

Warszawa 20.12.2016

Prof. dr hab. Janusz A. Siedlecki
Zakład Onkologii
Molekularnej i Translacyjnej
Centrum Onkologii-Instytut
ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa

**Ocena dorobku naukowego, osiągnięcia naukowego, działalności
dydaktycznej dr n. medycznych w zakresie biologii medycznej
Elżbiety Janiny Płuciennik**

Przebieg pracy zawodowej

Dr nauk medycznych Elżbieta Janina Płuciennik uzyskała dyplom mgr biologii, specjalność biochemia, na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego w 2003 r. W 2007 r. na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „*Wykorzystanie metody amplifikacji DNA w czasie rzeczywistym do oznaczania poziomu ekspresji wybranych markerów diagnostyczno-prognostycznych w raku piersi*” Rada Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nadała jej stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. W tym samym roku dr Elżbieta Płuciennik podjęła pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Kancerogenezy Molekularnej Katedry Medycyny Molekularnej i Biotechnologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W 2011 r. została awansowana na stanowisko adiunkta w tej samej jednostce. Do chwili obecnej pracuje na tym samym stanowisku.

W okresie zatrudnienia w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi nie odbyła żadnego stażu krajowego i zagranicznego w instytucjach naukowych.

Ocena osiągnięcia naukowego i pozostałego dorobku naukowego.

Ocena bibliometryczna

Dr Elżbieta Płuciennik jest autorką 36 publikacji w czasopismach naukowych w tym 30 w czasopismach anglojęzycznych i 6 w czasopismach polskich. Jest autorką lub współautorką 27 prac oryginalnych opublikowanych w piśmiennictwie anglojęzycznym, 2 kazuistycznych (obie w czasopismach anglojęzycznych) i 3 prac poglądowych (jedna w czasopiśmie anglojęzycznym). Spośród 27 prac oryginalnych pierwszym autorem jest w 8 pracach a drugim w 14 pracach. Łączny IF wszystkich prac kandydatki wynosi 69,976, w

tym 19,781 przypada na prace naukowe, w których jest pierwszym autorem. Według bazy Web of Science jej indeks Hirscha wynosi 10, a liczba cytowań wynosi 394 (nie zaznaczono czy bez autocytowań). Na dorobek naukowy dr Elżbiety Płuciennik składa się ponadto 19 doniesień na konferencjach naukowych zagranicznych i 17 na konferencjach naukowych polskich. Kandydatka jest także współautorem pięciu skryptów dla studentów, w tym dwóch z bioinformatyki, jednego z biologii molekularnej, jednego z kancerogenezy molekularnej i jednego z modelowania białek. Podsumowując, ocena bibliometryczna wskazuje, że dorobek kandydatki lokuje się powyżej przeciętnej.

Ocena osiągnięcia naukowego

Na przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe pt. „*Rola genu supresorowego WWOX w regulacji procesów biologicznych nowotworów pęcherza moczowego i błony śluzowej macicy*” składają się cztery wieloautorskie prace oryginalne opublikowane w czasopiśmie naukowych o łącznym IF równym 8,8 i punktacji MNiSW 80. We wszystkich tych pracach dr Elżbieta Płuciennik jest pierwszym autorem. Moje zdziwienie budzi jednak przypisanie sobie udziału w tych pracach na tak wysokim poziomie (w pracach nr 1 i 4 autorka ocenia swój udział na 80%, a w pracach 2 i 3 60%). Szczególnie intrygująca jest ocena w pracy nr 2 i 3, w której habilitantka ocenia swój udział na 60%, podczas gdy w pracy zaznaczono równy udział w jej wykonaniu przez pierwszych dwóch autorów. Pomijając jednak tę drobną uwagę warto podkreślić nowatorski charakter informacji zawartych w tych pracach. Elementem spajającym wszystkie te cztery prace jest badanie roli jaką w organizmie odgrywa produkt genu *WWOX* i jaką rolę w procesie kancerogenezy odgrywa zaburzenie w tym genie. Gen *WWOX* zaliczany jest do klasy genów supresorowych (choć habilitantka nazywa go nietypowym genem supresorowym ze względu na fakt, że pojedyncza zmiana jest wystarczająca do zaburzenia jego funkcji i, że jak dotąd nie stwierdzono w żadnym z badanych przypadków zmian w obu allelach tego genu). Jedna z prac składających się na dzieło wykonana jest na materiale od pacjentów z rakiem pęcherza, a trzy pozostałe na materiale od pacjentów lub ludzkich liniach komórkowych raka endometrium.

Praca pt. „*Alternating expression levels of WWOX tumor suppressor and cancer-related genes in patients with bladder cancer*” (nr 1) poświęcona jest badaniom zmian w poziomie ekspresji genu *WWOX* i niektórych innych genów związanych z kancerogenezą w raku pęcherza moczowego. Autorka próbowała znaleźć korelacje pomiędzy zmianami w poziomie ekspresji genu *WWOX* a zmianami w poziomie ekspresji innych genów biorących

udział w podstawowych procesach takich jak proliferacja, apoptoza, cykl komórkowy i transdukcja sygnału w tym nowotworze. Habilitantka wykazała w niej, że przyczyną zmian w poziomie ekspresji genu *WWOX* jest albo utrata heterozygotyczności albo metylacja promotora tego genu. Wykazała też, że obniżenie poziomu ekspresji *WWOX* związane jest z procesami regulującymi przebieg cyklu komórkowego, apoptozy i unaczynienia nowotworu.

W pierwszej z trzech kolejnych prac poświęconych badaniom roli genu *WWOX* w raku endometrium pt. „*The WWOX tumor suppressor gene in endometrial adenocarcinoma*” (nr 2) habilitantka analizowała zmiany w poziomie ekspresji genu *WWOX* na poziomie mRNA i białka w materiale pochodzącym od chorych na raka endometrium. Kandydatka wykazała, że spadek ekspresji tego genu skorelowany jest ze wzrostem stopnia zaawansowania choroby. Podobnie jak w pracy wykonanej na materiale od chorych na raka pęcherza moczowego udało jej się wykazać związek spadku ekspresji genu *WWOX* z regulacją procesu apoptozy. Można więc przyjąć, że jest to proces ogólniejszy i wart bliższego przyjrzenia się. Dodatkowo Pani Płuciennik wykazała związek pomiędzy spadkiem ekspresji *WWOX* a ścieżką regulatorową szlaku WNT. Ponieważ szlak WNT jest związany z adhezją komórkową, autorka zainteresowała się problemem roli produktu genu *WWOX* w procesie transformacji epithelialno-mezenchymalnej (EMT). Badania te opublikowane zostały w pracy pt. „*The role of WWOX tumor suppressor gene in the regulation of EMT process via regulation of CDH1-ZEB1-VIM expression in endometrial cancer*” (praca nr 3). Tym razem jednak badania prowadzono na hormonozależnych liniach komórkowych raka endometrium. W eksperymentach, w których transfekowano linie raka endometrium plazmidem zawierającym gen *WWOX* analizowano zmiany wywołane nadekspresją tego genu. Habilitantka wykazała, że nadekspresja genu *WWOX* prowadzi do wzrostu zdolności transfekowanych komórek do inwazji. Równocześnie powtórnie potwierdzono zmiany w ekspresji genów, których produkty uczestniczą w szlaku WNT i apoptozy. Zmiany w poziomie ekspresji obserwowano także w przypadku chemo- i cytokin związanych z procesami zapalnymi, w TGF- β i w kadherynie E. Porównanie tych danych z danymi klinicznymi potwierdza wstępne wyniki wskazujące na istotną rolę produktu genu *WWOX* w procesie EMT. Potwierdza również związek pomiędzy poziomem ekspresji genu *WWOX* a agresywnością i ryzykiem nawrotu choroby w rakach endometrium. W dalszych badaniach prowadzonych na liniach komórkowych prawidłowego endometrium i raka endometrium o różnym stopniu zróżnicowania przedstawionych w ostatniej z cyklu prac pt. „*The influence of WWOX gene in regulation of biological processes during endometrial carcinogenesis*” (praca nr 4) kandydatka wykazała, że w linii

prawidłowego endometrium po wyciszeniu genu *WWOX* obserwuje się spadek zdolności adhezyjnych komórek endometrium do białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Przeciwnie, w liniach raka endometrium brak produktu genu *WWOX* wiąże się ze wzrostem adhezji i zdolnością do wzrostu w zawieszynie. Ten wzrost jest większy w słabo zróżnicowanych agresywniejszych liniach raka endometrium.

Podsumowując, w przedstawionym osiągnięciu jest wiele nowych informacji na temat roli biologicznej białka *WWOX*. Badania prowadzone były zarówno na liniach komórkowych prawidłowych i nowotworowych jak i na materiale pobranym od pacjentów z rakiem pęcherza moczowego i endometrium. Warto w tym miejscu podkreślić, że kandydatka uzyskała zgodę lokalnej komisji etycznej na prace z materiałem ludzkim. Za najważniejsze osiągnięcie będące wynikiem tego cyklu prac należy uznać wykazanie istotnej roli białka *WWOX* w szlaku WNT związanym z adhezją komórkową oraz wykazanie roli produktu genu *WWOX* w procesie transformacji epitelialno-mezenchymalnej. W innych pracach prowadzonych przez habilitantkę nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, ale będących w jej dorobku potwierdzono istotną rolę metylacji promotora genu *WWOX* sugerując, że spadek ekspresji tego genu obserwowany w nowotworach (raku jelita grubego i gęzaka) jest między innymi wynikiem metylacji. Potwierdzono także związki poziomu ekspresji genu *WWOX* ze szlakami proliferacyjnymi i apoptozą oraz związek wzrostu poziomu ekspresji ze wzrostem zdolności do przerzutowania. Warto w tym miejscu podkreślić, że wszystkie te prace opublikowano w czasopiśmie anglojęzycznych, oraz że w sześciu na siedem dr Elżbieta Płuciennik była pierwszym albo drugim autorem.

Na zakończenie tej części warto dodać, że w ciągu kilkunastu lat badań przy dużym wysiłku ze strony wielu naukowców udało się wykazać wiele związków pomiędzy produktem genu *WWOX* a różnymi procesami w komórkach prawidłowych i nowotworowych. Mimo tego funkcja genu *WWOX* ciągle nie została do końca wyjaśniona.

Ocena pozostałej działalności naukowej

W aktywności naukowej dr Elżbiety Płuciennik, poza badaniami, które stały się podstawą publikacji składających się na osiągnięcie naukowe oraz wspomnianymi powyżej badaniami nad funkcją genu *WWOX*, które nie wchodzą w skład osiągnięcia naukowego można wyróżnić dwie dodatkowe linie badawcze.

Pierwsza to poszukiwanie nowych markerów diagnostyczno-prognostycznych w raku piersi. Kandydatka sprawdzała możliwość wykorzystania różnych markerów jednocześnie starając się równolegle odpowiedzieć na pytanie, która z technik: immunohistochemiczna, pozwalająca na ocenę obecności białka, czy molekularna oparta na ilościowej ocenie obecności mRNA dla danego białka, jest bardziej funkcjonalna, a co za tym idzie bardziej przydatna przy podejmowaniu ewentualnych decyzji diagnostycznych i/lub terapeutycznych. Analizowano zarówno receptor estrogenowy jak i różne cytokeratyny a także cyklinę E, kadherynę N oraz HER2. Wyniki tych badań wskazują, że techniki immunohistochemiczne są bardziej użyteczne niż badania ekspresji na poziomie mRNA. Autorka sugeruje, że za rozbieżności obu tych metod odpowiada heterogenność guza nowotworowego, ale zdaniem recenzenta nie jest to jedyna przyczyna. Za te rozbieżności może także odpowiadać fakt, że nie zawsze mamy do czynienia z prostą zależnością pomiędzy poziomem ekspresji mierzonym ilością mRNA, a ilością powstałego w oparciu o to mRNA białka.

Równolegle prowadzone badania nad kancerogenezą molekularną, a w szczególności nad oceną zmian w poziomie ekspresji określonych genów, których produkty są elementami podstawowych procesów komórkowych takich jak proliferacja, apoptoza, przekazywanie sygnałów czy regulacja hormonalna, pozwoliły habilitantce na opracowanie algorytmu składającego się z oceny ekspresji dziesięciu genów, których analiza ekspresji tego panelu genów pozwala na podział grupy estrogeno ujemnych (ER-) na dwie podgrupy o różnym ryzyku wznowy. Wysoki poziom ekspresji związany był z mniejszym ryzykiem wznowy u pacjentek z pierwotnym rakiem piersi.

Zupełnie niezależną linię stanowią badania nad rolą układu renina-angiotensyna w procesie kancerogenezy nowotworów hormonozależnych takich jak rak endometrium i rak prostaty. Wyniki tych badań przedstawione zostały w sześciu publikacjach. W pracach tych dr Elżbieta Płuciennik jest zwykle drugim lub dalszym autorem co wyraźnie wskazuje, że habilitantka wykorzystwała swoje umiejętności w zakresie posługiwania się technikami molekularnymi przy współpracy ze specjalistami z innych pokrewnych dziedzin. Takie działania należy oceniać pozytywnie gdyż zwykle poszerzają one horyzonty i pozwalają spojrzeć z innej strony na badane procesy. Wyniki tych prac wskazują na istotną rolę angiotensyny II (AT2) w pierwszej fazie rozwoju nowotworu w trakcie indukcji procesu neoangiogenezy. Ten proces jest stymulowany przez syntezę VEGF. Angiotensyna II działa za pośrednictwem receptorów AT1 i AT2 (AT1R i AT2R). W rakach endometrium we wszystkich stopniach zróżnicowania można zaobserwować pozytywną korelację pomiędzy

AT1R i VEGFR. Jak twierdzą autorzy tych prac angiotensyna II może poprzez receptor AT1R wpływać na regulację ekspresji VEGFR.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Dr Elżbieta Płuciennik jest kierownikiem przedmiotu Biologia Molekularna na I stopniu oraz Strukturalna Bioinformatyka na drugim stopniu studiów na kierunku Biotechnologia Medyczna na Wydziale Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego. Prowadzi też zajęcia ze studentami z zakresu bioinformatyki, w tym z komputerowego modelowania struktury białek, z genetyki drobnoustrojów, metod analizy genetycznej, podstaw inżynierii genetycznej i kancerogenezy molekularnej. W ramach projektu „Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie...” prowadziła w 2014 r. wykłady na temat przygotowania aplikacji w konkursach badawczych krajowych i zagranicznych.

W latach 2010-2013 dr Płuciennik pełniła funkcję opiekuna studentów kierunku Biotechnologia Medyczna.

Dr Elżbieta Płuciennik była promotorem 5 prac magisterskich i 15 prac licencjackich. Od 2013 r. sprawuje też opiekę w charakterze opiekuna naukowego i promotora pomocniczego doktorantki

Dr Elżbieta Płuciennik wielokrotnie recenzowała prace naukowe dla polskich i zagranicznych czasopism naukowych.

W 2008 r. otrzymała za pracę doktorską Indywidualną Nagrodę Ministra Zdrowia Pięciokrotnie też otrzymała nagrodę Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

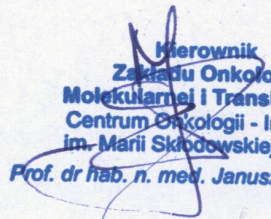
Dr Elżbieta Płuciennik uczestniczyła w realizacji siedmiu projektów grantowych, w tym w pięciu w charakterze wykonawcy, jednym głównego wykonawcy i w jednym w charakterze kierownika.

Kandydatka nie jest członkiem żadnego międzynarodowego i polskiego towarzystwa naukowego.

Wniosek końcowy

Reasumując oceniam dorobek naukowy dr Elżbiety Płuciennik jako interesujący. Wydaje się, że Habilitantka dysponuje wartościowym i ciekawym warsztatem badawczym. Zakres i rodzaj stosowanych metod badawczych, a także umiejętność interpretacji danych świadczą o jej stałym rozwoju naukowym. Rozprawa habilitacyjna pod względem formalnym

jak i merytorycznym spełnia wszystkie wymagania stawiane dysertacjom habilitacyjnym. Dorobek naukowy Habilitantki jest opublikowany w znaczącej części w piśmiennictwie międzynarodowym. Po zapoznaniu się z dostarczoną mi dokumentacją i pracą habilitacyjną oceniam Habilitantkę jako pracownika dojrzałego i zdolnego do samodzielnej pracy naukowej. W związku z powyższym stwierdzam, że osiągnięcia Pani Dr Elżbiety Płuciennik spełniają kryteria określone w art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 poz.595 z późniejszymi zmianami) i wnioskuję do Rady Wydziału Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie dr n. med. Elżbiety Janiny Płuciennik do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.


Nierownik
Zakładu Onkologii
Molekularnej i Translacyjnej
Centrum Onkologii - Instytutu
im. Marii Skłodowskiej - Curie
Prof. dr hab. n. med. Janusz A. Siedlecki