Dr hab. n. med. Mirosław Bik-Multanowski, prof. UJ
Zakład Genetyki Medycznej
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
Ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków

Recenzja osiągnięcia naukowego i istotnej aktywności naukowej doktor Doroty Jesionek-Kupnickiej, będących podstawą postępowania habilitacyjnego,

przygotowana na zlecenie Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów

Wykształcenie i przebieg pracy zawodowej Habilitantki:

Doktor Dorota Jesionek-Kupnicka jest absolwentką Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytet Medyczny w Łodzi), gdzie uzyskała tytuł lekarza medycyny w roku 1988. W roku 1992 uzyskała specjalizację pierwszego, a w roku 1996 specjalizację drugiego stopnia z patomorfologii. W roku 1994, również w Akademii Medycznej w Łodzi, obroniła pracę doktorską zatytułowaną „Histoklinika stwardnienia guzkowego (NS) ziarnicy złośliwej z uwzględnieniem cech immunofenotypowych komórek Reed-Sternberga i Hodgkina". Od roku 1992 jest zawodowo związana z Zakładem Patologii Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, gdzie w ciągu pierwszych 15 lat pracy była zatrudniona na stanowisku asystenta, następnie przez 10 lat na stanowisku adiunkta a od roku 2016 pracuje na stanowisku starszego wykładowcy. Ponadto, od 15 lat pracuje w Zakładzie Patomorfologii SYNEVO Łódź, przy Szpitalu im. Mikołaja Kopernika w Łodzi, którym od dwóch lat kieruje.

Ocena osiągnięcia naukowego:

Jako osiągnięcie naukowe wymagane do uzyskania stopnia doktora habilitowanego doktor Dorota Jesionek-Kupnicka przedstawiła cykl czterech prac zatytułowany „Charakterystyka wybranych zaburzeń molekularnych w glejaku

wielopostaciowym ze szczególnym uwzględnieniem genów *MGMT* i *TP53*". Powyższy cykl obejmuje prace oryginalne opublikowane w latach 2009 – 2017 w czasopismach z listy Journal Citation Reports (Archives of Medical Science, DNA Cell Biology, Polish Journal of Pathology oraz Cancer Genetics and Cytogenetics), o łącznym współczynniku oddziaływania (Impact Factor) wynoszącym 6,768 – spełniającym wymagania stawiane w trakcie przewodu habilitacyjnego.

Doktor Dorota Jesionek-Kupnicka jest pierwszym autorem wszystkich artykułów wchodzących w skład cyklu stanowiącego podstawę wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Wkład autorski Habilitantki w przedstawionym osiągnięciu naukowym jest oszacowany na około 70-75% dla pierwszych trzech prac i 30% dla chronologicznie pierwszej pracy w cyklu, w której trzy osoby wspólnie wymienione są na pozycji pierwszego autora. Odpowiada to realnemu nakładowi pracy i jest zgodne z oświadczeniami współautorów. Wkład koncepcyjny włożony przez Habilitantkę w planowanie eksperymentów, bezpośredni udział w wykonaniu badań, analizie wyników i opracowaniu manuskryptów świadczy o dojrzałości naukowej autorki.

Celem prac będących podstawą omawianego cyklu było określenie zaburzeń epigenetycznych statusu metylacyjnego promotorów genów *TP53* i *MGMT* (technika specyficznej dla metylacji reakcji PCR) oraz ekspresji *TP53 i MGMT* na poziomie transkrypcyjnym (ekspresja mRNA określona metodą ilościowej reakcji PCR) i translacyjnym (ocena immunohistochemiczna ekspresji białka) w pierwotnym glejaku wielopostaciowym. W badanych próbkach tkankowych przeprowadzono również analizę obecności mutacji – markerów predykcyjnych – w wybranych genach: *TP53* i *IDH1* (sekwencjonowanie metodą Sangera), amplifikacji genu *EGFR* (technika multiplex PCR) oraz oceny utraty heterozygotyczności w regionach 1p, 19q, 9p, 10q, 13q, 17p. Określono również wpływ wybranych cząsteczek mikroRNA na regulację ekspresji *TP53* (*miR-21, miR-34a, miR-125b*) i *MGMT* (*miR-648 i miR-181d*).

Glejak wielopostaciowy (glioblastoma multiforme) jest najczęstszym pierwotnym nowotworem ośrodkowego układu nerwowego. Na obecnym etapie rozwoju medycyny jest on niestety nieuleczalny a terapia obejmuje resekcję chirurgiczną guza w możliwie najszerszym zakresie, z następową radioterapią i chemioterapią temozolomidem. Mimo licznych badań dotyczących identyfikacji markerów molekularnych, przydatnych w klasyfikacji diagnostycznej i stratyfikacji prognostycznej, ich znaczenie prognostyczne w

gioblastoma multiforme jest nadal kontrowersyjne, w przeciwieństwie do lepiej poznanych markerów w glejakach o niższym stopniu złośliwości według WHO.

Efektem praktycznym pierwszej chronologicznie pracy z omawianego cyklu, opublikowanej w roku 2009 w Cancer Genetics and Cytogenetics, było wdrożenie aplikacyjne badania metylacji promotora *MGMT* jako czynnika predykcyjnego i określenie częstości metylacji promotora *MGMT* w materiale pooperacyjnym z tkanki nowotworowej usuniętej pacjentom z glejakiem wielopostaciowym.

W artykule zamieszczonym w roku 2013 w Polish Journal of Pathology wykazano między innymi, że pacjenci z utratą heterozygotyczności w co najmniej jednym z badanych *loci* chromosomowych mieli istotnie gorsze rokowanie niż pacjenci bez takiej zmiany.

W pracy opublikowanej w DNA and Cell Biology (2014) oceniano wpływ metylacji głównego promotora *TP53* na wyciszanie ekspresji transkrypcyjnej tego genu i translacyjnej białka TP53. Stosowano tutaj metody biologii molekularnej w połączeniu z technikami immunohistochemicznymi. Co ciekawe, stwierdzono, że metylacja głównego promotora *TP53* nie odgrywa roli w wyciszaniu ekspresji genu (i ograniczeniu produkcji białka TP53). Autorzy pracy uznali, że ekspresja *TP53* jest prawdopodobnie regulowana przez inne genetyczne i epigenetyczne mechanizmy związane z genami uczestniczącymi w szlaku *TP53*, a szczególną rolę odgrywają prawdopodobnie specyficzne cząsteczki mikroRNA. W związku z powyższym projekt badawczy rozwinięto, uzupełniając eksperymenty o ocenę ekspresji wybranych mikroRNA – wyniki badań zostały następnie opublikowane w Archives of Medical Science (2017). Wykazano między innymi odwrotną korelację poziomów ekspresji *miR-34a* i *TP53* u pacjentów z immunohistochemicznie wykrytą nadekspresją białka TP53 oraz ekspresji *MGMT* i *miR-648* u pacjentów z metylacją promotora *MGMT*. Autorzy uznali, że niektóre cząsteczki mikroRNA mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie glejaka wielopostaciowego, wpływając na ekspresję genów supresorowych (*TP53*) i genów naprawy DNA (*MGMT*).

Podsumowując – przedstawiony ciąg prac zawiera ciekawe poznawczo i interesujące od strony praktycznej dane dotyczące metylacji promotorów genów *MGMT* i *TP53* w polskiej populacji pacjentów z glejakiem wielopostaciowym, przydatności rokowniczej stwierdzenia w tkance nowotworowej wybranych markerów molekularnych oraz epigenetyki badanych guzów. Ponadto, w swoich badaniach

Habilitantka wykorzystała różnorodne techniki laboratoryjne z dziedziny biologii molekularnej w połączeniu z technikami immunohistochemicznymi.

W okresie od roku 2009 do 2017, kiedy powstawały cztery prace wyodrębnione jako osiągnięcie naukowe będące podstawą wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego, zainteresowania i metodologiczne podejście Habilitantki ewoluowało wraz z postępem technologicznym. Wobec stosunkowo dobrego poznania struktury DNA wybranych genów, poza analizą obecności klasycznych mutacji w obrębie sekwencji DNA, Habilitantka skupiła się na epigenetycznym tle patogenezy glioblastoma multiforme.

Niedostatkiem przedstawionych badań jest ich rozciągnięcie na okres dziewięciu lat, co, przy umiarkowanej wielkości badanej populacji (w poszczególnych pracach badano ogółem 123 próbki tkanek), dużej zmienności glejaka wielopostaciowego, oraz zastosowaniu w poszczególnych pracach różnorodnych technik badawczych, znacznie ograniczyło możliwość wyciągnięcia ogólnych wniosków o charakterze praktycznym. Nie stosowano również technik wysokoprzepustowych, np. badań mikromacierzowych czy sekwencjonowania nowej generacji, które umożliwiłyby analizę interesujących Autorkę problemów badawczych w znacznie szerszej perspektywie. Niemniej jednak omówione powyżej artykuły nie budzą zastrzeżeń metodologicznych, przeprowadzone eksperymenty są tematycznie spójne, zostały opisane w sposób wyczerpujący i rzetelny a poruszana tematyka jest ważna poznawczo z punktu widzenia neuropatologii.

Reasumując, w moim odczuciu przedstawione osiągnięcie naukowe, będące podstawą przewodu habilitacyjnego spełnia wymogi ustawowe stawiane tego typu pracom i stanowi istotny wkład autora w rozwój dyscypliny naukowej.

Ocena pozostałej aktywności naukowej, działalności dydaktycznej i organizacyjnej:

Oprócz badań nad patogenezą glejaką wielopostaciowego Habilitantka zajmowała się również innymi zagadnieniami z zakresu neuropatologii. Patologia mózgu jest główną sferą zainteresowań naukowych doktor Doroty Jesionek-Kupnickiej. Kolejnymi obszarami zainteresowań są nowotwory limfo i mieloproliferacyjne, raki żołądka i jelita grubego, algorytm diagnostyczny poszukiwania pierwotnej lokalizacji nowotworów

przerzutowych w wątrobie, dermatopatologia a także rak piersi i inne nowotwory ginekologiczne.

Zwraca uwagę długi okres od obrony doktoratu do złożenia wniosku o stopień doktora habilitowanego (25 lat). W okresie tym można jednak zaobserwować stałą aktywność naukową Habilitantki, potwierdzoną znaczną liczbą publikacji. Doktor Dorota Jesionek-Kupnicka jest autorem 63 prac oryginalnych o łącznym wskaźniku IF 90,173. Dorobek uzupełnia 7 prac kazuistycznych, 1 praca poglądowa, 25 rozdziałów w pracach zbiorowych a także 63 doniesienia zjazdowe, w większości prezentowane na konferencjach międzynarodowych. Należy zaznaczyć, że liczba prac oryginalnych znacznie przekracza liczbę zazwyczaj oczekiwaną w przypadku przewodu habilitacyjnego. Podobnie, indeks Hirscha dla całego dorobku Habilitantki wynosi 12, wyraźnie przekraczając zazwyczaj przyjmowaną wartość minimalną (4-5). Różnorodność dorobku naukowego doktor Jesionek-Kupnickiej potwierdza jednocześnie posiadaną przez nią umiejętność współpracy z innymi badaczami – reprezentującymi zarówno inne jednostki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi jak i ośrodki zewnętrzne.

Habilitantka prowadziła badania w ramach grantów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (jako kierownik) i była wykonawcą w grantach KBN, Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Narodowego Centrum Nauki. Wprawdzie nie prowadziła indywidualnych grantów Narodowego Centrum Nauki ani programów badawczych finansowanych ze źródeł zewnętrznych, jednak o jakości jej pracy naukowej świadczą kilkakrotnie otrzymane nagrody Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Całość dorobku Habilitantki świadczy o dojrzałości naukowej niezbędnej samodzielnemu naukowcowi.

Doktor Dorota Jesionek-Kupnicka posiada długoletnie doświadczenie dydaktyczne w pracy ze studentami medycyny, stomatologii, biotechnologii, ratownictwa medycznego, dietetyki oraz kosmetologii. Była ponadto kierownikiem specjalizacji trzech lekarzy specjalizujących się w patomorfologii oraz opiekunem studentów na etapie pisania prac dyplomowych (sześć prac magisterskich i licencjackich).

Na koniec należy podkreślić, że, oprócz bardzo obszernego doświadczenia zawodowego, Habilitantka posiada doświadczenie organizacyjne i managerskie,

wynikające między innymi z koordynowania różnorodnych zajęć dydaktycznych i kierowania Zakładem Patomorfologii przy Szpitalu im. Mikołaja Kopernika w Łodzi.

Wniosek końcowy:

W mojej ocenie dorobek naukowy doktor Doroty Jesionek-Kupnickiej uzasadnia nadanie jej stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych, zgodnie z art. 179 ust 1 i 2 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018.1669) i art. 16 ust. 1 i 4 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Niniejszym wnioskuję o nadanie doktor Dorocie Jesionek-Kupnickiej powyższego stopnia.

Kraków, 2.01.2020

Dr hab. n. med. Mirosław Bik-Multanowski, prof. UJ

Dr hab. n. med. prof. UJ
Mirosław Bik-Multanowski
Specjalista pediatrii, genetyki klinicznej,
pediatrii metabolicznej
i laboratoryjnej genetyki medycznej
1194771; 9806022229; 09422; tel. 602559131