



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ  
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK  
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA  
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71  
www.hirszfeld.pl

Uniwersytet Medyczny  
we Wrocławiu



RPW/14899/2023 P  
Data: 2023-08-29

Dr hab. Elżbieta Pajtasz-Piasecka, prof. PAN

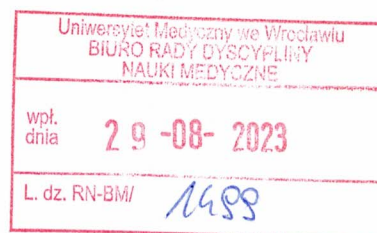
Wrocław, 22 sierpnia 2023 r.

Laboratorium Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej

im. Ludwika Hirszfelda

Polskiej Akademii Nauk



Wol 04.09.23  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUK MEDYCZNYCH  
zastępca przewodniczącego  
M. Podhorska-Okotów  
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okotów

### Recenzja

## rozprawy doktorskiej mgr Miriam Hippner-Kunickiej pt. „Wpływ ekspresji alfa-enolazy (ENO1) i jej izoformy MBP1 na metabolizm glukozy i tempo proliferacji wybranych linii komórkowych ludzkiego czerniaka skóry”

wykonanej w dyscyplinie Nauki Medyczne na Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu pod opieką naukową dr hab. n. med. Piotra Donizego prof. UMW oraz prof. dr hab. Arkadiusza Miążka

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska na 70 stronach zawiera dwie publikacje będące jej podstawą, omówienie rozprawy (streszczenie, wprowadzenie, cel pracy, podsumowanie wraz z wnioskami) oraz oświadczenia współautorów. Załączona została również opinia Komisji Bioetycznej Nr KB – 580/2019.

Publikacje stanowiące podstawę rozprawy doktorskiej:

1. Miriam Hippner, Michał Majkowski, Przemysław Biecek, Teresa Szkudlarek, Aleksandra Simiczyjew, Małgorzata Pieniązek, Dorota Nowak, Arkadiusz Miążek, and Piotr Donizy; *Alpha-Enolase (ENO1) Correlates with Invasiveness of Cutaneous Melanoma—An In Vitro and a Clinical Study*; *Diagnostics* (Basel) 2022, vol 12, no 2, p. 254; <https://doi.org/10.3390/diagnostics12020254>

2. Miriam Hippner-Kunicka, Agnieszka Łaskiewicz, Joanna Skrzymowska, Przemysław Biecek, Piotr Donizy, Arkadiusz Miążek;



***Overexpression of c-MYC Promoter Binding Protein-1 Enhances Proliferation and Glucose Metabolism of Melanoma Cells Lines*** Anticancer Research June 2023, vol 43, no. 6, p. 2527-2538; <https://doi.org/10.21873/anticancerres.16420>

Doktorantka jest pierwszą autorką w obu pracach, natomiast do korespondencji podane zostały adresy Panów Promotorów.

Doktorantka nie dołączyła oświadczenia wyodrębniającego jej osobisty udział w prowadzeniu opublikowanych badań. Natomiast ze złożonych oświadczeń pozostałych współautorów wynika, że udział Doktorantki, podlegający ocenie w ramach recenzji rozprawy doktorskiej, obejmuje współpracę na wszystkich etapach wykonywania zadań: w opracowaniu koncepcji badania, prowadzeniu doświadczeń, interpretacji wyników oraz przygotowaniu publikacji. W związku z tym, że deklaracje w *Author Contributions* określają uczestnictwo Doktorantki w bardzo podobny, ogólny sposób, w dalszej części recenzji podsumowany zostanie całościowy rezultat jej działania.

Badania prowadzone przez Doktorantkę zostały opublikowane w 2022 i 2023 roku w wartościowych czasopismach naukowych. Mimo że publikacje dotyczą nieco innych zagadnień, to ich wspólnym mianownikiem jest próba wykazania, że zarówno  $\alpha$ -enolaza (ENO1, enzym odgrywający rolę w szlaku glikolizy, uczestniczący we wzroście komórek oraz ich tolerancji na niedotlenienie), jak i produkt alternatywnej translacji mRNA kodującego ENO1 (MBP-1, białko wiążące promotor Myc) odgrywają kluczową rolę w powstawaniu nowotworów. Przeprowadzone badania mieszczą się w najnowszych trendach w poszukiwaniu nowych celów prognostycznych i terapeutycznych w zwalczaniu czerniaka.

Celem pierwszej pracy była ocena ekspresji ENO1 i jego enzymatycznej aktywności w komórkach czerniaka należących do kilku linii wywodzących się zarówno z pierwotnych zmian skórnych, jak i z przerzutów do węzłów chłonnych. W komórkach pochodzących z linii komórek przerzutujących zaobserwowano znacznie wyższy poziom aktywności enzymu w warunkach hipoksji w porównaniu do normoksji, co wskazuje na rolę ENO1 w adaptacji komórek czerniaka do warunków stresu oksydacyjnego i sprzyja ich inwazyjności.

Niezwykle ważnym elementem tej pracy było określenie korelacji między ekspresją białka ENO1 a parametrami klinicznymi i histopatologicznymi w materiale uzyskanym po resekcji chirurgicznej od 112 pacjentów z czerniakiem. Uzyskane

wyniki wskazują, że nadekspresja ENO1 sprzyja inwazyjności komórek czerniaka i jest ściśle związana z gorszym rokowaniem przeżycia pacjentów.

W pracy położono nacisk na znaczenie prognostyczne oceny wzrostu ekspresji ENO1 i określenie korelacji między ekspresją tego białka a parametrami klinicznymi i histopatologicznymi reprezentującymi stan zaawansowania czerniaka skóry. Zatem można podsumować, że celem omawianych badań było określenie prognostycznego znaczenia ENO1 jako potencjalnego biomarkera oporności na leki i celu dla terapii przeciwnowotworowej w czerniaku.

Proszę, aby Doktorantka zechciała w trakcie obrony uzupełnić zawarte w pracy informacje o odpowiedź na pytania. Czy opisane w pracy zależności to jedyne propozycje wzbogacenia oceny parametrycznej stopnia inwazyjności komórek czerniaka? Czy rozważane, a może badane, są również korelacje z innymi zmianami funkcjonalnymi, szczególnie z poziomem produkcji cytokin odpowiedzialnych za wzrost przerzutowania komórek nowotworowych?

W drugim artykule niezwykle interesującym zagadnieniem okazała się odmienna reaktywność komórek na modyfikację genetyczną wektorami lentiwirusowymi powodującą nadekspresję genu MBP-1. W pracy wykonano transdukcję komórek czerniaka skóry linii A375 oraz linii WM9, której efektem były zmiany w patofizjologii tych komórek, zwłaszcza tempa metabolizmu glukozy w warunkach niedotlenienia, wzrostu zdolności do proliferacji i migracji. Reakcja była zależna nie tylko od charakteru konstruktów genu kodującego białko (MBP-1 vs MBP-1 $\Delta$ C), ale również od rodzaju traktowanych komórek. Na przykład, nadekspresja pełnowymiarowego genu MBP-1, zawierającego C-terminalną domenę represora c-MYC, okazała się konieczna do promowania proliferacji i migracji komórek linii WM9 cechujących się wolnym tempem proliferacji. W omawianej publikacji zwrócono również uwagę na zależność między cytoplazmatyczną lokalizacją nadeksprimowanego białka MBP-1 a zmianami funkcjonalnymi w komórkach czerniaka. Stwierdzono, że efektem tej nietypowej wewnątrzcytoplazmatycznej kumulacji mogła być zmieniona skuteczność transportu dojądrowego, a w konsekwencji wzrost tempa proliferacji transduktantów. Było to o tyle zaskakujące, że ektopowa nadekspresja MBP-1 (będącego transkrypcyjnym represorem c-MYC) uznawana jest za czynnik obniżający komórkową proliferację w różnych typach nowotworów litych a w konsekwencji również ich tumorogenności.

W związku z powyższą obserwacją, proszę, aby Doktorantka rozszerzyła omówienie zagadnienia relacji między rodzajem nowotworu, stopniem odróżnicowania jego komórek a celowanym wprowadzeniem do takich komórek określonego konstruktów wektorów lentiwirusowych w kontekście nowych strategii medycyny spersonalizowanej.

Należy podkreślić, że powyższe wyniki mają bardzo duże znaczenie praktyczne, bowiem pokazują jak niezwykle istotne jest poznanie reakcji komórek nowotworowych na wprowadzenie dodatkowych genów do ich informacji genetycznej.

Podsumowując, przeprowadzone badania zamieszczone w dwóch istotnych i wartościowych publikacjach wykonane zostały przez zespół autorów, wśród których wkład Doktorantki, jako pierwszej autorki, jest wiodący. Zawierająca te artykuły rozprawa doktorska może być uznana jako osiągnięcie Doktorantki.

Rozprawa doktorska Pani mgr Miriam Hippner-Kunickiej pt. *„Wpływ ekspresji alfa-enolazy (ENO1) i jej izoformy MBP1 na metabolizm glukozy i tempo proliferacji wybranych linii komórkowych ludzkiego czerniaka skóry”* spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668).

**W związku z tym wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr Miriam Hippner-Kunickiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.**



dr hab. Elżbieta Pajtasz-Piasecha, prof. PAN