

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	02-12-2019
L. dz. RN-BM/	130/2019

Poznań, 21. listopada 2019 r.

prof.dr hab.med Hanna Krauss  
ul. Trzcianecka 12  
60-434 Poznań

V I D I  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE  
przewodniczący  
prof. dr hab. Grzegorz Mazur

## Recenzja

### **dorobku naukowego dr n. med. Anny Lei-Szpak w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych , w dyscyplinie biologia medyczna**

#### **1. Podstawa wykonania recenzji**

Formalno-prawną podstawę sporządzenia niniejszej recenzji stanowi:

- pismo prof. dr hab. Małgorzaty Sobieszcańskiej, Dziekana Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, z dnia 30.09.2019 r. (DL/N/2428/2019), informujące o powierzeniu mi przez Centralną Komisję ds. Stopni i Tytułów obowiązków członka komisji oraz recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym dr n.med. Anny Lei-Szpak
- dokumentacja zawierająca wniosek Kandydata z dnia 8 kwietnia 2019 r. o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego, kopię dyplomu stwierdzającego uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna, autoreferat prezentujący dorobek i osiągnięcia naukowe wraz ze wskaźnikami dokonań naukowych, wykaz opublikowanych prac naukowych oraz informacje o dorobku dydaktycznym, współpracy międzynarodowej i popularyzacji nauki, wykaz i kopie opublikowanych prac naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiących jednotematyczny cykl publikacji, oświadczenia o współautorstwie.

Recenzję niniejszą wykonałam kierując się przepisami Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r., poz. 1789), w szczególności wytycznymi zawartymi w art. 16, 18a, 21 oraz Rozporządzeniami Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz. U. Nr 196, poz. 1165) i z dnia 30 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. z 2018 r., poz. 261).

Przedstawiona dokumentacja w mojej ocenie jest kompletna i należyście dokumentuje dorobek Kandydatki.

## 2. Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę do ubiegania się o nadanie stopienia doktora habilitowanego

Dr n.med. Anna Leja- Szpak przedstawiła, jako osiągnięcie stanowiące podstawę ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego, cykl 5 prac oryginalnych [3 oryginalnych pełnotekstowych prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych, 1 pełnotekstowej pracy oryginalnej opublikowanej w recenzowanym i punktowanym (IF = 4, 466) suplemencie czasopisma, 1 pracy oryginalnej zamieszczonej jako rozdział w monografii] oraz jednej pracy poglądowej, opublikowanych w latach 2007-2018 o łącznej wartości wskaźnika Impact Factor = 13,542 oraz 107 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. **Na podkreślenie zasługuje fakt pierwszego autorstwa w pięciu oryginalnych publikacjach wchodzących w skład cyklu** osiągnięcia naukowego zatytułowanego : **Udział melatoniny i jej metabolitu N<sup>1</sup>-acetyl-N<sup>2</sup>-formyl-5-metoksykynuraminy (AFMK) w modulacji szlaku apoptotycznego w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej**

**Zwraca też uwagę bardzo wysoki procentowy udział Habilitantki w powstaniu wszystkich prac wchodzących w skład cyklu.**

**Wszystkie prace wchodzące w skład cyklu tworzą spójną całość tematyczną** i dotyczą analizy wpływu melatoniny i jej metabolitu N<sup>1</sup>-acetyl-N<sup>2</sup>-formyl-5-metoksykynuraminy (AFMK) na przebieg procesu apoptozy w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej (PANC-1) w warunkach *in vitro*. W skład przedstawionego osiągnięcia naukowego wchodzi następujące prace :

1. Leja-Szpak A, Jaworek J, Szklarczyk J, Konturek SJ, Pawlik WW. *Melatonin stimulates HSP27 phosphorylation in human pancreatic carcinoma cells (PANC-1)*. J Physiol Pharmacol. 2007;58 Suppl 3:177-88. Impact Factor: 4,466 Pkt. MNiSW: 20
2. Leja-Szpak A, Jaworek J, Pierzchalski P, Reiter RJ. *Melatonin induces pro-apoptotic signaling pathway in human pancreatic carcinoma cells (PANC-1)*. J Pineal Res. 2010;49(3):248-55. Impact Factor: 5,855 Pkt. MNiSW: 32
3. Leja-Szpak A, Szklarczyk J, Jaworek J. *Overexpression of antiapoptotic heat shock proteins 90 and 70 in human pancreatic carcinoma cells - role of melatonin*. W: Interdisciplinary research in nursing: past and present. Wydawnictwo Vesalius, Kraków 2011;177-184. Pkt. MNiSW: 5
4. Leja-Szpak A, Pierzchalski P, Góralska M, Nawrot-Porąbka K, Bonior J, Link-Lenczowski P, Jastrzębska M, Jaworek J. *Kynuramines induce overexpression of heat*

*shock proteins in pancreatic cancer cells via 5-hydroxytryptamine and melatonin MT1/MT2 receptors.* J Physiol Pharmacol. 2015;66(5):711-8. Impact Factor: 2,804 , Pkt. MNiSW: 25

5. Leja-Szpak A, Nawrot-Porąbka K, Góralska M, Jastrzębska M, Link-Lenczowski P, Bonior J, Pierzchalski P, Jaworek J. *Melatonin and its metabolite N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) enhance chemosensitivity to gemcitabine in pancreatic carcinomacells(PANC-1).* Pharmacol Rep. 2018;70(6):1079-1088. Impact Factor: 2,787 Pkt. MNiSW: 25
6. Jaworek J, Leja-Szpak A. *Melatonin influences pancreatic cancerogenesis.* Histol Histopathol. 2014;29(4):423-31. Impact Factor: 2,096 , Pkt. MNiSW: 25

Wybór tematu osiągnięcia naukowego zasługuje na uznanie i może świadczyć o szerokich zainteresowaniach naukowych Habilitantki, bowiem dokładne podłoże patofizjologiczne nowotworów trzustki, w tym raka, nie zostało do końca wyjaśnione i stanowi wciąż aktualny problem badawczy. Powiązanie raka trzustki z melatoniną i jej metabolitami jest szczególnie istotne z punktu widzenia ewentualnej terapii z zastosowaniem melatoniny i/lub jej pochodnych w chorobach nowotworowych. Wyniki badań dotyczących wpływu melatoniny na przebieg nowotworów układu pokarmowego innych Autorów wskazują na istotne zmiany w wydzielaniu melatoniny w przebiegu nowotworów omawianych narządów /np. Kvetnoy i Levin , Khorry i wsp., Kos-Kudla i wsp., Muc-Wierzgoń i wsp., Viciano i wsp./ . Analiza naukowych doniesień ostatnich lat pozwala na postawienie wniosku, mówiącego o tym, że melatonina jest neurohormonem o właściwościach onkostatycznych, które prawdopodobnie wynikają z jej działania antyproliferacyjnego, antyoksydacyjnego, immunostymulującego i hamującego angiogenezę poprzez modulację syntezy tlenku azotu . Ale mechanizm przeciwnowotworowego działania melatoniny i jej metabolitów nie jest dokładnie poznany, dlatego **badania przedstawione przez Habilitantkę tym bardziej uważam za celowe i konieczne dla postępu medycyny.**

Stąd też celem Habilitantki było zbadanie zmian ekspresji białek anti-apoptotycznych z grupy białek szoku cieplnego, inhibitorów apoptozy, białek pro-/anty-apoptotycznych z rodziny Bcl-2 oraz kaspaz, pod wpływem zastosowania melatoniny i jej metabolitu.

Tematyka podjętych badań jest bardzo ważna z punktu widzenia zarówno poznawczego , jak i aplikacyjnego, szczególnie w kontekście systematycznego wzrostu zapadalności i umieralności na nowotwór trzustki. Podkreślić należy też **umiejętność wykorzystania prowadzonych badań w zakładzie teoretycznym z praktyką kliniczną.** Jest to najlepszy

trend obowiązujący w naukach medycznych we wszystkich światowych centrach badawczych. Zresztą udział w tak znakomitym zespole badawczym pod kierunkiem Pani Profesor Jolanty Jaworek musi owocować osiągnięciami naukowymi na światowym poziomie.

Pierwsza z cyklu prac będących przedmiotem postępowania habilitacyjnego ocenia wpływ melatoniny na produkcję, fosforylację oraz wewnątrzkomórkową translokację białka szoku cieplnego HSP27 w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej PANC-1. Po potwierdzeniu wpływu wybranych stężeń melatoniny na wzrost produkcji niefosforylowanej formy białka HSP27, zarówno w cytoplazmie, jak i jądrze komórkowym komórek PANC-1, a także zwiększenie ekspresji formy fosforylowanej HSP27 we frakcji jądrowej, oceniono dynamikę tych zmian w różnych okresach czasowych. Wykazano, że największy wzrost ekspresji, zarówno niefosforylowanej, jak i fosforylowanej formy HSP7, w cytozolu badanych komórek uzyskuje się po 24 godzinach inkubacji z melatoniną, z następowym spadkiem tej ekspresji w kolejnej dobie. Jednocześnie we frakcji jądrowej zaobserwowano znaczący wzrost stężenia obu form HSP27, zarówno po 24 jak i 48 godzinach inkubacji komórek PANC-1 z melatoniną, co wskazywało na aktywne przemieszczanie się tego białka w z cytozolu do jądra komórkowego. Na podstawie uzyskanych wyników badań postawiono wniosek wskazujący, że melatonina powoduje wzrost produkcji HSP27 w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej, jego fosforylację oraz translokację do jądra komórkowego, co może stanowić czynnik hamujący apoptozę, prawdopodobnie przez modulowanie produkcji białek pro- i anty-apoptotycznych. Przedstawione wyniki stanowiły dobrą podstawę do dalszych badań nad ekspresją białek mitochondrialnych oraz kaspaz wewnętrznego szlaku apoptotycznego w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej PANC-1 pod wpływem działania melatoniny i/lub antagonisty receptorów melatoninowych- luzindolu.

W drugiej pracy cyklu, traktującej o wpływie melatoniny na proapoptyczną drogę sygnalizacji wewnątrzkomórkowej udowodniono, że melatonina w najniższym badanym stężeniu, spowodowała znaczący wzrost produkcji pro-apoptotycznego białka Bax, ale także anty-apoptotycznego białka Bcl-2 w cytoplazmie badanych komórek po 24 godzinach inkubacji.

Po analizie stosunku ilościowego ekspresji tych białek, zaobserwowano przesunięcie w kierunku ekspresji Bax, co mogło wskazywać na przewagę procesów pro-apoptotycznych w traktowanych melatoniną komórkach. W następnej części badań wykazano, że melatonina powodowała stymulację ekspresji kaspazy-9, nie wpływając na produkcję kaspazy-3. W celu

potwierdzenia stawianych hipotez inkubowano komórki PANC-1 z luzindolem, razem z melatoniną i uzyskano odwracalność badanych efektów działania melatoniny.

Na podstawie aktywacji komórek PANC-1 w całym spektrum badanych stężeń melatoniny, oraz wyników badań innych autorów zasugerowano udział nie tylko receptorów błonowych, ale także receptorów jądrowych ROR/RZR, regulujących odpowiedź komórek nowotworowych na melatoninę.

W celu wyjaśnienia możliwego udziału melatoniny w śmierci komórki, dokonano analizy fragmentacji jądrowego DNA w komórkach PANC-1, nie uzyskując efektu zarówno w warunkach kontrolnych, po podaniu melatoniny, jak i melatoniny razem z luzindolem.

Kończącym wnioskiem podsumowującym uzyskane wyniki badań jest wykazanie, że melatonina wykazuje zdolność indukowania procesu pro-apoptotycznego w komórkach nowotworowych trzustki poprzez modulację ekspresji białek mitochondrialnych Bax/Bcl-2 oraz kaspazy-9. W celu wyjaśnienia braku pobudzenia ekspresji kaspazy wykonawczej -3 oraz fragmentacji DNA, które są wykładnikami apoptozy badanych komórek, przeprowadzono kolejne badania, których wyniki przedstawiono w trzeciej z cyklu publikacji pt. *Overexpression of antiapoptotic heat shock proteins 90 and 70 in human pancreatic carcinoma cells - role of melatonin*. Badania dotyczyły wpływu melatoniny na modulację ekspresji innych białek szoku cieplnego, tj. HSP70 i HSP90 $\alpha/\beta$  w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej PANC-1. Na ich podstawie wykazano, że inkubowanie komórek PANC-1 z melatoniną w malejących dawkach, spowodowało wzrost ekspresji badanych białek szoku cieplnego, zarówno we frakcji cytoplazmatycznej, jak i jądrowej ocenianych komórek.

Bardzo istotne dla modulowania procesu nowotworzenia jest udział nie tylko określonych związków- w tym przypadku melatoniny- ale też ich metabolitów. Stąd też **Habilitantka, jako pierwsza w świecie, przeprowadziła badania nad udziałem w tym procesie pochodnych melatoniny**, oceniając wpływ głównego metabolitu melatoniny; AFMK, ale także metabolitu L-tryptofanu; L-kynureniny na produkcję białek szoku cieplnego, a także zbadała mechanizm oddziaływań badanych substancji na komórki nowotworowe trzustki poprzez zastosowanie antagonistów nie tylko receptorów melatoninowych, ale także serotoninowych. Wyniki przeprowadzonych badań opublikowała w pracy pt. *Kynuramines induce overexpression of heat shock proteins in pancreatic cancer cells via 5-hydroxytryptamine and melatonin MT1/MT2 receptors*. Na podstawie uzyskanych wyników badań Habilitantka wnioskuje, że AFMK w stężeniu  $10^{-12}$ M działając na komórki nowotworowe PANC-1 powoduje znaczące obniżenie ekspresji cytoplazmatycznej frakcji

białka szoku cieplnego HSP27 z następowym wzrostem ekspresji i fosforylacji tego białka w jądrze komórkowym. Na podstawie zmian wpływu metabolitu L-tryptofanu; L-kynureniny na komórki PANC-1 Habilitantka potwierdziła wzrost produkcji białek szoku cieplnego; HSP70 i HSP90  $\alpha/\beta$  we frakcji cytoplazmatycznej komórek PANC-1. Zmiany te przemawiają za anti-apoptotycznym działaniem badanych metabolitów na komórki nowotworowe trzustki.

W celu wyjaśnienia komórkowego mechanizmu działania metabolitów melatoniny i L-tryptofanu na aktywację białek szoku cieplnego Habilitantka przeprowadziła kolejne badania z inkubacją komórek PANC-1 z AFMK lub L-kynureniną, w kombinacji z antagonistami receptorów melatoninowych MT1/MT2; luzindolem oraz receptorów serotoninowych 5-HT<sub>2</sub>; ketanseryną i 5-HT<sub>3</sub>; MDL72222. Na ich podstawie postawiła wniosek, że stosowane kynuraminy stymulują wytwarzanie anti-apoptotycznych białek szoku cieplnego; p-HSP27, HSP70 i HSP90 $\alpha/\beta$  w komórkach raka trzustki (PANC-1), a efekty ich działania są zależne od interakcji badanych substancji z receptorami MT1/MT2 i/lub 5-HT<sub>3</sub>.

Ze względu na fakt, że rak trzustki w większości przypadków, diagnozowany jest już w postaci zaawansowanej, stale poszukuje się nowych, skutecznych metod leczenia paliatywnego. Pierwszym, skutecznym chemioterapeutykiem stosowanym w leczeniu gruczolakoraka przewodowego trzustki była gemcytabina, stąd też w najnowszej z cyklu prac (2018r.), pt. *Melatonin and its metabolite N<sup>1</sup>-acetyl-N<sup>2</sup>-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) enhance chemosensitivity to gemcitabine in pancreatic carcinoma cells (PANC-1)* Habilitantka podjęła próbę zbadania wpływu melatoniny i jej metabolitu AFMK na modyfikację odpowiedzi komórkowej na gemcytabinę. Praca ta doskonale wpisuje się w światowe badania dotyczące wpływu melatoniny i jej metabolitów na modyfikację komórkową, zachodzące pod wpływem wybranych leków przeciwnowotworowych, stosowanych w różnych typach nowotworów.

**Bardzo ważnym, z punktu widzenia klinicznego, wnioskiem, wynikającym z wyników badań wyżej wymienionej pracy jest stwierdzenie, że stosowanie melatoniny, ale także jej metabolitu AFMK, może stanowić działanie wspierające i uzupełniające dla konwencjonalnej, standardowej chemioterapii u pacjentów z nowotworem trzustki.**

Podsumowaniem cyklu, stanowiącego podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, jest praca poglądowa pt. *Melatonin influences pancreatic cancerogenesis*.

Przedstawione w pracy fakty dotyczą wpływu melatoniny na kancerogenezę w trzustce i są analizą wyników własnych oraz innych zespołów badawczych uzyskanych do roku 2014.

Reasumując, opiniowany cykl prac stanowi opracowanie naukowe zawierające wszystkie badawcze i formalne elementy dotyczące przeglądu literaturowego, nakreślenia celu i zakresu prac oraz przedstawienia metodyki badań. Koncepcja podjętego przez Autorkę cyklu prac, zakres prowadzonych badań, sposób pobrania i przygotowania materiału badawczego, zostały przedstawione z wyczerpującym uzasadnieniem. Analiza uzyskanych wyników badań jest wyczerpująca, poparta krytyczną dyskusją ze spostrzeżeniami innych badaczy. Na tej podstawie zostały sformułowane wnioski, które są przejrzyste i w syntetyczny sposób odzwierciedlają uzyskane rezultaty badań własnych Autorki.

Z punktu widzenia recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na niewątpliwe walory merytoryczne osiągnięcia naukowego a także logiczne i wyważone przedstawienie podsumowania wyników i konkluzji w każdej pracy wchodzącej w skład cyklu. Opiniowany cykl prac **charakteryzuje wysoka wartość merytoryczna**, którą wzmacniają przeprowadzone w każdej pracy oryginalnej, analizy statystyczne. Prace te stanowią **znaczący wkład Autorki w rozwój nauki w dziedzinach fizjologii, patofizjologii onkologii** w kontekście rozwoju i leczenia nowotworów trzustki. Należy przede wszystkim docenić **szeroki zakres metodologii**, którą posługuje się Habilitantka, ponieważ na wyniki cyklu prac składają się analizy molekularne, biochemiczne i kliniczne, które mają bardzo **duży potencjał do implementacji praktycznej i stanowią podstawę do dalszych badań naukowych**.

### 3. Ocena istotnej aktywności naukowej

#### 3.1. Sylwetka zawodowa

Dr med. Anna Leja-Szpak, ukończyła w 2000r. studia magisterskie na Uniwersytecie Jagiellońskim z najwyższą lokatą na roku uzyskując wyróżnienie z tego tytułu. Od tego roku pracowała jako asystent w Zakładzie Fizjologii Medycznej Wydziału Ochrony Zdrowia Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. W 2004 roku uzyskała stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna. Od 01.10.2006 - do chwili obecnej pracuje na stanowisku adiunkta w Zakładzie Fizjologii Medycznej Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum. W latach 2011 - 2014 – pracowała jako wykładowca na Wydziale Nauk Stosowanych w Tarnowskiej Szkole Wyższej w Tarnowie.

**Godnym podkreślenia jest fakt systematycznego doksztalcania się** Habilitantki, czego dowodem są **ukończone studia podyplomowe** : 2-semesteralne - 2016/2017 - Nowy Public Relation – Wydział Stosowanych Nauk Społecznych, Wyższa Szkoła Europejska im. Ks.

Józefa Tischnera w Krakowie, 2-semesterne - 2006/2007) - Biologia molekularna - Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, 2-semesterne - 2002/2003 - Zarządzanie sferą usług medycznych - Szkoła Przedsiębiorczości i Zarządzania, Akademia Ekonomiczna w Krakowie, oraz **liczne kursy i szkolenia naukowe.**

### 3.2. Główne obszary badawcze

Wieloletnia działalność naukowo-badawcza dr Anny Lei-Szpak obejmuje problematykę dotyczącą następujących obszarów badawczych:

**- wpływu wybranych czynników na funkcję egzokrynną trzustki w warunkach fizjologii i określonych stanów patologicznych ( zapalenie, nowotworzenie) ze szczególnym uwzględnieniem**

- udziału melatoniny i jej prekursora L-tryptofanu w ochronie gruczołu trzustkowego przed uszkodzeniem spowodowanym procesem zapalnym
- wpływu melatoniny i jej prekursora L-tryptofanu na czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki
- udziału leptyny w ochronie trzustki przed uszkodzeniem zapalnym oraz regulacji czynności zewnątrzwydzielniczej tego gruczołu
- efektu endotoksemii przebytej w okresie noworodkowym na przebieg ostrego zapalenia trzustki oraz wydzielanie enzymów trzustkowych w wieku dorosłym u szczura
- udziału nerwów czuciowych oraz nerwu błędnego w oddziaływaniu greliny oraz hormonu wzrostu na gruczoł trzustkowy w przebiegu jego ostrego zapalenia oraz w regulacji czynności zewnątrzwydzielniczej trzustki
- udziału czynnika antysekrecyjnego (AF) na czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki
- aktywacji białek szoku cieplnego w komórkach Monomac-6 pod wpływem infekcji *Helicobacter pylori*
- udziału adiponektyny i chemeryny w ostrym zapaleniu trzustki u szczura oraz procesie kancerogenezy w badaniach *in vitro*
- wpływu L-tryptofanu i jej metabolitu L-kynureniny na przebieg procesu apoptozy w komórkach nowotworowych trzustki poprzez oddziaływanie na ekspresję białek anty-apoptotycznych z grupy IAPs i Bcl-2 oraz modulację szlaku zależnego od NF-κB

a także





- **analizy przebiegu ciąży powiklanej rzadkimi powikłaniami położniczymi, określenie dobrostanu i samopoczucia ciężarnej i rodzącej oraz przygotowania położnej do sprawowania opieki położniczej**

W pierwszej części badań dotyczących określenia **udziału melatoniny i jej prekursora L-tryptofanu w ochronie gruczołu trzustkowego przed uszkodzeniem spowodowanym procesem zapalnym** stwierdzono, że zarówno melatonina, jak i jej prekursor, mogą być stosowane jako leczenie uzupełniające standardowej terapii stosowanej u pacjentów z ostrym zapaleniem trzustki, i prawdopodobnie mogą stanowić jeden z elementów prewencji stanów zapalnych tego gruczołu. Jest to bardzo ważny wniosek z punktu widzenia klinicystów, udokumentowany wynikami opublikowanymi w 11 pracach oryginalnych.

Kolejnym problemem badawczym było **badanie wpływu melatoniny i jej prekursora L-tryptofanu na czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki**. Wyniki przeprowadzonych badań opublikowano w ośmiu recenzowanych czasopismach. Na ich podstawie postawiono wniosek, że wydzielanie trzustkowe stymulowane przez melatoninę i jej pochodne jest uwarunkowane także mechanizmami zależnymi od serotoniny oraz funkcjonowania nerwów błędnych.

Kolejnym zagadnieniem wpisującym się w cykl badań nad szeroko rozumianymi procesami zapalnymi trzustki i regulacją jej wydzielania była **ocena wpływu leptyny na przebieg tych zjawisk**. Wyniki tych badań przedstawiono w czterech oryginalnych publikacjach. Na ich podstawie wykazano, że leptyna podawana szczurom, przed indukcją ostrego zapalenia trzustki metodą hiperstymulacji ceruleiną, powodowała zmniejszenie obrzęku gruczołu trzustkowego, spadek aktywności enzymów trzustkowych oraz redukcję trzustkowego przepływu krwi, prowadząc do zmniejszenia aktywności procesu zapalnego. Na podstawie obserwacji wybranych cytokin pro- i antyzapalnych udowodniono immunomodulacyjny wpływ leptyny na przebieg ostrego zapalenia trzustki. Wykazano również udział leptyny w regulacji zewnątrzwydzielniczej tego gruczołu.

Kolejnym ważnym zagadnieniem z punktu widzenia klinicysty, prezentowanym przez Habilitantkę, było zbadanie **efektu endotoksemii przebytej w okresie noworodkowym na przebieg ostrego zapalenia trzustki oraz wydzielanie enzymów trzustkowych w wieku dorosłym u szczura**. Wyniki przedstawiono w sześciu oryginalnych publikacjach. Na podstawie rezultatów tych badań wykazano, że przebyte sepsy w okresie noworodkowym u szczurów, spowodowało łagodniejszy przebieg indukowanego zapalenia trzustki w wieku dorosłym, w porównaniu do zwierząt grupy kontrolnej. Za ten efekt odpowiadało prawdopodobnie obserwowane niższe stężenie badanych wykładników stresu oksydacyjnego

z jednocześnie podwyższoną aktywnością enzymów antyoksydacyjnych i zmniejszeniem produkcji cytokin prozapalnych, przy równoczesnym wzroście ocenianych cytokin przeciwzapalnych.

Ważnym z punktu widzenia, szczególnie fizjologii i patofizjologii, były badania dotyczące **określenie udziału nerwów czuciowych oraz nerwu błędnego w oddziaływaniu greliny oraz hormonu wzrostu na gruczoł trzustkowy w przebiegu jego ostrego zapalenia oraz w regulacji czynności zewnątrzwydzielniczej trzustki**. Na ich podstawie wykazano ochronny wpływ badanych hormonów na przebieg ostrego zapalenia trzustki. Jednocześnie oceniono działanie greliny na wydzielania trzustkowe przez zniesienie przewodzenia drogą nerwów błędnych, deaktywację nerwów czuciowych oraz blokowanie farmakologiczne receptorów CCK<sub>1</sub>, uzyskując zahamowanie wydzielania trzustki, co dowiodło, że zarówno aktywacja nerwu błędnego, jak i uwalnianie cholecystokininy bierze udział w aktywacji wydzielania trzustkowego przez grelinę. Kolejne badania dotyczące tego obszaru badawczego dotyczyły **udziału czynnika antysekrecyjnego (AF) na czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki**. Wykazano na ich podstawie, że podawanie czynnika antysekrecyjnego powodowało zahamowanie wydzielania trzustkowego u szczurów w badanych warunkach doświadczalnych. W **badaniach dotyczących udziału adiponektyny i chemeryny w ostrym zapaleniu trzustki u szczura oraz procesie kancerogenezy w badaniach *in vitro*** wykazano, że chemeryna podawana szczurom, przed indukcją ostrego zapalenia trzustki, zmniejszała histologiczne wykładniki zapalenia oraz obniżała aktywność amylazy i prozapalnego TNF $\alpha$  we krwi badanych zwierząt. Potwierdzeniem przeciwzapalnego efektu chemeryny były badania *in vitro*.

Bardzo ważnym elementem rozwoju naukowego jest dążenie do wyjaśnienia zjawisk, które nie są jeszcze w pełni poznane i stanowią o rozwoju nauki. Przykładem takiego postępowania jest kontynuacja badań prowadzonych przez Habilitantkę, dotyczących **wpływu L-tryptofanu i L-kynureniny na przebieg procesu apoptozy w komórkach nowotworowych trzustki poprzez oddziaływanie na ekspresję białek anty-apoptotycznych z grupy IAPs i Bcl-2 oraz modulację szlaku zależnego od NF- $\kappa$ B**. Wyniki tych badań być może przyczynią się do efektywniejszego leczenia raka trzustki.

### 3.3. Posumowanie dorobku naukowego

Ogólny dorobek naukowy dr Anny Lei - Szpak obejmuje : 26 prac oryginalnych opublikowanych w pełnotekstowych czasopismach naukowych, 7 prac oryginalnych opublikowanych w suplementach czasopism (6 z nich to publikacje recenzowane z Impact

Factor), 3 prace kazuistyczne, 6 prac poglądowych, 4 rozdziały w podręcznikach/monografiach (2 o zasięgu międzynarodowym, 2 o zasięgu krajowym), 2 pełnotekstowe referaty opublikowane w materiałach zjazdowych, 1 pracę popularno-naukowa, 127 komunikatów zjazdowych (104 zagraniczne, 23 krajowe).

Sumaryczny Impact Factor według listy Journal Citation Reports, zgodnie z rokiem opublikowania: 95,166 [74,481 (+ 20,685 za publikacje oryginalne pełnotekstowe zamieszczone w suplementach czasopism)]. Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science : 600 (bez autocytowań 504). Indeks Hirscha według bazy Web of Science : 14.

Habilitantka była kierownikiem 7 własnych projektów naukowych oraz była i aktualnie jest wykonawcą/współwykonawcą w 10 projektach naukowych, finansowanych zarówno z funduszu Uczelni, jak i Komisji Badań Naukowych .

Podsumowując dorobek naukowy, warto też zauważyć liczne nagrody, które otrzymała Habilitantka za prezentacje wyników swoich prac na konferencjach krajowych i zagranicznych, co świadczy nie tylko o wysokich walorach naukowych prezentowanych prac, ale też znakomitej umiejętności ich przedstawienia i prowadzenia dyskusji naukowych.

**Oceniając działalność naukowo-badawczą Habilitantki oraz jej rozwój w okresie po uzyskaniu stopnia doktora, należy podkreślić ogromne zaangażowanie w dążeniu do pogłębiania wiedzy w zakresie uprawianej dyscypliny naukowej oraz wysoce wartościowy dorobek publikacyjny.**

#### **4. Osiągnięcia dydaktyczne, organizacyjne i popularyzatorskie**

**Działalność dydaktyczna i popularyzatorska** stanowi ważny element w ogólnym dorobku dr Anny Lei-Szpak. Od początku swojej pracy zawodowej Habilitantka twórczo angażuje się w projekty i zajęcia dydaktyczne z przedmiotów: fizjologia człowieka, neurofizjologia, fizjologia wysiłku fizycznego, patofizjologia i patologia, elektrofizjologia i diagnostyka elektromedyczna ze studentami Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jagiellońskiego – Collegium Medicum) kierunków: - pielęgniarstwo, położnictwo, ratownictwo medyczne, fizjoterapia, elektroradiologia i były to wszystkie formy dydaktyczne : wykłady, seminaria, ćwiczenia i repetytoria. Sprawowała także opiekę merytoryczną nad studentką położnictwa studiów stacjonarnych drugiego stopnia w zakresie indywidualnego toku studiów. Jest też współkoordynatorem przedmiotów fizjologia i patologia na kierunku położnictwo studia stacjonarne pierwszego stopnia. Od 2017 roku prowadzi zajęcia z zakresu Badania fizykalnego układu ruchu, nerwowego, sercowo-

naczyniowego i oddechowego (wykłady, ćwiczenia) w ramach kursu specjalistycznego Badanie fizykalne dla pielęgniarek i położnych. Wymiernym efektem działalności dydaktycznej jest sprawowanie opieki naukowej nad pracami dyplomowymi, dr Anna Leja-Szpak była promotorem 29 prac magisterskich i 79 prac licencjackich . Jest promotorem pomocniczym w jednym przewodzie doktorskim. Co więcej, rokrocznie jest nagradzana w ankietach studenckich za profesjonalizm, entuzjazm i zaangażowanie w pracę dydaktyczną.

**W działalności organizacyjnej** na rzecz Wydziału i Uczelni, dr n.med. Anna Leja-Szpak ma także znaczący dorobek. Jest członkiem i/lub przewodniczącą komisji egzaminacyjnej na egzaminie dyplomowym studentów Wydziału Nauk o Zdrowiu kierunku położnictwo studiów stacjonarnych i niestacjonarnych (pomostowych) pierwszego stopnia , członkiem zespołu egzaminacyjnego dla kandydatów posiadających maturę zagraniczną i ubiegających się o przyjęcie na studia na zasadach obowiązujących obywateli polskich. Pełniła funkcję opiekuna I roku położnictwa stacjonarnego pierwszego stopnia, sekretarza Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej, aktualnie pełni funkcję Sekretarza Wydziałowej Komisji Wyborczej, W latach 2010-2013 była przedstawicielem Zakładu Fizjologii Medycznej ds. BHP, od 1 grudnia 2013 roku pełni funkcję Pełnomocnika Dziekana Wydziału Nauk o Zdrowiu UJ CM ds. promocji. Jest organizatorem i współorganizatorem wielu wydarzeń w Uniwersytecie Jagiellońskim - Collegium Medicum oraz Wydziale Nauk o Zdrowiu UJ CM. Za swoją pracę organizacyjną otrzymała liczne nagrody Dziekana Wydziału Nauk o Zdrowiu UJ CM.

**Oceniając działalność dydaktyczną, organizacyjną i popularyzatorską należy podkreślić bardzo dużą aktywność Habilitantki w dążeniu do poprawy jakości procesu dydaktycznego, upowszechniania wiedzy oraz działań promocyjnych na rzecz Wydziału i Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum).**

## **5. Podsumowanie i wnioski końcowe**

Podsumowując osiągnięcie naukowe autorstwa dr n.med. Anny Lei-Szpak pt.” Udział melatoniny i jej metabolitu N<sup>1</sup>-acetyl-N<sup>2</sup>-formyl-5-metoksykynuraminy (AFMK) w modulacji szlaku apoptotycznego w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej” stwierdzić należy, że stanowi ono znaczny, nowatorski wkład do nauki w zakresie aspektów fizjologicznych i patofizjologicznych, wartościowy materiał źródłowy o dużym znaczeniu poznawczym i aplikacyjnym. Wybór tematu cyklu prac jest trafny, a przedstawione osiągnięcie, jako

48

podstawa postępowania habilitacyjnego, dotyczy ważnego i aktualnego zagadnienia, dotyczącego funkcji egzokrynnej trzustki, stanów zapalnych i nowotworów tego gruczołu. Habilitantka zrealizowała obszerny program badań uzyskując interesujące wyniki, które poszerzają aktualną wiedzę, zarówno o charakterze podstawowym jak i praktycznym, zaś analiza i dyskusja wyników świadczą o Jej dużym potencjale intelektualnym. Należy także podkreślić cały, konsekwentnie prowadzony dorobek naukowy, który wskazuje na istotną aktywność naukową doktor Anny Lei-Szpak.

W mojej opinii przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe spełnia wymagania ustawowe w zakresie nadawania stopnia doktora habilitowanego, także pozostałe osiągnięcia - dorobek naukowy, dydaktyczny, organizacyjny i popularyzatorski - odpowiadają również wymaganiom ustawowym w postępowaniu habilitacyjnym.

W konkluzji stwierdzam, że przedstawione przez dr n.med. Annę Leję-Szpak osiągnięcie naukowe spełnia wymagania obowiązującej Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, dotyczące nadawania stopnia doktora habilitowanego, a także Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 01.09.2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

**Wnoszę zatem o nadanie dr n.med. Annie Lei-Szpak stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauki medyczne, w dyscyplinie biologia medyczna.**

Z wyrazami szacunku



Poznań, 21 listopada 2019 r.