

OCENA

dorobku naukowego i osiągnięcia naukowego

**„ABERRACJE CYTOGENOMICZNE W AGRESYWNYCH NOWOTWORACH
UKŁADU CHŁONNEGO: CHŁONIAKU BURKITTA I TRANSFORMACJI
RICHTERA ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM STATUSU MYC I
GENÓW IG JAKO ZMIAN WIODĄCYCH LUB WTÓRNYCH.”**

w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego

w dziedzinie nauk medycznych

doktor nauk medycznych Renacie Woronieckiej

Podstawą niniejszej recenzji były dokumenty przesłane przez Narodowy Instytut Onkologii-
Państwowy Instytut Badawczy:

1. Autoreferat
2. Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych wraz z oceną bibliometryczną
3. Tekst publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe będące podstawą postępowania habilitacyjnego

Przedłożone dokumenty dają wystarczającą podstawę do rzetelnej oceny osiągnięć i aktywności naukowej Kandydatki, w tym tematycznego cyklu publikacji.

I. OCENA DOROBKU NAUKOWEGO

Doktor nauk medycznych Renata Woroniecka ukończyła z wyróżnieniem Wydział Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie w roku 1990. W roku 2007 uzyskała tytuł doktora nauk medycznych nadany przez Radę Naukową Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej – Curie na podstawie pracy zatytułowanej „*Określenie profilu aberracji chromosomowych w przypadkach chłoniaka z komórek płaszcza (MCL) w oparciu o klasyczne oraz molekularne techniki cytogenetyczne*”. Równolegle kontynuowała kształcenie podyplomowe uzyskując tytuł diagnosty laboratoryjnego (2003) oraz specjalisty w dziedzinie laboratoryjnej genetyki medycznej (2008). W latach 1990-1991 pracowała na stanowisku

asystenta w Instytucie Biologii Środowiskowej UJ, a następnie w Pracowni Cytologicznej Zakładu Opieki Zdrowotnej nr 5 w Myślenicach. W roku 1997 rozpoczęła pracę w Samodzielnej Pracowni Cytogenetyki Centrum Onkologii-Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie, początkowo jako specjalista biolog, a od 2009 do dziś na stanowisku adiunkta.

Dr Renata Woroniecka jest autorem i współautorem 36 publikacji, w tym 27 prac oryginalnych (jest pierwszym autorem w 4 publikacjach oryginalnych) i opisów przypadków, 2 prac poglądowych oraz 4 rozdziałów w podręcznikach w języku polskim; 21 prac oryginalnych zostało opublikowanych w czasopismach posiadających IF,

Łączny Impact Factor uzyskany przez Habilitantkę wynosi 72,6, w tym po doktoracie 65,586; suma punktów MNiSW/KBN 1314, w tym po doktoracie 1210

Liczba cytowań wg Web of Science (bez autocytowań) 395, indeks Hirsch'a wg Web of Science wynosi 10.

Habilitantka nie była nagradzana za swoją działalność naukową i dydaktyczną.

Wyrazem uznania dla dorobku Habilitantki są wykłady na zaproszenie wygłaszane na konferencjach międzynarodowych (1 konferencja) i krajowych (9 konferencji), świadczą o nim również doniesienia ustne i plakatowe prezentowane konferencjach międzynarodowych (43 doniesienia, w tym 27 po doktoracie) i krajowych (37 doniesień, w tym 15 po doktoracie).

Dotychczasowe zainteresowania badawcze Kandydatki koncentrowały się na zagadnieniach oceny profilu rearanżacji cytogenetycznych oraz ich potencjalnego znaczenia biologicznego i klinicznego w różnych typach nowotworów :

1/ chłoniak z komórek płaszczka

Pierwsze projekty habilitantki dotyczyły zagadnień związanych z aberracjami w komórkach chłoniaka z komórek płaszczka (MCL), w szczególności heterogenności translokacji t(11;14)(q13;q32) oraz profilu zmian chromosomowych i ocenie ich ewentualnego znaczenia rokowniczego. Uzyskane wyniki stały się podstawą pracy doktorskiej pod tytułem „*Określenie profilu aberracji chromosomowych w przypadkach chłoniaka z komórek płaszczka (MCL) w oparciu o klasyczne oraz molekularne techniki cytogenetyczne*” oraz publikacji (*J. Appl Genet.* 2002; *Cancer Genet Cytogenet.* 2007). Warto podkreślić, że wprowadzona przeze Habilitantkę

technika izolacji jąder komórkowych ze skrawków parafinowych została wdrożona jako rutynowa procedura diagnostyczna w macierzystej pracowni.

Następne projekty badawcze realizowane we współpracy z naukowcami z Hospital Clínic i University of Barcelona (Hiszpania) znacząco przyczyniły się do wyjaśnienia genetycznego podłoża patogenezы MCL bez rearanzacji *CCND1*, wykazując znaczące podobieństwo pomiędzy profilem genomicznym i złożonością aberracji w MCL z i bez nadekspresji cykliny D1 wynikającej z rearanzacji *CCND1* (*Blood. 2013; Blood. 2019*).

2/ ostra białaczka szpikowa (AML) i przewlekła białaczka szpikowa (CML)

Habilitationka realizowała badania nad zróżnicowaniem kariotypów monosomalnych i związkiem z rokowaniem w AML w ramach wielośrodkowego projektu PALG (*Polish Adult Leukemia Group*) i Sekcji Cytogenetyki Hematoonkologicznej PTGC. Uzyskane wyniki pozwoliły między innymi na wskazanie: istotnych różnic w rokowniczym znaczeniu kariotypu monosomalnego (MK) całkowitego i częściowego; roli kariotypu monosomalnego i złożonego (CK) z liczbą aberracji ≥ 5 jako niezależnego czynnika prognostycznego dla czasu całkowitego przeżycia w AML CK+; rokowniczej roli profilu CK+MK- wobec całkowitej odpowiedzi na leczenie (*Leuk Res. 2013, Leuk Lymphoma. 2017*)

Z kolei badania nad aspektami cytogenetycznej diagnostyki laboratoryjnej CML były realizowane we współpracy z Instytutem Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Gdańskim Uniwersytetem Medycznym oraz Świętokrzyskim Centrum Onkologii w Kielcach w temacie markera Philadelphia (*Acta Haematologica Polonica. 2004*) oraz diagnostycznej detekcji delecji w regionie fuzji *BCR::ABL* i jej wartości klinicznej z Gdańskim Uniwersytetem Medycznym (*Acta Haematologica Polonica. 2008*) oraz z Instytutem Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie (*Cancer Genet Cytogenet. 2007; Leukemia and Lymphoma. 2009*)

3/ inne nowotwory i patologie,

badania obejmowały zagadnie dotyczące guzów jąder (J Appl Genetics 2000), aberracji chromosomowych i mutacji *TP53* w zespole Li-Fraumeni (J Appl Genetics 2001), zespołu Bernarda-Souliera (*Central European Journal of Immunology. 2007*), oraz panmielozy ze zwłóknieniem szpiku (Cancer Genetics. 2012)

Należy wskazać, że poza wymienionymi badaniami realizowanymi we współpracy krajowej i międzynarodowej, Habilitationka prowadziła również współpracę naukową z zespołem Instytutu

Hematopatologii i Transfuzjologii Narodowej Akademii Nauk Ukrainy we Lwowie w zakresie efektywności oceny cytogenetycznej chłoniaków w materiałach z laparoskopowych biopsji brzusznych (*Onkologia*. 2013).

Uczestniczyła również w niezwykle wartościowych wielośrodkowych projektach harmonizacji diagnostyki cytogenetycznej :

- Cytogenetic and Molecular Genetic Laboratory of Human Malignancies, Centrum for Human Genetics, Catholic University of Leuven, Belgium. Annual quality control – karyotyping in NHL (2013-2014)
- Translokacje wariantowe t(9;22) w przewlekłej białaczce szpikowej. Sekcja Cytogenetyki Hematoonkologicznej PTGC. Koordynator: prof. Olga Haus, Uniwersytet Medyczny, Bydgoszcz (2013-2014)
- Diagnostyka i monitorowanie przewlekłej białaczki szpikowej. Sekcja Cytogenetyki Hematoonkologicznej PTGC. Koordynator: prof. Olga Haus, Uniwersytet Medyczny, Bydgoszcz (2013-2014)

W podsumowaniu należy podkreślić spójny i konsekwentny charakter dorobku Kandydatki, który odzwierciedla jej indywidualne zainteresowania badawcze silnie powiązane z praktyką kliniczną i praktycznymi aspektami onkologii klinicznej. Habilitantka znakomicie wykorzystała potencjał macierzystego, uznanego ośrodka naukowego, Narodowego Instytutu Onkologii-Państwowego Instytutu Badawczego.

II OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Przedstawiony do oceny cykl publikacji „*Aberracje cytogenomiczne w agresywnych nowotworach układu chłonnego: chłoniaku Burkitta i transformacji Richtera ze szczególnym uwzględnieniem statusu MYC i genów IG jako zmian wiodących lub wtórnych.*” obejmuje siedem prac oryginalnych z lat 2011-2023 oraz rozdział w publikacji monograficznej w języku polskim o łącznej wartości bibliometrycznej IF – 15,358 punktów, 345 punktów MEiN. Dr n med. Renata Woroniecka jest pierwszym autorem trzech prac oryginalnych i rozdziału. Publikacje są one wyrazem konsekwentnej realizacji zainteresowań Habilitantki, która od początku kariery naukowej koncentrowała się na cytogenomicznych aspektach nowotworów układu chłonnego.

W realizowanych na przestrzeni lat badaniach dr Woroniecka wraz ze współautorami podjęła próbę scharakteryzowania cytogenetycznych aberracji wiodących w MYC-negatywnych lub pozornie MYC-negatywnych chłoniakach o morfologii chłoniaka Burkitta (BL). Projekt miał istotne implikacje kliniczne ze względu na trudności diagnostyczne, a w konsekwencji trafne różnicowanie i leczenie chłoniaka Burkitta o nietypowych cechach morfologicznych oraz chłoniaka z dużych komórek B. Warto podkreślić ważne klinicznie implikacje badań prowadzonych przez zespół badawczy, w którym pracowała Habilitantka.

Praca „*Pieńkowska-Grela B, ...Woroniecka R, i in. Partial trisomy 11, dup(11)(q23q13), as a defect characterizing lymphomas with Burkitt pathomorphology without MYC gene rearrangement. Med Oncol. 2011*” była pierwszym doniesieniem potwierdzającym istnienie chłoniaków o cechach BL bez rearanżacji *MYC*, ale z powtarzalnymi aberracjami w obrębie długiego ramienia chromosomu 11 (11q). Analiza aberracji oparta była na badaniach kariotypowych i badaniach fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH). Warto podkreślić, że obserwacje zespołu zostały w późniejszych latach potwierdzone i pogłębione przez inne międzynarodowe grupy badawcze, a w konsekwencji w czwartej wersji klasyfikacji WHO nowotworów układu chłonnego wprowadzono pojęcie *Burkitt-like lymphoma with 11q aberration* (BLL,11q) jako prowizorycznej jednostki chorobowej, a następnie w piątej klasyfikacji WHO *high-grade B-cell lymphoma with 11q aberration* (HGBCL-11q) już jako stałą jednostkę.

W kolejnej publikacji „*Grygalewicz B, Woroniecka R, i in. The 11q-Gain/Loss Aberration Occurs Recurrently in MYC-Negative Burkitt-like Lymphoma With 11q Aberration, as Well as MYC-Positive Burkitt Lymphoma and MYC-Positive High-Grade B-Cell Lymphoma, NOS. Am J Clin Pathol. 2017*” Habilitantka wraz zespołem udokumentowała 11. przypadków chłoniaków o cechach BL, z obecnością równoczesnej duplikacji i delecji 11q. Dzięki poszerzonej metodyce obejmującej analizę kariotypową, analizę FISH, technikę porównawczej hybrydyzacji genomowej wraz z badaniem polimorfizmu pojedynczego nukleotydu na bazie mikromacierzy (macierze SNP/CGH) autorzy potwierdzili obecność dwóch typów duplikacji 11q: dużą - powyżej 50 Mbp (od 11q12.1-q24.3 do 11q13.4-q24.1) i małą - poniżej 20 Mbp (od 11q22.3-q24.1 do 11q22.2-q23.3). W tej pracy po raz pierwszy opisano zjawisko utraty heterozygotyczności bez zmian liczby kopii obecne jako element aberracji 11q w HGBCL-11q. Obok niewątpliwych wartości poznawczych, praca uszczegółowiła również kryteria diagnostyczne BL. Między innymi Habilitantka wraz z zespołem wykazała wysoką

kompleksowość kariotypu (≥ 3 aberracji) przypadków BL z rearanżacją *MYC* i duplikacją/delecją 11q.

Należy podkreślić, że Habilitantka wraz zespołem jako pierwsi opisali post-transplantacyjny przypadek BLL,11q bez rearanżacji *MYC*, z wysoką ekspresją *MYC* (IHC) (*Grygalewicz B, Woroniecka R, i in. Genetic progression of post-transplant Burkitt-like lymphoma case with 11q-Gain/Loss and MYC amplification. Cancer Genet. 2020*).

W kolejnej publikacji (*Woroniecka R, i in. Cryptic MYC insertions in Burkitt lymphoma: New data and a review of the literature. PLoS One. 2022*) Habilitantka przedstawiła szczegółową charakterystykę insercji *MYC*, drugiego z alternatywnych mechanizmów patogenezy BL bez typowej rearanżacji *MYC*. Analiz dokonano w oparciu o liczną grupę 108 pacjentów z podejrzeniem BL diagnozowanych w Narodowym Instytucie Onkologii-Państwowym Instytucie Badawczym w Warszawie w latach 2003 a 2020. Zastosowanie szczegółowej analizy cytometrycznej, analizy kariotypowej i rozszerzonego badania FISH z użyciem sond ukierunkowanych na ukryte fuzje *MYC: IGH::MYC*, *IGK::MYC* i *IGL::MYC* oraz na duplikację/delecję 11q pozwoliło na dokładną charakterystykę profilu cytogenomicznego poszczególnych chłoniaków. Zidentyfikowano między innymi 10 przypadków HGBCL-11q z obecnością duplikacji/delecji 11q bez ukrytych fuzji *MYC*. Dwa unikalne przypadki obecności insercji *MYC* poddano szczegółowej analizie techniką celowanego sekwencjonowania nowej generacji dla poznania molekularnej struktury tej aberracji.

Powyższa praca dostarczyła ciekawych informacji na temat oceny częstości występowania insercji *MYC* (1,9% pacjentów z podejrzeniem BL; 17% z podejrzeniem BL niewykazujących typowej rearanżacji *MYC*). Habilitantka wykonała również analizę statusu *MYC* i duplikacji/delecji 11q, co pozwoliło oszacować częstość ostatecznego rozpoznania HGBCL-11q na poziomie 9,3%, a chłoniaków o cechach BL z jednoczesną rearanżacją *MYC* i duplikacji/delecji 11q na poziomie 4,7%.

Opisane przez Habilitantkę i współpracowników zróżnicowanie w zakresie aberracji włączających gen *MYC* wśród pacjentów z podejrzeniem chłoniaka Burkitta zwraca uwagę na potrzebę dodania pogłębionych badań statusu *MYC* do procedury diagnostycznej, w szczególności rutynowego stosowania sondy o różnej specyfikacji, jak również uzupełnienie rutynowego panelu o alternatywne aberracje *MYC* w postaci insercji *IGK::MYC* i *IGL::MYC*.

Praca „*Woroniecka R, i in.. Cytogenetic and flow cytometry evaluation of Richter syndrome reveals MYC, CDKN2A, IGH alterations with loss of CD52, CD62L and increase of CD71*

antigen expression as the most frequent recurrent abnormalities. Am J Clin Pathol. 2015” otwiera cykl publikacji dedykowanych transformacji Richtera (RT). Dr Woroniecka przeprowadziła w niej analizę najczęstszych zmian cytogenetycznych i immunofenotypowych w grupie 8 pacjentów z rozpoznaniem RT, potwierdzając we wszystkich przypadkach obecność kariotypu kompleksowego (≥ 3 zmian) przy braku aberracji, które można uznać za unikalne dla RT. W kariotypie istotnie częściej występowała utrata 9/9p (z delecją *CDKN2A* w 9p21) i 17/17p (z delecją *TP53* w 17p13.1), we wszystkich przypadkach potwierdzono aberracje genu *MYC*. Prospektywna analiza wyników badań genetycznych pozwoliła też na poznanie sekwencji pojawiania się aberracji genetycznych w trakcie transformacji, najczęściej były to aberracje *MYC*, *IGH* i *CDKN2A*.

Habilitationka kontynuowała badania zmian genetycznych w RT (*Woroniecka R, i in.. Cytogenomic features of Richter transformation. Mol Cytogenet. 2023*) wykorzystując obok metody kariotypowej i FISH, także analizę macierzy SNP/CGH. Badania objęły znaczącą grupę 49 pacjentów z RT diagnozowanych w NIO-PIB w latach 2004-2023 potwierdzając wysoką złożoność zmian genetycznych: obecność kariotypu kompleksowego u 97% pacjentów, ze średnią liczbą 13 aberracji (zakres 2-47); liczne zmiany liczby kopii ze średnią liczbą zmian wynoszącą 14 (zakres 2-27). Rearanżacje/powielenia *MYC*, delecje *CDKN2A* i rearanżacje *IGH* stwierdzono w ok. 50-60% przypadków (metoda FISH), a badania mikromacierzowe wykazały obecność powieleń 8q23.3-q24.3 (*MYC*) oraz utrat 9p21.3 (*CDKN2A*) w ok. 30-40% przypadków. Co istotne, Habilitationka potwierdziła opisany w pierwszej publikacji wysoki odsetek aberracji *MYC* oraz rearanżacji *IGH*. Kontynuowała również ocenę ewolucji klonalnej w liczniejszej grupie chorych (n=13).

Zwiększenie liczebności badanej grupy oraz zastosowanie nowoczesnej metodyki umożliwiło pogłębienie wiedzy na temat aberracji występujących w RT obok opisywanych rearanżacji/powieleń *MYC*, delecji *CDKN2A* i *TP53* oraz rearanżacji *IGH*. W kolejnej publikacji Habilitationka i współautorzy (*Grygalewicz B, Woroniecka R, i in. Monoallelic and biallelic deletions of 13q14 in group of CLL/SLL patients investigated by CGH Haematological cancer and SNP array (8x60K), Mol Cytogenet; 2016*) szczegółowo scharakteryzowali: delecję 13q14 występującą w ok. 40% badanych przypadków RT, obecność nie tylko na etapie CLL, ale również wtórnie w trakcie transformacji; delecję 14q32 (utrata regionu 14q24.1-q32.33), obserwowaną w 20% (FISH) – 30% (mikromacierz) przypadków; utratę 7q31.33-q36.3 oraz powielenie 5q35.2 – 30% (mikromacierz) oraz powielenie *ATM*



(locus 11q23) (20%). Powyższe obserwacje potwierdzają zdaniem autorów, że transformacja Richtera ma swój genetyczny odpowiednik wśród *de novo* DLBCL.

Ostatnia publikacja z cyklu „*Woroniecka R. Rozdział: Genetyczne cechy patogenezy transformacji Richtera a wyzwania terapeutyczne*” w monografii naukowej pt.: *"Oczekiwania wobec nauk biomedycznych – trendy, wyzwania i perspektywy"*. 2023 stanowi pogłębione omówienie współczesnej wiedzy w zakresie metod analizy genomicznej, charakterystyki genetycznej i poszukiwań terapii w RT.

W podsumowaniu należy zaznaczyć, że osiągnięcie naukowe przedstawione przez Kandydatkę prezentuje zwarty i logiczny ciąg tematyczny, badania naukowe były prowadzone na podstawie jasno przedstawionych przesłanek, za pomocą prawidłowo dobranych, nowoczesnych metod analitycznych, z odniesieniem do kontekstu klinicznego. Prace prezentują wysoki poziom merytoryczny i są przykładem prawidłowo realizowanego ciągu badań naukowych. Należy podkreślić ich wysoki potencjał naukowy, ale również fakt iż dostarczają interesujących przesłanek do podjęcia dalszych badań w kierunku zastosowań aplikacyjnych.

III CHARAKTERYSTYKA DOROBKU DYDAKTYCZNEGO

Dr Renata Woroniecka prowadzi aktywną i szeroką działalność dydaktyczną realizowaną w ramach szkoleń diagnostów w ramach szkolenia specjalizacyjnego z laboratoryjnej genetyki medycznej oraz genetyki klinicznej (30 osób; 2008-2020), warsztatów doskonalących w zakresie technik cytogenetycznych i onkologicznej diagnostyki cytogenetycznej (30 osób; 2003-2016), prowadziła nadzór merytoryczny nad praktykami studenckimi 40 osób; 2003-2016).

Jest autorem lub współautorem prac dydaktycznych dla diagnostów i lekarzy na temat badań FISH w nowotworach hematologicznych.

Dr Woroniecka była członkiem Państwowej Komisji Egzaminacyjnej w dziedzinie Laboratoryjna Genetyka Medyczna (2017).

Dorobek Kandydatka obejmuje aktywną działalność edukacyjną.

IV DZIAŁALNOŚĆ ORGANIZACYJNA I WSPÓŁPRACA Z TOWARZYSTWAMI NAUKOWYMI

Habilitantka była współorganizatorem testów jakości badań FISH dla laboratoriów hematoonkologicznych w Polsce (Międzylaboratoryjna Kontrola Jakości Badań FISH w Hematoonkologii QFISH, Sekcja Cytogenetyki Hematoonkologicznej PTGC) (2008-2014), a także ogólnopolskich warsztatów dla cytogenetyków hematoonkologicznych pod patronatem Sekcji Cytogenetyki Hematoonkologicznej PTGC (2003, 2004, 2010, 2019, 2024).

Dorobek Kandydatka obejmuje działalność organizacyjną.

VI DZIAŁANIA NA RZECZ POPULARYZACJI NAUKI

Kandydatka ma udokumentowany dorobek jako prelegent, w tym na zaproszenie oraz autor doniesień ustnych i plakatowych na licznych konferencjach krajowych i zagranicznych.

WNIOSEK KOŃCOWY

Dr n. med. Renata Woroniecka jest przykładem aktywnego, samodzielnego pracownika naukowego, który konsekwentnie rozwija dobrze zdefiniowane zainteresowania badawcze, umiejętnie korzystając z nowoczesnych technologii molekularnych oraz dostępu do unikalnych grup badawczych. Realizowane przez nią projekty poruszają zagadnienia istotne z naukowego, poznawczego punktu widzenia, mają też znaczący potencjał aplikacyjny. Warto podkreślić aktywny udział kandydatki w programach budujących jakość onkologicznej diagnostyki cytogenetycznej w Polsce. Bardzo pozytywnie oceniam przedstawiony do recenzji cykl tematycznych publikacji naukowych, które w całości stanowią konsekwentnie realizowane i zwarte dzieło naukowe o wartościowym charakterze poznawczym.

Wniosek do Rady Naukowej Narodowego Instytutu Onkologii - Państwowego Instytutu Badawczego:

Z przyjemnością wnoszę o nadanie dr n. med. Renacie Woronieckiej tytułu doktora habilitowanego nauk medycznych.

KIEROWNIK
Zakładu Genetyki i Immunologii Klinicznej
Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc
Prof. dr hab. n. med.
Joanna Chorostowska-Wynimko
07.08 2025