. Wrocław, 17-19.09.2015,
- Konferencja EVIDAS (European Vitamin D Association). Warszawa, 16-17.10.2015,
- 20th Congress of the European Hematology Association. Vienna, June 11-14, 2015,
- VII Zjazd Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Olsztyn, 28 - 31.05.2014,
- European Human Genetics Conference 2014. Milan, 31.05.-3.06.2014,
- 56th Annual Meeting of American Society of Hematology. San Francisco, 6-9.12.2014,
- 9th European Cytogenetics Conference. Dublin, 29.06-02.07.2013,
- 39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, London, 7 - 10.04.2013,
- European Human Genetics Conference 2013. Paris, 8-11.06.2013.

5.2.2 Wykłady na zaproszenie.

- Mikromacierze i FISH w aspekcie nowego protokołu leczenia dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną. XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Łódź, 12- 14.09.2019,

- Warsztaty: Interpretacja badań genetycznych. Akademia Edukacyjna Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. Białystok, 12-13.10.2018,
- Prezentacja osiągnięć i aktualnych badań Pracowni Diagnostyki Genetycznej. XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Warszawa, 21-23.09.2017.

5.2.3 Otrzymane wyróżnienia

- **Nagroda I stopnia** przyznana przez **Rektora Uniwersytetu Medycznego w Lublinie** w uznaniu **osiągnięć naukowych** w roku 2018,
- **Nagroda III stopnia** przyznana przez **Rektora Uniwersytetu Medycznego w Lublinie** w uznaniu **osiągnięć naukowych** w roku 2017,
- **Dyplom uznania Rektora UMCS** za bardzo dobre wyniki w nauce podczas studiów w latach 1995-96/1999-2000.

5.2.4 Członkostwo w towarzystwach naukowych

Jestem członkiem Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych (od 2003 r.), Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka (od 2010 r.) i w ramach PTGC jestem członkiem sekcji Cytogenetyki Hematoonkologicznej oraz sekcji Cytogenetyki Molekularnej; jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej (od 2012 r.) oraz The European Society for Paediatric Oncology (od 2012 r.) oraz Polskiego Towarzystwa Hematologii i Transfuzjologii (od 2019 r.).

5.2.5 Członkostwo w komitetach redakcyjnych

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:

- **BMC Cancer – Associate Editor**
- **Microbes and Immunology Research Journal – Editorial Board**
- **Annals Oncology & Cancer Case Reports - Editorial Board**

5.2.6 Recenzje prac naukowych

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:

1. **Case Report:** Achievement of cure following allogeneic HSCT performed with fludarabine busulfan- based conditioning in a patient with catastrophic cutaneous findings and diagnosed – Journal Archives of Case Reports (IF=0,000).
2. **Original Article:** Predictive value of early mixed donor chimerism for graft failure, disease relapse and disease remission in recipient of HLA matched hematopoietic stem cell transplant for nonmalignant hematological diseases – Journal Turkish Journal of Hematology (IF=0,650).
3. **Original Article:** Dysregulated Expression of MiR-19-b, MiR-25, MiR-17, WT-1, and CEBPA in Patients with Acute Myeloid Leukemia and Association with Development of Graft versus Host Disease after Hematopoietic Stem Cell Transplantation – Journal Turkish Journal of Hematology (IF=0,650).
4. **Original Article:** Rates and trends of childhood acute lymphoblastic leukaemia: an epidemiology study - Scientific Report (IF= 4,011).
5. **Original Article:** Treatment patterns and survival outcomes in advanced hypopharyngeal squamous cell carcinoma - World Journal of Surgical Oncology (IF=1,966).
6. **Original Article:** Determination of NUDT15 variants by targeted sequencing can identify patients with compound heterozygous in pediatric acute lymphoblastic leukemia - Scientific Report (IF= 4,011).
7. **Original Article:** Clinical features and outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia with low peripheral blood blast cell count at diagnosis. - Scientific Report (IF= 4,011).
8. **Original Article:** Outcome of progressive or relapsed adult T-cell lymphoblastic lymphoma: a retrospective study from China - Cancer Management and Research – (IF=2.886).
9. **Recenzja monografii:** Fakty i mity na temat przeszczepiania szpiku kostnego hematopoetycznych komórek krwiotwórczych. - Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL.
10. **Recenzja monografii:** E-learning opinia studentów uniwersytetów medycznych. – Environment, Earth and Ecology” – Wydawnictwo Młodzi Naukowcy.

5.2.7 Staże i szkolenia w ośrodkach naukowych

Od początku swojej pracy zawodowej odbywałam liczne szkolenia oraz uczestniczyłam w warsztatach przygotowujących mnie do pracy zawodowej i naukowej.

- Kurs Szkoleniowy na temat: New PCR technologies and optimization strategies- Warszawa, Grudzień 2000 r. – certyfikat – PAN,
- Kurs szkoleniowy: Najnowsze osiągnięcia w technikach biologii molekularnej Applied Biosystems i Polskie Towarzystwo Genetyczne, Warszawa, 21.03.2002 r.,
- Kurs szkoleniowy: Podstawy sekwencjonowania Applied Biosystems, Warszawa, 25.05.2002 r.,
- Konferencja Naukowo-Szkoleniowa: Skuteczna terapia raka płuca wyzwaniem XXI wieku - Lublin - 21.01.2011 r. – zaświadczenie – UM w Lublinie,
- Szkolenie z zakresu: Diagnostyka molekularna mikrodelecyjnych zespołów chorobowych z wykorzystaniem techniki MLPA przy pomocy narzędzi bioinformatycznych – analiza i walidacja wyników z wykorzystaniem specjalistycznego oprogramowania – 8-10.05.2014 r. – certyfikat – organizator Katedra Genetyki Klinicznej i Laboratoryjnej Centrum Kliniczno-Dydaktyczne UM w Łodzi,
- Nowoczesne metody analizy genomu w diagnostyce prenatalnej i postnatalnej” – Warszawa – 5.12.2014 r. – zaświadczenie,
- Szkolenie z przeprowadzenia analizy cytogenetycznej przy użyciu CytoScan HD jak i obsługi aparatu do mikromacierzy GCS 300DX firmy Affymetrix – 19-22.09.2016 r. – Biomedica Poland Sp. z o.o.,
- Warsztaty w ramach projektu Strategmed z obsługi PersonALL prowadzonych przez firmę Netology sp. z o.o. ze wsparciem zespołu prof. dr hab. n. med. Tomasza Szczepańskiego z Kliniki Hematologii i Onkologii Dziecięcej UM w Katowicach – 10-11.09.2018 r. Warszawa,
- Kurs Diagnostyka hematologiczna w 2019 roku organizowanym przez PTHiT 12-14.06.2019 r.,
- Kurs NGS szkolenia -warsztaty pt: „Doskonalenie Diagnostyki Białaczek w Polsce wg Klasyfikacji WHO 2016 oraz rekomendacji ELN 2017” – Aplikacja NGS w rutynowej diagnostyce nowotworów mieloidalnych: MDS, MPN/CML, AML. – 4.09.2019 r. Warszawski Uniwersytet Medyczny
- Aktywny udział w Ogólnopolskich Warsztatach Sekcji Cytogenetyki Hematoonkologicznej: V Warsztaty – Lublin – 2004 r. organizator bez certyfikatu; VI Warsztaty – Kraków – 2005 r. bez certyfikatu; IX Warsztaty – Wrocław – 2-3.06.2008 r. certyfikat; XI Warsztaty – Warszawa – 1-2.06.2010 r. certyfikat; XII Warsztaty –

Poznań – 2-3.06.2011 r. certyfikat; XV Warsztaty – Lublin – 23-24.06.2014 r. certyfikat, XIX Warsztaty – Łódź – 24-25.05.2018 r.

5.2.8 Międzynarodowa i krajowa współpraca naukowo-badawcza oraz diagnostyczna.

Współpraca pomiędzy naukowcami w kraju i za granicą jest podstawą prowadzenia badań naukowych w dziedzinie diagnostyki genetycznej. W obszarze hematologii, która jest tematem wiodącym moich zainteresowań, współpraca dotyczyła projektów badawczych „Program leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci ALL IC-BFM 2002”, „Protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u pacjentów poniżej 18 r.ż. w ośrodkach polskich ALL IC-BFM 2009” koordynowanych w Polsce przez prof. dr. hab. n. med. Jerzego Kowalczyka. W ramach tych obu projektów kontaktowałam się zarówno z klinicystami w celu weryfikacji otrzymanych wyników genetycznych wykonywanych dla pacjentów w ramach prowadzonych projektów, jak i diagnostami laboratoryjnymi wykonującymi powyższe badania. Następnie opracowałam zebrane wyniki, wprowadziłam do ogólnopolskiego rejestru oraz rejestrowałam wyniki genetyczne według międzynarodowej bazy MARVIN. To zaowocowało współpracą przy projekcie STRATEGMED: „Personalizacja leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci w Polsce”, w którym byłam odpowiedzialna za prowadzenie bazy danych klinicznych oraz wyników badań genetycznych prowadzonych w ośrodku Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, współpracę z innymi jednostkami organizacyjnymi UM Lublin, Co-leaderami i Liderem projektu w celu właściwego rozliczania działań oraz przekazywania informacji o etapach realizacji założeń merytorycznych w projekcie oraz organizację i udział w spotkaniach i telekonferencjach związanych z realizacją projektu polegających m.in. na spotkaniach w ramach zespołu, spotkaniach z przedstawicielami partnerów projektu, kontaktach poprzez sieć internetową. Aktywnie uczestniczyłam w spotkaniach organizowanych przez Lidera, które służyły wymianie doświadczeń i pracy przy wprowadzaniu nowego protokołu terapeutycznego AEIOP-BFM ALL 2017 (International collaborative treatment protocol for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia). Efektem tej współpracy są publikacje przedstawione w cyklu prac oraz stanowiące całość mojego dorobku naukowego. Obecnie pełnię funkcję koordynatora wykonywanych badań cytogenetycznych (kariotyp somatyczny i FISH) dla całej Polski w ramach nowego protokołu terapeutycznego AEIOP-BFM ALL 2017.

Obecnie jestem koordynatorem wykonywanych badań genetycznych w projekcie realizowanym w ramach konkursu Agencji Badań Medycznych nr. ABM/1/2019 Childhood

ALL in Poland (cALL-POL) project: national harmonization of diagnostics and treatment of acute lymphoblastic leukemia in children – krajowa harmonizacja diagnostyki i leczenia ostrej białaczki u dzieci (czas trwania 01.07.2020–31.12.2025), którego celem jest ułatwienie dostępu do zaawansowanych terapii dla polskich dzieci z ALL oraz identyfikacja opcji leczniczych przy użyciu zaawansowanej diagnostyki molekularnej całego genomu dla pacjentów, którzy nie zareagowali na standardową strategię terapeutyczną. cALL-POL wprowadzi nowoczesne metody diagnostyczne do stratyfikacji ryzyka i do zastosowywania terapii ukierunkowanych molekularnie. Pozwoli to na poprawę wyników leczenia dzieci chorujących na ALL w Polsce i na świecie.

Problematyka właściwej diagnostyki genetycznej u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną fascynowała mnie od początku mojej pracy naukowej i jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznym rozpoczęłam współpracę z prof. dr. n. med. Wojciechem Młynarskim, dr n. med. Agatą Pastorcak, dr. n. med. Marcinem Braunem oraz dr n. med. Joanną Tahą z Kliniki Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii UM w Łodzi, co zaowocowało powstaniem wspólnych publikacji stanowiących znaczną część mojego dorobku naukowego. Raportowałam dane do projektu prowadzonego przez prof. dr hab. n. med. Wojciecha Młynarskiego dla The Institute of Cancer Research pod tytułem “Polymorphism analysis using the KASPar genotyping system, with the aim of identifying constitutional allelic variants that determine risk of developing acute lymphoblastic leukaemia (ALL)”. Współpracowałam z ośrodkiem łódzkim w ramach projektu finansowanego z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju Lider-edycja V na lata 2015-2017: „Wieloczynnikowe molekularne profilowanie ostrej białaczki limfoblastycznej BCR-ABL1-like” oraz przy międzynarodowym projekcie: „Acute Lymphoblastic Leukaemia Study Consortium (ALLSC)” oraz projekcie „Wpływu zmian polimorficznych w genie Icaros na wystąpienie i przebieg Ostrej Białaczki Limfoblastycznej u dzieci”. Ostatnio uczestniczyłam przy opracowywaniu danych we wspólnym międzynarodowym projekcie – jego efektem jest wspólna praca „The natural history of cancer in Nijmegen breakage syndrome: defining the interference of hematopoietic stem cell transplantation”, która jest w tej chwili w czasie recenzji.

Uczestniczyłam w kilku projektach naukowych prowadzonych przez prof. dr. n. med. Michała Witta oraz dr n. med. Małgorzatę Dawidowską z Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk Zakładu Genetyki Molekularnej i Klinicznej w Poznaniu, co przyczyniło się do powstania wspólnych publikacji naukowych oraz licznych doniesień na konferencjach zjazdowych. W większości tych projektów byłam współwykonawcą: Zaawansowane metody molekularne w hematologii; Opracowanie i wdrożenie standardów

badania choroby resztkowej, chimeryzmu poprzyszczepowego i translokacji markerowych (Grant Zamawiany); Polimorfizm genetyczny związany z odpowiedzią na leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci; Farmakogenetyka minimalnej choroby resztkowej; Wieloparametryczna analiza genetyczna, immunologiczna i molekularna ostrej białaczki limfoblastycznej z komórek prekursorowych limfocytów T (T-ALL) - identyfikacja czynników prognostycznych i poprawa monitorowania efektów leczenia.

W ostatnim czasie nawiązałam kontakt z prof. dr. n. med. Oscarem Haasem oraz dr Karin Nebral z Children's Cancer Research Institute w Wiedniu, którzy analizują pacjentów z hiperdiploidalną ostrą białaczką limfoblastyczną i utratą heterozygotyczności wskazującą na istnienie klonu hipodiploidalnego. Przesyłam do konsultacji analizy mikromacierzowe takich pacjentów oraz weryfikację cytogenetyczną, a także raportuję obecny stan kliniczny pacjentów. Dzięki współpracy będzie możliwe opracowanie wytycznych terapeutycznych oraz poprawa diagnostyki dla tych chorych. Takie kryterium nie jest ujęte w obecnym protokole terapeutycznym.

W tym roku rozpoczęłam międzynarodową współpracę jako reprezentant komitetu ALL PPLSG przy projekcie „An International Study on Pediatric *PICALM-MLLT10* positive Acute Leukemias” pod kierownictwem profesora Oussama Abła z University of Toronto. W projekcie tym raportuję pacjentów z rzadką translokacją t(10;11)(p12-13;q14-21) występującą u dzieci z T-ALL.

Obecnie współpracuję z dr. n. med. Maciejem Niedźwieckim z Katedry i Kliniki Pediatrii, Hematologii i Onkologii z Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku nad projektem „Znaczenie wybranych parametrów genetycznych w diagnostyce i terapii ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci”, co przyczyni się do powstania kolejnych prac dotyczących tematyki diagnostyki genetycznej u dzieci.

Chciałam zaznaczyć, że jestem kierownikiem laboratorium realizującego zadanie „Program kontroli jakości w diagnostyce ostrej białaczki u dzieci” w ramach Narodowego Programu Zwalczania Chorób Nowotworowych. W zakresie prowadzenia centralnej weryfikacji badań cytogenetycznej koordynuję weryfikacje ponad 200 badań rocznie z kariotypu somatycznego oraz badań FISH. W zakresie prowadzenia diagnostyki macierzy całogenomowych w diagnostyce podtypów białaczek w ALL koordynuję badania oraz autoryzuję wyniki, dodatkowo przy problemach diagnostycznych wykonywanych przy pomocy klasycznych metod cytogenetycznych opracowuję kariotyp molekularny.

5.2.9 Pozostałe projekty badawcze, w których uczestniczyłam lub nadal uczestniczę

- Projekt współfinansowany przez Agencje Badań Medycznych CALL-POL Childhood ALL in Poland (CALL-POL) project: „A national harmonization of diagnostics and treatment of acute lymphoblastic leukemia in children” – krajowa harmonizacja diagnostyki i leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci (2020–2025),
- Projekt współfinansowany przez NCBR STRATEGMED3/304586/5/NCBR/2017, realizowany w ramach Strategicznego Programu Badań Naukowych i Prac Rozwojowych „PROFILAKTYKA I LECZENIE CHOROÓB CYWILIZACYJNYCH” - STRATEGMED III – Asystent Work Package 7 Co-leADERA (2017–2020),
- Grant Badawczy NN407531438: „Wieloparametryczna analiza genetyczna, immunologiczna i molekularna ostrej białaczki limfoblastycznej z komórek prekursorowych limfocytów T (T-ALL) - identyfikacja czynników prognostycznych i poprawa monitorowania efektów leczenia” – wykonawca,
- Grant Badawczy NN407311839: „Polimorfizm genetyczny związany z odpowiedzią na leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci. Farmakogenetyka minimalnej choroby resztkowej” (2010-2014) – wykonawca,
- Współpraca w ramach projektu finansowanego z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju "Lider-edycja V" na lata 2015-2017: Wieloczynnikowe molekularne profilowanie ostrej białaczki limfoblastycznej BCR-ABL1-like współpraca z ośrodkiem w Łodzi,
- Grant Badawczy NN-407595440: „Optymalizacja wybranych metod badawczych w ocenie chimeryzmu komórkowego po przeszczepie komórek krwiotwórczych u dzieci” – główny wykonawca,
- Grant Badawczy KBN 3PO5EO8725: „Monitorowanie choroby resztkowej w ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci przy pomocy reakcji łańcuchowej polimerazy i cytometrii przepływowej” (2003–2006) – wykonawca,
- Grant Badawczy PBZ-KBN-120/P05/2004 (zamawiany) „Zaawansowane metody molekularne w hematologii. Opracowanie i wdrożenie standardów badań choroby resztkowej, chimeryzmu poprzyszczepowego i translokacji markerowych” (2004–2009) – wykonawca,
- Grant Badawczy KBN PO5E05730: „Zastosowanie techniki wysokorozdzielczej porównawczej hybrydyzacji genomowej (CGH) w diagnostyce chorób rozrostowych krwi u dzieci” – wykonawca,

- Międzynarodowy projekt: Acute Lymphoblastic Leukaemia Study Consortium (ALLSC) oraz projekt „Wpływu zmian polimorficznych w genie Icaros na wystąpienie i przebieg Ostrej Białaczki Limfoblastycznej u dzieci” – rozpoczęto w 2009 r., współpraca wielośrodkowa,
- „Molekularna analiza rearanżacji genetycznych w T-komórkowej ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci”. Działalność statutowa UM w Lublinie, czas trwania zadania badawczego 2019–2021,
- „Badanie chimeryzmu związanego z przeszczepianiem krwiotwórczych komórek macierzystych w subpopulacjach komórek krwi obwodowej” Działalność statutowa UM w Lublinie, czas trwania zadania badawczego 2018–2020,
- „Analiza specyficznych rearanżacji genetycznych i ich znaczenie kliniczne w ostrych białaczkach u dzieci”. Działalność statutowa UM w Lublinie, czas trwania zadania badawczego 2016–2018,
- „Zastosowanie immunoselekcji pozytywnej i negatywnej do optymalizacji procedury transplantacji komórek krwiotwórczych i immunoterapii potransplantacyjnej” Działalność statutowa UM w Lublinie, czas trwania zadania badawczego 2015–2017,
- „Optymalizacja postępowania diagnostyczno-leczniczego w nowotworach układu krwiotwórczego u dzieci. Działalność statutowa UM w Lublinie, czas trwania zadania badawczego 2013–2015,
- „Wskaźniki metabolizmu kostnego oraz czynniki wpływające na metabolizm kostny u dziewcząt i chłopców w wieku przedpokwitaniowym i pokwitaniowym. Wpływ wybranych polimorfizmów genów na stężenie 25(OH)D w surowicy”. Działalność statutowa UM w Lublinie, czas trwania zadania badawczego 2013–2015,
- „Nowe metody diagnostyczne i terapeutyczne w białaczkach u dzieci”. Działalność statutowa UM w Lublinie, czas trwania zadania badawczego 2010–2012.

6. Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne oraz popularyzujące naukę

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne.

Od początku mojej działalności w Uniwersyteckim Szpitalu Dziecięcym (dawna nazwa Dziecięcy Szpital Kliniczny) pomagałam w prowadzeniu zajęć ze studentami, przybliżając im specyfikę pracy w laboratorium genetycznym. Prowadziłam wykład dla osób specjalizujących się z zakresu psychologii klinicznej w ramach realizacji programu specjalizacyjnego akredytowanego przez Zakład Psychologii Klinicznej UM w Lublinie. Po zatrudnieniu na

Uniwersytecie Medycznym w Pracowni Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii prowadziłam ćwiczenia z bloku hematologicznego w ramach przedmiotu diagnostyka laboratoryjna dla studentów III roku Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Anglojęzycznym. Prowadziłam ćwiczenia z przedmiotu hematologia laboratoryjna dla IV analityki medycznej Wydziału Farmaceutycznego. Obecnie prowadzę seminaria, wykłady, zajęcia fakultatywne z przedmiotów: pediatria, hematologia i onkologia dziecięca dla IV, V, VI roku Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Anglojęzycznym oraz zajęcia, seminaria i wykłady w języku angielskim dla studentów grup europejskich, tajwańskich, norweskich i amerykańskich. Moje zajęcia z zakresu diagnostyki genetycznej zaburzeń wrodzonych i nabytych dodatkowo wzbogacają wiedzę studentów. Swoje prezentacje przygotowuję w oparciu o najnowszą światową literaturę. Przygotowuję i prowadzę zajęcia dydaktyczne: metodologia badań diagnostyczno-laboratoryjnych w zakresie genetyki dla kierunku biomedycyna II st. zakończone zaliczeniem praktycznym oraz prowadzę seminaria i wykłady dla kierunku biomedycyna II stopnia Wydziału Lekarskiego.

Byłam opiekunem studentów w ramach prowadzonych praktyk podyplomowych w naszej pracowni w latach 2017–2019. Opiekuję się studentami odbywającymi praktyki wakacyjne w pracowni. Pełniłam funkcję członka **Komitetu Naukowego** na konferencji naukowej: Interdyscyplinarnej Konferencji Naukowo-Szkoleniowej „Wyzwania współczesnej hematologii i onkologii” (Lublin 2018). Obecnie pełnię funkcję członka **Komitetu Naukowego** na konferencji naukowej: „Wejrzenie w Nowotworzenie” organizowanej przez Uniwersytet Medyczny w Lublinie, która odbędzie się w tym roku w wersji wirtualnej.

Opiekowałam się merytorycznie studentami działającymi w Studenckim Kole Naukowym przy Klinice Hematologii, Onkologii i Transplantologii. Obecnie jestem opiekunem aktywnie działającego Studenckiego Koła Naukowego przy Pracowni Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii UM w Lublinie. Ponadto w ramach koła działają studenci w samej pracowni, opracowując nowe tematy badawcze do swoich projektów i publikacji.

Byłam **promotorem dwóch prac magisterskich** zakończonych pozytywnymi wynikami: studentki Lidii Ataman („Ocena statusu IKZF1plus u dzieci z B ALL”) oraz studentki Magdy Rocznik („Analiza rearanżacji genowych w nowym podtypie (B-other) białaczki BCP ALL”) Wydziału Lekarskiego, kierunek biomedycyna II stopnia (2019/2020). Obecnie jestem promotorem kolejnych dwóch prac magisterskich: studenta Michała Fracza („Ocena delekcji w fuzyjnych genach jako potencjalny cel terapeutyczny w BCP ostrej białaczce limfoblastycznej u dzieci z wykorzystaniem mikromacierzy CytoScan HD”) oraz

studenta Karola Kowalaka („Kariotyp hiperdiploidalny w ostrej białaczce limfoblastycznej”), kierunek biomedycyna II stopień (2020/2021).

Jestem także opiekunem naukowym 11 prac prezentowanych na konferencjach studenckich i sympozjach w ramach studenckiego koła naukowego. Niektóre z tych prac zostały nagrodzone.

Prace, które zostały nagrodzone na konferencjach:

1. Żaneta Rzęsa, **Monika Lejman**, Anna Skowronek, Katarzyna Drabko. Oznaczenie chimeryzmu poprzetoczeniowego u pacjenta z Zespołem Di George’a. Interdyscyplinarna Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Wyzwania współczesnej hematologii i onkologii”. Lublin, 17 listopada 2018. Red. Karolina Widłak, Paulina Stefaniuk. Abstr s. 52-53, Lublin 2018 – **II miejsce prezentacja ustna**,
2. Martyna Stefaniak, Marta Lato, Monika Włodarczyk, **Monika Lejman**. Pacjentka z zespołem mikrodelecji 16p11.2-opis przypadku. Konferencja Szkoleniowo- Naukowa NOMAD Medical and Diagnostic Procedures. 6-7.03.2020 r. – **III miejsce prezentacja ustna**,
3. Anna Skowronek, **Monika Lejman**, Żaneta Rzęsa, Katarzyna Drabko. Chimeryzm komórkowy po allo-HSCT u pacjenta z zespołem SCID. Interdyscyplinarna Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Wyzwania współczesnej hematologii i onkologii”. Lublin, 17 listopada 2018. Red. Karolina Widłak, Paulina Stefaniuk. Abstr s. 13-14 Lublin 2018 – **I miejsce prezentacja ustna**,
4. A. Kowalska, B. Pronobis-Szczylik, **M. Lejman**, B. Styka, J. Zawitkowska, J. R. Kowalczyk. Pacjent z delecją IKZF1z BCP-ALL - implikacje dla rokowania pacjenta. VIII Ogólnopolska Konferencja Studencka: Wejrzenie w nowotworzenie. Lublin 17.05.2019. Streszczenie. – **III miejsce prezentacja plakatowa**,
5. M. Włodarczyk, B. Styka, J. Zawitkowska, **M. Lejman**, J. R. Kowalczyk. Zastosowanie mikromacierzy i MLPA drogą do integracji diagnostyki i personalizacji leczenia - opis przypadku pacjenta z ostrą białaczką limfoblastyczną B-komórkową Ph-like. VIII Ogólnopolska Konferencja Studencka. Wejrzenie w nowotworzenie. Lublin 17.05.2019. Streszczenie. – **II miejsce prezentacja ustna**,
6. Aleksandra Mroczkowska, Magdalena Nocoń, Magdalena Nieśpiałowska, **Monika Lejman**. VI Interdyscyplinarne Seminarium Naukowe „Wejrzenie w nowotworzenie” Lublin, 12.02.2017 – **wyróżnienie prezentacja ustna**.

Pozostałe prace studenckie:

1. Monika Włodarczyk, Dorota Winnicka, Aleksandra Mroczkowska, **Monika Lejman**. Comprehensive changes in karyotype of the child with B-cell Ph⁺ acute lymphoblastic leukemia -case report. 5th International Conference of Cell Biology. Kraków, 10-12.05.2019. Abstr. Ed Aleksandra Śmieszek s. 204-205. Kraków 2019 – prezentacja ustna,
2. K. Masłowska, M. Neścior, **M. Lejman**, J. Zawitkowska. Infiltration of the optic nerve in 7-years child with relapse of acute lymphoblastic leukaemia - case report. 21st Century Medicine: International Medical Congress for Students and Young Doctors. Lublin 6.04.2019. Streszczenie, s. 164 – **prezentacja ustna**
3. Kaja Skorzyńska, **Monika Lejman**. Wykorzystanie techniki MLPA w diagnostyce genetycznej ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci. VIII Ogólnopolska Konferencja Studencka. Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Wyzwania współczesnej hematologii i onkologii”. Lublin, 17 listopada 2018. Red. Karolina Widłak, Paulina Stefaniuk. Abstr s.87-88. – **prezentacja ustna**
4. Aleksandra Filipiuk, Kozakiewicz Agata, Kośmider Kamil, **Monika Lejman**, Joanna Zawitkowska. Difficulties in treatment of lymphoid malignancies in children with Nijmegen-breakage syndrome: report of four cases. Pediatric and Neonatology Session at 6th Lublin International Medical Congress 28-30.11.2019. – **prezentacja ustna**
5. Mateusz Komisarczuk, Weronika Tuszyńska, Daria Pągowska, **Monika Lejman**. Diagnostyka B-ALL wyzwaniem współczesnej hematoonkologii. NOMAD Medical and Diagnostic Procedures. 6-7.03.2020 r. – **prezentacja plakatowa**

6.2. Kształcenie podyplomowe

Jestem także opiekunem naukowym w charakterze **promotora pomocniczego** doktorantów (lek. Anna Mroczek), tytuł rozprawy doktorskiej: „Badanie metylacji genów CDKN2A/2B w ostrej białaczce limfoblastycznej T-komórkowej u dzieci z wykorzystaniem metylacyjnego MLPA” (2019–2022) oraz (lek. Iwo Mysiak), tytuł rozprawy doktorskiej: „Badanie niezrównoważenia genomu u dzieci w ostrej białaczce limfoblastycznej B-komórkowej (B-ALL) z wykorzystaniem metody mikromacierzy” (2019–2022).

6.3. Działalność zawodowa i organizacyjna.

Po skończeniu studiów magisterskich na kierunku biotechnologia rozpoczęłam pracę w Pracowni Cytogenetycznej (obecnie Dział Diagnostyki Genetycznej) na stanowisku młodszy asystent. W roku 2012 otrzymałam awans na stanowisko starszego asystenta. Swój rozwój kontynuowałam, kolejno obejmując stanowiska asystenta badawczo-dydaktycznego Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (2017), a następnie funkcję kierownika Działu Diagnostyki Genetycznej obejmującego Pracownię Cytogenetyczną i Pracownię Genetyki Molekularnej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Lublinie (2018). Będąc na stanowisku kierowniczym, jako priorytet postawiłam sobie rozwój technik genetycznych, a przez to zbudowanie autorytetu laboratorium w Polsce i za granicą. Rozszerzyłam panel wykonywanych badań zarówno o techniki cytogenetyczne, jak i molekularne. Zwiększyłam znacznie zakres wykonywanych badań FISH u dzieci z ALL leczonych według nowego protokołu terapeutycznego. Nasze laboratorium jako pierwsze posiadało zwalidowane sondy do wykonywania rozszerzonych badań u pacjentów z wysoką chorobą resztkową do ewentualnych terapii celowanych. Rozszerzyłam panel markerów informatywnych stosowanych przy oznaczaniu chimeryzmu komórkowego po transplantacji allogenicznych komórek krwiotwórczych u dzieci. Wprowadziłam następujące techniki: oznaczania mikrochimeryzmu matczyno- płodowego, oznaczania chimeryzmu po przeszczepieniu na subpopulacjach komórkowych, badania kariotypu molekularnego z wykorzystaniem mikromacierzy 750K (analiza niezrównoważenia genomu u pacjentów w wrodzonymi chorobami genetycznymi), technikę metylacyjnego MS-MLPA przy diagnostyce takich zespołów genetycznych jak Prader Willi czy Angelmann. Jako jeden z dwóch ośrodków pod moim kierownictwem wykonujemy badania oznaczania statusu grupy *IKZF1^{plus}* u dzieci z BCP-ALL dla całej Polski. Poszerzenie spektrum analiz wykonywanych w naszym laboratorium zaowocowało zakontraktowaniem badań dla 4 nowych ośrodków hematoonkologii dziecięcej (Zabrze, Łódź, Kielce oraz Olsztyn) oraz podpisaniem umów ze szpitalami z województwa lubelskiego na badania genetyczne dla dzieci z wadami wrodzonymi. Powyższe działania pozwoliły na zatrudnienie dwóch nowych osób na stanowiska diagnostów laboratoryjnych. W planie rozwoju na najbliższe lata mam dołączenie do grupy naukowców naszego Uniwersytetu w celu stworzenia konsorcjum genetycznego pracującego w oparciu wyniki badań z NGS i podjęcie odpowiedzialności za część diagnostyki genetycznej dla dzieci z chorobami hematologicznymi. Te działania spowodują dalszy naukowy rozwój laboratorium. Chciałam zaznaczyć, że prowadzone przeze mnie laboratorium posiada certyfikaty jakości Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka oraz

Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. Stale przystępujemy do krajowych i europejskich testów jakości w danej technice.

Od 2006 r. Pracownia Cytogenetyczna, a obecnie Dział Diagnostyki Genetycznej jest ośrodkiem realizującego zadanie Programu kontroli jakości w diagnostyce ostrej białaczki u dzieci w ramach Narodowego Programu Zwalczania Chorób Nowotworowych. W zakresie prowadzenia centralnej weryfikacji badań cytogenetycznych koordynuję weryfikacje ponad 200 badań rocznie z kariotypu somatycznego oraz badań FISH pacjentów z rozpoznaniem ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL), leczonych w 16 ośrodkach Hematologii i Onkologii Dziecięcej w Polsce. Jestem koordynatorem tego zadania od strony diagnostycznej. W ramach realizacji programu są organizowane ogólnokrajowe sesje weryfikacyjne, w czasie których poddajemy analizie wytypowane wcześniej wyniki badań cytogenetycznych. Jestem odpowiedzialna za organizację takich sesji weryfikacyjnych, na których spotykają się diagnosty laboratoryjni z całej Polski opracowujący wyniki genetyczne dla dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną oraz klinicyści z ośrodków hematoonkologii dziecięcej. Od października 2018 r. realizujemy też drugie zadanie prowadzenia diagnostyki macierzy całogenomowych w diagnostyce podtypów białaczek w ALL, w którym koordynuję wykonywane badania oraz autoryzuję wyniki, dodatkowo przy problemach diagnostycznych wykonywanych przy pomocy klasycznych metod cytogenetycznych opracowuję kariotyp molekularny dla pacjentów z ALL.

Od października 2018 r. obowiązuje nowy protokół leczenia dzieci z ALL. Obecnie dzieci są diagnozowane i leczone zgodnie z międzynarodowym projektem badawczym AEIOP-BFM ALL 2017 (International collaborative treatment protocol for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia) we wszystkich pediatrycznych ośrodkach hematoonkologicznych w Polsce. W naszym ośrodku jestem odpowiedzialna za raportowanie wyników genetycznych do ogólnopolskiej bazy danych. Ponadto z upoważnienia koordynatora nowego protokołu leczenia prof. dr. n. med. Tomasza Szczepańskiego zajmuję się koordynacją prawidłowego raportowania wyników genetycznych przez klinicystów w całej Polsce. Jestem odpowiedzialna za archiwizację wszystkich wyników genetycznych, ich prawidłową interpretację oraz pomoc przy kwalifikowaniu pacjenta do grupy ryzyka ze względu na wynik genetyczny. Aktywnie uczestniczę w ogólnokrajowych zebraniach koordynujących nowy protokół leczenia.

Dodatkowo brałam udział na indywidualne zaproszenie w międzynarodowym spotkaniu naukowo-szkoleniowym: 1st Annual Meeting of the European Society for Paediatric Oncology, które odbyło w dniach od 20 do 24 maja 2019 r. w Pradze. W czasie konferencji brałam udział spotkaniu na zaproszenie grupy zajmującej się analizą i oceną nowego podtypu

B-ALL ze statusem *IKZFI^{plus}*, co umożliwiło mi ciekawą wymianę doświadczeń z naukowcami z ośrodków zagranicznych.

W latach 2015/2016 dwukrotnie zasiadałam w komisji ekspertów do spraw zakupu specjalistycznych aparatów do diagnostyki genetycznej dla dzieci z chorobami nowotworowymi w ramach akcji organizowanej przez Fundację Wielkiej Orkiestry Świątecznej Pomocy.

W ramach pracy zawodowej w Uniwersyteckim Szpitalu Dziecięcym w Lublinie pracuję w komisji do spraw Bezpieczeństwa Higieny Pracy jako przedstawiciel pracowników niezrzeszonych w żadnych związkach zawodowych.

6.4. Popularyzowanie nauki w zakresie onkologii i hematologii dziecięcej.

Aktywnie uczestniczę w rozpowszechnianiu wiedzy na temat genetyki oraz diagnostyki genetycznej w zaburzeniach wrodzonych i nowotworach dziecięcych w trakcie spotkań z młodzieżą za szkół ponadgimnazjalnych. Co roku biorę udział w Lubelskim Festiwalu Nauki (LFN) organizowanym przez uczelnie wyższe w Lublinie, gdzie prezentuję swoje projekty naukowe przybliżające ciekawe tematy genetyczne nieopisywane w podręcznikach szkolnych czy akademickich. Ponadto zaangażowałam się we współpracę z portalem onkologia-dziecieca.pl, na którym zamieszczam artykuły edukacyjne dla lekarzy i diagnostów. Utworzyłam i systematycznie aktualizuję swój profil na Research Gate, dzieląc się w ten sposób osiągnięciami naukowymi.

7. Informacje dotyczące kariery zawodowej inne niż w punkcie 1-6:

7.1. Kursy i szkolenia poza wymaganymi programem specjalizacji diagnostów:

- ukończyłam także szkolenia w ramach projektu: „M-EDukator - program ustawicznego rozwoju kompetencji kadry dydaktycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie” w roku 2019: „Tworzenie kursów e-learningowych na platformie moodle”; „Korzystanie ze specjalistycznych baz danych z uwzględnieniem specyfiki realizowanych przedmiotów”; „Elektroniczne źródła informacji medycznej wspierające dydaktykę”; „Bibliometryczna ocena dorobku naukowego w praktyce”, „Nauczanie narracji w medycynie”;
- Kurs „Diagnostyka Hematologiczna” - 12.09.-14.09.2019 r. – Łódź – organizator PTHiT – certyfikat

- Kurs NGS szkolenia – warsztaty – Doskonalenie diagnostyki białaczek w Polsce wg kwalifikacji WHO 2016 oraz rekomendacje ELN 2017. Aplikacja NGS w rutynowej diagnostyce nowotworów mieloidalnych: MDS, MPN/CML, AML – Szkolenie moduł ION ILLUMINA – 4.09.2019 r. – Warszawa – organizator PTHiT – certyfikat;
- udział w seminarium „Fundamentals and ergonomics of pipetting” zorganizowane przez Eppendorf Poland Sp.zo.o. – 15.05.2019 r. – certyfikat;
- Warsztaty w ramach projektu Strategmed z obsługi PersonALL prowadzonych przez firmę Netology sp. z o.o. ze wsparciem zespołu prof. dr. hab. n. med. Tomasza Szczepańskiego z Kliniki Hematologii i Onkologii Dziecięcej UM w Katowicach – 10-11.09.2018 r. Warszawa;
- udział w szkoleniu merytorycznym dotyczącym wykorzystania aparatu Quant Studio3/5; „Introduction to High Resolution Melt training course” zorganizowane przez ThermoFisher Scientific – 14.11.2017 r. – certyfikat;
- udział w seminarium „Zastosowanie technik PCR w hodowlach komórkowych” zorganizowane przez Eppendorf Poland Sp.zo.o. – 12.10.2016 r. – certyfikat;
- Szkolenie z przeprowadzenia analizy cytogenetycznej przy użyciu CytoScan HD jak i obsługi aparatu do mikromacierzy GCS 300DX firmy Affymetrix – 19-22.09.2016 r. – Biomedica Poland Sp. z o.o.;
- Szkolenie z zakresu: Diagnostyka molekularna mikrodelecyjnych zespołów chorobowych z wykorzystaniem techniki MLPA przy pomocy narzędzi bioinformatycznych – analiza i walidacja wyników z wykorzystaniem specjalistycznego oprogramowania – 8-10.05.2014 r. – certyfikat – organizator Katedra Genetyki Klinicznej i Laboratoryjnej Centrum Kliniczno-Dydaktyczne UM w Łodzi;
- ukończyłam 120-godzinny, specjalistyczny kurs medycznego języka angielskiego dla wykładowców grup anglojęzycznych organizowany przez UM w Lublinie w 2013 r.;
- ukończyłam 120-godzinny, specjalistyczny kurs medycznego języka angielskiego dla wykładowców grup anglojęzycznych organizowany przez UM w Lublinie w 2011 r.;
- regularnie uczestniczę w warsztatach organizowanych w ramach Akademii Edukacji Polskiego Towarzystwa Onkologii Hematologii i Dziecięcej.

Lublin, 23.07.2020 r.

Małgorzata Sejman