



29 kwietnia 2024, Gdańsk

prof. dr hab. Rafał Sądej
Zakład Enzymologii i Onkologii Molekularnej
Gdański Uniwersytet Medyczny
rafal.sadej@gumed.edu.pl

**Recenzja osiągnięć naukowych Pani dr Heleny Moreira
w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne**

Otrzymane materiały będące dokumentacją postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego zawierają autoreferat (informacje o dotychczasowych zatrudnieniach i przebiegu kariery, omówienie osiągnięć naukowych wymaganych przez obowiązującą ustawę, opis współprac badawczych z innymi jednostkami oraz prac, które powstały w ich wyniku, wyszczególnienie projektów badawczych w których Habilitantka brała udział a także informację o Jej całościowym dorobku naukowym, dydaktycznym i popularyzatorskim), wykaz wszystkich osiągnięć naukowych, publikacje ujęte w cykl, oświadczenia współautorów publikacji oraz analizę bibliometryczną prac z udziałem Habilitantki.

Pani doktor Helena Moreira ukończyła studia magisterskie na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej ówczesnej Akademii Medycznej we Wrocławiu. W roku 2009 uzyskała stopień doktora nauk w specjalności aspekty molekularne biologii na podstawie pracy pt. „Study of the molecular mechanisms of TNF- α secretion, a key cytokine in chronic inflammation” wykonanej na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu I w Strasbourgu. Dyplom doktora następnie nostryfikowany był przez Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu. Obecnie dr Moreira zatrudniona jest na etacie adiunkta badawczo-dydaktycznego w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego nosi tytuł „Działanie wybranych związków naturalnych na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego – badania *in vitro*” i obejmuje cykl sześciu publikacji. Cztery z nich mają charakter eksperymentalny a dwie to prace przeglądowe. W pięciu pracach dr Moreira jest pierwszym (lub równorzędnym pierwszym) a w jednej ostatnim autorem. Zapoznanie się z oświadczeniami o wkładzie Habilitantki w powstanie publikacji pozwala jednoznacznie stwierdzić, że Jej udział w powstaniu wymienionych pracach był wiodący. Obejmował on opracowanie koncepcji badań, przeprowadzenie części eksperymentów, interpretację oraz opracowanie ich wyników, zebranie i analizę piśmiennictwa (w pracach przeglądowych) oraz przygotowanie manuskryptów publikacji. Co warte podkreślenia, we wszystkich pracach Habilitantka pełni rolę autora korespondencyjnego.

Cykl prac doświadczalnych skupia się na ocenie skuteczności wybranych związków naturalnych (celastrolu, resweratrolu, wogoniny) wobec komórek raka jelita grubego z uwzględnieniem frakcji komórek macierzystych. W pierwszej z publikacji (Moreira et al., *Oncotarget* 2018) badany był wpływ celastrolu na komórki nowotworu okrężnicy z wyprowadzoną opornością na doksorubicynę. Oceniano udział tego związku w regulacji aktywności transportera P-gp, indukcję procesów apoptozy i nekrozy oraz subpopulację linii wzbogaconą w komórki o charakterze macierzystym (NKM). W kolejnej pracy (Moreia et al., *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019) wykazano, że komórki lekooporne raka jelita grubego cechują się wysoką ekspresją CD44, niskim poziomem reaktywnych form tlenu oraz wzbogaconą frakcją komórek macierzystych. Okazało się, że w badanych liniach celastrol indukuje stres oksydacyjny z równoczesną indukcją uszkodzeń DNA (fosforylacją histonu H2AX), co korelowało z zatrzymaniem cyklu komórkowego i promocją apoptozy. W trzeciej z prac (Moreira et al., *Cancers* 2022) poszukiwano natomiast mechanizmów przeciwnowotworowych celastrolu i resweratrolu, ze szczególnym uwzględnieniem ich wpływu na ekspresję genów *SIRT* (kodujących deacylazy histonowe). Potwierdzono, że inkubacja komórek z celastrolem prowadzi do powstawania trwałych uszkodzeń obejmujących obie nici DNA, co prawdopodobnie związane jest z zahamowaną ekspresją genów kodujących PARP1 i BRCA1, tj. białka zaangażowane w naprawę uszkodzeń DNA. Zaobserwowano również, że NKM były nieco bardziej wrażliwe na działanie genotoksyczne celastrolu, co powiązano z jego wpływem na ekspresję genu *SIRT1*. Podobne działanie wykazywał resweratrol, promując jednak aktywność proapoptotyczną względem całej populacji komórek bez wyraźnego wpływu specyficznie na pulę NKM. Resweratrol hamował cykl komórkowy i

proliferację oraz indukował powstawanie uszkodzeń DNA. Wydaje się, że powstawanie uszkodzeń DNA w tym przypadku jest niezależne od reaktywnych form tlenu i może obejmować zmiany o charakterze epigenetycznym indukowane przez SIRT. Ostatnia z prac eksperymentalnych (Radajewska et al., *Int J Mol Sci* 2023) skupiała się na ocenie efektu przeciwnowotworowego połączenia irynotekanu (chemioterapeutyk stosowany w leczeniu raka jelita grubego) z melatoniną, wogoniną lub celastrolem. Autorzy sugerują, że wszystkie badane związki i ich połączenia mogą eliminować komórki nowotworowe *in vitro*, w tym komórki o charakterze macierzystym. Związki te wydają się mieć różny wpływ na żywotność, apoptozę i migrację komórek nowotworowych. Podsumowując, wyniki badań przedstawionych w powyższych pracach przyczyniają się do zrozumienia mechanizmów aktywności wybranych związków naturalnych wobec komórek nowotworowych, w tym frakcji o charakterze macierzystym.

Cykl stanowiący osiągnięcie habilitacyjne obejmuje również dwie prace przeglądowe. Publikacja Moreira et al., 2019 (*Postępy Biologii Komórki* 2019) podsumowuje informacje dotyczące biologii nowotworowych komórek macierzystych oraz zdolności związków naturalnie występujących w przyrodzie do ich eliminacji. Druga z prac Radajewska et al. 2021 (*Am J Cancer Res* 2021) krytycznie podsumowuje stan wiedzy dotyczący różnych systemów hodowli 3D w kontekście ich zastosowania do badań nad aktywnością związków przeciwnowotworowych celujących w NKM.

Reasumując, przedstawiony cykl publikacji dostarcza cennych informacji dla potencjalnego zastosowania związków pochodzenia naturalnego w terapiach łączonych ze standardowymi chemioterapeutykami w zaawansowanych formach raka jelita grubego. Oczywistym pozostaje jednak, że osiągnięcie tego etapu jest bardzo odległe, musi być poprzedzone dalszymi dogłębniejszymi badaniami przedklinicznymi, w tym w modelach *in vivo*. Jeśli ich rezultaty potwierdzą otrzymane dotychczas wyniki dotyczące właściwości przeciwnowotworowych analizowanych związków, kolejnym ogromnym przedsięwzięciem jest ocena ich skuteczności w badaniach klinicznych, do których w mojej ocenie droga jest jeszcze bardzo daleka. Bez wątpienia natomiast, zaproponowany zestaw publikacji jest monotematyczny i posiada stosunkowo dużą wartość naukową. Prace te opublikowane są w dobrych czasopismach. Cztery z nich (Moreira et al., *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019, Moreira et al., *Cancers* 2022, Radajewska et al., *Int J Mol Sci* 2023, Moreira et al., *Am J Cancer Res* 2021) posiadają współczynnik cytowań oscylujący w zakresie ok. 5-6, klasyfikując dwie z nich do pierwszego, a kolejne dwie do drugiego kwartyła wszystkich publikacji z danej kategorii. Dwie z prac (Moreira et al., *Oncotarget* 2018, Moreira et al.,

Postępy Biologii Komórki 2019) nie posiadają współczynnika IF lub jest on bardzo niski (poniżej 1). Nieco zastanawiający jest fakt, że dwa z magazynów w których opublikowane zostały prace tj. *Oncotarget* i *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* na przestrzeni ostatnich kilku lat zostały usunięte z listy JCR. Sugeruje to za pewne Habilitantce nieco większą czujność przy wyborze czasopism do których składane są manuskrypty Jej prac.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Pozostałe osiągnięcia dr Moreira dotyczą analiz różnych związków pochodzenia naturalnego lub syntetycznych (ekstraktów z liści czystka, skórek granatu, *polygonum cuspidatum*, jagód aronii, bajkaliny, wogoniny) w kontekście ich właściwości antyoksydacyjnych i przeciwnowotworowych. Równoległe prowadzone były badania, których tematyka oscylowała wkoło zagadnień związanych z analizą mechanizmów immunologicznych w patogenezie chorób metabolicznych i autoimmunologicznych. Prace dotyczące tych zagadnień prowadzone były we współpracy z różnymi klinikami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Oceniano m.in. wpływ przebytej infekcji SARS-CoV-2 na komórki układu immunologicznego i ryzyko miażdżycy u pacjentów z trisomią chromosomu 21. Badano również profil limfocytów i cytokin w kontekście cukrzycy typu I, Hashimoto i ich współistnienia. Analizowano także subpopulację limfocytów oraz wybranych cytokin we krwi obwodowej użytkowników papierosów elektronicznych.

Współprace zagraniczne Habilitantki dotyczą zagadnień realizowanych przed i w trakcie pracy doktorskiej na Uniwersytecie I w Sztrasburgu we Francji. Badania te dotyczyły oceny aktywności przeciwzapalnej i antynowotworowej oraz mechanizmów działania związków naturalnych oraz nowych substancji pozyskanych w syntezie chemicznej. Dodatkowo dr Moreira współpracuje z zespołem badawczym z University College w Dublinie w zakresie cytometrii przepływowej i obrazowej (staże w ramach programu Erasmus+). Podjęto również współpracę z grupą afiliowaną przy Uniwersytecie Medycznym w Amsterdamie z zamiarem zastosowania w badaniach techniki cytometrii masowej.

Współprace krajowe to badania prowadzone z Katedrą Immunologii Collegium Medicum w Bydgoszczy, dotyczące zastosowań cytometrii przepływowej do badań nowotworowych komórek macierzystych. Habilitantka brała również udział w projektach realizowanych z zespołami Politechniki Wrocławskiej oceniających wpływ nanocząsteczkowych nośników leków na komórki nowotworowe oraz oceniających biogodność syntetycznego wiązadła przeznaczonego do leczenia uszkodzeń stawu kolanowego. We współpracy z naukowcami z Uniwersytetu Wrocławskiego optymalizowano

produkcję nowego lnu i jego zastosowania jako źródła preparatów biomedycznych. Dr Moreira podjęła również liczne współprace w obrębie jednostki macierzystej, dotyczące m.in. opracowania metody pozyskiwania i izolacji mezenchymalnych komórek zrębu z miazgi zębowej do celów regeneracji ubytków kostnych, oceny wybranych parametrów układu immunologicznego w epilepsji i postępujących zaburzeniach neurologicznych i podłożu autoimmunologicznym, badania nad skutecznością leczenia „łokcia tenisisty” z wykorzystaniem osocza bogatopłytkowego i inne.

Dr Helena Moreira w trakcie swojej pracy naukowej opublikowała 35 publikacji, w tym 30 w okresie po otrzymaniu stopnia doktora. Sumaryczny współczynnik cytowań wszystkich prac z Jej udziałem wynosi 89.1, co bez wątpienia jest osiągnięciem bardzo dobrym. Łączna punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego prac Habilitantki to 2260 punktów a Jej indeks Hirscha to 9. W okresie po doktoracie dr Moreira była pierwszą lub drugą autorką odpowiednio 8 i 12 publikacjach. Mimo dobrych wskaźników bibliometrycznych artykuły z udziałem Habilitantki były cytowane jedynie 202 razy, co jest wartością stosunkowo niewielką. Być może wynika to z faktu, że „rynek” naukowy dotyczący analiz związków pochodzenia naturalnego jest dość duży a wyraźne zaistnienie w tej tematyce wymagałoby bardziej zaawansowanych modeli eksperymentalnych z uwzględnieniem badań w modelach zwierzęcych, dogłębnego poszukiwania mechanizmu molekularnego a w najbardziej optymistycznym scenariuszu badań klinicznych.

Poza działalnością publikacyjną Habilitantka aktywnie uczestniczy w konferencjach międzynarodowych i krajowych. Dr Moreira była współorganizatorką konferencji międzynarodowej i kilku konferencji/szkoleń o zasięgu krajowym. Pełniła również rolę recenzenta publikacji z czasopism ujętych na z listy filadelfijskiej. W swojej karierze naukowej była wykonawcą w czterech projektach finansowanych ze źródeł zewnętrznych. Dodatkowo otrzymała finansowanie z Narodowego Centrum Nauki w ramach działania naukowego Miniatura. Nieco brakuje więc w dorobku klasycznego „dużego” projektu naukowego, w których Habilitantka pełniłaby funkcję kierowniczą. Takie osiągnięcie z pewnością ugruntowałoby Jej pozycję jako samodzielnego pracownika naukowego. Oczywistym jest jednak, że Habilitantka pracownikiem doświadczonym i cechuje się istotną aktywnością naukową. Za swoją działalność dr Moreira otrzymała trzy nagrody zespołowe Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Dodatkowo dr Moreira od lat zaangażowana jest w nauczanie. Habilitantka prowadziła w jednostce macierzystej wykłady, ćwiczenia audytoryjne, seminaria i zajęcia praktyczne z zakresu anatomii, fizjologii i patofizjologii człowieka. Ponadto brała udział w procesach

organizacji nauczania i podnoszenia jakości kształcenia na kierunku analityka medyczna. Dr Moreira jest promotorem pomocniczym dwóch trwających rozpraw doktorskich, 11 prac magisterskich, jednej pracy licencjackiej oraz opiekunem naukowym studenckiego koła naukowego „cytometrii przepływowej i badań biomedycznych”. Wciąż doskonali swoje kompetencje dydaktyczne uczestnicząc w dedykowanych szkoleniach. W zakresie działalności organizacyjnej jest koordynatorem pracowni cytometrii przepływowej i eksperymentalnych badań biomedycznych. Brała udział w tworzeniu Centrum Badawczo-wdrożeniowego Zaawansowanych Terapii Komórkowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Kończąc chciałbym podkreślić, że całość dokumentacji przygotowana była niezwykle starannie i skrupulatnie, co bez wątpienia ułatwia recenzentowi pracę nad oceną przedstawionego dorobku. Nie mam żadnych wątpliwości, że osiągnięcia dr Heleny Moreira stanowią znaczący wkład do rozwoju nauki i odpowiadają kryteriom stawianym przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego określonym w art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742). Z pełnym przekonaniem rekomenduję więc Radzie Dyscypliny Nauki Farmaceutyczne Uniwersytetu im. Piastów Śląskich we Wrocławiu poparcie wniosku o nadanie dr Helenie Moreira stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Rafał Sodej