

# **AUTOREFERAT**

**Dr n. med. Iwona Kwiecień**

**Warszawa 2023**

## 1. Dane personalne

Imię i nazwisko: dr n. med. Iwona Kwiecień (nazwisko panieńskie Osińska)

Zajmowane stanowisko: adiunkt

Adres służbowy: Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Pracownia Hematologii i Cytometrii Przepływowej, Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa

Numer ORCID (Open Researcher and Contributor ID): 0000-0003-2266-971X

ResearchGate: <https://www.researchgate.net/profile/Iwona-Kwiecien-2>

Web of Science: <https://www.webofscience.com/wos/author/record/HPE-4159-2023>

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

- 2012 Dyplom diagnosty laboratoryjnego (z wyróżnieniem)  
Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
- 2017 Dyplom i stopień doktora nauk medycznych  
I Wydział Lekarski. Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Tytuł rozprawy doktorskiej:  
„Badanie wybranych elementów regulacji odpowiedzi odpornościowej w raku płuca”  
Promotor: prof. hab. n. med. Joanna Domagała-Kulawik  
Recenzenci: dr hab. Dariusz Kowalski oraz dr hab. Wojciech Naumnik  
(Potwierdzenie Załącznik nr 2 do *Wniosek przewodni*)
- 2022 Dyplom specjalisty laboratoryjnej hematologii medycznej  
Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

## 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Rok/Lata	Stanowisko. Miejsce zatrudnienia w jednostkach naukowych
---- <i>Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:</i>	
➤ 2007-2012	<i>Student.</i> Studia magisterskie, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
➤ 2012-2016	<i>Student.</i> Stacjonarne studia doktoranckie, Warszawski Uniwersytet Medyczny, I Wydział Lekarski
---- <i>Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:</i>	
➤ 2016-2017	<i>Młodszy asystent.</i> Katedra Patomorfologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Zakład Patomorfologii

- 2017-2021 *Specjalista.* Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Pracownia Hematologii i Cytometrii Przepływowej. Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy
- 2020-2022 *Asystent.* Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Pracownia Hematologii i Cytometrii Przepływowej. Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy
- 2022-obecnie *Adiunkt.* Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Pracownia Hematologii i Cytometrii Przepływowej. Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy

#### Staże i praktyki (krajowe i zagraniczne):

Termin	Miejsce. Rodzaj stażu/praktyk (okres)
<i>---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:</i>	
➤ 2010.07.01-2010.07.31	Centralne Laboratorium Szpitala Klinicznego Dzieciątka Jezus. Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej. Warszawa, Polska – praktyki wakacyjne (1 miesiąc)
➤ 2011.07.04-2011.07.15	Centralne Laboratorium Samodzielnego Publicznego Centralnego Szpitala Klinicznego, ul. Banacha 1a, Warszawa, Polska – praktyki wakacyjne (2 tygodnie)
➤ 2011.07.18-2011.07.22	Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego WUM, Warszawa, Polska – praktyki wakacyjne (1 tydzień)
➤ 2011.07.18-2011.07.22	Bank Komórek Krwiotwórczych i Krwi Pępowinowej Katedry i Kliniki Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych WUM, Warszawa, Polska – praktyki wakacyjne (1 tydzień)
➤ 2014.07.28-2014.07.30	Samodzielny Publiczny Szpital Specjalistyczny Chorób Płuc im. dr O. Sokołowskiego w Zakopanem, Pracownia anatomohistopatologiczna – szkolenie „Uzupełnienie wiedzy i umiejętności z zakresu technik immunohistochemicznych” (3 dni)
➤ 2015.05.06-2015.05.07	ERS Research Seminar. Paryż, Francja, seminarium międzynarodowe, stypendium „Targeted Therapy for Lung Cancer” (2 dni)
<i>---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:</i>	
➤ 2017.05.04-2017.05.05	ERS Research Seminar. Paryż, Francja, seminarium międzynarodowe, stypendium „Immunotherapy: a new standard of care in thoracic malignancies?” (2 dni)
----- urlop macierzyński 2018 -----	
➤ 2019.07.08-2019.08.02	Pracownia Chemii Klinicznej, Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej. Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie. Staż kierunkowy w ogólnym laboratorium diagnostycznym, w tym 1 tydzień w Pracowni zaburzeń białkowych (1 miesiąc)
➤ 2019.10.28-2019.11.26	Pracownia Mikrobiologii Zakładu Transfuzjologii. Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Staż kierunkowy w laboratorium mikrobiologii (1 miesiąc)
➤ 2020.01.07-2020.02.03	Pracownia Hemostazy, Zakład Hemostazy i Chorób Metabolicznych. Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Staż kierunkowy w pracowni hemostazy (1 miesiąc)

- 2020.03.02-2020.03.06 Pracownia Transfuzjologii Laboratoryjnej z Bankiem Komórek Krwiotwórczych. Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie (1 tydzień)
- 2020.09.21-2020.10.02 Pracownia Zgodności Tkankowej Zakładu Immunogenetyki. Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Staż kierunkowy w pracowni HLA (2 tygodnie)
- 2020.10.05-2020.10.30 Pracownia Typizacji Komórek, Laboratorium Hematologii, Oddział Hematologii i Transplantacji Szpiku, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. A. Mielęckiego. Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Staż kierunkowy w pracowni cytometrii przepływowej (1 miesiąc)
- 2020.11.06-2020.11.20 Pracownia Cytogenetyki, Laboratorium Hematologii, Oddział Hematologii i Transplantacji Szpiku, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. A. Mielęckiego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Staż kierunkowy w pracowni cytogenetyki (2 tygodnie)
- 2020.12.07-2020.12.18 Pracownia Biologii Molekularnej, Laboratorium Hematologii, Oddział Hematologii i Transplantacji Szpiku, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. A. Mielęckiego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Staż kierunkowy w laboratorium biologii molekularnej (2 tygodnie)
- 2021.03.08-2021.04.02 Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach. Staż kierunkowy (1 miesiąc)
- 2021.10.23-2021.10.24 Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Pediatrii, Onkologii Hematologii. Szkolenie „Nowotwory Hematologiczne w praktyce” (14 godzin dydaktycznych, szkolenie zakończone zaliczeniem)
- 2022.04.22 Szkolenie zorganizowane przez firmę StatSoft Polska dotyczące zagadnień statystycznych pt. „Analiza przeżyć – najważniejsze metody i ich praktyczne zastosowanie w programie Statistica”. Łódź (1 dzień)
- 2022.09.08-2022.09.10 Uniwersytet Medyczny w Łodzi. Kurs zorganizowany w ramach szkolenia ciągłego przez Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów pt. „Diagnostyka laboratoryjna w hematologii 2022” (20 godzin dydaktycznych, zakończone zaliczeniem)
- 2022.10.18-2022.10.19 Szkoła cytometrii zorganizowana przez firmę BD Bioscience pt. „Cytometria dziś i jutro”. Warszawa (2 dni)

Załącznik nr A1: Potwierdzenia staży i praktyk krajowych i zagranicznych.

#### **4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce**

##### **4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:**

„Wykorzystanie wielokolorowej cytometrii przepływowej do oceny profilu antygenowego komórek w bezpośrednim środowisku raka płuca”

##### **4.2. Wykaz publikacji składających się na osiągnięcie naukowe:**

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem publikacji powiązanych tematycznie, na który składają się cztery publikacji oryginalne z pierwszym autorstwem, opublikowane w latach 2019-2022 w czasopiśmie indeksowanym przez Instytut Filadelfijski.

Łączna wartość bibliometryczna publikacji:

Impact Factor (IF): **26,304** (według bazy Journal Citation Reports);

Punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW): **560 punktów**.

Nr	Autorzy, Tytuł, Czasopismo	IF	MNiSW
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	<b>Kwiecień I.</b> , Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Raniszewska A., Domagała-Kulawik J. <i>Immunophenotype of t cells expressing programmed death-1 and cytotoxic T cell antigen-4 in early lung cancer: local vs. systemic immune response</i> . Cancers 2019 : Vol. 11, nr 4, s. 567, [1-18].	6.162	140
2.	<b>Kwiecień I.</b> , Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Raniszewska A., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. <i>Identification of PD-1 ligands: PD-L1 and PD-L2 on macrophages in lungcancer milieu by flow cytometry</i> . Translat. Lung Cancer Res. 2021 : Vol. 10, nr 4, s. 1679-1689.	4.726	140
3.	<b>Kwiecień I.</b> , Rutkowska E., Sokołowski R., Bednarek J., Raniszewska A., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. <i>Effectormemory T Cells and CD45RO+ regulatory T Cells in metastatic vs. non-metastatic lymphnodes in lungcancerpatients</i> . Front. Immunol.2022 : Vol. 13, s. e864497, 1-13.	8.786	140
4.	<b>Kwiecień I.</b> , Rutkowska E., Raniszewska A., Sokołowski R., Bednarek J., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. <i>Immunosuppressive properties of human PD-1 + , PDL-1 + and CD80 + dendriticcells from lymph nodes aspirates of lung cancer patients</i> . Cancer Immunol. Immunother. 2022 : Vol. 71, nr 10, s. 2469-2483.	6.630	140

#### **4.3. Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

##### **4.3.1. Wstęp. Podstawy kliniczne i naukowe osiągnięcia**

Rak płuca jest głównym problemem onkologicznym na całym świecie, zachorowalność osiąga ogółem ponad 1 800 000 nowych przypadków rocznie [1]. Rak płuca należy do nowotworów o bardzo złym rokowaniu, zaledwie 15% chorych udaje się przeżyć pięć lat od momentu diagnozy. Jest pierwszą przyczyną zgonów wśród pacjentów z nowotworami złośliwymi. Około 70% przypadków w momencie diagnozy jest w stadium zaawansowania i nieresekcyjnych. Z tego powodu większość guzów płuca jest niedostępna dla kompleksowej diagnostyki histologicznej. Mała liczba zachorowań na raka płuca resekcyjnego skutkuje bardzo słabą dostępnością komórek nowotworowych do badań i niewielką wiedzą na temat mikrośrodowiska nowotworu.

Rak płuca jest klasyfikowany jako rak niedrobnokomórkowy (NSCLC, z ang. *Non-Small-Cell Lung Cancer*) w 80% przypadków i jako rak drobnokomórkowy (SCLC, z ang. *Small-Cell Lung Cancer*)

w pozostałych 20%. SCLC jest bardzo agresywny w swoim przebiegu i najczęściej leczony niechirurgicznie, podczas gdy NSCLC leczy się przez połączenie leczenia chirurgicznego i terapii uzupełniającej. Różnorodność NSCLC doprowadziła do wydzielenia podtypów, takich jak gruczolakorak (ADC, z ang. *adenocarcinoma*), rak płaskonabłonkowy (SSC, z ang. *squamous cell carcinoma*) i rak wielkokomórkowy (LCC, z ang. *large-cell carcinoma*). SCLC jest zgrupowany razem z innymi nowotworami wykazującymi różnicowanie neuroendokryne. Szczegółowe podtypy histologiczne są wykorzystywane w próbkach po resekcji w celu identyfikacji typów tkanek, co ma znaczenie prognostyczne [2-4].

Rokowanie dla pacjentów z rakiem płuca pozostaje niekorzystne pomimo postępów w strategiach leczenia, w tym immunoterapii inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych (ICI, z ang. *Immune Checkpoint Inhibitors*) [5,6]. Biopsja tkankowa jest nadal „złotym standardem” w diagnostyce i badaniu biomarkerów w NSCLC [7]. Moje wcześniejsze badania wykazały, że wykorzystanie płynnych materiałów biopsyjnych, w tym płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BALF, z ang. *bronchoalveolar lavage fluid*) oraz krwi obwodowej (PB, z ang. *peripheral blood*) może być również cenne w diagnostyce pacjentów z rakiem płuca [8-10]. Środowisko płuca objętego chorobą może różnić się charakterem odpowiedzi immunologicznej. Wraz z rozwojem nowotworu zawodzi pierwotna przeciwnowotworowa odpowiedź immunologiczna układu odpornościowego [11]. Rozwijający się nowotwór tworzy specjalne mikrośrodowisko guza (TME, z ang. *tumor microenvironment*) z licznymi czynnikami immunosupresyjnymi, które zakłócają normalną odpowiedź immunologiczną. Rozwijające się TME składa się z proliferujących komórek nowotworowych, zrębu guza, naczyń krwionośnych, naciekających komórek zapalnych i różnych powiązanych komórek tkankowych. Jest to wyjątkowe środowisko, które powstaje w miarę rozwoju nowotworu w wyniku jego interakcji z komórkami gospodarza. TME jest kształtowane i zdominowane przez komórki nowotworowe, które koordynują zmiany molekularne i komórkowe zachodzące w otaczających tkankach [12-14]. TME może mieć specyficzny wpływ na proliferację i prawidłowe funkcjonowanie komórek w sąsiedztwie guza: w tym limfocytów związanych z guzem, komórek prezentujących antygen, fibroblastów i komórek śródbłónki [15]. Heterogeniczność guza napędza różnorodność i plastyczne spektrum różnych subpopulacji komórek nienowotworowych [16,17]. Z badań nad rakiem płuca wynika, że komórki tego samego typu mogą wykazywać zarówno właściwości pro-, jak i przeciwnowotworowe w zależności od wpływu TME [17]. W swoich poprzednich badaniach wykazałam istnienie wielu mechanizmów pozwalających komórkom nowotworowym na ucieczkę spod nadzoru immunologicznego oraz występowanie różnicy między odpowiedzią przeciwnowotworową w mikrośrodowisku guza płuca a środowiskiem ogólnoustrojowym [8,9].

Pomysł wykorzystania płynnych materiałów komórkowych i PB do badań onkologicznych zmierza do zastąpienia procedur inwazyjnych i zapewnienia skuteczniejszego monitorowania progresji choroby i skuteczności terapeutycznej. Ta koncepcja jest szczególnie ważna w przypadku raka płuca, ponieważ materiał guza jest często trudny do uzyskania i może wymagać potencjalnie szkodliwej i inwazyjnej procedury [18]. Międzynarodowe Stowarzyszenie Badań nad Rakiem Płuc (IASLC, z ang. *International Association for the Study of Lung Cancer*) stwierdziło, że metody płynnej biopsji mają ogromny potencjał poprawy opieki nad pacjentem, a natychmiastowe wdrożenie w klinice jest uzasadnione w wielu warunkach terapeutycznych istotnych dla NSCLC.

W cyklu przedstawionych prac celowo wykorzystano badanie materiałów z bezpośredniego otoczenia guza w połączeniu z techniką cytometrii przepływowej, która jest łatwo dostępna i daje szybsze wyniki niż barwienie immunohistochemiczne. Zamiarem moim oraz pozostałych współautorów cyklu publikacji było poszukiwanie różnorodnych technik, ale znalezienie szybko dostępczej metody,

która pozwoliłaby na ocenę pobranego materiału w sposób nieinwazyjny dla pacjenta. Cytometria przepływowa pozwala na jednoczesną analizę ilościową i jakościową dowolnej populacji komórek, nie tylko krwiotwórczych. Ponadto możliwa jest analiza ekspresji wielu antygenów na powierzchni komórki i wewnątrz pojedynczej komórki w krótkim czasie. Cytometria przepływowa mierzy pojedyncze komórki zawieszone w przepływającym strumieniu soli. Realizuje się to poprzez pomiar barwników fluorescencyjnych przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko określonym antygenom na komórkach. Barwniki fluorescencyjne są wzbudzane przez wiązkę lasera uderzającą w komórkę. Następnie sygnał jest przetwarzany na sygnały napięciowe w celu wzmocnienia sygnału, a następnie konwertowany na format cyfrowy, który jest przekazywany do komputera. Analiza metodą cytometrii przepływowej poprzedzona jest ustawieniem parametrów cytometrycznych takich jak: FS (z ang. *forward scatter*) i SS (z ang. *side scatter*) oraz ustawieniem położenia bramek na próbkach kontrolnych [19]. Cytometria przepływowa jest metodą szeroko stosowaną do fenotypowania komórek krwiotwórczych, ale także do badania cytokin wewnątrzkomórkowych i ich form rozpuszczalnych. Metoda ta wykazuje dobrą korelację z metodami immunocytochemicznymi.

Materiałem wykorzystanym m.in. w cyklu prezentowanych prac jest płyn otrzymany z płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (BALF, z ang. *bronchoalveolar lavage fluid*). Płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL) jest to metoda diagnostyczno-lecznicza polegająca na płukaniu obszaru zmiany przez drenujące oskrzele. Badanie to umożliwia pozyskanie materiału bogatokomórkowego i frakcji pozakomórkowej z przestrzeni oskrzelowo-pęcherzykowej (z powierzchni nabłonka obwodowych dróg oddechowych) w bezpośrednim otoczeniu guza. BAL jest metodą mało inwazyjną, a za pomocą której można uzyskać BALF zawierający kilka milionów żywych komórek i na jego podstawie zbadać zmiany w znacznym obszarze środowiska płuca. W badaniu, oprócz klasycznego pobrania BALF z płuca zajętego, pobrany został również BALF symetrycznie ze zdrowego płuca od tego samego pacjenta w trakcie diagnostycznej bronchofiberoskopii – kontrola wewnętrzna (z powodu braku możliwości pobrania BALF od osób zdrowych i uzyskania wiarygodnej kontroli). W tym celu podane zostało po 100 ml soli fizjologicznej do płuca zajętego nowotworem (wybierając najbliższą miejscowi toczącą się zmianę oraz 100 ml do płuca niezajętego nowotworem – „zdrowego płuca”, klinując bronchofiberoskop dokładnie symetrycznie do miejsca płukania płuca ze zmianą. Aby wyniki badania BALF były wiarygodne i spójne, konieczne było dalsze opracowanie materiału według ogólnie przyjętych zasad: „Wskazówki Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc dotyczące metod pozyskiwania i opracowywania oraz oceny płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego” [20], spójnych ze wskazówkami Europejskiego Towarzystwa Oddechowego (ERS, z ang. *European Respiratory Society*) oraz Amerykańskiego Towarzystwa Klatki Piersiowej (ATS, z ang. *American Thoracic Society*). Tak przygotowany materiał został poddany wieloparametrowej analizie metodą cytometrii przepływowej.

W diagnostyce raka płuca niezwykle przydatna okazuje się również wewnątrzoskrzelowa ultrasonografia z biopsją przezoskrzelową (EBUS/TBNA, ang. *endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration*) [21], na podstawie której możliwe jest zbadanie powiększonych węzłów chłonnych śródpiersia, zmian naciekowych oraz zmian rozsianych w płucach. Przerzutowy aspirat węzła z EBUS/TBNA jest to materiał płynny, bogatokomórkowy i może być odzwierciedleniem mikrośrodowiska choroby [22].

Wykorzystanie płynu z BAL pobranego z dwóch płuc chorego oraz aspiratów z EBUS/TBNA stanowi nowatorski aspekt cyklu publikacji. Dokładna immunofenotypowa ocena komórek w środowisku toczenia się choroby stwarza możliwość nowego kierunku oceny chorych przed podjęciem terapii oraz opracowania dodatkowych markerów prognostycznych. Podejmowany temat jest nowatorski.

#### 4.3.2. Omówienie celu naukowego

Badania nad biologią nowotworów i poszukiwanie szybszych metod diagnostycznych prowadzone są od wielu lat. Ze względu na niedostępność materiału w raku płuca badania ograniczają się do analizy prowadzonych w PB, która wykazuje jedynie układową charakterystykę immunologiczną i nie ujawnia zmian w mikrośrodkowisku guza. Dlatego istotne wydaje się prowadzenie badań oceniających możliwość zastosowania szybkich metod diagnostycznych w połączeniu z łatwo dostępnym materiałem pochodzącym z TME oraz poszukiwanie nowych, istotnych markerów antygenowych w celu przyspieszenia diagnostyki.

Celem cyklu publikacji było scharakteryzowanie profilu antygenowego komórek odgrywających istotne znaczenie w bezpośrednim otoczeniu guza z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej w materiałach pochodzących z bezpośredniego otoczenia guza: płynie z BAL lub będących odzwierciedleniem środowiska guza na podstawie oceny aspiratów węzłów chłonnych (LNs, z ang. *lymph nodes*) uzyskanych metodą aspiracji przezoskrzelowej pod kontrolą USG (EBUS/TBNA).

Szczegółowo:

I. Ocena ekspresji receptora programowanej śmierci 1 (PD-1, ang. *programmed death receptor-1*) i CTLA-4 (ang. *cytotoxic T cell antigen-4*) na limfocytach T w różnych stadiach dojrzewania w TME raka płuca, zdrowym płucu i krążeniu systemowym z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej.

II. Ocena ilościowa makrofagach pęcherzykowych (AMs, z ang. *alveolar macrophages*) oraz ekspresji ligandów dla: PD-2 i PD-1 na AMs w odniesieniu do limfocytów T u pacjentów z rakiem płuc.

IV. Ocena dojrzewania limfocytów T i wyodrębnienia dominującej subpopulacji w przerzutowych aspiratach węzłów chłonnych śródpiersia wraz z oceną ilościową innych podstawowych subpopulacji leukocytów w tym: limfocytów T regulatorowych (Tregs, z ang. *T regulatory cells*), Th17, limfocytów B, komórek NKT, komórek NK, monocytów, granulocytów.

V. Ocena dojrzewania komórek dendrytycznych z węzłów chłonnych śródpiersia oraz wyodrębnienie dominującej subpopulacji komórek dendrytycznych w przerzutowych aspiratach węzłów chłonnych śródpiersia.

#### 4.3.3. Omówienie poszczególnych prac:

##### **Publikacja nr 1:**

**Kwiecień I.**, Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Raniszewska A., Domagała-Kulawik J. *Immunophenotype of t cells expressing programmed death-1 and cytotoxic T cell antigen-4 in early lung cancer: local vs. systemic immune response*. Cancers 2019 : Vol. 11, nr 4, s. 567, [1-18].

Celem pracy była ocena ekspresji Receptor programowanej śmierci 1 (PD-1, ang. *programmed death receptor-1*) i CTLA-4 (ang. *cytotoxic T cell antigen-4*) na limfocytach T w różnych stadiach dojrzewania w TME raka płuca i krążeniu systemowym z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej. Nowatorskim elementem pracy było zastowanie materiału BALF pobranego z płuca dotkniętego chorobą nowotworową (clBALF jako środowisko lokalne), w porównaniu z przeciwnym „zdrowym” płucem, BALF pobranego symetrycznie z płuca zdrowego (hlBALF jako kontrola

wewnętrzna) oraz PB (odzwierciedlającej zmiany ogólnoustrojowe) od tego samego pacjenta. Oceniono subpopulacje komórek T CD4+ i CD8+ wykazujących ekspresję PD-1 i CTLA-4 w różnych przedziałach dojrzewania: limfocyty T naiwne, aktywowane, pamięci i aktywowane pamięci, a następnie oceniono relacje między nimi.

### Główne wnioski publikacja nr 1:

W prezentowanej pracy po raz pierwszy pokazano zróżnicowaną ekspresję cząsteczek punktów kontrolnych: PD-1 i CTLA-4 na komórkach CD8+ i CD4+ na różnych etapach dojrzewania i różnicowania limfocytów T w mikrośrodkowisku raka płuca, na podstawie badania BALF pobranego z sąsiedztwa guza i z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej. W przeciwieństwie do większości badań nad limfocytami T w raku płuca, zamiast analizować próbki guza, wykorzystano technikę BALF. Wykazano, że BALF jest zabiegiem nieinwazyjnym, który można bezpiecznie wykonać na każdym etapie procesu diagnostyczno-terapeutycznego. Wykazano również, że BALF odzwierciedla skład komórkowy w niszy mikrośrodkowskiej guza. Zaobserwowano różnice w proporcji komórek PD-1 i CTLA-4 dodatnich w BALF w porównaniu z krwią obwodową u tego samego pacjenta oraz podwyższone proporcje aktywowanych komórek CD8+ z PD-1 i CTLA-4 w cBALF, zwłaszcza w raku płaskonabłonkowym. Po raz pierwszy zastosowano bezpośrednie porównanie komórek odpornościowych T na różnych etapach dojrzewania z BALF dotkniętych rakiem i BALF z przeciwnego „zdrowego” płuca.

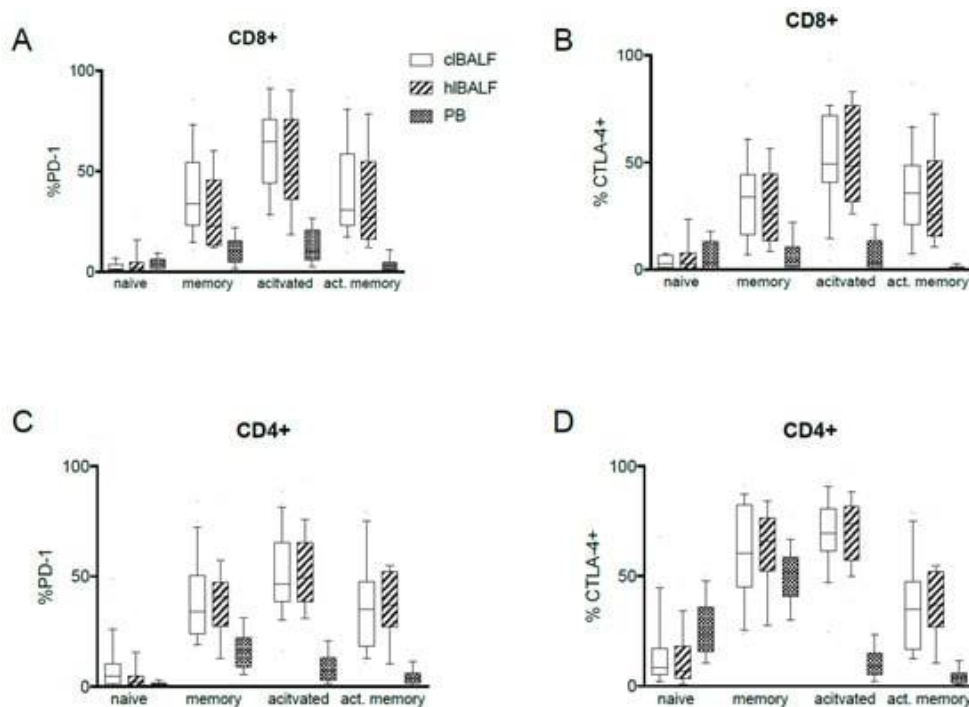


Figura. Ekspresja PD-1 i CTLA-4 na różnych etapach dojrzewania limfocytów T: naiwnymi, pamięci, aktywowanymi i aktywowanymi pamięci, pomiędzy 3 badanymi kompartmentami: cBALF, hBALF i PB. (A) komórki CD8+ PD-1-dodatnie; (B) komórki CD8+ CTLA-4-dodatnie; (C) komórki CD4+PD-1-dodatnie; i (D) komórki CD4+CTLA-4-dodatnie. (Źródło – publikacja nr 1)

Podsumowując, stwierdzono istotne różnice w ekspresji PD-1 i CTLA-4 na limfocytach T CD8+ i CD4+ w zależności od statusu ich aktywacji w mikrośrodkowisku raka płuca. Ponadto pokazano zróżnicowaną ekspresję cząsteczek punktów kontrolnych na limfocytach obwodowych i płucnych, które różniły się w zależności od typu histopatologicznego nowotworu. Potwierdzono potencjalną rolę

procedury BAL w selekcji pacjentów do immunoterapii poprzez analizę profilu limfocytów T w BALF. Zwrócono uwagę na konieczność wykonania dalszych prospektywnych badań oceniających przydatność prognostyczną limfocytów T BALF w terapii ICI.

*Mój udział w powstaniu pracy polegał na: opracowaniu koncepcji i założeń badania, wykonywaniu i interpretacji wszystkich wyników badania z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej, gromadzeniu danych, udziale w budowaniu bazy danych, analizie i interpretacji danych, wykonaniu wyliczeń statystycznych, zgromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa, napisaniu manuskryptu (rola wiodąca), opracowaniu i zatwierdzeniu ostatecznej wersji manuskryptu. Mój wkład oceniam na 70%.*

Publikacja ta była finansowana w ramach grantu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego 1WU/PM11D/15. Moja rola: Kierownik projektu. Projekt rozliczony/zakończony.

Publikacja powstała we współpracy z trzema instytucjami zewnętrznymi:

- Centrum Medycznym Kształcenia Podyplomowego. Zakładem Immunologii Translacyjnej i Eksperymentalnej Intensywnej Terapii (dawniej Pracownia Cytometrii Przepływowej)
- Instytutem Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, z Pracownią Endoskopii
- Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, Katedrą i Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii oraz Katedrą i Zakładem Patomorfologii

## **Publikacja nr 2:**

**Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Raniszewska A., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. *Identification of PD-1 ligands: PD-L1 and PD-L2 on macrophages in lung cancer milieu by flow cytometry*. Translat. Lung Cancer Res. 2021 : Vol. 10, nr 4, s. 1679-1689.

Celem tego badania była ocena ekspresji PD-L2 i PD-L1 na makrofagach pęcherzykowych (AMs, z ang. *alveolar macrophages*) w odniesieniu do limfocytów T u pacjentów z rakiem płuc. Zbadano AMs z BALF z płuca z rakiem (clBALF) i z przeciwległego „zdrowego” płuca (hlBALF). Wybór metody BAL z modyfikacją płukania płuca objętego chorobą i płuca symetrycznego „zdrowego” wynikał z doświadczenia badacza uzyskanego na podstawie poprzednich analiz i możliwości zastosowania takiej modyfikacji w praktyce.

Makrofagi są główną populacją komórek w BALF i mogą być dostępne do analizy wielokolorowa cytometrią przepływową. Cytometria przepływowa wydaje się być metodą z wyboru do analizy komórek w BALF i identyfikacji ich fenotypu.

Istnieje wiele badań oceniających szlak PD-1/PD-L1 opartych głównie na analizie PD-1 na limfocytach i PD-L1 na komórkach nowotworowych. Badania koncentrują się na wykrywaniu ligandów PD-1 na komórkach nowotworowych, a nie na komórkach nienabłonkowych. Natomiast można przyjąć, że limfocyty mają większy kontakt z makrofagami, komórkami dendrytycznymi i innymi komórkami zrębu w środowisku nowotworowym niż z komórkami nowotworowymi. Co więcej, te ostatnie są bardzo zróżnicowane pod względem żywotności, a ekspresja markerów powierzchniowych znacznie różni się między fragmentami tkanki nowotworowej. Te powody skłoniły autorów do skupienia się na bogatej populacji AMs w BALF.

## **Główne wnioski publikacja nr 2:**

Omówiono możliwości zbadania szlaku PD-1-PD-L1/PD-L2 w środowisku raka płuca, co może pomóc w znalezieniu nowych potencjalnych biomarkerów do immunoterapii. Wyciągnięto wnioski, że dokładna ilościowa identyfikacja makrofagów za pomocą cytometrii przepływowej w BALF jest możliwa, ale badanie wykazało, że autofluorescencja makrofagów nie pozwoliła na ocenę rzeczywistej ekspresji PD-L2, jak również PD-L1 na AMs.

W badaniu stwierdzono, że 100% AMs CD68+ pochodzących z cIBALF było dodatnich pod względem PD-L1 i PD-L2. Nieoczekiwanie kontrole fluorescencyjne minus jeden (FMO, z ang. *Fluorescence Minus One Controls*) dla PD-L1 i PD-L2 oraz kontrole izotypowe również wykazywały silną autofluorescencję. AMs z hIBALF wykazywały podobną autofluorescencję dla PD-L1 i PD-L2.

Ocena ekspresji PD-1 na limfocytach dała znacznie wyraźniejsze wyniki niż na AMs. Ogólnie mediana proporcji komórek T i subpopulacji komórek T z ekspresją PD-1 była wyższa w cIBALF niż hIBALF i PB (Figura poniżej).

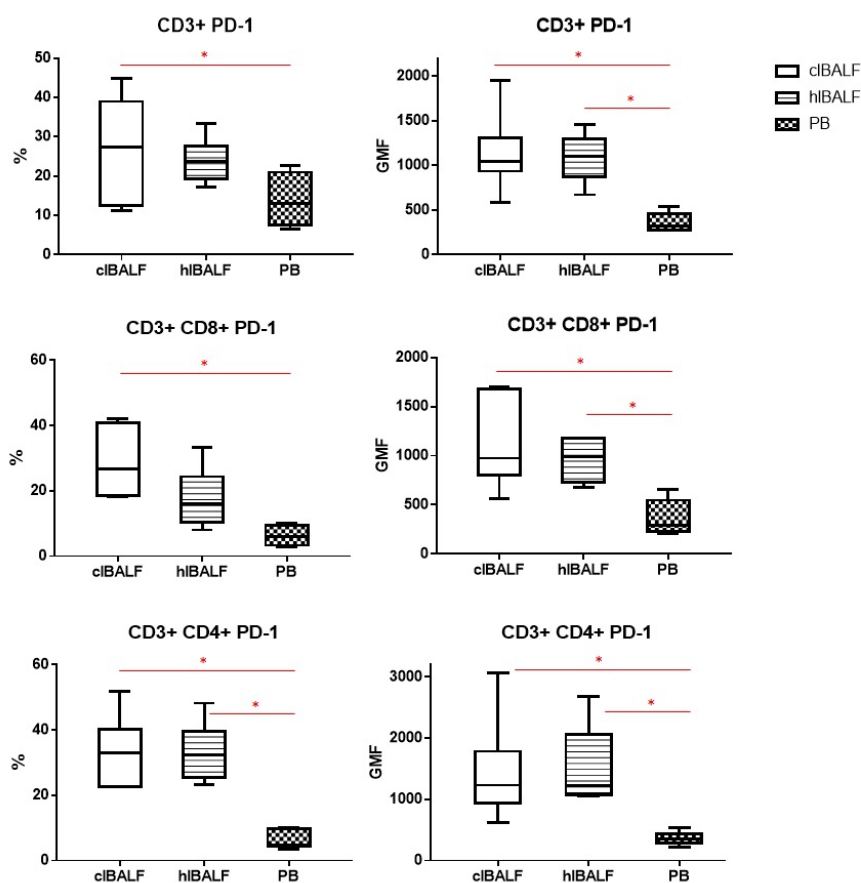


Figura. Różnice w ekspresji PD-1 na limfocytach T (CD4+ i CD8+) u chorych na raka płuca w cIBALF, hIBALF i PB. (A) Ekspresja PD-1 na limfocytach T odczytana jako % i intensywność GMF. (B) Ekspresja PD-1 na limfocytach T CD8+ odczytana jako % i GMF. (C) Ekspresja PD-1 na limfocytach T CD4+ odczytana jako % i GMF. Wartości mediany i q25–q75 przedstawiono na wykresach (\*,  $p < 0,05$ ). BALF, płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego; cIBALF, BALF z płuca z rakiem; hIBALF, BALF z przeciwnego „zdrowego” płuca; PB, krew obwodowa; GMF, średnia geometryczna fluorescencji. (Źródło - publikacja nr 2)

Przedstawione powyżej dane potwierdzają, że szlak związany z PD-1 na limfocytach odgrywa istotną rolę u chorych na raka płuca, szczególnie w bezpośrednim otoczeniu guza i może być badany

za pomocą cytometrii przepływowej. Zbadania szlaku ligandów PD-1/PD-L1 nie tylko na limfocytach, ale także z udziałem makrofagów, w tym również analiza ligandu PD-L2, wydaje się być ciekawym i nowatorskim podejściem, ale ze względu na wysoką autofluorescencję jest problematyczne w ocenie za pomocą cytometrii przepływowej i wymaga dalszego opracowania. Aczkolwiek autorzy udowodnili, że możliwa jest ilościowa identyfikacja makrofagów w BALF za pomocą cytometrii przepływowej oraz ocena ekspresji PD-1 na limfocytach w BALF za pomocą cytometrii przepływowej.

*Mój udział w powstaniu pracy polegał na: opracowaniu koncepcji i założeń badania, wykonywaniu i interpretacji wszystkich wyników badania z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej, gromadzeniu danych, udziale w budowaniu bazy danych, analizie i interpretacji danych, wykonaniu wyliczeń statystycznych oraz analiz graficznych (m.in. Figura przedstawiona powyżej), zgromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa, napisaniu manuskryptu (rola wiodąca), opracowaniu ostatecznej wersji manuskryptu oraz prowadzeniu korespondencji z redakcją. Mój wkład oceniam na 70%.*

Publikacja ta powstała w ramach grantu międzyośrodkowego finansowanego ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego Wojskowego Instytutu Medycznego nr 488. Moja rola: Główny badacz. Projekt rozliczony/zakończony.

W ramach projektu współpracowałam z dwiema instytucjami zewnętrznymi:

- Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, Pracownia Endoskopii.
- Warszawski Uniwersytet Medyczny, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii

### Publikacja nr 3:

**Kwiecień I.**, Rutkowska E., Sokołowski R., Bednarek J., Raniszewska A., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. *Effector memory T Cells and CD45RO<sup>+</sup> regulatory T Cells in metastatic vs. non-metastatic lymph nodes in lung cancer patients*. Front. Immunol.2022 : Vol. 13, s. e864497, 1-13.

Celem pracy było określenie dominujących podtypów limfocytów T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> w przerzutowych i nieprzerzutowych LN's chorych na raka płuca. Aspiraty LN's uzyskano podczas procedury EBUS/TBNA, a komórki analizowano metodą cytometrii przepływowej. Stosując odpowiednią kombinację przeciwciał, wyróżniono i oceniono następujące podtypy limfocytów T CD4<sup>+</sup> lub CD8<sup>+</sup>:

Podtypy limfocytów T	Fenotyp
recent thymic emigrants CD4 <sup>+</sup> (RTE)	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup> CD31 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup>
naiwne CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> CD197 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup>
efektorowe CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> CD197 <sup>-</sup> CD45 <sup>+</sup>
centralne pamięci CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> CD197 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup>
efektorowe pamięci CD4 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> CD197 <sup>-</sup> CD45 <sup>+</sup>
recent thymic emigrants CD8 <sup>+</sup> (RTE)	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup> CD31 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup>
naiwne CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> CD197 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup>
efektorowe CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup> CD197 <sup>-</sup> CD45 <sup>+</sup>
centralne pamięci CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> CD197 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup>

efektorowe pamięci CD8+

CD3+ CD8+ CD45RO+ CD197- CD45+

W pracy dodatkowo zbadano komórki powiązane z Th17 (CD3+ CD4+ CD45RO+ CD196+), limfocyty T regulatorowe (Tregs CD3+ CD4+ CD25+high CD127-) i komórki Tregs z ekspresją antygeny CD45RO+ (Tregs CD45RO+: CD3+ CD4+ CD25+high CD127- CD45RO+).

Dokładna ocena komórkowa węzłów chłonnych daje możliwość wyznaczenia nowego kierunku w ocenie przedterapeutycznej chorych na raka płuca oraz opracowania dodatkowych markerów prognostycznych. Zrozumienie elementów komórkowych, które odgrywają rolę w bezpośrednim środowisku choroby, co umożliwia ocena aspiratów z EBUS/TBNA, może mieć ważne implikacje terapeutyczne. Limfocyty odgrywają wiodącą rolę w regulacji układu odpornościowego u chorych na raka płuca. Poznanie profilu limfocytów T może pomóc w przewidywaniu skuteczności immunoterapii przeciwnowotworowej.

### **Główne wnioski publikacja nr 3:**

W badaniu wykazano wyższy odsetek limfocytów T efektorowych zarówno CD4+, jak i CD8+, w przerzutowych LN's w porównaniu do LN's bez przerzutu raka płuca. Odsetek komórek regulatorowych z ekspresją antygeny CD45RO+ był wyższy w przerzutowych LN's w porównaniu do LN's bez przerzutów. W badaniu po raz pierwszy przedstawiono znaczące różnice w podzbiorach komórek T w zależności od procesu przerzutowego raka płuca. Zaobserwowano że limfocyty T efektorowe pamięci były dominującymi subpopulacjami w przerzutowych LN's.

W tym badaniu w celu precyzyjnego wydzielenia podzbiorów limfocytów T, główne populacje leukocytów został również wydzielone i ocenione. Nie było to jednak przedmiotem niniejszej pracy, ale należy podkreślić, że przedstawiono różnice w liczbie komórek dendrytycznych i komórek linii monocytoidalnej (monocytów/makrofagów) pomiędzy przerzutowymi i nie-przerzutowymi LN's. Wykazano wyższą medianę proporcji komórek linii monocytoidalnej i DC w przerzutowych LN's niż w LN's bez przerzutów. Obserwacja ta potwierdza aktualny stan wiedzy, że obok limfocytów ważnymi komórkami w obrębie guza są komórki prezentujące antygen (APC, z ang. *antigen-presenting cell*).

Podsumowując, wiadomo, że LN jest częstym miejscem przerzutów, a choroba węzłów chłonnych przewiduje zwiększoną śmiertelność w wielu typach raka. Ponadto LN's są krytyczne w inicjowaniu przeciwnowotworowych odpowiedzi immunologicznych. Komórki przerzutowe w narządach limfatycznych są ważne w indukcji przeciwnowotworowych limfocytów T CD8+ i odrzucaniu guza. Zrozumienie mechanizmów przeżycia, wzrostu guza i odpowiedzi układu odpornościowego w LN's jest kluczem do zaprojektowania skutecznej terapii w celu wyeliminowania przerzutów do LN's. Postawiono hipotezę, że korelacja efektorowych komórek pamięci z innymi podzbiórami limfocytów T pozwoliłaby na rozpoznanie istotnych komórek i ich pokrewieństwa w przebiegu raka płuca, co wpisuje się w postępowanie oceny rokowania i wyznaczania nowych immunologicznych punktów terapeutycznych.

Na podstawie powyższych wyników potwierdzono, że wykorzystując metodę EBUS/TBNA z cytometrią przepływową można uzyskać materiał diagnostyczny z LN's, który w przerzutowych LN's ma charakterystyczny profil antygenowy dla limfocytów T.

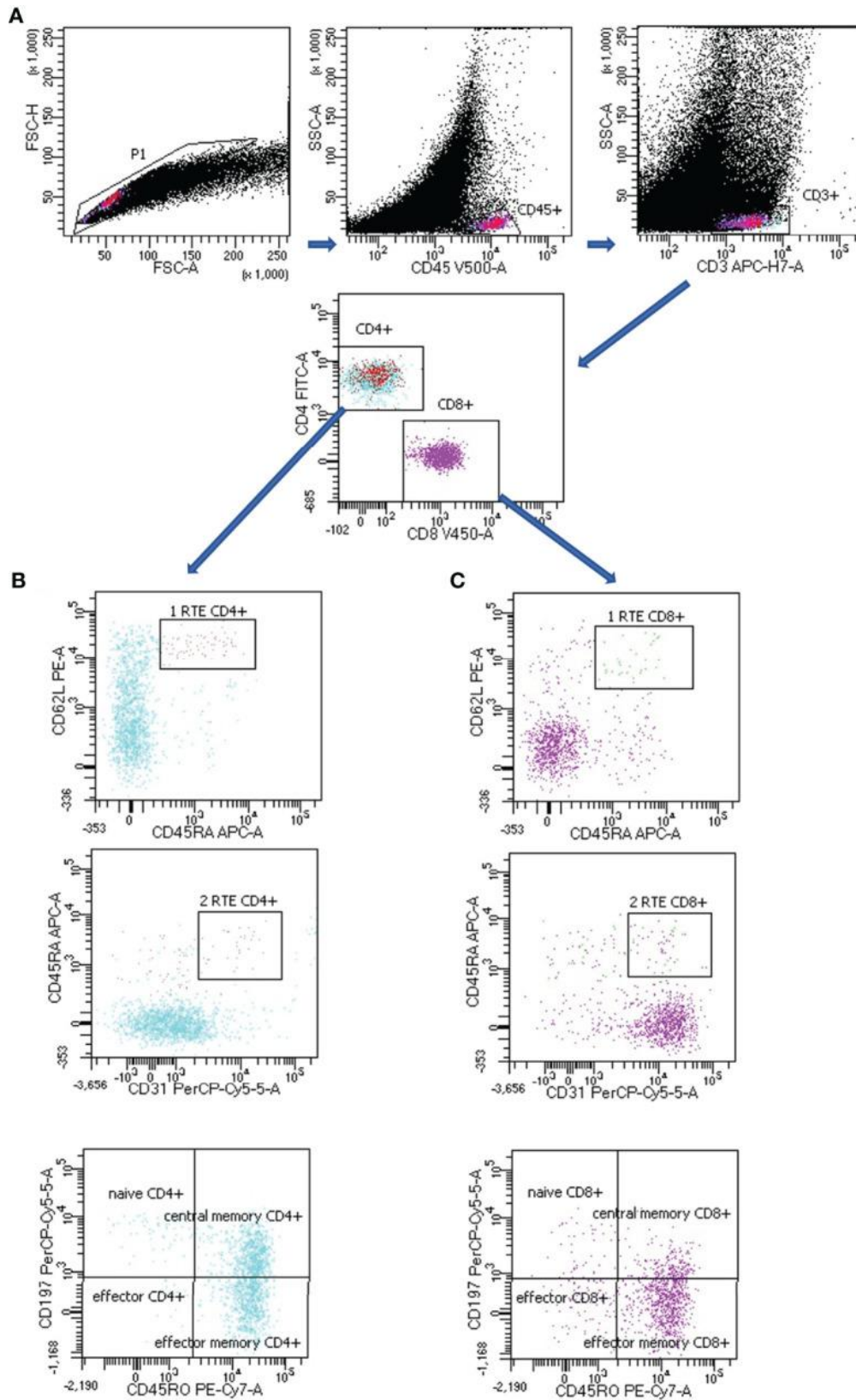


Figura. Reprezentatywna strategia bramkowania podzbiorów limfocytów T w aspiracie węzła chłonnego (LN) pacjenta z rakiem płuca. (Źródło: publikacja nr 3 – jestem autorem ryciny)

(A) Limfocyty T CD4+ lub CD8+: wykres FSC-H vs. FSC-A: Bramkowanie komórek i usuwanie grudek (wysoki FSC-A w stosunku do FSC-H) i resztek (bardzo niski FSC), SSC-A vs. CD45 wykres: Selekcja limfocytów na podstawie ich właściwości CD45-dodatnich, SSC-A vs. CD3 Wykres: Wybór limfocytów T

na podstawie ich właściwości CD3-dodatnich. Wykres CD4 vs. CD8: Selekcja limfocytów T CD4+ (turkusowy) i CD8+ (fioletowy) na podstawie ich właściwości CD4-dodatnich lub CD8-dodatnich.

(B) Podzbiory limfocytów T CD4+: Wykres CD62L vs. CD45RA wraz z wykresem CD45RA vs. CD31: Wybór komórek T CD4+ RTE (z ang. *recent thymic emigrants*) na podstawie ich właściwości CD62L-dodatnich, CD45RA-dodatnich i CD31-dodatnich, CD197 vs. CD45RO wykres: Selekcja naiwnych limfocytów T CD4+, efektorowych limfocytów T CD4+, centralnych pamięci limfocytów CD4+ i efektorowych limfocytów T CD4+ na podstawie ich właściwości CD197/CD45RO

(C) Podzbiory limfocytów T CD8+: Wykres CD62L vs. CD45RA wraz z wykresem CD45RA vs. CD31: Wybór komórek T CD8+ RTE na podstawie ich właściwości CD62L-dodatnich, CD45RA-dodatnich i CD31-dodatnich, CD197 vs. CD45RO wykres: Selekcja naiwnych limfocytów T CD8+, efektorowych limfocytów T CD8+, centralnych pamięci limfocytów T CD8+ i efektorowych limfocytów T CD8+ na podstawie ich właściwości CD197/CD45RO.

W pracy potwierdzono, że ocena profilu komórek T w odniesieniu do innych podzbiorów komórek T za pomocą analizy cytometrii przepływowej próbek EBUS/TBNA może zapewnić wgląd w status immunologiczny przerzutowych LNs, a tym samym odzwierciedlać lokalne TME. W trakcie postępowania diagnostycznego możliwe jest uzyskanie informacji o stanie przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej oraz dalsza identyfikacja potencjalnych biomarkerów dla nowoczesnej terapii raka płuca.

*Mój udział w powstaniu pracy polegał na: opracowaniu koncepcji i założeń badania, wykonywaniu i interpretacji wszystkich wyników badania z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej, gromadzeniu danych, udziale w budowaniu bazy danych, analizie i interpretacji danych, wykonaniu wyliczeń statystycznych oraz analiz graficznych- ryciny z cytometru (m.in. Figura przedstawiona powyżej), zgromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa, napisaniu manuskryptu (rola wiodąca), opracowaniu ostatecznej wersji manuskryptu oraz prowadzeniu korespondencji z redakcją. Mój udział oceniam na 70%.*

Publikacja ta powstała w ramach grantu międzyośrodkowego finansowanego ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego nr 559. Moja rola: Główny Badacz. Projekt rozliczony/zakończony

Podczas projektu współpracowałam z dwiema jednostkami Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego i jedną jednostką zewnętrzną:

- Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii , Alergologii I Immunologii Klinicznej, Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy
- Zakład Patomorfologii, Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy
- Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny.

#### Publikacja nr 4:

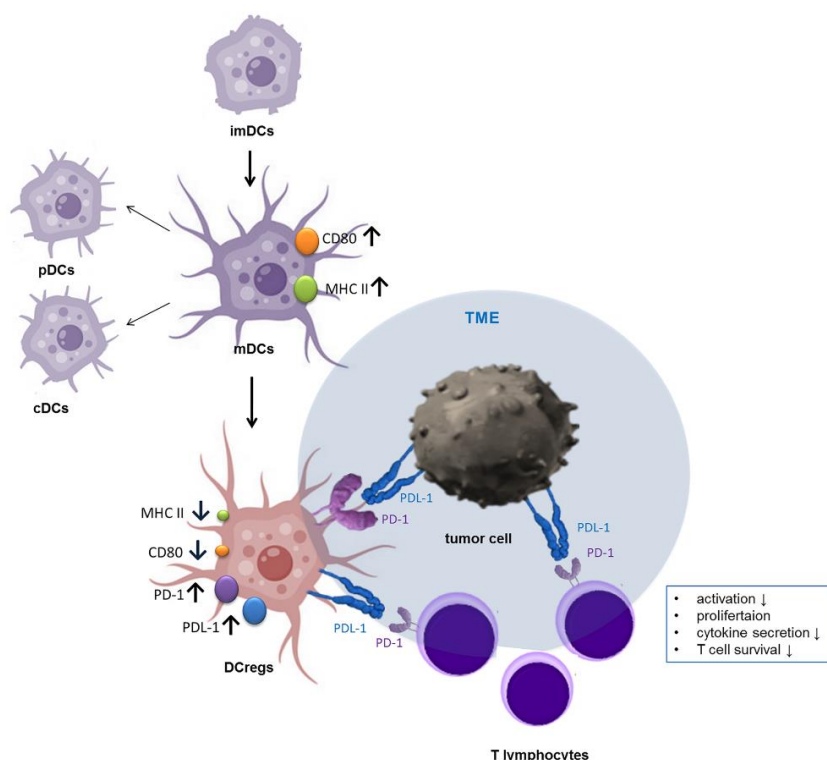
**Kwiecień I.**, Rutkowska E., Raniszewska A., Sokołowski R., Bednarek J., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. *Immunosuppressive properties of human PD-1+ , PDL-1+ and CD80+ dendritic cells from lymph nodes aspirates of lung cancer patients*. *Cancer Immunol. Immunother.* 2022 : Vol. 71, nr 10, s. 2469-2483.

Niniejsze badanie miało na celu ocenę obecności podzbiorów komórek dendrytycznych (DC, z ang. *dendritic cells*) z ekspresją cząsteczek immunomodulujących: PD-L1, PD-1 oraz cząsteczki kostymulującej CD80 w LNs przerzutowych i nieprzerzutowych i PB u chorych na raka płuca. Dodatkowo oceniono obecności molekuly PD-1 na limfocytach T w LNs przerzutowych i nieprzerzutowych. Aspiraty LNs uzyskano podczas zabiegu EBUS/TBNA u pacjentów z pierwotnym rakiem płuca. Komórki analizowano metodą wielokolorowej cytometrii przepływowej.

Komórki DC odgrywają kluczową rolę w homeostazie układu odpornościowego. Mikrośrodowisko guza upośledza prawidłową funkcję DC. Interesująca wydaje się więc ocena właściwości immunomodulacyjne DC w raku płuca.

Cancer Immunology, Immunotherapy (2022) 71:2469–2483

2471



**Fig.1** The PD-1/PD-L1 pathway influences the maintenance of immunological tolerance in the tumor microenvironment (TME). Higher expression of immunosuppressive molecules together with a

decrease of costimulatory molecules influences the formation of regulatory DCs (DCregs) subsets from mature DCs (mDCs)

Figura. (Źródło: publikacja nr 4 -jestem autorem ryciny)

Stosując odpowiednią kombinację przeciwciał wyróżniono wśród DCs (CD45+ CD123+ HLA-DR+) następujące subpopulacje:

Subpopulacje DCs	Fenotyp
niedojrzałe DCs (imDC)	CD45+ CD123+ HLA-DR+ CD117+ CD80+dim
konwencjonalne DC (cDC)	CD45+ CD123+ HLA-DR+ CD11c+
plazmatoidalne DC (pDC)	CD45+ CD123+ HLA-DR+ CD11c-
regulatorowe DC (DCregs)	CD45+ CD123+ HLA-DR+ PD-1+ PD- L1+ CD80+dim

#### Główne wnioski publikacja nr 4:

Odnotowano wyższy odsetek DCs w LNś przerezutowym w porównaniu do LNś bez przerezutów i PB. Proporcje PD-1+ , PD-L1+ i CD80+ DCs były wyższe w LNś z przerezutami niż w bez przerezutów. Wyższy odsetek regulatorowych DCs (DCregs) stwierdzono w LNś z przerezutami niż w LNś bez przerezutów.

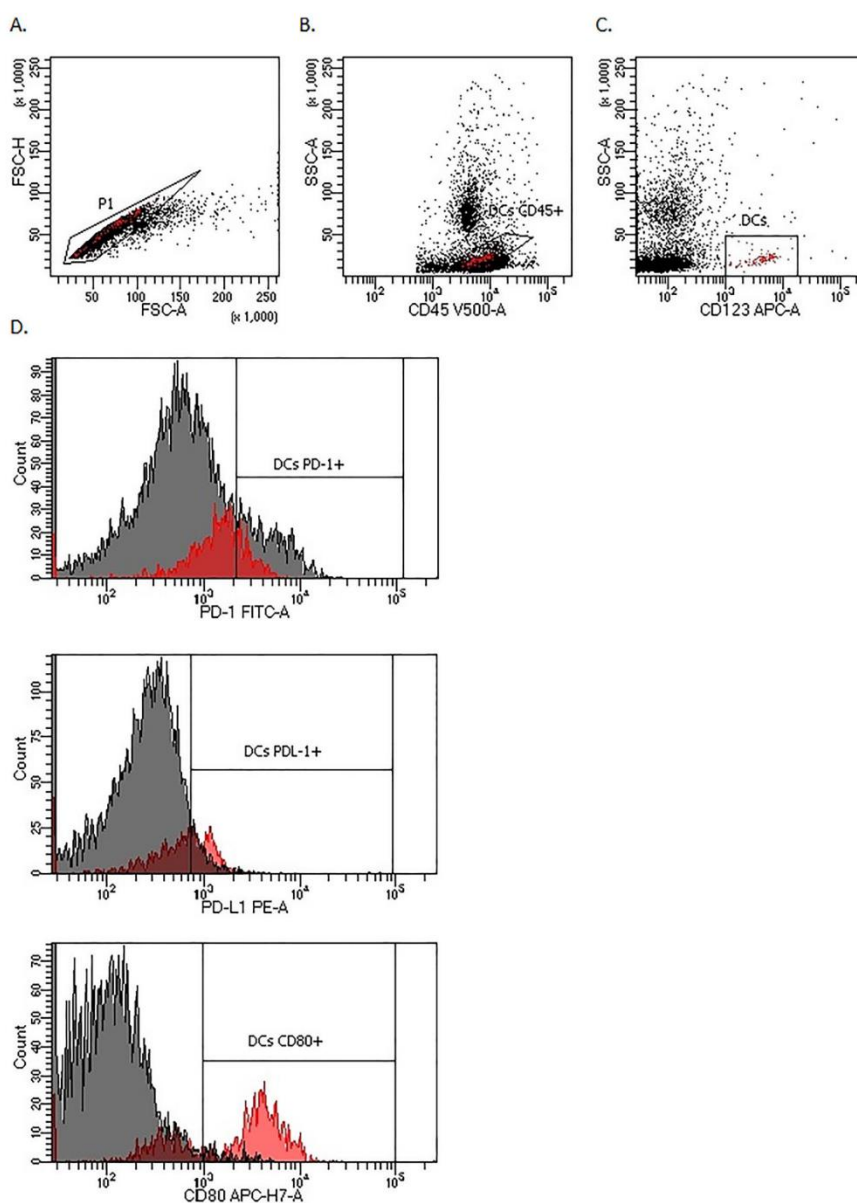


Figura. Przykładowa strategia bramkowania komórek dendrytycznych (DCs) z ekspresją PD-1, PDL-1 i CD80 w aspiratach przerzutowego węzła chłonnego. (A): FSC-H vs. FSC-A: Bramkowanie komórek, które mają równą powierzchnię i wysokość, usuwając w ten sposób grudki (wyższy FSC-A w stosunku do FSC-H i szczątki (bardzo niski FSC)). (B) SSC-A vs. CD45: Szeroka selekcja DC CD45+ w oparciu o ich właściwości SSC/CD45+ (czerwone). (C) SSC-A vs. CD123: Szeroka selekcja DC w oparciu o ich właściwości SSC/CD123+ (czerwone). (D) Liczba vs. PD-1, PD-L1 lub CD80: selekcja DC z ekspresją PD-1, PD-L1 lub CD80 (czerwone – DC, szare – pozostałe komórki). (*Źródło: publikacja nr 4 - jestem autorem ryciny*)

Wykazano, że subpopulacje DCs i ekspresję cząsteczek sygnałowych na DCs można identyfikować za pomocą cytometrii przepływowej w aspiratach uzyskanych metodą EBUS/TBNA, dostarczając w ten sposób informacji o charakterze indywidualnej odpowiedzi immunologicznej. DCs wykazują zwiększoną ekspresję cząsteczek PD-1, PD-L1 i CD80 w przerzutowych LNs w raku płuca, odzwierciedlając mikrośrodowisko hamujące nowotwór. Zaobserwowano znaczny wzrost udziału DCregs w przerzutowych LNs. Można przypuszczać, że dojrzałe DC naciekające przerzutowe LNs mogą przekształcić się w DCregs, które biorą udział w hamowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej.

Komórki DCs wykazują zwiększoną ekspresję cząsteczek PD-1, PD-L1 i CD80, które mogą wchodzić w interakcje z limfocytami T. Na podstawie powyższego badania można założyć, że dojrzałe DCs naciekające przerzutowe LNs a następnie przekształcają się w DCregs, które biorą udział w tłumieniu odpowiedzi przeciwnowotworowej

*Mój udział w powstaniu pracy polegał na: opracowaniu koncepcji i założeń badania, wykonywaniu i interpretacji wszystkich wyników badania z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej, gromadzeniu danych, udziale w budowaniu bazy danych, analizie i interpretacji danych, wykonaniu wyliczeń statystycznych oraz analiz graficznych- ryc. z cytometru przepływowego (m.in. Figura przedstawiona powyżej), zgromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa, napisaniu manuskryptu (rola wiodąca), opracowaniu ostatecznej wersji manuskryptu oraz prowadzeniu korespondencji z redakcją. Mój udział oceniam na 70%.*

Publikacja ta powstała w ramach grantu finansowanego ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego nr 559. Moja rola: Główny Badacz. Projekt rozliczony/zakończony.

Podczas projektu współpracowałam z dwiema jednostkami Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego i jedną jednostką zewnętrzną:

- Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii , Alergologii i Immunologii Klinicznej, Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy
- Zakład Patomorfologii, Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy
- Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny.

#### 4.3.3. Podsumowanie:

Prace wchodzące w skład cyklu publikacji, poświęcone zagadnieniu wykorzystania wielokolorowej cytometrii przepływowej do antygenowej oceny komórek pełniących kluczową rolę w mikrośrodku raka płuca, wnoszą istotny wkład w dotychczasową wiedzę w tej dziedzinie, ale przede wszystkim mają niezwykle istotny wymiar praktyczny: ugruntowanie znaczenia badania materiałów płynnych w tym płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego oraz aspiratów LNs pozyskanych z EBUS/TBNA w raku płuca z wykorzystaniem cytometrii przepływowej.

Na podstawie przeprowadzonych badań zaprezentowanych w cyklu prac dotyczących chorych na raka płuca można sformułować następujące wnioski praktyczne:

1. Potwierdzono występowanie różnic w badanych wybranych populacjach komórek immunokompetentnych w zależności od odległości od toczącego się procesu nowotworowego na podstawie badania BALF z miejsca najbliższej zmiany, BALF pobranego symetrycznie ze „zdrowego płuca” i PB od tego samego pacjenta.
2. Potwierdzono znaczenie badania BALF w ocenie odpowiedzi układu odporności w środowisku rozwoju raka płuca.

Szczególnie wykazano:

- zróżnicowaną ekspresję cząsteczek punktów kontrolnych na limfocytach obwodowych i płucnych, które różniły się w zależności od stadium dojrzewania limfocytów T oraz typu histopatologicznego nowotworu,
  - wyższy odsetek makrofagów w bezpośrednim otoczeniu guza w porównaniu do płuca zdrowego, aczkolwiek badanie wykazało, że autofluorescencja makrofagów, oprócz dokładnej ilościowej oceny, nie pozwala przeanalizować rzeczywistej ekspresji PD-L2, jak również PD-L1 na AMs.
3. Wykazano występowanie charakterystycznych zmian i dominujących subpopulacji komórek w LNs przerzutowym w porównaniu do LNs bez przerzutu.
  4. Potwierdzono znaczenie badania aspiratów LNs w diagnostyce raka płuca z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej.

Szczególnie wykazano że:

- profil dojrzewania limfocytów T w LNs pozyskanych z EBUS/TBNA jest łatwy do oceny za pomocą cytometrii przepływowej i może odzwierciedlać status immunologiczny w raku płuca,
  - intensywność ekspresji znanych cząsteczek immunosupresyjnych lub kostymulujących na różnych subpopulacjach komórek dendrytycznych jest związana z obecnością przerzutu raka płuca w LNs.
5. Zastosowanie techniki EBUS/TBNA oraz BALF pobieranego symetrycznie jest innowacyjnym aspektem cyklu publikacji i podkreśla znaczenie oceny materiałów płynnych z bezpośredniego środowiska guza w badaniu biologii raka płuca, np. zaproponowanie charakterystycznego profilu komórkowego, szczególnie limfocytów T i komórek

dendrytycznych w bezpośrednim miejscu toczenia się choroby na podstawie oceny płynu z BAL i węzłów chłonnych śródpiersia przed podjęciem leczenia.

6. Potwierdzono że wykorzystanie wielokolorowej cytometrii przepływowej z użyciem szerokiego panelu przeciwciał monoklonalnych do szczegółowej oceny wszystkich ww. subpopulacji badanych komórek pozwala na dokładną analizę węzłów chłonnych śródpiersia i komórek krążących w TME, co być może pozwoli na opracowanie panelu przeciwciał do rutynowego oznaczania ww. komórek w raku płuca.

#### 4.3.4. Piśmiennictwo

1. Ferlay, J.; Colombet, M.; Soerjomataram, I.; Parkin, D.M.; Pineros, M.; Znaor, A.; Bray, F. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer* **2021**, doi:10.1002/ijc.33588.
2. Nicholson, A.G.; Tsao, M.S.; Beasley, M.B.; Borczuk, A.C.; Brambilla, E.; Cooper, W.A.; Dacic, S.; Jain, D.; Kerr, K.M.; Lantuejoul, S.; et al. The 2021 WHO Classification of Lung Tumors: Impact of Advances Since 2015. *J Thorac Oncol* **2022**, *17*, 362-387, doi:10.1016/j.jtho.2021.11.003.
3. Travis, W.D.; Brambilla, E.; Nicholson, A.G.; Yatabe, Y.; Austin, J.H.M.; Beasley, M.B.; Chirieac, L.R.; Dacic, S.; Duhig, E.; Flieder, D.B.; et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol* **2015**, *10*, 1243-1260, doi:10.1097/JTO.0000000000000630.
4. Mengoli, M.C.; Longo, F.R.; Fraggetta, F.; Cavazza, A.; Dubini, A.; Ali, G.; Guddo, F.; Gilioli, E.; Bogina, G.; Nannini, N.; et al. The 2015 World Health Organization Classification of lung tumors: new entities since the 2004 Classification. *Pathologica* **2018**, *110*, 39-67.
5. Costantini, A.; Grynowska, M.; Lucibello, F.; Moises, J.; Pages, F.; Tsao, M.S.; Shepherd, F.A.; Bouchaab, H.; Garassino, M.; Aerts, J.; et al. Immunotherapy: a new standard of care in thoracic malignancies? A summary of the European Respiratory Society research seminar of the Thoracic Oncology Assembly. *Eur Respir J* **2018**, *51*, doi:10.1183/13993003.02072-2017.
6. Dudnik, E.; Moskovitz, M.; Daher, S.; Shama, S.; Hanovich, E.; Grubstein, A.; Shochat, T.; Wollner, M.; Bar, J.; Merimsky, O.; et al. Effectiveness and safety of nivolumab in advanced non-small cell lung cancer: The real-life data. *Lung Cancer* **2018**, *126*, 217-223, doi:10.1016/j.lungcan.2017.11.015.
7. Dietel, M.; Bubendorf, L.; Dingemans, A.M.; Dooms, C.; ElMBERGER, G.; Garcia, R.C.; Kerr, K.M.; Lim, E.; Lopez-Rios, F.; Thunnissen, E.; et al. Diagnostic procedures for non-small-cell lung cancer (NSCLC): recommendations of the European Expert Group. *Thorax* **2016**, *71*, 177-184, doi:10.1136/thoraxjnl-2014-206677.
8. Kwiecien, I.; Stelmaszczyk-Emmel, A.; Polubiec-Kownacka, M.; Dziedzic, D.; Domagala-Kulawik, J. Elevated regulatory T cells, surface and intracellular CTLA-4 expression and interleukin-17 in the lung cancer microenvironment in humans. *Cancer Immunol Immunother* **2017**, *66*, 161-170, doi:10.1007/s00262-016-1930-6.
9. Osinska, I.; Stelmaszczyk-Emmel, A.; Polubiec-Kownacka, M.; Dziedzic, D.; Domagala-Kulawik, J. CD4+/CD25(high)/FoxP3+/CD127- regulatory T cells in bronchoalveolar lavage fluid of lung cancer patients. *Hum Immunol* **2016**, *77*, 912-915, doi:10.1016/j.humimm.2016.07.235.
10. Kwiecien, I.; Polubiec-Kownacka, M.; Dziedzic, D.; Wolosz, D.; Rzepecki, P.; Domagala-Kulawik, J. CD163 and CCR7 as markers for macrophage polarization in lung cancer microenvironment. *Cent Eur J Immunol* **2019**, *44*, 395-402, doi:10.5114/ceji.2019.92795.
11. Domagala-Kulawik, J.; Osinska, I.; Hoser, G. Mechanisms of immune response regulation in lung cancer. *Transl Lung Cancer Res* **2014**, *3*, 15-22, doi:10.3978/j.issn.2218-6751.2013.11.03.
12. Whiteside, T.L. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. *Oncogene* **2008**, *27*, 5904-5912, doi:10.1038/onc.2008.271.
13. Baghban, R.; Roshangar, L.; Jahanban-Esfahlan, R.; Seidi, K.; Ebrahimi-Kalan, A.; Jaymand, M.; Kolahian, S.; Javaheri, T.; Zare, P. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. *Cell Commun Signal* **2020**, *18*, 59, doi:10.1186/s12964-020-0530-4.

14. Ribeiro Franco, P.I.; Rodrigues, A.P.; de Menezes, L.B.; Pacheco Miguel, M. Tumor microenvironment components: Allies of cancer progression. *Pathol Res Pract* **2020**, *216*, 152729, doi:10.1016/j.prp.2019.152729.
15. Mao, X.; Xu, J.; Wang, W.; Liang, C.; Hua, J.; Liu, J.; Zhang, B.; Meng, Q.; Yu, X.; Shi, S. Crosstalk between cancer-associated fibroblasts and immune cells in the tumor microenvironment: new findings and future perspectives. *Mol Cancer* **2021**, *20*, 131, doi:10.1186/s12943-021-01428-1.
16. Meacham, C.E.; Morrison, S.J. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature* **2013**, *501*, 328-337, doi:10.1038/nature12624.
17. Marjanovic, N.D.; Weinberg, R.A.; Chaffer, C.L. Cell plasticity and heterogeneity in cancer. *Clin Chem* **2013**, *59*, 168-179, doi:10.1373/clinchem.2012.184655.
18. Guibert, N.; Pradines, A.; Favre, G.; Mazieres, J. Current and future applications of liquid biopsy in nonsmall cell lung cancer from early to advanced stages. *Eur Respir Rev* **2020**, *29*, doi:10.1183/16000617.0052-2019.
19. McKinnon, K.M. Flow Cytometry: An Overview. *Curr Protoc Immunol* **2018**, *120*, 5 1 1-5 1 11, doi:10.1002/cpim.40.
20. Chcialowski, A.; Chorostowska-Wynimko, J.; Fal, A.; Pawlowicz, R.; Domagala-Kulawik, J. [Recommendation of the Polish Respiratory Society for bronchoalveolar lavage (BAL) sampling, processing and analysis methods]. *Pneumonol Alergol Pol* **2011**, *79*, 75-89.
21. Herth, F.J.; Rabe, K.F.; Gasparini, S.; Annema, J.T. Transbronchial and transoesophageal (ultrasound-guided) needle aspirations for the analysis of mediastinal lesions. *Eur Respir J* **2006**, *28*, 1264-1275, doi:10.1183/09031936.00013806.
22. Szlubowski, A.; Kuzdzal, J.; Pankowski, J.; Obrochta, A.; Soja, J.; Hauer, J.; Kolodziej, M.; Zielinski, M. [Ultrasound guided transbronchial needle aspiration as a diagnostic tool for lung cancer and sarcoidosis]. *Pneumonol Alergol Pol* **2008**, *76*, 229-236.

4.3.5. W załączeniu do Wniosku przewodniego i w nawiązaniu do punktu 4. tj. **Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce** przedkładam:

- Załącznik nr A2: „Analiza bibliometryczna” sporządzona przez Bibliotekę Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego zawierająca dokument pt. „Cykl publikacji stanowiących osiągnięcia naukowe”
- Załącznik nr A3: Publikacje wchodzące w skład cyklu
- Załącznik nr A4: Oświadczenia autora i współautorów o indywidualnym wkładzie autorskim w powstawanie publikacji

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

**5.1. Analiza bibliometryczna sporządzona przez Bibliotekę Naukową Wojskowego Instytutu Medycznego w dniu 11.04.2023.** (Załącznik A2: „Analiza bibliometryczna”)

Punktowa ocena dorobku naukowego zgodnie z analizą bibliometryczną:

Łączna punktacja (bez cyklu prac stanowiących osiągnięcia naukowe):

IF = 113.287;

MNiSW = 2 406;

w tym po uzyskaniu stopnia doktora (bez cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe):

IF = 102.291;

MNiSW = 2 225.

Łączna punktacja jako pierwszy autor (bez cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe, 5 oryginalnych, 1 przeglądowa) po uzyskaniu stopnia doktora:

IF = 27,025;

MNiSW = 620.

**DOROBK NAUKOWY OGÓŁEM** (przed i po uzyskaniu stopnia doktora)

Rodzaj publikacji	Liczba prac	Wskaźnik IF	Punktacja MNiSW/MEiN
Publikacje	33	113.287	2 406
Monografie		-	
Rozdziały w monografiach		-	
Streszczenia zjazdowe krajowe	4	-	-
Streszczenia zjazdowe międzynarodowe	31	-	-
<b>Razem</b>	<b>68</b>	<b>113.287</b>	<b>2 406</b>

**PARAMETRY NAUKOMETRYCZNE DOROBKU PUBLIKACYJNEGO**

Ogólna liczba publikacji pełnotekstowych punktowanych **33** : w tym przed doktoratem: **11**, po uzyskaniu stopnia doktora: **22**

**Liczba punktów MNiSW/MEiN** uzyskanych przed doktoratem: **181**, po uzyskaniu stopnia doktora: **2 225**, ogółem: 2 406

**Liczba punktów Impact Factor (IF)** uzyskanych przed doktoratem: **10.896**, po uzyskaniu stopnia doktora: **102.391**, ogółem: 113.287 (bez prac wchodzących w cykl publikacji)

Monografia naukowa: 0, rozdziały w monografiach w języku polskim: 0

Streszczenia polskie: 4, zagraniczne: 41

**Parametry naukometryczne dorobku publikacyjnego z dn. 11.04.2023r.:**

**Łączna suma cytowań publikacji naukowych: 172 , w tym bez autocytowań – 146**

Informacja o posiadanym indeksie **Hirscha; h – index: 8**

Źródło: Baza *Web of Science™ Core Collection of Science*; baza Expertus – Analiza bibliometryczna publikacji WIM: <http://www.bn.wim.mil.pl/new/bib/>

*Załącznik nr A2: „Analiza bibliometryczna” sporządzona przez Bibliotekę Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego*

**5.2. Publikacje naukowe nie wchodzące w skład prezentowanego osiągnięcia naukowego, będące efektem współpracy naukowej z innymi instytucjami naukowymi krajowymi i europejskimi**

Omówienie głównych kierunków badawczych nie wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego.

Poza cyklem czterech prac składających się na prezentowane osiągnięcie naukowe, w kręgu moich zainteresowań naukowych znalazły się poniższe zagadnienia:

- 5.2.1. Wykorzystanie cytometrii przepływowej w innych choroba płuc, ze szczególnym uwzględnieniem sarkoidozy
- 5.2.2. Wielokolorowa cytometria przepływowa w diagnozowaniu chory z SARS-Cov-2
- 5.2.3. Prace porównawczo - metodologiczne
- 5.2.4. Ocena profilu komórkowego w raku płuca z wykorzystaniem innych niż cytometria przepływowa metod badawczych
- 5.2.5. Profil komórkowy u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym
- 5.2.6. Wykorzystanie cytometrii przepływowej u pacjentów chorych na raka płuca – inne prace
- 5.2.7. Pozostałe prace

Ad 5.2.1. Wykorzystanie cytometrii przepływowej w innych choroba płuc, ze szczególnym uwzględnieniem sarkoidozy

Lp.	Opis bibliograficzny pracy: autor, tytuł, czasopismo	IF	MNiSW /MEiN
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	Rutkowska E., <b>Kwiecień I.</b> , Bednarek I., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P. Role of fibrocytes and endothelial progenitor cells among low-differentiated CD34+ cells in the progression of lung sarcoidosis. BMC Pulmonary Med. 2020 : Vol. 20, s. e306, 1-10.	3.317	100
2.	Rutkowska E., <b>Kwiecień I.</b> , Bednarek J., Sokołowski R., Raniszewska A., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P. T lymphocyte maturation profile in the EBUS-TBNA lymph node depending on the dlco parameter in patients with pulmonary sarcoidosis. Cells2021 : Vol. 10, nr 12, s. e3404, 1-12.	7.666	140

Badania opierające się na wykorzystaniu cytometrii przepływowej u chorych z sarkoidozą zaowocowały opublikowaniem dwóch prac oryginalnych. Prace te powstały w ramach dwóch projektów naukowych finansowanych ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego. Projekty realizowane były we współpracy z Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego.

- 2016-2018 *Immunofenotypowa charakterystyka komórek CD34+ obecnych we krwi obwodowej u chorych z sarkoidozą*. Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii. Projekt zakończony/rozliczony. (ID 415) Wojskowy Instytut Medyczny. Projekt ten rozpoczął się przed moim zatrudnieniem w Wojskowym Instytucie Medycznym – Państwowym Instytucie Badawczym, natomiast po moim zatrudnieniu w latach 2017-2018 byłam odpowiedzialna za wykonywanie większości oznaczeń cytometrycznych w ww. projekcie oraz analiz danych z cytometru przepływowego.

- 2020-2022 *Komórkowa charakterystyka węzłów chłonnych śródpiersia chorych na raka płuca lub sarkoidozę płucną z wykorzystaniem przezoskrzelowej biopsji węzła pod kontrolą wewnątrzoskrzelowej ultrasonografii EBUS/TBNA*. Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii. Projekt zakończony/rozliczony. (ID 559) Wojskowy Instytut Medyczny. Funkcja: Główny wykonawca

W tym projekcie pełniłam rolę głównego badacza. Moja rola polegała na wykonaniu wszystkich oznaczeń cytometrycznych. Byłam odpowiedzialna za kierowanie projektem oraz za koncepcje badania.

Sarkoidoza jest uogólnioną, wielonarządową chorobą, charakteryzującą się powstawaniem nieserowaciejących ziarniniaków. Najczęstsza lokalizacja w sarkoidozie (u 80–90% chorych) dotyczy płuc i węzłów chłonnych wewnątrz klatki piersiowej. Sarkoidozę rozpoznaje się na podstawie obrazu klinicznego i wykazaniu w badaniu histopatologicznym nieserowaciejących ziarniniaków. Sarkoidoza jest jedną z najczęstszych śródmiąższowych chorób płuc.

W diagnostyce sarkoidozy niezwykle przydatna okazuje się wykorzystanie wielokolorowej cytometrii przepływowej we krwi oraz wewnątrzoskrzelowa ultrasonografia z biopsją przezoskrzelową (EBUS/TBNA, ang. *endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration*) na podstawie której możliwe jest zbadanie powiększonych węzłów chłonnych śródpiersia oraz zmian rozsianych w płucach.

Celem pierwszej pracy było poznanie immunofenotypu populacji komórek CD34+ krwi obwodowej u chorych z nowo rozpoznaną sarkoidozą. Materiałem wykorzystanym do badania była krew żylna. Zastosowano selekcję komórek CD34+ metodą immunomagnetyczną oraz metodę wieloparametrowej cytometrii przepływowej do identyfikacji komórek z użyciem cytometru przepływowego w Pracowni Hematologii i Cytometrii Przepływowej, Kliniki Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. Wykonano badania na materiale kontrolnym (zdrowi ochotnicy) oraz przeprowadzono procedurę badania na fibroblastach uzyskanych z hodowli komórkowej w celu potwierdzenia poprawności wykonania badania i doboru przeciwciał. Na podstawie immunofenotypowej charakterystyki komórek CD34+ krwi obwodowej zarówno u pacjentów z sarkoidozą jak i u osób zdrowych oceniono populację nieodróżnionych komórek macierzystych CD34+ CD133+ CD38-, komórek progenitorowych głównych linii hematopoetycznych, fibrocytów oraz komórek śródbłonna.

W drugiej pracy celem była komórkowa charakterystyka węzłów chłonnych (LNs, ang. *lymph nodes*) na podstawie oceny profilu dojrzewania limfocytów T CD4+ i CD8+ oraz jego związku z ciężkością choroby wyrażoną pojemnością dyfuzyjną płuc dla tlenu węgla (DLCO, z ang. *diffusion lung capacity*

*for carbon monoxide*). Aspiraty LNs uzyskano podczas procedury EBUS/TBNA, a komórki analizowano metodą cytometrii przepływowej.

Badaniem objęto chorych hospitalizowanych w Klinice Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii, Alergologii i Immunologii Klinicznej, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. Zastosowano wieloparametrową analizę metodą 13-kolorowej cytometrii przepływowej z użyciem aparatu 3-laserowego w Pracowni Hematologii i Cytometrii Przepływowej Kliniki Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego.

Na podstawie immunofenotypowej charakterystyki komórek pochodzących z hodowli komórkowej, potwierdzono poprawność działania testu. Pochodzące z hodowli fibroblasty wykazały dodatnią wewnątrzkomórkową ekspresję badanego antygenu: kolagen-1+. Na podstawie immunofenotypowej charakterystyki komórek CD34+ krwi obwodowej zarówno u pacjentów z sarkoidozą jak i u osób zdrowych stwierdzono dominującą populację niezróżnicowanych komórek macierzystych: CD34+ CD133+ CD38-. Wśród komórek progenitorowych hematopoetycznych dominującą populacją komórek były mieloblasty: CD34+ CD117+ HLA-DR+ CD33+. Zarówno u pacjentów z sarkoidozą, jak i w grupie kontrolnej nie stwierdzono obecności fibrocytów. Stwierdzono istotnie wyższy odsetek komórek niskozróżnicowanych oraz komórek śródbłonna u chorych na sarkoidozę w porównaniu do grupy kontrolnej. U obu grup, wśród komórek hematopoetycznych dominowała populacja linii mieloidalnej, komórki linii limfoidalnej wykazywały fenotyp świadczący o niskim stopniu zróżnicowania: CD34+ CD19- CD22+.

Kompleksowy charakter zastosowanego panelu przeciwciał monoklonalnych pozwolił na dokładną charakterystykę immunofenotypową analizowanej populacji komórek CD34+, określenie stopnia ich zróżnicowania w ukierunkowane komórki oraz ocenę zależności między uzyskanymi subpopulacjami. Przełożyło się to na identyfikację tych antygenów, które w najlepszy sposób opisują analizowaną populację, co w przyszłości może pomóc w opracowaniu panelu przeciwciał do rutynowego oznaczania ww. komórek u chorych z sarkoidozą. Uzyskane wyniki stanowią podstawę do kontynuacji badań w zakresie oceny wykorzystania oznaczeń populacji komórek CD34+ w rozpoznawaniu, monitorowaniu i prognozowaniu chorych na sarkoidozę w grupach uwzględniających stopień zaawansowania choroby i charakter stosowanej terapii.

W drugiej pracy wykazano niższą medianę odsetka limfocytów T, limfocytów T CD4+ oraz limfocytów CD8+ w LNs u pacjentów z sarkoidozą z DLCO < 80% niż u pacjentów z prawidłową dyfuzją (DLCO > 80%). Pacjenci z DLCO < 80% mieli niższą medianę odsetka efektorowych limfocytów T i wyższą medianę odsetka centralnych limfocytów T pamięci CD4+ oraz CD8+ niż pacjenci z DLCO > 80%.

W tej pracy po raz pierwszy wykazano, że wykrywanie prezentowanych subpopulacji limfocytów T w LNs z użyciem cytometrii przepływowej może być istotnym badaniem w sarkoidozie. Limfocyty odgrywają wiodącą rolę w regulacji układu odpornościowego w powstawaniu ziarninaków w sarkoidozie, ale wciąż niewiele wiadomo na temat roli profilu dojrzewania w rozwoju zmian zapalnych. Rozpoznanie profilu limfocytów T może pomóc w diagnozowaniu pacjentów z chorobami płuc a w przyszłości może pomóc w skuteczności leczenia sarkoidozy. Po raz pierwszy stwierdzono, że dojrzewanie limfocytów T w LNs zarówno CD4+ jak i limfocytów CD8+ różni się w zależności od wartości DLCO w sarkoidozie. Wykazano, że mikrośrodowisko choroby w istotny sposób zaburza prawidłowe funkcjonowanie komórek, i wpływa na charakterystyczny profil komórkowy w chorobach płuc.

Wyniki były również prezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych, szczegóły w punkcie 5.3. *Wystąpienia krajowe i międzynarodowe*).

Ad 5.2.2. Wielokolorowa cytometria przepływowa w diagnozowaniu chorych z SARS-Cov-2

Lp.	Opis bibliograficzny pracy: autor, tytuł, czasopismo	IF	MNiSW /MEiN
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	<b>Kwiecień I.</b> , Rutkowska E., Kłos K., Wiśnik-Szewczyk E., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P., Chciałowski A. Maturation of T and B lymphocytes in the assessment of the immune status in COVID-19 patients. <i>Cells</i> 2020 : Vol. 9, nr 12, s. e2615, 1-16.	6.600	140
2.	Rutkowska E., <b>Kwiecień I.</b> , Kulik K., Chelstowska B., Kłos K., Rzepecki P., Chciałowski A. Usefulness of the new hematological parameter: reactive lymphocytes RE-LYMP with flow cytometry markers of inflammation in COVID-19. <i>Cells</i> 2021 : Vol. 10, nr 1, s. e82, 1-18.	7.666	140
3.	Rutkowska E., <b>Kwiecień I.</b> , Żabicka M., Maliborski A., Raniszewska A., Kłos K., Urbańska W., Klajniewicz I., Rzepecki P., Chciałowski A. Cytokines and leukocyte subpopulations profile in SARS-CoV-2 patients depending on the CT score severity. <i>Viruses</i> 2021 : Vol. 13, nr 5, s. e880, 1-18.	5.818	100
4.	<b>Kwiecień I.</b> , Rutkowska E., Kulik K., Kłos K., Plewka K., Raniszewska A., Rzepecki P., Chciałowski A. Neutrophil maturation, reactivity and granularity research parameters to characterize and differentiate convalescent patients from active SARS-CoV-2 infection. <i>Cells</i> 2021 : Vol. 10, nr 9, s. e2332, 1-18.	7.666	140
5.	Rutkowska E., <b>Kwiecień I.</b> , Kłos K., Rzepecki P., Chciałowski A. Intermediate monocytes with PD-L1 and CD62L expression as a possible player in active SARS-CoV-2 infection. <i>Viruses</i> 2022 : Vol. 14, nr 4, s. e819, 1-17.	5.818	100

W swojej działalności naukowej koncentruję się na kompleksowym rozwoju obecnej wiedzy w zakresie cytometrii przepływowej głównie w dziedzinie onkologii, skupiając się na raku płuca. W ostatnim czasie ze względu na epidemię wirusa SARS-CoV-2 (ang. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) nabrało to szczególnego znaczenia ze względu na możliwość wykorzystania tej metody badawczej również w przebiegu COVID-19 (ang. *coronavirus disease 2019*).

Badania prowadzone w czasie pandemii COVID-19 zaowocowały 5 publikacjami. W dwóch z nich jestem pierwszym autorem, w pozostałych trzech miałam kluczowy udział w powstaniu pracy związany z opracowaniem koncepcji i założeń badania, wykonywaniu i interpretacji wszystkich wyników badania z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej, analizie i interpretacji

danych, wykonaniu wyliczeń statystycznych oraz analiz graficznych, pisanu manuskryptu, opracowaniu ostatecznej wersji manuskryptu.

Pełniłam również role głównego badacza oraz współbadacza w dwóch projektach finansowanych ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego. Projekty realizowane były we współpracy z Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii oraz z Kliniką Chorób Infekcyjnych i Alergologii, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego.

- 2021-2022 *Charakterystyka komórek kluczowych dla odpowiedzi układu odpornościowego i ocena nowych parametrów hematologicznych u pacjentów z COVID.* Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii. Projekt zakończony. Funkcja: główny wykonawca. (ID 585) Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy.

- 2022-2023 *Ocena wpływu ciężkiego zakażenia płuc w przebiegu infekcji wirusem SARS-CoV-2 na układ oddechowy oraz jakość życia, połączona z analizą kosztów choroby.* Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii. Aktualnie realizowany. Funkcja: Współbadacz. (ID 592) Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy.

Jestem pierwszym autorem i współautorem cyklu oryginalnych publikacji pt. *Profil komórkowo-cytokinowy oraz ocena nowych parametrów diagnostycznych u pacjentów z COVID-19 z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i analizatora hematologicznego.*

Celem prac było: określenie profilu komórkowo-cytokinowego, w tym dojrzewania limfocytów B i T oraz wykorzystanie nowego parametru hematologicznego: reaktywnych limfocytów (RE-LYMP), w grupie chorych z zapalenia płuc w przebiegu COVID-19 o różnym stopniu nasilenia, ocenianym na podstawie tomografii komputerowej (TK) oraz zmian w RTG klatki piersiowej.

Dodatkowo poddano ocenie przydatność nowych parametrów aktywacji neutrofili oraz przeanalizowano subpopulacje monocytów z ekspresją cząsteczek PD-L1, CD62L, TIM-3 i CD86 w celu odróżnienia pacjentów rekonwalescencyjnych od pacjentów z aktywnym zakażeniem SARS-CoV-2 i zdrową kontrolą (HC, ang. *healthy control*). Została oceniona komórkowość materiału oraz nowe parametry hematologiczne: : niedojrzałe granulocyty (IG), intensywność reaktywności neutrofili (NEUT-RI), intensywność ziarnistości neutrofili (NEUT-GI) oraz dane dotyczące ziarnistości, aktywności i objętość neutrofili (NE-WX, NE-WY, NE-WZ) z wykorzystaniem aparatu hematologicznego Sysmex XN-1500. Następnie materiał został poddany wieloparametrowej analizie metodą 8-kolorowej cytometrii przepływowej z użyciem aparatu BD FACS Canto II (Pracownia Hematologii i Cytometrii Przepływowej, Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy). Materiałem do badania była krew obwodowa od pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chorób Infekcyjnych i Alergologii oraz Klinice Chorób Infekcyjnych i Alergologii, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego.

Zaobserwowano niższy odsetek subpopulacji limfocytów, wyższy stosunek neutrofili do limfocytów (NLR) oraz wyższe stężenie IL-6 w grupie o bardzo ciężkim przebiegu COVID-19 w porównaniu z grupą o ciężkim przebiegu. Nasilenie zmian w TK ujemnie korelowało z odsetkiem limfocytów, limfocytów T, komórek CD4+, Tregs i NK, a dodatnio z odsetkiem neutrofili, NLR i IL-6. W grupie o bardzo ciężkim przebiegu zaobserwowano istotne korelacje między cytokinami a limfocytami, głównie między subpopulacjami limfocytów T i TNF- $\alpha$  oraz IL-1 $\beta$ . Występował znacznie wyższy odsetek plazmoblastów i zmniejszony odsetek limfocytów CD4+ u chorych RTG(+)

w porównaniu z chorymi RTG(-) i z grupą kontrolną. U chorych RTG(+) obserwowano obniżony odsetek efektorowych limfocytów T CD4+, naiwnych limfocytów T CD8+ i wyższy odsetek limfocytów centralnych CD4+ pamięci oraz efektorowych limfocytów T CD8+ w porównaniu z grupą kontrolną. Dodatkowo oceniono RE-LYMP i jego związek z markerami aktywacji limfocytów u chorych z COVID-19 oraz u pacjentów z innymi zakażeniami wirusowymi i zdrowych dawców krwi. W grupie chorych z COVID-19(+) obserwowano obniżenie RE-LYMP w porównaniu z grupą chorych z innymi zakażeniami wirusowymi. Występował także wyższy odsetek plazmablastów i niższy odsetek komórek CD4+, CD38+ w porównaniu z pozostałymi grupami. W grupie COVID-19(+) obserwowano istotne korelacje z limfocytami T CD25+ i CD45RO+. Zaobserwowano leukopenię z neutrofilią u pacjentów z czynną infekcją w porównaniu z rekonwalescentami i HC. Mediana bezwzględnej liczby IG była wyższa u pacjentów powracających do zdrowia niż w przypadku pacjentów z aktywnym zakażeniem COVID-19 i HC. Wartość parametru NEUT-RI była najwyższa w HC, a najniższa u rekonwalescentów. Najwyższy odsetek parametrów NE-WX, NE-WY i NE-WZ zaobserwowano w HC, bez różnic między grupami: pacjenci z aktywnym zakażeniem COVID-19 i rekonwalescencji.

Dodatkowo przeanalizowano subpopulacje monocytów u pacjentów chorych na COVID-19. Monocyty odgrywają rolę w biologii wirusów, jednak niewiele wiadomo na temat subpopulacji monocytów w przebiegu choroby COVID-19. Liczba i odsetek monocytów były niższe u pacjentów z aktywną chorobą COVID-19 niż u rekonwalescentów. Zaobserwowano niższy odsetek nieklasycznych monocytów u pacjentów z COVID-19 niż u rekonwalescentów. U pacjentów z COVID-19 występował wyższy odsetek PDL-1-dodatnich pośrednich monocytów niż u pacjentów po rekonwalescencji. Zauważono wyższą średnią geometryczną intensywność fluorescencji (GeoMean, z ang. *geometric mean fluorescence*) PD-L1 na pośrednich monocytach u pacjentów z COVID-19 niż u pacjentów rekonwalescencyjnych oraz wyższy odsetek monocytów CD62L-dodatnich u pacjentów z COVID-19 w porównaniu z rekonwalescentami. Znalaziono wyższą wartość GeoMean CD62L na monocytach u pacjentów z COVID-19 niż u rekonwalescentów.

W cyklu prac wykazano przydatność oceny nowego parametru RE-LYMP wraz z markerami aktywacji na limfocytach ocenianymi z wykorzystaniem cytometrii przepływowej w identyfikacji i odróżnianiu chorych z COVID-19 w przebiegu zakażenia SARS-CoV-2 od zakażonych innymi wirusami i zdrowych dawców. Stwierdzono, że ocena dojrzewania limfocytów B i T za pomocą cytometrii przepływowej pozwala na rozróżnienie chorych z COVID-19 ze zmianami zapalnymi i bez zmian zapalnych w płucach. Dodatkowo wykazano, że zbiorcza ocena profilu cytokin, subpopulacji limfocytów i ocena nasilenia zmian w TK płuc, może pomóc scharakteryzować i zróżnicować chorych z zaawansowanym COVID-19 lepiej i szybciej w stosunku do badania pojedynczych parametrów.

Ponadto wykazano przydatność oceny nowych parametrów aktywacji neutrofilii wraz z subpopulacjami monocytów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i analizatora hematologicznego w identyfikacji i odróżnianiu chorych z aktywnym COVID-19 w przebiegu zakażenia SARS-CoV-2 od rekonwalescentów i zdrowych dawców.

Stwierdzono, że badanie dynamiki zmian neutrofilii podczas wrodzonej odpowiedzi immunologicznej w COVID-19 może pomóc w zrozumieniu patogenety tej choroby. Wykazano że ww. parametry związane z neutrofilami mogą być użytecznym narzędziem do oceny aktywności neutrofilii i funkcji w odpowiedzi immunologicznej podczas infekcji i powrotu do zdrowia po chorobie COVID-19.

Dodatkowo wykazano, że ocena podgrup monocytów PD-L1- i CD62L-dodatnich może identyfikować pacjentów z możliwą predyspozycją do szybkiego powrotu do zdrowia. Monitorowanie podzbiorów monocytów we krwi obwodowej może być użytecznym testem u pacjentów z COVID-19.

Wyniki były również prezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych, szczegóły przedstawiam w punkcie 5.3. *Wystąpienia krajowe i międzynarodowe.*

#### Ad 5.2.3. Prace porównawczo - metodologiczne

Lp.	Opis bibliograficzny pracy: autor, tytuł, czasopismo	IF	MNiSW /MEiN
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	Kulik K., <b>Kwiecień I.</b> , Chelstowska B., Rutkowska E., Rzepecki P. Evaluation and comparison of the new Mindray BC-6200 hematology analyzer with ADVIA 2120i. Int. J. Lab.Hematol. 2021 : Vol. 43, nr 3, s. 395-402.	3.450	70
2.	Gajewska M., Rutkowska E., <b>Kwiecień I.</b> , Rzepecki P., Sułek K. Analysis of argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in acute leukemia in adults. Diagnostics 2022 : Vol. 12, nr 4, s. e832.	3.992	100
3.	Gajewska M., Rutkowska E., <b>Kwiecień I.</b> , Rzepecki P., Sułek K. Can AgNOR counts and configuration predict complete remission in adult acute myelogenous leukemia patients? Lekarz Wojskowy. 2022;100(3):177–180;10.53301/lw/151583	-	20
4.	Gajewska M., <b>Kwiecień I.</b> , Rutkowska E., Rzepecki P., Sułek K. AgNOR patterns and configurations in adult acute leukemia patients. Cent Eur J Immunol 2022; 47 (4): 323-331.	1.634	70
5.	Krzywdzińska A., Puła B., Czyż A., Krzymieniewska B., Kiernicka-Parulska J., Mierzwa A., Szymczak D., Milanowska A., Kiraga A., <b>Kwiecień I.</b> , Zaleska J., Jamroziak K. Harmonization of flowcytometric minimal residual disease assessment in multiple myeloma in centers of Polish Myeloma Consortium. Diagnostics 2021 : Vol. 11, nr 10, s. e1872, 1-16.	3.992	70

Powyższe prace które zaklasyfikowałam do prac porównawczo-metodologicznych, powstały po obronie tytułu doktora nauk medycznych i wynikają z mojej współpracy naukowej wewnętrznej i międzyośrodkowej.

W pierwszej pracy przeprowadzono porównanie dwóch analizatorów hematologicznych Mindray BC-6200 i ADVIA 2120i na podstawie oceny 390 próbek krwi pełnej pobranej na K<sub>3</sub>EDTA. W przypadku analizatora BC-6200 oceniono efekt przeniesienia, precyzję i liniowość. 138 próbek użyto do oceny czułości i nieprawidłowości tzw. „flag”, które sugerują obecność nieprawidłowych komórek, takich jak blasty, niedojrzałe granulocyty lub atypowe limfocyty. Wyniki oznaczania porównano

z mikroskopową oceną rozmazów krwi obwodowej. Analizator BC-6200 wykazał wysoką korelację z analizatorem ADVIA 2120i dla większości porównywanych parametrów z wyjątkiem RDW, MPV, Mon#, Baso# i NRBC. BC-6200 miał lepszą korelację z oceną mikroskopową dla NRBC w porównaniu z ADVIA 2120i. BC-6200 wykazał wysoką skuteczność w wykrywaniu blastów, niedojrzałych granulocytów i atypowych limfocytów. Podsumowując wykazano, że analizator hematologiczny Mindray BC-6200 zapewnia wysoką precyzję pomiarów i dobrą korelację z ADVIA 2120i dla większości parametrów morfologicznych i 5-diff.

Brałam również udział w powstawaniu cyklu trzech kolejnych prac dotyczących barwienia AgNOR w chorobach hematologicznych. Region organizujący jąderko (NOR) jest segmentem chromosomowym, w którym znajdują się geny dla głównych rybosomowych RNA u ssaków. Technika barwienia amoniakalnym srebrem stała się powszechną metodą wykrywania miejsc chromosomowych zawierających regiony organizatorów jąderkowych i swoistych białek zasocjowanych z genami dla rRNA. Wybarwione srebrem NOR określa się jako AgNOR. Szczególne zainteresowanie wzbudza występowanie i zmiany ekspresji AgNOR w chorobach nowotworowych i hematologii. Liczba regionów organizatora jąderka argyrofilnego (AgNOR, z ang. *argyrophilic nucleolus organizer regions*) jest związana z aktywnością proliferacyjną komórek i stopniem transformacji nowotworowej. Pole powierzchni AgNOR w zależności od struktury jądrowej może być predyktorem nawrotu nowotworu, podczas gdy badania nad ostrymi białaczkami są rzadkie.

W pierwszej opublikowanej pracy aspiraty szpiku kostnego od 70 pacjentów z ostrą białaczką poddano ocenie morfologicznej, immunofenotypowej i genetycznej oraz barwiono azotanem srebra. W komórkach białaczkowych obliczono średnią liczbę AgNOR, średnią powierzchnię AgNOR i średni stosunek powierzchni AgNOR do powierzchni jądra u pacjentów z ostrą białaczką szpikową (AML, z ang. *acute myeloid leukemia*), pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL, ang. *acute lymphoblastic leukemia*) i wybranych grup ryzyka. Wyższą wartość wszystkich mierzonych parametrów AgNOR zaobserwowano u pacjentów z AML w porównaniu z grupą ALL. U pacjentów z AML wyższy średni obszar AgNOR stwierdzono w grupie cytogenetycznej ELN3 w porównaniu z grupą cytogenetyczną ELN2. Wyższą wartość średniej liczby AgNOR obserwowano u pacjentów z krwinkami białymi (WBC)  $> 12 \times 10^9/l$  niż w grupie z leukocytami  $\leq 12 \times 10^9/l$ , a także u pacjentów z ilością blastów  $> 20\%$  niż u pacjentów z ilością blastów  $\leq 20\%$ . W grupie ALL wyższy średni stosunek powierzchni AgNOR do powierzchni jądra stwierdzono w grupie z obecnością chromosomu Philadelphia Ph(+) niż bez chromosomu Philadelphia Ph(-). Na tej podstawie wyciągnięto wnioski, że analiza parametrów AgNOR jest cenną metodą różnicowania AML i ALL u dorosłych.

W drugiej pracy z tego cyklu, wykonano analizę AgNOR u pacjentów z AML w celu zweryfikowania roli parametrów AgNOR w przewidywaniu całkowitej remisji (CR, z ang. *complete remission*). Aspiraty szpiku kostnego od pacjentów z AML barwiono azotanem srebra i poddano ocenie morfologicznej, immunofenotypowej i genetycznej. Dla każdego przypadku obliczono średnią liczbę AgNOR, średnią powierzchnię AgNOR i średni stosunek powierzchni AgNOR do powierzchni jądra. Po terapii indukcyjnej pacjenci, u których uzyskano CR, zostali poddani intensywnemu leczeniu konsolidującemu. Piętnastu pacjentów przeszło allogeniczny przeszczep szpiku kostnego. Wyższy średni stosunek powierzchni AgNOR do powierzchni jądra stwierdzono w grupie ze statusem CR.

W ostatniej pracy z cyklu prac dotyczących oceny i zastosowania barwienia AgNOR wykazano, czy ocena parametrów AgNOR jest przydatna w różnicowaniu ostrych białaczek i wraz ze zmianami cytogenetycznymi pozwoli na szybką ocenę grupy ryzyka. Struktury AgNOR analizowano pod kątem kształtu, pola powierzchni i rozmieszczenia w komórkach blastycznych szpiku kostnego u pacjentów z ostrymi białaczkami. Zaobserwowano znaczące różnice w strukturach AgNOR, prostych, złożonych

oraz wzorach złożonych między AML a ALL. Złożone struktury były liczniejsze u pacjentów z ALL niż u pacjentów z AML. Występowały znaczące różnice w rozkładzie wzorów AgNOR wśród różnych cytogenetycznych grup ryzyka AML. Zaobserwowano istotną różnicę w średniej liczbie AgNOR między ALL-T i ALL-B. Wykazano różnorodność w strukturach AgNOR i mapie wzorców w AML i ALL. Pokazano, że ocena różnych konfiguracji AgNOR może być użyteczną metodą różnicowania pacjentów z ostrymi typami białaczek i ryzykiem cytogenetycznym.

Ostatnia praca z listy w której brałam udział i zaliczyłam tę pracę do prac porównawczo/metodologicznych była pracą wieloosrodkową i dotyczyła harmonizacji cytometrycznej oceny minimalnej choroby resztkowej w szpiczaku mnogim w ośrodkach Polskiego Konsorcjum Szpiczakowego.

Status minimalnej choroby resztkowej (MRD, z ang. *minimal residual disease*) jest obecnie uważany za jeden z najważniejszych czynników prognostycznych w szpiczaku mnogim (MM, z ang. *multiple myeloma*), podczas gdy negatywny wynik MRD stał się ważnym punktem końcowym w badaniach klinicznych. W pracy przedstawiono wyniki pierwszego badania oceniającego powtarzalność oceny MRD w MM za pomocą wysokoczułej cytometrii przepływowej w czterech laboratoriach w Polsce. W każdym laboratorium wdrożono protokoły EuroFlow (Konsorcjum EuroFlow zostało powołane w 2006 roku w celu standaryzacji techniki cytometrii przepływowej w diagnostyce i monitorowaniu chorób hematologicznych) do standaryzacji ustawień przyrządów i przygotowania próbek do oceny MRD w MM. W międzylaboratoryjnym badaniu odtwarzalności zbadano 12 próbek szpiku kostnego od pacjentów z MM, które zostały rozproszane i przetworzone w uczestniczących laboratoriach. W badaniu zgodności międzyoperatorskiej pięciu niezależnych operatorów przeanalizowało 13 surowych plików danych cytometrycznych z pomiarów MRD w MM. Badanie międzylaboratoryjne wykazało wysoką 95% ogólną zgodność wyników między laboratoriami. W badaniu międzyoperatorskim 89% zgłoszonych wyników MRD było zgodnych, a największe różnice w interpretacji immunofenotypu odnotowano w odniesieniu do ekspresji CD27, CD45, CD81. W badaniu potwierdzono przydatność i wykonalność protokołu EuroFlow jako wysoce czułej metody oceny MRD w MM. Wyniki międzyośrodkowego badania porównawczego pokazują, że standaryzacja protokołów oceny MRD w MM jest wysoce pożądana w celu poprawy jakości i porównywalności wyników w ramach różnych badań klinicznych i między nimi.

Ad 5.2.4. Ocena profilu komórkowego w raku płuca z wykorzystaniem innych niż cytometria przepływowa metod badawczych

Lp.	Opis bibliograficzny pracy: autor, tytuł, czasopismo	IF	MNiSW /MEiN
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	Domagała-Kulawik J., <b>Kwiecień I.</b> , Pankowski Juliusz, Pasięka-Lis M., Wołosz D., Zielinski M. Elevated Foxp3/CD8 ratio in lung adenocarcinoma metastatic lymph nodes resected by transcervical extended mediastinal lymphadenectomy. Biomed Res. Int. 2017 : Vol. 2017, Art. ID 5185034, s. 1-17.	2.583	25

2. **Kwiecień I.**, Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Wołosz D., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. CD163 and CCR7 as markers for macrophage polarisation in lung cancer microenvironment. 1.415 70

Centr. Eur. J. Immunol. 2019 : T. 44, nr 4, s. 395-402.

Powyższe dwie prace związane są z badaniem raka płuca z wykorzystaniem innych metod niż cytometria przepływowa. Prace te powstały we współpracy wieloosrodkowej, w jednej z nich jestem pierwszym autorem oraz byłam kierownikiem projektu na podstawie którego praca powstała:

- 2014-2015 *Mechanizmy regulacyjne odpowiedzi immunologicznej w raku płuca*. (1WU/PM11D/14) Warszawski Uniwersytet Medyczny. Zakończony/rozliczony. Funkcja: Kierownik grantu.

W powstawaniu ww. dwóch publikacjach miałam wiodącą rolę zarówno w prowadzeniu badań, na podstawie których powstały oraz w pisaniu manuskryptów.

Celem pierwszej pracy była ocena fenotypu limfocytów w węzłach chłonnych chorych na raka płuca w zależności od obecności przerzutów. Zbadano węzły chłonne usunięte w czasie operacji TEMPLA (z ang. *Transcervical Extended Mediastinal Lymphadenectomy*), u pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym (SCC) lub gruczolakorakiem (AD) (grupa A) i bez przerzutów (grupa B). Ekspresję CD4, CD8, CD25, CTLA-4 i Foxp3 oceniono za pomocą barwień immunohistochemicznych.

Celem drugiej pracy było znalezienie różnic między BALF z płuc dotkniętych rakiem (clBALF) i hBALF z przeciwnego, zdrowego płuca, jako kontrola, od tego samego pacjenta, pod względem ich indywidualnej polaryzacji makrofagów i ich korelacji z IL-10 i TGF- $\beta$ . Polaryzacja makrofagów była oceniana za pomocą barwień immunofluorescencyjnych z przeciwciałami anti-CCR7 i CD163 (odpowiednio M1 i M2).

W pierwszej pracy zaobserwowano silne barwienie jądrowe dla Foxp3 w limfocytach i komórkach nowotworowych oraz silną reakcję błonową/cytoplazmatyczną dla CD4 i CD8, ale niską dla CD25 i CTLA-4. Występowały znacznie wyższe proporcje komórek CD8<sup>+</sup> w AD (B) w porównaniu z AD (A) LNs. Stosunek Foxp3/CD8 był wyższy w AD (A) w porównaniu z AD (B). Nie stwierdzono istotnych różnic w ekspresji markerów komórkowych w LNs SCC.

W drugiej pracy znaleziono pięć populacji makrofagów: komórki z pojedynczą reakcją: tylko dla CCR7<sup>+</sup> lub CD163<sup>+</sup>, podwójną reakcją (CCR7<sup>+</sup>CD163<sup>+</sup>), komórki z silniejszą reakcją dla CD163 (CCR7<sup>low</sup>CD163<sup>+</sup>) i komórki z silniejszą reakcją dla CCR7 (CCR7<sup>+</sup>CD163<sup>low</sup>). Główna populacja w clBALF składała się z komórek o fenotypie zbliżonym do M2 (CCR7<sup>low</sup>CD163<sup>+</sup>), podczas gdy w hBALF dominował fenotyp podobny do M1 (CCR7<sup>+</sup>CD163<sup>low</sup>). Mediana proporcji stężenia TGF- $\beta$ 1 była wyższa w supernatancie clBALF i hBALF niż w surowicy.

Podsumowując analiza immunohistochemiczna fenotypu limfocytów w całych węzłach chłonnych wyciętych metodą TEMPLA dostarcza cennych informacji na temat statusu immunologicznego pacjenta z rakiem płuca. Mniejszy odsetek komórek CD8<sup>+</sup> i wyższy stosunek Foxp3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> w przerzutach w porównaniu do LN bez przerzutów w gruczolakoraku może wskazywać na szczególną biologię tego typu raka płuca.

Wyniki uzyskane w drugiej pracy potwierdziły różnice między dwoma kompartmentami płuc: płucem z guzem i płucem zdrowym oraz przydatność analizy BALF w ocenie charakteru miejscowej odpowiedzi immunologicznej. Przedstawiono przydatność metody immunofluorescencyjnej z markerami CCR7 i CD163 w ocenie polaryzacji makrofagów BALF w mikrośrodku raka płuca

z przewagą makrofagów immunosupresyjnych (M2) i znaczeniem TGF- $\beta$ 1 w tym procesie. W dobie poszukiwań biomarkerów do immunoterapii raka płuca to badanie wnosi nowy aspekt.

Ad 5.2.5. Profil komórkowy u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym

Lp.	Opis bibliograficzny pracy: autor, tytuł, czasopismo	IF	MNiSW /MEiN
---- <i>Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:</i>			
1.	Domagała-Kulawik J., <b>Osińska I.</b> , Piechuta A., Bielicki P, Skirecki T. T, B, and NKT Cells in Systemic Inflammation in Obstructive Sleep Apnoea. <i>Mediators Inflamm.</i> 2015 : Vol. 2015, Art. ID 161579, s. 1-7.	3.418	30
---- <i>Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:</i>			
1.	Domagała-Kulawik J., <b>Kwiecień I.</b> , Bielicki P., Skirecki T. Fas-positive lymphocytes are associated with systemic inflammation in obstructive sleep apnea syndrome. <i>Sleep Breath.</i> 2019 : Vol. 23, nr 2, s. 673-678.	2.162	70

W kręgu moich naukowo-badawczych zainteresowań znalazła się również ocena profilu komórkowego pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym. Była to współpraca międzyośrodkowa (szczegóły punkt 5.5. *Współpraca z ośrodkami zewnętrznymi*)

Obturacyjny bezdech senny (OBS, z ang. *Obstructive Sleep Apnoea*) wiąże się ze zmianami w układzie odpornościowym, które mogą prowadzić do poważnych powikłań.

Celem pierwszej pracy była ocena elementów komórkowej odpowiedzi immunologicznej w przebiegu OBS. Oceniono limfocyty krwi obwodowej: limfocyty T, B, NK, NKT, Th, Tc za pomocą cytometrii oraz stężenie adiponektyny, interleukiny 1 $\beta$  i TNF $\alpha$  za pomocą metody ELISA. Skala powikłań OBS została opracowana i wykorzystana do analizy statystycznej.

Celem drugiej pracy było zbadanie populacji limfocytów w OBS z wykorzystaniem cytometrii przepływowej ze szczególnym uwzględnieniem komórek Fas-dodatnich. Zebrano wskaźniki nasilenia OBS, dane dotyczące chorób współistniejących oraz markery stanu zapalnego i zaburzeń metabolicznych. Cytometrię przepływową zastosowano do analizy profilu limfocytów i ekspresji receptorów Fas (CD95). Zmierzone dodatkowo stężenie adiponektyny, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  i sFas.

W pierwszej pracy wykazano, że odsetek limfocytów B i stosunek Th/Tc były istotnie niższe u pacjentów z OBS w porównaniu z grupą kontrolną. Odsetek limfocytów Tc, NK, NKT był wyższy u pacjentów z OBS w porównaniu z osobami zdrowymi i były bardziej wyraźne u pacjentów z zespołem metabolicznym. Stopień powikłań OBS korelował z ogólnoustrojowymi markerami stanu zapalnego i odsetkiem limfocytów B. Wartość wskaźnika adiponektyna/BMI istotnie korelowała ze SpO<sub>2</sub>, CRP, stężeniem TNF- $\alpha$  oraz odsetkiem limfocytów B.

W drugiej pracy wykazano, że proporcje komórek Fas-dodatnich w puli komórek CD4<sup>+</sup> i Fas-dodatnich w puli komórek CD8<sup>+</sup> we krwi pacjentów były istotnie zwiększone u pacjentów z OBS w porównaniu z osobami zdrowymi. Nie stwierdzono korelacji z ciężkością OBS. Jednak proporcja i liczba komórek Fas<sup>+</sup> była podwyższona u pacjentów otyłych, niepalących oraz u pacjentów cierpiących na POChP i nadciśnienie. Wykazano kilka istotnych powiązań komórek Fas<sup>+</sup> z markerami zapalenia ogólnoustrojowego.

Podsumowując, w pierwszej pracy po raz pierwszy przedstawiono udział limfocytów B, NK i komórek NKT w ogólnoustrojowym zapaleniu w przebiegu OBS. Zmiany te są silniejsze u pacjentów z powikłaniami OBS. Ponadto potwierdzono udział adiponektyny w odpowiedzi immunologicznej w OBS. Nowo opracowana skala powikłań OBS okazała się przydatna do oceny często występujących chorób współistniejących z OBS i może stać się użytecznym narzędziem w dalszych badaniach.

Na podstawie drugiej pracy wnioskowano że limfocyty z ekspresją receptora Fas są związane z zapaleniem ogólnoustrojowym w OBS.

#### Ad 5.2.6. Wykorzystanie cytometrii przepływowej u pacjentów chorych na raka płuca

Są to pozostałe prace ściśle związane z rakiem płuca i wykorzystaniem cytometrii przepływowej, których nie włączyłam do cyklu publikacji ze względu na a. brak pierwszego autorstwa, b. wykorzystanie jako materiału badawczego krwi obwodowej, a nie materiału z bezpośredniego środowiska guza, c. charakter pracy (wykluczono prace przeglądowe), d. termin publikacji – publikacja przed obroną tytułu doktora nauk medycznych). Prace te pozostają jednak ściśle związane z głównym kierunkiem moich zainteresowań, czyli cytometrią przepływową w raku płuca.

Lp.	Opis bibliograficzny pracy: autor, tytuł, czasopismo	IF	MNiSW /MEiN
---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	<b>Osińska I.</b> , Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J.. CD4+/CD25high/FoxP3+/CD127- regulatory T cells in bronchoalveolar lavage fluid of lung cancer patients. Hum. Immunol. 2016 : Vol. 77, nr 10, s. 912-915.	2.311	20
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	<b>Kwiecień I.</b> , Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Elevated regulatory T cells, surface and intracellular CTLA-4 expression and interleukin-17 in the lung cancer microenvironment in humans. Cancer Immunol. Immunother. 2017 : Vol. 66, nr 2, s. 161-170.	4.225	30
2.	<b>Kwiecień I.</b> , Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Raniszewska A., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. Blood monocyte subsets with activation markers in relation with macrophages in non-small cell lung cancer. Cancers 2020 : Vol. 12, nr 9, s. e2513, s. 1-13.	6.639	140
3.	Raniszewska A., <b>Kwiecień I.</b> , Sokołowski R., Rutkowska E., Domagała-Kulawik J. Immunomodulatory molecules on lung cancers stem cells from lymph nodes aspirates. Cancers 2020 : Vol. 12, nr 4, s. 1-14.	6.162	140
4.	Raniszewska A., <b>Kwiecień I.</b> , Rutkowska E., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. Lung cancer stem cells-origin, diagnostic techniques and perspective for therapies. Cancers 2021 : Vol. 13, Nr 12, s. e2996, 1-17.	6.575	140

*Praca przeglądowa*

5. **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Raniszewska A., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. Modulation of the immuneresponse by heterogeneous monocytes and dendritic cells in lung cancer. *World J. Clin. Oncol.* 2021 : Vol. 12, nr 11, s. 966-982. 0.480 100

*Praca przeglądowa*

6. Uliński R., **Kwiecień I.**, Domagała-Kulawik J. Lung cancer in the course of COPD-emerging problems today. *Cancers* 2022 : Vol. 14, nr 15, s. e3819, 1-17. 6.575 140

*Praca przeglądowa*

Celem pierwszej pracy (opublikowana przed obroną tytułu doktora nauk medycznych) było porównanie obecności limfocytów T regulatorowych (Tregs, z ang. *T regulatory cells*) w środowisku miejscowego raka płuca z odpowiedzią immunologiczną ogólnoustrojową na podstawie badania BALF i PB pobranych od tego samego pacjenta. Zbadano 35 pacjentów z rakiem płuca. Do identyfikacji Tregs wykorzystano metodę cytometrii przepływowej z panelem odpowiednich przeciwciał monoklonalnych. Zaobserwowano istotnie wyższy odsetek Tregs w BALF niż w PB. Stwierdzono zwiększony udział Tregs u pacjentów z zaawansowaną chorobą oraz w gruczolakoraku. Badanie to potwierdziło przydatność analizy BALF w ocenie odpowiedzi immunologicznej w raku płuca. Wykrywanie Tregs w lokalnym środowisku nowotworu może mieć znaczenie terapeutyczne w indywidualnych wskazaniach do immunoterapii przeciwnowotworowej. Praca ta powstała na podstawie moich badań własnych które stały się podstawą do obrony tytułu doktora nauk medycznych (w styczniu 2017 roku).

Następnie po obronie tytułu doktora nauk medycznych byłam autorem i uczestniczyłam w kolejnych pracach związanych z wykorzystaniem cytometrii przepływowej w raku płuca.

Pierwsza praca dotyczyła poruszonego jeszcze przed obroną stopnia doktora nauk medycznych tematu limfocytów Tregs, które odgrywają ważną rolę w tłumieniu odpowiedzi immunologicznej w raku płuc. Badanie rozszerzono o badanie antygen cytotoksycznych limfocytów T- 4 (CTLA-4, z ang. *cytotoxic T cell antigen 4*), który to jest obecny na limfocytach T, pojawia się po pobudzeniu limfocytu przez antygen. CTLA-4 działa przede wszystkim jako cząsteczka hamująca aktywację limfocytów T, stanowiąc tym samym element negatywnego sprzężenia zwrotnego odpowiedzi odpornościowej. CTLA-4 jest również konstytutywnie wyrażany na Tregs. Natomiast niewiele wiadomo na temat populacji Tregs z dwiema formami CTLA-4: powierzchniową (s) i wewnątrzkomórkową (in) w środowisku raka płuc. Celem pracy było wykrycie elementów regulacji odpowiedzi immunologicznej w raku płuca w trzech kompartmentach: poprzez analizę płynu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BALF) z płuca dotkniętego chorobą nowotworową (clBALF), zdrowego, symetrycznego płuca (hlBALF) oraz krwi obwodowej (PB) pobranych od tego samego pacjenta. Populacje komórek: Tregs, (s)CTLA-4, (in)CTLA-4 Tregs oceniano za pomocą cytometrii przepływowej. Dodatkowo oceniono stężenie IL-17 za pomocą testu ELISA. Zaobserwowano znacznie wyższy odsetek Tregs w clBALF niż w hlBALF lub PB. Mediana proporcji (in)CTLA-4+ Tregs była wyższa w clBALF niż w hlBALF lub PB. Stężenie IL-17 było najwyższe w clBALF. Zaobserwowano istotną korelację między odsetkiem Tregs i (in)CTLA-4+ Tregs a stężeniem IL-17A w clBALF. W badaniu potwierdzono istotne różnice w proporcjach elementów regulatorowych między płucem rakowym a zdrowym i PB oraz przydatność analizy BALF do oceny regulacji odpowiedzi immunologicznej w lokalnym środowisku raka płuca.

W drugiej pracy (po obronie tytułu doktora nauk medycznych), w której jestem pierwszym autorem celem było scharakteryzowanie podtypów monocytów: klasycznych, pośrednich i nieklasycznych z ekspresją markerów powierzchniowych: CD62L, CD11c, CD18, HLA-DR we krwi obwodowej pacjentów z NSCLC w porównaniu ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej. Kolejnym krokiem było znalezienie korelacji między podtypami monocytów a makrofagami w mikrośrodku raka płuca. Zbadano udział makrofagów w dwóch kompartmentach na podstawie badania BALF: z płuca dotkniętego nowotworem (cIBALF – lokalne środowisko nowotworowe) oraz z płuca zdrowego (hIBALF – kontrola wewnętrzna) od każdego pacjenta oraz oceniono relacje między nimi a monocytami w PB. Potwierdzono obecność różnych podtypów monocytów we krwi z przewagą monocytów klasycznych oraz wyższym odsetkiem monocytów klasycznych i pośrednich u chorych na NSCLC niż u osób zdrowych. Zaobserwowano, że monocyty pośrednie z ekspresją CD11c+ i HLA-DR+ korelują z ilością makrofagów w mikrośrodku raka płuca, co może wskazywać na rolę tych komórek w odpowiedzi odpornościowej w TME. Wysoki odsetek monocytów z niską ekspresją CD62L wskazał na udział monocytów w tłumieniu odpowiedzi przeciwnowotworowej. Wykrywanie i monitorowanie przedstawionych podzbiorów monocytów we krwi może być przydatnym testem w raku płuca.

Publikacja ta powstała w ramach grantu międzyośrodkowego finansowanego ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego Wojskowego Instytutu Medycznego (ID:488). Moja rola: Główny Badacz. Projekt rozliczony/zakończony.

W projekcie współpracowałam z dwiema instytucjami zewnętrznymi: z Instytutem Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, z Pracownią Endoskopii oraz z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, Katedrą i Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii.

Kolejne dwie prace, w których uczestniczyłam i byłam drugim autorem, opierały się na ocenie komórek macierzystych raka płuca w aspiratach węzłów chłonnych z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Prace te powstały we współpracy międzyośrodkowej z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym.

W ciągu ostatniej dekady inhibitory immunologicznego punktu kontrolnego zrewolucjonizowały leczenie niedrobnokomórkowego raka płuca. Niestety, nie wszyscy pacjenci odnoszą korzyści z blokady PD-(L)1, natomiast ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych jest jedynym zatwierdzonym biomarkerem. Istotne wydawało się zbadanie innych potencjalnie ważnych biomarkerów. W niniejszym badaniu przeanalizowano obecność cząsteczek immunomodulujących: PD-L1, CD47, CD73, Fas i FasL na dojrzałych komórkach nowotworowych (MTC, z ang. *mature tumor cells*) i nowotworowych komórkach macierzystych (CSC, z ang. *cancer stem cells*) w aspiratach węzłów chłonnych. Próbkę z aspiratami węzłów chłonnych uzyskano podczas zabiegu EBUS/TBNA u pacjentów w różnych stadiach raka niedrobnokomórkowego. Komórki analizowano za pomocą wieloparametrowej cytometrii przepływowej. Wykazano wyższą proporcję MTC i CSC z ekspresją badanych cząsteczek immunomodulujących w przerzutowych węzłach chłonnych niż w nieprzerzutowych. Ekspresja CD47 i PD-L1 była znacznie wyższa na CSC niż na MTC. Wśród subpopulacji limfocytów we krwi obwodowej zaobserwowano wyższy odsetek limfocytów T PD-1+ CD8 i limfocytów T Fas+ CD8 u pacjentów z potwierdzonymi przerzutami niż u pacjentów bez przerzutów. Następnie stwierdzono, że odsetek FasL+ MTC korelował z proporcją limfocytów T Fas+ CD3 w aspiratach LN i limfocytów T Fas+ CD8 w PB. Stwierdzono, że pacjenci z chorobą przerzutową mieli znacznie wyższy stosunek FasL+/Fas+ MTC niż pacjenci bez przerzutów. Zarówno MTC, jak i CSC wyrażają na swojej powierzchni różne cząsteczki immunomodulujące. Częstość występowania

FasL+ MTC wiąże się ze zmienioną dystrybucją subpopulacji limfocytów Fas+ w węzłach chłonnych i krwi obwodowej.

Oprócz wyżej opisanej publikacji oryginalnej jestem również współautorem pracy przeglądowej dotyczącej komórek macierzystych w raku płuca – opisującej pochodzenie, techniki diagnostyczne i perspektywy terapii z wykorzystaniem oceny komórek macierzystych. CSC raka biorą udział w inicjacji nowotworu i przerzutach. Starzenie się jest nadal najważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju raka płuc. Spontanicznie występujące mutacje kumulują się w normalnych komórkach macierzystych i/lub komórkach progenitorowych wraz z upływem lat, powodując powstawanie CSC. Pogłębienie wiedzy na temat tych złożonych procesów oraz poprawa wczesnego rozpoznawania i poszukiwanie markerów o wartości predykcyjnej mają ogromne znaczenie. W tym artykule omówiono rolę CSC z naciskiem na zmiany związane z wiekiem, które inicjują karcynogenezę. Przeanalizowano aktualne piśmiennictwo w tej dziedzinie, opisano własne doświadczenia w badaniu CSC oraz omówiono wyzwania techniczne, ze szczególnym uwzględnieniem biopsji płynnej, która jest przedmiotem moich zainteresowań w diagnostyce raka płuca.

Jestem również pierwszym autorem pracy przeglądowej na temat modulacji odpowiedzi immunologicznej przez heterogenne monocyty i komórki dendrytyczne w raku płuca. W pracy tej wykazano, że różne subpopulacje monocytów i komórek dendrytycznych (DCs) mogą mieć kluczowy wpływ na modulację odpowiedzi immunologicznej w nowotworach złośliwych. W tym przeglądzie podsumowano heterogeniczność monocytów i DCs oraz ich funkcję w kontekście modulowania odpowiedzi immunologicznej w raku. Podgrupy monocytów mogą odgrywać przeciwstawne role w raku, w zależności od wzrostu i progresji guza oraz rodzaju nowotworu. Monocyty mogą pełnić funkcje pronowotworowe i przeciwnowotworowe, a także mogą różnicować się w DCs pochodzące z monocytów (moDCs). MoDCs mają podobną zdolność prezentacji antygenów jak klasyczne DCs. DCs odgrywają kluczową rolę w generowaniu przeciwnowotworowej odporności komórek T CD8+. Dodatkowo wykazują cechy plastyczne i różne fenotypy w zależności od ich stanu dojrzałości oraz w zależności od wpływu mikrośrodowiska guza. MoDCs i inne podzbiory DCs cieszą się coraz większym zainteresowaniem ze względu na ich możliwie korzystne działanie w immunoterapii raka. W tym przeglądzie zwrócono również uwagę na kluczowe strategie terapeutyczne wykorzystujące określone subpopulacje DCs w połączeniu z innymi terapiami w celu wzmocnienia odpowiedzi przeciwnowotworowej i podsumowano najnowsze trwające i zakończone badania kliniczne z użyciem DCs w raku płuc.

Jestem również współautorem pracy przeglądowej omawiającej najnowsze problemy pojawiające się w rak płuca w przebiegu przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP). Pacjent z POChP ma od czterech do sześciu razy większe ryzyko zachorowania na raka płuc niezależnie od narażenia na palenie, w porównaniu do palaczy z prawidłową czynnością płuc. Podczas gdy u większości palaczy nie rozwinie się ani POChP, ani rak płuc, są to choroby blisko spokrewnione, występujące jako choroby współistniejące z większą częstością, niż gdyby były niezależnie wywołane przez palenie. Ryzyko zachorowania na POChP 10-letnie wynosi około 8,8% w grupie POChP i tylko 2% u pacjentów z prawidłową czynnością płuc. POChP nie jest jednolitą chorobą: istnieją różne fenotypy. Jedną z nich objawia się występowaniem rozedmy płuc, którą najczęściej komplikują procesy nowotworowe. Przedstawiono i omówiono problemy kliniczne POChP u chorych na raka płuca. W obu chorobach występują wspólne ścieżki patologiczne. Są to stany zapalne z udziałem makrofagów i neutrofilów oraz proteaz. Wiadomo, że przeciwnowotworowa regulacja immunologiczna jest zaburzona w kierunku immunosupresji, podczas gdy w POChP występują elementy autoimmunizacji. W obu procesach biorą udział limfocyty T cytotoksyczne, limfocyty B oraz limfocyty T regulatorowe, pełniące ważną rolę cząsteczek punktów kontrolnych. Rosnąca liczba

pacjentów z rakiem płuc jest leczona inhibitorami immunologicznego punktu kontrolnego i stwierdzono, że pacjenci z POChP mogą odnieść korzyści z tego leczenia. Dane wskazują na konieczność głębszej analizy i intensywnych badań naukowych w celu ograniczenia obciążenia tymi poważnymi chorobami poprzez profilaktykę i opracowanie konkretnych opcji terapeutycznych.

#### Ad 5.2.7. Pozostałe prace

Są to prace publikowane głównie przed obroną stopnia doktora nauk medycznych lub prace, w których odpowiadałam za wdrożenie metodologii badania.

Lp.	Opis bibliograficzny pracy: autor, tytuł, czasopismo	IF	MNiSW /MEiN
---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	<b>Osińska I.</b> , Domagała- Kulawik J. Prokalcytonina w infekcyjnych zaostrzeniach chorób układu oddechowego. Post. Biol. Komórki, 2012, Vol. 30, nr 3, s. 415-427. ISSN: 0324-833X <i>Praca przeglądowa</i>	0.087	15
2.	<b>Osińska I.</b> Domagała-Kulawik J. Płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe w raku płuca - znaczenie w diagnostyce i ocenie odpowiedzi układu odpornościowego. Post. Hig. Med. Dośw. 2013, Vol. 67, s. 1119-1127. <i>Praca przeglądowa</i>	0.633	15
3.	<b>Osińska I.</b> , Popko K., Demkow U. Perforin: an important player in immune. Response. Centr. Eur. J. Immunol. 2014, Vol. 39, nr 1, s. 109-115. <i>Praca przeglądowa</i>	0.280	15
4.	Popko K., Malinowska I., Rychta M., <b>Osińska I.</b> , Gorska E., Kucharska A., Demkow U. Frequency and spontaneous cytotoxicity of natural killer cells in healthy children: preliminary results. Centr. Eur. J. Immunol. 2013 : Vol. 38, nr 4, s. 562-568.	0.358	15
5.	<b>Osińska I.</b> , Wołosz D., Domagała-Kulawik J. Association between M1 and M2 macrophages in bronchoalveolar lavage fluid and tobacco smoking in patients with sarcoidosis. Pol. Arch. Med. Wewn. 2014 : Vol. 124, nr 7-8, s. 359-364.	2.121	30
6.	Popko K., <b>Osińska I.</b> , Kucharska A., Demkow U. Cytometric analysis of perforin expression in NK cells, CD8+, and CD4+ lymphocytes in children with autoimmune Hashimoto's thyroiditis--a preliminary study. J. Pediatr. Endocrinol. Metab. 2015 : Vol. 28, nr 7/8, s. 789-792.	0.912	15
7.	Wojtan P., Mierzejewski M., <b>Osińska I.</b> , Domagała-Kulawik J. Macrophage polarization in interstitial lung diseases. Central Eur. J. Immunol. 2016 : Vol. 41, nr 2, s. 159-164.	0.776	15
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:			
1.	Paplińska-Goryca M., Nejman-Gryz P., Proboszcz M., <b>Kwiecień I.</b> , Hermanowicz-Salamon J., Grabczak E. M., Krenke R. Expression of TSLP and IL-33 receptors on sputum macrophages of asthma patients and healthy subjects. J. Asthma 2020 : Vol. 57, nr 1, s. 1-10.	2.515	70

2. Więsik-Szewczyk E., Rutkowska E., **Kwiecień I.**, Korzeniowska M., 4.964 140  
Sołdacki D., Jahnz-Różyk K. Patients with common variable immunodeficiency complicated by autoimmune phenomena have lymphopenia and reduced treg, Th17, and NK cells. *J. Clin. Med.* 2021 : Vol. 10, nr 15, s. e3356, 1-16.

---- *Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:*

Pracę opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych (zaklasyfikowane do punktu tematycznego zbiorczego pt. „Pozostałe prace”) w których w czterech z nich byłam pierwszym autorem związane były z chorobami płuc: astmą, sarkoidozą i rakiem płuc, ale również z zaburzeniami immunologicznymi w chorobie Hashimoto i cytometrycznej ocenie subpopulacji leukocytów.

W pierwszej pracy przeglądowej przedstawiono dostępne metody oznaczania prokalcytoniny (PCT), zarówno testy ilościowe jak i jakościowe. Omówiono znaczenie prokalcytoniny w wybranych jednostkach chorobowych układu oddechowego. W zakażeniach bakteryjnych, które mogą prowadzić do zaostrzenia przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POCHP) czy zapaleniu płuc wewnątrzszpitalnych i zewnątrzszpitalnych obserwuje się wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi. Badania wykazują, że PCT może służyć jako marker rokowniczy u pacjentów z zapaleniem płuc związanym z wentylacją mechaniczną. Potwierdzono, że oznaczanie stężenia PCT wydaje się być istotne u pacjentów z chorobami płuc. Pozwala wykluczyć fałszywie dodatnie rozpoznanie zapalenia i służyć jako kryterium dla podjęcia decyzji o stosowaniu antybiotykoterapii.

W kolejnej pracy przeglądowej omówiono znaczenie płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe w diagnostyce i ocenie odpowiedzi układu odpornościowego w raku płuca. W artykule omówiono możliwości wykorzystania tej wystandaryzowanej metody w diagnostyce raka płuca i ocenie środowiska jego rozwoju przed podjęciem systemowego leczenia.

Trzecia praca przeglądowa oceniała rolę perforyny jako ważnego elementu w odpowiedzi immunologicznej. Ten przegląd skupił się na mechanizmach działania i strukturze perforyny. Omówiono również problem nieprawidłowej produkcji perforyny w chorobach takich jak: limfocytopenia hemofagocytarna (HLH), białaczki i chłoniaki, choroby zakaźne i autoimmunologiczne. Wykazano, że lepsze zrozumienie roli tej cząsteczki w zdrowiu i wybranych jednostkach chorobowych może otworzyć nowe pole badań z możliwymi terapeutycznymi w przyszłości.

Oprócz pracy przeglądowej jestem również współautorem pracy oceniającej ekspresję perforyny w komórkach NK oraz limfocytach CD8+ i CD4+ u dzieci z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto z wykorzystaniem cytometrii przepływowej (praca powstała we współpracy z Dziecięcym Szpitalem Klinicznym w Warszawie, z Zakładem Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego)(Pozycja nr 6 – prace wymienione powyżej punkt 5.2.7.). Celem pracy była analiza ekspresji perforyny w komórkach CD8+, CD4+ i NK oraz zdolności cytotoksycznych tych komórek u dzieci z Hashimoto w porównaniu ze zdrowymi osobami. Ekspresję perforyny i antygenów powierzchniowych oraz cytotoksyczność analizowano za pomocą cytometrii przepływowej. Niższą ekspresję perforyny w CD8+ i NK stwierdzono w grupie chorych w porównaniu z grupą kontrolną. Zaobserwowano istotną korelację między ekspresją perforyny w limfocytach CD8+ i w NK. Spontaniczna cytotoksyczność NK była istotnie wyższa w Hashimoto w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki sugerują, że perforyna odgrywa ważną rolę w patogenezie autoimmunologicznego zapalenia tarczycy typu Hashimoto.

We współpracy z Dziecięcym Szpitalem Klinicznym w Warszawie, z Zakładem Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego powstała również druga praca oryginalna (pozycja nr 4) dotycząca częstotliwości i aktywności cytotoksyczności komórek NK u zdrowych dzieci. Przeanalizowano komórki NK z krwi obwodowej dzieci przy użyciu cytometru przepływowego. Komórki naturalnych zabójców (NK) stanowią do 15% wszystkich limfocytów krwi obwodowej i charakteryzują się fenotypowo obecnością antygenów CD56/CD16 i brakiem antygenu CD3. NK wywierają funkcje cytotoksyczne przeciwko różnym komórkom docelowym. Ludzkie komórki NK można podzielić na pięć podzbiorów o różnych funkcjach biologicznych: CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>-</sup>, CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>+</sup>dim, CD56<sup>-</sup>dim CD16<sup>-</sup>, CD56<sup>-</sup>dim CD16<sup>bright</sup> i CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup><sup>bright</sup>. W badaniu wykazano, że aktywność cytotoksyczna komórek NK znacznie się od siebie różniła. Badania dowodzą, że ogólna aktywność cytotoksyczna komórek NK zależy od liczby komórek we krwi obwodowej w populacji zdrowych dzieci.

Następnie pozostając w tematyce chorób płuc i płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego oceniono związek między makrofagami M1 i M2 w BALF i paleniem tytoniu u pacjentów z sarkoidozą (pozycja nr 5). W badaniu skupiono się na wpływie palenia tytoniu na sarkoidozę. Liczba makrofagów w płucach palaczy jest znacznie zwiększona; dlatego interesujące wydawało się zbadanie wpływu palenia na polaryzację makrofagów w sarkoidozie. Populacje makrofagów w BALF oceniono metodą immunocytochemiczną z użyciem przeciwciał anti-CD40 i anti-CD163 (odpowiednio dla M1 i M2). Stężenie interleukiny 10 (IL-10) w BALF zmierzono za pomocą testu immunoenzymatycznego. W badaniu zidentyfikowano 3 populacje makrofagów barwionych przeciwciałami anti-CD40 i anti-CD163: małe komórki silnie dodatnie, duże komórki słabo dodatnie i komórki ujemne. Mediana proporcji tych makrofagów wynosiła odpowiednio 61%, 35% i 2% dla CD40 i odpowiednio 55,5%, 35% i 5% dla CD163; proporcje nie różniły się istotnie między palaczami a osobami niepalącymi. Tylko odsetek komórek CD163-ujemnych był istotnie niższy u palaczy w porównaniu z osobami niepalącymi. Stężenie IL-10 w BALF było poniżej granicy wykrywalności. W badaniu nie zaobserwowano związku między paleniem tytoniu a polaryzacją makrofagów u pacjentów z sarkoidozą. Jednak badanie ujawniło 2 populacje komórek CD40- i CD163-dodatnich, co wyznaczyło kierunki kolejnych badań.

W kolejnej pracy w której byłam współautorem oceniono polaryzację makrofagów płucnych w śródmiąższowych chorobach płuc. Praca została nagrodzona nagrodą drugiego stopnia na 10 Warsaw International Medical Congress 2014 roku. Celem badania było porównanie proporcji makrofagów M1 i M2 w BALF u pacjentów z różnymi chorobami śródmiąższowymi płuc. Materiał pobrano od pacjentów z sarkoidozą (SA), zapalenie płuc z nadwrażliwości, niespecyficzne śródmiąższowym zapaleniem płuc, idiopatycznym włóknieniem płuc. Fenotypowanie przeprowadzono za pomocą immunocytochemii z anty-CD40 i CD163 przeciwciałami (odpowiednio dla M1 i M2). Zarówno dla CD40, jak i CD163 określono trzy populacje komórek: komórki małe z silnymi zabarwieniem (+++), duże komórki ze słabą reakcją (+) i komórki bez reakcji (-). Ze względu na brak istotności statystycznej różnic między pacjentami bez sarkoidozy, zaklasyfikowano ich do wspólnej grupy i przeprowadzono analizę w porównaniu z grupą pacjentów z sarkoidozą. Wykazano znacznie wyższy odsetek M1 w SA w porównaniu z innymi chorobami śródmiąższowymi płuc. Wykazano dowodów na określoną polaryzację makrofagów pęcherzykowych w różnych typach choroby śródmiąższowe płuc. Podkreślono rolę komórek CD40-dodatnich w sarkoidozie i rolę komórek CD163-dodatnich w rozsianych chorobach płuc ze zwłóknieniem.

---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych byłam współautorem 2 prac, w których w pierwszej byłam odpowiedzialna za ustawienie metody badawczej i wykonanie części

oznaczeń wraz z analizą i zatwierdzeniem ostatecznej wersji publikacji. Publikacja ta powstała we współpracy międzyośrodkowej z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym. Badanie miało na celu ocenę ekspresji limfopoetyny zrębu grasicy (TSLP, z ang. *Thymic stromal lymphopoietin*), IL-33 i IL-17A w ludzkich komórkach dendrytycznych pochodzących z monocytów (moDC) hodowanych wspólnie z nabłonkiem oddechowym i makrofagami pochodzącymi z monocytów (moMφ) w astmie, przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc (POChP) i zdrowej kontroli. Przenikanie się środowiska zewnętrznego i wewnętrznego w drogach oddechowych odbywa się za pośrednictwem sieci przeznabłonkowej makrofagów/komórek dendrytycznych (DC). Nabłonek wyzwała zapalenie za pośrednictwem komórek dendrytycznych, wytwarzając TSLP, IL-33 i IL-17A. W badaniu wykorzystano trójkomórkowy model współhodowli, wykorzystujący komórki nabłonka nosa wraz z moMφ i moDC. Komórki hodowano w mono-, di- i potrójnej kokulturze przez 24 godziny. Wspólna hodowla z nabłonkiem i moMφ istotnie zwiększała TSLP w astmie i nie zmieniała ekspresji mRNA IL-33 i IL-17A w moDC. moDC od astmatyków charakteryzowały się najwyższą ekspresją mRNA TSLP i najbogatszą populacją komórek ekspresjonujących TSLPR, ST2 i IL17RA. W astmie i POChP zaobserwowano dużą liczbę dodatnich korelacji między ocenianymi cytokinami a CHI3L1, IL-12p40, IL-1β, IL-6, IL-8, TNF w moDC. Na podstawie badania wyciągnięto następujące wnioski: Ekspresja TSLP, IL-33 i IL-17A w moDCs jest różnie regulowana przez nabłonek u osób z astmą, POChP i osób zdrowych. Te złożone interakcje komórka-komórka mogą wpływać na zapalenie dróg oddechowych i być ważnym czynnikiem w biologii astmy i POChP.

Natomiast w publikacji drugiej byłam odpowiedzialna za weryfikację koncepcji pracy, analizie danych, interpretacji uzyskanych wyników, analizie statystycznej i przygotowaniu tabel i rycin oraz zatwierdzeniu gotowej pracy do publikacji. Publikacja powstała we współpracy wewnętrznej z Kliniką Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii, Alergologii i Immunologii Klinicznej, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. Dotyczyła pacjentów z pospolitym zmiennym niedoborem odporności powikłanym zjawiskami autoimmunologicznymi. Większość pacjentów z pierwotnym niedoborem odporności cierpi na nawracające infekcje; jednakże mogą również objawiać się paradoksalne zjawiska autoimmunologiczne. Celem pracy była identyfikacja markerów immunologicznych zjawisk autoimmunologicznych związanych z pospolitym zmiennym niedoborem odporności (CVID, z ang. *common variable immunodeficiency*). W badaniu wzięło udział 33 dorosłych z CVID, których podzielono na dwie grupy: (1) z niezakaźnymi powikłaniami autoimmunologicznymi (CVID-C) oraz (2) z objawami wyłącznie infekcyjnymi (CVID-OI). Przeprowadzono cytometrię przepływową krwi obwodowej i porównano z pacjentami z toczeniem rumieniowatym układowym (SLE) i zdrowymi kontrolami. Stwierdzono, że wszystkie limfocyty były niższe w CVID-C i SLE. Odsetek komórek NK był najniższy w CVID-C. Odsetek komórek Th17 był znacznie zmniejszony w CVID-C i SLE. Tregs były znacznie niższe w CVID-C i SLE. Bregs nie różnił się istotnie między grupami. Limfocyty B pamięci z przełączeniem klas były znacznie niższe w CVID-C i CVID-OI. Wreszcie, plazmablasty były znacząco wyższe w SLE. Wśród podzbiorów komórek T pacjenci z CVID-C mieli niższe limfocyty T CD4<sup>+</sup> naiwnych i RTE. Podsumowując, zmniejszone limfocyty Tregs, Th17 i NK są cechami CVID z powikłaniami autoimmunologicznymi, a komórki B pamięci z przełączeniem klasy mogą pomóc w rozróżnieniu pacjentów z różnymi przyczynami autoimmunizacji. Potrzebne są dalsze badania, aby potwierdzić, czy Tregs, Th17 i NK mogą być biomarkerem bardziej powikłanych przypadków CVID.

**5.3. Wystąpienia krajowe i międzynarodowe będące efektem współpracy naukowej realizowanej we współpracy z zewnętrznymi instytucjami naukowymi <sup>(1)</sup> oraz innymi Klinikami Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego.**

(<sup>1</sup> ośrodki naukowe zewnętrzne z którymi współpracuję lub współpracowałam wymienione w punkcie 5.5. )

Przedstawiono poniżej wystąpienia krajowe i międzynarodowe, wyróżniono te, w których byłam osobą prezentującą (\*udział czynny w formie wykładu lub plakatu, nazwisko panięskie: Osińska).

Zaznaczano prace wydrukowane w **suplemencie**.

Dodatkowo w Załączniku nr A2: Analiza bibliometryczna sporządzonym przez Bibliotekę Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego przedstawiono „Wykaz opublikowanych streszczeń zjazdowych” oraz „Analizę bibliometryczną niepublikowanego dorobku naukowego”.

Data	Tytuł, Autorzy, Nazwa wydarzenia, Miejsce, <b>supplement</b>
---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:	
➤ *2013.09.07-11	<i>The pattern of lymphocyte subpopulations including Fas positive cells in patients with obstructive sleep apnea (OSA).</i> Piechuta A, Skirecki T., <b>Osińska I.</b> , Kszuba A., Moszczuk B., Bielicki P., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress Barcelona, Hiszpania. <b>European Respiratory Journal September 1, 2013 vol. 42 no. Suppl 57 P4976</b>
➤ *2013.09.15-18	<i>Cytometryczna ocena ekspresji perforyny w komórkach NKT i limfocytach CD8+ w grupie dzieci z autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto.</i> <b>Osińska I.</b> , Popko K., Demkow U. 18th Zjazd Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, Warszawa. <a href="https://docplayer.pl/4493061-Xviii-zjazd-naukowy-polskiego-towarzystwa-diagnostyki-laboratoryjnej.html">https://docplayer.pl/4493061-Xviii-zjazd-naukowy-polskiego-towarzystwa-diagnostyki-laboratoryjnej.html</a> (plakat)
➤ *2014.03.21-23	<i>M1/M2 subpopulations of macrophages in patients with Sarcoidosis-influence of smoking status.</i> <b>Osińska I.</b> , Wołosz D., Urbankowski T., Domagała- Kulawik J. ERS Lung Science Conference 2014 "Lung inflammation and immunity" Estoril, Portugalia. <a href="https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl_58/1733">https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl_58/1733</a> (plakat)
➤ *2014.05.10-13	<i>Ekspresja CTLA-4 na komórkach CD4+/CD25+high u chorych na raka płuca.</i> <b>Osińska I.</b> , Skierecki T., Domagała-Kulawik J. "XXXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc. Warszawa. <a href="https://docplayer.pl/9466609-Sesje-referatowe-xxxiii-zjazdu-polskiego-towarzystwa-chorob-pluc-10-13-maja-2014-roku-jachranka.html">https://docplayer.pl/9466609-Sesje-referatowe-xxxiii-zjazdu-polskiego-towarzystwa-chorob-pluc-10-13-maja-2014-roku-jachranka.html</a> (wykład i nagroda)
➤ *2014.05.10-13	<i>Makrofagi M1 i M2 w BALF u chorych na sarkoidozę a palenie tytoniu.</i> <b>Osińska I.</b> , Wołosz D., Urbankowski T., Domagała-Kulawik J. "XXXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc. Warszawa. <a href="https://docplayer.pl/9466609-Sesje-referatowe-xxxiii-zjazdu-polskiego-towarzystwa-chorob-pluc-10-13-maja-2014-roku-jachranka.html">https://docplayer.pl/9466609-Sesje-referatowe-xxxiii-zjazdu-polskiego-towarzystwa-chorob-pluc-10-13-maja-2014-roku-jachranka.html</a> (wykład)
➤ 2014.09.06-10	<i>Macrophage polarization in interstitial lung diseases.</i> Wojtan P, Mierzejewski M., <b>Osińska I.</b> , Domagała-Kulawik J. ERS International Congress Munich 2014. Munich, Niemcy. <b>European Respiratory Journal 2014 vol. 44 no. Suppl 58: 756</b> <a href="https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl_58/P756.article-info">https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl_58/P756.article-info</a> (plakat)
➤ *2014.09.-06-10	<i>Surface expression of CTLA-4 on CD4/CD25high cells in lung cancer.</i> <b>Osińska I.</b> , Skierecki T., Hoser G., Domagała-Kulawik J. ERS

- International Congress Munich 2014. Monachium, Niemcy.  
**[https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl\\_58/P820](https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl_58/P820) European Respiratory Journal 44 (Suppl 58) P820** (plakat)
- 2014.09.-06-10 *Surface vs. intracellular CTLA-4 expression in lung cancer.* Domagała-Kulawik J., **Osińska I.**, Skirecki T. ERS International Congress Munich 2014. Monachium, Niemcy.  
**[https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl\\_58/P822](https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl_58/P822) European Respiratory Journal 44 (Suppl 58) P822** (plakat)
- \*2014.09.06-10 *LSC 2014 abstract – M1/ M2 subpopulations of macrophages in patients with sarcoidosis- influence of smoking status.* **Osińska I.**, Wołosz D., Urbankowski T., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress Munich 2014. Monachium, Niemcy.  
**[https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl\\_58/1733.article-info](https://erj.ersjournals.com/content/44/Suppl_58/1733.article-info) European Respiratory Journal 2014 vol. 44 no. Suppl 58: 1733** (wykład)
- \*2014.09.17-19 *Powierzchniowa i wewnątrzcytoplazmatyczna ekspresja CTLA-4 na komórkach CD4+/CD25+high u chorych na raka płuca.* **Osińska I.**, Skirecki T., Hoser G., Domagała-Kulawik J. III Zjazd Polskiego Towarzystwa Cytometrii. Kazimierz Dolny. (plakat)
- 2014.10.08-11 *Evaluation of M1/M2 macrophages polarization in the BAL fluid.* Domagała-Kulawik J., **Osińska I.**, Wojtan P., Olkowski R. 3<sup>rd</sup> Combined WASOGBAL Meeting, 11<sup>th</sup> wasog Meeting and 13<sup>th</sup> International Conference on BAL. Kusadasi. Turcja. (plakat)
- \*2014.11.27 *Porozmawiajmy o makrofagach.* **Osińska I.** Spotkanie Oddziału Warszawskiego Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej. Warszawa. (wykład)
- \*2015.05.21-22 *Ocena limfocytów regulatorowych z ekspresją CTLA-4 w odpowiedzi miejscowej i systemowej w raku płuca.* **Osińska I.**, Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. II Poznańskie Dni Cytometrii I Immunologii. Poznań. (wykład)
- \*2015.06.26-31 *CTLA-4 on regulatory T cells- regulation of local immune response in lung cancer.* **Osińska I.**, Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Współczesne wyzwania biologii i medycyny. X Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Sekcji Immunotoksykologii i Immunomodulacji Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej. I Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej. Jurata. (plakat)
- \*2015.09.26-30 *Analysis of FoxP3 expression in the lymph nodes of patients with lung adenocarcinoma- The pilot study.* **Osińska I.**, Pankowski J., Pasieka-Lis M., Wołosz D., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress Amsterdam 2015. Amsterdam, Holandia. **European Respiratory Journal 46(suppl 59):PA4275. Eur Respir J 2015; 46: Suppl. 59, 4275** (plakat)
- 2015.09.26-20 *NKT cells in systemic inflammation in the obstructive sleep apnoea syndrome (OSAS).* Domagała-Kulawik J., **Osińska I.**, Piechuta A., Bielicki P., Skirecki T. ERS International Congress Amsterdam 2015. Amsterdam, Holandia.. **European Respiratory Journal 46(suppl 59):PA382. DOI: 10.1183/13993003.congress-2015.PA382** (plakat)
- \*2015.09.26-20 *CTLA-4 on regulatory T cells- Regulation of local immune response in lung cancer.* **Osińska I.**, Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka

- M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress Amsterdam 2015. Amsterdam, Holandia.. **European Respiratory Journal 46(suppl 59):PA532. DOI: 10.1183/13993003.congress-2015.PA532** (plakat)
- 2015.09.26-20 *OSA complication score as novel reference to assess systemic inflammation in sleep apnoea.* Piechuta A., **Osińska I.**, Bielicki P., Skirecki T., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress Amsterdam 2015. Amsterdam, Holandia. **European Respiratory Journal 46(suppl 59):PA3365. DOI: 10.1183/13993003.congress-2015.PA3365** (plakat)
  - \*2015.09.26-20 *Analysis of FOXP3 expression in the lymph nodes of patients with lung adenocarcinoma- The pilot study.* **Osińska I.**, Pankowski J., Pasieka-Lis M., Wołosz D., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress Amsterdam 2015. Amsterdam, Holandia.. **European Respiratory Journal 46(suppl 59):PA4275. DOI: 10.1183/13993003.congress-2015.PA4275** (plakat)
  - \*2016.04.10-13 *LSC Abstract- Correlation of IL-17A concentration with T regulatory cells in lung cancer microenvironment.* **Osińska I.**, Stelmaszczyk-Emmel A., Proboszcz M., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. ERS 14<sup>th</sup> Lung Science Conference 2016 "System approaches in lung disease" Estoril, Portugalia.. **European Respiratory Journal 48(suppl 60):PP227. DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.PP227** (plakat)
  - \*2016.04.10-13 *LSC Abstract- CD163 and CCR7 as markers for macrophages polarization in patients with lung cancer.* **Osińska I.**, Wołosz D., Proboszcz M., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. ERS 14<sup>th</sup> Lung Science Conference 2016 "System approaches in lung disease" Estoril, Portugalia. **European Respiratory Journal 48(suppl 60):PA515 DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.PA515** (plakat)
  - \*2016.05.07-10 *Limfocyty regulatorowe i cytotoksyczne w resekowanych węzłach chłonnych metodą TEMLA u chorych na raka płuca.* **Osińska I.**, Pankowski J., Pasieka-Lis M., Wołosz D., Domagała-Kulawik J. XXXIV Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc, Wisła. (plakat)
  - \*2016.05.07-10 *Porównanie zależności IL-17A i komórek T regulatorowych w bezpośrednim mikrośrodkowisku raka płuca.* **Osińska I.** XXXIV Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc, Wisła. (wykład)
  - \*2016.05.10 *Zaburzenia immunologiczne w raku płuca.* **Osińska I.** XI Konferencja Naukowa I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Warszawa. (wykład)
  - 2016.09.04-07 *Correlation of IL-17A concentration with T regulatory cells in lung cancer microenvironment.* **Osińska I.**, Stelmaszczyk-Emmel A., Proboszcz M., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2016 Londyn, Anglia. **European Respiratory Journal 2016 48: PA513; DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.PA513** (plakat)
  - 2016.09.04-07 *CD163 and CCR7 markers for macrophage polarization in patients with lung cancer.* **Osińska I.**, Wołosz D., Proboszcz M., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2016 Londyn, Anglia. **European Respiratory**

**Journal 2016 48: PA515; DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.PA515** (plakat)

- 2016.09.04-07 *Regulatory vs. cytotoxic cells in lymph nodes of lung cancer patients resected by TEMLA.* Domagała-Kulawik J., **Osinska I.**, Wołosz D., Pasięka-Lis M., Pankowski J. ERS International Congress 2016 Londyn, Anglia. **European Respiratory Journal 2016 48: OA1772; DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.OA1772** (wykład)

---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:

- \*2017.03.02-05 *Ocena wybranych elementów regulacji odpowiedzi odpornościowej w raku płuca.* **Kwiecień I.**, Stelmaszczyk-Emmel A., Wołosz D., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała- Kulawik J. XXVI Spotkanie Polskiej Grupy ERS, Korbielów. **Advances in Respiratory Medicine (Supplement I Styczeń-Luty ISSN 2451-4934 tom 85 rok 2017.** (wykład)
- \*2017.09.9-13 *Programmed death-1 T cells in lung cancer – a comparison of BALF cells from affected lung to healthy lung and peripheral blood.* **Kwiecień I.**, Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała- Kulawik J. ERS International Congress 2017 Mediolan, Włochy. **European Respiratory Journal 50 (suppl 61) PA4210; DOI: 10.1183/1393003.congress-2017.PA4210** (plakat)
- \*2017.09.9-13 *Cytotoxic T cell antigen 4 and the status of T cell activation in lung cancer: local vs. systemic immune response.* **Kwiecień I.**, Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała- Kulawik J. ERS International Congress 2017 Mediolan, Włochy **European Respiratory Journal 50 (suppl 61) OA4863; DOI: 10.1183/1393003.congress-2017.OA4863** (wykład)
- \*2017.09.9-13 *Cytokine profile in lung cancer microenvironment – analysis of bronchoalveolar lavage fluid by Luminex assay.* **Kwiecień I.**, Radkowski M., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała- Kulawik J., Kryczka T. ERS International Congress 2017 Mediolan, Włochy. **European Respiratory Journal 50 (suppl 61) PA4209; DOI: 10.1183/1393003.congress-2017.PA4209** (plakat)
- 2017.09.9-13 *Methods of identification lung cancer stem cells: a pilot study.* Raniszewska A., **Kwiecień I.**, Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2017 Mediolan, Włochy. **European Respiratory Journal 50 (suppl 61) PA3301; DOI: 10.1183/1393003.congress-2017.PA3301** (plakat)
- 2017.09.9-13 *Cytokine network in relation to regulatory cells in lung cancer microenvironment* Domagała-Kulawik J., Radkowski M., Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Kryczka T., **Kwiecień I.** ERS International Congress 2017 Mediolan, Włochy. **European Respiratory Journal 50 (suppl 61) PA4211; DOI: 10.1183/1393003.congress-2017.PA4211** (plakat)

-----2018 urlop macierzyński-----

- 2018.09.15-19 *Peripheral blood lymphocyte repertoire in non-obese patients with Obstructive Sleep Apnea.* Raniszewska A., Barnas M., Bielicki P., **Kwiecień I.**, Skirecki T., Wernicka A., Wyzgał M., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2018, Paryż, Francja. **Eur. Resp. J. 2018 : Vol. 52, suppl. 62, s. [nlb.] 1, Abstr.PA2537**

- 2018.09.15-19 *PD-L1 expression on lung cancer stem cells in metastatic lymphnodes.* Raniszewska A., **Kwiecień I.**, Polubiec-Kownacka M., Rutkowska E., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2018, Paris, Francja. **Eur. Resp. J. 2018 : Vol. 52, suppl. 62, s. [nlb.] 1, Abstr. OA3300.** (wykład)
- 2019.01.17-20 *Immunofenotypowa charakterystyka komórek CD34+ we krwi obwodowej u chorych na sarkoidozę płuc - badanie pilotażowe.* Rutkowska E., **Kwiecień I.**, Szamałek A., Zarzycka J., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P. XXVIII Spotkanie Polskiej Grupy ERS, Szczyrk. **Adv. Respir. Med., 2018 : T. 86, Suppl. 7, s. 36-37.** (wykład)
- 2019.09.28-10.02 *Immunophenotyping of CD34 + cells in peripheral blood of patients with lung sarcoidosis”. Rutkowska E., Kwiecień I., Szamałek A., Zarzycka J., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P. ERS International Congress 2019. Madrid. Spain **European Respiratory Journal 54 (suppl 63) PA1957; DOI: 10.1183/13993003.congress-2019.PA1957** (plakat)*
- \*2019.09.28-10.02 *Macrophage immunophenotypic and monocyte activation markers in the immune response in lung cancer.* **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2019. Madrid. Spain **European Respiratory Journal 54 (suppl 63) PA3658; DOI: 10.1183/13993003.congress-2019.PA3658** (plakat)
- \*2019.09.28-10.02 *BALF immune profile - towards clinical usefulness in lung cancer.* **Kwiecień I.**, Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2019. Madrid. Spain. **European Respiratory Journal 54 (suppl 63) OA1908; DOI: 10.1183/13993003.congress-2019.OA1908** (wykład)
- 2019.04.10-13 *Do two lungs form an integrated immune system? Learning from BALF examination in lung cancer.* Domagała-Kulawik J., Skirecki T., Dziedzic D., Polubiec-Kownacka M., Kryczka T., **Kwiecień I.** European Lung Cancer Congress (ELCC), Genewa, Szwajcaria. **Ann. Oncol. 2019 : Vol. 30, Suppl. 2, s. nlb. [1], Abstr. 31P.** (plakat)
- 2019.04.10-13 *Can a BALF profile distinguish hot vs cold lung tumors?* Domagała-Kulawik J., Dziedzic D., Polubiec-Kownacka M., Kryczka T., **Kwiecień I.** European Lung Cancer Congress (ELCC), Genewa, Szwajcaria, **Ann. Oncol. 2019 : Vol. 30, Suppl. 2, s. nlb. [1], Abstr. 36P.** (plakat)
- \*2020.01.03-05 *Immunofenotyp makrofagów w środowisku raka płuca w porównaniu do płuca zdrowego.* **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. XXIX Spotkania Polskiej Grupy ERS, Korbietów. **Advances in Respiratory Medicine (Suppl 2020 : T. 1, nr 2, s. 152.)** (wykład)
- \*2020.01.03-05 *Ocena niskoróżnicowanych komórek z immunofenotypem fibrocytów oraz komórek śródłonek u chorych na sarkoidozę.* Rutkowska E., **Kwiecień I.**, Zarzycka J., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P. XXIX Spotkania Polskiej Grupy ERS, Korbietów, **Advances in Respiratory Medicine (Suppl 2020 : T. 1, nr 2, s. 153-154)**
- \*2020.09.07-09 *Relationship between blood monocyte subsets with activation markers and macrophages in non-small cell lung cancer.* **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Rzepecki P.,

- Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2020 /online/ **European Respiratory Journal 56 (suppl 64) 1739; DOI: 10.1183/13993003.congress-2020.1739** (plakat)
- \*2020.09.07-09 *Identification of PD-L2 on macrophages in lung cancer milieu- pilot study.* **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2020 /online/. **European Respiratory Journal 56 (suppl 64) 1767; DOI: 10.1183/13993003.congress-2020.1767** (plakat)
  - \*2020.09.07-09 *Immunosuppressive properties of human PD-1+ PDL-1+ dendritic cell from Lymph Nodes Aspirates of NSCLC patients.* **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Sokołowski R., Bednarek J., Raniszewska R., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2020 /online/. **European Respiratory Journal 56 (suppl 64) 1656; DOI: 10.1183/13993003.congress-2020.1656** (plakat)
  - 2020.09.07-09 *Immunomodulating properties of FasL+ lung cancer cells identified in lymphnodesaspirates of NSCLC patients.* Raniszewska A., **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Sokołowski R., Domagała-Kulawik J. ERS International Congress 2020 /online/. **European Respiratory Journal 56 (suppl 64) 1655; DOI: 10.1183/13993003.congress-2020.1655** (plakat)
  - 2020.09.07-09 *Flow cytometric analysis of T cells maturation markers in mediastinal lymphnodes in sarcoidosis.* Rutkowska E., **Kwiecień I.**, Bednarek J., Sokołowski R., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P. ERS International Congress 2020 /online/. **European Respiratory Journal 56 (suppl 64) 1085; DOI: 10.1183/13993003.congress-2020.1085** (plakat)
  - 2020.09.07-09 *Detection of lung cancer micrometastases in lymphnodesaspirates by flow cytometry.* Raniszewska A., **Kwiecień I.**, Sokołowski R., Aerts J. G. J., Domagała-Kulawik J. **European Respiratory Journal 56 (suppl 64) 1617; DOI: 10.1183/13993003.congress-2020.1617** (plakat)
  - \*2021.10.04-08 *T cell maturation profile in metastatic vs. nonmetastatic lymph nodes in NSCLC patients.* **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Bednarek J., Sokołowski R., Jahnz- Różyk K., Domagała-Kulawik J, Rzepecki P. European Respiratory Society International Congress 2021. Barcelona, Hiszpania/virtual congress/). **European Respiratory Journal 58 (suppl 65) PA681; DOI: 10.1183/13993003.congress-2021.PA681** (plakat)
  - 2021.09. 26-30 *Lung cancer stem cells from lymphnodesaspirates express immunosuppressivemolecules.* Raniszewska A., **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Sokołowski R, Domagała-Kulawik J., ERS International Congress 2021,Thessaloniki, Grecja. **Eur. Resp. J. 2021 : Vol. 58, suppl. 65, s. [nlb.] 1-2, Abstr. PA1125** (plakat)
  - \*2022.09.04-06 *Detection of micrometastases in mediastinal lymph nodes by haematological analyser and flow cytometry-pilot study.* **Kwiecień I.**, Rutkowska E, Bednarek J, Sokołowski R, Raniszewska A, Jahnz- Różyk R, Rzepecki P, Domagała-Kulawik J. European Respiratory Society International Congress 2022. Barcelona, Hiszpania. **European Respiratory Journal 60 (suppl 66) 699; DOI: 10.1183/13993003.congress-2022.699** (plakat)
  - 2022.09.04-06 *Terminal effector Tregs in metastatic lymph nodes of lung cancer patients.* **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Raniszewska A., Bednarek J., Sokolowski R., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. European Respiratory Society International Congress 2022. Barcelona,

- Hiszpania. **European Respiratory Journal** 2022 60: 694; DOI: 10.1183/13993003.congress-2022.694. (plakat)
- 2022.09.04-06 *Blood monocyte subsets to characterize and differentiate active SARS-CoV-2 infection from convalescent patients.* Rutkowska E., **Kwiecień I.**, Raniszewska A., Rzepecki P., Kłos K., Chciałowski A. ERS International Congress 2022, Barcelona, Hiszpania, **European Respiratory Journal** 2022 60:1099; DOI: 10.1183/13993003.congress-2022.1099. (wykład)
  - 2022.09.04-06 *Imbalance between Th17 and Tregs in the EBUS/TBNA lymph nodes in patients with pulmonary sarcoidosis.* Raniszewska A., Rutkowska E., **Kwiecień I.**, Bednarek J., Sokołowski R., Jahnz-Różyk K., Rzepecki P. ERS International Congress 2022, Barcelona, Hiszpania, **European Respiratory Journal** 2022 60:2273; DOI: 10.1183/13993003.congress-2022.2273 (wykład)
  - 2022.03.30-04.02 *Regulatory dendritic cells correlate with an altered T cell distribution and regulatory T cell phenotype in metastatic lymph nodes of NSCLC patients.* Raniszewska A., **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Sokołowski R., Bednarek J., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J., European Lung Cancer Conference (ELLC) 2022 Online, Virtual. **Annals of Oncology** 2022 : Vol. 33, Suppl. 2, s. S92, ePoster 129P. (plakat)
  - 2022.03.30-04.02 *Feasibility and usefulness of evaluation of immune status of lung cancer patients by EBUS/TBNA cells analysis.* Domagała-Kulawik J., Raniszewska A., Rutkowska E., Sokołowski R., Bednarek J., **Kwiecień I.** European Lung Cancer Conference (ELLC) 2022 Online, Virtual. **Annals of Oncology** 2022 : Vol. 33, Suppl. 2, s. S92, ePoster 177P (plakat)

#### 5.4 Projekty badawcze

Rok/Lata	Typ projektu, finansowanie, tytuł projektu, status, pełniona funkcja
---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:	
➤ 2014-2015	Grant dla młodych naukowców (1WU/PM11D/14), Warszawski Uniwersytet Medyczny, pt. „Mechanizmy regulacyjne odpowiedzi immunologicznej w raku płuca”. Zakończony. Funkcja: Kierownik Grantu.
➤ 2015-2016	Grant dla młodych naukowców (1WU/PM11D/15), Warszawski Uniwersytet Medyczny, pt. „Molekuła CTLA-4 oraz szlak PD-1/PD-L1 w modulacji funkcji limfocytów w środowisku raka płuca” 2015-2016. Zakończony. Funkcja: Kierownik Grantu.
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:	
➤ 2018- 2019	Projekt statutowy własny (ID 488), Wojskowy Instytut Medyczny, pt. „Immunofenotypowa charakterystyka subpopulacji makrofagów w odpowiedzi miejscowej i systemowej w raku płuca”. Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii. Kierownik projektu: prof. Piotr Rzepecki. Zakończony. Funkcja: Główny Wykonawca.
➤ 2020-2021	Projekt statutowy własny (ID 559), Wojskowy Instytut Medyczny, pt. „Komórkowa charakterystyka węzłów chłonnych śródpiersia chorych na raka płuca lub sarkoidozę płucną z wykorzystaniem przezoskrzelowej biopsji węzła pod kontrolą wewnątrzoskrzelowej ultrasonografii EBUS/TBNA”. Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii. Kierownik projektu: prof. Piotr Rzepecki. Zakończony. Funkcja: Główny Wykonawca.

- 2021-2022 Projekt statutowy własny (ID 585), Wojskowy Instytut Medyczny, pt. „Charakterystyka komórek kluczowych dla odpowiedzi układu odpornościowego i ocena nowych parametrów hematologicznych u pacjentów z COVID”. Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii. Kierownik projektu: dr. n. biol. Elżbieta Rutkowska. Zakończony. Funkcja: Główny Wykonawca.
- 2022-2023 Projekt statutowy własny (ID 592), Wojskowy Instytut Medyczny, pt. „Ocena wpływu ciężkiego zakażenia płuc w przebiegu infekcji wirusem SARS-CoV-2 na układ oddechowy oraz jakość życia, połączona z analizą kosztów choroby”. Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii. Kierownik projektu: Karina Jahnz-Różyk. Aktualnie realizowany. Funkcja: Współbadacz
- 2022-2023 Projekt statutowy własny (ID 603), Wojskowy Instytut Medyczny, pt. „Opracowanie schematu diagnostycznego łączącego profil cytologiczny, genetyczny i immunofenotypowy u pacjentów z zespołami mielodysplastycznymi”. Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii. Kierownik projektu: prof. Piotr Rzepecki. Aktualnie realizowany. Funkcja: Współbadacz.
- 2022-obecnie Projekt badawczy pt. „Lung cancer in patients with COPD- clinical characteristics and markers of immune regulation”. Decyzja nr RND/SDB/0725/161/1/2022 współpraca z ośrodkiem zewnętrznym lek. Robert Ulińskiego Szkoła Doktorska Warszawski Uniwersytet Medyczny. Funkcja: Promotor pomocniczy.
- 2022-obecnie Projekt RemiRit, randomizowane, wieloośrodkowe badanie kliniczne pt. „Personalizowane leczenie immunosupresyjne z użyciem rituximabu w leczeniu układowych zapaleń naczyń z obecnością przeciwciał ANCA”. Instytucja finansująca: Agencja Badań Medycznych. Projekt w którym bierze udział Pracownia Hematologii i Cytometrii Przepływowej oceniając z wykorzystaniem techniki cytometrii przepływowej odsetka komórek CD20+. Funkcja: Współbadacz
- 2023-obecnie Projekt statutowy własny (ID 608), Wojskowy Instytut Medyczny, pt. „Ocena mikrośrodowiska i profilu antygenowego podtypu raka płuca z wykorzystaniem cytometrii przepływowej w aspiratach z przezoskrzelowej biopsji węzła pod kontrolą wewnątrzoskrzelowej ultrasonografii EBUS/TBNA”. Klinika Chorób Wewnętrznych i Hematologii. Po ocenie recenzentów i pozytywnej opinii komisji bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej – oczekuje na finansowanie. Funkcja: Kierownik Projektu.

Załączniku nr A5: Potwierdzenia uczestnictwa w projektach naukowych

### **5.5. Współpraca z ośrodkami zewnętrznymi**

#### **➤ Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie**

W ramach mojej działalności naukowej w czasie odbywania studiów doktoranckich, jednak głównie po obronie tytułu doktora nauk medycznych ściśle współpracowałam i współpracuję z Instytutem Gruźlicy i Chorób Płuc. Efektem tej współpracy są wspólne międzyośrodkowe projekty badawcze oraz publikacje opublikowane po obronie tytułu dr. n. med. Moja współpraca związana jest z Pracownią Endoskopii, która funkcjonuje w ramach Kliniki Chirurgii Instytutu. W Pracowni Endoskopii wykonywane jest szerokie spektrum badań, które pozwalają na pozyskanie materiału do diagnostyki mikrobiologicznej, morfologicznej, immunologicznej i molekularnej: biopsja ściany oskrzeli, wymazy szczoteczkowe, pobieranie popłuczyn oskrzelowych

oraz popłuczyn celowanych, płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL), przezoskrzelowa biopsja płuca (TBLB), kriobiopsja płuca (TBLC), ultrasonografia wewnątrzoskrzelowa (EBUS), przezoskrzelowa aspiracyjna biopsja igłowa (TBNA): konwencjonalna (cTBNA) i pod kontrolą USG (EBUS/TBNA), bronchoskopia fluorescencyjna (AFI), oraz bronchoskopia teapeutyczna. Materiał pozyskiwany w Pracowni Endoskopii u pacjentów w trakcie diagnostyki raka płuca wykorzystalam w mojej pracy naukowej.

Efektom mojej bezpośredniej współpracy z lek. Małgorzatą Polubiec-Kownacka oraz dr. hab. n. med. Dariuszem Dziedzicem jest projekt międzyośrodkowy (prowadzony przeze mnie już po obronie tytułu doktora nauk medycznych) finansowany ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Edukacji i Nauki na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego:

- Grant pt. *Immunofenotypowa charakterystyka subpopulacji makrofagów w odpowiedzi miejscowej i systemowej w raku płuca* (spis projektów w punkcie 5.4. Projekty badawcze)

oraz

Moja rola w ww. projekcie była wiodąca, związana była z merytorycznym kierowaniem projektem. Jako główny badacz ww. projektu byłam odpowiedzialna również za prowadzenie części badawczej (ustawianie metod, wykonywanie oznaczeń z wykorzystaniem cytometrii przepływowej, ocena i analiza wyników, wykonanie wyliczeń statystycznych).

Efektom współpracy są poniższe publikacje oraz liczne materiały opublikowane w suplemencie z konferencji międzynarodowych i krajowych:

Lista publikacji:	IF	MNiSW/MEiN
---- <i>Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:</i>		
➤ <b>Osińska I.</b> , Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. CD4+/CD25high/FoxP3+/CD127- regulatory T cells in bronchoalveolarlavage fluid of lungcancerpatients. Hum. Immunol. 2016 : Vol. 77, nr 10, s. 912-915.	2.311	20
---- <i>Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:</i>		
➤ <b>Kwiecień I.</b> , Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Elevated regulatory T cells, surface and intracellular CTLA-4 expression and interleukin-17 in the lung cancer microenvironment in humans. Cancer Immunol. Immunother . 2017 : Vol. 66, nr 2, s. 161-170.	4.225	30
➤ <b>Kwiecień I.</b> , Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Raniszewska A., Domagała-Kulawik J. Immunophenotype of t cells expressing programmed death-1 and cytotoxic T cell antigen-4 in early lung cancer: local vs. systemic immune response. Cancers 2019 : Vol. 11, nr 4, s. 567, [1-18].	6.162	140
➤ <b>Kwiecień I.</b> , Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D. Wołosz D., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. CD163 and CCR7 as markers for macrophage polarisation in lung cancer microenvironment. Centr. Eur. J. Immunol. 2019 : T. 44, nr 4, s. 395-402.	1.455	40

- **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., 6.639 140  
Raniszewska A., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. Blood monocyte subsets with activation markers in relation with macrophages in non-small cell lung cancer. *Cancers* 2020 : Vol. 12, nr 9, s. e2513, s. 1-13.
- **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., 4.726 140  
Raniszewska A., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. Identification of PD-1 ligands: PD-L1 and PD-L2 on macrophages in lung cancer milieu by flow cytometry. *Translat. Lung Cancer Res.* 2021 : Vol. 10, nr 4, s. 1679-1689.

*Moja rola w powstawaniu ww. prac polegała na gromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa oraz na przygotowaniu manuskryptów (rola wiodąca), następnie opracowaniu ostatecznej wersji oraz prowadzeniu korespondencji z redakcją.*

---

Lista wystąpień krajowych i zagranicznych:

---- *Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:*

- **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. Immunofenotyp makrofagów w środowisku raka płuca w porównaniu do płuca zdrowego. *Pneumonol. Pol.* 2020 : T. 1, nr 2, s. 152

XXIX Spotkania Polskiej Grupy ERS, Korbielew, 03-05.01. 2020

- **Kwiecień I.**, Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Programmed death-1 T cells in lung cancer- a comparison of BALF cells from affected lung to healthy lung and peripheral blood. *Eur. Resp. J.* 2017 : Vol. 50, suppl. 61, s. [nlb.] 1, Abstr. PA210

ERS International Congress 2017, Milan, 09-13.09.2017

- **Kwiecień I.**, Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Cytotoxic T cell antigen 4 and the status of T cell activation in lung cancer: local vs. systemic immune response. *Eur. Resp. J.* 2017 : Vol. 50, suppl. 61, s. nlb. [1], Abstr. OA4863

ERS International Congress 2017, Milan, 09-13.09.2017.

- **Kwiecień I.**, Radkowski M., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J., Kryczka T. Cytokine profile in lung cancer microenvironment- analysis of broncho alveolar lavage fluid by Luminex assay. *Eur. Resp. J.* 2017 : Vol. 50, suppl. 61, s. nlb. [1], Abstr. PA4209

ERS International Congress 2017, Milan, 09-13.09.2017.

- Raniszewska A., **Kwiecień I.**, Polubiec-Kownacka M., Rutkowska E., Domagała-Kulawik J. PD-L1 expression on lung cancer stem cells in metastatic lymph nodes. *Eur. Resp. J.* 2018 : Vol. 52, suppl. 62, s. [nlb.] 1, Abstr. OA3300

ERS International Congress 2018, Paris, 15-19.09.2018.

- **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. Macrophage immunophenotypic and monocyte activation markers in the immune response in lung cancer. *Eur. Resp. J.* 2019 : Vol. 54, Supl. 63, Abstr. PA3658

International Congress 2019, Madrid, 28.09-02.10. 2019.

- Domagała-Kulawik J., Skirecki T., Dziedzic D., Polubiec-Kownacka M., Kryczka T., **Kwiecień I.** Do two lungs form an integrated immune system? Learning from BALF examination in lung cancer. *Ann. Oncol.* 2019 : Vol. 30, Suppl. 2, s. nlb. [1], Abstr. 31P

European Lung Cancer Congress (ELCC), Geneva, 10-13.04.2019.

- Domagała-Kulawik J., Dziedzic D., Polubiec-Kownacka M., Kryczka T., **Kwiecień I.** Can a BALF profile distinguish hot vs cold lung tumors? Ann. Oncol. 2019 : Vol. 30, Suppl. 2, s. nlb. [1], Abstr. 36P

EuropeanLungCancerCongress (ELCC), Geneva, 10-13.04.2019.

- **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J.. Relationship between blood monocyte subsets with activation markers and macrophages in non-small cell lung cancer. Eur. Resp. J. 2020 : Vol. 56, suppl. 64, s. [nlb.] 1-2, [Abst.] 1739

ERS International Congress 2020 - Virtual Meeting: Vienna, 06-09.09.2020.

- **Kwiecień I.**, Rutkowska E., Polubiec-Kownacka M., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. Identification of PD-L2 on macrophages in lung cancer milieu- pilot study. Eur. Resp. J. 2020 : Vol. 56, suppl. 64, s. [nlb.] 1-2, [Abst.] 1767

ERS International Congress 2020 - Virtual Meeting: Vienna, 06-09.09.2020.

*Jestem autorem abstraktów oraz autorem prezentującym (wszystkie ww. z pierwszym autorstwem) na konferencjach krajowych (1) oraz zagranicznych (pozostałe).*

#### ➤ Szpital Specjalistyczny Chorób Płuc w Zakopanem

Współpraca oraz odbycie przeze mnie szkolenia na miejscu w Pracowni Histopatologicznej pod okiem dr n. med. Juliusza Pankowskiego oraz za zgodą Dyrektora prof. dr hab. med. Marcin Zieliński zaowocowało wzbogaceniem mojego warsztatu diagnostyczno-naukowego. Technika TEMLA jest to rozszerzone wycięcie węzłów chłonnych śródpiersia wykorzystywane w diagnostyce niedrobnokomórkowego raka płuca. Zakopiański szpital jest jednym z pierwszych zakładów w Polsce, gdzie ponad pół wieku temu rozpoczęto operacje narządów klatki piersiowej oraz wprowadzono nowoczesne metody leczenia m.in. technikę TEMLA.

Efektom stażu i współpracy było wystąpienie na międzynarodowej konferencji European Respiratory Society oraz praca opublikowanej w suplemencie:

- Domagała-Kulawik J, **Osinska I**, Wołosz D, Pasięka-Lis M, Pankowski J. “Regulatory vs. cytotoxic cells in lymph nodes of lung cancer patients resected by TEMLA” European Respiratory Journal 2016 48: OA1772; DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.OA1772.

Po obronie mojej pracy doktorskiej z powyższej współpracy powstała również publikacja z moim współautorstwem:

- Domagała-Kulawik J., **Kwiecień I.**, Pankowski Juliusz, Pasięka-Lis M., Wołosz D., Zielinski M. Elevated Foxp3/CD8 ratio in lung adenocarcinoma metastatic lymph nodes resected by transcervical extended mediastinal lymphadenectomy. Biomed Res. Int. 2017 : Vol. 2017, Art. ID 5185034, s. 1-17. IF= 2.583 MNiSW= 25

*Moja rola w powstawaniu ww. prac polegała na wykonaniu analiz, gromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa oraz na przygotowaniu manuskryptów (rola wiodąca).*

#### ➤ Zakład Immunologii Translacyjnej i Eksperymentalnej Intensywnej Terapii (dawniej Pracownia Cytometrii Przepływowej) Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

Współpraca skupia się głównie na doskonaleniu technik cytometrycznych co przekłada się na pracę diagnostyczną i naukową oraz czego efektem są publikacje w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym oraz wspólny projekt badawczy.

Zakład Immunologii Translacyjnej i Eksperymentalnej Intensywnej Terapii specjalizuje się w badaniach techniką cytometrii przepływowej oraz w pracy eksperymentalnej na modelu myszy z niedoborem immunologicznym. Jest pierwszym w kraju ośrodkiem, który opracował i wykorzystał w badaniach model myszy humanizowanych. Jest jednym z dwóch ośrodków w kraju, który zajmuje się sepsą w modelach przedklinicznych. Ścisła współpraca z kierownikiem Zakładu dr hab. n. med. Tomaszem Skireckim, prof. CMKP zaowocowała współautorstwem w pracach wymienionych poniżej:

Lista publikacji:	IF	MNiSW/MEiN
---- <i>Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:</i>		
➤ Domagała-Kulawik J., <b>Osińska I.</b> , Piechuta A., Bielicki P, Skirecki T. T, B, and NKT Cells in Systemic Inflammation in Obstructive Sleep Apnoea. Mediators Inflamm. 2015 : Vol. 2015, Art. ID 161579, s. 1-7.	3.418	30
---- <i>Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:</i>		
➤ <b>Kwiecień I.</b> , Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Raniszewska A., Domagała-Kulawik J. Immunophenotype of t cells expressing programmed death-1 and cytotoxic T cell antigen-4 in early lung cancer: local vs. systemic immune response. Cancers 2019 : Vol. 11, nr 4, s. 567, [1-18].	6.162	140
➤ Domagała-Kulawik J., <b>Kwiecień I.</b> , Bielicki P., Skirecki T. Fas-positive lymphocytes are associated with systemic inflammation in obstructive sleep apnea syndrome. SleepBreath. 2019 : Vol. 23, nr 2, s. 673-678.	2.162	70

#### Lista wystąpień krajowych i zagranicznych:

---- <i>Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:</i>	
➤ <b>Kwiecień I.</b> , Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Programmed death-1 T cells in lung cancer- a comparison of BALF cells from affected lung to healthy lung and peripheral blood. Eur. Resp. J. 2017 : Vol. 50, suppl. 61, s. [nlb.] 1, Abstr. PA210 ERS International Congress 2017, Milan, 09-13.09.2017	
➤ <b>Kwiecień I.</b> , Skirecki T., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Cytotoxic T cell antigen 4 and the status of T cell activation in lung cancer: local vs. systemic immune response. Eur. Resp. J. 2017 : Vol. 50, suppl. 61, s. nlb. [1], Abstr. OA4863 ERS International Congress 2017, Milan, 09-13.09.2017.	
➤ Raniszewska A., Barnas M., Bielicki P., <b>Kwiecień I.</b> , Skirecki T., Wernicka A., Wyzgał M., Domagała-Kulawik J. Peripheral blood lymphocyte repertoire in non-obese patients with Obstructive Sleep Apnea. Eur. Resp. J. 2018 : Vol. 52, suppl. 62, s. [nlb.] 1, Abstr.PA2537 ERS International Congress 2018, Paris, 15-19.09.2018.	

- Domagała-Kulawik J., Skirecki T., Dziedzic D., Polubiec-Kownacka M., Kryczka T., **Kwiecień I.** Do two lungs form an integrated immune system? Learning from BALF examination in lung cancer. Ann. Oncol. 2019 : Vol. 30, Suppl. 2, s. nlb. [1], Abstr. 31P  
European Lung Cancer Congress (ELCC), Geneva, 10-13.04.2019.

➤ **Współpraca z Katedrą i Zakładem Patomorfologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny**

Zatrudnienie w Katerze i Zakładzie Patomorfologii WUM w latach 2016-2017 po uzyskaniu tytułu dr n. med. oraz dalsza współpraca z kierownikiem Zakładu prof. dr hab. n. med. Barbarą Górnica oraz dr. n. med. Dominiką Wołosz zapewniły mi rozwój w technikach immunohistochemicznych oraz immunofluorescencyjnych, co zaowocowało wykorzystaniu tych techniki w mojej dalszej pracy naukowej, czego efektem były dwie publikacje (jedna po uzyskaniu tytułu dr n. med.):

Lista publikacji:	IF	MNiSW/MEiN
---- <i>Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:</i>		
➤ <b>Osińska I.</b> , Wołosz D., Domagała-Kulawik J. Association between M1 and M2 macrophages in bronchoalveolar lavage fluid and tobacco smoking in patients with sarcoidosis. Pol. Arch. Med. Wewn. 2014 : Vol. 124, nr 7-8, s. 359-364.	2.121	30
---- <i>Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:</i>		
➤ <b>Kwiecień I.</b> , Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Wołosz D., Rzepecki P., Domagała-Kulawik J. CD163 and CCR7 as markers for macrophage polarisation in lung cancer microenvironment. Centr. Eur. J. Immunol. 2019 : T. 44, nr 4, s. 395-402.	1.455	40

*Moja rola w powstawaniu ww. prac polegała na wykonaniu oznaczeń immunohistochemicznych analizie wyników, gromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa oraz na przygotowaniu manuskryptów (rola wiodąca), następnie opracowaniu ostatecznej wersji oraz prowadzeniu korespondencji z redakcją.*

Dodatkowo w latach 2012-2016 przed obroną tytułu dr. n.med. a następnie w latach 2016-2017 (po obronie tytułu dr. n. med.) byłam ściśle związana z działalnością naukowo-dydaktyczną w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (opis w punkcie: 6.1. Działalność naukowo-dydaktyczna).

➤ **Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wiek Rozwojowego, Warszawski Uniwersytet Medyczny**

Moja współpraca z Zakładem Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wiek Rozwojowego, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego zaczęła się jeszcze w czasie moich studiów w 2012 roku gdzie prowadziłam badania związane z moją pracą magisterską pt. „Cytometryczna ocena ekspresji perforyny w komórkach NK i CD8 w grupie dzieci z autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto” wykonaną pod kierunkiem naukowym Pani Prof. dr hab. Urszuli Demkow i bezpośrednią opieką Pani dr n. med. inż. Katarzyny Popko. Ta współpraca zaowocowała następnie trzema publikacjami (dwoma oryginalnymi i jedną przeglądową, przed uzyskaniem tytułu dr n. med.), a następnie dalszą współpracą opierającą się na zastosowaniu wielokolorowej cytometrii przepływowej (już po uzyskaniu tytułu dr n. med.).

Razem z dr hab. n. med. Anną Stelmaszczyk-Emmel współpracowałam przy wykonywaniu większości oznaczeń do moich badań w czasie studiów doktoranckich, w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wiek Rozwojowego WUM wykonywałam główną część badawczą związaną z cytometrią przepływową.

Po obronie tytułu dr. n. med. nasza współpraca zaowocowała jeszcze jedną publikacją oraz wystąpieniem na konferencji międzynarodowej.

Lista publikacji:	IF	MNiSW /MEiN
<i>---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:</i>		
➤ Popko K., Malinowska I., Rychta M., <b>Osińska I.</b> , Gorska E., Kucharska A., Demkow U. Frequency and spontaneous cytotoxicity of natural killer cells in healthy children: preliminary results. Centr. Eur. J. Immunol. 2013 : Vol. 38, nr 4, s. 562-568.	0.358	15
➤ <b>Osińska I.</b> , Popko K., Demkow U. Perforin: an important player in immune. Response. Centr. Eur. J. Immunol. 2014, Vol. 39, nr 1, s. 109-115.	0.280	15
➤ Popko K., <b>Osińska I.</b> , Kucharska A., Demkow U. Cytometric analysis of perforin expression in NK cells, CD8+, and CD4+ lymphocytes in children with autoimmune Hashimoto's thyroiditis--a preliminary study. J. Pediatr. Endocrinol. Metab. 2015 : Vol. 28, nr 7/8, s. 789-792.	0.912	15
➤ <b>Osińska I.</b> , Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J.. CD4+/CD25high/FoxP3+/CD127- regulatory T cells in bronchoalveolarlavage fluid of lungcancerpatients. Hum. Immunol. 2016 : Vol. 77, nr 10, s. 912-915.	2.311	20
<i>---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:</i>		
➤ <b>Kwiecień I.</b> , Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J. Elevated regulatory T cells, surface and intracellular CTLA-4 expression and interleukin-17 in the lung cancer microenvironment in humans. Cancer Immunol. Immunother . 2017 : Vol. 66, nr 2, s. 161-170.	4.225	30

*Moja rola w powstawaniu ww. prac polegała na gromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa oraz na przygotowaniu manuskryptów (rola wiodąca), następnie opracowaniu ostatecznej wersji zarówno analiza graficzna jak i statystyczna oraz prowadzeniu korespondencji z redakcją (dwie ostatnie prace).*

- Domagała-Kulawik J., Radkowski M., Stelmaszczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Kryczka T., **Kwiecień I.** Cytokine network in relation to regulatory cells in lung cancer microenvironment. Eur. Resp. J. 2017 : Vol. 50, suppl. 61, s. nlb. [1], Abstr. PA4211 ERS International Congress 2017, Milan, 09-13.09.2017.

*Moja rola w powstawaniu ww. praca polegała na przygotowaniu abstraku oraz przygotowaniu wystąpienia dla osoby prezentującej (rola wiodąca) po wcześniejszym opracowaniu wyników,*

➤ Współpraca z Ośrodkiem Diagnostyki Laboratoryjnej Chorób Układu Oddechowego, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Moja współpraca z Ośrodkiem Diagnostyki Laboratoryjnej Chorób Układu Oddechowego polegała na pomocy w opracowaniu odpowiednich technik do oceny makrofagów indukowanych w płwocinie pacjentów z astmą oraz wykonaniu tych oznaczeń. Efektem współpracy była wspólna międzyośrodkowa publikacja (tytuł przedstawiony poniżej).

Celem pracy było zbadanie ekspresji receptorów dla cytokin pochodzenia nabłonkowego: TSLP (TSLPR) i IL-33 (ST2) na makrofagach indukowanych CD206 w płwocinie chorych na astmę i osoby zdrowe oraz analiza zależności między tymi receptorami a cechami klinicznymi choroby. Metodą wykorzystaną we współpracy było barwienie immunofluorescencyjne w kierunku CD206 i TSLPR lub ST2 makrofagów w płwocinie.

- Paplińska-Goryca M., Nejman-Gryz P., Proboszcz M., **Kwiecień I.**, Hermanowicz-Salamon J., Grabczak E. M., Krenke R. Expression of TSLP and IL-33 receptors on sputum macrophages of asthma patients and healthy subjects. J. Asthma 2020 : Vol. 57, nr 1, s. 1-10. IF= 2.515 MNiSW: 70

*Moja rola w powstawaniu ww. pracy (oprócz opisanego powyżej wiodącego wkładu w wykonywaniu oznaczeń oraz odczytów) polegała na zredagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu, wykonaniu analiz graficznych (zdjęcia mikroskopowe).*

➤ Współpraca z Pracownią Zaburzeń Oddychania Podczas Snu, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Współpraca z Pracownią Zaburzeń Oddychania Podczas Snu i kierownikiem Panem dr hab. n. med. Piotr Bieliński polegała na wykonywaniu wiodącej części oznaczeń cytometrycznych subpopulacji limfocytów oraz ocenie czynnika Fas u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym. Współpraca rozpoczęła się w trakcie moich studiów doktoranckich i jej efektem była jedna publikacja i wystąpienia jako współautor na konferencjach zagranicznych.

Po obronie tytułu dr n. med. współpraca była kontynuowana, czego efektem była jedna publikacja i wystąpieniem jako współautor na konferencji zagranicznej.

Lista publikacji:	IF	MNiSW/MEiN
---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:		
➤ Domagała-Kulawik J., <b>Osińska I.</b> , Piechuta A., Bieliński P, Skirecki T. T, B, and NKT Cells in Systemic Inflammation in Obstructive Sleep Apnoea. Mediators Inflamm. 2015 : Vol. 2015, Art. ID 161579, s. 1-7.	3.418	30
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:		
➤ Domagała-Kulawik J., <b>Kwiecień I.</b> , Bieliński P., Skirecki T. Fas-positive lymphocytes are associated with systemic inflammation in obstructive sleep apnea syndrome. SleepBreath. 2019 : Vol. 23, nr 2, s. 673-678.	2.162	70

Lista wystąpień zagranicznych:

---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:

- Piechuta A, Skirecki T., **Osińska I**, Kszuba A, Moszczuk B, Bielicki P, Domagała-Kulawik J. “The pattern of lymphocyte subpopulations including Fas positive cells in patients with obstructive sleep apnea. European Respiratory Journal September 1, 2013 vol. 42 no. Suppl 57 P4976. ERS International Congress Barcelona 2013. Spain, 07-11.09.2013.
- Domagała-Kulawik J, **Osińska I**, Piechuta A, Bielicki P, Skirecki T. “NKT cells in systemic inflammation in the obstructive sleep apnoea syndrome (OSAS)”. ERS International Congress Amsterdam 2015. Amsterdam, 26-30.09.2015. Eur. Resp. J. 46(suppl 59):PA382.
- Piechuta A, Osińska I, Bielicki P, Skirecki T, Domagała-Kulawik J. , “OSA complication score as novel reference to assess systemic inflammation in sleep apnoea”. ERS International Congress Amsterdam 2015. Amsterdam, 26-30.09.2015. Eur. Resp. J.46(suppl 59):PA3365.

---- *Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:*

- Raniszewska A., Barnas M., Bielicki P., **Kwiecień I.**, Skirecki T., Wernicka A., Wyzgał M., Domagała-Kulawik J. Peripheral blood lymphocyte repertoire in non-obese patients with Obstructive Sleep Apnea. Eur. Resp. J. 2018 : Vol. 52, suppl. 62, s. [nlb.] 1, Abstr.PA2537  
ERS International Congress 2018, Paris, 15-19.09.2018.

- **Zakład Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych, Warszawski Uniwersytet Medyczny**  
Współpraca z kierownikiem Zakładu prof. dr hab. n. med. Markiem Radkowskim oraz dr. n.med. Tomaszem Kryczką oraz zapoznanie się z techniką oznaczania cytokin za pomocą techniki Multiplex na aparacie Luminex zaowocowały zastosowaniem tej techniki jako dodatkowej w moich projektach badawczych, czego efektem były wystąpienia na konferencjach naukowych i prace w suplemencie wymienione poniżej:

Lista wystąpień zagranicznych:

---- *Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:*

- **Kwiecień I.**, Radkowski M., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Domagała-Kulawik J., Kryczka T. Cytokine profile in lung cancer microenvironment- analysis of bronchoalveolar lavage fluid by Luminex assay. Eur. Resp. J. 2017 : Vol. 50, suppl. 61, s. nlb. [1], Abstr. PA4209  
ERS International Congress 2017, Milan, 09-13.09.2017.
- Domagała-Kulawik J., Radkowski M., Stelmazczyk-Emmel A., Polubiec-Kownacka M., Dziedzic D., Kryczka T., **Kwiecień I.** Cytokine network in relation to regulatory cells in lung cancer microenvironment. Eur. Resp. J. 2017 : Vol. 50, suppl. 61, s. nlb. [1], Abstr. PA4211  
ERS International Congress 2017, Milan, 09-13.09.2017.
- Domagała-Kulawik J., Skirecki T., Dziedzic D., Polubiec-Kownacka M., Kryczka T., **Kwiecień I.** Do two lungs form an integrated immune system? Learning from BALF examination in lung cancer. Ann. Oncol. 2019 : Vol. 30, Suppl. 2, s. nlb. [1], Abstr. 31P  
European Lung Cancer Congress (ELCC), Geneva, 10-13.04.2019.
- Domagała-Kulawik J., Dziedzic D., Polubiec-Kownacka M., Kryczka T., **Kwiecień I.** Can a BALF profile distinguish hot vs cold lung tumors? Ann. Oncol. 2019 : Vol. 30, Suppl. 2, s. nlb. [1], Abstr. 36P  
European Lung Cancer Congress (ELCC), Geneva, 10-13.04.2019.

*Moja rola w powstawaniu ww. praca polegała na przygotowaniu abstraktów (rola wiodąca) po wcześniejszym opracowaniu wyników oraz czynnym wystąpieniu na konferencji (praca z pierwszym autorstwem).*

➤ **Współpraca w ramach Polish Myeloma Consortium.**

Współpraca wieloośrodkowa w ramach Polish Myeloma Consortium (Polskiego Konsorcjum Szpiczakowego).

W badaniach uczestniczyły cztery pracownie cytometrii przepływowej polskich ośrodków hematologicznych, w tym: Pracownia Cytometrii Przepływowej Kliniki Hematologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytecki Szpital Przemienienia Pańskiego w Poznaniu, Pracownia Cytometrii Przepływowej i Cytomorfologii Oddział Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Szpitala Uniwersyteckiego we Wrocławiu, Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej UM w Lublinie oraz jako Laboratorium Koordynujące Pracownia Immunofenotypowania Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Lata: 2019-2021

Efektem współpracy była publikacja z moim czynnym współautorstwem:

- Krzywdzińska K., Puła B., Czyż A., Krzymieniewska B., Kiernicka-Parulska J., Mierzwa A., Szymczak D., Milanowska A., Kiraga A., **Kwiecień I.**, Zaleska J., Jamroziak K. Harmonization of Flow Cytometric Minimal Residual Disease Assessment in Multiple Myeloma in Centers of Polish Myeloma Consortium. *Diagnostics* (Basel). 2021 Oct 11;11(10):1872. doi:10.3390/diagnostics11101872. IF=3.992, MNiSW: 70

*Moja rola w powstawaniu publikacji opierała się na opracowaniu wyników, wykonaniu analiz statystycznych oraz graficznych.*

➤ **Szkoła Doktorska WUM oraz Uczelnia Medyczna im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie**

Współpraca w ramach trwającego od 2022 roku Projektu badawczego pt. „Lung cancer in patients with COPD- clinical characteristics and markers of immune regulation”. Decyzja nr RND/SDB/0725/161/1/2022 Szkoła Doktorska Warszawski Uniwersytet Medyczny. Moja funkcja związana jest z pełnieniem roli: promotora pomocniczego dla lek. Robert Ulińskiego (promotor prof. dr hab. n. med. Joanna Domagała-Kulawik Uczelnia Medyczna im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie). Efektem mojej merytorycznej opieki nad przewodem doktorskim jest wspólna praca przeglądowa:

- Uliński R., **Kwiecień I.**, Domagała-Kulawik J. Lung cancer in the course of COPD-emerging problems today. *Cancers* 2022 : Vol. 14, nr 15, s. e3819, 1-17.  
IF= 6.575, MNiSW=140

*Moja rola w powstawaniu ww. prac polegała na gromadzeniu, doborze i analizie piśmiennictwa oraz na zredagowaniu przygotowanego przez doktoranta manuskryptów (rola wiodąca) i wspólnym opracowaniu ostatecznej wersji.*

## **6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę**

### **6.1. Działalność naukowo-dydaktyczna**

---- *Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:*

- **2012-2016** Prowadzenie zajęć dydaktycznych dla studentów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz czynne uczestniczenie w działalności dydaktycznej I Wydziału Lekarskiego

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w ramach realizacji pensum dydaktycznego studiów doktoranckich (po 90h w semestrze) tj. prowadzenie zajęć, układanie pytań egzaminacyjnych, dyżury ze studentami

- Zajęcia seminaryjne z cytologii klinicznej dla Kierunku: Analityka medyczna, tematy: Podstawy diagnostyki cytologicznej, Diagnostyka cytologiczna układu oddechowego, Cytodiagnostyka narządów litych jamy brzusznej, Diagnostyka cytologiczna płynów z jam ciała
  - Zajęcia seminaryjne z patomorfologii dla Kierunku: Fizjoterapia , tematy: Patologia płuc ze szczególnym uwzględnieniem zapaleń
  - Wykłady z patomorfologii dla Kierunku: Pielęgniarstwo, tematy: Patologia układu oddechowego
  - Zajęcia seminaryjne z patomorfologii dla Kierunku: Ratownictwo medyczne, tematy: Patologia układu oddechowego – stany nagłe
- **2013.03.07** Kurs: "Przysposobienie pedagogiczne 2013" pod patronatem: Prorektora ds. Dydaktyczno-Wychowawczych: Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i Prorektora ds. Kształcenia Akademii Pedagogiki Specjalnej im. Marii Grzegorzewskiej.
- **2013.03.19** Wykład pt. „Cytometryczna ocena ekspresji perforyny w komórkach NK i limfocytach CD8+ w grupie dzieci z autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy typu Hashimoto” Posiedzenie Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych Oddział Warszawski, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego.
- **2014.11.27** Wykład pt. „Porozmawiajmy o makrofagach” Osińska I, Spotkanie Warszawskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Immunologii Klinicznej i Doświadczalnej.

---- *Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:*

- **2016-2017** Prowadzenie zajęć dydaktycznych dla studentów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w ramach zatrudnienia w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Warszawski Uniwersytet Medyczny
- **2019-2021** Udział czynny w prowadzeniu szkoleń naukowych wewnętrznych Kliniki Chorób Wewnętrznych i Hematologii, Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego. Prowadzenie szkoleń pod tytułem: „Analiza cytometryczna najciekawszych przypadków tygodnia”, „Zastosowanie cytometrii przepływowej w diagnostyce chorób rozrostowych układu krwiotwórczego”, „Problemy hematologiczne w różnych dyscyplinach medycznych”
- **2020-obecnie** Objęcie stanowiska naukowego (od 2020 Asystent naukowy, od 2022-obecnie Adiunkt w Wojskowym Instytucie Medycznym–Państwowy Instytut Badawczy), prowadzenie zajęć praktycznych w Pracowni Hematologii i Cytometrii Przepływowej Kliniki Chorób Wewnętrznych i Hematologii dla lekarzy realizujących program specjalizacji oraz szkolenia praktyczne dla cytometrystów z innych ośrodków cytometrycznych w Polsce
- **2022- obecnie** Funkcja promotora pomocniczego, współpraca międzyośrodkowa lek. Robert Ulińskiego Szkoła Doktorska Warszawski Uniwersytet Medyczny. Projekt badawczy pt. „Lung cancer in patients with COPD- clinical characteristics and markers of immune regulation”. RND/SDB/0725/161/1/2022

- **2023.02.21** Podpisanie deklaracji gotowości do prowadzenia zajęć dydaktycznych na studiach jednolitych magisterskich o profilu ogólnoakademickim na kierunku lekarskim na Uniwersytecie Warszawskim od dnia 01.10.2027 (termin rozpoczęcia prowadzenia zajęć).

Jestem również regularnym uczestnikiem polskich oraz międzynarodowych konferencji i spotkań naukowych (w tym szkoleń organizowanych w ramach ww. spotkań) takich jak: European Respiratory Society International Congress, Kongresów Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc, Zjazdów Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Szkół Cytometrii Przepływowej Becton Dickinson BD, Spotkań naukowych Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Międzynarodowego ERS Lung Cancer Congress, Spotkań Naukowych Polskiej Grupy ERS, Polskiej Szkoły Hematologii (Sesje wiosenne i jesienne). Posiadam aktualny certyfikat GCP (Good Clinical Practice).

W większości wyżej wymienionych spotkań naukowych mój udział miał charakter czynny (wykłady, wystąpienia ustne w sesjach plakatowych, dyskusja na sesjach tematycznych – spis wystąpień czynnych na konferencjach zawarty w punkcie 5.3. Wystąpienia krajowe i międzynarodowe).

W czasie tych konferencji brałam również udział bierny w licznych warsztatach i sesjach edukacyjnych proponowanych przez organizatorów.

## 6.2. Działalność organizacyjna

### ---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych:

- Członek zarządu w Polskim Towarzystwie Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej PTIDiK Oddział warszawski. Przez dwie kadencje w latach 2014-2017 oraz 2017-2020 (po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych) pełniłam rolę Skarbnika. Czynny udział w zebraniach Zarządu.
- Organizacja Spotkań naukowych w ramach Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej PTIKiD Oddział warszawski.
- Członek Komitetu Organizacyjnego i Naukowego Minisymposium pt. „Porozmawiajmy o makrofagach” organizowanej w dniu 27.11.2014 w Warszawie. Dom Lekarza. Organizator Spotkania: Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej Oddział warszawski.
- Członek Komitetu Organizacyjnego i Naukowego Konferencji pt. „Sarkoidoza niejednom ma imię” organizowanej w dniu 25.04.2015 w Ciechocinku. Patronat honorowy: Dziekan I Wydziału Lekarskiego WUM Prof. dr hab. Mirosław Wielgoś. Organizator Konferencji: Polskie Towarzystwo Immunologii Klinicznej i Doświadczalnej oraz Polskie Towarzystwo Chorób Płuc.
- Symposium Naukowo-Szkoleniowe – Regulacja Odpowiedzi Immunologicznej, 20 stycznia 2016 r., Warszawa – organizowane przy współudziale PTIDiK Oddział warszawski oraz Wydział Biologii UW i Polskie Towarzystwo Biologii Medycznej.

### ---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:

- Członek Zarządu Stowarzyszenia Kulturalno-Edukacyjno-Naukowego „KEN” od 27 kwietnia 2015 do 13 października 2018 r. Stowarzyszenie Kulturalno-Edukacyjno-Naukowe „KEN” to wielopokoleniowa koalicja osób aktywnie popierających i podejmujących działania ukierunkowane na tworzenie i promowanie nowoczesnych form edukacji. Jako Członek Zarządu odpowiadałam w Stowarzyszeniu za koncepcję podejmowanych działań, m.in. za przygotowywanie i opiniowanie wniosków o dotacje na organizację cyklu warsztatów w warszawskich gimnazjach i szkołach ponadgimnazjalnych.

- Organizacja XII Polsko-Francuskiego Spotkania Pulmonologicznego 25.09.2017 r. – strona finansowa PTIDiK Oddział warszawski, jako członek zarządu: skarbnik PTIDiK Oddział warszawski.

Załącznik nr A6: Działalność organizacyjna

### 6.3. Działalność popularyzująca naukę

#### 6.3.1. Funkcja redaktora w czasopismach:

---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

Redaktor gościnny Cells MDPI (IF= 7.666) (ISSN 2073-4409) Special Issue "Immune Biomarkers of Chronic Lung Diseases and Lung Cancer"

Sekcja "Cellular Immunology". closed (27 January 2023) | Viewed by 1747

Special Issue: [https://www.mdpi.com/journal/cells/special\\_issues/1F78GH48YY](https://www.mdpi.com/journal/cells/special_issues/1F78GH48YY)

Członek rady redakcyjnej Frontiers in Immunology IF= 8.786

<https://www.frontiersin.org/journals/immunology> od 2023 roku

Sekcja: Cancer Immunity and Immunotherapy

<https://loop.frontiersin.org/people/1530679/overview>

Członek rady redakcyjnej Frontiers in Oncology IF=5.738

<https://www.frontiersin.org/journals/oncology> od 2023 roku

Sekcja: Cancer Immunity and Immunotherapy

<https://loop.frontiersin.org/people/1530679/overview>

#### 6.3.2. Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych:

---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

- Gene Reports (Elsevier) – IF (-) MNiSW 20 (1–2020)
- Central European Journal of Immunology – IF 1.634 MNiSW 70 (1– 2021)
- Trnanslational Lung Cancer Reaserch – IF 4.726 MNiSW 140 (1–2021)
- OncoTargets and Therapy – IF 4.147 MNiSW 70 (2–2021)
- Cancers MDPI – IF 6.639 MNiSW 140 (1–2021, 1–2023)
- World Journal of Clinical Cases – IF 1.534 MNiSW 70 (1–2023)
- Frontiers in Immunology – IF 8.786 MNiSW 120 (1–2023)

Załącznik nr A7: Recenzowane publikacje w czasopismach międzynarodowych

#### 6.3.3. Wystąpienia na licznych konferencjach krajowych i zagranicznych (lista wystąpień punkt 5.3.)

#### 6.3.4. Inne:

---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych

- Funkcja prowadzącej sesje na międzynarodowej konferencji ERS International Congress 2015 w Amsterdamie, Holandia. Tytuł sesji: "Cell biology of lung cancer and new biomarkers".

---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

- Funkcja prowadzącej sesje na międzynarodowej konferencji ERS International Congress 2019 w Madrycie, Hiszpania. Tytuł sesji: “Thoracic oncology: Treatment, diagnostic options and biology”.
- Czynne uczestnictwo w Towarzystwach naukowych: organizacja mini sympozjów w ramach Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej PTIDiK Oddział Warszawski, 2014-2020.
- Współpraca z firmą Sysmex, testowanie pierwszego na rynku Cytomteru Przepływowego Sysmex, współpraca w porozumieniu Wojskowym Instytutem Medycznym i firma zewnętrzna Sysmex, 2022.10.21 (30 dni).
- Udział w Programie Zewnętrznej Międzynarodowej Oceny Jakości Cytometria przepływowa UK NEQAS Leucocyte Immunophenotyping, 2020-2021 / 2021-2022
- Aktualny certyfikat Good Clinical Practice.

Załącznik nr A8: Działalność popularyzująca naukę – Inne

#### 6.4. Nagrody i wyróżnienia

##### ---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych

- 2013.04.20 Medal dla najlepszego absolwenta Medycyny Laboratoryjnej „Złoty laur absolwenta”. Warszawski Uniwersytet Medyczny. Galeria Porczyńskich Warszawa.
- 2014.04.04 Nagroda II stopnia Redaktor Naczelnej Polskiego Archiwum Medycyny Wewnętrznej za najlepszą studencką pracę oryginalną: "M1/M2 subpopulations of BALF macrophages in patients with sarcoidosis: influence of smoking status". Osińska I, Wołosz D, Domagała-Kulawik J. The 13th Conference of the Polish Society of Internal Medicine w Warszawie.
- 2014.04.21 European Respiratory Society (ERS) Award ERS Lung Science Conference. Estoril. Portugalia. Nagroda za prezentację “M1/M2 subpopulation of macrophages in patients with Sarcoidosis- influence of smoking status – stypendium oraz uczestnik programu mentorskiego.
- 2014.05.13 Złota nagroda: Gold award of Polish Society of Lung Diseases, XXXIII Congress of the Polish Society of Lung Diseases" za badanie pt.: “CTLA-4 expression on CD4+/CD25<sup>high</sup> cells in lung cancer patients". Osińska I, Skierecki T, Domagała-Kulawik J. Jacharnka. Poland.
- 2014.05.15 Nagroda III stopnia w sesji Choroby Wewnętrzne za pracę pt. “Macrophage polarization in interstitial lung diseases” Wojtan P, Mierzejewski M, Kwiecień I. 10th Warsaw Internal Medical Congress for Young Scientists. Warszawa.
- 2014.10.27 Nagroda zespołowa naukowa Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego III stopnia za współautorstwo cyklu prac dotyczących „Biomarkerów w chorobach układu oddechowego” .
- 2014.10.27 Nagroda zespołowa naukowa Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego III stopnia za współautorstwo cyklu prac dotyczących „Badania komórek układu krwiotwórczego i odpornościowego metodą cytometrii przepływowej”.
- 2014-2015 Stypendium Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego dla najlepszych doktorantów .
- 2015-2016 Stypendium Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego dla najlepszych doktorantów.

---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

- 2019.05.27 Dyplom za wyróżniającą postawę i pracę wymagającą poświęcenia, odpowiedzialności i zaangażowania z okazji Dnia Diagnosty Laboratoryjnego, Dyrektor WIM i Prezes Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych
- 2021.10.07 Nagroda zespołowa naukowa Dyrektora Wojskowego Instytutu Medycznego II stopnia za współautorstwo cyklu prac pt. „Profil komórkowo-cytokinowy u pacjentów z COVID-19 z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i analizatora hematologicznego” Kwiecień I, Rutkowska E, Kłos K, Rzepecki P, Chciałowski A.
- 2022.09.29 Nagroda zespołowa naukowa Dyrektora Wojskowego Instytutu Medycznego I stopnia za współautorstwo cyklu prac pt. „Wykorzystanie wielokolorowej cytometrii przepływowej oraz materiału z przezoskrzelowej biopsji aspiracyjnej pod kontrolą USG do oceny elementów komórkowych w chorobach płuc” Kwiecień I, Rutkowska E, Kłos K, Rzepecki P, Chciałowski A. Kwiecień I, Rutkowska E, Sokołowski R, Jahnz-Różyk K, Rzepecki P.

Załącznik nr A9: Potwierdzenia nagród


**6.5. Członkostwo w Towarzystwach naukowych**

Rok/lata	Nazwa Towarzystwa naukowego lub organizacji	Funkcja
---- Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych		
➤ 2012-2016	ERS European Respiratory Society (ID:302693).	Członek
➤ 2012-2016	Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej. Oddział Warszawski.	Członek
➤ 2014-2016	Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej. Oddział Warszawski.	Skarbnik
➤ 2012-2016	Polskie Towarzystwo Chorób Płuc (numer członkostwa *1520).	Członek
➤ 2013-2016	Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej. Oddział Warszawski.	Członek
---- Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych		
➤ 2017-obecnie	ERS European Respiratory Society (ID:302693).	Członek
➤ 2017-obecnie	Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej. Oddział Warszawski.	Członek
➤ 2017-2020	Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej. Oddział Warszawski.	Skarbnik
➤ 2017-obecnie	Polskie Towarzystwo Chorób Płuc (numer członkostwa *1520).	Członek
➤ 2017-obecnie	Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej. Oddział Warszawski.	Członek
➤ 2019-obecnie	Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów.	Członek

Załącznik nr A10: Potwierdzenia członkostwa i roli w Towarzystwach naukowych

**7. Wykaz załączników do dokumentu Autoreferat**

- Załącznik nr A1: Potwierdzenia staży i praktyk krajowych i zagranicznych
- Załącznik nr A2: Analiza bibliometryczna
- Załącznik nr A3: Publikacje wchodzące w skład cyklu
- Załącznik nr A4: Oświadczenia autora i współautorów o wkładzie autorskim w powstawanie publikacji
- Załącznik nr A5: Potwierdzenia uczestnictwa w projektach naukowych
- Załącznik nr A6: Działalność organizacyjna
- Załącznik nr A7: Recenzowane publikacje w czasopismach międzynarodowych
- Załącznik nr A8: Działalność popularyzująca naukę – Inne
- Załącznik nr A9: Potwierdzenia nagród
- Załącznik nr A10: Potwierdzenia członkostwa i roli w Towarzystwach naukowych

  
.....  
(podpis wnioskodawcy)