

Poznań, 10.07.2023

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Jacek Mackiewicz
Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej
Instytut Onkologii
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu;
Zakład Diagnostyki i Immunologii Nowotworów
Wielkopolskie Centrum Onkologii

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr biologii Miriam Monika Hippner-Kunicka pt.
„Wpływ ekspresji alfa-enolazy (ENO1) i jej izoformy MBP1 na metabolizm glukozy i
tempo proliferacji wybranych linii komórkowych ludzkiego czerniaka skóry” – cykl
publikacji monotematycznych**

**Promotor: dr hab. n. med. Piotr Donizy, prof. UMW
Prof. dr hab. Arkadiusz Miążka**

Czerniak skóry to jeden z najbardziej agresywnie przebiegających nowotworów złośliwych. Wraz z wprowadzeniem do obrotu immunoterapii (anty-PD1) oraz inhibitorów kinaz tyrozynowych (inhibitory BRAF, inhibitory MEK) rokowanie chorych na czerniaka istotnie się poprawiło. Pomimo znacznego postępu w terapii u części chorych leczenie jest nieskuteczne, dlatego konieczne jest poszukiwanie biomarkerów czyli czynników prognostycznych oraz predykcyjnych w celu wyselekcjonowania grupy chorych, którzy odniosą największą korzyść terapeutyczną. Ponadto, konieczne jest poszukiwanie nowych terapii jak i wykorzystanie obecnie istniejących w różnych skojarzeniach (terapię dwu- bądź trójlewkowe) w celu poprawy wyników leczenia. Jedną z najbardziej obiecujących terapii są leki ukierunkowane na zmianę metabolizmu guza, które wraz z immunoterapią ukierunkowaną na immunologiczne punkty kontroli stanowią bardzo silne narzędzie w przełamywaniu oporności układu immunologicznego indukując silną przeciwnowotworową odpowiedź.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska magister Miriam Moniki Hippner-Kunickiej pt.: „Wpływ ekspresji alfa-enolazy (ENO1) i jej izoformy MBP1 na metabolizm glukozy i tempo proliferacji wybranych linii komórkowych ludzkiego czerniaka skóry”, której promotorem jest dr hab. n. med. Piotr Donizy, prof. UMW oraz Prof. dr hab. Arkadiusz Miążka jest cyklem tematycznie powiązanych dwóch publikacji:

1. Hippner M, Majkowski M, Biecek P, Szkudlarek T, Simiczyjew A, Pieniazek M, Nowak D, Mizaek A, Donizy P. Alpha-enolase (ENO1) correlates with invasiveness

of cutaneous melanoma – an in vitro and a clinical study. *Diagnostics (Basel)* 2022; 12: 254

2. Hippner-Kunicka M, Laszkiewicz A, Skrzymowska Joanna, Biecek P, Donizy P, Miazek A. Overexpression of c-MYC promoter binding protein-1 enhances proliferation and glucose metabolism of melanoma cells lines. *Anticancer Res* 2023; 43: 2527-2538.

We obu publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. Łączny *Impact Factor* prac wynosi 6.427 natomiast liczba punktów MNiSW/KBN wynosi 140.

Przedłożony do recenzji cykl publikacji jest monotematyczny, dwa manuskrypty są ze sobą powiązane tematycznie i mają wysoka wartość merytoryczną. Zostały opublikowane w czasopismach posiadających *Impact Factor*.

W swoich dwóch publikacjach Doktorantka wraz ze współautorami postanowiła zająć się zbadaniem bardzo ważnych czynników odrywających istotną rolę w metabolizmie guza jakim jest alfa-enolaza (ENO1) i jej izoformy białka wiążącego promotor c-MYC (MBP-1).

W pierwszej publikacji Doktorantka wraz ze współautorami wykazała wyższą ekspresję oraz aktywność ENO1 w liniach komórkowych czerniaka w porównaniu do melanocytów. Ponadto, w liniach pochodzących z przerzutów do węzłów chłonnych zanotowała wyższy poziom aktywności ENO1 w hipoksji niż w normoksji, co sugeruje rolę ENO1 w adaptacji komórek czerniaka do warunków stresu oksydacyjnego. W analizie przeprowadzonej u 112 chorych na czerniaka wykazała istotną korelację między ekspresją ENO1 a grubością nacieku według Breslowa i Clarka, aktywnością metaboliczną i obecnością owrzodzenia. Ponadto wykazała, że nadekspresja ENO1 była związana z krótszym przeżyciem wolnym od progresji co wskazuje na to, że ENO1 jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym u chorych na czerniaka.

W drugiej publikacji Doktorantka wykorzystwała narzędzie inżynierii genetycznej i transdukowała komórki czerniaka lentiwirusem z wklonowanym genem MBP-1 lub jego mutantem z C-kończową delecją (MBP-1deltaC). Wykazała, że komórki po transdukcji charakteryzują się szybszą proliferacją oraz metabolizmem glukozy wskazują na aktywność tych białek w promowaniu wzrostu nowotworu. Ponadto wykazała, że MBP-1 wpływa na zmniejszenie zdolności migracji komórek wolno dzielących się (WM9) co wskazuje na fakt, że domena C-kończowa MBP-1 jest niezbędna do promowania migracji tych komórek. Tym samym oznaczając, że cytoplazmatyczna MBP-1 wykazuje potencjał przeciwnowotworowy. Nie wykazano takiego efektu w komórkach szybko dzielących się (A375). Doktorantka

wykazała cytoplazmatyczną lokalizację białek MBP-1 oraz MBP-1deltaC, natomiast brak MBP-1 w lokalizacji jądrowej. Taka obserwacja może sugerować istnienie nieznanego mechanizmu transportu jądrowo-cytoplazmatycznego MBP-1.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są oryginalne i wnoszą dużo do piśmiennictwa światowego. Obejmują analizę ekspresji ENO1 oraz MBP-1 w liniach komórkowych czerniaka skóry oraz ich wpływa na proliferację, inwazyjność i metabolizm glukozy. Ponadto przedstawiona nadekspresja izoformy ENO1 – MBP-1 lokalizująca się w cytoplazmie ujawniła nieoczekiwaną aktywność pronowotworową oraz przeciwnowotworową w liniach komórkowych. Zaprezentowane ciekawe wyniki wymagają dalszych badań. Można by ocenić te mechanizmy w samym mikrośrodowisku guza i zbadać ich wpływu np. na komórki układu immunologicznego oraz przeciwnowotworową odpowiedź układu immunologicznego. Uzyskane wyniki mogłyby być pomocne w skonstruowaniu terapii przeciwnowotworowej modyfikującej metabolizm guza w celu zmniejszenia immunosupresji w guzie. Terapie tego typu w połączeniu z przeciwciałami przeciwko immunologicznym punktom kontrolnym są bardzo obiecująca i są przedmiotem wielu badań klinicznych nie tylko w u chorych na czerniaka ale również na inne typy nowotworów. Ponadto, Doktorantka wykazała, że ENO1 jest potencjalnym biomarkerem prognostycznym co wymaga potwierdzenia w dalszych badaniach oraz być może walidacji w badaniach klinicznych w celu oceny jej wartości predykcyjnej odpowiedzi na terapię przeciwnowotworową.

Opublikowanie prac wchodzących w skład cyklu w czasopismach o zasięgu międzynarodowym (*Diagnostics, Anticancer Research*) świadczą o poprawności przyjętych metod i analiz oraz docenieniu ich wartości merytorycznej przez recenzentów i redakcje czasopism.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668)

Z dużym uznaniem dla umiejętności i wiedzy Doktorantki zwracam się z wnioskiem do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego, ponadto z racji wysokiej wartości naukowej rozprawy w mojej ocenie powinna być wyróżniona.

Prof. dr hab. n. med i n. o zdr. Jacek Mackiewicz

