



UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Medycyny Laboratoryjnej

Zakład Chemii Leków
15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D
tel. (85) 748-57-06, FAX (85) 748-58-66
arkadiusz.surazynski@umb.edu.pl

RM-BF 4102.5.2023
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RM/19.205/202
RADY DYSCIPLINY NAUK FARMACEUTYCZNE
Podpis *Fordek* 24.05.2024

Dr hab. n. farm. Arkadiusz Surażynski

Białystok, 16.05.2024.

OCENA

dorobku naukowo-badawczego, dydaktyczno-organizacyjnego oraz osiągnięcia naukowego Pani doktor nauk farmaceutycznych Heleny MOREIRY, adiunkta w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, wykonana na zlecenie Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

I. Dane biograficzne

Dr n. farm. Helena Moreira jest absolwentką kierunku Analityka Medyczna, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej, Akademii Medycznej we Wrocławiu. Studia magisterskie ukończyła w 1995 roku. Swoją karierę naukową rozpoczęła w 1997 w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu. W 2002 roku uzyskała Dyplom Studiów Wyższych Specjalistycznych „Polityka Publiczna w Europie”, prowadzonych wspólnie przez Institut d’Etudes Politiques de Strasbourg Uniwersytet Robert Schuman i Uniwersytet Wrocławski. W latach 2003-2008, jako Doktorantka, była członkiem zespołu badawczego w Laboratorium Innowacji Terapeutycznych-UMR 7200, Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu I w Strasbourgu (Francja). W 2004 roku uzyskała Dyplom Studiów Rozszerzonych: Farmakologia i Farmako-chemia na Wydziale Farmaceutycznym, Uniwersytetu Louis Pasteur, Strasbourg (Francja), na podstawie pracy pod tytułem „*Analiza mechanizmów działania nowych związków przeciwzapalnych.*” W 2005 roku Kandydatka uzyskała Dyplom Uniwersytecki „Doświadczenia na zwierzętach poziom I” Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Henri Poincaré, Nancy (Francja). W latach 2008 – 2009 była zatrudniona w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych, na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu i w roku 2009 uzyskała Dyplom Doktora Nauk w dziedzinie Aspekty Molekularne Biologii, na Wydziale Farmaceutycznym, Uniwersytetu I w Strasbourgu (Francja), na podstawie rozprawy doktorskiej pod tytułem: „*Study of the molecular mechanisms of TNF- α secretion, a key cytokine in chronic inflammation.*” W 2010 nostryfikowała Dyplom Doktora Nauk w dziedzinie Aspekty Molekularne Biologii i uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej, Akademia Medyczna

we Wrocławiu nadała Kandydatce stopień naukowy doktora nauk farmaceutycznych. Dr Helena Moreira od 2011 - do chwili obecnej zatrudniona jest na etacie adiunkta naukowo-dydaktycznego w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Kandydatka w 2000 roku odbyła dwumiesięczny staż w Dyrekcji ds. Badań, Szkolnictwa Wyższego i Transferu Technologii Regionu Alzacji w Strasburgu dotyczący oceny badań klinicznych przeprowadzanych w instytucjach badawczych i szpitalach w regionie Alzacji we Francji. W 2019 roku odbyła dwutygodniowy staż w Katedrze Immunologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Medycznego w Toruniu. W ramach programu "Erasmus + Staff Mobility for training" odbyła 6 staży szkoleniowych, w tym: w 2017 roku w Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research, Laboratorium Cytometrii Przepływowej, University College Dublin, Irlandia; w latach 2019-2021 trzykrotnie w Faculty of Pharmacy, Strasbourg University we Francji; w 2022 w Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research, Laboratorium Cytometrii Przepływowej, University College Dublin w Irlandii, a w 2023 roku w Department of Molecular Cell Biology and Immunology, Amsterdam University Medical Center.

Dr Helena Moreira realizuje również liczne współprace zarówno krajowe jak i międzynarodowe. Od 2016r. współpracuje z dr Alfonso Blanco-Fernandez z Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research University College Dublin w Irlandii oraz z dr Timothy P. Bushnell z Uniwersytetu Rochester (URMC) w Nowym Jorku. Od 2018 roku wspólnie z dr Christian D. Muller z Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien (IPHC), UMR 7178, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu w Strasbourgu. Nawiązała również współpracę z dr Juan J. Garcia Vallejo z Katedry Molekularnej Biologii Komórki i Immunologii Uniwersyteckiego Centrum Medycznego w Amsterdamie. Ponadto, Kandydatka współpracuje z wieloma jednostkami krajowymi - z: Katedrą Immunologii Collegium Medicum w Bydgoszczy, Zakładem Inżynierii Chemicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej, Katedrą Mechaniki, Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej Wydziału Mechanicznego Politechniki Wrocławskiej, Katedrą Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Katedrą Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż Wydział Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Zakładem Biochemii Genetycznej Uniwersytetu we Wrocławiu oraz międzywydziałowymi w ramach Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Tematyka staży oraz współprac jest ściśle związana z zainteresowaniami badawczymi Kandydatki i dotyczy zarówno metodologii oceny aktywności biologicznej nowych związków jak i poszukiwania nowych strategii farmakoterapii różnych typów nowotworów.

Habilitantka współpracowała również z sektorem gospodarczym. Nawiązała współpracę z firmą farmaceutyczną (Biomi-Farm Sp. z o.o.) w zakresie oceny działania przeciwnowotworowego fitozwiązków (kannabinoidów) i ich potencjalnego zastosowania w terapiach przeciwnowotworowych oraz licznymi firmami zajmującymi się rozwiązaniami cytometrycznymi między innymi Partec GmbH, ALAB sp. z o.o, Sysmex Polska Sp. z o.o., Beckman Coulter Polska sp. z o.o., Excyte, Sanprobi Sp. z o.o. W ramach tych współprac organizuje i prowadzi szkolenia aplikacyjno-naukowe oraz wymienia się wiedzą i doświadczeniem z innymi naukowcami.

Bogata aktywność naukowa oraz imponująca ilość współprac zarówno krajowych jak i międzynarodowych, realizowanych nie tylko w jednostce macierzystej, ale również w ośrodkach zagranicznych oraz współpraca z sektorem gospodarczym wypełnia kryteria stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego określone w art. 219 ust. 1 pkt 3 ww. ustawy o Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021r. poz. 478 z późn. zm.).

II. Ocena dorobku naukowo-badawczego.

Dorobek naukowy dr n. farm. Helena Moreiry obejmuje 35 publikacji opublikowanych w czasopismach z listy JCR (w 23 jest pierwszym lub drugim autorem), w tym: 30 pełnotekstowych prac oryginalnych (21 prac w czasopismach z IF, 26 prac po uzyskaniu stopnia doktora), 5 prac poglądowych opublikowane w czasopiśmie z IF (4 opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora).

Kandydatka wygłosiła 6 wykładów na zaproszenie, brała udział w 25 konferencjach (w tym 13 zagranicznych), na których zaprezentowała 40 doniesień zjazdowych z czego 4 miało charakter prezentacji ustnych. Brak jest informacji o uzyskanych patentach lub zgłoszeniach patentowych.

Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF dotychczas opublikowanych prac wynosi 89.101 (2260 punktów MEiN). Z dorobku naukowego wyodrębniono 6 oryginalnych prac opublikowanych w czasopismach o łącznym IF= 21.981 (540 punktów MEiN), stanowiących szczególne osiągnięcie (w myśl art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki Dz. U. 2016r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016r. poz. 1311). W pięciu pracach Kandydatka jest pierwszym i korespondencyjnym autorem, a w jednej autorem korespondencyjnym.

Na podkreślenie zasługuje znaczny przyrost dorobku naukowego po uzyskaniu stopnia doktora (zarówno ilościowy, ale przede wszystkim jakościowy), co daje bardzo optymistyczne rokowania dla dalszego rozwoju po uzyskaniu awansu naukowego. O jakości opublikowanych badań świadczą nie tylko współczynniki bibliometryczne, ale przede wszystkim zainteresowanie innych badaczy, co ma swoje odzwierciedlenie w ilości cytowani (na dzień 16.05.2024) 260 oraz indeksem Hircha = 9

W tematyce publikacyjnej, nie wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego, można wyróżnić kilka kierunków badawczych.

Jeden z głównych nurtów zainteresowań naukowych dr Heleny Moreiry, dotyczy szeroko pojętych badań nad aktywnością biologiczną związków, głównie pochodzenia naturalnego w modelach in vitro, w kontekście ich działania antyoksydacyjnego i przeciwnowotworowego oraz poszukiwania-opracowywania nowych strategii terapeutycznych w leczeniu różnych typów nowotworów. W swojej działalności naukowej poświęciła dużo uwagi na poszukiwania związków o działaniu hamującym wydzielanie TNF- α (czynnik martwicy nowotworów alfa), prozapalnej cytokiny odgrywającej istotną rolę w odpowiedzi immunologicznej i zapalnej, w regulacji proliferacji komórkowej, w kontroli apoptozy oraz w cytotoksyczności przeciwnowotworowej. Realizowała ten kierunek badawczy wieloaspektowo z wykorzystaniem najnowszych technik głównie cytometrii.

Habilitantka zajmowała się również poszukiwaniem nowych strategii terapeutycznych z wykorzystaniem związków pochodzenia naturalnego i oceną efektu przeciwnowotworowego

kamptotecyny, celastrolu i resweratrolu w terapii skojarzonej. W badaniach wykazała, że komórki przerzutowe i nowotworowe komórki macierzyste (NKM) raka jelita grubego są wrażliwe na działanie genotoksyczne kamptotecyny, celastrolu i resweratrolu. Połączenie celastrolu lub resweratrolu z kamptotecyną poprawiają ogólną genotoksyczność samej kamptotecyny zarówno na komórki NKM jak i na komórki przerzutowe raka jelita grubego.

W kręgu zainteresowania Habilitantki znajduje się również analiza mechanizmów immunologicznych w patogenezie chorób metabolicznych i autoimmunologicznych. Prace te realizuje we współpracy z Klinikami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. W przeprowadzanych badaniach wykorzystwała m.in. immunofenotypowanie i metodę cytometrii przepływową do oceny profilu leukocytów krwi obwodowej i oceny stężeń cytokin w surowicy krwi.

Aktualnie dr Moreira prowadzi badania nad poszukiwaniem nowych skutecznych strategii terapeutycznych opartych na substancjach bioaktywnych pozyskiwanych z konopii siewnych (*Cannabis sativa* L.). Prace realizuje w ramach grantu Miniatura 5 z Narodowego Centrum Nauki. Bada aktywność przeciwnowotworową oraz skuteczność w eliminacji nowotworowych komórek macierzystych dwóch terpenów konopnych: borneolu i guaiolu. Planuje również rozszerzenie prac badawczych, we współpracy z dr Alfonso Blanco-Fernandez z Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research University College Dublin w Irlandii o analizę mikropęcherzyków (EVs, Extracellular Vesicles) wydzielanych przez komórki nowotworowe.

Wymienione kierunki badań nie zawierają wszystkich osiągnięć naukowych Habilitantki. Kandydatka wykazuje intensywny rozwój naukowy dzięki stażom i kontaktom z innymi ośrodkami naukowymi, w tym międzynarodowymi. Intensywnie rozwijają techniki badawcze ze szczególnym wskazaniem na techniki cytometryczne, w których jest ekspertką na światowym poziomie. Jej kompetencje są doceniane i wykorzystywane w licznych współpracach, w tym, co niezwykle cenne, z sektorem gospodarczym, z firmami farmaceutycznymi i badawczymi.

Na podkreślenie zasługuje udział Habilitantki w licznych projektów badawczych realizowanych w ramach macierzystego Uniwersytetu jak i ze środków zewnętrznych. W latach 2012-2023 była zaangażowana w realizację 5 zewnętrznych projektów naukowych, z czego w 1 była kierownikiem (projekt MINIATURA 5 finansowany z NCN), a w 4 wykonawcą (2 projektów finansowanych z NCBiR, i po 1 finansowanym NCN i MNiSW). Oprócz grantów zewnętrznych, Pani dr Helena Moreira była w latach 2009-2023 kierownikiem 15 projektów finansowanych ze środków subwencyjnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

W efekcie licznych współprac krajowych jak i zagranicznych oraz odbytych staży i szkoleń Habilitantka posiada doskonały warsztat pracy i ugruntowaną wiedzę w swojej dziedzinie. Kompetencje w tym zakresie dokumentują zarówno publikacje w renomowanych, specjalistycznych, wysoko punktowanych czasopismach naukowych, jak i powierzanie Kandydatce 16 recenzji prac przez redakcje renomowanych czasopism naukowych. Habilitantka za swoją pracę była wielokrotnie nagradzana prestiżowymi wyróżnieniami m.in. stypendium FRIDERIKA FISCHER FELLOWSHIP przyznanego w drodze konkursu przez International Cytokine Society oraz wielokrotnie nagrodami Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Stwierdzam, że Pani dr Helena Moreira wykazuje istotną aktywność naukową realizowaną w więcej niż jednej jednostce naukowej spełniając warunki określone w art. 219 ust. 1 pkt 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021r. poz. 478 z późn. zm.).

III. Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b ustawy.

Przedmiotem oceny znaczącego osiągnięcia naukowego jest cykl 6 prac współautorskich, w których Habilitantka opisuje wyniki badań nad oceną potencjału przeciwnowotworowego oraz bezpieczeństwa terapii skojarzonych trzech wybranych związków naturalnych: celastrolu, resweratrolu i wogoniny, z klasycznymi chemioterapeutykami na komórki przerzutowe raka jelita grubego i nowotworowe komórki macierzyste (NKM).

Zagadnienia te są szczególnie ważne, gdyż mimo postępu naukowego, skuteczność terapii przeciwnowotworowych nie jest zadowalająca, a przyczyn niepowodzeń w tym zakresie upatruje się w oporności komórek na zastosowane leczenie oraz wysoką toksycznością leków ograniczającą ich stosowanie ze względu na silne działania niepożądane.

Zaproponowane przez Habilitantkę osiągnięcie naukowe pt. „Działanie wybranych związków naturalnych na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego - badania *in vitro*.” stanowi cykl 6 pełno tekstowych artykułów naukowych (H1-H4 są pracami oryginalnymi, natomiast H5 i H6 - przeglądowymi), opublikowanych w latach 2018-2023 o łącznym współczynniku oddziaływania *Impact Factor* = 21,981, (540 punktów MEiN). W 5 pracach Kandydatka jest pierwszym (lub równorzędnym pierwszym) autorem, a we wszystkich pracach dr Helena Moreira jest autorem korespondencyjnym. Dominująca rola w opracowaniu koncepcji pracy, określeniu zakresu badań, wykonaniu doświadczeń, opracowaniu, interpretacji i dyskusji otrzymanych wyników, przygotowaniu manuskryptu oraz końcowej wersji publikacji do druku została potwierdzona stosownymi oświadczeniami współautorów.

Tematyka badawcza osiągnięcia naukowego Kandydatki jest konsekwencją zainteresowań i doświadczeń naukowych nad niewykorzystanym biologicznym potencjałem związków pochodzenia naturalnego. Habilitantka przeprowadziła analizę mechanizmów działania przeciwnowotworowego wybranych związków naturalnych, należących do różnych grup związków organicznych: celastrolu (triterpenoid), resweratrolu (stilben) i wogoniny (flawonoid) w eliminacji NKM i komórek przerzutowych raka jelita grubego. Zbadała działanie ww. związków w badanych komórkach w monoterapii oraz w zaproponowanej terapii skojarzonej opartej na jednoczesnym podawaniu irynotekanu (standardowego cytostatyku) z melatoniną lub wogoniną lub celastrolem. Tematyka badawcza była ukierunkowana na zwiększenie możliwości terapeutycznych przerzutowej, agresywnej oraz lekoopornej postaci raka jelita grubego, z wyraźnym naciskiem na zwiększenie skuteczności eliminacji nowotworowych komórek macierzystych (NKM).

W ramach podjętych działań badawczych (opisanych w publikacji H1) Autorka skupiła się nad obserwacją, iż głównym mechanizmem lekooporności komórek raka jelita grubego jest nadekspresja glikoproteiny P (P-gp), która aktywnie usuwa chemioterapeutyki z komórek nowotworowych. Wykazała wysoką ujemną korelację pomiędzy zmniejszeniem liczebności

subpopulacji komórek nowotworowych wzbogaconych w NKM (SP), a nasileniem wiązania się celastrolu z białkiem P-gp. W badaniach zastosowała wysoce swoiste przeciwciało monoklonalne anty-P-gp (UIC2), co pozwoliło potwierdzić zdolność celastrolu do bezpośredniego wiązania z białkiem P-gp w błonie komórkowej. Wiązanie celastrolu z P-gp, hamuje funkcję transportową tego białka, czemu towarzyszy większa akumulacja standardowych cytostatyków (rodaminy-123 i doksorubicyny) w komórce nowotworowej, a tym samym zwiększa się skuteczność terapii. Tym samym Autorka wykazała fakt, iż łączenie chemioterapeutyków przeciwnowotworowych z fitochemikaliami może zdecydowanie podnosić efektywność terapii, jednocześnie obniżać ich skuteczne dawki, zmniejszając w ten sposób toksyczność ogólnoustrojową i łagodząc działania niepożądane podczas leczenia. Oceniając zdolność badanych związków naturalnych do zwiększania cytotoksyczności leków chemioterapeutycznych otworzyła nowe perspektywy ich zastosowania w skojarzonej chemioterapii nowotworów. W opisywanym badaniu dokumentuje działanie chemoprewencyjne i chemouwrażliwiające celastrolu w lekoopornych komórkach raka jelita grubego. Wyniki tych badań sugerują, iż związek ten może efektywnie poprawić skuteczność standardowej terapii cytostatycznej. Dodatkowo celastrol jest silnym inhibitorem NF- κ B, który jest ważnym czynnikiem transkrypcyjnym w komórkach NKM, a przez to znacząco zwiększać chemowrażliwość nowotworów z obecnością komórek NKM w masie guza. Badanie to wymaga testów *in vivo*, jednakże ma charakter aplikacyjny i perspektywę zastosowania klinicznego.

Habilitantka kontynuując badania nad opornością na chemioterapię komórek nowotworowych skupiła się nad komórkową heterogennością nowotworu, ze szczególnym zainteresowaniem nad obecnością w masie guza szybko proliferujących komórek nowotworowych oraz NKM, które cechuje wysoki potencjał rakotwórczy, zdolność do samoodnawiania i różnicowania. Komórki NKM, w porównaniu ze zróżnicowanymi komórkami nowotworowymi, mają niższą szybkość metabolizmu energetycznego, co w konsekwencji skutkuje znacznie obniżonym podstawowym poziomem wewnątrzkomórkowych wolnych rodników tlenowych (RFT). Obniżony poziom RFT jest jedną z głównych przyczyn rozwoju i utrzymania odporności tych komórek. Habilitantka wykonała serię eksperymentów, w których wykazała, że lekooporne komórki raka jelita grubego, wzbogacone w NKM, wykazują nadekspresję białka CD44 z jednoczesnym znacznie obniżonym poziomem cytoplazmatycznych RFT, w porównaniu do komórek ze standardową wrażliwością na cytostatyki (publikacja H2). Wykorzystując fakt, iż struktura chemiczna celastrolu zawiera wysoce „redoks-aktywne” ugrupowanie metydu para-chinonu, przez co może indukować stres oksydacyjny poprzez tworzenie RFT w postaci np. nadtlenków, wykazała, iż celastrol wykazuje zdolność do eliminacji NKM poprzez generowanie RFT i w konsekwencji indukcji uszkodzeń DNA, zahamowanie proliferacji i indukcji apoptotycznej śmierci komórki. Zauważyła, że NKM reagują silniej na prooksydacyjne działanie celastrolu niż komórki nowotworowe raka jelita grubego. To potwierdza potencjał celastrolu do skutecznego niszczenia NKM w nowotworze jelita grubego, wskazując na potencjalne jego zastosowanie w leczeniu ciężkich, opornych na konwencjonalną terapię przypadków raka jelita grubego.

Habilitantka kontynuując poszukiwania sposobów wykorzystania badanych naturalnych substancji w kontekście terapii przeciwnowotworowej (publikacja H3) wykonała serię eksperymentów mających na celu ocenę wpływu celastrolu i resweratrolu na ekspresję

genów sirtuiny (*SIRT*) i możliwości wykorzystania tej właściwości na komórki przerzutowe raka jelita grubego i ich zdolność do zwalczania NKM.

Sirtuiny należą do regulatorów epigenetycznych odgrywających rolę w mechanizmach acetylacji/deacetylacji histonów. SIRT biorą udział w głównych funkcjach biologicznych, takich jak transkrypcja, apoptoza, autofagia, cykl komórkowy, naprawa uszkodzeń DNA, angiogeneza, reakcje na stres i starzenie.

Dr Moreira wykazała, że celastrol jest związkiem silnie uszkadzającym DNA, prowadzącym do znacznego wzrostu nienaprawialnych DSB w komórkach przerzutowych oraz w NKM w raku jelita grubego. Wykazała również, że komórki NKM są wrażliwe na genotoksyczne działanie celastrołu, prawdopodobnie ze względu na wysoki poziom generowanych przez celastrol RTF. Kandydatka badając w tym zakresie inną substancję naturalną - resweratrol, wykazała, że związek ten indukował apoptozę jedynie w komórkach przerzutowych, praktycznie pozostając bez wpływu na komórki NKM. Ponadto nie powodował nekrotycznej śmierci komórek nowotworowych, prawdopodobnie ze względu na ochronne właściwości przeciwutleniające, natomiast wykazywał działanie antyproliferacyjne, poprzez zatrzymanie progresji cyklu komórkowego w fazie S, zarówno w komórkach przerzutowych, jak i komórkach NKM. Kolejnym interesującym badaniem było przeanalizowanie wzajemnej zależności między ekspresją genu *SIRT3* i poziomem RFT pod wpływem celastrołu i resweratrolu w komórkach raka okrężnicy. *SIRT3* jest ważną deacetylazą mitochondrialną odpowiedzialną za utrzymanie prawidłowej funkcji mitochondriów przez obniżenie potencjału błony mitochondrialnej, ograniczenie stresu oksydacyjnego i zmniejszenie produkcji RFT. W badaniach wykazała, że celastrol zmniejsza ekspresję genu *SIRT3* w komórkach przerzutowych i NKM. To zjawisko może zatem sugerować, że w prooksydacyjnej aktywności celastrołu pośredniczy epigenetyczny mechanizm obejmujący zależną od *SIRT3* regulację produkcji RFT. Resweratrol natomiast zwiększał ekspresję genu *SIRT3*, co koreluje ze zmniejszaniem wewnątrzkomórkowego poziomu RFT, a zatem odpowiada za jego działanie przeciwutleniające.

Habilitantka wykazała, że modyfikacja epigenetyczna związana z genami *sirtuin* może być powiązana z niektórymi działaniami przeciwnowotworowymi celastrołu i resweratrolu. Celastrol wykazuje silniejsze działanie przeciwnowotworowe, celowane w NKM na poziomie molekularnym i komórkowym. Można go zatem zaproponować jako potencjalny terapeutyk w zwalczaniu agresywnych rodzajów raka jelita grubego. Natomiast resweratrol ma znacznie większy wpływ na komórki raka okrężnicy, wyrażające standardową wrażliwość na leki przeciwnowotworowe niż na NKM, co sugeruje jego potencjalne zastosowanie u pacjentów z łagodniejszymi postaciami choroby.

Kontynuując badania nad skutecznością oraz bezpieczeństwem stosowanych chemioterapii, dr Helena Moreira postanowiła sprawdzić jak badane substancje naturalne wpłyną na skuteczność klasycznej chemioterapii (publikacja H4). W standardowej terapii przerzutowego raka jelita grubego stosowane są trzy cytostatyki: irynotekan, oksaliplatyna i fluoropirymidyna, w połączeniu dwóch lub, rzadziej, trzech z nich. Polichemioterapia, mimo skuteczności, wiąże się z dużą ogólną toksycznością na komórki prawidłowe. Ponadto klasyczna terapia eliminuje zazwyczaj komórki szybko proliferujące, nie wpływając na NKM. Stąd podjęta przez Habilitantkę próba połączenia naturalnych substancji pochodzenia roślinnego, ze standardowymi lekami cytostatycznymi w terapii skojarzonej, aby wzmocnić ich

działanie cytotoksyczne na komórki nowotworowe i chronić zdrowe komórki przed agresywną chemioterapią jest interesujące i ma potencjał aplikacyjny. Dr Moreira podjęła próbę połączenia irynotekanu z melatoniną, wogoniną lub celastrolem w terapii skojarzonej na komórki przerzutowe i NKM w raku jelita grubego. W badaniach wykazała, że badane związki i ich połączenia skutecznie eliminują zarówno komórki przerzutowe, jak i NKM. Związki te wykazują jednak różny wpływ na żywotność, apoptozę, nekrozę i migrację komórek nowotworowych. Wykazała, że zastosowanie wogoniny z irynotekaniem lub melatoniną daje lepsze efekty indukcji apoptozy i hamowania migracji komórek przerzutowych raka jelita grubego niż sam chemioterapeutyk. Kandydatka w pracy wykazała również, że połączenie celastrolu z irynotekaniem, jest skuteczną strategią eliminacji NKM, głównie poprzez działanie cytotoksyczne i proapoptotyczne. W przypadku bardzo agresywnego raka jelita grubego ta kombinacja może być obiecująco skuteczna.

Coraz większe zainteresowanie i wykorzystanie związków naturalnych w terapiach przeciwnowotworowych skłoniło Autorkę do przeglądu literatury celem usystematyzowania wiedzy w tym zakresie, a także poszukiwania nowych mechanizmów działania tych substancji czego efektem były publikacje przeglądowa (H5 i H6). W opracowaniach tych Autorka położyła nacisk na aspekt wykorzystania właściwości przeciwnowotworowych naturalnych związków oraz zdolność do niszczenia NKM przez związki naturalne. W pracach tych szczegółowo scharakteryzowała i opisała nowotworowe komórki macierzyste (NKM) w tym aktualne hipotezy dotyczące powstawania NKM i ich charakterystykę, plastyczność, zdolności do tworzenia przerzutów, oporność na chemioterapię oraz zdolność do indukowania nawrotów nowotworów. Opisała sposoby identyfikacji oraz powszechne metody badań stosowane w pracach nad i z NKM, a także konsekwencje i niebezpieczeństwa jakie niesie współczesna chemioterapia nieobejmująca eliminacji komórek NKM. Jednocześnie przedstawiła potencjał naturalnych związków do hamowania funkcji, uszkodzania i eliminacji komórek NKM, przywracania wrażliwości na leki cytostatyczne, a także zdolność do poprawiania skuteczności aktualnych środków terapeutycznych. Omówiła główne szlaki molekularne w NKM, w które ingerują opisywane związki naturalne przyczyniając się do ich eliminacji z masy guza, w tym szlak apoptotyczny, szlaki sygnałowe i mechanizmy regulujące samoodnawianie NKM oraz mechanizmy oporności wielolekowej. Habilitantka analizując literaturę oraz własne doświadczenia opisała również metodologię pracy nad komórkami NKM, poczynając od systemów do hodowli komórkowych 3D, z oceną ich zalet i wad oraz z uwzględnieniem ich zastosowania do badań nad aktywnością związków przeciwnowotworowych eliminujących NKM. Co cenne Kandydatka ma świadomość konieczności dalszego rozwijania i ulepszania obecnych technik badawczych nad tymi komórkami jak i samej wiedzy na ich temat.

Stwierdzam, iż problematyka osiągnięcie naukowe pt. „Działanie wybranych związków naturalnych na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego - badania *in vitro*.” stanowiącego cykl 6 spójnych, powiązanych tematycznie pełno tekstowych artykułów naukowych (H1-H6), ujętych w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust2 pkt 2 lit b. ustawy z dnia 20 lipca 2018 opisujących biologiczny potencjał badanych związków pochodzenia naturalnego, jako substancji adjuwatuowych wykorzystywanych w terapii przeciwnowotworowej oraz zwiększających bezpieczeństwo dotychczasowych terapii chemioterapeutykami, **spełnia** warunki określone w

w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ww. ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021r. poz. 478 z późn. Zm.). Pracę habilitacyjną dr Heleny Moreiry uważam za wartościową nie tylko ze względów merytorycznych, ale również potencjalnie aplikacyjnych.

IV. Ocena dorobku dydaktyczno-organizacyjnego i popularyzującego naukę

Działalność dydaktyczna Habilitantki stanowi ważną część aktywności zawodowej. Dr Helena Moreira posiada bogate doświadczenie dydaktyczne z zakresu anatomii, fizjologii i patofizjologii człowieka dla studentów kierunku farmaceutycznego, analityki medycznej i dietetyki na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Ponadto, prowadzi wykłady z przedmiotu Fizjologia w ramach szkolenia podyplomowego „Studia Uzupełniające dla Osób Wykwalifikowanych” na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Do Jej aktywności dydaktycznej należy również opracowanie autorskiego programu zajęć fakultatywnych z zakresu cytometrii przepływowej dla kierunku Analityka Medyczna.

W działalności organizacyjnej należy podkreślić współuczestnictwo w nadzorowaniu jakości kształcenia na kierunku Analityka Medyczna. Kandydatka jest członkiem Rady Programowej dla kierunku Analityki Medycznej na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu a także jest członkiem Kierunkowego Zespołu ds. Jakości Kształcenia na kierunku Analityka Medyczna macierzystego Wydziału Farmaceutycznego.

Habilitantka z sukcesami pełni rolę Opiekuna Koła Naukowego "Cytometrii przepływowej i badań biomedycznych" działającego przy Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Studenci będący w kole prezentują wyniki swoich badań na Konferencjach Naukowych zdobywając nagrody i wyróżnia. W 2022 roku Habilitantka pełniła rolę opiekuna i współopiekuna naukowego dwóch minigrantów studenckich pozyskanych w ramach Funduszu Aktywności Studenckiej FAST 2022. Jej zaangażowanie w pracę ze Studentami zostało nagrodzone przez Rektora w 2021 roku.

Pani Dr Helena Moreira jest promotorem pomocniczym w 2 przewodach doktorskich, promotorem 11 prac magisterskich, 1 pracy licencjackiej i recenzentem 24 prac magisterskich.

Swoją wiedzę Pani Doktor nieustannie pogłębia i poszerza biorąc udział w licznych szkoleniach i warsztatach dydaktycznych.

Jej zaangażowanie dydaktyczne było wielokrotnie uznawane przez studentów w ankiecie Studenckiej Oceny Nauczyciela Akademickiego, gdzie otrzymuje najwyższe punktacje.

Pani dr Moreira jest bardzo aktywna także na polu organizacyjnym. Należy zaliczyć przede wszystkim zaangażowanie w kierowaniu i rozwoju dwóch pracowni: Pracowni Cytometrii przepływowej i pracowni Eksperymentalnych Badań Biomedycznych. Habilitantka nie tylko prowadzi tam pracę naukową, ale kierowanie przez Nią pracownie są ośrodkami referencyjnymi dla innych użytkowników cytometrów przepływowych (w tym zagranicznych), dodatkowo szkoli innych użytkowników cytometrów oraz współpracuje przemysłem.

Brała czynny udział w organizacji Centrum Badawczo-Wdrożeniowego Zaawansowanych Terapii Komórkowych działającego w Katedrze Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Była głównym współorganizatorem międzynarodowych szkoleń i konferencji naukowo-szkoleniowych z zakresu cytometrii przepływowej we współpracy z Katedrą Immunologii Collegium Medicum w Bydgoszczy oraz Excyte (Expert Cytometry,

USA). Była trzykrotnie członkiem komitetu organizacyjnego i naukowego międzynarodowej konferencji „Wrocław Scientific Meetings”. Na konferencjach poprowadzi warsztaty cytometryczne (zakończone certyfikatem z przyznanymi punktami edukacyjnymi) dla diagnostów laboratoryjnych, farmaceutów i lekarzy. Pełni również funkcję wolontariusza na konferencjach zagranicznych European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA).

Habilitantka szeroko udziela się w towarzystwach naukowych, jest członkiem Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych (KIDL), Polskiego Towarzystwa Cytometrii (PTC), Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych (PTDL), International Society for Advancement of Cytometry (ISAC).

Biorąc pod uwagę całokształt działalności dydaktyczno-organizacyjnej Habilitantki należy docenić i wysoko ocenić zaangażowanie w rozwój oraz zarówno swój rozwój jak i środowiska naukowego.

V. Podsumowanie i wniosek końcowy

Dorobek naukowy Pani dr Heleny Moreiry oceniam wysoko, zarówno prace stanowiące szczególne osiągnięcie pt. „Działanie wybranych związków naturalnych na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego - badania *in vitro*.” obejmujące cykl 6 spójnych, powiązanych tematycznie pełno tekstowych artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust2 pkt 2 lit b. ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce oraz spełniają warunki określone w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ww. Ustawy, jak również całokształt aktywności naukowej.

Kierunek badań podjęty przez Habilitantkę uważam za ważny z punktu widzenia rozwoju nauk farmaceutycznych, posiadający duży potencjał aplikacyjny ze względu na rosnącą potrzebę poszukiwań nowych, skutecznych terapii przeciwnowotworowych.

W mojej opinii Kandydatka jest dojrzałym naukowcem zdolnym samodzielnie i odpowiedzialnie formułować i realizować koncepcję badań w interesującej Habilitantkę tematyce naukowej.

Pozytywnie oceniam również szeroką działalność dydaktyczną, organizacyjną oraz współpracę z jednostkami naukowymi krajowymi i zagranicznymi oraz sektorem gospodarczym.

Stwierdzam, że Pani dr Helena Moreira spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego, określone w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie Pani dr Heleny Moreiry do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

KIEROWNIK
Zakładu Chemii Leków
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

dr hab. Arkadiusz Surajński