



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra i Zakład Genetyki

prof. dr hab. Maria M. Sasiadek

Wrocław, 18. 10. 2019

Ocena

osiągnięć naukowych, aktywności naukowej oraz dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i współpracy międzynarodowej pani doktor nauk biologicznych Agnieszki Bronisz, wykonana na podstawie decyzji Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów i przeprowadzona zgodnie z Art. 16.2 Ustawy z dnia 14 marca 2003, ze zmianami z dnia 18. 03. 2011 oraz z Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, w postępowaniu prowadzonym przez Radę Naukową Instytutu Medycyny Doświadczalnej PAN w Warszawie.

Pani dr Agnieszka Bronisz stopień magistra biologii uzyskała w 1997 r. na Uniwersytecie Warszawskim. Stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej otrzymała w 2001r w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mossakowskiego w Warszawie, na podstawie dysertacji pt. „Regulacja apoptozomu poprzez PKC/RAF1 kinazy w komórkach N2a”. Promotorem w tym postępowaniu była pani prof. K. Domańska-Janik. W 2018r dr Bronisz uzyskała certyfikat Wykształcenia Medycznego (CME) w zakresie biostatystyki na The Harvard Clinical and Translational Science Center, Boston, MA, US.

Po zakończeniu studiów kandydatka pracowała w latach 1998-2002r w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mossakowskiego w Warszawie, jako pracownik naukowy, zajmując się neuropatologią molekularną. Od 2000r podjęła pracę na Temple University, Philadelphia, PA, US w obszarze immunologii. Kolejno, odbyła dwa pobyty *postdoktorskie*: w latach 2002-2003 w zakresie molekularnej biologii komórki w Texas A&M University Health Science Center, Temple, TX, USA oraz w latach 2004-2008 w zakresie genetyki molekularnej w Ohio State University Columbus, OH, USA.

Jej kariera zawodowa toczyła się równolegle w instytucjach akademickich i placówkach szpitalnych: w latach 2008-2012 pracowała w Ohio State University Columbus nad zagadnieniami związanymi z mikrośrodowiskiem nowotworów na stanowisku naukowca, a w latach 2012-2017 pracowała w Harvard Medical School w Bostonie, nad zagadnieniami związanymi z neurochirurgią, początkowo na stanowisku instruktora, a od 2017r - adiunkta. W latach 2012-2017 pracowała na neurochirurgii w Brigham and Women's Hospital, w Bostonie

Ocena „osiągnięcia naukowego”

Przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe zatytułowane „Niekodujące RNA (ncRNA) w mikrośrodowisku mózgu – wnioski z analizy transkryptomu” stanowi monotematyczny cykl 5 publikacji oryginalnych, opublikowanych w latach 2014-2017. W jednej spośród tych publikacji Habilitantka jest pierwszym, a w pozostałych ostatnim i korespondencyjnym autorem. Sumaryczny IF tych prac wynosi 41,302 (210 punktów MNiSW).

Współautorzy artykułów złożyli oświadczenia, w których potwierdzili dominujący i twórczy wkład dr Bronisz w opracowanie koncepcji, realizację badań i przygotowanie manuskryptów.

W skład cyklu weszły następujące publikacje:

1. Rooj AK, Ricklefs F, Mineo M, Nakano I, Chiocca EA, Bronisz A*, Godlewski J. MicroRNA-Mediated Dynamic Bidirectional Shift between the Subclasses of Glioblastoma Stem-like Cells. *Cell Rep.* 2017 06 06; 19(10):2026-2032. PMID: 28591575. PubMed; IF 2017: 8,032; MniSW/KBN: 40 (udział procentowy Kandydatki około 40%),

2. Godlewski J, Ferrer-Luna R, Rooj AK, Mineo M, Ricklefs F, Takeda YS, Nowicki MO, Salinska E, Nakano I, Lee H, Weissleder R, Beroukhim R, Chiocca EA, Bronisz A*. MicroRNA Signatures and Molecular Subtypes of Glioblastoma: The Role of Extracellular Transfer. *Stem Cell Reports.* 2017 06 06; 8(6):1497-1505. PMID: 28528698. PubMed, IF 2017: 6,537; MniSW/KBN: 40 (udział procentowy Kandydatki około 70%),

3. Mineo M, Ricklefs F, Rooj AK, Lyons SM, Ivanov P, Ansari KI, Nakano I, Chiocca EA, Godlewski J, Bronisz A*. The Long Non-coding RNA HIF1A-AS2 Facilitates the Maintenance of Mesenchymal Glioblastoma Stem-like Cells in Hypoxic Niches. *Cell Rep.* 2016 06 14; 15(11):2500-9. PMID: 27264189; PMCID: PMC4909547. PubMed, PubMed Central, IF 2016: 8,282; MniSW/KBN: 40 (udział procentowy Kandydatki około 60%).

4. Ricklefs F, Mineo M, Rooj AK, Nakano I, Charest A, Weissleder R, Breakefield XO, Chiocca EA, Godlewski J, Bronisz A*. Extracellular Vesicles from High-Grade Glioma Exchange Diverse Pro-Oncogenic Signals That Maintain Intratumoral Heterogeneity. *Cancer Res.*

2016 05 15; 76(10):2876-81. PMID: 27013191; PMCID: PMC4873326. PubMed, PubMed Central, IF 2016: 9,122; MniSW/KBN: 45 (udział procentowy Kandydatki około 70%),

5. Bronisz A, Wang Y, Nowicki MO, Peruzzi P, Ansari K, Ogawa D, Balaj L, De Rienzo G, Mineo M, Nakano I, Ostrowski MC, Hochberg F, Weissleder R, Lawler SE, Chiocca EA, Godlewski J. Extracellular vesicles modulate the glioblastoma microenvironment via a tumor suppression signaling network directed by miR-1. *Cancer Res.* 2014 Feb 01; 74(3):738-750. PMID: 24310399; PMCID: PMC3928601. PubMed, PubMed Central, IF2014: 9,329; MniSW/KBN: 45, (udział procentowy Kandydatki około 60%).

W Autoreferacie Habilitantka omówiła podstawy teoretyczne i merytoryczne uzasadnienie koncepcji badań oraz omówiła przeprowadzone badania.

Celem badań Kandydatki było poznanie źródeł heterogenności genetycznej, histopatologicznej i klinicznej glejaków mózgu.

We wstępie dr Bronisz przedstawiła w skrócie podstawy teoretyczne swojej pracy badawczej. Podkreśliła znaczenie heterogenności genetycznej glejaków, która jest widoczna już na poziomie komórek macierzystych. Z tego faktu wynika, pogłębiające się w trakcie progresji guza, zróżnicowanie pod względem genetycznym oraz biologicznym klonów komórkowych w jego obrębie. W konsekwencji ocena histopatologiczna guza nie oddaje złożoności biologicznej glejaka i nie pozwala na wystarczająco precyzyjny podział omawianych guzów. Tymczasem, heterogenność guza wraz z obecnością w jego obrębie nowotworowych komórek macierzystych stanowi ważną przyczynę niepowodzeń terapeutycznych.

Ponieważ jedynie około 2% genomu stanowi genom kodujący, dr Bronisz postanowiła przeprowadzić badania nad hipotezą mówiącą, że za heterogenność glejaków odpowiedzialne są nie tylko mutacje DNA, ale też mutacje RNA.

W centrum zainteresowań Habilitantki znalazło się niekodujące RNA (ncRNA). We wprowadzeniu Kandydatka omówiła w ogromnym skrócie znaczenie biologiczne różnych postaci RNA (cytuje) „Rozróżnia się wiele klas RNA, w tym długie nie-kodujące RNAs (ang. long noncoding RNAs - lncRNAs) i mikroRNA. Genomika porównawcza wykazała że u Metazoa występuje w dużym stopniu ten sam repertuar genów kodujących białka. Różnice pomiędzy komórkami podczas normalnego rozwoju i patogenezy w wielu przypadkach powstają w wyniku różnic w tym kiedy, gdzie i jak geny są włączane lub wyłączane. Obecnie uważa się że ncRNAs odgrywają istotną rolę w tych procesach poprzez ułatwianie lub hamowanie transkrypcji, translacji, oraz aktywności genów i kodujących przez nie białek. Różnice pomiędzy komórkami podczas normalnego rozwoju i patogenezy w wielu przypadkach powstają w wyniku różnic w tym kiedy, gdzie i jak geny są włączane lub wyłączane. Obecnie uważa się że ncRNAs odgrywają istotną rolę w tych

procesach poprzez ułatwianie lub hamowanie transkrypcji, translacji, oraz aktywności genów i kodujących przez nie białek”.

Podsumowując, celem pracy badawczej Habilitantki było poznanie nowych funkcji ncRNA w etiologii glejaków mózgu i tym samym, identyfikacja nowych celów terapeutycznych.

Habilitantka nie ograniczyła badań do zmian w RNA komórek guza, ale w zakresie Jej zainteresowań znalazły się również cząsteczki ncRNA zawarte w pęcherzykach pozakomórkowych, w tym w exosomach.

W pierwszym etapie pracy badawczej dr Bronisz i wsp. przeprowadzili analizę transkryptomu GCS pochodzących z 40 pierwotnych linii komórkowych, wyprowadzonych z komórek glejaków pobranych od pacjentów. Wykazali, że profile ekspresji genów kodujących białka pozwalają na podział GCS na podklasy, które odpowiadały dwóm podtypom GMB: mezenchymalnemu i proneuronalnemu. Kolejno wykazali, że z mezenchymalnych GSC powstają guzy o wyraźnych granicach podczas gdy GSC proneuronalne zapoczątkowują guzy inwazyjne. W toku dalszych badań wykazano, że „profile guzów mezenchymalnych pokrywają się ze strefami perinekrotycznymi, podczas gdy profil proneuralny pokrywał się z obszarami infiltracji guza”.

W toku badań nad strukturą glejaków ustalono, że „trójwymiarowe sferoidy początkowo stanowiące mozaikę obu typów komórek, po pewnym czasie uorganizowały się w wyrażnie odrębną architekturę z mezenchymalnymi GSCs tworzącymi nieinwazyjny rdzeń sferoidu i proneuronalnymi GSCs w strefie peryferyjnej z pojedynczymi komórkami naciekającymi otaczającą macierz pozakomórkową”. Taką samą strukturę obserwowano również w modelach *in vivo*.

W kolejnym etapie podjęto badania nad profilem ekspresji i roli niekodującego RNA w heterogennym modelu glejaka. Wykazano, że profile ekspresji pozwoliły na wyróżnienie dwóch, odrębnych klas, charakteryzujących się przewagą profili mezenchymalnych lub proneuronalnych. Informacje te zweryfikowano w doświadczeniu w którym analizowano jedno, wybrane mikroRNA (miR-128). Analiza ekspresji tego miRNA pozwoliła na wysunięcie tezy, że miRNA-128 może być wykorzystywany do „prognozowania zarówno przeżywalności chorych z GBM jak i do identyfikacji podtypów GSC”. Ponadto wykazano, że ekspresja miR-128 może zmieniać fenotyp komórek („molekularna rearanżacja spowodowana przez miR-128 zmienia tożsamość komórek z mezenchymalnej na klasyczną – taka hybryda była zidentyfikowana wcześniej u pacjentów”), a także „miR-128 (lub jego inhibitor) wprowadzone do komórek, mogą być przenoszone wewnątrz nowotworu przez mikropęcherzyki wydzielane przez te komórki (ang. extracellular vesicles EVs)”.

W kolejnych badaniach zespół z udziałem Habilitantki podjął badania nad lncRNA, który może być wykorzystywany do klasyfikacji GBM. Przeprowadzono badania, których wyniki pozwoliły na wyjaśnienie istnienia wysoce heterogennych profili ekspresji mikroRNA w GBM, które są ponadto propagowane przez wewnątrznowotworową wymianę mikroRNA za pośrednictwem EVs. Wyniki omawianych badań stanowią kolejny dowód na fakt modulacji mikrośrodowiska guza poprzez transfer „wielu różnych cząsteczek, w tym mikroRNA, przez EVs” na zewnątrz guza.

„W odróżnieniu od mikroRNA, lncRNAs nie są zdefiniowane przez pewien wspólny mechanizm działania i mogą regulować ekspresję genów i syntezę białek na wiele sposobów”, a ponadto jak wykazali inni autorzy, lncRNA może być stosowany do klasyfikacji GBM. Habilitantka, wraz ze współpracownikami, skupili się na analizie lncRNA specyficznego dla mezenchymalnego podtypu GSC: indukowanym przez hipoksję czynnika pierwszym alfa antysensownego RNA 2 (ang. Hypoxia Inducible Factor-1 Alpha Anti-Sense 2 RNA: HIF1A-AS2). Wyniki badań pozwoliły na wysunięcie hipotezy, że „HIF1A-AS2 działa w sposób zależny od anatomicznych obszarów guza i że może kontrolować adaptację określonego typu komórek na stres niedotlenienia”.

W kolejnym etapie badań Habilitantka wraz z zespołem podjęli badania zmierzające do wyjaśnienia, dlaczego wzór ekspresji lncRNA, ale nie mikroRNA pokrywa się z podtypami określonymi przez ekspresję genów kodujących białka. Postawili hipotezę, że różnice wynikają z wielkości cząstek – „mikroRNA, w przeciwieństwie do mRNA i lncRNA są małe” co pozwala na ich rozprzestrzenianie się w obrębie guza. Przeprowadzone przez Habilitantkę badania potwierdziły tę hipotezę i „pozwoliły na wyjaśnianie istnienia wysoce heterogennych profili ekspresji mikroRNA w GBM, które są ponadto propagowane przez wewnątrz nowotworową wymianę mikroRNA za pośrednictwem EVs”.

Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, że:

1. rolę ncRNA pełnią kluczową rolę w regulacji komunikacji międzykomórkowej w mikrośrodoisku glejaka.
2. profile ekspresji mikroRNA ujawniają heterogenność obszarów guza w określonych
3. złożone sieci komunikacji w mikrośrodoisku guza wykraczające poza granice komórek nowotworowych są niezbędne dla jego wzrostu i progresji.
4. zarówno mikroRNA, jak i lncRNA mogą być obiecującymi celami terapeutycznymi oraz mogą być cennymi biomarkerami rozwoju glejaków.

Ponadto opracowano „nowatorski model heterogennej glejaka w oparciu o komórki pozyskane od pacjentów, który pogłębia naszą wiedzę na temat złożonej dynamiki subpopulacji w ekosys-

temie nowotworowym, a także umożliwia przedkliniczne badania ukierunkowane na rozwój nowych strategii terapeutycznych”.

Po analizie publikacji, stanowiących „dzieło habilitacyjne” stwierdzam, że przedstawiony do oceny przez panią dr Agnieszkę Bronisz, cykl prac stanowi wynik konsekwentnej pracy badawczej, ukierunkowanej na wyjaśnienie jednoznacznie sformułowanego problemu badawczego i stanowi istotny wkład w rozwój wiedzy w tym zakresie.

Bez wątpienia uzyskane wyniki mają duże znaczenie poznawcze, a wiedza ta może być istotnym punktem wyjścia do badań aplikacyjnych nad terapią glejaków mózgu.

Ocena osiągnięć naukowo-badawczych:

Dorobek naukowy dr Bronisz, wraz z artykułami, które weszły w skład „dzieła” stanowi 37 prac naukowych, w tym: 35 prac oryginalnych oraz 2 prace przeglądowe. Cztery prace dr Bronisz opublikowała przed doktoratem. Sumaryczny Impact Factor czasopism w których Habilitantka opublikowała wyniki swojej pracy badawczej (z włączeniem publikacji z cyklu) wyniósł 264.542, uzyskany przez nią IH (wg Web of Science) wyniósł 18, a liczba cytowań (wg Web of Science) wyniosła 1839 (bez autocytowań). W dziewięciu publikacjach Habilitantka była pierwszą autorką, a w pięciu ostatnią.

Analiza opisu wkładu własnego Habilitantki w powstanie tych publikacji wskazuje na udział w ich powstaniu wahający się od 1 do 80%.

Jak wynika z analizy dorobku publikacyjnego Habilitantki, Jej zainteresowania naukowe koncentrowały się konsekwentnie wokół zagadnień związanych etiologią genetyczną glejaków oraz zagadnieniami związanymi z immunoonkologią, zarówno w aspekcie poznawczym, jak i klinicznym (poszukiwania nowych metod leczenia).

Dr Bronisz wykazała, że umie pracować zarówno, jako samodzielna badaczka, kierująca zespołem, jak i członkini zespołu badaczy, po innym kierownictwie. Świadczy to dobrze zarówno o Jej umiejętnościach dostosowania się do grupy, jak i cechach osobowości takich jak otwartość. Prowadzone przez nią badania były finansowane z 9 projektów naukowych (w tym 3 z NIH, 1 NCN i 3 fundusze start-up), w 5 pełniła funkcje kierownika projektu.

Wyniki badań dr Bronisz przedstawiła na 12 kongresach międzynarodowych, jako wykładowczyni oraz na 20 zjazdach międzynarodowych (w ostatnich 5 latach). Na trzech zjazdach międzynarodowych pełniła funkcje „przewodniczącej sesji”.

Podsumowując, stwierdzam, że publikacje w których ważnym współautorem jest dr A. Bronisz są pracami oryginalnymi, nowatorskimi i wnoszą istotny, nowy wkład poznawczy oraz potencjalnie kliniczny i aplikacyjny.

cyjny. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że Habilitantka prowadziła badania finansowane z grantów, a w 5 grantach pełniła funkcje kierownika.

Należy też podkreślić, że dr Bronisz cieszy się niewątpliwie wysokim uznaniem w środowisku, czego dowodem jest liczba przewodniczeń sesji oraz wygłoszonych referatów ustnych.

Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej
Dr Bronisz pełniła funkcję opiekuna naukowego w jednej pracy licencjackiej, jednej magisterskiej i dwóch doktorskich, a ponadto była opiekunką pięciu post-doców.

I) Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych:

Dr Bronisz recenzowała 3 granty międzynarodowe (European Research Council ERC Synergy Grant, Swiss Cancer League Grant),

Kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach:

Trzy granty finansowane przez NIH, 1 przez NCN i 3 fundusze start-up). W 5 projektach pełniła funkcje kierownika projektu, a w pozostałych głównego wykonawcy.

.3) Otrzymane nagrody i wyróżnienia;

2016 - Women in Science Award / Brigham and Women's Hospital, Boston, MA, USA

2012 - Yung Investigator Recognition / Ohio State Medical Center, Columbus OH, USA

2011 - Program Committee Award / The American Association for Cancer Research, Orlando FL, US

4) Udział w konsorcjach i sieciach badawczych

Brak

5) kierowanie projektami realizowanymi we współpracy z naukowcami z innych ośrodków polskich i zagranicznych, a w przypadku badań stosowanych we współpracy z przedsiębiorcami;

Jak opisano powyżej

6) Członkostwo w towarzystwach naukowych:

Society for Neuro-Oncology

American Association for Cancer Research

Polish Association of Neuropathologists

G) Opieka naukowa nad studentami

jak opisano powyżej

7) Staże w ośrodkach zagranicznych;

Habilitantka pracowała w kilku ośrodkach w USA.

Wykonane ekspertyzy lub inne opracowania na zamówienie:

Brak

10) Udział w zespołach eksperckich i konkursowych (Nazwa zespołu, okres udziału habilitanta, cel lub tytuł działania zespołu, charakter udziału habilitanta (np. przewodniczący, sekretarz, członek, itp.)

brak

11) Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych oraz recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych

63 artykuły w czasopismach z listy filadelfijskiej oraz 12 monografii.

12) Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego:

Opiekunka prac badawczych dwóch studentów przygotowujących doktoraty oraz pięciu osób doktoracie.

13) Opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji

Nie dotyczy

Podsumowując ten obszar działalności dr Agnieszki Bronisz stwierdzam, że dorobek dydaktyczny i organizacyjny jest trudny do oceny według kryteriów opracowanych dla polskich naukowców.

Jednak Jej dorobek dydaktyczny i organizacyjny, oceniany w odniesieniu do zasad realizacji kariery naukowej w USA należy ocenić wysoko.

Uważam, że osiągnięcia Habilitantki w obszarze dydaktyki i działalności organizacyjnej spełniają, w pełni wymogi stawiane kandydatom do uzyskania awansu naukowego na stopień doktora habilitowanego.

Wniosek końcowy

Na podstawie oceny przesłanej mi dokumentacji szczególnego osiągnięcia naukowego (w znaczeniu artykułu 16.2 ustawy), osiągnięć naukowo-badawczych, dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej, stanowiących podstawę postępowania o nadanie dr Agnieszce Bronisz stopnia naukowego doktora habilitowanego, stwierdzam, że całokształt dorobku upoważnia dr Agnieszkę Bronisz do ubiegania się o status samodzielnego pracownika naukowego.

Dlatego też wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie, o nadanie pani dr n. biol. Agnieszce Bronisz stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, dyscyplina biologia medyczna.

