

Prof. dr hab. n. med. Jerzy R. Kowalczyk

Ocena osiągnięcia naukowego oraz aktywności naukowej w związku z postępowaniem habilitacyjnym dr n. med. Doroty Lemancewicz wszczętego na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Dr n. med. Dorota Lemancewicz uzyskała dyplom lekarza w roku 1993 po odbyciu studiów na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Białymstoku. Po ukończeniu studiów została zatrudniona na stanowisku asystenta w Zakładzie Anatomii Prawidłowej Człowieka Akademii Medycznej w Białymstoku, gdzie od roku 2004 do chwili obecnej pracuje na stanowisku adiunkta. Ponadto od 1997 roku jest asystentem Kliniki Hematologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, obecnie na stanowisku starszego asystenta. Stopień doktora nauk medycznych w zakresie medycyny uzyskała w roku 2001 na podstawie rozprawy doktorskiej pt. : „Układ megakariocytarny jako element środowiska hematopoetycznego szpiku kostnego w wybranych chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego i układu chłonnego”. Pierwszy stopień specjalizacji w zakresie chorób wewnętrznych uzyskała w roku 1997, a w roku 2000 tytuł specjalisty w zakresie chorób wewnętrznych. Ponadto w 2006 roku uzyskała tytuł specjalisty w hematologii.

Dr Dorota Lemancewicz była kierownikiem pięciu projektów badawczych realizowanych w ramach prac statutowych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, a także wykonawcą kilku projektów badawczych realizowanych w ramach tej Uczelni.

Od początku pracy w Akademii Medycznej w Białymstoku prowadzi zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Lekarskiego i kierunku analityki medycznej Wydziału Farmaceutycznego. Zajęcia te obejmują ćwiczenia i wykłady z zakresu anatomii prawidłowej człowieka. Ponadto dr Lemancewicz prowadzi wykłady i ćwiczenia z anatomii prawidłowej dla studentów anglojęzycznych. W Zakładzie Anatomii Prawidłowej Człowieka jest koordynatorem nauczania na kierunku lekarskim i była odpowiedzialna za wprowadzenie do nauczania elementów anatomii zintegrowanej opartej na wykorzystaniu technik obrazowych, a także brała aktywny udział w opracowywaniu planów nauczania anatomii w ramach reformy

studiów na Wydziale Lekarskim. Przygotowuje również wybranych studentów pierwszego roku do udziału w Ogólnopolskim Konkursie Wiedzy Anatomicznej, w którym studenci byli wielokrotnie wynagradzani. Za swoją działalność naukową i dydaktyczną dr Dorota Lemancewicz wielokrotnie była nagradzana przez Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Dr D. Lemancewicz jest członkiem Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Polskiej Grupy Badawczej Chłoniaków oraz Polskiego Towarzystwa Anatomicznego, w którym od 2008 roku jest Przewodniczącą Oddziału Białostockiego. Pod jej kierunkiem 2 lekarzy uzyskało tytuł specjalisty chorób wewnętrznych, obecnie jest opiekunem 1 lekarza specjalizującego się w zakresie hematologii. Od roku 2004 w ciągu 3 kolejnych kadencji była wybierana do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku jako przedstawiciel niesamodzielných pracowników naukowych.

Ocena osiągnięcia naukowego składającego się na habilitację.

Zestaw publikacji składających się na osiągnięcie naukowe dr n. med. Doroty Lemancewicz obejmuje 5 prac oryginalnych. Ogólny tytuł tego cyklu prac brzmi : **”Znaczenie wybranych czynników w rozwoju szpiczaka mnogiego”**. Wszystkie prace zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej i sumaryczny IF dla tych prac wynosi 7.965, a całkowita punktacja MNiSW powyższych prac = 93. W 4 spośród tych prac dr D. Lemancewicz jest pierwszym autorem, w jednej drugim autorem. Współautorzy wszystkich prac wyrazili zgodę na wykorzystanie przedstawionych wyników do rozprawy habilitacyjnej dr Doroty Lemancewicz.

Celem badań była ocena roli niektórych cytokin w biologii komórki szpiczaka mnogiego oraz podścieliska szpiku kostnego i angiogenezy w tej chorobie.

W pierwszej z cyklu prezentowanych prac podjęto próbę oceny stężenia mucyny błonowa (mucin-1, MUC-1) w surowicy nowo rozpoznanych pacjentów ze szpiczakiem mnogim w porównaniu do zdrowych osób, oraz oszacowania ewentualnych różnic pomiędzy jej stężeniami u pacjentów w różnym stopniu zaawansowania choroby wg ISS oraz po zakończonym leczeniu (*Lemancewicz D, Bołkun Ł, Porowska H, Galar M, Semeniuk J, Kłoczko J, Dziecioł J. The levels of sMUC-1 in patients sMUC-1 with multiple myeloma. Folia Histochem Cytobiol.*

2011;49:654-658). MUC-1 jest glikoproteina produkowaną przez komórki nabłonkowe i w normalnych warunkach jest obecna na szczytowej powierzchni komórek epitelialnych wielu narządów. Ostatnie badania sugerują, że sMUC-1 moduluje różne szlaki przyczyniając się do wzrostu komórek. W wykonanych przez Habilitantkę badaniach stwierdzono podwyższone stężenia sMUC-1 u 40% pacjentów ze szpiczakiem mnogim w porównaniu do zdrowych ochotników. Nie znaleziono statystycznie istotnych różnic pomiędzy sMUC-1 u pacjentów z nowo rozpoznany szpiczakiem mnogim w porównaniu do zdrowych osób, ale wykazano, że pacjenci w III stadium ISS mieli statystycznie istotne wyższe stężenia sMUC-1 w stosunku do pacjentów w I stadium ISS. Zaobserwowano, po raz pierwszy w porównaniu do wyników prezentowanych w innych publikacjach, że u pacjentów, u których przed leczeniem występowały podwyższone stężenia sMUC-1, po zakończonym leczeniu były one statystycznie niższe niż w grupie pacjentów, u których przed leczeniem stężenia sMUC-1 były niskie. Ponadto autorzy wykazali w grupie pacjentów z wyjściowym, prawidłowym stężeniem sMUC-1 znamienne statystycznie dłuższy okres wolny od progresji choroby w porównaniu do chorych z podwyższonym stężeniem sMUC-1 (mediana 12 miesięcy versus 8.1 miesięcy, $p=0,03$). W wykonanych badaniach stwierdzono korelację pomiędzy podwyższonymi stężeniami sMUC-1, a podwyższonymi stężeniami LDH, która należy do prognostycznych, niekorzystnych czynników choroby. Z przeprowadzonych badań wynika, że sMUC-1 może być oceniana jako niezależny czynnik prognostyczny u chorych ze szpiczakiem mnogim. Być może u tych pacjentów przeciwciała anty MUC-1 mogłyby być rozważane do indywidualnie dostosowanej immunoterapii.

W kolejnej pracy (Lemancewicz D., Bolkun Ł., Jabłońska E., Czeczuga-Semeniuk E., Kostur A., Kłoczko J., Dziecioł J. *The role of Interleukin-17A and Interleukin-17E in multiple myeloma patients. Med Sci Monit. 2012; 18:BR54–BR59*) dokonano oceny stężeń IL-17A w surowicach chorych ze szpiczakiem mnogim, ale także po raz pierwszy stężeń IL-17E. IL-17E może hamować proliferację ludzkich komórek progenitorowych szpiku kostnego linii granulocytowo-makrofagowej i w ten sposób zmniejszać liczbę dojrzałych leukocytów, a także może indukować wydzielanie cytokin i zwiększać liczebność komórek B. Znaczenie IL-17E w chorobach nowotworowych, w tym także w szpiczaku mnogim, jest słabo poznane, gdyż dotychczas oceniano przede wszystkim IL-17A. Stwierdzono statystycznie istotne

podwyższone stężenia IL-17A oraz IL-17E w surowicach u wszystkich chorych w porównaniu do zdrowych osób. Zaobserwowano statystycznie istotne różnice pomiędzy stężeniem IL-17E u pacjentów z II oraz III stopniem zaawansowania choroby oraz stężeniem IL-17A z III stopniem zaawansowania choroby, a zdrowymi osobami. Stwierdzono także dodatnią korelację między stężeniami IL-17A oraz odsetkiem komórek plazmatycznych obecnych w trepanobiopsji szpiku u wszystkich pacjentów oraz pacjentów z III stopniem klinicznego zaawansowania choroby. Może to świadczyć o tym, że IL-17A ma wpływ na rozwój i proliferację komórki plazmatycznej. Stwierdzono ujemną korelację między stężeniami IL-17E, a odsetkiem komórek plazmatycznych stwierdzanych w trepanobiopsji szpiku u wszystkich badanych pacjentów ze szpiczakiem i pacjentów z III stopniem zaawansowania choroby. Wykazano także ujemną korelację między stężeniami IL-17E u wszystkich pacjentów i u pacjentów z III stopniem zaawansowania choroby, a stężeniami beta-2-mikroglobuliny (beta-2-microglobulin, β 2m), która należy do niekorzystnych czynników rokowniczych w szpiczaku mnogim. Obie ujemne korelacje mogą wskazywać, że IL-17E jest związana z hamowaniem procesu rozwoju komórki plazmatycznej. Wykonane badania potwierdziły, że u chorych ze szpiczakiem stężenia IL-17A oraz IL-17E w surowicy są znacznie podwyższone. Należy jednak wziąć pod uwagę fakt, że istnieje wzajemna równowaga pomiędzy stężeniami IL-17E oraz IL-17A, która ma wpływ na wzrost, bądź zahamowanie rozwoju plazmatycznej komórki nowotworowej.

W trzeciej pracy przedstawionej do oceny cyklu (*Bolkun L, Lemancewicz D, Sobolewski K, Mantur M, Semeniuk J, Kulczyńska A, Kłoczko J, Dziecioł J. The evaluation of angiogenesis and matrix metalloproteinase-2 secretion in bone marrow of multiple myeloma patients before and after the treatment. Adv in Med Sci 2013 1;58:118-125*) w trepanobiopsjach u nowo zdiagnozowanych pacjentów ze szpiczakiem mnogim oceniono ekspresję innych cytokin i ich receptorów stymulujących angiogenezę takich jak VEGF, bFGF, zarówno przed włączonym leczeniem, jak też po jego zakończeniu, a także w przypadku braku odpowiedzi na leczenie z powodu progresji lub stabilizacji choroby. U tych samych pacjentów oceniono także poziom uwalnianej metaloproteinazy-2 (MMP-2) w nadsączu z biopsji aspiracyjnej szpiku kostnego. Wpływ cytokin na proces angiogenezy w szpiku oceniano poprzez pomiar gęstości naczyń (MVD) w poszczególnych polach mikroskopowych

trepanobiopłatów. Stwierdzono statystycznie istotne różnice w ekspresji wszystkich badanych cytokin i ich receptorów u pacjentów przed włączeniem leczenia oraz po jego zakończeniu. Stwierdzono również różnice w ekspresji cytokin w różnych grupach zgodnie z podziałem wg ISS. W badaniach wykazano także statystycznie istotne obniżenie stopnia unaczynienia szpiku kostnego, wyrażonego MVD, po zakończonym leczeniu w stosunku do stanu przed włączeniem terapii. Wykazano też statystycznie istotne różnice w MVD pomiędzy grupą pacjentów z całkowitą, bądź częściową remisją choroby w stosunku do grupy pacjentów ze stabilizacją bądź progresją choroby. Pod wpływem skojarzonego leczenia chemioterapeutycznego z terapią antyangiogenną, przeciwzapalną i immunomodulującą (cyklofosfamid, talidomid, deksametazon, CTD) zmniejszyła się MVD, a także obniżyła się ekspresja VEGF, bFGF i ich receptorów oraz stężenie uwalnianej MMP-2. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że wielolekowa, łączona terapia związana z hamowaniem produkcji nie tylko cytokin proangiogennych, ale także metaloproteinaz, może być korzystną opcją terapeutyczną działającą poprzez zahamowanie procesu angiogenezy.

Kolejna praca w tym cyklu dotyczyła badań nad czynnikami BAFF, APRIL oraz TRAIL w surowicy zdrowych ochotników oraz w surowicy nowo zdiagnozowanych chorych ze szpiczakiem mnogim (*Lemancewicz D, Bolkun L, Jablonska E, Kulczyńska A, Bolkun-Skornicka U, Kloczko J, Dzieciol J. Evaluation of TNF superfamily molecules in multiple myeloma patients: Correlation with biological and clinical features. Leuk Res. 2013 37:1089-1093*). Czynniki aktywujące komórki B - BAFF, ligand indukujący proliferację - APRIL oraz ligand indukujący apoptozę - TRAIL są ligandami rodziny TNF- α . BAFF i APRIL wpływają na przeżycie niedojrzałych, naiwnych oraz pobudzonych limfocytów B. Zostały one także zidentyfikowane jako główne czynniki przeżycia dla prawidłowych oraz nowotworowych komórek plazmatycznych poprzez bezpośrednią aktywację szlaku sygnalizującego czynnika jądrowego kappa B (NF- κ B). TRAIL działa przeciwnie w stosunku do BAFF i APRIL, ponieważ odgrywa rolę w eliminacji komórek nowotworowych na drodze apoptozy.

U chorych na szpiczaka przed rozpoczęciem leczenia badacze stwierdzili statystycznie istotne różnice w stężeniach BAFF, APRIL, TRAIL, IL-6 oraz TNF- α w porównaniu do zdrowych ochotników. Wykazano także wyższe stężenia badanych czynników w grupie pacjentów z III stadium wg ISS w porównaniu do pacjentów z I stadium wg ISS. Zaobserwowano wyraźne różnice pomiędzy podgrupą, a drugą

podgrupą do której należeli. W podgrupie pacjentów z częściową, bardzo dobrą lub całkowitą odpowiedzią na leczenie stwierdzono statystycznie niższe stężenia BAFF, APRIL, TNF- α oraz IL-6 w porównaniu do stężeń badanych czynników w podgrupie pacjentów ze stabilizacją choroby. Wykazano także dodatnie korelacje pomiędzy APRIL i LDH oraz β 2m, między BAFF i LDH, a także pomiędzy APRIL i BAFF, natomiast ujemną korelację pomiędzy TRAIL i β 2m. Wykazano, że chorzy z wysokim stężeniem APRIL i BAFF (powyżej wyznaczonej mediany badanej grupy pacjentów ze szpiczakiem) mieli znamienne statystycznie krótszy czas przeżycia wolnego od progresji, w porównaniu do pacjentów z niskim stężeniem badanych ligandów (wyjściowe stężenia poniżej mediany). Nie zaobserwowano natomiast takich zależności dla TRAIL. Może to wskazywać na znaczenie tych markerów jako ważnych wskaźników aktywności i określania progresji choroby w szpiczaku mnogim. Oba ligandy mogą być również wykorzystane w badaniach nad nowymi lekami w terapii tej choroby.

Ostatnia z prac składających się na osiągnięcie naukowe dr med. Doroty Lemancewicz dotyczy badań nad zależnościami pomiędzy rozpuszczalną P-selektyną, a wybranymi cytokinami płytkotwórczymi oraz megakariocytami u pacjentów ze szpiczakiem mnogim przed oraz po leczeniu antyangiogennym (*Lemancewicz D., Bolkun L., Mantur M., Semeniuk J., Kloczko J., Dzieciol J.: Bone marrow megakaryocytes, soluble P-selectin and thrombopoietic cytokines in multiple myeloma patients. Platelets 2013 Jul 15, Early online:1-7*).

Wiele cytokin, które biorą udział w patogenezie szpiczaka mnogiego odgrywa również istotną rolę w regulacji procesów megakariocytopoezy i trombopoezy. Może to prowadzić do powstawania funkcjonalnie uszkodzonych płytek krwi oraz do uwalniania szeregu czynników m.in. VEGF, czynnika płytkowego 4, płytkowego czynnika wzrostu PDGF, TGF- β , P-selektyny.

W badaniach Habilitantki przeprowadzonych w osoczu krwi u nowo zdiagnozowanych pacjentów ze szpiczakiem mnogim wykazano statystycznie istotny wzrost stężeń trombopoetyny, sP-selektyny oraz IL-6 w stosunku do grupy kontrolnej. Fakt ten należy tłumaczyć zwiększoną aktywacją płytek krwi, rozrostem nowotworowych komórek plazmatycznych oraz uwalnianiem PDGF z płytek krwi oraz z komórek podścieliska szpiku. Jednocześnie w trepanobiopsatach wykazano istotne różnice w ekspresji PDGF pomiędzy pacjentami w I stadium, a III stadium wg ISS. Po leczeniu wykazano w osoczu krwi badanych pacjentów statystycznie istotny spadek

stężenia trombopoetyny, sP-selektyny, IL-6 oraz obniżenie ekspresji PDGF. Stwierdzono także znaczące różnice pomiędzy stężeniami sP-selektyny w grupie nowo zdiagnozowanych pacjentów w porównaniu do podgrup pacjentów z różną odpowiedzią na leczenie: częściową, bardzo dobrą częściową, całkowitą lub stabilizacją choroby. Dokonano po raz pierwszy analizy dotyczącej wzajemnych zależności pomiędzy uwalnianymi cytokinami oraz sP-selektyną, a liczbą megakariocytów i tzw. „nagich jąder” u pacjentów ze szpiczakiem mnogim. Zaobserwowano znacznie niższą liczbę megakariocytów u nowo zdiagnozowanych pacjentów w porównaniu do pacjentów po zakończonym leczeniu, co może być związane z destrukcją megakariocytów przez wydzielane cytokiny z nacieku złożonego z komórek plazmatycznych. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średniej liczbie „nagich jąder” pomiędzy nowo zdiagnozowanymi i poddanymi leczeniu pacjentami ze szpiczakiem. Wyniki badań sugerują przejściowe, nieprawidłowe dojrzewanie megakariocytów, które może być związane z zaburzeniami w produkcji różnych cytokin wytwarzanych przez mikrośrodowisko hematopoetyczne szpiku kostnego. W badaniach dr D.Lemancewicz ujawniono dodatnie korelacje pomiędzy sP-selektyną, a IL-6 oraz TPO, a IL-6, a także sP-selektyną, a PDGF-AB. Wykazano, że sP-selektyna może być przydatnym markerem oceny całkowitej odpowiedzi na leczenie u pacjentów ze szpiczakiem mnogim. Silny związek sP-selektyny z PDGF-AB może prowadzić do rozwoju nowej, wielolekowej opcji terapeutycznej opartej na antyangiogennej terapii.

Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego składającego się na habilitację dr med. Doroty Lemancewicz stwierdzam, że przedstawione mi do oceny publikacje cechują się dojrzałością, przemyślanymi głęboko założeniami, celami i treścią oraz ostrożnością w wyciąganiu wniosków. Bardzo ważną częścią każdej z przedstawionych publikacji jest omówienie uzyskanych wyników badań, które autorka wraz ze współautorami wszechstronnie analizuje na tle piśmiennictwa. Przeprowadzając krytyczną dyskusję swoich wyników Habilitantka wykazuje się przy tym dużą dojrzałością naukową, wnikliwością, a także ostrożnością w ostatecznym wyciąganiu wniosków. Realizując cel swoich badań dr n. med. Dorota Lemancewicz uzyskała szereg interesujących wyników, wiele z nich zostało opublikowanych jako pierwsze, oryginalne obserwacje w piśmiennictwie światowym. W realizacji swoich badań posługiwała się nowoczesnymi metodami diagnostycznymi. Na podstawie uzyskanych wyników badań i obserwacji dr D. Lemancewicz sformułowała szereg istotnych wniosków, jak stwierdzenie, że stężenie sMUC-1 oraz stężenia APRIL oraz BAFF w

surowicy krwi mogą być oceniane jako ważne wskaźniki prognostyczne u chorych ze szpiczakiem mnogim, a sP-selektyna określana w osoczu krwi może być przydatnym markerem oceny całkowitej odpowiedzi na leczenie u pacjentów ze szpiczakiem mnogim. Te wnioski w pełni dokumentują założone i osiągnięte cele poszczególnych prac.

Tak więc z całym przekonaniem stwierdzam, że obserwacje i wyniki badań zawarte w pracach przedstawionych jako zestaw publikacji składających się na rozprawę habilitacyjną dr med. Doroty Lemancewicz wnoszą istotny postęp do wiedzy o biologii szpiczaka mnogiego oraz wpływu zaburzeń w komórkach plazmatycznych i w mikrośrodkowisku na kliniczny przebieg choroby.

Ocena aktywności naukowej

Dorobek naukowy dr n.med. Doroty Lemancewicz po odjęciu 5 prac stanowiących osiągnięcie będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego obejmuje 17 publikacji prac oryginalnych, 1 pracy pogładowej, 1 pracy kazuistycznej oraz 53 komunikatów zjazdowych. W 4 pracach jest pierwszym autorem, w 10 pracach – drugim lub trzecim. Sumaryczny współczynnik wpływu (*impact factor* – *IF*) dla wszystkich prac dr D. Lemancewicz (z wyłączeniem listów do redakcji i publikacji w suplementach czasopism) wynosi 26,586 (po odliczeniu cyklu prac habilitacyjnych – 18,621), a łączna punktacja MNiSW prac własnych wynosi 327 (234). Liczba cytowań wg Web of Science: 44, a Indeks Hirscha = 3.

Główne zainteresowania naukowe dr D. Lemancewicz dotyczą różnych aspektów hematologii i onkologii i koncentrują się na 3 głównych tematach:

1. Mikrośrodkowisko hematopoetyczne w chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego
2. Ocena wpływu wybranych czynników na komórki nowotworowe w hodowlach komórkowych
3. Ocena wybranych czynników w różnych nowotworach i chorobach układu krwiotwórczego

Początkowe zainteresowania Habilitantki koncentrowały się na mikrośrodkowisku hematopoetycznym w chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego. Wynikiem tej aktywności są 4 interesujące publikacje oraz rozprawa doktorska.

W pracy opublikowanej w Folia Morphol. (poz. 2.1.19 wg Wykazu osiągnięć) autorka wykazała, że w chorobach mieloproliferacyjnych i chłoniakach nieziarniczych

wzrost liczby megakariocytów dysplastycznych i „nagich jąder” megakariocytów w szpiku kostnym był proporcjonalny do stopnia nasilenia jego stwardnienia i zwłóknienia oraz do liczby płytek o zwiększonej średniej objętości (MPV). Wraz ze wzrostem stopnia stwardnienia

i zwłóknienia szpiku kostnego zmniejszała się liczba płytek krwi. U chorych z przewlekłą białaczką limfocytową i chłoniakiem złośliwym B-komórkowym zmiany morfologiczne megakariocytów szpikowych wykazywały większe nasilenie w przypadkach, w których w szpiku kostnym stwierdzano obecność komórek nowotworowych. Zwiększona aktywność proliferacyjna megakariocytów występowała w grupie chorych z chorobami mieloproliferacyjnymi, u których dochodziło do nasilenia stopnia stwardnienia i zwłóknienia szpiku kostnego. Autorka potwierdziła w swoich badaniach konieczność wykonywania trepanobiopsji szpiku kostnego u chorych ze schorzeniami rozrostowymi układu krwiotwórczego i chłonnego ze względu na znaczne zróżnicowanie ilościowe i morfologiczne megakariocytów w poszczególnych polach mikroskopowych tego samego preparatu histologicznego.

Kontynuując swoje zainteresowania zagadnieniami związanymi z oceną komórek nowotworowych oraz ich oddziaływaniem na mikrośrodowisko hematopoetyczne szpiku kostnego, szczególnie w chorobach rozrostowych układu chłonnego, dr D. Lemancewicz rozpoczęła ścisłą współpracę kliniczną i patomorfologiczną w zakresie hematopatologii. Ocena szpiku kostnego uzyskanego metodą trepanobiopsji umożliwia nie tylko określenie stopnia zajęcia szpiku przez komórki nowotworowe, ale także stopnia jego stwardnienia (zwiększenie ilości włókien srebrochłonnych) i włóknienia (występowanie włókien kolagenowych). Habilitantka mogła przeprowadzić te badania dzięki uruchomieniu w Zakładzie Anatomii Prawidłowej Człowieka pracowni histopatologicznej i immunohistochemicznej oraz współpracy z ośrodkiem diagnostyki patomorfologicznej. Prowadzenie badań w zakresie chorób limfoproliferacyjnych możliwe było także dzięki połączeniu pracy klinicznej w Klinice Hematologii z pracą naukową w Zakładzie Anatomii Prawidłowej Człowieka i ich efektem było 8 publikacji.

Oceniając u pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową (CLL) wpływ analogów puryn na szpik kostny, uwzględniając stopień progresji bądź regresji stwardnienia i zwłóknienia, u wszystkich chorych z CLL przed włączeniem leczenia autorzy stwierdzili zajęcie szpiku kostnego przez nacieki nowotworowe (pozycja 2.1.17). W większości przypadków był to nacieki rozlany, któremu towarzyszył wzrost ilości włókien retikuliny. Pod wpływem zastosowanego leczenia, wraz z obniżeniem

stopnia nacieku, nastąpiła redukcja ilości włókien retikuliny ocenionej według skali Kundla i Bauermeistera. Po zakończeniu leczenia u większości pacjentów zaobserwowano utrzymywanie się zaniku tkanki krwiotwórczej, bądź stwierdzono jego pojawienie się. U części pacjentów stwierdzono także zahamowanie dojrzewania tkanki krwiotwórczej wyrażone zaburzeniami we krwi obwodowej. Pod wpływem zastosowanego leczenia analogami puryn u chorych z CLL wykazano zmniejszenie odsetka komórek nowotworowych, ale jednocześnie zaobserwowano utrzymywanie się lub pojawienie się zaniku tkanki krwiotwórczej i/lub zahamowania dojrzewania komórek poszczególnych linii rozwojowych, co wpływa na przedłużającą się pancytopenię.

W kolejnej pracy dotyczącej chorych z CLL (pozycja 2.1.15) zespół autorów oceniał ekspresję receptorów kannabinoidowych CB1 i CB2 na limfocytach B w trepanobiopsatach pacjentów leczonych analogami puryn. Wykazano, że ekspresja receptorów CB1 na komórkach limfoidalnych pacjentów z CLL była statystycznie znacząco niższa niż ekspresja receptorów CB2. Wraz z obniżeniem stopnia nacieku zaobserwowano obniżoną ekspresję receptorów CB1 u pacjentów, którzy odpowiedzieli na zastosowane leczenie analogami puryn. Nie stwierdzono natomiast takich zależności w przypadku receptorów CB2. Jednocześnie badacze zaobserwowali wysoką ekspresję reakcji immunohistochemicznej komórek limfoidalnych z poliklonalnym przeciwciałem CB2 oraz niską z poliklonalnym przeciwciałem CB1. We wszystkich przypadkach obecność receptorów kannabinoidowych na komórkach B była potwierdzona badaniem cytometrii przepływową. Stwierdzana obecność receptorów kannabinoidowych na komórkach limfoidalnych po zastosowanym leczeniu, może być podstawą do prowadzenia dalszych badań nad ich wykorzystaniem w leczeniu choroby resztkowej.

W następnej pracy (pozycja 2.1.14) dr D. Lemancewicz z zespołem przedstawiła wyniki badań dotyczących ekspresji białek Bcl-2, Bcl-x oraz Bax w komórkach limfoidalnych nacieku białaczkowego w szpiku kostnym u pacjentów z CLL leczonych analogami puryn. We wszystkich przypadkach wykazano wysoki odsetek komórek limfoidalnych z dodatnią reakcją z przeciwciałem monoklonalnym Bcl-2. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy stopniem nacieku z komórek limfoidalnych, a ekspresją białka Bcl-2 zarówno przed, jak i po leczeniu. Nie stwierdzono natomiast takich zależności w przypadku Bax oraz Bcl-x. W większości przypadków po zakończonym leczeniu nadal utrzymywała się zwiększona ekspresja białka Bcl-2. Może to świadczyć o tym, że w utkaniu szpiku kostnego pozostała część komórek limfoidalnych z zaburzonym mechanizmem apoptozy i nadmierną ekspresją Bcl-2. Analiza ekspresji

białek z rodziny Bcl-2 w komórkach nowotworowych w CLL za pomocą oceny histopatologicznej i immunohistochemicznej szpiku kostnego, wykazała przydatność tego badania do oceny obecności choroby resztkowej.

W ramach wielodyscyplinarnej współpracy naukowej dr Dorota Lemancewicz brała udział w badaniach dotyczących wpływu różnych czynników na hodowle komórek ludzkiego raka sutka (MCF-7), endometrioidalnego raka jajnika – linia CRL-11731 oraz raka endometrialnego (Ishikawa). Badając wpływ związków należących do rodziny witaminy A na efekt cytotoksyczny paklitakselu i ekspresję receptorów estrogenowych w hodowli komórek ludzkiego raka sutka linii MCF-7, zespół z udziałem Habilitantki wykazał, że paklitaksel zwiększa ekspresję receptorów estrogenowych ER α oraz ER β mRNA w hodowli komórek ludzkiego raka sutka linii MCF-7. Najsilniejszy efekt zahamowania transkrypcji ER α , a szczególnie ER β był obserwowany po dodaniu kwasu 9-*cis* retinowego i paklitakselu. Wyniki tych badań uzasadniają stosowanie retinoidów w leczeniu chorych z obecnością receptorów estrogenowych w utkaniu raka sutka (pozycja 2.1.9).

W innych badaniach (pozycja 2.1.8) oceniano wpływ związków należących do rodziny witaminy A na wzrost i proliferację komórek w hodowli ludzkiego endometrioidalnego raka jajnika linii CRL-11731 oraz aktywność estradiolu i docetakselu w tej hodowli. *All-trans* retinol, β -karoten, a także likopen hamowały proliferację komórek endometrioidalnego raka jajnika w sposób zależny od stosowanych stężeń, a w kombinacji z docetaksem uzyskiwano istotne statystycznie obniżenie odsetka komórek proliferujących w porównaniu do wartości w grupie kontrolnej i ekspozowanej na docetaksel. *All-trans* retinol, karotenoidy i retinoidy indukowały wprowadzenie komórek na drogę apoptozy. Likopen, β -karoten oraz kwas *trans* retinowy wpływały na ekspresję Bcl-2 i p53, także w kombinacji z docetaksem.

Celem kolejnej pracy (pozycja 2.1.11) była ocena wpływu estradiolu i tamoksyfenu na proliferację komórek w hodowli ludzkiego raka sutka linii MCF-7 oraz ekspresję $\alpha_2\beta_1$ integrzyn. Badania te wykazały, że tamoksyfen zwiększa hamujący wpływ retinoidów na proliferację i ekspresję $\alpha_2\beta_1$ integrzyn w hodowli ludzkiego raka sutka linii MCF-7.

Badając wpływ inhibitorów N- i O- glikozylacji na zmiany profilu glikozylacji białek błonowych oraz na właściwości adhezyjne komórek nowotworowych w hodowli nowotworowych linii komórkowych raka sutka (MCF-7) oraz raka endometrialnego (Ishikawa) zespół badaczy z udziałem D. Lemancewicz dostarczył dowody świadczące

o udziale inhibitorów N- i O- glikozylacji w adhezji komórek nowotworowych. Badania te pogłębiły zrozumienie mechanizmu powstawania przerzutów komórek nowotworowych, jak również potwierdziły możliwość zastosowania tychże inhibitorów w leczeniu chorób nowotworowych (pozycja 2.1.16).

W kolejnym badaniu (pozycja 2.1.12), oceniono wpływ BFA na ekspresję niektórych glikoprotein błonowych: mucyn (MUC1) i integryn w hodowlach różnych komórek nowotworowych takich jak rak sutka (MCF-7, MDA-MB-231) oraz rak endometrialny (Ishikawa). Wykazano spadek ekspresji MUC1 oraz $\alpha_2\beta_1$ integryn na błonie komórkowej po zastosowaniu BFA. Wyniki badań dowiodły, że BFA poprzez zmianę ekspresji powierzchniowych glikoprotein, może modyfikować adhezję komórek nowotworowych do białek macierzy pozakomórkowej.

Zainteresowania naukowe dr Doroty Lemacewicz obejmowały także ocenę angiogenezy oraz wybranych czynników wpływających na rozwój komórki nowotworowej i jej aktywność proliferacyjną nie tylko w chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego, ale także w innych grupach nowotworów. W pracy dotyczącej procesu angiogenezy (pozycja 2.1.13) w glejakiach ośrodkowego układu nerwowego wykazano, że najwyższy wskaźnik indeksu proliferacyjnego Ki-67 oraz PCNA, a także najwyższą gęstość naczyń posiadały glejaki wielopostaciowe, natomiast najniższą skąpodrzewiaki. Wykazano istotną, dodatnią korelację pomiędzy stopniem unaczynienia guza, a jego stopniem złośliwości.

W pracach dotyczących różnicowania łagodnych i złośliwych rozrostów komórek pęcherzykowych i rozrostów brodawkowatych w tarczycy, oceniano aktywność proliferacyjną komórek pęcherzykowych w różnego typu zmianach rozrostowych oraz stopień unaczynienia tych zmian (pozycja 2.1.18 oraz 2.1.20). Do oceny aktywności proliferacyjnej komórek pęcherzykowych wykorzystano indeks proliferacyjny (proliferative index, PI). PI określono poprzez użycie przeciwciał PCNA, Ki-67 i MPM-2 oraz MIB-1 w histopatologicznym materiale pooperacyjnym. Wykazano różnice pomiędzy IP w łagodnych i złośliwych rozrostach pęcherzykowych i brodawkowatych tarczycy. W badaniach histopatologicznych stwierdzono również wzrost stopnia unaczynienia współistniejący ze zwiększoną proliferacją komórek pęcherzykowych tarczycy.

W innej pracy (pozycja 2.1.10) dotyczącej oceny stężeń w surowicy krwi pacjentów z rakiem jelita grubego cząsteczek adhezyjnych takich jak międzykomórkowa cząsteczka adhezyjna-1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1), naczyniowa

cząsteczka adhezyjna-1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1) oraz E-selektyna wykazano znaczące, wysokie stężenia sICAM-1 i sVCAM-1. Stwierdzono także dodatnią korelację tych stężeń ze stadiem klinicznego zaawansowania choroby oraz z zajęciem węzłów chłonnych przez komórki nowotworowe u chorych przed leczeniem operacyjnym w stosunku do grupy kontrolnej. Nie stwierdzono takich zależności w przypadku E-selektyny. Jednocześnie wykazano wzajemne korelacje pomiędzy wszystkimi badanymi molekułami adhezyjnymi. Wykonane badania sugerują, że podwyższone wartości stężeń molekuł adhezyjnych odzwierciedlają stopień zaawansowania choroby oraz wskazują na duże prawdopodobieństwo obecności przerzutów komórek nowotworowych, a więc mogą być one użyteczne jako czynniki predykcyjne w praktyce klinicznej.

W kolejnych opracowaniach Habilitantka przedstawiła ciekawe przypadki obejmujące różnorodne zaburzenia hematologiczne. W pracy dotyczącej pacjentów z hemofilią A wykazano, że chociaż niewątpliwym jest fakt, że główną przyczyną krwawień u pacjentów z hemofilią A jest niedobór czynnika VIII, to aktywność kompleksu białka Z oraz inhibitora proteaz zależnego od białka Z (PZ/ZPI kompleks), może mieć modulujący wpływ na występujące krwawienia w wyniku niedoboru tego czynnika (pozycja 2.1.4).

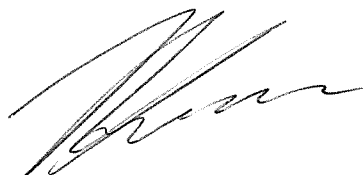
Oceniając profile metaboliczne u chorych z przewlekłą białaczką limfocytową oraz ze szpiczakiem mnogim przy pomocy chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas uzyskano metaboliczne odciski palca surowicy pochodzącej od osób zdrowych oraz pacjentów z CLL i MM (pozycja 2.1.3.). Porównanie tych profili metabolicznych pozwoliło na wyselekcjonowanie metabolitów charakterystycznych dla obu chorób, jak również metabolitów różniących CLL od MM.

Podsumowując ocenę może niezbyt obszernego dorobku naukowego dr n. med. Doroty Lemacewicz należy podkreślić, że wszystkie jej opublikowane prace są tematycznie związane ze ściśle określonym kierunkiem badań naukowych dotyczącym chorób rozrostowych układu krwiotwórczego i innych nowotworów człowieka. Przedstawione mi do oceny publikacje cechują się dużą dojrzałością i głęboko przemyślanymi założeniami, celami i treścią oraz ostrożnością w wyciąganiu wniosków. Prace te wzbudziły szerokie zainteresowanie nie tylko w kraju, ale również i za granicą. Niektóre z nich mają również duży walor praktyczny, gdyż pozwalają na zwiększenie możliwości diagnozowania i oceny wyników leczenia w szpiczaku mnogim lub przewlekłej białaczce limfocytowej. Istotne jest również to, że większość z tych prac opublikowanych została w języku angielskim w czasopismach z listy

filadelfijskiej. Godnym podkreślenia jest również fakt umiejętności habilitantki do przekazywania swojej wiedzy w formie wykładów i doniesień w trakcie różnych zjazdów, konferencji naukowych i szkoleń.

Podsumowując stwierdzam, że osiągnięcie naukowe dr n. med. Doroty Lemancewicz w postaci zestawu 5 publikacji dotyczących różnych aspektów etiopatogenezy szpiczaka mnogiego stanowią znaczący wkład autora w rozwój hematologii i w pełni odpowiada kryteriom określonym w art.16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym. Biorąc pod uwagę aktywność naukową oraz wartościowy i dorobek naukowy, a także dydaktyczny i organizacyjny uważam, że dr n. med. Dorota Lemancewicz w pełni udowodniła, że jest dojrzałym i samodzielnym pracownikiem naukowym. Składam więc Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie dr n. med. Doroty Lemancewicz do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Lublin, dnia 7.01.2014 r.



Prof.dr hab.med.Jerzy R.Kowalczyk