

# AUTOREFERAT

Dr n med. Ewa Wolińska

Katedra i Zakład Patomorfologii

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Warszawa, dn. 25 kwietnia 2019 r.

1. Imię i nazwisko Ewa Wolińska (nazwisko panieńskie - Wilczek)
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania, oraz tytuł rozprawy doktorskiej
  - Dyplom ukończenia studiów podyplomowych w trybie eksternistycznym na kierunku Analityka Medyczna na Uniwersytecie Medycznym w Lublinie w 2013 roku
  - Stopień doktora nauk medycznych uzyskany w 2007 roku na Akademii Medycznej w Warszawie, rozprawa pt. „Badania czynnika H i wybranych inhibitorów błonowych układu dopełniacza w ogniskach pierwotnych i przerzutowych raka jelita grubego”, obrona pracy doktorskiej z wyróżnieniem
  - Tytuł magistra uzyskany w 2003 roku na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, specjalność biologia molekularna, studia ukończone z wynikiem bardzo dobrym
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych
  - 2008 - obecnie (przerwa w zatrudnieniu 03.2018-03.2019r.) zatrudnienie na stanowisku adiunkta (2008-2014, oraz od 2019r.), starszego wykładowcy (2014-2018) w Katedrze i Zakładzie Anatomii Patologicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
  - 2003-2008 r. zatrudnienie w ramach studiów doktoranckich w Zakładzie Anatomii Patologicznej Akademii Medycznej w Warszawie
  - 2002 r. – zatrudnienie na stanowisku młodszy technik w Samodzielnej Pracowni Cytogenetyki w Centrum Onkologii w Warszawie
4. Wskazane osiągnięcia wynikające z art. 16 ust.2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym (Dz. U. nr 65, poz. 959 ze zmianami)
  - a) Tytuł osiągnięcia naukowego/ artystycznego

Cykl publikacji pt. „**Wybrane aspekty patogenezy raka wątrobowokomórkowego**”

b) Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy

1. **Wilczek E**, Szparecki G, Lukasik D, Koperski L, Winiarska M, Wilczynski GM, Wasiutynski A, Gornicka B. Loss of the orphan nuclear receptor SHP is more pronounced in fibrolamellar carcinoma than in typical hepatocellular carcinoma. PLoS One. 2012;7(1):e3094 – **autor korespondencyjny IF=3,73**
2. Wolosz D, Walczak A, Wilczynski GM, Szparecki G, **Wilczek E**, Gornicka B. Deleted in liver cancer 1 expression and localization in hepatocellular carcinoma tissue sections. Oncol Lett. 2014 Aug;8(2):785-788. – **autor korespondencyjny IF= 1.554**
3. Wolosz D, Szparecki G, **Wolinska E** and Gornicka B. DLC3 expression in hepatocellular carcinoma. JPCCR. 2015 Dec 9(2):105-108 - **autor korespondencyjny**
4. Wolosz D, Walczak A, Szparecki G, Dwojak M, Winiarska M, **Wolinska E**, Gornicka B. Deleted in Liver Cancer 2 (DLC2) protein expression in hepatocellular carcinoma. Eur J Histochem. 2019 Jan 17; 63(1): 2981 – **autor korespondencyjny IF=2,217**

c) Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

W procesie nowotworzenia uznaje się, że kluczową cechą stransformowanych komórek jest utrata zdolności do regulowania takich mechanizmów, jak proliferacja, różnicowanie czy apoptoza. To właśnie zaburzenia w procesach promujących namnażanie się zmienionych nieprawidłowo komórek są uważane za najistotniejsze w kontekście rozwoju nowotworów. Dlatego też w sposobach kontroli tego typu

procesów poszukuje się obecnie mechanizmów, które mogłyby stanowić potencjalny cel terapii przeciwnowotworowej. Stąd też ogromne zainteresowanie zarówno badaczy w dziedzinie nauk podstawowych, jak i klinicystów na całym świecie budzą badania dające możliwość regulacji ekspresji genów supresorowych nowotworów czy onkogenów. W przypadku kilku typów nowotworów takie podejście naukowe zaowocowało stworzeniem efektywnej terapii celowanej ukierunkowanej na konkretny cel, taki jak zmienione nieprawidłowo białko, czy też nieprawidłowy mechanizm. Sukcesem terapeutycznym okazał się m.in. *Rituximab*, przeciwciało skierowane przeciwko cząsteczkom CD20, stosowany w leczeniu chłoniaków. W przypadku raka wątrobowokomórkowego pierwszym tego rodzaju lekiem zastosowanym w leczeniu zaawansowanych postaci raka był *Sorafenib*, białko blokujące wiele typów kinaz tyrozynowych, oraz receptory m.in. VEGFR czy PDGFR. Jednak jego zastosowanie przyniosło umiarkowane efekty, jako, że, jak pokazały badania kliniczne, lek ten wydłużał średni czas przeżycia pacjentów jedynie o około 3 miesiące. Nowotwory wątroby, zarówno pierwotne jak i przerzutowe stanowią ogromny problem kliniczny, który pomimo podejmowanych prób terapii celowanej wciąż opiera się leczeniu, co pokazuje opisany powyżej przykład *Sorafenibu*. Jedną z przyczyn takiego stanu rzeczy jest brak odpowiednich danych dotyczących ich funkcjonowania na poziomie molekularnym, co mogłoby stać się podstawą do odpowiedniej terapii celowanej. Przedmiotem mojego zainteresowania były wybrane aspekty patogenezy raka wątrobowokomórkowego zachodzące na poziomie komórkowym i molekularnym w kontekście poszukiwania nowych celów terapeutycznych. W moich badaniach skupiłam się na dwóch typach raka wątrobowokomórkowego: klasycznym, oraz włóknistoblaszkowym.

Rak wątrobowokomórkowy (z ang. *hepatocellular carcinoma*, HCC) stanowi jeden z najczęstszych pierwotnych raków wątroby. Najnowsze badania wskazują, że jest to trzeci pod względem śmiertelności nowotwór wśród mężczyzn i piąty wśród kobiet w populacji światowej. Wśród czynników etiologicznych związanych z jego powstawaniem wymienia się wirusowe zapalenie wątroby typu B i C, alkohol, oraz aflatoksyny wytwarzane przez grzyby z rodzaju *Aspergillus*. Częstość jego występowania na świecie jest zróżnicowana w zależności od regionu geograficznego. W krajach azjatyckich, w związku z większą częstotliwością występowania zakażeń wirusowych wątroby odnotowuje się najwyższy odsetek zachorowań. W etiologii HCC podkreśla się rolę chorób współistniejących w

wątrobie, przy czym najczęściej jego rozwój jest skojarzony z marskością wątroby. Patogeneza molekularna HCC jest złożona, postuluje się zaangażowanie wielu szlaków komórkowych w procesie jego powstawania, natomiast jak dotąd, nie wyszczególniono jednego wiodącego mechanizmu, który mógłby zostać uznany za kluczowy w procesie hepatokarcinogenezy.

Jednym z rzadkich podtypów raka wątrobowokomórkowego, jest typ włóknistoblaszkowy (z ang. *fibrolamellar hepatocellular carcinoma* FL HCC). Ten rodzaj raka rozwija się najczęściej u ludzi młodych, w przedziale wiekowym 20-30 lat, a jego występowanie, odmiennie niż w typie klasycznym, nie jest skojarzone z występowaniem marskości ani z obecnością zakażeń wirusowych. Jak dotąd, nieznana jest etiologia tego typu nowotworu a w literaturze światowej istnieje niewiele prac dotyczących tego zagadnienia.

Receptory jądrowe to szeroka grupa białek pełniących funkcję przede wszystkim czynników transkrypcyjnych, regulujących ekspresję genów po związaniu się z rejonem promotorowym docelowego genu. Receptor, po aktywacji specyficznym ligandem, łączy się z sekwencją DNA poprzez tzw. domenę DBD (z ang. *DNA-binding domain*, DBD), zmieniając ekspresję genów. Jak wskazuje szereg doniesień literaturowych, receptory jądrowe, poprzez regulację ekspresji genów kluczowych dla szeregu procesów zachodzących w komórce, mogą być zaangażowane w proces nowotworzenia. Przedmiotem mojego zainteresowania było zbadanie roli receptorów jądrowych w patogenezie raka wątrobowokomórkowego. Przeprowadzona analiza dotyczyła oceny białek należących do rodziny tzw. „sierocych” receptorów jądrowych, tj. czynników transkrypcyjnych, dla których jak dotąd nie zidentyfikowano specyficznych ligandów. W swoich badaniach skupiłam się na receptorze jądrowym SHP (z ang. *Small Heterodimer Partner*). Receptor ten należy do nietypowej grupy receptorów jądrowych, które nie posiadają domeny wiążącej DNA, tj. nie są w stanie wpływać bezpośrednio na aktywację genów. Jego aktywność w zakresie regulacji transkrypcji genów polega głównie na zmianie funkcji innych receptorów, dla których jest kofaktorem bądź inhibitorem. W związku z tym, że SHP może łączyć się z ponad 50% wszystkich receptorów jądrowych, jego wpływ na proces regulacji ekspresji genów jest znamieny. Jak wykazały badania literaturowe, receptor SHP może odgrywać kluczową rolę w procesie transformacji nowotworowej m.in. jako inhibitor procesu replikacji, oraz jako czynnik indukujący proces apoptozy. W pracy [PLoS

One. 2012;7(1):e30944] przedstawiliśmy badania mające na celu ocenę występowania receptora jądrowego SHP w obu typach raka wątrobowokomórkowego, typie klasycznym, oraz włóknistoblaszkowym. Wyniki naszych badań wskazują, że rak wątrobowokomórkowy charakteryzuje się obniżoną ekspresją receptora SHP w porównaniu do wątroby nie zmienionej nowotworowo. Z kolei porównanie dwóch typów HCC, klasycznego, oraz włóknistoblaszkowego wykazało istotnie statystycznie mniejszą ekspresję SHP w raku o typie włóknistoblaszkowym w porównaniu do raka o typie klasycznym. Zaobserwowaliśmy ponadto, że obniżenie ekspresji badanego receptora koreluje ze stopniem stłuszczenia wątroby. We wspomnianej pracy podjęliśmy również próbę oceny stopnia proliferacji HCC z wykorzystaniem cykliny D1 jako wskaźnika dzielących się komórek. Wyniki badań wykazały istotną statystycznie negatywną korelację ekspresji cykliny D1, oraz receptora SHP w grupie raków o najwyższym stopniu zróżnicowania. Podsumowując, nasze badania przedstawione w przytoczonej pracy wskazują na istotną rolę receptora jądrowego SHP w procesie powstawania obu typów raka wątrobowokomórkowego, klasycznego, oraz włóknistoblaszkowego. Wyniki zarówno własne, jak również wyniki przedstawiane w literaturze światowej wskazują, że SHP jako białko supresorowe nowotworu może być rozpatrywane jako jeden z celów terapeutycznych w kontekście terapii celowanej a przywrócenie jego funkcji może przynieść wymierne korzyści kliniczne w grupie pacjentów z rakiem wątrobowokomórkowym.

Drugą grupą białek związanych z rozwojem HCC, która, jak sądzono, może mieć potencjalnie istotne przełożenie kliniczne w terapii, jest rodzina białek DLC (z ang. *Deleted in Liver Cancer*). Białka DLC należą do grupy białek o aktywności Rho GTPazy, negatywnie regulujących rodzinę białek Rho. Do najważniejszych białek z rodziny Rho należą RhoA, Rac1, Cdc42. Działają one na zasadzie molekularnych przełączników, regulując wiele procesów komórkowych, takich jak zmiany w cytoszkielecie komórek, kontrola cyklu komórkowego, procesy apoptozy czy regulacja transkrypcji genów. GTPazy, w tym białka z rodziny DLC katalizują konwersję formy aktywnej białka Rho, związanej z cząsteczką GTP, w formę nieaktywną, połączoną z cząsteczką GDP. Typowa struktura białek DLC zawiera 3 podstawowe domeny, które determinują ich funkcję – domena SAM (z ang. *sterile alpha motif*), RhoGAP, oraz START (z ang. *steroidogenic acute regulatory-related*

*lipid transfer*), przy czym biologiczna aktywność jest uwarunkowana przede wszystkim obecnością domeny RhoGAP.

Pierwsze białko z rodziny DLC, DLC1, zostało odkryte w latach 90-tych. Jak pokazały wczesne badania, DLC1 wpływa na procesy proliferacji komórek w warunkach *in vitro*, a ponadto, jak wykazano później na modelach zwierzęcych, jego zwiększona ekspresja przyczynia się do zahamowania podziałów komórkowych także w warunkach *in vivo*. Ponadto, badania na nowotworowych liniach komórkowych pokazały, że przywrócenie ekspresji białka DLC1 może prowadzić do zaburzeń w organizacji cytoszkieletu i redukcji potencjału migracyjnego. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem porównawczej hybrydyzacji genomów pokazały również, że w przerzutach raka wątrobowokomórkowego często dochodzi do utraty fragmentu chromosomu 8p, gdzie zlokalizowany jest *DLC1*. W pracy [Oncology Letters, 2014 Aug; 8(2):785-788] przeprowadziliśmy badanie mające na celu określenie ekspresji i lokalizacji białka DLC1, oraz status kodującego go genu w grupie raków wątrobowokomórkowych, oraz w wątrobie prawidłowej. Na podstawie otrzymanych wyników wykazaliśmy obniżoną ekspresję DLC1 w komórkach nowotworowych w ponad 50% wszystkich badanych tkanek nowotworowych w porównaniu do wątroby prawidłowej. W przedstawianej pracy pokazaliśmy ponadto po raz pierwszy, oprócz komórkowej, także lokalizację DLC1 w zrębie guza. Obecność DLC1 była szczególnie uwidoczniła w typie włóknistoblaszkowym HCC, oraz w strukturach łącznotkankowych tworzących tzw. pseudotorebki, oddzielające guz od miększu wątroby o prawidłowym utkaniu. Jak pokazują liczne doniesienia, komórki zrębu nowotworowego takie jak fibroblasty związane z rakiem (*cancer associated fibroblasts*, CAFs), aktywowane komórki gwiaździste wątroby, makrofagi, komórki śródbłonka lub komórki dendrytyczne, wpływają na wzrost komórek nowotworowych, inwazję, tworzenie naczyń lub zdolności do przerzutów. Wykazano m.in., że makrofagi związane z nowotworem promują przerzuty i angiogenezę poprzez uwalnianie różnych czynników wzrostu. Również aktywacja komórek gwiaździstych wątroby może sprzyjać powstawaniu nowotworów poprzez aktywację czynnika jądrowego NFκB i kinazy regulowanej zewnątrzkomórkowo w komórkach HCC. Dodatkowo, aktywowane komórki gwiaździste i makrofagi są silnym źródłem osteopontyny, białka którego rola w przebudowie mikrośrodowiska guza i procesu przerzutowego została dobrze udokumentowana w wielu typach nowotworów. Również w HCC podwyższony poziom tego białka koreluje z wyższym

potencjałem inwazyjności. Przywrócenie białka DLC1 w liniach komórek nowotworowych, które wcześniej były pozbawione DLC1, zmniejszało ekspresję mRNA dla osteopontyny, co wskazuje, że DLC1 ma zdolność do negatywnego regulowania osteopontyny. Zatem DLC1 w zrębie guza lub w pseudotrebce nowotworowej może funkcjonować jako inhibitor degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, co zapobiega rozprzestrzenianiu się komórek rakowych. W związku z tym, że wariant włóknistoblastyczny HCC jest uważany za powoli proliferujący, dlatego też niski wskaźnik proliferacji może być związany z obfitą obecnością DLC1 w mikrośrodowisku guza. Badania molekularne z wykorzystaniem techniki fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ*, wykazały utratę jednego allelu genu *DLC1* w komórkach raka w ponad 50% badanych tkanek nowotworowych. Badania w przytoczonej pracy pokazują, że utrata DLC1 jest istotnym elementem procesu hepatocarcinogenezy, co definiuje DLC1 jako białko supresorowe w tym typie nowotworu.

Jak dotąd, niewiele ukazało się prac podejmujących zagadnienie udziału pozostałych członków rodziny DLC, w szczególności białka DLC3 w procesie rozwoju nowotworów. Wiadomo, że gen *DLC3* zlokalizowany jest na chromosomie Xq13 a białko, które koduje wykazuje 44% homologii w stosunku do białka DLC1. W pracy [JPCCR. 2015 Dec 9(2):105-108] zbadaliśmy ekspresję białka DLC3 w raku wątrobowokomórkowym. Badania z wykorzystaniem techniki immunohistochemii wykazały, że DLC3 jest obecne w większości badanych tkanek nowotworowych w formie intensywnego cytoplazmatycznego wybarwienia. W niewielkim odsetku komórek raka zaobserwowano również obecność DLC3 w jądrach komórkowych. Porównanie wyników analizy morfometrycznej obejmującej immunoreaktywność DLC3 w raku i w wątrobie nie zmienionej nowotworowo wykazało brak istotnych statystycznie różnic pomiędzy obiema grupami. Wyniki powyższych badań kwestionują podobną funkcję białek DLC1 i DLC3 w badanym typie nowotworu, dlatego też warto byłoby zgłębić to zagadnienie na płaszczyźnie molekularnej.

Interesujące wyniki uzyskaliśmy badając również trzecie białko z rodziny DLC - DLC2 [praca Eur J Histochem. 2019 Feb 18;63(1)]. W prawidłowej wątrobie DLC2 obecne było w większości hepatocytów w formie rozlanej, cytoplazmatycznej reakcji. Natomiast w komórkach raka ekspresja białka DLC2 była istotnie statystycznie większa w porównaniu do wątroby nie zmienionej nowotworowo. Taka różnica najwyraźniej była uwidoczniła w tych rakach, które rozwijały się na podłożu



zapalnym. Ponadto, poza lokalizacją cytoplazmatyczną, DLC2 również zlokalizowane było w jądrach komórek nowotworowych. W tkankach raka o typie włóknistoblaszkowym białko DLC2 było obecne na podobnym poziomie co w typie klasycznym HCC. Badania z wykorzystaniem techniki fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ*, z sondami molekularnymi zaprojektowanymi dla genu *DLC2* wykazały brak jego delecji w większości badanych tkanek nowotworowych. Otrzymane wyniki są zbieżne z danymi literaturowymi, które pokazują, że utrata genu *DLC2* nie jest cechą typową raka wątrobowokomórkowego, taką delecję opisywano jedynie w niewielkim odsetku badanych tkanek. W przedstawionej pracy badaniami objęta została również grupa guzków makroregeneracyjnych, struktur w miększu wątroby, które pojawiają się w trakcie odbudowy narządu w wyniku różnych zmian patologicznych. Badania immunoreaktywności DLC2 wykazały podobną ekspresję w guzkach makroregeneracyjnych co w prawidłowej wątrobie. Otrzymane wyniki sugerują, że wzmożona ekspresja DLC2 nie jest związana jedynie z intensywną proliferacją hepatocytów, i dodatkowe procesy związane z transformacją hepatocytów są niezbędne do jego aktywacji. Taki wynik wskazuje, że immunoreaktywność DLC2 może potencjalnie różnicować guzki niezłośliwe i HCC, jednak takie zastosowanie DLC2 do celów diagnostycznych wymaga dalszych badań. Podsumowując, przedstawiona publikacja pokazuje obecność białka DLC2 w raku wątrobowokomórkowym, a tym samym kwestionuje jego funkcję jako białka supresorowego w tym typie nowotworu. Podwyższona ekspresja w tkankach z zapaleniem sugeruje jego aktywację poprzez procesy zapalne, natomiast dokładny mechanizm tej aktywacji wymaga dalszej analizy.

Podsumowując, prezentowany w obecnym autoreferacie cykl prac przedstawia nowe aspekty badań odnoszące się do patogenezy molekularnej raka wątrobowokomórkowego. Chociaż w ostatnich latach dokonał się ogromny postęp w badaniach, który pozwolił w wielu przypadkach na zrozumienie biologii nowotworu, rak wątrobowokomórkowy pozostaje nadal chorobą o złożonej patofizjologii, w której brak jest przewodniego mechanizmu prowadzącego do jej rozwoju. Przeprowadzona analiza wskazuje, że typowanie biomarkerów mogących mieć zastosowanie zarówno do celów diagnostycznych jak i terapeutycznych powinno uwzględniać zarówno określony podtyp HCC, jak również inne parametry kliniczno-morfologiczne.

Za najważniejsze osiągnięcia przedstawionych prac uważam:

- Odkrycie istotnej roli receptora jądrowego SHP w procesie powstawania raka wątrobowokomórkowego, zarówno jego typu klasycznego, jak i włóknistoblaszkowego. Otrzymane wyniki wskazują, że receptor SHP jako białko supresorowe nowotworu może być rozpatrywany jako jeden z celów terapeutycznych w kontekście terapii celowanej.
- Zbadanie występowania białka i statusu genu *DLC1* w obu typach raka wątrobowokomórkowego, oraz wykazanie, że jego delecja jest istotnym elementem procesu hepatocarcinogenezy, co definiuje *DLC1* jako białko supresorowe w tym typie nowotworu.
- Zbadanie ekspresji i analiza statusu genu *DLC2* w raku wątrobowokomórkowym, oraz wykazanie: 1) jego zwiększonej ekspresji zwłaszcza w rakach rozwijających się na podłożu zapalnym, oraz 2) braku delecji genu *DLC2* w większości badanych przypadków; co sugeruje, że białko *DLC2* nie może być traktowane jako białko supresorowe w patogenezie raka wątrobowokomórkowego.
- Odkrycie istotnej immunoreaktywności białka *DLC3* w raku wątrobowokomórkowym, oraz wykazanie, że jego ekspresja jest porównywalna do ekspresji w wątrobie niezmięnionej nowotworowo.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

### **Analiza bibliometryczna**

Autor lub współautor **31** publikacji naukowych, w tym **1** poglądowej

Całkowity Impact Factor **93,799**

Liczba cytowań (wg ISI Web of Science) **851** (bez autocytowań)

Indeks Hirscha **11**

Autor lub współautor **15** doniesień na konferencjach międzynarodowych i **7** krajowych (analiza bibliometryczna w załączeniu)

### **Tematyka pozostałych prac badawczych**

Przedmiotem moich obecnych badań są również zagadnienia dotyczące zaburzeń epigenetycznych towarzyszących patogenezie raka wątrobowokomórkowego. Skupiłam się w nich na roli enzymów wpływających na

profil metylacji DNA w procesie transformacji nowotworowej. Do tej grupy białek należą m. in. metylotransferazy DNA, enzymy, które katalizują transfer grup metylowych do specyficznych struktur CpG w DNA. Metylacja tych sekwencji może prowadzić do nieprawidłowej ekspresji genów, zachodzącej m.in. poprzez wyciszenie ekspresji genów supresorowych czy też aktywacji onkogenów. Dane literaturowe pokazują, że zaburzenia epigenetyczne mogą być istotnym elementem w procesie powstawania pierwotnego raka wątroby. Jednym z efektów moich badań jest publikacja dotycząca ekspresji metylotransferazy DNMT3a w HCC. Otrzymane wyniki wskazują na zróżnicowanie ekspresji tego białka w zależności od typu raka. Jak wykazano ekspresja DNMT3a jest istotnie statystycznie większa w typie klasycznym raka wątrobowokomórkowego w porównaniu do typu włóknistoblastkowego HCC. [Szparecki G, Ilczuk T, Wołosz D, Otto W, Gornicka B, Wolinska E; The expression of DNA methyltransferase DNMT3a in classical and fibrolamellar hepatocellular carcinoma., J Clin Exp Pathol 2016, 6: 282 - autor korespondencyjny IF=0,537].

Oprócz powyżej wspomnianych badań, przedmiotem mojej pracy były również zagadnienia dotyczące udziału białek składowych i regulatorowych układu dopełniacza w obronie komórek nowotworowych przed atakiem ze strony układu dopełniacza w kontekście immunoterapii nowotworów. Układ dopełniacza stanowi jeden z elementów odporności nieswoistej, pełniąc funkcję wspomaganie (dopełnianie) działalności przeciwciał w zwalczaniu patogenów. Jeden ze sposobów obrony przed atakiem ze strony układu dopełniacza to produkcja białek regulatorowych układu dopełniacza na powierzchni komórek. Można wśród nich wyróżnić inhibitory związane z błoną komórkową, które inaktywują elementy kaskady dopełniacza na powierzchni atakowanej komórki. Drugą grupę stanowią białka obecne w płynach tkankowych, przede wszystkim w osoczu, które regulują dopełniacz w głównej mierze na poziomie składników pozostających w osoczu, uniemożliwiając ich odkładanie na błonie komórkowej. W pracy skupiłam się na zbadaniu regulatorów układu dopełniacza (błonowych - CD55 i CD59, oraz osoczowych - czynnika H i czynnika *H-like*) w nowotworach jajnika i trzonu macicy. Wyniki badań przeprowadzone na tej grupie tkanek nowotworowych wykazały zróżnicowaną ekspresję badanych białek w zależności od typu nowotworu. Badania ekspresji genów wykazały m.in., zwiększoną ekspresję inhibitora CD55 w rakach trzonu macicy w porównaniu do tkanki prawidłowej. Ponadto porównanie wyników

doświadczeń w badanych grupach wskazało na istnienie istotnie statystycznej korelacji w ekspresji inhibitorów błonowych układu dopełniacza i osoczowych (czynnika H, oraz czynnika *H-like*). Efektem przeprowadzonych badań są dwie publikacje, w których jestem autorem korespondencyjnym: 1) Kapka-Skrzypczak L, Wolinska E, Szparecki G, Wilczynski GM, Czajka M, Skrzypczak M. CD55, CD59, factor H and factor H-like 1 gene expression analysis in tumors of the ovary and corpus uteri origin. *Immunol Lett.* 2015 Oct;167(2):67-71 IF = 2,512; 2) Kapka-Skrzypczak L, Wolinska E, Szparecki G, Czajka M, Skrzypczak M; The immunohistochemical analysis of membrane-bound CD55, CD59 and fluid-phase FH and FH-like complement inhibitors in cancers of ovary and corpus uteri origin *Centr Eur J Immunol* 2015, *Cent Eur J Immunol.* 2015;40(3):349-53 - IF=0,358.

Poza wspomnianymi pracami uczestniczyłam również w ramach współpracy z innymi ośrodkami w projektach badawczych, które obejmowały następujące zagadnienia:

- 1) Badania dotyczące udziału metaloproteiny 9 (MMP-(9) w procesach plastyczności neuronalnej w modelu padaczki skroniowej (we współpracy z Instytutem Neurobiologii im. Leibniza w Magdeburgu, oraz z Pracownią Neuromorfologii Molekularnej i Systemowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN)
- 2) Badania dotyczące wpływu statyn na efekt przeciwnowotworowy *Rituximabu* w komórkach chłoniaka B – komórkowego (we współpracy z Zakładem Immunologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego)
- 3) Badania dotyczące ultrastrukturalnej lokalizacji kanału wapniowego BK (Ca) w mitochondriach neuronalnych (we współpracy z Zakładem Wewnątrzkomórkowych Kanałów Jonowych Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN)
- 4) Badania dotyczące ekspresji białka CD44, oraz jego udziału w procesach plastyczności komórek Schwanna w modelu stwardnienia zanikowego bocznego (we współpracy z Pracownią Neuromorfologii Molekularnej i Systemowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN)

- 5) Badania dotyczące efektywności stosowania komórek dendrytycznych w terapii fotodynamicznej w mysim modelu raka jelita grubego (we współpracy z Zakładem Immunologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego)
- 6) Badania dotyczące wpływu kwasu retinowego na komórki ludzkiego guza chromochłonnego (we współpracy z Katedrą i Kliniką Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej i Transplantacyjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego)
- 7) Badania dotyczące białka wiążącego kalcyklinę (Cacy BP/SIP) w mysim modelu raka piersi (we współpracy z Pracownią Białek Wiążących Wapń Instytutu im. M. Nenckiego PAN).

### **Nagrody**

- Nagroda naukowa zespołowa III stopnia JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za najlepszą pracę opublikowaną w 2012 roku pt. „Loss of the orphan nuclear receptor SHP is more pronounced in fibrolamellar carcinoma than in typical hepatocellular carcinoma.” PLOS One 2012;7(1):e30944.
- Nagroda dla młodego naukowca APASL 2nd Hepatocellular Carcinoma Conference 1-3.12.2011, Korea Południowa za prezentację „The expression and cellular localization of DLC1 and DLC2 in hepatocellular carcinoma”
- Nagroda specjalna JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego „Złotą Kukulkę” za współautorstwo w pracy pt.: "Heme oxygenase-1 protects tumor cells against photodynamic therapy-mediated cytotoxicity". Oncogene. 2006 Jun 8;25(24):3365-74.
- Nagroda im. Konarskiego przyznawana przez Komitet Neurobiologii Polską Akademię Nauk za współautorstwo w najlepszej pracy w dziedzinie neurobiologii: Important role of matrix metalloproteinase 9 in epileptogenesis. J Cell Biol. 2008 Mar 10;180(5):1021-35.

### **Doniesienia prezentowane na krajowych bądź międzynarodowych konferencjach naukowych**

1. **Wilczek E**, Ilczuk T, Szparecki G, Zieniewicz K, Gornicka B. (2014) The expression of DNA methyltransferase DNMT3a in classical and fibrolamellar hepatocellular carcinoma 11th World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association (IHPBA World Congress 2014) March 22-27, Seoul, South Korea
2. Kolodzinska A, Kutarski A, **Wilczek E**, Grabowski M, Koperski L, Kozłowska M, Gornicka B, Opolski G. (2013) TLR4 expression in explanted tissue during transcutaneous lead removal in 49 patients EHRA EUROPACE 2013 23 - Athens, Greece
3. **Wilczek E**, Szparecki G, Lukasik D, Koperski L, Winiarska M, Wilczynski GM, Wasiutynski A, Gornicka B. (2012) **Wykład na zaproszenie:** The study of the orphan nuclear receptor SHP in hepatocellular carcinoma 17th World Congress on Advances in Oncology and 15th International Symposium on Molecular Medicine 11-13 October, Hersonissos, Crete, Greece
4. Lukasik D, **Wilczek E**, Walczak A, Szparecki G, Wilczynski GM, Gornicka B. (2012) The expression and cellular localization of DLC family proteins in hepatocellular carcinoma. The American Society for Cell Biology conference, San Francisco, USA
5. Otto W, Maciaszczyk M, Król M, Wilkowsjska U, **Wilczek E**, Barbara Górnicka, Janusz Sierdziński, Krawczyk M. (2011) Contribution of the circulating CD34, CD133, VEGFR-2 positive stem cells to the clinical feature in patients with HCC. 10th World Congress of IHPBA, 1-5 July, Paryż, Francja
6. **Wilczek E**, Szparecki G, Lukasik D, Koperski L, Winiarska M, Wilczynski GM, Wasiutynski A, Gornicka B. (2011) The expression study of the Small Heterodimer Partner in different types of hepatocellular carcinoma. EMBO conference Nuclear receptors: from molecular mechanism to health and disease. Barcelona
7. Lukasik D, **Wilczek E**, Walczak A, Szparecki G, Wasiutynski A, Gornicka B. (2011) The expression and cellular localization of DLC1 and DLC2 in hepatocellular carcinoma. APASL 2nd Hepatocellular Carcinoma Conference, Jeju, Korea Płd. Praca wyróżniona nagrodą dla Młodego Naukowca

8. Walczak A, Szczepankiewicz A, Szczepinska T, Ruszczycki B, Dabrowska M, Broszkiewicz M, Siudek M, Pyskaty M, **Wilczek E**, Szczerbal I, Switonski M, Pawlowski K, Wilczynski GM. (2011) Repositioning of selected genes in neuronal cell nucleus upon seizures 22nd Wilhelm Bernhard Workshop Riga, Litwa
9. **Wilczek E**, Szparecki G, Koperski L, Lukasik D, Wasiutynski A, Dudek K, Krawczyk M, Gornicka B. (2010) Expression of the orphan nuclear receptor SHP in hepatocellular carcinoma. EASL Special Conference: HCC Dubrownik, Chorwacja
10. Wasiutyński A, Łukasik D, Szparecki G, **Wilczek E**, Koperski Ł, Górnicka B. (2010) Badania współwystępowania albuminy i fibrynogenu, oraz inhibitorów układu dopełniacza na powierzchni komórek śródbłonna VI Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Aktualne problemy profilaktyki, diagnostyki i terapii chorób zapalnych, infekcyjnych i nowotworowych” Jurata
11. **Wilczek E**, Michałowski Ł, Łukasik D, Koperski Ł, Wasiutyński A, Górnicka B. (2010) Badania ekspresji osteopontyny w ogniskach pierwotnych i przerzutowych raka jelita grubego VI Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Aktualne problemy profilaktyki, diagnostyki i terapii chorób zapalnych, infekcyjnych i nowotworowych” Jurata
12. Wasiutyński A, **Wilczek E**, Koperski Ł, Wilczyński GM, Górnicka B, Gierej B. (2009) Badania inhibitorów układu dopełniacza w nowotworach układu pokarmowego V konferencja naukowo-szkoleniowa „ Wpływ ksenobiotyków i zagrożeń cywilizacyjnych na mechanizmy odporności i angiogenezy oraz możliwości zapobiegania”; Jurata
13. **Wilczek E**, Rzepko R, Nowis D, Winiarska M, Golab J, Piwońska M, Gorlewicz A, Mazurkiewicz M, Śladowski D, Gornicka B, Wasiutynski A, Wilczynski GM. (2008) Factor H and membrane-bound complement inhibitors in primary and metastatic colon cancer XIII zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Kraków 2008 Streszczenie Central European Journal of Immunology, vol.33 supplement I str. 116.
14. Koperski Ł, **Wilczek E**, Gierej B, Górnicka B, Wasiutyński A, Wilczyński GM. (2008) Immunohistochemical study of complement inhibitors CD55 and CD59 in pancreatic adenocarcinoma XIII zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii

Doświadczalnej i Klinicznej, Kraków 2008 Streszczenie Central European Journal of Immunology, vol.33 supplement I str. 115-116.

15. **Wilczek E**, Wasiutyński A, Rzepko R, Skrzypek-Fakhoury E, Koperski Ł, Wilczyński GM. (2008) Membrane bound complement inhibitors in primary and metastatic colon cancer XXVIIth International Congress of the International Academy of Pathology, Ateny, Grecja
16. Szczepankiewicz A, **Wilczek E**, Walczak A, Broszkiewicz M, Malinowska M, Wilczynski GM. (2008) Ultrastructural changes of the neuronal cell nuclei in the rat dentate gyrus upon development of epilepsy 48 Zjazd Amerykańskiego Towarzystwa Biologii Komórki, San Francisco, USA A supplement to Molecular Biology of the Cell, volume 19, str. 156-157
17. Gorlewicz A, Gawlak M, **Wilczek E**, Cabaj A, Majaczynski H, Herbik M, Nestorowicz K, Grieb P, Sławinska U, Wilczynski GM. (2007) CD44 is a novel marker of terminal Schwann cells at the adult neuromuscular junctions -- involvement in neuromuscular plasticity. Society for Neuroscience, San Diego, USA
18. Golab J, Winiarska M, Bil J, **Wilczek E**, Wilczynski GM, Lekka M, Engelberts PJ, Mackus WJM, Stokłosa T, Nowis D. (2007) Statins impair antitumor effects of CD20 mAb by inducing conformational changes of CD20. 49th Annual Meeting of the American-Society-of-Hematology, Atlanta
19. **Wilczek E**, Wilczyński GM, Otto M, Mazurkiewicz M, Wasiutyński A. (2006) Wpływ kwasu retinowego na komórki pheochromocytoza w warunkach hodowli pierwotnej Konferencja Rak Tarczycy, Szczyrk
20. Olkowska-Truchanowicz J, **Wilczek E**, Wilczyński GM, Śladowski D, Wasiutyński A. (2006) Badania inhibitorów układu dopełniacza w komórkach hodowli pierwotnych pheochromocytoza Konferencja Rak Tarczycy, Szczyrk
21. **Wilczek E**, Mazurkiewicz M, Rzepko R, Górnicka B, Wilczyński GM, Wasiutyński A. (2006) Ekspresja czynnika H w raku jelita grubego- badania ogniska pierwotnego i przerzutów. Symposium Mikroskopii Elektronowej, Rydzyna - Praca wyróżniona, nagroda dla młodych naukowców
22. Konopacki FA, Wilczyński GM, **Wilczek E**, Lasiecka Z, Kaczmarek L. (2006) The high resolution morphological study of MMP-9 and its mRNA in the rat hippocampus. 5th forum of European Neuroscience, Wiedeń



### **Działalność dydaktyczna**

Prowadziłam seminaria oraz wykłady dotyczące molekularnych podstaw powstawania nowotworów, chorób genetycznych, oraz nowoczesnych technik badawczych dla studentów Wydziału Lekarskiego, Wydziału Lekarsko-Dentystycznego, oraz Wydziału Nauki o Zdrowiu. Prowadziłam dwie prace doktorskie, mgr Dominiki Wołosz, oraz mgr Tomasza Ilczuka. Praca doktorska mgr Tomasz Ilczuka uzyskała wyróżnienie Rady Naukowej I Wydziału Lekarskiego WUM. W latach 2013-2017 byłam członkiem Komisji Senackiej ds. Oceny Nauczycieli Akademickich.

### **Recenzent w czasopismach naukowych**

- International Journal of Oncology
- Experimental and Molecular Pathology
- European Journal of Histochemistry

### **Uczestnictwo w konsorcjum**

Uczestnik inicjatywy Europejskiego Konsorcjum Euro- BioImaging Proof-of Concept Studies

Wygłoszenie wykładu w ramach inicjatywy na Drugim Spotkaniu Euro-Bioimaging Poland:

„Przedstawienie przykładu badań proof of concept w ramach Euro-Bioimaging Poland”, Warszawa, 31 maj 2012

*Ewa Wolińska*