

Woli 11.12.19
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
Zastępca przewodniczącego
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okolów

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpł. dnia	06-12-2019
L. dz. RN-BM/	179/2019

Prof. dr hab. inż. Zofia Mazerska
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
ul. Narutowicza 11/12
80-233 Gdańsk
☎: (58) 347 24 07
e-mail: zofia.mazerska@pg.edu.pl.

Gdańsk, dn. 03.12.2019

Recenzja rozprawy habilitacyjnej

dr ANNY LEJA-SZPAK

pt. **„Udział melatoniny i jej metabolitu N¹-acetyl-N²-formyl-5-metoksykynuraminy (AFMK)
w modulacji szlaku apoptotycznego w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej.”**

oraz ocena jej dorobku naukowego

Informacje ogólne o Habilitantce

Pani dr Anna Leja-Szpak, obecnie adiunkt w Zakładzie Fizjologii Medycznej Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jagiellońskiego – Collegium Medicum, ukończyła studia wyższe w roku 2000 na Wydziale Ochrony Zdrowia Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Uzyskała dyplom magistra pielęgniarstwa przygotowując pracę zatytułowaną: „Czas wolny pacjentów z uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego w oddziale neurologicznym” w Zakładzie Pedagogiki w/w Wydziału. Już w czasie studiów brała udział w pracy badawczej poprzez działalność w Kole Naukowym przy ówczesnej Katedrze Fizjologii Wydziału Lekarskiego UJ CM, co dało jej możliwość udziału w sympozjach i pierwszych publikacji własnych wyników badań w latach 1999-2001. Dotyczyły one zagadnień rehabilitacyjno-edukacyjnych w opiece pielęgniarstwa. W roku 2000 rozpoczęła pracę w Zakładzie Fizjologii Medycznej Wydziału Ochrony Zdrowia UJ CM, gdzie pracowała jako asystent do roku 2006. W tym czasie, uczestnicząc jednocześnie w studiach doktoranckich, Jej zainteresowania naukowe skupiły się na roli melatoniny, hormonu produkowanego przez szyszynkę, w regulacji funkcji endokrynnej trzustki. Jest to element prac zespołu kierowanego przez Panią Prof. dr hab. Jolantę Jaworek, który wykazał, że zarówno egzogenna melatonina, jak i ta wytwarzana endogennie z L-tryptofanu zapobiega uszkodzeniom trzustki w doświadczalnych modelach ostrych stanów zapalnych. Dorobek naukowy z lat 2000 – 2004, w tym między innymi 7 publikacji na poziomie

Impact Factor od 1,1 do 3,4, świadczy o wielokierunkowym zaangażowaniu naukowym Kandydatki jeszcze przed przygotowaniem pracy doktorskiej.

W roku 2004, w konsekwencji prowadzonych badań Pani Leja-Szpak obroniła z wyróżnieniem pracę doktorską pt. „*Rola melatoniny i jej prekursora L-tryptofanu w ostrym zapaleniu trzustki u szczura.*” zrealizowaną pod kierunkiem promotora Pani Prof. dr hab. med. Jolanty Jaworek na Wydziale Ochrony Zdrowia Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Uzyskała tytuł doktora nauk farmaceutycznych w dyscyplinie biologia medyczna.

Od tej pory pracując jako asystent, a od 2006 jako adiunkt na Wydziale Nauk o Zdrowiu CM UJ intensywnie zaangażowała się w pracę naukową podejmując wyzwania w kilku kierunkach badań: od roli melatoniny w czynności wydzielniczej i ochronie trzustki przed skutkami procesów zapalnych poprzez udział leptyny w tych procesach, do badania roli nerwów czuciowych i nerwu błędnego w oddziaływaniu hormonu wzrostu na gruczoł trzustkowy. W zasięgu zainteresowań znalazły się też zagadnienia diagnostyczno-terapeutyczne związane z opieką nad pacjentką w okresie ciąży, porodu i połogu. Wszystkie wymienione zagadnienia, nie będące przedmiotem recenzowanego osiągnięcia naukowego, są przedmiotem 29 publikacji z bazy JCR w latach 2002-2018 i 12 publikacji z innych baz.

Strona formalna osiągnięcia naukowego

W świetle bogatego dorobku przytoczonego powyżej, recenzowane osiągnięcie naukowe pod tytułem: „*Udział melatoniny i jej metabolitu N¹-acetyl-N²-formyl-5-metoksykynuraminy (AFMK) w modulacji szlaku apoptotycznego w komórkach nowotworowych trzustki ludzkiej*” stanowi zestaw 6 prac opublikowanych w latach 2007-2018, w tym jedna z nich to rozdział zamieszczony w monografii, a jedna jest pracą poglądową. Pięć z nich charakteryzuje Impact Factor wyższy niż 2, a dwie IF powyżej 4. **Łączny IF dla tych prac wynosi 13.542**, a łączna punktacja MNiSW 107 punktów. Omówienie przez Habilitantkę publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego poprzedzone zostało kilkustronicowym wprowadzeniem przybliżającym problemy raka trzustki w aspekcie procesów apoptozy komórek, białek szoku cieplnego i roli fizjologicznej melatoniny oraz jej metabolitu AFMK. Tekst ten zawiera odwołania do 108 pozycji literaturowych, w tym ponad 30 z tych pozycji dotyczy publikacji po 2010 roku.

Ocena merytoryczna osiągnięcia naukowego

Przedmiotem osiągnięcia naukowego jest wyjątkowy nowotwór, rak trzustki. Jego charakterystykę, w porównaniu z innymi można ująć dwoma określeniami: (i) trudna diagnoza, (ii) nieskuteczność terapii. Autorka podeszła do problemu tego nowotworu poprzez proces

apoptozy w ludzkich komórkach nowotworu trzustki, PANC-1. Kanały mitochondrialne indukowane przez apoptozę (MAC) są regulowane z udziałem różnych białek, m.in. z rodziny Bcl-2. Przy czym pro-apoptotyczne białka Bax/Bak tworzą MAC indukujące lepszą przepuszczalność mitochondriów, a anty-apoptyczne Bcl-2/Bcl-xL hamują powstawanie kanałów MAC. Z drugiej strony białka szoku cieplnego (HSPs) tworzące kilka rodzin biorą udział w modulacji proliferacji i regulacji cyklu komórkowego i zostały zidentyfikowane w komórkach nowotworów trzustki. Melatonina, główny przedmiot badań Habilitantki jest hormonem syntetyzowanym z L-tryptofanu, po jego hydrolizie, dekarboksylacji i N-acetylacji, a następnie działaniu 5-hydroksyindolo-O-metylotransferazy. Jest związkiem o szerokim i nie do końca poznanym profilu działania biologicznego. Miedzy innymi wykazano, że może brać udział w regulacji funkcji endogennej trzustki, a aktywacja receptora melatoniny MT1 w komórkach B wysp trzustkowych prowadzi do hamowania uwalniania insuliny. Powiązanie powyższej wiedzy stało się podstawą badań podejmujących pytanie, jaki wpływ wywiera melatonina i jej metabolit AFMK na przebieg procesu apoptozy w ludzkich komórkach nowotworu trzustki, PANC-1, w warunkach *in vitro*.

Cel przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego stanowi element odpowiedzi na powyższe pytanie, przy czym przedstawiono zmiany ekspresji wymienionych powyżej grup białek anty-apoptotycznych z grupy białek szoku cieplnego, HSPs, oraz białek pro-apoptotycznych z rodziny Bcl-2 i kaspaz pod wpływem nie tylko melatoniny, ale i jej metabolitu AFMK. Badania z tego zakresu dla metabolitu AFMK nie były dotychczas prowadzone.

W pierwszym etapie (Publikacja 1) określono wpływ melatoniny na zachowanie się białek szoku cieplnego w cytoplazmie oraz w jądrze komórek PANC-1. Wykazano znaczący wzrost stężenia zarówno niefosforylowanej jak i fosforylowanej formy białka HSP27, ale głównie we frakcji jądrowej. Analiza fosforylacji HSP7 we frakcji cytozolowej i jądrowej w czasie wykazała, że białko to aktywnie przemieszcza się do jądra komórkowego. Wykazano, że ta translokacja do jądra może być odpowiedzialna za hamowanie apoptozy czyli zdolność do modulacji produkcji białek pro- i anty-apoptotycznych z udziałem melatoniny. Weryfikację tego wniosku przedstawiają dalsze badania (Publikacja 2). Wykazując ekspresję receptorów błonowych melatoniny, Mel-1A/B, wskazano, że melatonina stymuluje zarówno wzrost produkcji pro-apoptycznego białka Bax jak i anty-apoptycznego białka Bcl-2 i to w bardzo niskich stężeniach. Wykazano jednak przewagę procesów proapoptotycznych w tych warunkach. Powyższe efekty odwracała inkubacja komórek z luzindolem, silnym inhibitorem receptorów melatoninowych, co wskazało na udział w tym procesie receptorów błonowych. Jednocześnie brak pobudzenia kaspazy 3 i

fragmentacji DNA doprowadziło do hipotezy o roli nadekspresji antyapoptotycznych białek szoku cieplnego HSP27, HSP70 i HSP90 α/β . Podczas gdy rola fosforylacji białka szoku cieplnego HSP27 była badana wcześniej, podjęto się odpowiedzi na pytanie czy melatonina moduluje ekspresję innych białek o tej funkcji (Publikacja 3). Zgodnie z postawioną hipotezą zaobserwowano istotny wzrost ekspresji antyapoptotycznych białek szoku cieplnego, HSP70 i HSP90 α/β . Przy czym komórki inkubowane z melatoniną w obecności blokera błonowych receptorów melatoninowych Mel-1A/B, luzindolu, wykazały prawie całkowite zniesienie produkcji tych białek.

W następnym etapie badań podjęto analizę wpływu na produkcję białek szoku cieplnego metabolitów melatoniny: wspomnianego AFMK oraz metabolitu L-tryptofanu, L-kynureiny (Publikacja 4). Próbę określenia molekularnego mechanizmu działania badanych substancji na komórki nowotworowe podjęto poprzez zastosowanie dwóch typów antagonistów: wobec receptorów melatoninowych i serotoninowych. Ten etap badań wskazał na spadek ekspresji cytoplazmatycznej frakcji HSP27 z następującym po tym wzrostem ekspresji w jądrze komórkowym pod wpływem zarówno AFMK jak i L-kynureiny. Eksperymenty z antagonistami receptorów melatoninowych, luzindolem, i serotoninowych, ketanseryną i MDL72222 potwierdziły oddziaływanie metabolitów AFMK i L-kynureiny poprzez aktywację tych receptorów. Tak więc zgodnie z wnioskiem Habilitantki zbadane kynuraminy stymulują wytwarzanie anty-apoptotycznych białek szoku cieplnego, HSP27, HSP70 i HSP90 α/β w komórkach PANC-1, przy czym końcowy efekt zależy od oddziaływania tych związków z wybranymi receptorami. Efekt powyższych badań poszerzono o określenie roli melatoniny i jej metabolitu AFMK w modyfikacji szlaku apoptotycznego poprzez analizę odpowiedzi komórkowej na standardowy lek przeciw nowotworom trzustki, gemcytabinę (Publikacja 5). Wykazano, że tylko melatonina, nie jej metabolit, podana z gemcytabiną działa hamująco na wzrost komórek PANC-1. Poza tym w obecności melatoniny/AFMK razem z gemcytabiną obserwowano wzrost ekspresji proapoptycznego białka Bax oraz słabszą aktywację kaspaz -9 i -3. W sumie wskazana została bardzo istotna rola nie tylko melatoniny, ale także jej metabolitu, AFMK, polegająca na wspieraniu standardowej terapii przeciw nowotworom trzustki.

Oceniając wartość powyższych prac oryginalnych, stanowiących przedmiot habilitacji pragnę podkreślić dwa elementy. Po pierwsze, reprezentują one wysoką wartość merytoryczną, prezentowane są w indeksowanych czasopismach, od IF=2.1 do IF=5.8. Po drugie, podjęty problem najtrudniejszych dla terapii nowotworów trzustki.

Pani dr Leja-Szpak ma również duży, 50% udział w dwuautorskiej publikacji monograficznej, w której wspólnie z Panią Prof. Jaworek przedstawiły właściwości melatoniny pod kątem jej kancerogenności wobec gruczołu trzustki (Publikacja 6). Stanowi to bardzo wartościowe uzupełnienie habilitacji, świadczące o umiejętności analizy „z dystansu” nie tylko swoich, ale również wyników innych autorów. Szczególnie, że istotny element, np. głównego schematu ilustrującego mechanizm działania, stanowią wyniki będące przedmiotem habilitacji

Całość dorobku naukowego Habilitantki

Całkowity dorobek naukowy dr Anny Leja-Szpak obejmuje: **6 publikacji** wchodzących w skład osiągnięcia naukowego oraz **29 publikacji indeksowanych** z bazy JCR i **13 innych publikacji**. **Sumaryczny IF** wg JCR, zgodnie z rokiem opublikowania: **95.166 [74.481 (+ 20.685 za publikacje oryginalne, pełnotekstowe zamieszczone w suplementach do czasopism)]**. Prace Habilitantki **cytowane były 504 razy** (bez autocytowań), a indeks Hirscha jej dorobku **IH=14**.

Ponadto Habilitantka brała czynny udział (plakaty) w 19 sympozjach naukowych zagranicznych (niektóre w dwóch do siedmiu edycji) i 6 o zasięgu krajowym. Wygłosiła 3 referaty na konferencjach zagranicznych i 2 na krajowych. Kierowała też siedmioma projektami badań własnych i uczestniczyła w ośmiu. Była również współwykonawcą dwóch projektów KBN. Zestaw nagród za działalność naukową obejmuje m.in. 5 typów zagranicznych i krajowych wyróżnień dla prac plakatowych.

Całkowity dorobek Habilitantki jest bardzo szeroki, szczególnie zwraca uwagę duża ilość publikacji nie wchodzących w zakres jej osiągnięcia naukowego: **29 publikacji** indeksowanych, gdzie IF większości z nich jest wyższy od 2, a kilku od 3. Są w tym zestawie publikacje z wysokim udziałem autorki, a ich przedział tematyczny jest zróżnicowany. W kilku przypadkach zadawałam sobie też pytanie, dlaczego ta publikacja nie została włączona do głównego osiągnięcia naukowego. Przyniesione dane świadczą o bardzo dużym zaangażowaniu dr Leja-Szpak we współpracę z innymi członkami Zespołu Pani Prof. Jaworek.

W tym miejscu nasuwa się krytyczna uwaga dotycząca współpracy krajowej i międzynarodowej, w której brałaby udział Pani dr Leja-Szpak. W dorobku będącym przedmiotem habilitacji tylko druga publikacja zawiera autora z innego ośrodka niż Wydział Nauk o Zdrowiu UJ CM i jest to przedstawiciel ośrodka zagranicznego. Należy podkreślić, że Habilitantka uczestniczyła w wielu konferencjach zagranicznych, na kilku prezentowała swoje wyniki, więc dało to Jej perspektywę co do miejsca swoich badań w skali międzynarodowej. Jednak nie wykorzystwała tej szansy na współpracę poszerzającą lub zmieniającą nieco profil badań. Z drugiej strony, być może ten

„brak” pozwolił na przedstawiony bardzo szeroki dorobek uzyskany w macierzystym zespole naukowym.

Dorobek dydaktyczny i organizacyjny

Pani dr Anna Leja-Szpak prowadziła działalność dydaktyczną od początku swojej pracy zawodowej, od roku 2000. Działalność ta była dwukierunkowa. Z jednej strony związana z Jej wykształceniem zawodowym w zakresie pielęgniarstwa i położnictwa, fizjoterapii i ratownictwa medycznego, z drugiej z jej działalnością naukową z zakresu fizjologii człowieka, w tym neurofizjologii z elementami biochemii, biofizyki i genetyki. Od 2000 roku prowadzi/prowadziła zajęcia z przedmiotów: Fizjologia człowieka, Neurofizjologia, Fizjologia wysiłku fizycznego, od roku 2014 z Patofizjologii i Patologii, a od 2016 z przedmiotu Elektrofizjologia i Diagnostyka Elektromedyczna. Od roku 2005 prowadzi seminaria dyplomowe licencjackie i magisterskie. Jest **promotorem aż 79 prac licencjackich i 29 magisterskich** realizowanych na Wydziale Nauk o Zdrowiu UJ CM, w tym prac wyróżnionych. Wykaz zajęć i obowiązków dydaktycznych przedstawionych przez Habilitantkę przekracza możliwości recenzji. Pragnę zaznaczyć, że w tym zestawieniu imponuje zakres zajęć, które prowadziła i prowadzi oraz przebija zaangażowanie, z jakim o tych zajęciach pisze, pomimo, że jest to formalny „wykaz”.

Nie dziwi więc, że za działalność dydaktyczną otrzymała wiele nagród i wyróżnień, w tym wysokie oceny deklarowane przez studentów corocznie, w latach 2011-2015.

Jest również promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim Pani mgr Katarzyny Bobak, pod tytułem: *„Tensegracja kompleksu lędźwiowo-miedniczno-biodrowego oraz stopy i stawu skokowego”*. Otwarcie przewodu 23.03.2019.

Niemniej imponujący jest dorobek organizacyjny. Po ukończeniu studiów doktoranckich czyli od roku 2006 pełniła wiele funkcji związanych z funkcjonowaniem Wydziału. Miedzy innymi, przez 10 lat, 2007-2016, była **opiekunem I roku** położnictwa stacjonarnego I stopnia, prawie równie długo, w kolejnych latach od 2010 pracowała jako Sekretarz Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej, a do dzisiaj jest członkiem zespołu ds. wewnętrznego egzaminu dla kandydatów posiadających maturę zagraniczną. Podczas kadencji w latach 2016-2020 pełni funkcję Sekretarza Wydziałowej Komisji Wyborczej. W moim odczuciu Pani Doktor bardzo dobrze czuje się w funkcji **Pełnomocnika Wydziału ds. promocji**. W ramach tej funkcji organizuje na Uniwersytecie Jagiellońskim między innymi: Dni Otwarte, Małopolską Noc Naukowców, Festiwal Nauki, Tydzień Jakości Kształcenia, ale też Dni Kariery czy Bieg Fundacji Tesco. Prowadzi działalność promocyjną w szkołach średnich oraz przygotowuje i podejmuje wycieczki szkolne. Jakby tego było mało

pracuje też nad podnoszeniem swoich kwalifikacji promocyjnych kończąc kurs z zakresu tych umiejętności oraz dwusemestralne studia podyplomowe Nowy Public Relations. Za pracę organizacyjną otrzymała w latach 2009-2018 pięć nagród Dziekana i Nagrodę Rektora.

Wniosek końcowy

Podsumowując, przedstawiona rozprawa habilitacyjna i załączone materiały pozwalają stwierdzić że prace dr Anny Leja-Szpak to ogólnie szerokie badania podejmujące w zakresie rozprawy habilitacyjnej pytanie o warunki przebiegu procesu śmierci samobójczej w ludzkich komórkach nowotworu trzustki, PANC-1, w warunkach *in vitro*. Wyniki tych badań udokumentowane publikacjami w czasopismach o ugruntowanej renomie naukowej oraz forma dyskusji uzyskanych wyników dowodzą, że Autorka rozprawy posiada niezbędne kwalifikacje wymagane od samodzielnych pracowników naukowych w dziedzinie nauk medycznych. Jej dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny spełnia wymagania stawiane przez Ustawę o Stopniach i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki z dnia 23 marca 2003 roku. W oparciu o powyższą konkluzję wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego, Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie Pani dr Anny Leja-Szpak do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.


prof. dr hab. inż. Zofia Mazerska