

**Recenzja osiągnięcia naukowego dr n. biol. Anny Małgorzaty Dawidowskiej w
związku z postępowaniem w sprawie nadania Jej stopnia dra hab. w
dziedzinie nauk medycznych, dyscyplinie biologia medyczna**

Przedstawioną poniżej ocenę przeprowadziłem na podstawie dostarczonych mi następujących materiałów: (1) autoreferatu, (2) wykazu opublikowanych przez Habilitantkę prac naukowych, (3) kopii publikacji stanowiących wskazane przez Habilitantkę jako osiągnięcie naukowe wraz oświadczenia współautorów tych publikacji; (4) informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej, organizacyjnych i popularyzacji wiedzy; (5) płyta CV z elektroniczną wersją wniosku

Ocena formalna

Otrzymane przeze mnie materiały zostały starannie przygotowane i według mojej oceny spełniają wymogi formalne określone w Ustawie z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, ze zmianami Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, Dz. U. z 2010 r. Nr 96, poz. 620 i Nr 182, poz. 1228 oraz Dz. U. z 2011 r. Nr 84 poz. 455).

Ocena merytoryczna

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe dr n. biol. Małgorzata Dawidowska przedstawiła wyniki badań, które ukazały się w cyklu zbliżonych tematycznie publikacji pod wspólnym tytułem: *"Ostra białaczka limfoblastyczna u dzieci w ujęciu badań podstawowych i translacyjnych"*. Na ten cykl składa się sześć artykułów, które ukazały się w pismach międzynarodowych: *Neoplasia 2019, Am J Hematol 2019, Int J Mol Sci 2019, Blood Rev 2018 (przeglądowa), Sci Rep 2016 i Blood Cells Mol Dis 2013* o łącznym IF=27,2. W dwóch artykułach dr Dawidowska jest pierwszym a w jednej drugim autorem. W pięciu artykułach jest autorem-korespondentem.

Wymienione powyżej prace są spójne tematycznie i dotyczą poszukiwania molekularnych markerów różnicujących różne podtypy białaczki ALL oraz identyfikacja mutacji w genach, które mogą mieć znaczenie w patogenezie oraz w leczeniu i prognozowaniu klinicznym u chorych dzieci na ALL. Przeprowadzone badania dotyczyły różnych problemów natury podstawowej i translacyjnych w białaczce ALL, głównie w podtypie T-ALL.

Najbardziej oryginalne wyniki badań uzyskano poprzez analizę transkryptomu miRNA (82 pacjentów z ALL) z wykorzystaniem sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Dzięki indentyfikacji określonych miRNA i ich ekspresji w komórkach ALL, pomimo znacznej ich heterogenności, otworzono drogę do dalszych zawężonych już badań aplikacyjnych. Spośród zidentyfikowanych miRNA ulegających zróżnicowanej ekspresji wykryto takie których ekspresja jest obniżona (geny supresorowe ?) oraz takie których ekspresja jest podwyższona (onkogeny?) w stosunku do wyników badań kontrolnych. W kolejnym etapie tych doświadczeń dokonano badań *in silico* dla 61 miRNA ulegających zróżnicowanej ekspresji. Analiza podwyższonej ekspresji miRNA a w konsekwencji obniżenie w komórkach aktywności mRNA, wskazano na określone procesy komórkowe mające z nimi związek. Szereg obserwacji ma oryginalny charakter – opisano nowe interakcje miRNA-mRNA w patogenezie ALL. Scharakteryzowano na poziomie transkryptomu podtypy immunofenotypowe T-ALL. Publikację na ten temat cechuje wysoka jakość ilustracji. Dalsze badania funkcjonalne są w toku.

Prowadzone na szeroką skalę badania ekspresji miRNA w komórkach linii limfocytów T oraz T-ALL wymagają stabilnych danych kontrolnych. Dlatego też przedmiotem kolejnej pracy było poszukiwanie stabilnych miRNA, które mogłyby stanowić endogenne kontrole w badaniach RT-qPCR na materiale sześciu linii komórkowych T-ALL. Autorzy zidentyfikowali trzy miRNA, których ekspresja może stanowić parametr kontrolny w badaniach komórek pochodzących z różnych linii limfocytów T. Ma to ważne znaczenie w badaniach translacyjnych, w których identyfikuje się nowe cząsteczki miRNA, przeprowadza walidację i ich implementację w poszukiwaniach markerów diagnostycznych i prognostycznych.

Jest wiele publikacji na temat znaczenia mutacji określonych genów w prognozowaniu wielu białaczek, w tym ALL. Wyniki tych badań są kontrowersyjne i są przedmiotem dyskusji. Brak jest jednoznacznych wyników badań, co jest trudne wobec niskiej częstości występowania ALL, jej biologicznej heterogenności oraz stosowanie różnych protokołów leczniczych. W kolejnej pracy dr Dawidowska wraz z zespołem podjęli się analizy mutacji czterech genów w komórkach ALL: *NOTCH1*, *FBXW7* dość dobrze scharakteryzowane w piśmiennictwie oraz mniej znane geny *BCL11B* i *FLT3* w komórkach 49 chorych. Określono rodzaj i częstości mutacji w tych genach opisując kilka nowych, nieopisanych dotąd mutacji. Nie wykazano związku obecności mutacji w ww genach a wieloma parametrami klinicznymi chorych dzieci. Dalsze badania skoncentrowały się na genie *PTEN*, którego mutacje są nie tylko przyczyną chorób jednogenowych, ale pojawiają się także w komórkach nowotworowych. Wykazano, że podgrupa chorych z mutacją tego

genu ma gorsze rokowanie kliniczne. Autorzy powiązali mutacje tego genu z dwoma protokołami leczniczymi chorych na ALL: ALL IC-BFM 2002 i ALL IC-BFM 2009. Autorzy sugerują że gen *BLC11B* może być onkogenem w patogenezie T-ALL. Dodatkowo, na materiale 162 przypadków ALL wykazano pewne zależności pomiędzy określoną mutacją w genie *PTEN*, protokołem i wynikiem leczenia białaczki oraz oceny minimalnej choroby resztkowej (MRD). Znaczenie wartości prognostycznej tych wyników badań wymaga potwierdzenia przez innych badaczy.

Ostatnią pracą poszukującą związków między polimorfizmem genowym a obecnością tzw. minimalnej choroby resztkowej były badania, tym razem na komórkach białaczki BCP-ALL pochodzących od 159 chorych. Wybrano 23 loci polimorficznych opisanych przez innych autorów w 17 genach. Jest to połączenie nie tylko badań farmakogenetycznych, ale też związków wybranych polimorfizmów z aktywnością immunologiczną komórek NK i prawidłowych limfocytów przy obecności choroby resztkowej. W sumie wyniki tych badań prowadzonych w kilku punktach terapii (do 12 tygodni) nie określają jednoznacznie znaczenia jednego polimorfizmu z parametrami MRD. Wykazano efekt sumowania się efektu obecności kilku polimorfizmów – wyłoniono polimorfizmy trzech genów. Wydaje się, że w obliczu możliwości badania całego eksomu komórkowego analiza pojedynczych polimorfizmów, nawet kilku na raz, nie ma większego znaczenia.

W autoreferacie liczącym 30 stron brak jest chociaż krótkiego podsumowania osiągnięcia naukowego. Habilitantka po kolei omówiła szczegółowo poszczególne publikacje związane z tym osiągnięciem bez podsumowania. Podsumowaniem wiedzy na temat T-ALL i znaczenia analizy miRNA może być załączona praca przeglądowa z ciekawymi ilustracjami opublikowana w *Blood Reviews* w 2018 roku.

Wszystkie wymienione wyżej publikacje są współautorskie, niemniej z oświadczeń pozostałych autorów, a także biorąc pod uwagę opisaną powyżej pozycję nazwiska Habilitantki wśród nazwisk autorów, wnioskuję, że udział dr Małgorzaty Dawidowskiej w powstaniu wszystkich z nich był kluczowy. A zatem opublikowanych prace mogą być uznane za istotny wkład Habilitantki w rozwój biologii (jako dyscypliny naukowej), czym spełniają definicję ustawową osiągnięcia naukowego.

Ocena aktywności naukowej

Dorobek naukowy dr Małgorzaty Dawidowskiej, z włączeniem sześciu prac wchodzących w skład Jej osiągnięcia naukowego, stanowi 37 publikacji, spośród których 15 ukazało się w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Struktura publikacji jest następująca: 10 oryginalnych (7 z IF), trzy oryginalne

listy do redakcji (17 IF) oraz dwa opisy przypadków. 16 publikacji zamieszczonych zostało w czasopismach znajdujących się w bazie *PubMed*. W 21 artykułach jest pierwszym i zarazem korespondencyjnym a w czterech ostatnim autorem. Zwraca uwagę wysoka liczba rozdziałów w książkach licząca 17 pozycji w tym dziewięć o zasięgu międzynarodowym.

IF całego dorobku wynosi 57, indeks Hirscha 7 (*Scopus*) a liczba cytowań 122 (*Scopus*). Punktacja KBN/MNiSW – 505.

Pozostałe artykuły Habilitantki są tak jak osiągnięcie naukowe jednotematyczne i ściśle związane z głównym nurtem badań dr Małgorzaty Dawidowskiej. A mianowicie dotyczą różnych aspektów związku mutacji określonych genów z przebiegiem klinicznym i rokowaniem białaczki T-ALL. Na uwagę zasługuje kilka wybranych kierunków badań: analiza dotycząca m.in. mutacji genu *DNMT3A* którego częstość mutacji w ALL okazała się niska. „Przy okazji” opracowano nową strategię badania tego genu, która ze względu na niskie koszty może być wykorzystana w innych badaniach. Habilitantka podjęła próbę określenia znaczenia prognostycznej charakterystycznej t(8;14)(q24;q11), w której zwraca uwagę na potrzebę oceny znaczenia tej aberracji chromosomalnej na tle innych równoległych zaburzeń molekularnych w komórkach ALL takich jak mutacje w genie *PTEN* i i delecji *SIL/TAL1* i *CDKN2A/B*. Badania czynników epigenetycznych w biologii nowotworów w tym białaczek stanowi ważny kierunek badań, których wyniki są niekiedy kontrowersyjne. Habilitantka przebadła metodą MS-PCR status metylacji regionów promotorowych 20 genów związanych z patogenezą T-ALL. Jak należało oczekiwać, profil metylacji tych komórek był odmienny od metylacji DNA dojrzałych limfocytów T szpiku kostnego. Wykazano występowanie dwóch grup chorych na ALL: o fenotypie CIMP+ (wiele genów) oraz CIMP- (mało genów), które różniły się liczbą hipermetylowanych genów. Z pozostałych publikacji należy podkreślić badania zmierzające do opracowania skuteczności leczenia ALL (chimeryzm potranslacyjny) a także monitorowanie występowania tzw. minimalnej choroby resztkowej (MDR). Badania te oparte o liczne grupy chorych doprowadziły do opracowania strategii m.in. rearanżacji Ig/TCR, co wydaje się ważnym markerem identyfikującym MDR.

Na podkreślenie zasługuje udział Habilitantki w pracach konsorcjum akronim *PersonALL* w ramach programu STRATEGMED3 (2017-20). Kandydatka była kierownikiem lub głównym wykonawcą siedmiu projektów badawczych KBN, MNiSW i NCN. Powyższe dane wskazują jednoznacznie na wysokie umiejętności dr Dawidowskiej w zdobywaniu funduszy na badania naukowe i koordynowaniu naukowej pracy zespołowej. Uważam, że aktywność naukowa dr Dawidowskiej w pełni spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej

Dr Dawidowska w swoim autoreferacie przedstawia swoją działalność dydaktyczną, mimo, że pracuje w instytucie naukowym PAN i nie ma w swoich obowiązkach prowadzenia takich zajęć. Ten fakt zasługuje na szczególne podkreślenie. Zajęcia dydaktyczne prowadzone przez Nią to nie tylko pojedyncze „okazjonalne wykłady”, ale zajęcia ze studentami Uniwersytetu Humanistycznospołecznego w ramach modułu *Biologiczne źródła zachowania* a od 2017 roku na temat *Onkogenetyka i biologia molekularna w onkologii*. Ponadto prowadziła w latach 2003-07 regularne seminaria z zakresu biologii molekularnej w hematologii dla studentów polsko- i anglojęzycznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (330 godzin) oraz innych zajęć fakultatywnych.

Dr Dawidowska aktywnie uczestniczyła w popularyzacji wiedzy głównie z zakresu genetyki oraz onkologii hematologicznej dla słuchaczy w różnym wieku w ramach *Poznańskiego Festiwalu Nauki i Sztuki* i kilku innych tego rodzaju inicjatyw.

Dr Dawidowska opiekowała się pracą doświadczalną czterech magistrantów i była promotorem jednej pracy inżynierskiej. Była promotorem jednej rozprawy doktorskiej (2016) i opiekowała się pracą trzech doktorantów.

Zwraca uwagę aktywne uczestnictwo Habilitantki w 34 krajowych i 10 międzynarodowych konferencjach naukowych w Europie i USA. W wielu doniesieniach dr Dawidowska jest pierwszym autorem a niektóre streszczenia (10) były publikowane w międzynarodowych pismach. Wygłosiła także 15 wykładów na zaproszenie organizatorów konferencji krajowych.

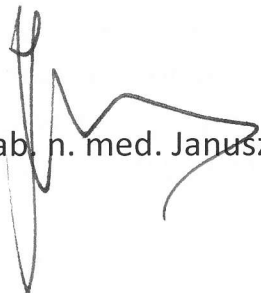
Dr Dawidowska odbyła staże naukowe w *Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam* (Holandia) w Zakładzie Immunologii – odbyła dwa dwumiesięczne staże z zakresu metod molekularnych w 2004 i 2006 roku. Ponadto odbyła kilka kursów metodycznych zagranicą (2) i w Polsce (7).

Ważną działalnością dr Dawidowskiej był udział w opracowaniach standardów w monitorowaniu choroby resztkowej (MRD) w ALL poprzez zastosowanie markerów molekularnych. Teksty tych standardów wraz z protokołami badań zostały opublikowane w monografii o zasięgu krajowym oraz drugiej wydanej przez *Springer Heidelberg New York, London 2012*.

Za swoje wyniki badań naukowych opublikowanych w renomowanych pismach zagranicznych Habilitantka otrzymała lokalne nagrody Dyrektora Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu (7). Za pozytywną ocenę zewnętrzną można uznać otrzymane przez Habilitantkę trzy stypendia z różnych organizacji europejskich na odbycie dwóch staży naukowych w Holandii i udział w konferencji w Irlandii.

Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę moją ocenę osiągnięcia naukowego i aktywności naukowej, dydaktycznej a także pracy organizacyjnej Habilitantki uważam, że osiągnięcia dr n. biol. Małgorzaty Dawidowskiej spełniają kryteria określone w art. 16 ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, ze zmianami Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, Dz. U. z 2010 r. Nr 96, poz. 620 i Nr 182, poz. 1228 oraz Dz. U. z 2011 r. Nr 84 poz. 455).


Prof. dr hab. n. med. Janusz Limon