

## **OCENA**

**dorobku naukowego i jednotematycznego cyklu publikacji**

**„Cytogenetyczna charakterystyka nowej jednostki WHO 2017 chłoniak Burkitt-like z aberracją 11q**

**– implikacje diagnostyczno-kliniczne”**

**w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego**

**w dziedzinie nauk medycznych**

**doktor nauk medycznych Beacie Grygalewicz.**

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

1. Autoreferat i kopie dyplomów Kandydatki
2. Wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych wraz z oceną bibliometryczną
3. Tekst publikacji stanowiącej 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 Beata Grygalewicz ukończyła Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego w roku 1995. W roku 2003 uzyskała tytuł doktora nauk medycznych w dziedzinie biologii medycznej na podstawie pracy zatytułowanej „Określenie regionów amplifikacji krótkiego ramienia chromosomu 12 w guzach jądra człowieka”. Pracę przygotowała pod opieką profesora Janusza Siedleckiego. Równolegle kontynuowała kształcenie podyplomowe uzyskując tytuł diagnosty laboratoryjnego w dziedzinie genetyki medycznej, a następnie specjalizację w dziedzinie laboratoryjnej genetyki medycznej (2006). Od roku 1995 jest pracownikiem Samodzielnej Pracowni Cytogenetyki Centrum Onkologii-Institut, obecnie Narodowy Instytut Onkologii - Państwowy Instytut Badawczy, początkowo

jako specjalista (1995-1999), asystent (1999-2004), adiunkt (2004-2019) a od 2019 jako Kierownik Pracowni.

Dr Grygalewicz jest autorem i współautorem 42 publikacji pełnotekstowych, w tym 29 prac w czasopiśmie posiadających IF: 27 prac oryginalnych (jest pierwszym autorem 5 z nich), 1 pracy poglądowej (współautor) oraz 1 opisu przypadku (współautor), jak również 13 prac w innych pismach: 6 prac oryginalnych (pierwszy autor w 1), 4 prac poglądowych (pierwszy autor w 2) oraz 3 opisów przypadków (pierwszy autor w 1). Jest również autorem 1 rozdziału w monografii w języku angielskim (jeden autor) oraz 3 rozdziałów w języku polskim (współautor). Jest autorką 75 doniesień zjazdowych, w tym 36 na konferencjach międzynarodowych i 39 krajowych.

Łączny Impact Factor uzyskany przez Habilitantkę wynosi 70,557 suma punktów MNiSW/KBN 873, w tym po doktoracie IF 67,948, a punktów MNiSW/KBN 842.

Liczba cytowań wg Web of Science (bez autocytowań) 462, wg Scopus (bez autocytowań) 410, indeks Hirsch'a wynosi wg Web of Science 12, a wg Scopus 13.

Działalność naukowa dr nauk medycznych Beaty Grygalewicz została uhonorowana nagrodą Dyrektora Centrum Onkologii za rok 2003 za najlepszą pracę doktorską oraz nagrodą im prof. Danuty Rożynkowej za najlepszą pracę w dziedzinie cytogenetyki hematologicznej opublikowaną w latach 2016-18.

Kandydatka była kierownikiem następujących projektów naukowych:

1. „Określenie zróżnicowania obszarów delecji chromosomów 13 i 11 w przewlekłej białaczce limfatycznej/chłoniaku z małych limfocytów B jako czynnika rokowniczego”; projekt finansowany przez Polskie Towarzystwo Onkologiczne (2013-2015)
2. „Wykonanie badań wysokorozdzielczą metodą sekwencjonowania nowej generacji (NEXT-Generation Sequencing, NGS)”; projekt finansowany przez Fundację Jakuba hr Potockiego (2018-2019)
3. „Różnicowanie agresywnych chłoniaków B-komórkowych (B-NHL) poprzez określenie wzoru zmian molekularnych w obrębie cytogenetycznie zdefiniowanych, diagnostycznie użytecznych aberracji: 1) duplikacji/delecji (11q) [dup/del(11q)] oraz 2) insercji w locus genów MYC i IGH. Ocena profilu mutacyjnego przypadków z dup/del(11q) w kontekście rearanżacji/powielenia genu MYC”; projekt finansowany

przez Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy

Była też wykonawcą projektu „*Analiza zmian klonalnych w przebiegu ostrej białaczki mieloblastycznej z wykorzystaniem techniki klasycznej CGH i macierzy CGH – celem wyodrębnienia użytecznych diagnostycznie markerów proliferacji komórek białaczkowych*”, realizowanego we współpracy z Zakładem Genetyki Medycznej UM w Lublinie ze środków Komitetu Badań naukowych (1870/B/P01/2008/35) (2008-2012).

Habilitationka realizowała badania naukowe w ramach współpracy międzyośrodkowej w Polsce (Zakład Genetyki Człowieka Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie, Pracownia Genetyki Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Zakład Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach) oraz zagranicą (Zakład Cytogenetyki Molekularnej Uniwersytetu Klinicznego w Jenie, Niemcy)

Dr Beata Grygalewicz jest recenzentem w naukowych pismach międzynarodowych, jest również zaangażowana realizację badań diagnostycznych w zakresie hematoonkologii w ramach konsultacji na rzecz innych ośrodków klinicznych oraz w ramach badań klinicznych

Dotychczasowe zainteresowania badawcze Kandydatki od początku jej pracy zawodowej koncentrowały się na zagadnieniach związanych z poszukiwaniem cytogenetycznych markerów procesu kancerogenezy guzów litych i nowotworów hematologicznych:

1/ zarodkowe guzy jądra i jajnika

a/ cykl publikacji z lat 1997-2002 stanowi podsumowanie badań prowadzonych przez Habilitationkę w zakresie kariotypowej charakterystyki podtypów guzów jądra - nasieniaka i nienasieniaka, zwłaszcza w kontekście powielenia krótkich ramion chromosomu 12 i lub fragmentów 12p w formie substytutycznych markerów chromosomowych (*Pieńkowska i wsp. 1997, Grygalewicz i wsp. 2000, Pieńkowska-Grela i wsp. 2002*)

b/ Kandydatka przeprowadziła szczegółową analizę biomarkerów funkcjonalnie powiązanych z powieleniami regionu 12p w zarodkowych guzach jądra, wskazując zmiany kluczowe z klinicznego punktu widzenia, powyższe badania stały się też podstawą pracy doktorskiej (praca doktorska 2003, *Zafrana i wsp. 2003*)

c/ kontynuacją wcześniejszych badań była szczegółowa analiza biomarkerów funkcjonalnie powiązanych z dynamicznym rozwojem nasieniaków oraz guzów jajnika, w szczególności w

obrębie odpowiednio genu *KIT* (McIntyre i wsp 2005) oraz chromosomów 12, 7 i 8, a także onkogenów *CCND1* i *MYC* (Grygalewicz i wsp 2009)

## 2/nowotwory hematoonkologiczne

Realizowane przez Habilitantkę badania nad chłoniakami i białaczkami doprowadziły do identyfikacji biomarkerów genetycznych o potencjalnym znaczeniu prognostycznym w kontekście przebiegu choroby oraz predykcyjnym dla wyników leczenia. W szczególności przeprowadziła ocenę zmian chromosomowych chłoniaka rozlanego z dużych komórek B u pacjenta ze wstępnym rozpoznaniem nasieniaka (Grygalewicz i wsp 2002), brała udział w analizie występowania translokacji t(11;14)(q13;q32), jak również nietypowej translokacji wariantowej t(2;11)(p11.2;q13) bez zaangażowania genu *IGK* (Woroniecka i wsp. 2002, Woroniecka i wsp. 2007) oraz mechanizmów aktywacji genu *MYC* w chłoniakach B- i T-komórkowych (Pieńkowska i wsp. 2005). W kolejnych publikacjach opisano znaczenie aberracji cytogenetycznych takich jak masywna utrata 13q, fuzja *FGFR3/IGH*, zmiany liczby kopii genów *CCND1*, *CBFB*, *MAF* i *IGH* w szpiczaku plazmocytowym (Rygier i wsp. 2011) oraz ekspresji miR w chłoniakach Burkitt-like z aberracją 11q (Zajdel i wsp. 2015) oraz zmian cytogenetycznych w zespole Richtera (Woroniecka i wsp. 2015). Następne projekty obejmowały ocenę częstości delecji *CDKN2A* w chłoniakach T-komórkowych (Pastwińska i wsp. 2011) oraz identyfikację ukrytej fuzję *NUP214-ABL1* w episomach w limfoblastycznym chłoniaku T-komórkowym (Othman i wsp. 2018).

Szereg publikacji prezentowało badania cytogenetyczne białaczek, w tym ocenę znaczenia delecji submikroskopowych w obszarze fuzji *BCR/ABL* w przewlekłej białaczce szpikowej (Pieńkowska-Grela i wsp. 2008), predykcyjną rolę delecji w regionie fuzji *BCR/ABL* dla leczenia imatinibem (Pieńkowska-Grela i wsp. 2009), badania nad mechanizmem amplifikacji genu *MECOM* w ostrej panmielozie z mielofibrozą (Grygalewicz i wsp. 2012), zastosowanie metod molekularnych w ocenie czynników rokowniczych oraz wpływ rodzaju delecji 13q14 na prognozę w przewlekłej białaczce limfocytowej (Gos i wsp. 2008, Grygalewicz i wsp. 2016). W ostrej białaczce limfoblastycznej Habilitantka wraz zespołem opisała nowe zmiany genów *BIRC3*, *KMT2A* i *IGH* oraz ich wpływ na rokowanie (Alhourani i wsp. 2016, Othman i wsp. 2015, Othman i wsp. 2016).

W podsumowaniu należy podkreślić spójny charakter dorobku Kandydatki, który odzwierciedla konsekwentnie rozwijane indywidualne zainteresowania badawcze. Habilitantka nie tylko bardzo dobrze wykorzystała potencjał macierzystego, uznanego ośrodka naukowego, jakim jest Narodowy Instytut Onkologii-Państwowy Instytut Badawczy, ale wiele projektów realizowała w ramach współpracy międzynarodowej. Tematyczny cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe będące podstawą postępowania habilitacyjnego jest naturalną kontynuacją zainteresowań naukowych dr n med. Beaty Grygalewicz i prowadzonych przez nią badań.

## II OCENA TEMATYCZNEGO CYKLU PUBLIKACJI

Przedstawiony do oceny cykl publikacji „*Cytogenetyczna charakterystyka nowej jednostki WHO 2017 chłoniak Burkitt-like z aberracją 11q – implikacje diagnostyczno-kliniczne*” obejmuje pięć prac oryginalnych z lat 2010-2020 o łącznej wartości bibliometrycznej IF – 13,572, MNiSW – 190. Dr n med. Beata Grygalewicz jest pierwszym autorem dwóch z nich.

1/ Pienkowska-Grela B, Rymkiewicz G, Grygalewicz B, Woroniecka R, Krawczyk P, Czyz-Domanska K, Walewski J (2011). Partial trisomy 11, dup(11)(q23q13), as a defect characterizing lymphomas with Burkitt pathomorphology without MYC gene rearrangement. Med Oncol 2011 Dec;28(4):1589-95. doi: 10.1007/s12032-010-9614-0. (IF= 2,140)

deklarowany udział w realizacji: analiza kariotypowa, wykonanie i analiza wyników badania FISH, udział w pisaniu manuskryptu

Praca zawiera pierwszy w literaturze przedmiotu opis grupy chłoniaków z nowo opisaną aberracją długiego ramienia chromosomu 11 (11q) wykrytą na podstawie analizy przeprowadzonej metodami klasycznej cytogenetyki i FISH. Szczegółowa analiza objęła chłoniaki bez rearanżacji genu *MYC* o typowej morfologii chłoniaka Burkitt'a. Autorzy pracy dokonali szczegółowej oceny immunofenotypu wykazując pewne odchylenia od typowego układu FM, natomiast w analizie cytogenetycznej metodą FISH stwierdzili, że powielenie regionu 11q powtarzalnie obserwowane w kariotypowaniu zmian ma charakter duplikacji z inwersją dup(11)(q23q13). Wysunięta przez nich teza o istnieniu odrębnej grupy klasyfikacyjnej znalazła poparcie w wynikach innych zespołów dając asumpt do rewizji klasyfikacji WHO 2008. W efekcie w klasyfikacji aktualizowanej w roku 2016 uwzględniono

tymczasową jednostkę chorobową - chłoniak Burkitt-like (BLL) z powieleniem i terminalną utratą 11q.

2/ Grygalewicz B, Woroniecka R, Rymkiewicz G, Rygier J, Borkowska K, Kotyl A, Blachnio K, Bystydziński Z, Nowakowska B, Pienkowska-Grela. *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. 2018;149(1):17-28. doi: 10.1093/ajcp/ aqx139.

IF= 1,962

deklarowany udział w realizacji (hipoteza badawcza, zaplanowanie i realizacja analiz molekularnych, interpretacja wyników, napisanie i korekta manuskryptu).

3/ Grygalewicz B, Woroniecka R, Rymkiewicz G, Rygier J, Malawska N, Blachnio K, Bystydziński Z, Borysiuk A, Nowakowska B, Pienkowska-Grela B. *Genetic progression of post-transplant Burkitt-like lymphoma case with 11q-Gain/Loss and MYC amplification.* Cancer Genet. 2020 Jul;245:1-5. doi: 10.1016/j.cancergen. 2020.05.001. Epub 2020 May 18.

IF= 3,105;

deklarowany udział w realizacji (hipoteza badawcza, zaplanowanie i realizacja analiz molekularnych, interpretacja wyników, napisanie i korekta manuskryptu).

4/ Rymkiewicz G, Grygalewicz B, Chechlińska M, Blachnio K, Bystydziński Z, Romejko-Jarosinska J, Woroniecka R, Zajdel M, Domanska-Czyz K, Martin-Garcia D, Nadeu F, Swoboda P, Rygier J, Pienkowska-Grela B, Siwicki JK, Prochorec- Sobieszek M, Salaverria I, Siebert R, Walewski J. *A comprehensive flowcytometry-based immunophenotypic characterization of Burkitt-like lymphoma with 11q aberration.* Mod Pathol. 2018 May;31(5):732-743. doi:10.1038/modpathol.2017.186. Epub 2018 Jan 12.

IF= 6,19;

deklarowany udział w realizacji (realizacja analiz molekularnych metodą FISH oraz SNP/CGH na bazie mikromacierzy, interpretacja wyników).

5/ Beata Grygalewicz. *Metody cytogenetyki molekularnej w różnicowaniu agresywnych B-NHL.* Acta Haematologica Polonica, 2019,50: 109-115 DOI:<https://doi.org/10.2478/ahp-2019-0018>

IF=0

W kolejnych pracach cyklu udokumentowano wyniki dalszych badań nad nową jednostką chorobową, a w szczególności analizę charakteru zmian molekularnych oraz wpływu leczenia na ich profil i dynamikę zmian. W tym celu przeprowadzano ocenę całościową zmian kariotypowych, ze szczególnym uwzględnieniem struktury aberrentnego chromosomu 11 oraz analizę statusu genu *MYC* przed i w trakcie terapii. Zastosowano szeroki wachlarz metod badawczych od klasycznej analizy kariotypowej, przez badanie FISH do charakterystyki zmian z wykorzystaniem mikromacierzy SNP/aCGH, zwiększając kolejno rozdzielczość analizy zmian genetycznych. Przeprowadzono również szczegółową analizę fenotypową z zastosowaniem metod cytometrii przepływowej.

W kolejnych publikacjach stanowiących część Osiągnięcia Naukowego szczegółowo scharakteryzowano lokalizacje i charakter aberracji molekularnych typowych dla BLL,11q, w tym typów duplikacji 11q i mechanizmów odpowiedzialnych za jej powstanie (inwersja). Bezpośrednim efektem badań Habilitantki i zespołu było opracowanie algorytmu postępowania diagnostycznego, który umożliwia jednoznaczne rozpoznanie BLL,11q w oparciu o badania patomorfologiczne, cytometryczne, immunohistochemiczne oraz cytogenetyczne z uwzględnieniem analizy kariotypu i badania FISH. Habilitantka brała udział w opracowaniu zestawu sond FISH, kluczowego dla definitywnej klasyfikacji tego typu chłoniaka. Z kolei wykonana przez nią analiza roli aberracji genu *MYC* zidentyfikowała ścisły związek pomiędzy obecnością amplifikacji *MYC*, a agresywnym przebiegiem chłoniaka wskazując na potencjalny charakter predykcyjny tego zaburzenia molekularnego. Przeprowadzone badania wskazują również na potencjalne znaczenie prognostyczne duplikacji i delecji 11q, również w zakresie kwalifikacji do agresywnej chemioterapii według protokołów dedykowanych BLL.

W podsumowaniu należy zaznaczyć, że przedstawiony cykl publikacji prezentuje zwarty i logiczny ciąg tematyczny, badania naukowe były prowadzone na podstawie jasno przedstawionych przesłanek, w unikalnej, dobrze klinicznie i molekularnie zdefiniowanej grupie chorych i za pomocą prawidłowo dobranych, nowoczesnych metod.

Prace prezentują dobry poziom merytoryczny i są przykładem prawidłowo realizowanego ciągu badań naukowych. Należy podkreślić ich wysoki potencjał aplikacyjny, który znalazł odzwierciedlenie w algorytmach diagnostycznych wdrożonych do standardowego wykorzystania w Samodzielnej Pracowni Cytogenetyki PIO-NIB .

### III CHARAKTERYSTYKA DOROBKU DYDAKTYCZNEGO

Dr Beata Grygalewicz jest zaangażowana w kształcenie podyplomowe diagnostów laboratoryjnych, była kierownikiem 5 specjalizacji w zakresie laboratoryjnej genetyki medycznej, jak również prowadzi zajęcia w zakresie stażu podstawowego oraz kierunkowego z cytogenetyki hematoonkologicznej dla osób realizujących program tej specjalizacji.

Prowadziła też szkolenia w zakresie organizacji pracy w laboratorium cytogenetycznym, a także nadzorowała letnie praktyki studenckie w Pracowni.

Była również promotorem pracy magisterskiej pod tytułem: „Ocena stopnia zmutowania genu dla regionu zmiennego łańcucha ciężkiego immunoglobulin (IgVh) w grupie pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową (CLL)” realizowanej w ramach współpracy ze Szkołą Główną Gospodarstwa wiejskiego w Warszawie (2014)

Habilitationka uczestniczyła w pracach komitetów organizacyjnych 4 konferencji krajowych i 1 międzynarodowej. Brała udział w organizacji szeregu programów na rzecz programów zewnątrzlaboratoryjnej kontroli jakości badań diagnostycznych metodą FISH w zakresie hematoonkologii w Polsce.

### IV STAŻE W KRAJOWYCH LUB ZAGRANICZNYCH OŚRODKACH NAUKOWYCH

Dr n med. Beata Grygalewicz, jako stypendystka Fundacji Jakuba hr Potockiego odbyła staże w Zakładzie Genetyki Człowieka Centrum Genetyki Człowieka przy Katolickim Uniwersytecie w Lueven w Belgii w roku 1997 oraz 2001-2002, gdzie między innymi wykonała część badań do swojej pracy doktorskiej. W roku 2001 otrzymała stypendium Unii Europejskiej w ramach grupy roboczej WG3- EC COST-B19 „*Molecular cytogenetics of solid tumors*”.

Pomiedzy 2003-2004 przebywała w Instytucie Badań nad Rakiem w Royal Marsden Hospital w Sutton w Wielkiej Brytanii, pracowała również z zespołem Zakładu Hematologii w Barts and The London Queen Mary's School of Medicine and Dentistry.

Habilitationka realizowała wspólne projekty naukowe z zespołem Zakładu Cytogenetyki Molekularnej Uniwersytetu Klinicznego w Jenie w Niemczech (2010-2016).

### V WSPÓŁPRACA Z TOWARZYSTWAMI NAUKOWYMI

Habilitationka jest członkiem założycielem Sekcji Guzów Litych Polskiego Towarzystwa genetyki Człowieka, członkiem Sekcji Cytogenetyki Hematoonkologicznej PTGC oraz członkiem European Board of Medical Genetics od 2015.

## **VI DZIAŁANIA NA RZECZ POPULARYZACJI NAUKI**

Kandydatka ma udokumentowany dorobek jako prelegent, w tym na zaproszenie, na konferencjach krajowych i zagranicznych.

## **WNIOSEK KOŃCOWY**

Dr n. med. Beata Grygalewicz jest przykładem aktywnego pracownika naukowego, który konsekwentnie realizuje swoje dobrze zdefiniowane zainteresowania badawcze, umiejętnie korzystając z nowoczesnych technologii molekularnych. Realizowane przez nią projekty poruszają zagadnienia istotne zarówno z naukowego, poznawczego punktu widzenia, mają też wymierne znaczenie aplikacyjne i kliniczne, zwłaszcza w aspekcie konstruowania wiarygodnych i precyzyjnych algorytmów diagnostycznych. Pozytywnie oceniam przedstawiony do recenzji cykl tematycznych publikacji naukowych, które w całości stanowią konsekwentnie realizowane i zwarte dzieło naukowe o wartościowym charakterze poznawczym. Na szczególne uznanie zasługuje również działalność dydaktyczna Habilitantki, a w szczególności jej udział w organizacji i realizacji programów zewnątrzlaboratoryjnej kontroli jakości badań diagnostycznych metodą FISH w zakresie hematoonkologii w Polsce.

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

**Z prawdziwą przyjemnością wnoszę o nadanie dr n. med. Beacie Grygalewicz stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych.**

Warszawa, 4 marca 2022

KIEROWNIK  
Zakładu Genetyki i Immunologii Klinicznej  
Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc

Prof. dr n. med.  
Joanna Chmińska-Wysocka