Gdański Uniwersytet Medyczny
Zakład Patologii i Neuropatologii
80-211 Gdańsk, ul. Dębinki 1
tel./fax 58 764 02 88
e-mail: patneuropat@gumed.edu.pl

Ocena osiągnięcia naukowego

„Charakterystyka wybranych zaburzeń molekularnych w glejaku wielopostaciowym ze szczególnym uwzględnieniem genów MGMT i TP53"

oraz dorobku naukowego dr n. med. Doroty Jesionek-Kupnickiej - kandydatki do stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie NAUKI MEDYCZNE w dyscyplinie MEDYCYNA

Dorota Jesionek-Kupnicka uzyskała dyplom lekarza na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytet Medyczny w Łodzi) w 1988. Od czasu studiów interesowała się patomorfologią i po odbyciu stażu podyplomowego podjęła specjalizację w tej dziedzinie. W 1992 uzyskała I stopień specjalizacji, a w 1996 - II stopień specjalizacji z patomorfologii. W 1994 r. uzyskała stopień doktora nauk medycznych na Akademii Medycznej w Łodzi, na podstawie pracy doktorskiej pod tytułem: "Histoklinika stwardnienia guzkowego (NS) ziarnicy złośliwej z uwzględnieniem cech immunofenotypowych komórek Reed-Sternberga i Hodgkina".

Od 1992 r. pracuje w Zakładzie Patologii, Katedry Onkologii UMED Łódź, najpierw jako asystent, następnie do roku 2016 jako adiunkt, a obecnie jako starszy wykładowca i koordynator dydaktyczny Katedry Onkologii UMED. Równolegle z działalnością dydaktyczno- naukową dr Jesionek-Kupnicka pracowała jako patomorfolog w szpitalach w Łodzi i okolicy. Odbyła liczne szkolenia na kursach i stażach krajowych i międzynarodowych organizowanych przez różne jednostki szkolące. Od 2005r. jest zatrudniona w Zakładzie Patomorfologii SYNEVO Łódź, przy Szpitalu im. Kopernika w Łodzi, pełniąc funkcję koordynatora Pracowni Immunohistochemii. Od 2018r. jest kierowniczką tego Zakładu Patomorfologii Synevo.

Dr Dorota Jesionek-Kupnicka jest wieloletnim aktywnym pracownikiem naukowym o szerokich zainteresowaniach. Główne obszary Jej pracy badawczej to neuropatologia, hematopatologia, nowotwory przewodu pokarmowego, dermatopatologia i nowotwory ginekologiczne.

Jako specjalista patomorfolog praktyk, zajmowała się szczególnie wszechstronnymi zagadnieniami histo-klinicznymi różnych nowotworów. W projektach naukowych stosowała różne metody badawcze: klasyczne morfologiczne

badania tkankowe i cytologiczne, prace na mikromacierzach tkankowych, immunohistochemię, badania ultrastrukturalne, badania molekularne, cytometrię przepływową, badania cytogenetyczne, hybrydyzację *in situ*, TUNEL do badania apoptozy. Tak szerokie doświadczenie metodyczne nabyte we własnych badaniach i pracach zespołowych, zasługuje na podkreślenie, gdyż świadczy o profesjonalizmie warsztatu badawczego Habilitantki.

W obszarze neuropatologii Kandydatka zajmowała się nowotworami mózgu w aspektach diagnostycznych i poznawczych, chorobami neurodegeneracyjnymi i metabolicznymi. Badania prowadziła i prowadzi z interdyscyplinarnymi zespołami: Klinika i Oddziały Neurochirurgii, Zakład Biologii Molekularnej, Zakładem Patologii Molekularnej i Neuropatologii. W efekcie tej współpracy powstało wiele publikacji oryginalnych, opisów przypadków i doniesień zjazdowych, w których w znacznej części Habilitantka jest pierwszą autorką. Diagnostyka guzów mózgu, zwłaszcza glejaków należy do jednego z głównych obszarów zainteresowań, obejmując także rzadsze w populacji dorosłych typy nowotworów, takich jak gwiaździaki cienkowłókienkowe i zwojakoglejaki, ponadto- szczególne podtypy oponiaków oraz pierwotne chłoniaki, czy czerniak OUN. Istotny nurt dorobku dr Jesionek-Kupnickiej to badania molekularne w glejakach i innych guzach OUN. Dotyczyły one zwłaszcza analizy zmian i statusu genu TP53 i genu WWOX. Zespół badawczy, którego była aktywnym członkiem, analizował szczegółowo gen p53 na poziomie DNA, cDNA i białka, uwzględniając korelacje z wieloaspektową charakterystyką glejaków. Badania dotyczyły także genu EGFR oraz aberracji chromosomalnych genomowych w glejakach. Dr Jesionek-Kupnicka jest m.in. autorką pracy poglądowej na temat zaburzeń molekularnych w glejaku wielopostaciowym.
Habilitantka badała ponadto ultrastrukturę guzów mózgu i wybranych zmian komórkowych w chorobie Krabbe'go i Creutzfelda-Jakoba. W chorobach tych dr Jesionek-Kupnicka badała między innymi apoptozę. Należy wspomnieć także o pracach eksperymentalnych prowadzonych z Kliniką Neurologii dotyczących przezskórnej immunizacji peptydami mielinowymi u chorych na stwardnienie rozsiane oraz projektu realizowanego z Zakładem Chirurgii Doświadczalnej i Instytutem Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej dotyczącego wpływu produkowanych przez bakterie neurotub celulozowych na regenerację uszkodzonych nerwów obwodowych.

Hematopatologia to druga ulubiona dziedzina badawcza Habilitantki. Liczne prace w tym obszarze powstają od lat w kooperacji z zespołami Kliniki Hematologii i Kliniką Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii UM w Łodzi oraz Instytutem Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Praca doktorska poświęcona była ziarnicy złośliwej (chłoniakowi Hodgkina). Dr Dorota Jesionek-Kupnicka jest pierwszą autorką lub współautorką serii publikacji dotyczących polimorfizmów genów i immunofenotypizacji chłoniaków ziarniczych i nieziarniczych oraz różnych typów białaczek. Napisała także znaczące prace poglądowe na temat diagnostyki nowotworów układu chłonnnego oraz serię interesujących prac kazuistycznych. Habilitantka jest członkiem Polskiej Grupy Badania Chłoniaków. W swych badaniach hematopatologicznych, Habilitantka istotną uwagę przykładała do korelacji pato-klinicznych, związków genotyp- fenotyp i poszukiwania nowoczesnych czynników prognostycznych i predykcyjnych. Prace przeprowadzane w oparciu o nowoczesne technologicznie metody poruszały też zagadnienia predyspozycji genetycznych do zachorowania na nowotwory układu chłonnego. Kolejnym tematem badań były różne aspekty angiogenezy w nowotworach hematologicznych.

Guzy przewodu pokarmowego, a głównie rak żołądka i rak jelita grubego stanowią następny obszar zainteresowań Habilitantki, realizowany we współpracy z kilinicystami i biologami molekularnymi. Cykl prac dotyczył próby wyodrębnienia czynników biologicznych o znaczeniu rokowniczym, takich jak indeks proliferacyjny, apoptotyczny, gęstość naczyniowa, charakterystyka pato- kliniczna w korelacji z markerami immunofenotypowymi. W raku żołądka prowadzono też badania molekularne, zwłaszcza zmian i aktywności genów ABCB1 i p65. W serii guzów jelita autorka zanalizowała również geny KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA w kontekście prognostycznym, szczególnie występowania przerzutów. Przerzuty do wątroby o nieznanym ognisku pierwotnym to kolejny temat realizowany przez dr Jesionek-Kupnicką, m.in. z Zakładem Diagnostyki Obrazowej Ośrodka Onkologicznego Szpitala im. Kopernika w Łodzi. Na podstawie analiz interdyscyplinarnych powstało kilka publikacji prezentujących algorytmy diagnostyczne. Ponadto wykonano badania porównawcze czułości i swoistości biopsji cienkoigłowej i gruboigłowej zmian ogniskowych w wątrobie na dużych grupach pacjentów. Wyniki tych badań wpłynęły na obecne podejście diagnostyczne w codziennej praktyce klinicznej.

W zakresie dermatopatologii Habilitantka współpracowała z zespołem Centrum Zdrowia Matki Polki. Prowadzone badania dotyczyły patologii i biologii kilku

nowotworów złośliwych i dermatoz, efektu i mechanizmu działania różnych metod fototerapii w wybranych chorobach skóry.

Rak piersi i nowotwory ginekologiczne stanowią kolejne pole zainteresowań i działalności naukowej dr Jesionek- Kupnickiej. Wyniki prac zespołowych nad angiogenezą, profilem i zmianami molekularnymi oraz aktywnością wybranych enzymów zostały opublikowane w czasopismach polskich i zagranicznych. Jednym z kluczowych zgłębianych zagadnień była ekspresja i status HER2 i p65 w raku piersi, badane różnymi metodami. Ponadto: definiowanie podtypów molekularnych tego raka, detekcja cytokeratyn *basal-like*, ocena nasilenia apoptozy, markerów proliferacyjnych (Ki67, cykliny E) jak i szeroko pojęte korelacje pato- kliniczne w raku gruczołu sutkowego. Habilitantka prowadzi też prace z zakresu onkoimmunologii, oznaczając CTLA-4, PD-1 i TILs w tkankach guzów. Projekty badawcze z udziałem Habilitantki w dziedzinie ginekologii skupiały się na analizie różnic w systemach oceny zaawansowania raka endometrium i badaniach czynników wzrostu VEGF i FGF w kontekście angiogenezy w procesie nowotworowym.

Istotnym elementem dorobku Habilitantki są rozdziały w kilku polskich podręcznikach dotyczące podstaw patologii onkologicznej, guzów kości, raka trzonu macicy – „Onkologia. Podręcznik dla studentów i lekarzy" (kolejne wydania od 2003) oraz rozdział dotyczący badania histopatologicznego szpiku kostnego – w podręczniku „Hematologia dla studentów i lekarzy", ponadto rozdziały na temat guzów zębopochodnych i torbieli nabłonkowych, nowotworów szczęk, gardła i jamy ustnej – „Onkologia dla stomatologów", „Nowotwory: zarys patologii onkologicznej".

Należy dodać, że Kandydatka uczestniczyła aktywnie w zjazdach, konferencjach i kongresach w Polsce i za granicą, prezentując ustnie i w formie plakatowej naukowe doniesienia zjazdowe. Część streszczeń z tych doniesień zostało opublikowanych w czasopismach i materiałach zjazdowych.

Podsumowanie dorobku naukowego dr med. Doroty Jesionek-Kupnickiej :

Na dzień 06 marca 2019 łączny IF dr med. Doroty Jesionek-Kupnickiej wynosił 101,853, punktacja MNiSW- 1246.

Habilitantka jest autorką 63 prac oryginalnych, w tym w wielu jako pierwsza autorka (IF 14,525), licznych opisów przypadków oraz 25 publikacji bez IF, a także 8 prac poglądowych. Publikacje Habilitantki datują się od roku 1993. Dorobek naukowy

uległ wielokrotnemu pomnożeniu względem osiągnięć przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych.
Jest autorką i współautorką 25 rozdziałów książkowych, w tym jednego w monografii zagranicznej.
W dorobku znajduje się też współautorstwo 63 doniesień zjazdowych, w tym 34 z konferencji międzynarodowych.
Cytowania- 488 (Scopus 651), indeks Hirscha- 12 (Scopus 13)

Udział w projektach badawczych:

Dr Jesionek-Kupnicka kierowała kilkoma projektami typu prace własne Uniwersytetu Medycznego w Łodzi: Badania apoptozy w chorobach neurodegeneracyjnych i nowotworowych OUN; Znaczenie rokownicze analizy cytometrycznej limfocytów naciekających tkankę nowotworów złośliwych; Badania nad mechanizmami molekularnymi i nowymi czynnikami prognostycznymi w glejaku wielopostaciowym (PTEN, LOH10, PDGFR, białek cyklu komórkowego); Badania LOH1p i 19q w glioblastoma w powiązaniu z ekspresją MGMT i przebiegiem choroby; W jednym z projektów prac własnych UM w Łodzi była wykonawcą: Poszukiwanie mechanizmów odpowiedzialnych za eliminację transkryptu TP53 w nowotworach.

Była następnie wykonawcą etapów badań w projektach ministerialnych (NCN): „Patogenetyczne i rokownicze znaczenie polimorfizmów genetycznych HLA w nowotworach układu chłonnego" oraz „Profil metylacyjny i ekspresja microRNA w różnych typach nowotworów".

Nagrody i wyróżnienia:

W latach 2007, 2009, 2010, 2012, 2013 i 2017 dr Jesionek-Kupnicka otrzymała nagrody zespołowe I, II i III stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi za cykle prac lub pojedyncze publikacje w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna.

Habilitantka ma duże doświadczenie i zasługi dydaktyczne w szkoleniu przed i podyplomowym oraz specjalistycznym.
Prowadzi od 1992 r. różne zajęcia (wykłady, seminaria, ćwiczenia) ze studentami wielu kierunków studiów UM w Łodzi Wydziału Lekarskiego, Wojskowo-Lekarskiego,

Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego, Farmaceutycznego i Nauk o Zdrowiu. Koordynuje od wielu lat pracę dydaktyczną i opracowuje zaliczenia i egzaminy oraz odpowiada za jakość i poziom nauczania z zakresu patomorfologii i onkologii. Prowadzi przedmioty; propedeutyka onkologii, onkologia, onkologia skóry, chirurgia z onkologią. Nadzorowała Studenckie Koło Patomorfologiczne oraz uczestniczyła jako juror w sesjach STN „Juvenes pro Medicina".
Była opiekunem trzech prac licencjackich i trzech magisterskich oraz recenzentem prac licencjackich. Sprawowała opiekę nad dwoma studentami medycyny UM w Łodzi z indywidualnym tokiem studiów.

W zakresie kształcenia podyplomowego dr Jesionek-Kupnicka była kierownikiem trzech specjalizacji w dziedzinie patomorfologii. Ponadto nadzorowała kursy specjalizacyjne z patomorfologii odbywane przez lekarzy różnych specjalności.

Była wykładowcą na wielu zebraniach szkoleniowych organizowanych w obrębie UM w Łodzi oraz na forum ogólnopolskim- CMKP w Warszawie, konferencje naukowo- szkoleniowe towarzystw naukowych (Polskie Towarzystwo Onkologii, Towarzystwo Neurochirurgów Polskich, Stowarzyszenie Neuropatologów Polskich, Polskie Towarzystwo Patologów, PTOiHD).

Habilitantka partycypowała ponadto w pracach Komitetu Organizacyjnego Zjazdów Polskiego Towarzystwa Patologów oraz Komitetów Naukowych spotkań i zjazdów neuropatologicznych i hematologicznych w Polsce.

Habilitantka od wielu lat jest członkiem Polskiego Towarzystwa Patologów, pełni funkcję przewodniczącej Oddziału Łódzkiego PTP. Należy do Grupy Roboczej Hematopatologicznej PTP. Działała w Stowarzyszeniu Neuropatologów Polskich. Jest także członkiem Polskiego Towarzystwa Onkologicznego i działa w zarządzie Oddziału Łódzkiego PTO. Pracuje aktywnie w strukturach międzynarodowych takich jak European Bone Marrow Working Group. W ramach powyższej działalności uczestniczy w szkoleniach oraz opracowaniach nowoczesnych standardów diagnostycznych patomorfologicznych i zasad współpracy pato- klinicznej w kontekście diagnostycznym i terapeutycznym.

Osiągnięcie naukowe dr med. Doroty Jesionek-Kupnickiej zatytułowane „Charakterystyka wybranych zaburzeń molekularnych w glejaku wielopostaciowym ze szczególnym uwzględnieniem genów MGMT i TP53." stanowi cykl czterech oryginalnych publikacji naukowych, powstałych po uzyskaniu stopnia doktora nauk

medycznych, opublikowanych w czasopismach z listy JCR (zagranicznych i polskich) o łącznym współczynniku IF 6.768, punktacji MNiSW 85.

1. Jesionek-Kupnicka D, Braun M, Trąbska-Kluch B, Czech J, Szybka M, Szymańska B, Kulczycka-Wojdala D, Bieńkowski M, Kordek R, Zawlik I. MiR-21, miR-34a, miR-125b, miR-181d and miR-648 levels inversely correlate with *MGMT* and *TP53* expression in primary glioblastoma patients. Archives of Medical Science 2017; *https://doi.org/10.5114/aoms.2017.69374*. (IF -2,344; MNiSW-30).
2. Jesionek-Kupnicka D, Szybka M, Małachowska B, Fendler W, Potemski P, Piaskowski S, Jaskólski D, Papierz W, Skowroński W, Och W, Kordek R, Zawlik I. *TP53* promoter methylation in primary glioblastoma: relationship with *TP53* mRNA and protein expression and mutation status. DNA Cell. Biol. 2014;33(4): 217-226. (IF-2.055; MNiSW-20).
3. Jesionek-Kupnicka D, Szybka M, Potemski P, Kulczycka-Wojdała D, Jaskólski D, Bieńkowski M, Skowroński W, Papierz W, Kordek R, Zawlik I. Association of loss of heterozygosity with shorter survival in primary glioblastoma patients. Pol. J. Pathol. 2013; 64(4):268-275. (IF- 0.832; MNiSW -15).
4. Jesień-Lewandowicz E*, Jesionek-Kupnicka D*, Zawlik I*, Szybka M, Kulczycka-Wojdala D, Liberski PP, Kordek R. High incidence of *MGMT* promoter methylation in primary glioblastomas without correlation with *TP53* gene mutations. Cancer Genet. Cytogenet. 2009;188(2):77-82. (IF -1.537; MNiSW-20). (*równy udział w pracy)

Celem powyższych publikacji było określenie zaburzeń epigenetycznych statusu metylacyjnego promotorów *TP53* i *MGMT* oraz ekspresji *TP53 i MGMT* na poziomie transkrypcyjnym oraz translacyjnym (ocena immunohistochemiczna białek) w glejaku wielopostaciowym. Dokonano też analizy mutacji *TP53* i *IDH1*, amplifikacji genu *EGFR*, oceny utraty heterozygotyczności LOH 1p, 19q, 9p, 10q, 13q, 17p i kodelecji 1p/19q. Kolejnym celem było określenie wpływu wybranych microRNA na regulację ekspresji *TP53* (*miR-21, miR-34a, miR-125b*) i *MGMT* (*miR-648 i miR-181d*). Dokonano następnie analizy powiązań pato- klinicznej charakterystyki badanej grupy pacjentów. Badania dotyczące glejaka wielopostaciowego przeprowadzone były na tkankach guzów mózgu mrożonych oraz utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie; w badaniach LOH zbadano także DNA krwi obwodowej.

Przeprowadzone badania ujawniły istotne poznawczo i klinicznie wyniki. Częstość metylacji *MGMT* w pierwotnym glejaku wielopostaciowym w badanym materiale charakteryzuje się dużą zmiennością. Metylacja *MGMT* nie miała związku z wiekiem pacjentów i nie była niezależnym czynnikiem prognostycznym dla pacjentów leczonych standardowo radioterapią. Nie wykazano też zwiększonej liczby mutacji *TP53* z G: C do A: T u pacjentów z metylacją *MGMT.* Pacjenci z LOH w co najmniej jednym z badanych *loci* na wszystkich chromosomach, mieli istotnie gorsze rokowanie niż pacjenci bez utraty heterozygotyczności w tkance guza (z wyjątkiem LOH13q) pod względem mediany czasu przeżycia oraz zwiększonego ryzyka zgonu. Mutacja, ekspresja, metylacja *TP53*, ekspresja i metylacja *MGMT* oraz amplifikacja *EGFR* nie miały wpływu na czas przeżycia pacjentów z pierwotnym glioblastoma. Kodelecje 1p/19q były rzadkie w pierwotnym glioblastoma i nie występowały z mutacją *IDH1*. Stwierdzana w nielicznych przypadkach kodelecja nie korelowała z długością przeżycia pacjentów z glioblastoma. Częstość metylacji promotora *TP53* w badanych grupach pacjentów była niska. Nie stwierdzono związku między metylacją promotora *TP53* a poziomem mRNA *TP53* jak i ekspresją białka p53. Nie ujawniono związków między ekspresją mRNA *TP53* a mutacją genu *TP53*, ale stwierdzono istotny związek między mutacją *TP53* a ekspresją białka *p53*. Metylacja głównego promotora *TP53* nie odgrywa roli w wyciszaniu ekspresji transkrypcyjnej oraz translacyjnej i jest regulowana przez inne genetyczne i epigenetyczne mechanizmy związane z genami uczestniczącymi w szlaku *TP53* w tym mikroRNA. Kolejne badania ujawniły, że wybrane mikroRNA są znacząco skorelowane z poziomami *MGMT* i *TP53*, ale stopień tej korelacji różni się w odniesieniu do statusu mutacji, nadekspresji i metylacji promotora *MGMT i TP53*. Poziomy ekspresji *miR-34a* i *TP53* były ujemnie skorelowane u pacjentów z immunohistochemicznie wykrytą nadekspresją białka p53, poziomy ekspresji *miR-21* i *TP53* były ujemnie skorelowane u pacjentów z mutacjami *TP53*. Wykryto ujemną korelację między ekspresją *MGMT* a *miR-648* u pacjentów z metylacją promotora *MGMT oraz* między mRNA *MGMT* i *miR-181d.* U pacjentów z metylacją *MGMT* poziom ekspresji *MGMT* był ujemnie skorelowany z poziomami ekspresji *miR-648* i *miR-125b.* Wyniki te mają istotne znaczenie, bowiem sugerują, że wyselekcjonowane mikroRNA (szczególnie *miR-34a, miR-125b* i *miR-648*) odgrywają istotną rolę w patogenezie glioblastoma, ponieważ mogą wpływać na ekspresję genów supresorowych (*TP53*) i genów naprawy DNA (*MGMT*) w zależności od ich statusu

mutacyjnego i metylacyjnego w pierwotnym glioblastoma, co w przyszłości może przełożyć się na opracowanie terapii opartej na niekodujących RNA.

Omówienie tematyki i wyników badań własnych w autoreferacie ujawnia dużą wszechstronną wiedzę merytoryczną i zaangażowanie Habilitantki oraz potwierdza, że wykonana i prowadzona przez wiele lat praca badawcza stanowi dojrzałe dzieło doświadczonego patomorfologa wnoszące istotne nowe wartości do nauk medycznych. Preferowane przez Kandydatkę dziedziny neuropatologii i hematopatologii są szczególnymi i wysoko specjalistycznymi obszarami w patologii. Dr Jesionek-Kupnicka posiada także doskonałą umiejętność pracy zespołowej i kooperacji w grupach badawczych interdyscyplinarnych, a równocześnie jest samodzielnym naukowcem rozwiązującym problemy badawcze i powierzone zadania w oparciu o własne koncepcje.

Uważam, że obfity i wszechstronny dorobek naukowy dr n. med. Doroty Jesionek-Kupnickiej oraz Jej osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne, jak i osiągnięcie naukowe „Charakterystyka wybranych zaburzeń molekularnych w glejaku wielopostaciowym ze szczególnym uwzględnieniem genów MGMT i TP53" w pełni uzasadniają starania o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie medycyna.

Wnioskuję o dopuszczenie dr n. med. Doroty Jesionek-Kupnickiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Gdańsk, 29.08.2019.

KIEROWNIK
Zakładu Patologii i Neuropatologii
dr hab. Ewa Iżycka-Świeszewska

Prof. dr hab. Ewa Iżycka-Świeszewska
Zakład Patologii i Neuropatologii
Gdański Uniwersytet Medyczny